

doi: 10.3969/j.issn.0490-6756.2018.01.035

香菇 UDP-葡萄糖焦磷酸化酶转录水平及酶活性对不同碳氮源的响应特征

陈小敏, 吴海冰, 向泉桔, 辜运富, 张小平

(四川农业大学资源学院, 成都 611130)

摘要: 以香菇新 808 为材料, 利用苯酚-硫酸法和 qPCR 技术分析不同碳氮源下菌丝体多糖含量及尿苷二磷酸葡萄糖焦磷酸化酶基因相对表达量, 并测定其酶活性。结果表明, 与对照组相比, 除硝酸铵处理外, 其余处理均能提高香菇菌丝体生物量, 以麦麸处理的生物量最大 (0.63g)。以小分子糖(蔗糖、麦芽糖和甘露糖)为碳源、有机复合物(麦麸和黄豆芽)为氮源时, *UGP* 基因表达量明显上调, 酶活性更高, 菌丝胞内多糖含量也明显提高。其中蔗糖和麦麸处理下的 *UGP* 基因表达量、酶活性和菌丝胞内多糖含量最高。香菇菌丝 *UGP* 基因表达量、酶活性以及胞内多糖间存在明显的正相关关系。显示小分子碳源(蔗糖、麦芽糖和甘露糖)、有机氮源(麦麸和黄豆芽)有助于香菇菌丝多糖的合成, 其中蔗糖和麦麸可作为香菇液体发酵优势碳源和氮源。

关键词: 香菇多糖; UDP-葡萄糖焦磷酸化酶; 酶活性; 基因相对表达量

中图分类号: Q935 **文献标识码:** A **文章编号:** 0490-6756(2018)01-0214-07

Transcriptional expression profiles and enzyme activity of UGP from *Lentinus edodes* under different carbon and nitrogen sources

CHEN Xiao-Min, WU Hai-Bing, XIANG Quan-Ju, GU Yun-Fu, ZHANG Xiao-Ping

(College of Resources, Sichuan Agricultural University, Chengdu, 611130, China)

Abstract: Different carbon and nitrogen sources were used to culture the *Lentinula edodes* Xin808 in this study. The contents of intracellular polysaccharide were determined by phenol-sulfuric acid. The expression level of UDP-glucose pyrophosphorylase, UGP gene were analyzed by real-time quantitative PCR, and enzyme activity of UGP were also determined. The results showed that, comparing to the control, besides NH_4NO_3 treatment group, the rest of carbon and nitrogen sources could increase the biomass of *Lentinous edodes*, among which wheat bran exhibited as the best (0.63g). The small molecule (sucrose, maltose and mannose) as carbon sources and organic compounds(wheat bran and yellow bean sprouts) as nitrogen sources, *UGP* gene relative expression level obviously were up-regulated, increased UGP activity, promoted the biosynthesis of mycelium intracellular polysaccharide. With sucrose as carbon source and wheat bran as nitrogen source, the relative expression level of *UGP* gene, the activity of UGP and mycelium polysaccharide content were the highest. The expression level of *UGP* gene, the activity of UGPase and mycelium intracellular polysaccharide of *Lentinous edodes* showed high positive correlation

收稿日期: 2017-04-27

基金项目: 四川省“十三五”育种攻关项目(2016NYZ0040)

作者简介: 陈小敏(1992-), 女, 四川什邡人, 硕士研究生, 研究方向为微生物资源及分子生物学. E-mail: cxm598435151@163.com

通讯作者: 辜运富. E-mail: guyf@sicau.edu.cn

between the three. The small molecule carbon sources (sucrose, maltose and mannose) and organic nitrogen sources (wheat bran and yellow bean sprouts) were helpful to the biosynthesis of mycelium polysaccharide. Sugar and wheat bran could be used as advantage carbon source and nitrogen source under *Lentinus edodes* liquid fermentation.

