

# 甲烷氧化菌混合菌株的研究

## II. 甲烷氧化菌混合菌株的胞外多糖

陈子英 曹家鳌 王雪松 赵玉峰  
尹光琳 吴家燕 梁家骥 沈安

(中国科学院微生物研究所,北京)

上文报道了甲烷氧化菌混合菌株的种类与特征<sup>[1]</sup>, 本文主要论述混合菌株所产生的胞外多糖。

### 材料与方 法

1. 供试菌株: 甲烷氧化菌混合菌株为

20FB,其组成为甲烷氧化菌 *Methylomonas* sp.+ 伴生菌 *Alcaligenes faecalis* S-63。

2. 基础培养基详见文献[1]。混合气体组分为  $\text{CH}_4:\text{O}_2:\text{N}_2 = 300:332:128\text{mmHg}$  柱,每天换气一次。30℃ 振荡培养 5 天(110 转/分)。

3. 样品处理与多糖提纯: 发酵液加水稀释 5 倍,7000 转/分离心 10 分钟除掉菌体,并作紫外全波分析。离心液加 1/10 倍的氯仿:正丁醇 = 4:1 (V/V),充分振荡后 7000 转/分离心 10 分钟除去乳白色变性物,二次重复上述操作。离心液加丙酮或乙醇沉淀,弃去上清液,呈现出无色透明的沉淀物,经红外检测为多糖。沉淀物加  $2\text{N H}_2\text{SO}_4$  封管,100℃ 水解 8 小时。水解液加  $\text{BaCO}_3$  中和离心,除掉  $\text{BaSO}_4$  沉淀。上清液作纸层析,单相展开剂为正丁醇:吡啶:水 = 6:4:3;双相展开剂为酚:水 = 4:1,苯胺-二苯胺显色。

## 结果与讨论

除去细胞后的上清液作紫外全波吸收,最大吸收峰为  $270\mu\text{m}$ ,处于蛋白质标准峰  $280\mu\text{m}$  与核酸标准峰  $260\mu\text{m}$  之间(图 1)。当除掉蛋白质直到双缩脲反应阴性后测定,最大吸收峰为  $255-260\mu\text{m}$ ,此为核酸类物质,但含量不

