紫外线 γ 射线复合诱变筛选 S-腺苷甲硫氨酸和谷胱甘肽联产发酵菌株

邵 娜　卫功元　葛晓光　聂 敏
（苏州大学医学部基础医学与生物科学学院　苏州 215123）

摘要　S-腺苷甲硫氨酸（S-adenosyl-L-methionine，SAM）和谷胱甘肽（Glutathione，GSH）均是生物体内重要的含硫类小分子活性物质，在医药、化妆品、保健品行业有着广泛的应用。本研究旨在通过复合诱变改善产朊假丝酵母 *Candida utilis* 细胞内的硫代谢途径，以实现 SAM 和 GSH 的高效联产。首先对出发菌株 *C. utilis* SZU 07-01 进行两轮紫外线诱变和一轮 γ 射线诱变，并通过选择性培养基（含 1 g/L L-蛋氨酸，0.5 g/L 乙硫氨酸，及 2 g/L $NaHSO_3$ 的 YPD 培养基）进行分离培养后，筛选获得一株可联产 SAM 和 GSH 的高效正突变菌株 *C. utilis* SUGS-01。摇瓶发酵结果显示，SAM 和 GSH 产量分别达到 324.0 mg/L 和 220.5 mg/L，较出发菌株分别提高了 131.4%和 26.0%, 而且该菌株经连续传代 10 次后，遗传性状稳定, 具有良好的产业化应用前景。

关键词　产朊假丝酵母，联产发酵，S-腺苷蛋氨酸，谷胱甘肽，复合诱变
中图分类号　Q939.97，TS261.15

S-腺苷蛋氨酸（S-adenosyl-L-methionine，SAM）作为一种重要的生理活性物质，在生物体内由 SAM 合成酶催化前体物质 L-蛋氨酸（L-Met）和 ATP 合成[1]。SAM 是生物体内最活跃的甲基供体之一，负责参与 100 多种不同甲基转移酶的催化反应，在 DNA、RNA 以及蛋白质的合成和代谢过程中发挥着重要的调控作用[2]。基于 SAM 的重要生物学特点，对其代谢网络和生物功能及机理的开发探索一直是研究的热点。SAM 在临床上被广泛用于肝病、关节炎和抑郁症的治疗，是一种重要的医药产品[3]。谷胱甘肽（Glutathione，GSH）是广泛分布于哺乳动物、植物和微生物细胞内最主要且含量最丰富的低分子三肽，也是生物体内最重要的活性巯基化合物之一，被广泛应用为解毒剂、抗氧化剂、免疫增强剂、风味剂和防腐剂[4]，在临床医学、运动保健、食品加工等很多领域都有着广泛的应用前景。随着人们对生活水平和质量要求的日益提高，对 SAM 和 GSH 的需求量将迅猛增加，对两者的研究也将具有越来越重要的意义和价值。

目前，SAM 和 GSH 的生产方法主要有组织提取法、化学合成法、酶促转化法和微生物发酵法，其中酵母发酵法是最具有生产潜力的方法。酿酒酵母和产朊假丝酵母本身具有一定的 SAM 和 GSH 的合成能力，然而，若要投入生产实际，则必须通过诱变育种等策略和方法获得高产目标产物的突变菌株。刘勇等[5]对土壤和酒曲中的酵母菌株做了大量的筛选工作，初筛结果显示其 SAM 产量平均值在 300 mg/L 左右；董函竹等[6]通过紫外-LiCl 复合诱变的方法，获得了 SAM 的高产清酒酵母菌株 SAM-04-01，摇瓶产量 1000 mg/L；俞志敏等[7]采用 UV-HNO_2 复合诱变，获得一株 $ZnCl_2$ 和半胱氨酸抗性突变株 *S. cerevisiae* YZM-14，GSH 摇瓶产量 84.72 mg/L。尽管如此，目前尚未见 SAM 和 GSH 联产育种的文献报道，对于两者联产发酵的研究也还处于起步阶段，仅有的报道是 LIU 等[8]利用废啤酒酵母，在 L-Met 添加量为 0.7 g/L 的情况下，摇瓶发酵时 SAM 和 GSH 积累量分别达到了 40 mg/g 和 18 mg/g。

