

乳糖对焦曲酶合成 α -半乳糖苷酶的 间接诱导作用的初步研究*

刘 波 彭万霖 赵淑贞

王春生 高素洁 田晓光

(黑龙江省应用微生物研究所, 哈尔滨)

微生物合成的 α -半乳糖苷酶 (α -Galactosidase) 为诱导酶^[1-4]。近年来由于它在工业上的应用, 促进了对产该酶的微生物的筛选、特性及应用的研究。不同种类的微生物合成 α -半乳糖苷酶, 需要不同的诱导物。红曲霉 (*Monascus*) 能被半乳糖诱导^[4]。链霉菌 (*Streptomyces*)^[2], 葡萄酒色被孢霉 (*Mortierella vinacea*)^[3], 犁头霉 (*Absidia*) 和卷霉 (*Circinella*)^[3,4], 不仅能被 α -半乳糖苷的棉子糖诱导, 亦能被乳糖诱导, 而且诱导效能还高。

我们筛选出一株产 α -半乳糖苷酶的焦曲霉 (*Aspergillus ustus*), 它只能被棉子糖诱导, 微弱或不能被乳糖诱导合成该酶。乳糖是半乳糖苷中价格低廉, 唯一能作为诱导物的发酵工业原料。为了使乳糖能诱导合成该酶, 我们根据诱导酶合成的理论和焦曲霉生理特性, 提出了焦曲霉合成 α -半乳糖苷酶的乳糖间接诱导作用的研究初报。

材料和方法

(一) 材料和培养方法

1. 菌种: 从我国森林土壤分离筛选出的一株产胞内 α -半乳糖苷酶的焦曲霉。

2. 培养液: ① 合成培养液 (克): KH_2PO_4 8.17, Na_2HPO_4 2.18, KCl 0.5, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.5, $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.01, 蛋白胨 3, 肉浸膏 3, 葡萄糖 3, 蒸馏水 1000 毫升, pH6.0。② 半合成培养液 (克): KH_2PO_4 8.17, Na_2HPO_4 2.18, KCl 0.5, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.5, $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.01, 农副产品 (花生饼, 棉子饼, 豆饼, 米糠等) 浸出液 1000 毫升, pH6.0。

3. 培养方法: 将 50 毫升培养液装入 250 毫升三角瓶中, 接种 2 毫升孢子悬液, 置 30℃ 旋转

式摇床培养 72 小时。

(二) α -半乳糖苷酶的测定

1. 酶液的制备: 将三角瓶的培养液过滤, 菌丝体用蒸馏水充分洗涤后, 置乳钵中加少量金刚砂, 研磨至菌丝体细胞破碎, 加入与培养液等量的蒸馏水制成悬浮液, 静置后其澄清液为胞内酶液。

2. 蜜二糖水解液的制备: 取 0.06 M 蜜二糖水溶液 20 毫升, 0.1 M 磷酸盐缓冲液 (pH5.2) 20 毫升, 胞内酶液 40 毫升于小锥形瓶中。其对照组加入经沸水浴 10 分钟灭活性的胞内酶液, 以代替有活性的胞内酶液。两者同时置于 40℃ 恒温水浴中振荡, 反应两小时后, 将前者置于沸水中处理 10 分钟终止反应。

3. 酶活力的测定: 用葡萄糖氧化酶氧化上述蜜二糖水溶液中的葡萄糖, 以 Warburg 氏压力计法进行测定。 α -半乳糖苷酶的一个单位, 规定为在上述制备蜜二糖水溶液的条件下, 分解蜜二糖产生 1 微克葡萄糖的酶量。

试验结果

(一) 糖对 α -半乳糖苷酶合成的影响

分别配制含 D-半乳糖, 乳糖和棉子糖的合成培养液, 接种焦曲霉, 培养后测定 α -半乳糖苷酶活力, 结果见表 1。

表 1 糖对 α -半乳糖苷酶合成的影响

糖种类	2% 乳糖	1% D-半乳糖	1% 棉子糖
酶活力 (单位/毫升)	265	15	2800

本文于 1978 年 4 月 30 日收到。

* 菌种由中国科学院微生物研究所齐祖诤同志鉴定。

表 1 表明, 焦曲霉合成的 α -半乳糖苷酶为诱导酶, 棉子糖为该酶合成的诱导物, 乳糖的诱导作用微弱或不能诱导。

(二) 合成培养液的乳糖间接诱导作用

1. 棉子糖浓度对酶诱导合成的影响: 配制含棉子糖浓度(%)为: 1, 0.75, 0.5, 0.25 的合成培养液, 接种, 培养测定 α -半乳糖苷酶活力, 结果见表 2。

