

微生物学报 *Acta Microbiologica Sinica*
54 (2) :121 - 128; 4 February 2014
ISSN 0001 - 6209; CN 11 - 1995/Q
http://journals.im.ac.cn/actamicrocn
doi: 10.13343/j.cnki.wsxb.2014.02.001

热纤梭菌高效降解木质纤维素过程的组学研究进展

陈林, 王禄山, 张怀强*

山东大学, 微生物技术国家重点实验室, 山东 济南 250100

摘要:热纤梭菌 (*Clostridium thermocellum*) 是高效降解木质纤维素的重要微生物, 因其能分泌纤维小体这一超分子酶系复合物而备受关注。它分泌的酶系组分多样, 胞外酶组分的表达、分泌及其在纤维小体支架蛋白上的组装是一受到胞外碳源等因素显著影响的动态过程。热纤梭菌究竟如何感知纤维素等不溶性底物的存在并动态调控相应酶组分的分泌, 完成具有高效降解能力的超分子酶系复合物的组装成为近几年来相关研究的热点。本文主要从基因组学、转录组学、蛋白质组学及菌体对胞外碳源的感应机制等方面来综述相关研究进展, 并对热纤梭菌降解天然复杂生物质的动态过程及其相应机制进行了剖析, 并展望其应用前景。

关键词:热纤梭菌, 基因组学, 转录组学, 蛋白质组学, 感应机制

中图分类号: Q933 **文献标识码:** A **文章编号:** 0001-6209 (2014) 02-0121-08

热纤梭菌 (*Clostridium thermocellum*) 是一种厌氧、嗜热、革兰氏阳性细菌, 由于其能够高效降解纤维素底物, 进而形成乙醇与其它有机酸等发酵产物, 引起人们极大的研究兴趣。热纤梭菌降解纤维素的机制与真菌明显不同, 它是通过在细胞膜外形成纤维小体这一超分子酶系复合物来完成降解任务, 该复合物可以高效快速降解结晶纤维素。由于热纤梭菌分泌多酶复合物——纤维小体这一特征, 已经成为人们研究纤维素降解的主要模式菌株之一^[1-2]。山东大学生物质资源转化研究室在 1989 年就分离到一株热纤梭菌并对其降解纤维素的活性开展了相关研究^[3], 而国外研究者此时已开始利用分子生物学手段, 研究复合物的蛋白质组成或蛋白质结构域的功能^[4-5]。然而, 进入新世纪后随着基因组学、转录组学、蛋白质组学、生物信息学, 以及结构生物学等技术手段的应用, 开启了人们对纤维小体这一超

分子复合物胞外装配及其功能的相关研究。研究表明, 纤维小体的分子量在 2×10^6 Da 到 6×10^6 Da 之间。直径大约 18 nm, 包含 14 到 50 个分子量在 37 - 210 kDa 的多肽^[6]。这些高分子化合物只有在组合成超分子复合物后才能高效的降解结晶纤维素, 然而, 这样一个庞大而又复杂的高分子复合物是如何在胞外组装, 组装结构是否随着底物的不同而发生变化, 多酶复合物的亚基是如何协同完成相应功能的呢, 本文就相关问题的最新研究进展进行了综述。

1 热纤梭菌的基因组学与酶组分组成分析

目前, 热纤梭菌已有 5 株获得测序, 其基因大小、GC%、基因数目、蛋白质数目基本一致, 但仍有

基金项目: 国家“973 项目”(2011CB707401); 国家“863 计划”(2012AA10180402); 山东省国际科技合作项目计划(鲁科合字 [2011] 176 号第 6 项)

* 通信作者。Tel: +86-531-88366202; E-mail: zhq@sdu.edu.cn

作者简介: 陈林 (1989 -), 女, 四川省德阳人, 硕士研究生, 主要从事微生物降解木质纤维素的研究。E-mail: chenlinsdu@126.com

收稿日期: 2013-06-06; 修回日期: 2013-10-17

部分差异 (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/genome/>)。其中热纤梭菌 ATCC 27405 基因组中含有 32 个纤维素酶基因, 19 个木聚糖酶等半纤维素酶基因(详见 <http://www.cazy.org/b510.html>)。热纤梭菌基因组中糖苷水解酶基因的排列与真菌明显不同除了游离分散分布于基因组中的水解酶基因外, 还存在一类真菌所没有的支架蛋白(scaffolding protein, 又称脚手架蛋白、脚架蛋白)形成功能基因簇^[2]。

