

红曲菌次生代谢产物生物合成途径及 相关基因的研究进展

李利^{1*} 陈莎² 陈福生³ 高梦祥¹

(1. 长江大学 生命科学学院 湖北 荆州 434025)

(2. 长江大学 图书馆 湖北 荆州 434025)

(3. 华中农业大学 食品科学与技术学院 湖北 武汉 430070)

摘 要: 红曲菌(*Monascus* spp.)是我国重要的药食两用微生物资源之一,能够产生天然食品添加剂红曲色素、降血脂活性物质 Monacolin K 等有益次生代谢产物,但也能分泌真菌毒素桔霉素(Citrinin),红曲菌及其相关产品的安全性由此受到质疑。因此,如何促进红曲菌有益代谢产物的产生,减少或抑制桔霉素的产生成为广大科研工作者研究的重点方向。近年来,红曲菌的分子生物学研究有了较快的发展,红曲菌次生代谢产物生物合成及其调控的研究是热点。本文重点介绍红曲色素、Monacolin K 和桔霉素生物合成途径及相关基因的研究进展,以期为有效调控红曲菌次生代谢产物的产生、提高红曲产品的安全性提供参考和借鉴。

关键词: 红曲菌, 红曲色素, Monacolin K, 桔霉素, 生物合成途径

Review on biosynthetic pathway of secondary metabolites and the related genes in *Monascus* spp.

LI Li^{1*} CHEN Sha² CHEN Fu-Sheng³ GAO Meng-Xiang¹

(1. College of Life Science, Yangtze University, Jingzhou, Hubei 434025, China)

(2. Library of Yangtze University, Jingzhou, Hubei 434025, China)

(3. College of Food Science and Technology, Huazhong Agricultural University,
Wuhan, Hubei 430070, China)

*通讯作者: Tel: 86-716-8066712; 信箱: lily2012@yangtzeu.edu.cn

收稿日期: 2012-04-13; 接受日期: 2012-05-30

Abstract: *Monascus* spp., one of the important microbial resources both for food and medicine in China, can produce kinds of useful secondary metabolites, such as the natural food additive *Monascus* pigments, the cholesterol-lowering substance monacolin K and so on. Meanwhile, this genus also has the ability to secrete the mycotoxin citrinin, causing a safety risk to *Monascus*-related products. Therefore, how to promote the production of the useful metabolites and eliminate the production of citrinin has become a hot topic. Over the past decade, with the development and application of molecular biological approaches in *Monascus* spp., great efforts have been made to explore the basal knowledge about biosynthesis of secondary metabolites, and many genes involved in biosynthesis of *Monascus* pigments, monacolin K and citrinin have been identified and characterized. The latest achievements were summarized in this paper, in the purpose of providing potential approaches to manipulate and improve industrial *Monascus* strains efficiently.

Keywords: *Monascus* spp., *Monascus* pigment, Monacolin K, Citrinin, Biosynthetic pathway

红曲菌, 又称为红曲霉^[1], 是我国重要的药食两用微生物资源之一, 其发酵产品红曲在我国及东南亚地区有上千年的应用历史, 是我国传统的特色出口产品之一, 目前已畅销国内外市场, 广泛用于酿造、食品加工和医疗保健等领域^[2]。

红曲菌能代谢产生丰富的有益次生代谢产物, 以天然可食用的红曲色素和降血脂的活性物质 Monacolin K 应用最为广泛^[3]。然而, 1981 年, 香港中文大学 Wong 等从红曲中分离出一种抑菌因子 Monascidin A, 该物质在 1995 年被证实是对肾脏有毒害作用的真菌毒素桔霉素^[4]。自此, 国内外学者从菌株筛选与诱变、发酵条件优化等方面进行了大量的研究工作^[5-9], 以期促进红曲菌有益代谢产物的产生、减少或抑制桔霉素的产生。

2003 年, 首次出现了红曲菌遗传转化方法的报道^[10-11]。红曲菌遗传转化方法的建立大大促进了红曲菌功能基因的研究, 不到 10 年的时间, 红曲菌次生代谢产物生物合成及调控机制的分子生物学研究已经取得不少成果, 日本、我国大陆及台湾地区的学者在这方面贡献突出, 为调控红曲菌次生代谢产物的产生、提高红曲产品的安全性开拓出新的有效途径。本文就红曲色素、Monacolin K 和桔霉素生物合成途径及相关基因

