

细胞壁氨基酸的定量分析在放线菌分类中的应用研究*

蒋凌月 李铭刚 李文军 崔晓龙 徐丽华 姜成林**

(云南大学微生物研究所 教育部微生物资源开放研究重点实验室 昆明 650091)

摘 要:从国内外公认的各菌种保藏中心收集 70 株典型放线菌菌株,用薄层层析和薄层色谱扫描仪分析两种方法相结合来定量分析放线菌细胞壁中氨基酸组成,将这些分析结果与现行的定性化学分类结果作比较,进行讨论,建议将原来的定性化学分类中胞壁类型的划分标准作出修正,从而对放线菌化学分类提供一些有意义的信息以推动放线菌化学分类学的研究。

关键词:放线菌, 定量化学分类, 氨基酸分析

中图分类号:Q939 **文献标识码:**A **文章编号:**0001-6209 (2001) 03-0270-08

在现行的放线菌化学分类中,纸层析^[1]、薄板层析^[1]、高效液相色谱^[2]和气相色谱^[3]等化学分析手段均被用于分类指标(如细胞壁氨基酸、全细胞糖等)的定性研究。但越来越多的研究表明,定性分析存在着许多问题。Wellington 等^[4]分析了 9 个属的放线菌的 DAP(2,6-二氨基庚二酸)组分,结果表明每个属几乎都同时含有 L-DAP 和 *meso*-DAP,只是两种 DAP 的比例不同而已。徐丽华等^[5]在研究碱性放线菌时,发现碱性环境中的 *Streptomyces* 属除含 L-DAP 外,同时含有 *meso*-DAP。由于微生物本身的复杂性,而现行的分析都是定性的,缺乏定量化标准,因此难以解释上述分类学中的许多实验现象。放线菌胞壁类型的划分是放线菌化学分类的重要指征之一,而其中的胞壁氨基酸的组成又为重要部分。我们用薄层色谱扫描法与氨基酸全自动分析仪分析法相结合,分别定量分析了 70 株典型菌株胞壁的 DAP 和其他种类氨基酸,把它们按四大类型来进行分析,根据这些定量结果,建议对原来的胞壁类型定性划分标准作必要修正。

1 材料和方法

1.1 菌种

实验用的 70 株典型菌株分别来自 CCRC、JCM、CGMCC、ATCC 和 NRRL 等菌种保藏中心(见表 1)。这些菌株的胞壁化学类型定性分析结果为 I-IV 四个型,糖类型为 A-E 五型。

