

解脂耶氏酵母研究进展

李运清

(济宁医学院基础学院, 山东 济宁 272067)



李运清,女,1986年10月生于山东省济宁市。2014年毕业于武汉大学生命科学院微生物学专业,获理学博士学位。2009年毕业于哈尔滨工业大学生物工程专业,工学学士。2009—2014年参与国家自然科学基金资助项目(30871347和31370124),采用遗传学操作手段,运用分子生物学、生物化学以及细胞生物学相关实验方法,在解脂耶氏酵母中成功的找到了一些控制出芽位点选择的关键基因,并通过对这些基因的功能和相互关系的研究来探索控制解脂耶氏酵母出芽位点选择的信号通路。

摘要 解脂耶氏酵母(*Yarrowia lipolytica*)是一种需氧的、无致病性的二型性非常规酵母。该酵母因其可以有效地利用疏水性底物为唯一碳源进行生长繁殖而得到研究人员的关注。与模式生物酿酒酵母相比,解脂耶氏酵母表现出很多特殊的生理、代谢以及基因水平上的特性,这些特性使得很多研究小组以该酵母为模式生物进行了一系列的基础理论和应用研究,并取得了许多非常有价值的研究成果。本文就解脂耶氏酵母中一些基础理论的研究现状以及其在污染物的处理和工业生产中的应用进行简单介绍。

关键词 解脂耶氏酵母;选择性剪接;二型性;疏水底物;污染物

中图分类号:Q93 **文献标识码**:A **文章编号**:1000-9760(2015)02-008-06

Advances in studies of *Yarrowia lipolytica*

LI Yunqing

(Academy of Basic Medicine, Jining Medical University, 272067, China)

Abstract: *Yarrowia lipolytica* is an aerobiotic, nonpathogenic and dimorphic non-conventional yeast. It is focused due to its ability to efficiently utilize hydrophobic substrates as the sole carbon source. As research continues, this organism exhibits specific physiological, metabolic and genomic characteristics, which differentiate it from the model yeast *Saccharomyces cerevisiae*. Those properties make many researchers to conduct the basic and applied research of this yeast, and a series of valuable results is obtained. In this paper, we will briefly present the different use of *Y. lipolytica* for basic knowledge and the advantages gained by exploiting this yeast.

Keywords: *Yarrowia lipolytica*; Alternative splicing; Dimorphism; Hydrophobic substrate; Waste

解脂耶氏酵母(*Yarrowia lipolytica*)是一种非常规酵母,属于半子囊菌纲(Hemiascomycetes)、耶氏酵母菌属。该酵母在自然界中分布广泛,主要集中在富含脂类和蛋白质的环境中,如地沟油、奶酪、采油井口等,这种分布特点与其有较高的分解疏水性底物的能力相关^[1-2]。解脂耶氏酵母因其独特的生理和代谢方式,引起了广大研究者的兴趣。随着其全基因组测序的完成,一系列分子生物学和遗传学相关平台相继建立,对该酵母的研究也日益

更新,有越来越多的学术论文及科研成果被发表出来(图1)。

目前对解脂耶氏酵母的研究主要集中在基础理论研究和工业应用研究两个方面。基础理论研究主要包括以下几个方面:基因组的结构和选择性剪接,细胞的二型性转换、脂肪酶的合成和分泌等。在工业应用方面的研究主要包括生物脂质的生产、有机酸的生产以及对废弃物和污染物的处理等。本文将从这几个方面逐一进行介绍。

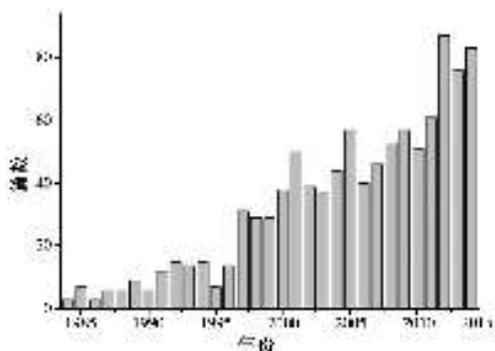


图 中所列为 1984 年至 2014 年间,在 PubMed 中以 *Yarrowia lipolytica* 为关键字进行搜索,每一年中所能找到的文章的数量。