的研究进行综述和展望。

1 红曲菌次生代谢产物的生物合成途径

红曲色素、Monacolin K 和桔霉素均为聚酮类化合物(图 1), 由红曲菌聚酮体代谢途径产生。

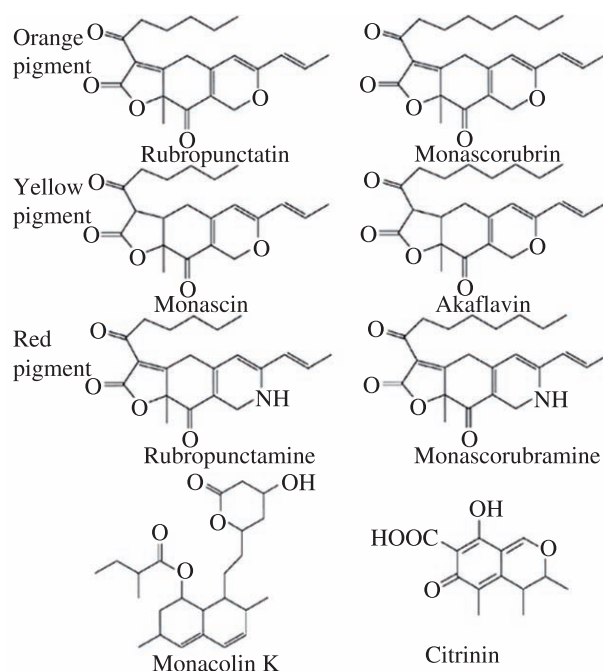


图 1 红曲色素、Monacolin K 和桔霉素的化学结构图
Fig. 1 Chemical structure of pigments, monacolin K and citrinin from *Monascus* spp.

其中,红曲色素是一种混合色素,由橙、黄、红三类结构相似的化合物组成,主要包括 2 种橙色素——红斑素(Rubropunctatin)和红曲红素(Monascorubrin),2 种黄色素——红曲素(Monascin)和红曲黄素(Akaflavin),以及 2 种红色素——红斑胺(Rubropunctamine)和红曲红胺(Monascorubramine)^[3]。

研究表明,红曲色素、Monacolin K 和桔霉素这三类代谢产物在合成途径中的起始是相似的,都是先以乙酰 CoA 和丙二酰 CoA 为底物进行缩合得到二酮体化合物,之后可能产生了不同的代谢分支。但至今,红曲菌中这些物质的合成途径,基本由同位素示踪的结果而来,只能了解大致几个步骤,其详细过程仍然不清楚。

1.1 红曲色素和桔霉素

红曲色素的生物合成途径早在 1963 年就有报道^[12],一般认为其基本过程为:(1) 1 分子乙酰 CoA 和 5 分子丙二酰 CoA 在 I 型聚酮合酶(Polyketide synthase, PKS)的催化下生成己酮(Hexaketide)生色团;(2) 己酮生色团与脂肪酸合成途径产生的中链脂肪酸,如辛酸或己酸,发生转酯化反应生成橙色素;(3) 橙色素还原生成黄色素;(4) 橙色素与氨基酸发生加氨反应生成红色素^[13]。

1999 年, Hajjaj 等^[14]通过同位素 ¹³C 标记的乙酸盐,采用 ¹³C NMR 追踪标记物在各级代谢产物中的累积,对桔霉素部分生化代谢途径进行了探讨,认为桔霉素合成的起始阶段与红曲色素共用一条途径,两者均由 1 分子乙酰 CoA 和 3 分子丙二酰 CoA 在 PKS 的催化作用下经反复缩合和延伸形成四酮体(Tetraketide),随后分开两条途径,一条途径继续与乙酰 CoA 缩合,通过甲基化、缩合、还原、甲氧基化、还原、氧化和脱水等多个步骤最终形成桔霉素;另一条路径继续与丙二酰 CoA 缩合,形成红曲色素的中间产物,然后经过

一系列步骤最终形成红曲色素。

根据目前的研究报道,红曲菌中红曲色素和桔霉素可能的生物合成途径见图 2。

1.2 Monacolin K

1979 年, Endo 等^[15]在红曲菌发酵液中发现了一种能特异性地抑制胆固醇合成的物质 Monacolin K, 该物质与土曲霉(*Aspergillus terreus*)产的洛伐他汀(Lovastatin)为同一物质,是目前临床上广泛应用的降胆固醇药物之一^[16-17]。

Monacolin K 在红曲菌中生物合成途径研究较少,相对而言,土曲霉洛伐他汀合成途径研究得较多,且较为透彻^[16-17]。土曲霉洛伐他汀合成有两个 PKS 参与,即九酮合成酶(Lovastatin nonaketide synthase, LNKS)和二酮合成酶(Lovastatin diketide synthase, LDKS),基本过程如下(图 3): (1) LNKS 催化 1 分子丙二酰 CoA 依次与 9 分子乙酰 CoA 进行缩合反应,最终生成洛伐他汀的主体结构—九酮体化合物(Nonaketide) Dihydromonacolin L, 进一步经过氧化、脱水等步骤生成 Monacolin L, 再经单加氧酶催化发生羟

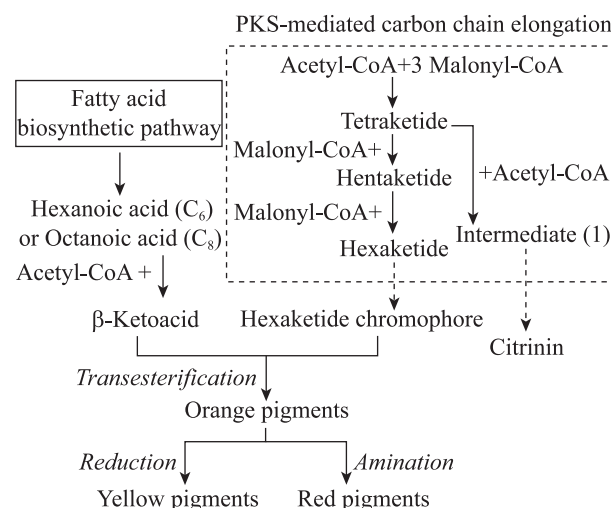


图 2 红曲色素和桔霉素可能的生物合成途径

Fig. 2 The proposed biosynthetic pathway of *Monascus* pigments and citrinin in *Monascus* spp.

