

蛹虫草 *Cordyceps militaris* JN168 菌株的诱变育种及液态发酵产虫草素

刘金彬^{1,2}, 沈建增³, 蔡宇杰^{*1,2}, 廖祥儒^{1,2}, 罗军侠³, 张大兵³

(1. 江南大学 工业生物技术教育部重点实验室, 江苏 无锡 214122; 2. 江南大学 生物工程学院, 江苏 无锡 214122; 3. 江苏汉邦科技有限公司, 江苏 淮安 223001)

摘要: 利用离子束、亚硝基胍及离子束-亚硝基胍诱变法处理蛹虫草 *Cordyceps militaris* JN168, 初步获得了几株较高产虫草素的菌株。通过进一步筛选得到复合诱变菌 2, 并对该菌的液态发酵培养基组分进行了优化。实验结果表明: 蛹虫草液态发酵产虫草素的最佳培养基组分为(g/L), 葡萄糖 40, 酵母浸粉 25, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.6, $\text{K}_2\text{HPO}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ 0.6, KH_2PO_4 0.6。优化后虫草素产量提高了 5 倍, 最高达 1 045.65 mg/L。

关键词: 蛹虫草; 虫草素; 诱变; 液态发酵; 优化

中图分类号: TQ 920.1 文献标志码: A 文章编号: 1673—1689(2015)08—0806—08

Mutation Breeding and Cordycepin Production Study of *Cordyceps militaris* JN168

LIU Jinbin^{1,2}, SHEN Jianzeng³, CAI Yujie^{*1,2}, LIAO Xiangru^{1,2}, LUO Junxia³, ZHANG Dabing³

(1. Key Laboratory of Industrial Biotechnology, Ministry of Education, Jiangnan University, Wuxi 214122, China; 2. School of Biotechnology, Jiangnan University, Wuxi 214122, China; 3. Hanbon Science and Technology Co. Ltd, Huai'an 223001, China)

Abstract: Cordycepin is the major effective component of *Cordyceps militaris*, which is getting more and more attention for its hygienic and medical effects. In this study, we obtained several strains with high cordycepin yield from *Cordyceps militaris* JN168 by using ion beam, nitrosoguanidine and ion beam-nitrosoguanidine mixed mutation. After further screened, the high yield compound mutation strain 2 was obtained. Furthermore, the liquid medium composition of this strain was optimized for the fermentation of cordycepin. The results showed that the components of optimized medium were as follows: glucose 40 g/L, yeast extract 25 g/L, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.6 g/L, $\text{K}_2\text{HPO}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ 0.6 g/L, KH_2PO_4 0.6 g/L. With this optimized medium, the yield of cordycepin increased 5 times, reaching 1 045.65 mg/L.

Keywords: *Cordyceps militaris*, cordycepin, mutation, liquid fermentation, optimization

收稿日期: 2014-03-19

基金项目: 国家自然科学基金项目(21275066)。

* 通信作者: 蔡宇杰(1973—), 男, 江苏无锡人, 工学博士, 教授, 博士研究生导师, 主要从事生物工程方面的研究。

E-mail: yjcai@jiangnan.edu.cn

蛹虫草是中国名贵的中药,是一类极具保健功能的大型药用真菌,属于真菌界、真菌门、子囊菌亚门、粪壳菌纲、肉座菌目、麦角菌科、虫草属^[1],是虫草属的模式种,学名为 *Cordyceps militaris*,又名北冬虫夏草、北虫草^[2]。近来大量文献报道,蛹虫草可产多种活性物质,像虫草素、甘露醇、虫草多糖等^[3-4]。虫草素作为主要有效成分引起了人们的高度重视。

虫草素又名虫草菌素、3'-脱氧腺苷等,是第一个从真菌中分离出来的核苷类抗生素^[5]。1951年,Cunningham等观察到被蛹虫草寄生的昆虫组织不易腐烂,随后从中分离到虫草素。虫草素分子式为 $C_{10}H_{13}N_5O_3$,相对分子质量为 251,熔点为 230~231℃,溶于水、热乙醇和甲醇,不溶于苯、乙醚和氯仿,紫外光的最大吸收波长为 259 nm^[5-6]。很长时间以来,国内外学者对虫草素的药理作用和产品开发研究具有极高的兴趣。大量实验研究表明,虫草素对 DNA 和 RNA 合成、hnRNA 和 mRNA 转录后修饰以及腺苷酸环化酶等均具有抑制作用,具有抗炎、抗真菌、抗癌及抗病毒等多种生理活性^[9]。1997年,FDA 批准美国波士顿大学医学中心进行虫草素治疗急性淋巴细胞白血病和慢性粒细胞白血病的一期临床试验^[4];2008年,FDA 批准美国 OncoVista 公司进行虫草素与腺苷脱氨酶抑制剂喷司他丁联合用药,治疗末端脱氧核苷酸阳性白血病细胞(TDT+)的一期、二期临床试验。目前,由虫草素制成的抗白血病的新药已经进入三期临床。

