文章编号:1673-1689(2007)06-0110-07

木聚糖酶的分子进化

刘亮伟[1]， 秦天苍[2]， 王 宝[1]， 刘全军[1]， 刘新育[1]， 王明道[1]
(1. 河南农业大学 生命科学学院，河南 郑州，450002；2. 河南投资集团有限公司，河南 郑州 450008)

摘 要：运用生物信息学方法，通过构建木聚糖酶进化树，研究了两个家族的分子进化，发现它们进化模式有差别，*F*/10 家族木聚糖酶在进化时间上较早，功能分化不太完全，具有部分糖苷酶属性，在分解产物中含有较多单糖；而 *G*/11 家族木聚糖酶在进化时间则相对较近，多在真菌中出现，功能分化较为完全，很少含有糖苷酶的属性，分解产物中低聚寡糖成分较多。*F*/10 木聚糖酶分子进化显示出生物进化来源于高温环境，热稳定性比 *G*/11 木聚糖酶高，这与它们三维结构的不同有关。所以，木聚糖酶的进化方向是：功能的进一步分化和底物特异性的进一步增加，这个结果对木聚糖酶的合理应用具有指导意义。

关键词：生物信息学；木聚糖酶；结构；分子进化
中图分类号：Q 55 **文献标识码**：A

Molecular Evolution of Xylanase

LIU Liang-wei[1]， QIN Tian-cang[2]， WANG Bo[1]， LIU Quan-jun[1]，
LIU Xin-yu[1]， WANG Ming-dao[1]
(1. College of Life Science HAV, Henan Agricultural University, Zhengzhou 450002, China; 2. Henan Investment Group Co. LTD, Zhengzhou 450008, China)

Abstract: A bioinformatics method was used to study the molecular evolution of xylanase. The evolution model was found to be different between *F*/10 and *G*/11 xylanase, this attributes to their different three-dimension structures. The evolutionary trend of xylanase function was hypothesized to be more divergent and more specific from promiscuity. *G*/11 xylanase was found to be a kind of more recent enzyme compared with *F*/10 xylanase, and the evolutionary route in F/10 xylanase indicated clearly that organism being evolved from eubacteria to fungi, and that xylanase came from a high temperature living organism.

Key words: bioinformatics; xylanase; structure; molecular evolution

---

木聚糖酶在工业和日常生活中都有重要作用，古代被人们间接地用来生产多种生活用品：酒、奶酪、面包[1]；在现代工业中用于生物漂白，降低化学漂白剂用量来减轻对环境污染[2]；研究发现漂白中

收稿日期：2006-12-12.
基金项目：河南省科技攻关项目(072102220001)；河南农业大学博士基金项目(BS200503).
作者简介：刘亮伟(1967-)，男，河南长葛人，工学博士，副教授，主要从事生物信息学研究.
Email: LLW321@yahoo.com.cn

万方数据

使用木聚糖酶处理后降低了 20%～40%漂白剂用量[2],用作饲料添加剂可以降低饲料的粘稠度从而提高饲料利用率[3];焙烤工业中使用可以改善面包质地、增加面包体积[4];在医学研究中发现与酶一过敏原有关联,可以作为模式分子研究真菌病原体发病的分子机理[5]。近年来研究更是被越来越多,筛选到新的产酶菌种[6-10],进行基因工程菌种的表达研究[11-12].

蛋白质序列分析可以为实验生物学提供有价值的指导,生物信息学在蛋白质分析中起到越来越重要的作用,所以笔者用木聚糖酶序列进行研究,分析了氨基酸序列同 G/11 木聚糖酶最适 pH 值的关系,找到相应氨基酸的位置[13]。利用主成份分析对两个家族进行了区分[14];分析了与木聚糖酶最适温度有关的氨基酸,并找到了有关氨基酸位置[15],并由此发现木聚糖酶的热稳定性在两个家族间采用了不同氨基酸[16]。