支架蛋白组成无论是种类还是数量, 不同物种都不尽相同, 其中 *Clostridium thermocellum* ATCC27405 支架蛋白基因簇由 *cipA*、*olpB*、*orf2*、*olpA* 4 个基因组成。其中 CipA 蛋白又由 11 个结构域组成, 依次为 2 个 I 型粘连模块(Cohesin)、1 个 CBM3 模块、7 个 I 型粘连模块与 1 个 II 型对接模块(dockerin)相互连接而成; DSM1313 菌株的 CipA 蛋白组成与 ATCC27405 菌株明显不同, DSM1313 的 CipA 蛋白仅由 7 个结构域组成, 依次为 2 个 I 型粘连模块, 1 个 CBM3 模块和 4 个 I 型粘连模块, 没有 II 型对接模块。OlpB 蛋白锚定在膜上, 含有 7 个 II 型粘连模块, 共能结合 7 个支架蛋白 CipA 模块, 因此可结合 63 个酶分子。支架蛋白 Orf2 蛋白也锚定于细胞膜上, 具有 2 个 II 型粘连模块, 可结合 2 个 CipA 模块, 最多可结合 18 个酶分子。支架蛋白 OlpA 具有一个 I 型粘连模块, 只能和 I 型的对接模块结合一个酶分子。CipA、OlpB、Orf2、OlpA 模块结构上的差异导致了它们具有不同的功能。溶纤维素拟杆菌(*Bacteroides cellulosolvens*) 支架蛋白多基因簇却仅由 *scaA* 与 *scaB* 两条基因组成^[2]。

热纤梭菌基因组中共有 73 个与对接模块相连的纤维小体酶组分, 其中 33 个催化结构域与碳水化合物结合模块(CBM)紧密相连。非纤维小体酶组分有 35 个, 游离糖苷水解酶组分有 20 个, 其中 6 个糖苷水解酶含有碳水化合物结合模块(CBM)。糖苷水解酶催化结构域中, 纤维素酶组分主要分布于 GH5、GH9、GH48 家族, 而 GH6 及 GH7 家族的酶组分未见报道。降解半纤维素的酶基因分布在 GH10 的木聚糖酶、GH43 的 α -阿拉伯呋喃聚糖酶与阿魏酸酯酶等。碳水化合物结合模块(CBM)等广泛分布于 18 个家族中, 其中 CBM3、CBM6、CBM50 家族的 CBM 数量较多。糖苷水解酶类催化结构域及其 CBM 的家族分布与组分数量在不同的菌株略有差

别, ATCC27405 菌株参见 <http://www.cazy.org/b510.html>, DSM 1313 菌株参见 <http://www.cazy.org/b1486.html>。

纤维小体对木质纤维素降解的高效性来自于其自发组装成的复杂高级结构, 其结构的复杂性因不同的厌氧微生物而有所不同, 主要表现在酶组分的种类、支架蛋白组成与组装方式的不同^[6]。随着结构生物学技术的发展, 人们已经利用结晶技术或核磁技术解析出支架蛋白中碳水化合物结合模块、粘连模块、粘连/对接模块复合体、酶组分催化结构域模块等一系列的结构域模块, 纤维小体各模块的 3D 结构模式与部分组装方式如图 1 所示, 这使得对纤维小体超分子结构的认识已经开始进入近原子分辨率的层次, 粘连模块与对接模块等生物大分子的详细相互作用信息等请参阅译著《纤维素降解的超分子机器——纤维小体》相关章节^[7]。由图 1 可以看到纤维小体通过 II 型粘连模块锚定到细胞膜上, 纤维小体酶则通过 I 型粘连模块组装在纤维小体上, 支架蛋白 CipA 通过 CBM 模块识别并结合纤维素链, 从而对纤维素链进行高效降解。

2 热纤梭菌感应不溶性碳源的分子机制

热纤梭菌胞外纤维小体的组成及结构是如此的复杂, 细胞是如何感应胞外碳源, 从而开启多种酶组分及其支架蛋白的协同表达分泌呢? 结合生物信息的分析与分子生物学的实验验证, 人们提出了 1 种全新的基于“ σ 因子-反 σ 因子”(σ -anti σ) 调控 RNA 聚合酶活力的胞外碳水化合物感应机制^[14], 这明显不同于真菌的由激活因子和抑制因子介导的转录调控机制^[15-16]。

人们通过分析热纤梭菌基因组, 发现至少 9 个 *RsgI* 蛋白质(结合 σ 因子的蛋白质), *RsgI* 蛋白质 N 端为 σ 因子结合区域, N 端区域中存在一跨膜结构域, N 端与 C 端由功能未知的蛋白质结构域(UNK)相连, C 端为不同家族的碳水化合物结合模块(CBM)或其它功能结构域。该蛋白质中 C 端不同家族结构域可专一识别并结合不同类型的底物分子, 如 CBM3 特异性结合纤维素分子, PA14 特异性结合果胶分子, CBM42 特异性结合阿拉伯糖基木聚糖, 而 GH6 特异性结合木聚糖与纤维素。基因组存在 9 个编码反 σ 因子(*rsgI*) 与对应 σ 因子(*sigI*) 的

