2026, 66(1): 51-60
CSTR: 32112.14.j.AMS.20250485
DOI: 10.13343/j.cnki.wsxb.20250485

微生物学报
Acta Microbiologica Sinica
http://journals.im.ac.cn/actamicrocn

Review 综述

微生物糖苷水解酶 19 家族几丁质酶的研究进展

李妍[1]，钱周泽[1]，王帅奇[1]，吕晨茵[1]，谷天燕[1]，李玲聪[1]，于欢[2]，赵国刚[1*]

1 河北农业大学 生命科学学院，河北 保定
2 河北达瑞生物科技股份有限公司，河北 保定

李妍, 钱周泽, 王帅奇, 吕晨茵, 谷天燕, 李玲聪, 于欢, 赵国刚. 微生物糖苷水解酶 19 家族几丁质酶的研究进展[J]. 微生物学报, 2026, 66(1): 51-60.
LI Yan, QIAN Zhouze, WANG Shuaiqi, LÜ Chenyin, GU Tianyan, LI Lingcong, YU Huan, ZHAO Guogang. Advances in microbial glycoside hydrolases family 19 chitinases[J]. Acta Microbiologica Sinica, 2026, 66(1): 51-60.

摘　要：几丁质是地球上储量仅次于纤维素的第二大可再生资源。几丁质酶是降解几丁质的关键酶类。糖苷水解酶 19 家族(glycoside hydrolases family 19, GH19)几丁质酶主要存在于高等植物中。近年来，来自微生物的 GH19 几丁质酶被广泛发现。本文从分布、结构特征、酶学性质及应用等方面综述了微生物来源 GH19 几丁质酶的研究进展，并对未来的研究方向进行了展望。

关键词：微生物 GH19 几丁质酶；几丁质；酶学性质；应用

Advances in microbial glycoside hydrolases family 19 chitinases

LI Yan[1], QIAN Zhouze[1], WANG Shuaiqi[1], LÜ Chenyin[1], GU Tianyan[1], LI Lingcong[1], YU Huan[2], ZHAO Guogang[1*]

1 College of Life Sciences, Hebei Agricultural University, Baoding, Hebei, China
2 Hebei Darui Bio-technology Co., Ltd., Baoding, Hebei, China

Abstract: Chitin is the second largest renewable resource only after cellulose on Earth. Chitinases are the key enzymes for degrading chitin. Chitinases of the glycoside hydrolase family 19 (GH19) mainly exist in higher plants. In recent years, microbial GH19 chitinases have been widely discovered. This paper reviews the research progress in microbial GH19 chitinases regarding their

资助项目：国家自然科学基金(32272605, 32471477)；国家重点研发计划(2017YFD0201100)；保定市揭榜挂帅课题(2022创028)；河北农业大学启动基金(ZD201605)
This work was supported by the National Natural Science Foundation of China (32272605, 32471477), the National Key Research and Development Program of China (2017YFD0201100), the Project of Open Bidding for Selecting the Best Candidates from Baoding City (2022 Innovation No. 028), and the Start Funding from Hebei Agricultural University (ZD201605).
*Corresponding author. Tel: +86-312-7528250, E-mail: zhgg@hebau.edu.cn
Received: 2025-06-22; Accepted: 2025-09-06; Published online: 2025-09-22

distribution, structures, enzymatic properties, and applications and prospects the research directions in the future.

Keywords: microbial GH19 chitinases; chitin; enzymatic properties; applications

几丁质是由 N-乙酰-D-氨基葡萄糖(N-acetyl-D-glucosamine, GlcNAc)通过 β-1,4-糖苷键连接而成的长链多糖，也是地球上储量仅次于纤维素的第二大可再生资源，每年的生物合成量约 10^{11} t[1-2]。几丁质在自然界中广泛存在，主要分布于虾蟹外壳、鱿鱼软骨、昆虫的外骨骼及围食膜、真菌的细胞壁中。由于其独特的理化性质和生物活性，几丁质及其降解产物几丁寡糖(N-acetylchito-oligosaccharides, NAc-COS)在农业、医药、食品和环保等领域得到了广泛应用[3]。

几丁质酶(chitinase, EC 3.2.1.14)是催化断裂几丁质 β-1,4-糖苷键以生成几丁寡糖的水解酶。在自然界中，几丁质的降解主要依赖于微生物来源的几丁质酶[3]。根据氨基酸序列和催化机理的不同，几丁质酶可分为糖苷水解酶 18 家族(glycoside hydrolases family 18, GH18)和糖苷水解酶 19 家族(glycoside hydrolases family 19, GH19)[4-5]。GH19 家族几丁质酶主要存在于高等植物中，后续研究陆续在线虫、部分放线菌和海洋紫细菌中发现了 GH19 几丁质酶[5]。

1 微生物 GH19 几丁质酶的分布、进化关系及功能

1.1 微生物 GH19 几丁质酶的发现与分布

1996 年，Ohno 等[6]从灰色链霉菌(*Streptomyces griseus*) HUT 6037 中分离得到一种几丁质酶 ChiC，发现其催化结构域与植物的 GH19 几丁质酶序列相似性高且催化位点保守，表明该几丁质酶属于 GH19 家族，这也是首次在高等植物以外的生物体中鉴定出 GH19 家族几丁质酶。之后，陆续在其他链霉菌属(*Streptomyces*)[7]、气单胞菌属(*Aeromonas*)[8]、芽孢杆菌属(*Bacillus*)[9]、弧菌属(*Vibrio*)[10]等微生物中发现了 GH19 几丁质酶。