1.2 菌体纯细胞壁的制备

采用梁蓉芳等^[6]的碱法制备细胞壁的方法。

1.3 细胞壁的水解

每个菌样分别称取 100mg 干细胞壁,分别放入两支安培瓶中,加入 1mL,6mol/L HCl,

* 云南省科委国际合作项目(98C003),教育部微生物资源开放研究重点实验室资助项目

** 通讯联络人

作者简介:蒋凌月(1976-),女,云南省昆明市人,云南大学微生物研究所教育部微生物资源开放研究重点实验室硕士研究生,主要从事放线菌分类学研究。

收稿日期:2000-07-10,修回日期:2000-11-06

表 1 实验所用标准菌株
Table 1 Type strains used in this study

No.	Species	Designations
01	<i>Actinosynnema mirum</i> subsp. <i>aridum</i>	NRRL B-12336
02	<i>Actinokineospira riparia</i>	CCRC 13450
03	<i>Thermocrispum municipale</i>	IFO 15806
04	<i>Amycolatopsis orientalis</i> subsp. <i>orientalis</i>	CGMCC 4.1214
05	<i>A. mediterranei</i>	ISP5501
06	<i>Actinobispora yunnanensis</i>	CCTCC M90959
07	<i>A. xinjiangensis</i>	CCTCC AA97020
08	<i>A. alaninophila</i>	CCTCC AA97001
09	<i>Pseudonocardia autotrophica</i>	CCRC 12444
10	<i>Saccharomonospora viridis</i>	CGMCC 4.1089
11	<i>S. cinjiangensis</i>	CCTCC AA97021
12	<i>Saccharopolyspora hirsuta</i>	CGMCC 4.1317
13	<i>Dietzia maris</i>	IFO 15801
14	<i>Gordona terrae</i>	CCRC 13382
15	<i>Rhodococcus rubropertinctus</i>	CCCGM 199
16	<i>Tsukamurella paurometabola</i>	CCRC 13723
17	<i>Mycobacterium phlei</i>	CCRC 10707
18	<i>Nocardia asteroides</i>	CGMCC 4.1165
19	<i>N. mexicana</i>	IFO 3927
20	<i>N. otitidiscalearum</i>	CGMCC 4.1168
21	<i>Corynebacterium xerosis</i>	CCRC 13877
22	<i>Dactylosporangium aurantiacum</i>	CGMCC 4.1066
23	<i>Micromonospora chalybeata</i>	CGMCC 4.1050
24	<i>M. yulongensis</i>	Y81-917
25	<i>Catellatospora citrea</i> subsp. <i>citrea</i>	IFO 14495
26	<i>Actinoplanes philippinensis</i>	JCM 13878
27	<i>A. utahensis</i>	JCM 13244
28	<i>Microbispora rosea</i> subsp. <i>rosea</i>	JCM 14044
29	<i>M. amethystogenes</i>	JCM 3021
30	<i>M. chromogenes</i>	JCM 3022
31	<i>M. aerata</i>	IFO 12581
32	<i>Microtetraspora glauca</i>	JCM 14761
33	<i>M. pusilla</i>	ATCC 27296
34	<i>M. niveoalba</i>	JCM 15239
35	<i>Planobispora rosea</i>	CCRC 13421
36	<i>P. longispora</i>	CGMCC 1.1206
37	<i>Planomonospora parvatospora</i>	CCRC 13425
38	<i>Streptosporangium album</i>	CGMCC 4.1082
39	<i>S. roseum</i>	CGMCC 4.1208
40	<i>Excellispora viridilutea</i>	CCRC 13638
41	<i>Spirillospora albida</i>	JCM 12248
42	<i>Actinomadura madurae</i>	CGMCC 4.1178
43	<i>A. viridis</i>	CCRC 13398
44	<i>A. macra</i>	CCRC 13378
45	<i>A. echinospora</i>	CCRC 12547
46	<i>A. libanotica</i>	CCRC 13400

续表 1

47	<i>A. pelletieri</i>	JCM 3388
48	<i>Thermomonospora curvata</i>	NRRL B-1983
49	<i>T. fusca</i>	CCRC 12532
50	<i>Actinocorallia herbida</i>	IFO 15485
51	<i>Nocariopsis dassonvillei</i> subsp. <i>dassonvillei</i>	IFO 14626
52	<i>Glycomyces harbinensis</i>	IFO 14487
53	<i>Kitasatosporia setae</i>	CCRC 13404
54	<i>Streptomyces coelicolor</i>	CGMCC 4.461
55	<i>S. ambofaciens</i>	CGMCC 4.502
56	<i>S. thermodiastaticus</i>	CCRC 12492
57	<i>S. setae</i>	CGMCC 4.1226
58	<i>S. griseus</i>	ATCC 23345
59	<i>S. hygroscopicus</i>	CGMCC 4.940
60	<i>S. autolyticus</i>	CCTCC AA97022
61	<i>S. thermoviolaceus</i> subsp. <i>thermoviolaceus</i>	CCRC 12493
62	<i>S. albus</i>	CGMCC 4.121
63	<i>S. thermogriseus</i>	CCTCC AA97014
64	<i>S. lavendulae</i>	CGMCC 4.201
65	<i>S. purpureus</i>	CCRC 12066
66	<i>Thermoactinomyces yunnanensis</i>	CCTCC AA97017
67	<i>Saccharothrix australiensis</i>	IFO 14444
68	<i>Lentzea albidocapitata</i>	IFO 15855
69	<i>Thermoactinomyces albus</i>	CCTCC AA97016
70	<i>D. fusco-aurantiacum</i>	Y-80-2063

Abbreviations: IFO = Institute for Fermentation, Osaka, Japan. CCRC = Culture Collection and Research Center, Food Industry Research and Development Institute, Taiwan, CGMCC = China General Microbiological Culture Collection Center, China. ATCC = American Type Culture Collection, United States of America. NRRL = Agricultural Research Service Culture Collection, JCM = Japan Collection of Microorganisms. The Institute of Physical and Chemical Research, Japan.

