

漆酶的功能特性与微生物生产研究进展

孙雨, 张海伦, 王文博, 谭福民, 高翠娟, 刘晶晶*

临沂大学生命科学学院, 山东 临沂

收稿日期: 2023年10月12日; 录用日期: 2023年12月6日; 发布日期: 2023年12月15日

摘要

漆酶是一种多酚氧化酶, 分子结构含铜, 可以分解生物胺、木质素以及多种酚类物质, 在生物检测、食品工业和废水处理等方面都有着广泛的应用价值。本文首先综述了漆酶的酶学特征, 并对漆酶的生物功能和应用进行了解释说明, 进而分析了产漆酶微生物的种类和酶学性质的差异, 最后总结了利用微生物生产漆酶的研究进展, 为下一步利用漆酶开展生物修复工程等环保应用的研究奠定了基础。

关键词

漆酶, 酶学特征, 微生物法, 生物修复工程

Advances in the Function and Properties of Laccase and Its Microbial Production

Yu Sun, Hailun Zhang, Wenbo Wang, Fumin Tan, Cuijuan Gao, Jingjing Liu*

School of Life Science, Linyi University, Linyi Shandong

Received: Oct. 12th, 2023; accepted: Dec. 6th, 2023; published: Dec. 15th, 2023

Abstract

Laccase is a class of copper-containing polyphenol oxidases capable of degrading biogenic amines, lignin and a variety of phenolics, with a wide range of applications in bioassay, food industry and wastewater treatment. This paper first reviews the enzymatic properties of laccase and describes its biological functions and applications, then analyses the differences in species and enzymatic properties of laccase-producing microorganisms. Finally, it summarizes the research progress on laccase production by microorganisms, which lays the foundation for the next research on environmental applications such as laccase-based bioremediation engineering.

*通讯作者。

Keywords

Laccase, Enzymatic Characteristics, Microbial Method, Bioremediation Engineering

Copyright © 2023 by author(s) and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY 4.0).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

1. 引言

1883年,研究者在日本漆树的渗透液中发现了一种含铜的多酚氧化酶,1894年法国学者将其命名为漆酶,它是铜蓝氧化酶的一种,以单体糖蛋白的形式存在,有重要的生物学意义[1]。漆酶的分布在自然界中十分普遍,在动植物、地衣、真菌和细菌中无处不在。典型的真菌漆酶大多由一种多肽组成,并伴有不同程度的糖基化,其糖含量和类型因漆酶来源而异[2]。细菌漆酶没有糖基化的修饰,绝大多数细菌漆酶为分子由一条肽链构成的单体酶,只有少数的细菌漆酶为寡聚酶[3]。绝大部分细菌漆酶分子中有4个铜离子,少部分细菌漆酶分子含有的个别铜离子会被锌离子或铁离子所代替。唐禄鑫等的研究显示原核漆酶的最适反应温度一般为40~92℃,最适pH通常是中性和碱性,依据张馨等的研究可知真菌漆酶的最适温度在25~60℃之间,最适pH偏酸[4][5]。不同种类来源的漆酶虽然在理化性质和酶学特征上存在不同之处,但在活性、催化反应机制以及底物多样性上具有相似性,都需要利用自由基和LMS系统[4]-[10]。漆酶在有氧气的条件下能够降解生物胺、木质素以及酚类物质,底物经漆酶氧化后生成水而不产生有害的过氧化氢和活性氧等中间产物,所以漆酶属于一种环保型酶制剂[5][11]。漆酶因此独特的催化特性在食品、造纸、医药和纳米生物技术等领域受到广泛关注[12],也在生物检测中成为各种底物、辅酶、抑制剂等进行高效生物检测成分分析的有效工具[13]。近年来,随着人们对环保的日益重视以及生态文明建设工作的开展,漆酶吸引了众多研究者的注意。

