

探討幾丁聚醣酶之特性及利用突變增加其產物特異性或活性

劉倚君 (5109)

2023/10/18

Outline

一、前言

二、適合製備幾丁寡糖的海洋 *Renibacterium* sp. 新型冷適應幾丁聚醣酶之特性

三、透過設計幾丁聚醣酶 CsnMY002 的結構以提高幾丁二醣之產率

四、透過脯胺酸 121 點突變提高枯草芽孢桿菌幾丁聚醣酶 BsCsn46A 的催化活性

五、結論

摘要

幾丁寡糖 (Chitosan oligosaccharide, COS) 分子量較小，且易溶於水溶液，使 COS 於細胞或分子發揮有價值的生物活性，但由於各種 COS 的性質相似，純化技術仍有一定之難度，因此，本次研究目的為探討幾丁聚醣酶之特性以及利用突變增加其產物特異性或活性。首先將 *Renibacterium* sp. Y82、CsnMY002 和 BsCsn46A 大腸桿菌表現，結果顯示 CsnY 於 pH 6.0、40°C 有最佳活性，具有優異的冷適應性能，而最終產物為二糖和三糖。經結構疊加 CsnMY002_E19A 和 CsnOU01_E25A 鑑別相同的糖苷鍵裂解，而 CsnMY002 藉由突變提高生成 (GlcN)₂，經產物分析，結果顯示野生型 CsnMY002 產物主要為二醣和三醣，而突變體 G21K 使二醣產物純度提升。將 BsCsn46A 經結構分析，Pro121 的自由能為所有胺基酸最高的，經突變後，結果顯示相較於野生型 P121N、P121C、P121V 比活性顯著增加，且透過分子對接發現，酵素與受質複合物之間氫鍵和凡德瓦力的增加以及去除不利於酵素和基質之相互作用，可能是酵素特性改變的主要原因。綜上所述，透過突變能提升酵素之產物特異性或活性，使生產時增加產量，於工業發展之應用具有相當大的優勢，為具潛力之幾丁聚醣酶。

參考資料

- Guo, J., Wang, Y., Zhang, X., Gao, W., Cai, Z., Hong, T., Man, Z., & Qing, Q. (2021). Improvement of the catalytic activity of chitosanase BsCsn46A from *Bacillus subtilis* by site-saturation mutagenesis of proline121. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 69(40), 11835-11846.
- Li, Y., Gou, Y., Liu, Z., Xie, T., & Wang, G. (2021). Structure-based rational design of chitosanase CsnMY002 for high yields of chitobiose. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 202, 111692.
- Zhang, L. L., Jiang, X. H., Xiao, X. F., Zhang, W. X., Shi, Y. Q., Wang, Z. P., & Zhou, H. X. (2021). Expression and characterization of a novel cold-adapted chitosanase from marine *Renibacterium* sp. suitable for chitooligosaccharides preparation. *Marine Drugs*, 19(11), 596.