

α -淀粉酶 Amy7C 及其突变体最适 pH 值的定量预测 * Quantitative Predicting pH Optimum of α -Amylase Amy7C and Its Mutants

师德强,吴光,李检秀,龙思宇,黄艳燕,黄纪民,王何健,谢能中,严少敏 **

SHI De-qiang, WU Guang, LI Jian-xiu, LONG Si-yu, HUANG Yan-yan, HUANG Ji-min, WANG He-jian, XIE Neng-zhong, YAN Shao-min

(广西科学院,非粮生物质酶解国家重点实验室,国家非粮生物质能源工程技术研究中心,广西生物质产业化工程院,广西生物炼制重点实验室,广西南宁 530007)

(Guangxi Academy of Sciences, State Key Laboratory of Non-food Biomass Enzyme Technology, National Engineering Research Center for Non-food Biorefinery, Biomass Industrialization Engineering Institute, Guangxi Key Laboratory of Biorefinery, Nanning, Guangxi, 530007, China)

摘要:【目的】pH 值是影响酶催化效率的关键参数,通常需要通过实验方式才能确定生物酶的最适 pH 值,而该方式要消耗较多的人力、物力和时间。因此,有必要发展一种利用酶的简单结构信息即可预测其最适 pH 值的方法。【方法】以 20-1 前馈反向传播的神经网络为模型,完成 535 种氨基酸属性对 α -淀粉酶 pH 值的拟合。同时,将 α -淀粉酶 Amy7C 及其 54 个突变体的数据分为 2 组,用 35 个酶作为训练组进行拟合,20 个酶作为验证组进行检验,并对不同层次及神经元个数的模型进行比较。【结果】109 个氨基酸属性可实现 20-1 神经网络模型收敛,表明这些氨基酸属性可用于预测 α -淀粉酶的最适 pH 值,但是不同氨基酸属性预测 pH 值的效果差别较大,只有部分指标预测 pH 值的效果较好。多模型的分析结果显示,不同模型对训练组 R 值的结果具有显著性差异,而对训练组 P 值、验证组 R 值和验证组 P 值结果无显著性差异。【结论】氨基酸分布概率等属性可用于预测 α -淀粉酶的最适 pH 值。20-1 神经网络模型是预测 α -淀粉酶最适 pH 值相对理想的模型。

关键词: α -淀粉酶 最适 pH 值 预测 氨基酸属性

中图分类号: Q556⁺.2 **文献标识码:** A **文章编号:** 1005-9164(2014)06-0664-07

Abstract:【Objective】pH is an important parameter in enzymatic reaction, and its determination is often through experimental path, which is generally costly and time-consuming. So, it is necessary to develop methods that can use as simple as possible information to predict pH optimum for enzyme. 【Methods】20-1 feedforward backpropagation neural network was used to screen 535 amino acids properties as predictors to predict the optimal pH of α -amylase Amy7C

and its 54 mutant, which were divided as two groups. 35 of them served as training group for fitting, and the other 20 were treated as validation. The models for different structures and neuron numbers were also compared. 【Results】109 amino acid properties, which converged during fitting in the 20-1 neural network model, could be used to predict optimal pH. Different amino acid properties presented different predicting effect, and some of them revealed better

收稿日期:2014-05-10

修回日期:2014-06-15

作者简介:师德强(1982-),男,硕士,助理研究员,主要从事生物质资源利用研究与科技管理工作。

* 广西自然科学基金重点项目(2013GXNSFDA019007),广西科技创新能力与条件建设计划项目(桂科能 12237022)和广西人才小高地建设专项基金项目资助。

** 通讯作者:严少敏(1958-),女,博士,研究员,主要从事生物信息学、计算生物学和定量诊断研究, E-mail:shaominyan@gxas.cn.

prediction for optimal pH. The multi-model results showed that there was significant difference between R values in training groups, but there was no significant difference between P values in training groups, as well as R and P values in validation groups. **【Conclusion】** The distribution probability and some amino acid properties could be used to predict optimal pH of α -amylase, for which 20-1 feedforward backpropagation neural network was the relative ideal model.

