

文章编号:1005-8737(2000)04-0099-05

·综述·

褐藻胶裂解酶研究进展

Research advances on alginate lyases

刘岩, 江晓路, 管华诗

(青岛海洋大学, 山东 青岛 266003)

LIU Yan, JIANG Xiao-lu, GUAN Hua-shi

(Ocean University of Qingdao, Qingdao 266003, China)

关键词: 褐藻胶; 裂解酶; 聚甘露糖醛酸; 聚古罗糖醛酸

Key words: alginate; lyase; mannuronic acid; guluronic acid

中图分类号: Q557

文献标识码: A

近年来随着海洋药物的蓬勃发展, 海藻多糖的研究日益受到重视, 褐藻胶便是其中之一。褐藻胶具有广泛的应用价值, 褐藻胶降解物具有很强的生物活性, 以酶法降解褐藻胶为代表的生物降解取代传统的化学降解已成趋势, 因此褐藻胶裂解酶的研究生产有着深远的理论意义和应用价值。本文从酶的分类和来源、底物专一性和作用方式、酶的性质、酶活力测定方法、产酶菌株及酶系以及酶的应用6个方面综述了褐藻胶裂解酶的研究进展。

1 褐藻胶裂解酶的分类及来源

1.1 褐藻胶裂解酶的分类

褐藻胶裂解酶按其降解褐藻胶片段的不同可分为两大类: 1,4- α -古罗糖醛酸裂解酶(EC 4.2.2.11)和1,4- β -甘露糖醛酸裂解酶(EC 4.2.2.3)。它们分别作用于褐藻胶的古罗糖醛酸段和甘露糖醛酸段, 并在非还原末端产生C_{4,5}不饱和双键且在230~240 nm有强吸收^[1]。与其它研究较多的酶类相比, 褐藻胶酶的分类也许并不完善, 也可能还有一些褐藻胶水解酶或其它酶类。

1.2 褐藻胶裂解酶的来源

微生物来源的褐藻胶裂解酶主要有海洋细菌、真菌等, 如弧菌(*Vibrio* sp. Al-9^[2], *Vibrio* sp. AL-128^[3], *Vibrio alginolyticus* AACC17749)^[4]、黄杆菌(*Flavobacterium multivolum*)^[5]、*Alginovibrio aquatilis*^[6]、固氮菌(*Azotobacter vinelandii*)^[7]、克里伯氏菌(*Klebsiella aerogenes*)^[8]、*Klebsiella pneumoniae*^[9]、假单胞菌(*Pseudomonas alginovora*, *Pseu-*

domonas aeruginosa)^[10]、肠杆菌(*Enterobacter cloacae* M-1)^[11]、别单胞菌(*Alteromonas* sp.)^[12]、芽孢杆菌(*Bacillus circulans*)^[13]、*Agarobacterium alginicums*^[14]。

在海洋软体动物和棘皮动物体内有褐藻胶裂解酶。朱仁华^[15]从朝鲜花冠小月螺(*Lunella cornata coreensis*)、单齿螺(*Monodonta labio*)和疣荔枝螺(*Purpura clavigera*)3种海螺分离出的粗酶提取液, 以褐藻酸钠为底物用黏度法测定了酶的活力, 尤其以朝鲜花冠小月螺的分解活性最高, 在60 min内可使褐藻酸钠的黏度下降近90%, 但未对降解产物进行研究。

2 底物专一性与作用方式

裂解酶能催化底物分子开裂成两部分, 其中之一含有双键。褐藻胶裂解酶通过 β -消除反应裂解褐藻酸的糖苷键, 并在产物的非还原性末端产生含有不饱和双键的寡聚糖醛酸。褐藻胶裂解酶降解的褐藻胶在非还原性末端形成4,5-不饱和双键, 在C₅上失去对称性。因此, 不论是D-甘露糖醛酸或L-古罗糖醛酸都生成不饱和衍生物^[16]。

褐藻胶裂解酶的底物专一性是根据可降解M段或G段的不同而定义。据报道, 假单胞菌是聚M段专一性裂解酶^[10]; 克里伯氏菌是聚G段褐藻胶裂解酶^[9]。芽孢杆菌、别单胞菌生产的酶具有降解M段和G段的能力。

