偏肿栓菌 CB-1 降解木质素的分子机理

汪瑞，武自强，陈洁*

（西南林业大学，林学院，云南昆明 650224）

摘　要:【目的】偏肿栓菌（*Trametes gibbosa*）是一种分布在温带与寒温带地区的白腐真菌，具有生长快、木材分解能力强的特点，主要由漆酶和锰过氧化物酶以及一系列降解纤维素酶组成的木质纤维素分解酶体系。本研究利用 FTIR、GC-MS 对木质素降解过程进行研究；利用多组学分析，旨在挖掘偏肿栓菌木质素降解机理及关键基因。【方法】以无木质素处理为空白对照，将偏肿栓菌与木质素共培养 25 天，检测过氧化物酶和漆酶活性，并进行蛋白组和转录组联合分析。构建典型的漆酶 *Tglcc1* 基因原核表达载体 pET-32a-*lcc1* 并转化进 *E.coli* BL21。经 IPTG 诱导可成功表达 TgLCC1 蛋白。构建 pCAMBIA1301-gpd-*lcc1* 过表达载体转化入农杆菌 LBA4404 中。使用溶壁酶制备原生质体。酶解 3-3.5 h 获得高质量原生质体。【结果】经木质素处理 30 d 后，锰过氧化物酶稳定增长提高 9.44 倍。木质素过氧化物酶和漆酶活性变化趋势均为前期上升，25 d 达到峰值，然后活性开始下降。菌体总蛋白含量随时间增加而增加，25 d 达到峰值，然后含量开始下降。变化趋势与漆酶一致，与体内 H_2O_2 含量变化趋势相反。蛋白组和转录组联合分析表明大部分差异上调蛋白和基因富集在氧化还原反应过程和碳水化合物代谢过程。KEGG 富集分析表明，氨基酸合成和代谢相关通路基因表达量降低；而脂肪酸降解和碳水化合物相关代谢通路基因表达量增加。最佳转化子λ*lcc1*_1，表达量是野生型的 2.84 倍，气生菌丝密度较野生型更密，纤维层增加。λ*lcc1* 的漆酶活性是野生型的 3 倍，活性氧含量是野生型的 0.96。在含有木质素的 LNAS 培养液培养 25 天后，λ*lcc1*_1 发酵液的木质素含量（10.80 mg/mL）是野生型（19.58 mg/mL）的 0.5。突变体菌丝形态致密，偏肿栓菌降解木质素速率提高，愈创木酚氧化反应加快。【结论】本研究揭示了偏肿栓菌对木质素的降解机理，挖掘并验证了两个与木质素降解相关的基因及其功能。在遗传水平上，过表达漆酶编码基因提高了木质素的降解率。建立了偏肿栓菌 PEG 介导原生质体转化体系。本研究不仅探究降解木质素机理，而且为木质纤维素的高效利用提供了理论依据。此外，构建了能够进一步加快木质素降解的速率的优良菌株。

关键词: 白腐菌；木质素；漆酶；*Tglcc1*