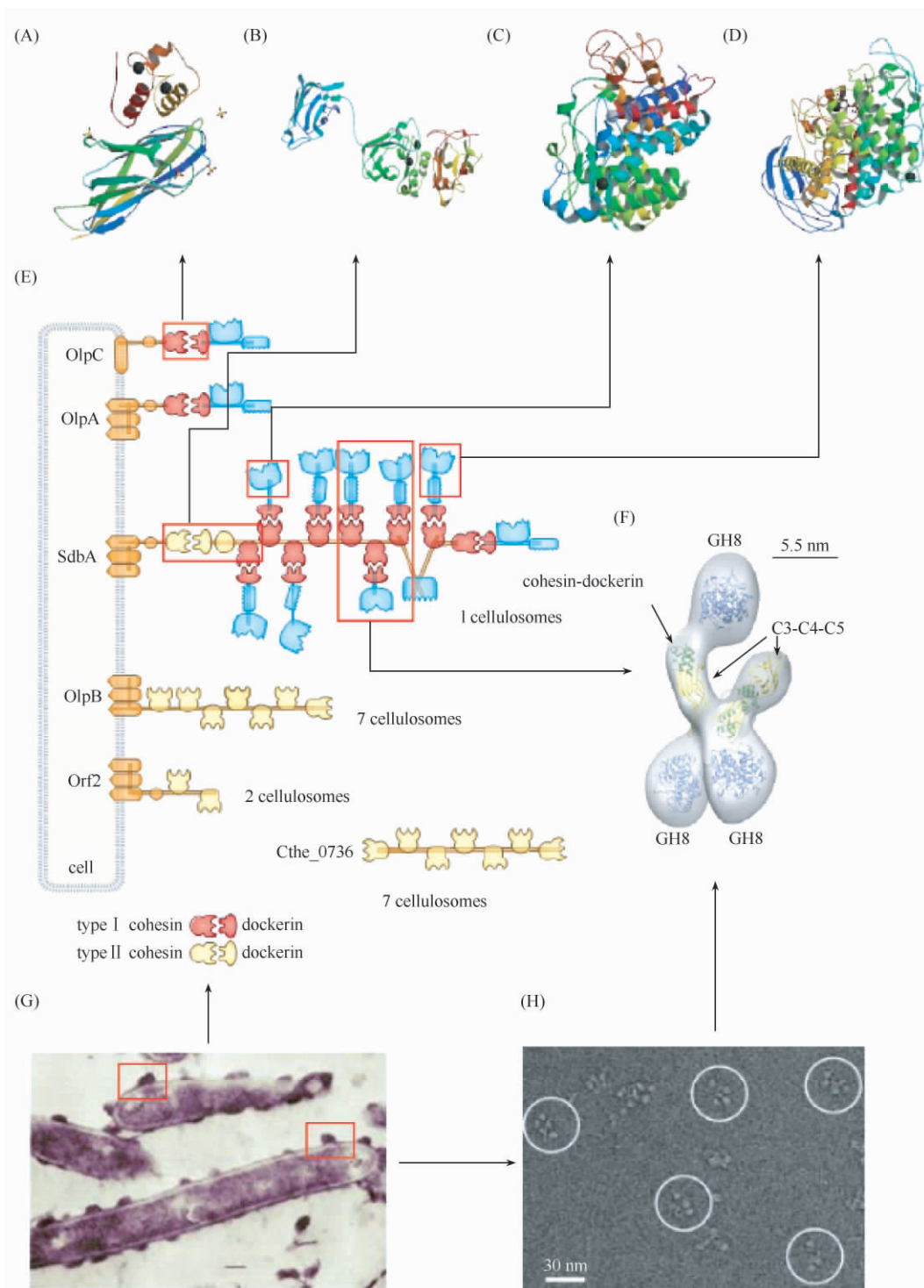


图 1. 纤维小体超分子结构模式图及其部分结构域 3D 结构

Figure 1. Schematic presentation of the cellulosome of *Clostridium thermocellum* and the 3D model of the protein. (A) The 3D model of I style of Cohesin-Dockerin (4DH2) [8]. (B) The 3D model of scaffolding protein-II style of Cohesin-Dockerin (3KCP) [9]. (C) The 3D model of endo- β -1,4-glucanase CelT (2YIK) [10]. (D) The 3D model of CbhA in GH9 (1RQ5) [11]. (E) The organization of different cellulase and hemicellulase in cellulosome [12]. (F) The 3D cryo-EM structure of Cohesin-Dockerin [13]. (G) The electron microscope structure of *Clostridium thermocellum*. (H) The electron microscope structure of cellulosome [13].

