

# 耐热木聚糖酶基因 $xyn11^{\text{EM}}$ 在大肠杆菌中的表达

何 瑶<sup>1</sup>, 殷 欣<sup>1</sup>, 吴 芹<sup>1</sup>, 邬敏辰<sup>\*2</sup>

(1. 江南大学 生物工程学院,江苏 无锡 214122;2. 江南大学 无锡医学院,江苏 无锡 214122)

**摘要:** 将人工合成经密码子优化的 11 家族耐热木聚糖酶基因  $xyn11^{\text{EM}}$  克隆至表达质粒 pET-28a(+) 中, 获得重组质粒 pET-28a-xyn11<sup>EM</sup>。将其转化 *Escherichia coli* BL21(DE3), 构建表达耐热木聚糖酶的重组工程菌 *E. coli* BL21/xyn11<sup>EM</sup>。用 IPTG 诱导表达重组木聚糖酶 Xyn11<sup>EM</sup> (reXyn11<sup>EM</sup>), 酶活性可达 47.5 U/mL。SDS-PAGE 分析显示, reXyn11<sup>EM</sup> 的表观相对分子质量为 24 800。reXyn11<sup>EM</sup> 的最适反应温度为 70 °C, 在 70 °C 以下稳定。最适反应 pH 为 6.5~7.0, 在 pH 5.0~8.0 范围内稳定。大多数金属离子和 EDTA 对该重组酶的活性影响不大。reXyn11<sup>EM</sup> 的  $K_m$  和  $V_{\text{max}}$  值分别为 7.2 mg/mL 和 54.7 U/mg。结果表明  $xyn11^{\text{EM}}$  成功在 *E. coli* 中实现了异源表达, 其良好的热稳定性具有较好的工业应用潜力。

**关键词:** 耐热木聚糖酶; 大肠杆菌; 表达; 酶学性质

中图分类号:Q 786 文献标志码:A 文章编号:1673—1689(2016)09—0935—06

## Expression of the Thermotolerant Xylanase Gene $xyn11^{\text{EM}}$ in *Escherichia coli*

HE Yao<sup>1</sup>, YIN Xin<sup>1</sup>, WU Qin<sup>1</sup>, WU Minchen<sup>\*2</sup>

(1. School of Biotechnology, Jiangnan University, Wuxi 214122, China; 2. Wuxi Medicine School, Jiangnan University, Wuxi 214122, China)

**Abstract:** A codon-optimized gene (named  $xyn11^{\text{EM}}$ ), which encodes a thermostable xylanase belonging to the glycoside hydrolase family 11, was synthesized, and cloned into the expression plasmid pET-28a (+). The recombinant *Escherichia coli* (designated *E. coli* BL21/xyn11<sup>EM</sup>), expressing the thermostable xylanase, was constructed by transforming the recombinant plasmid, pET-28a-xyn11<sup>EM</sup>, into *E. coli* BL21 (DE3). The recombinant *E. coli* BL21/xyn11<sup>EM</sup> was induced with IPTG to express reXyn11<sup>EM</sup>. The reXyn11<sup>EM</sup> activity reached 47.5 U/mL. The apparent molecular weight of reXyn11<sup>EM</sup> was estimated to be 24 800 by SDS-PAGE analysis. Its optimal temperature and pH were 70 °C and 7.0, respectively. It was stable at a temperature of 70 °C or below, and at a pH range of 5.0~8.0. Its activity was not significantly affected by most of metal ions tested and EDTA. The  $K_m$  and  $V_{\text{max}}$  of reXyn11<sup>EM</sup> toward birchwood xylan were 7.2 mg/mL and 54.7 U/mg. The excellent thermostability of reXyn11<sup>EM</sup> make it has great potential in industrial application.