本文对漆酶相关的酶学特征、生物功能和应用等方面进行了总结,为后续漆酶的理论和应用研究提供参考。

2. 漆酶的酶学特征

2.1. 结构特征及催化特性

漆酶是一种富含铜的蛋白质,它由三个主要部分组成:肽链、糖配基和 Cu^{2+} 。通常,肽链中包含500~550个氨基酸,而它的分子量大约在60~70 kDa左右[14]。不同来源漆酶的同源性较高,漆酶在细菌、真菌、放线菌和植物中都有报道,在真菌中报道最多,尤其是白腐真菌。典型的漆酶蛋白空间结构如图1(B)所示。以来源血红密孔菌漆酶为例,血红密孔菌是一种白腐真菌,属担子菌纲、多孔菌科,可以组成型的分泌漆酶,其分泌的漆酶氨基酸序列中具有4个铜离子结合区域,7个潜在的糖基化位点,编码518个氨基酸(图1(A)) [15]。根据氨基酸序列的演变关系和酶催化功能的共同性,具有漆酶功能的酶蛋白属于碳水化合物活性酶中的辅助活性酶第一家族(auxiliary activity family 1, AA1)。AA1蛋白家族有3个亚族,典型的漆酶属于第一亚族(AA1-1) [16]。它不溶于水,一般也不溶于有机溶剂,可被盐酸、磷酸和甲酸等克制。一部分小分子介体可以更好地扩大漆酶降解底物范围,提高催化效率和稳定性,如丁香醛、乙酰丁香酮、乙酰香草酮和对香豆酸等[17]。研究表明,漆酶具有较为广泛的底物多样性和较好的稳定性,具有很高的应用价值[18]。漆酶的底物分子包括木质素、酚类及其衍生物、芳胺及其衍生物、芳香羧酸及其

衍生物[1]。漆酶的催化过程是底物的单电子氧化，生成相应的活性自由基，中间产物在氧化还原过程中可转化为二聚体、寡聚体和高聚物。

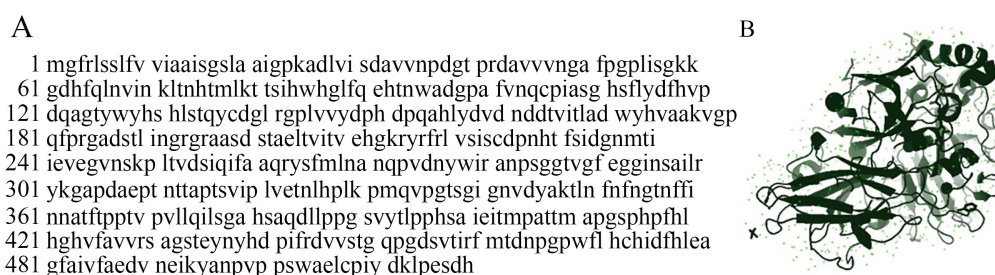


Figure 1. Amino acid sequence (A) and protein structure model (B) of laccase of eukaryotic *Trametes sanguinea*
图 1. 真核生物血红孔菌来源的漆酶氨基酸序列(A)和蛋白结构模型(B)

2.2. 催化反应条件

不同种类漆酶的酶学特征既有相同又各有不同。根据所催化底物种类的不同，漆酶的动力学参数也具有一定的参差。曹玉莹等的研究认为，植物乳杆菌漆酶最适反应温度为 40℃ 左右，最适反应 pH 为 4.0；在反应体系中添加一定量的 Cu^{2+} 、 Mg^{2+} 或 Zn^{2+} 等金属离子，可促进漆酶的活性，分析其原因，可能与漆酶蛋白结构中有 4 个铜离子结合位点相关，而 Mn^{2+} 、 Fe^{2+} 、螯合剂 EDTA 和不同浓度的乙醇对漆酶的酶活均有着不同程度的抑制，这可能是由于乙醇等物质可与蛋白酶分子活性中心上的一些基团结合，使蛋白质结构改变或被破坏，导致降低酶活力[9]。窦隆等人的研究表明，糙皮侧耳漆酶最适反应温度为 63℃ 左右，最适反应 pH 为 6.0； Cu^{2+} 、 Mn^{2+} 和 Zn^{2+} 均可促进酶的活性，而 Ca^{2+} 、 Fe^{2+} 、 Fe^{3+} 和 Pb^{2+} 抑制酶的活性[18]。万善霞等研究显示，杏鲍菇漆酶最适反应温度在 45℃ 左右，最适 pH 为 3.0； Na^+ 、 K^+ 、 Mg^{2+} 、 Cu^{2+} 、 Pb^{2+} 和 Zn^{2+} 均能促进酶促反应，而 Ca^{2+} 、 Mn^{2+} 、 Fe^{2+} 和 Ag^+ 对酶活性存在抑制[19]，这也说明不同微生物来源的漆酶的特性具有显著的差异(表 1)。尚洁等的研究表明，一色齿毛菌漆酶最适反应 pH 值为 3.0，最佳培养温度为 28℃ [20]。由此可知，大多数漆酶的最适反应温度处于 28~65℃ 之间，最适反应 pH 处于 3.0~6.0 之间，不同的金属离子可以对漆酶的活性有促进或抑制作用，而乙醇能抑制大多数漆酶的活性，同时基因突变也可改变漆酶的酶活特性。分而论之，结构基因进行突变会导致酶动力学特性改变，降低酶的稳定性，比如酶对底物亲和力下降、增加对抑制物的亲和力以及加快酶降解速率；调节基因进行突变则可致使酶合成速率降低，延缓翻译后修饰和加工。

Table 1. Comparison of optimal reaction conditions of laccases derived from different strains

