



第四次

全国抗生素学术会议

论文集·上·

上海科学技术文献出版社

第 四 次 全国抗生素学术会议论文集

上 册

《第四次全国抗生素学术会议论文集》编辑委员会编

主编：陈肖庆

唐宁馨

黄乐毅

上海科学技术文献出版社

第四次全国抗生素学术会议论文集

(上册)

《第四次全国抗生素学术会议论文集》编辑委员会编

*

上海科学技术文献出版社出版

(上海市武康路2号)

新华书店上海发行所发行

上海商务印刷厂印刷

*

开本 787×1092 1/16 印张 20.5 字数 507,000

1984年12月第1版 1984年12月第1次印刷

印数: 1—3,200

书号: 14192·29 定价: 4.20 元

《科技新书目》81-210

《第四次全国抗生素学术会议论文集》编辑委员会名单

顾 问：童 村

主任编委：陈肖庆

编 委：（以姓氏笔划为序）

于久琛	王其南	王浴生	王 嶽	尹莘耘	许文思
刘 润	刘裕昆	刘敦苐	刘颐屏	刘 璞	李家泰
李焕娄	沈家祥	汪 复	陈肖庆	陈岱宗	陈博君
陈耀鸿	何毓明	严碧涯	林文良	郑昌亮	张致平
胡宝华	郝师曾	俞俊棠	袁明昕	阎逊初	顾觉奋
顾名澜	唐宁馨	唐孝萱	崔祥瑛	黄乐毅	童 村
程连芳	焦瑞身	蒋 鎏	蔡聿彪	蔡顺养	蔡润生
熊宗贵	戴自英				

前 言

中国药学会及中国微生物学会于1981年11月2日至7日在桂林联合召开了第四次全国抗生素学术会议,会议共收到科研论文及综述报告297篇,内容分别涉及医用、农用新抗生素及其筛选方法,微生物来源及半合成抗生素的品种和生产工艺,抗生素质量,分析与检验,抗生素药理,临床应用以及抗生素基础研究等方面,反映了近几年来我国抗生素科研工作的主要成绩与进步。本书为学术会议论文选集。

参加这次学术会议的科研论文在数量及质量方面都达到了一定的水平。新抗生素研究方面的论文反映出我国在抗生素产生菌的分类、鉴定及抗生素分离、结构测定方面的能力有了提高,抗生素的筛选范围有了扩大,研究内容发展到了酶抑制剂、抗生素增效剂、杀虫(螨)抗生素等领域,并筛选得到了一批效果较好的医用新品种。在抗生素生产工艺方面,不仅反映了正继续不断地进行菌种选育、发酵规律、提炼方面及成品质量控制方面的研究工作并取得了很好的成绩,使我国抗生素生产技术的某些方面达到了国际先进水平,而且也开始致力于抗生素生物合成、化学半合成、酶法合成、组分分离及控制等方面的研究工作。一些抗生素及生理活性物质的药理、临床研究报告则表明我国在抗生素的药代动力学、抗菌作用机制、耐药现象、毒副反应、抗肿瘤效果及老药新用途方面都做了一定的工作。农用抗生素方面的论文也反映了研究范围的开扩以及所取得的成绩。

鉴于近年来抗生素领域研究工作的发展,抗生素的含义及内容正在逐步地扩大、丰富和深化,习用的“抗菌素”一词的含义早已越出了“抗菌”的范围,人们对新的发展正在进行新的认识,若继续按“抗菌”的范围去理解“抗菌素”,势必将对抗生素学科的进一步发展产生某种限制和束缚作用,因此为了更确切地反映该类物质所包含的实质内容,会议认为“抗菌素”应重新称之为“抗生素”。本书已按此精神统一将文中“抗菌素”改为“抗生素”。

考虑到篇幅的关系,本书选编会议论文中的180篇,并略去了所有外文文摘,部分论文由于未送全文或已商定在某期刊发表,在选编时一般都以文摘形式采用。由于汇编者的水平,错误之处难免,欢迎读者批评指正。

本书的出版工作得到四川抗菌素工业研究所、华北制药厂抗菌素研究所、福建微生物研究所、大连制药厂、武汉抗菌素厂、福州第二抗菌素厂等单位的资助,华北制药厂、安阳第一制药厂、四川长征制药厂、上海第四制药厂、福州抗菌素厂等单位也给予了大力支持,抗生素界的很多同志表示了关心和帮助。《抗生素》杂志编辑部的朱春元、张荣富、李永萍、尹汉昌、杨锐等同志做了很多具体工作,特此一并表示感谢。

《第四次全国抗生素学术会议论文集》编辑委员会

1982年,成都

目 录

上 册

综 述 报 告

链霉菌的分子遗传和基因工程研究动态	薛禹谷 (1)
产生抗生素的非常见放线菌	阎逊初 (7)
八十年代国外 β -内酰胺抗生素及其它抗生素的动态	陈岱宗等 (20)
七十年代小单孢菌所产生的主要抗生素	金章旭等 (46)
✓ 抗生素产生菌的基因突变、调节和转移 (摘要)	宋友礼 (63)
✓ 抗生素生物合成控制的进展 (提要)	熊宗贵等 (64)
✓ 抗生素生物合成的人工调控	余尔谷 (64)
利福霉素生物合成和代谢调节研究的进展 (摘要)	焦瑞身 (66)
关于质粒起源的研讨	吴瑞武 (67)
干扰素和干扰素诱生剂	陈鸿珊 (71)
抗生素临床研究的一些进展	戴自英 (81)
固定化酶、固定化细胞在抗生素和医药工业上的应用	王文仲 (96)
我国抗生素工业废水治理的技术道路	邵 林 (108)

