

# 现代生物技术在酵母菌种特性研究中的应用

郜秋果<sup>1</sup>, 张亚雄<sup>1</sup>, 余华顺<sup>2</sup>, 姚娟<sup>2</sup>, 熊茂盛<sup>2</sup>

(1. 湖北省天然产物研究与利用重点实验室, 三峡大学化学与生命科学学院, 湖北 宜昌 443002;

2. 安琪酵母股份有限公司研发中心, 湖北 宜昌 443003)

**摘要:** 采用现代生物技术中的酶活测定、特异 PCR、克隆测序和生物信息分析等对比研究 3 株高糖酵母蔗糖转换酶活性及其氨基酸序列。得出 3 株高糖酵母在不同生长阶段的蔗糖转换酶酶活由高到低依次为 YH、YN、YF, 而其蔗糖转换酶的氨基酸序列却完全相同。

**关键词:** 微生物; 酵母; 高糖(酿酒)酵母; 蔗糖转换酶; 氨基酸序列

中图分类号: TS261.1; Q81 文献标识码: B 文章编号: 1001-9286(2007)10-0054-03

## Application of Modern Biotech in the Study of the Properties of *Saccharomyces cerevisiae*

GAO Qiu-Guo<sup>1</sup>, ZHANG Ya-Xiong<sup>1</sup>, YU Hua-Shun<sup>2</sup>, YAO Juan<sup>2</sup> and XIONG Mao-sheng<sup>2</sup>

(1. Hubei Key Lab of Natural Products Research and Development, College of Chemistry and Life Sciences,

Three Gorges University, Yichang 443002; 2. Angel Yeast Co. Ltd, Yichang, Hubei 443003, China)

**Abstract:** The activity of the invertase of three high-sugar *saccharomyces cerevisiae* strains were investigated and their amino acid sequence were determined by the use of modern biotech including enzymatic activity determination, specific PCR, the cloning sequencing and bio-information analysis etc. The results suggested that the enzymatic activity of invertase from high to low was YH, YN, YF, and the amino acid sequence of the three strains were completely identical.

**Key words:** microbe; *Saccharomyces cerevisiae*; high-sugar *saccharomyces cerevisiae*; invertase; amino acid sequence

高糖酵母是一种可以适应高糖环境的酵母, 主要用于面包的制作, 在面包制作过程中使用的糖主要是蔗糖, 蔗糖在高糖面团发酵过程被用作碳源, 酵母的蔗糖酶在酵母细胞外壁将蔗糖转化成葡萄糖和果糖以供酵母利用<sup>[1-2]</sup>。该酶的主要作用是将蔗糖转化为 D-果糖和 D-葡萄糖, 同时改变其旋光性, 因此又称转化酶。蔗糖转换酶主要用于食品工业, 用于转化蔗糖, 以增加甜味; 制造人造蜂蜜; 防止高浓度糖浆中的蔗糖的析出; 制造巧克力的胶糖心。由于蔗糖是甜面包制作过程中酵母利用的主要碳源, 因此在酶活测定水平上认识蔗糖转换酶酶活差异, 在分子水平上认识高糖酵母蔗糖转换酶基因序列差异, 其意义重大。本文充分利用酶活测定、特异 PCR、克隆测序、生物信息分析等现代生物技术, 从酶活力和目的基因序列深入认识酵母的特性差异。

### 1 材料与方法

#### 1.1 试剂和仪器

收稿日期: 2007-08-08

作者简介: 郜秋果(1981-), 女, 硕士研究生。

通讯作者: 张亚雄, 余华顺, E-mail: yhs@angel.com.cn; zhangxy@ctgu.edu.cn。

仪器: PTC-100 基因扩增仪, 凝胶成相系统, HERMLE Z 233MK-2 高速冷冻离心机。

试剂: 葡萄糖测定试剂盒, 上海荣盛生物技术有限公司。

菌种: 3 株菌种分别编号 YH、YN、YF, 由安琪公司菌种库提供。

#### 1.2 实验方法

##### 1.2.1 蔗糖转换酶酶活的测定<sup>[3]</sup>

在 150 mL 三角瓶中加入 16% 蔗糖溶液 8 mL, pH5.2 的 NaAc-HAc 缓冲液 2.0 mL, 混匀, 并在 30℃ 恒温水浴中平衡预热 2~5 min 后, 加入一定质量的经离心过的湿酵母迅速混匀并计时。在 30℃ 反应 5 min, 取 1 mL 反应液, 稀释 20 倍后, 采用葡萄糖测定试剂盒测定其葡萄糖生成量。

