

文章编号 1000-5013(2004)02-0223-04

# 谷氨酸生产菌的选育

陈碧娥 王丽娜

(华侨大学材料科学与工程学院, 福建 泉州 362011)

**摘要** 研究代谢调节突变株的选育方法. 以北京棒杆菌 Q-72 为出发菌株, 经紫外线诱变, 筛选能在以琥珀酸为唯一碳源的培养基上生长良好的菌株, 强化 CO<sub>2</sub> 固定反应. 突变株 UH62 的产酸率和转化率分别比出发菌株提高 1.45 % 和 9.1 %.

**关键词** 谷氨酸, 菌种选育, 代谢调节

**中图分类号** TQ 922<sup>+</sup>.1 Q 93-335 TS 201.3

**文献标识码** A

30 多年来, 菌种选育和发酵工艺的不断改进<sup>[1]</sup>, 提高了发酵法生产谷氨酸的水平. 我国味精产量已居世界第一<sup>[2]</sup>. 就菌种选育而言, 应用代谢调控理论, 筛选特定的突变株, 有利谷氨酸的积累<sup>[3]</sup>. 本文报道强化 CO<sub>2</sub> 固定反应的代谢调节突变株的筛选.

## 1 材料和方法

(a) 菌种. 北京棒杆菌 Q-72, 由泉州中侨集团味精厂提供. (b) 培养基. (1) 斜面培养基. 牛肉膏蛋白胨培养基. (2) 选择性培养基. 琥珀酸钠 2 g, Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> 1.6 g, MgSO<sub>4</sub> · 7H<sub>2</sub>O 0.6 g, 脲 5 g, 生物素 30 μg, FeSO<sub>4</sub> 和 MnSO<sub>4</sub> 各 2 mg, 水 1.0 L, pH 7.0 ~ 7.2. (3) 发酵培养基. 口服葡萄糖 16 g, Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> 1.7 g, KCl 1 g, MgSO<sub>4</sub> · 7H<sub>2</sub>O 0.6 g, 玉米浆 2.6 g, 糖蜜 0.8 g, 初脲 6 g, FeSO<sub>4</sub> 和 MnSO<sub>4</sub> 各 2 mg, 水 1.0 L, pH 7.0. (c) 分析方法. (1) 谷氨酸. 华勃氏呼吸计测定法及 SAB-40 型生物传感器分析仪测定法. (2) pH. 精密 pH 试纸. (3) 还原糖. DNS 法. (4) 菌体生长量检测. 稀释 25 倍, 用 721 分光光度计测定 660 nm 处的 OD 值. (d) 诱变处理及筛选方法. 经活化的斜面菌种, 制成菌悬液, 移入培养皿, 启动磁力搅拌器, 在装有 30 W 紫外灯, 距离 50 cm 的紫外箱内照射 20 s, 致死率为 75 %. (e) 筛选的原理和方法. 原理参考文献 [4]. 其方法是将诱变处理后的菌液, 接种到液体的选择培养基. 500 mL 三角瓶装培养基 60 mL 接种 2 mL, 34 °C 避光振荡恒温培养 24 h. 后涂布在选择培养基平板上, 培养 2 ~ 3 d. 挑出大菌落, 摇瓶发酵复筛.

## 2 结果与讨论

(a) 出发菌株性能测定. (1) 生长曲线. 为控制种龄, 获得生长旺盛的细胞, 对 Q-72 的生长曲线进行测定. 从图 1 可以看出, Q-72 的对数生长期为 6 ~ 11 h. 因此, 选用培养 9 h 的菌体制成悬浮液进行诱变. (2) Q-72 的产酸能力及代谢过程. 经摇瓶发酵测定 Q-72 菌株生长、糖耗(s)、pH 变化, 以及谷氨酸的积累过程及其相互关系. 从图 2 可以看出, 出发菌株的发酵周期为 32 h, 产酸率(c) 6.85 %, 糖酸转化率( ) 42.8 %. (b) 以琥珀酸为唯一碳源的目的菌株的获得. 经紫外线诱变后的菌液, 先移接到以琥珀酸为唯一碳源的液体培养基中富集培养 24 h, 后涂布平板. 第 1 批挑取平板上生长良好的大菌落 20 个, 摇瓶发酵测定实际产酸, 发酵周期为 32 h. 其中 10 株的测定结果, 如表 1 所示. 所得菌株产酸水平提高的幅度不大. UH38 是较好的菌株, 其产酸与转化率比出发菌株 Q-72 分别提高 0.65 % 和 4.10 %. 第 2 批挑出生长良好的 60 个大菌落, 摇瓶复筛. 其中较好的 10 株的测定结果, 如表 2 所示.

