

丝状真菌疏水蛋白的表达调控机制研究进展

吴斯凯 江贤章*

福建师范大学生命科学学院 工业微生物发酵技术国家地方联合工程研究中心, 中国·福建 福州 350117

摘要: 丝状真菌疏水蛋白是具独特两亲性的表面活性蛋白, 在真菌生长发育与环境适应中作用关键。随着相关技术发展, 其表达调控机制研究取得显著进展。本文梳理了其结构、功能及工业应用潜力, 重点分析关键调控因素, 指出其表达受转录、翻译及翻译后修饰等多层次调控: 转录层面有转录因子和环境因素影响, 翻译后修饰(尤其糖基化)对其稳定性和功能至关重要。目前研究存在调控网络认识不足等问题, 未来需加强多组学整合, 为其在多领域应用提供理论支撑。

关键词: 丝状真菌; 疏水蛋白; 转录调控; 翻译后修饰

Research progress on the expression and regulation mechanism of hydrophobic protein in filamentous fungi

Wu Sikai, Jiang Xianzhang*

National and Local Joint Engineering Research Center for Industrial Microbial Fermentation Technology, School of Life Sciences, Fujian Normal University, China Fujian Fuzhou 350117

Abstract: Filamentous fungal hydrophobic protein is a surfactant protein with unique amphiphilic properties, which plays a key role in fungal growth and environmental adaptation. With the development of related technologies, significant progress has been made in the study of its expression regulation mechanism. This paper reviews its structure, function and industrial application potential, focuses on the analysis of key regulatory factors, and points out that its expression is regulated by multiple levels such as transcription, translation and post-translational modifications: transcriptional factors and environmental factors affect the transcriptional level, and post-translational modifications (especially glycosylation) are crucial for its stability and function. In the future, it is necessary to strengthen the integration of multi-omics to provide theoretical support for its application in multiple fields.

Keywords: Filamentous fungi; Hydrophobic proteins; Transcriptional regulation; Post-translation retouchin

0 引言

疏水蛋白(hydrophobins)是一类具独特两亲性结构的小分子蛋白, 广泛存在于各类丝状真菌或细菌(如枯草芽孢杆菌 *Bacillus subtilis*)中^[1]。疏水蛋白的分子量通常为 8-10 kDa, 最显著的特征是含有 8 个保守的半胱氨酸残基, 通过 4 对二硫键形成稳定的刚性结构^[2]。根据溶解性和自组装特性, 疏水蛋白被分为两类: I 型(如裂褶菌(*Schizophyllum commune*)的 SC3 蛋白)在强变性剂(如甲酸)中可溶, 但耐 SDS(十二烷基硫酸钠)处理; II 型(如枯草芽孢杆菌 BslA 蛋白)则溶于 SDS 或 60% 乙醇, 且表面缺乏棒状拓扑结构。这类蛋白的核心功能是在气-液或固-液界面自组装成 10 nm 厚的双亲性蛋白膜, 显著降低水的表面张力(从 72 mJ/m² 降至 24 mJ/m²), 彻底反转界面的亲疏水性。

疏水蛋白可以在气液界面自组装形成双亲性蛋白膜, 改变界面亲疏水性显著改变材料表面的理化性质, 疏水蛋白在真菌生存与传播中发挥关键作用, 如促进真菌的气生菌丝形成, 使真菌菌丝能够直立, 脱离水面的束缚向上生长^[3]、增强孢子疏水性以利于传播^[4]、参与真菌与宿主或环境的相互作用等^[5,6], 而在细菌生长发育当中也起着重要作用, 促进生物膜的形成和维持^[7], 改变细胞表面的物理化学性质^[8], 因此疏水蛋白对于真菌或细菌都是不可或缺的, 是真菌及细菌生长和发育中重要的组成成分之一。

1 丝状真菌与疏水蛋白

疏水蛋白(Hydrophobins)是一类主要由丝状真菌产生的小分子量两亲性蛋白质, 因其独特的表面活性、自组装能力和多功能性, 在多个领域展现出广泛的应用潜力。在真菌生物学和工业应用中具有不可替代的重要性。这类

