

## 庆丰链霉菌细菌素的提纯和鉴定

余茂勋\* 汪大建\*\*

Peter Hans Hofschneider

(Abteilung für Virusforschung, Max-Planck Institut für Biochemie, Martinsried bei München, Bundesrepublik Deutschland)

利用 Sephadex G25 凝胶过滤和磷酸纤维素层析相结合的方法,将庆丰链霉菌 Q3 所产生的细菌素——庆丰链霉菌素进行了提纯。这种细菌素是一种分子量为 4737 的蛋白性质物质,对热、紫外线和所试用的有机溶剂稳定,最适 pH 处于 7.0—9.0。嗜热菌蛋白酶和链霉蛋白酶 P 可以完全破坏其活性,蛋白酶 K 能部分减低其活性,但所试验的其它蛋白水解酶类,以及 DNA 酶和 RNA 酶均无损其活性。根据庆丰链霉菌素对所测定的革兰氏阳性和阴性菌的生长影响,呈现抑制生长和促进生长,有一部分介于中间类型。

**关键词** 细菌素;庆丰链霉菌素;庆丰链霉菌

细菌素是一类包括各种不同种类细菌所产生的杀菌物质<sup>[1-3,27]</sup>,虽然在自然界广泛分布在革兰氏阳性菌<sup>[4,5]</sup>和阴性菌中<sup>[2]</sup>,但在链霉菌属<sup>[6,7]</sup>和放线菌属中<sup>[8]</sup>,已报道的只有少数几种能产生细菌素和类细菌素物质。这并不表明放线菌很少产生细菌素,而实际上反映出获得能区分和检测细菌素的敏感指示菌较为困难。前文<sup>[9]</sup>已经证实庆丰链霉菌(*Streptomyces qingfengmyceticus*) Q3 产生一种细菌素,利用绿色产色链霉菌(*S. viridochromogenes*) 192 作为检测这种细菌素的灵敏指示菌,即它能区别庆丰霉素和庆丰链霉菌素,这就有可能促进庆丰链霉菌素的研究,本文叙述了这种细菌素的提纯和鉴定。

### 材料和方法

#### (一) 化学试剂和生化试剂

所用的化学试剂,除指明外,均系 E. Merck 产品,试剂级。嗜热菌蛋白酶和链霉蛋白酶 P 购

自 Serva,蛋白酶 K 为 E. Merck 产品,胰酶 III 型和 XI 型、DNA 酶 I 和 II 及 RNA 酶 A 均来自 Sigma,溶菌酶系东风生化试剂厂产品,木瓜蛋白酶购自 British Drug House (BDH),纤维素酶来自 Carl Roth KG,胰凝乳蛋白酶和胃蛋白酶由张树政教授惠赠。

#### (二) 菌种

庆丰链霉菌 Q3 为野生型自然变异株,绿色产色链霉菌 192 由广西土壤分得,均系前文<sup>[9]</sup>试验中所用菌种,其它细菌均来自中国科学院微生物研究所保藏组。

本文于 1986 年 1 月 16 日收到。

\* 现在中国科学院微生物研究所,北京。

\*\* 现在 Baecon, Inc., 20333 Merida Drive, Saratoga, CA 95070, U. S. A.

杜镇先生(马普生化所)对本工作提出不少宝贵建议,在操作技术方面给予多方面的帮助;魏芸斋和张仪裳(中国科学院成都生物研究所)曾参加部分试验;Dr. Peter Prehm (马普生化所)协助进行庆丰链霉菌素的糖的分析;Dr. Friedrich Lottspeich 和 Dr. Agnes Henschen-Edman (马普生化所)协助进行庆丰链霉菌素的氨基酸组成和 N 末端序列的分析,我们在此一并表示感谢。作者余茂勋根据中国科学院和马普科学促进协会交换计划接受奖学金。

### (三) 培养基和培养条件

黄豆粉培养基和马铃薯葡萄糖培养基均同前文<sup>[9]</sup>, GP 培养基含 1.8% 葡萄糖和 0.6% Difco 豚, 供生产庆丰链霉菌素用。培养条件除指明外均同前<sup>[9]</sup>。

生产庆丰链霉菌素采用 GP 培养基, 在 3 升三角瓶中装量 600ml, 接入一支斜面孢子, 在实验室摇床 (Braun Melsungen GmbH, Kühner 型) 于 28℃, 170r/min 振荡培养 72 小时, 以 7000 r/min 离心 15 分钟去除菌体及杂质, 将上清液在旋转式蒸发器 (Büchi) 于 45℃ 浓缩至 10ml 左右。

