



杨坤龙

江苏师范大学讲师，长期从事病原真菌黄曲霉的形态发生、次级代谢产物合成和致病调控分子机制研究。先后主持国家自然科学基金、江苏省自然科学基金、江苏省高校自然科学基金面上等项目。已发表 SCI 论文 24 篇，申请国家发明专利 1 项，获徐州市科技发明二等奖 1 项。担任《Environmental Microbiology》《Frontiers in Microbiology》《Food Research International》和《Journal of Food Science and Technology》等多个国际期刊审稿人。

丝状真菌次级代谢产物的功能与合成调控研究进展

耿青如 杨飞洋 王雨荷 车雨微 杨坤龙*

江苏师范大学生命科学学院 江苏 徐州 221116

摘要：真菌是具有高度多样性的微生物资源，其产生的次级代谢产物具有很多重要的作用，如紫外线防护，自身发育以及防御外部侵害，而这些次级代谢产物的生物合成需要多个基因参与调控。本文主要综述了真菌次级代谢产物的药用价值，在真菌发育过程中的生态功能以及合成调控机制。

关键词：真菌，次级代谢产物，生态功能，表观遗传调控

[引用本文] 耿青如，杨飞洋，王雨荷，车雨微，杨坤龙，2020. 丝状真菌次级代谢产物的功能与合成调控研究进展. 菌物学报, 39(3): 539-547

Geng QR, Yang FY, Wang YH, Che YW, Yang KL, 2020. Research advance in functional and synthetic regulation of secondary metabolites of filamentous fungi. Mycosystema, 39(3): 539-547

Research advance in functional and synthetic regulation of secondary metabolites of filamentous fungi

GENG Qing-Ru YANG Fei-Yang WANG Yu-He CHE Yu-Wei YANG Kun-Long*

School of Life Sciences, Jiangsu Normal University, Xuzhou, Jiangsu 221116, China

Abstract: Fungi are highly diverse organisms producing secondary metabolites with many important functions

基金项目：国家自然科学基金（31900036）；江苏省自然科学基金（BK20190994）；江苏省高等学校自然科学研究面上项目（19KJB180016）；江苏师范大学自然科学研究基金研究项目（18XLRX029）

Supported by the National Natural Science Foundation of China (31900036), Natural Science Foundation of Jiangsu Province (BK20190994), the Program of Natural Science Foundation of Jiangsu Provincial Institutions of Higher Education (19KJB180016), and the Program of Natural Science Foundation of Jiangsu Normal University (18XLRX029).

*Corresponding author. E-mail: ykl_long@yeah.net

ORCID: YANG Kun-Long (0000-0002-9246-101X)

Received: 2019-09-03, accepted: 2019-10-09

such as UV protection, self-development and defense against external aggression. The biosynthesis of these secondary metabolites requires participation of multiple genes. In this paper the medicinal value of secondary metabolites of filamentous fungi, the ecological functions during fungal development and the mechanisms of synthetic regulation are reviewed.

Key words: fungi, secondary metabolites, ecological function, epigenetic regulation

真菌在环境中无处不在, 在植物、动物和人类的健康以及广泛的生态系统功能中都发挥着重要作用 (Xu 2016)。它们能产生各种各样的次级代谢产物, 而次级代谢产物对其自身的正常生长不是必需的化合物, 但其在真菌生态学中作为适应因子扮演着重要的角色, 例如紫外线防护, 并且能够通过生态相互作用中作为防御化合物或信号分子起作用 (Brakhage 2013; Keller 2019)。不仅如此, 真菌产生的这些次级代谢产物在人类生活中具有重要的应用, 自弗莱明从青霉属 *Penicillium* 中发现青霉素并广泛应用以来, 真菌次级代谢产物成为药物分子的重要来源 (Raja et al. 2017), 例如, 他汀类、环孢菌素和霉酚酸等已经开始大规模地用于延长人类生命 (Keller 2019)。此外, 真菌产生的次级代谢产物也表现出对人有害的特性, 例如, 黄曲霉毒素 (AF)、环匹阿尼酸和黄曲霉震颤素等。由于次级代谢产物的重要性, 所以对次级代谢产物的合成调控研究已经成为热点。

次级代谢产物的合成是一个复杂过程, 需要多个基因参与调控, 基因组挖掘工作表明, 真菌产生次级代谢产物的能力被大大低估, 因为许多真菌次级代谢产物生物合成基因簇在标准培养条件下是沉默的 (Brakhage 2013)。类似于原核生物的操纵子, 在真菌的基因组中也出现了彼此功能相关的非同源基因成簇存在的现象。这些基因形成基因簇, 可参与多种次级代谢途径 (Osborn 2010)。真菌次级代谢基因簇由复杂的调节网络控制, 其全局调控主要通过全局调控因子实现, 而通路特异性调节由它们调节簇内的基因编码的转录因子介导。本文主要根据近年来对次级代

