

文章编号: 1004-0374(2013)11-1053-06

影响真菌漆酶表达及其活性的因素

陈带娣, 牛杰振, 余晓媛, 严金平*, 伊日布斯

(昆明理工大学生命科学与技术学院, 昆明 650500)

摘要: 丝状真菌同一菌株中存在动力学、理化特性各异的多个漆酶同工酶。金属离子, 碳、氮等培养基成分, 培养条件, 以及异生物质、热休克处理和共培养的菌株等多种生物和非生物的因素对真菌漆酶同工酶表现出选择性诱导效应。影响真菌漆酶表达及其调控因素的研究能指导漆酶的选择性合成, 以满足不同的应用需求。主要阐述影响真菌漆酶表达及其活性的因素的相关研究进展。

关键词: 真菌漆酶; 表达调控; 非生物因素; 生物因素

中图分类号: Q554; Q814.9 **文献标志码:** A

The factors affecting the expression and activity of laccase in fungi

CHEN Dai-Di, NIU Jie-Zhen, YU Xiao-Yuan, YAN Jin-Ping*, CHAGAN Irbis

(Faculty of Life Science and Technology, Kunming University of Science and Technology, Kunming 650500, China)

Abstract: Many laccase isoforms are present in the same strain of fungi, and they possess different kinetic or physicochemical features. The selective induction of the laccase isoforms can be affected by many biotic and abiotic factors, including metal ion, carbon, nitrogen, culture conditions, xenobiotics, heat shock treatment and co-cultured strains. Researches on the expression and regulation of fungal laccase can provide the guides for the selective synthesis of laccase to meet different application. This review focuses on the recent progress in the regulation of expression and activity of fungal laccase.

Key words: fungal laccase; expression regulation; abiotic factors; biotic factors

漆酶 (EC1.10.3.2, laccase, lac) 是一种含铜的多酚氧化酶, 属于蓝色多铜氧化酶家族, 它能以分子氧作为电子受体, 非特异性地氧化多种酚类和非酚类物质, 在生物制浆、食品工业、木材加工、生物合成、生物能源、生物检测和生物修复等领域中有着多种现实和潜在的应用价值^[1-2]。

漆酶在植物、真菌、少数昆虫和细菌等物种中广泛分布。真菌, 尤其是担子菌门中的白腐菌是主要的漆酶生产者。多种生物和非生物因素能影响漆酶的表达及其活性, 其中非生物因素有 Cu^{2+} 、 Mn^{2+} 、 Fe^{2+} 等金属离子^[3-4] 和碳、氮等培养基成分^[5], 以及 O_2 浓度^[6]、培养条件^[7-8]、异生物质^[9-10]、热休克处理^[11] 等, 而生物因素主要是共培养的菌株^[12]。

丝状真菌同一菌株中存在动力学、理化特性各异的多个漆酶同工酶^[13-14], 且在不同条件下漆酶同工酶及其基因的表达表现出选择性诱导效应^[7,12-18]

对影响真菌漆酶表达的因素及其调控机制的研究, 能指导漆酶的选择性合成以满足不同的应用需求。本文主要阐述影响真菌漆酶表达及其活性的相关研究进展。

1 非生物因素对漆酶表达及其活性的影响

1.1 金属离子

1.1.1 Cu^{2+}

漆酶是一种含铜的多酚氧化酶, Cu^{2+} 对漆酶的表达及其活性具有显著的影响。 Cu^{2+} 对同一菌种的漆酶活性的影响表现出浓度依赖性, 且 Cu^{2+} 对不同的漆酶同工酶诱导效率不同。在 Cu^{2+} 存在的培养基

收稿日期: 2013-04-07; 修回日期: 2013-05-19

基金项目: 云南省应用基础研究计划(2010ZC057)