目前，美国国家生物技术信息中心(National Center for Biotechnology Information, NCBI)数据库(https://www.ncbi.nlm.nih.gov)收集的微生物 GH19 家族几丁质酶主要来源于细菌(526 个)，少量来源于真菌(6 个)。其中，细菌 GH19 几丁质酶主要分布于假单胞菌门(*Pseudomonadota*)的假单胞菌属(*Pseudomonas*)、肠杆菌属(*Enterobacter*)、溶杆菌属(*Lysobacter*)以及放线菌门(*Actinomycetota*)的链霉菌属(*Streptomyces*)、小单胞菌属(*Micromonospora*)。真菌 GH19 几丁质酶仅存在于微孢子门(*Microsporidia*)和捕虫霉门(*Zoopagomycota*)，来自微孢子门的家蚕微孢子虫(*Nosema bombycis*)中的 *Nb*chiA 是已知从真菌中分离鉴定出的第 1 个 GH19 家族几丁质酶[11]。

1.2 微生物 GH19 几丁质酶的进化起源

微生物 GH19 几丁质酶与植物几丁质酶关系密切。植物几丁质酶根据一级序列的不同可分为 7 类(I−VII)，其中 I、II、IV、VI 和 VII 类酶属于 GH19 家族[12]。链霉菌 GH19 几丁质酶的氨基酸序列与植物中的第 IV 类几丁质酶存在相同位置的缺失，系统发育树分析表明两者亲缘关系相近[7]。进一步研究表明，放线菌与开花植物 GH19 几丁质酶的进化距离更近；而且，植物和细菌来源的 GH19 几丁质酶的催化区域和活性位点高度保守，GH19 几丁质酶催化中心保守的 Signature 序列为[FHY]-G-R-G-[AP]-x-Q-[IL]-[ST]-[FHYW]-[HN]-[FY]-NY，由此推测微生物 GH19 几丁质酶的基因可能是通过水平基因转移从植物中获得[5]。

1.3 微生物 GH19 几丁质酶的生物学功能

植物 GH19 几丁质酶是抗病原真菌防御机制的组成部分，通过水解真菌细胞壁中的几丁质来抑制真菌生长，并且植物几丁质酶在体外也表现出抗真菌活性[13]。微生物 GH19 几丁质酶与植物 GH19 几丁质酶同源，具有显著的抗真菌活性，可在生存环境中获得竞争优势。同时，细菌 GH19 几丁质酶能够降解几丁质作为碳源以获取能量[5]；而真菌 GH19 几丁质酶可降解宿主昆虫的围食膜，辅助病原体穿透宿主屏障进而侵染宿主[11]。

2 微生物 GH19 几丁质酶的结构及催化机理

2.1 结构特征

绝大多数微生物 GH19 几丁质酶的一级结构包含信号肽(signal peptide, SP)、几丁质结合结构域(chitin-binding domain, ChBD)和几丁质催化结构域(catalytic domain, CatD) 3 部分，然而也有部分几丁质酶仅包含几丁质催化结构域。以 *S. griseus* HUT 6037 的 ChiC (PDB-ID:1WVU)为例(图 1A)，ChiC 由信号肽、N-末端的几丁质结合结构域和 C-末端的 GH19 几丁质催化结构域构成[6]。几丁质结合结构域属于不同的碳水化合物结合模块(carbohydrate binding modules, CBMs)家族，主要有 CBM5、CBM12、CBM18；ChiC 的几丁质结合结构域属于 CBM5 家族，该结构域能够增强酶与几丁质底物的结合能力，从而提高催化效率[14-15]。几丁质催化结构域决定了几丁质酶的水解能力，ChiC 催化结构域的保守 Signature 序列为 Y^{182}GRGPIQLSWNFNY^{195}。

植物 GH19 几丁质酶可分为以下 5 类：植物Ⅰ类几丁质酶含有 N-末端富含半胱氨酸的几丁质结合结构域和 C-末端催化结构域，且二者通过短连接肽相连；Ⅱ类几丁质酶仅具有与Ⅰ类同源的催化结构域；Ⅳ类几丁质酶与Ⅰ类几丁

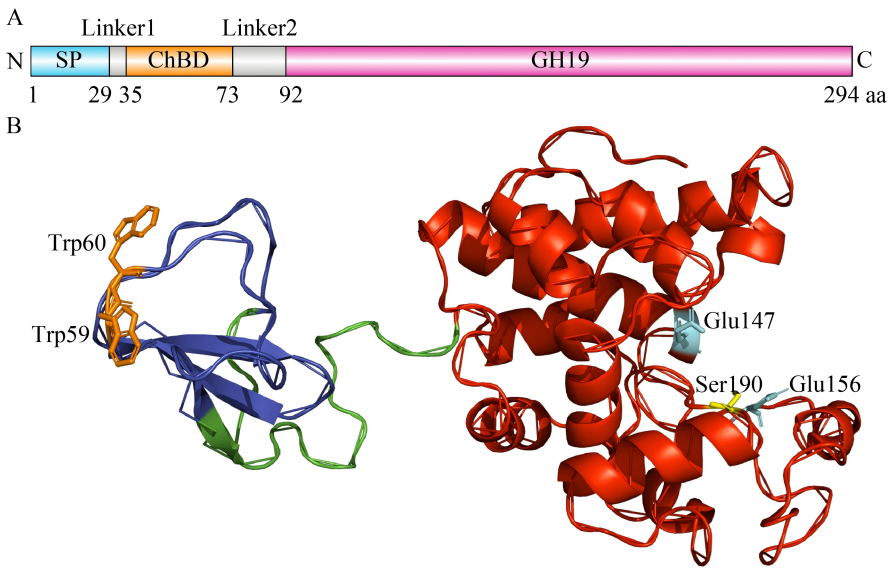

图1 来源于*Streptomyces griseus* HUT 6037的ChiC结构示意图。A：ChiC的结构域；B：ChiC的三维结构。蓝色部分为几丁质结合结构域；红色部分为GH19几丁质催化结构域；催化残基为Glu147和Glu156。

Figure 1 The schematic representation of the structure of ChiC from *Streptomyces griseus* HUT 6037. A: The structural domains of ChiC; B: Three-dimensional structure of ChiC. Chitin-binding structural domain is marked in blue, and GH19 catalytic domain is labelled in red. The catalytic residues are shown as Glu147 and Glu156.

