

阿拉伯糖苷酶的研究进展

裴建军 薛业敏 邵蔚蓝

(江南大学教育部重点实验室 无锡 214036)

摘要: 半纤维素是一类取之不尽而又亟待开发利用的碳水化合物。阿拉伯糖苷酶是降解从而利用半纤维素的一个重要酶, 有关阿拉伯糖苷酶及其基因的研究在国际上得到了广泛而深入的开展。主要就阿拉伯糖苷酶的分类、特性、基因克隆表达及其应用作一综述。

关键词: 半纤维素, 阿拉伯糖苷酶, 基因克隆表达

中图分类号: Q556+.2 **文献标识码:** A **文章编号:** 0253-2654 (2003) 04-0091-04

REVIEW OF STUDIES ON ARABINOFURANOSIDASES

PEI Jian-Jun XUE Yi-Min SHAO Wei-Lan

(The key laboratory of industrial Biotechnology, the Ministry of Education, Wuxi 214036)

Abstract: Hemicellulose is a kind of very abundant carbohydrate, which is not yet exploited. Arabinofuranosidase is important enzyme in biodegradation of hemicellulose. Up to now many arabinofuranosidases and genes have been studied in the world. In this paper, we reviewed mainly on the classification, characterization, utility and gene expression of arabinofuranosidase.

Key words: Hemicellulose, Arabinofuranosidase, Gene expression

收稿日期: 2002-08-02, 修回日期: 2002-09-22

半纤维素在自然界中含量之丰富,仅次于纤维素,如在秸秆中半纤维素的含量占其干重的25%~50%^[1]。以前主要作为燃料来使用,使用效率很低,因此这几年来开发和利用半纤维素成为研究的一个热点。但是要把半纤维素转化成微生物可利用的糖仍然面临着技术方面的挑战,需要高性能的半纤维素降解酶。L-阿拉伯糖残基在半纤维素中大量存在,L-阿拉伯糖残基以单体或低聚体侧枝以 α -1,3或 α -1,2键连在木糖的主链上^[2]。侧枝的存在限制了木聚糖酶的作用,因为阿拉伯糖侧枝会限制木聚糖酶与木聚糖的结合,而 α -L-阿拉伯呋喃糖苷酶(EC 3.2.1.55)能降解侧枝,阿拉伯糖苷酶、木聚糖酶和木糖苷酶在降解半纤维素时存在着协同作用^[2]。20世纪80年代以来为了更好的开发和利用半纤维素,已经纷纷开始研究阿拉伯糖苷酶,本文简要阐述了阿拉伯糖苷酶的研究情况及应用前景。

1 阿拉伯糖苷酶的分类

现已提纯的阿拉伯糖苷酶,根据其氨基酸序列,基本上属于糖基水解酶3、10、43、51、54、64这6个家族^[3](表1各家族部分阿拉伯糖苷酶),根据底物专一性的异同^[4],阿拉伯糖苷酶又可分为两类:阿拉伯糖苷酶A一般降解末端的阿拉伯糖基,属于这类的酶已经从 *Streptomyces purpurascens* IFO3389, *Clostridium acetobutylicum* ATCC 824, *A. niger*, *Aspergillus aculeatus*, 大豆的子叶里提纯了。阿拉伯糖苷酶B既能降解末端的阿拉伯糖基,也能切阿拉伯糖基的侧枝。属于这类的酶已经从 *A. niger* K1, *Streptomyces diataticus*, *Ruminococcus albus* 8, *Rhodotorula flava*, *Dichomitus squalens*, *Streptomyces massaporeus* IFO 3841, *Streptomyces* sp. strain 17-1, *Butyrivibrio fibrisolvens* GS113, *B. subtilis* F-11, *Bacillus* sp. Strain 430, *Trichoderma reesei* 提纯得到。因为阿拉伯糖苷酶特异性底物种类不多,所以进一步分类很困难。

表1 阿拉伯糖苷酶的分类

家族	酶	来源
3	xylosidase/arabinosidase (XarB)	<i>Thermoanaerobacter ethanolicus</i> JW200
10	xylanase/arabinosidase (XynA)	<i>Caldicellulosiruptor</i> sp. Tok7B.1
	xylosidase/arabinofuranosidase (XynA)	<i>Azospirillum irabense</i> KBC1
43	β -xylosidase/ arabinofuranosidase (XynF)	<i>Caldicellulosiruptor saccharolyticus</i>
51	arabinofuranosidase A	<i>Aspergillus niger</i>
	α -L-arabinofuranosidase A (ArfA)	<i>Aspergillus niger</i> var. <i>oswamori</i> IFO4033
54	arabinofuranosidase 2	<i>Aspergillus niger</i>
64	α -L-arabinofuranosidase (Arf)	<i>Aspergillus sojae</i>

