

碳、氮化合物对于金霉菌新陈代谢的影响*

張淑蓮**

根据先进的米丘林观点,有机体的新陈代谢与外界环境有着密切的关系。我們在微生物界也經常看到,每当培养基的組成成分、酸碱度或培养条件等改变时,必然引起微生物代謝活动的改变。許多作者^[2,5,8,20]曾于液体或固体培养基中,加入各种含碳及含氮化合物,研究金霉菌的营养与代謝問題。証明这些化合物有的能被金霉菌所利用,有的不能利用,有的对菌体生长有益,有的对金霉素合成有利。

沈氏^[2]、Biffi氏^[6]、Boiret氏^[7]等曾于发酵培养基中加入磷酸盐,使金霉菌显著地改变了代謝方式,它利用糖份的能力增加,有机酸生成量增多,培养基的酸碱度降低,菌体的生长加快,菌絲的溶解作用也提前了,菌体中含磷化合物如核酸显著增加,但金霉素的产量却减少。

最近 Miller氏等^[17]应用一种含有玉米浸液和淀粉的培基,研究了一些标以同位素 C^{14} 的碳、氮化合物与金霉素生物合成的关系,証明标记化合物分子上的 C^{14} 轉移到金霉素分子上的百分率,随碳、氮化合物的种类而不同;并証明同一种化合物上不同位置的 C^{14} 移至金霉素分子上的百分率亦不相同;不能被金霉菌利用的化合物就沒有 C^{14} 的移轉。

玉米浸液促进抗生素合成的机制,尙未明瞭^[15]。不能由于其中所含的氨基酸及肽类^[9,21]、維生素类^[13]、有机酸盐类、无机盐类^[11-12]或其他特殊性刺激物^[16]等所致。

本实验研究三种糖(L(+))阿拉伯糖、葡萄糖、蔗糖)及三种铵盐(硫酸铵、氯化铵、草酸铵)对金霉菌代謝的影响;并应用一种綜合培养基,試驗一些氨基酸对于金霉菌代謝的作用,企图探究玉米浸液的功能和氨基酸的关系。

实验材料和方法

菌种: 共用金霉菌两株,一株暂名为天坛菌株,用于試驗碳、氮化合物;另一株名为 K₁₀₀₁,用于試驗氨基酸类。两株均为卫生部中央生物制品研究所抗生素室赠送的。

发酵培养基: 用于試驗天坛菌株的培基含 2.5% 葡萄糖、0.2% 硫酸铵、0.1% 硫酸钙、0.2% 氯化钠、2% (容积) 玉米浸液。試驗糖时,以受試糖份取代培养基中的葡萄糖作为碳源;試驗铵盐时,以受試铵盐代替培养基中的硫酸铵作为氮源。用于試驗 K₁₀₀₁ 菌株的培养基含 2.5% 葡萄糖、0.2% 硫酸铵、0.001% 硫酸亚铁、0.05% 天门冬氨酸、0.2% 氯化钠、

* 1958年8月27日收到。

** 写此文章时在中国医学科学院細菌免疫学系,現在广州第七軍区大学工作。

0.05% 磷酸二氫鉀。培養基的 pH 均為 6.8。

培養採用搖瓶發酵法, 搖盪率每分鐘約 150 次, 振幅 1 吋許, 培養溫度為 $28 \pm 1^\circ\text{C}$ 。接種後 0、24、48、72、120 及 168 小時, 取出培養物進行分析。每一種試驗物的各種濃度都做兩份, 每份又取兩個樣品進行分析。應用 Dornbush 氏^[10] 二倍稀釋法測定金霉素效價。採用 Shaffer-Somogyi 氏^[22] 法測定還元糖; 測定蔗糖時先使水解(加 5 毫升 1N 硫酸於樣品中, 煮沸 10 分鐘, 再以 1N 氫氧化鈉矯正至中性), 然後再按上法測定之。應用微量 Kjeldahl 氏法測定菌絲總氮量。測定氨氮的方法^[19] 乃先於樣品中加入 1N 氫氧化鈉 3 毫升, 使成鹼性後, 再用微量 Kjeldahl 氏法測定之。用 Warburg 氏呼吸器^[13, 23] 測定菌絲的耗氧量, 以磷酸緩衝液 (pH 7.3) 洗菌三次并用它配制菌絲懸液, 實驗溫度 30°C , 時間 2 小時。

實驗結果

(一) 金霉菌利用糖類及其代謝情況

在我們的實驗條件下, 金霉菌能利用葡萄糖, 但不能利用阿拉伯糖; 利用蔗糖與否, 視培養基中硫酸銨及蔗糖含量的比例而定, 當比例為 1:10 或 1:50 時即能利用蔗糖, 比例為 1:1 或 1:2 時則不能利用之(表 1)。