Key words: α -amylase, pH optimum, prediction, amino acid property

【研究意义】化石能源危机和环境污染问题日益凸显,生物质能源因其可再生、使用清洁、原料丰富、分布广泛等特点,成为新能源研究的热门领域。生物质能源有望成为可减少环境污染的可再生能源,而最终取代化石能源^[1]。燃料乙醇是目前应用最为广泛的生物质液体燃料。生产燃料乙醇的原料主要有淀粉类、糖类和纤维素类^[2]。淀粉类原料在淀粉酶和糖化酶的作用下水解成葡萄糖,葡萄糖即可被酿酒酵母发酵产生乙醇^[3]。改善淀粉酶的活性是提高淀粉质生物乙醇产率的关键。生物酶的最适作用条件一般通过实验确定,这种方式不但费时耗力,而且通过实验获得酶的最适反应条件,其效率要远低于数据库中新酶的增加速度。所以数据库中记录了很多酶的结构信息,而由该酶的米氏常数(K_m)、解离常数(pK_a)、最适 pH 值和最适温度等参数确定的最适作用条件的数据却很少。因此,有必要发展一种用酶的功能参数预测酶的最适作用条件的方法。如果通过酶的简单氨基酸属性信息即可预测酶活的各种功能参数,将会极大节约研究成本,提高研究效率^[4]。 α -淀粉酶(α -1,4-D-葡萄糖-葡萄糖苷水解酶, EC3.2.1.1)是一种重要的淀粉水解酶,是通过内切 α -1,4-葡萄糖苷键,将淀粉水解成麦芽糖、低聚糖和葡萄糖等,在酒精工业中能显著提高出酒率^[5],其结构和功能的改造进展很快^[6,7]。pH 值是影响酶促反应的关键参数,他影响底物和酶的结合,在最适 pH 值下,酶促反应速度才能达到最大值。**【前人研究进展】**严少敏等运用神经网络模型对纤维素酶、 β -葡萄糖苷酶和 β -纤维乙糖苷酶的功能参数进行了预测,包括最适 pH 值^[4,8~10]、最适温度^[10~13]、米氏常数^[14~17]和转化数^[18],发现某些氨基酸属性可以用来预测酶的功能参数^[19]。**【本研究切入点】**基于氨基酸结构信息的纤维素酶, β -葡萄糖苷酶的最适 pH 值的预测研究已经完成,而关于 α -淀粉酶的最适 pH 值预测研究尚未开展。**【拟解决的关键问题】**尝试探索利用酶的简单结构信息预测 α -淀粉酶最适 pH 值的可能性及方法,并筛选出对预测 α -淀粉酶最适 pH 值有最佳效果的氨基酸属性。

1 数据来源和研究方法

1.1 数据来源

α -淀粉酶 Amy7C 及其 54 个突变体的 pH 值由王成华博士提供^[20]。535 种氨基酸属性,包括 39 个氨基酸构成属性、219 个理化性质属性和 273 个二级结构属性,其中 531 种属性数据来自 GenomeNet 氨基酸索引数据库(<http://www.genome.jp/aaindex/>);4 个动态氨基酸结构属性包括氨基酸数目(每种氨基酸在酶分子中的数量)、氨基酸现在构成(酶分子中的每种氨基酸数量/酶分子中氨基酸总数 $\times 100\%$)、氨基酸未来构成(根据变异概率计算每种氨基酸在酶分子中的未来百分比)和氨基酸分布概率(根据麦克斯韦——玻尔兹曼假设,计算每种氨基酸在酶分子中的分布概率),后两个属性的具体计算方法和生物学意义见参考文献^[21],其在线计算可通过国家非粮生物质能源工程技术研究中心网站中的相关链接进行(<http://www.nerc-nfb.ac.cn/calculation/fc.htm> 和 <http://www.nerc-nfb.ac.cn/calculation/dp.htm>)。

1.2 氨基酸属性量化酶及其变异体

预测模型处理的是数字信息,而酶的序列是由 20 种氨基酸组成的字母信息,因此,在进行模型分析之前必须进行数值化,即用 535 种氨基酸属性分别对淀粉酶 Amy7C 及其 54 个变异体进行量化,部分量化结果见表 1。

1.3 神经网络模型拟合和预测 pH 值

人工神经网络通过模拟人脑的神经处理信息的方式,可对信息进行线性和非线性拟合,通过所获得的参数建立预测模型^[22]。神经网络模型的基础是对不同层次、不同个数的神经元相互连接。本研究输入 20 种数值化的氨基酸,输出 pH 值,因此选用 20-1 前馈反向传播的神经网络为模型,用各种氨基酸属性对 α -淀粉酶 Amy7C 及其突变体进行量化、并以每个酶的各种氨基酸数量进行权重作为模型输入,以 Amy7C 及其突变体酶的 pH 值作为模型输出,对每种属性进行 100 次拟合,逐一完成 535 种属性对 pH

表 1 用静、动态氨基酸属性量化淀粉酶 Amy7C 及其 L208W 变异体

Table 1 Comparison of quantified Amy7C and its L208W mutant by constant and dynamic properties

