

# 液体深层培养趋磁细菌 AMB-1 的生长及产磁能力

龙瑞敏<sup>1</sup>, 谢茂彬<sup>1</sup>, 王士斌<sup>1,2</sup>

(1. 华侨大学 化工学院, 福建 厦门 361021;

2. 华侨大学 生物材料与组织工程研究所, 福建 厦门 361021)

**摘要:** 采用液体深层培养法培养趋磁细菌 AMB-1, 考察装瓶量、铁源种类及浓度、碳源种类及浓度、氮源种类及浓度、混合碳源比例共 8 个因素对 AMB-1 生长和产磁能力的影响. 研究结果表明: AMB-1 能够稳定生长并合成磁小体, 但是碳源种类及氮源种类对 AMB-1 的生长影响较为明显; 除琥珀酸外, AMB-1 无法利用酒石酸、乙酸钠和柠檬酸作为单一碳源, 而硝酸钠为最佳氮源.

**关键词:** 液体深层培养; AMB-1; 生物量; 磁小体

**中图分类号:** TQ 920.6

**文献标志码:** A

趋磁细菌(*Magnetospirillum magneticum*)是一类能够沿着地磁场磁力线排列, 并定向游动的革兰氏阴性菌的总称, 其体内能够合成磁性纳米颗粒——磁小体. 与人工合成的磁性纳米颗粒相比, 细菌体内合成的磁小体具有形态均一、粒径分布较窄、生物膜包裹和生物相容性好<sup>[1]</sup>等特点, 因而其在生物医学、生物材料、生物化工等领域有巨大的应用价值<sup>[2-12]</sup>. 目前, 关于磁小体的应用研究报道还相对较少, 液体深层培养是趋磁细菌的主要培养方式之一<sup>[8]</sup>, 具有操作简单的特点. 该方法要求的设备也比较简单, 国内许多生物化工相关实验室都具备潜在培养的条件. 由于 AMB-1 是一种兼性微好氧型的微生物<sup>[9]</sup>, 可在无氧环境下生长, 但细胞内部合成磁小体只有在氧浓度较低时才产生磁小体. 因此, 本文采用液体深层培养法培养 AMB-1, 考察影响 AMB-1 生长和产磁能力的因素.

## 1 材料与方法

### 1.1 试剂与仪器

1) 试剂. 趋磁细菌 AMB-1(中科院地质与地球物理研究所潘永信研究员馈赠, 美国模式菌种收集中心(ATCC)); 奎尼酸(分析纯, 美国 Sigma 公司); 其他试剂均为分析纯(广东汕头市西陇化工厂或国药集团化学试剂有限公司).

2) 仪器. BS210S 型电子分析天平(德国 Sartorius 公司); SPA-250A 型恒温生化培养箱(江苏南京实验仪器厂); UV-1600PC 型紫外分光光度计(上海 Mapada 公司); XSP-3C 型生物显微镜(上海尚光公司); BX51 型荧光显微镜(日本 Olympus 公司); CKX41 型倒置显微镜(德国 Leica 公司).

### 1.2 细菌的活化

将趋磁细菌 AMB-1 从-80 ℃的冰箱中取出, 放入-4 ℃的冰箱中 5~10 min. 取出后, 在室温下放置 2~3 min, 待菌种解冻后立即转接. 取 4 个装有 10 mL 已灭菌的培养基的螺口试管(10 mL), 分别加入 800 mL 和 200 mL 菌液(各两管). 在 26 ℃恒温下, 静置培养 7~10 d, 倒置显微镜观察其生长状况.

### 1.3 细菌的计数

镜检菌液, 观察生长状况及是否染菌. 在计数板上盖上盖玻片, 从边缘滴入菌液, 待菌液渗入整个计

数室即可. 于 40 倍光学显微镜下观察计数,取中格、左上格、左下格、右上格、右下格计数. 取出在 4 ℃ 下保存的,装有 10 mL 已灭菌培养基的螺口试管(10 mL),放置至室温. 选取生长较好的两瓶菌液,用移液枪分别从各瓶中取出 200 μL 和 500 μL 菌液转入螺口试管中,标记日期,在 26 ℃ 下恒温静置培养 2 d.

1.4 细菌密度标准曲线的制备

从螺口试管中培养至稳定期的细菌中选出一瓶进行记数(计数板计数法),并在  $D(600)$  处测其吸光度值. 从该管中取出 10 mL 菌液作为母液,进行梯度稀释,并测其吸光度值. 实验结果表明,菌体密度在  $3\times10^7\sim17\times10^7\text{ cell}\cdot\text{mL}^{-1}$  时与  $D(600)$  成较好的线性关系,相关系数  $R$  达到 0.999 0 以上. 随着细菌密度的增大, $D(600)$  值也相应增大,表明细菌数量对应增加,在一定程度上反映了细菌的生长状况. 因此,以下关于细菌的生物量指标均采用  $D(600)$  值来反映生物量.

