

2019 年度天津市科学技术奖提名项目公示材料

项目名称	功能性低聚糖制造关键酶制剂		
提名奖项	科学技术进步奖	等级	一等奖
主要完成单位	天津科技大学、山东隆科特酶制剂有限公司、保龄宝生物股份有限公司、齐鲁工业大学		
主要完成人	王正祥、路福平、牛丹丹、刘顺启、李克文、肖静、刘峰、田康明、栾庆民、汪俊卿、黎明、王兴吉		
提名单位	天津科技大学		
项目简介 (不超过 800 字)	项目所属科学技术领域： 本成果属轻工技术领域，是基因工程、发酵工程与食品加工技术的组合与集成。 主要内容： 功能性低聚糖是赋予健康要素的重要糖品，在超过 500 种产品中使用。制约我国功能糖产业发展的技术瓶颈之一是，制造用关键酶制剂生产技术落后或缺乏，核心酶制剂依赖进口并存在技术和商业壁垒。本成果就其关键酶研制、酶高产菌株创建和高效制备进行研究，获得了多项技术创新并全数实现工业化应用。 1) 通过酶分子遴选、基因克隆表达与人工进化等，获得了普鲁兰酶、果糖基转移酶、高转苷乳糖酶、转葡萄糖苷酶和 β-淀粉酶新分子。(1) 获得了最适温度提高 10°C、最适 pH 降低 1.0 和表达水平显著提高的普鲁兰酶；(2) 获得了单一转苷活性的果糖基转移酶；(3) 获得了转苷活性大于 95% 的乳糖酶；(4) 获得了转苷活性大于 98%、热稳定性显著提升的转葡萄糖苷酶；(5) 分离鉴定出含有较高酶活且活性单一的红薯 β-淀粉酶。 2) 通过无痕基因替换、启动子和信号肽优化等，创建了普鲁兰酶、果糖基转移酶、高转苷乳糖酶和转葡萄糖苷酶高表达新菌种。以无痕基因删除与整合表达技术，辅以启动子和信号肽优化，获得普鲁兰酶和乳糖酶高产菌，产酶水平分别提高了近 4 倍和 25 倍；通过无痕基因替换技术，在去除黑曲霉中水解酶活的同时，选育出果糖基转移酶高产菌和转葡萄糖苷酶高产菌，摇瓶产酶水平分别达到 243 U/mL 和 4882 U/mL，几无相应水解活性。 3) 建立了普鲁兰酶、果糖基转移酶、乳糖酶和转葡萄糖苷酶的绿色高效发酵制备技术以及红薯 β-淀粉酶分离精制技术。创建了极限接种技术、培养基预消化技术、过程糖、磷控制与补加技术、蒸汽和水回用技术等，种子扩培周期缩短 27%，节省碳源、有机		

	氮源和磷酸盐 36%、67%和 65%以上；在优化的生产体系下，普鲁兰酶、乳糖酶、果糖基转移酶和转葡萄糖苷酶水平分别达到 3890、522、4588 和 70850 U/mL；优化了后提取技术，酶收得率提高了 15%以上。创建了红薯 β-淀粉酶吸附-解析提取新技术，酶总提取率大于 80%。 应用推广情况： 本成果酶制剂制造技术全部实现了工业化生产与应用，近 3 年累计获得直接经济效益 1.72 亿元，利税 4272 万元。产品在国内外 100 余家企业得到批量应用，经济效益显著。本成果获得授权专利 6 项。
发现点/发明点/创新点(400 字)	1. 技术创新点一：高效新酶分子。 通过酶分子遴选、基因克隆、表达与人工进化等，获得了普鲁兰酶、果糖基转移酶、高转苷乳糖酶、转葡萄糖苷酶和 β-淀粉酶新分子。 由附件 1、2、4 的主要技术支撑材料支撑 2. 技术创新点二：高产新菌种。 通过无痕基因替换、启动子和信号肽优化等，创建了普鲁兰酶、高转苷乳糖酶、果糖基转移酶和转葡萄糖苷酶高产新菌种。 由附件 1、2、4 的主要技术支撑材料支撑 3. 技术创新点三：酶绿色高效酶制造技术与应用。 建立了普鲁兰酶、果糖基转移酶、乳糖酶和转葡萄糖苷酶的绿色高效发酵制备技术以及红薯 β-淀粉酶分离精制技术；在优化的生产体系下，普鲁兰酶、乳糖酶、果糖基转移酶和转葡萄糖苷酶的产酶水平分别达到 3890 U/mL、522 U/mL、4588 U/mL 和 70850 U/mL，酶的收得率提高了 15%以上；创建了红薯 β-淀粉酶吸附-解析提取新技术，酶总提取率大于 80%；实现上述酶制剂在功能性低聚糖制造中的高效应用。 由附件 1、2、3、4、5、6 的主要技术支撑材料支撑
主要技术支撑材料	1-发明专利授权证书-一种制备低聚果糖的方法及其酶制剂 2-发明专利授权证书-一种低聚异麦芽糖的制造方法及其催化剂 3-发明专利授权证书-酶制剂生产过程中的蒸汽阶梯式利用方法 4-发明专利授权证书-高效表达 α-葡萄糖苷酶的基因工程菌及其构建方法 5-发明专利授权证书-一种高含量低聚半乳糖的生产方法 6-实用新型专利授权证书-超滤机系统