

抗肿瘤抗菌素 B-599-III 的研究

I. 链霉菌 B-599 的生物学特性*

梁淑芳 朱关平 乐俊民 潘文君 陈佩君

(上海药物研究所, 上海)

从广东海口土壤分离得到一株链霉菌 (*Streptomyces*) B-599, 具有产生色霉素 A₃ 的能力。此菌株孢子丝为直形至略弯曲, 无螺旋, 孢子椭圆至柱形, 表面光滑; 生长在合成培养基上, 气生菌丝体白、浅灰至褐灰; 基内菌丝体浅黄或暗黄, 时常带褐色斑纹; 可溶性色素无至浅黄; 在有机培养基上, 气生菌丝体少, 灰白; 基内菌丝体暗黄, 常带褐色色调; 不产生可溶性的褐黑色色素。根据链霉菌 B-599 的生物学特性与目前资料报道相类似的菌种均有不同, 因此确定为新种, 并命名为暗黄直丝链霉菌 (*Streptomyces fulvoretus* n. sp. Yen. et al.)。

在筛选抗肿瘤抗菌素的过程中, 发现链霉菌 (*Streptomyces*) B-599 (下称 B-599) 能产生色霉素 A₃ 抗菌素^[1], 不仅强烈抑制革兰氏阳性细菌, 而且对小白鼠的艾氏腹水癌、宫颈癌 U-14 和脑瘤 B-22 都有一定抑制作用。对大鼠吉田腹水瘤也有一定治疗作用。本文报道链霉菌 B-599 的生物学特性, 及其产生抗菌素的生物性质。

生物学特性

一、形态及培养特性

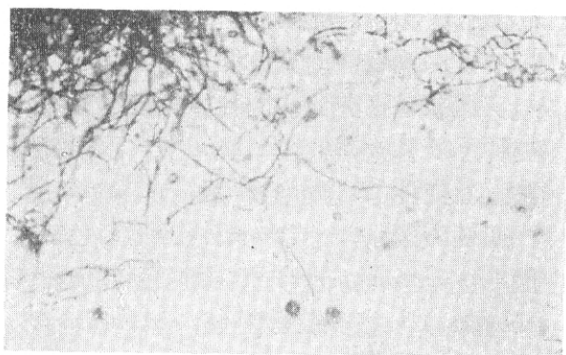


图1 暗黄直丝链霉菌 (*Streptomyces fulvoretus*) B-599 的孢子丝 (200×)

B-599 生长在高氏 I 号培养基上, 孢子丝直形至略弯曲, 无螺旋 (图1)。孢子椭圆至柱形, 表面平滑 (图2)。



图2 暗黄直丝链霉菌 (*Streptomyces fulvoretus*) B-599 的孢子 (6000×)

* 承中国科学院微生物研究所鉴定并定名, 特此致谢。

本文 1974 年 2 月 11 日收到。

表 1 B-599 的培养特性

| 培养基 | 气生菌丝体 | 基内菌丝体 | 可溶性色素 |
|---------|------------|--------------|-------------|
| 高氏一号 | 绒状,白至浅褐灰 | 浅黄后变褐色 | 无 |
| 蔡氏(蔗糖) | 薄绒状,白至浅灰 | 浅黄后转暗黄,带褐色斑纹 | 无至浅黄 |
| 克氏一号 | 薄绒状,白,浅灰至灰 | 浅黄,带灰褐色斑纹 | 无至浅黄 |
| 葡萄糖-天冬素 | 白至浅褐灰 | 无色至浅黄,后带黑灰斑纹 | 无至浅黄 |
| 葡萄糖-酵母膏 | 少,灰白 | 暗黄带褐色色调 | 暗黄 |
| 马铃薯切块 | 绒状,白,浅灰至灰 | 浅黄 | 暗黄,块色色背灰至褐灰 |

B-599 在各种培养基上的培养特性见表 1。

抗菌素 B-599-III 的
发酵及生物活性

二、生理特性

B-599 对各种炭源的利用结果见表 2,能利用葡萄糖、蔗糖、棉子糖、L-鼠李糖和肌醇等,不能利用 L-阿拉伯糖、D-果糖、D-木糖和甘露醇等。

表 2 B-599 对各种碳源的利用

| 碳源 | 利用情况 |
|----------------------|------|
| 葡萄糖、蔗糖 | +++ |
| 棉子糖 | +—++ |
| L-鼠李糖、肌醇 | + |
| L-阿拉伯糖、D-木糖、D-果糖、甘露醇 | — |