1.5 不同培养条件对 AMB-1 生长的影响

按照 ATCC medium:1653 Revised magnetic Spirillum growth medium(MSGM)配制所需培养基,将培养基分装于 500 mL 三角烧瓶中,每种条件各 4 瓶,在 121 ℃ 下灭菌 20 min,冷却后分别加铁源.

镜检活化的菌液,取细菌数量较多,形态均一,磁敏性较好的菌. 取上述各个条件的培养基各一瓶,分别转入 5 mL 菌液,在 26 ℃ 下恒温静置培养 2 d,制作种子液.

选取每种条件的培养基各 3 瓶,分别接入 5 mL 相应的种子液,于 26 ℃ 下恒温静置培养. 将紫外分光光度计波长设置为 600 nm,用玻璃比色皿以蒸馏水调零,取约 3 mL 待测菌液加入比色皿中,每隔 12 h 测定  $D(600)$  值及  $C_{\text{mag}}$  值. 在分光光度计中,对待测菌液分别外加水平磁场和垂直磁场,于波长 600 nm 测定  $D(600)$  值和  $C_{\text{mag}}$  值. 其中:产磁能力  $C_{\text{mag}}$  为水平磁场下和垂直磁场下的  $D(600)$  的比值.

2 结果与讨论

2.1 装瓶量对 AMB-1 生长的影响

考察装瓶量( $\varphi$ )对 AMB-1 生长的影响,如图 1 所示. 由图 1(a)可知:在装瓶量分别为 50%,75%,100%的情况下,AMB-1 生长进程相似,没有明显差异;生长曲线显示了细菌生长 4 个时期(0~12 h 是延滞期,12~36 h 为对数生长期,36~84 h 为生长稳定期,84 h 之后为衰亡期). 因此,装瓶量对 AMB-1 的生长进程没有明显影响. 由图 1(b)可知:当装瓶量分别为 50%,75%,100%的情况下,AMB-1 稳定期的菌体数量也逐渐减少,在装瓶量为 50%时相对最高( $0.086\pm0.003$ );而装瓶量为 100%时相对最低( $0.068\pm0.002$ ). 说明随着装瓶量的增加,培养瓶中空气的减少,AMB-1 生长会受到抑制,细胞数量会减少. 由图 1(c)可知:当培养基装瓶量为 100%时,AMB-1 稳定期的  $C_{\text{mag}}$  值达到最高( $1.348\pm0.029$ );而培养基装瓶量为 50%时 AMB-1 稳定期的  $C_{\text{mag}}$  值达到最低( $1.307\pm0.014$ );装瓶量越大,即培养瓶中空气越少,AMB-1 产生的磁小体数量越多.

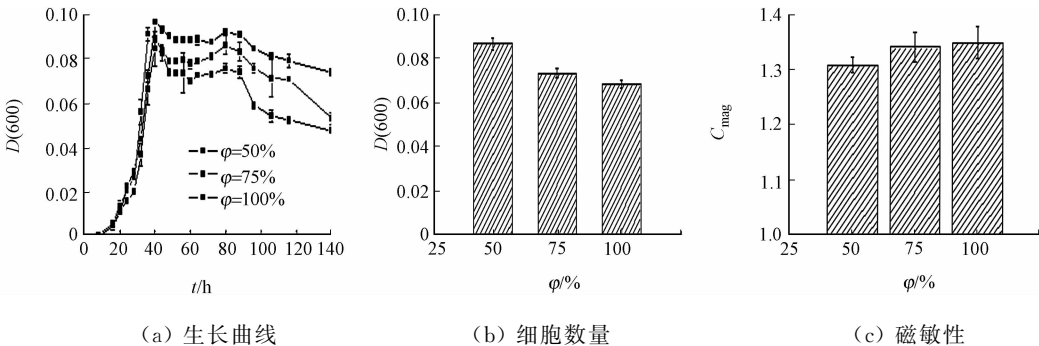


图 1 不同装瓶量对 AMB-1 生长的影响

Fig. 1 Effect of culture medium volume on AMB-1 growth

2.2 铁源对 AMB-1 生长的影响

考察不同铁源对 AMB-1 生长的影响,如图 2 所示. 由图 2(a)可以看出:不同铁源在添加量相同的情况下,AMB-1 生长进程相似,没有明显差异. AMB-1 在以  $\text{FeSO}_4$  与  $\text{QFe}^{3+}$  为铁源时生长优于以  $\text{FeCl}_3$  为铁源,主要表现为其  $D(600)$  值略高,且稳定期相对较长. 原因可能是  $\text{FeSO}_4$  中的铁离子为二价铁,而其余两种铁源中的铁离子为三价铁,对 AMB-1 来说,可能二价铁更易于其细胞吸收利用,其具体机理