本文采用紫外和 γ 射线复合诱变的方法，通过对一株可以联产 SAM 和 GSH 的产朊假丝酵母菌进行处理，结合乙硫氨酸-甲硫氨酸-$NaHSO_3$ 复合平板的筛选，获得一株可联产 SAM 和 GSH 的正突变菌株 SUGS-01，并对其摇瓶发酵情况进行了探讨。

苏州大学医学部青年基金（23120047）资助
第一作者：邵娜，女，1986 年 7 月出生，2007 年毕业于太原理工大学，现为苏州大学医学部基础医学与生物科学学院 2007 级在读硕士研究生，研究方向为工业微生物学
通讯作者：卫功元，E-mail: weigy@suda.edu.cn
收稿日期：初稿 2009-08-10，修回 2009-09-16

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 出发菌株 产朊假丝酵母菌（*Candida utilis* SZU 07-01）。

1.1.2 主要试剂 GSH、SAM、L-蛋氨酸和乙硫氨酸购自 Sigma 公司，蛋白胨、酵母膏和琼脂等购自上海生工生物工程有限公司，其它试剂均为国产分析纯产品。

1.1.3 培养基 种子培养基（YPD 培养基，g/L）：葡萄糖 20.0，蛋白胨 20.0，酵母膏 10.0，pH 6.0；发酵培养基（g/L）：葡萄糖 35.0，$(NH_4)_2SO_4$ 10.0，KH_2PO_4 12.0，$MgSO_4$ 0.05，pH 6.5；选择培养基（g/L）：葡萄糖 20.0，蛋白胨 20.0，酵母膏 10.0，琼脂 20.0，pH 6.0，其它成分根据实验要求确定。

1.2 方法

1.2.1 培养方法 固体培养：用移液器吸取 200 μL 诱变后的菌液，涂布于含选择培养基的平板上，于 30 ℃恒温培养 48 h。

种子培养：斜面种子活化 4 h 后接入种子培养基中，于 30 ℃，200 r/min 下摇床培养 20 h。

发酵培养：按 10%（v/v）接种量将新鲜种子液接种到发酵培养基中，于 30 ℃，200 r/min 下摇床培养 30 h。

1.2.2 分析方法 酵母生物量的测定：以细胞干重 DCW（dry cell density, g/L）表示。取 25 mL 发酵液，3500 r/min 离心 10 min，蒸馏水洗涤 3 次，离心，收集菌体，70 ℃烘干至恒重后称量。

发酵液残糖浓度的测定：采用硫酸-苯酚法[9]进行检测。L-Met 转化率的测定见参考文献[10]。GSH 的提取和测定见文献[11]。

SAM 的提取和测定[12]：取 10 mL 新鲜发酵液，经 4 ℃，8000 r/min 冷冻离心 10 min 得到的酵母泥，先后经过乙酸乙酯和稀硫酸萃取 2 h，得到的上清液经 0.22 μm 的微孔滤膜过滤后，获得的样品采用 HPLC 进行检测。HPLC 流动相为 0.5 mol/L 甲酸铵溶液（用甲酸调 pH 至 4.0），流速为 0.8 mL/min，检测波长 254 nm；色谱柱为反相 C18 柱。本文中的实验数据均源自 3 个平行样品。

