



微生物学报

ACTA MICROBIOLOGICA SINICA



期刊介绍

投稿须知

编委会

学科先贤

下载专区

常见问题

广告服务

友情链接

重组毕赤酵母表达棘孢木霉几丁质酶Tachi1的酶学性质研究及表达条件优化

Characterization and production optimization of a chitinase (Tachi1) from *Trichoderma asperellum* in recombinant *Pichia Pastoris* expression system

投稿时间: 2011-10-31 最后修改时间: 2011-12-20

中文关键词: [关键词: 毕赤酵母, 棘孢木霉, 几丁质酶, 酶学性质, 条件优化](#)

英文关键词: [Keywords: Pichia pastoris Trichoderma asperellum chitinase enzymatic properties production conditions](#)

基金项目: 山东省自然科学基金(ZR2010CM040); 青岛农业大学高层次人才启动基金(631108)

作者	单位	E-mail
汤伟	青岛农业大学生命科学院, 农业应用微生物实验室, 青岛266109	E-mail:xianli0517@yahoo.com.cn
李雅华	青岛农业大学生命科学院, 农业应用微生物实验室, 青岛266109	
刘露	青岛农业大学生命科学院, 农业应用微生物实验室, 青岛266109	
张军霞	青岛农业大学生命科学院, 农业应用微生物实验室, 青岛266109	
咸洪泉	青岛农业大学生命科学院, 农业应用微生物实验室, 青岛266109	

摘要点击次数: 64

全文下载次数: 34

中文摘要:

摘要: 【目的】对转棘孢木霉几丁质酶基因tachi1 的毕赤酵母工程菌GS-tachi1-K 进行诱导表达, 研究重组几丁质酶Tachi1 的酶学性质, 优化表达条件。【方法】对GS-tachi1-K 进行甲醇诱导培养, 纯化目的蛋白Tachi1进行几丁质酶酶学性质的研究;通过单因素和正交试验对S-tachi1-K 菌株产几丁质酶Tachi1 表达条件进行优化。【结果】GS-tachi1-K表达的几丁质酶Tachi1表观分子量约为44 kDa, 酶反应最适的温度和pH分别为50℃和5.5, 具有较宽的温度、pH 适用范围;50℃以下保持较高的酶活力, 在碱性条件下稳定性较差;受Ag⁺、Hg²⁺、Cu²⁺、Fe²⁺和高浓度的SDS及β-巯基乙醇强烈抑制。该菌株的最佳表达条件为:pH 为6.5, 甲醇诱导浓度为0.5%, 起始细胞浓度为OD600=2, 甲醇诱导时间为180 h;几丁质酶Tachi1活力可达17.93U/mL, 蛋白表达量为6.19g/L。【结论】成功实现了棘孢木霉新几丁质酶基因tachi1的毕赤酵母高效分泌表达, 工程菌GS-tachi1-K具有高表达量和表达产物酶活性高两个特点, 明确了几丁质酶Tachi1 的酶学性质和最佳诱导表达条件, 为该几丁质酶及其基因的深入研究和开发利用奠定了基础。

英文摘要:

Abstract: [Objective] We characterized a chitinase (Tachi1) from *Trichoderma asperellum* and optimized its production conditions, by methanol induction of the recombinant strain *Pichia pastoris* GS-tachi1-K transformed with the gene tachi1 (GenBank accession: GU457411). [Methods] We purified Tachi1 from the fermentation broth to analyze enzymatic properties after it was secreted by GS-tachi1-K. The production conditions of GS-tachi1-K were optimized by single-factor experiment and orthogonal experiment. [Results] The molecular weight of Tachi1 was about 44 kDa. Tachi1 had a broad range of temperature and pH adaption with the optimal reaction temperature at 50°C and pH 5.5. It was stable at the temperature below 50°C, yet less stable under alkaline conditions. Its activity was significantly reduced by 0.05 mol/L of Ag⁺, Hg²⁺, Cu²⁺, Fe²⁺, 1% of Sodium dodecyl sulfate (SDS) and 10 mmol/L of β-mercaptoethanol. The optimum conditions obtained were: initial cell density with an OD600 equal to 2, 0.5% of methanol, pH 6.5, induction time 180 h. Under the optimized condition, the activity of Tachi1 reached 17.93 U/mL and the expression of tachi1 was 6.19g/L. [Conclusion] The recombinant strain GS-tachi1-K showed high expression of tachi1 and the protein secreted by GS-tachi1-K had high chitinase activity. It will provide theoretical basis for further research and application in this chitinase.

汤伟, 李雅华, 刘露, 张军霞, 咸洪泉. 重组毕赤酵母表达棘孢木霉几丁质酶Tachi1的酶学性质研究及表达条件优化. 微生物学报, 2012, 52(3):345-352

[查看全文](#) [查看/发表评论](#) [下载PDF阅读器](#)

地址：北京朝阳区北辰西路1号院3号中科院微生物所内 邮编：100101
收信(款)人：《微生物学报》编辑部
电话：010-64807516 传真：010-64807327 电子信箱：actamicro@im.ac.cn

本刊全文数据库版权所有，未经许可，转载、链接及印刷或制作光盘均属违法，本刊将保留追究法律责任的权利