有待进一步研究. 由图 2(b)可知:当加入  $\text{FeSO}_4$  与  $\text{QFe}^{3+}$  时,AMB-1 稳定期的菌体数量相差不大;加入  $\text{FeCl}_3$  时菌体数量相对较少;加入  $\text{FeSO}_4$  时相对最高( $0.091\pm0.002$ );加入  $\text{FeCl}_3$  时相对最低( $0.078\pm0.002$ ). 因此, $\text{FeSO}_4$  与  $\text{QFe}^{3+}$  作为铁源更适合 AMB-1 细胞的生长. 由图 2(c)可知:在加入  $\text{FeSO}_4$  培养基中 AMB-1 稳定期的  $C_{\text{mag}}$  值达到最高( $1.21\pm0.02$ );加入  $\text{FeCl}_3$  的培养基中 AMB-1 稳定期的  $C_{\text{mag}}$  值达到最低( $1.071\pm0.013$ ). 因此,以  $\text{FeSO}_4$  作为铁源时,AMB-1 产生的磁小体数量较以  $\text{QFe}^{3+}$  与  $\text{FeCl}_3$  为铁源时多. 该现象表明:培养基中的硫酸亚铁相对于  $\text{QFe}^{3+}$  与  $\text{FeCl}_3$  更有助于磁小体的合成,也可以推测二价铁离子有利于细菌细胞吸收,便于在体内合成磁小体.

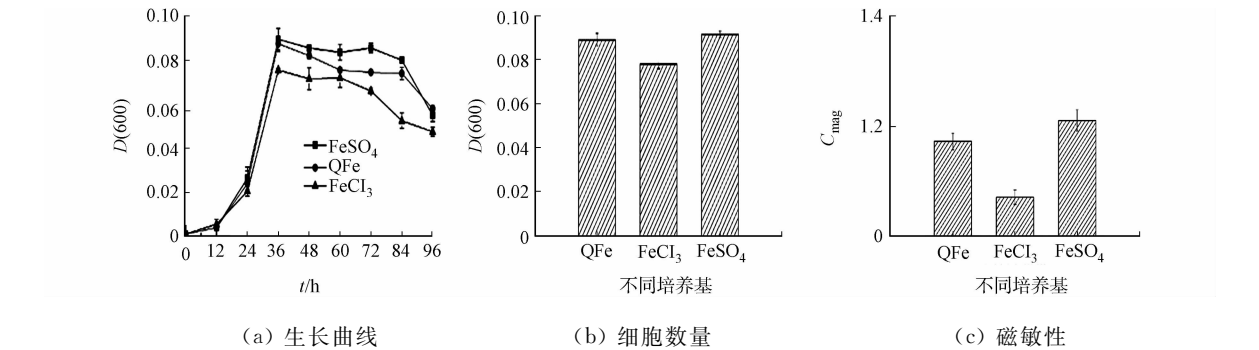


图 2 不同铁源对 AMB-1 生长的影响

Fig. 2 Effect of iron source on AMB-1 growth

目前关于趋磁细菌是优先利用  $\text{Fe}^{3+}$ , 还是  $\text{Fe}^{2+}$  尚没有定论. 张宇红<sup>[8]</sup>通过正交实验考察了硫酸亚铁、柠檬酸铁和奎尼酸铁对 AMB-1 生长的影响,结果显示奎尼酸铁( $\text{Fe}^{3+}$ )是较优条件. 晏磊等<sup>[13]</sup>考察了铁源对氧化亚铁硫杆菌合成磁小体的影响,结果表明合成磁小体的铁源为  $\text{Fe}^{2+}$ , 而非  $\text{Fe}^{3+}$ .

### 2.3 硫酸亚铁对 AMB-1 生长的影响

考察不同  $\text{FeSO}_4$  浓度( $c(\text{FeSO}_4)$ )对 AMB-1 生长的影响,如图 3 所示. 由图 3(a)可知: $\text{FeSO}_4$  浓度在  $10\sim160\ \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$  情况下,AMB-1 生长进程相似,没有明显差异;浓度为  $20\ \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$  时, $D(600)$  略高,且生长稳定期持续时间较长. 由图 3(b)可知: $\text{FeSO}_4$  浓度在  $20\sim160\ \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$  时,AMB-1 稳定期的菌体数量相差也不大;浓度为  $20\ \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$  时相对最高( $0.065\pm0.002$ );浓度为  $40\ \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$  时相对最低( $0.053\pm0.004$ ). 由图 3(c)可知:AMB-1 稳定期的  $C_{\text{mag}}$  值随培养基中  $\text{FeSO}_4$  浓度的增加而递增;在浓度为  $160\ \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$  时达到最高( $1.392\pm0.013$ ). 因此,培养基中硫酸亚铁浓度的增加有助于磁小体的合成.

