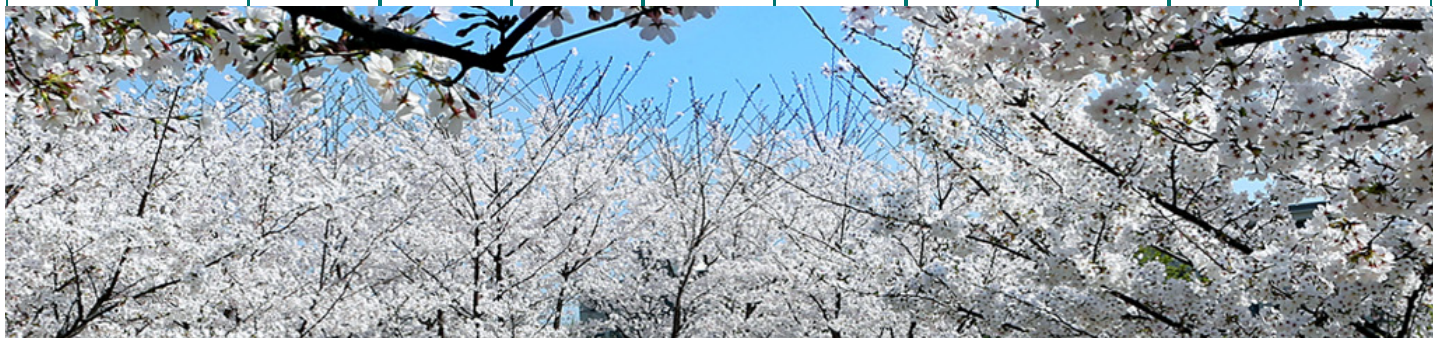




|    |       |      |      |      |      |      |      |      |      |      |
|----|-------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|
| 首页 | 实验室概况 | 研究方向 | 承担项目 | 科研成果 | 人才培养 | 学术交流 | 开放基金 | 规章制度 | 测试平台 | 下载中心 |
|----|-------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|



## 人才培养

## 优秀学位论文

当前位置: 首页 &gt; 人才培养 &gt; 优秀学位论文 &gt; 2013年

毕业生

2015年

2014年

2013年

2012年

2011年

2010年

优秀学位论文

博士研究生：李颜颜（2013年江苏省优秀博士论文）

在读研究生

导 师：王小元 教授

专 业：发酵工程、基因工程

论 文 题 目：弗朗西斯菌类脂A的结构多样性

类脂A，俗称内毒素，是革兰氏阴性细菌细胞外膜外层的重要组成成分，在维持细胞外膜完整性、渗透性以及免疫系统识别等方面起着重要作用。当细菌侵入宿主后，其表层类脂A可以被宿主免疫细胞表面的TLR4识别，引发胞内一系列信号传导，最终合成IL-8和TNF- $\alpha$ 等细胞因子。TLR4对类脂A的识别能力主要取决于类脂A的结构，因此细菌的感染及致病能力与其类脂A的精细结构密切相关。弗朗西斯菌（*Francisella tularensis*）为细胞内寄生的革兰氏阴性细菌，一旦侵入宿主，可以引发重度肺部感染性人畜共患病土拉热，所以被恐怖分子用作生物武器。研究表明，弗朗西斯菌的类脂A结构不能被宿主免疫系统的TLR4识别，与弗朗西斯菌的致病毒力密切相关。

本论文鉴定了弗朗西斯菌中存在的两个脂肪酸酰基转移酶基因-lpxD1和lpxD2，通过质谱分析、基因高效表达、蛋白纯化和酶学性质分析、基因敲除突变株构建、全基因组芯片的转录组学分析和细菌致病能力研究等手段，深入研究了弗朗西斯菌类脂A结构多样性及其温度调控策略。主要研究内容如下：(1) 通过高分辨率质谱分析弗朗西斯菌类脂A分子的结构多样性，发现其结构变化受温度调控。(2) 鉴定了弗朗西斯菌类脂A合成途径中的关键基因lpxD1和lpxD2，发现了二者的转录水平受温度调控。(3) 通过纯化LpxD1和LpxD2并对其进行酶学性质分析，发现二者的催化功能受温度调控。(4) 通过构建弗朗西斯菌 $\Delta$ lpxD1和 $\Delta$ lpxD2突变株并分析其类脂A结构，发现两种突变株合成的类脂A分子结构不再受温度调控。(5) 通过研究 $\Delta$ lpxD1和 $\Delta$ lpxD2突变株对细胞膜通透性及细菌致病能力的影响，发现 $\Delta$ lpxD1 突变株不仅丧失致病能力，并且对小鼠有免疫保护作用。