3 褐藻胶裂解酶的性质

3.1 酶的化学性质

固氮菌、芽孢杆菌、弧菌、黄杆菌等的褐藻胶裂解酶已经被提纯, 其酶化学性质见表1。褐藻胶经酶水解出现的双键, 并非原样品中含有的, 而是酶水解在分子链断裂处的非

收稿日期: 1999-12-27

作者简介: 刘岩, (1971-), 女, 山东济南人, 青岛海洋大学博士研究生。

表 1 几种褐藻胶裂解酶的化学性质

Table 1 Chemical properties of some alginate lyases

性质 Property	固氮菌 <i>Azotobacter</i> sp.	芽孢杆菌 <i>Bacillus</i> sp.	弧菌 <i>Vibrio</i> sp.	黄杆菌 <i>Flavobacterium</i> sp.
分子量 Molecular weight	32 000	40 000	—	—
最适 pH Optimum pH	7.5	—	7.8	7.0
pH 稳定范围 pH stable range	酸性溶液中不稳定 Not stable in acid solution	—	6.0~11	4.0~8.0
可降解的底物 Degradable substrate	褐藻胶 Alginate	PolyG, 褐藻胶 Alginate	PolyG, 褐藻胶 Alginate	褐藻胶 Alginate
pI	—	—	4.2~5.0	—

还原末端产生的, 酸水解 TBA 试验也有双键的颜色反应, 但是无规则的, 其双键反应只是部分的, 而酶降解时, 双键反应却是特有的。

3.2 金属离子对酶的作用

由于褐藻胶裂解酶的产生菌主要从海洋中分离得到, 一般 Na^+ 会影响它的活性。1992 年, Chaochuang Tseng 等^[3] 分离出弧菌 (*Vibrio* sp. AL-128), 此菌产生的酶的专一底物是 L-古罗糖醛酸, NaCl 浓度 0.3~1.0 mol/L 时, 其酶活力最大且热稳定性也明显提高。酶在 pH 6.0~11.0 范围内稳定, 最适 pH 7.8。Zn²⁺、Hg²⁺ 对酶有抑制作用。根据伯杰氏细菌分类法, 此菌为 *Vibrio harveyi*^[3]。他们还用 *Vibrio alginolyticus* ATCC 17749 生产褐藻胶裂解酶, 经硫酸铵沉降, Phenyl Sepharose CL-4B, blub Sepharose CL-6B, SDS-聚丙烯酰胺凝胶电泳分离纯化, 得到的纯酶对 D-甘露糖醛酸有专一性。0.02 mol/L 的 CaCl_2 使酶达到最高活力, 且提高酶的热稳定性^[17]。Tomoo Sawabe 等^[18] 用 *Alteromonas* sp. H-4 生产褐藻胶裂解酶, 经超滤、阴离子交换色谱纯化, SDS-PAGE 电泳测得分子量为 32 000, 最适 pH 为 7.5, 最适温度 30℃。酶在酸性溶液中不稳定, 0.05 mol/L MgCl_2 和 MgSO_4 , 0.5 mol/L NaCl , 0.2 mol/L KCl 使酶达到最高活力。

4 酶活力测定方法

褐藻胶裂解酶活力测定方法主要有: 苔黑酚法 (Orcinol assay)^[16], 硫代巴土酸法 (Thiobarbituric acid assay)^[16], 紫外吸收法 (Ultraviolet absorption assay)^[16], 黏度法 (Viscometry assay)^[18] 和还原糖法 (Reducing sugar assay)^[16]。

5 微生物褐藻胶裂解酶的产生菌及其酶系

文献报道的产酶微生物主要是细菌和真菌。70~80 年代, 微生物褐藻酶的研究受到广泛重视。Davidson I 等报道^[7] 了固氮菌产生的褐藻胶裂解酶降解褐藻酸钠产生了一系列含有 4-deoxy- α -L-erythro-hex-4-enopyranuronosyl 残基的寡聚糖醛酸。分析这些寡聚糖醛酸得出此酶对聚甘露糖醛酸有专一性, 可用于分析大分子的结构。通