金霉菌利用葡萄糖時, 它的代謝變化見圖 1。培養 48 小時後, 代謝活動逐漸增強; 此時有少量金霉素出現, 開始消耗葡萄糖, 培養中氨氮及酸鹼度稍下降。至 72 小時, 代謝活動更為顯著; 金霉素產量達到高峰, 葡萄糖的利用顯著, 氨氮及酸鹼度繼續下降。金霉

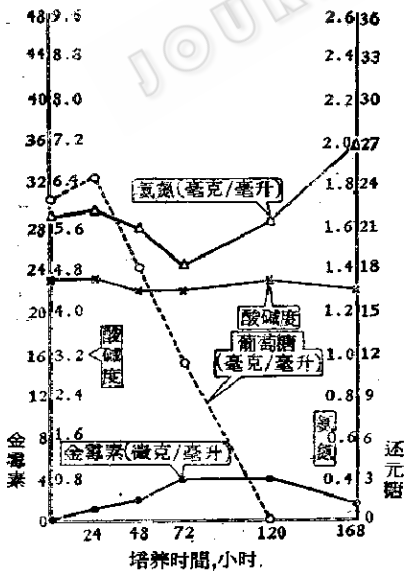


圖 1 利用葡萄糖時金霉菌的代謝情況

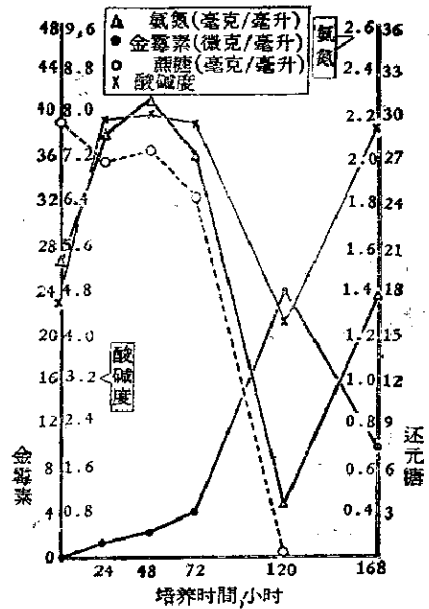


圖 2 利用蔗糖時金霉菌的代謝情況

菌利用蔗糖比葡萄糖為慢, 因而它的代謝活動比在利用葡萄糖時向後錯延了數十小時(圖 2)。培養 72 小時後, 金霉菌的代謝活動才開始加強, 培養至 120 小時方轉為顯著。金霉菌

表1 糖类对金霉菌新陈代谢的影响

糖 类	硫 酸 铵 %	糖 量 %	硫 份 酸 的 比 例 和 精	金 霉 素 微 克 / 毫 升		酸 碱 度		发 酵		时 间		还 元 糖 毫 克 / 毫 升		氮 毫 克 / 毫 升														
				0	24	48	72	120	168	0	24	48	72	120	168	0	24	48	72	120	168							
葡 萄 糖	0.2	2	1:10	0	1	2	4	4	1	4.6	4.6	4.4	4.4	4.4	4.6	4.6	22.9	24.4	18.2	11.6	0	0	1.62	1.65	1.58	1.40	1.64	2.00
	2.0	2	1:1	0	0	1.5	8	4	2	6.8	6.8	6.8	6.4	4.4	4.3	21.1	22.2	21.1	13.2	0	3.4	14.0	13.0	13.3	13.1	14.0	14.1	
蔗 糖	0.2	2	1:10	0	1	2	4	24	6	4.6	7.6	8.0	7.8	4.2	7.8	29.1	26.8	27.4	24.2	0	0	1.53	2.11	2.24	2.01	0.42	1.38	
	0.2	2	1:10	0	0	0.5	1	2	2	6.6	6.2	6.8	7.0	7.2	6.6	22.6	23.9	23.9	22.6	17.5	5.9	1.65	1.66	2.00	2.15	1.85	1.04	
利 用 组:	0.2	10	1:50	0	0	0.5	4	8	2	6.6	6.2	6.6	6.8	6.2	4.6	107.5	106.5	108.5	104.5	86.5	78.0	1.63	1.59	1.89	1.87	0.89	0.38	
	0.04	2	1:50	0	0	0.5	0.5	2	2	6.8	6.4	6.8	7.0	6.6	7.2	25.1	24.6	22.8	23.1	12.8	6.4	0.64	0.63	0.97	1.02	0.44	0.28	
不 利 用 组:	2.0	2	1:1	0	0	1	1	0	0	6.8	6.8	7.6	7.7	7.8	7.8	29.5	29.0	29.1	29.4	29.3	28.4	13.9	13.3	13.7	13.7	14.5	13.7	
	1.0	2	1:2	0	0	0	0	0	0	6.6	6.2	6.8	6.8	7.4	6.8	23.8	23.8	21.6	24.3	21.2	19.2	6.96	6.63	7.12	7.65	7.54	7.91	
	0.2	0.4	1:2	0	0	0.5	0	0	0	6.6	6.2	6.8	7.0	7.8	7.0	8.2	6.1	5.9	6.1	5.5	5.5	1.65	1.58	2.07	2.14	2.18	2.27	
阿 拉 伯 糖	0.2	2	1:10	0	0	0.13	1	0.13	0	4.4	4.6	7.8	7.8	7.6	7.6	26.6	26.2	28.5	28.4	27.6	28.4	1.56	1.72	2.08	2.36	2.42	2.52	
	2.0	2	1:1	0	0	0	1	0.5	0	6.8	6.8	6.8	7.4	7.6	7.5	20.4	20.1	21.5	20.3	22.8	22.8	14.2	12.5	13.0	13.7	13.9	14.2	
不 加 糖 (对 照)				0	1	0.5	0.13	0	0	4.6	7.6	7.8	7.8	8.0	8.0	0	0	0	0	0	0	1.72	1.93	2.36	2.22	2.48	2.48	
				0	0	1	0.5	0	0	6.8	6.8	7.6	7.4	7.6	7.8	0	3.0	2.2	0	1.8	3.8	15.8	13.6	13.4	13.4	14.6	15.4	

