

# $\epsilon$ -聚赖氨酸抑菌机理研究

刘蔚, 周涛\*

(南京师范大学食品系, 江苏 南京 210097)

**摘要:** 以大肠杆菌、枯草芽孢杆菌、青霉为研究对象, 考察  $\epsilon$ -聚赖氨酸的抑菌作用。首先通过抑菌实验确定  $\epsilon$ -聚赖氨酸对大肠杆菌、枯草芽孢杆菌的最小抑菌浓度均为 25mg/L, 对青霉最小抑菌浓度为 200mg/L。对于不同细菌,  $\epsilon$ -聚赖氨酸表现出相似的抑菌动力学特征。通过细胞损伤实验, 研究  $\epsilon$ -聚赖氨酸不同浓度、不同时间后对菌体造成的伤害。通过细胞形态观察以及生化检测研究  $\epsilon$ -聚赖氨酸对细菌的抑菌机理。初步结论: 当  $\epsilon$ -聚赖氨酸作用于菌体细胞后, 逐渐破坏细胞结构, 最终导致细胞死亡, 从而起到抑菌作用。

**关键词:**  $\epsilon$ -聚赖氨酸; 抑菌机理; 细菌; 菌体细胞

## Action Mechanism of Antimicrobial $\epsilon$ -Poly-L-lysine

LIU Wei, ZHOU Tao\*

(Department of Food, Nanjing Normal University, Nanjing 210097, China)

**Abstract:** Antimicrobial effect of  $\epsilon$ -poly-L-lysine against Gram-negative *Escherichia coli*, Gram-positive *Bacillus subtilis* and *Penicillium* were studied by colormetry. Analysis on bacteria cell injury was conducted to investigate the detrimental effects of varying concentration of  $\epsilon$ -poly-L-lysine and incubation time with  $\epsilon$ -poly-L-lysine at its minimum inhibitory concentration on the morphology of bacteria. Results indicated that the MIC against the above two bacteria is less than 25 mg/L and less than 200 mg/L against *Penicillium*.  $\epsilon$ -Poly-L-lysine shows analogical antimicrobial kinetics against different bacteria. The mechanism of action was further investigated by cell integrity and outer- and inner-membrane permeability assays and the profile of protein expression in bacteria.  $\epsilon$ -Poly-L-lysine killed pathogenic bacteria by causing irreversible changes in both the inner and outer membranes.

**Key words:**  $\epsilon$ -poly-L-lysine; antimicrobial mechanism; bacteria; bacterial cell

中图分类号: TS201.2

文献标识码: A

文章编号: 1002-6630(2009)09-0015-06

1977年, Shima等<sup>[1]</sup>从土壤中分离出的一种放线菌白色链霉菌 *Streptomyces albulus* 346, 发现其培养液过滤后有一种对德拉根道夫实验呈阳性的化合物, 该物质经验证为一种由单赖氨酸在  $\alpha$ -羟基和  $\epsilon$ -氨基形成酰胺键而连接成的聚氨基酸<sup>[2]</sup>, 有 20~30 个赖氨酸单体, 为  $\epsilon$ -聚赖氨酸( $\epsilon$ -PL)。 $\epsilon$ -PL 具有很广的抗菌谱, 对生长的细菌其最小抑菌浓度在 100  $\mu$ g/ml 以下<sup>[3]</sup>。

$\epsilon$ -PL 作为一种天然防腐剂, 对革兰氏阴性菌、革兰氏阳性菌、酵母菌以及霉菌等都有较好的抑制作用, 具有抑菌谱广, 水溶性好, 安全性高, 热稳定性好等优点, 可以广泛应用于各类食品中, 且只需要微量就可以起到很好的抑菌效果, 因此基本不会改变食品的风味及质地等, 此外,  $\epsilon$ -PL 的安全性也已在小鼠实验中

得到证实, 不会对生殖、神经和免疫器官、胚胎和胎儿生长、后代的生长、两代的晶胚和胎儿的发育有毒性<sup>[4]</sup>, 因此它完全可以作为一种天然、安全、高效的食品添加剂<sup>[5]</sup>。由于目前它的抑菌机理还没有被完全阐明, 严重制约了其发展<sup>[6]</sup>。目前国内对  $\epsilon$ -PL 的研究多集中于筛选菌株与应用方面, 对其抑菌机理方面报道较少, 通过一系列抑菌实验, 本实验对  $\epsilon$ -PL 的抑菌机理做了初步探究。