图 1 PubMed 中解脂耶氏酵母相关文献的数量

1 解脂耶氏酵母中的基础理论研究

1.1 基因组的结构和选择性剪接

解脂耶氏酵母的全基因组测序已经完成,共有 6 条染色体,基因组全长为 20.5 Mb,G+C 含量为 49%。通过分析其基因组发现该酵母的基因组不属于典型的子囊菌纲酵母菌的基因组,而是有其特异性的。与其它的酵母菌相比,解脂耶氏酵母的基因组中存在特异的染色体复制起始位点和着丝粒 DNA 并且含有大量的 tRNA 基因,此外 5s rRNA 是随机的分散在整个基因组中的,而不是聚集在某一区域。以上这些都是解脂耶氏酵母基因组所特有的。目前被研究的相对较多的是该酵母的基因组中含有大量的内含子,这与其他酵母菌也是不同的。半子囊菌纲的酵母菌基因组中都含有很少的内含子,如酿酒酵母中仅含有 287 个内含子,基因密度为 70%,白色念珠菌(*Candida albicans*)含有 415 个内含子,基因密度为 62%。而解脂耶氏酵母中共含有 1119 个内含子,基因密度仅为 45.8%。

提高基因编码效率的一个有效策略就是采用选择性剪接,将外显子选择性的转录并采用不同方式进行排列,这样就可以编码出种类更多的蛋白质。因此,研究基因的选择性剪接有着非常重要的实际意义。但由于一般酵母菌中含有的内含子较少,选择性剪接发生的频率也比较低,因此,可用于研究选择性剪接的模型很少。在这种背景下,含有内含子较多的解脂耶氏酵母逐渐吸引了研究者的注意。当把解脂耶氏酵母分别在葡萄糖和油酸培养基上培养时,对所培养的菌株的 cDNA 进行测序发现这 2 种菌株的基因组中含有的内含子数目

以及含有内含子的基因的数量均存在差异,这就证明了在解脂耶氏酵母中选择性剪接存在的可能性^[3]。

在解脂耶氏酵母中存在 5 种常见的选择性剪接形式,包括内含子保留、可变的 5'端、可变的 3'端、外显子跳跃以及互斥外显子。转座子 *mutyl* 是第一个被证明存在选择性剪接的基因,该转座子通过可变的 5'和 3'剪接 2 种方式编码 4 种不同的蛋白。此后又发现编码苹果酸脱氢酶(参与三羧酸循环)的基因通过选择性剪接决定所编码的蛋白在细胞中的位置。在酿酒酵母中存在 3 个基因 MDH1、MDH2、MDH3 分别编码分布在线粒体、细胞质以及过氧化物酶体中的苹果酸脱氢酶。而在解脂耶氏酵母中只存在 2 个基因 YIMDH1 和 YIMDH2,其中 YIMDH1 编码位于线粒体中的苹果酸脱氢酶,而 YIMDH2 则通过内含子可变的 3'端剪接分别编码分布于细胞质和过氧化氢酶体中的苹果酸脱氢酶^[4]。通过这种方式解脂耶氏酵母在三羧酸循环途径中节省了一个基因,这也是选择性剪接提高基因使用效率的一个很好的例子。