2 阿拉伯糖苷酶的特性

在细菌和真菌中都已有阿拉伯糖苷酶被提纯和定性。阿拉伯糖苷酶可分布在胞内、胞外和胞膜上,有的是单聚体,而有的形成二聚体或多聚体,如从 *Butyrivibrio fibrisolvens* GS113 提纯的阿拉伯糖苷酶就是个八聚体^[5]。而且有些阿拉伯糖苷酶是由不同的亚基聚集而成的,如 *Bacillus stearothermophilus* 产生的阿拉伯糖苷酶含有两个不同的亚基^[6]。表2对各种来源的阿拉伯糖苷酶的性质进行了比较。

表2 各种来源不同的阿拉伯糖苷酶的性质

来源	分子质量 (kD)	等电点	最适 pH	最适温度 (°C)
<i>Clostridium acetobutylicum</i>	94	8.2	5.0~5.5	
<i>Scopoclia japonica</i>	62	8.0	4.8	
<i>Trichoderma reesei</i>	53	7.5	4.0	
<i>Aspergillus niger</i>	53	3.6	3.8~4.0	
<i>Ruminococcus albus</i> 8	305~310 ^(b) 75 ^(a)	3.8	6.9	55
<i>Streptomyces purpurascens</i>	495 ^(b) 62 ^(a)	3.9	6.5	
<i>Cytophaga xylanolytica</i> *	160~210 ^(b) 56 ^(a)	6.1	5.8	45
<i>Butyrivibrio fibrisolvens</i>	240 ^(b) 30 ^(a)	6.0	6.0~6.5	45
<i>Monillina fructigena</i>	40	6.5	4.0	
<i>P. capsulatum</i> I	64.5	4.15	6.0~6.5	60
II	62.7	4.54	4.0	55
<i>Aspergillus awamori</i> IFO 4033	I 81 II 62	3.3 3.6	4.0 4.0	60 60
<i>Aspergillus nidulens</i>	65	3.3	4.0	65
<i>Bacillus stercorophilus</i>	256	6.5	5.8~6.0	70
<i>Thermobacillus xylanilyticus</i>	56		5.6~6.2	75
<i>Aureobasidium pullulans</i>	210 ^(b) 105 ^(a)		4.0~4.5	75
<i>Thermoanaerobacter ethanolicus</i>	165 ^(b) 85 ^(a)	4.6	6.0	75~80

注: a SDS 聚丙烯酰胺凝胶电泳测定, b 分子筛测定

阿拉伯糖苷酶的最适反应 pH 一般小于 7。其最适反应温度差异比较大,有些从真菌和嗜热细菌中提纯的阿拉伯糖苷酶最适反应温度很高,如从 *Aspergillus awamori* IFO 4033 提纯得到的两种阿拉伯糖苷酶的最适反应温度都达到 60°C,一些嗜热菌的阿拉伯糖苷酶的最适反应温度能达到 80°C~90°C,如乙醇菌 *T. ethanolicus* JW200^[7] 产生的阿拉伯糖苷酶的最适反应温度是 80°C,而且该酶还有木糖糖苷酶的活性,是一个典型的双功能酶,具有很高的利用价值。有些典型的纤维素降解酶也可能有较弱的阿拉伯糖苷酶的活性,据报道草菇中的 β -葡萄糖苷酶也有阿拉伯糖苷酶的活性^[8]。