蛋白含有 8 个保守的半胱氨酸残基,通过自组装形成稳定的界面膜,赋予真菌关键的环境适应能力:在粗糙脉孢霉 (*Neurospora crassa*) 中,敲除 eas (easily wettable) 基因,即疏水蛋白基因,导致孢子表面棒状层完全消失,孢子疏水性显著降低(接触角从 $>100^\circ$ 降至 $<30^\circ$),风媒传播效率下降约 60%^[5]。里氏木霉 (*Trichoderma reesei*) 的 hfb1/hfb2 双敲除株表现出气生菌丝形成减少 70%、纤维素酶分泌量下降 40%,以及在 0.7 M NaCl 胁迫下孢子萌发率降低 55% 等表型^[6]。裂褶菌 (*Schizophyllum commune*) 的 SC3 (疏水蛋白基因) 敲除则导致气生菌丝无法突破液体表面(界面张力维持在 72 mN/m)、子实体发育停滞,以及表面接触角从 120° 降至 50° ^[4]。值得注意的是,部分真菌如构巢曲霉 (*Aspergillus nidulans*) 存在功能补偿现象,敲除单个基因会引发其他家族成员上调表达^[1]。这些研究证实了疏水蛋白在孢子形成、气生菌丝发育和环境适应中的关键作用,并为其工业应用改造提供了理论依据,疏水蛋白其因优异的表面活性和自组装特性。

疏水蛋白与应用。疏水蛋白在药物递送、环境治理、生物材料制备及食品和工业等方面前景广阔,例如:在工业应用方面,里氏木霉 (*Trichoderma reesei*) 中敲除非目标 hfb3 基因可提高 HFBI 产量 1.8 倍,同时使纤维素消耗速率加快 35%^[9]。疏水蛋白可以作为药物载体,显著提高药物的血清稳定性;研究表明,疏水蛋白通过自组装形成空腔,能够保护药物分子免受蛋白酶降解,从而延长其在体内的半衰期,疏水蛋白被用于稳定胰高血糖素样肽-1 (GLP-1),显著提高了其在糖尿病治疗中的效果^[10]。此外,疏水蛋白还被用于制备靶向肿瘤的纳米颗粒,如基于疏水蛋白的 IR780 纳米颗粒,显著提高了光热疗法的肿瘤靶向性和治疗效果^[11]。

在医学应用上,疏水蛋白包被的回声微泡被设计为分子靶向探针,用于超声分子成像。这些微泡能够特异性结合肿瘤细胞,提供高分辨率的成像效果,从而帮助早期癌症诊断^[12]。此外,疏水蛋白还被用于合成纳米颗粒,如金纳米球,进一步增强了其在环境治理中的应用潜力^[13]。疏水蛋白还开发生物相容性涂层^[14]、疏水蛋白还可以作为天然乳化剂,疏水蛋白被用于食品级油的乳化,显示出高达 87.64% 的乳化活性^[1]、疏水蛋白还能够促进疏水性污染物降解^[15]。

2 疏水蛋白的转录调控机制

2.1 环境信号与转录因子的作用

国内外学者在疏水蛋白转录调控机制研究中取得显著

进展,证实其基因表达受多种转录因子精细调控。例如,里氏木霉中 hfb1 和 hfb2 基因的表达呈碳源选择性差异:hfb1 在葡萄糖培养基中被激活,hfb2 则对纤维素、乳糖等复杂碳源响应更显著^[8],研究显示不同基因可能通过独立转录通路响应环境信号。