Keywords: Lentinan; UDP-glucose pyrophosphorylase; Enzyme activity; Relative expression quantity

1 引言

尿苷二磷酸葡萄糖焦磷酸化酶(UDP-glucose pyrophosphorylase)是糖基转移酶家族中的关键酶,参与生物体碳水化合物代谢和细胞壁的生物合成,在细胞生命活动中发挥着重要作用^[1, 2]. 催化 Glc-1-p(glucose-1-phosphate)和 UDP-Glc(UDP-glucose)之间的相互转换,UDP-Glc 是多糖合成的前体物质,可作为合成蔗糖、纤维素、糖蛋白和其它碳水化合物的底物^[3]. 它处于糖代谢中交叉点位置,在糖与糖之间的动态转换过程中扮演着重要角色^[4],UGPase 影响生物体组织中各糖含量的分配,拟南芥 UGPase 在其营养生殖阶段碳代谢过程中扮演着重要的角色^[5];杨树 UGP 基因的表达在其生长后期细胞扩张和次级代谢产物生成过程中明显上调^[6];烟草中的 UGP 基因的过量表达,其植株的高度及茎的总干重同等增加^[7]. 对黑酵母菌 UGP 基因的研究发现,UGPase 活性越强,生成的支链淀粉产量越高^[8]. 因此,UGPase 不仅影响着植物细胞壁形成及细胞生长,在真菌细胞壁的形成和次级代谢产物的合成过程中扮演同样重要的角色.

食用菌多糖具有良好的药用和商业价值,UGPase 作为多糖代谢过程中的关键酶,对其研究将有利于提高食用菌多糖. 香菇(*Lentinula edodes*)作为一种深受消费者喜欢的食用菌,其生产量和消费量仅次于双孢蘑菇^[9]. 香菇多糖作为香菇重要的次级代谢产物之一,具有免疫调节、抗肿瘤、抗衰老等功能,因其生物活性强、毒性小、安全性高等而引起人们的关注^[10, 11]. 香菇活性成分的分离纯化及生物活性等已有诸多研究,但其多糖合成途径基础研究的缺乏阻碍了对香菇多糖的进一步开发利用. 随着香菇全基因组测序的完成,研究者可以从分子水平上揭示香菇多糖合成途径中关键酶基因和相关酶的调控机制.

碳氮源作为微生物生长发育的必需营养物质,是细胞骨架的主要组成部分,构成微生物自身的细胞物质和代谢产物,为机体提供维持生命活动的能量,同时,不同的碳氮源还影响菌丝体多糖的合

成^[12, 13]. 研究报道,不同碳氮源发酵条件下,香菇多糖的含量存在较大的差异^[10],但是其分子机理,尤其是关键酶在不同碳氮源发酵条件下酶活及其转录表达水平的变化的研究报道较少. 本文以香菇新 808 为研究材料,通过分析不同碳氮源培养条件下,香菇胞内多糖含量、UGPase 酶活性及 UGP 基因的转录表达特征,以期揭示不同碳氮源对香菇 UGPase 活性及其转录表达的影响,为进一步研究香菇多糖代谢的分子调控机制提供基础理论依据.

2 材料与方 法

2.1 材 料

菌种:香菇新 808,由本实验室保存.

试剂:UGPase 酶抽提缓冲液(2 mmol/L 二硫苏糖醇; 10 mmol/L MgCl₂; 1 mmol/L EDTA; 100 mmol/L Tris-HCl);反应缓冲液(2 U 磷酸葡萄糖变位酶;1 U 6-磷酸葡萄糖脱氢酶;20 μmol/L 1,6-二磷酸葡萄糖钾盐;5 mmol/L MgCl₂; 0.8 mmol/L UDPG;0.8 mmol/L NADP;10 mmol/L Tris-HCl).

表 1 培养基配方

Tab. 1 Culture medium component

| 培养基编号 | 碳源/含量(%) | 氮源/含量(%) | MgSO ₄ (%) | KH ₂ PO ₄ (%) |
|-------|----------|----------|-----------------------|-------------------------------------|
| 对照 | 葡萄糖/2 | | | |
| 1 | 蔗糖/2 | | | |
| 2 | 麦芽糖/2 | | | |
| 3 | 甘露糖/2 | 土豆/20 | | |
| 4 | 淀粉/4 | | | |
| 5 | 玉米粉/4 | | 0.15 | 0.2 |
| 6 | | 硝酸铵/1 | | |
| 7 | 蛋白胨/2 | | | |
| 8 | 葡萄糖/2 | 酵母膏/2 | | |
| 9 | 麦麸/70 | | | |
| 10 | 黄豆芽/70 | | | |

培养基参照徐思炜^[14]香菇液体发酵碳氮源配比,以不同的碳、氮源替代 PDA 培养基中的葡萄糖和土豆(表 1),同时以普通 PDA 液体培养基(pH 自然)为对照. 其中小分子碳源(蔗糖、麦芽糖

及甘露糖),大分子碳源(淀粉和玉米粉).无机氮源硝酸铵,有机氮源蛋白胨、酵母膏、麦麸和黄豆芽.玉米粉、麦麸和黄豆芽先用水浸泡 20 min,沸水煮 10 min,过滤取滤液.每 250 mL 三角瓶装样 100 mL,接种 3 块菌饼于培养基中,每个处理设置 3 个重复,25 °C 培养 30 d.