封口后,加热至 120℃,保持 22h。取出冷却备用。

1.4 用薄板色谱扫描法来分析 DAP

1.4.1 薄层层析:用王平^[7]的快速薄层层析法。

1.4.2 薄层色谱扫描仪分析 DAP:薄层色谱扫描仪型号 CS-930。以标准 DAP(L, meso, D-DAP)的 Rf 值为准来确定待测样品的 DAP 的位置,用薄层色谱扫描仪扫描层析斑点的大小定量分析 DAP 各构型的相对百分含量。

1.5 其它种类氨基酸的分析

用氨基酸全自动分析仪(日立 835-50 型 MODEL 835-50 HIGH SPEED AMINO ACID ANALYZER)对其他氨基酸分析。各氨基酸的含量根据他们的峰面积之比得到相对百分含量。

1.6 数据处理

由于 DAP 和其他氨基酸是分别采用不同的仪器测定,因此我们分别进行 DAP 和其他氨基酸的相对百分含量的计算,将 DAP 和构型的总含量定为 100%;其他氨基酸的总含量也为 100%。

2 结果和讨论

现行的 Lechevalier^[8]等有关放线菌细胞壁化学类型的定性分析结果,将常见的细胞壁化学类型分为Ⅰ、Ⅱ、Ⅲ、Ⅳ型四种构型,它们的胞壁氨基酸组成如表 2 所示。可以认为其中的 L-DAP、meso-DAP 和 Gly 为特征性氨基酸,为易于与原来的定性分类结果比较,我们也将典型菌株划分为四大类进行分析。

2.1 胞壁Ⅰ型典型菌株的定量分析及讨论

我们分析了细胞壁Ⅰ型的一个属,链霉菌属 12 株放线菌的氨基酸组成,分析结果见表 3。

表 2 放线菌常见的细胞壁化学类型的氨基酸组成

Table 2 Composition of common cell wall amino acid of actinomycete	
Type of cell wall	Primary composition
Ⅰ	L-DAP, Glycine
Ⅱ	meso-DAP, Glycine
Ⅲ	meso-DAP
Ⅳ	meso-DAP, arabinose, galactose

表 3 胞壁Ⅰ型放线菌的细胞壁氨基酸定量组成

Table 3 Quantitative composition of cell wall amino acid of type Ⅰ actinomycetes

Name of strains	Relative content of sugars													
	DAP/%		Other amino acid/%											
	L-	meso-	Gly	Lys	AsP	Thr	Ser	Glu	Ala	Cys	Leu	Tyr	Phe	His
<i>S. coelicolor</i>	65	35	15	5	18	4	4	16	16	0	12	0	6	4
<i>S. ambofaciens</i>	58	42	17	0	10	2	3	27	28	0	6	2	3	2
<i>S. thermodastaticus</i>	59	41	16	3	12	0	6	24	21	0	9	2	4	3
<i>S. setae</i>	74	26	18	2	7	0	3	26	32	0	7	1	3	1
<i>S. griseus</i>	67	33	15	2	7	2	2	28	30	0	8	2	2	2
<i>S. hygroscopicus</i>	67	33	18	13	3	0	7	16	20	0	19	1	2	1
<i>S. autolyticus</i>	69	31	14	3	9	2	2	30	27	0	6	2	3	2
<i>S. Thermoviolaceus</i>	53	47	14	2	8	2	2	29	27	0	9	2	3	2
subsp. <i>thermoviolaceus</i>														
<i>S. albus</i>	63	37	14	2	10	3	3	19	22	0	17	2	6	2
<i>S. thermogriseus</i>	58	42	15	2	13	4	5	17	19	0	14	3	1	7
<i>S. lavendulae</i>	71	29	17	2	5	0	4	31	33	0	4	1	2	1
<i>S. purpureus</i>	62	38	16	5	13	3	4	20	20	0	8	3	5	3
Frequency/%	100	100	100	92	100	78	100	100	100	0	100	92	100	100
Range/%	53~74	26~47	14~18	0~13	3~18	0~4	2~7	16~34	19~28	0	4~19	0~3	1~6	1~7
Average content/%	63	37	16	3.4	9.6	1.8	3.8	24	25	0	9.9	1.8	3.3	2.5

