

## 右旋糖酐蔗糖酶工程菌株的构建及其培养条件的研究

张洪斌<sup>1,2</sup>, 朱春宝<sup>1</sup>, 胡又佳<sup>1</sup>, 朱宝泉<sup>1</sup>, 王雅洁<sup>2</sup>

(<sup>1</sup>上海医药工业研究院, 上海 200040) (<sup>2</sup>合肥工业大学制药工程系, 合肥 230009)

**摘要:**【目的】右旋糖酐蔗糖酶是一种以蔗糖为底物, 催化转移 D-葡萄糖基生成 $\alpha$ -葡聚糖或低聚糖的葡萄糖基转移酶。【方法】利用 PCR 扩增技术, 将已获得的右旋糖酐蔗糖酶基因 *dexYG* 亚克隆到表达载体 PET28a(+)上, 转化 *E.coli* BL21(DE3), 经过卡那霉素抗性筛选和酶切验证后, 得到右旋糖酐蔗糖酶工程菌株 BL21 (DE3)/pET28-*dexYG*。【结果】经 IPTG 诱导该基因在 *E.coli* BL21(DE3)中能有效表达, 在诱导过程中菌体生长受到抑制。通过对培养时间、IPTG 浓度、培养温度、菌浓( $OD_{600}$ )和 pH 值等产酶因素的优化考察, 得到最佳培养条件为: 培养时间 5h、IPTG 浓度 0.5mmol/L、25 $^{\circ}$ C、 $OD_{600}$  值 1.0 和 pH6.0。酶活力由最初的 5.39U/mL 提高到 35.62U/mL, 其中 pH 值对产酶活力影响最大, 在 pH6.0 时的最高产酶活力是 LB 原始 pH 条件下最高酶活的 3.5 倍, 并且 pH 值也是导致在诱导后期酶活迅速下降的主要原因之一。【结论】酶的表达和酶活的研究结果表明, 构建的工程菌株能够异源高效表达右旋糖酐蔗糖酶, 并且表现出较高的酶活力。

**关键词:** 右旋糖酐蔗糖酶; 工程菌; 表达; 培养条件

中图分类号: Q786, Q935 文献标识码: A 文章编号: 0001-6209 (2008) 04-0492-06

右旋糖酐蔗糖酶(Dextranase, EC2.4.5.1)是一种由肠膜状明串珠菌(*Leuconostoc mesenteroides*)和口腔链球菌(*oral streptococcus*)产生的葡萄糖基转移酶(glucosyltransferases)<sup>[1]</sup>。该酶以蔗糖为底物, 将蔗糖分子中 D-葡萄糖基催化转移到受体分子, 其结果可以生成两种不同的产品<sup>[2-4]</sup>: ①合成 $\alpha$ -葡聚糖; ②若在酶反应中加入受体如麦芽糖、异麦芽糖等可合成低聚糖; 同时伴有果糖产生<sup>[5]</sup>。

$\alpha$ -葡聚糖, 又名右旋糖酐(dextran), 是若干葡萄糖脱水形成的聚合物, 主要由葡萄糖 $\alpha$ -1, 6 苷键连接而成<sup>[6]</sup>。因其具有安全、无毒、生物相容性好等多种优点, 已被广泛应用于医药、食品、色谱分析等多个领域<sup>[5,7]</sup>。分子量 70000 左右的右旋糖酐是目前公认的优良血浆代用品之一, 有增加血容量作用<sup>[8]</sup>, 临床主要用于治疗失血性休克; 低分子量的葡聚糖可作为药用辅料挂接药物。国内的药用右旋糖酐目前是以

