

# MIG1 基因和葡萄糖对扣囊复膜孢酵母细胞形态变化的影响及机理探究

王东升 田晓娟 黄江丽 黄黄 张国华 丁建南\*

(江西省科学院 生物资源研究所 江西 南昌 330096)

**摘要:**【目的】研究 *MIG1* 基因和葡萄糖对扣囊复膜孢酵母细胞形态变化的影响及其机理探究。【方法】扣囊复膜孢酵母在不同浓度葡萄糖的 YPD 培养基中培养, 敲除 *MIG1* 基因菌株在常规 YPD 培养基中培养, 研究细胞内葡聚糖酶和几丁质酶活性以及细胞壁  $\beta$ -葡聚糖和几丁质含量与细胞形态变化之间的关系。【结果】培养基中葡萄糖浓度越低, 扣囊复膜孢酵母菌丝体越少, 单细胞酵母越多, 且葡聚糖酶和几丁质酶活性越高,  $\beta$ -葡聚糖和几丁质含量越低; 葡萄糖浓度对敲除 *MIG1* 基因菌株没有显著影响, 葡聚糖酶和几丁质酶活性始终保持在较高水平,  $\beta$ -葡聚糖和几丁质含量也较低, 菌体多以单细胞酵母形式存在。【结论】*MIG1* 基因和葡萄糖通过葡萄糖阻遏作用调节葡聚糖酶和几丁质酶活性, 进而影响细胞壁的葡聚糖和几丁质含量, 最终影响扣囊复膜孢酵母细胞的形态变化。

**关键词:** 扣囊复膜孢酵母菌, 葡萄糖阻遏, *MIG1* 基因, 菌体形态

## Effects of *MIG1* gene and glucose on cell morphology of *Saccharomycopsis fibuligera* and mechanism exploration

WANG Dong-Sheng TIAN Xiao-Juan HUANG Jiang-Li HUANG Huang  
ZHANG Guo-Hua DING Jian-Nan\*

(Institute of Biological Resources, Jiangxi Academy of Sciences, Nanchang, Jiangxi 330096, China)

**Abstract:** [Objective] It was studied that the effects of *MIG1* gene and glucose on cell morphology of *Saccharomycopsis fibuligera* and the mechanism exploration. [Methods] *S. fibuligera* was cultured in YPD mediums with different concentrations of glucose and *MIG1* gene knockout strain was in YPD medium. We studied the relationship between intracellular glucanase and chitinase activities and cell wall glucan and chitin contents and cell morphological changes. [Results] When the concentration of glucose in the media was lower, the mycelium of *S. fibuligera* decreased, single-cell yeast increased, glucanase and chitinase activities increased, and then glucan and chitin contents in cell walls reduced. The concentration of glucose had no significant effect on *MIG1* gene knockout strain: glucanase and chitinase activities of *MIG1* gene knockout strain were remained at a

基金项目: 国家自然科学基金项目(No. 31260556); 江西省科技支撑项目(No. 20132BBF60076); 江西省科学院博士基金项目(No. 2011yyb05); 国家科技支撑计划课题项目(No. 2012BAD39B05-4)

\*通讯作者: Tel: 86-791-88175720; Fax: 86-791-88175837; 邮箱: w\_d\_sh@126.com

收稿日期: 2013-11-11; 接受日期: 2014-03-11; 优先数字出版日期(www.cnki.net): 2014-03-17

high level, glucan and chitin contents in cell walls was also lower, and most of cells existed as the form of single-cell yeast. **[Conclusion]** *MIG1* gene and glucose by multicopy inhibitor of glucose regulated glucanase and chitinase activities which affected glucan and chitin contents in cell walls, so that the cell morphology of *S. fibuligera* changed.