*通信作者: E-mail: jpyan2007@gmail.com; Tel: 13759103505

中, 云芝栓孔菌 (*Trametes versicolor*) 漆酶活性提高了 310 倍^[19]。Cu²⁺ 能诱导云芝栓孔菌的两个同工酶 (LacA 和 LacB) 表达, 且 *lacA* 的表达量是 *lacB* 的 2 倍^[20]。Lorenzo 等^[21] 的研究表明, 云芝栓孔菌在 3.5 mmol/L Cu²⁺ 诱导下能达到最高漆酶活性 (约 8 U/mL), 约为对照组的 25 倍。当 Cu²⁺ 浓度为 5 mmol/L 时, 云芝栓孔菌漆酶总活性下降, 但漆酶同工酶 LacI/LacII 比值升高。在 0~10 μmol/L 范围内, Cu²⁺ 能显著地提高粗糙脉孢菌 (*Neurospora crassa*) 漆酶活性, 10 μmol/L 时漆酶酶活最高, 可达 4.01 U/mL, 是不加 Cu²⁺ 的 2.62 倍。当大于 10 μmol/L 时, 漆酶酶活开始降低, 15 μmol/L 时抑制明显^[22]。不同真菌菌株漆酶对 Cu²⁺ 的敏感性有差异。0.5 mmol/L Cu²⁺ 处理下, 树舌灵芝 F (*Ganoderma applanatum* F)、隔孢伏革 BAFC633 (*Peniophora* sp. BAFC633)、血红密孔菌 BAFC2126 (*Pycnoporus sanguineus* BAFC2126) 和云芝栓孔菌 BAFC266 (*Trametes versicolor* f. antarcticus BAFC266) 漆酶活性分别较对照组提高 49.2 倍、19.7 倍、27.7 倍和 7.6 倍。此外, 在含 Cu²⁺ 时, *Gano-derma applanatum* F、*Peniophora* sp. BAFC633、*Trametes versicolor* f. antarcticus BAFC266 的漆酶同工酶谱都多了一条条带, 其相对分子质量大小分别为 7.5×10⁴、12.05×10⁴、10.3×10⁴^[3]。

对 Cu²⁺ 诱导漆酶表达及其活性的生理和分子机制的研究认为: 漆酶与防止金属摄入的天然色素的合成有关^[23], 漆酶能被 Cu²⁺ 等有毒金属诱导可能是面对毒性压力而做出的一种防御。另一个可能的原因是漆酶含有铜的结合位点, 漆酶的诱导表达是通过螯合 Cu²⁺ 提高菌体抵抗氧化压力的能力^[24], 该机制与酵母通过产生铜离子螯合剂的 Cu-金属硫蛋白来抵抗铜离子的毒害这一方式相似^[25]。目前, 已有不少的白腐真菌漆酶的启动子被分离, 不少研究者认为 ACE 元件是 Cu²⁺ 诱导漆酶的一个必不可少的转录元件, 源于对酿酒酵母的特性分析, ACE 是 ACE 铜离子-响应转录因子的目标序列。Lálvarez 等^[26] 分离并分析弯孢拟蜡菌 (*Ceriporiopsis subvermispora*) 的 ACE1 型转录因子的特性以及分析漆酶的转录水平, 推测 Cu²⁺ 通过漆酶的启动子中的 ACE1-型转录因子间接地激活了漆酶基因的转录。

1.1.2 其他金属离子

Mn²⁺ 也影响漆酶的表达及其活性, 且对不同的菌株其生理效应有所不同。浓度为 100~150 μmol/L 的 Mn²⁺ 能增加粗糙脉孢菌中漆酶的活性, 当 Mn²⁺ 浓度大于 150 μmol/L 时, 则抑制其漆酶的

活性^[22]。Mn²⁺ 对竹黄 (*Shiraia bambusicola*) 产漆酶能力的影响不明显^[27]。Mn²⁺ 对微酸多年卧孔菌 (*Perenniporia subacida*) 产漆酶有促进作用^[6]。在 300 μmol/L MnSO₂ 作用下, 凤尾菇 (*Pleurotus sajorajju*) 中 *lac1*、2 和 4 表达分别提高了 1.5、2.1 和 3 倍, 总漆酶活性提高了 1.5 倍^[25]。Mn²⁺ 还可诱导 *Clitocybula dusenii* 和 *Nematoloma frowardii* 漆酶的合成, 但却抑制 *Ceriporiopsis subvermispora* 漆酶的表达^[28]。此外, Ag⁺、Al³⁺、Fe²⁺、Mg²⁺、K⁺、Na⁺、Zn²⁺、La³⁺、Ce³⁺ 等对 *Shiraia bambusicola* 所产漆酶的相对酶活的影响分别是 52%、43%、38%、34%、27% 和 9%^[27]。司静等^[29] 研究表明, Ca²⁺ 和 Fe³⁺ 强烈地抑制 *Trametes* sp. Cui 6300 产酶, 而 Mn²⁺ 促进其产酶, Na⁺ 和 K⁺ 对其产酶无影响。Lebrun 等^[19] 研究表明, Zn²⁺ 对 *Trametes versicolor* 产漆酶能力的影响不明显, 但 Cd²⁺ 和金属鸡尾酒 (ZnSO₄、CuSO₄、CdSO₄ 和 PbCl₂) 都刺激漆酶的生产, 且漆酶同工酶 LacA 和 LacB 对 Cd²⁺ 和金属鸡尾酒十分敏感, 在 1 mmol/L Cd²⁺ 下, *lacA* 的表达量是 *lacB* 的 2 倍, 在金属鸡尾酒条件下, *lacA* 的表达量是 *lacB* 的 8 倍^[20]。