氨基酸 AA	No.		ZASB820101		ZASB820101×No.		CC(%)		FC(%)		DP	
	Amy7C	L208W	Amy7C	L208W	Amy7C	L208W	Amy7C	L208W	Amy7C	L208W	Amy7C	L208W
A	37	37	-0.15	-0.15	-5.62	-5.62	8.62	8.62	7.28	7.28	0.0185	0.0185
R	18	18	-0.09	-0.09	-1.60	-1.60	4.20	4.20	7.33	7.36	0.0312	0.0312
N	39	39	-0.20	-0.20	-7.92	-7.92	9.09	9.09	4.63	4.63	0.0031	0.0031
D	29	29	-0.36	-0.36	-10.30	-10.30	6.76	6.76	4.78	4.78	0.0069	0.0069
C	1	1	0.00	0.00	0.00	0.00	0.23	0.23	2.78	2.84	1.0000	1.0000
E	18	18	-0.18	-0.18	-3.26	-3.26	4.20	4.20	4.21	4.21	0.0389	0.0389
Q	21	21	-0.41	-0.41	-8.63	-8.63	4.90	4.90	2.71	2.70	0.0062	0.0062
G	37	37	-0.19	-0.19	-7.03	-7.03	8.62	8.62	6.73	6.76	0.0056	0.0056
H	14	14	0.00	0.00	0.00	0.00	3.26	3.26	4.21	4.20	0.0010	0.0010
I	23	23	-0.09	-0.09	-1.98	-1.98	5.36	5.36	5.14	5.12	0.0112	0.0112
L	23	22	-0.10	-0.10	-2.35	-2.35	5.36	5.13	7.00	6.95	0.0460	0.0878
K	18	18	-0.06	-0.06	-1.12	-1.12	4.20	4.20	4.41	4.41	0.0831	0.0831
M	8	8	-0.11	-0.11	-0.86	-0.86	1.86	1.86	1.42	1.41	0.2243	0.2243
F	13	13	0.00	0.00	0.01	0.01	3.03	3.03	2.46	2.43	0.0463	0.0463
P	12	12	-0.18	-0.18	-2.17	-2.17	2.80	2.80	4.88	4.86	0.1241	0.1241
S	39	39	-0.20	-0.20	-7.92	-7.92	9.09	9.09	8.42	8.43	0.0064	0.0064
T	27	27	-0.17	-0.17	-4.59	-4.59	6.29	6.29	6.81	6.81	0.0161	0.0161
W	12	13	0.28	0.28	3.30	3.30	2.80	3.03	0.69	0.68	0.0310	0.1544
Y	19	19	0.00	0.00	0.00	0.00	4.43	4.43	3.32	3.32	0.0852	0.0852
V	21	21	-0.13	-0.13	-2.63	-2.63	4.90	4.90	6.50	6.48	0.0053	0.0053

ZASB820101 代表分配系数对离子强度的依赖;No,氨基酸的数目;CC(%),氨基酸的现在构成;FC(%),根据变异概率计算出的氨基酸未来构成;DP,氨基酸的分布概率。

ZASB820101 is a physicochemical property of amino acid related to and describes the dependence of partition coefficient on ionic strength;No. , Number of amino acids;CC(%), the current composition of amino acids calculated by the number of a type of amino acids divided by the total number of amino acids in an enzyme;FC(%), the future composition of amino acids calculated according to the mutating probability;DP, the distribution probability of amino acids.

值的拟合。将 55 个 α -淀粉酶 Amy7C 及其突变体的数据分为 2 组,用 35 个酶作为训练组进行拟合,20 个酶作为验证组进行检验。最后,对 8 种不同层次及不同个数的神经网络模型(图 1)的拟合、预测效果进行比较。所有操作均采用 Matlab 程序。

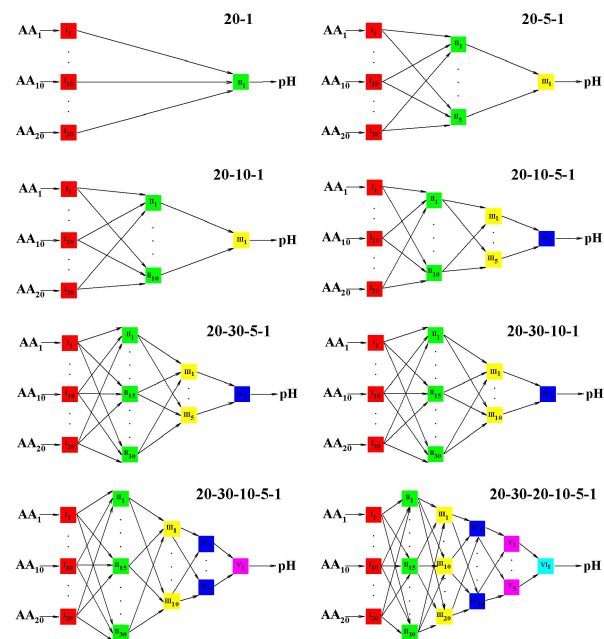


图 1 8 种不同层次及不同个数的神经网络模型

Fig. 1 8 neural network models with different layers and different number of neurons