双顺反操纵子结构^[14]。

SigI-RsgI 蛋白结合是强相互作用,并且是特异性的,如 Yakir Nataf 等通过 ITC 技术(等温滴定热量仪技术)测定了 *SigI¹-RsgI¹* 的结合常数为 $5.4 \times 10^7 \text{ M}^{-1}$,结合力较强,并且利用 RT-PCR 技术验证了 *sigI* 因子的表达会受到胞外多糖的明显影响。以纤维二糖、纤维素、木聚糖与纤维素的混合物这 3 种不同碳源培养,*sigI* 因子的表达都不相同,其中 *sigI¹* 在木聚糖与纤维素混合物为碳源的情况下表达量最高,而 *sigI²* 在纤维素为碳源时表达量最大。RACE(快速扩增 cDNA 末端)技术扩增得到 *sigI-rsgI* 基因座 5' 端序列,并且进一步实验验证只有在 RNAP(聚合酶)和 *sigI* 同时存在的条件下,才能成功表达相应的纤维素酶,当 RNAP(聚合酶),*SigI-RsgI* 者同时

存在时,纤维素酶基因不表达^[17]。

热纤梭菌感应不溶性碳源的分子机制如图 2 所示,当胞外无底物存在的情况下,*SigI-RsgI* 紧密结合在一起,相关基因未得到有效转录。当细胞接触到相关不溶性底物,存在于胞外的 *RsgI* 蛋白 C 端 CBM 模块就会与相应底物结合,诱发 *RsgI* 蛋白 N 端构象变化,释放出结合的 *SigI* 蛋白(即 σ 因子),使得 σ 因子与 RNA 聚合酶的核心酶结合形成 RNA 聚合酶全酶,定位识别特定的起始位点,启动相应糖苷水解酶基因的转录并表达,从而分泌到胞外进一步降解相应底物。不同的 CBM 模块对应不同的 σ 因子,纤维素对应 *sigI¹*,果胶对应 *sigI³*,阿拉伯糖基木聚糖对应 *sigI⁵*,因此不同的 *SigI-RsgI* 可特异性调控特定的碳水化合物酶类基因簇的表达。

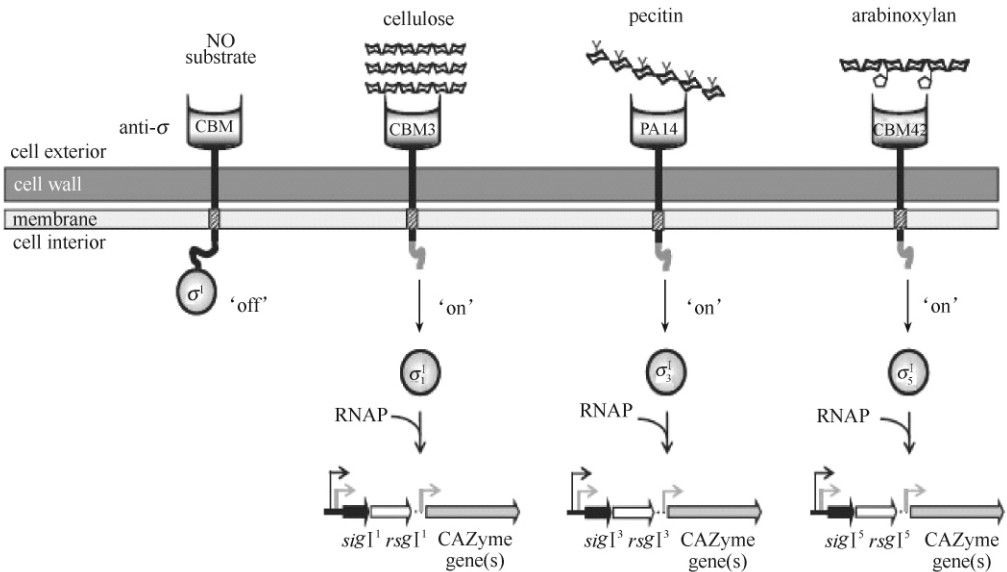


图 2. 热纤梭菌感应不同底物的感应机制^[14]

Figure 2. Proposed mechanism for the activation of alternate σ factors by extracellular polysaccharides^[14].