由表 3 可看出,在所分析的 12 株菌中,他们的胞壁氨基酸都含有三种特征性氨基酸:L-DAP、meso-DAP 和 Gly。DAP 中 L-DAP 其平均含量在 63%,幅度 53%~74%,而 meso-DAP,平均含量为 37%,幅度在 26%~47%之间,从量上可看出,DAP 是以 L-DAP 为主。其他 11 种氨基酸中,Glu 和 Ala 的相对百分含量较高,但通过与其他胞壁类型如Ⅱ、Ⅲ、Ⅳ型的分析结果比较,他们的含量变化不是很大,相差不多;其次含量相对高的就是 Gly,它的平均含量为 16%,幅度在 14%~18%之间,与其他胞壁类型相比较,胞壁Ⅰ型中的 Gly 含量较高,说明 Gly 在胞壁Ⅰ型的分类中是有重要的参考价值,而其余的氨基酸,其含量在各个胞壁类型中相差不明显。

按现行^[8]的定性分类标准,胞壁Ⅰ型的放线菌是指细胞壁含 L-DAP 和 Gly,不含 meso-

DAP,而从以上的分析结果可看出,细胞壁中是以 L-DAP 为主,含量在 50% 以上, *meso*-DAP,含量在 50% 以下, Gly 含量相对其他胞壁类型来说是偏高,但是并不是其他胞壁类型的菌就不含 Gly,所以胞壁 I 型的划分依据,应不再以单纯那种氨基酸的有无来定,而应该看 L-DAP 所占 DAP 比例大小(至少在 50% 以上),同时参考 Gly 的相对含量而定。

另外,因为我们选取的胞壁 I 型的菌都是一个属的不同种的菌株,从表上可看出,不同种的胞壁氨基酸组成差别还是存在的,所以如果仅用氨基酸组成来判定其具体分类地位是困难的,必须和其他多种分类指标结合起来进行分类研究。

2.2 胞壁 II 型典型菌株的定量分析及结论

我们分析了胞壁 II 型典型菌株共 7 属 10 株菌,分析结果见表 4。

表 4 胞壁 II 型放线菌的细胞壁氨基酸定量组成

Table 4 Quantitative composition of cell wall amino acid of type II actinomycetes

Name of strains	Relative content of sugars													
	DAP/%		Other amino acid/%											
	L-	meso-	Gly	Lys	AsP	Thr	Ser	Glu	Ala	Cys	Ieu	Tyr	Phe	His
<i>T. paucimetebola</i>	39	61	17	3	10	1	0	27	22	1	11	2	5	1
<i>D. aurantiacum</i>	24	76	16	4	11	3	2	14	12	0	18	5	7	8
<i>D. fusco-aurantiacum</i>	18	82	17	3	14	2	2	20	15	4	13	2	5	3
<i>M. chalicea</i>	21	79	19	2	7	2	2	34	21	1	7	1	3	1
<i>M. yulongensis</i>	39	61	16	2	11	1	2	27	17	4	11	2	4	3
<i>C. citrea</i> subsp. <i>citrea</i>	14	86	17	6	9	2	1	19	21	5	12	2	3	2
<i>A. philippinensis</i>	17	83	18	3	10	2	2	22	19	4	12	2	3	3
<i>A. utahensis</i>	27	73	16	3	11	2	2	25	17	3	12	2	4	3
<i>G. harbinensis</i>	13	87	14	2	4	1	1	28	33	0	8	2	5	2
<i>K. setae</i>	39	61	16	3	7	1	1	26	27	0	12	1	4	2
Frequency/%	100	100	100	100	100	100	90	100	100	70	100	100	100	100
Range/%	13 ~ 39	61 ~ 87	14 ~ 19	2 ~ 6	4 ~ 14	1 ~ 3	0 ~ 2	14 ~ 34	12 ~ 33	0 ~ 5	7 ~ 18	1 ~ 5	3 ~ 7	1 ~ 8
Average content/%	25	75	17	3.1	9.4	1.7	1.5	24	20	2.2	12	2.1	4.3	2.8