2.2 方法

2.2.1 菌丝生物量及多糖含量测定 菌丝体经纱布过滤,超纯水反复冲洗数次,置于 60 °C 烘干至恒重后称取生物量.

准确称取 0.50 g 烘干的菌丝,加入 50 mL 超纯水,静置 30 min 后,沸水回流提取 2 h.将液体转入离心管中,室温低速离心 5 min,上清液即为香菇菌丝体粗多糖提取液.

标准曲线的制备:无水葡萄糖 60 °C 烘干至恒重,精确称取 0.10 g,加水定容至 100 mL.分别吸取 0、20、60、100、160、200、300 μ L 葡萄糖标准溶液,水补足至 2 mL,各加入 1 mL 5% 的苯酚溶液和 5 mL 浓硫酸,室温下反应 30 min,490 nm 处比色测定其吸光度.

取 5 mL 菌丝体粗多糖提取液,加入 3 倍体积的无水乙醇,4 °C 过夜醇沉,室温离心 5 min,倒掉上清液,烘干沉淀物.加入超纯水使沉淀完全溶解,加入 1:1 的 Seavage 试剂(氯仿:正丁醇/5:1)去除蛋白质,吸取上清液,各加入 1 mL 5% 的苯酚溶液和 5 mL 浓硫酸,室温下反应 30 min,490 nm 处测定吸光度.

2.2.2 UGPase 酶活性测定 UGPase 活性测定参考张帆^[15]的方法进行.新鲜菌丝体洗净抽干,液氮研磨至粉末,倒入离心管中,加入 1 mL 抽提缓冲液,4 °C,12000 r/min 离心 20 min,上清液即为粗酶液.酶活反应体系为 1 mL,其中 960 μ L UGPase 酶反应缓冲液,粗酶液 30 μ L,最后加入 100 mmol/L 焦磷酸钾盐 10 μ L,迅速混匀后开始反应,30 °C 反应 7 min,每 30 s 记录 340 nm 下的吸光值.30 °C 时每分钟形成 1 μ mol 的葡萄糖-1-P 为一个酶活力单位(U),UGPase 比活力定义为每 mg 中所含的酶活力为一个比活力单位.

2.2.3 UGP 基因相对表达量 采用 Trizol 法提取菌丝体 RNA^[16, 17],按照 FastKount RT Kit 反转录试剂盒的步骤操作合成 cDNA.根据香菇 UGP 基因序列^[18],利用 Primer-BLAST 软件(<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/tools/primer-blast/>)设计 UGP 基因的引物 UGPase-F (5'-

GACGGCCAAGGGGTTATTCA-3') 和 UGPase-R (5'-TTGACCGTGGCTCAAAGAGT-3').以 cDNA 为模板进行普通 PCR 扩增,扩增体系 20 μ L:2 \times Taq PCR Master Mix 10 μ L(TIANGEN),cDNA 2 μ L,引物各 0.2 μ L,ddH₂O 补足至 20 μ L.扩增程序:95 °C 5 min;95 °C 30 s,58 °C 15 s,72 °C 30 s,35 个循环;72 °C 10 min.对扩增产物进行纯化,纯化后连接到 pGM-T 载体上,将连接产物转入 *E. coli* DH5 α 感受态细胞中,挑取阳性克隆送到擎科测序公司(成都)进行测序,对引物进行验证.

UGP 基因的定量分析采取 SYBR green 法,使用 18S 基因作为内参基因,qRT-PCR 反应体系为(20 μ L):Green Master Mix(Vazyme) 10 μ L、Forward 和 Reverse 引物各 100 nM、Rox Reference Dye 1 0.4 μ L、不同碳氮源模板 cDNA 10 ng,加入 ddH₂O 补充至 20 μ L.反应程序为:95 °C 5 min,95 °C 10 s,60 °C 30 s 40 个循环.

2.2.4 数据处理 实验数据使用 Excel 进行平均值和标准值计算,SPSS 进行方差、显著性和相关性分析.基因相对表达量结果采用 2^{- $\Delta\Delta$ Ct} 法计算.