谢产物的研究, 综合论述了真菌次级代谢产物的药用价值以及在竞争、防御和发育过程中的生态功能, 此外, 还描述了次级代谢物生物合成基因簇的转录和表观遗传调控, 旨在更加深刻地理解次级代谢产物的合成调控。

1 药用价值

自古以来, 人们就将真菌作为药材使用, 《神农本草经》和《本草纲目》等书中就有记载, 例如茯苓、灵芝等真菌药物。不仅如此, 其产生的次级代谢产物在抗菌、抗心血管疾病、抗肿瘤和抗病毒等方面表现出不同的活性, 具有重要的药用价值 (Wu et al. 2019), 其中一些次级代谢产物已经被开发成药物, 例如: 具有抗菌活性的药物青霉素、灰黄霉素就是从自然界中常见的青霉属 *Penicillium* 中分离得到, 而卡泊芬净是由 *Glarea lozoyensis* 的发酵产物合成的; 免疫抑制剂环孢菌素来自 *Trichoderma* 和 *Tolypocladium* 属; 治疗心血管疾病的药物洛伐他汀类药物来自 *Aspergillus* 等属。还有许多次级代谢产物还没有被研发成药物, 但是具有重要的药物活性, 如陈旭等 (2017) 从追风伞植物中分离得一株木霉属内生真菌可以产甾体化合物, 发现其能抑制两种癌细胞的增殖; 孔阳 (2019) 从白花夹竹桃 *Nerium indicum* mill. cv *Paihua* 中分离出 3 株具有强抗菌活性的内生真菌, 实验结果显示其次级代谢产物不仅对人前列腺癌细胞 PC3、人肺癌细胞 A549 和人乳腺癌细胞 MCF-7 有良好的抑制效果, 而且有一定的抗糖尿病活性; 大型真菌 *Hericium alpestre* 产生的次级代谢产物——4-羟基-2-吡啶酮类生物碱 sambutoxin 具有良好的抗肿瘤作用 (李

璐宁 2019); 周岳 (2018) 从海洋真菌 *Aspergillus versicolor* LZD4403 中分离得到的次级代谢产物曲林菌素可以通过抑制巨噬细胞炎症, 进而发挥抑制巨噬细胞泡沫化作用, 从而发挥抗动脉粥样硬化的作用; 近年来研究发现真菌次级代谢产物黑色素在体外对艾滋病病毒有显著的抑制作用, 这使天然黑色素有望成为一种新的抗艾滋病药物 (Cordero & Casadevall 2017)。以上研究均表明, 真菌次级代谢产物在人类医疗健康方面具有重大价值, 因此, 了解真菌次级代谢产物的功能和合成调控具有重大意义。

2 真菌次级代谢产物功能

次级代谢产物是真菌发育的关键参与者, 具有多种功能, 并能很好地与其他生物之间形成相互作用。例如, 比较常见的黑色素就扮演着非常重要的角色, 从辐射防护、免疫防御到作为毒力因子, 都具有重要意义。以下从 3 个方面叙述次级代谢产物在真菌发育过程中的生态功能。

2.1 免受紫外线辐射伤害

真菌黑色素是一种天然色素, 一般呈黑棕

色, 通常在孢子或菌丝中发现, 主要通过 1,8-二羟基萘 (DHN) 途径和 L-3,4-二羟基苯丙氨酸 (L-DOPA) 途径合成, 还有一部分通过 L-酪氨酸降解途径合成。研究表明, 黑色素利于保护真菌孢子免受紫外线的伤害 (图 1), 如玉米病菌 *Cochliobolus heterostrophus* 的白化突变体无法在田间存活; 在黑曲霉中, 破坏黑色素的合成会使其对紫外线的敏感度增加 (Singaravelan *et al.* 2008)。许多研究已经证明了真菌黑色素不仅能够抵抗紫外线辐射, 而且能够结合和隔离非特异性肽和化合物, 产生保护细胞的物理屏障。

2.2 竞争和防御

次级代谢产物有利于真菌在激烈的竞争环境中生存, 已经有大量研究表明真菌次级代谢产物在真菌与其他微生物、真菌与昆虫以及真菌与植物之间都起到非常重要的作用 (Rohlf *et al.* 2015; Zeilinger *et al.* 2016; Scherlach & Hertweck 2017)。如上文提到的次级代谢产物黑色素, 不仅可以保护真菌孢子免受紫外线的伤害, 而且可以作为毒力因子。有研究表明通过各种机制影响巨噬细胞在抗真菌免疫过程中的识别和吞噬等