质酶具有同源性，但分子量更小；VI 类几丁质酶具有 1 个高度截短的几丁质结合结构域和 1 个富含脯氨酸的间隔区；VII 类几丁质酶具有与 IV 类几丁质酶中同源的催化结构域[12]。微生物 GH19 几丁质酶与植物 I 类和 IV 类几丁质酶的一级结构高度相似，但碳水化合物结合模块结构域有所不同。

微生物 GH19 几丁质酶的催化结构域高度螺旋化，存在由多个环(loop)和 α 螺旋组成的裂缝，并以 2 个谷氨酸作为催化活性中心。图 1B 为 ChiC 的三维结构图，其催化结构域的裂隙底部包含 2 个关键的活性中心位点 Glu147 和 Glu156；而几丁质结合结构域有 2 个表面暴露的芳香族残基 Trp59 和 Trp60，其中 Trp60 可通过旋转调节结合表面以适应结晶几丁质的表面[15]。根据催化结构域中 loop 数量的差异可分为“有环”和“无环”几丁质酶。有环几丁质酶中存在额外的环，其位于底物结合裂缝的两端，该额外的环延伸了底物结合凹槽，提供了更多的亚位点用于结合更长的几丁质链，而无环几丁质酶则没有这些额外的环[16]。与植物来源的 GH19 几丁质酶相比，微生物来源的 GH19 几丁质酶缺少 C-末端的延伸和 3 个额外的环[17]。噬几丁质菌属(*Chitinophaga* sp.) YS-16 中发现的 *Cp*Chi 是首次报道的具有满环(loopful)结构的细菌 GH19 几丁质酶[18]。

2.2 催化机理

根据水解过程中糖苷键异头碳立体构型的变化不同，几丁质酶的水解机制可分为保留型和反转型 2 类。微生物与植物来源的 GH19 几丁质酶催化机理一致，均采用单置换机制导致异头碳的构型发生反转[18]。在反转机制中需要 2 个酸性残基分别作为质子供体和亲核试剂。以 *S. griseus* HUT 6037 的 ChiC 为例(图 2)，Glu147 作为广义酸，在质子化状态下攻击糖苷键的氧原子，促进键断裂；Glu156 作为广义碱，可以激活被 Ser190 固定的水分子，使其攻击异头碳，通过反转机制将底物转化为 α-异构体。此外，几丁质酶根据水解方式的不同可分为内切几丁质酶和外切几丁质酶，微生物 GH19 家族的几丁质酶均属于内切几丁质酶。内切几丁质酶水解几丁质内部的 β-1,4-几丁质糖苷键，生成几丁二糖和可溶性低分子量几丁寡糖[19]。

3 微生物 GH19 几丁质酶的酶学性质

目前，对于微生物来源的 GH19 几丁质酶研究相对较少，已表征的微生物 GH19 家族几丁质酶主要来源于链霉菌属(*Streptomyces*)、芽孢杆菌属(*Bacillus*)、弧菌属(*Vibrio*)、假交替单胞菌属(*Pseudoalteromonas*)等。酶的分子量范围为 20.0−90.0 kDa，最适温度在 30−70 ℃之间，最

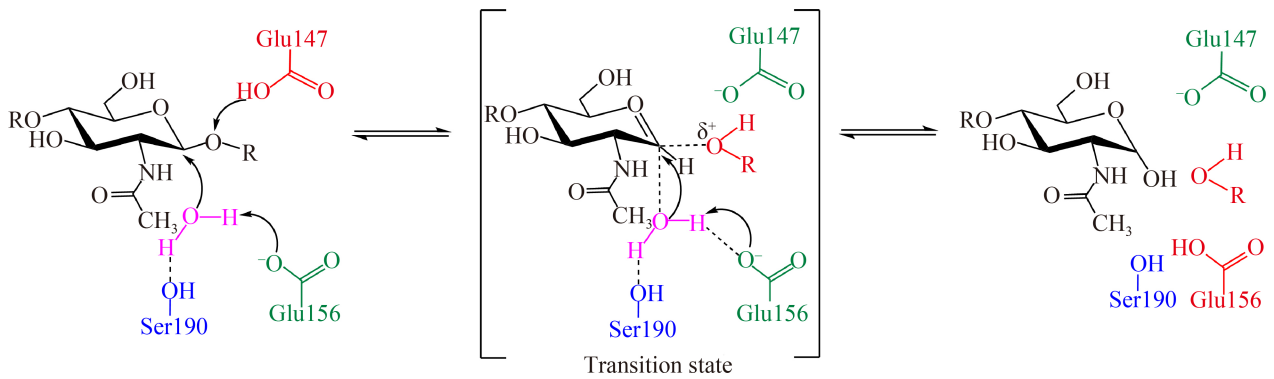

图2 来源于*Streptomyces griseus* HUT 6037的ChiC催化机理示意图

Figure 2 Schematic diagram of the catalytic mechanism of ChiC derived from *Streptomyces griseus* HUT 6037.