注: 虚线箭头表示由多个未知反应步骤完成。

Note: Dashed arrows represented unknown reaction steps.

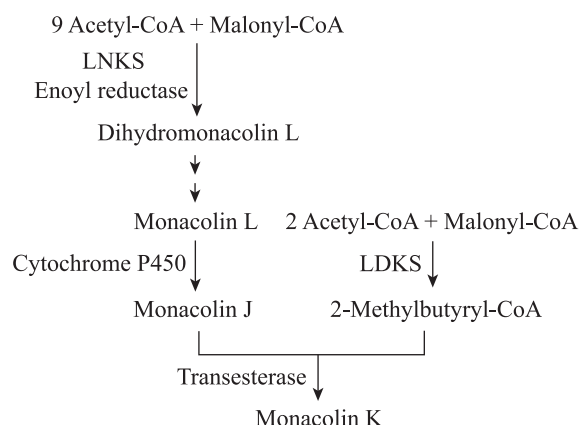


图3 Monacolin K 的生物合成途径

Fig. 3 The biosynthetic pathway of monacolin K

基化反应生成 Monacolin J; (2) LDKS 催化 1 分子丙二酰 CoA 与 2 分子乙酰 CoA 缩合, 生成甲基丁酰 CoA; (3) 在转酯酶(Transesterase)的作用下, 甲基丁酰 CoA 通过酯键连接到 Monacolin J 上, 完成洛伐他汀的合成^[16-17]。关于红曲菌 Monacolin K 的合成途径, 目前只是推测与土曲霉洛伐他汀合成途径相似。

2 红曲菌次生代谢产物合成相关基因的研究

次生代谢产物合成相关基因一般分为两类: 一类是结构基因(Structural genes), 主要是一些催化次生代谢产物合成的酶类基因; 另一类是调节基因(Regulatory genes), 主要参与调控次生代谢产物合成相关基因的转录^[18]。丝状真菌次生代谢产物生物合成基因通常成簇存在于染色体相邻的位置, 形成所谓的基因簇(Gene cluster)^[18]。在一个基因簇中, 除了多个编码酶的结构基因外, 一般还包括编码运输蛋白的基因, 负责将基因簇合成的次生代谢产物及时运出细胞; 以及编码转录因子的簇内调节基因, 调节基因簇中其他基因的转录^[19]。此外, 甲基化酶、组蛋白去乙酰化酶以及信号转导蛋白等全局性调控因子(Global regulators), 也参与调节次生代谢产物的合成, 属

于簇外调节基因^[18]。

红曲菌产生的红曲色素、Monacolin K 和桔霉素都属于聚酮类次生代谢产物, 该类物质生物合成途径中的关键酶为 PKS^[20]。由于 PKS 中存在多个保守结构域^[20], 因此, 红曲菌次生代谢产物合成相关结构基因的克隆, 基本是从 PKS 基因开始。目前, 与桔霉素和 Monacolin K 合成相关的 PKS 基因, 以及相应的基因簇已有报道。此外, 在基因簇外, 对红曲色素、Monacolin K 和桔霉素的生物合成有重要调节作用的信号转导蛋白基因也有报道。

2.1 桔霉素合成相关 PKS 基因簇

2005 年, Shimizu 等^[19]根据真菌 PKS 中 KS 和 AT 结构域保守区设计简并引物, 首次成功地从紫色红曲菌(*M. purpureus*)中克隆得到桔霉素合成相关的 PKS 基因 *pksCT*。在培养过程中 *pksCT* 的转录本随着桔霉素含量的增加而增多; *pksCT* 被敲除后, 菌株不产桔霉素, 但不影响色素产量, 由此推测紫色红曲菌中 *pksCT* 基因编码的 PKS 位于桔霉素分支代谢途径中, 参与桔霉素的生物合成, 而与色素的合成无关。

2007 年, Shimizu 等^[21]继续克隆紫色红曲菌中 *pksCT* 的侧翼 DNA 序列, 得到 21 kb 桔霉素合成相关基因簇, 除 *pksCT* 外, 还包括 5 个开放阅读框(ORF), 同源性分析推断这 5 个 ORF 分别编码醛脱氢酶(*orf1*)、Zn 指转录因子(*orf2*, *cntA*)、加氧酶(*orf3*)、氧化还原酶(*orf4*)和膜转运蛋白(*orf5*)。在桔霉素产生的过程中, 除 *orf1* 的转录本未检测到外, 其他基因均随同 *pksCT* 一起转录; 敲除 Zn 指转录因子基因 *cntA* 后, 菌株的菌落形态和色素均无明显变化, 但桔霉素显著性降低, 且该基因簇中的大部分基因, 包括 *orf3*、*orf5* 和 *pksCT*, 在 mRNA 水平上的表达量也明显减少, 推测 *cntA* 为桔霉素合成途径中主要的激活因子。2008 年, Shimizu 等^[22]用穿梭粘性载体将红曲菌