科研论文——新抗生素筛选、产生菌分类

大环内酯类抗生素产生菌的选择分离方法 (摘要)	张鸿龙等 (113)
一种筛选微管抑制剂的生物模型——美登素等药物对四膜虫纤毛再生的抑 制作用 (摘要)	陈兆华等 (113)
紫色类群小单孢菌分类的研究	金章旭等 (114)
蒽环类抗肿瘤抗生素 14A 的研究 I. 产生菌的分类学 (摘要)	朱宝泉等 (127)
蒽环类抗肿瘤抗生素 14A 的研究 (摘要) II. 发酵、分离、理化特性和生物 学活性	朱宝泉等 (128)
大环内酯类抗生素 X-7 的研究 I. 生物学特性的研究 (摘要)	叶清泉 (128)
大环内酯类抗生素 X-7 的研究 II. 抗生素 X-7-III 的分离、纯化和 鉴定 (摘要)	叶蕴芬等 (129)
新抗肿瘤抗生素 QR-38B ₃ 的分离与结构 (摘要)	刘树勋等 (130)
抗肿瘤抗生素 R-588B 的鉴别与抗癌活性	戚长青等 (131)
链霉菌 3719 及其所产生抗生素核糖霉素的研究	王文翔等 (138)
链佐菌素产生菌 1006-60 的分类学及其抗生素的生物性能 (摘要)	李 群等 (148)
链霉菌 980 代谢产物的分离和鉴别 (摘要)	邱碧玉 (148)
抗生素 576 研究 (摘要)	缪昌城等 (148)

链霉菌属的一个新种——玫瑰绛红链霉菌.....

- 中国农业科学院中兽医研究所药物室抗生素组(149)
- 微生物产生的酶抑制剂研究 I. 蛋白酶抑制剂的筛选方法探讨 刘华珍等(150)
- 微生物产生的酶抑制剂研究 II. 放线菌 S-81-24 产生糜蛋白酶抑制剂的初步探讨 刘华珍等(156)
- 氨基糖苷类抗生素增效剂 3·185 的研究 程元荣等(160)

科研论文——抗生素产生菌遗传、育种

- ✓产黄青霉菌球状菌株原生质体的分离、再生和对紫外光的敏感性..... 刘颐屏等(167)
- 青霉素产生菌菌株改良的研究 III. 稳定高产变种 17-94 的选育 宋友礼等(175)
- 青霉素产生菌菌株改良的研究 IV. 多重抗药性变种 29-48 及其特性研究 宋友礼等(179)
- 产黄青霉菌原生质体融合产物的特性与产青霉素能力的初步考察 肖信发(185)
- 青霉素产生菌产黄青霉 194 诱变育种及突变株特性的研究 俞敦年等(195)
- 顶头孢霉菌 7-305 菌株的选育研究 张永昌等(199)
- 甲基磺酸乙酯对头孢菌素产生菌顶头孢霉菌的诱变效应 周琪文等(202)
- 红霉素链霉菌遗传变异研究——斜面传代与菌落类型及抗生素产量的关系..... 张筱玉等(205)
- 红霉素链霉菌的溶源转化研究(摘要) 张筱玉等(211)
- 诱变卡那霉素链霉菌提高合成卡那霉素 B 的能力(摘要) 吕之洪等(211)
- ✓应用氦-氖激光处理土霉菌的初步试验(摘要)..... 梅炳礼(211)
- 抗真菌抗生素 414 颜色回复突变高产菌株的获得 何元景等(212)
- 庆丰链霉菌中 SQP1 质粒控制——致育性的遗传证明 郑幼霞等(217)
- 庆丰链霉菌和吸水链霉菌井冈变种——种间接合的杂种建成及其性质 郑幼霞等(222)
- 庆丰链霉菌原生质体的形成、再生及融合重组研究(摘要)..... 王洪洲等(228)
- 不同保护剂对冷冻干燥法保藏链霉菌的影响 赵仪英等(228)

科研论文——抗生素生物合成、发酵工艺

- 核糖霉素的生物合成 I. 碱性磷酸酯酶的形成与核糖霉素生物合成的关系 刘若莹等(235)
- 地中海诺卡氏菌合成力复霉素代谢调节的研究 III. 硝酸盐对力复霉素 SV 和脂肪合成的调节作用 顾薇玲等(239)
- 地中海诺卡氏菌突变株生化互补和力复霉素合成途径的研究 III. 力复霉素生物合成中间产物的定量生物测定 金志坤等(244)
- 地中海诺卡氏菌突变株生化互补和力复霉素合成途径的研究 IV. A-32 中间体的研究 刘慈俊等(247)
- 金色链霉菌 A-94 的阻断菌株控制——制霉菌素生物合成的研究(摘要) ... 蔡润生等(252)
- 青霉菌砂土孢子量对拉氏斜面孢子生长的影响(摘要) 林守谦(252)
- 青霉素发酵过程中前体浓度对提取收率影响的研究 石伟安等(252)

球状青霉菌发酵过程的需氧规律	朱宁一等 (255)
产黄青霉球状菌株 STP-6 发酵多响应微分动力学模型参数估计	李树瑞 (261)
排气中 CO_2 测定反馈控制葡萄糖流加均匀度提高青霉素发酵水平的研究	诸茂华等 (269)
青霉素摇瓶发酵溶氧浓度的监测(摘要)	洪定如等 (272)
• 头孢菌素发酵过程中头孢菌素 C 及脱乙酰头孢菌素 C 的控制	朱宏娟等 (272)
以展开青霉生产灰黄霉素时发酵工艺探讨(摘要)	陶树玉等 (276)
以荨麻青霉生产灰黄霉素时发酵工艺探讨(摘要)	阎明选 (276)
庆大霉素组份的生物转化因素及其控制的研究	朱金山等 (276)
阿霉素、柔红霉素生产工艺研究(简报)	许文思等 (282)
土霉素发酵过程中碳原子转化得率与菌种改良、工艺改进关系的探讨	姜靖美等 (293)
杂色云芝的研究 II. 某些影响云芝胞内及胞外多糖产量的因素(摘要)	张之荫等 (298)
抗生素发酵液流变特性的研究(摘要)	朱宁一等 (298)
搅拌通气条件及流体物理特性与体积氧传递系数 K_{La} 的关系的研究	俞俊棠等 (298)
维尼纶纤维空气过滤器的设计和空气过滤器不消毒工艺在抗生素生产中的 应用	屠天强等 (309)
带有压力补偿膜的新型测氧电极的研制(摘要)	李友荣等 (315)
青霉素酶电极的研制 I. 固定化酶膜的制备	陈淑章等 (315)