目前虫草素的生产主要有化学合成和生物合成两种方法^[7]。与生物合成法相比,化学合成虫草素得率低,合成过程中使用了大量有机溶剂(如氯仿等),对环境会造成污染等缺陷。蛹虫草发酵合成虫草素有寄主培养、固态培养、代料栽培和液体培养等多种方式。固态培养过程,蛹虫草产生的虫草素有 98% 从菌丝体分泌到周围的发酵培养基中^[8],因而液态发酵对于生产虫草素具有明显优势。作者对蛹虫草进行了亚硝基胍-离子束的复合诱变育种,并对发酵条件进行了优化,以期提高虫草素产量,促进虫草素的产业化生产。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 菌种 蛹虫草 *Cordyceps militaris* JN168;保藏于中国典型培养物保藏中心,保藏号为 CCTCC

NO:M2011333。

1.1.2 培养基

1) 斜面培养基(g/L):葡萄糖 20,酵母浸膏 10, $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ 1.0, $K_2HPO_4 \cdot 3H_2O$ 0.5, KH_2PO_4 0.5,琼脂 20;pH 自然,121℃灭菌 20 min。

2) 种子培养基(g/L):葡萄糖 30,酵母浸膏 10, $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ 1.0, $K_2HPO_4 \cdot 3H_2O$ 1.0, KH_2PO_4 1.0;pH 自然,121℃灭菌 20 min。

3) 发酵培养基(g/L):葡萄糖 40,酵母浸粉 10, $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ 1.0, $K_2HPO_4 \cdot 3H_2O$ 1.0, KH_2PO_4 1.0;pH 自然,121℃灭菌 20 min。

1.2 方法

1.2.1 诱变剂的配制 准确称取 500 mg 1-甲基-3-硝基-1-亚硝基胍(NTG),放入干净烧杯中,先加入 5 mL 丙酮或甲酰胺进行溶解,然后加入 95 mL、pH 6.0 的 0.1 mol/L 磷酸缓冲液,配制成 5 mg/mL 的溶液。

1.2.2 孢子悬液的制备 将菌株 *Cordyceps militaris* JN168 接种在种子斜面培养基,在 25℃培养 6~7 d,加入 13 mL、pH 6.0 的磷酸缓冲液,用接种环刮下孢子或用移液枪吹打下孢子(尽量不要弄下菌丝体)^[12],将孢子悬液倒入无菌试管,用无菌磷酸缓冲液适量稀释制成 OD₆₀₀ 值在 0.6~0.8 之间的孢子悬液。

1.2.3 NTG 诱变 取一定量 5.0 mg/mL 的 NTG 溶液,分别稀释成 1.0、2.0、3.0、4.0 mg/mL 各 1.5 mL。从不同质量浓度的 NTG 溶液中,各取 0.5 mL 加入到 4 个无菌离心管,并标记为 1 号。重复 2 次以上实验,分别标记为 2 号、3 号。然后取 3 个灭菌离心管各加 0.5 mL 磷酸缓冲液作为对照。在 15 个离心管中各加 0.5 mL 孢子悬液。将 1 号及一个对照在 30℃下振荡 10 min,将 2 号及一个对照在 30℃下振荡 20 min,剩下的 3 号及对照处理 30 min。时间到达后,立即稀释一定倍数停止药品作用,然后涂平板,并在 25℃下培养 4 d 并计数。

1.2.4 离子束诱变 在超净工作台中,分别取 9 片金属载片置于酒精灯外焰灼烧 30 s,待冷却后放到灭菌的玻璃平板中,取 20 μL 孢子悬液涂在金属载片上。将装有样品载片的平板移至 ARTP 诱变系统操作仓,用无菌镊子将载片放在相应孔位,调节载片台下方旋钮,使载片处于气流端口 3 mm 处,并关闭操作仓门。在其他参数一定的条件下,分别把处

理时间设定为 0、6、8、10、12、14、16、18、20 s。待样品处理完毕后,用无菌镊子将载片放至装有 1 mL 磷酸缓冲液的灭菌离心管中。将离心管放在振荡器上振荡 3 min,形成新的孢子悬液。对新的孢子悬液进行适当稀释,取 100 μ L 稀释液涂布平板,并在 25 $^{\circ}$ C 培养箱中培养 4 d 后计数。

1.2.5 复合诱变 挑选出经亚硝基胍诱变后的高产菌株,用 1.2.4 的方法进行再次诱变。

1.2.6 致死率的计算 平板培养 4 d 后,小的菌落已经长成,拿出平板在光亮处数平板菌落数,并记下菌落数目,按照下列公式算出致死率。

$$\text{死亡率} = \frac{\text{对照平板菌落数} - \text{诱变平板菌落数}}{\text{对照平板菌落数}}$$

1.2.7 诱变菌株稳定性检测 选择菌落边缘整齐,表面光滑,菌丝紧密,色泽光亮,颜色呈现橘红色、金黄色的菌株^[10-11],洗下孢子经行培养皿培养,再从中挑选,然后反复传代实验,直到选出形态、颜色稳定的菌株,之后进行摇瓶检测。检测结果稳定的菌株可以作为种子菌株进行摇瓶实验。