**Keywords:** thermostable xylanase, *Escherichia coli*, expression, enzymatic characterization

收稿日期: 2014-01-09

基金项目: 国家自然科学基金项目(31271811)。

\* 通信作者: 邬敏辰(1962—), 男, 江苏无锡人, 理学博士, 教授, 博士研究生导师, 主要从事酶工程与基因工程方面的研究。

E-mail: bioch@163.com

内切  $\beta$ -1,4-木聚糖酶(endo- $\beta$ -1,4-xylanase, EC 3.2.1.8)简称木聚糖酶,它是一种重要的工业用酶,主要作用于木聚糖主链,随机切割木聚糖内部的  $\beta$ -1,4 糖苷键,水解产物主要为不同聚合度的木寡糖和少量木糖,是木聚糖降解酶系中最关键的酶。根据酶蛋白质一级结构同源性比对和疏水簇分析,绝大多数木聚糖酶归属于糖苷水解酶(GH) 10 和 11 家族<sup>[1]</sup>。相对于其他 GH 家族,11 家族木聚糖酶具有底物特异性高,相对分子质量低(<30 000),单一催化结构域等特征,其空间结构主要由两个反向平行的  $\beta$ -折叠片层 A、B 和一个  $\alpha$ -螺旋构成,呈右手半握形状<sup>[2]</sup>。

木聚糖酶广泛应用于食品、造纸、饲料、纺织、能源及功能性寡聚木糖生产等诸多工业领域<sup>[3]</sup>,而在饲料制粒、纸浆漂白等工艺中要求酶具备耐高温的特性,因此耐热木聚糖酶的研究引起了国内外学者的高度重视。Bajaj 等<sup>[4]</sup>从 *Streptomyces* sp. SU9 中分离到一种耐热木聚糖酶(最适温度 80 ℃)。Ko 等<sup>[5]</sup>将 *Paenibacillus campinasensis* BL11 耐热木聚糖酶基因在大肠杆菌中进行了表达和性质研究。Li 等<sup>[6]</sup>将耐热木聚糖酶基因 *Syxyn11P* 和 *Syxyn11E* 分别在毕赤酵母 (*Pichia pastoris*) GS115 和大肠杆菌 (*Escherichia coli*) BL21(DE3)中进行了表达和性质研究。薛业敏等<sup>[7]</sup>将 *Thermotoga maritima* 极端耐热木聚糖酶基因在大肠杆菌中实现了高效表达。大肠杆菌表达系统具有繁殖快、易于培养、遗传稳定、操作简单和易于工业化生产等特点,因此在木聚糖酶的研究中备受关注<sup>[8]</sup>。

Cheng 等<sup>[9]</sup>克隆了来源于嗜热裂孢菌 (*Thermobifida fusca*) NTU22 菌株的木聚糖酶基因 *xyl11*(GenBank 登录号 AY795559),该基因依次编码着信号肽的 42 个氨基酸、催化域的 189 个氨基酸、连接肽的 21 个氨基酸以及结合域的 86 个氨基酸。作者将编码该耐热酶催化域 189 个氨基酸的基因根据大肠杆菌对密码子的偏好性进行优化,并命名为 *xyn11<sup>EM</sup>*,采用人工方法合成 *xyn11<sup>EM</sup>* 基因。将该基因在大肠杆菌 *E. coli* BL21(DE3)中进行异源表达,并对重组木聚糖酶的酶学性质进行研究,为耐热酶的工业化生产及应用提供依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 菌株、质粒和培养基

*E. coli* JM109、BL21 (DE3) 和表达质粒 pET-

28a (+):Novagen 公司; 克隆质粒 pUCm-T: 上海 Sangon 公司; LB 培养基:1 g/dL Tryptone、0.5 g/dL Yeast Extract 和 1 g/dL NaCl(固体培养基添加 2 g/dL 琼脂粉)。

### 1.2 工具酶和主要试剂

各种限制性内切酶、*rTaq* DNA 聚合酶、T4 DNA 连接酶、250 bp DNA Ladder Marker 和低相对分子质量蛋白质 Marker: 大连 TaKaRa 公司; IPTG、Tryptone、Yeast Extract 和 EZ-10 Spin Column DNA Gel Extraction Kit: 上海 Sangon 公司; 考马斯亮蓝 R-250、标准木糖和桦木木聚糖:Sigma 公司; 其他试剂均为国产或进口分析纯。