**收稿日期** 2003-10-08

**作者简介** 陈碧娥(1946-), 女, 教授, 主要从事应用微生物的研究. E-mail: jfzhang@hqu.edu.cn

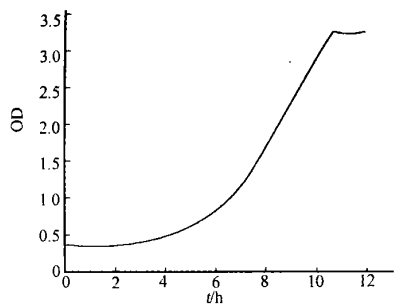


图 1 Q-72 菌株生长曲线

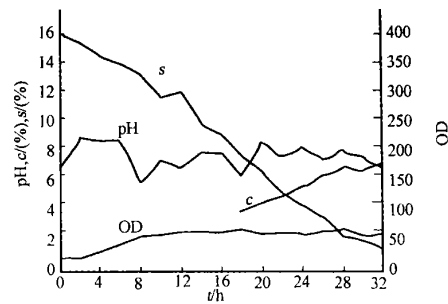


图 2 Q-72 菌株发酵过程曲线

表 1 第 1 批 10 个菌株的产酸水平

菌号	UH30	UH32	UH33	UH34	UH35	UH36	UH37	UH38	UH39	UH40	Q-72
c/(%)	7.10	6.70	5.80	7.00	7.20	7.10	6.70	7.50	6.70	6.40	6.85
/ (%)	44.4	41.9	36.3	43.8	45.0	44.4	41.9	46.9	41.9	40.0	42.8

表 2 第 2 批较好的 10 个菌株的产酸水平

菌号	UH44	UH48	UH57	UH61	UH62	UH63	UH65	UH70	UH71	UH74
c/(%)	7.80	7.60	7.80	7.80	8.30	7.50	7.80	8.00	7.50	7.50
/ (%)	48.8	47.5	48.8	48.8	51.9	46.9	48.8	50.0	46.9	46.9

本批 UH62 是较好的菌株,其产酸与转化率比出发菌株 Q-72 分别提高 1.45 %和 9.1 %。(3) 稳定性考察.对 UH62 菌株进行连续传代 8 次,并进行摇瓶发酵.产酸最高 8.40 % ,最低 8.16 % ,平均 8.31 % .转化率最高 52.5 % ,最低 51.0 % ,平均 51.95 % .稳定性较好.

3 结束语

(1) 利用琥珀酸盐为唯一碳源的培养基进行选择培养.根据代谢控制的原理选育强化 CO<sub>2</sub> 固定反应的代谢调节突变株,大大减少筛选的工作量,提高筛选效率。(2) 从两批挑出的菌落的测定结果可以看出,目的菌株的获得仍然必须在一定的几率范围内. UH62 菌株尽管在目前尚不是高产菌株,但其产酸率和转化率均有较大幅度的提高.通过优化条件,有望进一步提高其发酵水平。(3) Q-72 菌株是生物素缺陷型,诱变所得的 UH62 菌又增加了一个遗传标记,双突变菌株更具抗回复突变的能力.因此其稳定性也更好,具有一定的实践意义.

参 考 文 献

1 陈碧娥.谷氨酸生产菌培养基最优配比设计[J].华侨大学学报(自然科学版),2001,22(2):199~201  
2 祁国伟.2001 年全国味精行业主要经济技术指标初探[J].中国调味品,2002,(6):14~16  
3 高焕春,吕晓玲,李超文. PGDHL 生化突变型谷氨酸生产菌株选育的生化模式[J].生物化学杂志,1997,13(2):159~163  
4 于信令.味精工业手册[M].北京:中国轻工业出版社,1995. 114~116

Breeding of Mutant Strain for Glutamate Production

Chen Bie                  Wang Lina

(College of Mater. Sci. & Eng., Huaqiao Univ., 362011, Quanzhou, China)

**Abstract** A study is made on the method for breeding mutant strain of metabolic regulation. Corynebacterium beijinese Q-72 is taken as starting bacterial strain. After mutagenizing by UV, the authors have screened the mutant strain UH62 which grows well on the medium with succinate as unique carbon source and shows strong carboxylation. The mutant strain UH62 shows respectively a glutamate productivity of 1.45 % higher and a glutamate/ glucose conversion rate of 9.1 % higher than those of starting strain Q-72.

**Keywords** glutamate, breeding of bacterial strain, metabolic regulation, succinate

本期英文审校 李 坚