

抗瘤抗生素重氮丝氨酸的新产生菌

胡继兰 赵仪英

(中国医学科学院抗菌素研究所, 北京)

以精原细胞法为向导, 利用抗代谢的微生物学和化学方法进行跟踪, 找到一株产生抗瘤抗生素重氮丝氨酸 (Azaserine) 的菌株 402。根据其形态、培养特征、碳源利用及生化特性, 并与已知重氮丝氨酸产生菌及相近链霉菌比较, 认为 402 菌株是重氮丝氨酸的新产生菌, 也是链霉菌属中的一个新种, 命名为灰黑链霉菌 *Streptomyces griseoniger* n. sp. Yan & Hu, 1982。

关键词 灰黑链霉菌; 重氮丝氨酸

在用精原细胞法^[1]筛选抗瘤抗生素的过程中, 找到一株从广西的土壤分离出来的链霉菌 402 菌株, 其发酵液对精原细胞有稳定的活性, 但在通常条件下, 抗菌活性很弱或无, 用抗代谢的微生物学方法及化学方法进行跟踪, 发现 402 抗生素的抗菌特性及理化性质都与重氮丝氨酸相同, 而其产生菌则与已知的产生菌不相同; 故链霉菌 402 菌株是我国找到的一株新的重氮丝氨酸产生菌。现将该菌株的微生物学特性及分类鉴定结果报告如下。

(一) 形态特征

在多种合成培养基上都能形成发育良好的气生菌丝体及基内菌丝体。菌丝单又分枝, 在气生菌丝体上形成短而顶端卷曲的螺旋形孢子丝, 1—2 圈, 或钩状 (图 1)。孢子长圆形或柱形, $0.5-0.8 \times 1-1.2 \mu\text{m}$, 表面光滑 (图 2)。

(二) 培养特征

402 菌株培养在通常的分类培养基^[2]及国际链霉菌规划会议拟定的培养基 (简称 ISP 培养基)^[3]上形成粉末状气生菌丝体, 灰色或微绿的灰色、微蓝的灰色至暗灰色, 随培养基或培养时间而异。在含有铵氮和有机氮的培养基上, 基内菌丝体灰黑, 橄榄绿灰甚至黑色; 在各种硝酸盐琼脂上



图 1 402 菌株的孢子丝 (300×)

Fig. 1 Sporophores of strain 402

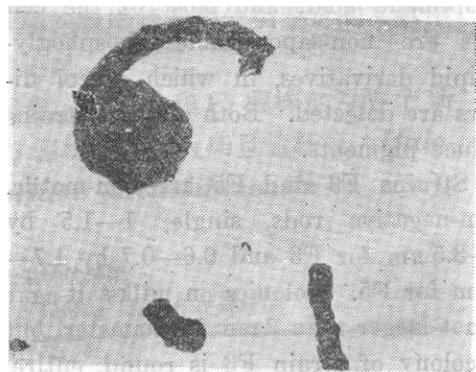


图 2 402 菌株的孢子 (7,000×)

Fig. 2 Spores of strain 402

本文于 1983 年 3 月 26 日收到。

承中国科学院微生物研究所阎逸初教授指导分类定名; 中国医科大学电镜室协助拍摄电镜照片; 本所化学室刘淑贤、宋爱兰同志进行化学鉴别; 本所肿瘤组薛玉川同志测定抗精原细胞活性; 本所照相室李强同志协助拍摄并洗印照片, 特此一并致谢。

基丝发育不良, 无色或微灰, 一般无可溶性色素, 培养日久, 培养基稍变橄榄灰色 (表 1)。

(三) 生化特性

1. 类黑素形成: 在 ISP1、ISP6 上形成深棕色色素。在 ISP7 及各种酪氨酸培养基 (酪氨酸葡萄糖琼脂及酪氨酸肉膏琼脂) 上均无黑色素形成。

2. 明胶液化: 培养 30 天不见液化。菌落周围有橄榄绿褐色可溶性色素形成。

3. 牛乳培养: 胨化力中等, 不凝固, 菌环黄色。

4. 淀粉水解: 在淀粉硫酸铵琼脂上水解阳性; 在淀粉硝酸盐琼脂上水解阴性。

5. 硝酸盐还原: 用 ISP 法测至 21 天仍为阴性。

(四) 碳源利用

能很好地利用葡萄糖、麦芽糖、半乳糖、D-木糖、D(+)-甘露糖为碳源而生长。其次是棉子糖、淀粉、蕈糖。不利用 L-阿拉伯糖、D-果糖、L-鼠李糖、乳糖、菊糖、甘露醇、肌醇、山梨糖、山梨醇、纤维素、