3 转录组学技术研究热纤梭菌降解结晶纤维素过程功能组分的动态协同表达

如前文所述,热纤梭菌存在大量的纤维小体和非纤维小体基因,它们是否协同表达?人们开始利用微阵列等转录组技术进行分析,已有报道不同底物类型与生长阶段,热纤梭菌中支架蛋白、纤维素酶 mRNA 水平^[18-20]的转录情况会有所不同。最近, Babu Raman 等从 mRNA 水平上分析了热纤梭菌降

解结晶纤维素的生长过程中纤维小体和非纤维小体基因随时间的整体变化情况^[22]。

纤维小体的结构包括非催化模块和催化模块,其中非催化模块指支架蛋白 CipA (Cthe3077) 和 7 种膜锚定蛋白,其中 SdbA (Cthe1307)、OlpB (Cthe3078)、Orf2p (Cthe3079)、Cthe0735 以及 Cthe0736 这 5 种膜锚定蛋白中含有 II 型粘连模块, OlpA (Cthe3080) 与 Cthe0452 这 2 种膜锚定蛋白含有 I 型粘连模块。CipA、OlpB、Orf2 和 OlpA 在纤维素发酵过程中表达量最大,其表达量与生长速率成反比。在指数生长期,支架蛋白分泌增大,可使纤维小体复

合物紧紧粘附于细胞表面;生长减缓后,热纤梭菌可释放纤维小体到培养基。纤维小体可从膜表面释放后可自由扩散,从而结合环境中营养物质。这与嗜纤维杆菌(*Clostridium cellulovorans*)在纤维素上的表达情况相同,在纤维素为碳源时支架蛋白 CbpA 的表达量明显高于在其它碳源^[21]。

对于催化模块的研究表明,在整个发酵过程中,多种催化模块组分的表达量增加。随着生长速率的降低,GH5 与 GH9 家族内切纤维素酶的基因表达量增加,GH48 家族 CelS 这一内切纤维素酶也随着时间表达量明显增加^[22]。嗜纤维杆菌在不同碳源上的研究也表明纤维小体催化模块中 GH5, GH9 和 GH48 家族的的内切纤维素酶大量表达^[21]。除了纤维小体的酶组分,热纤梭菌基因组中 35 种非纤维小体基因在整个纤维素发酵过程中也出现表达差异。例如,GH94 家族的酶组分,其功能与胞内纤维糊精、纤维二糖的磷酸解有关,在发酵过程中随着底物利用率的降低,其表达量下调。然而,邻近基因 Cthe1256-1257 编码的非纤维小体酶类在稳定期表达量上升^[22]。

热纤梭菌在稳定期会释放出纤维小体,同时游离酶的表达量增加,这将有利于帮助细胞从周围资源中结合纤维素,从而产生大量的可溶性糖类。在这个过程中,该菌的 2 种丝氨酸蛋白酶抑制组分(Cthe0190 和 Cthe0191)表达量增加,这将保护游离的纤维小体免受蛋白酶的降解。通过转录组学技术的研究表明在整个发酵过程中基因的表达具有时序性,指数生长期纤维小体基因表达明显增加;在发酵中后期,该菌的鞭毛基因、运动与趋化性基因表达明显上调,这说明到生长后期,热纤梭菌的运动性增强。通过转录组的分析表明纤维小体和非纤维小体基因存在 1 种协同表达的现象。

4 热纤梭菌基于不同底物的胞外蛋白组学分析

尽管转录组学分析能力强大,仅通过 mRNA 水平分析并不能全面了解胞外复合物的组成,因为在微生物生长过程中,还会受到胞外分泌、膜表面定位以及其纤维小体组装动力学过程等一系列因素的影响。因此,在蛋白质组水平上对不同碳源下对纤维小体组分与非纤维小体酶类进行分析就显得尤为重

要。

基于不同底物类型与生长状态,该菌在相应蛋白水平上的变化已经广泛深入研究^[23-25]。Keqian Yang 等通过 BN-PAGE 技术对热纤梭菌膜蛋白进行了分析,揭示了膜表面存在大量的功能蛋白质,包括与能量代谢和转换相关蛋白质,与新陈代谢有关的脂类转运蛋白、氨基酸转运蛋白、无机盐离子转运蛋白、膜转运蛋白复合物等^[26]。以纤维素为碳源时,该菌分泌的纤维小体在指数生长期前期就会结合到细胞膜上,在指数生长期后期释放,在稳定期时相关蛋白结合到纤维素上^[27],这与转录组学的分析结果一致。纤维小体的表达通过碳阻遏效应受到纤维二糖的负调控^[23,28]。在以纤维二糖为碳源的情况下发现 7 种纤维小体结构蛋白、31 种纤维小体相关的糖苷酶、19 个非纤维小体糖苷水解酶的表达^[29]。

Rydzak 等运用 2D-HPLC-MS/MS 的方法检测到以纤维二糖为碳源时,SdbA (Cthe1307) 为分泌丰度最高的锚定蛋白,而支架蛋白 CipA (Cthe3077) 表达量很高,占有检测蛋白的 50%,同时检测到 CipA 同一基因簇下游 OlpB、Orf2 与 OlpA 蛋白的分泌^[30]。微阵列芯片分析显示在纤维素为碳源的时候 sdbA 的转录相对于 cipA、olpB、orf2 与 olpA 要低,而 nano-LC-ESI-MS 分析显示 SdbA 仅在纤维二糖上表达^[24]。在纤维素上,Raman B 等发现在稳定期 cipA 转录无变化,但是 orf2 的转录增加 2 倍^[22]。转录组与蛋白质组研究中都检测到支架蛋白的大量表达,这表明在生长过程中以支架蛋白为基础结合多种酶组分组装形成纤维小体奠定了结构基础。

