

快中子辐照链霉菌和黑曲霉的诱变效应

张圣君 武济民* 王世銜** 周树鑫 方晓明

(上海科技大学, 上海) *(中国科学院药物研究所, 上海) **(昆山生化厂, 昆山)

摘要 本文叙述了快中子辐照弗氏链霉菌、灰色链霉菌、埃维链霉菌和黑曲霉在不同的辐照剂量条件下, 对菌种的死亡率、产酸率、遗传性状和变异类型等进行了测定和分析, 获得了较满意的结果。灰色链霉菌产生的五种不同的变株, 很有深入研究意义。

关键词 快中子, 辐照, 链霉菌, 黑曲霉, 诱变育种

菌种辐照诱变选育在生产中起着重要作用^[1,2]。用快中子处理菌种要比用X、 γ 射线、紫外线以及化学法等具有独到的作用和明显的经济效益^[3,4]。因设备条件和其他原因的限制, 目前国内未能广泛应用。

实 验 方 法

1. 快中子处理

快中子具有很强的穿透性和电离本领^[5], 电离辐射对细胞核最重要的作用是使遗传因子脱氧核糖核酸(DNA)合成延迟, 细胞分裂受阻, 并产生染色体畸变和基因突变, 从而引起遗传变异^[6]。本文用14 MeV中子对菌种进行辐照处理。每只样品分装4只试管, 除留一支作对照样品外, 其余根据不同剂量要求, 放在距中子源不同的距离, 在同样条件下, 进行一次快中子辐照, 辐照时间根据剂量要求而定。

2. 菌种

供试菌种见表1。

Tab 1. The strains of treatment with fast neutron

Number	Strains	Product	Source
1	<i>S. fradiae</i> *60	Macrolide antibiotic	Mutant of <i>S. fradiae</i>
2	<i>S. griseus</i> No. 1.	Inhibitor of β -lactamase	Wild type strain
3	<i>S. avermitilis</i>	Avermectin	Improved strain for test producing
4	<i>Aspergillus niger</i>	Citric acid	Used industrial strain

3. 菌培养分离方法

1—3号菌种按链霉菌培养分离方法进行, 4号菌种按柠檬酸生产工艺条件进行^[7]。

4. 产物测定

1号菌按泰洛星(Tylosin)方法测定^[8], 2号菌按 β -内酰胺酸抑制剂的报道方法测定^[9], 3号产物用溶媒萃取法制样, 高压液相色谱测定。柠檬酸含量测定用0.14 mol/L NaOH滴定计算含

酸百分比^[7]。

结 果 与 讨 论

1. 快中子处理 4 个菌株的死亡率统计

未处理的对照菌种为基点, 不同剂量处理的不同菌种, 其死亡率从表 2 可见, 随中子剂量的增加, 各菌种的死亡率提高, 黑曲霉最敏感, 灰色链霉菌 No. 1 不太敏感, 埃维链霉菌不敏感。

Tab 2. The death percentage of irradiated strains with fast neutron

Strain	Death percentage (%)			
	Control	7 Gy	14 Gy	43.5 Gy
<i>S. fradiae</i> *60	0	29.81	36.17	70.92
<i>S. griseus</i> No. 1	0	23.20	37.46	56.15
<i>S. avermitilis</i>	0	8.6		42.20
<i>Asper. niger</i>	0	46.8	68.54	86.90

2. 不同辐照剂量对黑曲霉 N-558 系产酸能力影响

三种辐照剂量处理柠檬酸的产生菌黑曲霉, 在存活菌株中, 43.5 Gy 组菌株产酸率比其他各组产酸率明显提高, 从表 3 可见, 43.5 Gy 剂量处理的菌种, 平均产酸率为 18.09%, 比其他各组皆高, 高产菌株的产酸率达 25%, 在 56 株中有 19.64% 的产酸率 $\geq 20\%$ 。

Tab 3. The comparison on percentage w/V of citric acid metabolized of *Asper. niger* radiated with fast neutron

Group	Number of strain	Production value (%)	
		Range	Average
Control	44	10-19	16.18
7 Gy	45	13-22	16.76
14 Gy	46	12-22	17.37
43.5 Gy	56	12-25	18.09

3. 快中子处理灰色链霉菌 No. 1 的结果

通过剂量为 43.5 Gy 快中子辐射, 灰色链霉菌 No.1 产生 5 种不同类型的变株, 形态特征及抗菌作用有明显差异, 气生菌丝(AM)黑色, 基内菌丝(VM)灰色的变异型抗菌活力明显高于其它组, 值得深入研究, 详见表 4。

Tab 4. Distribution of bioactivity of 5 variants in *S. griseus* No. 1

Variants	Number of inspected	Percentage of classes*(%)				
		I	II	III	IV	V
AM grey VM ashy	43	9.3	16.28	65.11	9.3	0
AM greyish white VM ashy	33	6.06	18.18	63.64	12.12	0
AM grey VM black	30	20.0	13.33	53.33	13.33	0
AM black VM ashy	22	0	0	0	81.81	18.19
AM black VM black	10	10	0	50	40	0