1.2 碳、氮源

真菌能利用葡萄糖、淀粉、麦芽糖、甘油、纤维二糖、羧甲基纤维、木质素、麸皮、甘蔗渣、木屑等多种碳源产生漆酶^[30], 但不同碳源对漆酶诱导效率不同。

以麦芽提取物为碳源时, 猪苓 PG15 (*Polyporus* sp. PG15) 最高漆酶活性为 13 800 U/L, 是蔗糖碳源的 21 倍^[31]。木屑、小麦秆、大麦秆和大麦麸等木质纤维素类碳源能显著地诱导云芝栓孔菌中漆酶的产生, 特别是大麦麸^[32]。绒毛革盖菌 (*Coriolopsis rigida*) 中的研究也表明, 大麦麸有利于漆酶产生^[33]。大麦麸等木质纤维素底物促进漆酶产生的原因可能有: 木质纤维素底物为该真菌提供了与其自然习性相近的环境, 表面粗糙多孔的结构有利于真菌的附着, 纤维素底物能激活漆酶的活性等^[32]。但 Moldes 等^[34] 利用粗毛栓菌 (*Trametes hirsuta*) 通过 SSF (solid fermentation) 产漆酶发现, 底物含有更高的木质素不利于漆酶的产生。除底物的种类, 底物的物理特性也会影响漆酶的产生。粗皮侧耳 IE-8 (*Pleurotus ostreatus* IE-8) 在各种颗粒大小的培养基中均有高漆酶产量, 其中中等大小的颗粒 (1.68 mm) 的漆酶产量最高为 0.04 IU/g (干重), 而粗皮侧耳 CP-50 (*Pleurotus ostreatus* CP-50) 的漆酶产量

不受底物特性的影响^[35]。因此, 碳源种类及其物理特性对漆酶产量的影响还与菌株相关^[33]。

一般而言, 有机氮源能同时提高菌体和漆酶产量, 而无机氮源则只提高菌体产量^[28]。司静等^[29]研究表明, 在多种氮源(蛋白胨、酵母膏、牛肉膏、硫酸铵、硝酸钾、尿素)下, 蛋白胨对 *Trametes* sp. Cui 6300 产酶的促进效果最明显, 且与无机氮源相比, 有机氮源更有利于该菌产酶。在含硫酸铵的培养基中, 毛栓菌(*Trametes trogii*) *lcc1* 不表达, 也无漆酶活性; 而在含酵母提取物、真菌蛋白或胰蛋白胨的培养基中, 漆酶的活性被激活, 因此, 高浓度的有机氮有利于 *Trametes trogii* 漆酶的合成^[5]。在高氮条件下, *Pleurotus sajorcaju* 中 *lac2* 和 *lac4* 的转录水平分别提高了 16 倍和 30 倍^[25]; 而 Placková 等^[9] 研究表明, 氮源限制更有利于 *Trametes versicolor* 167 产生漆酶。但不同菌株受氮源诱导产漆酶的效应不同。Stajic 等^[36] 研究表明, 无机氮也能提高漆酶的产量, 且产量与氮源的浓度有关。*Pleurotus eryngii* 漆酶的最高活性(246.4 U/L)在以 $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 为氮源, 其浓度为 20 mmol/L 下获得, 随着氮源浓度的提高活性下降, 氮源浓度为 40 mmol/L 时, 漆酶活性只有 68.3 U/L (下降了 72%)。*Pleurotus ostreatus* 493 漆酶的最高活性(445 U/L)在以 $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 为氮源, 其浓度为 30 mmol/L 下获得, 随着氮源浓度的提高活性下降, 氮源浓度为 60 mmol/L 时, 漆酶活性下降了 36%。肺形侧耳(*Pleurotus pulmonarius*) 漆酶的最高活性(441.0 U/L)则是在以 NH_4Cl 为氮源时获得。