其它生物中参与调控选择性剪接的信号通路为 NMD(nonsense-mediated mRNA decay)信号通路,但对于该信号通路中的很多调控因子并不清楚。研究表明在解脂耶氏酵母中同样存在这条信号通路参与调控 mRNA 的选择性剪接。解脂耶氏酵母中含有 NMD 信号通路中的重要基因 UPF1 和 UPF2,并且这 2 个基因编码的蛋白均参与调控 mRNA 的选择性剪接,缺失后选择性剪接不能正常进行。但与其它物种不同的是在一些 NMD 信号通路中的重要基因如 UPF3、SMG1、SMG5、SMG6 等在解脂耶氏酵母中均未发现同源基因。这表明解脂耶氏酵母中的 NMD 信号通路在进化中可能发生了很大的改变,或者存在其他的信号通路参与调控 mRNA 的选择性剪接^[5]。因此,对于解脂耶氏酵母基因组和选择性剪接的研究有助于进一步完善对选择性剪接的分子调控机制的理解,对其它物种中选择性剪接的研究有一定的指导意义。

1.2 解脂耶氏酵母的二型性

解脂耶氏酵母是一种二型性酵母,即细胞形态可以在酵母型、假菌丝型以及菌丝型之间进行相互转换(图 2)。酿酒酵母是最早用来研究二型性的模式生物,但它只能形成假菌丝,并不能形成真正的菌丝,这就使得它在研究菌丝形成的分子机制中

有一定的局限性。因此,科学家们逐渐将注意力转移到另外一种二型性酵母白色念珠菌中。该酵母可以形成真正的菌丝,但是由于它只存在二倍体世代,不方便对其进行遗传学操作,因此,也在一定程度上制约了对二型性转换的研究。直到 20 世纪 90 年代,有科学家发现解脂耶氏酵母可以作为研究酵母二型性的模式生物,该酵母既存在单倍体世代,又可以形成真正的菌丝。在进化程度上解脂耶氏酵母相距酿酒酵母和白色念珠菌都比较远,因此,对于它的二型性转换的研究有助于完善对真菌二型性的理解。

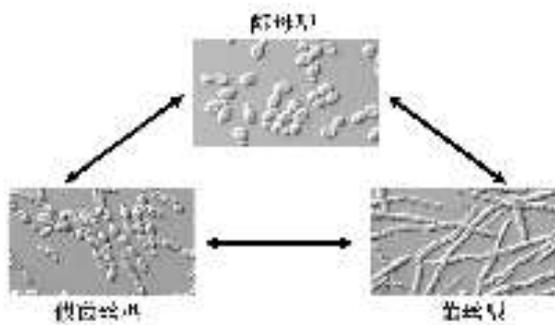


图 2 解脂耶氏酵母的不同细胞形态

解脂耶氏酵母的二型性转换是受外界环境控制的,生长温度,环境中氧的浓度以及 pH 值等都会影响细胞的菌丝形成能力。目前对解脂耶氏酵母菌丝形成的分子机制的研究刚刚起步,还没有勾画出一个完整的调控网络,但与酿酒酵母和白色念珠菌中的调控机制存在很大不同。在酿酒酵母和白色念珠菌中存在两条信号通路参与调控该过程: MAPK 和 c-AMP 信号通路。在酿酒酵母中, Ste11 和 Ste7 均属于 MAPK 信号通路,共同参与促进菌丝的生长,但在解脂耶氏酵母中,虽然 Ste11 的同源蛋白 YlSte11 促进了菌丝生长,但该信号通路中的另一成员 Ste7 的同源蛋白 YlSte7 并不参与细胞的形态转换过程。因此, MAPK 信号通路在解脂耶氏酵母二型性转换过程中所起的作用目前并不确定。另外,解脂耶氏酵母中与 Tpk1(酿酒酵母中 cAMP-PKA 信号通路中的调节蛋白)同源的蛋白 YlTpk1 抑制了菌丝的生长,这表明在解脂耶氏酵母中该通路对于菌丝的生长可能起到一个抑制的作用。此外,在解脂耶氏酵母中还发现一些基因参与调控了细胞的形态转换,如 Mhy1、Hoy1、YlTec1 以及 YlRas2 都促进菌丝的形成,但这些基因之间的关系以及它们所在的调控