### (四) 庆丰链霉菌素活性的测定

庆丰链霉菌素活性测定同前<sup>[9]</sup>, 使用两倍稀释法, 悬滴在马铃薯葡萄糖培养基(上下层)上, 省却吸湿装置。在 28℃ 培养 18—24 小时后, 记录最终抑菌生长的稀释度作为任意单位 (AU/ml)<sup>[10]</sup>。

### (五) 庆丰链霉菌素的提纯

取浓缩液在 10℃ 低温室中上超细 Sephadex G25 (Pharmacia, 2.5 × 90cm) 柱, 预先经 0.05M Tris-HCl (pH7.5) 缓冲液平衡, 以同一缓冲液洗脱, 流速为 25ml/h, 每管收集 2ml, 用 Uvicord S (LKB) 紫外检测仪在 254nm 进行检测, 经活性测定后合并有生物活性分部, 浓缩或冷冻干燥, 即为粗制品。将所得浓缩粗制品上 Cellex-P (Bio-Rad) 或磷酸纤维素 PII (Sigma) 柱 (2.5 × 55cm), 预先经 0.05M Tris-HCl (pH 8.0) 缓冲液平衡, 将有生物活性分部合并、浓缩, 再通过 Sephadex G10 (Pharmacia) 柱脱盐, 冷冻干燥后即得纯品。

### (六) 纤维素凝胶 (Cellugel) 电泳

为了能直接对比庆丰链霉菌素活性与经 Sephadex G25 所收集的各峰分部的关系, 取相当于 20—25μg 蛋白量的庆丰链霉菌素粗制品在纤维素凝胶条 (Chemetron, Milano) (4 × 17 cm) 的一端点样, 立即以 TEN (0.02M Tris-HCl, pH7.6; 0.001M EDTA; 0.02M NaCl) 缓冲液在 150V、10mA 于 20℃ 电泳 3.5 小时, 电泳毕, 横向切开凝胶条分成两份, 一份放在玻璃盘中铺盖混有指示菌孢子悬液的上层琼脂, 凝固后在 28℃ 培养 24 小时, 照相记录; 另一份凝胶条经 10% TCA 固定, 用 2% 考马斯亮蓝 R250 (Serva) 染色, 7% 醋酸和 30% 甲醇液脱色, 记录结果。

### (七) 庆丰链霉菌素稳定性的测定

#### 1. 物理方法处理:

(1) 取 2ml 效价为  $5 \times 10^3$  AU/ml 的细菌素样品在水浴中分别加热至 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90 和 100℃ 10 分钟, 95℃ 分别处理 30 和 60 分钟, 121℃ 处理 30 分钟, 在冰水中速冷, 测定活性。取效价为 128 AU/ml 粗样品存放在不同温度下, 隔一定时间取样进行活性测定, 分别以 20℃ 和 0 日 (始试期) 的效价作为 100% 相对活性进行比较。

(2) 测定 pH 影响时, 先用 HCl 或 NaOH 调节 0.1M 磷酸缓冲液至不同 pH, 取 0.1ml 提纯细菌素样品与 0.9ml 不同 pH 缓冲液混合, 在 25℃ 保温 1 小时, 再调 pH 至 7.0 左右, 调整一致体积后分析存活活性, 以 pH7.0 的存活活性作 100% 计。

(3) 将提纯的细菌素样品在 28℃ 于 235.7nm 紫外线下照射, 分析其活性。

#### 2. 化学方法处理:

取等体积提纯细菌素分别与乙醇、甲醇、丁醇、乙醚、丙酮和氯仿混合, 摇床振荡 10 分钟, 然后蒸发至干, 再悬于起始体积的水中, 对照组用水代有机溶剂, 同样处理。

#### 3. 酶法处理:

为了解细菌素的性质, 常规需用各种蛋白水解酶类处理, 以分析细菌素的活性。表 2 列出酶处理的结果。取效价为  $3.2 \times 10^3$  AU/ml 的庆丰链霉菌素, 在以各种相应缓冲液的酶液中, 37℃ 保温 1 小时, 然后在 80℃ 加热 15 分钟, 终止反应。同样以不加酶的处理作为对照。利用指示菌在平板上进行存留活性的测定。

