

利用蛋白質工程提升菊糖蔗糖酶的活性及熱穩定性

林敏桓 (5109)

2025/10/08

大綱

一、前言

二、多策略工程化改造菊糖蔗糖酶以提升活性及熱穩定性，從而高效生產微生物菊糖

三、透過合理設計將甘胺酸取代為脯胺酸，以提升菊糖蔗糖酶的熱穩定性並調整菊糖

結構

四、結論

摘要

菊糖 (Inulin) 因其具有多種健康功效，在製藥、營養保健品及食品產業中獲得商業應用。微生物菊糖 (microbial inulin) 的酵素生物合成 (enzymatic biosynthesis) 也逐漸受到關注。菊糖蔗糖酶 (inulosucrase) *Lactobacillus mulieris* UMB7800 在進行分子修飾 (molecular modification) 後，活性 (activity) 及熱穩定性 (thermostability) 皆有提升。於 18 個可變區域中，R5 以更保守的 (conserved) 序列取代後顯著影響酵素活性，而被認為關鍵區域 (crucial region)。利用定點突變 (site-directed mutagenesis) 結合飽和突變 (saturated mutagenesis) 分析後發現，突變株 A250V 可使活性提升 68%。此外，透過合理設計 (rational design) 篩選突變株後，四個單點突變 (S344D、H434P、E526D、G531P) 被證實能提升熱穩定性。最終的組合突變株 M5，其活性提升了 66%，且在 55°C 下的半衰期提升了 5 倍。另一個菊糖蔗糖酶 *Lactobacillus reuteri* 121 將柔性 (flexible) 的甘胺酸取代為剛性的 (rigid) 脯胺酸後，其活性、熱穩定性及菊糖結構 (inulin profile) 皆有顯著變化。突變株 G416P、G624P、G627P 與 G629P 相較於原生型 (wild-type) 表現出更高的熱穩定性。尤其是 G624P 與 G627P，相較於原生型，其長鏈寡糖 (long-chain oligosaccharides) 的產量明顯降低。

參考文獻

- 25
- 26 Ni, D., Zhang, S., Huang, Z., Liu, X., Xu, W., Zhang, W., Mu, W. (2024). Multistrategy
- 27 Engineering of an Inulosucrase to Enhance the Activity and Thermostability for Efficient
- 28 Production of Microbial Inulin. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 72(32),
- 29 18100-18109.
- 30 Charoenwongpaiboon, T., Sommanat, N., Wangpaiboon, K., Puangpathanachai, M.,
- 31 Pongsawasdi, P., Pichyangkura, R. (2024). Improving the Thermostability and
- 32 Modulating the Inulin Profile of Inulosucrase through Rational Glycine-to-Proline
- 33 Substitution. *RSC Advances*, 14(4), 2346-2353.