

嗜热子囊菌利用短链有机酸生产角质酶

何刚强^{1,2}, 堵国成¹, 刘立明¹, 刘和¹, 霍光华², 陈坚^{1,3}

1 江南大学工业生物技术教育部重点实验室, 无锡 214122

2 江西农业大学生物科学与工程学院, 南昌 330045

3 江南大学食品科学技术国家重点实验室, 无锡 214122

摘要: 以嗜热子囊菌(*Thermobifida fusca* WSH03-11)发酵生产角质酶为模型, 研究微生物利用市政污泥厌氧酸化所产短链有机酸为碳源发酵生产高附加值产品的可能。发现: (1)以丁酸、丙酸和乙酸为碳源时, 有机酸和氮元素浓度分别为 8.0 g/L 和 1.5 g/L 有利于角质酶的生产; 而以乳酸为碳源时, 最适有机酸和氮源浓度分别为 3.0 g/L 和 1.0 g/L; (2)改变诱导物角质的浓度, 以丁酸、丙酸、乙酸和乳酸为碳源, 分别比优化前提高了 31.0%、13.3%、43.8% 和 73.2%; (3)在四种有机酸中, *T. fusca* WSH03-11 利用乙酸的速率最快, 平均比消耗速率是丙酸的 1.3 倍, 丁酸的 2.0 倍及乳酸的 2.2 倍; 以丁酸为碳源时的酶活(52.4 U/mL)是乳酸的 1.7 倍、乙酸的 2.5 倍和丙酸的 3.2 倍; 角质酶对乳酸的得率(12.70 u/mg)分别是丁酸的 1.4 倍、丙酸的 3.0 倍和乙酸的 3.8 倍; (4)以混合酸为碳源生产角质酶, *T. fusca* WSH03-11 优先利用乙酸, 而对丁酸的利用受到抑制。进一步研究发现, 混合酸中 0.5 g/L 的乙酸将导致丁酸的消耗量降低 66.7%。这是首次利用混合酸作碳源发酵生产角质酶的研究报道。这一研究结果进一步确证了利用市政污泥厌氧酸化所产有机酸为碳源发酵生产高附加值产品的可行性, 为以廉价碳源生产角质酶奠定了良好的基础。

关键词: 嗜热子囊菌, 短链有机酸, 角质酶

Cutinase Production from Short-chain Organic Acids by *Thermobifida fusca*

Gangqiang He^{1,2}, Guocheng Du¹, Liming Liu¹, He Liu¹, Guanghua Huo², and Jian Chen^{1,3}

1 Key Laboratory of Industrial Biotechnology, Ministry of Education, Jiangnan University, Wuxi 214122, China

2 College of Biosciences and Engineering, Jiangxi Agricultural University, Nanchang 330045, China

3 State Key Laboratory of Food Science and Technology, Jiangnan University, Wuxi 214122, China

Abstract: We studied cutinase production from short-chain organic acids by *Thermobifida fusca* WSH03-11 to evaluate the possibility of converting municipal sludge to high value-added products. The optimum organic acid (8.0 g/L) and nitrogen source (1.5 g/L) concentrations were determined by the single factor experiments with butyric acid, propionic acid and acetic acid as the carbon sources. When lactic acid was used as the carbon source, the optimum organic acid (3.0 g/L) and nitrogen source (1.0 g/L) concentrations were obtained. Cutinase production by *T. fusca* WSH03-11 was further improved with butyric acid (by 31.0%), propionic acid (by 13.3%), acetic acid (by 43.8%) and lactic acid (by 73.2%) as carbon source, respectively, with the optimized cutin concentrations. Among these four short-chain organic acids, the average specific consumption rate of acetic acid was the highest,

Received: September 20, 2007; **Accepted:** December 10, 2007

Supported by: the "973" Program(No. 2007CB714306), the New-century Excellent Talent Supporting Program, Major Technology Research Program of Ministry of Education (No. V200611) and "863" Program(No. 2006AA06Z315).

Corresponding author: Guocheng Du. Tel: +86-510-85918309; Fax: +86-510-85918309; E-mail: gcdu@jiangnan.edu.cn

973 项目(No. 2007CB714306), 新世纪优秀人才支持计划, 教育部科学研究重大项目(No. V200611), 863 项目(No. 2006AA06Z315)资助。

higher than that of propionic acid 1.3-folds, butyric acid 2.0-folds and lactic acid 2.2-folds. The highest cutinase activity reached 52.4 u/mL with butyric acid (8 g/L) as the sole carbon source, higher than that of lactic acid (3 g/L) 1.7-folds, acetic acid (8 g/L) 2.5-folds and propionic acid (8 g/L) 3.2-folds. The yield of cutinase activity on lactic acid (12.70 u/mg) higher than that of butyric acid 1.4-folds, propionic acid 3.0-folds and acetic acid 3.8-folds. *T. fusca* WSH03-11 consumed acetic acid firstly in mixed acids carbon sources, and the consumption of butyric acid was inhibited. Further studies indicated that the consumption rate of butyrate was decreased by 66.7% in the presence of 0.5 g/L acetic acid in the mixed acids. This was the first report concerning the production of cutinase by *T. fusca* with mixed organic acids as the carbon sources. The results presented here provided a novel and efficient approach to produce high value-add products from municipal sludge, and also established a foundation for the industrial production of cutinase by *T. fusca* WSH03-11 with cheap carbon sources from the processing of municipal sludge.

