

产 β -甘露聚糖酶内生菌

邱并生

(《微生物学通报》编委会 北京 100101)

植物内生菌研究已经成为微生物研究的热点^[1],最初主要集中于拮抗菌的筛选,近几年更关注于生物活性物质的分离。最近有报道,将从植物内生菌作为一种开发工业用酶资源的新角度去研究^[2],这为继续开发其它工业用酶或生物活性物质的内生菌的研究提供了理论依据,从而拓宽了植物内生菌的应用研究范围。

本刊 2011 年第 8 期刊登了张建新、明红等的文章“产 β -甘露聚糖酶内生菌的筛选及酶学特性分析”^[3],作者采用富集培养的方法从黄豆种子中分离出 17 株内生菌菌株,利用刚果红染色法筛选出 3 株产 β -甘露聚糖酶的内生菌。摇瓶培养并分别测定其酶活力,其中一株酶活力较高,达 54.59 U/mL。经生化测定及 16S rDNA 序列分析,鉴定为枯草芽孢杆菌 *Bacillus subtilis*。酶学性质分析显示,该内生菌产生的 β -甘露聚糖酶最适反应温度为 30 °C–50 °C,且酶活力稳定,在 pH 5.0–9.0 比较宽的范围都有较高的酶活性和稳定性,表明该酶属于中性 β -甘露聚糖酶。这些特性为其在饲料工业、食品行业和环保等方面的应用奠定了基础,拓宽了植物内生菌的应用范围,为内生菌资源的开发提供了新的思路 and 理论依据。

该课题组近年来通过传统诱变育种提高了野生菌株的酶活性,以紫外线-硫酸二乙酯复合诱变,获得一株高产 β -甘露聚糖酶的突变菌株 *Bacillus subtilis* UD-20,酶活达 89.5 U/mL,比出发菌株提高了 63.9%,遗传性能稳定^[4];并对产 β -甘露聚糖酶内生菌进行了最适发酵条件的优化,通过单因子试验及正交试验对菌株 DH-1 进行优化培养,获得了菌株 DH-1 摇瓶发酵最佳产酶条件,经 50 L 发酵罐验证,培养 76 h 时酶活力达 193.12 U/mL^[5];随后进行了内生枯草芽孢杆菌 HD-1 β -甘露聚糖酶基因的克隆,构建表达重组酶的工程菌,在 50 L 发酵罐中进行重组 β -甘露聚糖酶产酶发酵扩大培养,在最佳发酵条件下添加诱导物 IPTG 2 h 后, β -甘露聚糖酶的活力达到较高水平,诱导 8 h 后酶活力达到 1 917.96 U/mL,约为初始酶活力的 21.2 倍;且此时每毫升发酵液约收获菌体 0.05 g (湿重),每克菌体酶活力高达 37 401.62 U,显示出较大的工业化应用潜力^[6-7]。另外该课题组在酶的纯化方面也进行了大量工作,为产业化打下了良好基础。

由于 IPTG 价格较高,会造成生产成本过高,建议试用乳糖作为诱导剂及分泌表达的方式来降低生产成本。刘项羽等^[8]将 β -甘露聚糖酶基因在枯草芽孢杆菌中成功表达,5 L 发酵罐放大实验结果表明,酶活力达 2 748.82 U/mL。由于枯草芽孢杆菌更适用于工业化生产,也可试用枯草芽孢杆菌系统来表达该基因。

关键词: β -甘露聚糖酶, 黄豆, 枯草芽孢杆菌, 酶学性质

参 考 文 献

- [1] 赫荣乔. 植物内生菌成为我国当前微生物研究领域的热点[J]. 微生物学通报, 2009, 36(1): 1.
- [2] Zaferanloo B, Virkar A, Mahon PJ, et al. Endophytes from an Australian native plant are a promising source of industrially useful enzymes[J]. World Journal of Microbiology and Biotechnology, 2013, 29: 335–345.
- [3] 张建新, 赵丹丹, 赵杰, 等. 产 β -甘露聚糖酶内生菌的筛选及酶学特性分析[J]. 微生物学通报, 2011, 38(8): 1172–1178.
- [4] 张建新, 张吨, 王海磊, 等. 产 β -mannanase 内生菌的诱变育种和酶学特性研究[J]. 现代食品科技, 2012, 28(10): 1331–1335.
- [5] 张建新, 韩科芳, 刘起丽, 等. 产 β -甘露聚糖酶内生菌最适发酵条件的优化[J]. 饲料工业, 2012, 33(14): 53–57.
- [6] 胡文波. β -甘露聚糖酶基因的克隆、表达及酶学性质研究[D]. 新乡: 河南师范大学硕士学位论文, 2012.
- [7] 张建新, 刘起丽, 赵杰, 等. 内生枯草芽孢杆菌 HD-1 β -甘露聚糖酶基因的克隆及结构生物学分析[J]. 河南师范大学学报: 自然科学版, 2013, 41(1): 126–129.
- [8] 刘项羽, 徐美娟, 杨套伟, 等. β -甘露聚糖酶基因在枯草芽孢杆菌中的克隆及表达[J]. 应用与环境生物学报, 2012, 18(4): 672–677.

Endophyte strain producing β -mannanase

QIU Bing-Sheng

(The Editorial Board of Microbiology China, Beijing 100101, China)

Keywords: β -Mannanase, Soybean, *Bacillus subtilis*, Enzymatic properties