### (八) 分子量测定

按 Swank 和 Munkres<sup>[11]</sup> 法测定庆丰链霉菌素分子量, 分子量参照物为 BDH 产品 (产品号 No. 44247 2L)。

### (九) 庆丰链霉菌素活性谱

配制含终浓度为 62 AU/ml 效价的庆丰链霉菌素的 LB 培养基 (每升含 Difco 豚 10g, 酵母提取物 (Difco) 5g 和 NaCl 5g), 分别接入革兰氏阳性菌和阴性菌, 30℃ 培养 14 小时。以不加细菌素的培养物作为对照, 在 Zeiss 分光光度计 OD<sub>600</sub> 测定细菌悬液的混浊度来表示细菌的相对生长。

## 结 果

在试验条件下, 庆丰链霉菌素的产量经培养 96 小时可达到最高水平(图 1), 这与培养时间和细胞的生理年龄有直接相关。

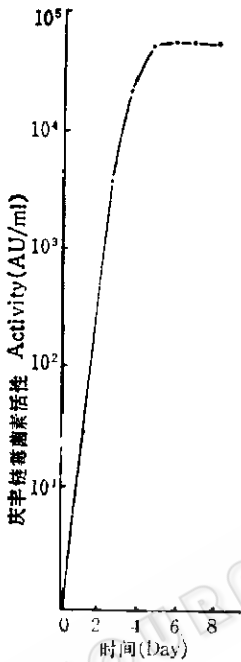


图 1 庆丰链霉菌素的生物合成

Fig.1 The production of qingfengcin during the growth of *Streptomyces qingfengmyceticus* Q3

为了解庆丰链霉菌素的性质, 需先将发酵上清液用旋转式蒸发器在 45℃ 浓缩, 一般可浓缩 100—500 倍, 然后进行提纯。先通过 Sephadex G 25 凝胶过滤, 然后再通过磷酸纤维素层析, 所得洗脱液呈现 7 个峰(图 2, A—G)。经过生物活性测定, D 峰含有细菌素活性, 而这种粗制品在纤维素凝胶电泳后, 显示一条与平板培养中抑制指示菌生长谱带(图 4) 处于同一位置的带, 直接说明 D 峰含有庆丰链霉菌素。经冷冻干燥后, D 峰呈现浅黄橙色粉状物质, 易吸湿。通过磷酸纤维素柱层析提纯, 仍

显示单一峰(图 3), 可以认为所得制品是具有生物活性均一品。经 SDS-尿素-聚丙烯酰胺凝胶电泳, 出现一条带, 其分子量为 4737 道尔顿(图 5)。

表 1 指出庆丰链霉菌素在 95℃ 60 分钟和 100℃ 10 分钟稳定, 在 121℃ 30 分钟

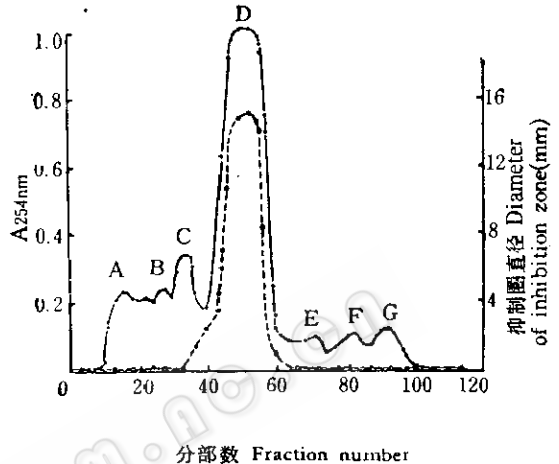


图 2 庆丰链霉菌素的 Sephadex G-25 凝胶过滤  
Fig. 2 Sephadex G-25 gel filtration of qingfengcin

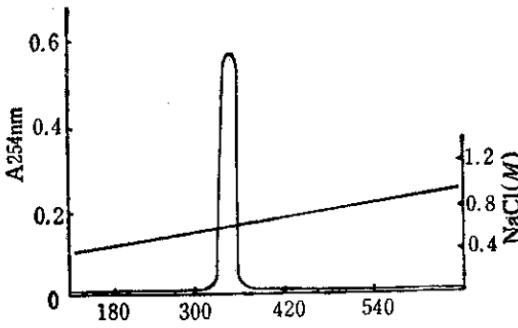
●—●—● 在 254nm 的吸光度  
○---○---○ 取 10μl 液体测定其活性, 以抑制圈直径表示。

The samples were eluted with equilibration buffer. The extinction was measured at 254 nm (●—●—●). Aliquots of 10 μl were tested for bacteriocin activity and inhibition zones were determined (○---○---○).