**Keywords:** *Saccharomycopsis fibuligera*, Multicopy inhibitor of glucose, *MIG1* gene, Cell morphology

近年来,对扣囊复膜孢酵母菌的研究越来越受到重视,它不仅能合成并积累海藻糖,还能分泌多种酶类,在发酵工业中有着广泛的应用。前期研究发现,扣囊复膜孢酵母菌具有葡萄糖阻遏(Multicopy inhibitor of glucose, MIG)现象,即当培养基含葡萄糖或果糖时,由酶催化的其它碳源降解的生物反应将大大减少甚至停止<sup>[1]</sup>。参与葡萄糖阻遏作用的主要蛋白是由 *MIG1* 基因表达的 C<sub>2</sub>H<sub>2</sub> 锌指蛋白质 Mig1<sup>[2]</sup>,其作用方式如下:当在培养基中葡萄糖的浓度非常低或没有葡萄糖时,Snf1 蛋白激酶因被磷酸化而激活,进而催化 Mig1 磷酸化,磷酸化的 Mig1 不能再与葡萄糖阻遏基因的启动子结合,由细胞核转移到细胞质,致使抑制基因的转录被激活;当培养基中葡萄糖浓度非常高时,Snf1 蛋白激酶去磷酸化后,失去活性, Mig1 也不能被磷酸化,它就能进入细胞核与葡萄糖阻遏基因的启动子结合,使基因表达受到抑制<sup>[3]</sup>。

关于 Mig1 的研究有很多, Liu 等<sup>[4]</sup>报道, Mig1 在扣囊复膜孢酵母中至少参与了  $\alpha$ -淀粉酶、葡萄糖淀粉酶、酸性蛋白酶和  $\beta$ -葡萄糖苷酶的调控; Wang 等<sup>[5]</sup>发现, Mig1 参与了耶罗维亚酵母脂类的生物合成调节,而没有关于参与葡聚糖酶和几丁质酶调控的报道。几丁质酶和葡聚糖酶已被证实是大多数真菌(酵母)细胞壁的水解酶,它们对真菌的单细胞状和丝状之间的形态变化有调节作用,参与维持细胞壁可塑性<sup>[6]</sup>。几丁质酶和葡聚糖酶都属于碳源降解酶,它们是否受 Mig1 调控,葡萄糖阻遏是否通过调节几丁质酶和葡聚糖酶活性来调控扣囊复膜孢酵母的菌丝体和单细胞酵母两种形态之间的变化,这些是本研究的主要内容。研究真菌(酵母)的单细胞和菌丝两种形态变化的调控机理,有

助于全面认识真菌(酵母)细胞壁合成与降解的调控机理。

## 1 材料与方法

### 1.1 菌种

扣囊复膜孢酵母(*Saccharomycopsis fibuligera*), 菌种编号为 2.1553, 购自中国普通微生物菌种保藏管理中心; 敲除 *MIG1* 基因的扣囊复膜孢酵母 2.15531, *MIG1* 基因敲除方法见 Liu 等<sup>[4]</sup>。

### 1.2 培养基

YPD 液体培养基(g/L): 葡萄糖 20, 酵母提取物 10, 蛋白胨 20, 蒸馏水 1 L, 0.6 $\times$ 10<sup>5</sup> Pa 灭菌 30 min。

YPD 固体培养基: 在液体 YPD 培养基中加入 2.0%的琼脂。

不同葡萄糖浓度的 YPD 液体培养基: 葡萄糖梯度为 2.00%、1.00%、0.50%、0.25%和 0, 其它成分不变。

### 1.3 菌体培养

未敲除 *MIG1* 基因菌株和敲除 *MIG1* 基因菌株接种在固体 YPD 培养基上活化, 在 26 °C 下培养 48 h, 挑取单菌落接种于 5 mL 液体 YPD 的试管中, 在 26 °C 和 160 r/min 下振荡培养。当菌体 OD<sub>600</sub> 值达到 2 时, 取 1 mL 接种到 50 mL 液体 YPD 的三角瓶中振荡培养。未敲除 *MIG1* 基因菌株接种到葡萄糖分别为 2.00%、1.00%、0.50%、0.25%和 0 的培养基中, 敲除 *MIG1* 基因菌株只接种到 2%葡萄糖的培养基中。

### 1.4 培养基中剩余葡萄糖含量的测定

菌体在培养过程中, 分别在 8、16、24、32、40、48 和 56 h 取菌液, 在 4 °C、8 000 $\times$ g 离心 10 min, 获得的上清经适当的稀释, 用 Nelson-Somogyi 方

法测定葡萄糖的含量。

### 1.5 菌体形态观察

菌体培养 56 h 后, 取酵母菌悬液进行适当稀释, 在 Leica DM750 显微镜下观察菌体细胞形态, 并拍照。

### 1.6 $\beta$ -1,3-葡聚糖酶活性的测定

细胞干重的测定: 取 10 mL 菌液, 在  $8\,000\times g$ 、 $4\text{ }^{\circ}\text{C}$  离心 10 min 收集菌体, 菌体用冰冻  $\text{dH}_2\text{O}$  洗涤 3 次。菌体在  $100\text{ }^{\circ}\text{C}$  烘干至恒重, 即为细胞干重。