在 30℃、pH5.2 条件下, 单位酵母量(g 湿酵母)每分钟转化底物蔗糖生成 1 mg 葡萄糖为一个活力单位(u)。

计算公式为:

$$\text{蔗糖转换酶活力 (u/g 湿酵母)} = \frac{M1}{5 \times M2}$$

式中: 5——酶反应时间(min);

M1——反应后测得葡萄糖的质量(g, 由标准曲线查得);

M2——所用酵母湿重(g)。

### 1.2.2 核酸和氨基酸序列的获得<sup>[5-6]</sup>

按照引物设计原则, 使用引物设计软件 Primer Premier 5.0 设计出 3 对引物 (由上海生工生物技术有限公司合成):

URS- SUC- L (sense): 5' > ACA AAG GAC AGG GGC ACG GT < 3';

URS- SUC- R(anti-sense): 5' > AGT CCA AAT CGC AAC GCA TC < 3';

SUC- L2 (sense): 5' > TAC AAG CAC GAC ATA C < 3';

SUC- R2 (anti-sense): 5' > CAA GTC ATC AGA GGA G < 3';

和 SUC- L3 (sense): 5' > CTG CCA ACT CCA CTC AAT < 3';

SUC- R3 (anti-sense): 5' > GCA AAA AGG TCC ATC C < 3'。

PCR 反应条件采用三步法: 94 变性 30 s; 53 或者 48.7 复性 30 s; 然后 72 延伸 30 s。其中 URS- SUC- L、URS- SUC- R 退火温度采用 53 , SUC- L2、SUC- R2 退火温度采用 48.7 , SUC- L3、SUC- R3 退火温度采用 46.5 。

采用 PCR 等技术克隆得到蔗糖转换酶的上游调控序列并对其进行序列比对分析, 采用分段克隆 (即把目的片段分为两段, 两段分别克隆) 的技术得到 3 个菌株的蔗糖转换酶的基因。

### 1.2.3 生物信息学分析

#### 1.2.3.1 核酸序列的分析

应用 Vector NTI 等序列分析软件对得到的序列进行比对分析。

#### 1.2.3.2 推测的氨基酸序列的比对分析

用 Vector NTI 将得到的蔗糖转换酶的编码序列转换成氨基酸, 对得到的氨基酸进行分析, 找出他们之间的异同。

#### 1.2.3.3 推测蛋白的等电点、分子量等的分析

用 Vector NTI 等序列分析软件分析推测蛋白的等电点, 分子量等。

## 2 结果与分析

### 2.1 蔗糖转换酶活力测定结果

本实验主要通过测定蔗糖转换酶降解蔗糖生成葡萄糖的量, 来定义蔗糖转换酶的活性。

#### 2.1.1 葡萄糖标准曲线的测定

按表 1 依次在具塞试管中加入下列试剂, 然后加入等体积混匀的酶酚混合液 3 mL, 迅速混匀后于 30 , 反应 5 min 后, 于 505 nm 处测得其吸光值 A, 然后对得到的数据进行线性回归得标准曲线的回归方程。

表 1 葡萄糖标准曲线的制作

葡萄糖 (mg/mL)	稀释液体积 (μL)	蒸馏水 (μL)	A <sub>505</sub>
0.00	0	400	0.000
0.01	40	360	0.033
0.02	80	320	0.064
0.04	160	240	0.134
0.06	240	160	0.195
0.08	320	80	0.264
0.1	400	0	0.328

