



专论与综述

## 微生物多糖合成关键基因挖掘的研究进展

任鄢宝<sup>1,2</sup> 邹根<sup>\*1</sup> 张赫男<sup>1</sup> 龚明<sup>1</sup> 吴迪<sup>1</sup> 张忠<sup>1</sup> 杨焱<sup>\*1</sup>

1 国家食用菌工程技术研究中心 农业农村部南方食用菌资源利用重点实验室 上海市农业科学院食用菌研究所 上海 201403

2 上海海洋大学食品学院 上海 201306

**摘要:** 随着分子生物学技术的快速发展, 功能基因的挖掘在微生物高产多糖合成关键途径研究中变得越来越重要, 不断发展的基因挖掘方法和基因组分析工具推进了研究的深入进行。本文主要综述了近年来报道的微生物多糖生物合成途径和多糖合成途径中的关键酶, 以及利用多种技术手段和分析软件工具对多糖合成关键基因进行挖掘和验证的相关研究, 为微生物多糖合成关键基因的验证以及微生物高产多糖菌株的制备提供参考。

**关键词:** 微生物多糖, 多糖合成途径, 基因挖掘, 功能验证

## Summary of progress in mining crucial genes involved in microbial polysaccharides synthesis

REN Juanbao<sup>1,2</sup> ZOU Gen<sup>\*1</sup> ZHANG Henan<sup>1</sup> GONG Ming<sup>1</sup> WU Di<sup>1</sup> ZHANG Zhong<sup>1</sup> YANG Yan<sup>\*1</sup>

1 National Engineering Research Center of Edible Fungi, Key Laboratory of Edible Fungal Resources and Utilization (South), Ministry of Agriculture and Rural Affairs, China, Institute of Edible Fungi, Shanghai Academy of Agricultural Sciences, Shanghai 201403, China

2 College of Food Science, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306, China

**Abstract:** Profiting from the rapid development of molecular biology technology, functional genomics plays an increasingly important role in analyzing microbial polysaccharide synthesis pathways. Various gene mining methods and genomics analysis tools facilitate the study of genes responsible for microbial polysaccharides synthesis. Here, we summarize the recent studies in biosynthetic pathway of versatile microbial polysaccharide biosynthesis and the key enzymes involved, the techniques and software package

**Foundation items:** Shanghai Science and Technology Commission Key Research and Development Project (18391903500); Key Research Project of Shanghai Science and Technology to develop agriculture [(2016) 1-12]; Shanghai Leading Talent Project (2018)

**\*Corresponding authors:** ZOU Gen: Tel: 86-21-62201090; E-mail: zougen@saas.sh.cn  
YANG Yan: Tel: 86-21-62209765; E-mail: yangyan@saas.sh.cn

**Received:** 02-09-2020; **Accepted:** 21-11-2020; **Published online:** 11-03-2021

**基金项目:** 上海市科委重点研发项目(18391903500); 上海市科技兴农重点攻关项目(沪农科种字[2016]第 1-12 号); 上海市领军人才项目(2018)

**\*通信作者:** 邹根: Tel: 021-62201090; E-mail: zougen@saas.sh.cn  
杨焱: Tel: 021-62209765; E-mail: yangyan@saas.sh.cn

**收稿日期:** 2020-09-02; **接受日期:** 2020-11-21; **网络首发日期:** 2021-03-11

used for gene mining and function verification. This review will provide a reliable technical reference for crucial genes verification in microbial polysaccharide synthesis and feasible solutions in strain engineering with elevating production titer.

**Keywords:** microbial polysaccharides, polysaccharide synthesis pathway, gene mining, function verification

微生物多糖是微生物在新陈代谢过程中产生的生物高聚物<sup>[1]</sup>, 主要包含细菌脂多糖、酵母菌多糖、大型真菌多糖等<sup>[2]</sup>。微生物多糖从形态上又可分为胞内多糖、胞壁多糖和胞外多糖<sup>[3]</sup>。微生物多糖有着安全稳定、应用面广等多种优点, 可在人工控制条件下大批量生产, 在未来健康医药工业领域有广阔的应用前景。

20 世纪 70 年代以来, 大量研究证实微生物多糖是微生物生命活动中产生的具有保护作用的高聚化合物, 是其行使正常生理功能所不可或缺的重要组成部分<sup>[4]</sup>, 如作为细胞壁的主要成分等<sup>[5]</sup>。此外, 大量研究表明微生物多糖在不同程度上表现出免疫调节<sup>[6-11]</sup>、抗氧化<sup>[12-14]</sup>、调节糖脂代谢<sup>[15-16]</sup>、抗肿瘤<sup>[17-19]</sup>、抗癌<sup>[20-21]</sup>、抗炎<sup>[22]</sup>、抗疲劳<sup>[23]</sup>、保肝护胃<sup>[24]</sup>等多种生物学活性, 在医药<sup>[25-26]</sup>、材料<sup>[27]</sup>、食品、化妆品等领域具有广泛应用价值。随着微生物多糖潜在用途的不断开发, 其应用范围也更加广泛, 尤其是食用菌多糖在很多方面都发挥着重要的作用, 如作为保健药品的蛹虫草多糖<sup>[28]</sup>、作为抗肿瘤辅助用药的灵芝多糖<sup>[29]</sup>、作为功能饮料成分的猴头菇多糖<sup>[30]</sup>、作为饲料喂养牲畜的酵母多糖<sup>[31]</sup>、作为化妆品活性成分的银耳多糖<sup>[32]</sup>等。随着微生物多糖的应用越来越广, 其需求量也在逐年增大, 因此, 对微生物多糖合成途径的研究也受到更多研究者的关注<sup>[33]</sup>。在此基础上, 本综述对有关微生物多糖合成途径及关键基因的挖掘和验证工作进行总结, 以期为食用菌多糖合成关键基因的发现以及食用菌高产多糖菌株的制备提供参考。

## 1 微生物多糖的合成途径

对于多糖的合成途径而言, 细菌中多糖合成途径的研究已经有一些报道, 但对真菌多糖的研究却

鲜有报道<sup>[34]</sup>。然而, 真菌与细菌的多糖合成基本途径具有一定的相似度, 基本合成途径分为前体的供给、合成的起始、单糖聚合和多糖输出<sup>[35-37]</sup>。

有研究人员利用同位素示踪法对多糖合成途径进行研究<sup>[38]</sup>, 也有研究人员运用基因过表达等分子手段进行相关研究<sup>[39]</sup>。图 1 对已发表论文中微生物多糖合成的主要途径进行了概括。微生物生长主要利用的底物葡萄糖, 在葡糖激酶作用下生成葡萄糖-6-磷酸, 进而在不同关键酶作用下生成不同的核苷酸糖, 作为多糖合成的前体物质。这个过程中包括多种代谢途径和关键酶的作用: (1) 葡萄糖-6-磷酸在  $\alpha$ -磷酸葡萄糖变位酶的作用下和乳糖经酶系 11 作用生成葡萄糖-1-磷酸, 进而在 UDP-葡萄糖焦磷酸化酶、UDP-葡萄糖-4-差向异构酶、NAD 连接的脱氢酶等关键酶作用下生成了 UDP-葡萄糖、UDP-半乳糖等<sup>[40-42]</sup>; (2) 葡萄糖-6-磷酸转化为甘露糖-6-磷酸后, 在磷酸甘露糖变位酶、GDP-甘露糖焦磷酸化酶、脱水酶和 GDP-岩藻糖合成酶等作用下生成了 GDP-甘露糖和 GDP-岩藻糖, 为多糖的合成提供了前体物质<sup>[43-44]</sup>; (3) 葡萄糖-6-磷酸在磷酸葡萄糖异构酶作用下及果糖为碳源时都生成果糖-6-磷酸, 进而在相关关键酶作用下生成 GDP-果糖和 UDP-N-乙酰半乳糖胺<sup>[45]</sup>; (4) 葡萄糖-6-磷酸代谢过程中生成的部分果糖-6-磷酸在机体需要时会转化为丙酮酸进入厌氧途径生成乳酸, 或进入 TCA 循环生成 ATP、辅酶等其他产物, 为多糖合成提供能量保证, 进而在葡聚糖合成酶的作用下利用多糖合成前体合成多糖<sup>[46]</sup>。因为微生物多糖合成途径的相似性, 可以重点关注合成通路里的关键酶, 通过调控关键酶的表达水平, 促进特定结构多糖的合成代谢流, 进而提高多糖的产量。

