

# 國立臺灣海洋大學食品科學系碩士班

## 專題討論書面報告

### 適熱性重組木聚糖酶的特性及應用

授課老師：黃意真 老師

方銘志 老師

指導老師：方翠筠 老師

學 號：11132026

學 生：劉倚君

報告日期：112 年 3 月 1 日

內容	時間掌握	表達能力	投影片	書面資料
40%	10%	30%	10%	10%

指導教授：

# 適熱性重組木聚糖酶的特性及應用

劉倚君 (5109)

2023/3/1

## Outline

1. 前言
2. 於極端溫度溫泉中發現的新型木聚糖酶用於生產木聚寡糖及其特性。
3. pCold 輔助表現液化澱粉芽孢桿菌的熱穩定木聚糖酶：選殖和特性。
4. *Geobacillus vulcani* GS90 的新型熱穩定木聚糖酶：生產、生化特性及其應用在果汁濃縮中。
5. 結論

## 摘要

木聚糖為地球上僅次於纖維素的多醣，而木聚糖酶可水解木聚糖的  $\beta$ -1, 4-D-糖苷鍵，產生木聚寡糖 (xylooligosaccharide, XOS) 和木糖，但木聚糖酶的耐熱性較差，尤其是 GH10 家族，因此本次報告研究目的為透過重組木聚糖酶獲得耐熱性較佳的酵素，首先將新型木聚糖酶基因於大腸桿菌 BL21 (DE3) pLysS 表現 (*xynMI*); *Bacillus amyloliquefaciens* 的木聚糖酶 A 基因轉殖至 pCold-I 形成重組木聚糖酶 A (*rxynApC*); *Geobacillus vulcani* GS90 經選殖、培養及純化後獲得新型木聚糖酶 (*GvXyl*)。結果顯示，三個重組木聚糖酶以櫟木木聚糖作為基質時相對活性最高，而 *xynMI* 於 pH 7 和 80°C 時具最高相對活性，在金屬離子中  $Mn^{2+}$  活性最佳，因 *xynMI* 為內切酶，與基質作用後產生聚合度 2-6 的木聚寡糖，產量為 24% 至 32%。*rxynApC* 於 pH 8、70°C 和  $Zn^{+2}$  的環境下有最大相對活性，且熱穩定性極限溫度為 93.33°C，其催化位點包含四個重要的胺基酸為 Tyr<sup>166</sup>、Gly<sup>7</sup>、Try<sup>69</sup> 和 Arg<sup>112</sup>。*GvXyl* 純化後回收率為 68% 且純化濃縮至 3.88 倍，其於 pH 8、55°C 和  $Mn^{2+}$  的環境下活性最佳，此外，熱穩定性分析顯示在 90°C 下 120 分鐘，酵素活性仍具 60% 的相對活性，而將 *GvXyl* 應用於果汁中，蘋果汁和柳橙汁的產量分別增加 21.74% 和 12.12%，澄清度分別增加 36.44%T 和 17.74%T，還原糖分別增加 8.01% 和 7.56%。綜上所述，具耐高溫且耐酸鹼的酵素特性，於食品加工和工業發展的應用具有相當大的優勢，為具潛力之木聚糖酶。

## 参考文献

- Algan, M., Sürmeli, Y., & Şanlı-Mohamed, G. (2021). A novel thermostable xylanase from *Geobacillus vulcani* GS90: Production, biochemical characterization, and its comparative application in fruit juice enrichment. *Journal of Food Biochemistry*, *45*(5), e13716.
- Chadha, B. S., Kaur, B., Basotra, N., Tsang, A., & Pandey, A. (2019). Thermostable xylanases from thermophilic fungi and bacteria: current perspective. *Bioresource technology*, *277*, 195-203.
- Joshi, N., Sharma, M., & Singh, S. P. (2020). Characterization of a novel xylanase from an extreme temperature hot spring metagenome for xylooligosaccharide production. *Applied Microbiology and Biotechnology*, *104*(11), 4889-4901.
- Kumar, V., Marín-Navarro, J., & Shukla, P. (2016). Thermostable microbial xylanases for pulp and paper industries: trends, applications and further perspectives. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, *32*, 1-10.
- Qing, Q., & Wyman, C. E. (2011). Supplementation with xylanase and  $\beta$ -xylosidase to reduce xylo-oligomer and xylan inhibition of enzymatic hydrolysis of cellulose and pretreated corn stover. *Biotechnology for biofuels*, *4*, 1-12.
- Patel, D. K., & Dave, G. (2022). pCold-assisted expression of a thermostable xylanase from *Bacillus amyloliquefaciens*: cloning, expression and characterization. *3 Biotech*, *12*(10), 245.