$\beta$ -1,3-葡聚糖酶活性测定参照 Martín-Cuadrado<sup>[7]</sup> 等的方法, 有改进。10 mL 菌液在  $8\,000\times g$  和  $4\text{ }^{\circ}\text{C}$  下离心 10 min, 获得菌体, 液氮研磨, 用 0.1 mol/L 乙酸-乙酸钠缓冲溶液(pH 5.5)抽提蛋白质, 制成  $\beta$ -1,3-葡聚糖酶粗酶液。0.25 g 底物昆布多糖溶于 2 mL 无水乙醇, 加 20 mL 蒸馏水混合 15 min, 再在沸水中煮 5 min, 自然冷却后, 加入 2.5 mL 1 mol/L 醋酸缓冲液(pH 5.5), 最后用蒸馏水定容到 25 mL; 在  $37\text{ }^{\circ}\text{C}$  下, 温孵的 100  $\mu\text{L}$   $\beta$ -1,3-葡聚糖酶粗酶液和 400  $\mu\text{L}$  底物溶液反应 30 min, 然后, 在沸水中煮 10 min 终止反应。用 Nelson-Somogyi 方法测定释放还原糖的量。一个  $\beta$ -1,3-葡聚糖酶活力单位(U)定义为: 在上述反应条件下, 每小时产生 1  $\mu\text{mol}$  还原糖所需的酶量。 $\beta$ -1,3-葡聚糖酶比活力表示为每毫克细胞干重所具有的酶活力单位数。

### 1.7 细胞壁 $\beta$ -葡聚糖含量的测定

细胞壁的制备方法: 10 mL 培养 56 h 的扣囊复膜孢酵母培养物  $8\,000\times g$  离心 5 min, 收集菌体, 液氮研磨破碎菌体细胞, 用 1 mol/L 的 NaCl 洗涤 5 次, 然后, 在  $100\text{ }^{\circ}\text{C}$  下用 SDS-MerOH 缓冲液(50 mmol/L Tris, 2.0% SDS, 0.3 mol/L  $\beta$ -巯基乙醇, 1.0 mmol/L EDTA; pH 8.0)抽提 10 min, 最后用  $\text{dH}_2\text{O}$  洗涤和悬浮细胞壁碎片, 冻干备用。

细胞壁  $\beta$ -葡聚糖酶活性测定参照李仁勇等<sup>[8]</sup> 的方法。

### 1.8 几丁质酶活性的测定

几丁质酶活性测定参照张海涛等<sup>[9]</sup> 的方法, 有

改动。10 mL 菌液在  $8\,000\times g$  和  $4\text{ }^{\circ}\text{C}$  下离心 10 min, 获得菌体液氮研磨, 用 0.1 mol/L 磷酸缓冲液(pH 6.0)抽提蛋白质, 制成几丁质酶粗酶液。1 mL 粗酶液加入 1 mL  $\text{dH}_2\text{O}$  和 1 mL 1%的胶体几丁质, 在  $50\text{ }^{\circ}\text{C}$  水浴中温孵 1 h 后立即转入  $100\text{ }^{\circ}\text{C}$  沸水煮 10 min 以中止反应。用 DNS 方法测定释放 N-乙酰氨基葡萄糖的量。一个几丁质酶活力单位(U)定义为: 在上述反应条件下, 每小时产生 1  $\mu\text{mol}$  N-乙酰氨基葡萄糖所需酶量。几丁质酶比活力表示为每毫克细胞干重所具有的酶活力单位数。