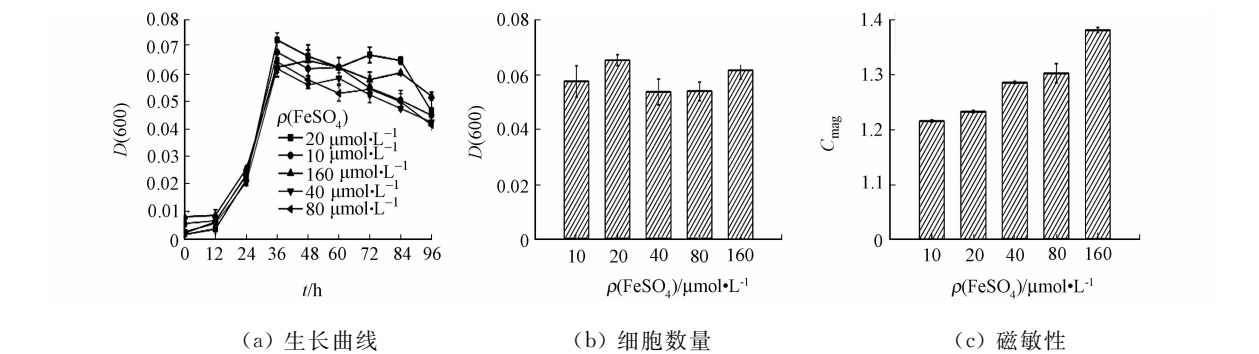


图 3 不同  $\text{FeSO}_4$  浓度对 AMB-1 生长的影响

Fig. 3 Effect of  $\text{FeSO}_4$  concentration on AMB-1 growth

在实验中发现一个现象,培养基  $\text{FeSO}_4$  浓度较高时,静置培养一段时间后会不同程度的红褐色沉淀,浓度为  $80\ \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$  及  $160\ \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$  时尤其明显. 因此,多添加的  $\text{FeSO}_4$  不会溶解到培养基中,无法被 AMB-1 所利用. 上述结果并不完全表明培养基中  $\text{FeSO}_4$  浓度对 AMB-1 生长进程和菌体数量影响不明显,要进一步考察培养基中可溶性铁源对 AMB-1 生长的影响.

### 2.4 碳源对 AMB-1 生长的影响

碳源作为能源为 AMB-1 生长提供碳元素,而 AMB-1 对不同碳源的利用度不一样,不同碳源对

AMB-1 生长的影响如图 4 所示. 由图 4(a)可知:加入琥珀酸的培养基 AMB-1 细胞有所生长,但是生长进程中缺少稳定期,达到最高点后直接下降;而加入酒石酸、柠檬酸、乙酸钠时的培养基 AMB-1 细胞基本未有生长. 因此,除琥珀酸外其他碳源不适合以单一碳源的形式作为碳源加入培养基中. 由图 4(b)可知:加入琥珀酸的培养基中 AMB-1 的菌体数量较多,达到 $(0.091\pm0.002)$ ;而加入酒石酸、柠檬酸和乙酸钠的培养基中在 AMB-1 的菌体数量极少,基本无生长. 因此,以酒石酸、柠檬酸和乙酸钠作为单一碳源不适合 AMB-1 的生长. 由图 4(c)可知:酒石酸、乙酸钠和柠檬酸的  $C_{mag}$  值均为 1,即菌体内没有合成磁小体;而以琥珀酸为单一碳源时, $C_{mag}$  值为 $(1.28\pm0.01)$ . 因此,AMB-1 在以酒石酸、乙酸钠和柠檬酸为单一碳源时无法合成磁小体,而能够以琥珀酸为单一碳源合成磁小体,结果与上述结果一致.

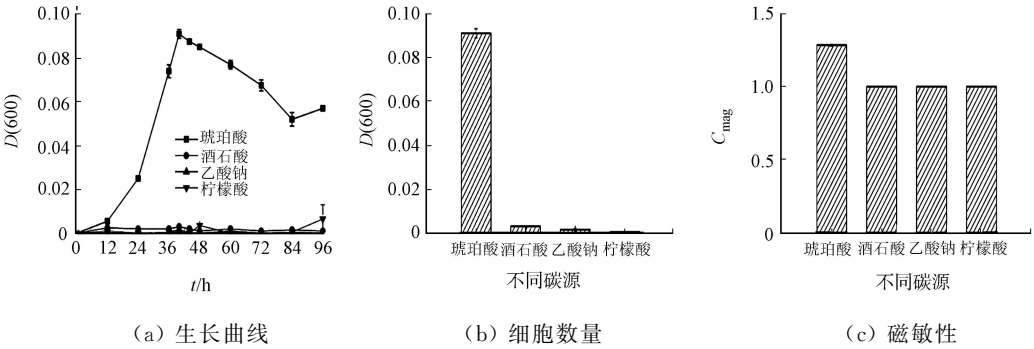


图 4 不同碳源对 AMB-1 生长的影响  
Fig. 4 Effect of carbon source on AMB-1 growth

2.5 琥珀酸浓度对 AMB-1 生长的影响

从 AMB-1 在不同单一碳源培养基中的生长情况可知:相比其他碳源而言,AMB-1 在只添加琥珀酸作为单一碳源的培养基中生长相对较好,但没有明显的稳定期. 因此,在此基础上,继续考察不同琥珀酸浓度(c(琥珀酸))对 AMB-1 生长的影响如图 5 所示.