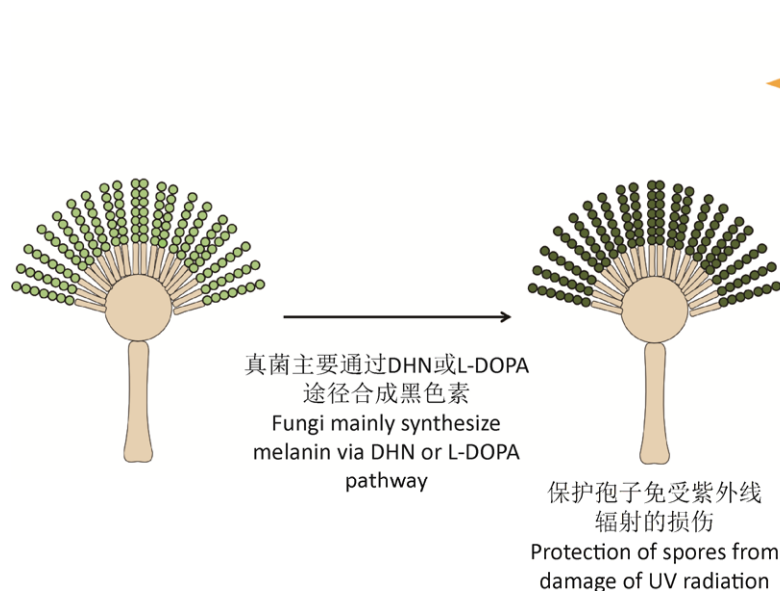


图 1 黑色素保护孢子免受紫外线辐射损伤

Fig. 1 Melanin protects spores from UV radiation damage.

环节,降低其抗真菌效应,在烟曲霉感染中,黑色素可通过覆盖细胞壁表面的 β -甘露糖,影响巨噬细胞 PRRs 对烟曲霉识别,帮助烟曲霉在巨噬细胞内存活(Akoumianaki *et al.* 2016);通过 CRISPR/Cas9 敲除皮炎外瓶霉的黑色素合成关键酶 PKS1 基因,也发现白化株对人离体皮肤组织的侵袭力较色素株下降,这表明黑色素能够增强皮炎外瓶霉的侵袭力(Poyntner *et al.* 2018)。在真菌与细菌的研究中,真菌与细菌通过次级代谢产物相互作用中的例子有很多,细菌青枯雷尔氏菌 *Ralstonia solanacearum* 分泌脂肽 ralsolamycin,其诱导真菌中的厚垣孢子形成和镰刀菌属中的 bikaverin 基因簇的表达,进而可减少细菌进入和生长(Spraker *et al.* 2016);研究发现伊氏杀线真菌胞内存在内生细菌,其合成的次级代谢产物将有助于伊氏杀线真菌在宿主线虫内定殖,增加伊氏杀线菌在生态竞争中的适应性,以便更好地捕杀线虫,减少松树枯萎病(王瑞珍 2017)。在防御昆虫的过程中,真菌往往产生一些有毒的次级代谢产物来保证自身的安全。例如:白僵菌 *Beauveria bassiana* 可以通过其次级代谢产物白僵菌素杀死害虫,而且还用聚酮类卵磷脂毒化尸体,以限制其他微生物对其食物的竞争(Fan *et al.* 2017);同样的,黄曲霉产生的有毒次级代谢产物黄曲霉毒素对昆虫也有一定的杀伤力,研究发现,在黄曲霉毒素丰富的环境中,在与昆虫竞争的试验中,真菌的适应性提高了 26 倍,而黄曲霉产毒菌株显示出更高的适应性(Keller 2019)。

2.3 真菌发育

真菌产生的次级代谢产物与真菌的发育有着密切联系,上文中已经提到真菌黑色素不仅能够抵抗紫外线辐射,而且能够结合和隔离非特异性肽和化合物,产生保护细胞的物理屏障,为真菌孢子提供保护,使其免受极端环境或昆虫捕食。除此以外,研究表明,土曲霉产生的丁内酯,能在真菌中提高菌丝的分枝、孢子形成(Schimmel *et al.* 1998);在构巢曲霉中,内源性油酸和亚麻油

酸衍生物能调控形成无性和有性孢子的比例(Calvo *et al.* 2001);镰刀菌属的色素形成需要镰刀菌素(Lena *et al.* 2012);神经孢菌素 neurosporin A 可以阻止食虫动物以粗糙脉孢菌孢子为食(Zhao *et al.* 2017)。事实上,细菌的次级代谢产物也会对真菌发育产生影响,次级代谢产物可以作为种间信号,通过氧化应激调节影响真菌发育。在共培养实验中,铜绿假单胞菌次级代谢产物吩嗪对烟曲霉发育有不同的调节作用,其中高浓度的吩嗪具有抗真菌作用,但中等浓度会诱导真菌产孢(He *et al.* 2015)。

3 真菌次级代谢产物合成调控

真菌的次级代谢产物按照其合成途径主要分为聚酮类(polyketide)、非核糖体肽类(nonribosomal peptide)、生物碱以及萜类化合物等,次级代谢产物的合成主要通过骨干酶(backbone enzyme)聚合初级代谢产物,而骨干酶产生的代谢物会被其他能进一步改变代谢物生物活性的酶进一步“修饰”,骨干酶定义了产生的次级代谢产物的化学类别。例如,聚酮化合物合酶(polyketide synthases, PKS)从酰基 CoA 产生聚酮化合物,非核糖体肽合成酶(nonribosomal peptide synthases, NRPS)从氨基酸和萜烯合酶产生非核糖体肽,而萜烯环化酶(分别为 TS 和 TC)从活化的异戊二烯单元产生萜烯(Keller 2019)。总之,真菌次级代谢产物的合成是一个复杂的过程,具体涉及到真菌感受细胞外界环境信号,转录激活和翻译表达水平等,其中每一步都需要多个基因参与调控。参与真菌次级代谢物生物合成的基因通常排列在生物合成基因簇中,生物合成基因簇是一种含特定遗传信息的核苷酸序列,而且其结构基因受表观遗传调控。

