

Vliv železa na růst kmenů produkujících penicilin a na biosyntézu penicilinu

615.779.93 663.18 579.095.18

Dr. VLASTA MATELOVÁ, CSc., Výzkumný ústav antibiotik a biotransformací, Roztoky u Prahy

Studium působení železa na růst produkčních kmenů a biosyntézu penicilinu je zajímavé nejen z teoretického hlediska [1], ale má své opodstatnění především z praktických důvodů, neboť penicilin se v ČSSR vyrábí doposud v železné aparatuře a v průběhu fermentace se uvolňuje do média značné množství železa — asi 50 γ /ml. Nezanedbatelným zdrojem železa jsou však i suroviny používané pro výrobu penicilinu. Tyto důvody nás vedly k podrobnějšímu sledování vlivu železa na růst penicilií a biosyntézu penicilinu, zejména pak k hledání vhodných látek, které by specificky vázaly železo a neovlivňovaly růst produkčních kmenů a biosyntézu penicilinu.

Interakci mezi růstem, produkcí a přítomným železem ve fermentační půdě vystihuje obr. 1. Železo (ve formě síranu železnatého) bylo do fermentační půdy přidáno v takové koncentraci, aby jeho obsah po sterilaci byl 50 γ /ml. V průběhu fermentace byl sledován růst a produkce, kontrolou byly fermentace bez přídavku železa. Železo inhibuje pouze biosyntézu penicilinu, nikoli růst. Intenzita inhibice biosyntézy penicilinu závisí na koncentraci železa v půdě, jak vyplývá z obr. 2. Citlivost produkčních kmenů na železo je různá, u většiny kmenů však inhibice při 50 γ /ml železa v půdě nepřesahuje 30 %, pouze u jediného kmene *Penicillium chrysogenum* 65/41-16 je biosyntéza penicilinu snížena o 70 %, jak vyplývá z tabulky 1.

Železo prostupuje buněčnou stěnou a hromadí se v myceliu, čím je koncentrace železa v půdě vyšší, tím je i jeho koncentrace v myceliu vyšší, což prokazují výsledky uvedené na obr. 3 v době maximálního růstu kultury. Množství železa v myceliu se nemění, teprve s na-

stupující autolýzou se železo z mycelia opět uvolňuje do kultivačního prostředí.

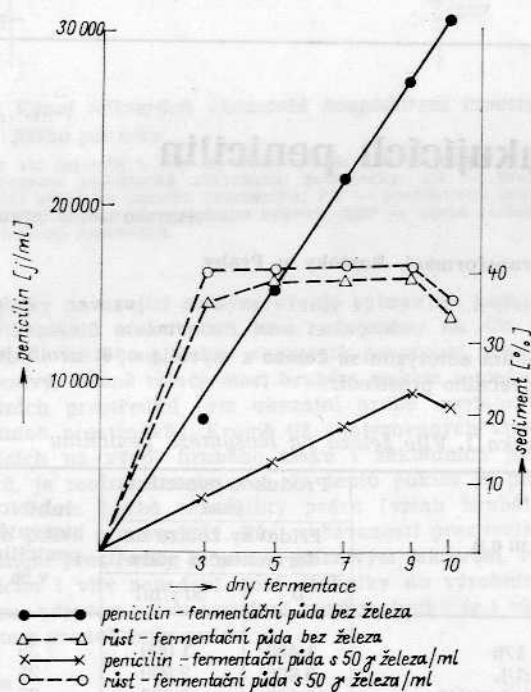
Tabulka 1. Vliv železa na biosyntézu penicilinu

K m e n	Produkce penicilinu j/ml		Inhibice biosyntézy penicilinu v %
	Přídavky železa do fermentační půdy		
	0	50 γ/ml	
Q 176	1 400	1 000	29
NG/L	3 900	2 900	25
NMG IV/47	13 100	9 400	28
UV XXVII/74	21 000	15 300	27
Cu 7/8-PFP 10	22 000	15 000	32
65/41-16	28 000	9 000	67

Cílem práce bylo nalézt látku, která by byla schopna vázat železo do komplexu, který by neovlivňoval růst ani biosyntézu penicilinu. Za tímto účelem byly použity látky popsané v tabulce 2, kde jsou uvedeny jejich základní charakteristiky. Při ověřování účinnosti všech těchto látek in vivo bylo do fermentačních půd přidáváno 50 γ železa/ml a koncentrace deinhibiční látky byla měněna v rozsahu od 0,01 až do 0,75 %. Dosažené výsledky jsou uvedeny v tabulce 3. Je třeba podotknout, že při 50 γ železa/ml v půdě použitým kmenem 65/41-16 byla produkce vždy snížena na 9000 j/ml, úroveň kontrolní fermentace bez železa byla 28 000 j/ml.