3 结果与分析

3.1 不同碳氮源对菌丝生物量的影响

与常规的 PDA 液体培养基相比较,不同的碳、氮源对香菇菌丝体生物量产生明显影响(表 2 和表 3).与对照组相比,其它条件的碳源均提高了香菇菌丝体的生物量,其中以淀粉作为碳源效果最为明显,其生物量较对照增加了 2.63 倍.硝酸铵作为氮源抑制了香菇菌丝的生长,其生物量明显低于对照组,而其它氮源均提高香菇菌丝体的生物量,其中以麦麸为氮源,香菇菌丝生长最旺盛,其菌丝体生物量最高,生物量显著高于其它处理组.

表 2 不同碳源处理下菌丝体生物量

Tab. 2 Mycelium biomass under different carbon resources

| 处理组 | 菌丝体生物量 (g) | 处理组 | 菌丝体生物量 (g) |
|-----|------------------|-----|------------------|
| CK | 0.19 \pm 0.01a | 蔗糖 | 0.43 \pm 0.01d |
| 麦芽糖 | 0.22 \pm 0.01b | 甘露糖 | 0.36 \pm 0.01c |
| 淀粉 | 0.50 \pm 0.02f | 玉米粉 | 0.45 \pm 0.03e |

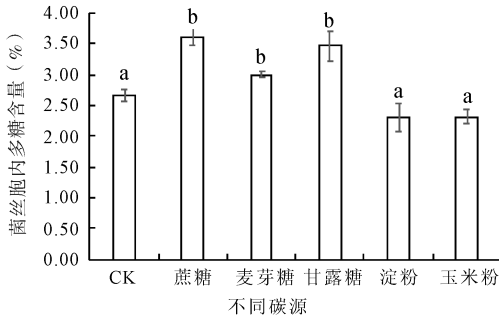
表 3 不同氮源处理下菌丝体生物量

Tab. 3 Mycelium biomass under different nitrogen resources

| 处理组 | 菌丝体生物量 (g) | 处理组 | 菌丝体生物量 (g) |
|-----|------------------|-----|------------------|
| CK | 0.19 \pm 0.01b | 硝酸铵 | 0.12 \pm 0.01a |
| 蛋白胨 | 0.26 \pm 0.01c | 酵母膏 | 0.35 \pm 0.02d |
| 麦麸 | 0.63 \pm 0.04f | 黄豆芽 | 0.50 \pm 0.02e |

3.2 不同碳、氮源对菌丝胞内多糖含量的影响

不同碳、氮源培养条件下香菇菌丝胞内多糖含量存在差异(图 1). 以小分子糖(蔗糖、麦芽糖和甘露糖)作为碳源,其胞内多糖含量明显高于对照组,其中以蔗糖为碳源时,菌丝胞内多糖含量最高(3.60%),是对照组的 1.35 倍. 而其他碳源培养条件下,胞内多糖的含量与对照接近. 与无机氮源相比,有机大分子氮源能有效提高菌丝体多糖含量,其中



以麦麸和黄豆芽为氮源时,菌丝体胞内多糖含量较高,分别为 3.86%和 3.50%,是对照组的 1.45 倍和 1.31 倍,而其它氮源发酵条件下菌丝体多糖含量均低于对照组,其中以无机氮源硝酸铵为氮源时,菌丝体多糖最低(1.20%). 研究结果表明以小分子单糖(蔗糖、麦芽糖和甘露糖)为碳源、有机氮源(麦麸和黄豆芽)为氮源时,更有利于香菇菌丝体胞内多糖的合成.

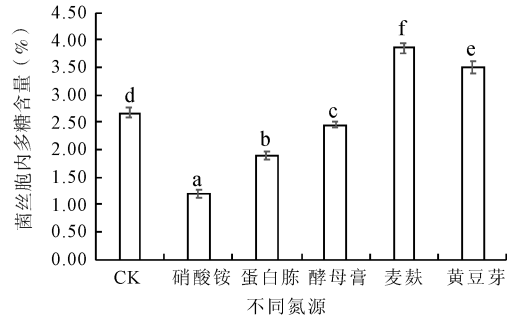


图 1 不同碳氮源下菌丝胞内多糖含量

Fig. 1 Contents of mycelial intercellular polysaccharide under different carbon and nitrogen sources