真菌次级代谢产物的合成与外界环境刺激有密不可分的联系,已经有研究表明温度和光可以诱导或抑制次级代谢产物的合成。以黄曲霉次级代谢产物黄曲霉毒素为例,黄曲霉毒素簇

(图 2A) 由大约 30 个不同的基因组成, 位于染色体 3 的端粒附近。在对黄曲霉毒素的研究过程中发现, 不同温度培养下黄曲霉产毒能力有所不同 (Yang *et al.* 2019)。除此之外, 烟曲霉的次级代谢产物毒素 trypacidin 和免疫调节剂 endocrocin 是温度依赖性的 (Berthier *et al.* 2013; Hagiwara *et al.* 2017), 而镰刀菌属中次级代谢产物赭烯 T-2 毒素的产生也是温度依赖性的 (Nazari *et al.* 2016)。事实上, 研究表明光在真菌次级代谢物的合成过程中, 也起到信号传导的作用。例如, 黄曲霉毒素和杂色曲霉素相关的生物合成基因簇就受到白光抑制 (Ozgür *et al.* 2008), 光信号可以通过负调控全局转录因子 LaeA 来调控 *afIR*, 由 *afIR*

编码的 Zn (II) 2Cys6 型转录因子可以调节黄曲霉毒素和杂色曲霉素合成基因的表达 (图 2B); 此外, 交链孢菌 *Alternaria alternata* 产生的真菌毒素交替醇和替代毒素则受白光刺激 (Sonja *et al.* 2014)。真菌生物合成基因的转录一般由转录调控因子控制, 可以分为全局性调控因子和特异性转录因子。目前, 全局调控最有影响力的转录复合物是 Velvet 复合物, 由 LaeA (或 Lae1)、VeA (或 Vel1) 和 VelB (或 Vel2) 组成, LaeA 已被证明是曲霉菌和其他丝状真菌的次级代谢的全局性调控因子, 考虑到 Velvet 复合物对次级代谢物表达的全局影响, 通过构建 *laeA* 缺失株进行实验, 在构巢曲霉中敲除 *laeA* 能抑制杂色曲霉