### 1.9 细胞壁几丁质含量的测定

培养 56 h 的扣囊复膜孢酵母菌细胞壁几丁质含量的测定通过测定纯化的细胞壁被酸水解后所释放的葡萄糖胺<sup>[10]</sup>。

## 2 结果与分析

### 2.1 培养基中葡萄糖含量的变化

扣囊复膜孢酵母在不同浓度葡萄糖的 YPD 培养基中培养, 培养基中葡萄糖含量的变化如图 1 所示。在 2%葡萄糖的培养基中, 未敲除 *MIG1* 基

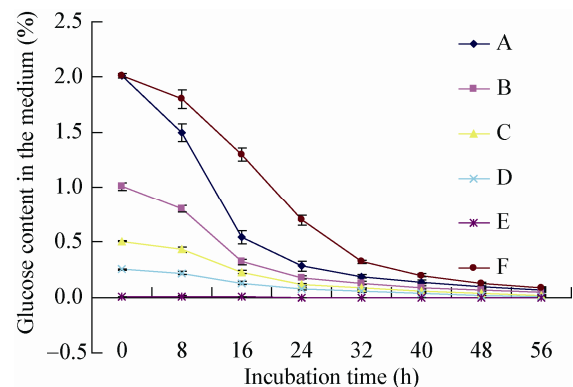


图 1 培养基中葡萄糖含量的变化

Figure 1 Change of glucose content in the medium

注: 1: A-F: 分别为 2.00%、1.00%、0.50%、0.25%、0 和 2.00% 的葡萄糖; 2: A-E: *S. fibuligera*; F: 敲除 *MIG1* 基因的 *S. fibuligera*。

Note: 1: A-F were 2%, 1%, 0.5%, 0.25%, 0% and 2% glucose, respectively; 2: A-E: *S. fibuligera*; F: *S. fibuligera* of *MIG1* gene knock-out.

因菌株对葡萄糖消耗速率较大,培养 16 h 就消耗了近 75%,而敲除 *MIG1* 基因菌株对葡萄糖消耗速率就小的多,培养 16 h 只消耗了约 35%,这应该是扣囊复膜孢酵母菌 *MIG1* 基因被敲除后,细胞的生理代谢机能受到一定损伤,不能像原始菌株一样对葡萄糖进行正常代谢。未敲除 *MIG1* 基因菌株在葡萄糖初始含量较低的培养基中培养时,菌体也一直处在葡萄糖剩余量相对较低的培养基中生长,这种不同与菌体细胞形态不同相对应。

## 2.2 菌体形态观察结果

扣囊复膜孢酵母在葡萄糖浓度不同的 YPD 培养基中培养 56 h 时,细胞形态如图 2 所示。未敲除 *MIG1* 基因菌株细胞随着培养基中葡萄糖含量的降低而出现规律性的变化,菌丝体逐渐减少,游离单细胞酵母逐渐增多:在 2.00%葡萄糖培养基中,细胞以菌丝体形式存在;在 0.25%葡萄糖培养基中,细胞多以单细胞酵母形式存在(图 2D);在 0 葡萄糖培养基中,细胞只以单细胞酵母形式存在(图 2E)。敲除 *MIG1* 基因菌株在 2.00%葡萄糖的培养基中细胞形态(图 2F)和未敲除 *MIG1* 基因菌株在

0.25%葡萄糖的培养基中细胞形态相似。可见,敲除 *MIG1* 基因(图 2F)和低浓度葡萄糖(如 0.25%葡萄糖,图 2D)对扣囊复膜孢酵母细胞形态的影响相似;葡萄糖和 *MIG1* 基因对扣囊复膜孢酵母细胞形态变化的作用可能存在某种联系。

## 2.3 $\beta$ -1,3-葡聚糖酶活性的变化

如图 3 所示,在培养过程中,未敲除 *MIG1* 基因菌株的葡聚糖酶活性随着培养时间的延长逐渐升高,这与培养基中葡萄糖含量的逐渐降低呈负相关:未敲除 *MIG1* 基因菌株在葡萄糖为 2.00%、1.00%、0.50%、0.25%和 0 的培养基中培养 56 h 时,其葡聚糖酶活性分别是 0.186、0.211、0.254、0.287 和 0.326 U/mg 细胞干重。而敲除 *MIG1* 基因菌株的葡聚糖酶活性为 0.309 U/mg 细胞干重,与培养基中的葡萄糖含量无显著关系。可见,扣囊复膜孢酵母细胞内葡聚糖酶活性基本保持不变是 *MIG1* 基因被敲除的结果。

