

海藻糖合酶的研究进展

吴秀丽 岳明 丁宏标*

(中国农业科学院饲料研究所 农业部饲料生物技术重点开放实验室 北京 100081)

摘要: 海藻糖是一种天然存在的非还原性二糖, 对生物膜和蛋白质等大分子有独特的保护作用, 在食品、医药、化妆品等多个领域中都有广泛的发展空间。海藻糖合酶(TreS)是一类分子内转糖苷酶, 专一性地以麦芽糖为底物, 一步转化生成海藻糖, 操作工艺简单、底物价格低廉、应用前景良好。本文综述了海藻糖合酶的酶学性质、催化机理、基因工程以及目前存在的主要问题和拟解决方案。

关键词: 海藻糖, 海藻糖合酶, 麦芽糖

Research Progress on Trehalose Synthase

WU Xiu-Li YUE Ming DING Hong-Biao*

(Feed Research Institute, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Beijing 100081, China)

Abstract: Trehalose is a naturally occurring non-reducing disaccharide. This sugar has been known as a protector of biomembrane and macromolecules. And it has been widely used in foods, medicines, cosmetics. Trehalose synthase (TreS) is an intramolecular transglycosylase. It can catalyze the conversion of maltose into trehalose in one step. As the simple protocol and cheap substrate, it is very prospect in the industrial production. Here we have discussed the properties, catalytic mechanism and gene-engineering of TreS, and also proposed some solutions to its present research problems.

Keywords: Trehalose, Trehalose synthase, Maltose

海藻糖(α -D-glucopyranosyl- α -D-glucopyranoside)是自然界中普遍存在的一种非还原性二糖, 它无色无味, 自身性质非常稳定^[1], 能保护生物大分子免受环境压力造成的伤害^[2]。大量研究结果表明, 海藻糖是蛋白质、生物膜、医药制剂、单细胞生物以及动植物组织和器官的优质保护剂^[1,3]。同时海藻糖安全无公害, 它作为一种绿色食品添加剂已陆续通过美国和欧盟的认证。目前, 海藻糖的应用范围日益扩大, 市场需求日益增加, 开发一种简单经济的海藻糖生产工艺是目前亟待解决的问题。海藻糖

的工业生产最初是通过微生物发酵或直接从干酵母中提取, 但生产成本太高, 已逐渐被酶法合成所取代。海藻糖合酶(EC 5.4.99.16, Trehalose synthase, TreS)能以麦芽糖为底物, 一步转化生成海藻糖, 简单经济。本文综述了海藻糖合酶的酶学性质、催化机理和基因工程方面的研究进展, 并针对目前存在的主要问题提出一些解决方案。

1 海藻糖合酶的存在

海藻糖合酶是一类分子内转糖苷酶, 催化麦芽

糖和海藻糖之间糖苷键的转化^[4]。目前已发现的海藻糖合酶几乎全部来自于细菌,如分枝杆菌^[5-7]、棒杆菌^[8,9]、假单胞菌^[10,11]、脂肪杆菌^[4]、丙酸菌^[12]、根瘤菌^[13]、嗜热菌^[14-17]和某些古细菌^[18-20]等。来自于真菌的报道仅有一例^[21],2006年Giannesi等人研究发现一株子囊真菌 *Chaetomium thermophilum* var. *coprophilum* 中的 α -葡萄糖苷酶除具有淀粉和麦芽寡糖的水解活性外,也能将麦芽糖转化成海藻糖,这是来自真菌的第一例报道,开辟了寻找海藻糖合酶基因的新领域。

2 海藻糖合酶的酶学性质(表 1)

常温菌中的海藻糖合酶,最适反应温度一般在 25℃~35℃,最适 pH 值 6.5~8.0 左右,这样的反应条件给工业化生产带来一定的麻烦。而某些嗜热菌中的海藻糖合酶通常具有耐酸、耐高温的特性,有利于降低工业化生产成本。*Propionibacterium freudenreichii*^[12]中的海藻糖合酶最适 pH 5.2,最适温度 45℃; *Thermus aquaticus*^[14]中的海藻糖合酶最适温度 65℃,而 80℃ 条件下保温 60 min 在 5.5~9.5 的 pH 范围内酶活力仍保持稳定; *Picrophilus torridus*^[18] 中的海藻糖合酶最适温度 45℃,最适反应 pH 6.0,在 pH 5.0 和 60℃ 条件下仍能保持很高的酶活力。目前已发现的海藻糖合酶大多易受 1 mmol/L 的 Cu^{2+} 、 Hg^{2+} 、 Ag^{+} 和 SDS 等的抑制作用,而 EDTA 和 1 mmol/L 的 Mg^{2+} 、 Ca^{2+} 、