综 述 报 告

链霉菌的分子遗传和基因工程研究动态

薛 禹 谷

(中国科学院微生物研究所, 北京)

已知抗生素产生菌的百分之六十属于链霉菌属(*Streptomyces*), 所产生的 70 种抗生素已经大量生产。从所产抗生素的化学结构及作用机制类型的多样性来说, 这一类微生物是独一无二的。另外, 其形态分化和生化遗传的特点, 在理论研究和生产应用方面也引起了人们的注意^[1, 2]。链霉菌的形态发育周期较复杂, 包括从营养菌丝体的生长到孢子形成一系列变化。重组 DNA 技术对链霉菌生物学各个方面的研究分析将提供有力的手段, 有利于了解在分化过程中抗生素产生的代谢途径以及它的分子机制, DNA 分子克隆可使在遗传上有很大差异的菌种间进行 DNA 重组, 因而导致产生新的抗生素类型或增加抗生素产量。在不同链霉菌之间进行基因转移, 并为阐明特定基因的表达提供有力的手段。所以近年来链霉菌的分子遗传和基因工程的研究引起了各国有关科学工作者的很大兴趣。

一、国际动态和趋势

国际会议: 1978 年 6 月在美国波士顿召开的第三届国际工业微生物遗传会议上交流的 80 篇论文中, 链霉菌占了 33 篇^[3]。1980 年 7 月在加拿大召开的第六届国际发酵会议中, 有关质粒参与生物合成的报告有七篇, 其中链霉菌质粒参与抗生素生物合成的即占 6 篇。重组 DNA 在工业的应用方面共 9 篇, 涉及链霉菌的就有 3 篇^[4]。这均说明当前链霉菌质粒在生物合成中的作用已广泛受到重视, 在工业应用方面也做了些开创性的工作。几年以前只有天蓝色链霉菌所产的次甲霉素被证明其有关基因全部位于质粒上(尽管质粒 DNA SCP1 的分离工作至今尚未成功), 现在已证明有 20 种以上抗生素的生物合成与质粒有关, 有的还进行了质粒 DNA 的分离和电镜观察。DNA 体外重组和基因克隆工作也开始在链霉菌中开展起来。

国际上从事放线菌分子遗传和基因工程的实验室工作动态:

美国 Stanford 大学的 S. N. Cohen 实验室是首先从事 DNA 重组工作的。他们以往主要做细菌重组工作, 近年来对放线菌分子遗传和基因工程也产生了兴趣, 现在正与原在英国的 D. A. Hopwood 实验室的 M. J. Bibb 合作进行这方面的研究。1980 年《Nature》284 卷第 10 期上发表了关于在产抗生素的链霉菌中利用 DNA 克隆系统进行基因种间转移的报告。在 1980 年 7 月在加拿大召开的第六届国际发酵会议上报告了放线菌无性繁殖系的进展。

哈佛大学的 D. Botstein 也进行放线菌的分子遗传学的研究。此外, Wisconsin 大学的

B. Weisblum, Davis 和 White 以及 Georgetown 大学的 Katz 也在进行有关理论和应用的研究^[5]。

美国几家大公司如 Eli Lilly, Merck, Bristol Myer, Upjohn 等公司所属单位均在进行放线菌的分子遗传和遗传育种方面的研究,例如 Bristol Myer 的张隆鼎在第三届国际工业微生物遗传会上做了关于卡那霉素产生菌中质粒的消除对菌株特性和卡那霉素形成的影响的报告^[3]; Upjohn 公司的 V. S. Malik 在第六届国际发酵会议上报告从产生氯霉素的委内瑞拉链霉菌分离质粒 puc 3, 此质粒和 pBR 322 都用 BamHI 切后进行重组, 用 *E. coli* HB 101 作为受体进行转化, 电镜观察重组质粒中含有 puc 3 质粒 DNA 的倒置片段, 但含有重组 DNA 的菌株中均未找到能产氯霉素。虽然如此, 此重组质粒还是可用作链霉菌无性繁殖的载体^[4]。

英国 John Innes 研究所的 C. J. Thompson 和 D. A. Hopwood 等提出了一个在链霉菌中进行 DNA 克隆的方法^[6]。使得两个在遗传上原来无关的链霉菌之间能进行基因转移, 这为研究特定基因的表达提供了可能的手段。他还在 1980 年第六届国际发酵会议上做了有关放线菌中抗生素合成的遗传控制分析的报告^[4]。此外, 他们还介绍了链霉菌质粒克隆载体的工作, 44 株紫红链霉菌群中有 11 株产生质粒^[7]。

John Innes 研究所的 J. E. Suarez 和 K. F. Chater 使用一个具有相当广泛寄主范围的链霉菌的温和噬菌体 Φ C31, 于其中插入一个含有 pBR 322 的双功能的复制子作为载体进行克隆^[8]。这样, 噬菌体的有效起动力加强了重组 DNA 的基因表达, 还可得到克隆 DNA 的高拷贝数的基因产物。

英国约翰莫里斯研究所的 John Makins 和伦敦工业学校的 Geolfreg Holt 等利用脂质体(Liposome)作为运载工具, 把抗生素生物合成有关的基因转入细菌, 当磷脂与水溶液混合时聚集成一种有秩序的结构, 即由卵磷脂为主要成份的磷脂膜所包围的小体, 它的膜同细胞膜成份有着很大的类似性。这种脂质体在形成过程中会包裹进一些液体, 如果把 DNA 片段溶解在水溶液中, 加入少量营养物质以保持 DNA 活性, 脂质体围着基因盘绕, 从而把基因包裹在一个保护性的袋中而免受 DNA 酶的降解, 这种内藏 DNA 基因的脂质体可引入细菌, 并正考虑引入链霉菌中^[9]。