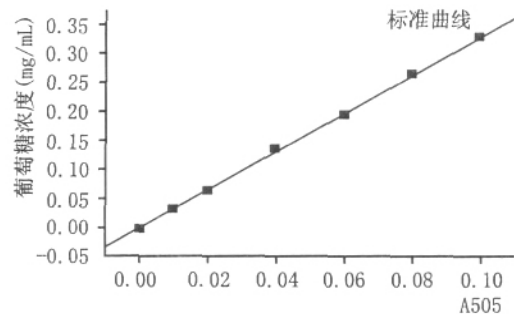


图 1 葡萄糖标准曲线

标准曲线回归方程如下:

$$C (\text{mg/mL}) = -2.22307 \times 10^{-4} + 0.3039 \times A_{505};$$

$$R^2 = 0.99991; P < E-4.$$

#### 2.1.2 酶活测定

面包酵母可产生胞内蔗糖酶和胞外蔗糖酶, 在以蔗糖为碳源时, 面包酵母利用它周质空间内的蔗糖酶 (胞外酶) 将蔗糖分解成葡萄糖和果糖。提取蔗糖酶时需将菌体自溶, 若要提取纯蔗糖酶并不容易, 大部分提取物为纯度不高的粗酶<sup>[4]</sup>。考虑到此项实验所研究的是活细胞的蔗糖酶系, 而且主要是胞外酶系对糖的作用, 故并不将菌体自溶而研究活细胞状态。而是直接用不同时期 (以 OD<sub>600</sub> 来控制) 生长的鲜酵母来测定 3 株菌蔗糖转换酶的酶活。

测得 YH、YN 和 YF 3 株菌在一定的生长过程中 YH 的蔗糖转换酶的活性是最高的, 其次为 YN, 最后为 YF 的。3 株菌的蔗糖转换酶的活性见表 2。

由表 2 和图 2 可知, 虽然 3 株酵母菌同为高糖酵母, 但是其酶活的差别却很大, 因此本实验推测, 其原因可能是蔗糖转换酶基因本身或者其转录水平和蛋白翻译水平的不同造成的。

表2 3株菌不同OD<sub>600</sub>值时的酶活

(u/g 湿酵母 · min)			
OD <sub>600</sub>	YN 酶活	YF 酶活	YH 酶活
1.770	51.5	27.2	66.2
1.796	54.4	31.5	70.4
1.854	60.9	31.3	68.1
1.921	46.8	32.1	58
2.000	39.8	32.7	48

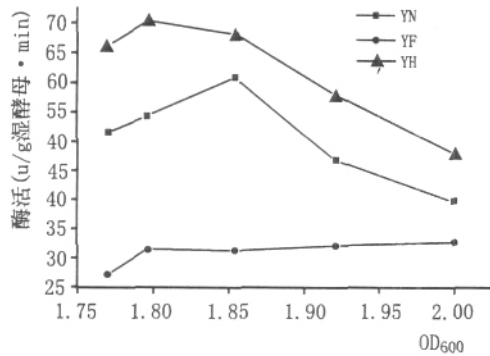


图2 3株菌的蔗糖转换酶的活性

### 2.2.1 上游调控序列的比对分析

应用以上特异引物进行PCR,然后克隆得到3株菌的上游调控序列,将克隆得到的上游调控序列和已知的蔗糖转换酶的上游调控序列(URS)进行比对,知道所得为3株菌的调控序列,对其进行比较,结果如下:

UYF (1)	<u>TAGAATAGTTTGTAGCAAATACCAAGTCGGTATGCTACGTTAGAAAGGC</u>
UYH (1)	<u>TAGAATAGTTTGTAGCAAATACCAAGTCGGTATGCTACGTTAGAAAGGC</u>
UYN (1)	<u>TAGAATAGTTTGTAGCAAATACCAAGTCGGTATGCTACGTTAGAAAGGC</u>
URS (1)	<u>TAGAATAGTTTGTAGCAAATACCAAGTCGGTATGCTACGTTAGAAAGGC</u>
Consensus (1)	<u>TAGAATAGTTTGTAGCAAATACCAAGTCGGTATGCTACGTTAGAAAGGC</u>
UYF (51)	<u>CCACAGTATCTCTACCAAAGGCGTCTTTGTTGAACCTCGATCCATTA</u>
UYH (51)	<u>CCACAGTATCTCTACCAAAGGCGTCTTTGTTGAACCTCGATCCATTA</u>
UYN (51)	<u>CCACAGTATCTCTACCAAAGGCGTCTTTGTTGAACCTCGATCCATTA</u>
URS (51)	<u>CCACAGTATCTCTACCAAAGGCGTCTTTGTTGAACCTCGATCCATTA</u>
Consensus (51)	<u>CCACAGTATCTCTACCAAAGGCGTCTTTGTTGAACCTCGATCCATTA</u>
UYF (101)	<u>TGAGGGCTTCCATTATCCCGCATTTTATTACTCTGAACAGGAATAAA</u>
UYH (101)	<u>TGAGGGCTTCCATTATCCCGCATTTTATTACTCTGAACAGGAATAAA</u>
UYN (101)	<u>TGAGGGCTTCCATTATCCCGCATTTTATTACTCTGAACAGGAATAAA</u>
URS (101)	<u>TGAGGGCTTCCATTATCCCGCATTTTATTACTCTGAACAGGAATAAA</u>
Consensus (101)	<u>TGAGGGCTTCCATTATCCCGCATTTTATTACTCTGAACAGGAATAAA</u>
UYF (151)	<u>AAGAAAAACCCAGTTAGGAAATATCCGG</u>
UYH (151)	<u>AAGAAAAACCCAGTTAGGAAATATCCGG</u>
UYN (151)	<u>AAGAAAAACCCAGTTAGGAAATATCCGG</u>
URS (151)	<u>AAGAAAAACCCAGTTAGGAAATATCCGG</u>
Consensus (151)	<u>AAGAAAAACCCAGTTAGGAAATATCCGG</u>

以上述结果可知,3株菌的上游调控序列几乎完全一样,这就在一定的程度上排除了由于其上游调控序列的不同造成其酶活不同的可能性。

### 2.2.2 推测的蔗糖转换酶氨基酸序列的比对分析

得到的蔗糖转换酶编码区的氨基酸,由532个氨基酸组成,其组成如下:

MLLQAFLELLAGFTAKISASMTNETSDRPLVHFTPNKGWMDPNDPLWYDEKDAKWHLYFQYNPNDTVW  
 GTPFLWGHATSDDLTHWEDEPIAIAPKRNDGSAFSGSMVVDYNNSTGFFNDTIDPRQRCVAIWYNTPEIE  
 EQYISYSLDGGYTFTEYQKNPVLAA NSTQFRDPKVFVWYEPSQKWIMTA AKSQDYKIEIYSSDDLKSWKLE  
 SAFANEGFLGYQYECPLIEVPTEQDPSKSYWVMFISINPGAPAGGSFNQYFVGSFNHGFHFAFDNQSRV  
 DFGKDYALQTFNTDPTYG SALGIAWASNWEYS AFVPTNFWRSMSLVRKFSLNTEYQANPETELINLK  
 AEPILNISNAGPWSRFATNTTLTKANSYNVDLSNSTGTLEFELVAVNNT  
 QTISSKSVFPDLSLWFKGLEDEPEEYLRMGFEVSASSFFLDRGNSKVKFVKE  
 NPYFTNRMVYNQPFKSENDSLYKYVYGLLDQNLILELYFNDGDVVSNTNY  
 FMTTGNALGVSVMNTTGVNLFYIDKFQVREVK

本实验应用以上两对引物,采用分段克隆技术得到蔗糖转换酶基因,然后用序列分析软件 Vector NTI 将核酸序列转换成氨基酸序列,并对得到的序列进行比对分析,以找出三者间的不同。

比对结果如下:

YN (1)	<u>MLLQAFLELLAGFTAKISASMTNETSDRPLVHFTPNKGWMDPNDPLWYDE</u>
YH (1)	<u>MLLQAFLELLAGFTAKISASMTNETSDRPLVHFTPNKGWMDPNDPLWYDE</u>
YF (1)	<u>MLLQAFLELLAGFTAKISASMTNETSDRPLVHFTPNKGWMDPNDPLWYDE</u>
Consensus (1)	<u>MLLQAFLELLAGFTAKISASMTNETSDRPLVHFTPNKGWMDPNDPLWYDE</u>
YN (51)	<u>KDAKWHLYFQYNPNDTVWGTPLFWGHATSDDLTHWEDEPIAIAPKRNDG</u>
YH (51)	<u>KDAKWHLYFQYNPNDTVWGTPLFWGHATSDDLTHWEDEPIAIAPKRNDG</u>
YF (51)	<u>KDAKWHLYFQYNPNDTVWGTPLFWGHATSDDLTHWEDEPIAIAPKRNDG</u>
Consensus (51)	<u>KDAKWHLYFQYNPNDTVWGTPLFWGHATSDDLTHWEDEPIAIAPKRNDG</u>
YN (101)	<u>AFSGSMVVDYNTSGFNDTIDPRQRCVAIWYNTPEIEEQYISYSLDGG</u>
YH (101)	<u>AFSGSMVVDYNTSGFNDTIDPRQRCVAIWYNTPEIEEQYISYSLDGG</u>
YF (101)	<u>AFSGSMVVDYNTSGFNDTIDPRQRCVAIWYNTPEIEEQYISYSLDGG</u>
Consensus (101)	<u>AFSGSMVVDYNTSGFNDTIDPRQRCVAIWYNTPEIEEQYISYSLDGG</u>
YN (151)	<u>YTFTEYQKNPVLAA NSTQFRDPKVFVWYEPSQKWIMTA AKSQDYKIEIYSS</u>
YH (151)	<u>YTFTEYQKNPVLAA NSTQFRDPKVFVWYEPSQKWIMTA AKSQDYKIEIYSS</u>
YF (151)	<u>YTFTEYQKNPVLAA NSTQFRDPKVFVWYEPSQKWIMTA AKSQDYKIEIYSS</u>
Consensus (151)	<u>YTFTEYQKNPVLAA NSTQFRDPKVFVWYEPSQKWIMTA AKSQDYKIEIYSS</u>
YN (201)	<u>DDLKSWKLESAPANEGLFYQYECPLIEVPTEQDPSKSYWVMFISINPG</u>
YH (201)	<u>DDLKSWKLESAPANEGLFYQYECPLIEVPTEQDPSKSYWVMFISINPG</u>
YF (201)	<u>DDLKSWKLESAPANEGLFYQYECPLIEVPTEQDPSKSYWVMFISINPG</u>
Consensus (201)	<u>DDLKSWKLESAPANEGLFYQYECPLIEVPTEQDPSKSYWVMFISINPG</u>
YN (251)	<u>APAGGSFNQYFVGSFNHGFHFAFDNQSRV DFGKDYALQTFNTDPTYG</u>
YH (251)	<u>APAGGSFNQYFVGSFNHGFHFAFDNQSRV DFGKDYALQTFNTDPTYG</u>
YF (251)	<u>APAGGSFNQYFVGSFNHGFHFAFDNQSRV DFGKDYALQTFNTDPTYG</u>
Consensus (251)	<u>APAGGSFNQYFVGSFNHGFHFAFDNQSRV DFGKDYALQTFNTDPTYG</u>
YN (301)	<u>SALGIAWASNWEYS AFVPTNFWRSMSLVRKFSLNTEYQANPETELINLK</u>
YH (301)	<u>SALGIAWASNWEYS AFVPTNFWRSMSLVRKFSLNTEYQANPETELINLK</u>
YF (301)	<u>SALGIAWASNWEYS AFVPTNFWRSMSLVRKFSLNTEYQANPETELINLK</u>
Consensus (301)	<u>SALGIAWASNWEYS AFVPTNFWRSMSLVRKFSLNTEYQANPETELINLK</u>
YN (351)	<u>AEPILNISNAGPWSRFATNTTLTKANSYNVDLSNSTGTLEFELVAVNNT</u>
YH (351)	<u>AEPILNISNAGPWSRFATNTTLTKANSYNVDLSNSTGTLEFELVAVNNT</u>
YF (351)	<u>AEPILNISNAGPWSRFATNTTLTKANSYNVDLSNSTGTLEFELVAVNNT</u>
Consensus (351)	<u>AEPILNISNAGPWSRFATNTTLTKANSYNVDLSNSTGTLEFELVAVNNT</u>
YN (401)	<u>QTISSKSVFPDLSLWFKGLEDEPEEYLRMGFEVSASSFFLDRGNSKVKFVKE</u>
YH (401)	<u>QTISSKSVFPDLSLWFKGLEDEPEEYLRMGFEVSASSFFLDRGNSKVKFVKE</u>
YF (401)	<u>QTISSKSVFPDLSLWFKGLEDEPEEYLRMGFEVSASSFFLDRGNSKVKFVKE</u>
Consensus (401)	<u>QTISSKSVFPDLSLWFKGLEDEPEEYLRMGFEVSASSFFLDRGNSKVKFVKE</u>
YN (451)	<u>NPYFTNRMVYNQPFKSENDSLYKYVYGLLDQNLILELYFNDGDVVSNTNY</u>
YH (451)	<u>NPYFTNRMVYNQPFKSENDSLYKYVYGLLDQNLILELYFNDGDVVSNTNY</u>
YF (451)	<u>NPYFTNRMVYNQPFKSENDSLYKYVYGLLDQNLILELYFNDGDVVSNTNY</u>
Consensus (451)	<u>NPYFTNRMVYNQPFKSENDSLYKYVYGLLDQNLILELYFNDGDVVSNTNY</u>
YN (501)	<u>FMTTGNALGVSVMNTTGVNLFYIDKFQVREVK</u>
YH (501)	<u>FMTTGNALGVSVMNTTGVNLFYIDKFQVREVK</u>
YF (501)	<u>FMTTGNALGVSVMNTTGVNLFYIDKFQVREVK</u>
Consensus (501)	<u>FMTTGNALGVSVMNTTGVNLFYIDKFQVREVK</u>