尚能存留 50% 的活性。在 4℃ 贮存的粗制品至少在 21 天内是稳定的, 但在 30℃ 失活较快, 80 天后完全丧失活性, 这可能是由于存放期粗制品有杂菌等物质污染引起失活。

庆丰链霉菌素在 pH 4.0—11.0 稳定, 最适 pH 为 7.0—9.0(表 1), 在偏碱和偏酸条件下均不稳定。在小于 600 erg/mm<sup>2</sup> 剂量的紫外线照射下不损害其活性。所试用的醇(甲醇、乙醇和丁醇)、乙醚、丙酮和氯仿等有机溶剂也不损其活性。

在所试用的酶中, 只有嗜热菌蛋白酶



洗脱体积 (ml)  
Elution volume (ml)-

图3 庆丰链霉菌素 Cellux-P 柱层析

Fig. 3 Cellux-P column chromatography of qingfengcin

收集位于峰位置的分部, 合并后冷冻干燥进行 Sephadex G-10 脱盐。

Peak fractions were pooled and lyophilized for desalting on Sephadex G-10 column.

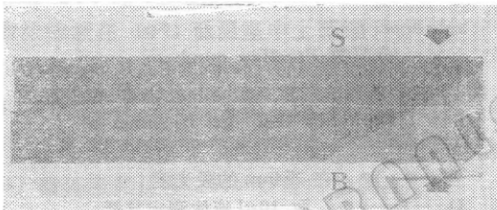


图4 庆丰链霉菌素及其在指示菌培养平板上显示的生物活性的相关性

Fig. 4 The coordination between qingfengcin and appearance of its biological activity on the lawn of indicator strain

S: 表示经染色的纤维素凝胶条

B: 表示经培养后的分析结果

箭头指出染色带与抑制生长区位于纤维素凝胶条的同一位置。

Symbols: S = stained strips; B = stripe for bioassay of qingfengcin. The arrow points the inhibition zone and corresponding stained band on both halves, respectively.

和链霉蛋白酶 P 能完全破坏庆丰链霉菌素的活性, 蛋白酶 K 可减少其活性 88%, 而其它蛋白水解酶类均不影响庆丰链霉菌素的活性。此外, RNA 酶 A 和 DNA 酶 I 和 II, 以及纤维素酶在所试验的条件下都不损害其活性(表 2)。根据这些结果, 可以认为庆丰链霉菌素具有蛋白质性质。

表1 物理因素对庆丰链霉菌素的影响

Table 1 Effects of physical agents on qingfengcin activity

(1) 庆丰链霉菌素对热的稳定性

Thermal stability of qingfengcin

温度°C Temperature	时间(分) Time(min)	残余活力(%) Residual activity
20	10	100
30	10	100
40	10	100
50	10	100
60	10	100
70	10	100
80	10	100
90	10	100
100	10	100
95	30	100
95	60	100
121	30	50

(2) 贮存期庆丰链霉菌素的稳定性

Stability (residual activity of bacteriocin) of qingfengcin during storage

贮存期(日) Duration of storage (day)	相对活力(%) Relative activity	
	4°C	30°C
0	100	100
7	100	50
14	100	50
21	100	50
28	50	25
46	50	6.2
61	25	3.1
80	1.5	0

(3) pH 对庆丰链霉菌素的影响

Effect of pH on qingfengcin activity

pH	相对活性(%) Relative activity
4.0	12.0
5.0	59.9
6.0	59.9
7.0	100
8.0	100
9.0	100
10.0	59.9
11.0	12.0