由图 5(a)可知:在不同质量浓度的琥珀酸培养条件下,AMB-1 的延滞期都很长(0~24 h),生长进程和生物量随着琥珀酸质量浓度变大也产生较大差异. 由图 5(b)可知:在质量浓度为 50,100  $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$  时,AMB-1 没有对数生长期,同时生物量也很低,只有 $(0.027\pm0.002)$ 和 $(0.024\pm0.005)$ ;在质量浓度为 400  $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$  时,生物量达到 $(0.080\pm0.002)$ ,但 AMB-1 无稳定期;在质量浓度为 200,800,1 600  $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$  时,AMB-1 生长进程相似,但也都没有明显的稳定期;细菌在达到生长对数期末期后,菌体数量下降较快;在质量浓度为 1 600  $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$  时,AMB-1 生物量达到最高 $(0.09\pm0.007)$ . 因此,在质量浓度为 50~1 600  $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$  的范围内,琥珀酸浓度均不适宜 AMB-1 的生长和生物量地提高. 由图 5(c)可知:在不同浓度琥珀酸的培养条件下,AMB-1 的  $C_{mag}$  值差异较大,与琥珀酸浓度逐渐变大的趋势没有一定的相关性;在质量浓度为 400  $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$  时达到最大 $(1.132\pm0.002)$ ,此时  $C_{mag}$  值仍然较低. 因此,在质量浓度为 50~1 600  $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$  范围时,单以琥珀酸作为 AMB-1 碳源均不利于其体内合成磁小体.

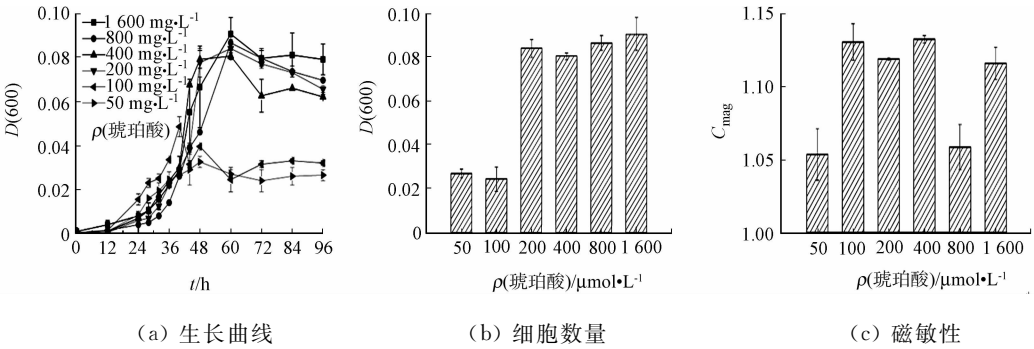


图 5 不同琥珀酸浓度对 AMB-1 生长的影响  
Fig. 5 Effect of Succinic acid concentration on AMB-1 growth

2.6 氮源对 AMB-1 生长的影响

考察不同氮源对 AMB-1 的生长影响,如图 6 所示. 3 种氮源相比较,AMB-1 对硝酸钠的吸收最好,

生长进程符合标准的生长曲线模式. 由图 6(a)可知:0~12 h 为延滞期,12~44 h 为对数生长期,44~84 h 为稳定期,84 h 以后进入衰退期;AMB-1 对氯化铵和硫酸铵吸收较差,在氯化铵和硫酸铵作为氮源时,延滞期相对较长(0~36 h),对数生长期不明显,无稳定期,156 h 后开始衰退. 由图 6(b)可知:AMB-1 以硝酸钠为氮源时,稳定期的菌体量为 $(0.085 \pm 0.049)$ ,要高于其他两种氮源;而氯化铵的 $(0.024 \pm 0.002)$ 略高于硫酸铵 $(0.021 \pm 0.003)$ . 由图 6(c)可知:硝酸钠稳定期时的磁敏性最高 $(1.295 \pm 0.01)$ ;硫酸铵次之 $(1.141 \pm 0.012)$ ;氯化铵最低 $(1.107 \pm 0.007)$ .