适 pH 为 4.0−8.0，对不同底物的比活差异显著(表 1)。

不同微生物来源的 GH19 几丁质酶分子量差异较大，通常在 30.0−50.0 kDa 之间。气单胞菌属(*Aeromonas* sp.) No.10S-24 的 GH19 几丁质酶分子量为 70.3 kDa，远大于其他 GH19 几丁质

表1 微生物GH19几丁质酶酶学性质

Table 1 Enzymatic properties of GH19 chitinases from microbes

菌株 Strain	酶 Enzyme	分子量 Molecular mass (kDa)	最适温度 Optimal temperature (℃)	最适pH Optimal pH	热稳定性 Thermal stability (℃)	pH稳定性 pH stability	比活 Specific activity (U/mg)	文献 References
Streptomyces griseus HUT 6037	ChiC	33.0	55	4.5−6.0	≤55	4.0−8.5	24.5a 0.16b	[6-7]
Aeromonas sp. No.10S-24	Chitinase	70.3	40	5.0	−	−	−	[8]
Bacillus circulans KA-304	ChiI	41.0	50	6.5	≤50	5.0−9.0	1.6a	[9]
Vibrio proteolyticus	Chi19	60.0	40	5.5−7.0	−	−	0.03a	[10]
Nosema bombycis	NbchiA	−	40	7.0	30−80	3.0−10.0	0.70a	[11]
Streptomyces coelicolor A3(2)	Chi19F	32.6	50	6.0	30−60	4.0−8.0	28.0a	[13]
Chitinilyticum aquatile CSC-1	*Ca*Chi19A	75.7	50	6.0	0−40	5.0−12.0	0.23a 0.08b	[20]
Streptomyces thermoviolaceus OPC-520	Chi25	28.7	70	5.0−6.0	−	−	−	[21]
	Chi35	39.7	60	5.0−6.0	−	−	−	
Streptomyces alfalfae ACCC 40021	*Sa*ChiB	29.0	45	8.0	30−60	4.0−11.0	28.4a 1.9b	[22]
Streptomyces griseus HUT 6037	49-kDa chitinase	49.0	60	6.5	≤40	5.5−7.0	2.0a	[23]
Streptomyces coelicolor A3(2)	Chi19G	26.8	30	4.0−6.0	−	−	5.4b	[24]
Streptomyces griseus MG3	ChiIS	29.0	45	5.0−7.0	20−65	3.0−10.0	1.8a	[25]
Streptomyces cyaneus SP-27	ChiA	29.0	60	6.5	≤60	5.5−8.5	−	[26]
Chitiniphilus shinanonensis SAY3^T	rChiN	41.4	50	5.6	−	−	8.6a	[27]
Pseudoalteromonas tunicata CCUG 44952T	*Pt*Chi19p	53.5	43	7.5	20−50	6.0−9.5	0.06a 0.01b	[28]
Lysobacter sp. MK9-1	Chi19MK ΔNTerm	29.2	55	4.5	≤50	4.0−4.5	12.0a	[29]
Cellulosimicrobium funkei HY-13	rChiJ	30.0	55	5.5	40−55	3.5−11.0	16.0a	[30]
Streptomyces sampsonii XY2-7	*Ss*Chi28	30.0	55	6.0	≤60	3.5−11.5	20.1a	[31]
Streptomyces sampsonii KJ40	ChiKJ406136	48.0	−	−	−	−	0.5a	[32]
Streptomyces bacillaris	*Sb*ChiAJ103	31.5	45	7.0	−	−	3.5a 0.7b	[33]
Streptomyces sp. SCUT-3	*Ss*EndoChi19	29.6	60	6.0	30−70	5.0−11.0	57.1a	[34]

a：对胶体几丁质的比活；b：对α-几丁质的比活；−：文献中未提及。

a: The specific activity against colloidal chitin; b: The specific activity against α-chitin; −: Not mentioned in the literature.

酶，原因是其 N-末端含有 2 个重复的几丁质结合结构域，而催化结构域的分子量为 46.0 kDa，是已知来源于微生物的最大的 GH19 催化结构域[8]。水解几丁质菌(*Chitinilyticum aquatile*) CSC-1 中的 *Ca*Chi19A 具有 3 个 N-末端几丁质结合结构域和 1 个 GH19 催化结构域，分子量为 75.7 kDa，该酶是唯一发现含有 3 个几丁质结合结构域的 GH19 几丁质酶[20]。多数细菌和真菌来源的几丁质酶最适温度在 40−50 ℃之间。热紫链霉菌(*Streptomyces thermoviolaceus*) OPC-520 来源的 Chi25 和 Chi35 最适温度达到了 60 ℃和 70 ℃，Chi35 的 N-端 CBM 结合结构域具有结合几丁质、微晶纤维素、木聚糖等多种多糖的功能，其二级结构中富含 α 螺旋结构，这些结构可能有助于酶在高温下保持稳定[21]。GH19 几丁质酶的最适 pH 范围广泛，通常在酸性至中性条件下活性较高，而苜蓿链霉菌(*Streptomyces alfalfae*) ACCC 40021 的 *Sa*ChiB 最适 pH 为 8.0。

大多数微生物 GH19 几丁质酶对可溶性几丁质及胶体几丁质有较高活性，而对 α-几丁质活性差异较大。由于 α-几丁质的多糖链以反式平行方式排列，形成高度压缩的坚硬的不溶性晶体，这种结构阻碍了酶与底物的结合，影响了水解催化过程，导致 α-几丁质难以被降解[1]。*Ca*Chi19A 和 *Sa*ChiB 对可溶性和 α-几丁质均有较高活性，使其能更有效地应用于天然几丁质废弃物的降解[20,22]。

4 微生物 GH19 几丁质酶的分子改造

近几十年来，基因工程及蛋白质工程技术的迅猛发展为提高微生物 GH19 几丁质酶的活力与性能提供了新方法。已有研究借助蛋白质工程技术对微生物 GH19 几丁质酶进行分子改造尝试，已报道的改造内容包括提升结合能力、增强活性以及优化稳定性等方面。

