

# SDS - Chitin - PAGE 电泳法 分析大葱叶几丁质酶特性

奚宇, 刘平\*, 王肖, 姜微波\*

(中国农业大学食品科学与营养工程学院, 北京 100083)

**摘要:** 使用 Sodium dodecyl sulfate-几丁质-聚丙烯酰胺凝胶电泳(SDS-Chitin-PAGE)方法分析了大葱叶几丁质酶的特性。在大葱叶组织中共检测到三种几丁质酶同工酶, 分别命名为 CH-A、CH-B、CH-C。分析结果表明, 这三种几丁质酶具有 SDS 抗性,  $\beta$ -巯基乙醇对其活性也无显著影响。在 SDS-Chitin-PAGE 前, 样品缓冲溶液与样品蛋白粗提液孵化处理的最适温度为 24℃、时间为 10~20min。凝胶电泳酶活分析表明, 大葱叶中 CH-A、CH-B 的耐热温度可达 60℃, CH-C 的耐热温度达到 70℃。葱叶中 CH-A 的最适 pH 为 5.2~5.6, CH-B 的最适 pH 为 4.0~4.4, CH-C 的最适 pH 为 6.6~8.0。

**关键词:** 几丁质酶大葱, 酶学特性, 聚丙烯酰胺凝胶原位显示电泳

## Characterization of chitinase isoenzymes in *Allium Fistulosum* L leaves by Sodium dodecyl sulfate-Chitin-Polyacrylamide gel electrophoresis

XI Yu, LIU Ping\*, WANG Xiao, JIANG Wei-bo\*

(College of Food Science of Nutritional Engineering, China Agricultural University, Beijing 100083, China)

**Abstract:** *Allium Fistulosum* L leaves was representatively selected to test their chitinase characteristics by the optimized SDS-Chitin-PAGE. The results showed that three chitinase isozymes, CH-A, CH-B and CH-C, were detected in *Allium Fistulosum* L leaves. *Allium Fistulosum* L had the very special characteristic of SDS resistance.  $\beta$ -mercaptoethanol had no significant effect on the chitinase activity. The optimal incubating temperature and time of the crude enzymes with the sample buffer were 24℃, 10~20min before the electrophoresis. The activity of CH-A and CH-B could be observed up to 60℃, the activity of CH-C could be observed up to 70℃. The optimal pH ranges for CH-A, CH-B and CH-C were pH 5.2~5.6, pH 4.0~4.4, and pH 6.6~8.0, respectively.

**Key words:** chitinase; *Allium Fistulosum* L; enzymatic characteristics; SDS-Chitin-PAGE

中图分类号: TS201.2

文献标识码: A

文章编号: 1002-0306(2013)07-0153-05

大葱 (*Allium Fistulosum* L) 属百合科葱属, 是以叶鞘组成的肥大假茎和嫩叶为产品的 2~3 年生草本植物<sup>[1]</sup>。研究发现葱组织中存在较高的几丁质酶活性<sup>[2]</sup>。目前关于几丁质酶酶学特性的研究多局限于分光光度法测定样品总体的活性变化, 得到的实验结果是多种几丁质酶同工酶的综合反应。通过预先将胶体几丁质直接包埋在 PAGE 分离胶中, 样品经电泳分离后置于适宜的条件下, 胶中的几丁质会被几丁质酶降解。再通过适当的染色方法即可观测到几丁质酶活性<sup>[3]</sup>。另外, 采用凝胶电泳技术可以避免纯化几丁质酶时的复杂繁琐的过程, 无需纯化就可同一胶片上对不同几丁质酶活进行特性分析。对玉米种子的研究表明几丁质酶同工酶具有组织特异性<sup>[4-5]</sup>。本研究采用优化的 SDS-几丁质-聚丙烯酰胺

凝胶电泳方法分析了大葱叶中几丁质酶同工酶的酶学性质, 包括变性剂 SDS 及  $\beta$ -巯基乙醇等对几丁质酶性质的影响、几丁质酶耐热温度和最适 pH 等。