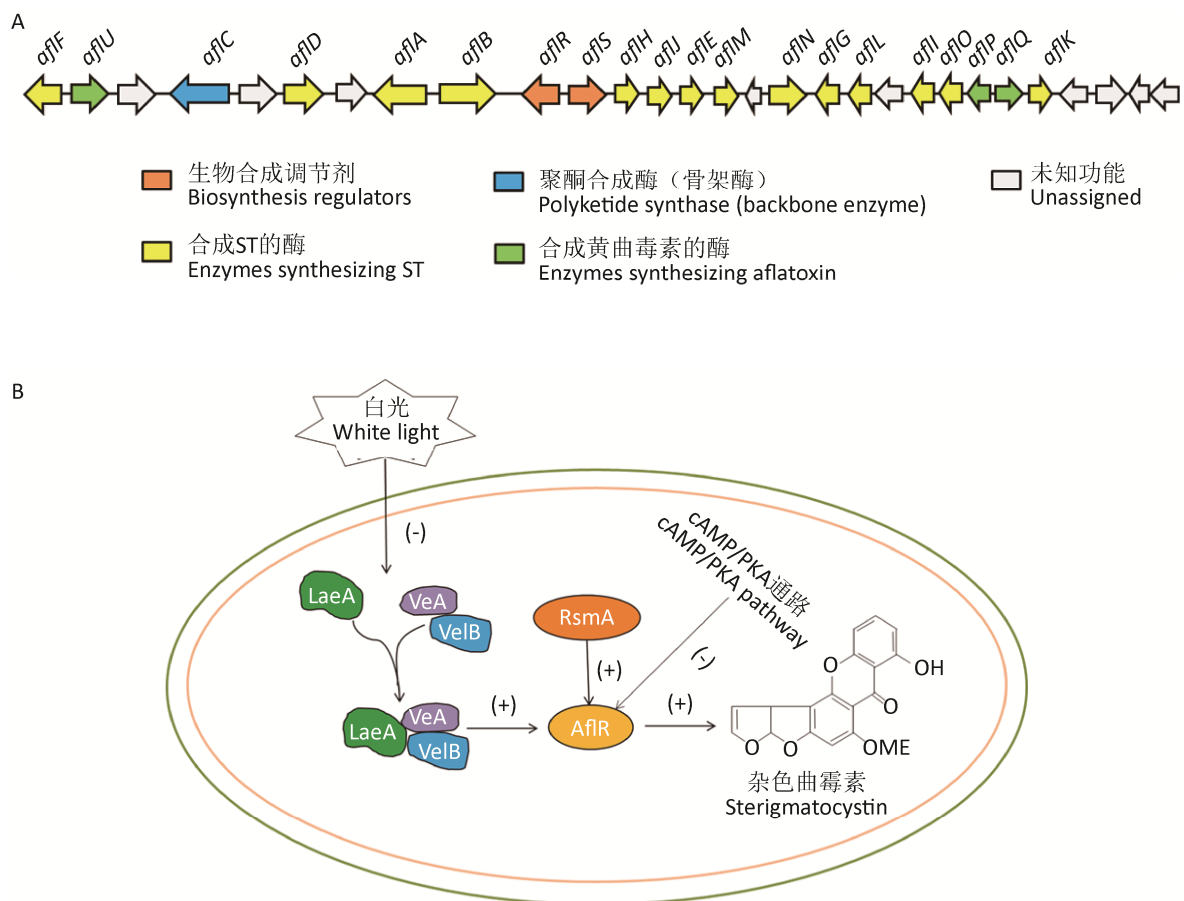


图 2 次级代谢产物黄曲霉毒素和杂色曲霉素的合成调控 (+ 为正向调节, - 为负向调节) A: 次级代谢产物黄曲霉毒素合成基因簇; B: 次级代谢产物杂色曲霉素合成调控

Fig. 2 Synthetic regulation of aflatoxin and sterigmatocystin (+ indicates positive regulation, - indicates negative regulation). A: Aflatoxin synthesis gene cluster; B: Versicolorin synthetic regulation.

素和青霉素的合成 (Jin & Keller 2004); 在黄曲霉中敲除 *laeA* 基因能抑制黄曲霉毒素的合成 (Amaike & Keller 2009); 在轮枝样镰刀菌中敲除 *laeA* 基因会抑制 bikaverin 和 fusarin 的生物合成 (Butchko *et al.* 2012); 在尖孢镰刀菌中敲除 *laeA* 基因能抑制白僵菌素的生物合成 (López-Berges *et al.* 2013); 敲除产黄青霉中 *laeA* 基因会抑制产黄青霉中青霉素和 PR 毒素的生物合成 (Martín 2016); 在 *Penicillium expansum* 中, 敲除 *laeA* 基因会抑制棒曲霉素的生物合成 (Kumar *et al.* 2017), 结果表明 *LaeA* 可以调节杂色曲霉素、黄曲霉毒素、青霉素、bikaverin、fusarin 和白僵菌素等次级代谢产物的合成; 而敲除 *veA* 基因会使一些代谢产物如: 黄曲霉毒素、环匹阿尼酸和黄曲霉震颤毒素的合成受到明显抑制 (Duran *et al.* 2007)。表观遗传对真菌次级代谢产物的生物合成也具有调控作用, DNA 和组蛋白的甲基化与乙酰化修饰是目前所知的真菌主要的表观遗传调控形式。研究表明, 编码组蛋白去乙酰化酶的 *hdaA* 的缺失导致转录激活并导致多个生物合成基因簇及其产物的表达增加 (Shwab *et al.* 2007); Lan *et al.* (2016) 研究发现黄曲霉中的组蛋白 H3 乙酰化酶 *GcnE* 参与了 AF 的合成及其合成基因的激活; 中山大学贺竹梅课题组发现, DNA 甲基转移酶抑制剂和 DNA 甲基转移酶基因的敲除能够抑制 AF 的合成, 但是进一步研究发现黄曲霉菌中的 DNA 甲基化含量较低, 其可能没有直接参与 AF 合成的调控 (Liu *et al.* 2012; Lin *et al.* 2013; Zhi *et al.* 2017)。

此外, 我们的前期研究和其他真菌中也发现真菌的次级代谢产物的合成受到了 cAMP/PKA 通路的调控作用 (Yang *et al.* 2016; Yang *et al.* 2017)。在构巢曲霉中, cAMP 通路上游的 $G\alpha$ 亚基 *FadA* 能够激活 PKA, 而 PKA 能够磷酸化 *AflR* 从而抑制它的活性, 进而抑制 ST/AF 合成通路的开启, 因此 cAMP 通路负调控 ST/AF 合成 (Shimizu & Keller 2001; Roze *et al.* 2004)。我们前期发现

将黄曲霉菌中的 cAMP 高亲和力的磷酸二酯酶 *pdeH* 进行缺失后, 导致黄曲霉内源 cAMP 浓度上升, 但是由于黄曲霉菌中存在 cAMP 的高浓度反馈抑制作用导致突变体中的 PKA 酶活降低, 并造成黄曲霉毒素产量都显著上升 (Yang *et al.* 2017)。禾谷镰刀菌中的研究表明, 外源 cAMP 处理或者敲除 *pde2* 都能够提高菌内的 PKA 酶活, 从而促进 DON 毒素合成基因 *TRI* 的转录, 进而提高 DON 毒素的合成 (Jiang *et al.* 2016)。近期的研究也发现, 蛋白的磷酸化、乙酰化、琥珀酰化和 sumo 化等翻译后修饰都参与了黄曲霉生长发育和 AF 合成过程 (Nie *et al.* 2016; Ren *et al.* 2016; Lv 2017; Ren *et al.* 2018)。

