

产生西伯利亚霉素的游动放线菌新变种

胡继兰 解美玉 吕婉瑜
(中国医学科学院抗菌素研究所, 北京)

七十年代以来, 游动放线菌属 (*Actinoplanes* Couch 1950^[1]) 的放线菌作为抗生素的新来源, 引起了学者们的重视, 相继报道了不少新抗生素^[2]; 我国找到的第一个新抗生素——创新霉素就是游动放线菌产生的^[3]。但游动放线菌产生的抗肿瘤抗生素仅有少数报道, 如重氮丝氨酸 (*Azaserine*)^[4]、5-氮胞苷 (*5-Azacytidine*)^[4]、放线菌素 (*Actinomycin*)^[4], 以及 Octamycin^[5]等。我国尚未见到这方面的报道。

我们在筛选抗肿瘤抗生素的过程中, 用选择

性培养基分离到一株少见放线菌 d110 菌株。该菌株无气生菌丝体, 在营养菌丝的顶端形成球形或亚球形孢囊, 每个孢囊能释放数十个孢子, 能运动, 是一株典型的游动放线菌属放线菌。d110 菌株的培养液, 用抗肿瘤抗生素的筛选方法 (精原细胞法)^[6] 检定有很强的活性, 同时也抗菌及细菌噬菌体。其活性成分之一经提纯鉴别为抗癌抗生素西伯利亚霉素 (*Sibiromycin*)。文献报告的西伯利亚霉素产生菌为西伯利亚链孢囊菌 (*Streptosporangium sibiricum*)^[7], 与 d110 菌株明显不同。本

表 1 d110 菌株的培养特征

培养基	菌落表面	菌落反面	可溶性色素
ISP2	丰厚, 不光滑, 无藕粉	肉色粉红至杏黄	淡黄或淡橙黄
ISP3	平滑, 肉色粉红至杏黄	乳脂至乳脂淡粉	淡黄
ISP4	菌落小, 平滑, 乳脂至肉色	乳脂至乳脂淡粉	无, 老龄微黄
ISP5	平滑, 杏黄	肉色粉红	麦秆黄
ISP6	稀少, 暗象牙黄	暗象牙黄	无
ISP7	平滑, 杏黄	乳脂至杏黄	微黄
葡萄糖天门冬素琼脂	光滑如细菌样, 蛋壳黄	蛋壳黄	无或微黄
察氏琼脂 (葡)	丰, 杏黄, 金叶黄, 深桔橙	同表面颜色	深橙黄
察氏琼脂 (蔗)	同上	同表面颜色	橙黄
高氏一号琼脂	平滑, 软木黄至芒果棕	同表面颜色	淡橙黄
苹果酸钙琼脂	微凸, 闪光, 奶油淡粉	奶油淡粉	无或微黄
贝氏琼脂	凸起, 皱褶, 肉色粉红	棕黄或肉色粉红	微黄
马铃薯琼脂	微小菌落, 无色	无色	无
马铃薯柱	凸起, 粗糙, 橙, 杏黄		无

文报告 d110 菌株的分类鉴定及与西伯利亚霉素原产生菌比较的结果。

(一) 形态特征

在各种琼脂培养基上菌落光秃, 无肉眼可见的气生菌丝体。在察氏琼脂、高氏琼脂及燕麦粉琼脂上形成孢囊, 孢囊着生在培养菌丝体的顶端 (图 1), 孢囊球形或亚球形, 直径 5—10 μ m, 孢囊柄 2—4 μ m (图 2)。成熟的孢囊遇水释放出数十个孢子, 孢子椭圆或圆形, 1—1.2 $\times$ 1—1.5 μ m。具有极丛生鞭毛 (图 3), 能运动, 往往能顺着一个

方向绕成圆圈, 有的孢子有钉样突起。d110 菌株的形态特征是典型的游动放线菌属的特征^[1]。

(二) 培养特征

使用通常有代表性的分类培养基^[8]及国际链

本文于 1985 年 1 月 3 日收到。

精原细胞法抗癌活性测定由本所薛玉川同志担任, 抗生素化学鉴别由本所金文藻同志完成, 孢子鞭毛摄影承本所周锡璋同志协助; 并承我所李群副教授、中国科学院微生物研究所阎逸初教授和阮继生副教授审阅本文, 特此一并致谢。