### 1 材料与方法

#### 1.1 材料与仪器

大葱 (*Allium Fistulosum* L) 购于农贸市场, 将大葱洗净晾干后, 将葱叶切分出来; 丙稀酰胺 (Acrylamide, Acyl)、N, N'-甲叉丙烯酰胺 (N, N'-methylene-bis-acrylamide, Bis)、甘氨酸 (Glycine)、四甲基乙二胺 (Tetramethylethylenediamine, TEMED)、荧光增白剂 (Fluorescent brightener 28)、曲拉通 (Triton X) Sigma 公司, 分析纯; 三羟基氨基甲烷 (Tris) Amresco 公司, 分析纯; 乙二醇几丁质 (Ethylene Glycol Chitin) Wako 公司。

DYY-7C 型电泳仪、DYDCZ-24D 型电泳槽 北京六一仪器厂。

#### 1.2 样品酶液提取

将 3.0g 样品组织与 3.0mL 0.5mol/L Tris-HCl

收稿日期: 2012-09-06 \* 通讯联系人

作者简介: 奚宇 (1989-), 女, 硕士, 研究方向: 食品科学。

基金项目: 国家 863 项目资助 (2008AA100803); 国家级大学生创新训练项目资助 (2011-2012causp13)。

表1 样品缓冲溶液的配制

Table 1 Sample buffer solutions by the different treatment

贮备液	不同样品缓冲溶液(SB)的配比(mL)			
	50mmol/L Tris-HCl	100mmol/L Tris-HCl	250mmol/L Tris-HCl	含 $\beta$ -巯基乙醇 SB
0.5mol/L pH6.8 Tris-HCl	1.0	2.0	5.0	5.0
10% SDS	2.0	2.0	2.0	1.5
75% 甘油	2.0	2.0	2.0	2.0
1% 溴酚蓝	1.0	1.0	1.0	0.5
水	4.0	3.0		
$\beta$ -巯基乙醇				1.0

表2 不同 pH 缓冲溶液体系<sup>[7]</sup>Table 2 Sample buffer solutions in different pH<sup>[7]</sup>

pH	4.0	4.4	5.2	5.6	6.0	6.6	7.0	8.0
缓冲体系	乙酸-乙酸钠缓冲溶液			磷酸缓冲溶液			Tris-HCl 缓冲溶液	

pH7.0 提取缓冲溶液在预冷处理过的研钵中研磨,匀浆全部转移到离心管中,在 10000 × g 下 4℃ 离心 30min,收集上清液备用,即为所需蛋白粗提液<sup>[6]</sup>。

### 1.3 凝胶制备与电泳

配制聚丙烯酰胺浓度分别为 8%、10%、12% 的分离胶,聚丙烯酰胺浓度为 5% 的浓缩胶。在分离胶中加入 100mg/L 乙二醇几丁质<sup>[6]</sup>,采用恒压电泳;浓缩胶上所加电压为 75V,分离胶上所加电压为 120V,4℃ 下电泳。

复性:电泳结束后,卸下胶板,将凝胶置于复性缓冲液中于摇床上洗 3 次,每次 5min,以洗去胶中的 SDS,然后用重蒸水清洗至清洗液中没有泡沫。

酶反应:复性、水洗后的凝胶在 50mmol/L 乙酸-乙酸钠(pH5.2)反应缓冲溶液中,37℃ 下反应 7h。

染色、脱色:反应结束后,采用荧光染色法将胶片放于荧光增白剂染色液中 5min,然后用蒸馏水清洗 1h,洗去多余的染液,置于紫外分析仪中观察。胶片上的深色条带为酶活反应带,其余部分显示为荧光色<sup>[6]</sup>。

### 1.4 酶粗提液与样品缓冲溶液的孵化温度和时间对葱叶几丁质酶活性的影响

在电泳前将蛋白粗提液与等体积的样品缓冲溶液分别在 24、37、50、60、70℃ 下,分别放置 10、20、30、40min 后再上样进行电泳分析。上样量为每孔 20 $\mu$ L。

### 1.5 不同浓度的 Tris-HCl、 $\beta$ -巯基乙醇预处理样品对葱叶几丁质酶活性的影响

将葱叶蛋白粗提液分别与等体积相应的样品缓冲溶液(见表 1)经离心充分混匀后 24℃ 孵化 20min,然后上样,上样量为每孔 20 $\mu$ L。

### 1.6 葱叶几丁质酶热敏性质的分析

样品分别在 30、40、50、60、70、80、90、100℃ 下加热 10min,然后将样品在冰上冷却,再经 4℃、10000 × g 离心 10min,取上清与样品缓冲溶液混合,24℃ 放置 10min 后上样。