1.4 预测效果的统计检验

把由神经网络模型得到的拟合及预测数据,与实验测得的 pH 值进行比较,通过回归系数 (R 值)和显著性水平 (P 值)对模型的预测效果进行检验。Wilcoxon Signed Rank Test 用于比较两组间的结果, Kruskal-Wallis One Way Analysis of Variance on Ranks 用于比较多组间的结果, $P < 0.05$ 视为具有显著性。

2 结果与分析

2.1 基于 20-1 神经网络模型的预测结果

2.1.1 氨基酸属性的筛选

表 2 结果表明,109 种属性可实现模型的收敛。其中,39 个氨基酸组成属性中,2 个指标拟合成功;219 个理化性质属性中,42 个指标拟合成功;273 个二级结构属性中,62 个指标拟合成功;4 个动态氨基酸结构属性中,3 个指标拟合成功。

2.1.2 最适 pH 预测的 R 值和 P 值

从图 2 可以看出,训练组 R 值分布范围为 0.518~0.97,平均值 0.796,其中,CHAM830107 属性 R 值为 0.518,与 pH 值预测的相关性最差;氨基酸分布概率的 R 值为 0.97,与 pH 值预测的相关性最好;86 种氨基酸属性的 R 值在 0.75~0.85,具有

表 2 被筛选的氨基酸属性

Table 2 Screened amino acid properties

分组 Group	状况 State	相关特点 Related features	数据来源 Website available	不收敛属性 Non-convergent properties	可收敛属性 Convergent properties	总数 Total number
I	静态 Constant	氨基酸组成 Composition	http://www.genome.jp/aaindex/	37	2	39
II	静态 Constant	理化性质 Physicochemical property	http://www.genome.jp/aaindex/	177	42	219
III	静态 Constant	二级结构 Secondary structure	http://www.genome.jp/aaindex/	211	62	273
IV	动态 Dynamic	氨基酸结构 AA structure	http://www.nerc-nfb.ac.cn/calculation/fc.htm http://www.nerc-nfb.ac.cn/calculation/dp.htm	1	3	4

预测 pH 值的较好相关性。训练组 P 值分布范围为 0.162~1, 平均值 0.778, 其中, CHAM830108 和 FAUJ880111 属性的 P 值分别为 0.162 和 0.275, 与 pH 值预测的相关性最差; KLEP840101 和 LAWE840101 属性 P 值为 1, 与记录的 pH 值完全拟合; 93 种氨基酸属性(氨基酸分布概率)的 P 值大于 0.7, 与记录的 pH 值能够较好的拟合。

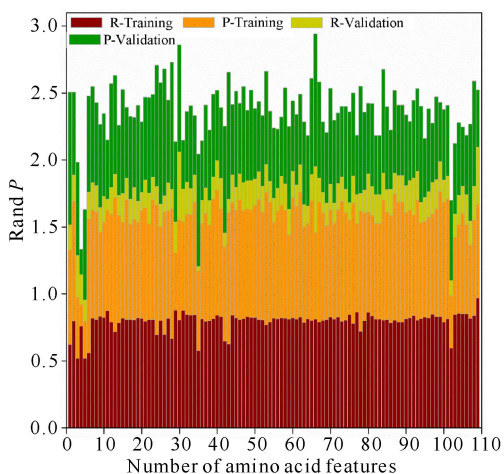


图 2 20-1 神经网络模型预测淀粉酶 pH 值的结果

Fig. 2 Results of predicting pH of amylases using 20-1 neural network

验证组 R 值分布范围为 0.033~0.506, 平均值为 0.196, 其中, VENT840101 属性 R 值为 0.033, 与 pH 值预测的相关性最差; ZASB820101 属性 P 值为 0.506, 与 pH 值预测的相关性最好。验证组 P 值分布在 0.189~0.989, 平均值 0.606, 其中, CHAM830108 属性的 P 值仅为 0.189, 与记录 pH 值的预测拟合效果最差; GRAR740101 和 QIAN880132 属性的 P 值为 0.989, 能够与记录 pH 值很好拟合。

109 种氨基酸属性中, QIAN880132 属性用 20-1 神经网络模型预测 pH 值的效果最好, 训练组和验证组的 P 值和 R 值之和为 2.941, 其次是 ZASB820101