1.3 异生物质

木质素及与其结构类似的异生物质对真菌产漆酶的诱导效应十分显著。*p*-对羟基丙烯酸、愈创木酚、*p*-甲氧基苯酚和阿魏酸分别使 *Trametes* sp.I-62 漆酶活性提高 253 倍、73 倍、71 倍和 58 倍^[10]。在多氯联苯的诱导下, *Trametes versicolor* 漆酶活性可达 1 439 U/g, 是对照组的 42 倍^[9]。2,4,6-三硝基甲苯、3,4-二甲氧基苯甲酸和联苯三酚能诱导一色齿毛菌(*Cerrena unicolor*) 中漆酶的产生^[30]。二甲苯(300 $\mu\text{mol/L}$)、对羟基苯三唑-水(100 $\mu\text{mol/L}$)、阿魏酸(100 $\mu\text{mol/L}$)和 3,4-二甲氧基苯甲酸(500 $\mu\text{mol/L}$) 分别使 *Pleurotus sajorcaju* 漆酶活性提高约 21、16、10 和 5 倍^[25]。

异生物质对同一真菌菌株中不同漆酶同工酶基因的诱导效应有所不同。*Corioloopsis rigida* 中紫丁香酸能诱导 *lcc1* 和 *lcc2* 转录, 而 2,6-二甲氧基-1,4-

苯醌却能诱导 *lcc2* 和 *lcc3* 的转录^[37]。*Trametes* sp.I-62 中愈创木酚、*p*-对羟基丙烯酸、阿魏酸均能诱导 *lcc* 基因的转录, 其中愈创木酚和 *p*-对羟基丙烯酸只诱导 *lcc1* 和 *lcc2* 转录, 而阿魏酸却能诱导 3 种 *lcc*^[10]。朱红密孔菌(*Pycnoporus cinnabarinus*) 中 2,5-二甲苯胺能诱导 *lcc3-1* 的转录量提高约 50 倍, 而 *lcc3-2* 的表达量则不受影响^[38]。在含有 2,5-二甲苯胺的培养基中, 虎皮香菇(*Panus tigrinus*) 的漆酶活性比不含的要高 35 倍。然而, 2,5-二甲苯胺只对 *Panus tigrinus* 两个漆酶同工酶(*lac1Pt* 和 *lac2Pt*) 中的 *lac1Pt* 的转录有诱导作用^[39]。

不同的异生物质对不同的菌株及同一菌株中不同的漆酶同工酶基因诱导效应存在差异, 这可能与其诱导剂的化学结构对菌种的毒害程度、被诱导菌的菌株特性和各漆酶基因的表达模式有关^[10]。漆酶受异生物质诱导表达的生物学意义可能是真菌为抵抗有毒芳香化合物而作出的响应, 作为一种防御机制, 漆酶能降低与这些分子反应时产生的氧自由基所造成的氧化胁迫^[10,25,28,37]。漆酶受调控的分子机制可能是真菌漆酶的启动子区存在异生物质-响应元件(xenobiotic-responsive elements, XREs)^[25]。

1.4 其他因素

培养基的组成成分和发酵条件, 诸如发酵状态(固体或液体)、pH、温度、溶氧量等也影响漆酶的表达及其活性。在麦秆提取物诱导下, *Pleurotus ostreatus* 在液体培养(iSmF)和固体培养(SSF)时, 各个漆酶基因的表达及其活性有显著差异^[7]。Alejandra 等^[40] 研究表明, 培养条件(振荡和静止)对同工酶的影响比培养基(SMY 和 M7GY)的影响大。在静止培养下, *Pleurotus ostreatus* N001 在 SMY 和 M7GY 培养基中均出现 3 条同工酶条带(36.8、52.2 和 77.9 kDa), 而在振荡培养下, *Pleurotus ostreatus* N001 在 SMY 中只有 1 条(36.8 kDa), 在 M7GY 中有 2 条(36.8 和 52.2 kDa)。在静止培养下, *Pleurotus ostreatus* PC9 在是否加入诱导物的 M7GY 中均有 2 条(36.8 和 52.2 kDa); 而在振荡培养下, *Pleurotus ostreatus* PC9 在 M7GY 中没有添加诱导物时, 可清晰看到 1 条 52.2 kDa 的条带, 而在添加诱导物后这 1 条带就消失了, 且出现 1 条 36.8 kDa 的条带。他们推断, 在振荡培养下, *Pleurotus ostreatus* PC9 一开始的酶活是由 52.2 kDa 的同工酶提供的, 后来被 36.8 kDa 的同工酶所替代。Kim 等^[41] 发现对聚生鬼伞(*Coprinus congregates*) 漆酶 *clac2* 是一个酸性漆酶, 该漆酶在 pH 4.1 下漆酶产量达到最高, 且