联邦德国 联邦德国遗传和微生物研究所的 Schrempf 于 1978 年在第三届工业微生物遗传国际会议中做了有关链霉菌的质粒的报告^[3]。在 1980 年第六届国际发酵会议上做了质粒在产大环内酯类抗生素的产生菌中的功能的报告^[4]。1979 年 Schrempf 和 Goebel 发表了有关网状链霉菌(*Streptomyces reticuli*)质粒基因的功能的论文报告。

日本 国立预防卫生研究所遗传生化室冈西昌则在 1980 年第六届国际发酵会议上做了关于金霉素产生菌中质粒基因的作用的报告^[4], 在 1981 年的日本发酵工学会会上介绍了质粒生物功能的多样化在育种中的应用以及质粒在金丝菌素中的功能^[10]。他们把春日链霉菌(*S. kasugaensis*)中分子量为 6.8×10^6 的质粒与 *E. coli* 中分子量为 2.4×10^6 的质粒 pAcy 184 重组后转到受体 *E. coli* 中, 使后者产生了亲株中没有发现过的新抗生素, 性质类似于四环素。

日本东京大学应用微生物研究所遗传育种室高桥秀夫正在对链霉菌 *S. parvus* 的溶原性噬菌体 R-4 进行研究, 分子量 30 md, 可用 EcoRI 切割, 认为以此作为链霉菌 DNA 克隆载体, 比用质粒作载体有优越之处。

日本武田制药厂测定了该厂保存的放线菌菌株,证明约有5%存在质粒^[10]。

意大利 意大利秘鲁极大学组织学和胚胎学研究所的 G. Sermoniti 等证明天蓝色链霉菌 A3(2)中的氯霉素抗性基因(*cml^R*)位于一个转座子 *Sc Tn1* 上,所以易于分离或转移,它在染色体上的位点也往往是不同的^[11]。例如从新分离的 *cml^R* 菌株中得到的 *cml^R* 的位点是一致的,从 *cml^S* 突变株的回复突变株中得到的 *cml^R* 的位点彼此也是一致的,但两者之间却不同。前者的位点有两个,一个在 *cysA* 和 *MetA* 之间,另一个在 *ArgA* 右边,位于转座子 *Sc Tn1* 上。是位于染色体上的转移基因,和形成气生菌丝的基因(*Amy*)在一起,并和 *ArgG* 基因连锁。但在 *cml^R* 回复株中,则 *cml^R* 基因和 *ArgG* 不连接,说明此位于转座子 *Sc Tn1* 上的基因,可以分离也可以部分转移,这是在链霉菌中第一次发现有转座子的存在,作者估计在链霉菌这一属中,转座可能广泛存在。

法国 法国政府科研计划管理部门提出的一项生物工程学十年计划中,遗传工程项目是重点给予补贴的一项课题,其中包括工业生产目的的放线菌基因工程的研究。

苏联 全苏工业微生物遗传育种研究所 V. N. Danilenko 在第三届工业微生物遗传学会议上做了有关链霉菌质粒和它们的生物学功能的报告^[3]。该所的 E. S. Piruzian 利用 pBR 322 作为载体,使用天蓝色链霉菌质粒片段在大肠杆菌中进行了无性繁殖。

中国 国内从 1977 年起才开展这方面的工作。中国科学院微生物研究所进行了链霉素产生菌灰色链霉菌质粒分子遗传的研究,证明质粒的存在和链霉素生物合成的关系,并研究了质粒的某些性状^[12~16]。中国科学院植物生理研究所用庆丰霉素的产生菌庆丰链霉菌为材料,研究了庆丰霉素生物合成的遗传控制,结果表明庆丰霉素的生物合成可能有质粒的参与^[17]。中国科学院上海药物研究所也进行了放线菌质粒的研究。南开大学报告卡那霉素产生菌 KP 958-4 具有控制抗生素产生和孢子形成的质粒^[18~19]。中国医学科学院抗菌素研究所开展了创新霉素产生菌的质粒研究。

二、当前几个主要研究领域

(一) 抗药性分子机制的研究

很多链霉菌具有典型的抗药特性,可能表明菌体内具有特定的抗性决定因子,并已证明与质粒有关,如质粒发生缺损、丧失或重组,则可引起抗药性的突变,如有外源 DNA 片段的插入引起钝化,则可影响抗药性基因的表达。

美国威斯康辛大学 B. Weisblum 通过两类对泰乐菌素有不同抗性的突变株的研究,阐明抗性的变化是由于质粒基因突变引起起来的,而不是由于染色体基因组的修饰变化所致^[20]。他们进一步把三种抗红霉素的不同菌株如金黄色葡萄球菌,血链球菌(*Streptococcus Sanguis*)和粪链球菌中分离出来的三种质粒进行了 DNA 序列分析发现在它们之中编码对红霉素抗性的一段 DNA 序列是一致的。此外,还发现从金黄色葡萄球菌和血链球菌中分别得到的质粒 pI 258 和 pAM 77 的互补 RNA 可以和化脓链球菌中酶切得到的抗红霉素的 DNA 片段进行分子杂交,说明在这些并无遗传物质交换且互不相关的病原菌中编码红霉素抗性的 DNA 序列之间存在一致性。

细菌中能易位的抗药性因子的报道已很多,现在在链霉菌中也有所发现,意大利的 G. Sermoniti 等已证明天蓝色链霉菌 A3(2)中氯霉素抗性基因(*cml^R*)位于转座子 *Sc Tn1*

上^[11],这是第一次证明链霉菌中存在可易位的抗性基因,但链霉菌属是否是临床上重要抗生素抗性的原来源则尚待进一步阐明,这方面的研究对临床上如何控制抗生素的抗性转移提示了线索。

