

文献解读 |

一种新的多糖裂合酶家族10果胶酸裂合酶的筛选：克隆、表达和鉴定

产品名称	文献解读 一种新的多糖裂合酶家族10果胶酸裂合酶的筛选：克隆、表达和鉴定
公司名称	北京百泰派克生物科技有限公司
价格	.00/件
规格参数	品牌名称:百泰派克生物科技 业务范围:技术服务 经营模式:生产厂商
公司地址	北京市经济技术开发区科创六街88号院
联系电话	18244218588

产品详情

2018年10月，济南大学高娟课题组在Molecules杂志上发表了题为“ Screening of a Novel Polysaccharide Lyase Family 10 Pectate Lyase from Paenibacillus polymyxa KF-1: Cloning, Expression and Characterization ”的研究性文章，该研究从多粘芽孢杆菌KF-1中筛选出了一个新的属于多糖裂合酶家族10（PL10）的果胶酸裂合酶。

研究发现，经果胶酸裂合酶PpPel10a处理的苧麻纤维的重量损失显著，表明该酶在苧麻脱胶中的应用潜力，且PpPel10a具有良好的热稳定性和pH稳定性，表明该酶可能适用于纺织工业。该项研究中，百泰派克生物科技提供了基于nanoLC-MS/MS的蛋白质谱分析服务，对酶反应复合物进行蛋白质谱鉴定。nanoLC-MS/MS质谱分析结合CAZy数据库(

www.cazy.org)搜库，检索到分属于4个果胶酶家族的10个多肽片段，分别属于PL家族1、3、9和10。

molecules

研究背景

苧麻纤维具有广泛的应用潜力，可用于制造服装面料、麻绳和帆布等，但其表面覆盖有一种胶样物质，限制了它在纺织工业中的应用。传统的脱胶工艺采用碱性高温处理，会对纤维造成损害且污染环境。有研究表明，脱胶过程可以通过果胶酸裂合酶的酶催化来实现，与碱性脱胶相比酶法脱胶具有效率高、条件温和、对环境友好等优点。果胶酸裂合酶（EC 4.2.2.2）是催化果胶酸裂解产生寡糖的酶。之前还没有研究多糖裂合酶家族10（PL10）的酶在苧麻脱胶中的应用。

研究概述

本研究中，研究者从多粘类芽孢杆菌KF-1分泌的酶提取物中筛选出一种新的PL10果胶酸裂合酶，并通过LC-MS/MS进行了蛋白质谱鉴定。基因克隆自KF-1的基因组DNA，并在大肠杆菌中表达。重组酶PpPel10a的预测Mr值为45.2

kDa，pI值为9.41。以聚半乳糖醛酸(PGA)为底物，确定了PpPel10a的Z_U_I佳反应条件为50℃，pH 9.0。以PGA为底物的PpPel10a的 K_m 、 v_{max} 和 k_{cat} 值分别为0.12 g/L，289 $\mu\text{mol}/\text{min}/\text{mg}$ 和202.3 s^{-1} 。重组PpPel10a可降解柑橘果胶，产生不饱和单半乳糖醛酸和寡半乳糖醛酸。PpPel10a降低了PGA的粘度，且观察到单PpPel10a或PpPel10a与碱结合处理后，苕麻纤维的重量分别减轻了22.5%和26.3%，如图1.D,E。据报道，苕麻纤维的总胶质含量约为30-34%，表明PpPel10有应用于植物纤维加工的潜力。

图1. 处理后的苕麻纤维

(图片来自原文献，版权属于原作者)

研究中，研究者首先确定了多粘类芽孢杆菌具有果胶降解活性，因此分离了其果胶酸裂合酶活性Z_U_I高的组分，进行了nanoLC-MS/MS蛋白质谱分析，该服务由我司百泰派克生物科技提供。通过nanoLC-MS/MS质谱分析，一共鉴定到28个蛋白质，包括4个果胶酸裂合酶，1个果胶酯酶和23个非果胶降解酶。10个多肽片段搜库结果分属于四个果胶酸裂合酶家族，分别属于PL家族1,3,9和10，如表1所示，其中属于PL10家族的在LC-MS/MS分析中显示出Z_U_I高强度。这些结果为研究后期PL10果胶裂合酶的克隆、表达和功能鉴定提供了基础。

表1.LC-MS/MS分析鉴定多粘类芽孢杆菌KF-1中的果胶酸裂合酶

(表格来自原文献，版权属于原作者)

服务推荐——蛋白质谱鉴定

百泰派克生物科技拥有近10年的质谱分析经验以及专业的质谱分析团队，已协助客户在《Nature》、《Cell》等高水平杂志发表多篇论文，欢迎感兴趣的老师联系咨询。

百泰派克生物科技-您身边的生物质谱专家北京百泰派克生物科技有限公司 (Beijing Bio-Tech Pack Technology Company Ltd. 简称BTP) 从事以生物质谱为依托的生物药物表征，大分子物质 (包括蛋白质、多肽、代谢物) 质谱分析以及小分子物质检测服务。公司采用ISO9001质量控制体系，专业提供以质谱为基础的CRO检测分析服务，业务范围覆盖蛋白质组学、多肽组学、代谢组学、生物药物表征、单细胞分析、单细胞质谱流式、生信云分析以及多组学生物质谱整合分析等。7大质量控制检测平台，服务3000+企业，10000+客户的选择，致力于为您提供y_ _u|z_h_ i的生物质谱分析服务!