

产去甲基金霉素突变株的选育

II. 金霉素链霉菌 635 突变株的选育

程惠芳 刘金玲 啜淑英

(华北制药厂, 石家庄)

金霉素链霉菌 (*Streptomyces aureofaciens*) 38-2-14 突变株^[1], 用紫外线处理和紫外线及异氰酸苯酯复合处理, 以菌落产生赤褐色色素, 作为挑选高产去甲基金霉素和去甲基四环素突变株的指标, 选出金霉素链霉菌 635 突变株。在改变种子培养基成份的基础上, 缩短了母瓶种子培养时间, 去甲基金霉素和去甲基四环素的摇瓶单位达 2925 微克/毫升, 为今后工业生产创造了条件。

前文报道了用紫外线处理, 选出仅产生去甲基金霉素和去甲基四环素而不产生金霉素的金霉素链霉菌 (*Streptomyces aureofaciens*) 38-2-14 突变株^[1]。毛主席教导我们: “人类总得不断地总结经验, 有所发现, 有所发明, 有所创造, 有所前进。”在上述工作的基础上, 继续进行诱变, 以提高产去甲基金霉素和去甲基四环素的单位。本文报道高产突变株的选育和培养条件的研究。

种子培养基组份的比较

为了使诱变的高产突变株在筛选时尽可能地表现出其产量情况, 在诱变前我们进行了七种种子培养基组份的比较, 培养条件与前文相同。试验结果如表 1 所示, 改变种子培养基的组份, 可使去甲基金霉素和去甲基四环素的发酵单位有很大提高。七种不同培养基中, 以 4 号培养基为最好, 与对照比较, 发酵单位由 1032 微克/

表 1 7 种种子培养基发酵单位的比较

培养基 编 号	培 养 基 成 份 和 配 比 (%)										摇瓶效价 微克/毫升*		种子外观	
	淀 粉	黄豆 饼粉	氯化钠	磷酸二 氢钾	碳酸钙	酵母粉	氯化铵	葡萄糖	硫酸铵	蛋白胨	硫酸镁	第一次		第二次
1	3	2	0.2	0.02	0.5		0.15					1275	1620	棕黑色
2	4.5	4.5			1	0.16	0.15					1515	1450	红棕色
3	3	2	0.2	0.02	0.5	0.15						952	1320	乳白色
4		2	0.25	0.02	0.2	1		3				2034	1993	淡棕色
5			0.25	0.02	0.2	1		5	0.3			1652	771	淡黄色
6	3	2	0.25	0.02	1							850	971	黑棕色
7**	4	2	0.2	0.02	0.4	0.25			0.5	0.5	0.02	1032	1120	黑棕色

* 摇瓶效价为去甲基金霉素和去甲基四环素单位之和。

** 培养基编号 7 为原始配方作为对照。装量和灭菌同前文。常水配制, pH 值未调节。

本文 1973 年 7 月 8 日收到。

毫升提高到 2034 微克/毫升。

635 突变株的获得

一、出发菌株

金霉素链霉菌 38-2-14(简称 38-2-14)。

二、处理方法

1. 紫外线处理 处理方法同前文。

2. 紫外线、异氰酸苯酯复合处理 取经紫外线处理的孢子悬液 5 毫升，加入 4 毫升 pH 6.8 磷酸缓冲液及 1 毫升 1% 异氰酸苯酯，处理 30 分钟，稀释后接种，控制每个平皿生长 10—20 个菌落。37℃ 培养 7 天，观察和挑选颜色突变株。

三、效价测定和纸谱层析

去甲基金霉素和去甲基四环素的效价测定和纸谱层析同前文。

四、635 突变株的获得

38-2-14 经紫外线处理 1 分钟，得到 104 突变株。用紫外线和异氰酸苯酯复合处理，得 149 突变株，其产量比 104 提高 10% 左右。继续用紫外线复合异氰酸苯酯