热纤梭菌共编码 73 个纤维小体酶,指数生长期时,蛋白水平上共检测并确定了其中 65 种,其中 31 种为纤维小体中糖苷水解酶组分,CelS、XynC、CelA、XynA/U、CelG 以及糖苷水解酶 Cthe0821 组分都得到高水平表达分泌^[23]。XynA/U、CelG 的高水平表达同 mRNA 水平检测一致。蛋白质组学分析显示外切葡聚糖酶 CelS 与 CelK,内切葡聚糖酶 CelJ 在纤维素上的表达要高于在纤维二糖上的表达,然而木聚糖酶(XynZ, XynC, XynA/U, XghA, Cthe0032)、内切纤维素酶 GH5 (CelB, CelG, Cthe2193) 以及 GH8 (CelA) 则相反,这些酶组分在纤维二糖上的表达要高于纤维素上的表达^[24]。在指数生长期向稳定期过渡的过程中,胞外酶组分的表达发生动态的调节,纤维小体糖苷水解酶

Cthe0821、Cthe2761 与 Cthe0745 的表达量增加 2 倍, XynD (Cthe0625) 表达量降低 1.6 倍。整个发酵过程中支架蛋白分泌增加, 胞外酶组分的种类与分泌数量会随着底物种类与发酵过程动态调整, 这可能与其长期进化形成了高效降解机制有关。

5 热纤梭菌降解天然复杂生物质研究的问题与展望

基因组学、转录组学、蛋白质组学技术为人们在整体细胞水平上降解过程提供了系统学技术手段, 目前, 人们已经试图人工组装纤维小体来研究纤维小体各模块间的协同作用, 结合原子力显微镜及冷冻电镜实时原位观察纤维小体超分子结构, 分析其结合微纤丝位点及其对微纤丝的降解过程, 从而可以寻求纤维小体酶分泌、组装及其降解结晶纤维素的共性规律, 阐明热纤梭菌及其纤维小体降解结晶纤维素微纤丝的机制, 全面认识纤维小体这种超分子架构降解优势的结构基础, 为今后理性设计高效的酶类, 指导纤维梭菌靶向遗传改造, 人工纤维小体构建, 酶工程改造等提供理论基础, 为构建新型的综合生物工艺 (CBP) 提供合理的设计思路与可行的解决方案, 从而推动新型生物炼制工艺的普及与应用。

致谢:感谢山东大学陈冠军教授在本论文撰写过程中给予的指导。

参考文献

- [1] Lamed R, Setter E, Kenig R, Bayer EA. Cellulosome: a discrete cell surface organelle of *Clostridium thermocellum* which exhibits separate antigenic, cellulose-binding and various cellulolytic activities. *Biotechnology Bioengineering Symposium*, 1983, 13:163-181.
- [2] Bayer EA, Belaich J-P, Shoham Y, Lamed R. The Cellulosomes: Multienzyme Machines for Degradation of Plant Cell Wall Polysaccharides. *Annual Review of Microbiology*, 2004, 58 (1) : 521-554.
- [3] Yu H, Gao P, Wang Z. Isolation and enzymatic properties of a strain of *Clostridium thermocellum*. *Journal of Shandong University (Natural Science)*, 1989, 24 (2) : 86-92. (in Chinese)
于洪日, 高培基, 王祖农. 一株热纤梭菌的分离及其纤维素分解活性的初步研究. 山东大学学报 (自然科学版), 1989, 24 (2) : 86-92.
- [4] Beguin P. Molecular biology of cellulose degradation. *Annual Review of Microbiology*, 1990, 44: 219-248.
- [5] Mechaly A, Yaron S, Lamed R, Fierobe H-P, Belaich A, Belaich J-P, Shoham Y, Bayer EA. Cohesin-dockerin recognition in cellulosome assembly: experiment versus hypothesis. *Proteins*, 2000, 39 (2) : 170-177.
- [6] Wang J, Wang L, Liu W, Chen G, Gao P. Research advances on the assembly mode of cellulosomal macromolecular complexes. *Progress in Biochemistry*, 2011, 38 (1) : 28-35. (in Chinese)
王金兰, 王禄山, 刘巍峰, 陈冠军, 高培基. 降解纤维素的“超分子机器”研究进展. 生物化学与生物物理进展, 2011, 38 (1) : 28-35.
- [7] Uversky V, Kataeva IA. 纤维素降解的超分子机器——纤维小体. 王禄山, 等译. 北京: 化学工业出版社, 2011: 33-66.
- [8] Bras JL, Alves VD, Carvalho AL, Najmudin S, Prates JA, Ferreira LM, Bolam DN, Romão MJ, Gilbert HJ, Fontes CM. Novel *Clostridium thermocellum* type I cohesin-dockerin complexes reveal a single binding mode. *The Journal of Biological Chemistry*, 2012, 287 (53) : 44394-44405.
- [9] Adams JJ, Currie MA, Ali S, Bayer EA, Jia Z, Smith SP. Insights into higher-order organization of the cellulosome revealed by a dissect-and-build approach: crystal structure of interacting *Clostridium thermocellum* multimodular components. *Journal of Molecular Biology*, 2010, 396 (4) : 833-839.
- [10] Kesavulu MM, Tsai J-Y, Lee H-L, Liang P-H, Hsiao C-D. Structure of the catalytic domain of the *Clostridium thermocellum* cellulase CelT. *Acta Crystallographica Section D Biological Crystallography*, 2012, 68 (3) : 310-320.
- [11] Schubot FD, Kataeva IA, Chang J, Shah AK, Ljungdahl LG, Rose JP, Wang B-C. Structural basis for the exocellulase activity of the cellobiohydrolase CbhA from *Clostridium thermocellum*. *Biochemistry*, 2004, 43 (5) : 1163-1170.
- [12] Fontes CMGA, Gilbert HJ. Cellulosomes: Highly efficient nanomachines designed to deconstruct plant cell wall complex carbohydrates. *Annual Review of Biochemistry*, 2010, 79 (1) : 655-681.
- [13] García-Alvarez B, Melero R, Dias FMV, Prates JAM, Fontes CMGA, Smith SP, Romão MJ, Carvalho AL, Llorca O. Molecular architecture and structural transitions