产量是在中性培养时的3~4倍。司静等^[6]研究表明, pH值对 *Perenniporia subacida* 产酶影响较大, 在pH 5.0~6.0之间所产漆酶酶活最高, 在pH 4.0及7.6时, 漆酶酶活下降。培养温度也对 *Perenniporia subacida* 产酶有影响, 最适产酶温度为24℃, 当温度高于32℃时受到抑制。*Trametes* sp.420在纤维二糖培养基中随着温度的提高(从28℃到37℃), 漆酶产量也随着提高(从3 620 U/L到7 870 U/L)^[17]。此外, Wang等^[11]发现热休克处理能提高漆酶粗酶液活性。而温度的降低引起冷季型香菇(*Lentinula edodes*)漆酶转录调控的变化, 漆酶mRNA在出菇期间(从22℃降到15℃)迅速下降^[42]。在微生物振荡培养过程中, 提高转速可以增加溶氧量, 司静等^[6]发现在140~180 r/min转速下, *Perenniporia subacida*的酶活最高, 当转速超过180 r/min时, 产漆酶量下降。各个非生物因素之间的相互作用对漆酶的表达及其活性也产生影响, 如 *Pleurotus ostreatus* 中, 阿魏酸能诱导 *POXA3* 和 *POXA1b* 的表达, 硫酸铜能诱导 *POXA3* 表达, 而两者的混合物却只能诱导 *POXA3* 表达^[16]。*Pleurotus eryngii* 只有在最适碳源(柑桔皮)和培养条件(SF)下, 其纯化酶有2个漆酶活性峰(7411和847 U/L), *Pleurotus ostreatus* 493只有在最适碳源(葡萄糖锯末)和培养条件(SSF)下, 其纯化酶有3个漆酶活性峰(231 U/L、322 U/L和640 U/L)^[35]。此外, 真菌的生长阶段也影响漆酶同工酶的表达及其活性, *Pleurotus ostreatus* 有4个漆酶同工酶(LI1、LI2、LI3和LI4), 其中LI1在生长的全过程均产生且酶活较高, 该同工酶可能担任着分解底物的任务; 而LI2、LI3和LI4在菌生长稳定时才产生且酶活较低, 它们的产生可能与菌的形态形成和色素沉着有关^[43]。

2 生物因素对漆酶表达的影响

产漆酶真菌与其他菌(包括产漆酶菌或非产漆酶菌)在混合培养过程中, 菌株间相互作用会造成漆酶表达的变化^[12]。灵芝(*Ganoderma lucidum*)与假丝酵母HSD07A(*Candida* sp.HSD07A)共培养时, *Ganoderma lucidum*的漆酶产量提高5倍^[44]。球毛壳(*Chaetomium globosum*)与革耳(*Panus rudis*)在平板中共培养时, 虽然菌丝体生长呈僵持状态, 但接触区漆酶表达量提高。而在液体摇瓶共培养时, 共培养液漆酶活力达4 360 U/L, 是 *Panus rudis* 单独培养的14倍^[45]。*Trametes versicolor* 分别与烟色韧革菌(*Stereum gausapatum*)、烟管菌(*Bjerkandera*

adusta)和柳蕈(*Hypholoma fasciculare*)共培养时漆酶表达量均增加^[12]。

真菌种间的相互作用对漆酶表达的影响具有物种特异性。硫磺菌(*Laetiporus sulphureus*)与黑木耳(*Auricularia auricular*)、云芝栓孔菌(*Trametes versicolor*)、杏鲍菇(*Pleurotus eryngii*)共培养时, *Laetiporus sulphureus*提高了 *Auricularia auricular*的产漆酶能力, 其漆酶酶活提高了20%, 但 *Laetiporus sulphureus*却降低 *Trametes versicolor*和 *Pleurotus eryngii*的产漆酶能力, 其漆酶酶活分别降低了14.1%和34.3%。但有一点值得注意的是, *Laetiporus sulphureus*虽然降低 *Trametes versicolor*的产漆酶量, 但 *Laetiporus sulphureus*却缩短了 *Trametes versicolor*达到峰值的时间^[46]。弯孢拟蜡菌(*Ceriporiopsis subvermispora*)、亚卧孔菌(*Physisporinus rivulosus*)、黄胞原毛平革菌(*Phanerochaete chrysosporium*)和粗皮侧耳(*Pleurotus ostreatus*)等4种白腐菌在单独培养时, *Pleurotus ostreatus*产的漆酶酶活最高, 但当 *Pleurotus ostreatus*和 *Ceriporiopsis subvermispora*共培养时, *Ceriporiopsis subvermispora*的漆酶产量明显提高, 而 *Ceriporiopsis subvermispora*和 *Physisporinus rivulosus*共培养对漆酶的产生没有明显影响^[47]。