Ba^{2+} 、 Mn^{2+} 、 Co^{2+} 等金属离子对该酶活性基本无影响。

大多数海藻糖合酶底物专一性很强,也有少数例外。来自于嗜热古细菌 *Picrophilus torridus*^[18]的海藻糖合酶也可以作用于蔗糖,产生葡萄糖、果糖和海藻酮糖等,但酶活力很低。

海藻糖合酶在麦芽糖和海藻糖之间的转糖苷作用是一个可逆的过程,但大部分都倾向于海藻糖的生成反应。在不同来源的海藻糖合酶中, *Pimelobacter* sp. R48 的海藻糖合酶 25℃时麦芽糖转化率可达 76%^[4]; *Picrophilus torridus*的海藻糖合酶 20℃时转化率约为 70%; *Pseudomonas stutzeri* CJ38^[10]的海藻糖合酶 15℃ 时转化率为 75%; *Thermobifida fusca*^[16]的海藻糖合酶 25℃ 时转化率约为 60%; *Propionibacterium freudenreichii*^[12]的海藻糖合酶对海藻糖的 K_m 值是麦芽糖的 10 倍。1996 年, Nishimoto 等人从 *Thermus aquaticus* ATCC 33923 中分离到一种耐热的海藻糖合酶,最适反应温度可达 60℃左右,以 40%的麦芽糖为底物反应 72 h,转化率约为 70%,而当温度降为 40℃ 时,转化率可高达 82%^[14]。海藻糖合酶的转化率一般不受底物浓度影响, Nishimoto 等人研究发现^[4,14],当麦芽糖浓度在 2.5%~40% 区间内变化时,海藻糖生成率没有发生改变。

海藻糖合酶除具有分子内转糖苷作用外,也有微弱的水解活性^[4,14,16,18],在催化麦芽糖和海藻糖之

表 1 经功能验证的海藻糖合酶
Table 1 Identified trehalose synthase

菌种名称 Strain name	最适反应条件 Optimum reaction conditions	底物转化率或 K_m 值 Substrate conversion rate or K_m value	抑制剂 Inhibitors	参考文献 Reference
<i>Pimelobacter</i> sp. R48	20℃, pH 7.5	81.8% (5℃); 80.9% (15℃); 76.7% (25℃)	1 mmol Cu^{2+} , Hg^{2+} , Ni^{2+} , Zn^{2+} ; 10 mmol Tris	[4]
<i>Thermus aquaticus</i>	65℃, pH 6.5	82% (30℃); 80% (40℃)	1 mmol Cu^{2+} , Hg^{2+} , Zn^{2+} , Tris	[14]
<i>Pseudomonas stutzeri</i> CJ38	35℃, pH 8.5~9.0	72% (35℃); 75% (15℃)	1 mmol Cu^{2+} , Hg^{2+} , 10 mmol Ba^{2+} , Ca^{2+} , Co^{2+} , Mn^{2+}	[10]
<i>Picrophilus torridus</i>	45℃, pH 6.0	71% (20℃); 60% (45℃); 50% (60℃)	1 mmol Hg^{2+} , Al^{3+} , SDS, Cd^{2+} , Cu^{2+} , Pb^{2+} , Tris; 10 mmol Mn^{2+} , Zn^{2+} , Mg^{2+} , Sr^{2+} , Ca^{2+} , Co^{2+} , Ba^{2+} , Ni^{2+} , Fe^{2+}	[18]
<i>Mycobacterium smegmatis</i>	pH 7.0~7.2	42%~45% (37℃)	Glucose	[5]
<i>Propionibacterium freudenreichii</i>	45℃, pH 5.2	K_m (maltose): 6.4 mmol/L K_m (trehalose): 64 mmol/L	Cu^{2+} , Tris	[12]
<i>Thermobifida fusca</i>	25℃, pH 6.5	60% (30℃)	Glucose	[16]
<i>Thermus thermophilus</i> HB-8	65℃	61% (70℃)	-	[17]