表 2 不同酶对庆丰链霉菌素的作用  
Table 2 Effect of enzymes on qingfengcin activity

酶 Enzyme	浓度 ( $\mu\text{g}/\text{ml}$ ) Concentration	相对活性(%) Relative activity	缓冲液系统 Buffer system
嗜热菌蛋白酶 Thermolysin	360	0	10% NaAC, pH 8.2
链霉蛋白酶 Pronase P	1250	0	0.01M Tris-HCl, pH 7.8
蛋白酶 K Proteinase K	900	12	0.01M Tris-HCl, pH 7.8
胰酶 III 型 Trypsin type III	574	100	0.1M Tris-HCl, pH 8.1, 3mM CaCl <sub>2</sub>
胰酶 XI 型 Trypsin type XI	380	100	0.1M Tris-HCl, pH 8.1 3mM CaCl <sub>2</sub>
胰凝乳蛋白酶 Chymotrypsin	200	100	0.1M phosphate buffer, pH 7.8, 0.1M CaCl <sub>2</sub>
胃蛋白酶 Pepsin	2000	100	0.1M phosphate buffer, pH4.5
木瓜蛋白酶 Papain	2000	100	0.1M Tris-HCl, pH7.0
溶菌酶 Lysozyme	200	100	0.1M Tris-HCl, pH 8.0
DNA 酶 I DNase I	480	100	0.1M Tris-HCl, pH 7.0, 4mM Mg <sup>2+</sup>
DNA 酶 II DNase II	50	100	0.1M Tris-HCl, pH 7.0, 0.8 mM Mg <sup>2+</sup>
RNA 酶 A RNase A	260	100	0.1M Tris-HCl, pH 7.7
纤维素酶 Cellulase	2000	100	0.1M phosphate buffer, pH 5.0

提纯的庆丰链霉菌素对各种不同的革兰氏阳性和阴性细菌的生长有不同的影响: 对细菌素敏感, 明显抑制生长(相对生长量 2.8—9.7%); 细菌素能促进生长, 相对生长量 101.8—200%, 超过对照组; 和中度影响, 呈现轻度抑制生长, 相对生长量 13.4—88.0% (表 3)。

## 讨 论

庆丰链霉菌 Q3 在 GP 培养基中生长 3 天可产生大量胞外分泌的庆丰链霉菌素(图 1), 这种细菌素的产生, 既不需丝裂霉

素 C 的诱导, 也不需要紫外线诱导<sup>[9]</sup>。至少有 6% 的细胞对其所产生的细菌素的抑制作用敏感<sup>[9]</sup>, 这种现象在丙酮丁醇梭菌<sup>[22]</sup>、A 组和 B 组链球菌<sup>[13, 24]</sup> 和金黄色葡萄球菌<sup>[15]</sup> 中已有报道。

庆丰链霉菌通过 Sephadex G25 柱凝胶过滤后, 再经过磷酸纤维素柱层析可以提纯。利用 SDS-尿素-聚丙烯酰胺凝胶电泳测定其分子量为 4737。除已知分子量为 1350 的农杆菌素 84<sup>[16]</sup> 和分子量为 4672 的粘球菌素(fulvocin C)<sup>[17]</sup> 外, 它也是最小的细菌素之一。

表 3 庆丰链霉菌素对细菌的影响

Table 3 Effect of qingfengcin on bacterial strains

菌株 Strain	相对生长(%) Relative growth
<i>Bacillus thuringiensis</i> subsp. <i>dendrolimus</i> AS 1.1294	2.8
<i>Pseudomonas convexa</i> AS 1.37	3.9
<i>Staphylococcus aureus</i> AS 1.1361	7.6
<i>Bacillus thuringiensis</i> subsp. <i>thuringiensis</i> AS 1.949	7.6
<i>Aquaspirillum tuomuerense</i> AS 1.1365	8.3
<i>Bacillus cereus</i> AS 1.229	9.7
<i>Brevibacterium luteum</i> AS 1.1204	13.4
<i>Corynebacterium pekinense</i> AS 1.299	15.7
<i>Pseudomonas putida</i> AS 1.1130	16.5
<i>Sarcina lutea</i> AS 1.523	27.5
<i>Sarcina lutea</i> AS 1.241	33.6
<i>Bacillus licheniformis</i> 2709	35.7
<i>Corynebacterium crenatum</i> B9	61.8
<i>Providencia stuartii</i> AS 1.1360	61.8
<i>Bacillus circulans</i> AS 1.383	65.3
<i>Bacillus licheniformis</i> AS 1.209	76.3
<i>Bacillus circulans</i> AS 1.554	77.4
<i>Serratia marcescens</i> AS 1.646	77.7
<i>Bacillus subtilis</i> AS 1.504	80.3
<i>Bacillus pumilus</i> AS 1.446	88.0
<i>Bacillus licheniformis</i> AS 1.521	101.8
<i>Salmonella typhimurium</i> AS 1.1190	103.4
<i>Escherichia coli</i> B	105.8
<i>Salmonella typhimurium</i> AS 1.1194	110.4
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> AS 1.50	113.2
<i>Pseudomonas fluorescens</i> AS 1.55	120.3
<i>Escherichia coli</i> C600	125.5
<i>Bacillus globigii</i> AS 1.1362	126.3
<i>Pseudomonas putida</i> AS 1.1003	129.7
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> AS 1.1129	130.8
<i>Bacillus cereus</i> AS 1.196	150.0
<i>Aerobacter cloacae</i> AS 1.243	171.1
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> AS 1.1205	187.6
<i>Bacillus macerans</i> AS 1.67	200.0

