

· 综 述 ·

## 啤酒酵母细胞壁环境压力应答机制研究进展

张明芳<sup>1,2</sup>, 王金晶<sup>1,2</sup>, 钮成拓<sup>1,2</sup>, 李永仙<sup>1,2</sup>, 郑飞云<sup>1,2</sup>, 刘春风<sup>1,2</sup>, 李崎<sup>1,2</sup>

1 江南大学 生物工程学院 工业生物技术教育部重点实验室, 江苏 无锡 214122

2 江南大学 酿酒科学与工程研究室, 江苏 无锡 214122

张明芳, 王金晶, 钮成拓, 等. 啤酒酵母细胞壁环境压力应答机制研究进展. 生物工程学报, 2019, 35(7): 1214–1221.

Zhang MF, Wang JJ, Niu CT, et al. Progress in brewer's yeast cell wall stress response. Chin J Biotech, 2019, 35(7): 1214–1221.

**摘 要:** 酵母细胞壁在细胞形态学的建立和维持中起重要作用, 有助于细胞抵御环境变化。细胞壁主要由  $\beta$ -葡聚糖、甘露糖蛋白和几丁质组成, 其组成和结构会由于压力胁迫发生动态重构。同时为了适应环境压力变化, 啤酒酵母细胞壁在长期驯化过程中表现出相关压力应答机制。文中介绍了啤酒酵母细胞壁组成与结构, 并综述了细胞壁重构与信号通路调控的分子机制。

**关键词:** 啤酒酵母, 细胞壁, 压力应答, 细胞壁重构, 信号通路

## Progress in brewer's yeast cell wall stress response

Mingfang Zhang<sup>1,2</sup>, Jinjing Wang<sup>1,2</sup>, Chengtuo Niu<sup>1,2</sup>, Yongxian Li<sup>1,2</sup>, Feiyun Zheng<sup>1,2</sup>, Chunfeng Liu<sup>1,2</sup>, and Qi Li<sup>1,2</sup>

1 Key Laboratory of Industrial Biotechnology, Ministry of Education, School of Biotechnology, Jiangnan University, Wuxi 214122, Jiangsu, China

2 Laboratory of Brewing Science and Technology, Jiangnan University, Wuxi 214122, Jiangsu, China

**Abstract:** Yeast cell wall plays an important role in the establishment and maintenance of cell morphology upon the cell wall stress. The cell wall of yeast consists of  $\beta$ -glucans, mannoproteins and chitin. The composition and structure remodel due to cell wall stress. Brewer's yeast cell wall exhibits stress response during long-term acclimation in order to adapt to environmental changes. This paper reviews the composition and structure of yeast cell wall and the molecular mechanisms of cell wall remodeling and signal pathway regulation.

**Keywords:** brewer's yeast, cell wall, stress response, cell wall remodeling, signal pathway

**Received:** December 11, 2018; **Accepted:** February 18, 2019

**Supported by:** National Natural Science Foundation of China (Nos. 31571942, 31601558, 31771963), Collaborative Innovation Center of Jiangsu Modern Industrial Fermentation in Jiangnan University.

**Corresponding author:** Qi Li. Tel: +86-510-86918176; Fax: +86-510-85805219; E-mail: liqi@jiangnan.edu.cn

国家自然科学基金 (Nos. 31571942, 31601558, 31771963), 江苏省现代工业发酵协同创新中心资助。

网络出版时间: 2019-04-17

网络出版地址: <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.1998.Q.20190416.1508.001.html>

细胞壁作为酵母细胞最外层结构具有保护细胞、维持细胞形态、为细胞表面蛋白提供吸附支架等功能,且能够通过信号通路感应环境的变化进行调控来维持细胞壁完整性<sup>[1]</sup>。啤酒酵母 *Saccharomyces pastorianus* 受到各种环境压力的胁迫时易发生自溶<sup>[2]</sup>,细胞壁结构逐渐疏松,同时细胞壁组分发生缓慢降解<sup>[3]</sup>。因此,细胞壁对环境压力的应答在维持细胞形态中发挥重要作用<sup>[4-5]</sup>。

酵母细胞壁对环境压力应答的途径主要有细胞壁重构和信号通路调控。细胞壁重构包括组成重构和交联重构,受到环境压力胁迫时,细胞壁的组分含量增加,与交联相关基因表达量发生变化,同时相关交联结构增强<sup>[6-7]</sup>。细胞对不同压力的应答涉及多种信号通路和信号因子,信号通路调控压力信号的转导,从而使相关基因的表达量发生变化<sup>[8]</sup>。文中介绍了啤酒酵母的细胞壁组成、结构与交联,综述了酵母细胞壁在压力胁迫下的细胞壁重构动态变化及其信号通路调控机制,为提高啤酒酵母压力耐受性和研究压力应答机制提供理论依据与参考。