间结构转换的同时常伴有副产物葡萄糖的产生,且水解活性随温度升高而增强。来自于嗜热古细菌 *Picrophilus torridus*^[18] 的海藻糖合酶 20°C 条件下葡萄糖生成率 3.6%, 温度升高至 60°C 时葡萄糖生成率为 19.2%。葡萄糖能抑制海藻糖合酶的酶活力^[18], *Picrophilus torridus* 的海藻糖合酶对麦芽糖的 K_{cat}/K_m 为 2238.1(mol⁻¹s⁻¹), 对海藻糖的 K_{cat}/K_m 为 892.1(mol⁻¹s⁻¹), 对麦芽糖与葡萄糖(10 mmol/L)混合物的 K_{cat}/K_m 为 709.8(mol⁻¹s⁻¹)。同时高浓度葡萄糖会降低海藻糖生成率^[16], 来自 *Thermobifida fusca* 的海藻糖合酶在 20% 的葡萄糖存在时, 海藻糖生成率降低为原来的 30%。目前国内外只有一例无副产物的报道^[10]。

3 催化机理的研究

1996 年, Nishimoto 等人用放射性检测的方法证明从麦芽糖到海藻糖的转化过程是分子内的转糖苷作用^[4]。2003 年, Koh 等人利用核磁共振和电离质谱的分析方法发现麦芽糖与海藻糖之间的转化包括两个基本过程, α -1,4-糖苷键的断裂和 α -1,1-糖苷键的生成^[22]。文中还推测, 副产物葡萄糖是由水分子代替葡萄糖残基作为亲核试剂而产生的。反应方向偏向于海藻糖的生成, 可能是因为 α -1,1-糖苷键的断裂过程需要更高的活化能。2006 年, Chen 等人利用生物信息学分析结合定点突变的方法发现嗜酸热古细菌 *Picrophilus torridus* 的海藻糖合酶中有几个和催化活性高度相关的氨基酸残基 Asp²⁰³、Glu²⁴⁵、Asp³¹¹、His¹⁰⁶、His³¹⁰^[18]。这几个氨基酸残基分别被丙氨酸替换后, 海藻糖合酶的催化活性不足原来的 1%(His³¹⁰ 为 11%)。文中推测, *Picrophilus torridus* 的海藻糖合酶在催化 α -1,4-糖苷键断裂的过程与 α -淀粉酶家族蛋白有着相似的催化机制, Asp²⁰³、Glu²⁴⁵、Asp³¹¹ 为活性位点, His¹⁰⁶、His³¹⁰ 为底物结合位点; Glu²⁴⁵ 为质子供体, Asp²⁰³ 作为亲核试剂攻击麦芽糖的异头碳原子。

2007 年, Wang 等人研究发现水生栖热菌 (*Thermus thermophilus*) 的海藻糖合酶 (TtTS) C 端 415 个氨基酸残基(TtTSDN)与该酶的热稳定性和水解活性密切相关^[20]。删除(TtTSDN)的 TtTS(TtTSDC)最适反应温度由 65°C 降低到 40°C, 同时水解活性增加、热稳定性降低, 在 80°C 条件下保温 30 min

后, TtTS 保留 88% 的酶活力, TtTSDC 只保留约 20% 的酶活力; 将 TtTSDN 与来自耐辐射奇球菌 (*Deinococcus radiodurans*) 的低温海藻糖合酶(DrTS)融合后(DrTS-TtTSDN), 该酶最适反应温度由 15°C 升高到 40°C, 同时水解活性降低、热稳定性升高, 在 60°C 条件下保温 30 min 后, DrTS-TtTSDN 保留 83% 的酶活力, 而 DrTS 的酶活力几乎全部丧失。