1.2.8 液态发酵 按 1.2.2 制好的孢子悬液,以体积分数 10% 接种于种子培养基中,25 $^{\circ}$ C、200 r/min 摇瓶培养 4 d,获得种子培养液。然后,按体积分数 10% 接种,将种子培养液接种于发酵培养基中,250 mL 三角瓶装液 50 mL,培养温度 25 $^{\circ}$ C,转速 150 r/min,培养周期 8 d。

1.2.9 生物量的测定 通过真空泵将得到的发酵液进行抽滤处理,收集湿菌体,置于 60 $^{\circ}$ C 下恒温干燥至恒重,用分析天平称质量。

1.2.10 虫草素浓度的测定 将 1.2.8 抽滤下来的发酵液以 10 000 r/min 离心 10 min,取上清液 2 mL,经 0.45 μ m 纤维滤膜过滤,除掉一些杂质,然后用高效液相色谱法测定虫草素质量浓度。检测条件:紫外检测波长为 260 nm,流动相为 15% 的甲醇,进样量 20 μ L,柱温 30 $^{\circ}$ C,流速 1 mL/min^[13]。

2 结果与分析

2.1 诱变菌株生长特性研究

从多次诱变实验中,选择几株长势良好,具有代表性的菌株,对其生长情况进行进一步研究。原始菌株生长缓慢,且不稳定,容易退化,最主要的是虫草素的产量并不是很理想。经过几天的光照培养,原始菌株及诱变菌的平板长势见图 1。

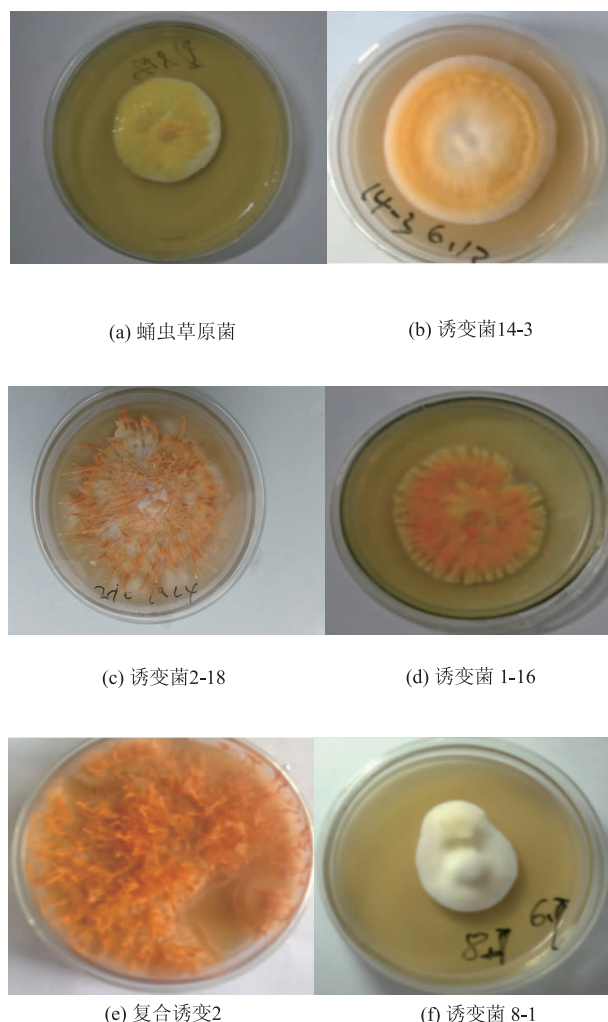


图 1 蛹虫草 *Cordyceps militaris* JN168 原菌及诱变菌 14-3、1-16、2-18、复合诱变 2 的平板形态特性

Fig. 1 Morphological character of *Cordyceps militaris* JN168 on plate (a) and mutant strains (b,c,d,e,f)

图 1 中各图片显示了不同菌在转色后的颜色及形态特征(各图片皆是转色稳定时拍摄)。可以看出,诱变后菌株的形态及生长状况发生很大的差异。诱变菌 14-3 和诱变菌 1-16 的形态发生略微差异,但是颜色变化有很大差异。然而,诱变菌 2-18 和复合诱变菌 2 菌株的形态和颜色变化都很大,尤其是形态变化,两株菌在平板中都长出很高的子实体,颜色由原菌的橘黄色变为橘红色。诱变菌 8-1 是典型的负突变菌株,颜色变为白色,虫草素产量也会很低。所以转色后为白色或形态畸变的初筛时舍弃。

2.2 诱变菌株液态发酵产虫草素的质量浓度验证

2.2.1 NTG 诱变菌株产虫草素质量浓度测定 经

过多次传代后,选出长势良好的菌株,接种于斜面培养基培养,待其长满斜面后,制成孢子悬液,进行摇瓶实验验证,结果见图 2。从图 2 可以看出,诱变菌虫草素的产量基本上比原菌低,原菌产量为 203.57 mg/L,但诱变菌株 1-16 的产量为 289.29 mg/L,比原菌提高 85.72 mg/L。诱变菌 1-16 转色比原菌深,所以选择诱变菌 1-16 进一步进行传代培养。