### 1.7 酶反应体系 pH 对葱叶几丁质酶活性的影响

将葱叶、蛋白粗提液按 SDS-Chitin-PAGE 方法

分离,所得的凝胶沿样品泳带切成小胶条,每个胶条经过复性、水洗后,分别在 50mmol/L 不同 pH 的反应体系(见表 2)中反应,反应温度为 37℃,时间 2h。反应结束后,经荧光增白剂染色、脱色后,放于紫外分析仪中观察。胶条上的深色条带代表几丁质酶活性。

## 2 结果与分析

### 2.1 分离胶浓度对葱叶几丁质酶分离效果的影响

从图 1 可以看出,葱叶有三种几丁质酶的同工酶;分别将其命名为 CH-A、CH-B 和 CH-C。这些同工酶在聚丙烯酰胺浓度 8%~12% 的分离胶中的分离效果十分相似。综合考虑到 8% 的分离胶在卸胶和染色操作中容易破损,12% 的胶需要更长的电泳时间,增加制胶成本,因此本研究的后续实验中均选择 10% 聚丙烯酰胺作为葱叶几丁质酶的电泳分离胶。

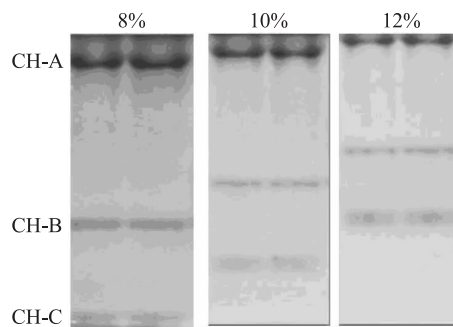


图1 不同浓度分离胶中的葱叶几丁质酶分离效果  
Fig.1 Effect of separating gel on activity of Chitinase from *Allium Fistulosum* L leaf in the gel assay

### 2.2 样品与样品缓冲液电泳前预处理温度和时间对葱叶几丁质酶活性的影响

如图 2 所示,葱叶蛋白粗提液与 SDS 样品缓冲溶液混合后,经 24、37℃ 下放置 20min 再上样进行电泳分离。电泳后均可检测到 CH-A、B、C 等三种几丁质酶活,但 24℃ 处理样品的 CH-A 和 CH-B 活性(泳带 1 和 2)高于 37℃ 处理的 CH-A 和 CH-B 活性(泳带 3 和 4)。处理温度升至 50℃(泳带 5 和 6)和 60℃(泳带 7),CH-A 和 CH-B 失去活性。CH-C 活性随预处理温度上升而呈下降趋势,但 60℃ 处理仍能显

示出活性,直至 70℃ 完全失去活性。

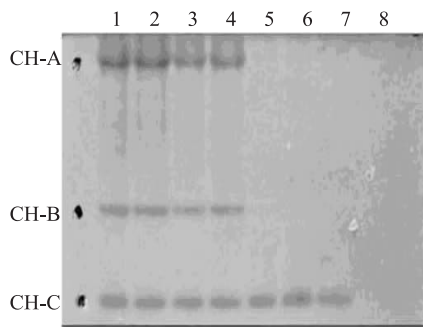


图2 电泳前不同温度预处理对电泳后葱叶几丁质酶活性的影响

Fig.2 Effect of sample-treating temperature

on activity of Chitinase from *Allium Fistulosum* L leaf

注:泳带 1,2:24℃ 处理 20min;泳带 3,4:37℃ 处理 20min;泳带 5,6:50℃ 处理 20min;泳带 7:60℃ 处理 20min;泳带 8:70℃ 处理 20min。

图3 显示了不同的预处理时间和温度对电泳后葱叶几丁质酶活性变化的影响。24℃ 和 37℃ 分别处理 10、20、30、40min 时,对 CH-A/B/C 活性无明显影响。50℃ 和 60℃ 预处理 10、20、30、40min 对样品中 CH-C 活性无明显影响。