### 1.3 密码子优化及基因 *xyn11<sup>EM</sup>* 合成

不同的宿主细胞对密码子有不同的偏爱性。依照密码子的偏好性对编码外源蛋白质的基因进行密码子优化能够有效地提高外源蛋白质的表达量<sup>[10]</sup>。为高效表达木聚糖酶,参照宿主细胞 *E. coli* 的密码子偏爱性表对源自嗜热裂孢菌木聚糖酶催化域基因中的稀有密码子进行替换,并在基因 5' 和 3' 端分别添加 *EcoR* I 和 *Not* I 酶切位点。将密码子优化后的基因命名为 *xyn11<sup>EM</sup>* (GenBank 登录号: KP119615),由上海 Sangon 公司合成并与 pUCm-T 连接,获重组质粒 pUCm-T-*xyn11<sup>EM</sup>*。

### 1.4 重组表达质粒的构建

将重组质粒 pUCm-T-*xyn11<sup>EM</sup>* 用 *EcoRI* 和 *NotI* 双酶切,割胶回收目的基因 *xyn11<sup>EM</sup>*,与经同样双酶切处理的表达质粒 pET-28a(+)连接,转化 *E. coli* BL21(DE3)感受态细胞,并将空质粒 pET-28a(+)转化 *E. coli* BL21(DE3)作对照,经通用引物(T7-F 和 T7-R) PCR 筛选鉴定后,送上海 Sangon 公司测序,测序正确的重组表达质粒命名为 pET-28a-*xyn11<sup>EM</sup>*,对应的阳性转化子命名为 *E. coli* BL21/*xyn11<sup>EM</sup>*。

### 1.5 基因 *xyn11<sup>EM</sup>* 在 *E. coli* BL21(DE3) 中的表达及表达产物的纯化

将 *E. coli* BL21/*xyn11<sup>EM</sup>* 接种于 2.0 mL 含卡那霉素(100  $\mu$ g/mL)的 LB 培养基中,于 37 ℃、220 r/min 振荡培养,再以体积比 1:50 的比例转接于 30 mL 含卡那霉素的新鲜 LB 培养基中,220 r/min 离心,待 OD<sub>600</sub> 达 0.6~0.8 时,加入 IPTG 至终浓度为 0.5 mmol/L,20 ℃诱导培养 8 h。将培养液在 4 ℃下于 8 000 r/min 离心 10 min,收集部分菌体加 5×SDS

蛋白电泳加样缓冲液溶解,振荡混匀,100 ℃煮沸5 min后,进行SDS-PAGE电泳,分离胶和浓缩胶的质量浓度分别为12 g/dL和5 g/dL。另将菌体沉淀,用15 mL磷酸氢二钠-柠檬酸缓冲液(pH 7.0)悬浮,冰浴超声破碎细胞,超声条件为:超声破碎3 s,间隔5 s,200次;然后10 000 r/min离心10 min,所得上清液为粗酶液,将破碎后所得的上清和沉淀均进SDS-PAGE检测。在4 ℃下,用Ni-NAT亲和层析柱纯化目的蛋白质,取5 mL粗酶液,加入经结合液预处理的Ni-NAT琼脂糖柱上,4 ℃静置2 h;流川并用结合液清洗去除杂质和杂蛋白质;用洗脱液(500 mmol/L NaCl;250 mmol/L咪唑;20 mmol/L Tris-HCl;pH 7.9)洗脱,收集洗脱液,经透析后获得纯化的reXyn11<sup>EM</sup>。将纯化后的reXyn11<sup>EM</sup>进行SDS-PAGE电泳分析。