高浓度蔗糖为培养碳源经肠膜状明串珠菌(*L. mesenteroides*)发酵生产的<sup>[9]</sup>, 因其发酵后菌体与产品很难分离, 致使右旋糖酐质量低, 临床副反应多。另一产品低聚糖是通过 $\alpha(1-2)$ 键联结而耐消化酶, 可通过胃、小肠消化道到达大肠内, 而且这种支链低聚糖能被双歧杆菌和乳酸菌利用而不被沙门氏菌和大肠杆菌所利用, 有利于大肠内有益微生物的调整, 被称为益生元<sup>[10,11]</sup>。另外, 右旋糖酐蔗糖酶也可以直接加入发酵食品中改善产品质构。因此, 获取高活性的右旋糖酐蔗糖酶对于实现上述诸多应用、提高产品品质具有重要意义。但肠膜状明串珠菌在产右旋糖酐蔗糖酶的过程中, 由于其碳源与酶底物均为蔗糖, 产生了高粘度的右旋糖酐, 难以分离获得右旋糖酐蔗糖酶。因此, 构建右旋糖酐蔗糖酶基因工程菌株以获得新的酶源是目前国际研究热点之一。瑞士的 Neubauer H 等<sup>[12]</sup>克隆出右旋糖酐蔗糖酶基因 *dsrD* 并在酵母菌转

基金项目: 上海市科委资助项目(07DZ22002); 安徽省高校教师科研资助项目(2005JQ1004)

作者简介: 张洪斌(1970-), 男, 安徽桐城人, 副教授, 博士研究生, 研究方向为生物化工与酶工程。Tel/Fax: +86-551-2901968; E-mail: zhb5678@163.com

收稿日期: 2007-09-26; 修回日期: 2007-11-13

化获得基因工程菌, 蔗糖转化率达到 60%, 但利用原核生物高效表达右旋糖酐蔗糖酶, 国内外未见报道。本实验室从肠膜状明串珠菌 L.M-0326 入手, 克隆得到右旋糖酐蔗糖酶基因 *dexYG*, 并进行了测序, 其基因序列已提交 GenBank 注册(Accession No. DQ345760)。本文从已获得的含右旋糖酐蔗糖酶基因克隆质粒出发, 构建右旋糖酐蔗糖酶工程菌株并对其培养条件进行了研究。

## 1 材料和方法

### 1.1 材料

**1.1.1 菌种和质粒：**大肠杆菌 (*Escherichia coli*) BL21(DE3) 购自 Promega 公司, 含右旋糖酐蔗糖酶基因克隆质粒 pYGdex 为本实验室构建(右旋糖酐蔗糖酶基因 *dexYG* 由本实验室克隆并注册 GenBank, Accession No. DQ345760), 表达载体 pET28a(+) 购自 Novagen 公司。

**1.1.2 培养基：**LB 液体培养基、LB 琼脂培养基配方见文献<sup>[13]</sup>, 工程菌株在含 50 $\mu$ g/mL 卡那霉素的 LB 培养基中培养。

**1.1.3 主要试剂与仪器：**各种限制性内切酶、LA Taq DNA 聚合酶、T<sub>4</sub> DNA 连接酶和 DNA Marker 购自大连 TaKaRa 公司, 蛋白 Marker、异丙基硫代- $\beta$ -D-半乳糖苷(Isopropyl  $\beta$ -D-thiogalactopyranoside, IPTG)和卡那霉素购自上海捷瑞。PCR 仪(德国 Eppendorf), 电泳仪(北京六一仪器厂), 恒温冷冻摇床(武汉中科仪器厂), 高速冷冻离心机(上海安亭科学仪器厂), VIS-723 紫外分光光度计(上海精密科学仪器公司)。

### 1.2 工程菌构建

**1.2.1 引物设计：**根据克隆得到的右旋糖酐蔗糖酶基因(*dexYG*)序列设计下列引物：Sense 5'-CC GTAGA-TCTTCATGCCATTTACAGAAAAAGT-3 (下划线处是 *Bgl* 酶切位点), Antisense 5'-CCGCTICGAGCTT-ATGCTGACACAGCATTT-3 (下划线处是 *Xho* 酶切位点)。

**1.2.2 右旋糖酐蔗糖酶基因的克隆：**以含右旋糖酐蔗糖酶基因克隆质粒 pYGdex 为模版, 利用 PCR 扩增技术, 得到含 *Bgl* 和 *Xho* 酶切位点的基因克隆产品。扩增反应条件: 94 预变性 5min, 在冰浴中迅速加入 LA Taq DNA 聚合酶后进行以下循环反应: 94 30s, 52 30s, 72 5min, 30 个循环。