1.2.3 诱变方法 紫外诱变：在飞利浦 ZWSSJD-30 型紫外灯下进行照射，其辐照功率和波长分别为 30 W、253.7 nm，照射距离为 30 cm。具体操作步骤为：吸取经培养 20 h 后的种子培养液 1 mL，10000 r/min 下离心 2 min，弃上清，加入灭菌的生理盐水（0.85%，m/v）洗涤离心三次，以 1 mL 生理盐水重新悬浮，倒入盛有 9 mL 无菌生理盐水的培养皿（直径 9 cm）中混匀，并依次稀释，得到稀释 10^6 倍的菌液，将该梯度培养皿先暂时放入恒温箱中备用。将磁力搅拌器（包括转子）放入无菌操作台，调整高度使位于最佳辐照距离处，随后打开紫外灯 20 min，使其稳定。将培养箱中存放的培养皿迅速放至磁力搅拌器上，搅拌并开始计时，依次按照时间梯度取出平板，避光保存。关闭紫外灯，吸取 200 μL 诱变后菌液涂布于选择性平板，后于 30 ℃恒温箱中倒置培养。约 48 h，挑取平板上的可见菌落进行摇瓶复筛，根据检测结果，确定 SAM 和 GSH 产量最高的菌株，作为第二轮紫外诱变的出发菌株。诱变过程同上。

γ 射线诱变：以第二轮紫外诱变得到的高产菌株作为出发菌株，培养 20 h 后的菌液稀释 10^6 倍后，于苏州大学辐照中心进行 ^{60}Co γ 射线诱变，在相同剂量率 80 Gy/min 下，采用的 γ 射线总辐照剂量分别为 160、320、560、720 和 800 Gy。γ 射线诱变后菌株的筛选过程与紫外诱变相同。

2 结果与讨论

2.1 菌悬液稀释率的确定

一般认为，平板上的单菌落数过多会产生竞争性抑制，菌落得不到足够的营养物质，生长状态势必会受到影响，通常直径 9 cm 培养皿上单菌落数在 100—300 之间比较合适[6]。为了保证平板上单菌落个数在此范围内，首先要确定菌悬液的稀释度。将制备好的菌悬液依次稀释 10^3—10^8 倍，取每个浓度的菌悬液 0.1 mL 涂布平板，培养 48 h 后记录平板上的单菌落数目，取平均数作为最后结果见表 1。从表 1 中可以看出，稀释倍数为 10^6 是比较合适的。因此在本研究中，诱变实验均选取 10^6 作为最佳稀释倍数。

Table 1 Relationship between dilution rates and strain number

Dilution rate	10^3	10^4	10^5	10^6	10^7	10^8
Number of strains	/	/	1371±42	204±7	17±4	1±0

(/) Indicates too many colonies which can not be numbered; Values are expressed as $\bar{x} \pm s$, calculated from 3 independent experiments

2.2 紫外线照射时间和 γ 射线辐照剂量的确定

紫外线照射致死率结果（见图 1）表明，出发菌株对紫外线有一定的防御能力。一般认为，对于工业生产用菌种，紫外线致死率在 75%左右时正突变率最高[6]，根据这一原则，确定在照射距离 30 cm 处的照射时间为 60 s。

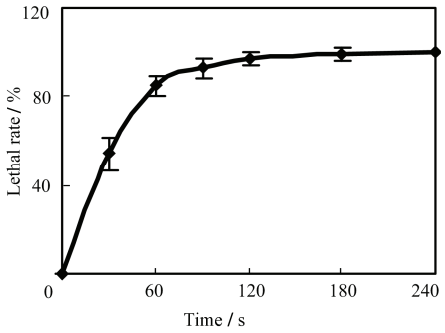

Fig.1　Relationship between ultraviolet irradiation time and lethal rates of yeast cells
Error bars show standard deviation among triplicate observations

由图 2 结果可见，本出发菌株对 γ 射线比较敏感，当辐照剂量 320 Gy 时，致死率已达到 90%；当辐照剂量达到 800 Gy 时，细胞死亡率达到 100%。而在 320—720 Gy 范围内时，细胞对辐照敏感度相差不大，平板上均有少量细胞存活，因此，确定辐照剂量为 560 Gy。文献[13]认为，GSH 可以克服射线照射产生的活性氧如单线态氧损伤，避免射线对蛋白质结构的影响，保护酵母免受单线态氧的伤害。而 SAM 含量对 GSH 含量影响较大，在射线诱变过程中能大量合成 SAM 的酵母突变株可以促进 GSH 的合成，从而有利于该菌株的存活。