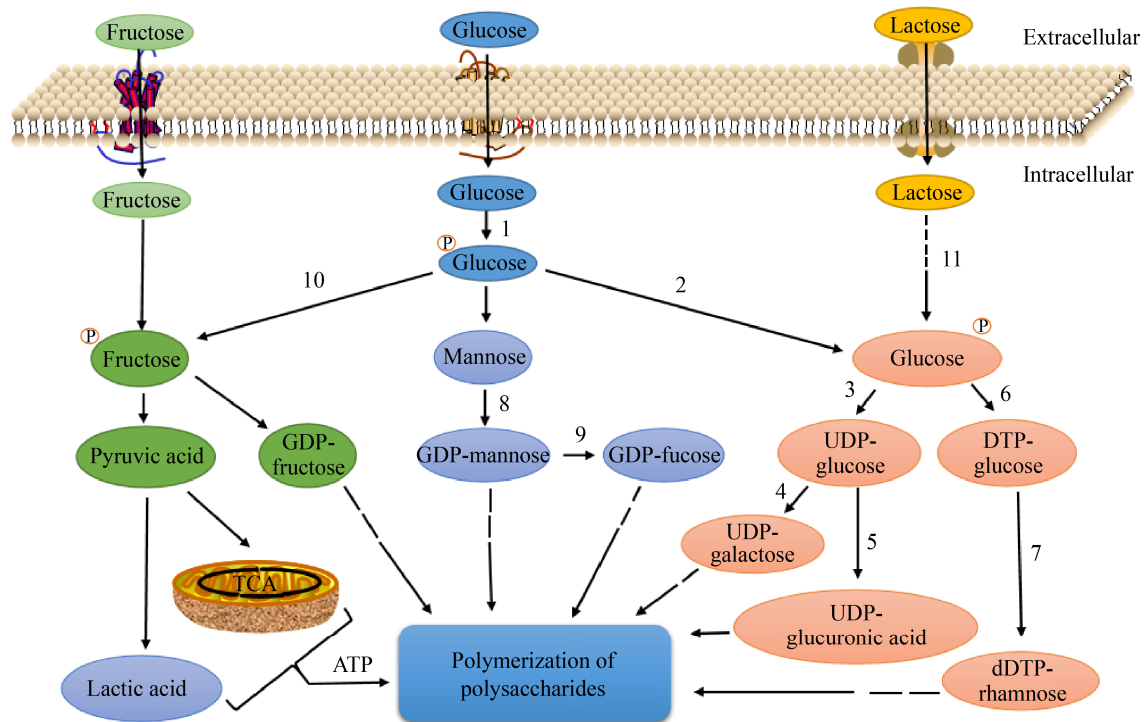


图 1 微生物中多糖合成的主要途径

Figure 1 Diagrammatic sketch of microbial polysaccharides synthesis pathway

注: 1: 葡萄糖激酶; 2:  $\alpha$ -磷酸葡萄糖变位酶; 3: UDP-葡萄糖焦磷酸化酶; 4: UDP-葡萄糖-4-差向异构酶; 5: NAD 连接的脱氢酶; 6: 葡萄糖-1-磷酸胸苷转移酶; 7: 鼠李糖合成酶系; 8: 磷酸甘露糖变位酶和 GDP-甘露糖焦磷酸化酶; 9: 脱水酶和 GDP-岩藻糖合成酶; 10: 磷酸葡萄糖异构酶; 11: 乳糖转化为 1-磷酸-葡萄糖酶系

Note: 1: Glucokinase; 2:  $\alpha$ -phosphate glucose mutase; 3: UDP-glucose pyrophosphorylase; 4: UDP-glucose-4-epimerase; 5: NAD-linked dehydrogenase; 6: Glucose-1-phosphothymidine transferase; 7: Rhamnose synthase system; 8: Mannose phosphate mutase and GDP-mannose pyrophosphorylase; 9: Dehydrase and GDP-fucose synthase; 10: Phosphoglucose isomerase; 11: Enzymes responsible for converting into 1-phospho-glucose

## 2 微生物多糖合成关键基因的挖掘和验证

基因挖掘验证的一般技术路线主要有 3 个环节: 基于生物信息学的基因挖掘、基于遗传转化、异源表达的基因验证和转化后的产物分析。如图 2 所示,首先是在多组学数据和生物信息学分析的基础上,通过各种分析软件和工具对目标基因进行筛选,获得具有研究价值的关键基因;然后利用沉默、异源表达等多种分子生物学手段对关键基因进行功能验证分析,通过构建不同功能的基因表达载体,在模式菌株中进行基因水平、蛋白水平和酶活水平的验证;最后再通过在本物种内同源表达并对产物进行深入分析,获得相关基因表达量、产物、组分和生物活性分析等多种结果,从产物层次进行

综合分析验证,以期获得促进多糖合成的关键基因。基因簇挖掘技术的不断发展,大大促进了新的功能基因研究、新型天然产物的发现和生物功能信息分析等的发展。

### 2.1 基于多组学数据进行生物信息学分析

生物信息学分析是对所研究物种进行全基因组测序后,通过生物信息学分析网站和软件对潜在的基因进行功能片段分析预测,进而聚焦到目标基因簇。由于多糖类物质合成过程复杂,涉及的关键酶和基因较多,往往需要进行多组学的整合分析预测,进而挖掘出部分多糖合成关键基因并进行实验验证,从而确定其在多糖合成中的作用<sup>[47]</sup>。