4 基因工程和酶的固定化技术

现已发现的海藻糖合酶分子量大小主要集中在 60 kD~80 kD 范围内, 而一些古细菌来源的海藻糖合酶分子量则集中在 110 kD 左右。细菌中存在的内源性海藻糖合酶表达量很低, 而原始菌的微生物发酵法成本较高, 因此构建基因工程菌, 将其克隆到经济易操作的大肠杆菌系统中进行异源表达不失为一种较好的解决方案。目前, 来源于 *Thermobifida fusca*^[16]、*Thermus aquaticus* ATCC 33923^[19]、*Picrophilus torridus*^[18]、*Pseudomonas stutzeri* CJ38^[10]、*Mycobacterium smegmatis* ATCC14468^[5]、*Thermus caldophilus* GK24^[22] 等的海藻糖合酶基因均已在 大肠杆菌中实现表达, 其中仅有一篇报道提到该酶的表达量(254 mg/L)。目前未见有在酵母等真核表达系统中表达的先例。

酶的固定化技术通常可以大大提高酶的使用效率, 这在其他酶制剂(如淀粉酶)的行业中已经得到验证并广泛应用于工业化生产中。鉴于此, 也有人对海藻糖合酶的固定化研究做了相应的尝试。Cho 等人^[15]研究表明, 固定化的 *Thermus caldophilus* GK24 海藻糖合酶最适 pH 没有发生改变, 但最适温度从 45°C 提高到 65°C, 固定化的酶在 70°C 条件下保温 16 d 仍能保持 90% 以上的酶活力, 而非固定化的酶保温 6 d 后只剩余 13% 的酶活力。固定化的酶在批次发酵的过程中能反复利用 10 次以上。

5 海藻糖合酶的生物信息学分析

以“Trehalose synthase”为关键词搜索 NCBI 蛋白质数据库, 得到 196 条(去除不相关的其他序列以及重复序列)海藻糖合酶的氨基酸序列, 用 ClustalX 软件分析, 得到 5 段高度保守的氨基酸序

列(表 2)。这 196 条氨基酸序列虽然长度差异较大,从 400 到 1000 多个残基不等,但保守区位置相对固定,且集中在 100~500 氨基酸残基之间。同时发现所有已进行过功能验证的海藻糖合酶都含有上述五段序列,除个别氨基酸残基有突变外,都高度

保守。这些保守区很可能与海藻糖合酶的底物结合以及催化活性密切相关。另外还有几十条海藻糖合酶序列不具有上述 5 段保守区,且相互之间序列变异很大,这些序列是否为海藻糖合酶的新家族,还有待于进一步的实验论证。

表 2 海藻糖合酶的保守序列分析
Table 2 Analysis of conserved amino acid sequences in trehalose synthase

Origin Strains	Region 1 NHTSDQH	Region 2 HQPDLN	Region 3 NHDELTLE	Region 4 GIRRRRLAPL	Region 5 YYGDEIGMGDN
<i>Picrophilus torridus</i> DSM9790 (GI: 48429789)	105 NHVSDQH	173 SQPDLN	309 NHDELTLE	341 GIRRRRLAPL	374 YYGDEIGMGDN
<i>Thermus aquaticus</i> ATCC33923 (GI: 20140415)	100 NHTSIDH	164 HQPDLN	304 NHDELTLE	336 GIRRRRLMPL	369 YYGDEIGMGDN
<i>Pimelobacter</i> sp. R48 (GI: 1536814)	112 NHTSDAH	177 HQPDLN	325 NHDELTLE	357 GIRRRRLAPL	390 YYGDEIGMGDN
<i>Corynebacterium glutamicum</i> ATCC13032 (GI: 23308924)	149 NHTSDQH	214 HQPDLN	356 NHDELTLE	388 GIRRRRLSPL	421 YYGDELGMGDN
<i>Pseudomonas putida</i> KE2440 (GI: 26990760)	113 NHTSDQH	179 HQPDLN	320 NHDELTLE	352 GIRRRRLAPL	385 YYGDELGMGDN
<i>Mycobacterium tuberculosis</i> H37Rv (GI: 15607268)	140 NHTSESH	205 HQPDLN	348 NHDELTLE	380 GIRRRRLAPL	413 YYGDEIGMGDV