综上所述，本论文研究发现了与弗朗西斯菌类脂A结构合成相关的两个关键基因-lpxD1和lpxD2。这两个基因的转录受温度调控，这两个基因编码的酶的活性也受温度调控。这两个层次上的温度调控导致弗朗西斯菌类脂A的分子结构随生长温度不同而发生链长的变化，导致细胞膜的通透性改变，增强了弗朗西斯菌在不同环境温度下的生存能力。本论文研究揭示了温度变化是造成革兰氏阴性细菌类脂A分子结构多样性一个主要原因，研究结果对改善革兰氏阴性工业生产菌的细胞膜通透性和降低其内毒素分子的毒性具有重要的指导作用。

关键词：内毒素，类脂A，LpxD，结构多样性，细胞膜通透性，温度调控，弗朗西斯菌

(2) 硕士研究生：曾祥康（2013年江苏省优秀硕士论文）

导 师：廖祥儒 教授

专 业：酶工程与技术

论 文 题 目：毛栓菌发酵产漆酶及其在合成染料脱色中的应用

纺织和印染工业的染料废水具有色度高、含有毒物质、较难被生物降解等特点。这些废水严重地破坏了水生态系统，对环境安全构成了巨大的威胁。现有的物理化学方法如吸附法、沉降法、化学氧化法和光降解法等具有处理时间长、经济成本高以及处理效率低等特点，而生物酶法（尤其是真菌漆酶）催化染料脱色具有条件温和、可脱色染料类型广泛、脱色效率高、经济性好等优势，酶法染料脱色因而受到越来越多研究者关注。

论文从筛选产漆酶的真菌菌株出发, 研究了一株新型毛栓菌发酵产漆酶的培养条件、漆酶的性质以及漆酶在染料脱色方面的应用, 主要研究结果如下:

(1) 从自然界筛选得到了一株产漆酶的真菌, 经形态学和分子生物学手段鉴定其为毛栓菌 (*Trametes trogii*), 命名为 *Trametes trogii* SYBC-LZ。

(2) 考察了固态发酵、液态静置发酵和液态摇瓶发酵三种培养方式对菌株 *T. trogii* SYBC-LZ 发酵产漆酶的影响, 结果表明固态发酵的培养方式更有利于菌株产漆酶。通过单因素实验确立了固态发酵产漆酶的优化培养基为 2.8 g 木屑, 4.2 g 豆饼粉和 13 mL 营养液, 其中营养液组分为 (g/L): 蔗糖 20、硝酸钾 25、磷酸二氢钾 5、七水合硫酸镁 3、五水合硫酸铜 0.25 和无水氯化钙 0.3。在优化后的培养条件下, 菌株发酵漆酶活力在第 6 d 即可达到 268 U/g 干基, 相比初始培养条件下菌株发酵的漆酶活力 (169 U/g 干基) 提高了 58.6%, 发酵时间较之前 (8 d) 缩短了 2 d。

(3) 经硫酸铵沉淀、离子交换层析和分子筛层析三个步骤, 从 *T. trogii* SYBC-LZ 的发酵粗酶液中分离得到电泳纯的漆酶, 命名为 LAC Z。对 LAC Z 的酶学性质进行了研究, 发现 LAC Z 为典型的蓝色真菌漆酶, 分子量约为 65 KDa, 等电点为 3.2, LAC Z 的 N-末端氨基酸序列表明其为一种新型的毛栓菌漆酶。