表 1. 不同来源漆酶的最适反应条件比较

微生物来源	最适温度	最适 pH	促进剂	抑制剂
植物乳杆菌	40℃	4.0	Cu^{2+} 、 Mg^{2+} 、 Zn^{2+} 、 Ca^{2+}	Mn^{2+} 、 Fe^{2+}
糙皮侧耳	63℃	6.0	Cu^{2+} 、 Mn^{2+} 、 Zn^{2+}	Ca^{2+} 、 Fe^{2+} 、 Fe^{3+} 、 Pb^{2+}
杏鲍菇	45℃	3.0	Na^+ 、 K^+ 、 Mg^{2+} 、 Cu^{2+} 、 Pb^{2+} 、 Zn^{2+}	Ca^{2+} 、 Mn^{2+} 、 Fe^{2+} 、 Ag^+
芽孢杆菌	85℃	4.0	Cu^{2+} 、 Co^{2+}	Hg^{2+} 、 Fe^{2+}
一色齿毛菌	28℃	3.0	Mg^{2+} 、 Mn^{2+} 、 Cu^{2+}	Ca^{2+}

3. 漆酶的功能与应用

作为生物催化剂，漆酶的降解过程具有反应条件温和、绿色无污染等特点，研究表明其能催化氧化

超过二百种不同类型的物质[21]。漆酶的特性与氧化酚类物质具有共同点,因此漆酶可把氧化酚类物质转变为多酚氧化物,进而多酚氧化物自身聚合构成大颗粒,从而被滤除。此外,漆酶还可以降解蒽醌、偶氮和三苯甲烷等类染料,而且脱色率高、活性持久、利用率高。由此可见,漆酶在生物检测、污水降解、食品和造纸工业等方面有极大的发展可能性。

3.1. 降解生物胺类

生物胺作为一类低分子量且含氨基的,具有生物活性的化合物,根据结构的不同可将其分为酪胺、苯乙胺等芳香胺,腐胺、尸胺、精胺、亚精胺等脂肪族胺以及组胺、色胺等杂环胺。少量的生物胺能通过改动 DNA 的结构和改变细胞内生化反应等来调节控制基因表达,从而协助维持人的正常生理功能[22],然而如果摄入生物胺过多就会导致头疼、腹部痉挛、呕吐等不良生理反应的发生。根据生物胺对人体的毒害作用,目前许多国家已经开始尝试根据不同食品的性质制定生物胺的限量标准。其中欧洲国家的要求最为严格,部分食品中组胺最高含量规定需低于 2 mg/L;美国规定国家内售卖的水产品中组胺含量不得超过 50 mg/kg;我国规定除了鲑鱼外,其他水产品中组胺含量不得超过 300 mg/kg [23]。

目前可知的能够降解生物胺的酶主要包括多铜氧化酶、胺氧化酶和胺脱氢酶[24]。其中后两种酶的底物特异性低,能降解胺的种类极少并且降解速度缓慢[24]。而多铜氧化酶可降解多种生物胺且降解总量可达到 403.23 $\mu\text{g/mL}$ [25]。徐洁等的研究也表明胺氧化酶和组胺脱氢酶只特异性作用于某个或某几个生物胺,但来源于发酵乳杆菌的多铜氧化酶可降解 7 种生物胺[26]。多铜氧化酶能够通过降解生物胺产生与之匹配的醛、氨和水,且生物胺降解谱较宽泛,因此是目前降解发酵食品中生物胺应用最广泛的一类酶[27][28]。以漆酶为代表的多铜氧化酶具有广阔的市场空间和较好的发展前景与可能性。粪肠球菌所产多铜氧化酶可降解半数以上的苯乙胺、腐胺、组胺和酪胺[32]。乳酸片球菌 CECT 5930 和戊糖球菌 4816 所产的多铜氧化酶家族中的漆酶都具有生物胺降解能力,主要降解酪胺[33]。徐洁等的研究证实了发酵乳杆菌中的多铜氧化酶对生物胺的降解涉及的范围和种类较多,发酵食品中除精胺外的其他 7 种常见生物胺也能够被降解,多铜氧化酶对组胺的降解能力最强[26]。许女等的研究表明植物乳杆菌 CP3 中的漆酶对生物胺的降解能力达到了 77%,腐胺、尸胺和酪胺的含量均有着显著降低[34]。综上所述,漆酶对生物胺的降解能力强,可降解多种生物胺,具有较宽的生物胺降解谱。依据此降解能力,可有效减少发酵食品中的生物胺,在食品工业具有良好的技术优势和应用前景。更有希望通过实验解析模建蛋白质三维结构等技术方法揭示酶氧化生物胺的反应过程与原理,寻找进化靶点或理论依据来进一步改善酶的酶学性质和应用特性(表 2)。