(二)质粒参与抗生素生物合成的研究

尽管链霉菌中抗生素生物合成的遗传控制方面的知识还不多,但已有大量证据证明质粒在其中起着重要作用^[21,22]。

以往由于在链霉菌中进行遗传分析缺乏适当系统及对链霉菌质粒提取的最适办法(例如至今所用的一切方法都未能提取出说明天蓝色链霉菌 A3(2)中的 SOP1 特性、氯霉素抗性的 DNA、或淡青链霉菌中对链霉素的抗性以及黑色素有关的质粒 DNA),看来链霉菌质粒 DNA 在细胞中存在的方式、结构尚待研究^[22,23]。此外,对测定链霉菌生理特性的一般适用办法也有限,因此限制了我们对抗生素生物合成的遗传控制的了解,这个领域的最新进展,特别是在链霉菌内利用质粒或噬菌体作为载体的 DNA 无性繁殖(克隆)的最新进展,开始补偿了这方面的不足,对抗生素合成中有关基因的研究提出了很有价值的遗传分析手段。

质粒遗传:

Wisconsin 大学 J. I. Davies 等从弗氏链霉菌中分离得到了质粒,证明可能和新霉素的生物合成和抗性有关,并证明对新霉素的抗性需要氨基糖苷磷酸化酶的存在,编码这个酶的基因可能位于质粒上,将二脱氧链霉素(2-DOS)加入到不产新霉素的突变株中,则有的突变株又可重新获得产新霉素的能力。结果表明母株中可能存在两个或两个以上质粒,一个编码 2-DOS 生物合成的基因,另一个则是编码氨基糖苷磷酸化酶的基因,他们将进一步用消除质粒、不产新霉素的菌株作为转化的受体,将提取出来的质粒 DNA 进行转化,观察新霉素的生物合成能否在转化子中重新恢复,这对证明质粒参与新霉素的合成是一个重要根据^[24]。

Wisconsin 大学的 White 等从巴龙霉素生产菌龟裂链霉菌中得到 56 株不产巴龙霉素的突变株,都不能形成气生菌丝,且有形态改变,对巴龙霉素具有抗性,并具有氨基糖苷转磷酸化酶和氨基糖苷转乙酰化酶的活性,如在突变株中加入 2-DOS 或巴龙胺,则 56 株中有 36 株可以重新合成抗生素,因此认为龟裂链霉菌的质粒参与了巴龙霉素的生物合成^[3]。

Georgetown 大学的 Katz 等证明质粒可能参与放线菌素的生物合成,他们用吡啶黄或新生霉素处理放线菌素的产生菌小小链霉菌(*S. parvulus*)和抗生链霉菌(*S. antibioticus*),两株链霉菌即失去了产生抗生素和形成气生菌丝的能力,得到一些营养缺陷株后用聚乙二醇(PEG)处理,使小小链霉菌的营养缺陷株之间进行原生质体融合。如用 Act⁺ 和 Act⁻ 菌株融合,在原养型的重组体中合成放线菌素的频率高达 84~95%,如在都不产生抗生素的 Act⁻ 营养缺陷株之间进行同样试验,则未能得到重新获得能产生放线菌素的原养型重组体,这说明质粒可能参与了放线菌素的生物合成^[25]。

链霉菌质粒 DNA 的转化:

Bibb 等建立了链霉菌的质粒转化系统^[26],这个系统包括在聚乙二醇存在下由原生质体吸入 CCCDNA、转化子的测定、原生质体的再生繁殖等等,转化的频率可达 4~20%。PEG 导致转化的机制也许是作用于细胞膜,使 DNA 易于渗入。也可能转化 DNA 在高浓度的 PEG 溶液中形成比较坚实的形式有利于它转化进入原生质体中去。以上技术可用于很多链霉菌的转化,对重要工业菌株无性繁殖系统的发展也具有相当的价值,但这个系统还不是

直接转化系统。

(三)利用阻断突变株研究抗生素生物合成途径和前体产物

美国 Georgetown 大学 Katz 等做了大量抗生素生物合成途径的研究,例如利用放射性标记的前体物进行宜它霉素(Etamycin)生物合成的研究、放线菌素生物合成中 D-缬氨酸部分的前体的生物合成的研究、利用小小链霉菌的原生质体研究体外合成放线菌素的有利和限制因子等^[27~29]。

美 Eli Lilly 公司的 E. T. Seno 等把弗氏链霉菌用 NTG 诱变后得到的 50 株不产泰乐菌素的代谢阻断株,测定它们的阻断位点表明 43 株阻断在代谢途径的初期,7 株阻断在后期,通过共同合成试验证明糖苷配基和尚未鉴定出来的紫外吸收物质 chi 因素都是泰乐菌素的前体^[3]。

(四)链霉菌的遗传重组和基因工程

1. 通过 DNA 体外重组产生新抗生素

链霉菌的 DNA 克隆工作已开始进行,日本的冈西昌则把春日链霉菌中的质粒和 *E. coli* 的 pAcyo 184 重组后转入到 *E. coli* 中后,受体菌产生了子、母株都没有出现过的新抗生素性质属四环素类,结构还未完全搞清^[30]。美 Upjohn 公司的 Malik 在六届国际发酵会议上把产生氯霉素的委内瑞拉链霉菌的质粒 puc 3 和 pBR 322 重组后转化入 *E. coli* HB101 中,转化子中虽未测到能产氯霉素的,但此重组质粒可用作链霉菌无性繁殖的载体^[4]。又如苏联 Piruzian 把天蓝色链霉菌的 SCP 2 质粒与 pBR 322 重组后转化入大肠杆菌中克隆成功,但未闻转化子中有能产抗生素的^[3]。

美国 Schottel 等把大肠杆菌 pAcyo 184 质粒(cm^r Tc^r)或 pAcyo 177 质粒(Km^r Ap^r)和变青链霉菌的杂合质粒 pSLP 111(Mm^r Hr^+)建成复合复制子,再把它转化到变青链霉菌中,分别得到表达 cm^r (pSLP 120)及 Km^r (pSLP 125)的无性繁殖系,但也未见有出现新抗生素的报道^[31]。