水杨苷、卫矛醇、醋酸钠。对蔗糖的利用可疑。

(五) 细胞壁组份

全细胞水解含有 DL-2,6 二氨基庚二酸、甘氨酸、葡萄糖和甘露糖。

(六) 抗菌特性

402 菌株的发酵液在普通细菌检定用的肉胨琼脂上抗菌活性弱或没有, 在谷氨酸钠合成琼脂上抗菌活性强 (表 2), 并具有广谱抗菌活性。在合成琼脂上的抗大肠杆菌活性可被色氨酸和苯丙氨酸所抵消 (图 3)。这些性质都与重氮丝氨酸相同^[4,5]。经化学鉴别, 其红外、紫外光谱及结晶性质, 均与重氮丝氨酸相同。

(七) 菌株的鉴定

402 菌株具有典型的链霉菌属的形态特征和细胞壁组份。

文献中已知的重氮丝氨酸产生菌有脆弱链霉菌 (*Streptomyces fragilis* Anderson et al. 1956)^[6] 和德干游动放线菌重氮丝氨酸亚种 (*Actinoplanes deccaensis* subsp. *azaserine* Torikata et al. 1978)^[7]。根据

表 1 402 菌株的培养特征

Table 1 Cultural characteristics of strain 402

培养基	气生菌丝体	基内菌丝体	可溶性色素
ISP2	粉末状, 微蓝灰、暗灰	黑褐	橄榄灰
ISP3	粉末状, 暗灰	绿灰至黑灰	淡橄榄灰
ISP4	薄粉状, 绿灰	绿灰或橄榄灰	无
ISP5	薄粉状, 黑灰或暗灰	黑灰或暗灰	无
ISP6	薄, 微灰白	深栗色	深栗色
ISP7	无	微量, 无色至微灰	无
蔗糖察氏琼脂	极薄, 粉状, 灰	贫乏, 无色	无
葡萄糖察氏琼脂	极薄, 粉状, 灰	少, 灰, 有时绿灰	无
高氏合成一号琼脂	粉末状, 橄榄灰	少, 无色至微绿灰	无
Pridhams 琼脂	粉末状, 绿灰	适度, 橄榄灰或绿黑	无
葡萄糖天门冬素琼脂	粉末状, 绿灰, 暗灰	绿黑, 有时淡紫黑, 黑褐	无或淡橄榄灰
马铃薯琼脂	粉末状, 绿灰, 暗灰	绿黑或黑褐	无
贝氏琼脂	半粉末状, 绿灰	绿黑	无
马铃薯块	粉末状, 白	黑褐	褐
苹果酸钙琼脂	薄, 白	白	无, 水解阳性
克氏合成一号琼脂	少, 灰	少, 灰	无

表 2 402 抗生素的抗菌活性

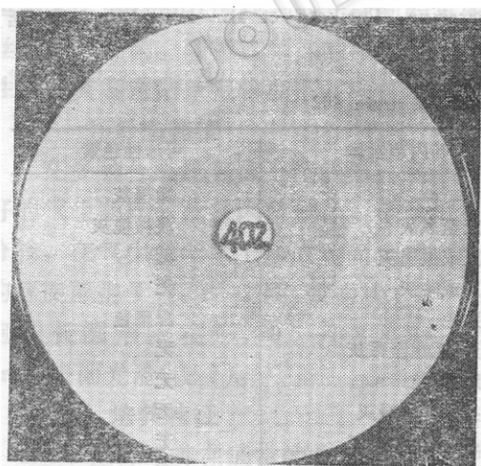
Table 2 Antibacterial Activity of Antibiotic 402

试验菌	检定培养基	抑菌圈直径 (mm)	
		发酵液	粗制品
枯草杆菌 <i>Bac. subtilis</i> 6633	有机	—	—
	合成	27	29.5
大肠杆菌 <i>E. coli</i> 0-111	有机	11	15.5
	合成	26	31.5