Keywords: *Thermobifida fusca*, short-chain organic acids, cutinase

角质酶(cutinase)作为一种裂解酶,降解植物角质层,广泛应用于食品、化工、纺织等工业领域中,尤其作为棉织物前处理的四种关键酶制剂之一,在实现纺织工业的清洁生产发挥着重要的作用^[1-4]。*Thermobifida fusca* WSH03-11 具有大量合成热稳定性和酸碱稳定性能优异的角质酶潜力,然而对于这一菌株能否利用短链有机酸作为碳源大量合成角质酶的能力还缺乏明确的认识。若 *T. fusca* WSH03-11 能利用经城市市政污泥或食品废弃物^[5,6]等厌氧发酵所得到的短链有机酸为碳源和能源物质,将不仅能进一步降低角质酶的生产成本,同时还能实现废物酸化产生有机酸——有机酸发酵生产得到高附加值产品(角质酶)——角质酶实现纺织工业清洁化生产的良性循环。

本研究以充分认识 *T. fusca* WSH03-11 利用城市市政污泥厌氧酸化通常所产生的四种短链有机酸(丁酸、丙酸、乙酸及乳酸)为碳源发酵生产角质酶的可能性和生理机制为出发点,为实现废物酸化产生有机酸——有机酸发酵生产得到高附加值产品(角质酶)——角质酶实现纺织工业清洁化生产的良性循环奠定基础。

1 材料与方法

1.1 菌种

Thermobifida fusca WSH03-11, 江南大学生物工程学院环境生物技术研究室保存。

1.2 培养基

斜面培养基(g/L)^[7]: 可溶性淀粉 1, 蛋白胨 5, 酵母膏 5, 氯化钠 5, 琼脂 20; pH 8.0, 121°C 灭菌 15 min。

种子培养基(g/L)^[7]: 可溶性淀粉 20, 牛肉膏 10, 酵母膏 5, 磷酸氢二钾 2, 氯化钠 5; pH 8.0, 121°C 灭

菌 15 min。

优化前发酵培养基(g/L): 乙酸钠 7.5, 氮元素 1.2 (蛋白胨 5, 酵母膏 7.5), 磷酸氢二钾 2, 氯化钠 5, 角质 1; pH 8.0, 121°C 灭菌 15 min。

1.3 培养方法

斜面活化和种子培养^[7]: 将冷冻保藏的斜面菌种转接到活化斜面, 50°C 静置培养 10 h; 将活化后的斜面菌种接入种子培养基, 50°C、200 r/min 振荡培养 19~20 h。

摇瓶培养: 250 mL 三角瓶装液量 50 mL, 接种量 8%, 温度 50°C, 转速 200 r/min, 培养 50 h。每个样品做 3 个平行样。

发酵罐培养: 3 L 全自动发酵罐(LiFlus GM BioTRON, Korea)装液量 1.5 L, 接种量 8%, 350 r/min, 通风量 1 vvm, 温度 50°C, pH 7.6。

1.4 细胞干重(Dry cell weight, DCW)测定

取 10 mL 发酵液于 50 mL 离心管中, 10 000 r/min 离心 10 min, 倾去上清液, 去离子水洗涤沉淀 2~3 次, 105°C 烘干至恒重后称重。

1.5 角质酶活测定^[1]

发酵液经 10 000 r/min 离心 10 min, 上清液即为粗酶液。酶活测定: 分光光度法, 反应温度 20°C, 反应体积 1 mL(粗酶液 20 μ L、含 50 mmol/L 对硝基苯丁酸酯和 50 mmol/L 硫磺脱氧胆酸钠的缓冲液 980 μ L, 缓冲液 pH 8.0), 在 405 nm 处记录对硝基酚的生成速率。酶活定义: 在 20°C, 每分钟催化对硝基苯丁酸酯水解生成 1 μ mol 对硝基酚的酶量即为一个酶活力单位。

1.6 短链有机酸的测定

乳酸的测定: HPLC 法, SB-C18 柱, 4.6 mm \times 150 mm, 流动相 KH_2PO_4 0.1 mol/L, H_3PO_4 调 pH 至 2.5, 流速

0.8 mL/min, 检测波长 210 nm, 柱温 30°C, 进样量 10 μ L。

丁酸、丙酸、乙酸的测定(气相色谱法): 岛津 GC2010 型气相色谱仪, 色谱柱 PEG20M, 30 m \times 0.32 mm \times 0.50 μ m, 毛细管柱, 气化室 250°C, 检测器(FID)250°C, 柱箱 80°C, 流速: N₂ 80 mL/min, 空气 400 mL/min, H₂ 40 mL/min。