表 2 d110 菌株与相近已知游动放线菌种的比较

项 目		密苏里游动放线菌 <i>Actinoplanes missouriensis</i>		加尔巴丁游动放线菌 <i>Actinoplanes garbaidinensis</i> A/10889, 1976	d110 菌株 1982
		1967, 1969	A5987, 1978		
形 态	孢囊	球形至亚球形 6—14 μ m	球形至亚球形 5—15 μ m	球形,有裂片不规则 7—12 μ m	球形或亚球形 5—10 μ m
	孢子	球形至亚球形 1—1.2 μ m	球形至卵圆形 1.0—1.5 $\times$ 1—1.8 μ m	亚球形 1.0—1.5 μ m	椭圆,圆,极丛生鞭毛 1—1.2 $\times$ 1—1.5 μ m
培 养 特 征	葡萄糖天门冬素琼脂	A ₁ M.	无	无	无
		V.M.	中等,光滑,深橙	中等至不良,甜瓜黄	生长丰茂,皮壳状,暗橙
		S.P.	无	无	无或淡黄
	察氏琼脂	A.M.	无	无孢囊层中等至不良	无
		V.M.	适度,平滑,稻草色	生长好,污橙至杏橙	生长差,皮壳状,浅橙
		S.P.	无	无	无
	马铃薯琼脂	A.M.	无	无	无
		V.M.	生长好,厚皱,深橙	生长丰茂,橙至褐	菌落细小,无色
		S.P.	无	无	无
	生化反应*	阳性	S, N, C	B, H, N, G, S	C, M, N, S, Mp, Mc
		阴性	B, H, G, Mp, Mc, M	B, G, M, H(±)	C, M, Mp, Mc
碳源利用**	利用	1—4, 6, 8, 9	1—6, 8—10	1—6, 8—10	1—6, 8—11
	不利用	7, 12, 13	7, 12, 13	7, 12, 13	7, 12, 13
细胞壁组分		HDAP 或 meso-DAP + HDAP, 半乳糖, 葡萄糖, 甘露糖, 木糖, 阿拉伯糖	HDAP, 阿拉伯糖, 半乳糖, 葡萄糖, 甘露糖		meso-DAP(++), HDAP(+), 半乳糖, 葡萄糖, 甘露糖, 阿拉伯糖, 木糖
抗生素			5-Azacytidine	Garbadimycin	Sibiromycin

注: A. M. 气生菌丝体; V. M. 营养菌丝体; S. P. 可溶性色素。

* B. 黑色素形成; H. H₂S 产生; N. 硝酸盐还原; S. 淀粉水解; M. 苹果酸钙水解; C. Casein 水解; G. 明胶液化; Mp. 牛乳胺化; Mc. 牛乳凝固。

** 1. 阿拉伯糖; 2. 木糖; 3. 葡萄糖; 4. D-果糖; 5. D-甘露糖; 6. 甘露醇; 7. 肌醇; 8. L-鼠李糖; 9. 蔗糖; 10. 乳糖; 11. 半乳糖; 12. 棉子糖; 13. 纤维素。

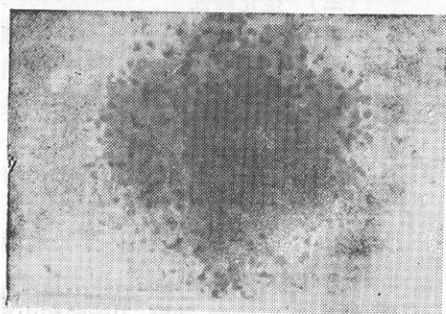
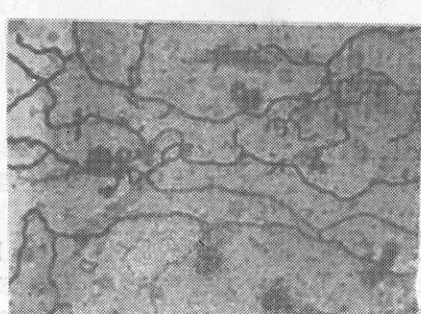
图 1 d110 菌株菌落表面的孢囊群($\times 200$)图 2 d110 菌株的孢囊($\times 400$)