Tabulka 2. Základní charakteristiky látek použitých ke zrušení inhibičního vlivu železa

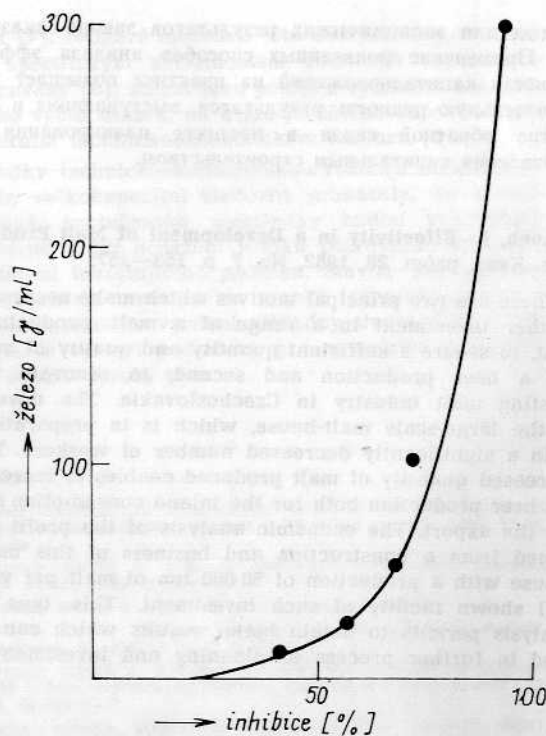
Prodejní název	Chemický název	Sumární vzorec	Molekulová hmotnost
Syntron A	nitrilotrioctová kyselina	$C_6H_9NO_6$	191,14
Syntron B	etylendiaminotetraoctová kys., dvojsodná sůl	$C_{10}H_{14}N_2O_8 \cdot Na_2 \cdot 2H_2O$	372,24
Komplexon III	totožný se Syntro- nem B		
TIT I	totožný se Syntro- nem A		
TIT IV	cyklohexylen-(1,2)- -dinitrilotetraoctová kyselina [mono- hydrát]	$C_{14}H_{22}N_2O_8 \cdot H_2O$	364,36
TIT V	dietyltriaminpen- taoctová kyselina	$C_{14}H_{23}N_3O_{10}$	393,35
TIT VI	bis-(aminoetylen)- glykolet-N, N, N, N'-tetraoctová kyse- lina	$C_{14}H_{24}N_2O_{10}$	380,35



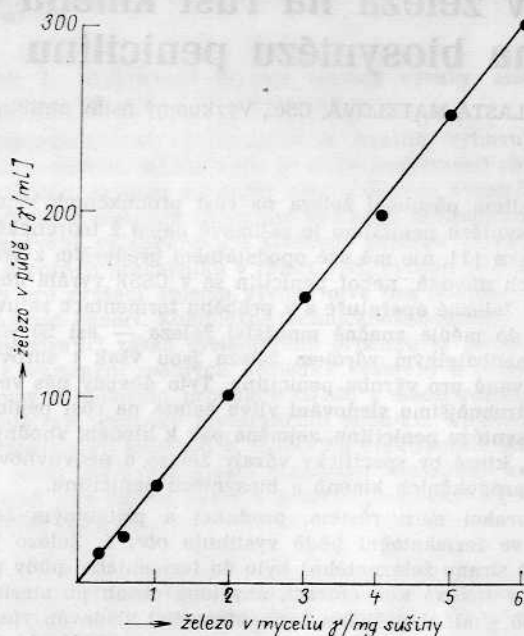
Obr. 1. Vliv železa na biosyntézu penicilinu a růst produkčního kmene

Získaný poznatek o vhodnosti *Titriplexu V* k eliminaci inhibičního vlivu železa byl ověřen i při biosyntéze penicilinu dalšími kmeny. Výsledky jsou uvedeny v tabulce 4.

Dále bylo prokázáno postupným přidáváním železa v průběhu fermentace do produkční půdy do konečné koncentrace 50 g/ml, což je de facto napodobení eluce železa z fermentační aparatury, která probíhá při fermentaci, že není třeba deinhibici provádět postupně, stačí, je-li celkové množství deinhibiční látky dodáno do půdy před sterilací a eliminace inhibičního vlivu je kvantitativní.



Obr. 2. Závislost inhibice biosyntézy penicilinu na koncentraci železa ve fermentační půdě



Obr. 3. Vztah mezi množstvím železa ve fermentačním médiu a v myceliu produkčního kmene

Závěrem lze říci, že železo přítomné ve fermentační půdě neovlivňuje růst produkčních kmenů, výrazně však snižuje biosyntézu penicilinu; intenzita inhibice závisí na použitém produkčním mikroorganismu a na koncentraci železa ve fermentačním médiu. Železo vstupuje do mycelia, kde se kumuluje; mycelium má vlastnost téměř kvantitativně odstraňovat železo z fermentačního prostředí, z mycelia je pak železo uvolňováno až během

autolýzy. Inhibiční vliv železa lze kvantitativně odstranit kyselinou diethylentriaminpentaocetovou.