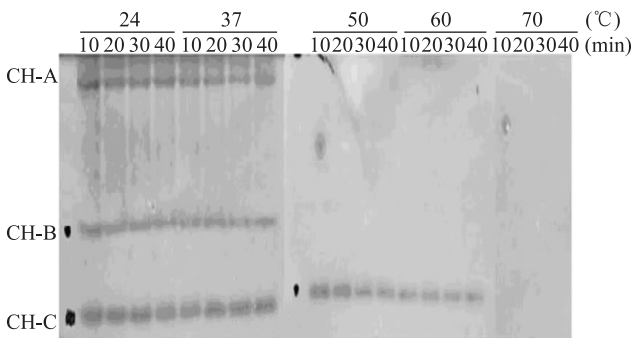


图3 电泳前不同时间及温度预处理对电泳后葱叶几丁质酶活性的影响

Fig.3 Effect of sample-treating temperature and

time on activity of Chitinase from *Allium Fistulosum* L leaf

综上所述,大葱叶几丁质酶与 SDS 样品缓冲溶液混合在 24℃ 下处理 10min 就能使几丁质酶的同工酶在电泳中有很好的分离效果,而无需提高预处理温度或是延长处理时间。

### 2.3 样品缓冲液 Tris-HCl 浓度、β-巯基乙醇对葱叶几丁质酶活性的影响

由图4 可见,随着样品缓冲溶液中 Tris-HCl 浓度的增加,CH-A 和 CH-B 的活性显著增高,而 CH-C 的活性变化不显著。在 Tris-HCl 离子强度均为 250mmol/L 时,还原剂 β-巯基乙醇对几丁质酶活性没有明显抑制作用。

### 2.4 葱叶几丁质酶的热敏性质

由图5 可见,在电泳后凝胶中,葱叶中 CH-C 耐热温度可达 70℃,CH-B 耐热温度也可达到 60℃。葱叶 CH-A 在 70℃ 时酶活远弱于 30~60℃ 时酶活性,但仍有微弱几丁质酶活性。

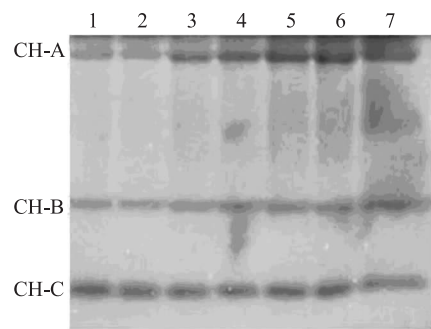


图4 Tris-HCl 浓度和 β-巯基乙醇对葱叶几丁质酶活性影响

Fig.4 Effect of denaturing treatment and concentration of Tris-HCl buffer on detection of chitinase isoenzyme from *Allium Fistulosum* L leaf and stalk

注:样品缓冲溶液分别为 1,2:2% SDS,50mmol/L Tris-HCl; 3,4:2% SDS,100mmol/L Tris-HCl; 5,6:2% SDS,250mmol/L Tris-HCl; 7:10% β-巯基乙醇,2% SDS,250 mmol/L Tris-HCl。

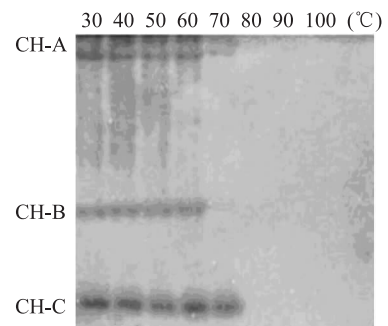


图5 葱叶几丁质酶的热稳定性

Fig.5 Effect of temperature on the stability of chitinase from *Allium Fistulosum* L leaf

### 2.5 pH 对葱叶几丁质酶活性的影响

如图6 所示,在酶反应体系 pH4.0~8.0 范围内,均能检测到葱叶几丁质酶活性。CH-A 最适 pH 在 5.2~5.6 范围内,CH-B 最适 pH 为 4.0~4.4,CH-C 最适 pH 为 6.6~8.0。

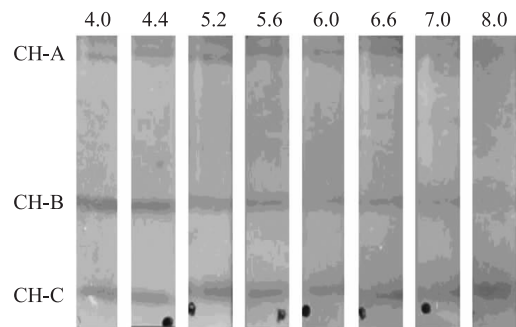


图6 pH 对葱叶几丁质酶活性的影响

Fig.6 Effect of pH on the detection of chitinase isoenzyme from *Allium Fistulosum* L leaf