通路目前并不清楚^[6-7]。因此,对于解脂耶氏酵母的二型性的研究有待进一步地加深,并且该过程是一个高度极性的过程,这对于我们理解其他生物的极性化过程也有一定的指导意义。

1.3 脂肪酶的合成研究

脂肪酶是一类丝氨酸水解酶,可以促进长链三酰甘油中酯键的水解,将其分解成脂肪酸以及丙三醇。解脂耶氏酵母有很强的分解脂肪的能力,在富含脂质的培养基上可以观察到菌落周围明显的水解圈,这表明该酵母可以分泌产生大量的脂肪酶类^[1]。

解脂耶氏酵母中脂肪酶产生的量与该酵母生长时所利用的碳源和氮源是直接相关的。当培养基中含有丰富的碳源如葡萄糖、丙三醇时,细胞不产生脂肪酶;当培养基中含有含氮的无机物如 NH_4Cl 、 $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 时抑制脂肪酶的产生;当培养基中碳源缺乏且有含氮有机物如甲酯、脂肪酸存在时,细胞可以产生大量的脂肪酶。这可能是由于葡萄糖的代谢过程中某些中间产物对脂肪酶的合成有一定的抑制作用。在一株脂肪酶产量非常高的解脂耶氏酵母突变体 LgX64.8 中,己糖激酶活性降低导致其对葡萄糖和果糖的代谢能力下降,而产生的脂肪酶含量高达 174 U/ml,是野生型菌株的 100 倍。当在该突变体中过量表达 HXK 基因(增加己糖激酶含量),导致细胞产生的脂肪酶含量降低,这表明解脂耶氏酵母中糖类代谢过程的某些中间产物可能抑制了脂肪酶的产生和分泌^[8]。

解脂耶氏酵母中共含有 16 个编码脂肪酶的同源基因,但目前对这 16 个基因的研究比较少,只有 LIP2、LIP7 以及 LIP8 3 个基因被证明参与了脂肪酶的合成。微阵列数据分析表明在脂肪酶合成过程中只有部分基因被表达,敲除其中一个或两个基因并不能完全消除脂肪酶的产生,只有当 3 个基因全部缺失后,细胞才会丧失合成脂肪酶的能力。因此,这 3 个基因在调控脂肪酶的合成中可能起到一个协同作用,在不同的信号通路中发挥作用。目前, LIP2 基因的结构和功能被研究得比较多,晶体学研究表明在 Lip2p 的活性位点上含有两个短的 α -螺旋,这 2 个 α -螺旋可以把活性位点紧紧地锁定在疏水质质的表面,使界面活化,进而催化水解反应的进行。LIP2 编码的脂肪酶的合成过程也受到基质中间代谢产物的影响,如油酸的积累可以减少脂肪酶的产生,而丙三醇的含量则影响不大^[9-10]。

2 解脂耶氏酵母的应用研究

解脂耶氏酵母可以利用众多的廉价材料为底物并且可以分泌产生很多有工业应用价值的代谢产物。本部分仅从以下 4 个方面阐述目前解脂耶氏酵母在工业生产中应用的发展现状。

2.1 在污染物处理中的应用

解脂耶氏酵母有非常强的分解疏水性底物的能力,它可以有效地降解硝基、卤化物以及有机磷酸盐等污染物,因此,被广泛应用于一些污染物的处理中。随着化工炸药在生产中的广泛应用,一些化工炸药如 2,4,6-三硝基甲苯(TNT)已经成为污染土壤、地表水以及地下水的主要污染源,但可以有效降解化工炸药的微生物却比较少。解脂耶氏酵母能够有效地降解这种硝基芳香族化合物,它通过还原硝基或者是解开苯环结构来解除该化合物的毒性,从而消除污染。目前,共分离得到了 4 株可以有效降解 TNT 的解脂耶氏酵母菌株,它们可以将 TNT 降解成为无毒的硝酸盐,这些硝酸盐可以作为硝化细菌的营养物质,进一步完成氮元素的循环^[11-12]。