生物进化常常是人们感兴趣的问题,数据库中从不同来源微生物克隆了大量木聚糖酶,为研究木聚糖酶的分子进化提供了方便。分子进化是研究蛋白质分子之间亲缘关系和进化关系的主要手段,是通过分析蛋白质序列之间相似性来研究它们进化关系。通过序列比对获得蛋白质分子功能和亲缘关系,在同源性蛋白质相同位置上的氨基酸常常认为有共同祖先或具有相同生物功能,常作为保守性氨基酸来分析它们在蛋白质结构和功能上的重要作用。研究木聚糖酶分子进化,可以对它进行更加全面的了解。同时根据大量的木聚糖酶序列,分析它们在各个家族中的进化,为分子生物学和工业生产提供有价值的信息,所以研究了木聚糖酶的分子进化。

1　材料与方法

1.1　数据库的构建

从 Swiss-prot 蛋白质序列数据库收集木聚糖酶蛋白质序列(http:au. expasy. org)(2004 年 7 月 7 日发放号: 43.5)。这个数据库的优点是非冗余性、并经过专家认读,这样就保证了蛋白质序列的准确性,这个特性使得它在分析蛋白质序列方面非常有用。这里有 67 条与木聚糖酶有关的蛋白质序列。根据注释,有 30 条序列属于 F/10 木聚糖酶家族,30 条序列属于 G/11 木聚糖酶家族;两条序列是片断序列:P80717、P80718;两条属于水解酶 43 家族:P48791、P45796;一条属于水解酶 62 家族:P23031;一条属于水解酶 16 家族:Q53317。同时还有一条木聚糖酶(P29126)既有 F/10 木聚糖酶活性,又有 G/11 木聚糖酶活性;在蛋白质序列 N-端有 F/10 活性结构域,C-端有 G/11 活性结构域[17]。为研究木聚糖酶分子进化,选取 30 条 F/10 木聚糖酶加上双活性木聚糖酶,构成 F/10 木聚糖酶家族数据库;选取 30 条 G/11 木聚糖酶加上双活性木聚糖酶,构成 G/11 木聚糖酶数据库。这两个木聚糖酶家族的蛋白质序列在 Swiss-prot 数据库中的登录号如下:

F/10 木聚糖酶家族: P14768、O59859、P56588、P33559、P29417、P23360、Q00177、P26514、O60206、P07986、P07529、P23557、P23551、P51584、P26223、P07528、P40943、P40942、P36917、Q12603、P40944、Q60037、Q60042、P23556、P45703、P48789、P49942、P10478、Q60041、P23030、P29126。

G/11 木聚糖酶家族:P29127、P33557、P55328、P55329、P55331、P36218、P09850、P18429、P45705、P26220、P26515、P54865、P35809、P55334、Q06562、P81536、O43097、P36217、P48793、P48824、P55330、P55332、P55333、P00694、P17137、P33558、P83513、Q55317、P35811、Q12677、P29126。

1.2　进化树的构建

运用蛋白质序列分析软件 DNAMAN(4.0 版本)中多序列比对程序,构建木聚糖酶两个家族的进化树。分析过程中对木聚糖酶进行全长序列比对,在比对过程中用 BLOSUM62 作为蛋白质序列比对分析的权重。

1.3　木聚糖酶空间结构图的构建

运用 Swiss-pdbViewer 视图软件显示木聚糖酶的空间结构,木聚糖酶 P07986 晶体结构 1EXP 作为 F/10 木聚糖酶的代表,木聚糖酶 O43097 晶体结构 1YNA 作为 G/11 木聚糖酶的代表。

2　结果与讨论

2.1　F/10 木聚糖酶家族分子进化

用 DNAMAN 蛋白质序列分析软件构建 F/10 木聚糖酶进化树(图 1)。可以看出,有 F/10 木聚糖酶的微生物来源广泛。从海栖热袍菌(*Thermotoga maritima*)木聚糖酶 Q60037 到假单胞菌(*Pseudomonas fluorescens*)木聚糖酶 P14768,到真菌中的曲霉(*Aspergillus aculeatus*)木聚糖酶 O59859、青霉(*Penicillium simpilicissimum*)木聚糖酶 P56588,也有从反刍动物胃中分离出来的微生物(*Butyrivibrio fibrisolvens*)木聚糖酶 P26223。这个家族来源微生物跨越了很多微生物种类。根据