环境因素对转录水平的调控作用已被广泛证实^[11],食用真菌蛹虫草 (*Cordyceps militaris*) 在黑暗条件下,Cmhyd4 基因在菌丝阶段高表达,而在光照条件下,其转录水平显著降低,这表明光信号对 Cmhyd4 的表达具有重要的调控作用;CmWC-1 是蛹虫草中的一个蓝光受体基因,参与光信号传导,尽管 CmWC-1 并不直接结合 Cmhyd4 的启动子区域,但研究推测 CmWC-1 可能通过影响其他未知因子来调节 Cmhyd4 的表达^[16]。如在粗糙脉孢霉中,光照和生物钟信号显著影响 eas 基因的转录活性^[3];在白腐菌 (*Pleurotus ostreatus*) 中,疏水蛋白 Vmh3 在木质素降解过程中起关键作用,缺失 Vmh3 会导致菌丝表面疏水性降低,并显著延迟木质素降解^[17]。灵芝中 hyd1 基因表达受氮代谢关键转录因子 AreA 负向调控,氮饥饿条件下表达量显著提升^[9],上述环境因素表明,真菌可整合光信号、营养状态等多重信息动态调整表达,其基因表达受多种转录因子精细调控,且环境因素如碳源、光照等对转录水平调控作用显著,不同基因可能通过独立转录通路响应环境信号。

2.2 转录调控的物种特异性与保守性

尽管不同真菌的转录调控机制存在差异,但某些核心调控元件在进化上具有保守性。绿僵菌 (*Metarhizium anisopliae*) 中 10 个 II 类疏水蛋白基因的表达依赖蓝光调节蛋白 BLR1/BLR2^[18],体现物种特异性。而某些核心调控元件(如保守半胱氨酸残基、特定转录因子结合位点)在各类真菌中高度保守,如裂褶菌 Sc3 基因的表达受交配型基因严格调控^[19],扩展青霉 (*Penicillium expansum*) 的多重疏水蛋白基因缺失突变体表现出“孢子扩散缺陷-宿主定植能力增强”的功能权衡^[20],这种“模块化”特征为通用型表达系统设计提供可能,可为疏水蛋白产量的提高起到一定的借鉴意义。

尽管疏水蛋白在不同物种间的氨基酸序列相似性较低,但它们在结构和功能上展现出显著的保守性。所有疏水蛋白均含有八个半胱氨酸残基,形成保守的四二硫键模式,这一特征是疏水蛋白的独特之处。此外,疏水蛋白在不同物种中形成基因家族,表明它们在进化上具有一定的保守性。在结构上,尽管序列差异较大,但它们的

二级和三级结构具有一定的保守性，例如通过生信分析，*Pleurotus floridanus* (PfH) 的疏水蛋白与 *Schizophyllum commune* 的 HYD1 疏水蛋白在三级结构上具有 91.5% 的相似性^[21]。

在功能上，疏水蛋白在不同真菌中均能形成保护层，减少水分附着，保护菌丝免受周围水分的影响。这种保守性可能与它们在真菌生长和发育中的关键作用密切相关。

3 表观遗传调控机制

DNA 甲基化与组蛋白修饰。表观遗传调控在疏水蛋白表达中的作用逐渐受到关注。DNA 甲基化和组蛋白修饰可通过影响染色质结构和基因可及性调控表达，且无需改变 DNA 序列。例如，特定环境下 DNA 甲基转移酶 DNMT3B 的活性变化与疏水蛋白基因表达呈显著相关性，可能通过改变启动子甲基化状态调节转录^[22]。灵芝中氮饥饿条件下 *hyd1* 基因表达上调与组蛋白去甲基化酶活性增强相关^[23]，提示组蛋白修饰可能作为环境信号与基因表达的桥梁。目前的研究多集中在特定基因和环境条件下的个例分析，对于表观遗传调控在疏水蛋白表达中的全局性作用机制以及不同调控方式之间的相互协作关系尚不明确。未来的研究需要进一步深入探索。此外，还需关注表观遗传调控与转录因子等其他调控因子之间的协同作用机制^[24]，以及这些调控机制在疏水蛋白功能实现和生物适应性进化中的具体意义。