*Classes of bioactivity; according to bacteriostatic diametral size (mm) I; $\circ$, II; 0—10, III; 10—15, IV; 15—18, V; >18

4. 弗氏链霉菌⁺60的变化情况

经快中子辐照后, 光秃型菌落(AM⁻)随着辐照剂量的增加而增加, 结果见表5。实验证明AM⁻型变株的抗生素产量明显减少, 有的为“零”单位变株, 有的属抗生素生物合成阻断变株, 可以共合成泰洛星, 这些AM⁻变株有待进一步研究。

Tab 5. The frequencis of AM⁻ mutants

Group	Number of strain inspected	AM ⁻ mutant	
		Number of strain	Percentage (%)
Control	134	50	37.31
7 Gy	165	86	52.52
14 Gy	133	69	51.88
43.5 Gy	54	38	70.37

AM⁻ maker refers to loss of ability to form aerial mycelium and spores

5. 埃维链霉菌的诱变作用

经7 Gy和43.5 Gy两种剂量快中子辐射后, 埃维链霉菌^[10]有明显的诱变作用。其正变率分别为58.1%和43.1%, 其中发酵效价比出发菌种增加45%以上的两个组, 各占4.7%和2.0%。负变率分别为2.3%和11.8%。

由于不同菌种对辐射诱变因子的敏感性不同, 因而不同剂量的快中子辐照处理的效果也有明显差异^[11], 所以对每一种菌种要获得高的正变效果, 就要找出最佳的快中子辐照剂量和合适的筛选培养条件, 用快中子对菌种的处理, 其方法简单而效果明显^[12], 因此快中子辐照技术在工业微生物菌种诱选育中的应用研究, 将会越来越得到人们的重视。

参 考 文 献

- 1 Kruth R et al.. Irugs Pharm. Sci., 1984, 22:781
- 2 邬行彦等. 抗生素生产工艺学. 化工出版社, 1987:31—34
- 3 Alikhanian S I. Curr. Topics Microbiolo. Immunol., 1970, 53:91—148
- 4 唐福生等. 辐射研究与辐射工艺学报, 1988, 6(1):64
- 5 袁汉鎔等. 中子源及其应用. 科学出版社, 1978:33—34
- 6 李永华, 吴季兰. 辐射技术基础. 原子能出版社, 1988:100
- 7 天津工微所. 柠檬酸生产基本知识. 轻工业出版社, 1978
- 8 武济民等. 第六届全国抗生素学术会议论文摘要汇编, 1989:30—33
- 9 武济民等. 中国抗生素杂志, 1988, 13(4):291
- 10 朱汝锦. 国外药学抗生素分册, 1987, 8(5):363
- 11 上海第四制药厂, 复旦大学. 遗传学报, 1979, 6(1):112
- 12 高定华等. 中国酿造, 1982, 1(2):24

(稿件收到日期: 1990年11月26日)

(下转第40页 See p 40)

EFFECT OF RADIATION POLYMERIZATION TEMPERATURE ON THE TACTICITY OF POLY (TRIETHYLTIN METHACRYLATE)

Zhao Bingxi Tian Minquan Zhu Qingren Chen Daoyong

(*University of Sci. and Tech. of China, Hefei*)

Han Zhewen

(*East China University of Chemical Technology, Shanghai*)

ABSTRACT A series of poly(triethyltin methacrylate) samples have been synthesized in the range of 0°C to 50°C by the radiation. The tacticity of the polymers has been measured by ^{13}C -NMR. The results show that the polymers are all predominantly syndiotactic, as expected, and the tendency to form syndiotactic sequence decreases as the polymerization temperature increases. The result of the activation parameters governing the tacticity is that the activation enthalpy and the activation entropy between isotactic and syndiotactic placement are $10.2 \text{ kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$ and $19.8 \text{ J}\cdot\text{K}^{-1}\cdot\text{mol}^{-1}$ respectively. The spin-spin coupling constant between ^{119}Sn and ^{13}C has also been determined.

KEYWORDS Tacticity, Activation parameters, Radiation polymerization, Triethyltin methacrylate, ^{13}C -NMR, Spin-spin coupling constant

(上接第 50 页 Continued from p50)

THE MUTAGISM EFFECT OF STREPTOMYCES AND ASPERGILLUS NIGER WITH FAST NEUTRON IRRADIATION

Zhang Shengjun Wu Jimin* Wang Shixian**

Zhou Shuxin Fang Xiaoming

(*Shanghai University of Science and Technology, Shanghai*)

*(*Shanghai Institute of Material Medica, Academia Sinica, Shanghai*)

**(*Kunshan Biochemical Production Factory, Kunshan City*)

ABSTRACT The present paper describes the effect of irradiation on some Streptomyces and Aspergillus niger with fast neutron. It was obtained that the results with regard to about death rate(%), production rate (% W/V), and heredities were determined and analysed. Particularly, five variant types of Strepto. griseus No. 1 will be researched in depth.

KEYWORDS Irradiation, Fast neutron, Streptomyces, Aspergillus niger, Mutagenic breeding