过凝胶色谱、电泳等技术分离纯化酶, 得出此酶的最适 pH 为 7.7, 分子量 35 000 左右^[7]。Kyung Hee Min 等^[10] 用假单胞菌生产内切聚古罗糖醛酸裂解酶, 经 Sephadex G-150 分离得到的 3 组酶都只降解聚古罗糖醛酸、褐藻酸钠, 而不降解聚甘露糖醛酸。Jonathan Boyd 等^[6] 用 *Klebsiella aerogenes* 生产聚古罗糖醛酸裂解酶。1982 年, Scott Doubet 等^[19] 用褐藻酸作为唯一碳源, 培养可产生褐藻胶裂解酶的细菌, 该酶既可降解甘露糖醛酸又可降解古罗糖醛酸, 发酵液酶活力为 1.46 U/ml (TBA 法)。1984 年, Jeffrey B 等^[13] 以褐藻酸钠为唯一碳源, 从土壤和海水分离出产生褐藻胶裂解酶的芽孢杆菌, 菌体细胞 0.8~2.5 μm , 具有侧生或周生鞭毛, 革兰氏阴性, 在孢子形成培养基形成芽孢, 产生胞外酶, 表现出明显的内切甘露糖醛酸裂解酶的性质, 酶的分子量约 40 000; 1986 年, Tony Romeo 等^[20] 报道了细菌生产的胞外褐藻胶裂解酶, 用凝胶色谱、电泳、HPLC 等方法分离纯化酶, 研究酶的底物专一性, 此酶催化降解聚甘露糖醛酸, 酶分子量为 29 000, pI 在 4.2~5.0 之间^[20]。Manabu Kitamikado 等^[21] 从海水中通过厌氧培养的方法, 分离出 26 株菌, 这些菌在淡水中都不生长。比较这些菌的活力, 得到 A1-9 和 A1-128 两株高产酶菌株。A1-9 菌株在无褐藻酸钠的培养基中可以生长并产生胞外酶。相反, A1-128 菌株只能在褐藻酸钠培养基上生长。A1-9 菌株产生的酶降解褐藻胶使还原糖含量明显增加, 而 A1-128 菌株产生的酶使底物黏度明显下降。0.3 mol/L 的 NaCl 使两种酶的活力提高, 且都表现出褐藻胶裂解酶的性质。经分类鉴定, 这两株菌均是弧菌 (*Vibrio* sp.)^[21]。

90 年代多集中在对专一性裂解酶——古罗糖醛酸裂解酶和甘露糖醛酸裂解酶 (α -1, 4-guluronan lyase, β -1, 4-mannuronan lyase) 的研究。1992 年, Chaochuang Tseng 等^[17] 培养海洋细菌 *Vibrio* sp. A1-9, 产生 2 种类型的褐藻胶裂解酶, 分别裂解 L-古罗糖醛酸和 D-甘露糖醛酸, 经 Sephadex G-100, Sepharose CL-6B, 聚丙烯酰胺凝胶电泳纯化, 它们的分子量分别为 25 000 和 31 000。经分类鉴定, 此菌为 *Vibrio alginolyticus*^[17]。1992 年, Tomoo Sawabe 等^[22] 从腐烂的海

带中分离出 H-4 菌,此菌为革兰氏阴性菌,初步鉴定为 *Alteromonas* sp. H-4,其最适液体摇瓶培养基为:海水 75%,酪朊 0.5%,褐藻酸钠 0.1%,25℃ 摇瓶培养 96 h。此菌生产的酶可降解褐藻酸钠^[22]。1993 年, K Østgaard 等^[23]以褐藻酸钠为唯一碳源,用 *Klebsiella pneumoniae* 发酵培养一种胞外古罗糖醛酸裂解酶。不同的褐藻酸钠底物,菌体的生长和酶的产量不同。古罗糖醛酸含量低的褐藻酸钠产生较少的生物量但有利于酶的生产,低分子量的褐藻酸钠也有利于酶的生产。加热灭菌会产生一些降解底物,对酶的生长有影响。 Ca^{2+} 不仅影响酶动力学,而且影响最终的转化程度,酶的最适 pH 为 7 左右^[23]。1993 年, Bjorn Larsen 等^[24]用芽孢杆菌 *B. circulans* 1351 生产胞外酶,用于研究酶动力学和专一性。此酶可以裂解聚甘露糖醛酸也可裂解聚古罗糖醛酸, Ca^{2+} 可以明显提高酶降解聚甘露糖醛酸的活力而对聚古罗糖醛酸几乎无影响。有 Ca^{2+} 存在时,酶降解聚甘露糖醛酸遵循米氏方程。

