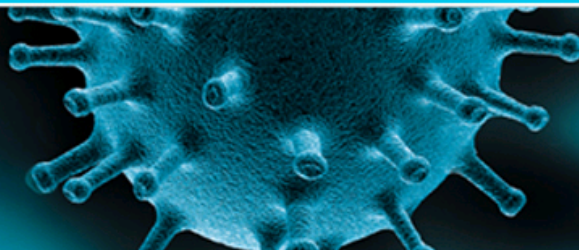




生物工程学报

CHINESE JOURNAL OF BIOTECHNOLOGY



Home 本刊首页 关于本刊 编委会 投稿指南 下载专区 期刊订阅 广告合作 常见问题 英文版

α -环糊精糖基转移酶活性区域突变提高选择形成 γ -环糊精能力

Increasing of product specificity of γ -cyclodextrin by mutating the active domain of α -cyclodextrin glucanotransferase from *Paenibacillus macerans* sp. 602-1

投稿时间: 2013-04-21

中文关键词: [\$\alpha\$ -环糊精糖基转移酶](#), [\$\alpha\$ -CD](#), [\$\beta\$ -CD](#), [\$\gamma\$ -CD](#),[突变](#),[产物选择性](#)

英文关键词: [\$\alpha\$ -cyclodextrin glucanotransferase](#) [\$\alpha\$ -CD](#) [\$\beta\$ -CD](#) [\$\gamma\$ -CD](#) [mutation](#) [product specificity](#)

基金项目:国家自然科学基金 (No. 31171643) 资助。

作者

单位

[谢婷](#) [中国科学院上海生命科学研究院植物生理生态研究所 合成生物学重点实验室, 上海 200032](#)

[岳洋](#) [中国科学院微生物研究所 工业酶国家工程实验室, 北京 100101; 北京航空航天大学生物与医学工程学院, 北京 100191](#)

[宋炳红](#) [中国科学院微生物研究所 工业酶国家工程实验室, 北京 100101](#)

[钞亚鹏](#) [中国科学院微生物研究所 工业酶国家工程实验室, 北京 100101](#)

[钱世钧](#) [中国科学院微生物研究所 工业酶国家工程实验室, 北京 100101](#)

摘要点击次数: 266

全文下载次数: 321

中文摘要:

探讨 α -环糊精糖基转移酶 (CGT酶) 活性区域-3亚位点 (47位赖氨酸残基), -7亚位点 (146~152位氨基酸残基) 以及环化中心位点 (195位酪氨酸残基) 对其催化底物形成 γ -环糊精 (CD) 能力的影响。将 α -CGT酶相应位点分别进行如下突变: K47T, Y195I, 以及146~152位氨基酸残基替换为异亮氨酸 (命名为 $\Delta 6$), 并在大肠杆菌BL21中实现异源活性表达。以可溶性淀粉作为底物进行转化, 利用HPLC分析各种突变酶的催化产物中3种环糊精产量和比例。结果表明, 和野生酶相比, 所有突变酶的淀粉水解活性和环糊精总生成量都有不同程度的下降。在产物的组成方面, 突变酶Y195I的催化产物中, α -CD的含量由68%降为30%, β -CD由22.2%提高为33.3%; 而 γ -CD由8.9%提高为36.7%, 含量提高了4倍, 取代 α -CD成为产物中的主要成分; γ -CD的实际产量为1.1 g/L, 是野生酶 (0.4 g/L) 的3倍。突变酶K47T和 $\Delta 6$ 的转化产物中 α -CD比例有不同程度下降, 但仍然是产物中的主要组分, β -和 γ -CD的比例都有所增加。由此可见, 活性区域中195位氨基酸对于 α -CGT酶的活力和催化选择性具有重要的影响, Y195I突变体酶最有利于选择性形成 γ -CD。纯化后突变酶Y195I的酶学性质试验表明, 其最适反应温度和野生酶相同, 但最适反应pH有所提高, 且比野生酶具有更好的pH稳定性。因此, 突变酶Y195I具有生产制备 γ -CD的潜力。

英文摘要:

We studied the mutation effect of subsites -3(Lys47), -7(146-152), and cyclization center (Tyr195) in active domain on product specificity of α -cyclodextrin glucanotransferase (α -CGTase) from *Paenibacillus macerans* sp. 602-1. The Lys47 was replaced by Thr47 and Tyr195 by Ile195, and the amino acids from 146 to 152 were replaced by Ile (named as $\Delta 6$). All these mutant α -CGTases were actively expressed in *E. coli* BL21. Compared with the wild-type α -CGTase, the starch-degrading activities of all the mutant enzymes were declined. For mutant Y195I, the percentage of α -CD was decreased from 68% to 30%, and β -CD was raised from 22.2% to 33.3%. Interestingly, γ -CD was increased from 8.9% to 36.7% and became the main product, while the actual yield was increased from 0.4 g/L to 1.1 g/L. Mutant K47T and $\Delta 6$ still produced α -CD as main product though the percentage of β - and γ -CD increased. Purified Y195I CGTase showed similar optimum temperature with the wild-type α -CGTase, but its optimum pH shifted from 5.0 to 6.0 with better pH stability. In summary, mutant Y195I CGTase has the potential to produce γ -CD as the main product.

谢婷,岳洋,宋炳红,钞亚鹏,钱世钧. α -环糊精糖基转移酶活性区域突变提高选择形成 γ -环糊精能力[J].生物工程学报,2013,29(9):1234~1244

[查看全文](#) [查看/发表评论](#) [下载PDF阅读器](#)