## 3 讨论

SDS-Chitin-PAGE 可以在胶中原位显示几丁质酶同工酶活性,但这种电泳方法属于非完全变性电泳。与 SDS-PAGE 变性电泳的区别是,在电泳前不

对样品进行 100℃ 煮沸处理。但为提高几丁质酶的分离效果,在电泳前往往需将样品与样品缓冲溶液混合后加热处理,使蛋白分子发生一定程度的解聚<sup>[8]</sup>。一般而言,在一定范围内,加热时间越长,温度越高,蛋白分子解聚越充分,电泳时蛋白的分离效果越好;但是加热温度过高或时间过长会导致蛋白酶发生不可逆变性而彻底丧失酶活性。

Tris-HCl 浓度对蛋白的提取和电泳的分辨率有很大影响。提高缓冲溶液中的离子强度即增加溶液中的阳离子和阴离子浓度。阳离子和阴离子具有影响蛋白质结构稳定性的非特异性静电作用,这种电荷的静电中和屏蔽了蛋白质静电排斥作用,稳定了蛋白质的结构<sup>[9]</sup>。但蛋白质又是一种胶体分子,离子强度过大,会破坏蛋白质分子表面的水化层,使蛋白质发生沉降,从而影响提取效率。而离子强度过高也会影响电泳的分辨率。

在 SDS-Chitin-PAGE 电泳中,样品缓冲溶液和凝胶中均含有 SDS。加入 SDS 的目的,一是 SDS-蛋白胶束具有均一性且带有较多的负电荷,故在凝胶中有较高的迁移速度;二是 SDS 处理后的多肽去折叠,呈伸展状态,分离过程可以在排阻性凝胶中完成,可限制扩散,由此可得到高分辨率的窄带<sup>[10]</sup>。

Chao-Lin<sup>[11]</sup> 等人从舒伯特气单胞菌中提取出两种 SDS-抗性几丁质酶,5% SDS 使这两个酶活性仅降低到 65% 和 75%,而  $\beta$ -巯基乙醇处理后仍能保持 100% 活性,且复性处理与否对两种几丁质酶活没有影响。烟曲霉 YJ-407 中也分离纯化出具有 SDS 抗性的几丁质酶<sup>[12]</sup>。沙雷氏菌和色素细菌中提纯的几丁质酶也具有抵抗  $\beta$ -巯基乙醇性质<sup>[13-15]</sup>。

研究表明石榴汁几丁质酶可耐受温度达 65℃<sup>[16]</sup>,水稻几丁质酶可耐受温度达 60℃<sup>[17]</sup>,加拿大蔓越橘豆类几丁质酶可耐受温度达 58℃<sup>[18]</sup>,而菠萝几丁质酶可耐受 85℃ 的高温<sup>[19]</sup>。

## 4 结论

本实验中样品与样品缓冲溶液设置了 24~70℃ 五个温度下分别处理 10~40min。实验结果显示葱叶的蛋白粗提液与样品缓冲溶液在 24℃ 下处理 10min 即可达到理想的蛋白解聚分离效果。

实验在经验基础上,设定了 Tris-HCl 离子强度 50、100、250mmol/L 三个梯度,尽管提取出蛋白含量差异不大,但荧光染色后显示的几丁质酶活呈明显增大趋势。

本实验的结果也显示葱叶几丁质酶具有较好的抵抗 SDS 和  $\beta$ -巯基乙醇的性质。

单纯对葱叶几丁质酶粗提液 60℃ 加热处理 10min,电泳后 CH-A 和 CH-B 均能保持较强活性;70℃ 处理 10min 的样品中基本检测不到 CH-A、CH-B 和 CH-C 的活性。这说明大葱几丁质酶具有较好的热稳定性。大葱叶三种几丁质酶适合的 pH 范围不同,但都在 4.0~6.0 之间,这与油菜几丁质酶相似。