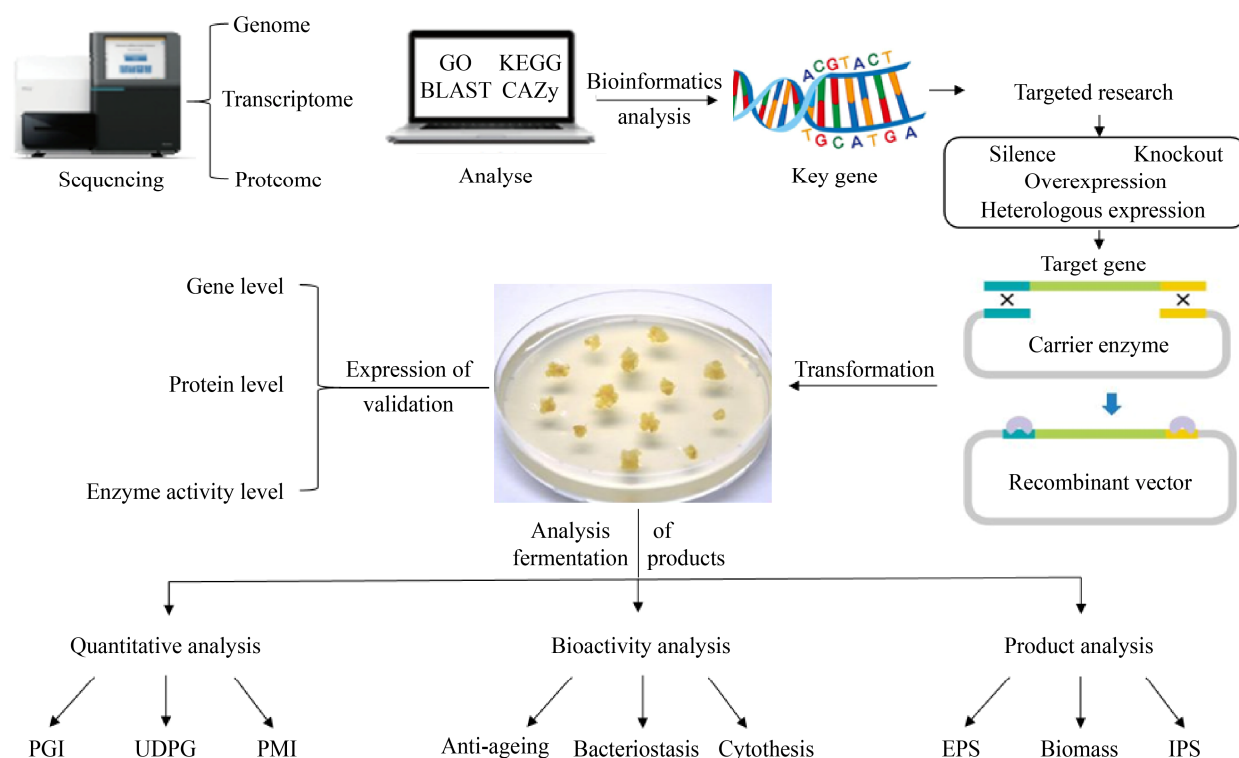


图2 基因挖掘验证的一般技术路线

Figure 2 Flowchart of gene mining and verifying

随着当今大数据的快速发展,不断更新的数据库为我们进行数据挖掘提供了充分的便利。如 Carbohydrate-Active Enzymes Database (CAZy, <http://www.cazy.org>)中就收录了 75 个真核生物和 2 870 个细菌的全基因组测序结果。多个实验结果表明, 尽管细菌多糖的种类很多, 结构复杂多变, 但其生物合成机制却具有一定的相似性<sup>[48]</sup>。

利用三代测序技术进行关键基因挖掘是生物信息学分析的实践应用典范。在对基因组、转录组和蛋白质组的多组学分析后, 利用表 1 中程序和数据库对基因进行比对, 初步确定未知基因在生物体内的功能, 为目的基因的发现提供方向。如 Wang 等的研究中, 通过生物信息学分析手段确定了一个胞外多糖合成相关基因(*epsN*), 表明其在胞外多糖合成途径中起关键作用, 并利用分子遗传学技术对其进行了验证分析<sup>[49]</sup>。

## 2.2 分子遗传技术验证

分子遗传学是一门着重研究基因结构及其功

能的学科, 倾向于研究基因在分子遗传学系统中的储存、复制、表达及其调控过程。自 21 世纪以来, 随着 DNA 测序方法和 PCR 技术的建立和快速发展, 限制酶和同源重组连接酶的接连发现, 为基因功能的验证提供了更加强有力的帮助。

### 2.2.1 微生物多糖合成通路关键基因验证

#### (1) 基因敲除

基因敲除是在生物信息学预测基础上直接对基因功能进行验证的实验研究, 利用同源重组原理在基因组上定点缺失目的基因, 通过抑制目的基因的正常表达, 进而检测基因缺失菌株各项生理数据的变化, 推断该基因的生物功能, 验证生物信息学预测的结果。

江军等比对了副猪嗜血杆菌(*Haemophilus parasuis*)野生菌株和 *iscR* 基因(编码转录调节因子 *iscR* 蛋白)缺失株内胞外多糖(Exopolysaccharides, EPS)合成基因簇中 *capD* (编码多糖生物合成蛋白)基因表达量的变化, 经体外培养发现 *iscR* 缺失株

表 1 基因组挖掘中的生物信息学分析工具和数据库  
Table 1 Bioinformatics analysis tools and databases for genome mining

程序和数据库 Programs and databases	功能简介 Brief introduction of the function	内容相关网址 Content-related website
BLAST	BLAST 可以把测定的氨基酸或核苷酸序列提交到数据库进行比对分析, 并在一定的要求范围下计算相似度, 可用于菌种的鉴定、结构域定位和功能注释等 BLAST can submit the amino acid or nucleotide sequence to the database for comparative analysis, and calculate the similarity within a certain range of requirements. It can be used for species identification, domain location and functional annotation, etc	<a href="https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi">https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi</a>
Metascape	Metascape 数据库覆盖面相当广泛, 整合了 GO、KEGG 和 DrugBank 等多个权威的数据资源, 不仅能完成通路富集和生物过程注释, 还能做基因相关的蛋白质网络分析和涉及的药物分析等 The Metascape database covers a wide range of data sources, including GO, KEGG and DrugBank. It not only completes pathway enrichment and annotation of biological processes, but also performs gene-related protein network analysis and drug analysis	<a href="http://metascape.org/gp/index.html">http://metascape.org/gp/index.html</a>
HMMER	HMMER 可以对未知功能的蛋白序列在数据库中进行比对、分析及注释, 而且蛋白家族数据库 Pfam 和 InterPro 也都使用了 HMMER 的算法进行数据分析 HMMER can compare, analyze and annotate the unknown protein sequences in the database. HMMER's algorithm was also used in both Pfam and InterPro databases for data analysis	<a href="https://myhits.isb-sib.ch/cgi-bin/hmmer3_search">https://myhits.isb-sib.ch/cgi-bin/hmmer3_search</a>
北京大学生物 信息学中心 Bioinformatics Center, Peking University	欧洲分子生物学组织的中国国家节点, 而且与多个国外生物信息中心建立了合作关系, 是目前国内数据库种类最多、数据量最大的生物信息站点 It is the National node of the European Organization for Molecular Biology. Besides, it has established cooperative relations with many foreign biological information centers, and is the biological information site with the most kinds of databases and the largest amount of data in China	<a href="http://www.cbi.pku.edu.cn/">http://www.cbi.pku.edu.cn/</a>
CAZy	CAZy 是着重于分析碳水化合物活性酶基因组的专家数据库, 可以通过比对碳水化合物活性酶的基因组内容来获取数据 CAZy is an expert database focusing on the analysis of the genome of active carbohydrate enzymes. Data can be obtained by comparing the genome contents of active carbohydrate enzymes	<a href="http://www.cazy.org/">http://www.cazy.org/</a>

的 *capD* 基因表达量显著降低, 透射电镜观察到在外部刺激下野生菌株荚膜厚度约有 95 nm, 而 *iscR* 缺失株无明显荚膜生成, 由此推测 *iscR* 基因可能是表面荚膜多糖的合成关键基因<sup>[33]</sup>。

Guo 等运用分子生物学技术敲除了柑橘溃疡病菌(*Xanthomonas citri* subsp. *citri*)的 UDP-葡萄糖焦磷酸化酶(Uridine Diphosphate Glucose Pyrophosphorylase) *ugp* 基因后, 检测 UDP-葡萄糖(Uridine Diphosphate Glucose, UDP-Glc)含量后发现, 与出发菌株相比, 敲除 *ugp* 基因后菌株的 UDP-Glc 含量大量减少, 导致多糖合成途径中前体物质供给减少, 因此可以判断 *ugp* 基因是多糖合成

途径中的关键基因<sup>[50]</sup>。Daran 等通过构建磷酸葡萄糖变位酶(Phosphoglucomutase) *pgm* 基因敲除载体, 在对胞外液成分检测后发现, *pgm* 基因敲除载体菌株的葡萄糖水平是其他菌株的 3 倍; 结果表明, 由于磷酸葡萄糖变位酶的缺失, 减缓了葡萄糖-6-磷酸到葡萄糖-1-磷酸的转化过程, 使得葡萄糖-6-磷酸大量沉积, 进而减少了培养基中葡萄糖的利用, 侧证了葡萄糖-6-磷酸转化为葡萄糖-1-磷酸的通路及关键基因<sup>[51]</sup>。

近年来, 基于 CRISPR/Cas9 基因编辑技术的飞速发展, 我们研究团队也最早在丝状真菌建立了该技术体系, 并在真菌基因研究方面上取得了很多

的成果<sup>[52-54]</sup>。但对多糖合成相关基因的研究还是鲜有发表,因此,利用基因编辑技术对多糖合成关键基因进行挖掘验证有望成为更快速省力的方法。