## 1 材料与方法

### 1.1 菌种

大肠杆菌(*Escherichia coli*)和枯草芽孢杆菌(*Bacillus subtilis*)均由南京师范大学食品科学与工程系保存。

收稿日期: 2008-07-09

基金项目: 江苏省教育厅高校自然基金项目(2006031TSJ0108)

作者简介: 刘蔚(1982-), 女, 硕士研究生, 研究方向为食品生物技术。E-mail: liuwei82v@163.com

\* 通讯作者: 周涛(1964-), 男, 副教授, 博士, 研究方向为食品保藏与加工。E-mail: zhoutao@sina.com

## 1.2 培养基<sup>[7]</sup>

牛肉膏蛋白胨培养基: 将牛肉膏 5g、蛋白胨 10g、NaCl 5g、琼脂 20g、溶解于 1L 蒸馏水中。土豆汁培养基: 将土豆 250g、葡萄糖 20g、琼脂 20g、溶解于 1L 蒸馏水中。

## 1.3 试剂

$\epsilon$ -PL Sigma 公司; 碱性磷酸酶试剂盒 南京建成生物工程公司。

## 1.4 仪器与设备

JSM-5610LV 扫描电镜 日本电子公司; H600- II 透射电镜 日本 Hitach 公司; JY92- II 超声波细胞粉碎机 宁波新芝生物科技股份有限公司; 722N 分光光度计、DDS-11C 电导率仪 上海精密科学仪器有限公司。

## 1.5 方法

### 1.5.1 菌悬液的制备

分别取菌种于牛肉膏蛋白胨琼脂培养基与土豆汁培养基斜面上, 选择形态相同的菌落 4~5 个, 接种于液体培养基中, 分别在 37、28℃ 条件下培养 16h 后, 6000r/min 离心 10min, 弃上清液, 菌体沉淀用已灭菌培养液稀释至菌落总数  $10^6$  CFU/ml 作为测试菌液, 备用<sup>[8]</sup>。

### 1.5.2 $\epsilon$ -PL 对大肠杆菌、枯草芽胞杆菌, 青霉的最小抑菌浓度(MIC)确定

将  $\epsilon$ -PL 配成浓度为 400、300、200、100、75、50、25mg/L 溶液, 不同稀释液各取 1ml, 菌种液取 1ml, 于不同试管内混合, 另取一支加蒸馏水的试管只与菌种液混合, 作为对照组, 分别于 37、28℃ 培养 24h, 观察菌落生长情况, 以不长菌的  $\epsilon$ -PL 最低浓度为  $\epsilon$ -PL 对大肠杆菌、枯草芽胞杆菌及青霉的 MIC<sup>[9]</sup>。

### 1.5.3 抑菌活力测定

将 1 倍 MIC 浓度的  $\epsilon$ -PL 溶液分别加入到两种菌悬液中, 相应温度下 150r/min 摇床培养, 用蒸馏水代替  $\epsilon$ -PL 溶液做为对照组, 不同时间后用自动酶标仪在波长 630nm 处检测吸光度(A), 绘制曲线, 得出活性峰出现的时间与数量。按 Hultmark<sup>[10]</sup> 等的方法计算抗菌活力。

$$U = \left( \frac{A_0 - A}{A_0} \right)^{1/2}$$

式中:  $A_0$  为对照组的吸光度。

### 1.5.4 $\epsilon$ -PL 对菌体细胞超微结构的影响

#### 1.5.4.1 样品前处理

以 1 倍 MIC 浓度的  $\epsilon$ -PL 溶液处理大肠杆菌为例, 用扫描电镜与透射电镜宏观对比处理不同时间后  $\epsilon$ -PL 对菌体超微结构的影响。

取对数生长期的细菌, 3500r/min 离心 10min, 弃上清液, 无菌缓冲液洗涤 3 次, 并稀释成菌落总数

$10^6$  CFU/ml 的菌悬液, 加入 1 倍 MIC 浓度的  $\epsilon$ -PL 溶液, 以蒸馏水代替  $\epsilon$ -PL 溶液作为对照组, 37℃、150r/min 培养, 分别于 0、1、2h 取样做为待测样品。