一些重金属离子如铜、钴、镍、汞等通过污染土壤以及水源,威胁人类的健康。解脂耶氏酵母可以耐受并且吸附重金属离子从而消除它们对环境的污染。重金属离子可以通过抑制酶的活性从而阻止细胞的生长,进而杀死细胞。解脂耶氏酵母对抗重金属离子的机制有 4 个方面:1)可以将重金属离子阻挡在细胞壁外,防止其对细胞造成伤害;2)有相应的外排系统,可以有效地将重金属离子排出;3)产生更多的金属结合蛋白,如黑色素、亲金属蛋白等;4)增加过氧化物歧化酶(SOD)、H⁺ATPase 等酶类的数量。以铜离子为例,解脂耶氏酵母中的 YICRF1 基因可以编码铜离子应答转录因子,指导合成更多的可以和重金属离子结合的蛋白,如亲金属蛋白以及黑色素、SOD 等。在黑色素和 SOD 存在的情况下,解脂耶氏酵母可以耐受 6 mM 的铜离子,这一特性使其在聚集和结合铜离子过程中起着非常重要的作用。另外,解脂耶氏酵母已经被开发成生物吸附剂,被用于吸附铬离子并取得了很好的效果。在最优条件(pH 1.0, 35 °C, 10 rpm)下,2 h 就可以达到吸附平衡。与其它菌株联合使用制成的铬离子的吸附膜也可以得到很好的吸附效果,可使电镀厂废水中铬的含量降低 96%。也有一些重金属离子是解脂耶氏酵母不能耐受的,如锌和钴

可以杀死该酵母,镍和镉对它也是有毒性的,他们可以与细胞壁和细胞膜结合,从而影响细胞的形态,使其丧失形成菌丝的能力^[13-14]。

一些有机磷酸酯类的农药如杀虫剂甲基对硫磷的广泛使用,使得有机磷成为污染水和土壤的重要污染源。而解脂耶氏酵母可以有效地分解该化合物并解除毒性。实验表明将假单胞菌中的 MPH 基因克隆到解脂耶氏酵母中,构成重组菌株。该菌株在最优条件下分泌的酶量可达到 59.5 U/mg,并且在 30min 内就可以将 90.8%的甲基对硫磷分解。此外,解脂耶氏酵母对有毒的卤化物也有很强的耐受性,并且可以分解部分卤化物,如氯代十六烷、溴代烷等,但在分解过程中细胞形态发生了改变,细胞变大并且细胞表面的疏水性加强,这可能是其逃避卤化物毒性的策略。

除了前面介绍的几种较难处理的污染物以外,解脂耶氏酵母对其它的一些废弃物也有降解转化的功效,可以实现废物的再利用。例如,一些农业生产中的废弃物经过解脂耶氏酵母处理后可以变成有用的物品:可以用菠萝垃圾为底物生产柠檬酸,以含糖量很低的甘蔗渣为底物生产单细胞油脂等^[14],都是通过解脂耶氏酵母将垃圾转化为产品的很好的例子,一方面减少了固体污染物的出现,另一方面也创造了很大的经济价值。因此,加强对解脂耶氏酵母的研究有助于推动污染物的处理及废弃物再利用的发展。

2.2 在污水处理中的作用

根据污水的特性我们可以将其分为含油污水和含固体颗粒污水,而解脂耶氏酵母对这两种污水都有很好的处理效果(图 3)。橄榄油榨油厂排出的污水中含有大量的油脂类物质,处理此类污水时一般需要消耗大量的氧气,而使用解脂耶氏酵母可以降低氧的消耗,使化学耗氧量降低 80%。将解脂耶氏酵母的野生型菌株 W29 固定化后用于处理榨油厂污水,可以在 50 h 内含油量为 200 mg/L 的污水处理完全。如果将一些外源基因如 lipRS 基因导入到解脂耶氏酵母中,增加其蛋白的锚定位点,可使对油脂的降解率达到 96.9%~97.6%,进一步提高了转化效率。解脂耶氏酵母也可以处理一些含固体颗粒的污水,如处理鱼塘废弃物,降低废弃物中的脂肪含量,提高蛋白质含量,使其成为营养价值较高的饲料^[14-15]。