此外,B-599 能液化明胶,胨化牛奶,水解淀粉较弱。不能利用纤维素,不能还原硝酸盐为亚硝酸盐,酪氨酸酶反应阴性(表 3)。

表 3 B-599 的生理特性

| 试 验 | 反 应 | 试 验 | 反 应 |
|-------|-----|-------|-----|
| 黑色素形成 | — | 酪氨酸酶 | — |
| 硝酸盐还原 | — | 硫化氢产生 | — |
| 纤维素利用 | — | 明胶液化 | + |
| 牛奶凝固 | — | 淀粉水解 | + |
| 牛奶胨化 | +++ | | |

一、发酵

抗菌素 B-599-III 的发酵,采用下列培养基%(克):葡萄糖 4.5,淀粉 1,黄豆饼粉 2,氯化钠 0.5,硫酸镁 0.05,碳酸钙 0.6,自然 pH。发酵周期在 50—60 小时活力最高。用枯草杆菌 6633 作生物检定菌。发酵液经化学提取后可获得抗菌素 B-599-III。

二、抗菌素 B-599-III 的抗菌作用

用液体稀释法和固体划线法比较抗菌素 B-599-III 和色霉素 A₃ 对不同微生物的抗菌作用,结果见表 4。试验结果指出:抗菌素 B-599-III 和色霉素 A₃ 的抗菌谱相一致。对革兰氏阳性细菌如枯草杆菌 6633、金黄色葡萄球菌 209P、黄色微球菌、蜡样芽孢杆菌 756、化脓性链球菌 6538 和藤黄八叠球菌等有强烈抑制作用。但对革兰氏阴性细菌和各类真菌皆无明显抑制作用。

根据放线菌 B-599 的主要菌学特性,与资料报道相类似的菌种浅黄链霉菌直丝变种(*S. flavecoulus* var. *rectus*)^[2]、禾粟链霉菌直丝变种(*S. gramineus* var. *rectus*)^[3]、浅灰链霉菌(*S. griseolus*)^[4]、不产色链霉菌(*S. achromogenes*)^[4]、橄榄色链霉菌(*S. olivaceus*)^[4]、晓多链霉菌(*S. showdensis*)^[5]、大分子链霉菌(*S. macromomyceticus*)^[6]和阿布拉链霉菌(*S. aburaviensis*)^[7]比较,其相

表 4 抗菌素 B-599-III 与色霉素 A₃ 的抗菌活性比较

| 试 验 菌 | 抗菌素 B-599-III 的 最低抑菌浓度(微克/毫升) | 色霉素 A ₃ 的 最低抑菌浓度(微克/毫升) |
|--|----------------------------------|---------------------------------------|
| 枯草杆菌 6633 (<i>Bacillus subtilis</i>) | 0.125 | 0.125 |
| 金黄色葡萄球菌 209P (<i>Staphylococcus aureus</i>) | 0.125 | 0.125 |
| 黄色微球菌 (<i>Micrococcus flavus</i>) | 0.125 | 0.125 |
| 腊样杆菌 765 (<i>Bcillus cereus</i>) | 1.25 | 1.25 |
| 化脓性链球菌 6538 (<i>Streptococcus pyogenes</i>) | 0.25 | 0.25 |
| 藤黄八叠球菌 (<i>Sarina lutea</i>) | 0.125 | 0.125 |
| 产气杆菌 279 (<i>Bacterium aerogenes</i>) | >50 | >50 |
| 大肠杆菌 50 (<i>Escherichia coli</i>) | >50 | >50 |
| 绿脓杆菌 1338 (<i>Bacterium pyocyaneum</i>) | >50 | >50 |
| 普通变形杆菌 Ox-19 (<i>Proteus vulgaris</i>) | >50 | >50 |
| 结核分枝杆菌 607 (<i>Mycobacterium tuberculosis</i>) | 1.25 | 1.25 |
| *白色念珠菌 50 (<i>Candida albicans</i>) | >50 | >50 |
| *清酒酵母 (<i>Saccharomyces sake</i>) | >50 | >50 |
| *黑曲霉 (<i>Aspergillus niger</i>) | >50 | >50 |

