

# 黑木耳木质纤维素降解通路解析及关键基因功能研究

耿楠楠<sup>1</sup> 孙健<sup>1</sup> 邹莉<sup>1</sup>

(1. 东北林业大学林学院 哈尔滨 150040)

**摘要:**【目的】研究不同培养基质条件下黑木耳对木质素和纤维素的降解,解析其降解通路,筛选关键降解基因并验证其功能,获得黑木耳木质素和纤维素高降解菌株。【方法】分别以葡萄糖(CK)、微晶纤维素(MCC)、玉米芯(CC)和木屑(WD)作为唯一碳源培养黑木耳菌丝体,每组3个重复,收集发酵液测定木质素和纤维素酶活,收集菌丝体进行转录组测序,筛选木质素和纤维素降解关键基因,构建黑木耳遗传转化体系,验证关键基因功能。【结果】1)对纤维素酶活测定发现内切葡聚糖酶活性在MCC中达到最大,对木质素降解酶活测定发现漆酶酶活在WD中达到最大。2)对转录组中差异表达基因进行KEGG富集分析,纤维素降解基因主要富集在淀粉蔗糖代谢途径,木质素降解基因主要富集在碳代谢途径,通过碳水化合物活性酶数据库(CAZy)的注释与筛选,最终获得8条参与纤维素降解的候选基因以及在4条CC和WD中均高表达、2条只在WD中高表达的木质素代谢通路候选基因。3)采用农杆菌遗传转化体系,过表达在木屑中高表达的内切葡聚糖酶Aa-eg,最终得到4个阳性转化子,经液体培养后,7号转化子的内切葡聚糖酶活性及转录水平均显著高于野生型,经栽培出耳7号转化子生物学效率相较野生型提高了8.26%。【结论】黑木耳在不同基质中的木质纤维素酶活性差异显著,在微晶纤维素中内切葡聚糖酶高表达,而在木屑中,漆酶处于高表达水平。基于RNA-Seq分析筛选木质素和纤维素降解关键基因,通过农杆菌遗传转化法过表达关键基因内切葡聚糖酶Aa-eg,获得阳性转化子高表达菌株,经出菇实验证明转化子生物学效率显著提高,为黑木耳基因功能研究奠定了基础,也为黑木耳菌种的选育提供了新思路。