Table 2. Microorganisms capable of degrading biogenic amines and their degradation efficiency

表 2. 能够降解生物胺的微生物及其降解效率

微生物种类	主要降解生物胺种类	降解率	参考文献
乳酸片球菌 M28	组胺和酪胺	18.9%	[28]
解淀粉芽孢杆菌 FS05	组胺	12.5%	[29]
木糖氧化产碱菌	组胺、酪胺和 β -苯乙胺	10.6%	[30]
粪产碱杆菌	酪胺、 β -苯乙胺	32.2%	[31]
粪肠球菌	苯乙胺、腐胺、组胺和酪胺	54%	[32]
乳酸片球菌 CECT5930	酪胺	31.5%	[33]
戊糖球菌 4816	酪胺	37.8%	[33]
发酵乳杆菌 Y29	色胺、腐胺、尸胺、组胺、苯乙胺和亚精胺	46.2%	[27]
植物乳杆菌 CP3	腐胺和尸胺	77%	[34]

3.2. 处理污染物

近些年有机化合物污染水体的情况越来越严重,其污染水平对健康的影响更加受到人们的重视。酚类化合物及多环芳烃具有引发癌症、畸形、致突变性的潜在危害,且苯系物也是一中常见的对人类有毒有害的污染物,是炼油、造纸、油漆、制药等工业废弃物中的重要污染物质。漆酶可以将酚类化合物氧化偶联成不溶性低聚物或聚合物产物,通过过滤或将废物转化为毒性较低的衍生物以去除顽固性污染物。真菌漆酶协同木聚糖酶可以对废弃报纸进行脱墨处理[35]。Couto 等从白腐菌中提取的漆酶粗酶液对于四种偶氮染料均有超过 50%的脱色效果[36]。黄新健等采用包埋法将漆酶固定化在海藻酸铜(SA)或掺杂膨润土的海藻酸铜(SA/BT)凝胶小球中进行催化反应,发现固定化漆酶对活性蓝 19 的降解效率在 2 h 后分别达到了 89.6%和 91.0%,表现出了良好的染料降解性能[37],这也表明了可采用碳基材料固定化漆酶使其更好的应用于污水处理等领域[38]。Chairin 等从多带栓孔菌 WR710-1 中提取了粗制漆酶,发现在 1-羟基苯并三唑(HBT)介体存在的条件下真菌漆酶可去除水体中的双酚[39]。食用菌在菌丝生长发育过程中能产生漆酶,对农药残留具有降解作用[40] [41] [42] [43]。刘绍雄的研究认为平菇漆酶可以降解有机氯农药六六六,漆酶的酶活性增强,农药降解就加快[44]。谷月研究表明,一色齿毛菌漆酶对农药百菌清有非常强的降解能力,经过活菌漆酶降解的样品中百菌清的残留率非常低[45]。漆酶作为食用菌代谢的重要胞外酶,既能促进食用菌的生长发育,又能较好的降解农药残留。因此,深入研究漆酶的性质对工业废水中酚类化合物和农药残留物的降解具有重要的意义[46]。

3.3. 食用菌生产过程中的作用

食用菌属于真菌类,许多食用菌如木耳、猴头菌、灵芝类、香菇、糙皮侧耳等菌体中都富含漆酶。漆酶在食用菌制种的生产过程中起着不可或缺的重要作用,在食用菌培养过程中产生的漆酶对菌丝生长速度起着重要的作用,可以明显提高其生长速度。菇类生产过程中需要木材等富含纤维的材料作为养料,漆酶能加快纤维内木质素等高分子化合物的氧化分解,为菌丝提供养分。同时,漆酶还可以作为氧化酶参与呼吸过程的电子传递,完成氧化磷酸化过程,也可以进行蛋白质裁剪和异源表达,为菌丝体内物质合成、运转和积累提供更多的营养物质和能量,从而加快菌丝生长,节约制种时间。漆酶还能参与食用菌的色素生成和孢子形成,使其生成更多的子实体原基,提高菇类产量。同时在整个生产过程中,漆酶制剂还能利用酚氧化成醌制成抵抗杂菌的毒素,进而抑制杂菌污染。