4 结语

真菌次级代谢产物虽然不是真菌正常生长所必需的化合物, 却是真菌发育的重要参与者。本文主要综述了近年来真菌次级代谢产物在抗肿瘤、抗糖尿病和抗动脉粥样硬化等常见病症中的药用价值, 为研发新药提供基础; 不仅如此, 真菌次级代谢产物在真菌与其他微生物、植物和动物之间的互作关系中起到防御和保护的作用。尽管近几年对真菌次级代谢产物的合成调控研究已经取得很大的成就, 然而其调控机制非常复杂, 想要充分了解还需进一步研究。

[REFERENCES]

- Akoumianaki T, Kyrmizi I, Valsecchi I, Gresnigt M, Samonis G, Drakos E, Boumpas D, Muszkieta L, Prevost MC, Kontoyiannis D, 2016. *Aspergillus* cell wall melanin blocks LC3-associated phagocytosis to promote pathogenicity. *Cell Host & Microbe*, 19(1): 79-90
- Amaike S, Keller NP, 2009. Distinct roles for VeA and LaeA in development and pathogenesis of *Aspergillus flavus*. *Eukaryotic Cell*, 8(7): 1051
- Berthier E, Lim FY, Deng Q, Guo CJ, Kontoyiannis DP, Wang CCC, Rindy J, Beebe DJ, Huttenlocher A, Keller NP, 2013. Low-volume toolbox for the discovery of immunosuppressive fungal secondary metabolites. *PLoS*

- Pathogens, 9(4): e1003289
- Brakhage AA, 2013. Regulation of fungal secondary metabolism. *Nature Reviews Microbiology*, 11(1): 21-32
- Butchko RAE, Brown DW, Mark B, Bettina T, Philipp W, 2012. Lae1 regulates expression of multiple secondary metabolite gene clusters in *Fusarium verticillioides*. *Fungal Genetics & Biology*, 49(8): 602-612
- Calvo AM, Gardner HW, Keller NP, 2001. Genetic connection between fatty acid metabolism and sporulation in *Aspergillus nidulans*. *Journal of Biological Chemistry*, 276(28): 25766-25774
- Chen X, Lei BX, Wen CT, Zeng Q, 2017. Anticancer activity of an endophytic fungus *Trichoderma* sp. from a horse. *Lishizhen Medicine and Materia Medica Research*, 28(3): 16-19 (in Chinese)
- Cordero RJB, Casadevall A, 2017. Functions of fungal melanin beyond virulence. *Fungal Biology Reviews*, 31(2): 99-112
- Fan Y, Liu X, Keyhani NO, Tang G, Pei Y, Zhang W, Tong S, 2017. Regulatory cascade and biological activity of *Beauveria bassiana* oospore in that limits bacterial growth after host death. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 114(9): E1578
- Hagiwara D, Sakai K, Suzuki S, Umemura M, Nogawa T, Kato N, Osada H, Watanabe A, Kawamoto S, Gono T, 2017. Temperature during conidiation affects stress tolerance, pigmentation, and tryptacidin accumulation in the conidia of the airborne pathogen *Aspergillus fumigatus*. *PLoS One*, 12(5): e0177050
- He Z, Kim J, Liew M, Yan J, Herrera O, Bok JW, Kelleher N, Keller N, Yun W, 2015. Redox metabolites signal polymicrobial biofilm development via the NapA oxidative stress cascade in *Aspergillus*. *Current Biology*, 25(1): 29-37
- Jiang C, Zhang C, Wu C, Sun P, Hou R, Liu H, Wang C, Xu JR, 2016. *TRI6* and *TRI10* play different roles in the regulation of deoxynivalenol (DON) production by cAMP signalling in *Fusarium graminearum*. *Environmental Microbiology*, 18(11): 3689-3701
- Jin WB, Keller NP, 2004. LaeA, a regulator of secondary metabolism in *Aspergillus* spp. *Eukaryotic Cell*, 3(2): 527-535
- Keller NP, 2019. Fungal secondary metabolism: regulation, function and drug discovery. *Nature Reviews Microbiology*, 17(3): 167-180
- Kong Y, 2019. Studies on secondary metabolites and their activities of endophytic fungi from *Nerium indicum* Mill. cv Paihua. PhD Dissertation, Shaanxi University of Science and Technology, Xi'an. 6-8 (in Chinese)
- Kumar D, Barad S, Chen Y, Luo X, Tannous J, Dubey A, Glam MN, Tian S, Li B, Keller N, 2017. LaeA regulation of secondary metabolism modulates virulence in *Penicillium expansum* and is mediated by sucrose. *Molecular Plant Pathology*, 18(8): 1150-1163
- Lan H, Sun R, Fan K, Yang K, Zhang F, Nie XY, Wang X, Zhuang Z, Wang S, 2016. The *Aspergillus flavus* histone acetyltransferase AflGcnE regulates morphogenesis, aflatoxin biosynthesis, and pathogenicity. *Frontiers in Microbiology*, 7: 1324
- Lena S, Philipp W, Karin K, Hans-Ulrich H, Bettina T, 2012. Biosynthesis of fusarubins accounts for pigmentation of *Fusarium fujikuroi* perithecia. *Applied and Environmental Microbiology*, 78(12): 4468-4480
- Li LN, 2019. Isolation of secondary metabolites from macrofungi *Hericium alpestre* and anti-tumor effects and mechanism of 4-hydroxy-2-pyridone alkaloid sambutoxin. PhD Dissertation, Shandong University, Jinan. 12-17 (in Chinese)
- Lin JQ, Zhao XX, Wang CC, Xie Y, Li GH, He ZM, 2013. 5-Azacytidine inhibits aflatoxin biosynthesis in *Aspergillus flavus*. *Annals of Microbiology*, 63(2): 763-769
- Liu SY, Lin JQ, Wu HL, Wang CC, Huang SJ, Luo YF, Sun JH, Zhou JX, Yan SJ, He JG, 2012. Bisulfite sequencing reveals that *Aspergillus flavus* holds a hollow in DNA methylation. *PLoS One*, 7(1): e30349
- López-Berges MS, Concepción H, Michael S, Katja SF, Javier C, Josep G, Antonio DP, 2013. The velvet complex governs mycotoxin production and virulence of *Fusarium oxysporum* on plant and mammalian hosts. *Molecular Microbiology*, 87(1): 49-65
- Lv Y, 2017. Proteome-wide profiling of protein lysine acetylation in *Aspergillus flavus*. *PLoS One*, 12(6): e0178603
- Martín JF, 2016. Key role of LaeA and velvet complex proteins on expression of β -lactam and PR-toxin genes in *Penicillium chrysogenum*: cross-talk regulation of secondary metabolite pathways. *Journal of Industrial*