1.7 角质的制备^[8]

将所购西红柿沸水煮 5 min, 水冷却后收集皮, 将皮于草酸缓冲液(草酸 4 g/L、草酸铵 16 g/L, pH 3.88)沸水煮 1.5 h, 去离子水洗涤至皮上无粘性物质后于真空干燥箱 50°C 下烘干至恒重, 磨碎备用。

2 结果与讨论

2.1 *T. fusca* WSH03-11 利用单一有机酸发酵生产角质酶

2.1.1 不同有机酸浓度对 *T. fusca* WSH03-11 生长及产酶的影响

四种有机酸(丁酸、丙酸、乙酸及乳酸)对细胞生长以及角质酶生产的影响如图 1 所示。随着培养基中有机酸浓度的增加(丁酸 \leq 8.0 g/L; 丙酸 \leq 2 g/L; 乙酸 \leq 8.0 g/L; 乳酸 \leq 3.0 g/L), 细胞浓度和角质酶

酶活不断增加, 培养基中过高的有机酸浓度则抑制细胞的生长, 最终导致角质酶酶活的下降。当培养基中丁酸、丙酸、乙酸、乳酸的浓度分别为 8.0、2.0、8.0、3.0 g/L 时, DCW 达到最大, 分别为: 5.8 g/L、2.0 g/L、3.9 g/L、1.4 g/L, 此时, 角质酶酶活达到最大值为 32.3、10.6(丙酸浓度为 8 g/L)、11.2、13.9 u/mL。因此, 丁酸、丙酸、乙酸和乳酸的浓度分别取 8.0、8.0、8.0 和 3.0 g/L。

2.1.2 不同氮元素浓度对菌体生长及产酶的影响

以蛋白胨、酵母膏为混合氮源, 氮元素浓度(蛋白胨含氮量: 14%、酵母膏含氮量: 8%)对 *T. fusca* WSH03-11 生长以及产酶的影响如图 2 所示。当以丁酸、丙酸或乙酸为碳源, 随着培养基中氮元素浓度的增加([N] \leq 1.5 g/L), DCW 和酶活不断增加, 继续增加培养基中氮元素的浓度, 在一定程度上促进了细胞生长, 但不利于产酶(以丙酸为碳源时酶活仅有少量提高)(图 2A、B、C); 当碳源为乳酸时, 氮元素浓度从 0.2 g/L 增加到 1.0 g/L, 细胞浓度基本保持不变, 酶活则不断提高, 但当氮元素浓度大于 1.0 g/L 时, 酶活则下降(图 2D)。因此后续研究中以丁酸、丙酸或乙酸为碳源时, 氮元素浓度为 1.5 g/L; 乳酸为碳源时, 氮元素浓度为 1.0 g/L。

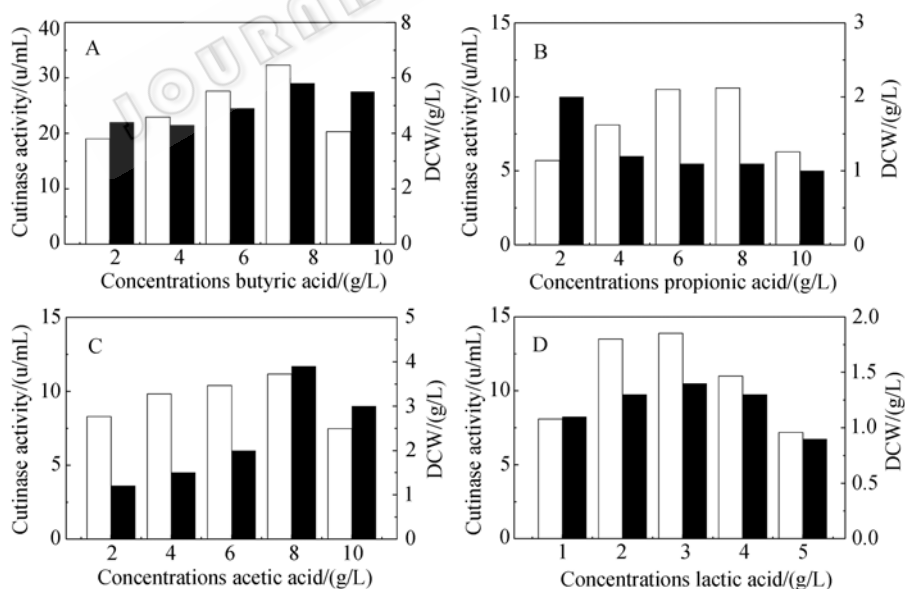


图 1 不同单酸浓度对 *T. fusca* WSH03-11 生长及角质酶合成的影响

Fig. 1 Effect of different concentrations of carbon source with single short-chain organic acids on *T. fusca* WSH03-11 growth and cutinase production