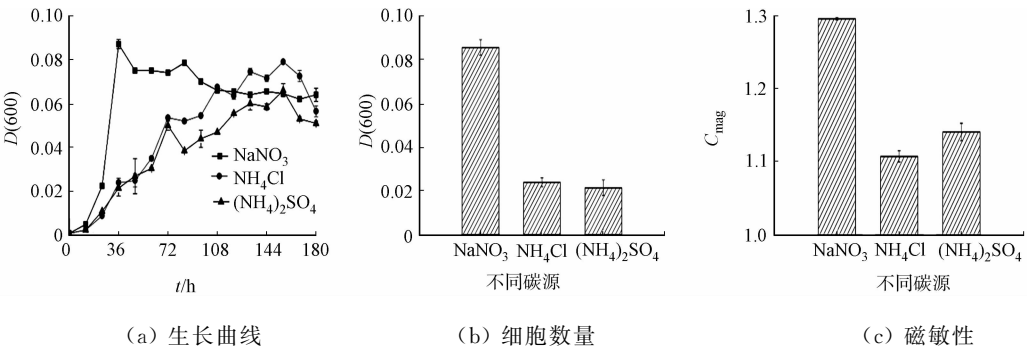


图 6 不同氮源对 AMB-1 生长的影响

Fig. 6 Effect of nitrogen source on AMB-1 growth

结果表明:AMB-1 以硝酸钠为氮源时有利于 AMB-1 生长,既有较高的菌体数量又有相对较多的磁小体数量;而氯化铵和硫酸铵都不利于 AMB-1 的生长和磁小体的合成. 分析认为:硝酸钠为氮源被细菌生长所消耗后,培养基 pH 偏碱性;而硫酸铵和氯化铵作为氮源被消耗后,培养基 pH 偏弱酸性,不利于 AMB-1 的生长及磁小体的合成.

2.7 硝酸钠浓度对 AMB-1 生长的影响

考察硝酸钠质量浓度( $\rho$ (硝酸钠))对 AMB-1 生长的影响,如图 7 所示. 由图 7(a)可知:硝酸钠质量浓度为 10,50 mg · L<sup>-1</sup>时,AMB-1 生长进程无明显的对数生长期;质量浓度为 100,200,400 mg · L<sup>-1</sup>时,硝酸钠生长进程相似;而质量浓度为 800 mg · L<sup>-1</sup>的 AMB-1 虽然延滞期和对数生长期正常,但是没有稳定期,在 36 h 达到对数生长期末期后,菌体数量迅速开始下降. 原因可能是大量硝酸钠的加入,导致其被细菌利用后,培养基 pH 值改变太大,由中性变为偏碱性,不利于 AMB-1 的生长. 由图 7(b)可知:硝酸钠质量浓度为 400 mg · L<sup>-1</sup>时,稳定期的菌体数量最多 $(0.127 \pm 0.002)$ ;而其质量浓度为 10 mg · L<sup>-1</sup>时,稳定期的菌体数量最少 $(0.022 \pm 0.002)$ . 由图 7(c)可知:硝酸钠质量浓度为 100 mg · L<sup>-1</sup>时,AMB-1 稳定期的 C<sub>mag</sub> 值最高 $(1.214 \pm 0.002)$ ,而质量浓度为 800 mg · L<sup>-1</sup>时,AMB-1 稳定期的 C<sub>mag</sub> 值最低 $(1.099 25 \pm 0.000 75)$ . 研究结果表明:硝酸钠质量浓度为 400 mg · L<sup>-1</sup>时,AMB-1 虽然稳定期的菌体数量达到最高值,但是 C<sub>mag</sub> 值是偏低,即体内磁小体数目很少. 现象和考察装瓶量时结果相似,总体而言,在质量浓度为 100 mg · L<sup>-1</sup>添加量时有利于 AMB-1 的生长和磁小体的合成.