## 2.4 细胞壁 $\beta$ -葡聚糖含量的变化

扣囊复膜孢酵母细胞壁  $\beta$ -葡聚糖含量的变化如图 4 所示。在葡萄糖初始含量为 2.00%、1.50%、

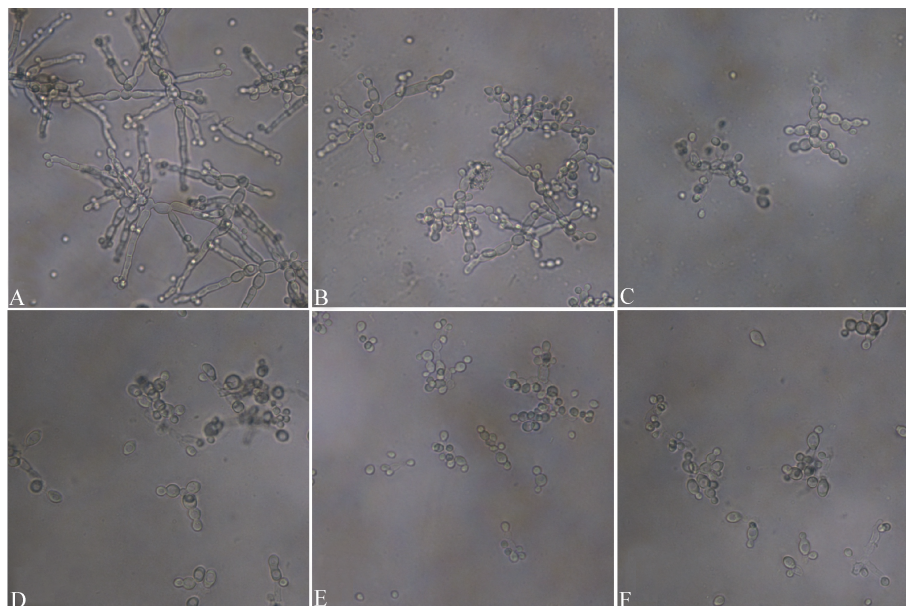


图 2 扣囊复膜孢酵母细胞形态(10×40)

Figure 2 Cell morphology of *S. fibuligera* (10×40)

注: A-E 和 F 所表示的与图 1 相同。

Note: A-E and F represent the same as Figure 1.



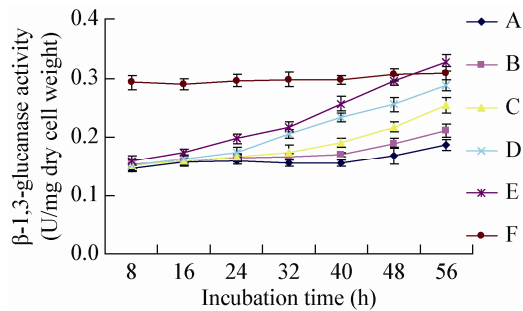


图3 β-1,3-葡聚糖酶活性

Figure 3 β-1,3-glucanase activity

注: A-E 和 F 所表示的与图 1 相同。

Note: A-E and F represent the same as Figure 1.

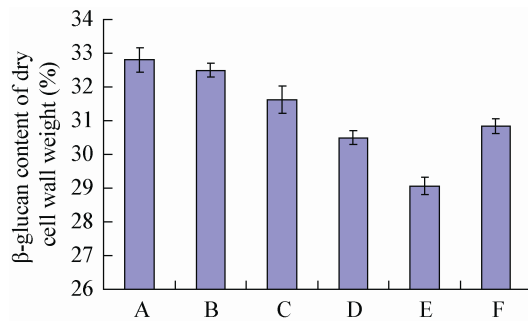


图4 细胞壁 β-葡聚糖含量

Figure 4 β-glucan content of dry cell wall weight

注: A-E 和 F 所表示的与图 1 相同。

Note: A-E and F represent the same as Figure 1.

0.50%、0.25%和 0 的培养基中,未敲除 *MIG1* 基因菌株细胞壁的 β-葡聚糖含量分别为 32.80%、32.50%、31.63%、30.50%和 29.06%;在 2.00%葡萄糖的培养基中,敲除 *MIG1* 基因菌株细胞壁的 β-葡聚糖含量为 30.93%。结合图 3 可以看出,细胞壁 β-葡聚糖含量与 β-葡聚糖酶活性相对应:当细胞内 β-葡聚糖酶活性高时,β-葡聚糖含量就相应的低。所以,推测细胞壁 β-葡聚糖含量的下降是由于 β-葡聚糖酶活性升高而加速了细胞壁 β-葡聚糖降解的原因。敲除 *MIG1* 基因菌株的 β-葡聚糖酶活性很高,但细胞壁 β-葡聚糖含量不很低,这应该是其培养基中葡萄糖多,导致 β-葡聚糖合成量多的原因。