中该 *pksCT* 基因簇导入到米曲霉 (*Aspergillus oryzae*) 中, 最终使得米曲霉能产生桔霉素, 该结果进一步阐明了该基因簇与桔霉素合成的相关性。

在国内, 也有关于红曲菌 *pksCT* 和 *ctnA* 的研究报道^[23-28], 结果基本与 Shimizu 等^[19,21]的报道一致。但是, 周礼红^[23]和付桂明^[24]敲除红曲菌 *pksCT* 后, 发现桔霉素产量降低的同时, 色素却发生了不同程度的提高, 推测由于 *pksCT* 编码的 PKS 位于色素和桔霉素分支点下游的桔霉素合成途径上, 敲除 *pksCT* 后, 阻断了红曲菌桔霉素分支代谢途径, 使代谢流更多地流向红曲色素分支代谢途径, 从而导致桔霉素降低的同时, 色素产量提高。

南昌大学中德联合研究院红曲菌课题组在 Shimizu 等^[19,21]研究的基础上也对红曲菌桔霉素生物合成相关基因簇进行了研究。该课题组对橙色红曲菌基因组文库进行筛选, 对获得的克隆子进行测序分析后, 预测红曲菌中桔霉素合成基因簇长约 44 kb, 除了包含 Shimizu 等^[19,21]已报道的 6 个基因外, 还有 10 个新发现的基因, 其中, ACS (Acyl-CoA synthetase)、GMC (Glucose-methanolcholine oxidoreductase)、*ctnG*、*ctnH* 和 *orf7* 等 5 个基因的功能研究已有报道^[29-31], 但这些基因的 DNA 序列目前还没有在 NCBI 等数据库中公开。

据阮琼芳^[29]报道, ACS 基因编码的蛋白质与烟曲霉 (*A. fumigatus*) 中的酰基 CoA 合成酶高度同源, 该酶能催化脂肪酸与辅酶 A 反应生成酰基 CoA; GMC 基因编码的蛋白质与黑曲霉 (*A. niger*) 中芳香醇脱氢酶高度同源, 该酶作用于 CH-OH 官能团, 能将伯醇氧化生成醛。阮琼芳进一步构建了 ACS、GMC 的缺失突变菌株 ACS-6 和 GMC-8, 发现 ACS-6 的发酵产物中桔霉素下降了 55%, 未检测出红曲色素; GMC-8 的发酵产物中桔霉素和红曲色素均未检出。推测 ACS 与桔霉素和红曲色素合成过程中聚酮链骨架和十酰 CoA

的合成相关, GMC 与桔霉素和色素合成相关的 PKS 后修饰相关。

据吴伟^[30]报道, *ctnG* 基因编码的蛋白质与黑曲霉中的 β 型碳酸酐酶高度同源, 该酶为锌酶, 它能够催化最重要的反应是碳酸酐可逆的水合; *ctnH* 基因编码的蛋白质与费希新萨托菌 (*Neosartorya fischeri*) 中的短链脱氢酶高度同源, 该酶是一种催化氧化还原反应的酶。根据这两种酶的催化特性, 吴伟推测 *ctnG* 和 *ctnH* 也参与桔霉素的 PKS 后修饰过程。为了验证 *ctnG* 和 *ctnH* 基因与桔霉素合成的相关性, 吴伟进一步构建了 *ctnG* 和 *ctnH* 的敲除载体, 但只获得了 *ctnG* 的敲除菌株, 发现敲除菌株桔霉素产量约降低了 50%, 总色素约降低了 23%。

据邹乐花等^[31]报道, *orf7* 基因位于膜转运蛋白编码基因 *orf5* 和 *ctnG* 基因之间, 与 Shimizu 等^[21]公布的桔霉素合成基因成簇排列在 32.9 kb 的染色体 DNA 片段上, 其编码蛋白没有检索到保守区域; 敲除 *orf7* 基因后, 红曲色素的产量没有变化, 桔霉素的产量增加了 142.4%, 从而证实 *orf7* 基因与桔霉素代谢相关。

Chen 等^[32]研究了红曲菌聚酮合酶基因 *pksCT*、Zn 指转录因子基因 *ctnA* 以及加氧酶基因 *orf3* 在不同红曲菌中的分布情况, 包括 *M. purpureus*、*M. kaoliang*、*M. sanguineus*、*M. pilosus*、*M. ruber*、*M. barkeri*、*M. floridanus*、*M. lunisporas* 和 *M. pallens*, 结果发现这些基因仅存在于 *M. purpureus* 和 *M. kaoliang* 中, 并且 HPLC 检测发现只有 *M. purpureus* 和 *M. kaoliang* 能够产生桔霉素, 其他红曲菌中未检测到相关基因, 也未检测到桔霉素的产生。该结果为安全的红曲菌菌种的筛选提供了理论依据。

2.2 Monacolin K 合成相关 PKS 基因簇

1999 年, Kennedy 等^[33]报道了土曲霉洛伐他汀合成相关的基因簇, 该簇主要包括两个 PKS 基

因 *lovB* 和 *lovF*, 转酯酶基因 *lovD*, 烯酰还原酶基因 (Enoyl reductase) *lovC*, P450 单加氧酶基因 (Monooxygenase) *lovA* 和转录因子 *lovE*。