### (2) 基因过表达验证

基因过表达是将生物信息学分析获得的可能目的基因重组到人工过表达载体上,使目的基因调控的产物得到充分表达,进而通过测定多糖合成途径中的前体物质和产物的含量来进行综合分析。

利用基因过表达方法对基因功能进行分析也有着事半功倍的效果。如 Rodriguez-Díaz 等通过构建重组过表达菌株,在干酪乳杆菌(*Lactobacillus casei*)中同源过表达了 *BL23* 基因(编码 *ugp*),在后续的酶活检测中发现其酶活提高了约 70 倍,UDP-Glc 的浓度也提升了 8.5 倍,因此推断 *BL23* 基因是 UDP-葡萄糖合成途径中的关键基因<sup>[55]</sup>。

已有研究报道,通过过表达灵芝多糖合成途径中的关键基因,可以显著提高多糖的合成产率。如 Xu 等在灵芝中过表达 *pgm* 基因,与出发菌株相比,胞内多糖(Intercellular Polysaccharide, IPS)和 EPS 的最大产量分别提高了 40.5%和 44.3%;灵芝多糖合成相关基因 *pgm* 和 *ugp* 的转录水平与出发菌株相比分别提高了 4.77 倍和 1.51 倍<sup>[56]</sup>。Ji 等在灵芝中高表达了 *ugp* 基因,与出发菌株相比,IPS 和 EPS 分别提高了 42%和 36%;*pgm* 和 *ugp* 基因的转录水平分别提高了 1.6 倍和 2.6 倍<sup>[57]</sup>。此外,曹春红等构建了过表达 *pgm2* 基因的酿酒酵母重组菌株 *AYPGM*,与出发菌株各项指标比对发现,*pgm2* 基因的过表达明显降低了葡萄糖的阻遏效应,使发酵时间缩短了 25%,表明 *pgm2* 基因在酿酒酵母多糖合成中发挥关键作用<sup>[58]</sup>。

### (3) 基因沉默验证

基因沉默是在 RNA 水平上通过控制 mRNA 的翻译进而调控目的基因表达的一种方式。近几年来,通过人工合成 miRNA 或者构建 RNA 沉默载体等高效特异地抑制某一 mRNA 的翻译,从而了解基因的生物学功能和对细胞生长分化的作用。

基因沉默技术给目的基因的挖掘提供了新的方法。如 Bouazzaoui 等应用反义 RNA 沉默鼠李糖乳杆菌(*Lactobacillus rhamnosus*)中糖基转移酶基因,通过检测结果发现突变体中的糖基转移酶含量大大减少,产生了新的不同分子量的 EPS,从而确定糖基转移酶基因在 EPS 合成过程中发挥着不可替代的作用<sup>[59]</sup>。

我们团队首次克隆鉴定了灰树花中的葡聚糖合酶基因(*Grifola frondosa* Glucan Synthase, *gfgls*),通过构建的双启动子 RNA 沉默载体获得了转化株 *igfgls-3*,定量 PCR 显示 *gfgls* 基因的转录表达水平降低了 26.1%,而且菌丝体生物量和 EPS 分别下降至 5.02 g/L 和 0.38 g/L,这些结果表明 *gfgls* 基因在菌丝体生长和胞外多糖的合成中有着重要作用<sup>[60]</sup>。Malinova 等利用 amiRNA (Artificial microRNA)技术沉默了拟南芥的 *pgm* 基因后,沉默突变体中的葡萄糖、葡萄糖-6-磷酸和果糖-6-磷酸的含量都显著高于出发菌株,对实验结果分析后可以看出,由于沉默突变体自身缺少了磷酸葡萄糖异构酶,使得突变体对葡萄糖的利用率大大降低,所吸收的葡萄糖也因此转向了果糖-6-磷酸通路<sup>[61]</sup>。

### (4) 异源表达

在利用分子遗传验证时按照宿主的不同分为同源表达和异源表达<sup>[62]</sup>。由于大型真菌遗传转化体系的构建尚不够成熟,在大多数同源菌中进行基因的遗传验证较为困难,所以在异源或者模式菌株中进行遗传验证,能更有效地进行目的基因的功能检测,以便于微生物基因资源的开发利用<sup>[63]</sup>。

因为异源表达的可操作性较强,所以有很多研究学者在此方向上取得了不错的研究成果<sup>[64]</sup>。如 Stingle 等在嗜热链球菌 *Sfi6* 中克隆了一个 15 kb 的 EPS 基因簇,其可编码多个与多糖合成密切相关基因,并且成功地在乳酸乳球菌 *MG1363* 中进行了异源表达,取得了理想的结果<sup>[65]</sup>。李阳等在大肠杆菌 *E. coli* BL21(DE3)中对 *pgm* 进行了异源表达,并探究了其相关酶学性质,为灵芝多糖合成



发酵策略的高效制定提供了依据<sup>[66]</sup>。

### 2.2.2 微生物多糖合成旁路关键基因验证

在挖掘多糖合成关键基因时发现,多糖合成不仅与合成途径中的关键酶有密切的关联,糖代谢中能量的传递和底物的供给等也同样发挥着重要的作用,因此部分研究人员从这个角度进行基因挖掘,得到部分关键基因的生物学作用,以期促进微生物多糖产率的增加。

#### (1) 利用其他底物合成多糖的拯救途径

刘现伟发现了一种糖核苷供体拯救途径的相关酶 GDP-岩藻糖焦磷酸化酶 (GDP-Fucose Pyrophosphorylase, FKP), 并对其在大肠杆菌中进行了重组过量表达; 当大肠杆菌菌株的 GDP-Fuc 合成途径失效后, 大肠杆菌可以从培养基中直接吸收利用岩藻糖类似物或其他单糖用于糖核苷合成, 进而作为细菌表面多糖的供体<sup>[67]</sup>。

#### (2) 通过控制细胞生长来促进多糖合成的途径

有研究表明除了多糖合成途径中的关键基因以外, 持家基因也与多糖的合成密切相关, 它们的表达量也会对多糖合成产生一定的影响<sup>[68-70]</sup>。因此, 利用分子生物学技术对这类基因进行实验研究, 验证其对多糖合成的促进作用, 可从多方面提升多糖产率。

如 Li 等构建了甘油-3-磷酸脱氢酶基启动子和透明颤菌血红蛋白(*Vitreoscilla* Globin) *vgb* 基因的重组载体并成功转入灵芝, 结果显示 IPS 和 EPS 分别为 26.4 mg/100 mg 和 0.83 g/L, 分别比野生型菌株提高 30.5% 和 88.2%, *pgm* 和 *ugp* 的转录水平分别上调了 1.51 倍和 1.55 倍, 证实了透明质酸的过量表达对灵芝高产多糖的促进作用<sup>[71]</sup>。Liu 等也进行了相似的实验并获得了同样的结果<sup>[72]</sup>。董玉国等将 *vgb* 基因导入到短密青霉 ATCC16024 中用于改善菌体对氧的摄取能力, 发酵结果表明 *vgb* 基因在短密青霉中成功获得了表达, 而且大大提高了短密青霉的菌体密度, 比原始菌株提高了约 27.5%<sup>[70]</sup>。

### (3) 改变调控因子和辅酶水平从而促进多糖合成

有研究表明通过调节调控因子的水平, 使相关基因表达量上升<sup>[73-74]</sup>或提高辅酶水平使菌株产生更高的能量代谢流, 进而提高多糖合成的产率是可行的。因此, Li 等利用分子生物学技术在干酪乳杆菌中过表达 NADH 氧化酶, 使得菌株的多糖产量提高 46%<sup>[75]</sup>; 在对铜绿假单胞菌分别过表达调控因子 *CupB5* 和 *ClpXP* 基因后, 使得海藻糖的产量提高了 20% 和 22%, 极大地提升了菌株的多糖合成产量<sup>[76-77]</sup>。