万方数据

亲缘关系大体上分为3个大组:中间和下面这2个组中木聚糖酶来源于细菌;而上面一组木聚糖酶有从细菌来源的,也有从真菌来源的。所有这3组木聚糖酶都与 *P. fluorescens* 木聚糖酶 P23030 和 *P. fluorescens* 木聚糖酶 P14768 相连,推测 *P. fluorescens* 为 F/10 木聚糖酶家族的祖先微生物。

从上面一组木聚糖酶的亲缘关系可见,木聚糖酶显示出从细菌到真菌的进化轨迹,这个组中热袍菌 *Thermotoga neapolitana* 处于该组的根部。因为它生活在温度较高的环境,同真菌(*Aspergillus*、*Penicillium*)和其它细菌(*Stremtomyces*、*Cellulomonas*)相比,推测 F/10 木聚糖酶家族的祖先微生物生活在一个温度较高环境中,同生物起源于高温环境的假说一致[18-19],它们的进化位置同全基因组所构建的微生物进化位置相一致[19]。下面一组微生物生活在一种较高的温度环境,如热袍菌 *T. neapolitana*、热袍菌 *T. maritima*、细菌 *Dictyoglomus Thermophillum*。这些微生物木聚糖酶最适活性温度也往往比较高,如热袍菌 *T. neapolitana* 木聚糖酶 Q60042 最适温度为 102 ℃;热袍菌 *T. maritima* 木聚糖酶 Q60037 最适温度为 90 ℃;细菌 *D. Thermophillum* 木聚糖酶 Q12603 最适温度为 85 ℃;*Clostridium stercorarium* 木聚糖酶 P40942 最适温度为 80 ℃。