3.3 不同碳、氮源对 UGP 酶活性的影响

UGP 是参与多糖合成的关键酶,为了进一步阐明不同碳氮源培养条件下香菇多糖含量差异的分子机理,我们对香菇菌丝体 UGPase 酶活性进行了测定. 结果显示(图 2),不同碳、氮源培养条件下 UGPase 酶活性存在明显的差异. 小分子碳源(蔗糖、麦芽糖和甘露糖)培养条件下,菌丝 UGPase 酶活性高于对照组,其中以蔗糖为碳源时,菌丝 UGP

活性最强(4043.80 U/mg). 麦麸和黄豆芽能有效提高菌丝 UGPase 酶活性,以麦麸为氮源时,UGP 酶活性较高(3873U/mg),为对照组的 1.70 倍. 而以硝酸铵为氮源时,UGP 酶活性最低. 由此可以看出,小分子碳源(蔗糖、麦芽糖和甘露糖)和有机复合物氮源(麦麸和黄豆芽)有助于提高菌丝体 UGP 酶活性.

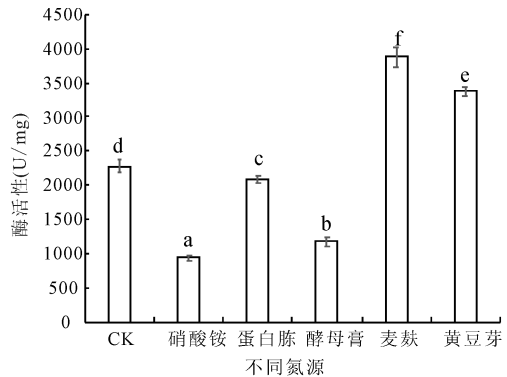
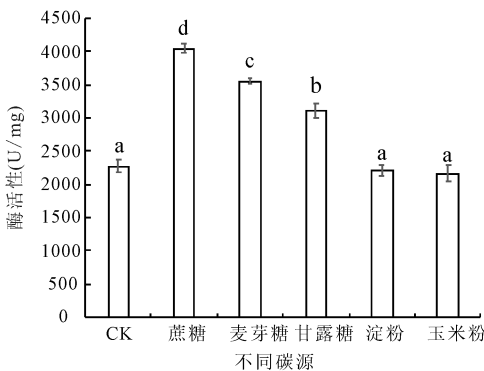


图 2 不同碳氮源对 UGP 酶活性的影响

Fig. 2 Activities of UGP under different carbon and nitrogen sources

3.4 不同碳、氮源对 UGP 基因表达量的影响

为进一步了解在不同碳氮源处理下,香菇 UGP 在基因转录水平上的表达情况,我们利用实时定量 PCR 分析了不同碳氮源条件下 UGP 基因的相对表达量. 结果显示(图 4),不同碳氮源处理

下 UGP 基因的转录表达存在差异性. 以蔗糖、麦芽糖和甘露糖为碳源时,UGP 基因的表达量明显上调,其中蔗糖培养条件下,UGP 基因表达量上调最为显著,是对照组的 8.19 倍. 而其它碳源培养条件下,UGP 基因的转录表达水平下调. 酵母膏为氮

源发酵条件下,其 *UGP* 基因的相对表达量较对照组小幅度上调.以麦麸和黄豆芽为氮源时,*UGP* 基因的表达量明显上调,其中麦麸作为碳源时,*UGP* 基因的表达量比对照上调约 6.52 倍.而以硝酸铵

和酵母膏为氮源时,*UGP* 基因的表达量均低于对照组.由此可知,*UGP* 基因的转录表达水平在以小分子糖(蔗糖、麦芽糖和甘露糖)为碳源、以有机氮源(酵母膏、麦麸和黄豆芽)为氮源时明显上调.