3 阿拉伯糖苷酶的克隆,表达及工程菌的构建

近几年来陆续有编码阿拉伯糖苷酶的基因被克隆,细菌来源的被克隆的如: *Butyrivibrio fibrisolvens* (*xylB*), *Streptomyces lividans* (*abfA*), *Prevotella ruminicola* B1, *Clostridium stercorarium* (*arfA* and *arfB*)^[9], *Cytophaga xylanolytica*, *Thermobacillus xylanilyticus* D3 (*abfD3*)^[10], *Thermotoga maritime*, *Thermoanaerobacter ethanolicus*^[7] 等。其中有些酶很有经济价值,如 Takoua debeche 等人克隆的 *Thermobacillus xylanilyticus* D3 (*abfD3*),并在 *E. coli* 中表达了,该阿拉伯糖苷酶分子质量为 56,071 D,属于糖基水解酶第 51 家族,具有很高的温度稳定性和很宽的 pH 稳定性,在 90°C, pH 8.0 的条件下,保温 2 h,仍有一半的活性。源自真菌的阿拉伯糖苷酶的基因已从 *A. niger*, *T. reesei* 中克隆出来。Crons J M 等人成功克隆了 *A. niger* Mrc11624 中的阿拉伯糖苷酶 *abfB* 基因,并使它在 *S. cerevisiae* 中表达,命名为 ABF2,用随机选择的重组体 *S. cerevisiae* 菌株分别在合成和复合培养基中培养 48 h,获得阿拉伯糖苷酶最大活性 0.02 U/mL 和 1.40 U/mL^[11]。来自 *T. reesei* 的阿拉伯糖苷酶是通过在 *S. cerevisiae* 中建立的 cDNA 表达文库筛选得到,对重组酵母产生的酶进行不同底物的活性实验,与从 *T. reesei* 纯化的相应的酶相似^[9]。

4 阿拉伯糖苷酶的应用前景

最近几年阿拉伯糖苷酶受到了大量的注目,是因为它在工业农业过程中的实际应用,这些过程包括半纤维素转化为燃料和化学品^[12],饲养动物的植物材料的有效利用等等。

4.1 在工程菌构建方面的应用 20年前科学家就开始研究半纤维素的生物转化过程及其机理。在这个过程中,生物工程菌首先产生半纤维素酶,将半纤维素降解成单糖,再通过种种代谢途径将单糖转化为目的产物。因为半纤维素结构复杂,想要彻底降解它,除了要有木聚糖酶、木糖苷酶,还必须要有的侧枝酶,即阿拉伯糖苷酶和葡萄糖醛酸酶的参与,因此在构建此类工程菌时,对阿拉伯糖苷酶的研究是必须的^[12]。

4.2 在食品工业中的应用前景 阿拉伯糖苷酶能与其他半纤维素酶一起用来降解果汁,啤酒中的一些多糖类物质,因此有利于果汁,啤酒的澄清。这些酶在改善烘烤食品的质地,结构,提高咖啡和植物油浸出率方面也有很广的应用。阿拉伯糖苷酶在分解半纤维素过程中产生的阿拉伯糖能选择性地抑制肠道内的蔗糖酶的活性,可作为安慰剂来降低糖的摄入。

4.3 在饲料生产中的应用前景 饲料中添加阿拉伯糖苷酶和其它半纤维素酶可以改善其营养价值。在近来研究表明,饲料中所含的大量半纤维素不能得到降解是其营养低的主要原因,因为半纤维素一般不能为家禽所直接吸收,而且其粘度较大,会影响其他的营养因子的利用。应用阿拉伯糖苷酶和其它的半纤维素酶可以改善农作物饲料及各类饲料的营养成分。

参 考 文 献

- [1] Glazer A N, Nikaïdo H. *Microbial Biotechnology*. New York: Freeman Company, 1995.
- [2] Sunna A, Autranikian G. *Critical Reviews in Biotechnology*, 1997, 17 (1): 39 ~ 67.
- [3] Beidman G, Schols H A, Piston S M, *et al.* *Adv Macromol Carbohydr*, 1997, 1: 1 ~ 64.
- [4] Satoshi K, Masaharu S, Isao K. *Appl Environ. Microbiol.*, 1994, 3425 ~ 3428.
- [5] Robert B, Hespell, Patricia J, *et al.* *Appl Environ Microbiol.*, 1992, 1082 ~ 1088.
- [6] Badal C, Saha R, Bothast J. *Appl Environ Microbiol.*, 1998, 216 ~ 220.
- [7] Shao W, Wiegell J. *J Bacteriol.*, 1992, 174: 5848 ~ 5853.
- [8] Cai Y J, Busuelli J A, Chang S T, *Enzyme and Microbial Technology*, 1999, 22: 122 ~ 129.
- [9] Margolles-clark, Tenkanen E M, Nakari-Setälä, *et al.* *Appl Environ. Microbiol.*, 1996, 62: 3840 ~ 3846.
- [10] Takous D, Nicola C, Ian G, *et al.* *Appl Environ Microbiol.*, 2000, 1734 ~ 1736.
- [11] Crous J M, Pretorius I S, Van Zyl W H. *Appl Microbial Biotechnol.*, 1996, 46: 256 ~ 260.
- [12] 邵蔚蓝, 薛业敏. *食品与生物技术*, 2002, 21 (1): 88 ~ 93.