属性, P 值和 R 值之和为 2.859; CHAM830108 属性对 pH 值的预测效果最差, 训练组和验证组的 P 值和 R 值之和为 1.334, 其次是 FAUJ880111 和 CHAM830105 属性, P 值和 R 值之和分别为 1.632 和 1.699; 氨基酸分布概率的训练组和验证组的 P 值和 R 值之和为 2.524, 预测 pH 值的效果较好。

2.1.3 最适 pH 值预测的正确酶数和变异系数

从图 3 可以看出, 训练组中(图 3a, b), 101 种氨基酸属性预测淀粉酶 pH 值的正确酶数超过 50%, 34 种属性的正确酶数超过 70%, 5 种属性的正确酶数达到 80%, 其中, COSI940101 属性对 35 个酶中的 29 个酶预测正确, 正确率达到 82.9%; 5 种属性预测淀粉酶 pH 值的正确酶数低于 30%, 其中 FAUJ880111 属性仅能正确预测 6 个酶。109 种氨基酸属性预测酶的 pH 值变异系数分布范围 0.384~3.375, FAUJ880111、KLEP840101 和氨基酸分布概率 3 种属性的变异系数在 1 以下, 分别为 0.384、0.497 和 0.971, 对应的正确预测的酶数分别 6 个、8 个和 28 个; 23 种属性的变异系数在 1~2; 3 种属性的变异系数大于 3.2, 分别是 ZASB820101、Future composition 和 QIAN880132, 对应属性为 3.238、3.335 和 3.375, 对应的正确预测的酶数分别 23、26 和 24 个。训练组中, 109 种氨基酸属性中氨基酸分布概率预测 α -淀粉酶的 pH 值值效果最好, 在变异系数只有 0.971 的情况下, 准确预测了 28 个酶的 pH 值。

验证组中(图 3c, d), 97 种氨基酸属性预测淀粉酶 pH 值的正确酶数超过 50%, 47 种属性的正确酶数超过 70%, 2 种属性的正确酶数达到 80%; 7 种属性预测淀粉酶 pH 值的正确酶数低于 30%, 其中 KLEP840101 属性仅能正确预测 20 个酶中的 1 个酶。109 种氨基酸属性预测酶的 pH 值变异系数分布在 1.047~16.26。KLEP840101、CHAM830107

和 CHAM810101 属性的变异系数在 2 以下,分别为 1.047、1.293 和 1.837,所对应的正确预测的酶数分别为 1 个、2 个和 5 个;CHOP780215、QIAN880101、JOND920101、COSI94010、氨基酸分布概率等 5 种属性的变异系数达到或超过 7,正确预测的酶数分别为 15 个、15 个、15 个、15 个和 16 个。在预测淀粉酶 pH 值的正确酶数在 75% (15 个酶) 的 19 种氨基酸属性中, MIYS990104 属性的变异系数最小,为 6.177。验证组中,氨基酸分布概率预测 α -淀粉酶的 pH 值正确酶数比率达到 109 种属性中最大值 (80%, 16 个酶), 而且其变异系数也达到了所有分析属性的最大值。

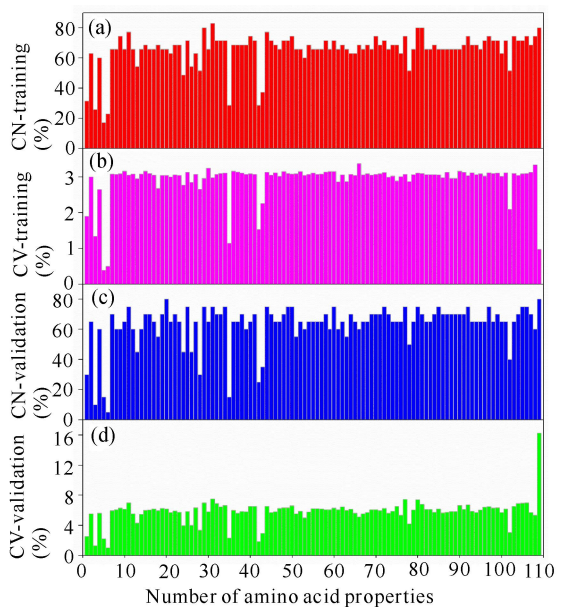


图 3 109 种淀粉酶氨基酸属性预测 pH 值的正确酶数 (CN) 和变异系数 (CV)

Fig. 3 Correct Number (CN) of amylases and Coefficient Variation (CV) by using 109 amino acid features to predict pH