**1.2.3 构建重组表达质粒 pET28-dexYG：**将上述的

克隆产品用 *Bgl* 和 *Xho* 酶切, 酶切产品连接到 pET28a(+) 的双酶切位点上, 得到重组表达质粒 pET28-dexYG(如图 1 所示)。

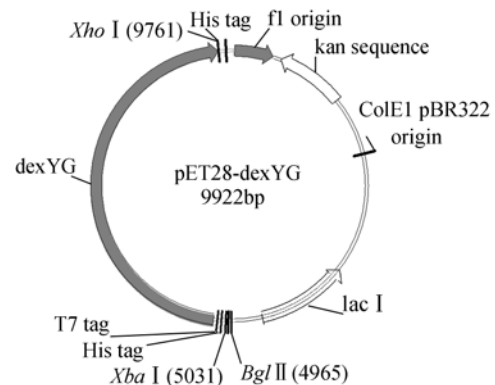


图 1 重组表达质粒 pET28-dexYG 构建图

Fig.1 Construction of expression plasmid pET28-dexYG.

**1.2.4 工程菌获得：**将重组表达载体 pET28-dexYG 转化到经 CaCl<sub>2</sub> 处理的 *E. coli* BL21(DE3) 中, CaCl<sub>2</sub> 法大肠杆菌感受态细胞制备见文献<sup>[13]</sup>, 经过卡那霉素抗性筛选和酶切验证后, 获得右旋糖酐蔗糖酶工程菌株 BL21 (DE3)/pET28-dexYG。

**1.2.5 核酸电泳：**参见文献<sup>[13]</sup>, 其中琼脂糖凝胶 0.7%, 5V/cm 的电压下电泳 3 小时。

### 1.3 右旋糖酐蔗糖酶的表达和 SDS-PAGE 分析

**1.3.1 右旋糖酐蔗糖酶的表达：**工程菌株 BL21 (DE3)/pET28-dexYG 接种到含 200 $\mu$ g/mL 卡那霉素的液体 LB 培养基中, 250r/min、37 培养, 当 OD<sub>600</sub> 达到 0.6 时加入一定量的 IPTG 并在不同的温度下进行诱导, 样品在 4、12000r/min 离心 5min 得菌体后加入 3mL pH5.4 醋酸缓冲液, 超声破碎 10min, 离心取上清液作为粗酶液测量酶活<sup>[12, 14]</sup>。

**1.3.2 SDS-PAGE 蛋白分析：**将 1mL 诱导后的发酵液 12000r/min 离心 3min 后, 向沉淀中加入 80 $\mu$ L 无菌水、20 $\mu$ L 上样缓冲液, 沸水煮 3min 后离心, 取上清液进行 SDS-PAGE(8%)。上样量为 20 $\mu$ L, 考马斯亮蓝染色<sup>[13]</sup>。

### 1.4 右旋糖酐蔗糖酶活力的测定：

采用 3, 5-二硝基水杨酸试剂法测还原糖的量<sup>[15]</sup>(DNS 法)。

酶底物反应液配制<sup>[12]</sup>：0.2mol/L NaAc 860mL, 0.2mol/L HAc 140mL, 蔗糖 100g。在 30 下, 加入 1mL 底物反应液, 每小时催化底物蔗糖产生 0.1mg 果糖所需的酶量定义为一个酶活力单位(U)。

## 2 结果

### 2.1 工程菌的构建与表达

经 PCR 克隆得到右旋糖酐蔗糖酶基因(约 4.6kb), *Bgl* 和 *Xho* 双酶切产品与表达质粒 pET28a(+)经双酶切后连接, 得到重组表达质粒 pET28-dexYG。将重组表达载体 pET28-dexYG 转化到感受态细胞 *E. coli* BL21 (DE3)中, 经过卡那霉素抗性筛选和酶切验证后, 获得右旋糖酐蔗糖酶工程菌株 BL21 (DE3)/pET28-dexYG。重组表达载体 pET28-dexYG 酶切验证如图 2 所示。