## 2.5 几丁质酶活性变化

如图 5 所示,未敲除 *MIG1* 基因菌株几丁质酶

活性随着培养基中葡萄糖含量降低而逐渐升高,当培养基中葡萄糖初始含量为 2.00%、1.50%、0.50%、0.25%和 0 时,培养 56 h 后,几丁质酶活性分别为 0.033、0.052、0.083、0.105 和 0.115 U/mg 细胞干重;敲除 *MIG1* 基因菌株在 2.00%葡萄糖的培养基中几丁质酶活性达到 0.127 U/mg 细胞干重,且在培养过程中几丁质酶活性不随葡萄糖消耗而出现显著变化。可见,扣膜复囊孢酵母因为敲除了 *MIG1* 基因而失去了对几丁质酶的调节。

## 2.6 细胞壁几丁质含量的变化

扣囊复膜孢酵母细胞壁几丁质含量的变化如图 6 所示。当培养基中葡萄糖初始含量为 2.00%、1.50%、0.50%、0.25%和 0 时,菌体未敲除 *MIG1*

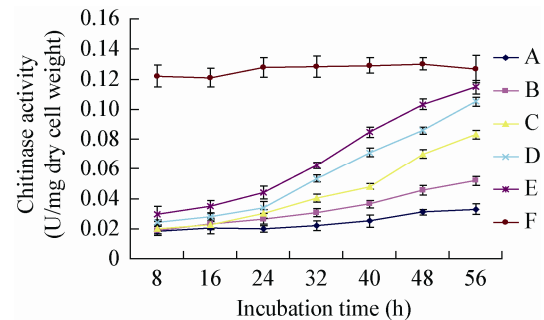


图5 几丁质酶活性

Figure 5 Chitinase activity

注: A-E 和 F 所表示的与图 1 相同。

Note: A-E and F represent the same as Figure 1.

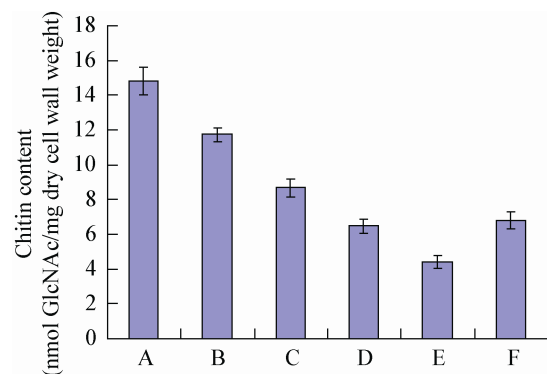


图6 细胞壁几丁质含量

Figure 6 Cell wall chitin content

注: A-E 和 F 所表示的与图 1 相同。

Note: A-E and F represent the same as Figure 1.

基因菌株细胞壁几丁质含量分别为 14.83、11.73、8.67、6.47 和 4.40 nmol/mg 细胞壁干重；敲除 *MIG1* 基因菌株在 2.00% 葡萄糖的培养基中培养时，细胞壁几丁质含量为 6.80 nmol/mg 细胞壁干重。结合图 5 和 6 可以看出，未敲除 *MIG1* 基因菌株在培养过程中，随着培养基中葡萄糖含量的降低，几丁质酶活性逐渐升高，而细胞壁几丁质含量则不断下降。因此，可以认为细胞壁几丁质含量的下降是由于几丁质酶活性升高而加速了细胞壁几丁质降解的原故。

### 3 讨论

一些酵母菌细胞具有二型性，即菌丝体和单细胞酵母，能引起细胞二型性转变的因素很多，张晓云等<sup>[11]</sup>发现，脯氨酸可使热带假丝酵母由多细胞形态向单细胞形态转变，另外，培养温度、接种量也会对细胞形态产生影响。可见，引起酵母菌细胞形态变化因素有多种。