本课题组谷天燕等[35]采用将几丁质酶结合结构域融合至酶两端的策略，以 *S. alfalfae* ACCC 40021 的 GH19 几丁质酶 *Sa*ChiB 为模板，成功构建了两端融合表达几丁质结合结构域的几丁质酶 $DChBD_{ChiB}$，显著提高了微生物 GH19 几丁质酶的效能：$DChBD_{ChiB}$ 对 α-几丁质和胶体几丁质的结合能力分别提高了 1.76 倍和 2.34 倍；活性分别提高了 3.02 倍和 1.40 倍；同时，对抗病原真菌长枝木霉(*Trichoderma longibrachiatum*)的活性提高了 2.65 倍。结构功能研究表明，选择性截短几丁质结合结构域可有效增强微生物 GH19 几丁质酶的稳定性。Yang 等[20]对 *C. aquatile* CSC-1 来源的含有 3 个几丁质结合结构域(ChBD Ⅰ、ChBD Ⅱ和 ChBD Ⅲ)的 *Ca*Chi19A 进行改造，构建了删除 ChBD Ⅰ、ChBD Ⅱ的突变酶 *Ca*Chi19A_ΔIΔII，发现该酶具有更好的热稳定性和 pH 稳定性，对胶体几丁质的催化效率提高了 1.32 倍，为其在低温工业生产和农业生物防治中的应用奠定了基础。

目前，微生物 GH19 几丁质酶的分子改造研究仍有很大探索空间，充分利用蛋白质工程技术结合新兴生物技术手段对酶进行改造十分重要。

5 微生物 GH19 几丁质酶的应用

5.1 生物防治病原真菌

植物病原真菌占植物传染性病害的 75%，造成作物减产约 20%，收获后损失 10%；同时，病原真菌还严重威胁动物、人类和生态系统健康[36]。与化学杀菌剂易引起污染和真菌抗性不同，几丁质酶可作用于植物病原真菌细胞壁基质组分几丁质，破坏病原菌菌丝尖端新合成的几丁质，阻断菌丝延伸并抑制孢子萌发，具有作为生物防治制剂的潜力。微生物 GH19 几丁质酶具有抗植物病原真菌的潜力。如表 2 所示，大多数微生物 GH19 几丁质酶对里氏木霉(*Trichoderma reesei*)有抑制作用，其中溶杆菌属(*Lysobacter* sp.) MK9-1 来源的 Chi19MKΔNterm

采用琼脂滤纸片扩散法观察抑菌圈形成情况，其含量为 0.1−0.8 nmol 时对里氏木霉有显著抑制作用[29]；基因工程改造的融合酶 $DChBD_{ChiB}$ 对长枝木霉的抑制作用提高了 2.65 倍[35]。部分几丁质酶对镰孢菌(*Fusarium*)有一定的抑制作用，从几丁质降解菌 *C. aquatile* CSC-1 中克隆的冷适应性 GH19 几丁质酶 *Ca*Chi19A，对多种镰孢菌的菌丝生长有显著抑制作用[20]。

5.2 几丁质的降解与利用

几丁质在自然界中合成量丰富，同时每年海产品加工以及工业真菌发酵生产会产生大量几丁质废弃物，大多数废弃物直接当作垃圾填埋，少数会作为饲料简单利用[38]。几丁质的降解产物为 GlcNAc 和 NAc-COS，这 2 种高附加值产物具有多种生物活性及用途，在医药、食品、化妆品、农业、生物燃料等领域有广泛应用[39]。降解几丁质的传统方法是利用强酸水解，但成本高、产率低且污染严重；酶法降解几丁质具有更高的效率、经济性和环境友好性。微生物 GH19 几丁质酶可高效水解晶体几丁质，生

表2 微生物GH19几丁质抗病原真菌作用

Table 2 Antifungal activity of microbial GH19 chitinases

菌株 Strain	酶 Enzyme	植物病原真菌 Phytopathogenic fungi	文献 Reference
Streptomyces griseus HUT 6037	ChiC	*Trichoderma reesei*	[7]
Bacillus circulans KA-304	ChiI	*Trichoderma reesei*	[9]
Streptomyces coelicolor A3(2)	Chi19F	*Trichoderma reesei*, *Trichoderma viride*, *Mucor javanicus*, *Fusarium solani*	[13]
Chitinilyticum aquatile CSC-1	*Ca*Chi19A *Ca*Chi19A_ΔIΔII	*Fusarium redolens*, *Fusarium oxysporum*, *Fusarium solani*, *Fusarium fujikuroi*, *Colletotrichum diplodiella*	[20]
Streptomyces thermoviolaceus OPC-520	Chi25/Chi35	*Trichoderma reesei*	[21]
Streptomyces alfalfae ACCC 40021	*Sa*ChiB	*Botrytis cinerea*, *Fusarium graminearum*, *Trichoderma longibranchiaum*, *Rhizoctonia cerealis*, *Sclerotinia sclerrotiorum*, *Rhizoctonia solani*	[22]
Streptomyces griseus MG3	ChiIS	*Aspergillus nidulans*, *Botrytis cinerea*, *Fusarium culmorum*, *Guignardia bidwellii*, *Sclerotia sclerotiorum*	[25]
Streptomyces cyaneus SP-27	ChiA	*Trichoderma reesei*	[26]
Chitiniphilus shinanonensis SAY3^T	rChiN	*Trichoderma reesei*	[27]
Pseudoalteromonas tunicata CCUG 44952T	*Pt*Chi19p	*Fusarium oxysporum*, *Armillaria mellea*, *Trichophyton mentagrophytes*, *Microsporum gypseum*, *Aspergillus niger*	[28]
Lysobacter sp. MK9-1	Chi19MK	*Trichoderma reesei*, *Schizophyllum commune*, *Trichoderma viride*	[29]
Streptomyces sampsonii KJ40	ChiKJ406136	*Cladosporium scoparium*, *Cryphonectria parasitica*, *Neofusicoccum parvum*, *Fusarium oxysporum*	[32]
Nocardiopsis prasina OPC-131	ChiB	*Trichoderma reesei*	[37]