■ DCW; □ Cutinase activity

2.1.3 不同诱导物角质浓度对菌体生长及产酶的影响

角质酶是胞外诱导酶^[9], 不同诱导物角质浓度对 *T. fusca* WSH03-11 生长及产酶的影响如图 3 所示。以四种有机酸(丁酸、丙酸、乙酸及乳酸)为碳源, 角质浓度对细胞生长的影响比较微弱(图 3A); 角质是 *T. fusca* WSH03-11 合成角质酶必需物质, 培养基中不添加角质, *T. fusca* WSH03-11 不合成角质酶,

在培养基中添加 0.5 g/L 角质, 就能使酶活得到很大提高(丁酸: 23.7 u/mL; 丙酸: 7.1 u/mL; 乙酸: 13.8 u/mL; 乳酸: 11.7 u/mL), 随着角质浓度(≤ 2.0 g/L)的增加, 角质酶酶活不断提高(以乙酸为碳源时, 1.5 g/L 角质酶活出现最大值), 但当角质浓度大于 1.5 g/L 时, 酶活进一步提高的幅度较小(图 3B)。因此后续的研究中角质的添加量为 1.5 g/L。

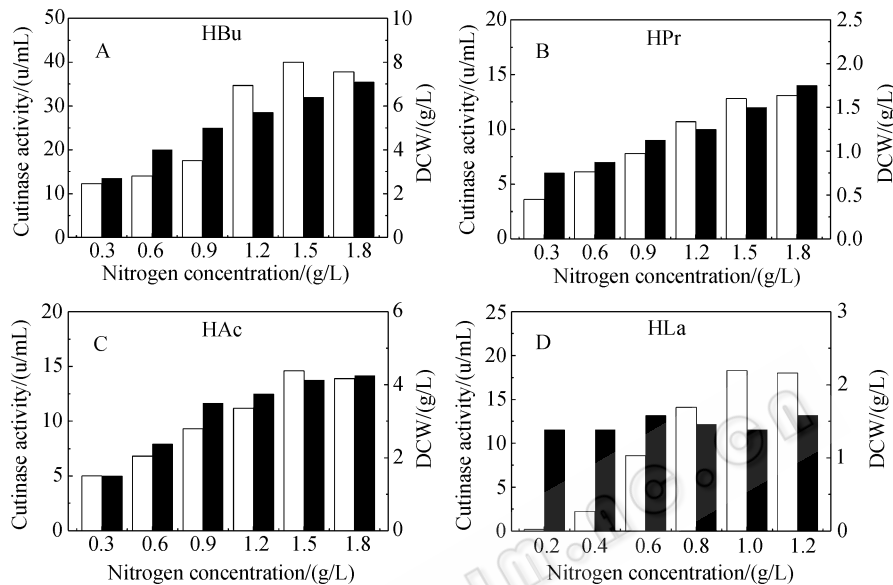


图 2 不同氮元素浓度对 *T. fusca* WSH03-11 生长及角质酶合成的影响

Fig. 2 Effect of nitrogen element concentration on the *T. fusca* WSH03-11 growth and cutinase production

■ DCW; □ Cutinase activity

HBu: butyric acid; HPr: propanoic acid; HAc: acetic acid; HLa: lactic acid

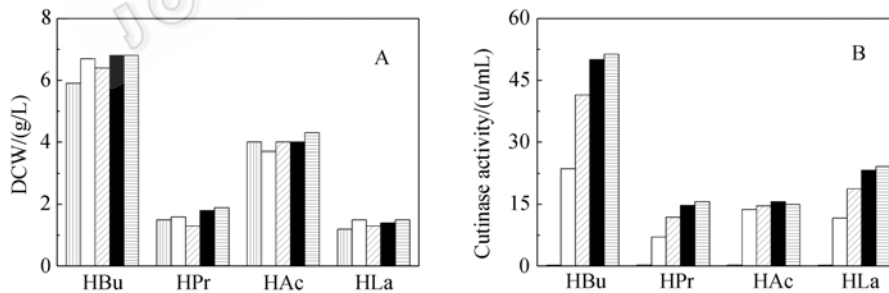


图 3 不同角质浓度对 *T. fusca* WSH03-11 生长及角质酶合成的影响

Fig. 3 Effect of cutin concentrations on the growth and Cutinase production by *T. fusca* WSH03-11

□ 0.0 g/L; □ 0.5 g/L; ▨ 1.0 g/L; ■ 1.5 g/L; ▤ 2.0 g/L

2.1.4 *T. fusca* WSH03-11 利用各单一短链有机酸生产角质酶的发酵过程

T. fusca WSH03-11 分别以四种短链有机酸为碳源发酵过程曲线及相关参数列于图 4 和表 2。在四种短链有机酸中, *T. fusca* WSH03-11 对乙酸的消耗速率最快, 32 h 消耗近 8 g/L 乙酸, 此时 DCW 和酶

活分别为 6.5 g/L 和 21.0 u/mL, 相应地, 底物比消耗速率和平均比消耗速率分别达到 0.120 g/(L·h) 和 0.054 g/(L·h) (表 2); 以乳酸为碳源时, 酶活得率 (12.70 u/mg)、细胞得率 (2.73 g/g) 和比细胞酶活 (25.55) 均具有最大值, 且产酶时间比较集中, 在 12~24 h 内酶活总量为总酶活的 82.5%, 36 h 时酶活