### 1.6 木聚糖酶活性测定

采用改进的DNS法<sup>[11]</sup>,在2.4 mL质量分数为0.5%木聚糖溶液(由pH 7.0的Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>-柠檬酸缓冲液配制)中加入0.1 mL适当稀释的酶液,65 ℃下反应15 min,加入2.5 mL DNS试剂终止反应,沸水浴中显色7 min,测定OD<sub>540</sub>。在测定条件下(65 ℃、pH 7.0),以每分钟产生1 μmol还原糖所需的酶量定义为1个酶活单位(U)。以牛血清蛋白作为标准蛋白,采用Bradford法测定蛋白质浓度<sup>[12]</sup>。

### 1.7 酶学性质的测定

**1.7.1 重组木聚糖酶最适反应温度及温度稳定性** 取适当稀释的酶液于50~80 ℃下进行反应,每隔5 ℃按常规方法测定酶活,以酶活最高者为100%,绘制温度-相对酶活性曲线;将酶液分别置于70、75、80 ℃保温10、20、30、40、50、60 min,按常规方法测定残余酶活性,以未保温(0 min)酶液的酶活性为100%,绘制时间-残余酶活性曲线。

**1.7.2 重组木聚糖酶的最适反应pH及pH稳定性** 在65 ℃下分别测定reXyn11<sup>EM</sup>在不同pH值下的酶活性,以酶活力最高者为100%,绘制pH-相对酶活性曲线;将酶液置于不同pH值缓冲液中于40 ℃保温1 h,再按常规方法分别测定残余酶活性,以酶活力最高者为100%,绘制pH-相对酶活性曲线。当残余酶活达到85%以上,即定义为稳定。反应所用的缓冲液为:0.2 mol/L磷酸氢二钠-柠檬酸缓冲液(pH 3.5~8.0)和0.05 mol/L甘氨酸-氢氧化钠缓冲液(pH 8.0~9.0)。

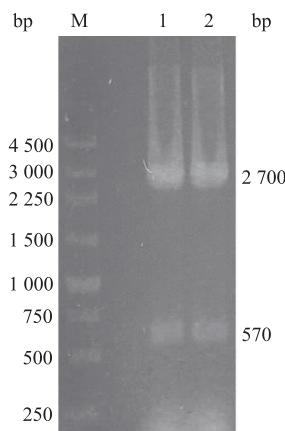
**1.7.3 金属离子和EDTA对酶活性的影响** 将酶液与不同金属离子或EDTA(终浓度为2.0 mmol/L)混合后于40 ℃保温1 h,按常规方法测定残余酶活性,以不加金属离子的酶活性为100%,残余酶活与其比值为相对酶活。

**1.7.4 动力学参数的测定** 分别以不同质量浓度(1.0~10.0 mg/mL)的木聚糖溶液(pH 7.0)为底物,在酶的最适反应温度下测定酶活性,按Lineweaver-Burk法作图,计算重组酶的K<sub>m</sub>和V<sub>max</sub>。

## 2 结果与讨论

### 2.1 重组表达质粒pET-28a-xyn11<sup>EM</sup>的构建

按照1.4中的方法,将pUCm-T-xyn11<sup>EM</sup>用EcoR I和Not I进行双酶切,并进行琼脂糖凝胶电泳分析,见图1。在2.7 kb和570 bp处均可见DNA条带,分别为线性化的pUCm-T和目的基因xyn11<sup>EM</sup>,将570 bp的条带割胶回收后与经同样双酶切的质粒pET-28a(+)连接过夜,转化E. coli BL21(DE3)。经通用引物鉴定后,筛选得到重组质粒pET-28a-xyn11<sup>EM</sup>,测序结果与预期一致。



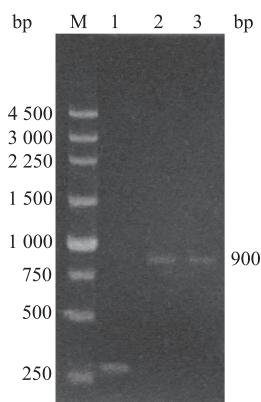
M:250 bp DNA Marker;1~2:pUCm-T-xyn11<sup>EM</sup>双酶切产物