根据紫外线辐射和核酸酶处理的结果(表 2),庆丰链霉菌素不具有核酸性质,但它能被嗜热菌蛋白酶和链霉菌蛋白酶 P 完全破坏,表明它是一种具有蛋白质性质的物质。庆丰链霉菌素可以被蛋白酶 K 引致部分失活,这一点与许多革兰氏阳性菌所产生的细菌素被蛋白酶部分破坏其活性是相

似的<sup>[5,10]</sup>。一些蛋白水解酶,如胰蛋白酶 III 和 IX、胰凝乳蛋白酶、胃蛋白酶和木瓜蛋白酶的处理不影响其活性,这可能与分子的氨基酸序列和构象,尤其活性基团的位置有密切关系。据分析它含有大量的糖基化部分,而其中 90% 为葡萄糖(未发表),分子的 N 末端阻截。总括起来,可以

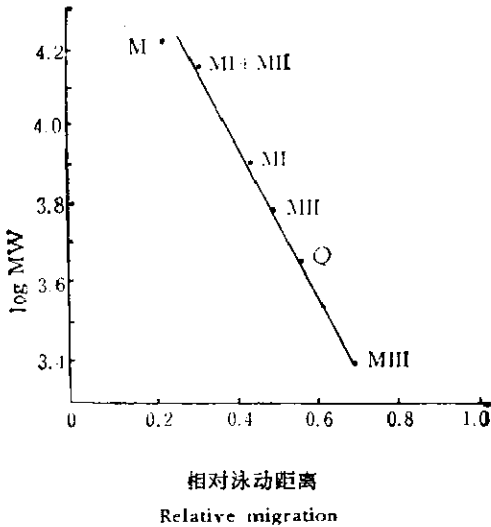


图5 用 SDS-聚丙烯酰胺凝胶电泳测定庆丰链霉菌 Q 的分子量

Fig.5 Estimation of molecular weight of qingtengcin by SDS-polyacrylamide gel electrophoresis according to Swank and Munkres M: Myoglobin (16,949)  
 MI + MII: Myoglobin I + Myoglobin II (14,404)  
 MI: Myoglobin I (8,159)  
 MII: Myoglobin II (6,214)  
 MIII: Myoglobin III (2,512)  
 Q: Qingtengcin (4, 737)

设想庆丰链霉菌素是一种糖蛋白,其蛋白性质部分包藏在糖部分内。这种特性说明有些细菌素只易遭到一些特殊蛋白酶<sup>[12,19]</sup>攻击的原因之一。

庆丰链霉菌素对热稳定,一般细菌素对热稳定是一种较为普遍的现象<sup>[18,20-25]</sup>,但对这种特性尚缺乏较为满意的解释。

从表3可见,在所被测的细菌中,只有几种细菌对这种细菌素敏感,尤其感兴趣的是两株苏芸金杆菌的生长明显地受到抑制,这使我们考虑到在自然界自发利用苏芸金杆菌消灭害虫的过程中,使用庆丰链霉菌粗制品农药是否会抑制苏芸金杆菌的繁衍。对于刺激某些细菌的生长,值得进一步探究其应用的可能性。

为了探讨产生庆丰链霉菌素的基因,需要首先解决这种基因是在染色体或在质

粒上,我们分离到一个较大的质粒,分子量在  $100 \times 10^6$  以上(未发表),张泉渡等<sup>[26]</sup>报道从庆丰链霉菌 M-15 分离到一小质粒 ( $10 \times 10^6$ ),在消除质粒与细菌素产生的相关试探中,还没有能获得肯定的结果,很可能与一般细菌的细菌素多系质粒控制的现象不同。