#### 1.5.4.2 扫描电镜样品制备<sup>[11-12]</sup>

离心待测样品, 菌体沉淀用磷酸缓冲液洗涤 3 次, 2.5% 戊二醛固定 2h, 乙醇梯度脱水, 涂至金属箔片上, 真空干燥固定、喷金, 于扫描电镜下观察形态结构变化, 蒸馏水代替  $\epsilon$ -PL 作为对照组。

#### 1.5.4.3 透射电镜样品制备<sup>[11]</sup>

离心待测样品, 菌体沉淀用磷酸缓冲液洗涤 3 次后分别进行以下操作: 2.5% 戊二醛固定 2h、缓冲液漂洗、2% 琼脂预固定、缓冲液漂洗、锇酸固定、缓冲液漂洗、乙醇梯度脱水、丙酮梯度脱水、包埋剂浸透、包埋、聚合、修块、超薄切片、染色后透射电镜观察。

### 1.5.5 $\epsilon$ -PL 对细胞完整性的影响

#### 1.5.5.1 $\epsilon$ -PL 对菌体细胞壁的影响

将 1 倍 MIC 浓度的  $\epsilon$ -PL 溶液加入到两种菌悬液中, 37℃、150r/min 摇床培养, 用蒸馏水代替  $\epsilon$ -PL 溶液作为对照组, 定时取样, 3500r/min 离心 10min, 取上清液用试剂盒方法测定碱性磷酸酶(AKP)的含量, 随时间延长检测 AKP 的变化情况。

#### 1.5.5.2 $\epsilon$ -PL 对菌体细胞膜通透性的影响

分别将 1 倍 MIC、2 倍 MIC 浓度的  $\epsilon$ -PL 溶液分别加入到两种菌悬液中, 37℃、150r/min 摇床培养, 用蒸馏水代替  $\epsilon$ -PL 溶液作为对照组, 按照 Lee 等的方法<sup>[13-14]</sup> 并加以改进, 定时取样, 测定培养液的电导率值, 从而确定金属离子的渗出变化趋势。

#### 1.5.5.3 $\epsilon$ -PL 对菌体细胞表达蛋白的影响

将 1 倍 MIC 浓度的  $\epsilon$ -PL 溶液加入到两种菌悬液中, 37℃、150r/min 摇床培养, 用蒸馏水代替  $\epsilon$ -PL 作为对照组, 分别于 0、1、4h 取样, 3500r/min 离心 10min, 取菌体沉淀, 经洗涤后定量无菌水溶解, 超声波细胞粉碎机破碎后离心, 3500r/min 离心 10min, 取上清液 20  $\mu$ l, 于 4℃ 备用, 然后根据电泳样品制备步骤上样进行 SDS-聚丙烯酰胺凝胶电泳<sup>[15]</sup>。

#### 1.5.5.4 $\epsilon$ -PL 对细菌菌体紫外吸收物的渗透检测

将 1 倍 MIC 浓度的  $\epsilon$ -PL 溶液加入到两种菌悬液中, 37℃、150r/min 摇床培养, 用蒸馏水代替  $\epsilon$ -PL 作为对照组, 定时取样, 3500r/min 离心 10min, 取上清液于紫外分光光度计 260nm 波长处测定其吸光度。

## 2 结果与分析

### 2.1 $\epsilon$ -PL 对大肠杆菌(E)、枯草芽胞杆菌(B)、青霉(P)最小抑菌浓度的确定

表1  $\epsilon$ -PL对E、B、P的最小抑菌浓度  
Table 1 MICs of  $\epsilon$ -poly-L-lysine against *E. coli*, *Bacillus subtilis* and *Penicillium*

$\epsilon$ -PL(mg/L)	25	50	75	100	200	300	400
B	+	—	—	—	—	—	—
E	+	—	—	—	—	—	—
P	+	+	+	+	+	+	—

注：“+”表示有菌落生长；“—”表示无菌落生长。

从表1可以看出， $\epsilon$ -PL对大肠杆菌、枯草芽胞杆菌的抑制作用较明显，最小抑菌浓度为25mg/L，对青霉有一定抑制作用但不显著，最小抑菌浓度达200mg/L。