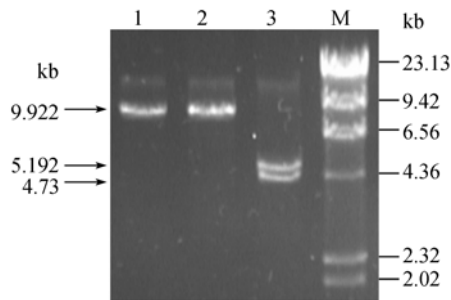


图 2 表达载体 pET28-dexYG 酶切电泳鉴定图

Fig. 2 The restriction enzyme assay and electrophoresis of expression plasmid pET28-dexYG. 1. *Xba* ; 2. *Xho* ; 3. *Xba* +*Xho* ; M. Marker.

*Xba* 和 *Xho* 均为表达载体 pET28-dexYG 的单一酶切位点, 其酶切产品与理论 DNA 分子量完全一致, 即经 *Xba* 或 *Xho* 单酶切得 DNA 分子量为 9.922kb、经 *Xba* 和 *Xho* 双酶切后得 DNA 分子量分别为 5.192kb 和 4.73kb。

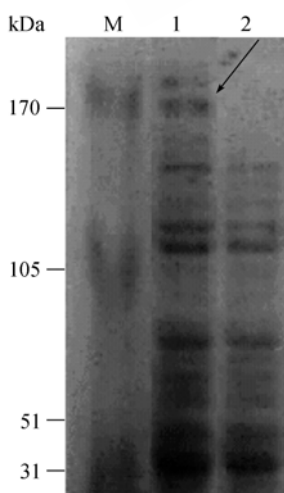


图 3 工程菌表达右旋糖酐蔗糖酶的 SDS-PAGE 分析

Fig. 3 SDS-PAGE analysis of dextranase produced by engineered strain. M. molecular weight markers; 1. induced; 2. non-induced.

将工程菌株 BL21 (DE3)/pET28-dexYG 接种到含 200 $\mu$ g/mL 卡那霉素的液体 LB 培养基中 37 $^{\circ}$ C 培养, 当  $OD_{600}$  达到 0.6 时加入 1mmol/L IPTG 进行诱导, 其表达右旋糖酐蔗糖酶的电泳图如图 3 所示。所表达出的右旋糖酐蔗糖酶蛋白分子量与预测值一致(约 170kDa)。

### 2.2 工程菌诱导培养与生物量、pH 值变化及产酶活力的关系

将工程菌株接种到含 50 $\mu$ g/mL 卡那霉素的液体 LB 培养基中 37 $^{\circ}$ C 培养, 当  $OD_{600}$  达到 0.6 时加入 1.0mmol/L IPTG, 25 $^{\circ}$ C 进行诱导培养。该工程菌在诱导培养基中生物量( $OD_{600}$ )、产酶活力及非诱导时的生物量( $OD_{600}$ )如图 4 所示。整个培养过程中诱导组的菌浓明显低于未诱导组的菌浓, 5h 内诱导组的菌体生长处于停滞状态, 之后菌浓才开始缓慢上升并伴随着

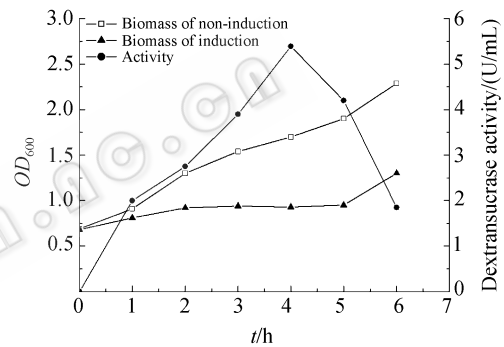


图 4 工程菌诱导培养中生物量与产酶活力的变化

Fig. 4 Time course of biomass and dextranase activity after induction.