不能利用阿拉伯糖，它的代谢特点见图 3。培养 48 小时后，菌丝有轻度生长，代谢活动极为微弱，培养基中出现少量金霉素，但有相当量氮存在，酸碱度显著上升，糖份含量却不变。如在培养基中硫酸铵和蔗糖比例不合适，金霉菌不能利用蔗糖时；以及在不加糖的对照培养基中生长时，金霉菌呈现与上述相似的代谢情况(图 3)。

从表 1 及图 1—3 来看，金霉菌利用糖类与合成金霉素的关系很密切。能利用葡萄糖或蔗糖，才有金霉素产生，待糖份利用到相当程度时，金霉素产量才达到高峰，糖份快要用完或完全用完时，产量即开始下降。金霉菌不能利用阿拉伯糖或不供给它以糖份时，金霉素产量几乎没有。

从金霉菌合成金霉素量上来比较，三种糖中以蔗糖为最好，其次为葡萄糖(图 4)。

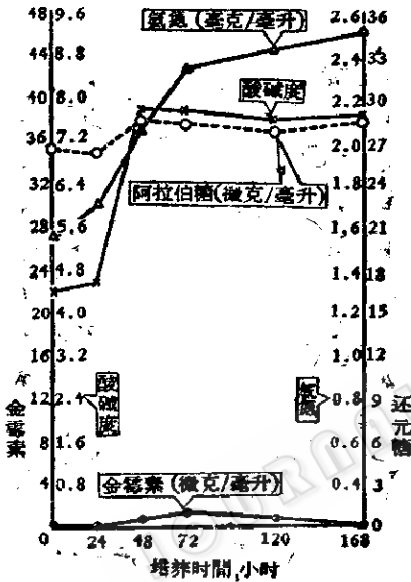


图 3 利用阿拉伯糖时金霉菌的代谢情况

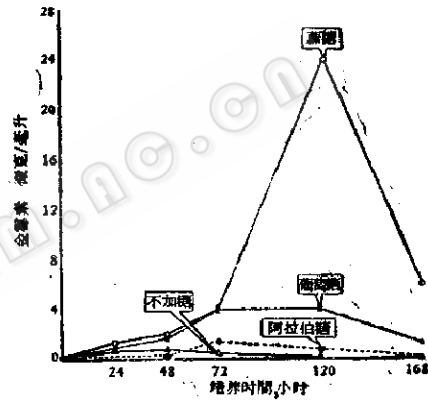


图 4 在合成金霉素上三种糖的比较

(二) 金霉菌利用铵盐及其代谢情况

金霉菌利用硫酸铵、氯化铵及草酸铵都很好(表 2)。在含有各种铵盐的培养基中，金

表 2 铵盐对金霉菌新陈代谢的影响

代谢分析 培养时间 铵盐	金霉素 微克/毫升	酸碱度	还原糖 毫克/毫升	氮 毫克/毫升
	0 24 48 72 120 168	0 24 48 72 120 168	0 24 48 72 120 168	0 24 48 72 120 168
硫酸铵	0 0 2 96 16 8	6.4 6.0 5.8 4.6 4.4 4.5	24.7 26.0 21.0 15.4 6.0 5.0	1.64 1.66 1.68 1.49 1.35 1.53
氯化铵	0 0 8 64 16 4	6.4 6.1 5.9 4.7 4.8 5.0	21.2 28.5 21.0 14.8 4.8 1.4	1.65 1.68 1.72 1.37 1.19 1.36
草酸铵	0 0 1 12 8 8	6.4 6.2 6.0 4.6 5.2 4.4	22.5 28.3 21.0 17 9 8.7 4.2	1.62 1.68 1.68 1.42 1 22 1.75