- of a *Clostridium thermocellum* mini-cellulosome. *Journal of Molecular Biology*, 2011, 407 (4) : 571-580.
- [14] Kahel-Raifer H, Jindou S, Bahari L, Nataf Y, Shoham Y, Bayer EA, Borovok I, Lamed R. The unique set of putative membrane-associated anti- σ factors in *Clostridium thermocellum* suggests a novel extracellular carbohydrate-sensing mechanism involved in gene regulation. *FEMS Microbiology Letters*, 2010, 308 (1) : 84-93.
- [15] Znameroski EA, Coradetti ST, Roche CM, Tsai JC, Iavarone AT, Cate JHD, Glass NL. Induction of lignocellulose-degrading enzymes in *Neurospora crassa* by celloextrins. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 2012, 109 (16) : 6012-6017.
- [16] Hori C, Suzuki H, Igarashi K, Samejima M. Transcriptional response of the cellobiose dehydrogenase gene to cello- and xylooligosaccharides in the basidiomycete *Phanerochaete chrysosporium*. *Applied and Environmental Microbiology*, 2012, 78 (10) : 3770-3773.
- [17] Nataf Y, Bahari L, Kahel-Raifer H, Borovok I, Lamed R, Bayer EA, Sonenshein AL, Shoham Y. *Clostridium thermocellum* cellulosomal genes are regulated by extracytoplasmic polysaccharides via alternative sigma factors. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 2010, 107 (43) : 18646-18651.
- [18] Dror TW, Morag E, Rolider A, Bayer EA, Lamed R, Shoham Y. Regulation of the cellulosomal CelS (cel48A) gene of *Clostridium thermocellum* is growth rate dependent. *Journal of Bacteriology*, 2003, 185 (10) : 3042-3048.
- [19] Dror TW, Rolider A, Bayer EA, Lamed R, Shoham Y. Regulation of expression of scaffoldin-related genes in *Clostridium thermocellum*. *Journal of Bacteriology*, 2003, 185 (17) : 5109-5116.
- [20] Dror TW, Rolider A, Bayer EA, Lamed R, Shoham Y. Regulation of major cellulosomal endoglucanases of *Clostridium thermocellum* differs from that of a prominent cellulosomal xylanase. *Journal of Bacteriology*, 2005, 187 (7) : 2261-2266.
- [21] Han SO, Cho HY, Yukawa H, Inui M, Doi RH. Regulation of expression of cellulosomes and noncellulosomal (hemi) cellulolytic enzymes in *Clostridium cellulovorans* during growth on different carbon sources. *Journal of Bacteriology*, 2004, 186 (13) : 4218-4227.
- [22] Raman B, McKeown CK, Rodriguez M, Jr., Brown SD, Mielenz JR. Transcriptomic analysis of *Clostridium thermocellum* ATCC 27405 cellulose fermentation. *BMC Microbiology*, 2011, 11 (134) : 1471-2180.
- [23] Zhang YH, Lynd LR. Regulation of cellulase synthesis in batch and continuous cultures of *Clostridium thermocellum*. *Journal of Bacteriology*, 2005, 187 (1) : 99-106.
- [24] Gold ND, Martin VJ. Global view of the *Clostridium thermocellum* cellulosome revealed by quantitative proteomic analysis. *Journal of Bacteriology*, 2007, 189 (19) : 6787-6795.
- [25] Raman B, Pan C, Hurst GB, Rodriguez M, Jr., McKeown CK, Lankford PK, Samatova NF, Mielenz JR. Impact of pretreated Switchgrass and biomass carbohydrates on *Clostridium thermocellum* ATCC 27405 cellulosome composition: a quantitative proteomic analysis. *PLoS One*, 2009, 4 (4) : e5271.
- [26] Peng Y, Luo Y, Yu T, Xu X, Fan K, Zhao Y, Yang K. A blue native-PAGE analysis of membrane protein complexes in *Clostridium thermocellum*. *BMC Microbiology*, 2011, 11 (22) : 1471-2180.
- [27] Demain AL, Newcomb M, Wu JH. Cellulase, clostridia, and ethanol. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 2005, 69 (1) : 124-154.
- [28] Mishra S, Beguin P, Aubert JP. Transcription of *Clostridium thermocellum* endoglucanase genes celF and celD. *Journal of Bacteriology*, 1991, 173 (1) : 80-85.
- [29] Islam R, Cicek N, Sparling R, Levin D. Effect of substrate loading on hydrogen production during anaerobic fermentation by *Clostridium thermocellum* 27405. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 2006, 72 (3) : 576-583.
- [30] Rydzak T, McQueen PD, Krokhin OV, Spicer V, Ezzati P, Dwivedi RC, Shamshurin D, Levin DB, Wilkins JA, Sparling R. Proteomic analysis of *Clostridium thermocellum* core metabolism: relative protein expression profiles and growth phase-dependent changes in protein expression. *BMC Microbiology*, 2012, 12 (214) : 1471-2180.
- [31] Ding S-Y, Liu Y-S, Zeng Y, Himmel ME, Baker JO, Bayer EA. How does plant cell wall nanoscale architecture correlate with enzymatic digestibility? *Science*, 2012, 338 (6110) : 1055-1060.

