

诱变钝齿棒状杆菌 AS1.542 获得抗 AHV 突变株

李玲阁 陈 琦 何志敏 季恩秀
(中国科学院微生物研究所, 北京) (北京人民食品厂, 北京)

人们运用微生物遗传学的基础理论和代谢调节的知识于育种工作, 有力地推动了微生物育种的进展。近年来在分枝链氨基酸 (Branched-chain Amino Acid) 发酵研究方面, 采用调节突变株^[1]和抗结构类似物突变株^[2]所获得的成功, 展示了人工控制微生物的代谢过程, 使之在一定程度上符合人们的愿望将成为可能。深入开展这方面的研究, 不仅有理论上的意义, 而且有实际应用的价值。

α -氨基- β -羟基-戊酸 (简称 AHV) 是异亮氨酸的一种结构类似物, 它对钝齿棒状杆菌 (*Corynebacterium crenatum*) AS1.542^[3] 菌株的生长有明显的抑制作用, 而这种抑制可为 L-异亮氨酸部分恢复; 当我们用亚硝基胍对该菌进行诱变后获得的 LR-1000 突变菌株, 则其生长不再受 AHV 的抑制 (见图), 并且可在培养液中积累大量的 L-异亮氨酸。

将在肉汁琼脂斜面上生长好的 AS1.542 菌株, 挑取一接种环接入肉汤培养液内, 30℃ 振荡培养 12 小时, 细胞浓度为 10^7 /毫升。离心集菌, 用生理盐水洗涤。然后用磷酸缓冲液 (M/15

pH7.0) 配成浓度为 1 毫克/毫升亚硝基胍溶液, 于 30℃ 处理 15 分钟。取处理后的菌体, 制成菌悬液, 吸取适量涂布在含有不同量 AHV 的平皿上。30℃ 培养 5—10 天。若平皿上出现菌落, 即为抗 AHV 的突变株。将这些突变株菌落移到肉汁琼脂斜面上, 供进一步试验用。

已知抗 AHV 突变株有积累 L-异亮氨酸^[1]和 L-苏氨酸^[4]的能力。我们对获得的 912 株抗 AHV 突变株的产 L-异亮氨酸性能进行了试验, 结果如下表。

抗不同剂量 AHV 突变株产 L-异亮氨酸的分布

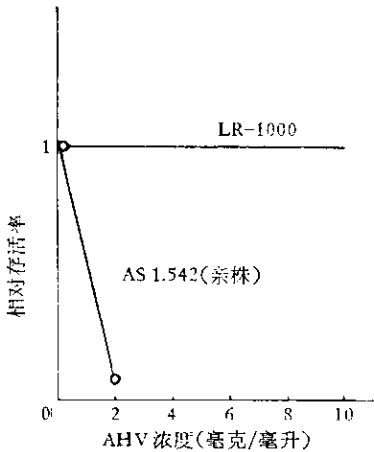
AHV 量 (毫克/毫升)	获得的抗性 菌 株 数	产 L-异亮 氨酸的菌株数	百分率 (%)
5	136	38	27.9
7	96	31	32.3
8	680	311	45.7

从表中可以看出, 随着抗 AHV 浓度的提高, 产 L-异亮氨酸菌株的百分比亦相应地增加, 产 L-异亮氨酸最高的 LR-1000 突变株, 就是在抗 AHV 8 毫克/毫升的平皿上获得的。该菌株 L-异亮氨酸产量达 1% 以上。

关于 LR-1000 菌株积累 L-异亮氨酸的机制尚在探讨中。

参 考 资 料

[1] Kisumi, M. et al.: *J. Bact.*, 110: 761—763, 1972.
[2] Shiio, I. et al.: *Agr. Biol. Chem.*, 37: 2053—2061, 1973.
[3] 陈琦、李玲阁: 微生物学报, 15 (2):, 1975.
[4] Shiio, I. et al.: *Agr. Biol. Chem.*, 34: 448—456, 1970.



AHV 对亲株和突变株生长的影响

本文 1974 年 11 月 26 日收到。