在链霉菌 DNA 体外重组的载体研究方面也有一些进展。如美国的 Bibb 和 Cohen 等报道了为了使质粒 DNA 有效地进入链霉菌中以提供在链霉菌属中 DNA 克隆的基本工具^[1]。他们报道了用两株不相关的质粒 SCP 2 和 SLP 1-2 的衍生物构建成了链霉菌克隆系统的载体。又如前所述,英国 Suarez 等提出另一个链霉菌 DNA 克隆的载体,即在链霉菌中有相当广泛寄主范围的温和噬菌体 Φ C31 中插入一个含有 pBR 322 质粒的双功能复制子,噬菌体的有效起动机可以加强基因的表达, pBR 322 质粒的特性可以广泛地载入外源基因。

2. 通过原生质体融合进行遗传重组^[32,33]

当前通过原生质体融合进行链霉菌遗传重组方面的工作,已引起人们很大的兴趣,认为可能是育种的另一重要途径。

Bibb 等曾以五株链霉菌进行了试验,利用 PEG 导致原生质体融合和再生的频率很高,不需要选择性标记就可得到重组体^[1],在缺失性因子 SCP 1 或 SCP 2 的天蓝色链霉菌中仍能得到很高频率,这说明由于原生质体融合产生的重组与性因子的活性无关,此法可使亲株的标记相互结合而不致于丧失或破坏,复杂基因组之间的重组可以很快构建,这方法能否在链霉菌属普遍应用或仅应用于种间以及育种的可能性尚待进一步探讨。

1980 年在第六次国际发酵会议上,法国 Roussel-Uclaf 研究中心的 M. Mazieres,等报

道用卡那霉素产生菌及巴龙霉素产生菌的原生质体进行融合^[4], 产生的抗生素类似新霉素, 提出了利用原生质体融合获得新抗生素的途径。

美国 Merck 公司以产生头霉素的耐内酰胺链霉菌 (*Streptomyces lactamduran*) 的不同营养缺陷株进行遗传重组^[3], 亲株共同生长在复合的固体培养基上, 长出菌落后, 再在基本培养基上选出原养型的重组体, 重组频率根据不同遗传标记, 可从 10^{-6} 到 10^{-2} , 如应用原生质体融合的技术, 则可高达 17%。

美国 Eli Lilly 公司利用原生质体融合使弗氏链霉菌和灰褐链霉菌进行了重组, 采用了修改的甘氨酸-溶菌酶技术, 在高渗培养基上来自菌丝体的原生质体融合后再生率达 100%^[4]。从营养突变株和抗药性突变株得到的原生质体的融合可通过把原生质体和聚乙二醇混合处理, 可很快得到高达 0.2% 的稳定的遗传重组体。

日本也在链霉菌种内和种间进行原生质体重组, 获得了成功。

三、有待开展的一些基础理论研究

链霉菌的分子遗传和基因重组的研究有待进一步开展, 使之在理论研究和生产应用上发挥它应有的作用。当前一些急待开展的基础理论研究有:

1. 链霉菌质粒的分离纯化。
2. 质粒参与次生代谢产物的形成的分子机制是什么? 如何从基因水平上予以阐明?
3. 质粒基因之间以及与染色体基因之间关系如何? 结构功能上相互间有何制约? 有何协同?
4. 质粒的起源和进化如何? 如何进一步理解不相容性?
5. 质粒正常转化或融合到原生质体的最适条件?
6. 链霉菌质粒除已发现的功能外, 是否还有其它功能?
7. 链霉菌质粒转移到包括真核细胞在内的广泛受体中, 能存活和表达的条件是什么? 反之能否进行? 彼此间的限制修饰系统是否会造成阻隔? 如何消除?
8. 链霉菌中已开始发现存在易位子, 今后能否像大肠杆菌中的易位子那样被巧妙地应用?

总之, 链霉菌的分子遗传、遗传育种和基因工程等虽然已经开始引起重视, 但问题不少, 难度较大, 进展不算太快, 但这又是当前一个急待探索和值得探索的重要领域之一, 对推动今后理论研究和生产应用都将起重要作用。

参 考 文 献

- [1] Bibb, M., Janet, L.: Schottel and Stanley, N. Cohen. *Nature* **284**(10): 526~530, 1980.
- [2] Hopwood, D. A. and M. J. Merrick: *Bacteriological Rev.* **41**(3): 595~635, 1977.
- [3] *Abstracts of Contributed Papers of the Third International Symposium on the Genetics of Industrial Microorganisms*, 1978.
- [4] *Abstracts of the VI International Fermentation Symposium and Vth International Symposium on Yeasts*, July, 1980.
- [5] 薛禹谷, 陆德如: 遗传工程, 1981, 1.
- [6] Thompson, C. J., J. M. Ward and D. A. Hopwood: *Nature* **286**(31): 525~527, 1980.
- [7] Hopwood, D. A., C. J. Thompson, T. Kieses, J. M. Ward and H. M. Wright: *1st International Symp. on the Genetics of Ind. Microorganisms* Vol. 2. Actinomycetes and Fungi. p. 376, Edited by Venik Z. et al.,

1973.