3.4. 处理造纸纸浆

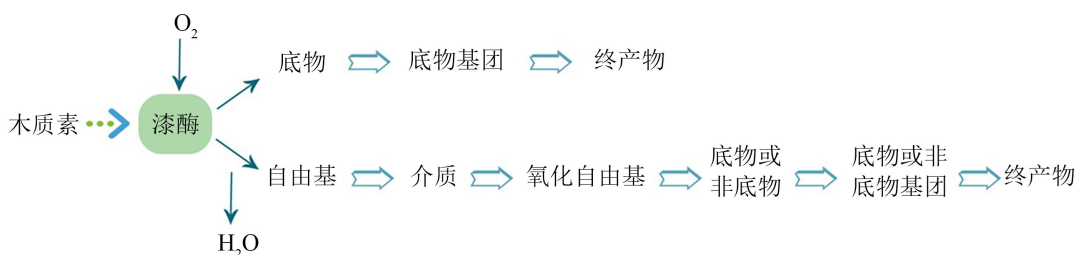


Figure 2. Schematic diagram of lignin degradation catalyzed by laccase in the presence of medium
图 2. 在介质存在下漆酶催化木质素降解的示意图

制浆是造纸过程中的重要环节,该过程需要去除木质纤维素中的木质素。木质素是世界上最丰富的芳香族生物聚合物,难以降解,从而成为废水的主要成分之一[47]。纸浆呈深褐色是因为木质素与纤维素部分共价结合。工业上普遍使用的方法是采用氢氧化钠等化学物质进行漂白,从而导致环境中剧毒物质

增加。有研究表明,使用漆酶处理可以去除木质素、改善纸浆质量,替代传统漂白和沥青去除工艺,更加简单、经济、环保。漆酶在处理纸浆时,与介质一起通过氧化链式反应使纸浆中的木质素氧化(图 2)。此过程所使用的介质,其氧化自由基形式能够与体积大或氧化还原电位高的底物目标相互作用,一些分子量低、氧化还原电势低的化合物常作为这类介质,因为他们容易得失电子,可以在漆酶的作用下形成高活性并稳定的中间体,进而对底物产生作用,使其被氧化[48]。这使得漆酶成为未来在造纸工业中最有发展可能性的酶之一。

4. 产漆酶的微生物种类

4.1. 真核漆酶

日本科学家最早从日本漆树中分离出了一种具有催化性能的蛋白质并将其命名为漆酶,随后研究者证明漆酶是一种含金属的蛋白,引发了后世对漆酶结构和功能的研究。漆酶在动物、植物和微生物中均有发现,真菌漆酶的分布最广、研究最多。真菌漆酶氧化还原电位高,催化活性强,可以合成有机物,消除有毒化合物,在造纸、食品等多个工业领域已被广泛应用[2]。但真菌漆酶发酵生产漆酶所需的时间较长,只适合在温和和酸性条件下使用,在高温、高碱和高盐条件下不稳定,轻易会被部分物质如金属离子、有机溶剂等降低活性[5]。而真核漆酶的异源表达宿主主要包含细菌、酵母、丝状真菌和昆虫杆状细胞。

4.2. 原核漆酶

早在 1993 年,Givaudan 等人第一次在原核生物中发现活性漆酶是在水稻根瘤细菌的脂肪固氮螺菌中检测到漆酶活性。原核漆酶可以在很大程度上弥补真菌漆酶的各种不足之处,如高温和高碱条件下具有很好的稳定性,对抑制剂的敏感性较低,对金属离子的依赖性较低,并易于异源表达等。原核漆酶最适反应温度一般在 40~92℃的区间内。外国学者从地衣芽孢杆菌中分离纯化出的 LS04 漆酶,其最适反应温度为 60℃左右,在中性和碱性条件下都具有较高的稳定性,在龙舌兰芽孢杆菌 SN4 中分离出的新的胞外漆酶 SN4LAC 最适反应温度为 85℃ [49]。原核漆酶在工业应用中具有发酵时间短、生产成本低、应用广泛和经济效益高等优势[5]。与真菌相比,原核漆酶具有氧化还原电位较低、催化活性较弱等缺点。这些缺点可以通过定向进化、蛋白质工程改造等多种技术手段得以克服(表 3)。

Table 3. The sources and catalytic activity of laccase

表 3. 漆酶的来源及催化活性

来源	最适温度	酶活最适 pH	催化活性
漆树漆酶	35℃	2.6	++
家蚕表皮漆酶	50℃	5.0	++
多年卧孔菌漆酶	50~60℃	4.0	+++
地衣芽孢杆菌 LS04 漆酶	60℃	6.5~8.5	+
龙舌兰芽孢杆菌胞外漆酶	85℃	6.0~6.5	+

注:以漆树漆酶作为参比,+代表活性较弱,++代表较强,+++代表强。

5. 利用微生物生产漆酶的研究进展

由于漆酶重要的潜在应用价值,众多研究学者都对利用微生物生产漆酶进行了大量的研究。毛栓菌是具有子实体的真菌,当以玉米面为碳源,豆粉饼为氮源时,菌体生长的生物量较大,漆酶的活性较高,