酶活明显下降。表明在 IPTG 诱导菌体表达右旋糖酐蔗糖酶过程中, 对细菌有毒害作用, 使菌的生长受到抑制。酶活力在培养初期随着诱导时间的增加而升高, 在 4h 时酶活力达到最大值(5.39U/mL), 之后酶活力逐渐降低。菌体中蛋白酶的分泌、逸出和 pH 值的变化(见本论文 2.6)可能是诱导后期酶活迅速下降的主要原因<sup>[16]</sup>, 若诱导时间过长, 目标蛋白会被大量降解, 严重影响酶活力。

### 2.3 IPTG 浓度对工程菌产酶活力的影响

菌体在诱导过程中, 物质能量代谢及生理生化状态都发生了很大的变化, 若诱导剂量过大, 会导致菌体生长受到抑制甚至发生死亡; 因此获取合适的诱导剂量对外源蛋白的表达有促进作用。在培养过程中加入不同浓度的 IPTG 进行诱导, 培养条件为 25 $^{\circ}$ C, 250r/min, 分别在 2、4、6、8 小时取样测量酶活, 所

得的工程菌产酶活力如图 5 所示。在较低的 IPTG 浓度范围内,随 IPTG 浓度的增加酶活力增加, 0.5mmol/L IPTG 浓度是最佳的诱导浓度,并在 4 h 达到最大值。当其浓度高于 0.5mmol/L 时,随 IPTG 浓度升高酶活反而降低,当 IPTG 达到 2.0mmol/L 时,产酶活力仅为 0.5mmol/L 诱导时的 32%。

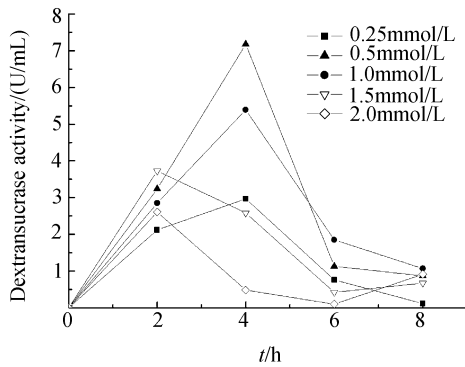


图 5 IPTG 浓度对工程菌产酶活力的影响

Fig. 5 The effect of IPTG concentration on dextranase activity produced by engineered strain.

#### 2.4 培养温度对产酶活力的影响

在培养过程中加入 0.5mmol/L IPTG 浓度进行诱导,对工程菌的培养温度进行了研究,所得的工程菌产酶活力与温度的关系如图 6 所示。不同的温度诱导下达到最高酶活所需的时间不同。较低温度下酶活随温度的上升而增加,20 达到最高酶活需要 8h,25 是最佳诱导温度,酶活 4h 达到最大值。温度高于 25 后,酶活随温度的上升而迅速下降,35 时基本没有酶活。

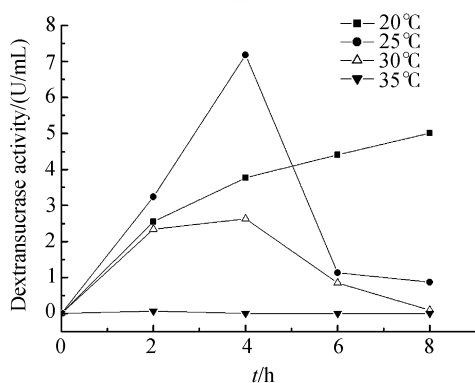


图 6 培养温度对酶活力的影响

Fig. 6 The effect of incubation temperature on dextranase activity produced by engineered strain.

#### 2.5 工程菌菌浓( $OD_{600}$ )对产酶活力的影响

外源蛋白的表达将与宿主本身代谢所需要的前体和能量进行竞争,若诱导过早或过晚,由于菌体早期活力不足或晚期有害代谢产物的积累都会使外源蛋白表达急剧下降,因此,考察最佳的诱导时机有利于工程菌的产酶。按照上述最佳条件分别在菌浓( $OD_{600}$ )达到 0.4、0.6、0.8、1.0、1.2 时,加入 IPTG 至终浓度为 0.5mmol/L 进行诱导,并在第 4h 时取样测酶活,所得的工程菌菌浓与产酶活力得关系如图 7 所示。菌浓( $OD_{600}$ )在低浓度时随菌浓的增加而有利于酶的表达,并在  $OD_{600}$  值为 1.0 时达到最高酶活, $OD_{600}$  值高于 1.0 后,随菌浓的增加酶活降低。