* 使用固体划线法测定

似点是孢子丝直形无螺旋, 气生菌丝体浅灰至褐灰色。但是 B-599 与其他菌仍有明显的差异, 如浅黄链霉菌直丝变种在高氏合成 I 号琼脂上, 基内菌丝体黄白色而不变褐色, 且有黄至橙黄色可溶性色素。禾粟链霉菌直丝变种在合成琼脂上, 基内菌丝体无褐色色调, 能利用纤维素, 较弱的利用 L-阿拉伯糖、D-木糖和 D-果糖, 而不利用 L-鼠李糖。浅灰链霉菌在合成琼脂上, 基内菌丝体无色, 在马铃薯块上产生褐至黑色可溶性色素。橄榄色链霉菌在合成琼脂上, 基内菌丝体橄榄灰或黄绿色, 略能利用纤维素。不产色链霉菌在合成琼脂上, 基内菌丝体褐色, 产生褐色可溶性色素, 在马铃薯块上气生菌丝体白色, 产生红褐色可溶性色素。晓多链霉菌在葡萄糖-天门冬素琼脂上, 气生菌丝体黄白至黄灰, 在马铃薯块上无气生菌丝体, 基内菌丝体暗

褐灰, 产生暗褐灰可溶性色素。大分子链霉菌在马铃薯块上气生菌丝体无或少, 白色, 基内菌丝体绿灰至灰黄褐, 产生微褐色可溶性色素, 略能利用纤维素。阿布拉链霉菌的孢子为卵圆形, 能还原硝酸盐为亚硝酸盐。鉴于链霉菌 B-599 与上述各菌种的差异, 因此确定是一株新种, 并定名为暗黄直丝链霉菌 (*Streptomyces fulvoretectus* n. sp. Yen. et al.)。

参 考 资 料

- [1] 刘树勋等: 微生物学报, 14(2):164--171, 1974.
- [2] Гайзе, Г. Ф. (戴冠群、袁永生译): 拮抗性放线菌的分类问题, 科学出版社, 152, 1959.
- [3] 阎述初、卢运玉: 全国第三次抗菌素学术会议论文集, 科学出版社, 第一集, 238, 1965.
- [4] Waksman, S. A.: The Actinomycetes, Balliere, Tandall & Cox, Ltd., London, 2, 1961.
- [5] Nishimura, H. et al.: J. Antibiot. ser. A, 17(4):148, 1964.

[6] Chimura, H. et al.: *J. Antibiot. ser. A*,
21(1):44, 1968.

[7] Nishimura, H. et al.: *J. Antibiot. ser. A*, 10(5):205, 1957.

STUDIES ON THE ANTITUMOR ANTIBIOTICS B-599-III

I. THE BIOLOGICAL PROPERTIES OF *STREPTOMYCES* STRAIN B-599

LIANG SHU-FONG, CHU KUAN-PING, YUE CHÜN-MING, PAN WEN-CHUN AND
CHEN PEI-CHUN

(Institute of Materia Medica, Shanghai)

In an attempt to screen for antitumor antibiotics from actinomycetes, Chromomycin A₂ has been isolated from *Streptomyces* strain B-599 obtained from the soil samples in Kwangtung. It shows strong inhibitory activities against Gram-positive bacteria, but no activity against Gram-negative bacteria and fungi. *Streptomyces* strain B-599 is characterized by its morphological and cultural properties. Sporophores are straight without spirals. Spores are oval to cylindrical with smooth surface. The aerial mycelium is white on

synthetic agar turning later to gray or drab gray. The substrate mycelium is yellow to dark yellow. A yellowish soluble pigment is sometimes produced.

According to morphological, cultural and physiological characteristics, *Streptomyces* strain B-599 differs from all known species of *Streptomyces* described in the literature. Therefore, the strain is considered to be a new species and named *Streptomyces fulvorectus* n. sp. Yen. et al.