表 4 表明胞壁 II 型的放线菌也都含有三种特征性氨基酸。L-DAP 平均含量为 25%,其幅度 13% ~ 39%; *meso*-DAP 平均含量为 75%,其幅度 61% ~ 87%,所以 DAP 是以 *meso*-DAP 为主(50% 以上)。Gly 的含量和胞壁 I 型类似,相对胞壁 III 型和 IV 型的 Gly 含量偏高,平均含量为 17%,幅度 14% ~ 19%。其余氨基酸的含量与其他胞壁类型的组成相差不多。

以前^[8]的定性分类标准,胞壁 II 型的放线菌是指细胞壁含 *meso*-DAP 和 Gly,不含 L-DAP;由我们的结果认为:胞壁 II 型的划分依据应该是以 *meso*-DAP 为主(50% 以上),Gly 相对含量较高。

2.3 胞壁 III 型典型菌株的定量分析及结论

我们分析了胞壁 III 型 15 属 29 株放线菌,其胞壁氨基酸的定量分析结果看表 5。由表 5 看出,DAP 都以 *meso*-DAP 为主,平均含量为 79%,幅度为 61% ~ 95%,他们还含有 L-DAP,平均含量为 21%,幅度为 5% ~ 37%;其他种类氨基酸,Gly 比例明显低于 I 型和 II 型,平均含量为 8.4%;其余 11 种氨基酸其相对百分含量与其他胞壁类型的氨基酸组成差别不大。所以我们认为:胞壁 III 型的划分标准应是以 *meso*-DAP 为主(50% 以上)。

表 5 胞壁Ⅲ型放线菌的细胞壁氨基酸定量组成

Table 5 Quantitative composition of cell wall amino acid of type Ⅲ actinomycetes

Name of strains	Relative content of sugars													
	DAP/ %		Other amino acid/ %											
	L-	meso-	Gly	Lys	AsP	Thr	Ser	Glu	Ala	Cys	Leu	Tyr	Phe	His
<i>A. mirum</i> subsp. <i>aridum</i>	31	69	8	3	9	2	2	35	29	0	0	9	3	0
<i>D. maris</i>	10	90	12	4	13	1	1	28	18	1	12	2	8	1
<i>M. rosea</i> subsp. <i>rosea</i>	22	78	8	3	10	2	1	24	28	5	11	2	4	2
<i>M. amethystogenes</i>	23	77	8	3	11	2	2	23	27	4	11	2	4	3
<i>M. chromogenes</i>	21	79	11	5	14	2	1	23	22	0	12	3	4	3
<i>M. aerata</i>	19	81	9	4	11	2	2	21	23	5	13	2	5	3
<i>M. glauca</i>	37	63	6	2	7	2	1	25	40	0	9	2	4	2
<i>M. pusilla</i>	30	70	7	3	9	1	2	26	32	0	11	3	4	2
<i>M. niveoalba</i>	16	84	9	5	13	2	1	19	23	0	12	3	5	3
<i>P. rosea</i>	29	71	10	5	13	2	1	23	22	5	14	2	5	3
<i>P. longispora</i>	18	82	9	5	11	2	2	31	4	0	14	6	10	3
<i>P. parontospora</i>	22	78	9	7	12	2	2	24	21	3	10	3	6	3
<i>S. album</i>	24	76	8	4	9	2	2	26	27	1	10	4	5	2
<i>S. roseum</i>	16	84	5	2	8	2	2	30	29	1	8	3	5	3
<i>E. viridilutea</i>	20	80	7	3	8	2	1	25	25	3	15	3	7	2
<i>S. albida</i>	17	83	6	3	7	3	2	30	30	2	9	2	4	1
<i>A. madurae</i>	14	86	6	3	7	1	1	28	30	3	13	3	6	2
<i>A. yiridis</i>	13	87	7	3	10	2	2	24	25	0	14	2	5	3
<i>A. macra</i>	13	87	7	3	8	2	2	29	28	3	9	3	5	2
<i>A. echinospora</i>	12	88	7	4	10	3	1	24	20	2	12	5	11	3
<i>A. libanotica</i>	14	86	8	4	10	2	1	23	23	0	15	3	7	3
<i>A. pelletieri</i>	26	74	9	3	9	2	2	23	24	1	12	5	9	2
<i>T. curvata</i>	19	81	9	5	11	1	1	24	20	0	16	3	7	3
<i>T. fusca</i>	25	75	8	3	9	6	0	18	21	0	20	4	8	3
<i>A. herbida</i>	35	65	6	2	6	2	1	30	35	0	9	3	5	1
<i>N. dassonvillei</i> subsp. <i>dassonvillei</i>	5	95	11	2	8	1	2	31	24	0	9	3	7	2
<i>T. albus</i>	13	87	5	5	8	2	2	30	30	0	9	2	4	3
<i>Tha. yunnanenses</i>	9	91	9	3	10	2	2	23	27	0	14	2	5	3
<i>S. australiensis</i>	27	73	11	3	8	0	3	29	31	0	9	1	3	2
Frequency/ %	100	100	100	97	100	93	97	100	100	47	97	100	100	97
Range/ %	5 ~ 37	63 ~ 95	5 ~ 12	0 ~ 7	6 ~ 14	0 ~ 6	0 ~ 3	21 ~ 35	4 ~ 35	0 ~ 5	0 ~ 20	1 ~ 9	3 ~ 11	0 ~ 3
Average content/ %	20	80	8.1	3.6	9.6	2.0	1.6	26	25	1.3	11	3.1	5.7	2.3