Mics of the *Clostridium thermocellum* in lignocellulose degradation—A review

Lin Chen, Lushan Wang, Huaiqiang Zhang*

State Key Laboratory of Microbial Technology, Shandong University, Jinan 250100, Shandong Province, China

Abstract: *Clostridium thermocellum* (*C. thermocellum*) is the dominant microorganism that can efficiently degrade lignocellulose. Extensive studies were done for secreting the cell surface-bound protein complex known as the cellulosome. *C. thermocellum* is regulated by carbon sources, reflected in overall multiple cellulase production and in the cellulosomal subunit profile. To produce a cellulosomal protein complex is a dynamic assembly process. In recent years, it becomes a hotspot to study how *C. thermocellum* senses the insoluble substrate, regulates the secretion of relevant enzymes, and assembles the supramolecular-degradation enzyme complex. This review summarized the research advance in genomics, transcriptomics, proteomics and extracellular carbohydrate-sensing mechanism in *C. thermocellum*, and analyzed the mechanism and dynamic process of *C. thermocellum* in lignocellulose degradation.

Keywords: *Clostridium thermocellum*, genomics, transcriptomics, proteomics, carbohydrate-sensing mechanism

(本文责编:王晋芳)

Supported by the the Major State Basic Research Development Program of China (2011CB707401), by the National High Technology Research and Development Program of China (2012AA10180402) and by the International Cooperation in Science and Technology Project of Shandong Province ([2011] 176-6)

* Corresponding author. Tel: +86-531-88366202; E-mail: zhq@sdu.edu.cn

Received: 6 June 2013/Revised: 17 October 2013

1953 年创刊以来所有文章全文上网

从 2008 年 1 月开始《微生物学报》的所有文章开始全文上网了。欢迎广大读者登陆本刊主页 (<http://journals.im.ac.cn/actamicrocn>) 浏览、查询、免费下载全文! 由于《微生物学报》历史久远, 为方便读者查阅, 将刊期变化作以下统计。

《微生物学报》刊、期统计表

2014 年 2 月统计

时间	刊期	卷号	期号
1953 - 1956	半年刊	1 - 4	1 - 2
1957 - 1958	季刊	5 - 6	1 - 4
1959	季刊	7	1 - 2
1959 - 1962	停刊 3 年		
1962	季刊	8	3 - 4
1963 - 1965	季刊	9 - 11	1 - 4
1966	季刊	12	1 - 2
1966 - 1972	停刊 6 年半		
1973 - 1988	季刊	13 - 28	1 - 4
1989 - 2007	双月刊	29 - 47	1 - 6
2008 - 2013	月刊	48 - 53	1 - 12
2014	月刊	54	1 - 2