## 2.2 抑菌实验结果

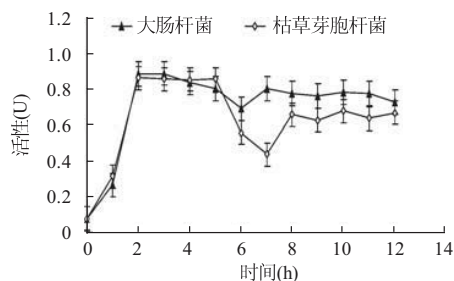


图1  $\epsilon$ -PL对大肠杆菌和枯草芽胞杆菌的抑菌动力学  
Fig.1 Antibacterial kinetics of  $\epsilon$ -poly-L-lysine against *E. coli* and *Bacillus subtilis*

利用液体抑菌实验，测定 $\epsilon$ -PL的抑菌活性与作用时间的关系，即 $\epsilon$ -PL的抑菌动力学。 $\epsilon$ -PL对大肠杆菌、枯草芽胞杆菌的抑菌动力学测定见图1， $\epsilon$ -PL与大肠杆菌、枯草芽胞杆菌作用的12h内，都基本只在2.5h左右出现了一个活性峰。对于不同细菌， $\epsilon$ -PL表现出相似的抑菌动力学特征。

## 2.3 $\epsilon$ -PL对菌体细胞结构的影响

### 2.3.1 扫描电镜观察

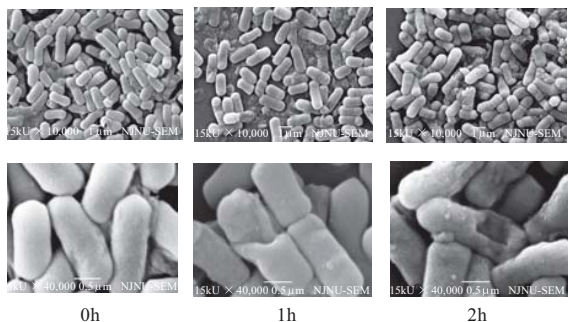


图2  $\epsilon$ -PL分别处理0、1、2h的大肠杆菌扫描电镜图  
Fig.2 Scanning electron microscopy of *E. coli* at different incubation time with  $\epsilon$ -poly-L-lysine

由图2可知，扫描电镜下，未经 $\epsilon$ -PL处理的对照组大肠杆菌菌体细胞表面光滑、形态饱满，未有细胞

破损情况，内容物未溢出，折光性好(图2，0h)；经 $\epsilon$ -PL处理1h后，菌体开始皱缩、无饱满感，部分细胞表面出现缢痕，同时在这些区域可以看到少量原生质向外扩散(图2，1h)；经 $\epsilon$ -PL处理2h后，大部分菌体细胞干瘪，扭曲变形，表面粗糙，破裂塌陷，同时在这些区域可以看到大量原生质外泄(图2，2h)。由此可见， $\epsilon$ -PL对大肠杆菌菌体有损伤作用，并且随着作用时间的延长，损伤作用愈加明显。

### 2.3.2 透射电镜观察

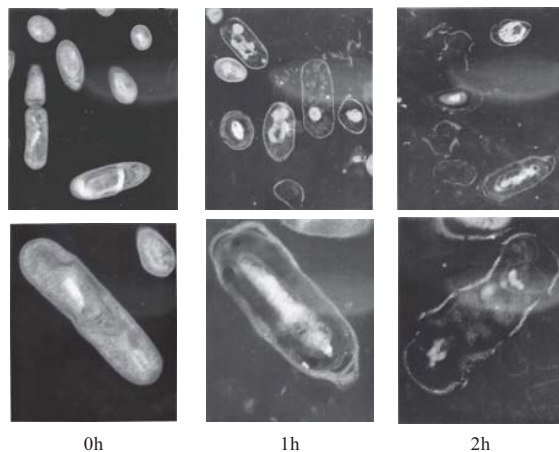


图3  $\epsilon$ -PL分别处理0、1、2h的大肠杆菌透射电镜图  
Fig.3 Transmission electron microscopy of *E. coli* at different incubation time with  $\epsilon$ -poly-L-lysine

由图3可知，透射电镜下观察，未经处理的对照组大肠杆菌菌体细胞壁和细胞膜连续完整、光滑，结构紧密饱满，细胞壁与细胞膜紧密结合，细胞质均匀，胞内可见细胞核及核仁，核膜连续完整(图3，0h)；经 $\epsilon$ -PL作用1h后，大肠杆菌部分菌体细胞开始出现皱缩，胞质不均匀，细胞壁模糊，质壁略有分离，有空泡状物及斑片状低电子密度区形成(图3，1h)；经 $\epsilon$ -PL作用2h后，菌体变形、质壁严重分离，细胞质固缩加剧，凝集成块，大部分菌体细胞模糊不清甚至缺失，细胞膜破裂，有些细胞质甚至解体出现空泡结构细胞核碎裂，细胞器溶解，胞质成碎渣样(图3，2h)。