本研究结果为进一步深入研究葱的几丁质酶特性和开发利用提供了参考依据。

## 参考文献

- [1] 马钊,李景明,李丽梅,等.洋葱多糖提取工艺的研究[J].食品工业科技,2005,26(5):98-99.
- [2] 陈崇顺,徐凤彩,李明启.21 科 41 种(变种)植物叶片几丁质酶系的研究[J].植物资源与环境,1993,2(4):28-33.
- [3] Trudel J, Asselin A. Detection of chitinase activity after polyacrylamide gel electrophoresis[J]. Anal Biochem, 1989, 178: 362-366.
- [4] Bravo JM, Campo S, Murillo I, et al. Fungus and wound-induced accumulation of mRNA containing a class II chitinase of the pathogenesis-related protein 4 (PR-4) family of maize[J]. Plant Mol. Biol, 2003, 52: 745-759.
- [5] Cordero MJ, Ravento's D, Segundo BS. Differential expression and induction of chitinases and beta-1,3-glucanases in response to fungal infection during germination of maize seeds[J]. Mol Plant-Microbe Interact, 1994, 7: 23-31.
- [6] 费凡,闫巧娟,江正强,等.膜荚黄芪种子中 2 种几丁质酶的分离合纯化及活性测定[J].西北植物学报,2009,29(12): 2521-2526.
- [7] 曹建康,姜微波,赵玉梅.果蔬采后生理生化实验指导[M].北京:中国轻工业出版社,2007.
- [8] Andres M, Gisbert E, Diaz M, et al. Ontogenetic changes in digestive enzymatic capacities of the spider crab, *Majabrachydactyla* (Decapoda: Majidae) [J]. Journal of Experimental Marine Biology and Ecology, 2010, 389: 75-84.
- [9] Goto Y, Calciano LJ, Fink AL. Acid induced folding of proteins [J]. Proceeding of National Academy of Sciences, 1990, 87(2): 573-577.
- [10] 孙静.番茄果实衰老相关蛋白酶的特性分析及鉴定[D].北京:中国农业大学,2009.
- [11] Liu CL, Shen CR, Hsu FF, et al. Isolation and Identification of two novel SDS-resistant secreted chitinases from *aeromonas schubertii* [J]. Biotechnol Prog, 2009, 25(1): 124-131.
- [12] Xia G, Jin C, Zhou J, et al. A novel chitinase having a unique mode of action from *Aspergillus fumigatus* YJ-407 [J]. Eur J Biochem, 2001, 268: 4079-4085.
- [13] Brurberg MB, Nes IF, Eijsink VG. Comparative studies of chitinases A and B from *Serratia marcescens* [J]. Microbiology, 1996, 142(7): 1581-1589.
- [14] Lonhienne T, Mavromatis K, Vorgias CE, et al. Cloning, sequences, and characterization of two chitinase genes from the Antarctic *Arthrobacter* sp. strain TAD20: isolation and partial characterization of the enzymes [J]. J Bacteriol, 2001, 183: 1773-1779.
- [15] Park SK, Kim CW, Kim H, et al. Cloning and high-level production of a chitinase from *Chromobacterium* sp. and the role of conserved or nonconserved residues on its catalytic activity [J]. Appl Microbiol Biotechnol, 2007, 74: 791-804.
- [16] Kopparapu NK, Liu ZQ, Yan QJ, et al. A novel thermostable chitinase (PJC) from pomegranate (*Punica granatum*) juice [J]. Food Chemistry, 2011, 127: 1569-1575.
- [17] 阎瑞香,吴仲,侯建华.重组水稻几丁质酶的发酶生产、

# 甲基营养芽孢杆菌 SK21.002 产果聚糖蔗糖酶的发酵条件优化

李润静, 张涛, 江波\*, 沐万孟, 缪铭

(江南大学食品科学与技术国家重点实验室, 江苏无锡 214122)

**摘要:**通过研究甲基营养芽孢杆菌 SK21.002 产果聚糖蔗糖酶的发酵条件,通过单因素实验和正交实验确定其最适产酶的发酵培养基为:蔗糖 80g/L,酵母提取物 10g/L,胰蛋白胨 10g/L,  $K_2HPO_4$  8g/L,  $MgSO_4$  1g/L, NaCl 2g/L;最适产酶的发酵条件为:初始 pH6.5,发酵温度 30℃,装液量 30%,接种量 2%,发酵周期 21h。在以上条件下发酵培养,果聚糖蔗糖酶活力可达到 9.76U/mL,是优化前的 3.75 倍。