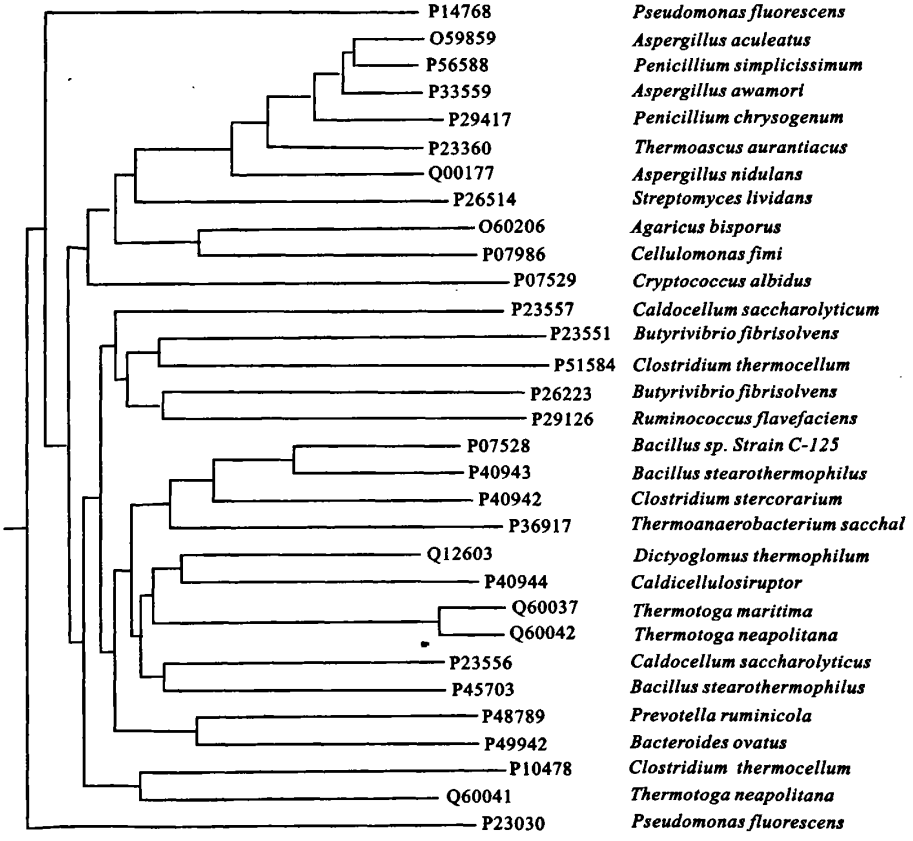


图1 F/10 木聚糖酶进化树

Fig. 1 Phylogenetic tree of xylanse in F/10 family

中间组的木聚糖酶来源于瘤胃生性微生物,包括具有 F/10 活性结构域和 G/11 活性结构域的双活性木聚糖酶 P29126[17];这个双活性现象可以通过基因复制、基因丢失、基因在水平方向上转移这个假说进行解释[20]。双活性木聚糖酶位于进化的中间位置。从逻辑角度分析,同下面那一组微生物相比,说明进化时间上相对较近。因为瘤胃性动物同下面的微生物类型相比,在进化时间上是一种相对较近期的哺乳动物。为了更加有效地利用植物,瘤胃生性微生物通过基因复制和基因水平转移来

万方数据

获得新基因。单个微生物常常含有不同水解酶家族的纤维素酶和木聚糖酶,这些微生物并不是完全通过基因复制来获得新基因,可以通过水平方向上的基因转移来获得新基因[21]。表明在 F/10 木聚糖酶分子进化过程中,基因转移不仅发生在细菌与细菌之间,同样也发生在细菌和真菌之间。因为在进化过程中,F/10 木聚糖酶进化树显示出在细菌和真菌这两个种群之间有相似性。如 *Cellulomonas fimi* 木聚糖酶 P07986 和 *Agaricus bispous* 木聚糖酶 O60206 之间显示出较高相似性;*Streptomyces lividans* 木聚糖酶 P26514 和 *Aspergillus nidulans* 木聚糖酶 Q00177 同 *Thermoascus aurantiacus* 木聚糖酶 P23360 及其以上真菌木聚糖酶有这种相似性。显示真菌类群中的木聚糖酶是从青霉和曲霉中来源的。但是青霉菌中木聚糖酶数目没有曲霉中木聚糖酶数目多,同时曲霉在真菌木聚糖酶组中处于进化位置更靠下部分,这个结果暗示着 F/10 木聚糖酶进化方向从细菌到曲霉,而后再转移到青霉里面,在曲霉里面进化时间比青霉里面进化时间相对要长。

2.2 G/11 木聚糖酶家族分子进化

经过对 G/11 木聚糖酶家族分子进化分析后,得到进化树(图 2)。显示出 G/11 木聚糖酶家族中,从真菌来源的木聚糖酶数目同细菌来源木聚糖酶的数量差不多,这显示 G/11 木聚糖酶主要分布在真菌中。G/11 木聚糖酶大致分 3 个大类:在上面一个类群中,只有从真菌来源的木聚糖酶;中间组有最大数量的木聚糖酶,在这一组中从真菌来源的木聚糖酶的数量同细菌来源木聚糖酶的数量基本相当;而下面一组木聚糖酶全部来源于细菌。这一组含有一些其它结构域的木聚糖酶:如 *Ruminococcus flavefaciens* 木聚糖酶 P29126 在 N-端有 F/10 活性结构域,在 C-端有 G/11 活性结构域[9];这个酶看作联系这两个家族的中间体,是联系这 2 个家族的桥梁。*R. flavefaciens* 木聚糖酶 Q53317 在 N-端有 G/11 木聚糖酶活性,在 C-端有水解酶 43 家族活性结构域。上组有厌氧真菌 *Neocallimaasix patriciarum*,是木聚糖酶 P29127 的来源微生物。根据全基因组序列分析结果,发现这种微生物在大约在 1460(±)70 百万年以前,从真菌中分离出来[19]。这一真菌微生物同下面一组瘤胃来源的木聚糖酶微生物关系比较近,这与它们的生存环境相似有关,是趋同进化的一种反映。