4 翻译后修饰机制

4.1 二硫键形成与功能

在真菌中，疏水蛋白的结构与功能密切相关，而二硫键的形成在其中起着关键作用，翻译后修饰对疏水蛋白功能调控至关重要，其中疏水蛋白结构中对于二硫键形成是非常重要的。疏水蛋白分子中 8 个保守半胱氨酸残基形成 4 对分子内二硫键，维持其独特三维结构，正如 Sallada 等指出“II 类疏水蛋白的二硫键对其结构稳定性、表面活性及溶液自组装能力具有决定性作用”^[25]。烟曲霉 (*Aspergillus fumigatus*) 中，蛋白二硫键异构酶 Pdi1 通过催化 RodA 蛋白正确折叠，直接影响分生孢子表面疏水层的组装和功能^[26]，其活性缺失会导致 RodA 二硫键错配，阻碍细胞壁外层传递与自组装。由此可见，二硫键的形成对于疏水蛋白的形成是不可或缺的，缺少了二硫键的形成就会影响疏水蛋白的装配和作用。

4.2 糖基化修饰及其他修饰

在生物体内，蛋白质的修饰过程是生命活动的重要组成部分，其中糖基化修饰及其他修饰在众多生理过程中扮

演着关键角色。里氏木霉 HFBII 蛋白的糖基化程度与其溶解性和自组装特性密切相关^[27]；毕赤酵母 (*Pichia pastoris*) 中，共表达分子伴侣蛋白 PDI1 和 ERO1 可显著提高 HFBI 的分泌量^[28]，表明翻译后加工系统对产量的关键影响。此外，mRNA 的 N6 - 甲基腺苷 (m6A) 修饰可能通过影响 mRNA 稳定性和翻译效率参与调控^[6]。不同类别疏水蛋白的翻译后修饰存在差异。I 类疏水蛋白 (如粗糙脉孢霉的 *eas* 疏水蛋白) 形成的膜结构极稳定，需强酸解离；II 类疏水蛋白 (如里氏木霉 HFBII) 形成的膜具有弹性，可溶于有机溶剂^[25]，这种差异部分源于修饰模式不同。某些修饰具有环境响应性，如平菇 *vmh3* 基因缺失突变体在 SDS 和过氧化氢胁迫下表现出生长缺陷，其特定修饰可能参与环境应激反应^[29]。

5 结语

当前对丝状真菌疏水蛋白表达调控机制的研究已经形成了多层次的系统认识。在转录调控层面，研究发现不同碳源可通过调控转录因子活性影响疏水蛋白表达，如里氏木霉中纤维素可显著诱导 *hfb1/hfb2* 基因表达，而葡萄糖则产生抑制作用。表观遗传调控方面，粗糙脉孢霉 *eas* 基因的表达受组蛋白修饰状态调控，H3K9 甲基化可抑制其转录。翻译后修饰过程中，烟曲霉 RodA 蛋白的正确折叠依赖于二硫键异构酶参与的四对二硫键形成。这些调控机制既展现出物种特异性，如黄曲霉 (*Aspergillus flavus*) 通过 AmyR 转录因子响应淀粉信号，而绿僵菌则利用 Mads-box 转录因子调控疏水蛋白表达；又保留了核心保守性，如所有疏水蛋白均含 8 个半胱氨酸残基形成的特征性二硫键模式。

现有研究存在几个关键局限：首先，多数调控因子的作用机制仍停留在相关性分析阶段，缺乏直接的分子互作证据；其次，转录调控、表观修饰和翻译后加工等不同层次间的协同调控网络尚未阐明；再者，对疏水蛋白功能特性的精准调控研究不足，如自组装膜的机械强度、稳定性和界面活性等性能的定向优化策略较少。在应用方面，尽管已有研究尝试利用疏水蛋白开发生物传感器、药物载体和功能涂层，但其在纳米材料领域的潜力尚未充分挖掘。

未来研究应重点关注三个方向：①整合多组学技术 (如 ChIP-seq、ATAC-seq 和蛋白质互作组学) 解析蛋白调控网络的分子细节；②开发基于 CRISPR-Cas9 的高效基因编辑工具，实现疏水蛋白表达和修饰的精准操控；③加强基础研究与产业应用的衔接，特别是探索疏水蛋白在柔性电子器件、智能药物递送系统等新兴领域的应用价