扣囊复膜孢酵母菌就有二型性菌体细胞。本研究表明，当培养基中葡萄糖含量低的时候，扣囊复膜孢酵母就由菌丝体向单细胞酵母转变，这个过程涉及到菌体细胞的分离。菌丝体相连两细胞之间存在原生隔壁和次生隔壁，几丁质酶和葡聚糖酶对原生隔壁和次生隔壁的水解起主要作用<sup>[6]</sup>，这与本研究结果相吻合。如图 2、3 和 5 所示，当扣囊复膜孢酵母为菌丝体时，几丁质酶和葡聚糖酶活性相对较低，当扣囊复膜孢酵母为单细胞酵母时，几丁质酶和葡聚糖酶活性相对较高。Martín-Cuadrado 等<sup>[7]</sup>发现，*Sz. Pombe* 编码  $\beta$ -1,3-葡聚糖内切酶基因的缺失，使  $\beta$ -1,3-葡聚糖的原生隔壁未能降解而形成菌丝；Dekker 等<sup>[12]</sup>发现， $\alpha$ -1,3-葡聚糖酶水解隔壁周围的  $\alpha$ -1,3-葡聚糖，促进细胞分离，而 García 等<sup>[13]</sup>发现，*agn*<sup>1+</sup> 基因的敲除不影响细胞的分离；Henry 等<sup>[14]</sup>也发现，*Aspergillus fumigatus* 的  $\alpha$ -1,3-葡聚糖酶基因缺失后，细胞壁不含  $\alpha$ -1,3-葡聚糖，但不影响菌丝体生长，这是因为细胞壁获得  $\beta$ -1,3-葡聚糖和几丁质的补偿。*C. albicans* 在以单细胞酵

母生长时，可分解几丁质的 *CHT2* 和 *CHT3* 基因转录水平比丝状体生长时要高得多<sup>[6]</sup>。在真菌(酵母)的隔壁降解所致细胞分离的过程中， $\beta$ -1,3-葡聚糖酶和几丁质酶起主导作用，在有的真菌中  $\alpha$ -1,3-葡聚糖酶对细胞的分离也起促进作用。

由图 2A、2E、4 和 6 可以看出，当扣囊复膜孢酵母为菌丝体时，细胞形态相对较长，这是由于此时的细胞壁葡聚糖和几丁质含量高，细胞壁可塑性强的缘故；然而，当扣囊复膜孢酵母为单细胞酵母时，细胞几乎呈圆形，这是由于此时的细胞壁葡聚糖和几丁质含量低，细胞壁可塑性弱的缘故，这种解释正好符合本实验对细胞壁葡聚糖和几丁质含量的测定结果。

在扣囊复膜孢酵母培养基的葡萄糖消耗、葡萄糖阻遏解除过程中，葡聚糖酶和几丁质酶活性的增加，加速了细胞壁葡聚糖和几丁质的水解，促进了细胞分离和单细胞形成。当敲除 *MIG1* 基因后，无论培养基中葡萄糖含量高或低，几丁质酶和葡聚糖酶活性都保持较高水平，细胞壁葡聚糖和几丁质得到更多的水解，致使菌体多以单细胞酵母形态存在，又由于 *Mig1* 是葡萄糖阻遏系统中已知的关键因子之一，所以得出结论，*MIG1* 基因和葡萄糖通过葡萄糖阻遏作用对扣囊复膜孢酵母细胞形态变化起调节作用，主要是通过调节葡聚糖酶和几丁质酶的活性以改变细胞壁的葡聚糖和几丁质含量来完成的。

一般认为大多数葡萄糖阻遏系统都涉及 mRNA 和蛋白质 2 个水平平行减少<sup>[3]</sup>。本文在 *MIG1* 基因和葡萄糖对扣囊复膜孢酵母细胞形态变化调节中，虽然没有直接数据证明是在转录水平还是在蛋白质水平起作用，但是根据 Gancedo 提出的 *Mig1* 的作用方式<sup>[3]</sup>，可以做出以下推断(图 7)：当培养基中葡萄糖的浓度非常低或没有时，Snf1 蛋白激酶因被磷酸化而激活，进而催化 *Mig1* 磷酸化，磷酸化的 *Mig1* 不能再与葡聚糖酶和几丁质酶基因的启动子结合，由细胞核转移到细胞质，致使受抑制的葡聚糖酶和几丁质酶基因的转录被激活，