- [8] Suarez, J. E., and Chater, K. F.: *Nature* **286**(31): 527~529, 1980.
- [9] Wong, T. K., C. Nicolau, P. H. Hofschneider: *Gene* **10**(2): 87~94, 1980.
- [10] 赴日抗生素菌种选育考察组: 技术总结, 第10页, 1980年10月.
- [11] Sormonti, G., L. Lanfaloni, and M. R. Micheli: *Molec. Gen. Genet* **177**: 453~458, 1980.
- [12] 薛禹谷, 董可宁, 李敏, 祝英芳: *微生物学报*, **18**(3): 195~201, 1978.
- [13] 薛禹谷, 董可宁, 祝英芳, 李敏, 许怡, 庄增辉: *微生物学报*, **18**(4): 287~292, 1978.
- [14] 庄增辉, 谭华荣, 许怡, 祝英芳, 薛禹谷: *遗传学报*, **7**(4): 291~298, 1980.
- [15] 薛禹谷, 祝英芳, 许怡, 庄增辉, 谭华荣: *遗传学报*, **8**(1): 14~20, 1981.
- [16] Xue Y. G., Z. H. Zhuang, Y. F. Zhu, Y. Xu, and K. N. Dong: *J. Bacteriology* **146**(1): 412~414, 1981.
- [17] 郑幼霞, 赵人俊, 徐小雪, 张盖荣, 张庭兰: *遗传学报*, **7**(2): 111~118, 1980.
- [18] 王嶽五, 贾新康, 吴正恺: *遗传学报*, **7**(2): 123~128, 1980.
- [19] 王嶽五, 贾新康, 吴正恺: *遗传学报*, **7**(3): 276~280, 1980.
- [20] Weisblum, B., S. B. Holder and S. M. Halling: *J. Bact.* **138**(3): 990~998, 1979.
- [21] 冈西昌则: 发酵与代谢, **35**, 15~30, 1977.
- [22] Chater, K. F. et al: *Genet. of Indust. Microorganisms*, 123~132 Edited by O. K. Sebek., 1979.
- [23] Hopwood, D. A.: *Ann. Rev. Microbiology* **32**: 373~392, 1978.
- [24] Yagaisawa, M., T. S. R. Huang and J. E. Davies: *The Journal of Antibiotics* **31**(8): 809~813, 1978.
- [25] Kozo Ochi and E. Katz: *The Journal of Antibiotics* **31**(11): 1143~1148, 1978.
- [26] Bibb, M. J., J. M. Ward and D. A. Hopwood: *Nature* **274**(5669): 398~400, 1978.
- [27] Kamal, F. and E. Katz: *The Journal of Antibiotics* **29**(9): 944~949, 1976.
- [28] Mason, K. T., G. J. Shaw and E. Katz: *Archives of Biochemistry and Biophysics* **180**: 509~513, 1977.
- [29] Hitchcock, J. M. and E. Katz: *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* **13**(1): 104~114, 1978.
- [30] 别府辉彦: 蛋白质、核酸、酵素(临时增刊)遗传操作, **26**(4): 286, 1981.
- [31] Schottel, J. L.: *Journal of Bacteriology* **146**(1): 360~368, 1981.
- [32] Weisblum, B., M. Y. Graham., T. Gryczan and D. Dubnau: *Journal of Bacteriology* **137**(1): 635~643, 1979.
- [33] Hopwood, D. A., H. M. Wright., M. J. Bibb and S. N. Cohen: *Nature* **268**(5616): 171~174, 1977.

产生抗生素的非常见放线菌

阎 逊 初

(中国科学院微生物研究所, 北京)

放线菌这类微生物之所以受到重视, 主要是因为它们产生的抗生素种类最多。其中链霉菌以及不久前才从中划分出来的链轮丝菌属(*Streptoverticillium*)在这方面尤为突出, 早已为大家所熟知。近年来, 在大量筛选的过程中, 逐渐发现其他比较罕见的放线菌也是有价值的抗生素产生菌。例如小单孢菌产生的庆大(艮他)霉素(Gentamicin)、诺卡氏菌产生的力复霉素等都已广泛应用于医疗事业。为了充分开发抗生素资源, 要有意识地扩大筛选面, 世界各国有不少筛选工作者特意从非常见放线菌中寻找新的活性物质。近二十多年来从中已经发现了一百多种抗生素, 有的已实际应用, 有的已证明很有希望。由于抗生素筛选的推动作用, 放线菌分类学蓬勃发展, 至今已认识五十多个非常见放线菌属。其中已经提取得到的抗生素也有二十几个。为了便于寻找已知和未知的抗生物质, 都有必要认识这些微生物, 但这些属所包含的种数及其所产生的抗生素的种数相差都很悬殊, 有的至今只发现一个种, 如五十年代初期描述的螺孢菌属(*Spirillospora*)和七十年代后期才发现的链异壁菌属(*Streptoalloteichus*)就是如此。一般每个属产生抗生素的数目与它所包含的种数成正比, 但两者的比例也不尽相同。这和菌本身的潜在能力和我们对于发掘某类菌的潜力所下的工夫

都有关系。产生抗生素比较多的属依次为小单孢菌、游动放线菌、诺卡氏菌、链孢囊菌和马杜拉放线菌,本文将重点介绍这些放线菌属,其他只产生一两种抗生素的属则仅简略指出其形态特征和细胞壁组分等。

这些放线菌之所以比较罕见,是由于它们在自然界分布不广,只局限于特定的环境,或是由于天然生长缓慢而营养要求又比较严格,不容易分离出来。为了克服前者,应该选择采样地点;改进分离方法。选用特异性培养基则是克服后者的较好途径。这些放线菌的大本营仍然是土壤,但大部分喜欢比较潮湿的环境。如小单孢菌、游动放线菌常见于湖河淤泥,甚至腐败的水内植物残余。Couch 就专从水中的花粉分离产生孢囊的放线菌。嗜热放线菌较常见于堆肥、厩肥、发热的干草、谷物上。热带地区有一些在温带见不到的种。但至今尚未从寄生或共生放线菌中提取出抗生素来。

非常见放线菌生长较链霉菌等要缓慢得多,必须采取特殊措施才能分离出来,如土样加热可减少普通细菌以及一些链霉菌的数目,分离培养基中加入放线菌酮或制霉菌素等真菌抑制剂,利用加维生素特别是乙族维生素的培养基常可分到一些罕见的放线菌,总之要想方设法抑制我们所不要的微生物而促进我们所要得到的放线菌的生长,在这个原则指导下,筛选工作者是可以各尽其能、大显神通的。

(一)小单孢菌属(*Micromonospora* Oerskov, 1923)

通常无气丝,即便偶尔有少量也很稀疏,呈白色,不产生孢子。基丝纤细,直径小于1微米,有分枝,形成结构密致的小菌落,表层菌丝形成单个孢子,大部有短柄,或沿菌丝分散生长或由于短柄一再分枝而形成簇丛。孢子表面光滑或有大疣(突起),由于菌丝和孢子都无外鞘,所以孢子表面不会有象链霉菌孢子那样的小疣以及各式各样形状和长短的刺或毛发。菌落时常呈浅橙黄至橙红色,少数种呈褐色、栗色、紫褐或蓝绿,基丝表面的孢子层通常呈褐至黑色,质变粘稠。