## 2.4 $\epsilon$ -PL对细胞完整性的影响

### 2.4.1 $\epsilon$ -PL对菌体细胞壁的影响

微生物细胞壁对维持微生物细胞生存是特有的重要的结构，这些结构不出现在人体中，因此是引起微生物失活最理想的目标，干扰微生物细胞壁的正常合成可以使菌体抗渗透压能力下降，引起菌体变形、破裂甚至死亡。

碱性磷酸酶是存在于细胞壁与细胞膜之间的一种酶，正常情况下在胞外不能检测到其活性。但当细胞壁或细胞膜遭到破坏后，透性增加，其将泄漏到细胞

外,通过检测细胞外酶的变化可以反映细胞壁的透性变化<sup>[10,16]</sup>。

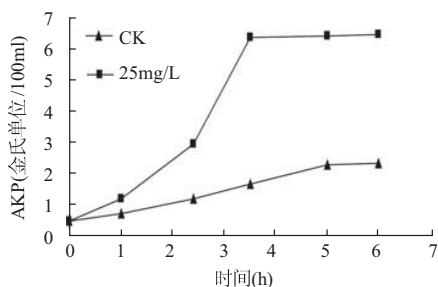


图4  $\epsilon$ -PL 对大肠杆菌菌体细胞壁的影响

Fig.4 Effects of  $\epsilon$ -poly-L-lysine on cell wall of *E.coli*

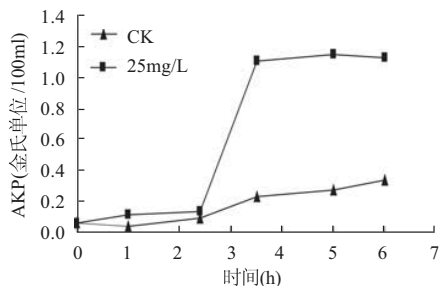


图5  $\epsilon$ -PL 对枯草芽孢杆菌菌体细胞壁的影响

Fig.5 Effects of  $\epsilon$ -poly-L-lysine on wall of *Bacillus subtilis*

从图4、5可以看出,  $\epsilon$ -PL 作用大肠杆菌约 2.5h 后,作用枯草芽孢杆菌 3h 后培养液中胞外渗出的碱性磷酸酶量开始增多,约 3.5h 后经  $\epsilon$ -PL 作用的两种菌液中的碱性磷酸酶量达到最大值,随后趋于平稳,且远远高于对照组。该实验反映了  $\epsilon$ -PL 对两种菌的细胞壁都有一定的破坏作用,且对大肠杆菌的作用要快于枯草芽孢杆菌。这一结果与 2.2 中的抑菌动力学结果基本一致,该结果说明,  $\epsilon$ -PL 造成了细胞壁通透性的增加,从而破坏细胞结构的完整性。

#### 2.4.2 $\epsilon$ -PL 对细胞膜渗透性的影响

施庆珊等<sup>[17]</sup>指出  $\epsilon$ -PL 呈高聚合多价阳离子态,它能破坏微生物的细胞膜结构,引起细胞的物质、能量和信息传递中断,还能与胞内的核糖体结合影响生物大分子的合成,最终导致细胞死亡。

当微生物处于不利环境或受到药物毒害时,往往会导致其生物膜流动性降低和半透性丧失,此时细胞内  $K^+$  等电解质大量外泻,培养液电导率的改变可以反映细胞膜渗透性的改变,这些离子的丢失导致多种代谢途径受阻,同时影响多种酶的活性以及膜的稳定性;另一方面

膜流动性降低也影响细胞内外渗透压的调节,使细胞膨胀破裂受损甚至死亡。

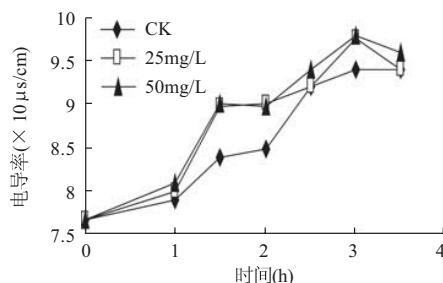


图6  $\epsilon$ -PL 引起的大肠杆菌细胞的细胞质渗漏

Fig.6 Cytoplasmic leakage curves of *E.coli* cells caused by  $\epsilon$ -poly-L-lysine at concentrations of 25 mg/L and 50 mg/L