1994 年, Toshio Takeuchi 等^[5]用黄杆菌 (*F. multivolum* K-11) 生产的酶降解褐藻酸,发酵液用活性炭脱色后,用微孔膜过滤除菌,再用酒精沉淀酶,此酶的最适反应温度为 50℃,超过 60℃ 失活,酶的最适 pH 为 7, pH 4.0~8.0 范围内稳定。1997 年, T Shimokawa 等^[12]报道了肠杆菌 (*E. cloacae* M-1) 产生的胞内和胞外酶并研究了酶的性质和底物专一性。Tomoo Sawabe 等^[18]进一步研究褐藻酸裂解酶的性质。用别单胞菌 (*Alteromonas* sp. H-4) 发酵产生褐藻酸裂解酶,此酶不仅可以降解褐藻酸钠和甘露糖醛酸古罗糖醛酸聚合物,而且可以降解聚甘露糖醛酸和聚古罗糖醛酸。酶降解上述 4 种底物可得到 DP 为 7-8, 5-6, 3-4 3 种主要产品,寡聚糖醛酸的回收率接近 100%,远远高于鲍裂解酶的降解回收率。说明细菌酶几乎可以完全降解褐藻酸分子。

由上述文献报道可以看出, *Bacillus circulans*^[13], *Pseudomonas aeruginosa*^[11] 褐藻胶裂解酶是典型的聚甘露糖醛酸裂解酶,而在 *Klebsiella pneumoniae*^[9] 发现的是典型的聚古罗糖醛酸裂解酶。*Alteromonas* sp. 可产生降解多种底物的酶^[25]。目前未见报道任何 1 种菌株已工业化生产,大多数研究侧重于产酶菌种的调查和酶的提纯及性质方面。

在研究酶对不同类型的底物专一性时,多应用了 NMR^[26], TLC^[27], HPLC^[28] 和纸色谱技术。T Shimokawa 等^[12]进一步研究了褐藻胶裂解酶对寡聚底物的反应方式,研究了一种制备褐藻衍生糖醛酸的方法,并报道了用 FACE (fluorophonic-assisted carbohydrate electrophoresis) 方法分析寡聚糖醛酸。他们用肠杆菌 (*E. cloacae* M-1) 生产胞内褐藻胶裂解酶,用 Q Sepharose FF, SP Sepharose FF 和 Sephacryl S-200 HR 纯化酶,在 SDS-PAGE 和 IEF 上形成单一的 1 条区带。此酶很容易降解聚古罗糖醛酸并产生一系列不同聚合度的寡聚糖醛酸分子,但不能降解 $dp < 4$ 的寡聚糖醛酸,且酶降解七聚体的速度比六聚体快得多。此酶对七聚体有一优先断列点,催化位置在非还原末端的第 2 和第 3 个残基

间^[29,30]。

总之,从某些细菌或海洋动物中分离的褐藻胶裂解酶,有的只降解甘露糖醛酸嵌段,有的只降解古罗糖醛酸嵌段,有的二者皆可。这些酶对褐藻胶的降解只有 2 种方式:① 糖苷键的水解;② 从降解链的非还原末端脱水生成双键。

迄今,只有几种褐藻胶裂解酶的基因得到克隆和定序。1991 年, B J Brown 等^[31]报道了用基因工程方法从褐藻附生生物分离的细菌 *Sargassum fluitans* 的 D-甘露糖醛酸裂解酶基因克隆到大肠杆菌中,产生了 D-甘露糖醛酸裂解酶。另外,假单胞菌中的 *Pseudomonas* sp. OS-ALG-9^[32], *P. alginovora*^[33] 和 *P. aeruginosa*^[34] 以及 *Klebsiella pneumoniae*^[35] 等的褐藻胶裂解酶基因也已被定序并克隆到大肠杆菌 (*E. coli*) 中,用于大量生产褐藻胶裂解酶、甘露糖醛酸裂解酶和古罗糖醛酸裂解酶。有关微生物褐藻胶裂解酶的基因克隆及结构研究代表了这一领域最新、最重要的进展。通过将褐藻胶裂解酶的基因克隆到适于工业化生产的宿主细胞,可使褐藻胶裂解酶的发酵产率发生量的飞跃。此外,对褐藻胶裂解酶结构的详细了解使得设计适于工业化应用的酶种成为可能。毫无疑问,微生物褐藻胶裂解酶的基因克隆与结构鉴定方面的突破将对酶的生产产生深刻的影响。