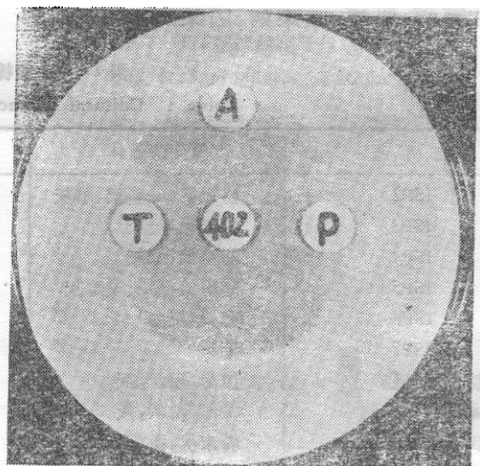
Anderson^[6] 和 Shirling^[8] 的描述,脆弱链霉菌 (*St. fragilis*) 的气生菌丝体为黄粉红色至褐色,基内菌丝体为黄橙至橙褐色;基内菌丝体的颜色及可溶性色素均对 pH 敏感。而 402 菌株的气生菌丝体灰色,基内菌丝体为不同色调的灰黑色,其颜色对 pH 不敏感,差别是很明显的。402 菌株与脆弱链霉菌在 Anderson 和 ISP 系统两套分类培养基上的培养特征比较结果见表 3。至于德干游动放线菌重氮丝氨酸亚种 (*Actinoplanes deccaensis* subsp. *azaserine*) 为游动孢囊放线菌,与 402 菌株不仅不同种,

而且也不同属。

402 菌株与气生菌丝体灰色、基内菌丝体灰黑色的链霉菌已知近似种如褐黑链霉菌 (*S. fuscostratus*)^[9]、黑微紫链霉菌 (*S. nigroviolens*)^[9]、黑化链霉菌 (*S. nigrificans*)^[10]、黑色链霉菌 (*S. niger*)^[11] 等比较表明,它们与 402 菌株的主要区别在于在硝酸盐琼脂培养基(高氏一号及察氏琼脂)上生长好,并形成不同色调的黑色基内菌丝体及褐黑色可溶性色素;而 402 菌株相反,在硝酸盐琼脂上生长不良,基内菌丝体基本无色,亦无可溶性色素,只在含铵氮或有机氮的培养基上,形成灰黑色基内菌丝体;其他如孢子丝形态、碳源利用等差别也极明显。402 菌株在形态培养特征上,似更接近灰难链霉菌(*S. griseodifficilis*)^[12,13](表 4),但是后者的主要特征是生长缓慢,在合成或有机的培养基上均未见到明显的黑色基丝。402 菌株生长迅速,3—4 天即形成孢子,在多种合成或有机的培养基上形成不同色调的灰黑色基内菌丝体,并具有不



(1)



(2)

图 3 苯丙氨酸和色氨酸对 402 抗生素在合成琼脂上抗大肠杆菌 B 活性的抵消作用

Fig. 3 Reversal of activity of antibiotic 402 against *E. coli* B, by phenylalanine and tryptophane in synthetic agar

(1)

抑菌圈对照

Control of inhibition zone

(2)

A——丙氨酸 Alanine T——色氨酸 Tryptophane
P——苯丙氨酸 Phenylalanine

表 3 402 菌株与脆弱链霉菌的比较

Table 3 Comparison of strain 102 with *Streptomyces fragilis*

项 目		脆弱链霉菌 <i>Streptomyces fragilis</i> C1437 Anderson et al. 1956	链霉菌 402 <i>Streptomyces</i> sp. 402
孢子丝		直或波曲,偶见短螺旋	螺旋,1—2 圈
孢子		圆形或卵圆形,光滑至疣	长圆形、柱形,光滑
气生菌丝体		浅黄粉红、浅粉红或浅红褐	粉末状,绿灰或暗灰
基内菌丝体		黄至黄橙至黄橙褐	绿灰至黑灰或黑褐
可溶性色素		无或少量黄或红褐或褐	无或橄榄灰
色素性质		pH 敏感,红褐色因加 0.05N HCl 变黄褐	pH 不敏感
类黑素形成		+	—
碳源利用	甘露糖	—	+
	阿拉伯糖	+	—