表 3 d110 菌株与西伯利亚链孢囊菌的比较

项 目		西伯利亚链孢囊菌 <i>Streptosporangium sibiricum</i> *p. nov. 4761 Gause et al., 1969		d110 菌 株
形 态	孢囊	球形或椭圆形, 20—26×25—30 μm		球形或亚球形 5—10 μm
	孢子	长柱形, 不运动		球形或亚球形, 极生鞭毛, 能运动
培 养 特 征	高氏一号琼脂	A. M.	无	无
		V. M.	黄锈、红锈至红橙至浅褐	软木黄至芒果棕
		S. P.	无或栗色	淡橙黄至棕黄
	葡萄糖天门冬素琼脂	A. M.	无	无
		V. M.	无色至锈色	细菌样闪光菌落, 蛋壳黄
		S. P.	无	无或微黄
	蛋白胨琼脂	A. M.	无	无
		V. M.	浅玫瑰乳脂至褐	肉色粉红(贝氏琼脂)或无色(伊姆松)
		S. P.	褐至暗褐	微黄(贝氏琼脂)或无(伊姆松)
	ISP6	A. M.	无	无
		V. M.	褐至暗褐	暗象牙黄
		S. P.	褐至暗褐	无
酪氨酸酶反应		阳性	阴性	
碳源利用	棉子糖	利用	不利用	
	肌醇	利用	不利用	
发酵液抗菌活性		无活性, 提取后对 <i>Bac. mycoides</i> 稍有作用, 对枯草杆菌、八联球菌、大肠杆菌均有较强的作用, 抗瘤		

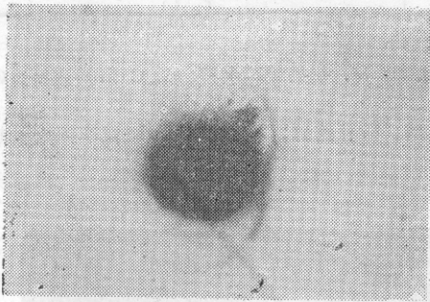


图 3 d110 菌株的孢囊孢子 (×16,000)

霉菌规划会议拟定的培养基^[9](简称 ISP 培养基)观察培养特征。颜色鉴定参考《链霉菌鉴定手册》^[8]中的色谱。

d110 菌株在各种合成或有机琼脂培养基上的菌落为肉色粉红、橙色玫瑰、杏黄或金叶黄至深橙色, 有的老培养物变为褐橙色。菌落平滑或厚厚堆起, 或皮壳状, 依培养基而异。无肉眼可见的

气生菌丝体, 有时在显微镜下看到菌落表面有微量发育不全的不孕性气生菌丝体。

产生淡黄至橙黄色可溶性色素。

在马铃薯琼脂上生长贫乏, 形成细小无色的菌落, 无可溶性色素。培养特征见表 1。

(三) 生化特性

能转化蔗糖、水解淀粉、强烈还原硝酸盐。水解苹果酸钙及酪素的活性也很强。凝固并胨化牛奶。不液化明胶, 不形成黑色素, 不产生硫化氢。酪氨酸酶反应阴性。

最适生长温度为 28—32℃, 50℃ 不生长。

(四) 碳源利用

利用 L-阿拉伯糖、木糖、D-果糖、D-葡萄糖、乳糖、半乳糖、麦芽糖、淀粉和水杨苷。不利用肌醇、棉子糖、纤维素、菊糖、卫矛醇和山梨糖。

(五) 细胞壁组分

二氨基庚二酸分析参照 Becker^[10]的方法。糖分析参照 Lechevalier^[11]的方法。

d110 菌株的细胞壁化学组分中含有内消旋二氨基庚二酸 (meso-DAP) 和 2,6-二氨基 3-羟基庚二酸 (HDAP), 前者含量多, 后者含量少。并含有半乳糖、葡萄糖、甘露糖, 以及少量阿拉伯糖和木糖。

(六) 抗菌活性

d110 菌株在淀粉-黄豆粉培养基中淹没培养的培养液, 用抗肿瘤抗生素的筛选方法 (精原细胞法) 检定表现高活性, 稀释到 20 倍仍为阳性。同时对细菌及细菌噬菌体也有很强的作用, 主要是抗革兰氏阳性细菌, 对革兰氏阴性细菌的作用较弱。d110 菌株不抗真菌。d110 菌株培养液中的活性成分之一, 经鉴别为抗肿瘤抗生素西伯利亚霉素 (Sibiromycin)。