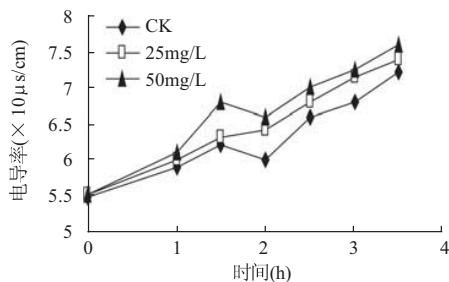


图7  $\epsilon$ -PL 引起的枯草芽孢杆菌细胞的细胞质渗漏

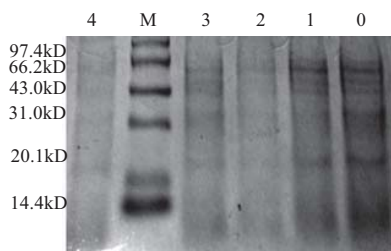
Fig.7 Cytoplasmic leakage curves of *Bacillus subtilis* cells caused by  $\epsilon$ -poly-L-lysine at concentrations of 25 mg/L and 50 mg/L

由图6、7可知,经  $\epsilon$ -PL 处理的大肠杆菌、枯草芽孢杆菌的培养液电导率明显高于未经处理的对照组,但 2 倍 MIC  $\epsilon$ -PL 浓度的处理组与 1 倍 MIC 浓度组相比差别不大。随着  $\epsilon$ -PL 对菌体作用时间的延长,培养液电导率持续增加,且处理 1h 后电导率变化的速率明显升高,这说明经过  $\epsilon$ -PL 处理的菌体细胞随着作用时间的延长均有细胞质渗漏,电解质的渗出量不断增大,可能造成细胞膜流动性降低,细胞内环境稳定性被破坏,从而导致原生质外渗,破坏菌体细胞,从而起到抑菌作用。

#### 2.4.3 $\epsilon$ -PL 对菌体细胞表达蛋白的影响

由图8可见,  $\epsilon$ -PL 作用的枯草芽孢杆菌菌体蛋白电泳谱带与对照组枯草芽孢杆菌菌体蛋白电泳谱带,呈现明显差别。经  $\epsilon$ -PL 作用后,枯草芽孢杆菌菌体内总蛋白含量明显下降,而且随时间延长,蛋白含量的减少更加明显,如枯草芽孢杆菌的部分蛋白谱带在  $\epsilon$ -PL 作用 1h 后与对照组相比染色很浅,作用 4h 后颜色几乎消失。

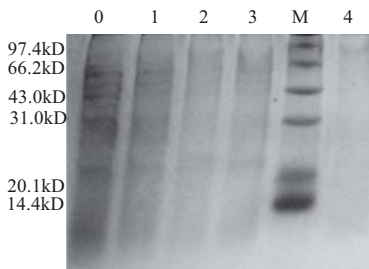




0 为正常枯草芽胞杆菌培养 0h 后的谱带; 1、3 分别为对照组枯草芽胞杆菌培养 1、4h 后的谱带; 2、4 分别为处理组枯草芽胞杆菌培养 1、4h 后的谱带; M 为标准蛋白。

图 8 受  $\epsilon$ -PL 作用的枯草芽胞杆菌的 SDS-PAGE 图谱

Fig.8 SDS-PAGE pattern total protein of *Bacillus subtilis* treated with  $\epsilon$ -poly-L-lysine for 1 h and 4 h



0 为正常大肠杆菌培养 0h 后的谱带; 1、3 分别为对照组大肠杆菌培养 1、4h 后的谱带; 2、4 分别为处理组大肠杆菌培养 1、4h 后的谱带; M 为标准蛋白。

图 9 受  $\epsilon$ -PL 作用的大肠杆菌的 SDS-PAGE 图谱

Fig.9 SDS-PAGE pattern total protein of *E. coli* treated with  $\epsilon$ -poly-L-lysine for 1 h and 4 h