6 褐藻胶裂解酶的应用研究

褐藻胶被广泛应用于各种工业生产中,降解的褐藻胶具有许多生物活性,因此近年来也受到重视。褐藻胶或其分级产物经特定的方式改性后,有特殊的生理活性,如国家新药 PSS、甘露酯等便是成功之例^[36]。褐藻胶降解产物具有抗病毒和抑菌活性,也引起了医药界的高度重视。褐藻胶的降解方法可归纳为 4 类:选择沉淀法,稀酸水解法,酶解法和直接加热法。目前,普遍采用的方法是稀酸水解法。这种方法的降解速度慢,且需高温、高压,操作较复杂。而酶法降解条件温和,有待以酶法降解取代酸水解,因此褐藻胶裂解酶最近受到重视,而且酶法降解褐藻胶使得这种多糖有了更广泛的应用潜力。

褐藻胶裂解酶在研究褐藻酸的化学结构以及细菌的褐藻酸代谢等方面具有一定的意义^[37]。另外,褐藻胶裂解酶还用作海藻解壁酶,以获得 DNA、单细胞和原生质体^[38]。褐藻胶的黏度很大,使得提取 DNA 非常困难,添加褐藻胶裂解酶以后,褐藻胶很快降解,黏度下降,大大方便了 DNA 的提取。此外,一些褐藻胶衍生寡聚糖对植物生长的生理活性的影响也引起了生物化学方面的兴趣^[39]。

参考文献:

- [1] Henry I Nakada, Patricia C Sweeny. Alginic acid degradation by eliminases from abalone hepatopancreas[J]. J Bio Chem, 1967, 242(5):845-851.
- [2] CHAO Huang - tseng, Kuniko Yamaguchi, Manabu K. Two types of alginate lyases from a marine bacterium *Vibrio* sp. Al - 9 [J]. Nippon Suisan Gakkaishi, 1992. 58(4): 743-749.