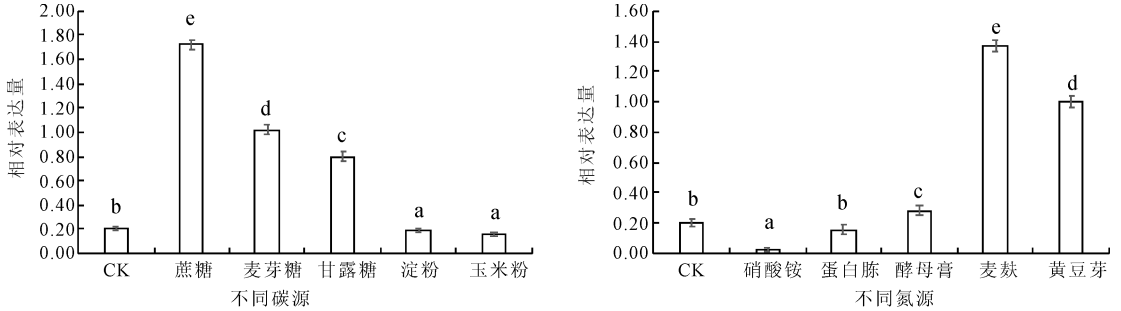


图 3 不同碳氮源条件下 *ugp* 基因转录表达量

Fig. 3 Transcription expression profiles of *ugp* under different carbon and nitrogen sources

4 讨论

碳代谢在生物体生命活动中占据中心位置,影响生物体生长发育及次级代谢产物的合成.香菇作为广泛栽培食用菌,其主要的活性物质多糖具有良好的药用价值,因此受到广泛关注.然而,对香菇多糖代谢途径的研究报道较少.香菇全基因组测序的完成^[18],将有助于从分子水平上解析代谢途径中关键酶对多糖合成的影响.

碳氮源是影响食用菌生长发育的重要因子. Elisashvili^[19]研究碳氮源对担子菌产量及多糖的影响,发现以葡萄糖、麦芽糖和甘露糖为碳源,有机大分子复合物为氮源时,有利于多糖的积累和提高菌丝生物量.对拟青霉菌的液体发酵研究发现,葡萄糖和甘露糖作为碳源能提高多糖产量^[20].在本研究中,小分子碳源(蔗糖、麦芽糖和甘露糖)同样可以提高香菇多糖的产量,表明小分子速效碳源在菌丝代谢过程中能被快速吸收利用.有机氮源(麦麸和黄豆芽)促进了香菇菌丝的生长,提高了其菌丝生物量及胞内多糖含量.这与金针菇液体发酵过程中能更好地利用有机氮源(如麦麸),从而提高了菌丝生物量及多糖含量的研究结果一致^[21],说明麦麸作为氮源,有利于提高食用菌多糖含量及生物量.

多糖合成过程是一个复杂的代谢途径,涉及诸多酶的参与,其中焦磷酸化酶(*UGP*)在多糖合成过程中起着关键作用.*UGP*广泛存在于动植物及微生物中,在生物体碳代谢过程中扮演着重要的角色,影响细胞生长发育,为次级代谢产物的合成提

供糖基供体.*UGPase*酶活性以及*ugp*基因表达量的变化与植物的糖代谢、生长发育等生理过程息息相关^[22].棉花*UGP*参与其纤维素、糖类化合物的合成^[23],三角褐指藻*UGP*酶活性的丧失导致其糖类化合物含量显著降低^[22].在真菌多糖代谢途径中,*UGP*也发挥至关重要的作用.灵芝*UGPz*影响着灵芝多糖的合成、细胞壁结构完整性和菌丝分化^[24].敲除柑橘溃疡病菌*ugp*基因将导致细胞内UDP-Glc(多糖合成的前体物质)浓度的减少,细胞生长发生异常,阻碍了胞内胞外多糖的合成^[25].酵母*ugp*基因的敲除,使得细胞壁 β -葡聚糖和细胞糖原浓度降低^[26].在本研究中,小分子糖(蔗糖、麦芽糖及甘露糖)作为碳源时,菌丝体*UGPase*酶活性明显高于大分子碳源处理组;有机复合氮源(麦麸、黄豆芽)能有效提高菌丝体*UGPase*酶活性.张帆^[15]等分析转基因紫芝*UGPase*活性与胞内多糖的相关性,结果表明胞内多糖含量与酶活性之间存在较高的正相关.进一步分析本试验中不同碳氮源培养条件下香菇*UGP*酶活性与菌丝胞内多糖产量之间的关系,*UGP*酶活性与菌丝胞内多糖含量的相关系数为0.89,说明香菇*UGP*酶活性与菌丝多糖存在正相关,*UGP*酶活性越高,其菌丝多糖产量越高.