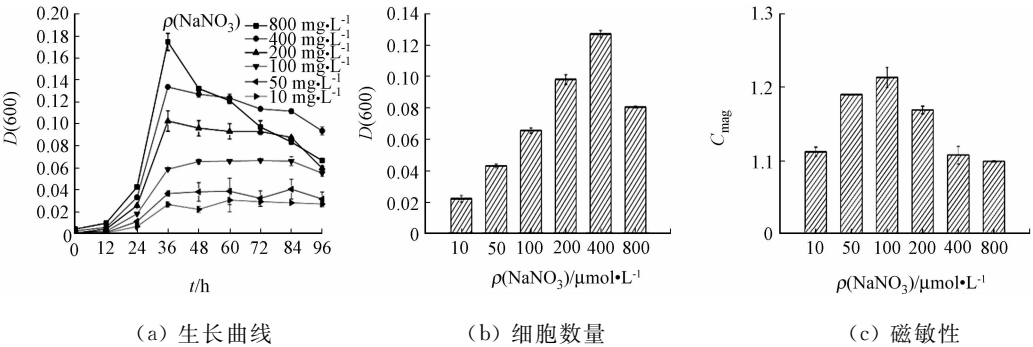


图 7 不同硝酸钠浓度对 AMB-1 生长的影响

Fig. 7 Effect of NaNO<sub>3</sub> concentration on AMB-1 growth

2.8 碳源比例对 AMB-1 生长的影响

在考察过不同种单一碳源以及不同琥珀酸浓度对 AMB-1 生长影响后,发现 AMB-1 不适于在单一

碳源培养基中生长,因此,在此基础上继续考察混合碳源比例( $\gamma$ )对 AMB-1 的生长影响,如图 8 所示.从图 8(a)可以看出:酒石酸比琥珀酸的比为 7 : 1 这一组延滞期较长(0~24 h),而其他几组生长进程相似.从图 8(c)可知:碳源比 3 : 1 组和 1 : 3 组的生物量相对较高( $0.097 \pm 0.004$ )和( $0.097 \pm 0.003$ );而随着混合碳源比例的增大,生物量逐渐降低.酒石酸与琥珀酸浓度越接近,生物量越高,可能是由于酒石酸可以辅助 AMB-1 对琥珀酸的吸收,从而能为其生长提供持续的碳源和能源.从图 8(d)可知:混合碳源比例的不同对 AMB-1 的  $C_{mag}$  值影响很大,随着酒石酸浓度的缩小, $C_{mag}$  值呈逐渐增大趋势,其中 3 : 1 组达到最高( $1.29 \pm 0.003$ );而随着琥珀酸浓度的增加, $C_{mag}$  值在 1 : 5 时达到最高( $1.236 \pm 0.005$ ).说明酒石酸浓度越小,两者比例越接近就越有利于体内磁小体的合成,可能是由于浓度相当的酒石酸可以辅助琥珀酸作为碳源被 AMB-1 所利用,从而在体内合成更多的磁小体.

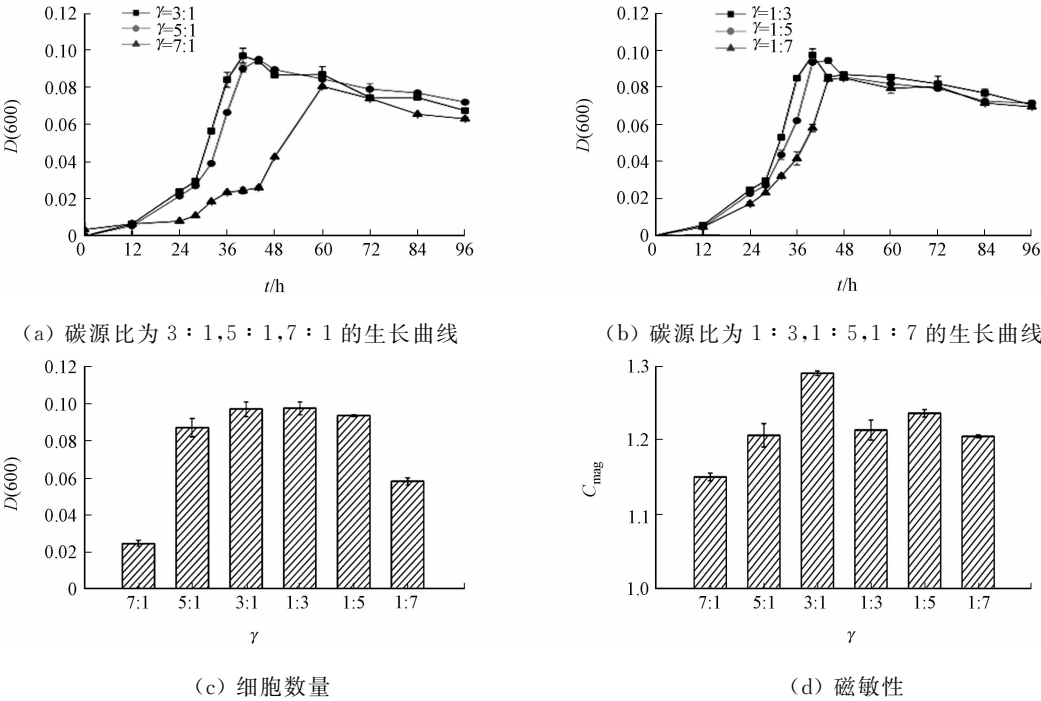


图 8 不同碳源比例对 AMB-1 生长的影响

Fig. 8 Effect of proportion of mixed carbon sources on AMB-1 growth

3 结论

- 1) 在考察的各个因素中,普通实验条件下趋磁细菌都能够稳定生长并合成磁小体.
- 2) 二价铁离子更有利于细菌细胞吸收,便于在体内合成磁小体.
- 3) 除琥珀酸外,AMB-1 无法利用酒石酸、乙酸钠和柠檬酸作为单一碳源.
- 4) AMB-1 以硝酸钠为氮源时有利于 AMB-1 生长,既有较高的菌体数量又有相对较多的磁小体数量;而氯化铵和硫酸铵都不利于 AMB-1 的生长和磁小体的合成.