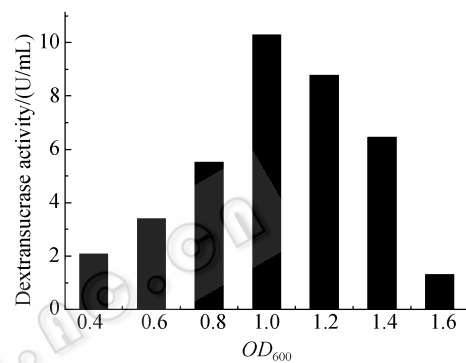


图 7 菌浓( $OD_{600}$ )对酶活力的影响

Fig. 7 The effect of engineered strain density ( $OD_{600}$ ) on dextranase activity.

#### 2.6 pH 值对工程菌产酶活力的影响

对工程菌培养液的 pH 值与产酶活力的关系进行了研究(图 8)。图 8-A 中培养液起始 pH 值分别为 4、5、6、7、8、9 的缓冲液,在  $OD_{600}$  为 1.0 时,加入 0.5mmol/L IPTG、诱导 4 h 后取样测酶活。结果显示 pH 值为 6 和 8 时酶活有大幅度的提高,其中起始 pH 值为 6 时的酶活最大,达到 30.54U/mL。起始 pH 值在偏酸性或偏碱性情况下不利于酶的表达。进一步考察在培养液起始 pH 值为 6、8 和 LB 原始 pH 值(7.2)时与诱导时间的关系(图 8-B),起始 pH 6.0 时酶活最高,为产酶最佳 pH 值,并在诱导 5 h 达到最大值 35.62U/mL,为 LB 原始培养液的 3.5 倍,5h 后酶活缓慢下降;pH6.0 和 pH 8.0 时,酶活并没有像原始培养液那样迅速下降。此结论也验证了 pH 值也是导致在诱导后期酶活迅速下降的主要原因之一。

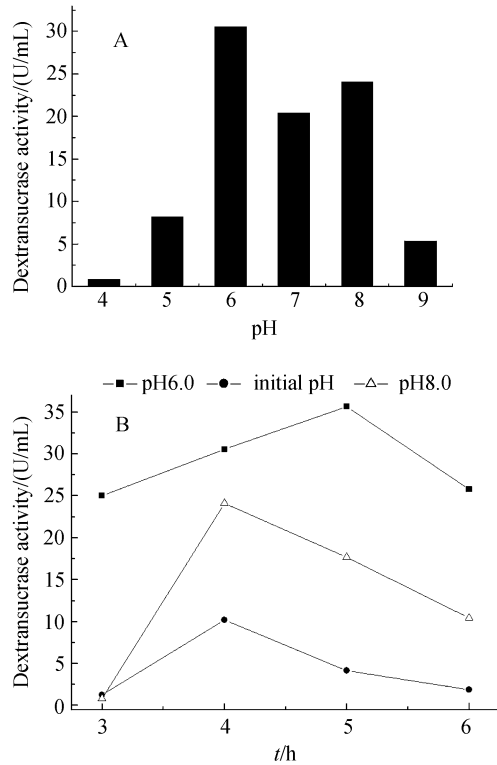


图 8 pH 值对工程菌产酶活力的影响

Fig. 8 The effect of pH value on dextransucrase activity produced by engineered strain. A: Different pH and dextransucrase activity after 4 h induction; B: Time course of pH and dextransucrase activity after induction.