### 参 考 文 献

- [1] Bradley, D. E.: *Bacteriol. Rev.*, **31**: 230—314, 1967.
- [2] Reeves, P.: *The Bacteriocins*. Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, New York, 1972.
- [3] Brandis, H.: *Naturwissenschaften*, **62**: 22—28, 1975.
- [4] Tagg, J. R. et al.: *Bacteriol. Rev.*, **40**: 722—756, 1976.
- [5] Hamon, Y. and Y. Peron: *C. R. Acad. Sci.*, **257**: 1191—1193, 1963.
- [6] Roelants, P. and F. Naudis: *Antonie van Leeuwenhoek*, **30**: 45—53, 1964.
- [7] Schurter, W. et al.: *J. Gen. Microbiol.*, **113**: 243—253, 1979.
- [8] Franker, C. K. et al.: *Antimicrob. Agents Chemother.*, **12**: 410—417, 1977.
- [9] 余茂劲等: *微生物学报*, **21**: 57—62, 1981.
- [10] Mayr-Harting, A. et al.: In "Methods in Microbiology" eds. J. R. Norris and D. W. Ribbons, Vol. 7A, pp. 315—422, 1972.
- [11] Swank, R. T. and K. D. Munkres: *Anal. Biochem.*, **39**: 462—477, 1971.
- [12] Barber, J. M. et al.: *Appl. Environ. Microbiol.*, **37**: 433—437, 1979.
- [13] Kuttner, A. G.: *Jour. Expt. Med.*, **124**: 279—291, 1966.
- [14] Krämer, J. and H. Brandis: *Zentralblatt für Bakteriologie Parasitenkunde, Infektionskrankheiten und Hygiene (Abt. 1)* **219**: 290—301, 1972.
- [15] Gagliano, V. J. and R. D. Hinsdill: *J. Bacteriol.*, **104**: 117—125, 1970.
- [16] Thompson, R. J. et al.: *Antimicrob. Agents Chemother.*, **16**: 293—296, 1979.
- [17] Hirsch, H. J. et al.: *Arch. Microbiol.*, **119**, 279—286, 1978.
- [18] Hongo, M. et al.: *Agri. Biol. Chem.*, **32**: 773—780, 1968.
- [19] Haag, W. L. and A. K. Vidaver: *Antimicrob. Agents Chemother.*, **6**: 76—83, 1974.
- [20] Stonier, T.: *J. Bacteriol.*, **79**: 889—898, 1960.
- [21] Likhoded, V. G.: *Antibiotiki*, **8**: 771—777, 1963.
- [22] McCurdy, H. D., Jr. and T. H. MacRae: *Can.*

- J. Microbiol.*, **20**: 131—135, 1974.
- [23] Krämer, J. and H. Brandis: *J. Gen. Microbiol.*, **88**: 93—100, 1975.
- [24] Mossie, K. G. et al.: *Antimicrob. Agents Chemother.*, **16**: 724—730, 1980.
- [25] Rogolsky, M. and B. B. Wiley: *Infect. Immun.*, **15**: 726—732, 1977.
- [26] 张泉渡等: 遗传学报, **10**: 15—19, 1983。
- [27] Konisky, J.: *The Bacteria*, ed. I. C. Gunsalus, Bacterial diversity, eds. L. N. Ornston and J. R. Sokatch, Academic Press, New York, San Francisco, London, **6**: 71—136, 1978.

## PURIFICATION AND CHARACTERIZATION OF QINGFENGICIN—A BACTERIOCIN PRODUCED BY *STREPTOMYCES QINGFENGMYCETICUS*

Yu Maoxiao Wong Taikian Peter Hans Hofschneider

(*Abteilung Virusforschung, Max-Planck-Institut für Biochemie,*

*Martinsried bei München, Bundesrepublik Deutschland*)

A bacteriocin from *Streptomyces qingfengmyceticus* Q3 designated as qingfengicin has been purified and characterized. A combination of gel filtration on Sephadex G-25 and chromatography on phosphocellulose results in the purification of qingfengicin. The bacteriocin has a molecular weight of 4737 and with proteinaceous character. The activity of qingfengicin is stable to heat, ultraviolet light and tested organic solvents and the pH optimum of the activity is between 7 and 9. The activity of qingfengicin is completely destroyed by thermolysin and pronase P, partially aboli-

shed by proteinase K, but not diminished by other tested proteolytic enzymes as well as DNases and RNase.

The activity of qingfengicin on bacteria was studied and the tested bacteria basically can be divided into three groups by their relative growth in the presence of qingfengicin.

### Key words

Bacteriocin; Qingfengicin; *Streptomyces qingfengmyceticus*