对比结果表明,3株菌的蔗糖转换酶基因的氨基酸组成是完全相同的,理论上来说,上游调控序列和氨基酸组成相同,其蛋白酶的活性也应该是相同的,而由酶活测定结果知道3株菌的蔗糖转换酶的活性并不相同,这就证明导致酶活差异的因素很可能是由于转录、蛋白翻译及翻译后修饰的不同造成。

### 2.2.3 推测蛋白的等电点、分子量分析

利用生物信息学分析软件 NTI 和 PHD, 推测蔗糖

(下转第59页)

丹红、瘦肉精、亚铁氰化钾等, 还有白酒中严禁加入的甜味剂糖精钠等。

## 5 标准曲线法误差的产生及讨论

不论是多点校正, 还是单点校正均有不同程度的误差, 为此建议除用多点校正法外, 还有如下减小误差的方法。

### 5.1 显色反应

所有显色反应要求灵敏度高, 并用摩尔吸光系数大的显色反应, 反应稳定性好, 条件易于控制。生成的有色化合物与显色剂之间的颜色差别要大, 很多显色剂本身有一定的颜色, 为使显色剂的颜色不影响测定, 必须要使显色后的有色化合物与显色剂之间的颜色有较明显的差别, 用反衬度(对比度)表示, 有色化合物最大吸收波长与显色剂最大吸收波长之差一般要求在 60 nm 以上<sup>[9]</sup>。

### 5.2 显色条件控制

5.2.1 显色剂的用量。为保证显色反应尽可能进行完全, 一般需加入过量显色剂, 并应根据反应情况具体而定, 如形成稳定络合物与否, 是否形成逐级反应, 是否定量反应。