Tabulka 3. Účinnost látek použitých k zrušení inhibičního vlivu železa na biosyntézu penicilinu

Deinhibiční látka	Optimální koncentrace použité látky [%]	Produkce penicilinu [j/ml]
Synttron A	0,25	24 100
Synttron B	0,25	24 800
Komplexon III	0,5	23 000
TIT I	0,075	25 800
TIT IV	0,05	11 900
TIT V	0,05	27 800
TIT VI	0,05	10 400

Tabulka 4. Odstranění inhibičního vlivu železa na biosyntézu penicilinu TITRIPLEXEM V

Kmen	Koncentrace železa [γ/ml]	Koncentrace TIT V [%]	Produkce penicilinu [i/ml]
Q 176	0	0	1 400
	50	0	1 000
	50	0,05	1 470
NG/L	0	0	3 900
	50	0	2 900
	50	0,05	4 000
NMG IV/47	0	0	13 100
	50	0	9 400
	50	0,05	14 000
UV XXVII/74	0	0	21 000
	50	0	15 000
	50	0,05	21 900
Cu 7/8-PFP 10	0	0	22 000
	50	0	15 000
	50	0,05	22 800
65/41-16	0	0	28 000
	50	0	9 000
	50	0,05	28 500

Literatura

[1] PAN, C. A. a sp.: J Ferment. Technol. 1975, 53, č. 12, s. 854.

Matelová, V.: Vliv železa na růst kmenů produkujících penicilin a na biosyntézu penicilinu. Kvas. prům., 28, 1982, č. 7, s. 157—159.

Železo přítomné ve fermentační půdě neovlivňuje růst produkčních kmenů, výrazně však snižuje biosyntézu penicilinu; intenzita inhibice závisí na použitém produkčním mikroorganismu a na koncentraci železa ve

fermentačním médiu. Železo vstupuje do mycelia, kde se kumuluje; mycelium má vlastnost téměř kvantitativně odstraňovat železo z fermentačního prostředí, z mycelia je pak železo uvolňováno až během autolýzy. Inhibiční vliv železa lze kvantitativně eliminovat kyselinou diethylentriaminpentaocetovou.

Мателова, В.: Влияние железа на рост штаммов-продуцентов пеницилина и на биосинтез пеницилина. Квас. прум., 28, 1982, № 7, стр. 157—159.

Железо присутствующее в культуральной жидкости не оказывает влияние на рост штаммов-продуцентов, но существенно понижает биосинтез пеницилина; степень ингибирования зависит от использованного штамма-продуцента и от концентрации железа в культуральной жидкости. Железо проникает в мицел, где накапливается. Мицел способен почти количественно удалять железо из культуральной жидкости; из мицела железо выделяется уже в течении автолиза. Ингибирующее влияние железа возможно количественно элиминировать диэтилентриаминпентауксусной кислотой.

Matelová, V.: The influence of iron upon growth of penicillin producing strains and upon penicillin biosynthesis. Kvas. prům., 28, 1982, No. 7, pp. 157—159.

Iron present in a cultivation liquid does not influence the growth of producing strains, but it decreases significantly the biosynthesis of penicillin. The intensity of inhibition depends on a used producing microorganism and on a concentration of iron in the cultivation liquid. Iron penetrates in a mycelium, where it is accumulated. The mycelium is able to remove nearly quantitatively iron from a fermentation medium. Iron is released from the mycelium during an autolysis of cell. The inhibitory influence of iron may be eliminated quantitatively by diethylentriaminpentaacetic acid.

Matelová, V.: Der Einfluß des Eisens auf das Wachstum der Penizillin-produzierenden Stämme und auf die Biosynthese des Penizillins. Kvas. prům. 28, 1982, Nr. 7, S. 157—159.

Das im Fermentationsboden anwesende Eisen beeinflusst zwar nicht das Wachstum der Produktionsstämme, es verringert jedoch beträchtlich die Biosynthese des Penizillins; die Intensität der Inhibition hängt von dem angewendeten Produktionsmikroorganismus und von der Konzentration des Eisens im Fermentationsmedium ab. Das Eisen tritt in das Mycelium ein, wo es sich anhäuft; das Mycelium besitzt die Fähigkeit, das Eisen aus dem Fermentationsmedium fast quantitativ zu entfernen; aus dem Mycelium wird das Eisen dann erst während der Autolyse freigesetzt. Der Inhibitionseinfluß des Eisens kann durch die Diäthylentriaminpentaessigsäure quantitativ eliminiert werden.