(4) 将 *T. trogii* SYBC-LZ 的发酵粗漆酶应用于染料脱色, 发现其对 RBBR、RB 4、AB 129、AR 1 和 RB 5 这五种染料溶液的脱色效果明显, 添加 1U 活力的漆酶粗酶液反应 30 min 后脱色率可分别达到 85.2%、69.6%、45.6%、90.2% 和 65.4%。考察了漆酶粗酶液脱色法、纯化漆酶脱色法和全细胞培养脱色法对染料溶液的脱色, 结果表明在脱色反应的实用性及经济性方面, 漆酶粗酶液脱色法更具优势。此外, 实验中发现在没有添加外源的小分子介体时, 混合染料溶液中的蒽醌类染料能够扮演小分子介体的作用, 协助漆酶催化非底物类型的偶氮染料的脱色, 显著提高偶氮染料的脱色率。

关键词: 漆酶; 固态发酵; 纯化; 染料脱色; 毛栓菌

### (3) 硕士研究生: 张波 (2013年江苏省优秀硕士论文)

导师: 陆健 教授

专业: 生物化学与分子生物学

论文题目: 绍兴黄酒麦曲及其制曲过程的宏蛋白质组学研究

本文借助于宏蛋白质组学原理, 将麦曲浸提液中所有可溶性蛋白定义为“麦曲的宏蛋白质组”。利用双向电泳和串联质谱技术手段对两种不同绍兴黄酒麦曲 (生麦曲和熟麦曲) 的宏蛋白质组进行研究, 并跟踪制曲过程中的蛋白变化; 同时比较不同地域黄酒麦曲的宏蛋白质组差异, 以深入了解麦曲中的蛋白组成及功能情况。主要结果如下:

绍兴黄酒生麦曲的宏蛋白质组中鉴定成功的有 63 种蛋白, 其中 16 种蛋白来源于 14 种微生物, 其余 47 种为原料小麦以及水稻等植物蛋白。根据功能将生麦曲中的蛋白质分为六类: 水解酶、糖代谢酶、氧化还原酶、抗性蛋白、贮藏蛋白以及功能未知的假定蛋白。在制曲过程中六个时期有 12 个蛋白点发生明显变化, 其中 7 个鉴定成功, 包括 5 种微生物来源蛋白和 2 种小麦蛋白。确定  $\alpha$ -淀粉酶、 $\beta$ -淀粉酶、酸性蛋白酶、中性蛋白酶 II、外切  $\beta$ -葡聚糖酶、内切-1,4- $\beta$ -木聚糖酶、阿魏酸酯酶为生麦曲中主要的功能蛋白。

绍兴黄酒熟麦曲的宏蛋白质组中鉴定成功的有 41 种蛋白, 包括水解酶、糖代谢酶、其他胞内反应蛋白以及功能未知的假定蛋白, 全部来源于米曲霉。制曲过程中四个时期有 5 种蛋白发生明显变化。确定  $\alpha$ -淀粉酶、葡萄糖淀粉酶 B、酸性蛋白酶、中性蛋白酶 II, 碱性蛋白酶为熟麦曲中主要的功能蛋白。

对安徽、上海和绍兴不同地域生麦曲的宏蛋白质组进行差异分析, 发现不同地域麦曲中非微生物来源 (主要来源于原料小麦) 的蛋白组成基本相同。微生物来源的蛋白组成存在一定差异, 其中  $\alpha$ -淀粉酶、酸性蛋白酶、阿魏酸酯酶、苹果酸脱氢酶共同存在于不同地域的麦曲中。生麦曲中大部分水解酶类由米曲霉分泌, 表明米曲霉是麦曲中的主要产酶微生物和功能微生物。

关键词: 绍兴黄酒; 麦曲; 制曲过程; 宏蛋白质组学; 不同地域



技术支持: 信息化建设与管理中心  
校内备案号: JW 备 170139

地址: 江苏省无锡市蠡湖大道 1800 号  
邮编: 214122  
联系电话: 0510-85912032  
服务邮箱: klib@jiangnan.edu.cn



微信服务号



微信订阅号



e江南APP