5.2.2 适合的溶液酸度。酸度会影响显色剂的离解(显色剂多为有机弱酸)及显色反应的完全程度, 同时会影响金属离子与显色剂的存在形式。

5.2.3 显色温度。一般室温下快速进行。

5.2.4 反应时间。根据反应情况具体而定, 通过实验来确定。

### 5.3 干扰物质

5.3.1 干扰物质影响。干扰物质本身有色、或与显色剂形成有色化合物, 干扰物质水解、析出沉淀, 使反应液混浊, 干扰物质与测定液(离子)反应。

5.3.2 消除。控制酸度, 加入掩蔽剂, 选择适当参比溶液(试剂空白), 选择适当的波长(一般选择显色物质的最大吸收波长)。

### 5.4 其他原因

5.4.1 单色光不纯。复合光或双色光当  $K_1 = K_2$  时无影响,  $K_1$  和  $K_2$  相差越大, 朗伯-比尔偏离越严重。

5.4.2 介质要求均匀。不均匀的介质会导致一部分光通过溶液, 一部分光被吸收, 另一部分被散射、反射等, 导致透光度与吸光度变化。

5.4.3 吸光度范围的选择。一般在 0.2~0.7 范围内。

### 参考文献:

- [1] 武汉大学.分析化学[M].北京:高等教育出版社, 2002.
- [2] 刘珍.化验员读本(下)[M].北京:化学工业出版社, 1998.
- [3] 沈怡方.白酒生产技术全书[M].北京:中国轻工业出版社, 1998.
- [4] 蔡定域.实用白酒分析[M].成都:成都科技大学出版社, 1994.

(上接第 56 页)

转换酶的氨基酸组成、分子量和等电点等指标, 结果见表 3。

表3 推测蛋白的等电点、分子量分析

分析指标	蛋白质
长度	533 aa
分子量	60850.86 m. w.
1 microgram =	16.434 pMoles
摩尔消光系数	130960
1 $A_{280}$	0.46 mg/mL
$A_{280}$ (mg/mL)	2.15 AU
等电点	4.63
pH7 的电荷	-23.76

从上述分析的结果可知, 蔗糖转换酶的分子量约为 60850, 等电点 4.63, 推测为一种酸性蛋白。

## 3 讨论

现代生物技术是以分子遗传学为核心的现代生物科学技术, 其内容主要包括基因工程、细胞工程、酶工程、发酵工程、蛋白质工程、胚胎工程、脑科学技术、生物信息学技术等, 是用先进的科学原理和工程技术手段,

按照人们预先的设计, 对生物材料进行认识、加工、改造和模拟生物及其功能, 为人类生产有益的生物制品、培育优良生物品种或提供社会服务的新兴技术领域。

随着科技的发展, 现代生物技术的应用范围也越来越广, 本研究充分利用现代生物技术中的常用技术进行菌种特性研究, 在分子水平上加深了对菌种的认识, 从而为菌种的特性改良和筛选奠定了坚实的基础。

### 参考文献:

- [1] Pamela C Esmon, Brent E Esmon, Irene E Schauer et al[J]. The Journal of Biological Chemistry, 1987, 262(9): 4387-4394.
- [2] Manfred Zech, Helmut Gorisch[J]. Enzyme and Microbial Technology, 1995, (17): 41-47.
- [3] 刘涓, 肖冬光, 代丽昕. 耐高糖面包酵母的研究[J]. 食品与发酵工业, 2001, (27) 5: 12-16.
- [4] 张树政. 酶制剂工业[M]. 北京: 科学出版社, 1998. 817-818.
- [5] J. 撒姆布鲁克, D.W. 拉塞尔著; 黄培糖等译. 分子克隆实验指南(第三版)[M]. 北京: 科学出版社, 2002.
- [6] F. 奥斯伯, R. 布伦特, 等. 精编分子生物学实验指南[M]. 北京: 科学出版社, 2005.