6 目前存在的主要问题和拟解决方案

6.1 催化机理方面的研究很少

葡萄糖对海藻糖合酶的转糖苷活性有抑制作用,并降低海藻糖生成率。工业化生产的过程中,考虑到成本问题,不会用纯的麦芽糖产品作为底物,用淀粉水解液或高麦芽糖浆作底物时其中都会掺杂一定量的葡萄糖和其他寡糖,这对海藻糖的工业化生产很不利。

某些嗜热菌来源的海藻糖合酶具有耐高温、耐酸和副产物葡萄糖产率低等特性,较适合工业化生产,但分子量一般较大,且需要解决密码子偏爱性等问题以提高在大肠杆菌中的表达量。

关于海藻糖合酶三维晶体结构的研究还未见报道,由于缺乏足够的数据详细阐述它的催化机理,通过空间分子结构的改造来改善酶学性质的研究工作有一定的困难。目前亟需大量的关于海藻糖合酶的序列、结构和生物学特性等相关数据,以及各类寡糖对海藻糖合酶催化活性和麦芽糖转化率影响的研究。Tail-PCR 具有简单、快速和高通量等优点,是筛选新基因的首选方案。另外,还可以结合随机诱变和定点突变的方法改造现有酶分子的酶学特性,以期找到海藻糖合酶的活性位点,为酶分子的定向改造积累基础材料。

6.2 产物的分离纯化问题

产物的分离纯化在糖生产工业中占据很大的成本,麦芽糖和海藻糖属于同分异构体,他们的物理性质十分相似,这给产物的分离纯化带来一定的困难,目前关于海藻糖和麦芽糖分离纯化的研究还很少,没能找到一种简便经济的分离方法。但麦芽糖和葡萄糖的物理性质相差较大,他们对活性炭的吸附力和在醇溶液中的溶解性不同,利用这一点可以利用糖化酶首先将反应混合液中其他寡糖和未转化的麦芽糖转化为葡萄糖在进行海藻糖的分离纯化。

王绍校等人^[23]较为详细的介绍了这一方法。他们将反应混合液用糖化酶处理后,反应混合液中只含有海藻糖和葡萄糖两种成分,然后利用活性炭柱色谱和乙醇梯度洗脱的方法将葡萄糖和海藻糖分离,得到了海藻糖结晶纯品。这一方法的优点在于海藻糖产品纯度高,副产物可以继续加工成葡萄糖晶体,原料利用率高,而且文中还提到一种快速分离的改进方法。此种分离方法进一步简化了海藻糖的生产工艺,能节约生产成本。

7 讨论

自然界中已发现的酶法合成途径主要有以下几

种: 1) 6-磷酸海藻糖合成酶/6-磷酸海藻糖酯酶(TPS/TPP)途径^[24,25], 以 UDP-葡萄糖和葡萄糖-6-磷酸为底物。2) 海藻糖磷酸化酶(TreP) 途径^[26-28], 以葡萄糖-1-磷酸和葡萄糖为底物。3) 海藻糖葡萄糖基转移酶(TreT)途径^[9], 以ADP-葡萄糖和葡萄糖为底物。由于底物价格昂贵, 以上 3 条途径均不适合海藻糖的工业化生产。4) 麦芽寡糖基海藻糖合成酶/麦芽寡糖基海藻糖水解酶(TreY/TreZ)途径^[29,30], 以淀粉或麦芽寡糖为底物, 依次在 TreY 和 TreZ 的作用下生成海藻糖和少了两个葡萄糖残基的麦芽寡糖。此法生产工艺复杂, 目前全世界只有少数几家公司能够掌握该项工艺, 致使海藻糖价格下调缓慢, 限制了海藻糖的应用范围和发展空间。海藻糖合酶以麦芽糖为底物, 一步转化生成海藻糖, 可望开辟一条简单经济的海藻糖工业生产途径, 但目前的研究尚处于起步阶段, 需要大量的基础性和达到高的表达水平。