2.2 基于多层神经元模型预测结果

图 4a 为 8 种不同层数和神经元个数的模型分别对 8 种氨基酸属性预测 pH 值的结果。可以看出,不同模型分析对训练组 R 值结果具有显著性差异 ($P < 0.001$), R 值随 20-1、20-5-1、20-10-1 等模型变化显著递增, 8 种属性的 R 值平均值分别为 0.804、0.872 和 0.951, 20-30-10-1 模型的 R 值平均值为 0.994。而不同模型对训练组 P 值的结果无显著性差异 ($P = 0.185$), 20-1 模型的 P 值最大, 为 0.824。不同模型对验证组 P 值的结果也无显著性差异, 20-1 模型分析 P 值最大, 为 0.78。不同模型对验证组 R 值的结果无显著性差异 ($P = 0.646$), 20-10-5-1 模型分析验证组 R 值最大, 但仅为 0.278。图 4b 为 8 种氨基酸属性分别在多神经网络模型下预测 α -淀粉酶

最适 pH 值的结果。可以看出, 8 种属性的多模型 R 值具有显著性差异 ($P < 0.001$), 其中氨基酸分布概率的训练组和验证组 R 值分别为 0.991 和 0.437, 与 pH 值预测的相关性最好; 8 种属性多模型分析的训练组 P 值有显著性差异 ($P = 0.029$); 8 种属性多模型分析的验证组 P 值具有显著性差异 ($P < 0.001$), FAUJ880102 属性 P 值为 0.85, 相对其他属性预测 pH 值与记录 pH 值拟合效果最好。

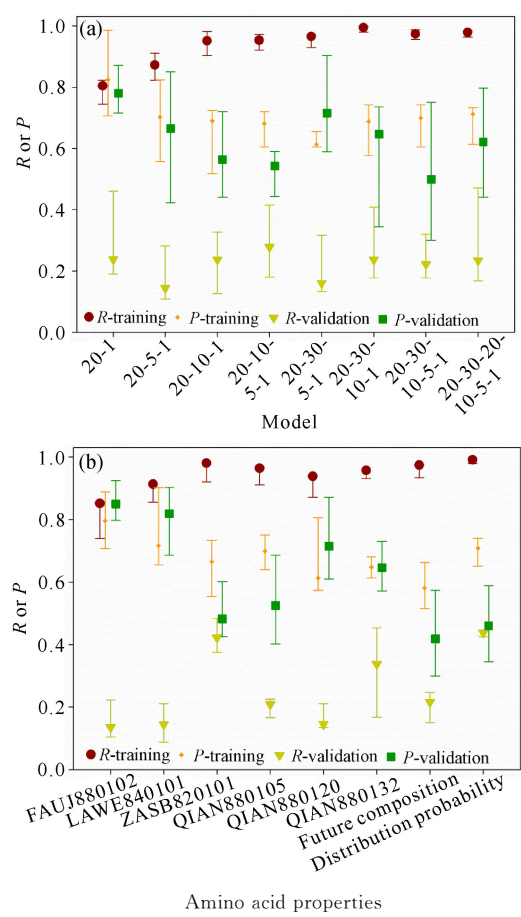


图 4 不同模型(a)和不同氨基酸属性(b)的预测结果
Fig. 4 Predicted results from different models(a) and amino acid properties(b)

3 结论

运用 20-1 神经网络模型, 从 535 个氨基酸属性中筛选出 109 个指标可与模型拟合, 除验证组 R 值外, 训练组 R 值、 P 值和验证组 P 值均显示出较好的拟合效果, 其中 28 个指标的 R 值和 P 值之和大于 2.5, 最高达到 2.941, 表明一些指标可以用来预测 α -淀粉酶的最适 pH 值。

不同氨基酸属性的预测效果差别较大^[4,8~19], 如 QIAN880132 属性用 20-1 神经网络模型预测 pH 值的效果最好, CHAM830108 属性对 pH 值的预测效果最差, 预测效果仅为 QIAN880132 属性的 45.4%。

氨基酸分布概率的模型分析结果值得注意,该属性表现出较好的预测效果,在109种模型收敛属性中,氨基酸分布概率在训练组和验证组中正确预测的酶数均为最佳,但其变异系数在训练组和验证组中的结果截然相反,在训练组中的变异系数最小,而在验证组中的变异系数最大。8种氨基酸属性的多模型分析结果表明,训练组 P 值结果无显著性差异,除FAUJ880102属性的验证组 P 值高于其他7个指标外,氨基酸分布概率的训练组和验证组 R 值均为最高,因此,氨基酸分布概率是所分析8个属性中最适合预测 pH 值的指标。

