

油體固定化纖維素內切酶之最佳化設計

何宜靜¹，葉倩妤¹，陳柏庭²，姜中人³，趙雲鵬¹

¹逢甲大學化學工程學系、生醫資訊暨生醫工程碩士學程

²南台科技大學生物科技系

³中國醫學大學醫學檢驗暨生物技術學系

100-EC-17-A-10-S1-156; NSC 98-2221-E-035-029-MY3

纖維素是自然界中蘊藏最豐富的生物性材料，在纖維素內切酶、外切酶和葡萄糖苷酶的共同作用下，可水解為葡萄糖。為了增進纖維素水解的經濟效益，一個有效且簡易的方法便是使用固定化酵素，如此將有利於回收再使用。因此在本研究中，我們探討利用植物油體固定纖維素內切酶的可行性。首先，將纖維素內切酶*celA*基因與油體膜蛋白(oleosin)融合，隨即在大腸桿菌中大量生產不可溶的融合蛋白(Ole-CelA)，再進行油體自組裝，以使得CelA酵素能在油體表面同時進行復性與固定化。為了達到最佳化固定的目標，我們運用Box-Behnken 迴歸分析，結果顯示以溫度為24°C、pH8.4、植物油對蛋白質質量比例為412:1的條件來製備油體，可獲得固定化CelA的最佳活性39.8 U/mg。接著，再藉由central composite design (CCD)迴歸分析，結果顯示固定化CelA之最佳化反應溫度為68°C及pH值為7.3，其最佳活性可達42.2 U/mg。此外，經固定化CelA較非固定化CelA更具耐熱性及穩定性，在55°C的條件下持續作用24小時後，固定化CelA活性仍可保有原來的70%，而在70°C的條件下，其半衰週期為6小時；且經重複使用8個循環後，其水解率仍可達50%以上。綜而言之，以上結果揭示以油體固定化纖維素內切酶不但具有可行性，而且具有操作簡易、效率高和經濟性。

關鍵字：油體膜蛋白、纖維素內切酶、Box-Behnken