参 考 文 献

- [1] Richards AB, Krakowka S, Dexter LB, *et al.* Trehalose: a review of properties, history of use and human tolerance, and results of multiple safety studies. *Food and Chemical Toxicology*, 2002, **40**: 871-898.
- [2] Paul MJ, Primavesi LF, Jhurrea D, *et al.* Trehalose metabolism and signaling. *Annu Rev Plant Biol*, 2008, **59**: 417-441.
- [3] Schiraldi C, Di Lernia I, De Rosa M. Trehalose production: exploiting novel approaches. *Trends Biotechnol*, 2002, **20**(10): 420-425.
- [4] Nishimoto T, Nakano M, Nakada T, *et al.* Purification and properties of a novel enzyme, trehalose synthase, from *Pimelobacter* sp. R48. *Biosci Biotechnol Biochem*, 1996a, **60**(4): 640-644.
- [5] Pan YT, Koroth Edavana V, Jourdain WJ, *et al.* Trehalose synthase of *Mycobacterium smegmatis*: purification, cloning, expression, and properties of the enzyme. *Eur J Biochem*, 2004, **271** (21): 4259-4269.
- [6] De Smet KAL, Weston A, Brown IN, *et al.* Three pathways for trehalose biosynthesis in *Mycobacteria*. *Microbiology*, 2000, **146**: 199-208.
- [7] Woodruff PJ, Carlson BL, Siridechadilok B, *et al.* Trehalose is required for growth of *Mycobacterium smegmatis*. *The Journal of Biological Chemistry*, 2004, **279**(28): 28835-28843.
- [8] Wolf A, Kramer R, Morbach S. Three pathways for trehalose metabolism in *Corynebacterium glutamicum* ATCC13032 and their significance in response to osmotic stress. *Molecular Microbiology*, 2003, **49**(4): 1119-1134.
- [9] Tzvetkov M, Klopprogge C, Zelder O, *et al.* Genetic dissection of trehalose biosynthesis in *Corynebacterium glutamicum*: inactivation of trehalose production leads to impaired growth and an altered cell wall lipid composition. *Microbiology*, 2003, **149**: 1659-1673.
- [10] Lee JH, Lee KH, Kim CG, *et al.* Cloning and expression of a trehalose synthase from *Pseudomonas stutzeri* CJ38 in *Escherichia coli* for the production of trehalose. *Appl Microbiol Biotechnol*, 2005, **68**: 213-219.
- [11] Ma Y, Xue L, Sun DW. Characteristics of trehalose synthase from permeabilized *Pseudomonas putida* cells and its application in converting maltose into trehalose. *Journal of Food Engineering*, 2006, **77**: 342-347.
- [12] Cardoso FS, Castro RF, Borges N, *et al.* Biochemical and genetic characterization of the pathways for trehalose metabolism in *Propionibacterium freudenreichii*, and their role in stress response. *Microbiology*, 2007, **153**: 270-280.
- [13] Streeter JG, Gomez ML. Three enzymes for trehalose synthesis in *Bradyrhizobium* cultured bacteria and in bacteroids from soybean nodules. *Applied and Environmental Microbiology*, 2006, **72**(6): 4250-4255.
- [14] Nishimoto T, Nakada T, Chaen H, *et al.* Purification and characterization of a thermostable trehalose synthase from *Thermus aquaticus*. *Biosci Biotech Biochem*, 1996b, **60**(5): 835-839.
- [15] Cho YJ, Park OJ, Shin HJ. Immobilization of thermostable trehalose synthase for the production of trehalose. *Enzyme and Microbial Technology*, 2006, **39**: 108-113.
- [16] Wei YT, Zhu QX, Luo ZF, *et al.* Cloning, expression and identification of a new trehalose synthase gene from *Thermobifida fusca* genome. *Acta Biochimica et Biophysica Sinica*, 2004, **36**(7): 477-484.
- [17] Zdzienko A, Synowiecki J. Production of trehalose by intramolecular transglucosylation of maltose catalysed by a new enzyme from *Thermus thermophilus* HB-8. *Food Chemistry*, 2006, **96**: 8-13.
- [18] Chen YS, Lee GC, Shaw JF. Gene cloning, expression, and biochemical characterization of a recombinant trehalose synthase from *Picrophius torridus* in *Escherichia coli*. *J Agric Food Chem*, 2006, **54**: 7098-7104.
- [19] Wang JH, Tsai MY, Lee GC, *et al.* Construction of a recombinant thermostable β -amylase-trehalose synthase biofunctional enzyme for facilitating the conversion of starch to trehalose. *J Agric Food Chem*, 2007a, **55**: 1256-1263.
- [20] Wang JH, Tsai MY, Chen JJ, *et al.* Role of the c-terminal domain of *Thermus thermophilus* trehalose synthase in the

