

## 米曲霉在产脱氨酶过程中的超微结构动态

王程\* 严自正

(中国科学院微生物研究所, 北京)

腺苷酸脱氨酶 (AMP deaminase, EC 3.5.4.6) 催化 5'-腺苷酸脱氨生成 5'-肌苷酸<sup>[1]</sup>。核酸经 5'-磷酸二酯酶降解后, 用 AMP 催化其中 5'-腺苷酸使其生成 5'-脱苷酸。产脱氨酶高活力米曲霉菌株 (*Aspergillus oryzae*) AS3.800, 在制作麸麴过程中, 当米曲霉分生孢子颜色由浅黄变为绿色时, 酶活力下降<sup>[2]</sup>。现对培养 1.5、2、2.5 及 3 天的麸麴进行了电镜观察与脱氨酶活性测定, 希望能找到米曲霉菌体发育过程与产酶之间的相关性。

**脱氨酶活力测定:** 将麸麴用蒸馏水浸泡, 过滤, 滤液即为酶液。将此酶液在 pH5.5, 30 或 37°C 条件下与 5'-AMP 作用 30 分钟, 加过氯酸停止反应, 在波长 265nm 处测定反应前后光密度变化, 在此条件下光密度改变 0.015 所需酶量为一个酶活力单位<sup>[3]</sup>。

**电镜观察:** 用测酶活的同一样品, 用小刀切下一小块麸麴, 用 2.5% 戊二醛固定 4 小时, 继续用 pH 7.0 磷酸缓冲液洗三次, 再用 1% 钨酸固定 1—2 小时, 再用磷酸缓冲液洗两次。固定后用乙醇 (30%、50%、70%、80%、90% 及无水乙醇) 脱水, 再用环氧丙烷洗两次。脱水后用环氧丙烷和树脂浸透 (2:1、1:1、0:1), 放于

包埋剂中保温 (35、45 及 60°C) 聚合。包埋聚合后修切长 0.5mm 的小锥形块, 用 LKB 超薄切片机切成厚约 300—600 Å 的切片, 用醋酸铀酰染色 30—40 分, 再用柠檬酸铅染 15 分钟, 染色后放于 Hitachi H-500 电镜下观察拍照。

**结果:** 米曲霉培养一天就能产生脱氨酶, 随着培养时间的延长, 酶活也逐渐增加, 培养 2

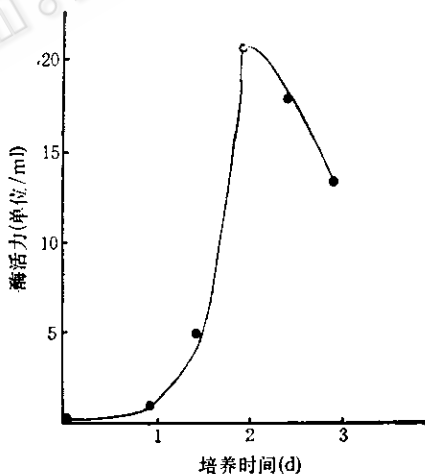


图 1 米曲霉产脱氨酶过程

(下转第 196 页)

本所技术室谢家仪同志大力协助, 特此致谢。

\* 中国科技大学生物系细胞专业 1985 年毕业生。

(上接第 227 页)

天酶活达最高,以后酶活逐渐减少,见图 1。

菌体发育情况:由电镜照片中看到,生长两天菌体发育成熟,可见到分生孢子结构,在顶囊上有瓶梗,瓶梗顶端形成分生孢子,分生孢子壁粗糙(图版 I-2)。生长 2.5 天,分生孢子脱落呈现菌体衰老(图版 I-3)。从超微结构来看,生长 1.5 天,菌体细胞内线粒体较多,并且线粒体中嵴清晰可辨(图版 I-1),说明菌体正在迅速

生长,生长 2 天,细胞内仍有较多线粒体,生长 2.5—3.0 天,胞质内线粒体开始空化,膨大,部分线粒体嵴消失,呈现为大小不等的空腔形结构(图版 I-3, 4)。

将菌体发育与产酶联系起来看,菌体生长与产脱氨酶是同步的,在电镜下看到菌体成熟,酶活也最高,随着菌体衰老,酶活逐渐下降,这

(下转第 205 页)