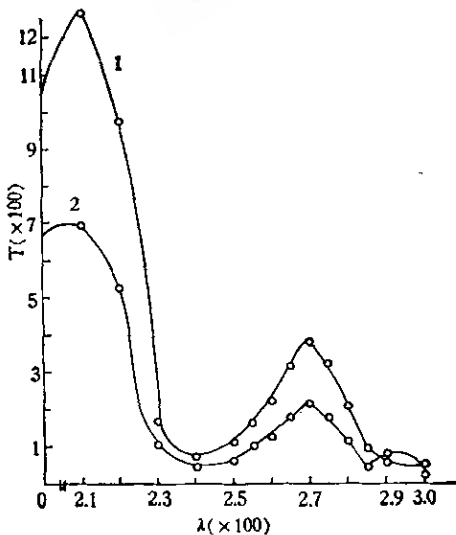


图 1 20FB 菌株胞外产物的紫外光谱(未除蛋白质)  
1. 稀释 50 倍; 2. 稀释 100 倍

高(图 2)。

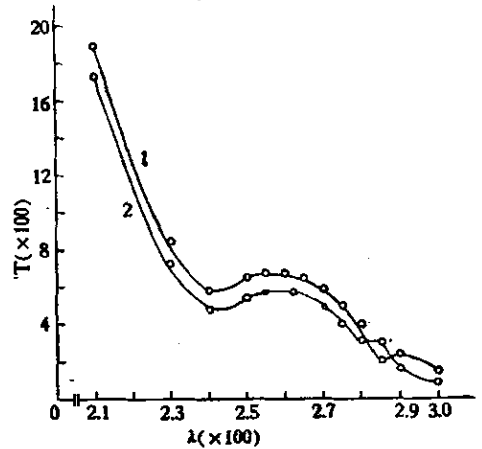


图 2 20FB 菌株胞外产物的紫外光谱(已除蛋白质)  
1. 第一次测定结果, 2. 第二次。

以丙酮处理除掉菌体与蛋白质的上清液得到纤维状的沉淀物,冷冻干燥后呈洁白的泡沫塑料状,经红外检测为碳水化合物(图 3),红外吸收图谱在  $3400\text{cm}^{-1}$  处有一很强的羟基振荡峰;在  $1635\text{cm}^{-1}$  处有一羧基振荡峰,显示出它是多糖类物质。将此物质加入  $2\text{N H}_2\text{SO}_4$  封管,在  $100^\circ\text{C}$  下保温 8 小时,以  $\text{BaCO}_3$  除掉  $\text{SO}_4^{2-}$  离子作纸层析,呈现出三个斑点,其  $R_f$  值分别为 0.43, 0.50 与 0.60 (图 3, 4),经对比鉴

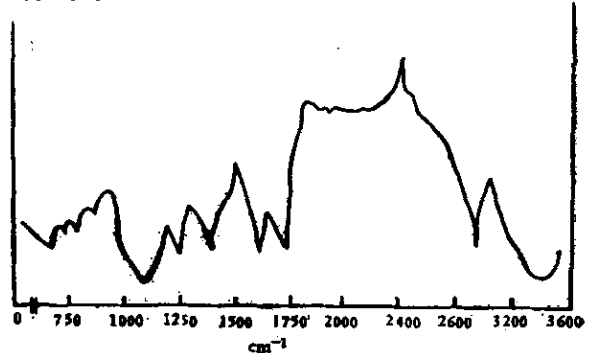


图 3 20FB 菌株胞外多糖红外吸收光谱

定多糖的组分为半乳糖、葡萄糖与岩藻糖,从红外图谱分析看,它是一种酸性多糖。与其它一些甲烷氧化菌相同而伴生菌不同的混合菌株比较,菌液的颜色与粘性程度均有明显差别,看来形成这些粘性物质的主要是混合菌株中的伴生菌。据报道用乙二醇培养 *Al. faecalis* 亦能得到酸性多糖<sup>[2]</sup>。

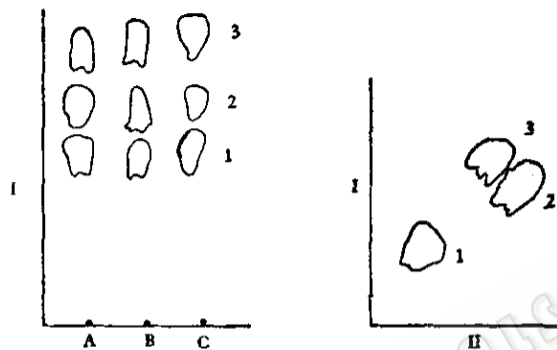


图4 20FB 菌株胞外多糖纸层析图谱

A. 三种糖标准样品; B. 多糖提纯后酸水解样品; C. A + B  
(内标), 1. 半乳糖; 2. 葡萄糖; 3. 岩藻糖。

I. 正丁醇:吡啶:水=6:4:3 II. 酚:水=4:1

天然气的主要成分是一种化学结构十分稳

定的碳氢化合物——甲烷( $\text{CH}_4$ )。自然界分解和转化这种物质的微生物种类极少,这类微生物的碳源专一性强,生长慢,它只能利用甲烷作为唯一碳源与能源,因此,至今难以利用这微生物转化甲烷生产有用的化工产品,如果利用甲烷氧化菌与具有某种特异性能的伴生菌组成特定的混合菌株,使之共同分解和转化甲烷生产某些有益的化工产品,以此开发天然气资源看来是可行的。

### 参 考 文 献

- [1] 陈子英、曹家馨等:微生物学通报,8(1):7-9,1981。  
[2] 山口宗南、佐藤昭雄:日本微工研研究報告,69号,1977。