2.4 胞壁Ⅳ型典型菌株的定量分析及结论

我们分析了胞壁Ⅳ型 13 属 19 株放线菌的细胞壁氨基酸组成,结果见表 6。表 6 表明,胞壁Ⅳ型菌的 DAP 以 meso-DAP 为主,平均含量为 71%,幅度为 59% ~ 88%;L-DAP 的平均含量为 29%,幅度为 12% ~ 41%;Gly 的含量也明显比胞壁Ⅰ型和Ⅱ型的低;其他氨基酸组成与其他胞壁类型相差不大。可看出Ⅳ型菌的胞壁氨基酸组成与胞壁Ⅲ型菌的氨基酸组成相似,他们的差别在于胞壁Ⅳ菌的胞壁组成中还含有半乳糖和阿拉伯糖,因此在进行氨基酸分析的同时,为区别Ⅲ型与Ⅳ型,必须结合糖分析进行。

表 6 胞壁Ⅳ型放线菌的细胞壁氨基酸定量组成

Table 6 Quantitative composition of cell wall amino acid of type Ⅳ actinomycetes

Name of strains	Relative content of sugars													
	DAP/%		Other amino acid/%											
	L-	meso-	Gly	Lys	AsP	Thr	Ser	Glu	Ala	Cys	Leu	Tyr	Phe	His
<i>A. riparia</i>	34	66	10	4	12	1	0	26	20	0	15	2	7	3
<i>T. municipale</i>	36	64	8	2	7	0	0	36	28	0	12	1	5	1
<i>A. orientalis</i> subsp. <i>orientalis</i>	41	59	9	3	6	1	1	35	27	0	10	2	5	1
<i>A. mediterranei</i>	39	61	10	3	8	0	0	31	22	0	14	1	5	2
<i>A. yunnanensis</i>	22	78	10	2	14	1	0	28	22	0	14	2	5	2
<i>A. xinjiangensis</i>	33	67	8	2	10	0	0	28	25	0	13	2	4	8
<i>A. alaninophila</i>	21	79	11	3	14	1	0	26	22	0	13	2	6	2
<i>P. autotrophica</i>	27	73	8	2	11	0	0	33	30	0	12	0	3	1
<i>S. viridis</i>	12	88	6	2	7	1	0	39	32	0	7	2	3	1
<i>S. xinjiangensis</i>	12	88	9	3	12	1	0	30	21	1	13	3	5	2
<i>S. hirsuta</i>	17	83	7	2	19	1	0	29	23	0	10	1	6	2
<i>G. terrae</i>	36	64	10	3	12	1	0	26	23	1	14	2	6	2
<i>R. rubropertinctur</i>	37	63	11	4	16	1	1	32	14	0	12	2	5	2
<i>M. phlei</i>	15	85	10	4	8	1	1	26	31	0	13	2	4	1
<i>N. asteroides</i>	41	59	9	5	11	2	1	23	18	6	15	2	5	3
<i>N. mexicana</i>	35	65	11	6	9	1	0	27	26	0	11	2	5	2
<i>N. otitidiscavidarum</i>	36	64	9	3	10	14	3	24	22	0	8	2	4	1
<i>C. xerosis</i>	12	88	7	6	11	3	2	21	24	5	8	4	6	3
<i>L. albidocapitata</i>	34	66	8	4	9	2	2	24	28	0	13	2	5	3
Frequency/%	100	100	100	100	100	80	40	100	100	25	100	95	100	100
Range/%	12~41	59~88	7~11	2~6	6~19	0~14	0~3	21~39	14~32	0~6	7~15	0~4	3~7	1~8
Average content/%	29	71	9.0	3.3	11	1.7	0.6	29	24	0.7	12	1.9	5.0	2.2