2005 年, 周礼红^[23]根据 GenBank 中公布的相关基因设计引物(引物序列未公布), 克隆得到紫色红曲菌 M34 的 *moK1* 基因, 与土曲霉 *lovB* 基因的序列相似性为 94%, 初步推定其为红曲菌 LNKS 基因; 敲除 *moK1* 后, Monacolin K 合成途径被中断, 不产 Monacolin K, 同时代谢流往色素方向累积, 色素产量提高。结合土曲霉洛伐他汀生物合成途径, 周礼红推测红曲菌中 Monacolin K 和色素、桔霉素 3 种代谢产物存在部分共用的合成途径, 有 3 种可能性, 并认为最可能的是 Monacolin K 和色素共用一个六酮体, 之后分开两条支路分别合成两种次生代谢产物。若如此, 则红曲菌 Monacolin K 的前体物质九酮体化合物的合成至少使用了 5 分子丙二酰 CoA, 而不是土曲霉中的 1 分子丙二酰 CoA, 故笔者认为该观点还需要更多数据来支持。

2008 年, Chen 等^[34]用土曲霉 *lovB* 基因片段为探针, 从丛毛红曲菌 (*M. pilosus*) 的基因组 BAC 文库中克隆得到了 42 kb 的 Monacolin K 合成相关基因簇, 包括 *mokA-mokI* 共 9 个基因, 与土曲霉洛伐他汀合成基因簇中的基因一一对应, 且组织顺序和方向完全一致。其中, *mokA* 和 *mokB* 均编码 PKS 蛋白, 分别与土曲霉 LNKS (*lovB*) 和 LDKS (*lovF*) 具有 70% 以上的相似性。敲除丛毛红曲菌的 *mokA* 或 *mokB* 后, 均检测不到 Monacolin K 的产生; 其中 *mokB* 敲除菌株能较多的积累中间产物 Monacolin J^[34-35], 从而推断 *mokB* 的功能是编码 LDKS, 负责催化二酮侧链的合成。2010 年, Chen 等^[36]继续报道了该基因簇中 Zn(II)2Cys6 型锌指蛋白基因 *lovH* 的功能鉴定结果。过表达 *lovH* 的丛毛红曲菌转化子的 Monacolin K 产量比野生型菌株高出 1.7 倍, 并且该基因簇中

Monacolin K 的合成酶基因表达量也明显升高了, 由此推测 *lovH* 正调节 Monacolin K 合成酶基因的表达, 促进 Monacolin K 的产生。

2.3 其他 PKS 基因

除以上两个基因簇外, 其他可能与色素和桔霉素的生物合成相关 PKS 也有报道。

2001 年, Perez-Campo 在 NCBI 核酸数据库中提交了一条紫色红曲菌的 PKS 基因序列, *pksI* (GenBank AJ414729.1), 该基因编码的蛋白质与真菌孢子色素合成相关的 PKS 同源性较高, 如鸟巢曲霉 (*A. nidulans*) 的 *wA*。2009 年徐民俊等^[26]用 *pksI* 替换桔霉素合成相关基因簇中的 Zn 指转录因子基因 *ctnA*, 使桔霉素的产量减少了 42%, 同时红曲色素产量提高了 33.9%。

2007 年, 魏康霞^[20]用简并引物进行 PCR 扩增获得橙色红曲菌 (*M. aurantiacus*) 的 4 个 PKS 片段, 其中 1 个片段与紫色红曲菌的 *pksI* 全完一致。进一步从 Fosmid 文库中筛选得到另外 3 个 PKS 基因的 2-3 kb 的 DNA 片段, 分别命名为 *MApks1*、*MApks3* 和 *MApks10*, 经生物信息学分析, 推测 *MApks1* 为非还原性 III 型 PKS 基因, 其编码的蛋白可能参与桔霉素的合成; *MApks3* 和 *MApks10* 为还原型 PKS 基因, 其翻译蛋白与负责催化合成 T-毒素、洛伐他汀的聚酮合酶有同源性。目前, 未见进一步功能鉴定的研究报道。

2.4 G 蛋白信号途径相关基因

G 蛋白信号途径 (G-protein signaling pathway) 是真菌中普遍存在的细胞跨膜信号转导途径, 目前已经在丝状真菌中得到广泛的研究, 主要集中在模式真菌粗糙脉孢菌 (*Neurospora crassa*) 和鸟巢曲霉, 以及动、植物病原真菌中^[37]。研究表明, G 蛋白信号途径对丝状真菌的生长、分化、致病性及真菌毒素等次生代谢产物合成有重要的调控作用^[37-40]。