- Microbiology & Biotechnology, 44(4-5): 1-11
- Nazari L, Manstretta V, Rossi V, 2016. A non-linear model for temperature-dependent sporulation and T-2 and HT-2 production of *Fusarium langsethiae* and *Fusarium sporotrichioides*. Fungal Biology, 120(4): 562-571
- Nie X, Yu S, Qiu M, Wang X, Wang Y, Bai Y, Zhang F, Wang S, 2016. *Aspergillus flavus* SUMO contributes to fungal virulence and toxin attributes. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 64(35): 6772-6782
- Osborn A, 2010. Secondary metabolic gene clusters: evolutionary toolkits for chemical innovation. Trends in Genetics, 26(10): 449-457
- Ozgür B, Sven K, Min N, Jin Woo B, Kerstin H, Oliver V, Susanna BS, Nak-Jung K, Nancy PK, Jae-Hyuk Y, 2008. VelB/VeA/LaeA complex coordinates light signal with fungal development and secondary metabolism. Science, 320(5882): 1504-1506
- Poyntner C, Mirastschijski U, Sterflinger K, Tafer H, 2018. Transcriptome study of an *Exophiala dermatitidis* PKS1 mutant on an ex vivo skin model: is melanin important for infection? Frontiers in Microbiology, 9: 1457
- Raja HA, Miller AN, Pearce CJ, Oberlies NH, 2017. Fungal identification using molecular tools: a primer for the natural products research community. Journal of Natural Products, 80(3): 756-770
- Ren S, Yang M, Li Y, Zhang F, Chen Z, Zhang J, Yang G, Yue Y, Li S, Ge F, Wang S, 2016. Global phosphoproteomic analysis reveals the involvement of phosphorylation in aflatoxins biosynthesis in the pathogenic fungus *Aspergillus flavus*. Scientific Reports, 6: 34078
- Ren S, Yang M, Yue Y, Ge F, Li Y, Guo X, Zhang J, Zhang F, Nie X, Wang S, 2018. Lysine succinylation contributes to aflatoxin 6 production and pathogenicity in *Aspergillus flavus*. Molecular & Cellular Proteomics, 17(3): 457-471
- Rohlf M, 2015. Fungal secondary metabolite dynamics in fungus-grazer interactions: novel insights and unanswered questions. Frontiers in Microbiology, 5: 788
- Roze LV, Beaudry RM, Keller NP, Linz JE, 2004. Regulation of aflatoxin synthesis by FadA/cAMP/protein kinase A signaling in *Aspergillus parasiticus*. Mycopathologia, 158(2): 219-232
- Scherlach K, Hertweck C, 2017. Mediators of mutualistic microbe-microbe interactions. Natural Product Reports, 35(8): 303-308
- Schimmel TG, Coffman AD, Parsons SJ, 1998. Effect of butyrolactone I on the producing fungus, *Aspergillus terreus*. Applied Environmental Microbiology, 64(10): 3707-3712
- Shimizu K, Keller NP, 2001. Genetic involvement of a cAMP-dependent protein kinase in a G protein signaling pathway regulating morphological and chemical transitions in *Aspergillus nidulans*. Genetics, 157(2): 591-600
- Shwab EK, Jin WB, Tribus M, Galehr J, Graessle S, Keller NP, 2007. Histone deacetylase activity regulates chemical diversity in *Aspergillus*. Eukaryotic Cell, 6(9): 1656
- Singaravelan N, Grishkan I, Beharav A, Wakamatsu K, Ito S, Nevo E, 2008. Adaptive melanin response of the soil fungus *Aspergillus niger* to UV radiation stress at "Evolution Canyon", Mount Carmel, Israel. PLoS One, 3(8): e2993
- Sonja P, Ramona F, Kristin S, Andreas H, Erika P, Manfred M, Lawrence CB, Reinhard F, 2014. Role of the *Alternaria alternata* blue-light receptor LreA (white-collar 1) in spore formation and secondary metabolism. Applied Environmental Microbiology, 80(8): 2582-2591
- Spraker JE, Sanchez LM, Lowe TM, Dorrestein PC, Keller NP, 2016. *Ralstonia solanacearum* lipopeptide induces chlamydospore development in fungi and facilitates bacterial entry into fungal tissues. The ISME Journal, 10(9): 2317-2330
- Wang RZ, 2017. Studies on comparative genomics and endobacteria of *Esteva vermicola*. PhD Dissertation, Chinese Academy of Forestry, Beijing. 5-6 (in Chinese)
- Wu F, Zhou LW, Yang ZL, Bau T, Li TH, Dai YC, 2019. Resource diversity of Chinese macrofungi: edible, medicinal and poisonous species. Fungal Diversity, 2: 1-76
- Xu J, 2016. Fungal DNA barcoding. Genome, 59(11): 913
- Yang K, Liu Y, Liang L, Li Z, Qin Q, Nie X, Wang S, 2017. The high-affinity phosphodiesterase PdeH regulates development and aflatoxin biosynthesis in *Aspergillus flavus*. Fungal Genetics and Biology, 101: 7-19
- Yang K, Liu Y, Wang S, Wu L, Xie R, Lan H, Fasoyin OE, Wang Y, Wang S, 2019. Cyclase-associated protein cap with multiple domains contributes to mycotoxin biosynthesis and fungal virulence in *Aspergillus flavus*. Journal of