### 3 讨论

右旋糖酐蔗糖酶在医药、食品等领域有重要用途,但肠膜状明串珠菌在产右旋糖酐蔗糖酶的过程中,由于其碳源与酶底物均为蔗糖,产生了粘度性大的右旋糖酐,将酶、菌体和右旋糖酐粘在一起,难以分离获得右旋糖酐蔗糖酶,所表现出的酶活力很低。本研究将已获得的右旋糖酐蔗糖酶基因 dexYG 克隆到表达载体 PET28a(+)上,转化 *E.coli* BL21(DE3),获得右旋糖酐蔗糖酶工程菌株 BL21(DE3)/pET28-dexYG。经过酶的表达和产酶条件的优化研究,结果表明本次构建的工程菌株能够异源高效表达右旋糖酐蔗糖酶,并且表现出较高的酶活力,底物蔗糖的转化率 2 小时达到 60%,与国外研究者<sup>[12]</sup>构建的以酵母为宿主菌的工程菌产酶活力相近,研究结果为以后获取纯化的右旋糖酐蔗糖酶及其工业化应用打下了基础。

本次研究对工程菌诱导表达时的过程特征和主要影响因素进行探讨。工程菌在 IPTG 诱导产酶过程中其生长受到抑制,反过来在其酶活下降时其菌体

生物量有所上升。通过对培养时间、IPTG 浓度、培养温度、菌浓( $OD_{600}$ )和 pH 值等主要产酶影响因素的优化研究,将酶活力在培养初期 5.39U/mL 提高 35.62U/mL,得到最佳培养条件为:培养时间 5h、0.5mmol/L IPTG、25 °C、 $OD_{600}$  值 1.0 和 pH 6.0。其中对产酶活力影响最大的因素是 pH 值,而且培养液 pH 值也是导致在诱导后期酶活迅速下降的主要原因之一。本研究的结果对于异源表达右旋糖酐蔗糖酶的研究和工业化生产右旋糖酐蔗糖酶的应用开阔了前景,但需要进一步的摸索提高其异源表达水平的方法及培养条件的优化,以提高右旋糖酐蔗糖酶的活力。

致谢 感谢上海医药工业研究院生物制药部宫倩,尚柯,袁宁和谢丽萍对本研究提供的帮助。

### 参 考 文 献

- [1] Davies G, enriassat B. Structures and mechanisms of glycosyl hydrolases. *Structure*, 1995, 3: 853–859.
- [2] Monchois V, Willemot RM, Monsan P. Glucansucrases: mechanism of action and structure-function relationships. *FEMS Microbiol Lett*, 1999, 23: 131–151.
- [3] Kitaoka M, Robyt JF. Mechanism of the action of *Leuconstoc mesenteriodes*, B-512FMC dextransucrase: kinetics of the transfer of D-glucose to maltose and the effects of enzyme and substrate concentrations. *Carbohydrate Research*, 1999, 320: 183–191.
- [4] Heincke K, Demuth B, Jordening HJ, et al. Kinetics of the dextransucrase acceptor reaction with maltose experimental results and modeling. *Enzyme and Microbial Technology*, 1999, 24: 523–534.
- [5] Santos M, Teixeira J, Rodrigues A. Production of dextransucrase, dextran and fructose using *Leuconstoc mesenteriodes* NRRL-B512. *Biochemical Engineering Journal*, 2000, 4: 177–188.
- [6] Kim D, Robyt JF, Lee SY, et al. Dextran molecular size and degree of branching as a function of sucrose concentration, pH, and temperature of reaction of *Leuconstoc mesenteriodes* B-512FMC dextransucrase. *Carbohydrate Research*, 2003, 338(1): 1183–1189.
- [7] Shamala TR, Prasad MS. Preliminary Studies on the production of High and low Viscosity dextran by *Leuconstoc* spp. *Process Biochemistry*, 1995, 30(3): 237–241.
- [8] 中华人民共和国药典委员会编. 《中华人民共和国药典》(二部). 2005 版. 北京: 化学工业出版社, 2005.
- [9] 张洪斌, 姚日生, 朱慧霞, 等. 发酵法生产右旋糖酐的工艺研究. 合肥工业大学学报(自然科学版)(*Journal of Hefei University of Technology, natural science*), 2004, 27(9): 7839–787.