为 31.7 u/mL(图 4 B、D); 以丁酸为碳源时, 在整个发酵过程中 DCW 不断增加, 酶活也不断提高, 并在 48 h 达到最大值, 有趣的是, 虽然 *T. fusca* WSH03-11 以丁酸为碳源时具有较低的消耗速率, 但 DCW(6.9 g/L)和角质酶活(52.4 u/mL)均高于其他有机酸, 表明丁酸为 *T. fusca* WSH03-11 生产角质酶的最佳碳源(图 4A、B、C); 在所选定的四种有机酸中, *T. fusca* WSH03-11 对丙酸的利用速率、DCW 和酶活都是最低的, 发酵结束仍有 4.3 g/L 的残留, DCW 和酶活分别为 2.2 g/L 和 14.5 u/mL(图 4A、B、C)。

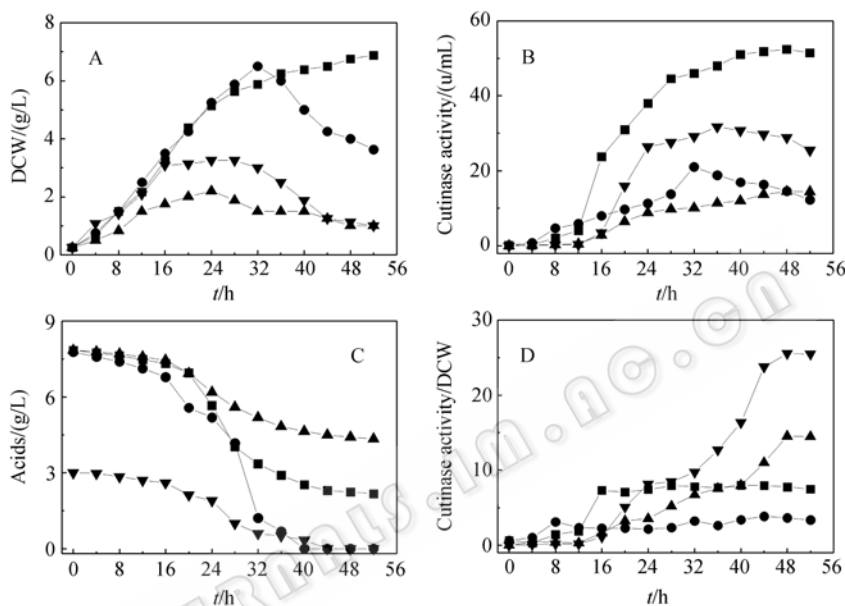


图 4 *T. fusca* WSH03-11 利用各种单酸进行角质酶合成的分批发酵过程

Fig. 4 Time course of biosynthesis of cutinase by *T. fusca* WSH03-11 with single short-chain organic acids

■ HBU; ▲ HPr; ● HAc; ▼ HLa

表 2 以不同有机酸为碳源的角质酶发酵过程参数比较

Table 2 Comparison of parameters in batch cutinase production under diverse short-chain organic acids

Parameter	Results			
	HBu	HPr	HAc	HLa
Initial acids concentration/ (g/L)	8.0	8.0	8.0	3.0
Fermentation time/ h	48	48	32	36
Maximum dry cell weight/ (g/L)	6.9	2.2	6.5	3.3
Maximum cutinase activity/ (u/mL)	52.4	14.5	21.0	31.7
Maximum acids consumption rate/ [g/(L·h)]	0.076	0.089	0.120	0.069
Average specific acids consumption rate/ (h ⁻¹)	0.027	0.043	0.054	0.025
Average specific growth rate/ (h ⁻¹)	0.061	0.084	0.026	0.045
Average specific cutinase production rate/ [u/(mg·h)]	0.306	0.177	0.223	0.255
Biomass yield on acids/ (g/g)	1.17	0.75	0.95	2.73
Yield of cutinase activity on acids/ (u/mg)	9.36	4.23	3.40	12.70
Biomass productivity/[g/(L·h)]	0.128	0.195	0.081	0.125
Cutinase productivity/[u/(mL·h)]	1.091	0.303	0.658	0.882

出现上述差别的原因在于不同有机酸在细胞内的代谢及角质酶的生成机制不同。乳酸在乳酸脱氢酶的作用下转化为丙酮酸, 乙酸和丙酸在乙酰 CoA 激酶的作用下进入细胞内代谢途径^[10], 而丁酸则在丁酸 CoA 激酶的作用下进入微生物细胞, 通过脂肪酸 β -氧化代谢途径^[11], 比乳酸、乙酸、丙酸产生更多的能量, 更利于细胞产酶。

2.2 *T. fusca* WSH03-11 利用混合酸发酵生产角质酶

2.2.1 *T. fusca* WSH03-11 在不同氮元素浓度下利用混合酸发酵生产角质酶

根据市政污泥厌氧酸化所产有机酸的种类及比例(参照本实验室的研究结果), 配制出丁酸 4.0 g/L、乙酸 1.0 g/L、乳酸 1.2 g/L 的混合酸(混合酸浓度为 6.2 g/L)。