上述结果表明;放线菌的细胞壁中都同时含 L-DAP 和 meso-DAP,其幅度在 5%~95% 之间,因此 Lechevalier 以定性分析结果按有无作为细胞壁氨基酸类型的判定标准应该赋予定量的含义。我们建议以 50%作为分界,在描述时冠以“为主”的含量,如胞壁类型Ⅰ型是以 L-DAP 为主(含量为 50%以上)。此外,典型菌的甘氨酸含量的分界域不明显,因此我们建议甘氨酸可不作为划分细胞壁类型的特征性氨基酸,或直接说明甘氨酸的含量即可。

鉴于以上分析,我们建议将原Ⅰ——Ⅳ型放线菌的胞壁氨基酸和糖修正如下:

- Ⅰ型 主要含 L—DAP(相对百分含量 50%以上)、无特征性糖(C型);
- Ⅱ型 主要含 meso—DAP(相对百分含量 50%以上)、木糖和阿拉伯糖(D型);
- Ⅲ型 主要含 meso—DAP(相对百分含量 50%以上)、含马杜拉糖或无或含半乳糖;
- Ⅳ型 主要含 meso—DAP(相对百分含量 50%以上)、半乳糖和阿拉伯糖。

其余的氨基酸,根据其定量分析结果,我们还没有发现他们在胞壁类型的划分上的规律性结果,他们在分类学上的分类学意义还有待进一步研究。

参 考 文 献

- [1] 阮继生,刘志恒,梁丽儒,等.放线菌研究及应用.北京:科学出版社,1990.
- [2] 日本放线菌学会编.放线菌的鉴定实验法——HPLC 法定性与定量分析菌体成分.东京:中越印刷株式会社,1989.
- [3] Saddler G S, Tavecchia P, Lociuoro S, et al. *J Microbiol Methods*, 1991, **14**:185 ~ 191.
- [4] Willington E, Stackebrandt E, Sanders, S, et al. *Int J Syst Bacteriol*, 1992, **42**:156 ~ 160.
- [5] 姜成林,徐丽华,许宗雄.放线菌分类学.昆明:云南大学出版社,1995.
- [6] 梁蓓芳,袁德军.微生物学通报,1990, **17**(4):247 ~ 249.
- [7] 王 平.微生物学通报,1986, **13**(5):228 ~ 230.
- [8] Lechevalier M P, Lechevalier H A. *Int J Syst Bacteriol*, 1970, **20**:435 ~ 443.
- [9] 孙毓庆.薄层扫描法及其在药物分析中的应用.北京:人民卫生出版社,1990.

STUDY ON THE APPLICATION OF QUANTITATIVE ANALYSIS OF CELL - WALL AMINO ACIDS IN ACTINOMYCETES CLASSIFICATION *

Jiang Lingyue Li minggang Li Wenjun Cui Xiaolong Xu Lihua Jiang Chenglin **

(Key Laboratory for Microbial Resources of Ministry of Education, P R China,

Institute of Microbiology, Yunnan University, Kunming 650091, China)

Abstract: This paper has collected 70 recognized type strains of actinomycete from home and abroad Microbiological culture collection centers. Adopting thin-layer chromatography and thin-layer chromatogram scanner methods to quantitatively analyze the composition of cell-wall amino acids in actinomycete. It has made comparison between quantitative results and qualitative ones. After a thorough discussion, a revision is made on the standard of dividing cell-wall types in actinomycete chemical classification, which has provided some original suggestion in hope of improving the research of actinomycete chemical classification.

Key words: Actinomycete, Quantitative chemical classification, Amino acids analysis

* Project supported by the International cooperative Project of Yunnan Science and Technology Committee and Technology Committee(98C003) and Key laboratory for Microbial Resources of Ministry of Education, P R China

** Corresponding author