Fig. 1 Double digestion of pUCm-T-xyn11<sup>EM</sup> by EcoR I and Not I

### 2.2 大肠杆菌重组子的鉴定

以E. coli BL21/xyn11<sup>EM</sup>菌液为模板,利用通用引物(T7-F和T7-R)做菌液PCR验证,PCR产物经质量分数1%琼脂糖凝胶电泳分析,见图2。E. coli BL21/xyn11<sup>EM</sup>的PCR产物的大小为900 bp左右(图2泳道2~3),而对照组E. coli BL21/pET-28a PCR产物大小为300 bp左右(图2泳道1),表明

*xyn11<sup>EM</sup>* 已整合到 *E. coli* BL21/*xyn11<sup>EM</sup>* 基因组内。



M: 250 bp DNA Ladder Marker; 1: *E. coli* BL21/pET-28a; 2~3: *E. coli* BL21/*xyn11<sup>EM</sup>*

图 2 大肠杆菌重组子 PCR 验证

Fig. 2 Verification of *E. coli* transformants by PCR

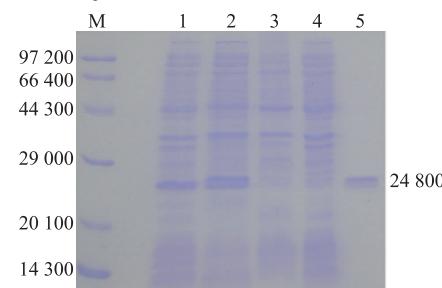
### 2.3 重组木聚糖酶的表达和纯化

挑选 *E. coli* BL21/*xyn11<sup>EM</sup>* 和 *E. coli* BL21/pET-28a 菌落, 用 IPTG 诱导表达 8 h, 离心收集重组大肠杆菌菌体, 经超声破碎后, 离心所得上清液为粗酶液, 用改良的 DNS 法测定木聚糖酶活性。结果显示, *E. coli* BL21/*xyn11<sup>EM</sup>* 粗酶液活性可达 47.5 U/mL, 而 *E. coli* BL21/pET-28a 并没有检测到木聚糖酶活性。将所得粗酶液用镍金属螯合层析柱纯化后透析获得纯化的 reXyn11<sup>EM</sup>, 测得比酶活为 55 U/mg。SDS-PAGE 结果显示, 超声破碎后离心收集的沉淀中几乎无目的蛋白质而上清液中目的蛋白质条带明显, 表明超声破碎效果较好(图 3 淘道 2~3), *E. coli* BL21/*xyn11<sup>EM</sup>* 表达产物的表观相对分子质量约为 24 800(图 3 淘道 1~2, 5), 而对照 *E. coli* BL21/pET-28a 在 24 800 处无条带(图 3 淘道 4), 纯化后的 reXyn11<sup>EM</sup> 呈单一条带(图 3 淘道 5)。

### 2.4 重组木聚糖酶酶学性质

**2.4.1 酶的最适反应温度及热稳定性** 由图 4(a)可以看出, 在 65~75 °C 范围内 reXyn11<sup>EM</sup> 有较高的催化活性, 其最适反应温度为 70 °C; 由图 4(b)可知, reXyn11<sup>EM</sup> 具有较好的热稳定性, 70 °C 保温 60 min 可保留 78.2% 的酶活性; 在 75 °C 的半衰期( $t_{1/2,75}$ )为 54 min, 保温 60 min 仍可保留 46.8% 的酶活性。80 °C 下的半衰期( $t_{1/2,80}$ )为 28 min, 保温 60 min 仍可保留 28.6% 的酶活性。Cheng 等<sup>[9]</sup> 将耐热酶基因 *xyl11* 在毕赤酵母 (*P. pastoris*) KM71H 中进行了表达, 结果表明: 最适反应温度为 70 °C, 在 70 °C 下保