以混合有机酸为碳源, 不同氮元素浓度(酵母膏和蛋白胨)对 *T. fusca* WSH03-11 生长及发酵生产角质酶的影响如图 5 所示。随着氮元素浓度([N] \leq 1.5 g/L)的增加, DCW 和酶活也不断增加; 当氮元素浓度为 1.5 g/L 时, 角质酶酶活达到最大值, 为 31.0 u/mL。继续增加氮元素浓度并不促进角质酶的生产。然而发酵培养基中最佳起始氮元素浓度和最适碳氮比对每一种碳源可能不尽相同, 特别是在流加发酵过程中, 如何控制培养基中的碳氮比, 对角质酶的合成尤其重要。

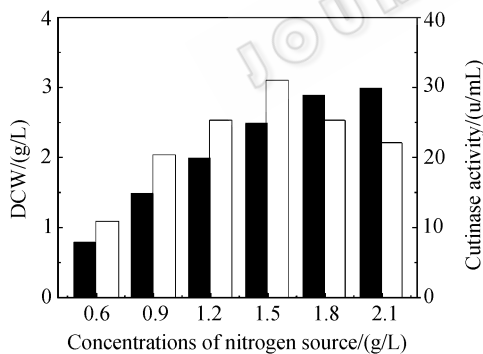


图 5 不同氮元素浓度下以混合酸为碳源进行角质酶发酵

Fig. 5 Biosynthesis of cutinase with mixed acids under different concentrations of nitrogen element

■ DCW; □ Cutinase activity

2.2.2 3 L 罐中 *T. fusca* WSH03-11 利用混合酸生产角质酶的发酵过程

图 6 为 *T. fusca* WSH03-11 以混合有机酸为碳源在 3 L 发酵罐中的过程曲线。发酵初期细胞快速生长, 而角质酶酶活增长缓慢, 4 h 左右比生长速率达

到最大(0.37 h⁻¹), 酶活开始快速提高, 并在 8 h 达到最大比产酶速率(1.98 h⁻¹), 发酵进行到第 16 h, DCW 和酶活同时有最大值, 分别为 2.9 g/L 和 30.0 u/mL (图 6 A、B)。

对混合酸中各个有机酸代谢情况分析发现, 乙酸消耗仍然最快, 发酵进行到 14 h 全部消耗殆尽; 其次为乳酸, 而丁酸的利用明显受到了抑制, 发酵结束仍有 3.6 g/L 残留(图 6A)。结合前面的研究结果, *T. fusca* WSH03-11 以混合有机酸为碳源时 DCW 和酶活较低的主要原因是丁酸的利用受到了抑制。

2.2.3 乙酸抑制丁酸的高效利用

乙酸(4、2、1、0.5、0 g/L)对 *T. fusca* WSH03-11 利用丁酸的影响如图 7 所示。乙酸表现出较高的消耗速度, 丁酸消耗缓慢。丁酸的消耗速率随着混合酸中乙酸比例增加而逐渐降低。0.5 g/L 乙酸存在, 导致丁酸的消耗量比以丁酸为唯一碳源时降低了 66.7%。这一结果表明混合酸中少量乙酸的存在, 就会抑制 *T. fusca* WSH03-11 对丁酸的吸收, 最终导致细胞生长和酶活的降低。

本研究室在前期工作中发现以葡萄糖、蔗糖、可溶性淀粉为碳源时, 角质酶酶活低于以乙醇、乙酸钠为碳源^[7]。本研究中发现, *T. fusca* WSH03-11: (1) 优先利用乙酸生长及合成角质酶; (2) 以丁酸为碳源能获得最大的细胞浓度、角质酶酶活和生产强度; (3) 利用乳酸的效率最高, 但高浓度的乳酸(>3 g/L)对菌体生长产生明显抑制; (4) 对丙酸的利用速率及产酶效率都很低。

本研究室前期研究发现市政污泥厌氧酸化生产有机酸是一个复杂的混合体系, 主要产物为乙酸和丁酸, 其次是丙酸和乳酸, 并伴有少量的异丁酸、异戊酸、戊酸产生。这一结果表明, 一方面通过控制操作条件, 实现市政污泥厌氧产酸的定向化; 另一方面采用高效分离手段, 及时分离出目标组分, 作为角质酶发酵生产的碳源, 减少其它一些成分对 *T. fusca* WSH03-11 生长及产酶的不利影响。实现市政污泥厌氧产酸-好氧发酵生产高附加值产品(角质酶)的偶联。

3 结论

T. fusca WSH03-11 利用 4 种短链有机酸为碳源发酵生产角质酶, 在分批发酵时, 不同有机酸较适

宜的碳源、氮元素浓度有所不同,当碳源为丁酸、丙酸或乙酸时,碳源、氮元素浓度分别为:8.0 g/L、1.5 g/L,当碳源为乳酸时,较适宜的碳源、氮元素浓度分别为:3.0 g/L、1.0 g/L。*T. fusca* WSH03-11 利用 4 种不同有机酸生长和产酶时的特点各不相同:乙酸的消耗速率最快;乳酸的利用效率最高;以丁酸为碳源可获得最大的细胞浓度、角质酶酶活和生产