此外, 黄慧艳等^[48]将香菇A3(*Lentinus* sp. A3)、*Pleurotus* sp.B2、*Ganoderma* sp.KG菌株间两两混合培养时发现, 香菇属、侧耳属、灵芝属菌株间具有良好的互惠性。该互惠性不仅使整个漆酶体系的漆酶峰值提高, 而且还使整个漆酶体系的漆酶持续分泌, 衰减慢, 使酶活峰面积增大。而这互惠性可能源于这3个属的彼此间木质素降解酶系、生活史长短、营养需求、生长因子及漆酶同工酶等方面的互补。由此, 基于物种特异性对漆酶合成的影响, 在选择共培养菌种时, 需要考虑酶活较高的单菌株和不同菌株的互补性。

3 结语与展望

漆酶是一种具有潜力的古老的酶。丝状真菌同一菌株中存在动力学、理化特性各异多个漆酶同工酶^[13-14], 且在不同条件下漆酶同工酶及其基因的表达表现出选择性诱导效应^[7,15-18]。因此, 漆酶的选择性合成有助于提高菌种对环境的适应, 也有助于拓展其在工业上的应用范围。但目前对漆酶的研究多集中于某一菌株的少数几个漆酶同工酶的克隆表达, 在一定程度上限制了该酶的应用。

漆酶能参与木质素降解、子实体发育、色素合

成和致病性等多个生理过程。最近的研究表明, 漆酶黑僵菌 (*Metarhizium anisopliae*) 漆酶 MLAC1 还能提高真菌孢子对紫外、氧化、渗透压和热休克处理等非生物胁迫的耐受能力^[49]。真菌漆酶在真菌整个生活史中功能多样性是其表达模式多样性的原因之一。然而, 漆酶基因的系统发育并没有严格遵循物种的发育, 以及这些酶的进化是否与相应的真菌物种的相应的生活方式保持一致或者是其他原因目前仍然未知^[13]。因此, 对漆酶同工酶基因受不同生物、非生物因素诱导表达的生物学意义的认识还相当有限, 该领域的研究将有助于拓展对漆酶新的生物学功能的认识。

目前虽然有不少研究着力于金属离子、碳氮源、酚类及芳香化合物、菌种之间的相互作用对漆酶的表达及活性的影响, 然而, 涉及漆酶表达调控的却较少。漆酶诱导表达与其启动子区顺式作用元件的存在一定程度上相关^[7,13,50], 真菌漆酶启动子区顺式作用元件的预测对真菌漆酶的转录调控研究有一定的指导意义。

[参 考 文 献]

