

Diss. ETH Nr. 6572

CHARAKTERISIERUNG VON GLAUCESCIN,  
EINER BACTERIOCIN-AEHNLICHEN SUBSTANZ  
VON STREPTOMYCES GLAUCESCENS

ABHANDLUNG

zur Erlangung  
des Titels eines Doktors der Naturwissenschaften  
der

EIDGENOESSISCHEN TECHNISCHEN  
HOCHSCHULE ZUERICH

vorgelegt von

WALTER SCHURTER

dipl. Natw. ETH  
geboren am 31. Dezember 1950  
von Freienstein (Kt. Zürich)

angenommen auf Antrag von

Prof. Dr. Th. Leisinger, Referent  
Prof. Dr. R. Hütter, Korreferent

1980

## Z U S A M M E N F A S S U N G

Streptomyces glaucescens ETH 22794 produzierte eine ganze Reihe antibiotischer Aktivitäten. Nebst niedermolekularen Antibiotika wie Hydroxystreptomycin und den Tetracenomycinen produzierte dieser Stamm auch Glaucescin, eine hochmolekulare Substanz mit Bacteriocin-ähnlichen Eigenschaften. In Plattentests wurde die durch Glaucescin verursachte Wachstumshemmung des Teststammes Streptomyces canadiensis NRRL 3155 durch die Hemmzone der schnell diffundierenden Tetracenomycine maskiert. Erst bei Verwendung Tetracenomycin-resistenter Teststämmen konnte die Glaucescin-Aktivität sichtbar gemacht werden.

Glaucescin wurde in Flüssigkultur sowohl in Minimal- als auch in Vollmedium gebildet. Durch Zugabe von Mitomycin C liess sich aber keine Induktion der Glaucescinbildung erreichen.

Glaucescin war säure- und thermolabil, liess sich aber weder durch DNase, RNase und Lipase noch durch eine Reihe von Proteasen inaktivieren. Das Molekulargewicht konnte durch Gelfiltration und durch Sedimentation in Glycerringradienten auf 196000 geschätzt werden. Eine Zusammenfassung aus aktiven Untereinheiten konnte nicht nachgewiesen werden.

Auswachsene Sporen von S. canadiensis waren maximal sensitiv gegen Glaucescin, während ruhende Sporen und Mycel wesentlich weniger sensitiv waren. Parallel zu dieser unterschiedlichen Sensitivität verschiedener Differenzierungsphasen von S. canadiensis verlief auch die Adsorptionskapazität für Glaucescin. Das Aktivitätsspektrum von Glaucescin war beschränkt auf sporenbildende Vertreter der Actinomycetales.

Die Glaucescinbildung wurde unter normalen Laborbedingungen stabil vererbt. Mit Hilfe von Plasmid-eliminierenden Bedingungen oder Agenzien konnte hingegen eine Instabilität gezeigt werden. Aus allen getesteten Bedingungen (Aethidiumbromid, Glycin, Thymidin-Mangelbedingungen, Novobiocin bei hohen Temperaturen) konnten aber keine stabilen  $Cin^-$ -Kolonien isoliert werden. Alle getesteten Kolonien der geklonten Isolate wiesen beim zweiten Test wieder den  $Cin^+$ -Phänotyp auf.

In Vorexperimenten zur Plasmidisolierung aus S. glaucescens konnten die Protoplastierung des Mycels und die Lyse der Protoplasten optimiert werden. Mannigfaltigen Versuchen, Plasmid-DNA aus S. glaucescens nachzuweisen, war hingegen kein Erfolg beschieden.

A B S T R A C T

Streptomyces glaucescens ETH 22794 produced a variety of antibiotic substances. Besides low molecular weight antibiotics like hydroxystreptomycin and the tetracenomycins, this strain produced glaucescin, a high molecular weight product with bacteriocin-like properties. In plate tests the antagonism of glaucescin against Streptomyces canadiensis NRRL 3155 was masked by the large inhibition zone caused by the fast diffusing tetracenomycins.

Glaucescin activity was revealed when tetracenomycin-resistant indicator strains were used.

Glaucescin was produced in minimal or in complete liquid medium. Addition of mitomycin C to a growing culture of S. glaucescens did not induce the production of glaucescin. The killing activity of glaucescin was acid- and thermolabile and resistant to DNase, RNase, lipase and various proteinases. Its apparent molecular weight was estimated as 196000 by gel filtration and glycerol gradient centrifugation. We could not show any active subunits of glaucescin. Glaucescin preferentially killed outgrowing spores of S. canadiensis. Resting spores and mycelium were considerably less sensitive to glaucescin. The differential sensitivity of S. canadiensis in various stages of cell differentiation were paralleled by the adsorption capacity of this organism for glaucescin.

The activity spectrum of glaucescin was limited to spore-forming Actinomyce-  
tales.

Glaucescin was stably inherited under normal laboratory conditions. However, under conditions favorable for plasmid elimination, instability of glaucescin inheritance could be shown. Under all conditions tested (ethidium bromide, glycin, thymidin starvation, novobiocin at high temperatures only unstable  $Cin^-$ -colonies were isolated. The purified isolates reverted to the wild type character at high frequency.

Protoplasting of mycelium of S. glaucescens and lysis of the protoplasts with detergents were optimized. However, various attempts to demonstrate the presence of plasmid DNA from S. glaucescens failed.