产高附加值 NAc-COS 及 GlcNAc 等产物。

Yang 等[20]构建的来源于 *C. aquatile* CSC-1 的截短突变体 *Ca*Chi19A_ΔIΔII 能高效水解胶体几丁质生成 GlcNAc，且在低温稳定性、pH 适应性及催化效率上表现更优，具备工业和农业应用潜力。本课题组 Lv 等[22]将来源于 *S. alfalfae* ACCC 40021 的 GH19 几丁质酶 *Sa*ChiB 和 GH20 家族的 N-乙酰氨基已糖苷酶 *Sa*HEX 联用，在 8 h 内可将 1% 虾壳来源的 α-几丁质高效转化为 GlcNAc，转化率达到 95.2%，产物纯度>98.5%，具有从几丁质中高效生产 GlcNAc 的工业化应用潜力。Wang 等[34]发现 *Streptomyces* sp. SCUT-3 中存在 GH19 几丁质酶 *Ss*EndoChi19，可将胶体几丁质水解为不同聚合度(degree of polymerization, DP)的几丁质寡聚物，具备将几丁质转化为 NAc-COS 的能力，为几丁质资源利用产业的未来路径提供了方向。

N-乙酰壳二糖[N-acetylchitobiose, $(GlcNAc)_2$]作为几丁质酶降解几丁质的关键目标产物之一，因其巨大应用价值而备受关注，它不仅可以改善 2 型糖尿病相关的代谢功能障碍[40]，而且也是几丁寡糖的主要活性成分，在医药和功能性食品领域潜力巨大。Bai 等[30]发现来源于芬克纤维微菌(*Cellulosimicrobium funkei*) HY-13 的 rChiJ 水解产物为$(GlcNAc)_2$，可作为制备$(GlcNAc)_2$的生物催化剂。Zhang 等[31]在微白黄链霉菌(*Streptomyces albidoflavus*) XY2-7 中发现同时具有 GH19 家族几丁质酶和溶菌酶活性的 *Ss*Chi28，可高效水解胶体几丁质生成$(GlcNAc)_2$，其占产物总量的 73% (质量分数)，该酶独特的水解特性使其在几丁质生物转化工业中生产$(GlcNAc)_2$具有广阔前景。Xing 等[33]从杆菌状链霉菌(*Streptomyces bacillaris*)鉴定出第一个具有外切几丁质酶活性的微生物 GH19 内切几丁质酶 *Sb*ChiAJ103，能特异性水解胶体几丁质生成$(GlcNAc)_2$，为$(GlcNAc)_2$的定向生产提供了高效生物催化剂。

6 总结与展望

几丁质不仅是自然界第二大可再生资源，而且是防治病原真菌的安全靶标。开发几丁质酶降解几丁质生产高附加值的 NAc-COS 和 GlcNAc 是一种高效且环境友好的生产方法；同时，几丁质酶作为生防制剂防治真菌病害是安全有效的策略。微生物 GH19 几丁质酶具有巨大的应用潜力。

微生物来源的 GH19 几丁质酶自发现以来在分子起源进化、蛋白结构、酶学性质研究与相关应用等方面取得了长足进展。然而，相关研究仍存在如下问题与挑战。(1) 现已研究的微生物 GH19 几丁质酶存在对晶体几丁质活性不高、抗病原真菌谱狭窄的问题。今后研究中仍需挖掘筛选新型微生物 GH19 几丁质酶资源；同时，采用酶的定向进化、理性设计及人工智能(artificial intelligence, AI)等蛋白质工程技术改造现有微生物 GH19 几丁质酶，提高其对晶体几丁质底物和抗真菌的活力是有效的应对策略。(2) 微生物来源的 GH19 几丁质酶与 GH22、GH23 等溶菌酶同属于“溶菌酶超家族”，共享 3D 折叠结构和催化机制，表现出一定的抗细菌活性[31,41]，该方面亟待深入开展探究，有望揭示其分子进化关系，开发微生物 GH19 几丁质酶在抗细菌方面的新用途。(3) 几丁质是自然界中重要的含氮可再生资源，而有机氮化合物可作为原料和产品广泛地应用于制药、化工、食品、农业和能源等领域[42]。因此，采用酶转化和合成生物学手段，以几丁质为原料制备高附加值的有机氮化合物是有效的解决途径[43]，微生物 GH19 几丁质酶在此方面的研究尚属空白。未来的研究应注重多学科协同融合，推动微生物 GH19 几丁质酶在此领域的应用。

作者贡献声明

李妍：论文撰写和修改；钱周泽：图表制作；王帅奇：论文撰写；吕晨茵：提供酶学性

质及几丁质降解方面数据；谷天燕：提供分子改造方面数据；李玲聪：总结应用方面数据；于欢：数据整理；赵国刚：论文审阅和修改。

作者利益冲突公开声明

作者声明不存在任何可能会影响本文所报告工作的已知经济利益或个人关系。

参考文献

[1] YOUNES I, RINAUDO M. Chitin and chitosan preparation from marine sources. Structure, properties and applications[J]. Marine Drugs, 2015, 13(3): 1133-1174.

[2] LIU C, ZHANG HY, XIAO R, WU SB. Value-added organonitrogen chemicals evolution from the pyrolysis of chitin and chitosan[J]. Carbohydrate Polymers, 2017, 156: 118-124.

[3] RATHORE AS, GUPTA RD. Chitinases from bacteria to human: properties, applications, and future perspectives[J]. Enzyme Research, 2015, 2015(1): 791907.

[4] HENRISSAT B, BAIROCH A. New families in the classification of glycosyl hydrolases based on amino acid sequence similarities[J]. The Biochemical Journal, 1993, 293(Pt 3): 781-788.

[5] UDAYA PRAKASH NA, JAYANTHI M, SABARINATHAN R, KANGUEANE P, MATHEW L, SEKAR K. Evolution, homology conservation, and identification of unique sequence signatures in GH19 family chitinases[J]. Journal of Molecular Evolution, 2010, 70(5): 466-478.

[6] OHNO T, ARMAND S, HATA T, NIKAIDOU N, HENRISSAT B, MITSUTOMI M, WATANABE T. A modular family 19 chitinase found in the prokaryotic organism *Streptomyces griseus* HUT 6037[J]. Journal of Bacteriology, 1996, 178(17): 5065-5070.