## 3 展望

近年来, 随着基因组测序技术的快速发展和基因挖掘方法的不断更新, 微生物多糖合成关键基因的挖掘工作有了更多的技术支撑, 并不断取得新突破。微生物尤其是真菌产生的多糖作为一种天然免疫调节剂具有多种生物学功能, 而通过菌株发酵的工业化生产获得这些物质更是未来发展的趋势。通过生物信息学和分子生物学技术整合, 阐明多糖的合成代谢通路及调控的关键基因, 对获得多糖高产菌株的分子育种及代谢通路调控具有重要的科学意义, 也是具有潜力的研究方向<sup>[78-79]</sup>。

多糖合成途径研究已经在酵母菌、乳酸菌等微生物中获得了一些成果, 而在大型真菌中几乎还是空白。因此, 以微生物多糖合成代谢中发现的通路和关键基因为基础, 继续对香菇、猴头菌、灵芝等食药菌多糖的合成途径进行深入挖掘将是未来的研究方向。而利用分子生物学技术进行高产多糖优势菌株关键基因的挖掘验证, 可为构建微生物高产多糖菌株奠定理论基础。

## REFERENCES

- [1] Chaisuwan W, Jantanasakulwong K, Wangtueai S, Phimolsiripol Y, Chaityaso T, Techapun C, Phongthai S, You SG, Regenstein J, Seesuriyachan P. Microbial exopolysaccharides for immune enhancement: fermentation, modifications and bioactivities[J]. Food Bioscience, 2020, 35: 100564

- [2] De Borja Gurpilhares D, Cinelli LP, Simas NK, Pessoa Jr A, Sette LD. Marine prebiotics: polysaccharides and oligosaccharides obtained by using microbial enzymes[J]. Food Chemistry, 2019, 280: 175-186
- [3] Wang XY, WU X. Research status and prospects of bioactive polysaccharide[J]. Modern Agricultural Science and Technology, 2015(19): 318,324 (in Chinese)  
王晓烨, 吴旭. 生物活性多糖的研究现状及展望[J]. 现代农业科技, 2015(19): 318,324
- [4] Cui FJ, Chen XX, Liu WM, Sun WJ, Huo SH, Yang Y. Control of *Grifola frondosa* morphology by agitation and aeration for improving mycelia and *Exo*-polymer production[J]. Applied Biochemistry and Biotechnology, 2016, 179(3): 459-473
- [5] Xiao Y, Wu XW, Liu D, Yao JY, Liang GH, Song HX, Ismail AM, Luo JS, Zhang ZH. Cell wall polysaccharide-mediated cadmium tolerance between two *Arabidopsis thaliana* ecotypes[J]. Frontiers in Plant Science, 2020, 11(5): 473
- [6] Wang K, Niu MM, Zhao J. Research on immunoregulation and anti-tumor characteristics of exopolysaccharides from lactic acid bacteria[J]. Journal of Heilongjiang Bayi Agricultural University, 2019, 31(3): 51-55 (in Chinese)  
王坤, 牛萌萌, 赵婧. 乳酸菌胞外多糖的免疫调节及抗肿瘤特性的研究[J]. 黑龙江八一农垦大学学报, 2019, 31(3): 51-55
- [7] Kim Y, Oh S, Kim SH. Released exopolysaccharide (r-EPS) produced from probiotic bacteria reduce biofilm formation of enterohemorrhagic *Escherichia coli* O157:H7[J]. Biochemical and Biophysical Research Communications, 2009, 379(2): 324-329
- [8] Nowak B, Śrótek M, Cizek-Lenda M, Skalkowska A, Gamian A, Górska S, Marcinkiewicz J. Exopolysaccharide from *Lactobacillus rhamnosus* KL37 inhibits T cell-dependent immune response in mice[J]. Archivum Immunologiae et Therapiae Experimentalis, 2020, 68(3): 17
- [9] Wu D, Tang C, Liu YF, Li QZ, Wang WH, Zhou S, Zhang Z, Cui FJ, Yang Y. Structural elucidation and immunomodulatory activity of a  $\beta$ -D-glucan prepared by freeze-thawing from *Hericium erinaceus*[J]. Carbohydrate Polymers, 2019, 222: 114996
- [10] Cui FJ, Jiang LH, Qian LS, Sun WJ, Tao TL, Zan XY, Yang Y, Wu D, Zhao X. A macromolecular  $\alpha$ -glucan from fruiting bodies of *Volvariella volvacea* activating RAW264.7 macrophages through MAPKs pathway[J]. Carbohydrate Polymers, 2020, 230: 115674
- [11] Zhu LL, Wu D, Zhang HN, Li QZ, Zhang Z, Liu YF, Zhou S, Wang WH, Li ZP, Yang Y. Effects of atmospheric and room temperature plasma (ARTP) mutagenesis on physicochemical characteristics and immune activity *in vitro* of *Hericium erinaceus* polysaccharides[J]. Molecules, 2019, 24(2): 262
- [12] Li TT, Yang Y, Liu YF, Zhou S, Yan MQ, Wu D, Zhang JS, Tang CH. Physicochemical characteristics and biological activities of polysaccharide fractions from *Phellinus baumii* cultured with different methods[J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2015, 81: 1082-1088
- [13] Wang X, Shao CG, Liu L, Guo X, Xu YM, Lü X. Optimization, partial characterization and antioxidant activity of an exopolysaccharide from *Lactobacillus plantarum* KX041[J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2017, 103: 1173-1184
- [14] Huang JX, Xia CD, Luo LJ, Feng DY, Ye H, Cao QY, Zhan XY, Zuo JJ. Effects of yeast polysaccharides on growth performance, immune function and antioxidant capacity of yellow feather broilers[J]. Feed Industry, 2018, 39(1): 27-31 (in Chinese)  
黄婧溪, 夏超笃, 罗龙军, 冯定远, 叶慧, 曹庆云, 战晓燕, 左建军. 酵母细胞壁多糖对黄羽肉鸡生长性能、免疫及抗氧化能力的影响[J]. 饲料工业, 2018, 39(1): 27-31
- [15] Du XJ, Zhang Y, Mu HM, Lv ZW, Yang Y, Zhang JS. Structural elucidation and antioxidant activity of a novel polysaccharide (TAPB1) from *Tremella aurantialba*[J]. Food Hydrocolloids, 2015, 43: 459-464
- [16] Cai WD, Ding ZC, Wang YY, Yang Y, Zhang HN, Yan JK. Hypoglycemic benefit and potential mechanism of a polysaccharide from *Hericium erinaceus* in streptozotocin-induced diabetic rats[J]. Process Biochemistry, 2020, 88: 180-188
- [17] Di W, Zhang LW, Wang SM, Yi HX, Han X, Fan RB, Zhang YC. Physicochemical characterization and antitumor activity of exopolysaccharides produced by *Lactobacillus casei* SB27 from yak milk[J]. Carbohydrate Polymers, 2017, 171: 307-315
- [18] Zhu L, Cao JF, Chen GC, Xu YH, Lu JB, Fang F, Chen KS. Anti-tumor and immunomodulatory activities of an exopolysaccharide from *Rhizopus nigricans* on CT26 tumor-bearing mice[J]. International Immunopharmacology, 2016, 36: 218-224
- [19] Zhang HN, Shao Q, Wang WH, Zhang JS, Zhang Z, Liu YF, Yang Y. Characterization of compounds with tumor cell proliferation inhibition activity from mushroom (*Phellinus baumii*) mycelia produced by solid-state fermentation[J]. Molecules, 2017, 22(5): 698
- [20] Zhang HN, Chen RB, Zhang JS, Bu QT, Wang WH, Liu YF, Li Q, Guo Y, Zhang L, Yang Y. The integration of metabolome and proteome reveals bioactive polyphenols and hispidin in ARTP mutagenized *Phellinus baumii*[J].