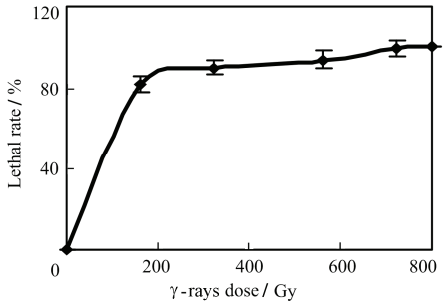

Fig.2　Relationship between ^{60}Co γ-rays irradiation doses and lethal rates of yeast cells
Error bars show standard deviation among triplicate observations

2.3　选择培养基组分及其浓度的确定

有研究发现[14]，抗结构类似物突变株可在一定程度上打破产物反馈抑制效应，从而使目的产物的过量积累成为可能。因此，本文考虑通过在普通 YPD 培养基中添加合适浓度的 L-Met 及其结构类似物乙硫氨酸和 $NaHSO_3$，筛选其抗性突变株，以期得到可高产 SAM 和 GSH 的菌株。以下通过对各结构类似物不同浓度下的平板菌落进行计数，考查其对细胞生长的影响，从而确定最适的选择培养基成分及其浓度。

2.3.1 L-Met 最适浓度的选择　L-Met 的添加对细胞生长的影响如图 3a，可见当选择平板上 L-Met 浓度在 1 g/L 以下时，对酵母细胞的生长有一定的促进作用；而 L-Met 浓度超过 1 g/L 时又会抑制细胞的生长。因此，当 L-Met 浓度为 1 g/L 时，最有利于产朊假丝酵母细胞的生长，说明在这一浓度下筛选得到的酵母细胞，最有可能通过调整自身的硫代谢途径，实现 L-Met 的高效利用和 SAM 以及 GSH 的大量积累。随后的摇瓶培养实验（见图 3b）进一步证明，在该平板上筛选得到的菌株 lmet-01 在液体培养时可耐受更高浓度的 L-Met，即使 L-Met 浓度达到 10 g/L 时，转化率仍超过 60%以上，同时 SAM 和 GSH 的积累能力也有所提高。

2.3.2 乙硫氨酸最适浓度的选择　选择培养基中乙硫氨酸对细胞生长和 SAM 以及 GSH 合成的影响如图 4，可以看出，乙硫氨酸浓度为 0.5 g/L 时，最有利于诱导细胞提高对含硫物质的利用率。这点在摇瓶培养中也得到充分证明（见图 4b），在含乙硫氨酸 0.5 g/L 的平板上筛选得到的菌株通过摇瓶发酵后具有较强的 SAM 和 GSH 合成能力。

2.3.3 $NaHSO_3$ 最适浓度的选择　与 L-Met 及乙硫氨酸不同，$NaHSO_3$ 对细胞生长的抑制作用极为显著，如图 5 所示，当添加量为 1 g/L 时，平板上只有半数的细胞可以正常生长；添加量超过 3 g/L 后，未见细胞存活；综合考虑，本文选择 2 g/L 作为 $NaHSO_3$ 筛选浓度。

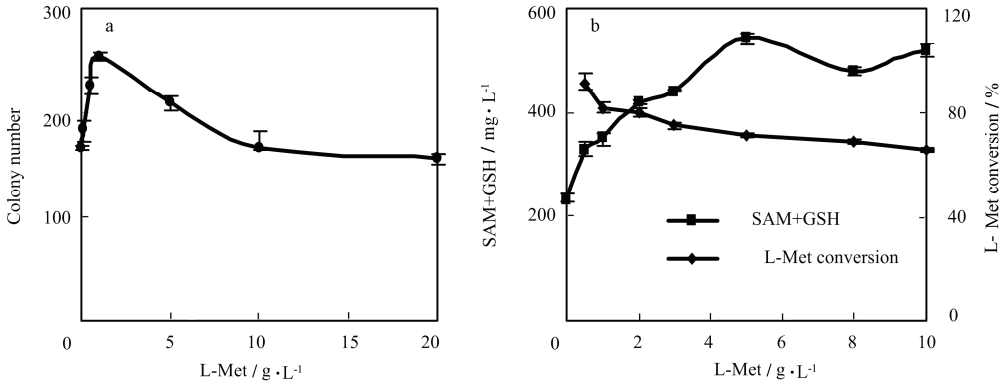

Fig.3　Effect of L-Met addition on cell growth and SAM and GSH co-production
Each value shown above is mean of three replicates, and result of *t*-test shows no significant difference among the 3 replicates at α=0.05