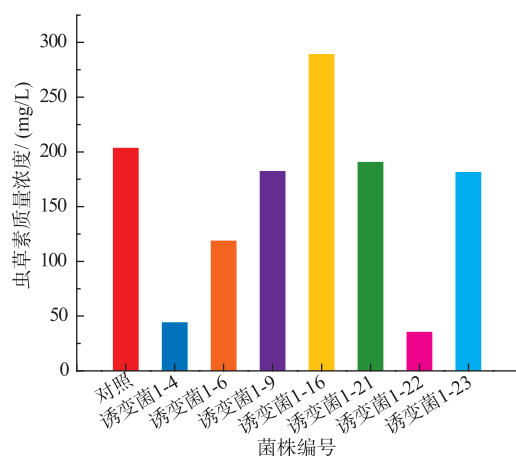


图 2 NTG 诱变菌液态发酵产虫草素的质量浓度

Fig. 2 Production of cordycepin by NTG mutant strain in liquid fermentation

2.2.2 第二次 NTG 诱变菌株产虫草素质量浓度测定 在第一次实验的基础之上,选择更佳的诱变浓度及诱变时间进行处理。涂平板并进行培养。待菌落转色后,挑出转色好的菌株继续培养,经过数代、数十代的传代培养,挑出稳定的菌株进行摇瓶验证实验,结果见图 3。从图 3 可以看出,诱变菌 2-18 虫草素的产量远高于原菌产量。诱变菌 2-18 的产量达 553.51 mg/L,而原菌产量只有 300.72 mg/L,所以选择诱变菌 2-18 进一步试验。

2.2.3 离子束诱变菌株产虫草素浓度测定 ARTP (常压室温等离子体) 技术是使用氦气作为工作气体,通过射频辉光放电产生富含各种高能活性粒子的等离子体。ARTP 所产生的活性粒子能够对菌株、植株、细胞等的遗传物质造成损伤,并诱发生物细胞启动 SOS 修复机制。SOS 修复过程为一种高容错率修复,因此修复过程中会产生种类丰富的错配位点,并最终稳定遗传进而形成突变株。ARTP 对生物的遗传物质损伤效果明显、损伤机制丰富、尤其是

对于真核生物的遗传物质均有很强的损伤效果。离子束处理时间和孢子死亡率关系见图 4。

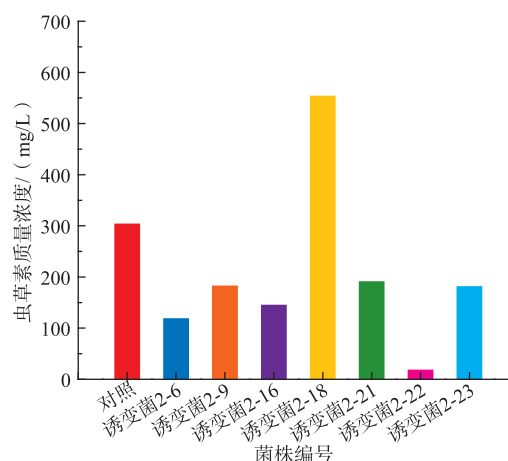


图 3 NTG 诱变菌液态发酵产虫草素的质量浓度

Fig. 3 Production of cordycepin by NTG mutant strain in liquid fermentation

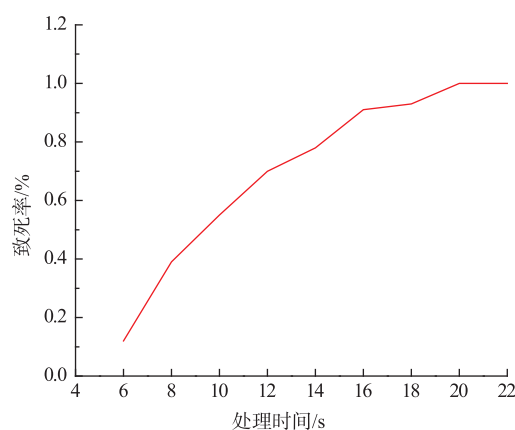


图 4 蛹虫草 *Cordyceps militaris* JN168 离子束处理时间与死亡率的关系

Fig. 4 Relationship between ion beam processing time and death rate of *Cordyceps militaris* JN168

从图 4 可以看出,随着处理时间的增长,孢子的死亡率也不断增加。当处理时间为 14 s 时,孢子的死亡率达 78%,在 16、18 s 时,孢子死亡率几乎不再改变。当超过 18 s 时,孢子死亡率顿时提高,几乎全部死亡。根据文献报道,产量形状的诱变育种倾向于致死率 70%~80%,因此选择 14 s 为最佳处理时间。

因为致死曲线只能作为一种参考,所以在 14 s 左右多选择几个处理时间。诱变后的菌株经多次传代培养后,进行摇瓶实验验证,结果见图 5。原菌产量为 203.57 mg/L,并且有 4 株菌高于原菌产量,产

量最高的为诱变菌 14-3,其产量为 362.62 mg/L,高于原菌产量 159.05 mg/L,所以选择诱变菌 14-3 作为这次诱变的目的菌株,进行下一步实验。