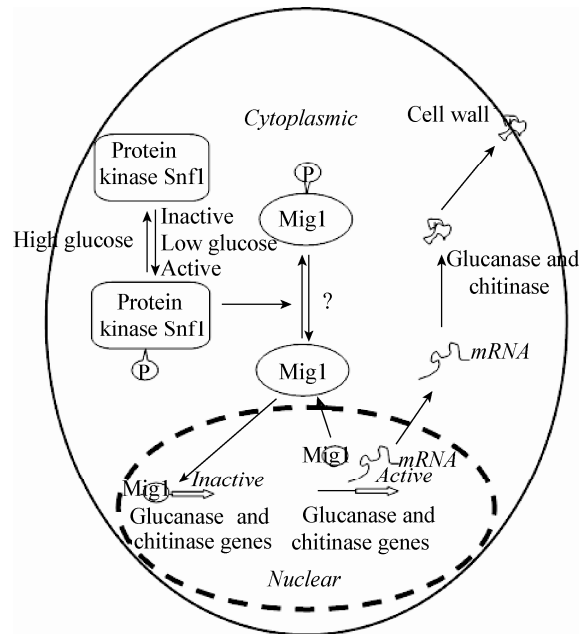


图7 *MIG1* 基因和葡萄糖对扣囊复膜孢酵母细胞形态变化的作用方式

Figure 7 Mode of action of *MIG1* gene and glucose on cell morphological changes of *S. fibuligera*

mRNA 进入细胞质, 翻译成葡聚糖酶和几丁质酶, 降解细胞壁的葡聚糖和几丁质, 促进细胞分离; 当培养基中葡萄糖浓度高时, Snf1 蛋白激酶去磷酸化而失活, Mig1 不能被磷酸化, 它就能进入细胞核与葡聚糖酶和几丁质酶基因的启动子结合, 抑制它们表达。

## 参考文献

[1] Carlson M. Regulation of sugar utilization in *Saccharomyces* species[J]. Journal of Bacteriology, 1987, 169(11): 4873-4877.

[2] Lundin M, Nehlin JO, Ronne H. Importance of a flanking AT-rich region in target site recognition by the GC box-binding zinc finger protein *MIG1*[J]. Molecular and Cellular Biology, 1994, 14(3): 1979-1985.

[3] Gancedo JM. Yeast carbon catabolite repression[J]. Microbiology and Molecular Biology Reviews, 1998, 62: 334-361.

[4] Liu GL, Wang DS, Wang LF, et al. Mig1 is involved in mycelial formation and expression of the genes encoding extracellular enzymes in *Saccharomycopsis fibuligera* A11[J]. Fungal Genetics and Biology, 2011, 48(9): 904-913.

[5] Wang ZP, Xu HM, Wang GY, et al. Disruption of the *MIG1* gene enhances lipid biosynthesis in the oleaginous yeast *Yarrowia lipolytica* ACA-DC 50109[J]. Biochimica et Biophysica Acta, 2013, 1831(4): 675-682.

[6] Adams DJ. Fungal cell wall chitinases and glucanases[J]. Microbiology, 2004, 150(Pt 7): 2029-2035.

[7] Martín-Cuadrado AB, Dueñas E, Sipiczki M, et al. The endo- $\beta$ -1,3-glucanase eng1p is required for dissolution of the primary septum during cell separation in *Schizosaccharomyces pombe*[J]. Journal of Cell Science, 2003, 116(9): 1689-1698.

[8] 李仁勇, 梁立娜, 牟世芬, 等. 离子色谱-脉冲安培检测法测定酵母细胞壁中  $\beta$ -葡聚糖和甘露寡糖[J]. 食品与发酵工业, 2008, 34(12): 147-151.

[9] 张海涛, 王婷, 田囡, 等. 几丁质酶产生菌筛选鉴定及产酶性能研究[J]. 中国生物工程杂志, 2010, 30(8): 82-87.

[10] Plaine A, Walker L, Da Costa G, et al. Functional analysis of *Candida albicans* GPI-anchored proteins: Roles in cell wall integrity and caspofungin sensitivity[J]. Fungal Genetics and Biology, 2008, 45(10): 1404-1414.

[11] 张晓云, 韦一能. 热带假丝酵母二型性菌体细胞的形态和结构差异[J]. 广西科学, 2001, 8(1): 50-53.

[12] Dekker N, Speijer D, Grün CH, et al. Role of the  $\alpha$ -glucanase Agn1p in fission-yeast cell separation[J]. Molecular Biology of the Cell, 2004, 15(8): 3903-3914.

[13] García I, Jiménez D, Martín V, et al. The  $\alpha$ -glucanase Agn1p is required for cell separation in *Schizosaccharomyces pombe*[J]. Biology of the Cell, 2005, 97(7): 569-576.

[14] Henry C, Latgé JP, Beauvais A.  $\alpha$ -1,3-glucans are dispensable in *Aspergillus fumigatus*[J]. Eukaryotic Cell, 2012, 4(1): 26-29.