最高为 5611.6 U/L [50]。吴坤等通过不同碳源、氮源、表面活性剂、初始 pH 等单因子实验, 结合正交实验得到云芝漆酶合成的最优发酵培养基配方, 产漆酶能力最高可以达到 53 U/mL, 在此基础上加入诱导剂愈创木酚等, 漆酶活力比初始酶活可提高 8.7~10.8 倍[51]。杨清香等人的研究认为两种平菇菌种能够向发酵液中分泌高活性的漆酶, 可综合利用食用菌液体发酵产物[52]。营养丰富的综合碳氮源更有利于漆酶的合成, 成本低廉, 有利于大规模生产, 选择合适的培养基对于漆酶的生产至关重要。也可以利用蛋白质裁剪和异源表达等方法来促进漆酶在工业中高效高量的应用。张丽洁的研究发现, 共表达分子伴侣 BMH2 和 PDI 的菌株蛋白的表达水平显著提高, 漆酶酶活也明显提高, 为漆酶的高效表达提供了新的思维方向和明朗的发展前景[53]。此外, 利用基因工程方法对目的基因进行改造或异源表达, 可以获得更高活性的漆酶。如地衣芽孢杆菌漆酶的双突变可以提高其编码基因表达水平和酶活性, 白毛酶漆酶 C 端残基的修饰可提高电子转移速率, 来自变色栓菌的漆酶基因在毕赤酵母中的异源表达已被用于获得高水平的漆酶[54] [55]。

6. 总结与展望

漆酶独特的催化特性使其具有巨大的工业应用潜力, 包括在造纸、食品生产、废水处理、降解有害物质等领域。多种原核和真核微生物均能够分泌漆酶, 但与许多其他工业酶一样, 漆酶的生产也面临着产量低、酶活性低、稳定性较差等问题。目前研究学者主要针对漆酶的生产条件进行了优化, 但是对其合成的调控机制研究甚少。为了满足现代工业对经济节约、绿色生产的发展要求, 在后续的研究中, 可利用基因工程、合成生物学等手段, 构建安全高效的生产菌株, 同时改进下游发酵技术, 进而生产出高活性的漆酶, 大幅度提高漆酶的生物催化活性和生产效率, 使漆酶的工业化应用更加普遍和广泛。

基金项目

山东省自然科学基金(ZR2020QC007), 临沂大学大学生创新创业项目(X202310452546)。

参考文献

- [1] 赖超凤, 李爽, 彭丽丽, 等. 漆酶及其在有机合成中应用的研究进展[J]. 化工进展, 2010, 29(7): 1300-1308.
- [2] 刘忠川, 王刚刚. 真菌漆酶结构与功能研究进展[J]. 生物物理学报, 2013, 29(9): 629-645.
- [3] 高键, 关可兴, 焦晶, 等. 细菌漆酶的结构、催化性能及其应用[J]. 分子催化, 2014, 28(2): 188-196.
- [4] 唐禄鑫, 王雅娴, 彭明意, 等. 真菌漆酶及其生产、固定化与应用[J]. 菌物学报, 2023, 42(9): 1821-1837.
- [5] 张馨, 刘功良, 白卫东, 等. 原核漆酶的研究进展及其应用[J]. 食品工业科技, 2023, 44(15): 451-462.
- [6] 金晓婷, 张志勇, 杨栋, 等. 阿魏侧耳(*Pleurotus ferulae*)产漆酶条件的优化及其酶学性质研究[J]. 中国农学通报, 2016, 32(33): 151-156.
- [7] 邓寒梅, 邵可, 梁家豪, 等. 漆酶的来源及固定化漆酶载体研究进展[J]. 生物技术通报, 2017, 33(6): 10-15.
- [8] 努尔孜亚·亚力买买提, 郝敬喆, 贾文捷, 等. 巴尔喀什蘑菇子实体漆酶纯化与理化特性及对酚类化合物的降解能力[J]. 新疆农业科学, 2023, 60(2): 432-439.
- [9] 曹玉莹, 王爽, 刘怡宁, 等. 植物乳杆菌漆酶的酶学性质及其对生物胺的降解作用[J]. 食品科学, 2023, 44(12): 157-163.
- [10] 雷长阳, 郭彩丽, 胡奇. 金属有机框架固定化漆酶研究进展[J]. 沈阳药科大学学报, 2023, 40(6): 818-830.
- [11] 王雨辰, 丁尊丹, 关菲菲, 等. 耐热漆酶 ba4 基因鉴定与酶学性质分析[J]. 生物技术通报, 2022, 38(8): 252-260.
- [12] 伍周玲, 燕冰宇, 梁东军, 等. 新型固载酶生物传感器制备及食品中有机磷农药检测[J]. 中国食品学报, 2015, 15(3): 166-174.
- [13] 陈中维, 杨锐, 李宁杰, 等. 黄孢原毛平革菌产漆酶优化培养及其对刚果红的脱色降解[J]. 菌物学报, 2021, 40(6): 1538-1548.
- [14] 王国栋, 陈晓亚. 漆酶的性质、功能、催化机理和应用[J]. 植物学通报, 2003(4): 469-475.