温 60 min, 可保留 90% 以上的酶活性; 保温 3 h, 残余酶活还剩 70% 多。前者与后者相比, 最适反应温度相同, 但热稳定性稍差。这可能是由于基因 *xyl11* 中包含了一段编码 C 端结合域的序列, 而 C 端结合域可能对酶的稳定性起到了积极的作用<sup>[13~14]</sup>; 也可能与 *xyl11* 在毕赤酵母 KM71H 表达的过程中发生了 N-糖基化有关, N-糖基化对温度稳定性的提高起到了作用<sup>[15]</sup>。



M: 低相对分子质量蛋白质 Marker; 1: *E. coli* BL21/*xyn11<sup>EM</sup>* 的菌体; 2: *E. coli* BL21/*xyn11<sup>EM</sup>* 破碎后上清液; 3: *E. coli* BL21/*xyn11<sup>EM</sup>* 破碎后沉淀; 4: *E. coli* BL21/pET-28a; 5: 纯化后的 reXyn11<sup>EM</sup>

图 3 表达产物 SDS-PAGE 分析

Fig. 3 SDS-PAGE analysis of expressed products

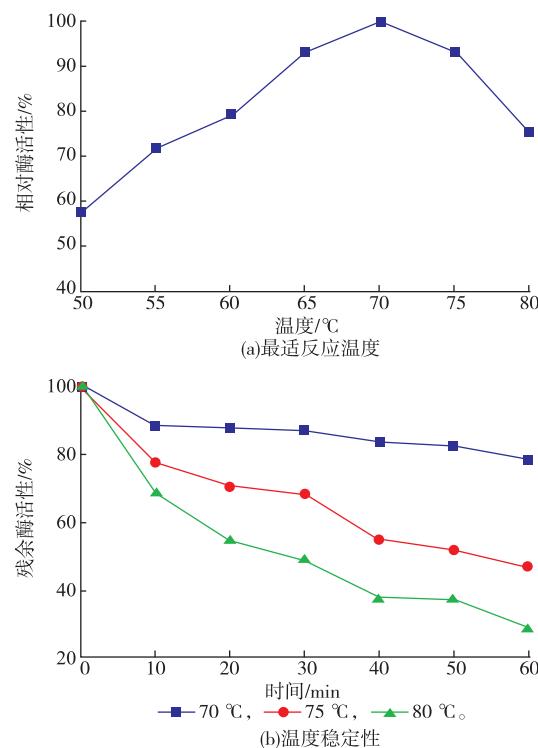


图 4 reXyn11<sup>EM</sup> 最适反应温度及温度稳定性

Fig. 4 Optimal temperature and thermostability of reXyn11<sup>EM</sup>

**2.4.2 酶的最适反应 pH 及 pH 稳定性** *reXyn11<sup>EM</sup>* 的最适反应 pH 和 pH 稳定性见图 5。在 pH 5.5~7.0 的范围内, *reXyn11<sup>EM</sup>* 的催化活性较高, 最适反应 pH 为 6.5~7.0, 与已有文献报道一致<sup>[9]</sup>。该酶在 pH 5.0~8.0 的范围内稳定, 当 pH 低于 5.0 或高于 8.0 时, 酶的稳定性较差。