- [1] Rodgers CJ, Blanford CF, Giddens SR, et al. Designer laccases: a vogue for high-potential fungal enzymes. *Trends Biotechnol*, 2009, 28(2): 63-72
- [2] 司静, 李伟, 崔宝凯, 等. 真菌漆酶性质、分子生物学及其应用研究进展. *生物技术通报*, 2011, (2): 48-54
- [3] María IF, Shimizu E, Zapata PD, et al. Copper inducing effect on laccase production of white rot fungi native from Misiones (Argentina). *Enzyme Microb Biotechnol*, 2010, 46: 534-9
- [4] Xiao YZ, Hong YZ, Li JF, et al. Cloning of novel laccase isozyme genes from *Trametes* sp. AH28-2 and analyses of their differential expression. *Appl Microbiol Biotechnol*, 2006, 71(4): 493-501
- [5] Colao MC, Garzillo AM, Buonocore V, et al. Primary structure and transcription analysis of a laccase-encoding gene from the basidiomycete *Trametes trogii*. *Appl Microbiol Biotechnol*, 2003, 63(2):153-8
- [6] 司静, 崔宝凯, 贺帅, 等. 微酸多年卧孔菌产漆酶条件优化及其在染料脱色中的应用. *应用与环境生物学报*, 2011, 17(5): 736-41
- [7] Castanera R, Perez G, Omarini A, et al. Transcriptional and enzymatic profiling of *Pleurotus ostreatus* laccase genes in submerged and solid-state fermentation cultures. *Appl Environ Microbiol*, 2012, 78(11): 4037-45
- [8] Pezzella C, Lettera V, Piscitelli A, et al. Transcriptional analysis of *Pleurotus ostreatus* laccase genes. *Appl Microbiol Biotechnol*, 2013, 97(2): 705-17
- [9] Placková M, Svobodová K, Cajthaml T, et al. Laccase activity profiling and gene expression in PCB-degrading cultures of *Trametes versicolor*. *Int Biodeter Biodegra*, 2012, 71: 22-8
- [10] María CT, González T, Carbajo JM, et al. Structural close-related aromatic compounds have different effects on laccase activity and on lcc gene expression in the ligninolytic fungus *Trametes* sp.I-62. *Fung Genet Biol*, 2004, 41(10): 954-62
- [11] Wang F, Guo C, Wei T, et al. Heat shock treatment improves *Trametes versicolor* laccase production. *Appl Biochem Biotech*, 2012, 168(2): 256-65
- [12] Hiscox J, Baldrian P, Rogers HJ, et al. Changes in oxidative enzyme activity during interspecific mycelial interactions involving the white-rot fungus *Trametes versicolor*. *Fungal Genet Biol*, 2010, 47(6): 562-71
- [13] Janusz G, Kucharzyk KH, Pawlik A, et al. Fungal laccase, manganese peroxidase and lignin peroxidase: Gene expression and regulation. *Enzyme Microb Biotechnol*, 2013, 52(1): 1-12
- [14] Baldrian P. Fungal laccases-occurrence and properties. *FEMS Microbiol Rev*, 2006, 30(2): 215-42
- [15] Hoshida H, Nakao M, Kanazawa H, et al. Isolation of five laccase gene sequences from the white-rot fungus *Trametes sanguinea* by PCR, and cloning, characterization and expression of the laccase cDNA in yeasts. *J Biosci Bioeng*, 2001, 92(4): 372-80
- [16] Karp SG, Faraco V, Amore A, et al. Characterization of laccase isoforms produced by *Pleurotus ostreatus* in solid state fermentation of sugarcane bagasse. *Bioresour Technol*, 2012, 114: 735-9
- [17] Tong PG, Hong YZ, Xiao YZ, et al. High production of laccase by a new basidiomycete, *Trametes* sp. *Biotechnol Lett*, 2007, 29(2): 295-301
- [18] Xiao YZ, Chen Q, Hang J, et al. Selective induction, purification and characterization of a laccase isozyme from the basidiomycete *Trametes* sp. AH28-2. *Mycologia*, 2004, 96(1): 26-35
- [19] Lebrun JD, Lamy I, Mougin C, et al. Favouring the bioavailability of Zn and Cu to enhance the production of lignin-modifying enzymes in *Trametes versicolor* cultures. *Bioresour Technol*, 2011, 102(3): 3103-9
- [20] Lebrun JD, Caulet ND, Cheviron N, et al. Secretion profiles of fungi as potential tools for metal ecotoxicity assessment: A study of enzymatic system in *Trametes versicolor*. *Chemosphere*, 2011, 82(3): 340-5
- [21] Lorenzo M, Moldes D, Sanromán M. Effect of heavy metals on the production of several laccase isoenzymes by *Trametes versicolor* and on their ability to decolourise dyes. *Chemosphere*, 2006, 63(6): 912-7
- [22] 谌斌, 唐雪明, 方惠英. 金属铜、锰离子对粗糙脉孢菌漆酶合成的影响. *科研开发*, 2005, 21(3): 24-8
- [23] Galhaup C, Haltrich D. Enhanced formation of laccase activity by the white-rot fungus *Trametes pubescens* in the presence of copper. *Microbiol Biotechnol*, 2001, 56(1-2): 225-32
- [24] Fernandez-Larrea J, Stahl U. Isolation and characterization of a laccase gene from *Podospora anserine*. *Mol Gen Genet*, 1996, 252(5): 539-51