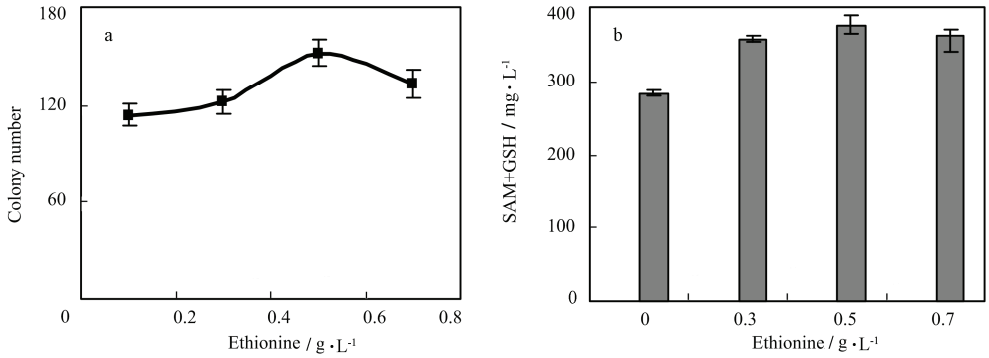

Fig.4 Effect of ethionine addition on cell growth and SAM and GSH co-production
Each value shown above is mean of three replicates, Result of *t*-test shows no significant difference among the 3 replicates at α=0.05

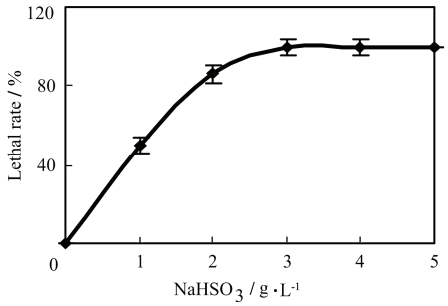

Fig.5 Relationship between $NaHSO_3$ concentration and yeast cell growth
Each value shown above is mean of three replicates, and result of *t*-test shows no significant difference among 3 replicates at α=0.05

2.4 紫外线与γ射线复合诱变结果

首先对出发菌株 *C. utilis* SZU 07-01 进行两轮紫外诱变，并在选择培养基（含 L-Met 1 g/L，乙硫氨酸 0.5 g/L 和 $NaHSO_3$ 2 g/L 的 YPD 培养基）上筛选得到正突变幅度高的菌株 UVGS-01，作为γ射线诱变的出发菌株。γ射线诱变的辐照剂量为 560 Gy，诱变后菌液涂布于含选择培养基的复筛平板上，培养 48 h 后，挑取各平板中可见菌落 100 株进行摇瓶发酵复筛，检测结果汇总于表 2。

Table 2 Screening results of *C. utilis* SZU 07-01 irradiated by UV and γ-rays

Mutagenesis type	Label	DCW / g·L^{-1}	GSH / mg·L^{-1}	SAM / mg·L^{-1}	SAM+GSH / mg·L^{-1}
Control	SZU 07-01	10.03	175.0	140.0	315.0±4.5
UV	UVGS-01	10.64	205.0	187.0	392.0±6.7^{b}
γ-ray	γ-05	10.61	188.7	205.7	394.4±10.8^{b}
	γ-07	9.66	136.0	97.1	233.1±6.9^{b}
	γ-17	11.21	127.2	324.6	451.8±13.9^{b}
	γ-20	10.44	145.0	236.2	381.2±4.7^{b}
	γ-21 (1)	11.07	220.5	324.0	544.5 ±19.0^{a}
	γ-28	10.69	217.2	120.4	337.6±0.0^{c}
	γ-68	10.76	216.7	96.0	312.7±0.0^{c}
	γ-72	11.90	215.0	99.0	314.0±10.0^{c}