为了进一步分析*UGPase*对多糖含量的影响机制,我们分析了不同碳氮源发酵条件下,*UGP*基因的转录表达水平.不同碳氮源培养条件下香菇菌丝体*UGP*基因表达量存在明显的差异,其中以小分子糖(蔗糖、麦芽糖和甘露糖)为碳源和以有机大分子复合物(麦麸和黄豆芽)为氮源的发酵条件

下,菌丝体 *ugp* 基因的转录表达水平显著上调.前人研究表明,经蔗糖处理后的拟南芥及马铃薯叶片基因的转录水平发生上调,UGP 酶活性也明显提高,表明蔗糖可以诱导 UGP 基因的表达及促进 UGP 酶活^[27, 28].与此相对应,在本研究中以蔗糖为碳源时,香菇菌丝 UGP 基因表达量及 UGPase 酶活性均较高,这说明蔗糖作为碳源可诱导香菇菌丝 UGP 基因的表达.将醋酸菌及棉花的 UGP 基因导入烟草中,发现转基因烟草中 UGP 基因表达量增加,UGP 酶活性也增强^[7].本研究中,分析 UGP 基因转录水平与 UGP 酶活性之间的相关性发现香菇 UGP 基因的表达量与 UGP 酶活性之间存在较高的正相关,不同碳氮源发酵条件下 UGP 基因转录表达水平与 UGP 酶活性变化一致,UGP 基因的表达量越高,其 UGP 酶活性也越高.

综上所述可以看出,小分子碳源(蔗糖、麦芽糖和甘露糖)、有机氮源(麦麸和黄豆芽)可以促进香菇菌丝 *ugp* 基因的转录表达水平,提高 UGP 酶活性及香菇菌丝胞内多糖含量.不同碳氮源发酵条件下,香菇菌丝 UGP 基因转录表达水平、UGP 酶活性以及菌丝胞内多糖含量三者之间显示出较高的正相关性,UGP 基因表达量上调,提高了 UGP 酶活性,从而促进了香菇菌丝胞内多糖的合成.蔗糖和麦麸作为最佳碳源和氮源,其 UGP 基因转录表达水平、UGP 酶活性以及菌丝多糖含量最高,可作为香菇液体发酵工艺中的潜在碳源和氮源.香菇多糖合成是一个复杂的代谢过程,在后续试验过程中,我们将进一步分析不同碳氮源发酵条件下,碳水化合物酶(CAZyme)家族与多糖含量及成分的关系,以期进一步揭示香菇糖代谢途径中关键酶在多糖合成代谢过程中发挥的作用.

参考文献:

- [1] Lamerz A C, Haselhorst T, Bergfeld A K, *et al.* Molecular cloning of the *Leishmania* major UDP-glucose pyrophosphorylase, functional characterization, and ligand binding analyses using NMR spectroscopy[J]. *J Biol Chem*, 2006, 281: 16314.
- [2] Chen R, Zhao X, Shao Z, *et al.* Rice UDP-glucose pyrophosphorylase1 is essential for pollen callose deposition and its cosuppression results in a new type of thermosensitive genic male sterility [J]. *Plant Cell*, 2007, 19: 847.
- [3] Kleczkowski L A, Geisler M, Cierieszko I, *et al.* UDP-glucose pyrophosphorylase. An old protein with new tricks [J]. *Plant Physiol*, 2007, 134: 912.
- [4] Park J I, Ishimizu T, Suwabe K, *et al.* UDP-glucose pyrophosphorylase is rate limiting in vegetative and reproductive phases in *Arabidopsis thaliana* [J]. *Plant Cell Physiol*, 2010, 51: 981.
- [5] Jiang S S, Lin T Y, Wang W B, *et al.* Characterization of UDP-glucose dehydrogenase and UDP-glucose pyrophosphorylase mutants of *Proteus mirabilis*: Defectiveness in polymyxin B resistance, swarming, and virulence [J]. *Antimicrob Agents Chemother*, 2010, 54: 2000.
- [6] Hertzberg M, Aspeborg H, Schrader J, *et al.* A transcriptional roadmap to wood formation [J]. *Proc Nat Acad Sci USA*, 2001, 98: 14732.
- [7] Coleman H D, Ellis D D, Gilbert M, *et al.* Up-regulation of sucrose synthase and UDP-glucose pyrophosphorylase impacts plant growth and metabolism [J]. *Plant Biotechnol J*, 2006, 4: 87.
- [8] Duan X, Chi Z, Wang L, *et al.* Influence of different sugars on pullulan production and activities of α -phosphoglucose mutase, UDPG-pyrophosphorylase and glucosyltransferase involved in pullulan synthesis in *Aureobasidium pullulans* Y68 [J]. *Carbohydr Polym*, 2008, 73: 587.
- [9] Szeto C Y, Wong Q W, Leung G S, *et al.* Isolation and transcript analysis of two-component histidine kinase gene *Le. nik1* in Shiitake mushroom, *Lentinula edodes* [J]. *Mycol Res*, 2008, 112: 108.
- [10] Yu S, Weaver V, Martin K, *et al.* The effects of whole mushrooms during inflammation [J]. *BMC Immunol*, 2009, 10: 121.
- [11] Chandra L C, Smith B J, Clarke S L, *et al.* Differential effects of shiitake- and white button mushroom-supplemented diets on hepatic steatosis in C57BL/6 mice [J]. *Food Chem Toxicol*, 2011, 49: 3074.
- [12] Chen N Y, Hsu T H, Lin F Y, *et al.* Effects on cytokine-stimulating activities of EPS from *Tremella mesenterica* with various carbon sources [J]. *Food Chem*, 2006, 99: 92.
- [13] Smiderle F R, Olsen L M, Ruthes A C, *et al.* Exopolysaccharides, proteins and lipids in *Pleurotus pulmonarius*, submerged culture using different carbon sources [J]. *Carbohydr Polym*, 2012, 87: 368.
- [14] 徐思炜,张君胜,周雯.香菇液体菌种培养条件优化[J].*江苏农业科学*, 2014: 290.