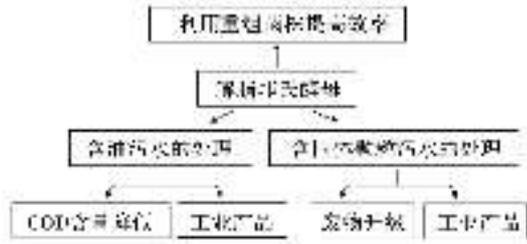


图3 解脂耶氏酵母在污水处理中的应用

2.3 生物脂质的生产

为了解决石油短缺问题,很多科学家开始寻找可以在体内存储大量油脂的产油微生物,利用这些微生物来生产可以替代传统的石油能源的新型能源。人们把油脂含量可以达到自身生物量的 20% 以上的微生物称为产油微生物。某些酵母菌的产油量可以到达生物量的 65% 以上,解脂耶氏酵母中脂类物质的含量可以达到细胞干重的 40% 以上,这与其他一些酵母相比略低。但是解脂耶氏酵母是唯一完成基因组测序并且具有完整的遗传操作手段的产油酵母,因此,方便对其进行基因的改造以进一步提高其细胞内脂类的含量。

解脂耶氏酵母中含有产油酵母菌所特有的 ATP-柠檬酸裂解酶的编码基因: ACL1 和 ACL2, 因此,可以通过柠檬酸裂解来得到乙酰辅酶 A, 而乙酰辅酶 A 是合成脂类物质的前体。因此,我们可以通过提高柠檬酸的含量来提高乙酰辅酶 A 的产量,进一步提高脂类物质的产量。有研究小组通过提高底物三酰基甘油以及催化酶磷酸甘油脱氢酶的含量来提高柠檬酸的产量,并在此基础上进一步改造 β -氧化酶信号通路,可以将解脂耶氏酵母的产油量达到整个生物量的 80%, 大大高于其他的一些产油酵母。另外,由于解脂耶氏酵母可以利用很多的廉价底物进行生产,可以很大程度的降低成本。此外,解脂耶氏酵母还可以产生很多的不饱和脂肪酸,可以用于单细胞油脂 (single cell-oil, SCO) 类的食品生产。例如,富含二十二碳六烯酸 (DHA) 的 SCO 可以作为膳食补充剂,还有花生四烯酸、 γ -亚麻酸等^[16-18]。因此,对解脂耶氏酵母堆积脂类物质的研究有着非常重要的现实意义。

2.4 柠檬酸的生产

解脂耶氏酵母在富含碳源的培养基上可以产生大量的有机酸,如柠檬酸、异柠檬酸、 α -酮戊二酸 (α -KGA)、丙酮酸及琥珀酸等。早在 19 世纪 80 年代,解脂耶氏酵母就被用于柠檬酸的生产,柠檬酸在饮料生产中应用广泛。由于解脂耶氏酵母可以分

解大量的疏水性底物,因此,可以利用很多的廉价的底物为碳源生产脂肪酸,如未加工的丙三醇(生产生物柴油产生的废弃物)。一些农业生产中的废弃物也可以作为生产柠檬酸的底物,如使用菊糖块茎的榨取液为底物生产柠檬酸,产量可以达到 68.3 g/L;以橄榄油榨油厂的废水为底物生产柠檬酸,产量可以达到 28.9 g/L。因此,用解脂耶氏酵母来生产柠檬酸既可以降低生产成本又可以解决一些废弃物的污染问题,达到双赢的目的。长久以来,人们主要通过改造菌株、改变底物、改变工艺参数等方法来提高解脂耶氏酵母中柠檬酸的产量,主要做法如图 4 所示。