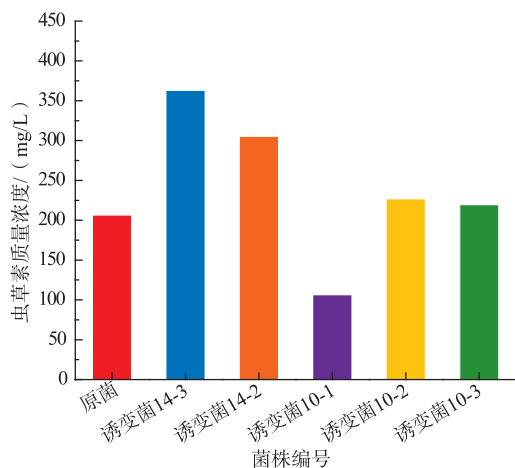


图5 离子束诱变菌液态发酵产虫草素的质量浓度

Fig. 5 Production of cordycepin by ion beam mutant strain in liquid fermentation

2.2.4 复合诱变菌株产虫草素浓度验证 复合诱变利用两种原理不同的诱变方法,先后对菌株进行诱变,在菌株自我修复的过程中,再对诱变菌株进行诱变。在整个诱变过程中,菌株遗传物质的损伤加大,生物细胞 SOS 修复更加紊乱,致使菌株的死亡率提高,存活下来的菌株在培养过程出现正突变的几率变大。所以,诱变菌株更有可能高于原菌产量。经过多次分离、纯化,得到复合诱变菌 2 等几株菌株,如图 1(e)所示。

原始菌株在平板及其他器皿培养过程中,很少会出现子实体。而且子实体的产生,在大多数情况下需要温差刺激。然而,复合诱变菌 2 并不需要温差刺激,并且子实体的产生时间稍微缩短。将菌株接种于斜面,培养至长满斜面为止。然后制成孢子悬液进行摇瓶实验,结果见图 6。发酵 8 d 后,原菌产量为 231.62 mg/L,复合诱变菌 2 的产量高达 620.74 mg/L,选择复合诱变菌 2 继续实验。

2.3 液态发酵培养基优化

将得到的 4 株诱变菌进一步分离、纯化,在各代培养培养过程中,选择长势良好的菌落进行液态发酵,发酵后产虫草素的情况见图 7。诱变菌 1-16 和诱变菌 14-3 在多次传代过程中,虫草素产量表现并不是很稳定,分别在 250 mg/L 和 300 mg/L 左右徘徊。诱变菌 2-18 的虫草素产量变化很不稳定,

不宜进行下一步实验。复合诱变菌 2 的虫草素产量相当稳定,产量维持在 600 mg/L 左右,可以作为目的菌株,进行下一步实验。

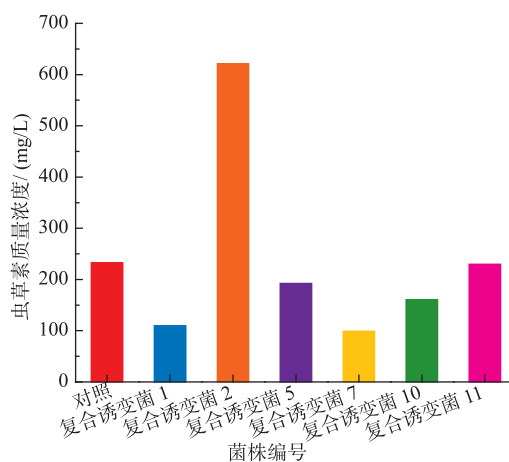


图6 复合诱变菌液态发酵产虫草素的质量浓度

Fig. 6 Production of cordycepin by compound mutation strain in liquid fermentation

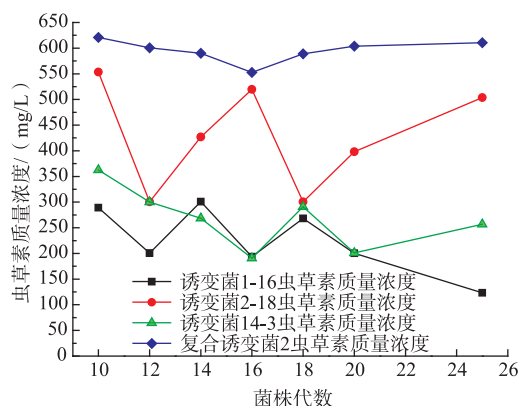


图7 诱变菌株液态发酵产虫草素的稳定性

Fig. 7 Stability study of liquid fermentation to produce cordycepin by mutant strains

2.3.1 葡萄糖质量浓度对 *Cordyceps militaris* JN168 菌体生长和产虫草素质量浓度的影响

葡萄糖作为还原糖的一种,也是培养基主要的碳源之一。对菌体的生长有重要的作用,而且对该菌产物虫草素的影响更为明显。将发酵培养基中葡萄糖质量浓度设为 20、30、40、50、60 mg/mL,进行不同质量浓度的葡萄糖对 *Cordyceps militaris* JN168 产菌体和虫草素的实验。由图 8 可以看出,葡萄糖质量浓度为 40 mg/mL 时,虫草素质量浓度最高,达 732.24 mg/L。随葡萄糖质量浓度的增加,菌体质量浓度也不断增加,但在葡萄糖质量浓度为 50 mg/mL