霉菌的代谢活动基本上是相似的(图 5，以利用硫酸铵的情况为代表)。培养 48 小时后出现少量金霉素，糖份开始被利用，培养基的酸碱度和氮量稍下降。至 72 小时金霉素产量

达到最高,迅速地消耗糖份,氨氮和酸碱度显著下降。至120小时,糖用完了,金霉素产量亦开始下降。培养到168小时氨氮及pH转向上升。

从金霉菌合成金霉素量上来比较,三种铵盐中以硫酸铵的效果为最好,其次为氯化铵,再其次为草酸铵(图6)。

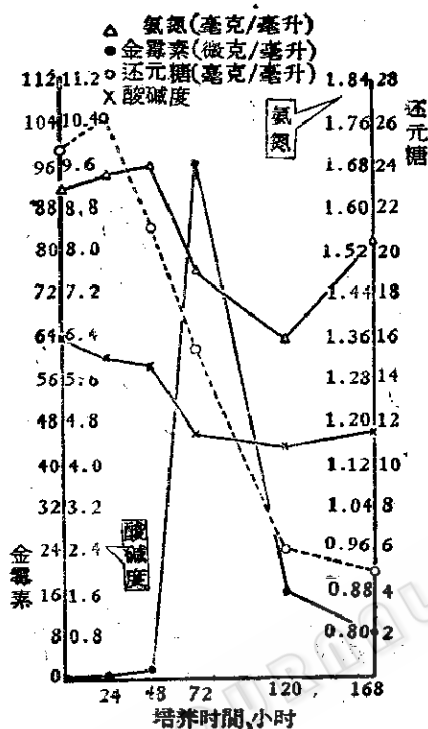


图5 利用硫酸铵时金霉菌的代谢情况

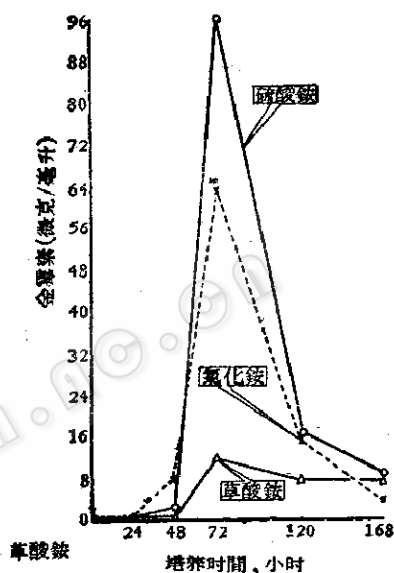


图6 在合成金霉素上三种铵盐的比较

(三) 丝氨酸、半胱氨酸对金霉菌新陈代谢的影响

从表3看,在含有0.01%半胱氨酸、丝氨酸、谷氨酸、组氨酸、丙氨酸、酪氨酸或羟脯氨酸的培养基中,金霉菌生长都很好。但0.1%氨基酸对菌体生长和新陈代谢的影响随氨基酸的种类而不同,半胱氨酸能完全抑制金霉菌的生长;丝氨酸及谷氨酸能部分抑菌;其余四种氨基酸对菌体的生长没有什么影响。金霉菌的耗氧量,随菌丝总氮量的增多而增加,换言之,那种氨基酸对菌体生长有利,菌丝繁殖愈多,则耗氧量也就愈大。一般菌丝愈幼,呼吸能力愈强即耗氧率愈高。七种氨基酸以合成金霉素量而言,只有丝氨酸有一点刺激作用。

将丝氨酸、半胱氨酸、谷氨酸或组氨酸按不同浓度组合进行试验(见表4),发现0.01%丝氨酸+0.01%组氨酸,及0.01%丝氨酸+0.01%组氨酸+0.01%半胱氨酸两种组合,对于合成金霉素有些促进作用(表4)。在初步试验中发现凡含有0.1%半胱氨酸者,对菌体的生长仍然呈现完全抑菌现象。