2007 年, 邵彦春^[41]从红色红曲菌 M-7 的

T-DNA 插入突变库中筛选得到了 24 株菌落颜色发生显著变化的色素突变子,并用 TAIL-PCR 从编号为 805#的转化子中分离得到 1.2 kb 的 T-DNA 插入位点侧翼序列,与构巢曲霉的发育调控子 (Developmental regulator) FlbA 中 RGS (Regulator of G-protein signaling) 功能域的同源性达 84%。在此基础上,邵彦春等^[41-42]进一步采用 RACE 等技术分离到其完整的 ORF,预测该序列可能为红色红曲菌 G 蛋白 α 亚基的调控子 *mrflbA*,并通过基因敲除技术获得 *mrflbA* 缺失的突变株,发现该菌株产色素和桔霉素的能力明显减弱,几乎为白化子,由此推测该基因是一个与红曲菌产色素和桔霉素相关的调控基因,并且对色素和桔霉素的分泌起正调节作用。

此后,笔者等^[2,43-44]继续克隆了红色红曲菌 M-7 中多个 G 蛋白信号转导途径相关基因,包括 5 个 G 蛋白亚基基因 *Mga1* (Ga)、*Mga2* (Ga)、*Mga3* (Ga)、*Mgb1* (G β)和 *Mgg1* (G γ),以及腺苷酸环化酶基因 *MacA* 和蛋白激酶 A 催化亚基基因 *MpkA1*,并对这些基因进行了功能研究,发现敲除 *Mga1*、*Mgb1* 或/和 *Mgg1* 后,红曲色素和桔霉素产量均显著升高;而过表达 *Mga1*、*Mgb1* 或 *Mgg1* 后,红曲色素产量无明显变化,但桔霉素却降到出发菌株的 10%–50%。由于 G 蛋白是 G 蛋白信号转导途径中的关键组分,在信号转导过程中起着分子开关的作用,因此该研究结果进一步表明了 G 蛋白信号转导途径对红曲菌色素和桔霉素的生物合成有不同的调节作用。目前,其调节机理正在进一步研究中。

3 展望

微生物次生代谢产物基因的成簇出现是生物长期进化的结果,为相关基因的克隆与功能分析带来了极大的便利,极大地促进了微生物次生代谢产物生物合成途径的研究。自从 2005 年首次

报道紫色红曲菌合成桔霉素的聚酮合酶基因以来,关于红曲菌两种重要代谢产物桔霉素与 Monacolin K 基因簇的组成、结构与功能已经都有研究报道^[21,34]。尽管红曲色素生物合成相关基因簇还未见报道,但是,目前华中农业大学红曲菌研究课题组已经完成了红曲菌的基因组测序工作,并在红曲色素生物合成途径方面的研究已经取得突破性进展,已获得了国家自然科学基金的资助。

通过控制微生物基因簇的表达,可以调控相关产物的产生与流向,从而获得人们所需要的代谢产物。一方面,可以通过增强或减弱基因簇中调节基因的表达,从而提高有益或减少有害代谢产物产量;另一方面,将相关的基因簇重组到其他微生物宿主细胞中,利用宿主细胞安全、高效等特性,实现代谢产物异源表达。基于某些红曲菌菌株可能存在安全隐患的问题,若能将 Monacolin K 和红曲色素合成基因簇在 GRAS (Generally regarded as safe)级的真菌,如米曲霉中表达,则可构建 Monacolin K 或红曲色素的安全生产菌株,提供安全可靠的食用、药用原料。

此外,微生物次生代谢产物的产生,除了与基因型有关外,很大程度受到环境条件的影响,如碳氮源的种类、pH、温度和光照等,红曲菌也不例外^[2,45]。在将外部环境和细胞内部活动联系起来的过程中,细胞信号转导途径扮演了很重要的角色,特别是跨膜信号途径,如 G 蛋白信号转导途径^[37]。在医学上,利用受体分子和信号转导来实施药物治疗的方法已成功应用^[46],在红曲菌及其他丝状真菌中,G 蛋白信号途径对次生代谢产物合成的影响已被证实^[2,41-44]。研究红曲菌跨膜信号途径,不仅有助于理解培养条件对次生代谢产物影响的作用原理,而且可能有助于寻找某种物质,利用医学上药物治疗类似的原理,通过