- Agricultural and Food Chemistry, 67(15): 4200-4213
- Yang K, Qin Q, Liu Y, Zhang L, Liang L, Lan H, Chen C, You Y, Zhang F, Wang S, 2016. Adenylate cyclase AcyA regulates development, aflatoxin biosynthesis and fungal virulence in *Aspergillus flavus*. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, 6: 190
- Zeilinger S, Gupta VK, Dahms TE, Silva RN, Singh HB, Upadhyay RS, Gomes EV, Tsui CK, Nayak SC, 2016. Friends or foes? Emerging insights from fungal interactions with plants. *FEMS Microbiology Reviews*, 40(2): 182-207
- Zhao Y, Ding J, Yuan W, Huang J, Huang W, Wang Y, Zheng W, 2017. Production of a fungal furocoumarin by a polyketide synthase gene cluster confers the chemo-resistance of *Neurospora crassa* to the predation by fungivorous arthropods. *Environmental Microbiology*, 19(10): 3920-3929
- Zhi QQ, Li JY, Liu QY, He ZM, 2017. A cytosine methyltransferase ortholog *dmtA* is involved in the sensitivity of *Aspergillus flavus* to environmental stresses. *Fungal Biology*, 121(5): 501-514
- Zhou Y, 2018. Mechanism of a marine fungal secondary metabolite: asperlin prevents atherosclerosis. Master Thesis, Peking Union Medical College, Beijing. 7-8 (in Chinese)
- [附中文参考文献]
- 陈旭, 雷帮星, 文庭池, 曾茜, 2017. 一株马比木植物内生真菌 *Trichoderma* sp. 抗癌活性研究. 时珍国医国药, 28(3): 16-19
- 孔阳, 2019. 白花夹竹桃内生真菌次生代谢产物及其活性的研究. 陕西科技大学博士论文, 西安. 6-8
- 李璐宁, 2019. 大型真菌 *Hericium alpestre* 次级代谢产物的分离和 4-羟基-2-吡啶酮类生物碱 sambutoxin 的抗肿瘤作用及机制研究. 山东大学博士论文, 济南. 12-17
- 王瑞珍, 2017. 伊氏线虫真菌比较基因组及其内生细菌的研究. 中国林业科学研究院博士论文, 北京. 5-6
- 周岳, 2018. 海洋真菌次级代谢产物曲林菌素抗动脉粥样硬化作用机制研究. 北京协和医学院硕士论文, 北京. 7-8

(本文责编: 韩丽)