将0.1%半胱氨酸或丝氨酸与14种氨基酸^[9]组合,发现0.1%半胱氨酸的抑菌作用完全消失了;丝氨酸刺激金霉素合成的作用也消失了(表5)。

表3 氨基酸对金霉菌新陈代谢的影响

代谢分析 培养基	菌丝总氮 毫克/10毫升				菌丝耗氧量 微升/10毫升/2小时				耗氧量 Q _{O₂} (N)				金霉素 微克/毫升				还原糖 毫克/毫升				
	24	72	120	168	24	72	120	168	24	72	120	168	24	72	120	168	0	24	72	120	168
丝氨酸: 不加 0.01 0.10	0.02	0.05	0.11	0.10	+8.8	-31.8	-60.0	-44.6	0	318	273	223	0	0	0	0	25.3	25.5	26.5	26.1	27.9
	0.02	0.07	0.09	0.12	+5.4	-30.2	-50.9	-33.1	0	216	283	138	0	0.13	0.13	0.13	25.5	25.2	26.4	25.6	28.0
	0	0.04	0.11	0.12	-0.2	-14.6	-2.9	+11.2	0	183	13	0	0	0.09	0.19	0.19	25.7	26.4	27.2	26.5	28.8
半胱氨酸: 不加 0.01 0.10	0	0.15	0.25	0.39	-11.1	-112.6	-97.6	-132.2	0	375	195	169	0	0	0	0	19.7	26.9	25.6	24.7	28.8
	0	0.14	0.20	0.32	-29.8	-143.0	-166.5	-160.1	0	501	416	250	0	0	0	0	18.2	26.5	25.7	24.1	28.3
	0	0	0	0	-2.0	+11.4	-18.1	-15.2	0	0	0	0	0	0	0	0	20.4	27.0	25.7	25.4	27.9
谷氨酸: 不加 0.01 0.10	0.09	0.25	0.42	—	-94.5	-224.1	-243.9	—	525	448	290	—	0	0	0	—	23.2	23.9	22.4	22.1	—
	0.13	0.28	0.44	—	-119.5	-239.0	-242.5	—	460	427	276	—	0	0	0	—	23.6	23.7	22.5	21.9	—
	0.03	0.43	0.50	—	+3.6	-255.3	-196.2	—	0	297	196	—	0	0	0	—	23.8	24.6	23.3	22.3	—
组氨酸: 不加 0.01 0.10	0.09	0.23	0.31	—	-134.1	-182.3	-200.7	—	744	396	324	—	0	0	0	—	22.3	23.6	23.8	21.3	—
	0.13	0.25	0.35	—	-166.7	-201.1	-216.1	—	641	402	309	—	0	0	0	—	22.2	23.2	23.5	21.3	—
	0.13	0.29	0.34	—	-66.3	-201.7	-185.2	—	255	348	272	—	0	0	0	—	22.3	23.9	24.2	22.6	—
丙氨酸: 不加 0.01 0.10	0	0.16	0.24	0.36	-10.9	-207.0	-223.5	-231.2	0	647	466	321	0	0	0.06	0	23.7	24.1	23.6	23.8	20.4
	0.01	0.15	0.27	0.39	-12.7	-212.9	-210.2	-247.0	635	720	389	317	0	0	0	0	23.8	23.7	23.5	22.8	22.1
	0.02	0.16	0.26	0.24	-18.9	-182.5	-167.2	-185.8	473	570	322	387	0	0	0	0	23.3	24.1	21.9	23.4	22.1
缬氨酸: 不加 0.01 0.10	0	0.07	0.10	0.09	-7.1	-31.4	-33.0	-48.8	0	224	165	271	0	0	0	0	25.1	26.4	26.7	27.3	25.1
	0	0.06	0.10	0.10	-5.7	-22.3	-39.1	-41.2	0	186	196	206	0	0	0	0	25.6	25.9	27.4	26.0	25.1
	0	0.07	0.10	0.11	-4.6	-2.3	-29.8	-54.1	0	16	149	246	0	0	0	0	25.4	26.2	27.3	27.0	24.6
酪氨酸: 不加 0.01 0.10	0.08	0.28	0.42	—	-108.1	-225.3	-244.9	—	676	402	291	—	0	0	0	—	21.4	21.6	21.2	20.3	—
	0.07	0.31	0.51	—	-90.5	-285.0	-295.5	—	646	460	290	—	0	0	0	—	21.0	21.2	21.4	19.9	—
	0.09	0.25	0.40	—	-115.1	-270.9	-249.8	—	639	542	312	—	0	0	0	—	21.4	21.5	21.6	19.9	—