不同模型的分析结果还表明,训练组的 R 值结果存在显著性差异,其余结果无显著性差异。训练组 R 值随 20-1、20-5-1、20-10-1 模型变化递增,随其他4层和5层神经元模型的预测效果没有显著变化趋势。鉴于预测的无显著性差异结果较多,因此,从模型分析效率来看^[19],20-1模型是预测 α -淀粉酶的最适 pH 值相对理想的模型。

致谢:

感谢王成华博士为本研究提供 α -淀粉酶 Amy7C 及其突变体的 pH 值数据。

参考文献:

[1] 胡理乐,李亮,李俊生.生物质能源的特点及其环境效应[J].能源与环境,2012(1):47-49.
Hu L L,Li L,Li J S.Characteristics of biomass energy and its environmental effects[J].Energy and Environment,2012(1):47-49.

[2] 庄新姝,袁振宏,孙永明,等.中国燃料乙醇的应用及生产技术的效益分析与评价[J].太阳能学报,2009,30(4):526-531.
Zhuang X Z,Yuan Z H,Sun Y M,et al.Fuel ethanol application and production efficiency evaluation in China [J].Acta Energlae Solaris Sinica,2009,30(4):526-531.

[3] 郝小明.我国燃料乙醇产业发展趋势[J].中国科技投资,2010(4):51-52.
Hao X M.The development trend of fuel ethanol industry in China[J].China Venture Capital,2010(4):51-52.

[4] Yan S,Wu G.Searching of predictors to predict pH optimum of cellulases[J].Appl Biochem Biotechnol,2011,165:856-869.

[5] 罗志刚,杨景峰,罗发兴. α -淀粉酶的性质及应用[J].食品研究与开发,2007(8):163-167.
Luo Z G,Yang J F,Luo F X.Properties and application of α -amylase[J].Food Research and Development,2007(8):163-167.

[6] Wang C,Wang Q,Liao S,et al.Thermal stability and ac-

tivity improvements of a Ca-independent α -amylase from *Bacillus subtilis* CN7 by C-terminal truncation and hexahistidine-tag fusion[J].Biotechnol Appl Biochem,2014,61(2):93-100.

[7] Wang C,Huang R,He B,et al.Improving the thermostability of alpha-amylase by combinatorial coevolving-site saturation mutagenesis [J].BMC Bioinformatics,2014,13(1):263-269.

[8] Yan S,Wu G.Predicting pH Optimum of Enzymatic Activity in Beta-glucosidases [C].Proceedings of the 2012 international symposium on advanced biological engineering (ISABE' 2012):pp 90-91.October 25th to 29th,2012,Guilin,China.

[9] Yan S,Wu G.Prediction of optimal pH in hydrolytic reaction of beta-glucosidase[J].Appl Biochem Biotech A: Enzyme Eng Biotech,2013,169:1884-1894.

[10] Yan S,Wu G.Prediction of optimal pH and temperature of cellulases using neural network[J].Protein Pept Lett,2012,19:29-39.

[11] Yan S,Wu G.Predictors for Predicting Temperature Optimum in Beta-glucosidases[C].Proceedings of the 6th International Symposium on Biocatalysis and Biosynthetic Engineering (iSBBE2013).November 11-13,2013,Shanghai,China.

[12] Yan S,Wu G.Exhausted jackknife validation exemplified by prediction of temperature optimum in enzymatic reaction of cellulases[J].Appl Biochem Biotech A: Enzyme Eng Biotech,2012,166:997-1107.

[13] Yan S,Wu G.Prediction of temperature optimum in enzymatic reaction of beta-cellobiosidases with exhausted jackknife validation[J].Life Sci J,2013,10(3):2180-2189.

[14] Yan S,Wu G.Prediction of Michaelis-Menten constant of beta-glucosidases using nitrophenyl-beta-D-glucopyranoside as substrate[J].Protein Pept Lett,2011,18:1053-1060.

[15] Yan S,Wu G.Prediction of Michaelis-Menten constant in beta-cellobiosidase's reaction with lactoside as substrate[J].Enzyme Eng,2011,1:102. doi:10.4172/eeg.1000102.

[16] Yan S,Wu G.Prediction of Michaelis-Menten Constant of Cellulases Using Neural Network [C].Proceedings of the 2012 International Symposium on Advanced Biological Engineering (ISABE' 2012):pp 92-93.October 25th to 29th,2012,Guilin,China.

[17] Yan S,Shi D,Nong H,et al.Predicting K_m values of beta-glucosidases using cellobiose as substrate[J].Interdiscip Sci:Comput Life Sci,2012,4:46-53.

[18] Yan S,Wu G.Prediction of turnover number of cellu-

lose 1, 4 - beta - cellobiosidase [J]. Protein Pept Lett, 2013, 20: 255-264.