Each value of SAM and GSH production is mean of three replicates. "±" represents standard deviation among replicates
a. Marked difference compared with control, p<0.05; b. A bit difference, p<0.1; c. No obvious difference, p>0.1; Represented the most positive mutant

复筛结果显示，诱变后各菌株合成 SAM、GSH 及联产的能力出现了很大的差异，可见 γ 射线诱变可以有效地调控酵母细胞内正常的硫代谢，从而改变了 SAM 和 GSH 的合成水平。诱变结果的统计数据表明，SAM 和 GSH 联产的正突变率为 65%左右（数据未给出），证明之前关于诱变最适条件以及选择培养基成分的确定是较为合理的。通过摇瓶复筛，最终得到一株高产菌株 γ-21，编号为 SUGS-01，其 SAM 和 GSH 产量分别为 324.0 mg/L 和 220.5 mg/L，较出发菌株分别提高了 131.4%和 26.0%。

2.5　*C. utilis* SUGS-01 遗传稳定性试验

对 *C. utilis* SUGS-01 菌株连续传代 10 次，以考查其遗传稳定性，结果见表 3。可见，经过复合诱变筛选得到的菌株 *C. utilis* SUGS-01 具有良好的遗传稳定性，未出现回复突变的情况。

Table 3　Genetic stability of *C.utilis* SUGS-01

Generation number	0	2	4	6	8	10
GSH+SAM/mg• L^{-1}	544.5±19.0	536.8±1.6	540.1±4.9	543.6±1.6	547.2±1.8	550.8±5.9

Each value is mean of three independent experiments
"± " represents standard deviation among replicates. Result of *t*-test shows no significant difference compared with the control at α=0.05

2.6　*C.utilis* SUGS-01 摇瓶发酵联产 SAM 和 GSH

由于 SAM 和 GSH 均是酵母细胞含硫物质代谢网络中的重要节点物质，其合成需要竞争共同的前体物质，因此这两种产物的积累可能会存在着一定的矛盾。以下通过定时取样检测，考查摇瓶发酵联产 SAM 和 GSH 的情况，结果见图 6。

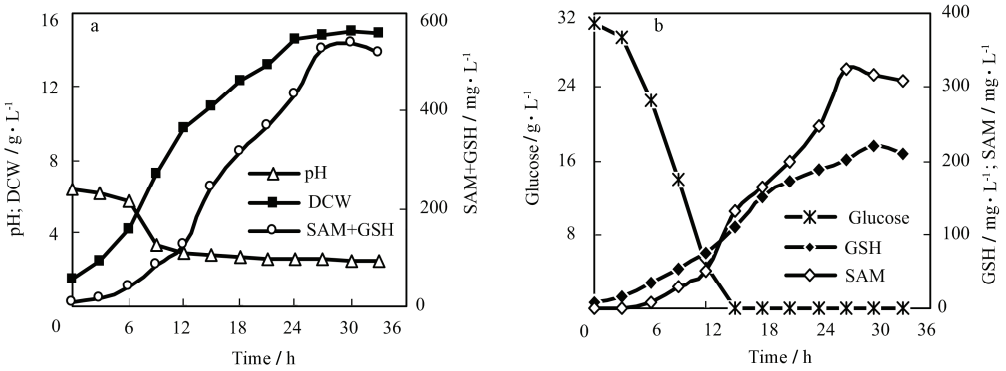

Fig.6　Time-course of SAM and GSH co-production by *C.utilis* SUGS-01 in flask
Each value shown above is mean of three replicates (Error bars were not displayed in order to build a brief and clear view), and the statistical analysis shows no significant difference among 3 replicates at α=0.01