由图 9 可见,  $\epsilon$ -PL 作用的大肠杆菌蛋白电泳谱带与对照组大肠杆菌蛋白电泳谱带, 也呈现类似差别, 且小分子量蛋白电泳谱带区颜色最先变浅至消失, 最终细胞完全破裂后, 大分子量蛋白电泳谱带区颜色才逐渐消失。

由上述分析表明,  $\epsilon$ -PL 对菌体的表达蛋白正常代谢有一定的抑制作用, 且这种作用随着培养时间的增长而增强, 因此可以推出, 在  $\epsilon$ -PL 与菌体作用初期, 细胞完整性略有破坏, 小分子量蛋白最先溢出, 导致细胞内小分子量蛋白缺失; 随着时间的延长, 至  $\epsilon$ -PL 将菌体细胞的细胞壁细胞膜完全破坏, 大分子量蛋白也逐渐溢出, 细胞内大分子量蛋白也最终缺失。

#### 2.4.4 细菌菌体紫外吸收物的渗透检测

正常情况下, 细菌细胞壁的微孔仅容小于 1nm 的分子通过<sup>[18]</sup>。本实验表明处理组在 260nm 波长处的吸光度始终高于对照组, 且当细菌与  $\epsilon$ -PL 作用后随时间延长 260nm 波长的紫外吸光度显著升高。

由图 10 可以看出, 大肠杆菌在与  $\epsilon$ -PL 作用前 1h, 紫外吸收物渗透速率较快, 在作用约 3.5h 后, 渗透液

中紫外吸收物的含量趋于稳定; 由图 11 可知, 枯草芽胞杆菌与  $\epsilon$ -PL 作用后, 渗透液中紫外吸收物含量逐渐上升, 约 4.5h 后含量趋于稳定。

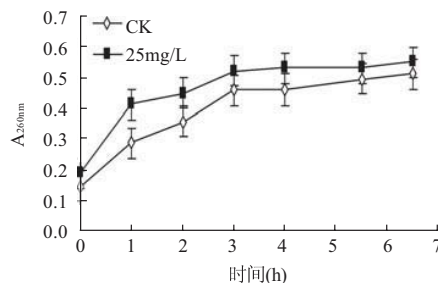


图 10  $\epsilon$ -PL 对大肠杆菌的紫外吸收物渗透性影响

Fig.10 Effects of  $\epsilon$ -poly-L-lysine on permeability of ultraviolet absorbing compounds in *E. coli*

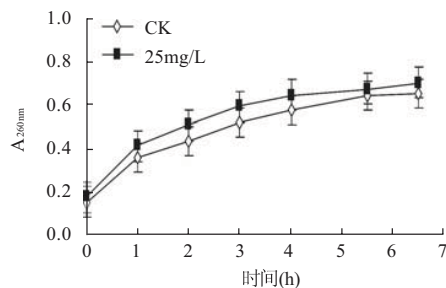


图 11  $\epsilon$ -PL 对枯草芽胞杆菌的紫外吸收物渗透性影响

Fig.11 Effects of  $\epsilon$ -poly-L-lysine on permeability of ultraviolet absorbing compounds in *Bacillus subtilis*

由此可以推测, 随着细菌细胞与  $\epsilon$ -PL 作用时间的延长, 细菌细胞通透性屏障受损, 其核心也遭到破坏, 使细胞内的组分包括具有紫外吸收特性的物质漏出, 前面的实验也证明  $\epsilon$ -PL 对枯草芽胞杆菌的影响不如对大肠杆菌敏感,  $\epsilon$ -PL 需要更多时间在其细胞上形成孔道, 所以较大肠杆菌而言, 枯草芽胞杆菌的紫外吸收物渗透速率较慢, 量稳定值出现时间较晚。

### 3 结论

3.1  $\epsilon$ -PL 的抑菌谱很广, 对细菌的抑制作用比对霉菌强一些。  $\epsilon$ -PL 对大肠杆菌、枯草芽胞杆菌的抑制作用较明显, 最小抑菌浓度为 25mg/L, 对青霉有一定抑制作用但不显著, 最小抑菌浓度达 200mg/L。对于不同细菌,  $\epsilon$ -PL 表现出相似的抑菌动力学特征。

3.2 浓度为 25mg/L 的  $\epsilon$ -PL 可以导致大肠杆菌和枯草芽胞杆菌细胞在 1h 时, 即出现电子显微镜可观察到的变化, 如细菌细胞壁同细胞质分离, 菌体塌陷, 细胞质溢出等现象。