- Scientific Reports, 2019, 9(1): 16172
- [21] Zeng D, Zhu SM. Purification, characterization, antioxidant and anticancer activities of novel polysaccharides extracted from *Bachu* mushroom[J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2018, 107: 1086-1092
- [22] Zong S, Ye ZY, Zhang XM, Chen H, Ye M. Protective effect of *Lachnum polysaccharide* on dextran sulfate sodium-induced colitis in mice[J]. Food & Function, 2020, 11(1): 846-859
- [23] Lin H, Xu R, Tian MJ, Zou W. Effect of ginseng stem polysaccharide on ability of resistance and free radical in exercise-induced fatigue rats[J]. Journal of Liaoning Normal University (Natural Science Edition), 2015, 38(4): 555-560 (in Chinese)  
林华, 徐瑞, 田明建, 邹伟. 人参茎叶多糖对大鼠血清自由基清除能力及抗疲劳能力的影响[J]. 辽宁师范大学学报: 自然科学版, 2015, 38(4): 555-560
- [24] Chen WC, Wu D, Jin YL, Li QZ, Liu YF, Qiao XX, Zhang JS, Dong GC, Li ZP, Li TT, et al. Pre-protective effect of polysaccharides purified from *Hericium erinaceus* against ethanol-induced gastric mucosal injury in rats[J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2020, 159: 948-956
- [25] Li TT, Li CJ, Wu D, Yang Y, Jin YL. Studies on the acid degradation process and *in vitro* immune activity of the polysaccharide H6PC20 in *Hericium erinaceus*[J]. IOP Conference Series: Materials Science and Engineering, 2018, 392(5): 052014
- [26] Reddy OS, Madhavi C, Jithendra T, Subha MCS, Rao KC. Xanthan gum graft copolymer/sodium alginate micro beads coated with chitosan for controlled release of chlorthalidone drug[J]. International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research, 2020, 11(3): 1132-1145
- [27] Low A, Mohd Yusof H, Reza F, Nurul AA, Sritharan S, Ali NHZ, Azeez HS, Husein A. Gypsum-based biomaterials: evaluation of physical and mechanical properties, cellular effects and its potential as a pulp liner[J]. Dental Materials Journal, 2015, 34(4): 522-528
- [28] Miao Y, Ren GH, Zhen D, Zhao F, Song H. Molecular mechanism of *Cordyceps militaris* polysaccharides in regulating the immune function of macrophage RAW264.7 cells[J]. Food Science, 2019, 40(9): 188-194 (in Chinese)  
苗月, 任桂红, 甄东, 赵飞, 宋慧. 蛹虫草多糖调节小鼠巨噬细胞 RAW264.7 免疫活性的分子机制[J]. 食品科学, 2019, 40(9): 188-194
- [29] Gao YH, Zhou SF. Review of clinical studies on the preventive and anti-tumor effects of *Ganoderma lucidum* extract[A]//Proceedings of 2015 Academic Exchange Meeting of Biochemistry and Molecular Biology Society of Six Provinces and One City in East China[C]. Ningde: The Chinese Society of Biochemistry and Molecular Biology, 2015: 82-83 (in Chinese)  
高益槐, 周树峰. 灵芝提取物对化疗预防和抗肿瘤作用特性物质在临床学上研究综述[A]//华东六省一市生物化学与分子生物学会 2015 年学术交流会论文集[C]. 宁德: 中国生物化学与分子生物学会, 2015: 82-83
- [30] Xiao YJ, Fu Q, He SG, Lin HX, Yao QH, Zhou XW. Preparation of *Hericium erinaceus* polysaccharide and apple cider vinegar beverage[J]. The Food Industry, 2018, 39(12): 104-108 (in Chinese)  
肖玉娟, 傅奇, 何少贵, 林慧霞, 姚秋虹, 周小伟. 猴头菇多糖果醋饮料的研制[J]. 食品工业, 2018, 39(12): 104-108
- [31] Zhang JB, Yin H, She W. Effect of yeast polysaccharide on growth performance, immune function and intestinal flora of weaned piglets[J]. China Feed, 2018(16): 46-50 (in Chinese)  
张金宝, 银花, 舍旺. 酵母多糖对断奶仔猪生长性能、免疫功能和肠道菌群的影响[J]. 中国饲料, 2018(16): 46-50
- [32] Bian SJ, Wen Q, Xiao JY, Ma FL, Hong YH, Liu W. Preparation of tremella polysaccharide liquid crystal cream and evaluation of its moisturizing effect[J]. Flavour Fragrance Cosmetics, 2019(4): 59-64 (in Chinese)  
卞思静, 闻庆, 肖俊勇, 马方励, 洪延涵, 刘卫. 银耳多糖液晶霜制备及其保湿功效评价[J]. 香料香精化妆品, 2019(4): 59-64
- [33] Jiang J, Wang YC, Jiang P, Li JX, Yuan XF, Xu LH, Wu WX. Effect of *iscR* deletion on the expression of partial genes in capsule locus of *Haemophilus parasuis*[J]. Chinese Journal of Preventive Veterinary Medicine, 2016, 38(10): 771-775 (in Chinese)  
江军, 王一成, 姜平, 李军星, 袁秀芳, 徐丽华, 吴旺霞. *iscR* 基因缺失对副猪嗜血杆菌荚膜多糖合成基因簇中部分相关基因表达的影响[J]. 中国预防兽医学报, 2016, 38(10): 771-775
- [34] Papaspyridi LM, Zerva A, Topakas E. Biocatalytic synthesis of fungal  $\beta$ -glucans[J]. Catalysts, 2018, 8(7): 274
- [35] Dimopoulou M, Vuillemin M, Campbell-Sills H, Lucas PM, Ballestra P, Miot-Sertier C, Favier M, Coulon J, Moine V, Doco T, et al. Exopolysaccharide (EPS) synthesis by *Oenococcus oeni*: from genes to phenotypes[J]. PLoS One, 2014, 9(6): e98898
- [36] Islam ST, Lam JS. Synthesis of bacterial polysaccharides via the Wzx/Wzy-dependent pathway[J]. Canadian Journal of Microbiology, 2014, 60(11): 697-716
- [37] Naumenko OI, Zheng H, Shashkov AS, Sun Y,

