

产甘油假丝酵母 *TRP1* 基因的功能分析

邱并生

(《微生物学通报》编委会 北京 100101)

产甘油假丝酵母(*Candida glycerinogenes* WL2002-5)是我国发酵甘油工业的生产菌种, 具有耐高渗和过量合成甘油的优良性能^[1]。近年来, 产甘油假丝酵母的遗传转化体系已经被成功建立^[2], 并通过基因敲除等方法对其高产甘油和耐高渗的机理进行了深入的研究, 发现了 3-磷酸甘油脱氢酶和磷酸丙糖异构酶等多个与高产甘油及耐高渗有密切关系的基因^[3,4]。这些研究显示, 甘油合成能力的提高涉及到多个基因的改造, 而多个基因的改造又必然需要多次使用遗传标记。然而, 到目前为止, 还只发现了腐草霉素及其抗性基因这一对在产甘油假丝酵母中有效的遗传标记, 许多在其它酵母中常用的标记基因如 G418 抗性、潮霉素抗性等由于其具有较高的耐受性而无法使用^[2], 因此寻找更多有效的标记基因对该酵母的改造具有重要意义。磷酸核糖氨基苯甲酸同分异构酶(Phosphoribosyl anthranilate isomerase, PRAI)催化由分支酸到色氨酸的生物合成途径的第 3 步, 由于其编码基因 *TRP1* 突变而产生的 *trp1* 缺陷型突变株相对比较容易获得, 而 *TRP1* 基因又能有效互补宿主酵母的 *trp1* 缺陷, 因此 *TRP1* 基因是酵母遗传工程中最常用的标记基因之一。

本期介绍了沈微、诸葛健等^[3]采用遗传互补的方法, 克隆了完整的产甘油假丝酵母 *TRP1* 基因(*CgTRP1*), 序列分析显示, 该基因编码区全长 735 bp, 编码的磷酸核糖氨基苯甲酸同分异构酶(*CgPRAI*)氨基酸序列与其他酵母来源的 PRAI 蛋白同源性在 32.9%~49.2%之间。功能互补实验显示, *CgTRP1* 基因在高拷贝情况下可以互补酿酒酵母 *trp1* 基因功能, 但在低拷贝情况下只能部分互补酿酒酵母 *trp1* 基因功能, 是一条功能明确、结构完整的酵母新基因, 为建立以 *TRP1* 基因为遗传标记的产甘油假丝酵母遗传转化体系奠定了基础。

关键词: 产甘油假丝酵母, 磷酸核糖氨基苯甲酸同分异构酶, *trp1* 缺陷

参考文献

- [1] Cheon SA, Wang ZX, Zhuge J, et al. Glycerol production by microbial fermentation: a review. *Biotechnol Adv*, 2001, **19**: 201–223.
- [2] Chen XZ, Fang HY, Rao ZM, et al. An efficient genetic transformation method for glycerol producer *Candida glycerinogenes*. *Microbiol Res*, 2008, **163**: 531–537.
- [3] 沈 微, 王正祥, 李艳丽, 等. 产甘油假丝酵母 *TRP1* 基因的克隆与功能分析. 微生物学通报, 2009, **36**(11): 1795–1800.

Functional Analysis of the *Candida glycerinogenes TRP1* Gene

QIU Bing-Sheng

(The Editorial Board of Microbiology, Beijing 100101, China)

Keywords: *Candida glycerinogenes*, Phosphoribosyl anthranilate isomerase, *trp1* mutation