- [15] 张帆, 钟威, 穆虹, 等. 过量表达 OsUgp2 基因提高紫芝多糖含量[J]. 菌物学报, 2011: 442.
- [16] 陈霞连, 杨华侨, 黎佳欣, 等. 美容杜鹃 RcHsfB3 基因的克隆及表达分析[J]. 四川大学学报: 自然科学版, 2017, 54: 405.
- [17] Ren A, Li M J, Shi L, *et al.* Profiling and quantifying differential gene transcription provide insights into Ganoderic Acid biosynthesis in *Ganoderma lucidum* in response to methyl jasmonate[J]. Plos One, 2013, 8: e65027.
- [18] Chen L, Gong Y, Cai Y, *et al.* Genome sequence of the edible cultivated mushroom *Lentinula edodes* (Shiitake) reveals insights into lignocellulose degradation [J]. Plos One, 2016, 11: 1.
- [19] Elisashvili V I, Kachlishvili E T, Wasser S P. Carbon and nitrogen effects on basidiomycetes exopolysaccharide production [J]. Appl Biochem Microb, 2009, 45: 531.
- [20] Wu Z, Yang Z, Dan G, *et al.* Influences of carbon sources on the biomass, production and compositions of exopolysaccharides from *Paecilomyces hepiali*, HN1[J]. Biomass Bioenergy, 2014, 67: 260.
- [21] 金月波, 任一英, 矫天育. 碳源和氮源对金针菇菌丝体生物量及多糖产量的影响[J]. 辽宁农业职业技术学院学报, 2008(03): 1.
- [22] 石红萍. 三角褐指藻尿苷二磷酸葡萄糖焦磷酸化酶在碳流分配中的功能[D]. 青岛: 中国海洋大学, 2015.
- [23] Wang Q, Zhang X, Li F, *et al.* Identification of a UDP-glucose pyrophosphorylase from cotton (*Gossypium hirsutum* L.) involved in cellulose biosynthesis in *Arabidopsis thaliana* [J]. Plant Cell Rep, 2011, 30: 1303.
- [24] Li M, Chen T, Gao T, *et al.* 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 Genet Biol, 2015, 82: 251.
- [25] Guo Y, Sagaram U S, Kim J S, *et al.* Requirement of the *galU* gene for polysaccharide production by and pathogenicity and growth in planta of *Xanthomonas citri* subsp. *citri* [J]. Appl Environ Microb, 2010, 76: 2234.
- [26] Marc D J, Walter B, Jean F. Physiological and morphological effects of genetic alterations leading to a reduced synthesis of UDP-glucose in *Saccharomyces cerevisiae* [J]. FEMS Microbiol Lett, 1997, 153: 89.
- [27] Cierieszko I, Johansson H, Kleczkowski L A. Sucrose and light regulation of a cold-inducible UDP-glucose pyrophosphorylase gene via a hexokinase-independent and abscisic acid-insensitive pathway in *Arabidopsis* [J]. Biochem J, 2001, 354: 67.
- [28] Johansson H. Gene regulation of UDP-glucose synthesis and metabolism in plants [D]. Sweden: Umea University, 2003.