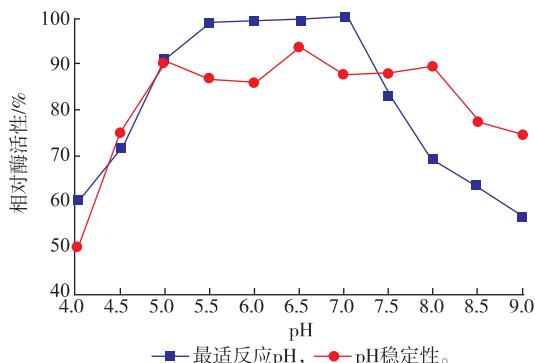


图 5 *reXyn11<sup>EM</sup>* 的最适反应 pH 及 pH 稳定性

Fig. 5 Optimal pH and stability of *reXyn11<sup>EM</sup>*

**2.4.3 金属离子对酶活性的影响** 如图 6 所示, 大多数金属离子和 EDTA 对 *reXyn11<sup>EM</sup>* 的活性影响不大, 说明该酶对大部分金属离子都具有良好的抗性, 在工业中具有较好的应用价值。

**2.4.4 动力学常数** *reXyn11<sup>EM</sup>* 对木糖的  $K_m$  和  $V_{max}$  值分别为 7.2 mg/mL 和 54.7 U/mg。

### 3 结语

耐热木聚糖酶有着重要的工业应用价值, 通过

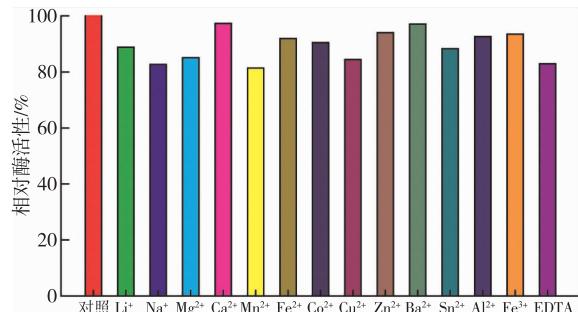


图 6 金属离子和 EDTA 对 *reXyn11<sup>EM</sup>* 酶活性的影响

Fig. 6 Effects of metal ions and EDTA on the activity of *reXyn11<sup>EM</sup>*

基因工程技术实现木聚糖酶的异源高效表达是降低其工业应用成本、适应工业应用条件的有效手段。目前已经有许多耐热木聚糖酶在大肠杆菌中表达, Li 等通过人工合成的方法获得耐热木聚糖酶基因 *Syxyxyn11E*, 并在 *E. coli* 中进行了表达, 其酶活为 17.8 U/mL<sup>[6]</sup>。本研究成功实现了 11 家族耐热木聚糖酶基因 *xyn11<sup>EM</sup>* 在 *E. coli* BL21(DE3) 中的表达, 酶活可高达 47.5 U/mL。SDS-PAGE 表明, *reXyn11<sup>EM</sup>* 的表观相对分子质量约为 24 800; 酶学性质研究表明, 该酶的最适反应温度为 70 °C, 并在 70 °C 以下稳定; 最适反应 pH 为 7.0, 在 pH 5.0~8.0 的范围内稳定; 大多数金属离子和 EDTA 对该重组酶的活性影响较小, 这些优良的酶学特性表明了该酶具有广泛的应用潜力。

## 参考文献:

- [1] COLLINS T, GERDAY C, FELLER G. Xylanases, xylanase families and extremophilic xylanases [J]. *FEMS Microbiology Reviews*, 2005, 29:3-23.
- [2] PASTOR F I J, GALLARDO Ó, Sanz-Aparicio J, et al. Industrial Enzymes[M]. The Netherlands: Springer, 2007: 65-82.
- [3] POLIZELI M L T M, RIZZATTI A C S, MONTI R, et al. Xylanases from fungi: properties and industrial applications[J]. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 2005, 67:577-591.
- [4] BAJAJ B K, RAZDAN K, SHARMA A. Thermoactive alkali-stable xylanase production from a newly isolated *Streptomyces* sp. SU9[J]. *Indian Journal of Chemical Technology*, 2010, 17(5):375-380.
- [5] KO C H, TSAI C H, TU J, et al. Molecular cloning and characterization of a novel thermostable xylanase from *Paenibacillus campinasensis* BL11[J]. *Process Biochemistry*, 2010, 45(10):1638-1644.
- [6] LI J F, ZHANG H M, WU M C, et al. Expression and characterization of hyperthermotolerant xylanases, SyXyn11P and SyXyn11E, in *Pichia pastoris* and *Escherichia coli*[J]. *Applied Biochemistry Biotechnology*, 2014, 172:3476-3487.
- [7] 薛业敏,毛忠贵,邵蔚蓝. 极端耐热木聚糖酶基因在大肠杆菌中的高效表达[J]. 食品与发酵工业, 2003, 29:20-25.  
XUE Yemin, MAO Zhonggui, SHAO Weilan. Expression of xylanase B Gene of *Thermotoga maritima* in *Escherichia coli*[J]. *Food and Fermentation Industries*, 2003, 29:20-25. (in Chinese)
- [8] 周晨妍,白剑宇,邬敏辰,等. 宇佐美曲霉木聚糖酶(*xyn11*)基因在大肠杆菌中的表达[J]. 农业生物技术学报, 2007, 15(3):