注: 菌丝耗氧量在土 30 毫克以内者系技术或仪器上的误差。—表示未进行检查。*表示两瓶培养物中有一瓶出现金霉素。

表 4 絲氨酸半胱氨酸谷氨酸及組氨酸各种組合对金霉菌代謝的影响

代謝分析 培养基的組合	菌絲总氮 毫克 / 10 毫升			耗 氧 量 微克 / 10 毫升 / 2 小时			耗氧率 Q _{O₂} (N)			金霉素 毫克 / 毫升			还 元 糖 毫克 / 毫升		
氨基酸的組合	24	72	120	24	72	120	24	72	120	24	72	120	0	24	72 120
不加氨基酸	0.13	0.28	0.32	-90.5	-212.0	-229.2	348	379	358	0	0	0	23.3	23.1	22.8 22.0
▲絲+▲组	0	0.16	0.30	+4.5	-184.5	-226.5	0	577	378	0	0.13	0	23.4	23.5	22.9 22.3
▲絲+▲组+▲牛胱	0	0.11	0.32	+11.2	-217.5	-223.9	0	989	350	0	0.13	0	22.2	23.0	22.6 21.8
不加氨基酸	0.02	0.20	0.28	-42.5	-208.2	-229.4	1063	524	410	0	0	0	26.7	26.3	25.3 24.6
▲絲+▲谷	0	0.23	0.36	-0.3	-221.6	-245.8	0	482	341	0	0	0	26.2	26.8	25.3 24.1
▲絲+▲谷+▲牛胱	0	0.22	0.31	-26.8	-126.6	-220.3	0	288	355	0	0	0	24.9	25.6	25.6 24.5
不加氨基酸	*0.12	0.24	0.23	*-228.7	-228.7	-205.0	*953	476	446	0	0	0	22.2	*22.8	23.3 21.7
▲絲+▲组+▲谷+▲牛胱	*0.14	0.22	0.28	*-173.8	-234.7	-232.0	*621	579	414	0	0	0	21.4	*22.5	22.7 20.9
●絲+▲组+▲谷+▲牛胱	*0	0	0.01	+6.9	+9.0	-38.8	*0	0	1940	0	0	0	22.7	*23.9	25.2 22.4

註：菌絲耗氧量在土 30 微克以内者系技术或仪器上的差誤。氨基酸浓度 {● 0.1% ▲ 0.01%} * 48 小时的结果。

表 5 絲氨酸或半胱氨酸与十四种氨基酸組合时对金霉菌代謝的影响

代謝分析 培养基的組合	菌絲总氮 毫克 / 10 毫升			耗 氧 量 微克 / 10 毫升 / 2 小时			耗氧率 Q _{O₂} (N)			金霉素 微克 / 毫升			还 元 糖 毫克 / 毫升		
氨基酸的組合	24	72	120	24	72	120	24	72	120	24	72	120	0	24	72 120
不补充氨基酸	0.07	0.16	0.26	-97.5	-184.6	-178.5	696	577	343	0	0	0	23.0	23.6	22.2 21.4
▲十四种氨基酸組合	0.11	0.27	0.42	-69.4	-151.6	-191.1	315	280	228	0	0	0	22.2	24.0	22.9 21.6
*牛胱氨酸加 14 种氨基酸組合	0.06	0.27	0.44	-53.0	-180.1	-224.5	442	334	255	0	0	0	22.5	23.8	22.6 22.1
不补充氨基酸	0.07	0.20	0.24	-104.6	-145.5	-145.9	747	364	304	0	0	0	23.0	22.8	19.9 19.2
▲十四种氨基酸組合	0.08	0.19	0.24	-94.9	-116.3	-122.8	593	306	256	0	0	0	22.8	21.7	19.7 19.5
*絲氨酸加 14 种氨基酸組合	0.09	0.21	0.26	-116.3	-142.3	-121.1	646	339	233	0	0	0	23.1	22.5	20.0 19.7

註：*牛胱氨酸及絲氨酸浓度为 0.1% ▲根据 Chardinal 氏分析玉米浸液所含的十四种氨基酸总量为 0.15%。

討 論

几乎所有的微生物都能利用葡萄糖。阿拉伯糖并不是微生物的好碳源^[8], 金霉菌变种 B₁₁ 即不能利用 d- 及 L- 阿拉伯糖^[17], 本实验菌株亦不能利用 L(+) 阿拉伯糖, 这可能由于它缺乏利用此糖的酶类。我们的实验证明蔗糖是金霉菌最好的碳源, 一般作者亦喜用蔗糖为金霉菌的碳源^[2,6,7]。

金霉素是金霉菌的合成产物, 在合成过程中必须供给足量的能源和碳源^[2]。在我们的实验中观察到, 金霉菌能利用糖类时, 才有金霉素产生, 并且要等到糖份消耗到相当程度时, 金霉素产量才上升。不能利用培养基中的糖类或不供给糖份时, 就没有金霉素的产生。这可能由于糖类补给能源和碳源, 以供金霉素的生物合成之用。同样理由, 培养基中糖要用完或完全用尽时, 金霉素产量随即开始下降。

不加糖的对照或糖类不能被金霉菌利用时, 培养基中蓄积大量的氨, 酸碱度亦高。沈氏^[1]、Woodruff 氏^[23] 等曾观察到类似的情况。他们认为抗生素此时必须从天门冬酰胺或蛋白胨中获得碳源和能源。分解这些有机氮时, 由于脱氨作用放出大量的氨。