时,菌体质量浓度达到最大。

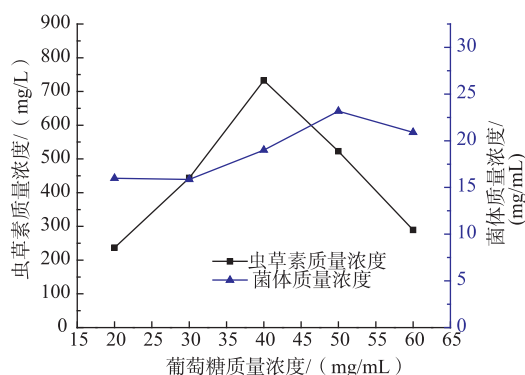


图 8 葡萄糖质量浓度对蛹虫草菌体生长和产虫草素的影响
Fig. 8 Effect of maltose concentration on cell growth and the production of cordycepin

2.3.2 酵母浸粉质量浓度对 *Cordyceps militaris* JN168 菌体生长和产虫草素的影响 酵母浸粉作为重要的氮源,对菌株的生长也是不可或缺,对实验中菌体的产物也尤为重要。设定培养基中酵母浸粉质量浓度为 10、15、20、25、30、35、40、45 mg/mL,进行不同质量浓度的酵母浸粉对 *Cordyceps militaris* JN168 产菌体和虫草素的影响实验。由图 9 可以看出,酵母浸粉质量浓度为 25 mg/mL 时,虫草素质量浓度最高。菌体质量浓度与虫草素的产量并没有确定的关系,菌体质量浓度也并不是很有规律。从图 9 可以看出,菌体质量浓度取得最高值时,酵母浸粉质量浓度为 30 mg/mL。

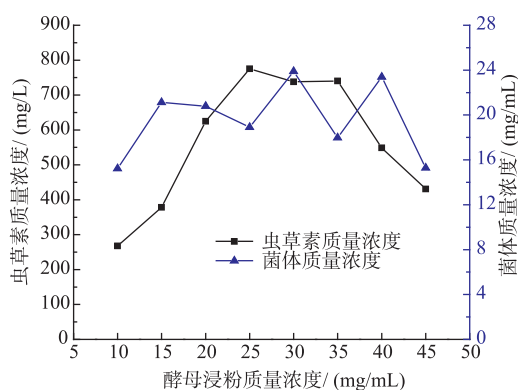


图 9 酵母浸粉质量浓度对蛹虫草菌体生长和产虫草素的影响

Fig. 9 Effect of yeast extract powder concentration on cell growth and the production of cordycepin

2.3.3 硫酸镁质量浓度对 *Cordyceps militaris* JN168 菌体生长和产虫草素的影响 镁离子是许多重要酶(己糖激酶、柠檬酸脱氢酶、羧化酶等)的激活剂,

能促进碳水化合物的新陈代谢、磷酸盐的转化等,其水平与细胞内聚胺水平相关,从而影响核糖体稳定性和 RNA 合成。过多的镁离子反而对菌体的生长及产物的形成有抑制作用。所以,合适的镁离子质量浓度对菌体的产物尤为重要。将培养基中 $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 质量浓度设定为 0.2、0.4、0.6、0.8、1.0、1.2 mg/mL,进行不同质量浓度的 $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 对 *Cordyceps militaris* JN168 产菌体和虫草素的影响实验。由图 10 可以看出, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 质量浓度为 0.6 mg/mL 时,虫草素质量浓度最高,最高时达到 879.27 mg/L。菌体质量浓度在 $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 质量浓度为 1.0 mg/mL 时最大,达到 33 mg/mL。

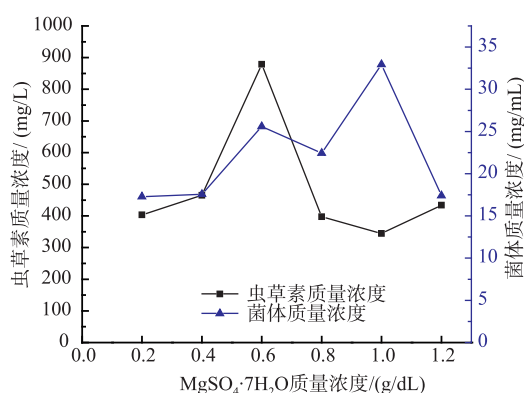


图 10 $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 质量浓度对蛹虫草菌体生长和产虫草素的影响

Fig. 10 Effect of $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ concentration on cell growth and the production of cordycepin

2.3.4 磷酸氢二钾和磷酸二氢钾浓度对 *Cordyceps militaris* JN168 菌体生长和产虫草素的影响 $\text{K}_2\text{HPO}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ 和 KH_2PO_2 不仅提供磷离子和钾离子,而且对培养液的 pH 有一定的影响,所以 $\text{K}_2\text{HPO}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ 和 KH_2PO_2 合适的质量浓度对菌体生长和产物形成尤为重要。选取 $\text{K}_2\text{HPO}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ 和 KH_2PO_2 的质量浓度分别为 0.2、0.4、0.6、0.8、1.0、1.2 mg/mL 进行试验。由图 11 可以看出,在 $\text{K}_2\text{HPO}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ 和 KH_2PO_2 质量浓度为 0.6 mg/mL 时,虫草素产量最高,达 1 045.65 mg/L,但菌体质量浓度最低。当 $\text{K}_2\text{HPO}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ 和 KH_2PO_2 质量浓度为 0.8 mg/mL,菌体浓度最高,达 23.36 mg/mL。