- [10] Demuth K, Jordingen HJ, Buchholz K. Oligosaccharide synthesis by dextransucrase: new unconventional acceptors. *Carbohydrate Research*, 2002, 337: 1811–1820.
- [11] Pereira AM, Costa F AA, Rodrigues MI, *et al.* In vitro synthesis of oligosaccharides by acceptor reaction of dextransucrase from *Leuconostoc mesenteroides*. *Biotechnology Letters*, 1998, 20(4): 397–401.
- [12] Neubauer H, Bauche A, Mollet B. Molecular characterization and expression analysis of the dextransucrase DsrD of *Leuconostoc mesenteroides* Lcc4 in homologous and heterologous *Lactococcus lactis* cultures. *Microbiology*, 2003, 149: 973–982.
- [13] Sambrook J, Fritsch EF, Maniatis T. *Molecular Cloning: A Laboratory Manual*. 2<sup>nd</sup> Ed. New York: Cold Spring Harbor Laboratory Press, 1989.
- [14] Funane K, Ishii T, Matsushita M, *et al.* Water-soluble and water-insoluble glucans produced by *Escherichia coli* recombinant dextransucrases from *Leuconostoc mesenteroides* NRRL B-512F. *Carbohydrate Research*, 2001, 334: 19–25.
- [15] Monchois V. Characterization of *Leuconostoc mesenteroides* NRRL B-512F dextransucrase (DSR-S) and identification of amino-acid residues playing a key role in enzyme activity. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 1997, 48: 465–472.
- [16] Malten M, Hollmann R, Deckwer WD, *et al.* Production and Secretion of Recombinant *Leuconostoc mesenteroides* Dextransucrase DsrS in *Bacillus megaterium*. *Biotechnol Bioeng*, 2005, 89: 206–218.

## Construction and Culture Conditions of Dextransucrase-secreting Engineered Strain

Hongbin Zhang<sup>1,2\*</sup>, Chunbao Zhu<sup>1</sup>, Youjia Hu<sup>1</sup>, Baoquan Zhu<sup>1</sup>, Yajie Wang<sup>2</sup>

(<sup>1</sup>Shanghai Institute of Pharmaceutical Industry, Shanghai 200040, China)

(<sup>2</sup>Department of Pharmaceutical Engineering, Hefei University of Technology, Hefei 230009, China)

**Abstract:** [Objective] Dextransucrase was a glucosyltransferases catalyzing the transfer of D-glucopyranosyl units from sucrose to synthesize  $\alpha$ -glucans or oligosaccharides. [Methods] *dexYG* gene (GenBank Accession No. DQ345760), encoding the dextransucrase from *Leuconostoc mesenteroides* 0326, was subcloned into expression plasmid pET28a(+). The recombinant plasmid was then transformed into *E. coli* BL21 (DE3). Kanamycin resistant transformants were selected and verified by restriction endonuclease assay. [Results] Dextransucrase could be efficiently expressed in engineered strain BL21 (DE3)/pET28-*dexYG* by Isopropyl  $\beta$ -D-thiogalactopyranoside (IPTG) induction, although the growth of *E. coli* host was inhibited during induction. Recombinant enzyme producing conditions such as induction time, IPTG concentration, incubation temperature, cell density ( $OD_{600}$ ) and pH value were studied. The optimum conditions for producing dextransucrase were as follows: incubation at 25 °C, 0.5mmol/L Isopropyl  $\beta$ -D-thiogalactopyranoside (IPTG) induction at cell density ( $OD_{600}$ ) of 1.0 for 5h, pH 6.0. Under these conditions, the recombinant dextransucrase activity was increased from 5.39U/mL to 35.62 U/mL. The highest activity under the optimal culture conditions after 5h induction in medium with pH 6.0 was 3.5 times as that of in Luria-Bertani medium without pH-adjustment. Moreover, the pH value was one of the main reasons that caused the degradation of enzyme in the later stage of induction. [Conclusion] These results showed that dextransucrase could be efficiently heterologous expressed in *E. coli* and a strong dextransucrase activity had been detected.

**Keywords:** dextransucrase; engineered strain; expression; culture condition

Supported by the Science and Technology Commission of Shanghai Municipality (07DZ22002) and the Anhui Province College Teacher Research Programs of China(2005JQ1004)

\*Corresponding author. Tel/Fax: +86-551-2901968; E-mail: zhb5678@163.com

Received: 26 September 2007/ Revised: 13 November 2007