丝氨酸对金霉素的合成具有刺激作用的原因尚未明了。根据 Levine 氏等^[14] 报告, 鼠疫桿菌能将 3- 磷酸甘油酸, 经过 3- 磷酸羟基丙酮酸而合成丝氨酸。Adeberg 氏^[4] 应用同位素 C¹⁴ 亦证明由丙酮酸—3—C¹⁴ + CO₂ → 草酰乙酸—3—C¹⁴ ⇌ 草酰乙酸—2—3—C¹⁴ → 磷酸烯醇式丙酮酸—2—3—C¹⁴ → 3- 磷酸甘油酸—2—3—C¹⁴ → 丝氨酸—2—3—C¹⁴。我们知道磷酸甘油酸、丙酮酸等都是糖的中间代谢产物。由此推想, 丝氨酸之所以对于金霉素的合成有利, 可能也涉及糖的代谢。

关于半胱氨酸的抑菌作用, 据 Ravel 氏等^[21] 报告, 培养基中如没有 β- 丙氨酸或泛酸存在时, 半胱氨酸能够抑制大肠杆菌的生长, 此种制菌作用可为天门冬氨酸所消除。作者认为半胱氨酸和天门冬氨酸的结构相似, 可能互争一种酶, 此酶能使天门冬氨酸脱羧成为 β- 丙氨酸, β- 丙氨酸再与源酸合成 CoA。据此, 可以推测到半胱氨酸抑制金霉菌生长的作用之所以被其他 14 种氨基酸^[9] 所抵消, 也许由于其中的天门冬氨酸及 β- 丙氨酸所产生的拮抗作用所致。

摘 要

(一) 金霉菌能利用葡萄糖但不能利用阿拉伯糖。利用蔗糖时视培养基中硫酸铵和蔗糖含量的比例而定, 比例为 1:10 或 1:50 时蔗糖可被利用; 为 1:1 或 1:2 时则不能被利用。利用葡萄糖时金霉菌的代谢在培养后 72 小时最为活动; 利用蔗糖比葡萄糖为慢。

(二) 金霉菌利用糖类和金霉素的生物合成有密切的关系, 能利用糖类时才有金霉素合成; 不能利用糖或不供给糖份时金霉素产量几乎没有。在合成金霉素上, 三种糖中以蔗糖为最好, 其次为葡萄糖。

(三) 金霉菌能利用硫酸铵、氯化铵和草酸铵。利用三种铵盐时它的代谢情况基本上相似的, 培养 72 小时的新陈代谢活动最为显著。从合成金霉素上比较, 三种铵盐中以硫酸铵效果最好, 其次为氯化铵, 再其次为草酸铵。

(四) 丝氨酸对金霉素的生物合成有一些促进作用, 当它与其他氨基酸在一起时这点

作用常常消失。0.1% 半胱氨酸对金霉菌的生长具有抑制作用, 但当它与 14 种氨基酸共存时, 这种抑菌作用完全消除。根据氨基酸实验的结果, 说明了玉米浸液刺激抗生素合成的功用, 可能不完全由于其中所含的氨基酸所致。

参 考 文 献

- [1] 沈善炯等: 实验生物学报, 5: 461, 1957.
- [2] 沈善炯等: 实验生物学报, 5: 249, 1956.
- [3] 孟威廉等: 生理学报, 19: 319, 1955.
- [4] Adelberg, E. A.: *Ann. Rev. Biochem.*, 25: 349, 1956.
- [5] Backus, E. J. et al.: *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, 60: 86, 1954.
- [6] Biffi, G., et al.: *АНТИБИОТИКИ*, 3: 12, 1955; 5: 22, 1955.
- [7] Bprrret, G., et al.: *Biol. Abst.*, 31: 1966, 1957.
- [8] Burkholden, P. R., et al.: *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, 60: 102, 1955.
- [9] Chardinal, E. V., & Hedrick, L. R.: *J. Biol. chem.*, 172: 609, 1948.
- [10] Dornbush, A. C., et al.: *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, 51: 218, 1948.
- [11] Knight, S. G., & Frazier, W. C.: *Science*, 102: 617, 1946.
- [12] Koffer, H., et al.: *J. Bact.*, 50: 549, 1945.
- [13] Königsbauer, H., *Excerpta med.*, Sect., 4, 5: 254, 1952.
- [14] Levine, H. B., et al.: *J. Bact.*, 67: 369, 1954.
- [15] Ligget, R. W., & Koffer, H.: *Bact. Rev.*, 12: 297, 1948.
- [16] Mead, T. H., & Stack, M. V.: *Biochem. J.*, 42, Proc. xviii, 1948.
- [17] Miller, P. A., et al.: *Science*, 123: 1030, 1956.
- [18] Moyer, A. J. & Coghill, R. D.: *J. Bact.*, 51: 57, 1946.
- [19] Pernson, R. M., et al.: *Biochem. J.*, 37: 145, 1943.
- [20] Pettus, M., et al.: *АНТИБИОТИКИ*, 4: 20, 1955.
- [21] Ravel, T. M., & Shive, W.: *J. Biol. Chem.*, 166: 407, 1946.
- [22] Shaffer, P. A., et al.: *J. Biol. Chem.*, 100: 695, 1933.
- [23] Umbreit, W. W., et al.: *Mannometric techniques and related methods for the study of tissue metabolism*, 1949.
- [24] White, A. G. C., et al.: *Arch. Biochem.*, 8: 303, 1946.
- [25] Woodruff, H. B. & Foster, J. W.: *Arch. biochem.*, 2: 301, 1943.