[19] Yan S, Wu G. Predictions of enzymatic parameters: A mini-review with focus on enzymes for biofuel [J]. Appl Biochem Biotech A; Enzyme Eng Biotech, 2013, 171: 590-615.

[20] 王成华. 基于 α -淀粉酶理性设计的酶分子改造方法的研究 [D]. 南京: 南京工业大学, 2012.
Wang C H. Enzyme Engineering Methods Developed from Rational Design of Alpha Amylase [D]. Nanning:

Nanjing University of Technology, 2012.

[21] Wu G, Yan S. Lecture Notes on Computational Mutation [M]. New York: Nova Science Publishers, 2008.

[22] Hudson Beale M, Hagan M T, Demuth H B. Neural Network Toolbox 7 User's Guide [G]. The MathWorks, Inc, 2010.

(责任编辑: 尹 闯)

投稿指南

1 来稿要求

1.1 稿件要素

稿件内容必须包括: 题目、作者姓名、作者所在单位、所在省份和城市、邮政编码、中文摘要、关键词、英文题目、作者英文姓名、作者英文单位、英文摘要、英文关键词、正文、致谢(非必选)、参考文献等内容。

1.2 题目

应以简明、确切的语言反映稿件的重要思想和内容, 一般不超过 20 字。

1.3 作者与单位

多位作者姓名用逗号隔开。所有作者均须注明所在单位全称、省份城市及邮编。

1.4 汉语姓名译法

姓在前名在后, 姓用大写字母, 名首字母大写, 双名字中间加一短线(如: 欧阳奋发, OUYANG Fen-fa)。

1.5 中、英文摘要

用第三人称撰写, 应完整准确概括论文的实质性内容, 试验研究论文摘要须标注【目的】……【方法】……【结果】……【结论】4 个要素。英文摘要与中文摘要内容相对应 (Abstract: 【Objective】……【Methods】……【Results】……【Conclusion】)。

1.6 首页脚注标识要素

资助项目: 项目名称(项目编号)。作者简介包括: 姓名(出生年-), 性别, 学位, 职称或职务, 主要研究方向。如有通讯作者, 请注明 $\times \times \times$ 为通讯作者姓名(出生年-), 性别, 学位, 职称或职务, 主要研究方向, E-mail。

1.7 稿件正文

试验研究论文应包括引言、材料与方法、结果与分析、讨论(非必要项)、结论等要素。引言须标注【研究意义】……【前人研究进展】……【本研究切入点】……【拟解决的关键问题】……等基本内容, “讨论”与“结论”部分须分开阐述。各层次标题用阿拉伯数字连续编号, 如 0; 1, 1.1, 1.1.1; 2, 2.1, 2.1.1……层次划分一般不超过 3 级。

1.8 参考文献

所有类型的中文文献须对应翻译成英文。编排格式如下:

[1] 陈宝玲, 宋希强, 余文刚, 等. 濒危书科植物再引入技术及其应 [J]. 生物学报, 2010, 30(24): 7055-7063.
Chen B L, Sony X Q, Yu W G, et al. Re-introduction technology and its annlication in the connervation of endangered orchid [J]. Acta Ecologica Sinica, 2010, 30(24): 7055-7063.

1.9 图和表

稿件可附必要的图和表, 表用三线表表示, 忌与文字表述重复, 表的主题标目要明确。图表名、图表注及图表中所有的中文须有英文对照。图要大小适中, 清晰, 标注完整; 照片尽量选用黑白照片。

1.10 量和单位

量名称及其符号须符合国家标准, 采用法定计量单位(用国际通用符号, 如面积单位“亩”换算成“公顷 hm^2 ”)。书写要规范化, 并注明外文字母的大小写、正斜体及上下角标。容易混淆的字母、符号, 请特别注明。

2 注意事项

- 2.1 本刊已开通网络投稿系统, 投稿请登陆 <http://gxkk.cbpt.cnki.net/>, 使用网上投稿和查稿系统。
- 2.2 稿件一经采用, 酌收版面费; 刊登后, 付稿酬含(《中国学术期刊(光盘版)》、中国期刊网、万方数据网及台湾华艺 CEPS 中文电子期刊服务网等)网络发行的稿酬, 同时赠送样刊 2 本。
- 2.3 本刊入编《中国学术期刊(光盘版)》、中国期刊网、万方数据网及台湾华艺 CEPS 中文电子期刊数据库并已加入 CNKI 优先数字出版合作协议。
- 2.4 囿于人力、物力有限, 我刊只通过期刊采编系统发送“稿件处理意见”, 如需纸质意见, 请向编辑部索取。