表 2 不同浓度棉子糖对 α -半乳糖苷酶诱导合成的影响

棉子糖浓度 (%)	1	0.75	0.5	0.25
酶活力 (单位/毫升)	2800	1413	1392	814

表 2 表明, 培养液中棉子糖浓度越高, 焦曲霉诱导合成 α -半乳糖苷酶的活力亦越高。

2. 乳糖间接诱导对酶合成的影响: 用合成培养液培养焦曲霉, 24 小时加入 25% 棉子糖溶液(无菌) 0.5 毫升(对照组不加), 使培养液含棉子糖的浓度为 0.25%, 进行低浓度棉子糖诱导, 培养 48 小时后, 加入 25% 乳糖溶液(无菌) 1 毫升, 培养 56 小时后, 再加入 2 毫升上述乳糖溶液, 两次加入的总量使培养液含乳糖为 1.5%, 进行乳糖间接诱导, 培养后测定 α -半乳糖苷酶活力为 1381 单位/毫升, 对照组为 63 单位/毫升。结果说明, 乳糖只能间接诱导焦曲霉合成 α -半乳糖苷酶, 同时必须要有低浓度棉子糖予诱导, 否则合成该酶活力很低。

(三) 半合成培养液的乳糖间接诱导作用

1. 半合成培养液对酶诱导合成的影响: 用一些含棉子糖的农副产品(花生饼、豆饼、米糠等)制备浸出液, 配制半合成培养液, 接种焦曲霉, 培养后测定 α -半乳糖苷酶活力, 结果见表 3。

表 3 五种农副产品对 α -半乳糖苷酶诱导合成的影响

品名	4%豆饼	4%花生饼	4%米糠	4%玉米浆	5%废糖蜜
酶活力 (单位/毫升)	199	612	225	237	631

表 3 说明, 含有少量棉子糖的农副产品对焦曲霉合成 α -半乳糖苷酶有较弱的诱导作用, 其中花生饼和废糖蜜的诱导效果略高。

2. 半合成培养液的乳糖间接诱导作用: 用 6% 花生饼浸出液及 6% 棉子饼浸出液分别配

半合成培养液, 接种培养, 于 48 和 56 小时分别加入 1 毫升及 2 毫升 25% 乳糖溶液(无菌), 培养后测定 α -半乳糖苷酶活力分别为 2782 单位/毫升和 3227 单位/毫升。结果表明, 含有少量棉子糖的花生饼和棉子饼, 在焦曲霉合成 α -半乳糖苷酶的乳糖间接诱导过程中, 能够起到诱导作用。

3. 有机氮对乳糖间接诱导作用的影响: 配制 6% 花生饼半合成培养液, 加入 0.3% 蛋白胨和 0.3% 肉浸膏(对照组不加), 接种焦曲霉, 以乳糖间接诱导法, 诱导合成 α -半乳糖苷酶, 培养后测定酶活力, 试验组为 1115 单位/毫升, 对照组为 2188 单位/毫升。试验说明, 在 6% 花生饼半合成培养液中加入蛋白胨和肉浸膏等有机氮, 反而会使乳糖间接诱导合成的酶活力显著降低。

4. 硝酸盐对乳糖间接诱导作用的影响: 配制 6% 花生饼半合成培养液, 并分别加 0.3%、0.5%、0.7% 硝酸钠和硝酸钾(对照组不加), 接种焦曲霉, 用乳糖间接诱导法诱导合成 α -半乳糖苷酶, 培养后测定酶活力, 结果见表 4。

表 4 硝酸盐对 α -半乳糖苷酶诱导合成的影响*

酶活力 (单位/毫升)	浓度 (%)			
		0.3	0.5	0.7
硝酸盐	NaNO ₃	3297	3975	1891
	KNO ₃	2539	2533	2330

* 对照酶活力为 2304 单位/毫升。

表 4 说明, 用含 0.5% 硝酸钠的培养液培养焦曲霉, 可明显提高以乳糖间接诱导合成 α -半乳糖苷酶的活力。

参 考 文 献

[1] Arnaud, N., A. D. Bush and M. Horisberger: *Biotech. Bioeng.*, 18: 581—585, 1976.
[2] Suzuki, H., Y. Ozawa and O. Tanabe: *ibid.*, 28: 69, 1965.
[3] Suzuki, H. et al.: *Agr. Biol. Chem.*, 33: 506, 1969.
[4] Imana, T., T. Kaieda and K. Sato: *J. Ferment. Technol.*, 50(9): 633—646, 1972.
[5] 成田茂义: 公开特许公报, 特开昭 50-111279, 1975。
[6] 渡辺正之: 公开特许公报, 特开昭 50-111280, 1975。
[7] 马誉澄: 《抗菌素》, 第一版, 人民卫生出版社, 北京, 1965, 第 123 页。