- [15] 周菊英, 黄俊, 肖海燕, 等. 血红密孔菌漆酶的活性研究[J]. 武汉理工大学学报, 2005(4): 23-25+29.
- [16] 刘天海, 张强, 苗人云, 等. 梯棱羊肚菌 AA1.2 家族多铜氧化酶基因的异源表达与生化鉴定[J]. 菌物学报, 2020, 39(6): 1139-1151.
- [17] 李佳琪. 漆酶介体体系的研究和应用——小分子天然介体挖掘和血红蛋白介体效应[D]: [硕士学位论文]. 上海: 上海交通大学, 2018.
- [18] 窦隆, 陈莎, 李传仁, 等. 糙皮侧耳 P5 漆酶酶学性质的初步研究[J]. 长江大学学报(自科版), 2015, 12(3): 61-64.
- [19] 万善霞, 滑静, 王文平, 等. 杏鲍菇漆酶部分酶学性质的研究[J]. 中国农学通报, 2009, 25(21): 107-109.
- [20] 尚洁, 王静, 樊明. 白腐真菌利用小麦秸秆产漆酶的筛选及产酶条件的优化[J]. 饲料研究, 2021, 44(19): 75-79.
- [21] 马现成, 张芳芳, 林茹, 等. 漆酶用于环境修复的研究及应用前景[J]. 农业与技术, 2015, 35(3): 8-10.
- [22] 王光强, 俞剑梁, 胡健, 等. 食品中生物胺的研究进展[J]. 食品科学, 2016, 37(1): 269-278.
- [23] Sattler, J., Hesterberg, R., Lorenz, W., *et al.* (2005) Inhibition of Human and Canine Diamine Oxidase by Drugs Used in an Intensive Care Unit: Relevance for Clinical Side Effects? *Agents and Actions*, **16**, 91-94. <https://doi.org/10.1007/BF01983109>
- [24] Berni, R., Piasecki, E., Legay, S., *et al.* (2019) Identification of the Laccase-Like Multicopper Oxidase Gene Family of Sweet Cherry (*Prunus avium* L.) and Expression Analysis in Six Ancient Tuscan Varieties. *Scientific Reports*, **9**, Article No. 3557. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-39151-z>
- [25] 秦善, 石洁, 潘徐盈, 等. 植物乳杆菌源胺氧化酶的异源表达及功能结构分析[J/OL]. 微生物学报, 2023: 1-23. <https://doi.org/10.13343/j.cnki.wsxb.20230296>
- [26] 徐洁, 方芳. 发酵乳杆菌多铜氧化酶的异源表达及酶学性质[J]. 生物工程学报, 2019, 35(7): 1286-1294.
- [27] Kai, S., Shun Yao, L., Youbin, S., *et al.* (2021) Advances in Laccase-Triggered Anabolism for Biotechnology Applications. *Critical Reviews in Biotechnology*, **41**, 969-993. <https://doi.org/10.1080/07388551.2021.1895053>
- [28] 赵佳迪, 单万祥, 钮成拓, 等. 豆瓣酱生物胺降解菌株的筛选、鉴定及其降解特性研究[J]. 食品与发酵工业, 2020, 46(9): 64-72. <https://doi.org/10.13995/j.cnki.11-1802/ts.023496>
- [29] 黄瑶, 罗爱玲, 彭铭焯, 等. 微生物胺氧化酶研究进展[J]. 中国酿造, 2016, 35(9): 24-27.
- [30] 倪秀梅. 优化表达策略提高多铜氧化酶降解生物胺应用特性[D]: [硕士学位论文]. 无锡: 江南大学, 2021.
- [31] 倪秀梅, 杨涛, 方芳. 生物胺降解酶研究进展及其应用[J]. 微生物学通报, 2021, 48(11): 4398-4411.
- [32] Li, B., Wang, Y., Xue, L., *et al.* (2020) Heterologous Expression and Application of Multicopper Oxidases from *Enterococcus* spp. for Degradation of Biogenic Amines. *Protein and Peptide Letters*, **27**, 183-194. <https://doi.org/10.2174/0929866527666200616160859>
- [33] Isidoro, O., Patricia, C., *et al.* (2021) Structural Analysis and Biochemical Properties of Laccase Enzymes from Two *Pediococcus* Species. *Microbial Biotechnology*, **14**, 1026-1043. <https://doi.org/10.1111/1751-7915.13751>
- [34] 许女, 李田田, 贾瑞娟, 等. 降解亚硝酸盐和生物胺乳杆菌筛选及其改善鱼肉香肠品质效果[J]. 农业工程学报, 2018, 34(15): 304-312.
- [35] Virk, P.A., Puri, M., Gupta, V., *et al.* (2017) Combined Enzymatic and Physical Deinking Methodology for Efficient Eco-Friendly Recycling of Old Newsprint. *PLOS ONE*, **8**, e72346. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0072346>
- [36] Couto, R.S. (2007) Decolouration of Industrial Azo Dyes by Crude Laccase from *Trametes hirsuta*. *Journal of Hazardous Materials*, **148**, 768-770. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2007.06.123>
- [37] 黄新健, 陶喜洋, 武占省, 等. 膨润土掺杂海藻酸铜球包埋漆酶及其降解染料特性[J]. 纺织高校基础科学学报, 2023, 36(1): 18-25+35.
- [38] 徐乐天, 王旺民, 付龙汶, 等. 炭基材料固定化真菌漆酶在污水处理领域的应用[J]. 环境化学, 2023, 42(8): 2823-2833.
- [39] Thanunchanok, C., Thitinard, N., Akira, W., *et al.* (2013) Biodegradation of Bisphenol A and Decolorization of Synthetic Dyes by Laccase from White-Rot Fungus, *Trametes polyzona*. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, **169**, 539-545. <https://doi.org/10.1007/s12010-012-9990-3>
- [40] 张萱, 陈海霞, 高文远. 灵芝中麦角甾醇的提取工艺[J]. 中国中药杂志, 2007(4): 353-354.
- [41] 贾晓斌, 宋师花, 陈彦, 等. 超临界 CO₂ 萃取法和醇回流法提取灵芝中三萜类成分的比较[J]. 中成药, 2010, 32(5): 868-871.
- [42] 樊中臣, 唐俊, 操海群, 等. 平菇及其培养料中 5 种拟除虫菊酯类农药的残留消解动态[J]. 食品科学, 2013, 34(11): 41-43.