- Senchenkova SN, Bai L, Wang JP, Wang H, Li Q, Knirel YA, et al. *Escherichia albertii* EA046 (O9) harbors two polysaccharide gene clusters for synthesis of the O-antigen by the Wzx/Wzy-dependent pathway and a mannan shared by *Escherichia coli* O8 by the Wzm/Wzt-dependent pathway[J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2020, 142: 609-614
- [38] Seo HK, Fanata WID, Kim SJ, Park S, Lee YI, Lee LO, Lim JM. Metabolic isotope labeling of polysaccharides with isotopic glucose for quantitative glycomics in cell culture[J]. Bulletin of the Korean Chemical Society, 2016, 37(9): 1518-1521
- [39] Zhou JS, Bai Y, Dai RJ, Guo XL, Liu ZH, Yuan S. Improved polysaccharide production by homologous co-overexpression of phosphoglucomutase and UDP glucose pyrophosphorylase genes in the mushroom *Coprinopsis cinerea*[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2018, 66(18): 4702-4709
- [40] Xia T, Sriram N, Lee SA, Altman R, Urbauer JL, Altman E, Eiteman MA. Glucose consumption in carbohydrate mixtures by phosphotransferase-system mutants of *Escherichia coli*[J]. Microbiology, 2017, 163(6): 866-877
- [41] Zan XY, Wu XH, Cui FJ, Zhu HA, Sun WJ, Jiang LH, Tao TL, Zhao X. UDP-glucose pyrophosphorylase gene affects mycelia growth and polysaccharide synthesis of *Grifola frondosa*[J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2020, 161: 1161-1170
- [42] Zhu HM, Sun B, Li YJ, Meng DH, Zheng S, Wang TT, Wang FS, Sheng JZ. KfoA, the UDP-glucose-4-epimerase of *Escherichia coli* strain O5:K4:H4, shows preference for acetylated substrates[J]. Applied Microbiology and Biotechnology, 2018, 102(2): 751-761
- [43] Li MJ, Chen TX, Gao T, Miao ZG, Jiang AL, Shi L, Ren A, Zhao MW. UDP-glucose pyrophosphorylase influences polysaccharide synthesis, cell wall components, and hyphal branching in *Ganoderma lucidum* via regulation of the balance between glucose-1-phosphate and UDP-glucose[J]. Fungal Genetics and Biology, 2015, 82: 251-263
- [44] García-García A, Ceballos-Laita L, Serna S, Artschwager R, Reichardt NC, Corzana F, Hurtado-Guerrero R. Structural basis for substrate specificity and catalysis of  $\alpha$ -1,6-fucosyltransferase[J]. Nature Communications, 2020, 11(1): 973
- [45] Subramanian K, Mitusińska K, Raedts J, Almourfi F, Joosten HJ, Hendriks S, Sedelnikova SE, Kengen SWM, Hagen WR, Góra A, et al. Distant non-obvious mutations influence the activity of a hyperthermophilic *Pyrococcus furiosus* phosphoglucomutase[J]. Biomolecules, 2019, 9(6): 212
- [46] Zeng HW, Zheng HH, Chen H, Liao XR, Cai YJ. Progress in research on biosynthesis and metabolic engineering of microbial polysaccharides[J]. Journal of Shaanxi University of Technology (Natural Science Edition), 2015, 31(4): 49-58 (in Chinese)
- 曾化伟, 郑惠华, 陈惠, 廖祥儒, 蔡宇杰. 微生物多糖的生物合成及代谢工程研究进展[J]. 陕西理工学院学报: 自然科学版, 2015, 31(4): 49-58
- [47] Chen LL, Wang WM, Zhu QJ, Du FL. Biosynthesis mechanisms of bacterial polysaccharide: a review[J]. Acta Microbiologica Sinica, 2010, 50(12): 1583-1589 (in Chinese)
- 陈蕾蕾, 王未名, 祝清俊, 杜方岭. 细菌多糖的生物合成机制[J]. 微生物学报, 2010, 50(12): 1583-1589
- [48] Mann E, Kimber MS, Whitfield C. Bioinformatics analysis of diversity in bacterial glycan chain-termination chemistry and organization of carbohydrate-binding modules linked to ABC transporters[J]. Glycobiology, 2019, 29(12): 822-838
- [49] Wang JR, Tang W, Zheng YN, Xing ZQ, Wang YP. Functional and bioinformatics analysis of an exopolysaccharide-related gene (*epsN*) from *Lactobacillus kefiranoferiens* ZW3[J]. Archives of Microbiology, 2016, 198(7): 611-618
- [50] Guo YP, Sagaram US, Kim JS, Wang N. Requirement of the *galU* gene for polysaccharide production by and pathogenicity and growth *In Planta* of *Xanthomonas citri* subsp. *citri*[J]. Applied and Environmental Microbiology, 2010, 76(7): 2234-2242
- [51] Daran JM, Dallies N, Thines-Sempoux D, Paquet V, François J. Genetic and biochemical characterization of the *UGP1* gene encoding the UDP-glucose pyrophosphorylase from *Saccharomyces cerevisiae*[J]. European Journal of Biochemistry, 1995, 233(2): 520-530
- [52] Liu R, Chen L, Jiang YP, Zhou ZH, Zou G. Efficient genome editing in filamentous fungus *Trichoderma reesei* using the CRISPR/Cas9 system[J]. Cell Discovery, 2015, 1: 15007
- [53] Zheng YM, Lin FL, Gao H, Zou G, Zhang JW, Wang GQ, Chen GD, Zhou ZH, Yao XS, Hu D. Development of a versatile and conventional technique for gene disruption in filamentous fungi based on CRISPR-Cas9 technology[J]. Scientific Reports, 2017, 7(1): 9250
- [54] Qin H, Xiao H, Zou G, Zhou ZH, Zhong JJ. CRISPR-Cas9 assisted gene disruption in the higher fungus *Ganoderma species*[J]. Process Biochemistry, 2017, 56: 57-61
- [55] Rodríguez-Díaz J, Yebra MJ. Enhanced UDP-glucose and UDP-galactose by homologous overexpression of UDP-glucose pyrophosphorylase in *Lactobacillus casei*[J]. Journal of Biotechnology, 2011, 154(4): 212-215
- [56] Xu JW, Ji SL, Li HJ, Zhou JS, Duan YQ, Dang LZ, Mo MH. Increased polysaccharide production and biosynthetic gene