- 514-518.
- ZHOU Chenyan, BAI Jianyu, WU Minchen, et al. Expression of *Aspergillus usamii* Xylanase (*xyn11*) gene in *Escherichia coli*[J]. **Journal of Agricultural Biotechnology**, 2007, 15(3):514-518.(in Chinese)
- [9] CHENG Y F, YANG C H, LIU W H. Cloning and expression of *Thermobifida xylanase* gene in the methylotrophic yeast *Pichia pastoris*[J]. **Enzyme and Microbial Technology**, 2005, 37:541-546.
- [10] 金光泽, 段作营, 张莲芬, 等. 重组融合人血清白蛋白 - 人白介素 -2C125A 突变体在毕赤酵母中的表达[J]. 食品与生物技术学报, 2010, 29(4):595 - 601.
- JIN Guangze, DUAN Zuoying, ZHANG Lianfen, et al. Expression of the fusion protein human serum albu/mutant human interleukin 2C125A in *Pichia pastoris*[J]. **Journal of Food Science and Biotechnology**, 2010, 29(4):595-601.(in Chinese)
- [11] WANG J Q, ZHANG H M, WU M C, et al. Cloning and sequence analysis of a novel xylanase gene, *Auxyn10A*, from *Aspergillus usamii*[J]. **Biotechnology Letters**, 2011, 33(5):1029-1038.
- [12] BRADFORD M M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding[J]. **Analytical Biochemistry**, 1976, 72(1/2):248-254.
- [13] QIAO W B, TANG S G, MI S F, et al. Biochemical characterization of a novel thermostable GH11 xylanase with CBM6 domain from *Caldicellulosiruptor krotonskiyensis*[J]. **Journal of Molecular Catalysis B:Enzymatic**, 2014, 107:8-16.
- [14] ANBARASAN S, JANIS J, PALOHEIMO M, et al. Effect of glycosylation and additional domains on the thermostability of a family 10 xylanase produced by *Thermopolyspora flexuosa*[J]. **Applied and Environmental Microbiology**, 2010, 76(1):356-360.
- [15] LEE J H, HE S Y, LEE J W, et al. Thermostability and xylan-hydrolyzing property of endoxylanase expressed in yeast *Saccharomyces cerevisiae*[J]. **Biotechnology and Bioprocess Engineering**, 2009, 14:639-644.

## 会议信息

会议名称(中文):2016 全国多糖研讨会

所属学科:有机化学,化学生物学,生物物理学、生物化学及分子生物学

开始日期:2016-10-20 结束日期:2016-10-22

所在城市:上海市 黄浦区

主办单位:中国化学会

承办单位:中国科学院上海药物研究所

主题:多糖分离纯化、结构鉴定,中药多糖质量控制,寡糖合成,多糖活性与构效关系研究

联系人:曲欢欢

联系电话:021-50806600-3203

E-MAIL:quhuahanhan@simm.ac.cn

通讯地址:上海市浦东新区祖冲之路 555 号

邮政编码:201203

会议网站:<http://www.chemsoc.org.cn/Meeting/Home/info.asp?id=160>

内容及范围:研讨会宗旨是为全球糖化学与糖生物学研究工作者提供平台进行学术交流,沟通研究信息,切磋经验体会,加快国内糖科学的发展,促进糖科学的研究,加强中国与国际一流研究机构和科学家在糖化学和糖生物学领域的合作。