

# 快中子辐射处理卡那霉素产生菌

唐福生 张培灵 张荫芬\*

(北京第二制药总厂)

快中子辐射用于抗生素产生菌的诱变育种已有报道<sup>[1,2]</sup>。我们在北京辐射中心的协作下,从1976年开始,用400千电子伏高压倍加器产生的14MEV快中子,处理卡那霉素产生菌,获得一些高产菌株。本文报道这方面的试验结果。

## 材 料 与 方 法

### 一、出发菌株

卡那霉素产生菌 (*Streptomyces Kanamyc-*

---

\* 现在北京市辐射中心工作。

ticus) 44<sup>#</sup>、72-111<sup>#</sup>、58-203<sup>#</sup>、72-318<sup>#</sup>。

## 二、培养基

1. 产孢子培养基(%)：牛肉膏 0.15、蛋白胨 0.5、葡萄糖 0.5、氯化钠 0.3、琼脂 2.2。pH 7.0—7.2, 用无离子水配制。

2. 液体种子培养基(%)：黄豆粉 1.2、葡萄糖 1.1、氯化钠 0.5、CaCO<sub>3</sub> 0.1。pH 7.0, 自来水配制。

3. 发酵培养基：①摇瓶一级发酵培养基(%)：黄豆粉 3、麦芽糖 2.5、NaNO<sub>3</sub> 0.8、ZnSO<sub>4</sub> 0.01、淀粉 2.5、自来水配制，pH 自然。②摇瓶发酵培养基(%)：黄豆粉 5.0、淀粉 6.0、麦芽糖 4.0、葡萄糖 0.5、NaNO<sub>3</sub> 0.9、ZnSO<sub>4</sub> 0.02。pH 自然，自来水配制。

## 三、培养条件

温度为 27±0.5℃，斜面孢子培养 5 天，平板培养 5—7 天。摇瓶种子挖块接种，种龄 50—52 小时，发酵接种量 12.5%，周期 6 天。测定生物效价和卡那霉素 B 含量。

## 四、辐射处理方法

取孢子悬浮液 1—2ml，装入 3—5ml 的玻璃瓶中，距中子源不同距离，辐射 3—4 小时。剂量在 5—50 千拉德左右。

# 结 果

## 一、快中子辐射效果

不同菌株在不同条件下的辐射效果见表 1。我们认为快中子对卡那霉素产生菌有较高

的诱变效应。由于出发菌株、使用剂量不同，对菌的死亡率也不一样，一般在 14—98% 之间。死亡率过低，不能获得高产菌株，见表 2。

表 2 处理剂量与死亡率、高产菌株的关系

出发菌株	剂 量 (中子数/cm <sup>2</sup> )	死亡率 (%)	高产菌株
44 <sup>#</sup>	$1.21 \times 10^{11}$	49	无
	$1.21 \times 10^9$	14	无
	$1.21 \times 10^9$	20	无
	$3.02 \times 10^9$	28	无

上述结果说明，用快中子处理卡那霉素产生菌最适剂量应是  $1-8 \times 10^{12}$  中子数/cm<sup>2</sup>，死亡率应为 76.4—98.5%。

## 二、快中子对卡那霉素产生菌的诱变效应

结果见图 1。

图 1 说明，快中子使卡那霉素产生菌的产量分布幅度广，主峰向正变方向移动，正变率大幅度提高。

## 三、快中子对卡那霉素产生菌的菌落形态和产量分布的影响

抗生素是微生物的次级代谢产物，受多基因控制，产量突变往往伴随着菌落形态的生理特性改变。卡那霉素产生菌经快中子辐射处理后，其产量随着菌落形态差异有所不同。梅花形菌落形态的菌其抗生素产量高于车轮形菌 9.7r/ml%，高于光秃形菌 22.1r/ml%。

## 四、不同菌株对快中子的敏感性

结果见表 3。

表 1 辐 射 效 果

结 果 出发菌株号	项 目 剂 量 (中子数/cm <sup>2</sup> )	死亡率 (%)	新菌株数	菌落形态	高产菌株	提高幅度 (%)
4 <sup>#</sup>	$8 \times 10^{12}$	98.5	—	似梅花	68 <sup>#</sup>	7.3
	$3.52 \times 10^{12}$	94.8	—	同 上	—	—
	$1.28 \times 10^{12}$	93.3	—	同 上	—	—
72-111	$8.05 \times 10^{12}$	76.4	6	梅 花	338 <sup>#</sup> 、339 <sup>#</sup>	2—9.5
	$7.36 \times 10^{11}$	78.2	8	梅 花	—	—
58-203	$2.9 \times 10^{11}$	26.83	1	车 轮	—	—
72-318	$8.05 \times 10^{12}$	97.4	1	车 轮	—	—
	$7.36 \times 10^{11}$	79.0	—	车 轮	—	—

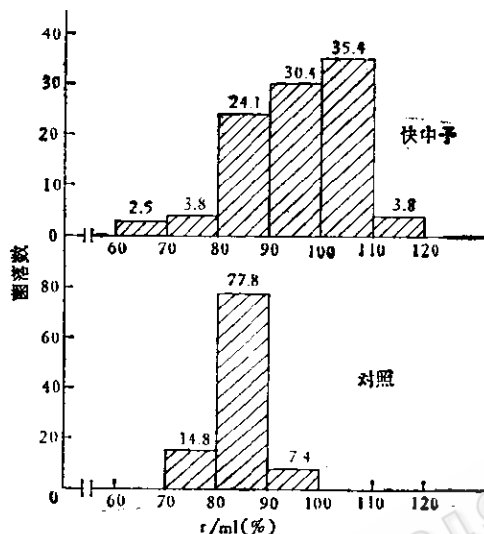


图1 快中子的诱变效应

表3 不同菌株对快中子的敏感性

结果 项目	菌株号		
	72-111	58-203	72-318
菌落数	50	24	28
死亡率	77.3	26.8	88.2
r/ml (%)	94.7	88.9	5以下

## 五、快中子对卡那霉素产生菌的营养缺陷型的

## 诱变结果

该菌经快中子的  $8 \times 10^{12}$  中子数/cm<sup>2</sup> 剂量辐射处理,其诱发频率为 0.9%。

## 六、高产菌株的获得

出发菌株经快中子辐射处理后,先后获得三株高产菌株 68<sup>#</sup>、338<sup>#</sup>、339<sup>#</sup>,其摇瓶效价比原株提高 10.5—16%,试生产表明,产量提高 2—9.5%,卡那霉素 B 含量下降 0.8%。到目前已取得明显的经济效益。

## 讨 论

快中子对卡那霉素产生菌的辐射结果说明,由于菌株对快中子的敏感性不同,处理效果有明显差异。快中子具有生物效应是由于不带电的粒子即中子把生物细胞原子核中带正电荷的基本粒子撞击出来形成较大的电离密度,因而能够引起基因突变和染色体畸变<sup>[3]</sup>。

## 参 考 文 献

- [1] 吴振倡: 快中子及其与氯化锂复合处理土霉素的初步结果,微生物学通报 4(3): 27—28, 1977。
- [2] 杜润洋: 应用于微生物育种的一种快中子辐照方法,抗生素 6(2): 16—20, 1981。
- [3] 《微生物诱变育种》编写组: 微生物诱变育种: 37—38, 科学出版社,北京,1973。