处理 149，挑选赤褐色菌落进行初筛，从挑选的 60 个菌落中，得到 635 突变株。该突变株在麸皮斜面上生长 24 小时，就有玫瑰红色可溶性色素分泌，第 5 天孢子呈一片灰棕色，很均匀，培养 96 小时的去甲基金霉素和去甲基四环素的摇瓶效价比出发菌株 38-2-14 提高 40%，结果见表 2。

表 2 635 和 38-2-14 摇瓶发酵比较

菌 株	发酵单位(微克/毫升)*			
	初 筛	复筛一	复筛二	复筛三
635	2475	2900	2970	3150
38-2-14	2014	2135	2087	2043

* 发酵单位为去甲基金霉素及去甲基四环素单位之和。

五、635 突变株的培养特征

1. 菌落形态 为了纯化 635 突变株和便于生产中掌握其菌落形态特征，在纯化菌种时进行形态特征和抗菌素发酵单位的初步观察。在玉米浆固体培养基上，根据菌落的大小、色素的分泌和孢子的丰富程度，可分三种类型，如表 3。

表 3 635 菌落特征与发酵单位的关系

类 型	菌 落 型 态						发酵单位* (微克/毫升)
	直径(毫米)	形 态	基内菌丝	气生菌丝	孢子颜色	百分率(%)	
I	5.5—6	圆型扁平	棕红色	棕 色	灰棕色	93	2854
II	6—7	圆型扁平	棕红色	棕 色	光秃无孢子	4	660
III	2—3	圆型扁平	无色素	无色素	灰白色	3	0

* 发酵单位为去甲基金霉素与去甲基四环素之和。

挑取一定数量的不同菌落，进行去甲基金霉素和去甲基四环素发酵单位的比较。如表 3 所示，第一类正常的菌落，其发酵单位稳定；第二类无孢子菌落，其发酵单位大大降低；第三类基内菌丝和气生菌丝没有色素的菌落，则不产生去甲基金霉素和去甲基四环素。菌落特征的分类和发酵单位的关系，为生产和菌种管理工作提供了参考。

2. 斜面培养特征 于麸皮斜面上，37℃ 培养 1 天后，即长出基内菌丝体，并有玫瑰红色素分泌，3 天后开始生长气生菌丝体，第 4 天，形成孢子，呈灰棕色，培养基背面有赤褐色色素，培养时间越长，色素也越深。

种子培养期

为了便于生产上掌握 635 突变株种子

的培养时间,我们观察了种子培养期与发酵单位的关系。培养 16 小时的种子,接种摇瓶发酵时单位为 2538 微克/毫升;培养 24 小时和 48 小时的种子,其发酵单位分别为 2925 微克/毫升和 2913 微克/毫升,二者几无差异。从显微镜镜检菌丝体的形态来看,培养 24 小时的种子菌丝体生长最为旺盛,染色清楚。因此,种子培养期可由 48 小时缩短到 24 小时。

紙譜层析鉴定

635 突变株的发酵液,经纸谱层析鉴定,在金霉素标准品 R_f 值的相应位置上没有观察到荧光斑点,仅显示去甲基金霉素和去甲基四环素的荧光斑点。证明 635 突变株是仅产生去甲基金霉素和去甲基四环素的菌株。

参 考 资 料

[1] 程惠芳、李焕姿:微生物学报,14(1),70—73,1974。

SELECTION FOR PRODUCER OF DEMETHYLCHLOROTETRACYCLINE

II. SELECTION OF *STREPTOMYCES AUREOFACIENS* 635 AND ITS CHARACTERS

CHENG HUI-FANG, LIU JIN-LING AND CHUO SHU-YING

(The North China Pharmaceutical Industry, Shihchiachuang)

6-Demethyl-7-chlorotetracycline (DMC-TC) was produced by *Streptomyces aureofaciens* 38-2-14, as described in the previous paper. The use of induced mutation and strain selection to improve its yields was studied. By subjecting the spores to phenylisocyanate and UV light irradiation

a novel mutant strain *S. aureofaciens* 635 was obtained with two fold antibiotic production.

The cultural characteristics and physiological properties of the novel mutant strain *S. aureofaciens* 635 were described.