- thermophilicity, thermostability, and efficient production of trehalose. *J Agric Food Chem*, 2007b, **55**: 3435–3443.
- [21] Giannesi GC, Polizeli MLTM, Terenzi HF, *et al.* A novel α -glucosidase from *Chaetomium thermophilum* var. *coprophilum* that converts maltose into trehalose: purification and partial characterization of the enzyme. *Process Biochemistry*, 2006, **41**: 1729–1735.
- [22] Koh S, Kim J, Shin HJ, *et al.* Mechanistic study of the intramolecular conversion of maltose to trehalose by *Thermus caldophilus* GK24 trehalose synthase. *Carbohydrate Research*, 2003, **338**: 1339–1343.
- [23] 王绍校. 酶法合成海藻糖及其在航天食品中的应用研究. 中国农业大学博士学位论文, 2002.
- [24] Bell W, Sun W, Hohmann S, *et al.* Composition and functional analysis of the *Saccharomyces cerevisiae* trehalose synthase complex. *J Biol Chem*, 1998, **273**(50): 33311–33319.
- [25] Avonce N, Mendoza-Vargas A, Morett E, *et al.* Insights on the evolution of trehalose biosynthesis. *BMC Evolutionary Biology*, 2006, DOI:10.1186/1471-2148-6-109.
- [26] Saito K, Yamazaki H, Ohnishi Y, *et al.* Production of trehalose synthase from a basidiomycete, *Grifola frondosa*, in *Escherichia coli*. *Appl Microbiol Biotechnol*, 1998a, **50**: 193–198.
- [27] Saito K, Kase T, Takahashi E, *et al.* Purification and characterization of a trehalose synthase from the basidiomycete *Grifola frondosa*. *Appl Microbiol Biotechnol*, 1998b, **64**(11): 4340–4345.
- [28] Schwarz A, Goedl C, Minani A, *et al.* Trehalose phosphorylase from *Pleurotus ostreatus*: characterization and stabilization by covalent modification, and application for the synthesis of α,α -trehalose. *J Biotechnol*, 2007, **129**: 140–150.
- [29] Mukai K, Tabuchi A, Nakada T, *et al.* Production of trehalose from starch by thermostable enzymes from *Sulfolobus acidocaldarius*. *Starch*, 1997, **49**(1): 26–30.
- [30] Fang TY, Hung XG, Shih TY, *et al.* Characterization of the trehalosyl dextrin-forming enzyme from the thermophilic archaeon *Sulfolobus solfataricus* ATCC 35092. *Extremophiles*, 2004, **8**: 335–343.

2009 年中国微生物学会及各专业委员会学术活动计划表(2-2)

序号	会议名称	主办单位	时间	人数	地点	联系人
10	全国酶工程会议	中国微生物学会酶工程专业委员会	待定	待定	待定	金城 010-64807425
11	2009 年生物过程模型化与控制学术会议	中国微生物学会生化过程模型化与控制专业委员会	9 月	100	上海	袁景淇 021-34204055
12	重要人兽共患病研究新进展学术研讨会	中国微生物学会人兽共患病病原学专业委员会	10 月 14-18 日	200	湖南 衡阳	万康林 010-61739466
13	第七届全国微生物毒素学术会议	中国微生物学会微生物毒素专业委员会	10 月	180	重庆	梁华平 023-68757404
14	第三届全国资源生物技术与糖工程学术研讨会	中国微生物学会基础微生物学专业委员会	10 月	150	山东 济南	李越中 0531-88564288
15	首届全国生物固氮学术研讨会	中国微生物学会农业微生物学专业委员会	10 月	100	湖北 武汉	李友国, 张志明 027 - 87281685, 027 - 87281687
16	2009 年中国微生物学会学术年会	中国微生物学会	11 月	400	待定	王旭 010-64807200
17	第十二次全国环境微生物学术研讨会	中国微生物学会环境微生物学专业委员会	11 月	250	湖北 武汉	蒋建东 025-84396348
18	植物线虫的微生物防治研讨会	中国微生物学会农业微生物学专业委员会	12 月	60	昆明	张克勤 0871-5033790