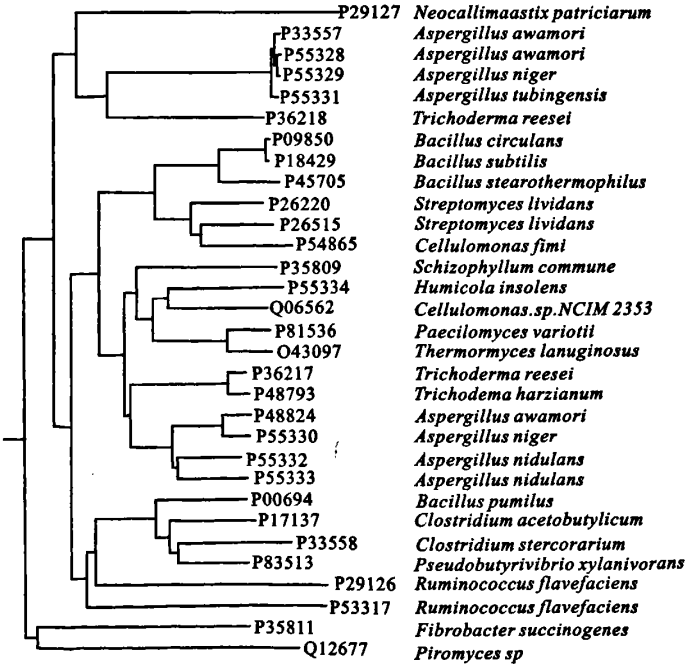


图 2　G/11 木聚糖酶的进化树

Fig. 2　Phylogenetic tree of xylanase in G/11 family

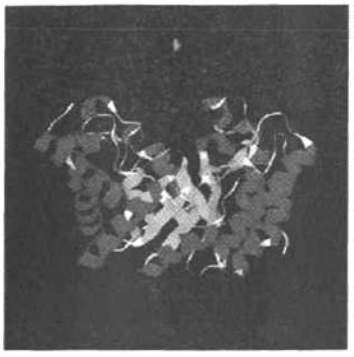
从 G/11 木聚糖酶家族进化树可以看出,这 3 个组木聚糖酶由根部的 Fibrobacter succinogenes 木聚糖酶 P35811 和 *Piromyces* sp. 木聚糖酶 Q12677 发出。认为是 G/11 木聚糖酶来源微生物

万方数据

的祖先，或者是同这两种微生物有密切的亲缘关系的祖先微生物。根据全基因组序列的进化树图可知，木聚糖酶 P29127 的来源微生物 *N. Patriciarum* 是很早从真菌中分离出来的真菌微生物[11]。根据 *Neocallimaastix* 木聚糖酶和 *Piromyces* 木聚糖酶分子之间的结构相似性，作为这两种微生物之间有密切关系的证据，并且说明它们之间有水平方向的基因转移。*Neocallimaastix* 木聚糖酶包含复制的催化结构域，并且这两个结构域都有催化活性；而 *Piromyces* 木聚糖酶只有 C-端有催化活性[22]。从这里 *G*/11 木聚糖酶的进化树图可以看出，这两个木聚糖酶的亲缘关系非常紧密，是所有 *G*/11 木聚糖酶的根源。这两种微生物推测为 *G*/11 木聚糖酶来源微生物祖先。此后，*G*/11 木聚糖酶基本上是在真菌和细菌微生物内部进行各自独立的进化过程。同 *F*/10 木聚糖酶相比，*G*/11 木聚糖酶比较集中在几种微生物之间。根据这种结果，同 *F*/10 木聚糖酶相比，*G*/11 木聚糖酶推测为一种在进化地位上时间较近的酶。因为它没有 *F*/10 木聚糖酶那样足够的时间扩展到其它微生物中去，在进化上只有一个相对较短的进化时间。

2.3 两个木聚糖酶家族之间的比较

从上面分析可以看出，*F*/10 木聚糖酶在较多微生物种类中存在，暗示这种木聚糖酶基因有一个较长的进化时间。*F*/10 木聚糖酶的三维结构是 (β/α)8 折叠桶（图 3），以木聚糖酶 P07986 的晶体结构 1EXP1 为例来构建 *F*/10 木聚糖酶空间结构。蛋白质的这种折叠结构在高温环境下有较好稳定性；这种折叠桶结构构成了许多蛋白酶，大约有 13% 的蛋白酶拥有这种空间结构折叠类，而 *G*/11 木聚糖酶右手半握状折叠类只在约 6% 的蛋白质中存在。