**关键词:**甲基营养芽孢杆菌 SK21.002,果聚糖蔗糖酶,发酵条件,优化

## Optimization of culture conditions for levansucrases by *Bacillus methylotrophicus* SK 21.002

LI Run-jing, ZHANG Tao, JIANG Bo\*, MU Wan-meng, MIAO Ming

(State Key Laboratory of Food Science and Technology, Jiangnan University, Wuxi 214122, China)

**Abstract:** The culture medium and culture conditions of *Bacillus methylotrophicus* SK 21.002 producing levansucrases were investigated. By single-factor experiment and orthogonal test, the optimal culture medium was determined as follows: sucrose 80g/L, yeast extract 10g/L, tryptone 10g/L,  $K_2HPO_4$  8g/L,  $MgSO_4$  1g/L, NaCl 2g/L, while the optimal culture conditions were initial pH6.5, fermentation temperature 30℃, medium volume 30%, inoculation ratio 2%, fermentation time 21h. Under these conditions, the yield of levansucrases reached 9.76U/mL, which was 3.75 times higher than it before optimization.

**Key words:** *Bacillus methylotrophicus* SK 21.002; levansucrases; fermentation condition; optimization

中图分类号: TS201.3

文献标识码: A

文章编号: 1002-0306(2013)07-0157-05

果聚糖(Levan)是一种以蔗糖为底物由果聚糖蔗糖酶(levansucrases, EC2.4.1.10)催化转移果糖残基到蔗糖的碳链上,促进碳链延伸,形成的 $\beta$ -2,6-果聚糖(图1)<sup>[1]</sup>。果聚糖结构上的特异性决定了它的性能不同于大多数天然聚合的多糖。果聚糖具有促进双歧杆菌增殖,改善肠道微环境;降低胆固醇和脂肪的吸收;调节血糖水平,降低糖尿病引起的氧化应激反应等生理功能。此外,果聚糖还具有保湿作用,可以应用于化妆品中。果聚糖蔗糖酶是糖基转移酶家族中的一员,它除了具有转糖基活性,还有水解活性,可以将蔗糖水解为葡萄糖和果糖。目前已经发现的可以产果聚糖蔗糖酶的微生物主要为细

菌,如枯草芽孢杆菌(*Bacillus subtilis*)<sup>[2]</sup>、淀粉液化芽孢杆菌(*Bacillus amyloliquefaciens*)<sup>[3]</sup>、多黏芽孢杆菌(*Bacillus polymyxa*)<sup>[4]</sup>、运动发酵单胞菌(*Zymomonas mobilis*)<sup>[5-6]</sup>、金山乳杆菌(*Lactobacillus sanfranciscensis*)<sup>[7-8]</sup>、肠膜明串珠菌(*Leuconostoc mesenteroides*)<sup>[9]</sup>、丁香假单胞杆菌(*Pseudomonas syringae*)<sup>[10]</sup>、地衣芽孢杆菌(*Bacillus licheniformis*)<sup>[11]</sup>等。但它们产果聚糖的能力差别很大,产量大约在1~40g/L之间,其中大部分产量偏低。目前研究主要集中在微生物发酵产果聚糖上,而对发酵产果聚糖蔗糖酶的研究较少,然而用生物发酵法直接生产果聚糖会使果聚糖的后期纯化分离难度加大<sup>[12]</sup>。本研究主要针对本实验室筛选到的一株高产果聚糖蔗糖酶的新菌株进行发酵产酶条件优化,为进一步研究利用果聚糖蔗糖酶生产果聚糖奠定基础,这样通过果聚糖蔗糖酶与蔗糖直接反应,会简化后期果聚糖

收稿日期:2012-10-08 \*通讯联系人

作者简介:李润静(1986-),女,硕士,研究方向:功能性多糖的生物合成。

基金项目:教育部基础研究项目(2060204)。

纯化及酶学性质[J].农业生物技术学报,2008,16(1):148-153.

[18] Wang SY, Hong BS, Fu H, et al. Isolation of a thermostable legume chitinase and study on the antifungal activity[J]. Appl

Microbiol Biotechnol, 2009, 85:313-321.

[19] Onaga S, Chinen K, Ito S, et al. Highly thermostable chitinase from pineapple: Cloning, expression, and enzymatic properties [J]. Process Biochemistry, 2011, 46:695-700.