值；通过系统优化疏水蛋白的表达调控和功能特性，将显著提升丝状真菌资源在生物制造领域的开发利用水平。

参考文献：

- [1] KHALESİ M, GEBRUERS K, DERDELİNCKX G. Recent Advances in Fungal Hydrophobin Towards Using in Industry[J]. The Protein Journal, 2015, 34(4): 243–255.
- [2] VEREMAN J, THYSENS T, VAN IMPE J, et al. Improved extraction and purification of the hydrophobin HFBI[J]. Biotechnology Journal, 2021, 16(11): e2100245.
- [3] BELL - PEDERSEN D, LEWIS Z A, LOROS J J, et al. The Neurospora circadian clock regulates a transcription factor that controls rhythmic expression of the output eas(ccg - 2) gene[J]. Molecular Microbiology, 2001, 41(4): 897–909.
- [4] WÖSTEN H A B, VAN WETTER M A, LUGONES L G, et al. How a fungus escapes the water to grow into the air[J]. Current Biology, 1999, 9(2): 85–88.
- [5] WHITEFORD J R, SPANU P D. The Hydrophobin Hcf-1 of Cladosporium fulvum Is Required for Efficient Water-Mediated Dispersal of Conidia[J]. Fungal Genetics and Biology, 2001, 32(3): 159–168.
- [6] GUZMÁN-GUZMÁN P, ALEMÁN-DUARTE M I, DELAYE L, et al. Identification of effector-like proteins in Trichoderma spp. and role of a hydrophobin in the plant-fungus interaction and mycoparasitism[J]. BMC Genetics, 2017, 18(1).
- [7] BROMLEY K M, MORRIS R J, HOBLEY L, et al. Interfacial self-assembly of a bacterial hydrophobin[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences, 2015, 112(17): 5419–5424.
- [8] ZHI M, ZHAO Y, ZENG X, et al. Filamentous cyanobacteria and hydrophobic protein in extracellular polymeric substances facilitate algae-bacteria aggregation during partial nitrification[J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2023, 251: 126379.
- [9] QIAO J, LIU H, XUE P, et al. Function of a hydrophobin in growth and development, nitrogen regulation, and abiotic stress resistance of Ganoderma lucidum[J]. FEMS Microbiology Letters, 2023, 370.
- [10] ZHAO L, XU H, LI Y, et al. Novel application of hydrophobin in medical science: a drug carrier for improving serum stability[J]. Scientific Reports, 2016, 6(1): 26461.

DOI:10.1038/srep26461.

- [11] TANIGUCHI S, SANDIFORD L, COOPER M, et al. Hydrophobin-Encapsulated Quantum Dots[J]. ACS Applied Materials & Interfaces, 2016, 8(7): 4887–4893.
- [12] AL - TERKE H H, BEAUNE G, JUNAID M, et al. Hydrophobin - Coated Echogenic Microbubbles for Molecular Targeting of Tumor Cells[J]. Advanced Science, 2025, 12(22): 2401526.
- [13] MAIOLO D, PIGLIACELLI C, SÁNCHEZ MORENO P, et al. Bio reducible Hydrophobin-Stabilized Supraparticles for Selective Intracellular Release[J]. ACS Nano, 2017, 11(9): 9413–9423.
- [14] BOEUF S, THROM T, GUTT B, et al. Engineering hydrophobin DewA to generate surfaces that enhance adhesion of human but not bacterial cells[J]. Acta Biomaterialia, 2012, 8(3): 1037–1047.
- [15] NAKARI - SETÄLÄ T, ARO N, ILMÉN M, et al. Differential Expression of the Vegetative and Spore - Bound Hydrophobins of Trichoderma Reesei Cloning and Characterization of the Hfb2 Gene[J]. European Journal of Biochemistry, 1997, 248(2): 415–423.
- [16] LI X, LIU M, DONG C. Hydrophobin Gene Cmhyd4 Negatively Regulates Fruiting Body Development in Edible Fungi Cordyceps militaris[J]. International Journal of Molecular Sciences, 2023, 24(5): 4586.
- [17] HAN J, KAWAUCHI M, TERAUCHI Y, et al. Physiological function of hydrophobin Vmh3 in lignin degradation by white-rot fungus Pleurotus ostreatus[J]. Letters in Applied Microbiology, 2023, 76(4): 048.
- [18] MIKUS M, HATVANI L, NEUHOF T, et al. Differential Regulation and Posttranslational Processing of the Class II Hydrophobin Genes from the Biocontrol Fungus Hypocrea atroviridis[J]. Applied and Environmental Microbiology, 2009, 75(10): 3222–3229.
- [19] WESSELS J G H. Hydrophobin Genes Involved in Formation of Aerial Hyphae and Fruit Bodies in Schizophyllum[J]. Plant Cell. 1991 Aug;3(8):793–799.
- [20] LUCIANO-ROSARIO D, EAGAN J L, ARYAL N, et al. The Hydrophobin Gene Family Confers a Fitness Trade-off between Spore Dispersal and Host Colonization in Penicillium expansum[J]. mBio, 2022, 13(6).