3 结 语

虫草素具有抗癌、抗白细胞、抗菌等多种生物活性和丰富的药用价值,由于虫草的天然资源有

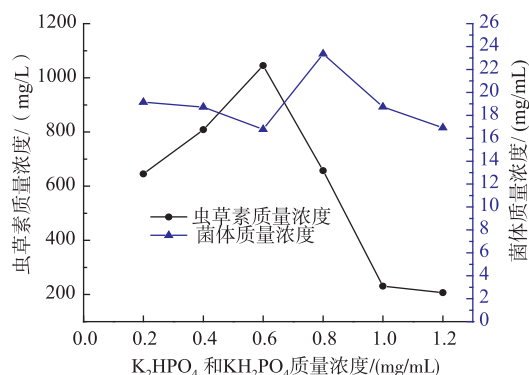


图 11 $K_2HPO_4 \cdot 3H_2O$ 和 KH_2PO_4 质量浓度对蛹虫草菌体生长和产虫草素的影响

Fig. 11 Effect of $K_2HPO_4 \cdot 3H_2O$ and KH_2PO_4 concentration on cell growth and the production of cordycepin

限,人工生产虫草素已经迫在眉睫。目前虫草素的生产主要是化学合成和生物合成两种方法。然而,

化学合成多采用一些有机溶剂,不但对产物有一定的影响,而且还会污染环境,因此生物合成就有了不可比拟的优势。尽管如此,生物合成还是有一些弊端难以克服,像产量低、周期长等。所以提高产量和缩短周期就成了科研人员及工作人员亟待解决的难题。

本研究经过实验,得出以下几项结论:

1)通过诱变育种和多次传代培养,得到两株比较有价值的菌株诱变菌 14-3 和复合诱变菌 2。

2)通过优化得到最优培养基:葡萄糖 40 g/L,酵母浸粉 25 g/L, $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ 0.6 g/L, $K_2HPO_4 \cdot 3H_2O$ 0.6 g/L, KH_2PO_4 0.6 g/L。

3)在不添加前体物质,发酵时间 8 d 的条件下,得到虫草素产量为 1 045.65 mg/L,与岳翠翠等报道的 633.47 mg/L 相比,提高了 412.18 mg/L^[12]。

参考文献:

- [1] 蔡友华,刘学铭. 虫草素的研究与开发进展[J]. 中草药, 2007, 38(8): 1269-1272.
CAI Youhua, LIU Xueming. Advances in research and development of cordycepin[J]. *Chinese Traditional and Herbal Drugs*, 2007, 38(8): 1269-1272. (in Chinese)
- [2] 孟兆丽,朱凯,冯云,等. 蛹虫草多糖抑菌及抗氧化作用研究[J]. 食品研究与开发, 2008, 29(9): 31-33.
MENG Zhaoli, ZHU Kai, FENG Yun, et al. Study on the bacteriostatic activity and antioxidation of *Cordyceps Militaris* polysaccharide[J]. *Food Research and Development*, 2008, 29(9): 31-33. (in Chinese)
- [3] 夏春雨,孙巍,刘学铭. 虫草有效成分的研究进展[J]. 中国食用菌, 2009, 28(2): 3-7.
XIA Chunyu, SUN Wei, LIU Xueming. Research advances on bioactive constituents of *Cordyceps* [J]. *Edible Fungi of China*, 2009, 28(2): 3-7. (in Chinese)
- [4] Seldin D, Lahey S, Urbano A, et al. Phase I trial of cordycepin and deoxycoformycin in TdT-positive acute leukemia [J]. *Blood*, 1997, 90(10): 246b.
- [5] 焦彦朝,梁宗琦,刘爱英. 虫草生物活性物质研究概况[J]. 贵州农业科学, 1990(3): 53-58.
JIAO Yanchao, LIANG Zongqi, LIU Aiyang. Metabolites with biological activity in the genus *Cordyceps* and its anamorph[J]. *Journal of Guizhou Agricultural Sciences*, 1990(3): 53-58. (in Chinese)
- [6] 刘东泽,陈伟,高新华,等. 虫草菌素(3'-脱氧腺苷)研究进展(综述)[J]. 上海农业学报, 2004, 20(2): 89-93.
LIU Dongze, CHEN Wei, GAO Xinhua. Progress of research on cordycepin (3'-Deoxyadenosine) [J]. *Acta Agriculturae Shanghai*, 2004, 20(2): 89-93. (in Chinese)
- [7] 文庭池,康冀川,雷帮星,等. 前体及营养物提高蛹虫草虫草菌素产量的研究[J]. 食品科学, 2010, 31(5): 175-79.
WEN Tingchi, KANG Jichuan, LEI Bangxing, et al. Enhanced production of cordycepin by submerged culture using additives in *Cordyceps militaris*[J]. *Food Science*, 2010, 31(5): 175-79. (in Chinese)
- [8] Masuda M, Urabe E, Sakurai A, et al. Production of cordycepin by surface culture using the medicinal mushroom *Cordyceps militaris*[J]. *Enzyme and Microbial Technology*, 2006, 39(4): 641-646.
- [9] 余伯成,唐永范,唐亮,等. 虫草素的药理作用研究进展[J]. 现代药物与临床, 2011, 26(5): 434-436.
YU Bochong, TANG Yongfan, TANG Liang, et al. Advances in study on pharmacological effects of cordycepin [J]. *Drugs & Clinic*, 2011, 26(5): 434-436. (in Chinese)
- [10] 车振明,王燕,周黎黎,等. 原生质体紫外诱变选育蛹虫草新菌种的研究[J]. 食品与发酵工业, 2004, 30(4): 35-38.
CHE Zhenming, WANG Yan, ZHOU Lili, et al. Study on the breeding of a new variety of *Cordyceps militaris* by mutated with