- [25] Soden DM, Dobson ADW. Differential regulation of laccase gene expression in *Pleurotus sajorcaju*. *Microbiology*, 2001, 147(Pt7): 1755-63
- [26] Lálvarez JM, Canessa P, Mancilla RA, et al. Expression of genes encoding laccase and manganese-dependent peroxidase in the fungus *Ceriporiopsis subvermispora* is mediated by an ACE1-like copper-fist transcription factor. *Fung Genet Biol*, 2009, 46(1): 104-11
- [27] 胡艳, 蔡宇杰, 廖祥儒. 竹黄菌液态发酵产漆酶培养条件的优化. *食品与生物技术学报*, 2011, 30(5): 773-8
- [28] Piscitelli A, Giardina P, Lettera V, et al. Induction and transcriptional regulation of laccases in fungi. *Curr Genom*, 2011, 12(2): 104-12
- [29] 司静, 崔宝凯, 戴玉成. 栓孔菌属漆酶高产菌株的初步筛选及其产酶条件的优化. *微生物学通报*, 2011, 38(3): 405-16
- [30] Elisashvili V, Kachlishvili E. Physiological regulation of laccase and manganese peroxidase production by white-rot *Basidiomycetes*. *J Biotechnol*, 2009(1), 144: 37-42
- [31] Wang J, Zheng XB, Lin SX, et al. Identification of differentially expressed genes involved in laccase production in tropical white-rot fungus *Polyporus* sp. PG15. *J Basic Microbiol*, 2013, [Epub ahead of print]
- [32] Couto SR, Gundín M, Lorenzo M, et al. Screening of supports and inducers for laccase production by *Trametes versicolor* in semi-solid-state conditions. *Proc Biochem*, 2002, 38(2): 249-55
- [33] Gómez J, Pazos M, Couto SR, et al. Chestnut shell and barley bran as potential substrates for laccase production by *Coriopsis rigida* under solid-state conditions. *J Food Eng*, 2005, 68(3): 315-9
- [34] Moldes D, Gallego PP, Couto SR, et al. Grape seeds: The best lignocellulosic waste to produce laccase by solid state cultures of *Trametes hirsuta*. *Biotechnol Lett*, 2003, 25(6): 491-5
- [35] Membrillo I, Sánchez C, Meneses M, et al. Effect of substrate particle size and additional nitrogen source on production of lignocellulolytic enzymes by *Pleurotus ostreatus* strains. *Bioresour Technol*, 2008, 99(16): 7842-7
- [36] Stajic M, Persky L, Friesem D, et al. Effect of different carbon and nitrogen sources on laccase and peroxidases production by selected *Pleurotus* species. *Enzyme Microb Technol*, 2006, 38(1): 65-73
- [37] Saparrat M, Balatti PA, Marínez MJ, et al. Differential regulation of laccase gene expression in *Coriopsis rigida* LPSC No. 232. *Fung Biol*, 2010, 114(11-12): 999-1006
- [38] Temp U, Zierold U, Eggert C. Cloning and characterization of a second laccase gene from the lignin-degrading basidiomycete *Pycnoporus cinnabarinus*. *Gene*, 1999, 236(1): 169-77
- [39] Quarantino D, Ciaffia M, Federici E, et al. Response surface methodology study of laccase production in *Panus tigrinus* liquid cultures. *Biochem Eng J*, 2008, 39(2): 236-45
- [40] Alejandra P, Elaia M, Amaia RI, et al. Induction of laccase activity in the white rot fungus *Pleurotus ostreatus* using water polluted with wheat straw extracts. *Bioresour Technol*, 2013, 133: 142-9
- [41] Kim SJ, Leem YG, Kim KH, et al. Cloning of an acidic laccase gene (*clac2*) from *Coprinus congregatus* and its expression by external pH. *FEMS Microbiol Lett*, 2001, 195(2): 151-6
- [42] Ohga S, Royse DJ. Transcriptional regulation of laccase and cellulase genes during growth and fruiting of *Lentinula edodes* on supplemented sawdust. *FEMS Microbiol Lett*, 2001, 201(1): 111-5
- [43] Trecuít-Beristain S, Sanchez C, Loera O, et al. Laccases of *Pleurotus ostreatus* observed at different phases of its growth in submerged fermentation: production of a novel laccase isoform. *Mycol Res*, 2008, 112(Pt9): 1080-4
- [44] Li P, Wang HL, Liu GS, et al. The effect of carbon source succession on laccase activity in the co-culture process of *Ganoderma lucidum* and a yeast. *Enzyme Microb Technol*, 2011, 48(1): 1-6
- [45] 李静, 方泽民, 洪宇植. *Chaetomium globosum*与*Panus rums*共培养发酵合成漆酶. *安徽大学学报:自然科学版*, 2011, 35(6): 93-7
- [46] 蒋瑾, 刘驰, 高玉千. 4种白腐真菌单独及混合培养时漆酶活性比较. *河南农业科学*, 2011, 40(9): 115-8
- [47] Chi YJ, Hatakka A, Maijala P. Can co-culturing of two white-rot fungi increase lignin degradation and the production of lignin-degrading enzymes. *Int Biodeterior Biodegrad*, 2007, 59(1): 32-9
- [48] 黄慧艳, 张晓昱. 白腐菌混合培养在胞外漆酶分泌上的种属互惠性. *中国食用菌*, 2003, 23(4): 31-3
- [49] Fang W, Fernandes EKK, Roberts DW, et al. A laccase exclusively expressed by *Metarhizium anisopliae* during isotropic growth is involved in pigmentation, tolerance to abiotic stresses and virulence. *Fung Genet Biol*, 2010, 47(7): 602-7
- [50] Fan FF, Zhuo R, Sun S, et al. Cloning and functional analysis of a new laccase gene from *Trametes* sp. 48424 which had the high yield of laccase and strong ability for decolorizing different dyes. *Bioresour Technol*, 2011, 102(3): 3126-37