参考文献:

[1] 孟晨,田杰生,李颖,等. 磁小体对小鼠免疫应答的影响[J]. 微生物学报,2010,50(6):817-821.

[2] GUO Lin, HUANG Ji, ZHENG Li-min. Control generating of bacterial magnetic nanoparticle-doxorubicin conjugates by poly-L-glutamic acid surface modification[J]. Nanotechnology,2011,22:175102.

[3] SUN Jian-bo, DUAN Jin-hong, DAI Shun-ling, et al. In vitro and in vivo antitumor effects of doxorubicin loaded with bacterial magnetosomes (DBMs) on H22 cells: The magnetic bionanoparticles as drug carrier[J]. Cancer Letters,258(1):109-117.

[4] TANG Y S, WANG D, ZHPU C, et al. Bacterial magnetic particles as a novel and efficient gene vaccine delivery system[J]. Gene Therapy,2012;19(12):1187-1195.

- [5] 李金华,潘永信,刘青松,等. 趋磁细菌 *Magnetospirillum magneticum* AMB-1 全细胞和纯化磁小体的磁学比较研究[J]. 科学通报, 2009, 54(21): 3345-3351.
- [6] ALPHANDÉRY E, GUYOT F, CHEBBI I. Preparation of chains of magnetosomes, isolated from *Magnetospirillum magneticum* Strain AMB-1 magnetotactic bacteria, yielding efficient treatment of tumors using magnetic hyperthermia[J]. International Journal of Pharmaceutics, 2012, 434(1-2): 444-452.
- [7] YAN Lei, ZHANG Shuang, CHEN Peng, et al. *Magnetotactic bacteria*, *magnetosomes* and their application[J]. Microbiological Research, 2012, 167(9): 507-519.
- [8] 张宇红. 趋磁细菌 AMB-1 培养条件优化及磁小体变化过程研究[D]. 青岛: 中国科学院研究生院海洋研究所, 2008: 22.
- [9] GUO L, HUANG J, ZHENG L M. Control generating of bacterial magnetic nanoparticle-doxorubicin conjugates by poly-L-glutamic acid surface modification[J]. Nanotechnology, 2011, 22(17): 175102.
- [10] SCHÜLER D, UHL R, BÄUERLEIN E. A simple light scattering method to assay magnetism in *Magnetospirillum gryphiswaldense*[J]. FEMS Microbiology Letters, 1995, 132(1/2): 139-145.
- [11] ZHAO Lu-ze, WU Dan, WU Long-fei, et al. A simple and accurate method for quantification of magnetosomes in magnetotactic bacteria by common spectrophotometer[J]. Journal of Biochemical and Biophysical Methods, 2007, 70(3): 377-383.
- [12] 张宇红, 武洪庆, 肖天. 生物磁性纳米材料: 磁小体培养优化及形成过程研究[J]. 海洋与湖沼, 2010, 41(4): 597-605.
- [13] 晏磊, 张爽, 李雪, 等. 氧化亚铁硫杆菌的磁性及铁源种类对磁小体合成的影响[J]. 黑龙江八一农垦大学学报, 2012, 24(1): 23-27.

## Study on AMB-1 Growth and Magnetism Generation Capacity by Submerged Liquid Cultivation

LONG Rui-min<sup>1</sup>, XIE Mao-bin<sup>1</sup>, WANG Shi-bin<sup>1,2</sup>

(1. College of Chemical Engineering, Huaqiao University, Xiamen 361021, China;

2. Institute of Biomaterials and Tissue Engineering, Huaqiao University, Xiamen 361021, China)

**Abstract:** AMB-1 was cultured by submerged liquid cultivation. Different parameters including bottling amount, iron source and concentration, carbon source and concentration, nitrogen source and concentration and the proportion of mixed carbon source were investigated on the effects of AMB-1 growth and magnetism generation capacity. Results indicated that AMB-1 could grow steadily and synthesize magnetosomes under all parameters, but carbon source and nitrogen source both had great influence on AMB-1 growth. AMB-1 couldn't use tartaric acid, sodium acetate and citric acid as single carbon source except succinic acid, and  $\text{NaNO}_3$  was the optimal nitrogen source. These results provided referencable data for application and dissemination of magnetosomes production by AMB-1 under common experimental conditions.

**Keywords:** submerged liquid cultivation; AMB-1; biomass; magnetosome

(责任编辑: 陈志贤 英文审校: 刘源岗)