在 PDB 登录号：1EXP1

图 3 *F*/10 木聚糖酶结构

Fig. 3 The structure of *F*/10 xylanase

在 *G*/11 木聚糖酶家族中，以木聚糖酶 O43097 晶体结构 1YNA 为例制作空间结构图，如图 4 所示。与 F/10 木聚糖酶结构相比，这种右手半握状结构看起来有更大弹性，不如 (β/α)8 折叠桶类型稳定。根据它们在微生物中的扩展情况来看，显示出 *G*/11 木聚糖酶有相对较短的进化时间，在进化时间上是个较新的酶。因为它们主要来源于真菌并且仅仅存在于较少几个微生物种类，基因向其它微生物扩展时间较短，不如 *F*/10 木聚糖酶有那么长的扩展时间，*F*/10 存在的微生物种类也较多。另外一个让人感兴趣的现象是 *F*/10 木聚糖酶在 Trichoderma 这类真菌中没有出现，而 *G*/11 木聚糖酶在 Penicillum 这类真菌微生物中没有出现。这种基因分布现象可能是由于这两种木聚糖酶在不同微生物中有不同的进化方式所造成。

在 PDB 登录号：1YNA

图 4 *G*/11 木聚糖酶结构

Fig. 4 The structure of *G*/11 xylanase

比较这 2 个家族不同的产物，显示出 *F*/10 木聚糖酶结合底物位点数目要比 *G*/11 木聚糖酶底物结合位点小一些。可以结合更小的底物，相应在产物方面会有更加小的寡聚糖产物[23]。*F*/10 木聚糖酶能够结合底物 4 个位点，而 *G*/11 木聚糖酶需要多于 4 个底物结合位点。并且 *F*/10 木聚糖酶有对多样化底物的结合功能，同时显示有部分木糖苷酶活性[24]；而这些木糖苷酶活性使 *F*/10 木聚糖酶产物中有部分木糖。从对底物的结合来看，*F*/10 木聚糖酶需要 2 个未替代的木糖吡喃残基，而 *G*/11 木聚糖酶需要 3 个连续的未替代木糖吡喃残基[25]。从进化地位上讲，细菌要比真菌进化地位低等，它们在代谢中需要比真菌更基本的酶，这些酶的分化没有像在真菌里面那样分化完全。*F*/10 家族木聚糖酶有部分木糖苷酶活性，可以将木聚糖降解为单糖而直接被微生物利用。

万方数据

G/11 木聚糖酶主要存在于像真菌这样较为高等微生物中，代谢酶的功能已经有了分化。其功能将木聚糖酶降解为寡聚木糖，要进一步降解为单糖，则需要特异性更强的木糖苷酶参与。所以木糖苷酶在细菌中报道很少，仅仅在 *Bacillus sp* 中报道显示有木糖苷酶活性[26]；但是木糖苷酶在真菌中则有较多报道[21]，所以推测木聚糖酶向底物更加特异性和功能进一步分化的方向进化。这种结果可由文献研究佐证，F/10 木聚糖酶中酶体积较大，它的构象弹性也较大，但是在底物的特异性结合方面则较低[23]。相比而言，G/11 木聚糖酶对底物的特异性要高于 F/10 木聚糖酶。从这个特性来看，如果要在生产寡聚糖时对底物的特异要求比较高的话，G/11 木聚糖酶是较好的选择。相应地，如果对酶热稳定性要求比较高，F/10 木聚糖酶比较容易达到要求。如果对木聚糖酶的这两种特性要求都比较高，可以采用蛋白质工程的手段来对 G/11 木聚糖酶加以改造来满足生产过程的需要：如可以在 α-螺旋的 C-端弹性较高位置引进二硫键来增加酶热稳定性。