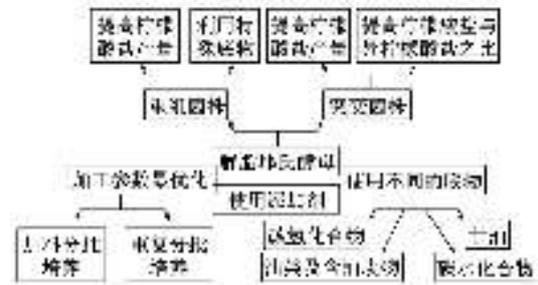


图4 提高柠檬酸产量的做法

研究表明在培养基质中加入醋酸盐可以提高柠檬酸的产量,将柠檬酸的产量由 0.5 g/L 提高到 18.7 g/L。一些化学表面活性剂如 Triton X-100 可以增强细胞表面的渗透性,进而影响柠檬酸的产量,使产量提高 1.4~1.8 倍。随着分子生物学技术的发展,重组菌的应用也大大提高了柠檬酸的产量。对菌株的改造主要从两方面入手:第一改变代谢途径,第二增加可用底物的范围。如将基因组中编码 ATP-柠檬酸裂解酶的基因 ACL1 敲除并且增强异柠檬酸裂解酶基因的表达可以很大程度的提高柠檬酸的产量。经过改造后的菌株以 10% 的菊粉为底物进行生产时,柠檬酸产量可以达到 84.0 g/L,是野生型菌株的 10 倍。将酿酒酵母中的 SUC2 基因转化到解脂耶氏酵母中能扩大可利用的底物范围^[19-20]。以上数据表明通过改造菌株的方法来提高柠檬酸的产量是非常有效的。

3 结语

对解脂耶氏酵母的研究已经深入到各个领域,并且取得了很好的研究成果。除了我们上面介绍到的以外,解脂耶氏酵母还被广泛应用于研究过氧化物酶体的生物合成、线粒体复合物 I 的相关疾病等领域;并且被用于生产 ω 3-浓缩油、 β -类胡萝卜素

等工业产品。但目前对解脂耶氏酵母分子水平上的研究仍然比较缺乏,不利于我们从基因水平上理解该酵母的特性。因此,对解脂耶氏酵母的研究有待进一步的展开,其独特的生物学特性将会给我们带来意想不到的发现。

参考文献:

[1] Nicaud J M. *Yarrowia lipolytica* [J]. *Yeast*, 2012, 29: 409-418.

[2] Barth G, Gaillardin C. *Yarrowia lipolytica*. In *non-conventional Yeasts in Biotechnology*. Wolf K (ed). Springer-Verlag: Berlin, Heidelberg, New York, 1996: 313-388.

[3] Mekouar M, Blanc-Lecfle I, Ozanne C, et al. Detection and analysis of alternative splicing in *Yarrowia lipolytica* reveal structural constraints facilitating nonsense-mediated decay of intron-retaining transcripts [J]. *Genome Biol*, 2010, 11: R65.

[4] Kabran P, Rossignol T, Gaillardin C, et al. Alternative splicing regulates targeting of malate dehydrogenase in *Yarrowia lipolytica* [J]. *DNA Res*, 2012, 19(3): 231-244.

[5] Nervéglise C, Chalvet F, Wincker P, et al. Mutator-like element in the yeast *Yarrowia lipolytica* displays multiple alternative splicing [J]. *Eukaryot Cell*, 2005, 4(3): 615-624.

[6] Li M, Li Y Q, Zhao X F, et al. Roles of the three Ras proteins in the regulation of dimorphic transition in the yeast *Yarrowia lipolytica* [J]. *FEMS Yeast Res*, 2014, 14: 451-463.