THE EFFECT OF SUGARS AND NITROGENOUS COMPOUNDS UPON THE METABOLISM OF STREPTOMYCES AUREOFACIENS

CHANG SHU-LIEN

(Department of Bacteriology and Immunology, Chinese Academy of Medical Sciences, Peking)

On the basis of Мичурин's theory that changes in the environmental condition may influence the patterns of metabolism of the living organisms, we observed in this study the metabolic changes of *Streptomyces aureofaciens* when several kinds of sugars and nitrogenous compounds were added to the medium.

In the medium with corn steep liquor, glucose was used by *S. aureofaciens*, while L-arabinose was not utilized. The utilization of sucrose by the organisms depended upon the ratio of the concentration of ammonium sulfate and sucrose in the medium. If the ratio was 1:10 or 1:50, sucrose

* 这项研究工作是在张宽厚教授指导之下进行的;在技术上曾得到俞用川及周魁君二同志之帮助,特此誌謝。

could be utilized. A ratio of 1:1 or 1:2 would cause a suppression of its utilization.

During the fermentation of glucose, the metabolic change of *S. aureofaciens* proceeded quite regularly. After incubation of 48 hours a little amount of aureomycin was produced, glucose was started to be utilized, but the amount of ammonium nitrogen and the pH value of the culture were decreased. After 72 hours of fermentation, the yield of the antibiotic reached to a maximal level. Glucose in the medium was further utilized. Ammonia nitrogen and pH value of the culture were also further decreased. After 72 hours of fermentation, the sugar was almost completely consumed, the amount of aureomycin began to decrease, while the amount of ammonium nitrogen and the pH value of the medium began to increase slightly.

The rate of the utilization of sucrose by *S. aureofaciens* was slower than that of glucose, but the concentration of aureomycin reached to a high level after 120 hours.

When L-arabinose was incorporated a very small amount of the antibiotic was produced, but a large amount of ammonia was accumulated and the pH value of the medium was increased at the sametime. In the whole process of fermentation the mycelium showed slight growth, the ammonia nitrogen and pH value were maintained at high levels.

The same metabolic phenomena were also seen when the ratio of ammonium sulfate and sucrose in the medium was not suitable for the metabolic activity of *S. aureofaciens*, as well as in the control, to which no sugar was added.

From these results it was clearly demonstrated that there was a close relationship between the rate of the utilization of sugars and the aureomycin production. When the sugar was first utilized by *S. aureofaciens*, the biosynthesis of the antibiotic began to take place. When the concentration of the sugars in the medium dropped to a certain level, the amount of aureomycin rose to a peak. As soon as the sugar was completely or nearly completely exhausted, the antibiotic production stopped. If the sugars could not be utilized or no sugar was supplied little or no antibiotic production was found. Comparison of the effect of the 3 kinds of sugars on the biosynthesis of the antibiotic by *S. aureofaciens* showed that the effect of sucrose was best, that of glucose was the next and effect of L-arabinose was the worst.

All three ammonium salts—sulfate, chloride and oxalate, could be utilized by *S. aureofaciens*, and the metabolic picture was similar. The active metabolism occurred about 72 hours after the fermentation, at this time, the sugar was utilized rapidly and the biosynthesis of aureomycin increased. The ammonia nitrogen and pH value of the culture were decreased. Comparison of the effect of these 3 kinds of ammonium salts on the biosynthesis of the antibiotic showed that ammonium sulfate was the best, ammonium chloride was the next, and the effect of ammonium oxalate was the worst.

Among the 7 kinds of amino acids tested only D L-serine showed a little beneficial effect on the biosynthesis of the antibiotic. However when it was mixed with the other amino acids, this favorable effect frequently disappeared. Cysteine in concentration of 0.1% in the medium completely inhibited the growth of the organism. This inhibition could be overcome by the incorporation of other 14 amino acids which are present in the corn steep liquor as analysed by E. V. Chardinal et al.

In the medium containing 14 amino acids, as mentioned above, the growth of the organism was weak. This seems to indicate that the active principles in the corn steep liquor for stimulating the biosynthesis of the antibiotic might not be the amino acids which it contained.