3　展　望

研究了木聚糖酶的分子进化，发现在 F/10 木聚糖酶家族进化树图中显示出木聚糖酶由细菌到真菌的进化路线，这个家族木聚糖酶的来源微生物跨越了较多的微生物种类。F/10 木聚糖酶采用(β/α)8 折叠桶结构是蛋白酶中比较常用的空间结构，显示出它经历了一个较长的进化时间。与 F/10 木聚糖酶相比，G/11 木聚糖酶是一个相对较晚期的木聚糖酶类型，由于这两种木聚糖酶在空间结构上的不同，所以它们在稳定性方面有很大不同。木聚糖酶 P29126 作为这两个家族的联系桥梁。经过对这两种木聚糖酶不同功能和产物分析，推测木聚糖酶向底物的特异性和功能的进一步分化方向进化。这个结果明确地解释了 F/10 木聚糖酶在功能方面特异性较低，而在水解产物方面有较多单糖的现象，这是木聚糖酶应用过程中令人困惑的问题。

参考文献(References)：

[1] Beg QK, Kapoor M, Mahajan L. Microbial xylanases and their industrial applications: a review[J]. **Appl Microbiol Biotechnol**, 2001,56:326－338.

[2] Vicuna R, Escobar F, Osses M. Bleaching of eucalyptus kraft pulp with commercial xylanases[J]. **Biotechnol Lett**, 1997, 19:575－578.

[3] Teleman A, Tenkanen M, Jacobs A. Characterization of O-acetyl-(4-O-methylglucurono) xylan isolated from birch and beech[J]. **Carbohydr Res**, 2002,337:373－377.

[4] Courtin C M, Roelants A, Delcour J A. Fractionation-reconstitution experiments provide insight into the role of endoxylanases in bread-making[J]. **J Agric Food Chem**, 1999,47:1870－1877.

[5] Kumar PR, Eswaramoorthy S, Vithayathil P J. The tertiary structure at 1.59 resolution and the proposed amino acid sequence of a family-11 xylanase from the thermophilic fungus paecilomyces varioti Bainier[J]. **J Mol Biol**, 2000,295:581－593.

[6] 邬敏辰，符丹丹，朱劼，等. 宇佐美曲霉木聚糖酶的纯化和性质[J]. 食品与生物技术学报，2005，24(6)：29－33.
WU Min-chen, FU Dan-dan, ZHU Jie, et al. Purification and some properties of two xylanases from *Aspergillus usamii* [J]. **Journal of Food Science and Biotechnology**, 2005, 24(6): 29－33. (in Chinese)

[7] 张年凤，赵允麟，黑曲霉产木聚糖酶的特性 [J]无锡轻工大学学报：食品与生物技术，2003，22(5)：38－41.
ZHANG Nian-feng, ZHAO Yun-li. Studies on the xylanase producer aspergillus niger[J]. **Journal of Wuxi University of Light Industry: Food Science and Biotechnology**, 2003, 22(5): 38－41. (in Chinese)

[8] 胡沂淮，李迅，邵蔚蓝. 草菇木聚糖酶 SDS—PAGE 后的复性及活性染色 [J]. 无锡轻工大学学报：食品与生物技术，2003，22(5)：102－110.
HU Yi-huai, LI Xun, SHAO Wei-lan. Renaturation and active staining of xylanase from volvariella volvacea after SDS-PAGE[J]. **Journal of Wuxi University of Light Industry: Food Science and Biotechnology**, 2003, 22(5): 102－110. (in Chinese)

[9] 李江华，房峻. 半纤维素酶高产菌种的选育及产酶条件[J]. 无锡轻工大学学报：食品与生物技术，2004，23(4)：48－52.
LI Jiang-hua, FANG Jun. Breeding of hemicellulase overproducting strain and conditions for hemicellulase production[J]. **Journal of Wuxi University of Light Industry: Food Science and Biotechnology**, 2004, 23(4): 48－52. (in Chinese)

[10] 袁小平，姚惠源. 木聚糖酶的纯化及其对小麦麸皮的作用[J]. 食品与生物技术学报，2005，24(3)：19－23.

万方数据

YUAN Xiao-ping, YAO Hui-yuan. Purification of endoxylanases from bacillus subtilis and their actions on wheat bran (*Bacillus subtilis*)[J]. **Journal of Food Science and Biotechnology**, 2005, 24(3): 19－23. (in Chinese)

[11] 薛业敏，曹建平，毛忠贵，等. 木聚糖酶基因在大肠杆菌中的表达及表达蛋白的纯化[J]. 无锡轻工大学学报：食品与生物技术，2003，22(3)：57－61.