大多数是腐生好气的种,从白蚁肠道分离出来的两个嫌气的种都不是抗生素产生菌,常见于潮湿土壤、湖泥、淡水等生境,大多数为中温菌,嗜热菌罕见。分解蛋白质、淀粉、纤维素、几丁质和木聚糖的能力一般较强。

细胞壁 II 型,即以丙二胺二氨基庚二酸和甘氨酸为特征性组份,有时含少量左旋二氨基庚二酸以及木糖和阿拉伯糖。DNA 内, G+C (鸟嘌呤+胞嘧啶) 占碱基总量的 71.4~72.8%。这个属产生的庆大霉素六十年代初就已筛选出来,对革兰氏阳性和阴性细菌都有抑制作用,对于绿脓杆菌感染的疗效尤为显著,国内外早已大量生产,广泛应用。七十年代到八十年代初又发现了五十多种抗生素(表 1),但大多数是象庆大霉素那样的抑制细菌的氨基糖苷类。抑制肿瘤和真菌的抗生素较少。

(二)游动放线菌属(*Actinoplanes* Couch, 1950)

一般无气丝,偶尔有也很少,不产生孢囊。基丝表层形成栅栏状孢囊柄,顶端产生浑圆或不规则的孢囊,其内部有分枝或盘绕的菌丝断裂成球形或椭圆的孢囊孢子。孢囊由孢子间的物质膨胀使孢囊壁形成乳头状突起,破裂后释放孢囊孢子,后者具有一到几十根极生丛毛,能在水内游动。一般认为孢囊壁是由鞘膜形成的,不同于细胞壁。菌落常呈浅橙黄至深橙色,也有褐、绛、红、紫、青、蓝等色的。

大部为好气,腐生中温菌。常见于潮湿土壤、湖泥等地。

细胞壁 II 型。DNA 内 G+C 为 70.6~76.0%。

表1 小单孢菌(*Micromonospora*)产生的抗生素

抗 生 素 名 称	作用对象	菌 种 名 称	文 献
Antlermicin B, C(安特勒霉素) (81-15) (A=Tetrocarcin A)	G+	<i>M. chaicla</i> subsp. <i>kazunoensis</i> (青铜小单孢菌鹿角亚种)	<i>J. A.</i> 33: 772~775, 1980.
Chalcidin	G+	<i>M. chalicea</i> 895	<i>AHT.</i> 15: 480~486, 1970.
4"-Demethylgentamicin C1(78-145), C1a(78-146) C2(78-147)	G+, G-	<i>M. purpurea</i> var. <i>nigrescens</i> (绛红小单孢菌变黑变种) MNG-122	<i>J. A.</i> 30: 945~954, 1977.
3"-De-N-methylgentamicin C2(78-148)	G+, G-	<i>M. purpurea</i> var. <i>nigrescens</i> (降红小单孢菌变黑变种) MNG-122	<i>J. A.</i> 30: 945~954, 1977.
11-Deoxydaunorubicin= 11-Deoxydaunomycin(81-16)		<i>M. peucetica</i> var. <i>caesia</i> ATCC 31366 (波塞小单孢菌青灰变种)	<i>J. Am. Chem. Soc.</i> 102: 1462~1463, 1980.
11-Deoxy-13-deoxydaunorubicin (81-17)	G+, G- T	<i>M. peucetica</i> ATCC 31366	
11-Deoxydoxorubicin(81-19)	G+, G-	<i>M. peucetica</i> ATCC 31366	<i>J. A.</i> 33: 1462~ 1473, 1980.
5-Deoxy-5-helogeneticin S(78-85)	G+, G-	<i>M. purpurea</i> VIB(ATCC 31119)	<i>J. A.</i> 30: 88~97, 1977.
11-Deoxy-13-dihydrodaunorubicin (81-18)	G+, G- T	<i>M. peucetica</i> B221 F. I. (ATCC 31366)	<i>J. A.</i> 33: 1462~ 1473, 1980.
5-Deoxygentamicin C1a, C2 (78-1)	G+, G-	<i>M. purpurea</i> VIB	<i>J. A.</i> 30: 88~97, 1977.
Everninomicin(77-83)-2 (扁枝衣霉素)	G+, M	<i>M. carbonacea</i> NRRL 2972 (炭样小单孢菌)	<i>Antimicrob. Ag.</i> <i>Chemother.</i> 47~ 52, 1964.
		<i>M. chalicea</i> var. <i>izumensis</i> (青铜小单孢菌和泉变种)T-1124	<i>J. A.</i> 29: 1163~ 1170, 1976.
Fortimicin B(76-80)(竖霉素) C(79-112), D(80-29), KE (80-30), KO(80-51)	G+, G- Cs-26 (NRRL 8178)	<i>M. olivoasterospora</i> (橄榄星孢小单孢菌) MK-70(ATCC 21819) MK-80(ATCC 31009)	<i>Jap. P.</i> 74-126, 892, 1974.
Gentamicin A1(76-73) A2(76-74), A3(76-75) A4(76-76), C1a, C2(76-2), 1-1(78-144)	G+, G- G+, G-	<i>M. echinospora</i> (棘孢小单孢菌) <i>M. echinospora</i> X-14847 <i>M. echinospora</i> var. <i>purpurea</i> <i>M. purpurea</i> . NRRL 2953 (绛红小单孢菌) <i>M. purpurea</i> var. JI-33 <i>M. purpurea</i> var. <i>nigrescens</i> MNG-122	<i>J. A.</i> 32: 868~873, 1979. <i>Antimicrob. Ag.</i> <i>Chemother.</i> 116~ 124, 1963. <i>J. A.</i> 33: 1431~ 1436, 1980. <i>Antimicrob. Ag.</i> <i>Chemother.</i> 116~ 124, 1963. <i>J. A.</i> 28: 35~41, 1975. <i>J. A.</i> 30: 945~954, 1977.