- [3] Chao - Huang Tseng, Kuniko Yamaguchi, Manabu K. Isolation and some properties of alginate lyase from a marine bacterium *Vibrio* sp. AL - 128[J]. Nippon Suisan Gakkaishi, 1992, 58(3): 533-538.
- [4] Manabu Kitamikado, Kuniko Yamaguchi. Method designed to detect alginate - degrading bacteria[J]. Appl Envi Microb, 1990, 56(9):2 939-2 940.
- [5] Toshio Takeuchi, Katsumi Murata, Isao K. A method for depolymerization of alginate using the enzyme system of *Flavobacterium multivolum* [J]. Nippon Shokuhin Kogyo Gakkaishi, 1994, 41(7):505-511.
- [6] P Gacesa. Enzymic degradation of alginates[J]. Int J Biochem, 1992, 24:545-552.
- [7] I W Davidson, C J Lawson. An alginate lyase from *Azotobacter vinelandii* phage[J]. J General Microb, 1977, 98:223-229.
- [8] Jonathan Boyd, James R. Isolation of a poly- α -L-gulonatelyase from *Klebsiella aerogenes*[J]. Carbohydrate Research, 1977, 57: 163-171.
- [9] K Østgaard, S H Knutsen, N Dyrset. Production and characterization of guluronate lyase from *Klebsiella pneumoniae* for applications in seaweed biotechnology [J]. Enzyme Microb Technol, 1993, 15(9):756-763.
- [10] K H Min, S F Sasaki. Multiple components of endo-polyguluronidelyase of *Pseudomonas* sp[J]. J Biochem, 1987, 81, 539-546.
- [11] Alfred Linker, Leigh R. Isolation and characterization of an alginate lyase from mucoid strains of *Pseudomonas aeruginosa* [J]. J Bacteriology, 1984, 159(3):958-964.
- [12] Tomoko Shimokawa, Shigeki Yoshida, Isao Kusakabe. Some properties and action mode of (1-4- α -L-gulonide) lyase from *Enterobacter cloacae* M-1[J]. Carbohy Res, 1997, 304, 125-132.
- [13] Jeffrey B Hansen, Scott Doubet, J Ram. Alginase enzyme production by *Bacillus circulans* [J]. Appl Envi Microb, 1984, 47(4), 704-709.
- [14] William A K, Eagon R G. Studies on the alginase of *Agarbacterium alginicum*[J]. Can J Microbiol, 1962, 8, 649-654.
- [15] 朱仁华. 三种海螺蟹壁酶组分的比较研究[J]. 海洋学报, 1983, 5(增刊):513-518.
- [16] Jack Preiss, G Ashwell. Alginic acid metabolism in bacteria[J]. J Biol Chem, 1962, 237(2):309-316.
- [17] Chao - Huang Tseng, Kuniko Yamaguchi, Manabu K. Alginate lyase from *Vibrio alginolyticus* ATCC 17749[J]. Nippon Suisan Gakkaishi, 1992, 58(11): 2 063-2 067.
- [18] Tomoo Sawabe, Miwa Ohtsuka, Yoshio Ezura. Novel alginate lyases from marine bacterium *Alteromonas* sp. strain H-4[J]. Carbohydr Res, 1997, 304:69-76.
- [19] Scott Doubet, Ralph S Quatrano. Isolation of marine bacteria capable of producing specific lyases for alginate degradation[J]. Appl Environ Microb, 1982, 44(3):754-756.
- [20] T Romeo, J F Preston. Purification and structural properties of an extracellular (1-4)- β -D-mannuronan - specific alginate lyase from a marine bacterium[J]. Biochemistry, 1986, 25:8 385-8 391.
- [21] Manabu Kitamikado, Chao - Huang Tseng, Takahili Aoki, et al. Isolation of bacteria capable of producing alginate - degrading enzyme from natural environment [J]. Nippon Suisan Gakkaishi, 1989, 55(4):709-713.
- [22] Tomoo Sawabe, Yoshio Ezura. Characterization of an alginolytic marine bacterium from decaying Rishiri-kombu *Laminaria japonica* var. *Ochotensis* [J]. Nippon Suisan Gakkaishi, 1992, 58(1):141-145.
- [23] K Østgaard, S H Knutsen, N Dyrset. Production and characterization of guluronate lyase from *Klebsiella pneumoniae* for applications in seaweed biotechnology [J]. Enzyme Microb Technol, 1993, 15(9):756-763.
- [24] Bjorn Larsen, Kirsti Høoen. Kinetics and specificity of alginate lyases[J]. Hydrobiologia, 1993, 260/261: 557-561.
- [25] Richard A, Stevens, R E Levin. Viscometric assay of bacterial alginase[J]. Appl Envir Microb, 1976, 31(6):896-899.
- [26] Alain Heyraud, Claude Gey, Christine Leonard. NMR spectroscopy analysis of oligoguluronates and oligomannuronates prepared by acid or enzymatic hydrolysis of homopolymeric blocks of alginic acid[J]. Carbohydr Res, 1996, 289:11-23.
- [27] Y Nibu, T Satoh, Y Nishi. Purification and characterization of extracellular alginate lyase from *Enterobacter cloacae* M-1[J]. Biosci Biotech Biochem, 1995, 59:632-637.
- [28] Alain Heyraud, Philippe Colin - Morel, Sylvie Girond, et al. HPLC analysis of saturated or unsaturated oligoguluronates and oligomannuronates. Application to the determination of the action pattern of *Halietis tuberculata* alginate lyase[J]. Carbohydr Res, 1996, 291:115-126.
- [29] T Shimokawa, S Yoshida, T Takeuchi, et al. Preparation of two series of oligo - guluronic acids from sodium alginate by acid hydrolysis and enzymatic degradation [J]. Biosci Biotech Biochem, 1996, 60: 1 532-1 534.
- [30] Tomoko Shimokawa, Shigeki Yoshida, Isao Kusakabe. Effects of uronic acid residues at non-reducing end on bond cleavage frequency of poly(1-4- α -L-gulonide) lyase from *Enterobacter cloacae* M-1[J]. Biosci Biotechnol Biochem, 1998, 62(1):164-166.
- [31] B J Brown, J F Preston, I O Ingram. Cloning of alginate lyase gene (alxM) and expression in *Escherichia coli* [J]. Appl Envir Microb, 1991, 57(6):1 870-1 872.
- [32] Kraiwattapong J, Ooi T. Cloning and sequence analysis of the gene (aly II) coding for an alginate lyase of *Pseudomonas* sp. OS - ALG - 9[J]. Biosci Biotechnol Biochem, 1997, 61(11):1 853-1 857.
- [33] Chavagnat F, Duez C, Guinand M, et al. Cloning, sequencing and overexpression in *Escherichia coli* of the alginatelyase - encoding aly gene of *Pseudomonas alginovorax*: identification of three classes of alginate lyases[J]. Biochem J, 1996, 319(Pt 2):575-583.
- [34] Schiller N L. Alginate synthesis in *Pseudomonas aeruginosa*: the role of AlgL (alginate lyase) and AlgX[J]. J Bacteriol, 1996, 178