XUE Ye-min, CAO Jian-ping, MAO Zhong-gui, et al. Expression of xylanase B gene of thermotoga maritima in *Escherichia coli*[J]. **Journal of Wuxi University of Light Industry: Food Science and Biotechnology**, 2003, 22(3): 57－61.

[12] 裴建军，李迅，李相前，等. 大肠杆菌生产重组极耐热木聚糖酶的诱导条件及其酶学性质[J]. 无锡轻工大学学报：食品与生物技术，2004，23(4)：94－97.

PEI Jian-jun, LI Xun, LI Xiang-qian, et al. Inducement condition of recombinated thermostable xylanase expressed in *E. coli*[J]. **Journal of Wuxi University of Light Industry: Food Science and Biotechnology**, 2004, 23(4): 94－97. (in Chinese)

[13] Liu L, Li X, Li X, et al. Computational analysis of responsible dipeptides for optimum pH in G/11 xylanase[J]. **Biochem Biophys Res Commun**, 2004, 321: 391－396.

[14] Liu L, Zhang J, Chen B, et al. Principle component analysis in F/10 and G/11 xylanase[J]. **Biochem Biophys Res Commun**, 2004, 322: 277－280.

[15] Liu L, Wang M, Shao W, et al. A novel model to calculate dipeptides responsible for optimum temperature in F/10 xylanase[J]. **Process Biochem**, 2005, 40: 1389－1394.

[16] 刘亮伟，张革新，贺铁明，等. F/10 和 G/11 木聚糖酶家族的不同热稳定性机制[J]. 食品与生物技术学报，2005，24(4)：52－58.

LIU Liang-wei, ZHANG Ge-xin, HE Tie-ming, et al. Different thermostable mechanisms of *F*/10 and *G*/11 xylanase Family[J]. **Journal of Food Science and Biotechnology**, 2005, 24(4): 52－58. (in Chinese)

[17] Zhang J X, Flint H J. A bifunctional xylanase encoded by the xynA gene of the rumen cellulolytic bacterium *Ruminococcus flavefaciens* 17 comprises two dissimilar domains linked by an asparagine/glutamine-rich sequence[J]. **Mol Microbiol**, 1992, 6: 1013－1023.

[18] Brown J R, Douady C J, Italia M J. Universal trees based on large combined protein sequence data sets[J]. **Nat Genet**, 2001, 28: 281－285.

[19] Hedges S B. The origin and evolution of model organisms[J]. **Nat Rev Genet**, 2002, 3: 838－849.

[20] Nelson KE, Clayton RA, Gill SR. Evidence for lateral gene transfer between Archaea and Bacteria from genome sequence of *Thermotoga maritima*[J]. **Nature**, 1999, 399: 323－329.

[21] Gilbert H J, Hazlewood G P. Bacterial cellulases and xylanases[J]. **J Gen Microbiol**, 1993, 139: 187－194.

[22] Fanutti C, Ponyi T, Black G W. The conserved noncatalytic 40-residue sequence in cellulases and hemicellulases from anaerobic fungi functions as a protein docking domain[J]. **J Biol Chem**, 1995, 270: 29314－29322.

[23] Jeffries T W. Biochemistry and genetics of microbial xylanases[J]. **Curr Opin Biotechnol**, 1996, 7: 337－342.

[24] Biely P, Vrsanska M, Tenkanen M. Endo-beta-xylanases families: differences in catalytic properties[J]. **J Biotechnol**, 1997, 57: 151－166.

[25] Biely P, Markovik O, Mislovicova D. Sensitive detection of endo-1,4-glucanases and endo-1,4-xylanases in gels[J]. **Anal Biochem**, 1985, 144: 147－151.

[26] La-Grange D C, Claeyssens M, Pretorius I S. Coexpression of the *Bacillus* pumilus beta-xylosidase (xynB) gene with the Trichoderma reesei beta-xylanase-2 (xyn2) gene in the yeast *Saccharomyces* cerevisiae[J]. **Appl Microbiol Biotechnol**, 2000, 54: 195－200.

（责任编辑：杨 萌）

万方数据