- ultraviolet radiation[J]. **College of Bioengineering of Xihua University**, 2004, 30(4): 35-38. (in Chinese)
- [11] 付鸣佳. 蛹虫草产类胡萝卜素的研[J]. 食品与生物技术学报, 2005, 24(5): 107-110.
FU Mingjia. Study on the carotenoid produced from *Cordyceps militaris* L[J]. **Food and Fermentation Industries**, 2005, 24(5): 107-110. (in Chinese)
- [12] 岳翠翠, 沈健增, 蔡宇杰, 等. 蛹虫草 *Cordyceps militaris* JN168 产虫草素液态发酵条件的优化[J]. 食品与生物技术学报, 2013, 32(2): 135-142.
YUE Cuicui, SHEN Jiangzeng, CAI Yujie, et al. Optimization of fermentation condition for codycepin by *Cordyceps militaris*[J]. **Journal of Food Science and Biotechnology**, 2013, 32(2): 135-142. (in Chinese)
- [13] 陈涛, 沈健增, 蔡宇杰, 等. 大孔树脂分离纯化蛹虫草深层发酵液中虫草素的工艺研究[J]. 食品与生物技术学报, 2012, 31(4): 38-42.
CHEN Tao, SHEN Jiangzeng, CAI Yujie, et al. Purification of cordycepin from fermentation broth of *Cordyceps militaris* with macroporous resin[J]. **Journal of Food Science and Biotechnology**, 2012, 31(4): 38-42.

会 议 信 息

会议名称(中文): 2015 年中国微生物学会学术年会

所属学科: 动植物微生物学、生物物理学、生物化学及分子生物学、细胞生物学

开始日期: 2015-10-23 结束日期: 2015-10-25

所在城市: 湖北省 宜昌市 主办单位: 中国微生物学会

承办单位: 安琪酵母股份有限公司、三峡大学、湖北省微生物学会、中国科学院武汉病毒研究所

联系电话: 010-64807200 E-MAIL: csm@im.ac.cn

会议网站: <http://csm.im.ac.cn/templates/team/introduction.aspx?nodeid=9&page=ContentPage&contentid=3066>

会议背景介绍: 由中国微生物学会主办, 安琪酵母股份有限公司、三峡大学、湖北省微生物学会、中国科学院武汉病毒研究所共同承办的“2015 年中国微生物学会学术年会”, 定于 2015 年 10 月 23—27 日在湖北省宜昌市举行。会议热忱欢迎全国从事微生物学研究、教学和开发的专家、学者到世界最大的水利枢纽工程三峡大坝所在地——湖北省宜昌市相聚; 与会专家、学者在进行学术交流和展示各自研究成果的同时, 还可体验当地的民俗风情和历史文化。会议诚邀与微生物相关的研发企业及公司参会、赞助会议, 并前往会场展示自己的产品。

会议名称(中文): 第十一次全国基因功能与表观遗传调控学术研讨会

开始日期: 2015-10-13 结束日期: 2015-10-16

所在城市: 上海市 黄浦区 具体地点: 上海生命科学研究院

主办单位: 中国生物化学与分子生物学会基因专业委员会

联系人: 王一倩 联系电话: 021-54922818

E-MAIL: csbmb@sibs.ac.cn 会议网站: <http://www.csbmb.org.cn/news.asp?id=506>

会议背景介绍: 由中国生物化学与分子生物学会基因专业委员会主办的第十一次全国基因功能与表观遗传调控学术研讨会定于 2015 年 10 月 13-16 日在上海市举行。本次会议主题是“基因功能与表观遗传调控”, 会议规模约为 150 人, 由基因专业委员会和中科院上海生科院生化细胞所分子生物学国家重点实验室联合主办。诚挚欢迎基因研究领域的专家、学者和研究生积极参会、踊跃投稿。

会议内容: DNA 功能调控(断裂、修复、重组等); 基因表达调控(转录、剪接等); 表观遗传调控(DNA 和组蛋白修饰等); RNA 功能调控(RNA 产生及其功能)