强度。*T. fusca* WSH03-11 利用混合有机酸为碳源合成角质酶时,乙酸消耗仍然最快,第 14 h 几乎被全部利用;但混合酸中 0.5 g/L 的乙酸就会对丁酸的吸收产生明显的抑制作用。

本研究结果将为实现市政污泥厌氧酸化生产有机酸—有机酸为碳源发酵生产高附加值产品(角质酶)奠定良好的基础。

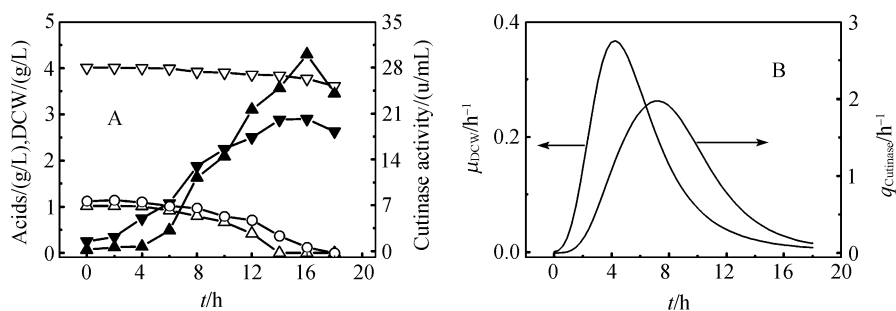


图 6 *T. fusca* WSH03-11 利用混合酸进行角质酶合成的发酵过程

Fig. 6 Time course of biosynthesis of cutinase by *T. fusca* WSH03-11 with mixed short-chain organic acids

▽ HBu; △ HAC; ○ HLA; ▲ Cutinase activity; ▼ DCW

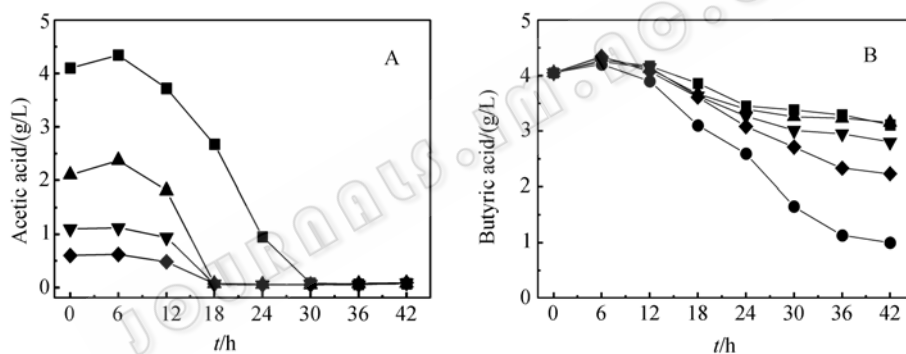


图 7 乙酸对 *T. fusca* WSH03-11 利用丁酸的影响

Fig. 7 Effect of acetic acid on the utilization of butyric acid by *T. fusca* WSH03-11

■ 4 g/L; ▲ 2 g/L; ▼ 1 g/L; ◆ 0.5 g/L; ● 0 g/L

REFERENCES

- [1] Egmond MR, Vlieg de J. *Fusarium solani pisi* cutinase. *Biochimie*, 2000, **82**: 1015–1021.
- [2] Calado CRC, Almeida C, Cabral JMS, Fonseca LP. Development of a fed-batch cultivation strategy for the enhanced production and secretion of cutinase by a recombinant *Saccharomyces cerevisiae* SU50 strain. *Journal of Bioscience and Bioengineering*, 2003, **96**: 141–148.
- [3] Zhou WL. Application of Enzyme in Textile industry. Beijing: China Textile and Apparel Press, 2002, 140–145. 周文龙. 酶在纺织中的应用. 北京: 中国纺织出版社, 2002: 140–145.
- [4] Degani O, Gepstein S. Potential use of cutinase in enzymatic scouring of cotton fiber cuticle. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 2002, **101–102**: 277–289.
- [5] Argelier S, Delgenes J-Ph, Moletta R. Design of acidogenic reactors for the anaerobic treatment of the organic fraction of solid food waste. *Bioprocess and Biosystem Engineering*, 1998, **18**: 309–315.
- [6] Yan Q, Du GC, Chen J. Biosynthesis of polyhydroxyalkanoates by *Ralstonia eutropha* with short-chain-length organic acids. *Chinese Journal of Process Engineering*, 2002, **2**(5): 453–458. 严群, 堵国成, 陈坚. 真氧产碱杆菌利用短链有机酸合成聚羟基烷酸酯. *过程工程学报*, 2002, **2**(5): 453–458.
- [7] Zhang SL, Chen J, Hua ZZ, Du GC. Mutagenesis of cutinase-producing strain *Thermobifida fusca* WSH03-11 and optimization of fermentation conditions of mutant