[7] WATANABE T, KANAI R, KAWASE T, TANABE T, MITSUTOMI M, SAKUDA S, MIYASHITA K. Family 19 chitinases of *Streptomyces* species: characterization and distribution[J]. Microbiology, 1999, 145(Pt 12): 3353-3363.

[8] UEDA M, KOJIMA M, YOSHIKAWA T, MITSUDA N, ARAKI K, KAWAGUCHI T, MIYATAKE K, ARAI M, FUKAMIZO T. A novel type of family 19 chitinase from *Aeromonas* sp. No. 10S-24[J]. European Journal of Biochemistry, 2003, 270(11): 2513-2520.

[9] YANO S, RATTANAKIT N, WAKAYAMA M, TACHIKI T. Cloning and expression of a *Bacillus circulans* KA-304 gene encoding chitinase I, which participates in protoplast formation of *Schizophyllum commune*[J]. Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry, 2005, 69(3): 602-609.

[10] HONDA Y, TANIGUCHI H, KITAOKA M. A reducing-end-acting chitinase from *Vibrio proteolyticus* belonging to glycoside hydrolase family 19[J]. Applied Microbiology and Biotechnology, 2008, 78(4): 627-634.

[11] HAN B, ZHOU K, LI ZH, SUN B, NI Q, MENG XZ, PAN GQ, LI CF, LONG MX, LI T, ZHOU CZ, LI WF, ZHOU ZY. Characterization of the first fungal glycosyl hydrolase family 19 chitinase (NbchiA) from *Nosema bombycis* (Nb) [J]. Journal of Eukaryotic Microbiology, 2016, 63(1): 37-45.

[12] MARTÍNEZ-CABALLERO S, CANO-SÁNCHEZ P, MARES-MEJÍA I, DÍAZ-SÁNCHEZ AG, MACÍAS-RUBALCAVA ML, HERMOSO JA, RODRÍGUEZ-ROMERO A. Comparative study of two GH19 chitinase-like proteins from *Hevea brasiliensis*, one exhibiting a novel carbohydrate-binding domain[J]. The FEBS Journal, 2014, 281(19): 4535-4554.

[13] KAWASE T, YOKOKAWA S, SAITO A, FUJII T, NIKAIDOU N, MIYASHITA K, WATANABE T. Comparison of enzymatic and antifungal properties between family 18 and 19 chitinases from *S. coelicolor* A3(2) [J]. Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry, 2006, 70(4): 988-998.

[14] FADEL F, ZHAO YG, COUSIDO-SIAH A, RUIZ FX, MITSCHLER A, PODJARNY A. X-ray crystal structure of the full length human chitotriosidase (CHIT1) reveals features of its chitin binding domain[J]. PLoS One, 2016, 11(4): e0154190.

[15] KEZUKA Y, OHISHI M, ITOH Y, WATANABE J, MITSUTOMI M, WATANABE T, NONAKA T. Structural studies of a two-domain chitinase from *Streptomyces griseus* HUT6037[J]. Journal of Molecular Biology, 2006, 358(2): 472-484.

[16] OYELEYE A, NORMI YM. Chitinase: diversity, limitations, and trends in engineering for suitable applications[J]. Bioscience Reports, 2018, 38(4): BSR2018032300.

[17] HOELL IA, DALHUS B, HEGGSET EB, ASPMO SI, EIJSINK VGH. Crystal structure and enzymatic properties of a bacterial family 19 chitinase reveal differences from plant enzymes[J]. The FEBS Journal, 2006, 273(21): 4889-4900.

[18] SHARMA S, SINGH R, KAUR R. In silico characterization of a unique plant-like “loopful” GH19 chitinase from newly isolated *Chitinophaga* sp. YS-16[J]. Current Microbiology, 2020, 77(9): 2248-2257.

[19] 刘力睿, 潘杰, 李猛. 微生物几丁质酶的研究进展、应用及展望[J]. 生物资源, 2020, 42(5): 494-504.
LIU LR, PAN J, LI M. Recent research progress, application and future perspectives on microbial chitinases[J]. Biotic Resources, 2020, 42(5): 494-504 (in Chinese).

[20] YANG LY, QU MB, WANG Z, HUANG SY, WANG QY, WEI MC, LI F, YANG DF, PAN LX. Biochemical properties of a novel cold-adapted GH19 chitinase with three chitin-binding domains from *Chitinilyticum aquatile* CSC-1 and its potential in biocontrol of plant pathogenic fungi[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2024, 72(36): 19581-19593.

[21] TSUJIBO H, OKAMOTO T, HATANO N, MIYAMOTO K, WATANABE T, MITSUTOMI M, INAMORI Y. Family 19 chitinases from *Streptomyces thermoviolaceus* OPC-520: molecular cloning and characterization[J].

Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry, 2000, 64(11): 2445-2453.
[22] LV CY, GU TY, MA R, YAO W, HUANG YY, GU JG, ZHAO GG. Biochemical characterization of a GH19 chitinase from *Streptomyces alfalfae* and its applications in crystalline chitin conversion and biocontrol[J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2021, 167: 193-201.
[23] TANABE T, KAWASE T, WATANABE T, UCHIDA Y, MITSUTOMI M. Purification and characterization of a 49-kDa chitinase from *Streptomyces griseus* HUT 6037[J]. Journal of Bioscience and Bioengineering, 2000, 89(1): 27-32.
[24] HEGGSET EB, HOELL IA, KRISTOFFERSEN M, EIJSINK VGH, VÅRUM KM. Degradation of chitosans with chitinase G from *Streptomyces coelicolor* A3(2): production of chito-oligosaccharides and insight into subsite specificities[J]. Biomacromolecules, 2009, 10(4): 892-899.
[25] HOSTER F, SCHMITZ JE, DANIEL R. Enrichment of chitinolytic microorganisms: isolation and characterization of a chitinase exhibiting antifungal activity against phytopathogenic fungi from a novel *Streptomyces* strain[J]. Applied Microbiology and Biotechnology, 2005, 66(4): 434-442.
[26] YANO S, HONDA A, RATTANAKIT N, NODA Y, WAKAYAMA M, PLIKOMOL A, TACHIKI T. Cloning and expression of chitinase a gene from *Streptomyces cyaneus* SP-27: the enzyme participates in protoplast formation of *Schizophyllum commune*[J]. Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry, 2008, 72(7): 1853-1859.
[27] HUANG LX, GARBULEWSKA E, SATO K, KATO Y, NOGAWA M, TAGUCHI G, SHIMOSAKA M. Isolation of genes coding for chitin-degrading enzymes in the novel chitinolytic bacterium, *Chitiniphilus shinanonensis*, and characterization of a gene coding for a family 19 chitinase[J]. Journal of Bioscience and Bioengineering, 2012, 113(3): 293-299.
[28] GARCÍA-FRAGA B, Da SILVA AF, LÓPEZ-SEIJAS J, SIEIRO C. A novel family 19 chitinase from the marine-derived *Pseudoalteromonas tunicata* CCUG 44952T: heterologous expression, characterization and antifungal activity[J]. Biochemical Engineering Journal, 2015, 93: 84-93.
[29] YANO S, KANNO H, TSUHAKO H, OGASAWARA S, SUYOTHA W, KONNO H, MAKABE K, UECHI K, TAIRA T. Cloning, expression, and characterization of a GH 19-type chitinase with antifungal activity from *Lysobacter* sp. MK9-1[J]. Journal of Bioscience and Bioengineering, 2021, 131(4): 348-355.
[30] BAI L, KIM J, SON KH, CHUNG CW, SHIN DH, KU BH, KIM DY, PARK HY. Novel Bi-Modular GH19 chitinase with broad pH stability from a fibrolytic intestinal symbiont of *Eisenia fetida*, *Cellulosimicrobium funkei* HY-13[J]. Biomolecules, 2021, 11(11): 1735.
[31] ZHANG WJ, LIU YH, MA JW, YAN QJ, JIANG ZQ, YANG SQ. Biochemical characterization of a bifunctional chitinase/lysozyme from *Streptomyces sampsonii* suitable for N-acetyl chitobiose production[J]. Biotechnology Letters, 2020, 42(8): 1489-1499.
[32] LI SJ, ZHANG BY, ZHU H, ZHU TH. Cloning and expression of the chitinase encoded by ChiKJ406136 from *Streptomyces sampsonii* (Millard & Burr) Waksman KJ40 and its antifungal effect[J]. Forests, 2018, 9(11): 699.
[33] XING AJ, HU Y, WANG W, SECUNDO F, XUE CH, MAO XZ. A novel microbial-derived family 19 endochitinase with exochitinase activity and its immobilization[J]. Applied Microbiology and Biotechnology, 2023, 107(11): 3565-3578.
[34] WANG JL, CHEN YC, DENG JJ, MO ZQ, ZHANG MS, YANG ZD, ZHANG JR, LI YW, DAN XM, LUO XC. Synergic chitin degradation by *Streptomyces* sp. SCUT-3 chitinases and their applications in chitinous waste recycling and pathogenic fungi biocontrol[J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2023, 225: 987-996.
[35] 谷天燕, 刘晓楠, 李玲聪, 刘妍池, 胡少锋, 吕晨茵, 刘华, 赵国刚. 两端融合表达几丁质结合结构域提高几丁质酶抗真菌活性[J]. 微生物学报, 2019, 59(4): 762-770.
GU TY, LIU XN, LI LC, LIU YC, HU SF, LÜ CY, LIU H, ZHAO GG. Enhancing antifungal activity of chitinase by fusion of chitin binding domain at both termini[J]. Acta Microbiologica Sinica, 2019, 59(4): 762-770 (in Chinese).
[36] FISHER MC, HAWKINS NJ, SANGLARD D, GURR SJ. Worldwide emergence of resistance to antifungal drugs challenges human health and food security[J]. Science, 2018, 360(6390): 739-742.
[37] TSUJIBO H, KUBOTA T, YAMAMOTO M, MIYAMOTO K, INAMORI Y. Characterization of chitinase genes from an alkaliphilic actinomycete, *Nocardiopsis prasina* OPC-131[J]. Applied and Environmental Microbiology, 2003, 69(2): 894-900.
[38] YAN N, CHEN X. Sustainability: don't waste seafood waste[J]. Nature, 2015, 524(7564): 155-157.
[39] CHEN JK, SHEN CR, LIU CL. N-acetylglucosamine: production and applications[J]. Marine Drugs, 2010, 8(9): 2493-2516.
[40] WU X, WANG J, SHI YQ, CHEN S, YAN QJ, JIANG ZQ, JING H. N-acetyl-chitobiose ameliorates metabolism dysfunction through Erk/p38 MAPK and histone H3 phosphorylation in type 2 diabetes mice[J]. Journal of Functional Foods, 2017, 28: 96-105.
[41] LACOMBE-HARVEY MÈ, BRZEZINSKI R, BEAULIEU C. Chitinolytic functions in *Actinobacteria*: ecology, enzymes, and evolution[J]. Applied Microbiology and Biotechnology, 2018, 102(17): 7219-7230.
[42] FENG J, GENG WC, JIANG HF, WU B. Recent advances in biocatalysis of nitrogen-containing heterocycles[J]. Biotechnology Advances, 2022, 54: 107813.
[43] FORSBERG Z, MACKENZIE AK, SØRLIE M, RØHR ÅK, HELLAND R, ARVAI AS, VAAJE-KOLSTAD G, EIJSINK VGH. Structural and functional characterization of a conserved pair of bacterial cellulose-oxidizing lytic polysaccharide monooxygenases[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 2014, 111(23): 8446-8451.