

# 通过体外分子进化技术获得耐高温 $\beta$ -葡萄糖苷酸酶的研究

熊爱生1, 姚泉洪1, 彭日荷1, 陈建民2, 李贤1, 范惠琴1

1.上海市农业遗传育种重点实验室;上海市农业科学院生物技术研究中心;上海 201106; 2.扬州大学生物科学与技术学院;扬州 225009

收稿日期 修回日期 网络版发布日期 接受日期

**摘要** 采用高保真聚合酶从质粒pBI121中扩增出1.8kb的专一条带,克隆入pBluescript SK载体,测序结果显示与报道一致.该克隆GUS基因被用作对照,再以此为模板,通过DNA重排技术,经DNase I降解,Primerless PCR, Primer PCR重新得到大量的突变GUS基因.这些突变的GUS基因构建入原核表达载体pG251中,电击转化大肠杆菌菌株DH5 $\alpha$ ,构建GUS基因突变体库,经过3轮的重排、筛选得到80 $^{\circ}$ C处理30分钟仍显示较高活性的耐高温GUS基因GUS3-3,基因测序显示,GUS3-3与GUS基因之间的同源性为99.2%,核苷酸序列推导的氨基酸序列显示,11个氨基酸发生了突变,80%的突变集中在蛋白的C端.T<sub>m</sub>值GUS3-3为80 $^{\circ}$ C, GUS-ck为55 $^{\circ}$ C,提高了25 $^{\circ}$ C,GUS3-3  $\beta$ -葡萄糖苷酸酶热稳定性有了很大的提高,GUS3-3酶的最适温度明显提高.

**关键词**  [\$\beta\$ -葡萄糖苷酸酶](#) [体外分子进化](#) [基因重排](#) [耐高温](#)

分类号

## 扩展功能

### 本文信息

- ▶ [Supporting info](#)
- ▶ [PDF\(399KB\)](#)
- ▶ [\[HTML全文\]\(0KB\)](#)
- ▶ [参考文献](#)

### 服务与反馈

- ▶ [把本文推荐给朋友](#)
- ▶ [加入我的书架](#)
- ▶ [加入引用管理器](#)
- ▶ [复制索引](#)
- ▶ [Email Alert](#)
- ▶ [文章反馈](#)
- ▶ [浏览反馈信息](#)

### 相关信息

- ▶ [本刊中 包含“ \$\beta\$ -葡萄糖苷酸酶”的相关文章](#)
- ▶ [本文作者相关文章](#)

- [熊爱生](#)
- [姚泉洪](#)
- [彭日荷](#)
- [陈建民](#)
- [李贤](#)
- [范惠琴](#)

## Abstract

## Key words

DOI:

通讯作者