从图 6 结果中可以看出，*C. utilis* SUGS-01 菌株具有较强的生长能力，只需要很短的延滞期（<3 h）便可进入对数生长期，此时还原糖消耗加快，至 15 h 完全耗尽。伴随着细胞的生长，SAM 和 GSH 的合成量逐渐增加，至 27 h 时 SAM 合成量达到最大值 324.0 mg/L，随后开始降低，而此时 GSH 继续合成，至 30 h 时达到最大值 220.5 mg/L。在 27—30 h 范围内，SAM 合成量减小，而 GSH 合成量则继续增大。

3　结论

对出发菌株 SZU 07-01 进行两轮紫外线诱变和一轮 γ 射线诱变，并经过含 1 g/L L-Met, 0.5 g/L 乙硫氨酸及 2 g/L $NaHSO_3$ 的复合筛选平板筛选，获得一株可联产 SAM 和 GSH 的优势菌株，命名为 SUGS-01。其 SAM 和 GSH 产量分别达到 324.0 mg/L 和 220.5 mg/L，较出发菌株分别提高了 131.4%和 26.0%。经过 10 次连续传代，该菌株未出现回复突变情况，证明其具有良好的遗传稳定性。可见紫外线 γ 射线复合诱变是一种可行的诱变育种方法。

另外，在本研究中，经过含 1 g/L L-Met 的 YPD 平板筛选得到的菌株可以高效地利用 L-Met，在摇瓶培养 L-Met 浓度达到 10 g/L 时，转化率仍然达到 60%以上（见图 3），且细胞干重随 L-Met 浓度增加继续呈上升的趋势，这对于提高 SAM 的产量是极为重要的。同样，经过含 500 mg/L 乙硫氨酸平板筛选得到的菌株，其 SAM 和 GSH 联产量较对照提高了 35%左右（见图 4b）。可见，结构类似物抗

性突变株筛选法是一种可以有效提高目的产物产量的方法。

对 *C. utilis* SUGS-01 摇瓶发酵过程进行考察的结果显示(见图 6)，SAM 合成的最大值出现在 27 h，随后其合成量开始减少，而这个过程中 GSH 的合成有较大程度的提高，到 30 h 达到最大值。这可能是由于 SAM 在细胞内不够稳定，很容易通过转硫作用形成 L-半胱氨酸，又进一步合成 GSH 所致[15]。根据这一现象，需要考虑在接下来的研究中采取一些培养策略，在细胞开始进入对数期时，补加 L-Met 以促进 SAM 合成，而在 27 h 后补加 L-Cys 以促进 GSH 合成，并防止 SAM 转化为 GSH，从而促进二者联产。

目前国内微生物转化法生产 SAM 所用的菌种主要为酿酒酵母，而针对产朊假丝酵母的研究尚无前例。产朊假丝酵母具有生长营养谱宽泛，发酵过程中乙醇产生量少，合成蛋白能力强等优点，一直被广泛地用于工业化生产。本文使用的 *C. utilis* 菌种具有高产 GSH 的能力，经诱变其 SAM 和 GSH 联产量达到 550 mg/L，具有深入研究意义和良好的产业化应用前景。

参考文献

1 TAO Min, GAN Xin. Amino Acids and Biotic Resources (in China), 2005, **27**(3): 49-51

2 罗赟星, 赵辅昆, 罗贵民, 等. 工业微生物, 2006, **36**(1): 54-59
LUO Yunxing, ZHAO Fukun, LUO Guimin, *et al*. Ind Microbiol, 2006, **36**(1): 54-59

3 林水玉, 徐碧玉, 金志强. 生命科学研究, 2005, **9**(4): 37-42
LIN Shuiyu, XU Biyu, JIN Zhiqiang. Life Science Research, 2005, **9**(4): 37-42

4 卫功元, 李寅, 堵国成, 等. 生物工程学报, 2003, **19**(3): 358-363
WEI Gongyuan, LI Yin, DU Guocheng, *et al*. Chinese J Biotechnol, 2003, **19**(3): 358-363