- [43] 黎志银. 食用菌重金属、农药的吸收规律与残留研究[D]: [硕士学位论文]. 福州: 福建农林大学, 2010.
- [44] 刘绍雄, 李建英, 刘春丽, 等. 平菇漆酶对农药六六六降解作用研究[J]. 中国食用菌, 2018, 37(5): 66-69.
- [45] 谷月, 袁海生. 一色齿毛菌对百菌清的生物降解研究[J]. 菌物学报, 2015, 34(3): 473-481.
- [46] 刘绍雄, 李建英, 刘春丽, 等. 食用菌漆酶及其对农药残留降解作用的研究进展[J]. 食药用菌, 2018, 26(4): 218-221.
- [47] Puneet, A.V., Prince, S. and Neena, C. (2012) Use of Laccase in Pulp and Paper Industry. *Biotechnology Progress*, **28**, 21-32. <https://doi.org/10.1002/btpr.727>
- [48] Riva, S. (2006) Laccases: Blue Enzymes for Green Chemistry. *Trends in Biotechnology*, **24**, 219-226. <https://doi.org/10.1016/j.tibtech.2006.03.006>
- [49] Sonica, S., Prince, S., Shilpa, S., *et al.* (2014) Purification and Characterization of an Extracellular, Thermo-Alkali-Stable, Metal Tolerant Laccase from *Bacillus tequilensis* SN4. *PLOS ONE*, **9**, e96951. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0096951>
- [50] 华霜, 李莉, 关艳丽, 等. 毛栓菌(*Trametes trogii*)液体培养产漆酶的研究[J]. 微生物学杂志, 2010, 30(4): 48-51.
- [51] 吴坤. 杂色云芝(*Coriolus Versicolor*)和杂色云芝漆酶及其对环境污染物的降解研究[D]: [博士学位论文]. 杭州: 浙江大学, 2002.
- [52] 杨清香, 李学梅, 陈建军, 等. 食用菌液体发酵产漆酶的研究[J]. 安徽农业科学, 2007(27): 8558-8559.
- [53] 张丽洁. 漆酶基因的克隆及提高表达量的研究[D]: [硕士学位论文]. 保定: 河北农业大学, 2018.
- [54] Katja, K., Rolf, S. and Vlada, U. (2009) Improving the Functional Expression of a *Bacillus licheniformis* Laccase by Random and Site-Directed Mutagenesis. *BMC Biotechnology*, **9**, Article No. 12. <https://doi.org/10.1186/1472-6750-9-12>
- [55] Yuliana, T., Putri, R.A., Hanidah, I., Mardawati, E. and Tjaturina, H. (2022) Purification and Characterization Laccase from *Trametes versicolor* (L.) Lloyd in Submerged Fermentation. *Biotechnology*, **25**, 1077-1084. <https://doi.org/10.3923/pjbs.2022.1077.1084>