特定的培养基成分人为地控制相关产物的产生与流向。

参考文献

- [1] 李钟庆, 郭芳. 红曲菌的形态与分类学[M]. 北京: 中国轻工业出版社, 2003: 1-2.
- [2] Li L, Shao YC, Li Q, et al. Identification of *Mga1*, a G-protein α -subunit gene involved in regulating citrinin and pigment production in *Monascus ruber* M7[J]. FEMS Microbiology Letters, 2010, 308(2): 108-114.
- [3] Lin YL, Wang TH, Lee MH, et al. Biologically active components and nutraceuticals in the *Monascus*-fermented rice: a review[J]. Applied Microbiology and Biotechnology, 2008, 77(5): 965-973.
- [4] Blanc PJ, Laussac JP, Le Bars J, et al. Characterization of monascidin A from *Monascus* as citrinin[J]. International Journal of Food Microbiology, 1995, 27(2/3): 201-213.
- [5] Jia XQ, Xu ZN, Zhou LP, et al. Elimination of the mycotoxin citrinin production in the industrial important strain *Monascus purpureus* SM001[J]. Metabolic Engineering, 2010, 12(1): 1-7.
- [6] Lee CL, Hung HK, Wang JJ, et al. Improving the ratio of monacolin K to citrinin production of *Monascus purpureus* NTU 568 under dioscorea medium through the mediation of pH value and ethanol addition[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2007, 55(16): 6493-6502.
- [7] Chen FS, Hu XQ. Study on red fermented rice with high concentration of monacolin K and low concentration of citrinin[J]. International Journal of Food Microbiology, 2005, 103(3): 331-337.
- [8] Wang JJ, Lee CL, Pan TM. Improvement of monacolin K, γ -aminobutyric acid and citrinin production ratio as a function of environmental conditions of *Monascus purpureus* NTU 601[J]. Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology, 2003, 30(11): 669-676.
- [9] Wang JJ, Lee CL, Pan TM. Modified mutation method for screening low citrinin-producing strains of *Monascus purpureus* on rice culture[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2004, 52(23): 6977-6982.
- [10] Campoy S, Pérez F, Martín JF, et al. Stable transformants of the azaphilone pigment-producing *Monascus purpureus* obtained by protoplast transformation and *Agrobacterium*-mediated DNA transfer[J]. Current Genetics, 2003, 43(6): 447-452.
- [11] Kim JG, Choi YD, Chang YJ, et al. Genetic transformation of *Monascus purpureus* DSM1379[J]. Biotechnology Letters, 2003, 25(18): 1509-1514.
- [12] Kurono M, Nakanishi K, Shindo K, et al. Biosyntheses of monascorubrin and monascoflavin[J]. Chemical and Pharmaceutical Bulletin, 1963, 11(3): 359-362.
- [13] Dhale MA. Physiology of *Monascus purpureus* in relation to metabolite production and application as functional food[D]. India: Doctor thesis of University of Mysore, 2007.
- [14] Hajjaj H, Kláčbá A, Loret MO, et al. Biosynthetic pathway of citrinin in the filamentous fungus *Monascus ruber* as revealed by ^{13}C nuclear magnetic resonance[J]. Applied and Environmental Microbiology, 1999, 65(1): 311-314.
- [15] Endo A. Monacolin K, a new hypocholesterolemic agent produced by a *Monascus* species[J]. The Journal of Antibiotics, 1979, 32(8): 852-854.
- [16] Manzoni M, Rollini M. Biosynthesis and biotechnological production of statins by filamentous fungi and application of these cholesterol-lowering drugs[J]. Applied Microbiology and Biotechnology, 2002, 58(5): 555-564.
- [17] Barrios-González J, Miranda RU. Biotechnological production and applications of statins[J]. Applied Microbiology and Biotechnology, 2010, 85(4): 869-883.
- [18] Fox EM, Howlett BJ. Secondary metabolism: regulation and role in fungal biology[J]. Current Opinion in Microbiology, 2008, 11(6): 481-487.
- [19] Shimizu T, Kinoshita H, Ishihara S, et al. Polyketide synthase gene responsible for citrinin

- biosynthesis in *Monascus purpureus*[J]. Applied and Environmental Microbiology, 2005, 71(7): 3453–3457.
- [20] 魏康霞. 橙色红曲菌聚酮合酶基因的克隆[D]. 南昌: 南昌大学硕士学位论文, 2007.
- [21] Shimizu T, Kinoshita H, Nihira T. Identification and in vivo functional analysis by gene disruption of *ctnA*, an activator gene involved in citrinin biosynthesis in *Monascus purpureus*[J]. Applied and Environmental Microbiology, 2007, 73(16): 5097–5103.
- [22] Sakai K, Kinoshita H, Shimizu T, et al. Construction of a citrinin gene cluster expression system in heterologous *Aspergillus oryzae*[J]. Journal of Bioscience and Bioengineering, 2008, 106(5): 466–472.
- [23] 周礼红. 红曲霉遗传转化系统及桔霉素、Monacolin K 生物合成相关 PKS 基因的克隆与功能鉴定[D]. 无锡: 江南大学博士学位论文, 2005.
- [24] 付桂明. 橙色红曲菌 *pksCT* gene 的敲除和长同源臂置换型打靶载体的构建[D]. 南昌: 南昌大学博士学位论文, 2007.
- [25] 万成. 红曲菌 M22 *pksCT* 基因缺失株的构建[D]. 南昌: 南昌大学硕士学位论文, 2009.
- [26] Xu MJ, Yang ZL, Liang ZZ, et al. Construction of a *Monascus purpureus* mutant showing lower citrinin and higher pigment production by replacement of *ctnA* with *pksI* without using vector and resistance gene[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2009, 57(20): 9764–9768.
- [27] Jia XQ, Xu ZN, Zhou LP, et al. Elimination of the mycotoxin citrinin production in the industrial important strain *Monascus purpureus* SM001[J]. Metabolic Engineering, 2010, 12(1): 1–7.
- [28] 赵秀芹. 福建色素红曲去桔霉素毒素的菌种改造[D]. 福建: 福建师范大学硕士学位论文, 2011.
- [29] 阮琼芳. 橙色红曲菌 *ACS* 基因和 *GMC* 基因缺失菌株的构建及其功能分析[D]. 南昌: 南昌大学硕士学位论文, 2007.
- [30] 吴伟. 橙色红曲菌 *ctnG* 基因和 *ctnH* 基因缺失菌株的构建及其功能分析[D]. 南昌: 南昌大学硕士学位论文, 2010.
- [31] 邹乐花, 李燕萍, 黄志兵, 等. 橙色红曲菌 As3.4384 *orf7* 基因缺失株的构建及其功能分析[J]. 中国生物工程杂志, 2011, 31(7): 79–84.
- [32] Chen YP, Tseng CP, Chien IL, et al. Exploring the distribution of citrinin biosynthesis related genes among *Monascus* species[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2008, 56(24): 11767–11772.
- [33] Kennedy J, Auclair K, Kendrew SG, et al. Modulation of polyketide synthase activity by accessory proteins during lovastatin biosynthesis[J]. Science, 1999, 284(5418): 1368–1372.
- [34] Chen YP, Tseng CP, Liaw LL, et al. Cloning and characterization of monacolin K biosynthetic gene cluster from *Monascus pilosus*[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2008, 56(14): 5639–5646.
- [35] Sakai K, Kinoshita H, Nihira T. Identification of *mokB* involved in monacolin K biosynthesis in *Monascus pilosus*[J]. Biotechnology Letters, 2009, 31(12): 1911–1916.
- [36] Chen YP, Yuan GF, Hsieh SY, et al. Identification of the *mokH* gene encoding transcription factor for the upregulation of monacolin K biosynthesis in *Monascus pilosus*[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2010, 58(1): 287–293.
- [37] Li L, Wright SJ, Krystofova S, et al. Heterotrimeric G protein signaling in filamentous fungi[J]. Annual Review of Microbiology, 2007, 61: 423–452.
- [38] Yu JH. Heterotrimeric G protein signaling and RGSs in *Aspergillus nidulans*[J]. Journal of Microbiology, 2006, 44(2): 145–154.
- [39] Lengeler KB, Davidson RC, D'Souza C, et al. Signal transduction cascades regulating fungal development and virulence[J]. Microbiology and Molecular Biology Reviews, 2000, 64(4): 746–785.
- [40] Bolker M. Sex and crime: heterotrimeric G proteins in fungal mating and pathogenesis[J]. Fungal Genetics and Biology, 1998, 25(3): 143–156.
- [41] 邵彦春. 红曲霉产色素相关基因的克隆及功能研究[D]. 武汉: 华中农业大学博士学位论文, 2007.