- (3):625-632.
- [35] Hicks S J, Gacesa P. Heterologous expression of full-length and truncated forms of the recombinant gulurinate-specific alginate of *Klebsiella pneumoniae* [J]. *Enzyme Microb Technol*, 1996, 19 (1):68-73.
- [36] 张 展. 海藻双酯钠对血清高密度脂蛋白亚组分含量影响的观察[J]. *中国海洋药物*, 1992, (1):4.
- [37] Henry I Nakada, Patricia C Sweeny. Alginic acid degradation by eliminases from abalone hepatopancreas [J]. *J Bio Chem*, 1967, 242(5):845-851.
- [38] Tomoo Sawabe, Yoshio Ezura, Takahisa Kimura. Application of an alginate lyase from *Alteromonas* sp. for isolation of protoplasts from a brown algae *Laminaria japonica* [J]. *Nippon Suisan Gakkaishi*, 1993, 59(4):705-709.
- [39] M Natsume, Y Kamo, M Hirayama. Isolation and characterization of alginate-derived oligosaccharides with root growth-promoting activities [J]. *Carbohydr Res*, 1994, 258:187-197.

2001 年度《中国水产文摘》征订启事

《中国水产文摘》系我国水产系统唯一的全面报道国内水产科技文献的综合性检索期刊,由中国水产科学研究院渔业综合信息研究中心主办。其宗旨是全面、及时地报道全国各地公开发行的水产科技文献,为读者快速、方便地检索国内水产科技文献服务。本刊为全国优秀水产刊物,并 1 次获全国科技文献检索期刊二等奖,3 次获全国科技文献检索期刊三等奖,2 次获全国水产优秀期刊一等奖。现已被“万方数据”(ChinaInfo)系统科技期刊群(《电子期刊》)全文收录,本刊的《中国水产文献数据库》也已加入 ChinaInfo 网。

本刊所收录的文献类型有期刊、专著、汇编、会议录、科技报告、技术标准等。按以下主要类目编排:(1)水产总论;(2)水产基础科学;(3)水产资源和环境保护;(4)水产捕捞;(5)海水养殖;(6)淡水养殖;(7)水产生物病害及防治;(8)饲料和肥料;(9)水产品保鲜及加工;(10)渔业机械仪器和渔船;(11)渔业经济。年报道量 3000 条以上。每年第 1 期刊登本刊引用主要期刊一览表。年终编辑出版本年度主题索引、著者索引。本刊还有自 1985 年创刊以来的数据和各年及 1999 年的最新数据《中国水产文献数据库》光盘和软盘,有意者可来函联系。

本刊为双月刊,逢双月底出版,国内外公开发行。国际标准刊号:ISSN 1002-1612,国内统刊号:CN11-3035/S。每期定价 12.00 元,全年 6 期共 72.00 元。邮发代号 18-126,国外代号:BM4104,请广大新、老订户和读者及时到当地邮局办理订约手续。也可直接向本刊编辑部办理邮购。

编辑部地址:北京市永定路南青塔村 150 号 邮政编码:100039 联系电话:(010)68673921