- expressions in a submerged culture of *Ganoderma lucidum* by the overexpression of the homologous  $\alpha$ -phosphoglucomutase gene[J]. *Bioprocess and Biosystems Engineering*, 2015, 38(2): 399-405
- [57] Ji SL, Liu R, Ren MF, Li HJ, Xu JW. Enhanced production of polysaccharide through the overexpression of homologous uridine diphosphate glucose pyrophosphorylase gene in a submerged culture of Lingzhi or Reishi medicinal mushroom, *Ganoderma lucidum* (Higher Basidiomycetes)[J]. *International Journal of Medicinal Mushrooms*, 2015, 17(5): 435-442
- [58] Cao CH, Guo XW, Wang YZ, Shen T, Chen YF, Xiao DG. Effects of over-expression of some enzymes on galactose utilization of *Saccharomyces cerevisiae*[J]. *Liquor-Making Science & Technology*, 2014(6): 30-33 (in Chinese)  
曹春红, 郭学武, 王亚洲, 申童, 陈叶福, 肖冬光. 过表达相关蛋白对酿酒酵母利用半乳糖的影响[J]. *酿酒科技*, 2014(6): 30-33
- [59] Bouazzaoui K, LaPointe G. Use of antisense RNA to modulate glycosyltransferase gene expression and exopolysaccharide molecular mass in *Lactobacillus rhamnosus*[J]. *Journal of Microbiological Methods*, 2006, 65(2): 216-225
- [60] Cui FJ, Wu XH, Tao TL, Zan XY, Sun WJ, Mu DS, Yang Y, Wu D. Functions of a glucan synthase gene *GFGLS* in mycelial growth and polysaccharide production of *Grifola frondosa*[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2019, 67(32): 8875-8883
- [61] Malinova I, Kunz HH, Alseekh S, Herbst K, Fernie AR, Gierth M, Fettke J. Reduction of the cytosolic phosphoglucomutase in *Arabidopsis* reveals impact on plant growth, seed and root development, and carbohydrate partitioning[J]. *PLoS One*, 2014, 9(11): e0112468
- [62] Bao DP, Huang ZH, Li Y, Zhou CL, Li Y, Wan JN, Tang LH, Mao WJ, Wang Y, Gong M, et al. Agrobacterium-mediated transformation of arthroconidia obtained from the edible mushroom *Hypsizygus marmoreus*[J]. *Journal of Microbiological Methods*, 2020, 171: 105878
- [63] Bachmann BO, Van Lanen SG, Baltz RH. Microbial genome mining for accelerated natural products discovery: is a renaissance in the making?[J]. *Journal of Industrial Microbiology & Biotechnology*, 2014, 41(2): 175-184
- [64] Ma L, Zhang J, Zou G, Wang CS, Zhou ZH. Improvement of cellulase activity in *Trichoderma reesei* by heterologous expression of a beta-glucosidase gene from *Penicillium decumbens*[J]. *Enzyme and Microbial Technology*, 2011, 49(4): 366-371
- [65] Stingle F, Vincent SJF, Faber EJ, Newell JW, Kamerling JP, Neeser JR. Introduction of the exopolysaccharide gene cluster from *Streptococcus thermophilus* Sfi6 into *Lactococcus lactis* MG1363: production and characterization of an altered polysaccharide[J]. *Molecular Microbiology*, 1999, 32(6): 1287-1295
- [66] Li Y, Zhao LT, Gu ZH, Li YR, Shi GY, Ding ZY. Heterologous expression and characterization of the key enzymes involved in sugar donor synthesis of polysaccharide in *Ganoderma lucidum*[J]. *Microbiology China*, 2019, 46(12): 3233-3247 (in Chinese)  
李阳, 赵丽婷, 顾正华, 李由然, 石贵阳, 丁重阳. 灵芝多糖糖供体合成途径中关键酶的异源表达及其酶学性质[J]. *微生物学通报*, 2019, 46(12): 3233-3247
- [67] Liu XW. Studies on the biochemical properties and applications of four enzymes involved in bacterial polysaccharide biosynthesis[D]. Jinan: Doctoral Dissertation of Shandong University, 2009 (in Chinese)  
刘现伟. 四种微生物多糖合成相关酶类的生化性质与应用研究[D]. 济南: 山东大学博士学位论文, 2009
- [68] Hou QB, Liu CD, Jia XQ. Effects of integrated *vgb* gene on biological fermentation of vanillin[J]. *Industrial Microbiology*, 2018, 48(5): 8-12 (in Chinese)  
侯强波, 刘昌东, 嘉晓勤. 透明颤菌 *vgb* 基因的整合对生物法发酵香兰素的影响[J]. *工业微生物*, 2018, 48(5): 8-12
- [69] Gu YY, Wang XM, Yang C, Geng WT, Feng J, Wang YY, Wang SF, Song CJ. Effects of chromosomal integration of the *Vitreoscilla* hemoglobin gene (*vgb*) and S-adenosylmethionine synthetase gene (*metK*) on  $\epsilon$ -poly-L-lysine synthesis in *Streptomyces albulus* NK660[J]. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 2016, 178(7): 1445-1457
- [70] Dong YG, Wang LH, Xu R, Zhang J, Sun AY, Wei DZ. Cloning and expression of *vgb* gene in *Penicillium brevicompactum* by *Agrobacterium tumefaciens*-mediates transformation (ATMT)[J]. *Journal of Chemical Engineering of Chinese Universities*, 2015, 29(1): 133-137 (in Chinese)  
董玉国, 王丽华, 徐瑞, 张舰, 孙爱友, 魏东芝. 根癌农杆菌介导透明颤菌血红蛋白基因(*vgb*)在短密青霉菌中的克隆表达[J]. *高校化学工程学报*, 2015, 29(1): 133-137
- [71] Li HJ, Zhang DH, Yue TH, Jiang LX, Yu XY, Zhao P, Li T, Xu JW. Improved polysaccharide production in a submerged culture of *Ganoderma lucidum* by the heterologous expression of *Vitreoscilla* hemoglobin gene[J]. *Journal of Biotechnology*, 2016, 217: 132-137
- [72] Liu K, Li HJ, Zhang DH, Yue TH, Li N, Xu JW. Heterologous expression of *Vitreoscilla* hemoglobin in *Ganoderma lingzhi* for increased exopolysaccharide production[J]. *Acta Edulis Fungi*, 2017, 24(3): 35-41 (in

Chinese)

刘柯, 李焕军, 张德怀, 岳同辉, 李娜, 徐军伟. 灵芝细胞中异源表达透明颤菌血红蛋白基因提高胞外多糖的产量[J]. 食用菌学报, 2017, 24(3): 35-41

- [73] Chen L, Zou G, Zhang L, De Vries RP, Yan X, Zhang J, Liu R, Wang CS, Qu YB, Zhou ZH. The distinctive regulatory roles of PrtT in the cell metabolism of *Penicillium oxalicum*[J]. Fungal Genetics and Biology, 2014, 63: 42-54

- [74] Ma L, Chen L, Zhang L, Zou G, Liu R, Jiang YP, Zhou ZH. RNA sequencing reveals Xyr1 as a transcription factor regulating gene expression beyond carbohydrate metabolism[J]. BioMed Research International, 2016, 2016: 4841756

- [75] Li N, Wang YL, Zhu P, Liu ZM, Guo BH, Ren J. Improvement of exopolysaccharide production in *Lactobacillus casei* LC2W by overexpression of NADH oxidase gene[J]. Microbiological Research, 2015, 171:

73-77

- [76] Qiu DR, Eisinger VM, Head NE, Pier GB, Yu HD. ClpXP proteases positively regulate alginate overexpression and mucoid conversion in *Pseudomonas aeruginosa*[J]. Microbiology, 2008, 154(7): 2119-2130

- [77] De Regt AK, Yin YS, Withers TR, Wang X, Baker TA, Sauer RT, Yu HD. Overexpression of CupB5 activates alginate overproduction in *Pseudomonas aeruginosa* by a novel AlgW-dependent mechanism[J]. Molecular Microbiology, 2014, 93(3): 415-425

- [78] Liu R, Chen L, Jiang YP, Zou G, Zhou ZH. A novel transcription factor specifically regulates GH11 xylanase genes in *Trichoderma reesei*[J]. Biotechnology for Biofuels, 2017, 10: 194

- [79] He CM, Zhang JX, Liu XC, Zeng SJ, Wu KL, Yu ZM, Wang XJ, Da Silva JAT, Lin ZJ, Duan J. Identification of genes involved in biosynthesis of mannan polysaccharides in *Dendrobium officinale* by RNA-seq analysis[J]. Plant Molecular Biology, 2015, 88(3): 219-231

(上接 p.2088)

## 征 稿 简 则

### 4 特别说明

4.1 关于测序类论文: 凡涉及测定 DNA 或氨基酸序列的论文, 请先通过计算机网络进入国家微生物科学数据中心 NMDC (<http://nmcdc.cn/>)或国际基因库 EMBL (欧洲)或 GenBank (美国)或 DDBJ (日本), 申请得到接受号(Accession No.)后再投来。

4.2 关于版权: (1) 本刊只接受作者独立创作的原创性作品, 享有自主知识产权, 无抄袭问题; 文中相关内容不曾以各种语种在国内外公开发表过, 并且不存在学术伪造、一稿多投、同一学术成果多篇发表等问题; 论文不涉及泄密及其他与著作权有关的侵权问题; 全部数据真实可靠, 且数据、图表未曾正式发表。若来稿被发现存在上述问题, 编辑部调查核实后可随时终止流程, 已发表的将发布公告公开撤销发表, 并将作者列入黑名单, 本刊不再受理该作者任何稿件。作者文责自负。(2) 凡在本刊通过审稿、同意刊出的文章, 所有形式(即各种文字、各种介质)的版权均属本刊编辑部所有。作者如有异议, 敬请事先声明。(3) 对录用的稿件编辑部有权进行文字加工, 但如涉及内容的大量改动, 将请作者过目同意。

4.3 审稿程序及提前发表: (1) 来稿刊登与否由编委会最后审定。对不录用的稿件, 一般在收稿 2 个月之内通过 E-mail 说明原因, 作者登录我刊系统或关注绑定微信也可查看。稿件经过内审、初审、终审通过后, 作者根据编辑部返回的退修意见进行修改补充后上传修改稿, 编辑部复审通过后将发出稿件录用通知单, 稿件按照投稿先后排队发表。(2) 本刊对投稿的个人和单位一视同仁。坚持文稿质量为唯一标准, 对稿件采取择优先登的原则。

### 5 发表费及稿费

论文一经录用, 将在发表前根据版面收取一定的发表费并酌付稿酬、赠送样刊。

### 6 联系方式

地址: 北京市朝阳区北辰西路 1 号院 3 号中国科学院微生物研究所《微生物学通报》编辑部(100101)

Tel: 010-64807511; E-mail: [tongbao@im.ac.cn](mailto:tongbao@im.ac.cn); 网址: <http://journals.im.ac.cn/wwxtbcn>