3.3 浓度为 25mg/L 的  $\epsilon$ -PL 处理大肠杆菌和枯草芽胞杆

菌,能够逐步破坏其细胞壁的完整性,使得碱性磷酸酶渗出,继而破坏细胞膜的完整性,使其丧失生理作用并在细胞膜上形成孔道,先导致小分子物质的渗出,使得胞外离子含量升高,当细胞膜发生崩解时,大分子物质溢出,如影响细胞内外蛋白质的合成,最终导致细胞死亡,起到抑菌作用。

3.4 当 $\epsilon$ -PL与菌体细胞膜结合后,在膜上形成孔洞,破坏微生物的细胞膜结构,导致少量细胞内容物外泄,但细胞形状保持不变,仍然存活。而后 $\epsilon$ -PL继续与菌体细胞作用,通过膜上孔道进入细胞,进而影响细胞膜的结构和功能,破坏细菌的正常生理代谢,引起细胞的物质、能量和信息传递中断,与细胞内部物质发生作用,破坏细胞核心,造成紫外吸收物溢出,最终导致细胞死亡。但有关聚赖氨酸的抑菌机理还需要进一步的研究。

#### 参考文献:

- [1] SHIMA S, SAKAI H. Polylysine produced by *Streptomyces*[J]. Agric Biol Chem, 1977, 41: 1907-1909.
- [2] SHIMA S, SAKAI H. Poly-L-lysine produced by *Streptomyces*. Part II. Taxonomy and fermentation studies[J]. Agric Biol Chem, 1981, 45: 2497-2502.
- [3] SHIMA S, MATSUOKA H, TWAMOTO T, et al. Antimicrobial action of  $\epsilon$ -poly-L-lysine[J]. Antibiot, 1984, 37: 1449-1455.
- [4] NEDA K, SAKUTAI T, TAKAHASHI M, et al. Two-generation reproduction study with teratology test of  $\epsilon$ -poly-L-lysine by dietary administration in rats[J]. Jpn Pharmacol Ther, 1999, 27: 1139-1159.
- [5] HIRAKI J.  $\epsilon$ -Polylysine, its development and utilization[J]. Fine Chem, 2000, 29: 18-25.
- [6] 顾觉奋. 抗生素[M]. 上海: 上海科学技术出版社, 2001: 13-20.
- [7] 无锡轻工业大学. 微生物学[M]. 北京: 中国轻工业出版社, 1997: 596-597.
- [8] 邹晓葵. 食品微生物学实验指导[M]. 南京: 南京农业大学, 1997.
- [9] 冯仁丰. 实用医学检验学[M]. 上海: 上海科学技术出版社, 1996.
- [10] HARA S, YAMAKAWA M. A novel type of antibacterial peptide isolated from the silkworm, *Bombyx mori*[J]. J Biol Chem, 1995, 270: 29923-29927.
- [11] 凌诒萍, 俞彰. 细胞超微结构与电镜技术——分子细胞生物学基础[J]. 2版. 上海: 复旦大学出版社, 2004.
- [12] 曾庆梅, 谢慧明, 潘见, 等. 超高压处理对枯草芽孢杆菌超微结构的影响[J]. 高压物理学报, 2006, 20(1): 83-87.
- [13] LEE H J, CHOI G J, CHO K Y. Correlation of lipid peroxidation in *Botrytis cinerea* caused by dicarboximide fungicides with their fungicidal activity[J]. Journal of Agricultural Food Chemistry. 1998, 46: 737-741.
- [14] 孙延忠, 曾洪梅, 石义萍, 等. 武夷菌素对番茄灰霉菌的作用方式[J]. 植物病理学报, 2003, 33(5): 434-438.
- [15] 陈毓荃. 生物化学实验方法和技术[M]. 北京: 科学出版社, 2002.
- [16] 黄秀琴, 王卫星. 补体对大肠杆菌的致死过程[J]. 华东师范大学学报: 自然科学版, 1996(2): 103.
- [17] 施庆珊, 陈仪本, 欧阳友生.  $\epsilon$ -聚氨基酸的微生物合成与降解[J]. 生物技术, 2004, 14(6): 77-79.
- [18] 李荣芬, 李素卿. 微波杀菌机理研究: 对细菌通透性影响的观察[J]. 中国消毒学杂志, 1995, 12(3): 129-131.