(七) 分类鉴定

从形态、培养特征看, d110 菌株属于游动放线菌属 (*Actinoplanes*) 的橙色类群。根据孢囊的形态、大小、气生菌丝体的有无, d110 菌株可以和许多已知橙色游动放线菌区别开。从我国土壤找到的橙色游动放线菌如桔橙游动放线菌 (*Actinoplanes aurantiacus*)^[12]、淡桔橙游动放线菌 (*Actinoplanes pallidourantiacus*)^[12]、粉红孢囊游动放线菌 (*Actinoplanes roseosporangius*)^[12] 以及丛鞭毛游动放线菌 (*Actinoplanes tuftoflagellus*)^[13] 在同样条件下比较观察, 结果与 d110 菌株不同。

d110 菌株的形态、培养特征、碳源利用谱和细胞壁组分更接近密苏里游动放线菌 (*Actinoplanes missouriensis*)^[14-17] 和加尔巴丁游动放线菌 (*Actinoplanes garbadinensis*)^[12]。尤其是更接近密苏里游动放线菌。所不同的是 d110 菌株产生黄色可溶性色素的特性, 水解苹果酸钙的能力, 在马铃薯琼脂上生长的状态以及产生的抗生素是密苏里游动放线菌所不具备的 (表 2)。故认为 d110 菌株可以作为密苏里游动放线菌的一个新变种, 定名为密苏里游动放线菌黄色变种 (*Actinoplanes missouriensis* var. *flavus* n. var. 1982)。

(八) d110 菌株与西伯利亚链孢囊菌的比较

d110 菌株与西伯利亚霉素原产生菌西伯利亚链孢囊菌 (*Streptosporangium sibiromicum*) 比较结果 (表 3) 表明, d110 菌株与西伯利亚链孢囊菌不仅在孢子的运动性方面不同, 而且在孢囊的大小、孢子的形状、培养特征、生化反应、碳源利用、发酵液的抗菌活性等方面均有差别, 故认为游动放线菌 d110 菌株是西伯利亚霉素的新的产生菌。

参 考 文 献

- [1] Couch, J. N.: *J. Elisha Mitchell. Sci. Soc.*, 66: 87—92, 1950.
- [2] Parenti, F. and C. Coronelli: *Ann. Rev. Microbiol.*, 33: 389—411, 1979.
- [3] 李群等: 微生物学报, 16(2): 102—105, 1975.
- [4] Torikata, A. et al.: *Sankyo Kenkyusho Nemuro*, 30: 84—97, 1978.
- [5] Гаузе, Г. Ф. и др.: *Антибиотики*, 24: 563—566, 1979.
- [6] 中国医学科学院药物研究所: 肿瘤防治研究, 4: 72, 1974.
- [7] Гаузе, Г. Ф. и др.: *Антибиотики*, 14: 963—969, 1969.
- [8] 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.
- [9] Shirling, E. B. and B. Gottlieb: *Int. J. Syst. Bacteriol.* 16(3): 313—340, 1966.
- [10] Becker, B. et al.: *Appl. Microbiol.*, 12(5): 421—423, 1964.
- [11] Lechevalier, M. P.: *J. Lab. and Clin. Med.*, 71(6): 934—944, 1968.
- [12] 阮继生等: 微生物学报, 16(4): 291—299, 1976.
- [13] 阮继生、姜朝瑞: 微生物学报, 19(3): 235—241, 1979.
- [14] Couch, J. N.: *J. Elisha Mitchell. Sci. Soc.*, 79: 53—70, 1963.
- [15] Thiemann, J. E. et al.: *J. Antibiotics*, 22(3): 119—125, 1969.
- [16] Kimio, M. et al.: *Japan*, 78—104, 795, 1978.
- [17] Szanizlo, P. J. and H. Gooder: *J. Bacteriol.*, 94: 2037—2047, 1967.
- [18] Parenti, F. et al.: *J. Antibiotics*, 29(5): 505—506, 1976.