表 4 402 菌株与灰难链霉菌的比较

Table 4 Comparison of strain 402 with *Streptomyces griseodifficilis*

项 目		灰难链霉菌 <i>Streptomyces griseodifficilis</i> n. sp. Yan & Chou, 1964	链霉菌 402 菌株 <i>Streptomyces</i> sp. 402
孢 子 丝		螺旋形, 1—4 圈	螺旋形,1—2 圈
孢 子		圆形或椭圆形,光滑	长圆、柱形,光滑
高氏合成一号琼脂	A.M.	中灰,极薄的粉状	薄粉状,灰至橄榄灰
	S.M.	无色	少,无色至绿灰
	S.P.	无	无
察氏蔗糖琼脂	A.M.	中灰,极薄的粉状	灰,极薄粉状
	S.M.	无色	贫乏,无色
	S.P.	无	无
葡萄糖天门冬素琼脂	A.M.	深灰,粉状	粉状,绿灰或暗灰
	S.M.	黄绿灰至暗灰	微绿黑或紫黑,黑褐
	S.P.	无	无或淡橄榄灰
魏克氏曼琼脂	A.M.	秃裸或部分长气丝,粉白	粉状,微绿灰
	S.M.	山鸡黄	褐
	S.P.	无或淡黄	褐
碳源利用	果糖	+	—
	鼠李糖	+	—
	甘露醇	+	—
明胶液化		+	—

注: A.M.——气生菌丝体; S.M.——基内菌丝体; S.P.——可溶性色素。

同的碳源利用谱。

根据以上结果,认为 402 菌株是一株新的重氮氨酸的产生菌,也是链霉菌属中的一个新种,定名为灰黑链霉菌 *Streptomyces griseoniger* n. sp. Yan & Hu, 1982。

参 考 文 献

- [1] 中国医学科学院药物研究所: 肿瘤防治研究, 4: 72, 1974。
- [2] 中国科学院微生物研究所放线菌分类组: 《链霉菌鉴定手册》, 科学出版社, 北京, 1975。
- [3] Shirling, E. B. and D. Gottlieb: *Intern. J. Syst. Bacteriol.*, 16(3): 313—340, 1966。
- [4] Georgel, L. et al.: *Antibiotics and Chemo-*

- therapy*, 4: 775, 1954。
- [5] Kaplan, L. and C. C. Stock: *Federation Proceedings.*, 13: 239; 298, 1954。
- [6] Anderson, L. E. et al.: *Antibiotics and Chemotherapy*, 6: 100—115, 1956。
- [7] Torikata, A. et al.: *Sanko Keukyusho Nem-po*, 30: 84, 1978。
- [8] Shirling, E. B. and D. Gottlieb: *Intern. J. Syst. Bacteriol.*, 19(4): 319, 1968。
- [9] 阎逸初、张国伟: 微生物学报, 15(1): 27—30, 1975。
- [10] 阎逸初、张国伟: 微生物学报, 10(2): 258—273, 1964。
- [11] Waksman, S. A.: *The Actinomycetes*. Vol. 2, 247, 1961。
- [12] 阎逸初、周煦卿: 微生物学报, 10(4): 424, 1964。
- [13] 同[2], 188页。

A NEW PRODUCER OF ANTITUMOR ANTIBIOTIC AZASERINE

Hu Jilan Zhao Yiyang

(Institute of Antibiotics, Chinese Academy of Medical Sciences, Beijing)

Streptomyces 402 was found to be a producer of azaserine by means of spermatogonial depletion assay and microbiological chemical method. Its spore chains are spiral of 1—2 turns. The surface of spores are smooth. The aerial mycelium is gray to dark gray. The substrate mycelium is gray to black. It differs from known producer of azaserine: *Streptomyces fragilis* and *Actinoplanes deccaensis*

subsp. *azaserine*. It also differs from other known *Streptomyces* species of Gray-Black group. It is a new azaserine—producing species of *Streptomyces* and was named *Streptomyces griseoniger* n. sp. Yan and Hu, 1982.

Key words

Streptomyces griseoniger; Azaserine