- [42] Yang YS, Li L, Li X, et al. *mrf1bA*, encoding a putative FlbA, is involved in aerial hyphal development and secondary metabolite production in *Monascus ruber* M-7[J]. Fungal Biology, 2012, 116(2): 225–233.
- [43] 李利. 红色红曲菌 G 蛋白信号途径相关基因的克隆及功能研究[D]. 武汉: 华中农业大学博士学位论文, 2011.
- [44] 贺璐. 红色红曲菌 G 蛋白 β 与 γ 亚基基因功能的初步研究[D]. 武汉: 华中农业大学硕士学位论文, 2011.
- [45] Calvo AM, Wilson RA, Bok JW, et al. Relationship between secondary metabolism and fungal development[J]. Microbiology and Molecular Biology Reviews, 2002, 66(3): 447–459.
- [46] 王勃, 苏瑞斌. 药物作用和治疗新进展: G 蛋白偶联受体及信号转导相关新概念[J]. 国外医学药学分册, 2005, 32(1): 49–52.

稿件书写规范

高校教改纵横栏目简介及撰稿要求

“高校教改纵横”栏目, 是中国微生物学会主办的科技期刊中唯一的教学类栏目, 也是中国自然科学核心期刊中为数不多的教学栏目。该栏目专为微生物学及其相关学科领域高校教师开辟, 一方面为高校微生物学科的教师提供一个发表论文的平台, 同时微生物关联学科的一部分确实优秀的论文也可以在此发表, 是微生物学及相关领域教学研究、交流、提高的园地。

本栏目的文章有别于其他实验类研究报告, 特色非常鲜明。要求作者来自教学第一线, 撰写的稿件内容必须要有新意、要实用, 不是泛泛地叙述教学设计与过程, 而是确实有感而发, 是教学工作中的创新体会, 或者在教学中碰到的值得商榷的、可以与同行讨论的有价值的论题。在内容选材上应该有鲜明的特点和针对性, 做到主题明确、重点突出、层次分明、语言流畅。教师的教学思路应与时俱进, 注意将国内外新的科技成果和教学理念贯穿到教学之中, 只有这样才能真正起到教与学的互动, 促进高校生物学教学的发展, 更多更好地培养出国家需要的高科技创新人才。这也是本栏目的目的所在。

同时, 为了给全国生物学领域的教学工作者提供一个更广阔更高层次的交流平台, 本栏目还开辟了“名课讲堂”版块, 邀约相关生命科学领域, 如微生物学、分子生物学、生物医学、传染病学、环境科学等的教学名师、知名科学家就教学和学生培养发表观点, 推荐在教学改革、教学研究、引进先进教学手段或模式以及学生能力培养等方面有突出成绩的优秀论文, 为高校教师以及硕士、博士研究生导师提供一个可资交流和学习平台, 促进高校教学和人才培养水平的提高。

欢迎投稿! 欢迎对本栏目多提宝贵意见!