- with high cutinase production. *Chemical Industry and Engineering*, 2006, **25**(5): 533–537.
- 张守亮, 陈坚, 华兆哲, 堵国成. 角质酶产生菌 *Thermobifida fusca* WSH03-11 诱变及高产突变株发酵条件优化. *化工进展*, 2006, **5**(25): 533–537.
- [8] Fett WF, Wijey C, Moreau RA, Osman SF. Production of cutinase by *Thermomonospora fusca* ATCC27730. *Journal of Applied Microbiology*, 1999, **86**: 561–568.
- [9] Calado CRC, Taipa MÂ, Cabral JMS, Fonseca LP. Optimization of culture conditions and characterisation of cutinase produced by recombinant *Saccharomyces cerevisiae*. *Enzyme and Microbial Technology*, 2002, **31**: 161–170.
- [10] Yu J, Si YT, Wong WKR. Kinetic modeling of inhibition and utilization of mixed volatile fatty acids in the formation of polyhydroxyalkanoates by *Ralstonia eutropha*. *Process Biochemistry*, 2002, **37**: 731–738.
- [11] Yan Q, Du GC, Chen J. Biosynthesis of polyhydroxyalkanoates by 37 emist ut f Polyhydroxyalkanoates by *Ralstonia eutropha* with mixed organic as carbon source ralstonia eutropha with mixed organic acids as carbon source. *Journal of Chemical Industry and Engineering*, 2003, **54**(11): 1580–1585.
- 严群, 堵国成, 陈坚. 真氧产碱杆菌利用混合有机酸生物合成聚羟基烷酸酯. *化工学报*, 2003, **54**(11): 1580–1585.



科学出版社科学出版中心生命科学分社新书推介

临床蛋白质组学

邱宗荫 尹一兵 等 编著

978-7-03-020626-8 ¥ 78.00 2008年4月28日出版

本书详细阐述了临床蛋白质组学研究所必须的基本理论与策略, 系统、全面、深入浅出地介绍了蛋白质组学在临床医学与药学领域的应用及发展状况。全书分为 15 章, 一~四章介绍临床蛋白质组学研究的基本理论与策略, 蛋白质组分析的基础技术, 液相色谱技术在蛋白质组分析中的应用, 以及基于稳定同位素标记的定量蛋白质组学分析技术; 五~十五章重点介绍蛋白质组学在临床医学领域中的应用及其最新进展, 包括临床蛋白质组分析中的样品制备、MALDI-TOF-MS 在临床蛋白质组学研究中的应用、血浆/血清蛋白质组学、血细胞蛋白质组学、唾液蛋白质组学、精液蛋白质组学、肿瘤蛋白质组学、疾病蛋白质组学、临床干细胞蛋白质组学、药物蛋白质组学及其临床应用等。

本书既是初学者开展临床蛋白质组学研究工作的入门向导, 也可从事医学、药学、蛋白质组学、生物化学、细胞生物学、分子生物学、分析化学和相关领域研究的人员提供参考, 可用作高等院校相关专业本科高年级学生和研究生教学参考书或教材。



凋落物源有机酸及其地下生态效应

崔晓阳 宋金凤 著

978-7-03-021079-1 ¥ 48.00 2008年4月28日出版

本书以东北林区主要树种凋落物溶出的有机酸为切入点, 以本区优势森林土壤——暗棕壤为基础, 系统研究了各种凋落物溶出有机酸的种类和数量动态; 优势低分子有机酸在暗棕壤中的吸附与生物降解特征; 优势低分子有机酸对暗棕壤中磷、铁、铝等养分元素的活化释放效应; 优势低分子有机酸对重金属复合污染型暗棕壤中铅、锌、镉、砷等元素活性及有效性的影响; 外源低分子有机酸对落叶松、水曲柳苗木吸收运输磷、铁、钾、钙等元素及多种生理生态过程的影响; 外源低分子有机酸林下暗棕壤中磷、铁、钾、钙等元素有效性的影响; 凋落物浸提液对苗木吸收运输磷、铁、钾、钙元素、苗木生理生态过程及林下暗棕壤中磷、铁、钾、钙元素有效性的影响, 并对凋落物溶出的低分子有机酸进行综合评价, 从而为林区用材林生产、人工林培育寻找土壤养分活化释放的途径, 为区域性的林业生态工程建设提供土壤学和生态学依据, 为用材林的高产、稳产以及整个森林生态系统生产力的提高提供理论指导。

本书可作为大专院校土壤、森林培育、生态等专业师生以及科研院所研究人员的参考书。



欢迎各界人士邮购科学出版社各类图书(免邮费)

邮购地址: 北京东黄城根北街 16 号 科学出版社 科学出版中心 生命科学分社 邮编: 100717

联系人: 阮芯 联系电话: 010-64034622 (带传真)

更多精彩图书请登陆网站 <http://www.lifescience.com.cn>