5 刘勇, 刘建玲, 王璋. 食品与发酵工业, 2008, **34**(12): 62-64
LIU Yong, LIU Jianling, WANG Zhang. Food and Fermentation Ind, 2008, **34**(12): 62-64

6 董函竹, 刘沛溢, 谭天伟. 生物加工过程, 2006, **2**(2): 20-23
DONG Hanzhu, LIU Peiyi, TAN Tianwei. Chinese J Bioprocess Eng, 2006, **2**(2): 20-23

7 俞志敏, 徐凯, 徐鹏, 等. 中国生物工程杂志, 2008, **28**(7): 110-115
YU Zhimin, XU Kai, XU Peng, *et al*. China Biotechnol, 2008, **28**(7): 110-115

8 LIU H, LIN J P, CEN P L, *et al*. Process Biochem, 2004, **39**(12): 1993-1997

9 徐光域, 颜军, 郭晓强, 等. 食品科学, 2005, **26**(8): 342-346
XU Guangyu, YAN Jun, GUO Xiaoqiang, *et al*. Food Sci, 2005, **26**(8): 342-346

10 LIN J, TIAN J, YOU J, *et al*. Biochem Eng J, 2004, **21**(1): 19-25

11 卫功元, 李寅, 堵国成, 等. 生物工程学报, 2003, **19**(6): 734-739
WEI Gongyuan, LI Yin, DU Guocheng, *et al*. Chinese J Biotechnol, 2003, **19**(6): 734-739

12 张建国, 王学东, 魏东芝. 工业微生物, 2008, **38**(1): 6-9
ZHANG Jianguo, WANG Xuedong, WEI Dongzhi. Ind Microbiol, 2008, **38**(1): 6-9

13 汪文俊, 肖 靓. 武汉工业学院学报, 2007, **26**(4): 17-20
WANG Wenjun, XIAO Jing. Journal of Wuhan Polytechnic University, 2007, **26**(4): 17-20

14 郝勃, 付军, 李兆文, 等. 微生物学杂志, 1999, **19**(1): 6-8
HAO Bo, FU Jun, LI Zhaowen, *et al*. J Microbiol, 1999, **19**(1): 6-8

15 John T B, Margaret E B, Robert F P B, *et al*. Livestock, 2007, **112**: 2-7

Complex mutagenesis of *Candida utilis* by UV and γ-rays for the co-production of S-adenosyl-L-methionine and glutathione

SHAO Na WEI Gongyuan GE Xiaoguang NIE Min

(School of Basic Medicine and Biological Science, College of Medicine, Soochow University, Suzhou 215123, China)

ABSTRACT　S-adenosyl-L-methionine (SAM) and glutathione (GSH) are both applied extensively in the fields of medicine, cosmetics and health maintenance for their biological functions multiplicity in vivo. In this paper, a complex mutagenesis was carried out to attenuate the contradiction so as to obtain a positive mutant which can produce SAM and GSH effectively. The parent strain *Candida utilis* SZU 07-01 was treated by two turns of UV and once γ-rays irradiation for complex mutagenesis, following by cultivating and screening on the selective medium (YPD containing 1 g/L L-Met, 0.5 g/L ethionine and 2 g/L $NaHSO_3$) for a positive mutant *C. utilis* SUGS-01. The proliferation of *C. utilis* SUGS-01 was then carried out in a flask, and the productions of S-adenosyl-L-methionine and glutathione were 324.0 mg/L and 220.5 mg/L, respectively, which were 131.4% and 26.0% higher than those of *C. utilis* SZU 07-01. In addition, *C. utilis* SUGS-01 shows high genetic stability even after 10 generations of cultivation, which indicates that the mutant *C. utilis* SUGS-01 obtained in this study has stable capacity for high co-production of SAM and GSH, and can be used as industrial strain in the near future.

KEYWORDS　*Candida utilis*, Co-production, S-adenosyl-L-methionine, Glutathione, UV and γ-rays mutagenesis

CLC　Q939.97, TS261.15