[21] RAFEEQ C M, VAISHNAV A B, MANZUR ALI P P. Characterisation and comparative analysis of hydrophobin isolated from *Pleurotus floridanus* (PfH)[J]. *Protein Expression and Purification*, 2021, 182: 105834.

[22] ZHANG X, ZHAO L, LIU S, et al. Identification and Functional Analysis of a Novel Hydrophobic Protein VdHP1 from *Verticillium dahliae*[J]. *Microbiology Spectrum*, 2022, 10(2).

[23] LUO X, AFFELDT K J, KELLER N P. Characterization of the Far Transcription Factor Family in *Aspergillus flavus*[J]. *G3 Genes | Genomes | Genetics*, 2016, 6(10): 3269-3281.

[24] YAP H Y Y, CHOOI Y H, FUNG S Y, et al. Transcriptome Analysis Revealed Highly Expressed Genes Encoding Secondary Metabolite Pathways and Small Cysteine-Rich Proteins in the Sclerotium of *Lignosus rhinocerotis*[J]. *PLOS ONE*, 2015, 10(11): e0143549.

[25] SALLADA N D, DUNN K J, BERGER B W. A Structural and Functional Role for Disulfide Bonds in a Class II Hydrophobin[J]. *Biochemistry*, 2018, 57(5): 645-653.

[26] HU X, ZHOU Y, LIU R, et al. Protein disulfide isomerase 1 is required for RodA assembling-based conidial hydrophobicity of *Aspergillus fumigatus*[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2024, 90(4).

[27] NAKARI - SETÄLÄ T, ARO N, KALKKINEN N, et al. Genetic and Biochemical Characterization of the *Trichoderma Reesei* Hydrophobin HFBI[J]. *European Journal of Biochemistry*, 1996, 235(1-2): 248-255.

[28] SALLADA N D, HARKINS L E, BERGER B W. Effect of gene copy number and chaperone coexpression on recombinant hydrophobin HFBI biosurfactant production in *Pichia pastoris*[J]. *Biotechnology and Bioengineering*, 2019, 116(8): 2029-2040.

[29] HAN J, KAWAUCHI M, SCHIPHOF K, et al. Features of disruption mutants of genes encoding for hydrophobin Vmh2 and Vmh3 in mycelial formation and resistance to environmental stress in *Pleurotus ostreatus*[J]. *FEMS Microbiology Letters*, 2023, 370.

基金项目：福建省科技厅，自然科学基金面上项目，异源转录因子对里氏木霉植物细胞壁降解酶系的调控影响(2020J01177)。

作者简介：吴斯凯（1999.12-），男，汉族，福建省漳州市人，硕士研究生，研究方向：丝状真菌分泌蛋白的表达调控。

作者简介：江贤章（1980.06-），男，汉族，福建省福州市人，博士，副教授，研究方向：工业微生物遗传育种与代谢工程。