[7] Zhao X F, Li M, Li Y Q, et al. The TEA/ATTS transcription factor YITec1p represses the yeast-hypha transition in the dimorphic yeast *Yarrowia lipolytica* [J]. *FEMS Yeast Res*, 2013, 13: 50-61.

[8] Fickers P, Nicaud J M, Destain J, et al. Involvement of hexokinase Hxk1 in glucose catabolite repression of LIP2 encoding extracellular lipase in the yeast *Yarrowia lipolytica* [J]. *Curr Microbiol*, 2005, 50: 133-137.

[9] Goncalves F A, Colen G, Takahashi J A. Optimization of cultivation conditions for extracellular lipase production by *Yarrowia lipolytica* yeast [J]. *J African Biotechnol*, 2013, 12: 2270-2278.

[10] Fichers P, Marty A, Nicaud J M. The lipases from *Yarrowia lipolytica*: genetics, production, regulation, biochemical characterization and biotechnological applications [J]. *Biotechnol Adv*, 2011, 29(6): 632-644.

[11] Ziganshin A M, Gerlach R, Borch T, et al. Production of eight different hydride complexes and nitrite release from 2,4,6-trinitro toluene by *Yarrowia lipolytica* [J]. *Appl Environ Microbiol*, 2007, 73(24): 7898-7905.

[12] Khilyas I V, Ziqanshin A M, Pannier A J, et al. Effect of ferrihydrite on 2,4,6-trinitrotoluene biotransformation by an aerobic yeast [J]. *Biodegradation*, 2013, 24(5): 631-644.

[13] Bankar A V, Kumar A R, Zinjarde S S. Removal of chromium (VI) ions from aqueous solution by adsorption onto two marine isolates of *Yarrowia lipolytica* [J]. *J Hazard Mater*, 2009, 170(1): 487-494.

[14] Zinjarde S, Apte M, Mohite P, et al. *Yarrowia lipolytica* and pollutants: Interactions and applications [J]. *Biotechnol Advances*, 2014, 32: 920-933.

[15] Yano Y, Oilawa H, Satomi M. Reduction of lipids in fish meal prepared from fish waste by a yeast *Yarrowia lipolytica* [J]. *Int J Food Microbiol*, 2008, 121(3): 302-307.

[16] Koch B, Schmidt C, Daum G. Storage lipids of yeasts: a survey of nonpolar lipid metabolism in *Saccharomyces cerevisiae*, *Pichia pastoris*, and *Yarrowia lipolytica* [J]. *FEMS Microbiol Rev*, 2014, 38(5): 892-915.

[17] Bankar A V, Kumar A R, Zinjarde S S. Environmental and industrial applications of *Yarrowia lipolytica* [J]. *Appl Microbiol Biotechnol*, 2009, 84(5): 847-865.

[18] Goncalves F A, Colen G, Takahashi J A. *Yarrowia lipolytica* and its multiple applications in the biotechnological industry [J]. *Scientific World J*, 2014, doi:10.1155/2014/476207.

[19] Zinjarde S S. Food-related applications of *Yarrowia lipolytica* [J]. *Food Chem*, 2014, 152: 1-10.

[20] Souza K S, Schwan R F, Dias D R. Lipid and citric acid production by wild yeasts grown in glycerol [J]. *J Microbiol Biotechnol*, 2014, 24(4): 497-506.

(收稿日期 2015-01-09)

· 读者 · 作者 · 编者 ·

本刊对作者署名的要求

论著作者署名一般不超过 6 人。署中每位作者应该是论文学术内容的构思者或设计者;实验数据的采集并能给予解释者;能对编辑部提出的审改意见进行修改者;能在学术界就论文内容进行答辩者。综述作者署名不超过 2 人。作者单位、邮政编码不同者应分别列出并予以标识,作者单位之间用“;”隔开。不够署名条件但对研究成果有所贡献者可放在“志谢”项中。论文如属课题或基金项目,须在文章首页脚注中注明“基金项目和编号”。

本刊编辑部