## 1 酵母细胞壁组成与结构

### 1.1 细胞壁组成

酵母细胞壁约占细胞干重的 15%–30%,主要

由甘露糖蛋白、 $\beta$ -葡聚糖和少量的几丁质组成<sup>[9]</sup>。通过电子显微镜观察得到细胞壁分为两层,外层富含甘露糖蛋白,内层主要物质为葡聚糖与少量几丁质。葡聚糖分为  $\beta$ -1,3-葡聚糖和  $\beta$ -1,6-葡聚糖。 $\beta$ -1,3-葡聚糖一般通过  $\beta$ -1,3 键由 1 500 个葡萄糖残基构成线性分子,作为细胞壁的骨架与其他组分相交联,是最为重要的组分。几丁质只占细胞干重的 1%–2%<sup>[10]</sup>,是由氨基葡萄糖残基通过  $\beta$ -1,4 键合成的链状结构,通常位于母细胞与新生芽体之间和新分离细胞的侧壁中。几丁质使细胞具有一定刚性并在细胞分裂中起重要作用,虽然在细胞壁组分中含量微少,但却是细胞生长所必不可少的。甘露糖蛋白占细胞壁干重的 30%–50%,由甘露聚糖和经过糖基化修饰的蛋白组成,分为磷脂酰肌醇蛋白 (Glycosylphosphatidylinositol cell wall proteins, GPI-CWPs) 和内重复蛋白 (Proteins with internal repeats, Pir-CWPs)<sup>[11]</sup>。

### 1.2 细胞壁结构与交联

酵母细胞壁是具有高度弹性、连续的三维网络,  $\beta$ -1,3-葡聚糖是网络的骨架,其他组分作为侧链相互交联延伸构成复杂的细胞壁网络系统 (图 1)。以  $\beta$ -1,3-葡聚糖为主体,细胞壁多糖之间有 3 种交联方式<sup>[9]</sup>。首先是几丁质还原端通过  $\beta$ -1,4 键与

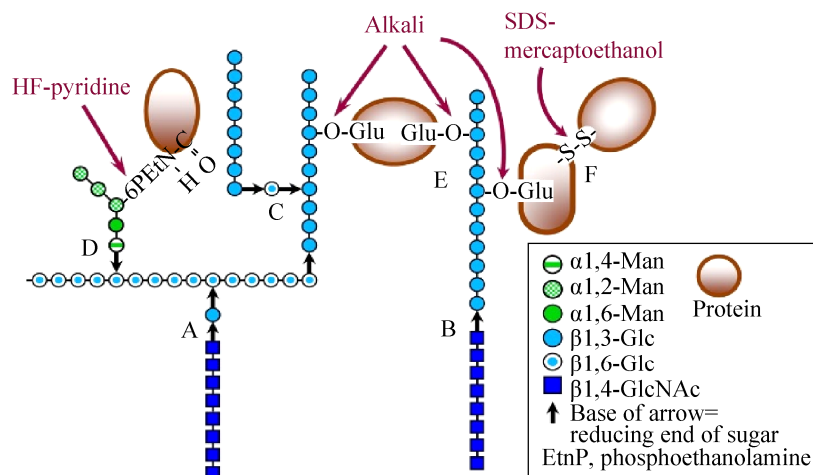


图 1 细胞壁结构与交联<sup>[9]</sup>

Fig. 1 Cell wall structure and cross-linking<sup>[9]</sup>.

$\beta$ -1,3-葡聚糖连接, 此为最主要的多糖交联方式(图 1B)。 $\beta$ -1,3-葡聚糖为具有柔性的螺旋状分子结构, 赋予细胞壁一定的弹性, 而几丁质的刚性会影响  $\beta$ -葡聚糖的溶解度。第 2 种方式是几丁质还原端通过  $\beta$ -1,3-葡萄糖与  $\beta$ -1,6-葡聚糖连接(图 1A)。第 3 种连接是  $\beta$ -1,3-葡聚糖通过  $\beta$ -1,6-葡萄糖相互连接, 使细胞壁葡聚糖形成紧密网络(图 1C)。多糖之间的交联构成细胞壁内层, 甘露糖蛋白的交联则构成细胞壁外层。GPI-CWPs 通过糖苷键与  $\beta$ -1,6-葡聚糖连接, 是最多的细胞壁蛋白与多糖的交联方式(图 1D)。Pir-CWPs 是通过蛋白质重复序列中谷氨酸的羧基以酯键与  $\beta$ -1,3-葡聚糖中的羟基相连, 对碱敏感(图 1E)。而蛋白之间是由二硫键连接, 可通过 SDS 解链(图 1F)<sup>[11]</sup>。

## 2 细胞壁重构与环境压力应答

细胞壁中各组分相互交联, 赋予其既坚硬又具有弹性的特性, 具有维持细胞形态、保护细胞等功能。细胞壁具有高度动态性, 酵母细胞壁的组成和结构会由于环境压力发生动态变化, 通过细胞壁重构对环境压力进行应答<sup>[12]</sup>。细胞壁重构(Cell wall remodeling)是指破坏细胞壁组分之间的交联, 以及将新合成的多糖经糖基化酶进行伸长、分枝和交联到原有的细胞壁中<sup>[13]</sup>。细胞壁组成和交联、细胞壁刚性和弹性在环境压力应答过程中发生相应变化<sup>[14]</sup>。

### 2.1 细胞壁组成重构

细胞壁重构一般会造成细胞壁多糖组成变化, 组分含量的增加能够提高细胞壁的刚性。 $\beta$ -葡聚糖链是细胞壁的骨架, 因此  $\beta$ -葡聚糖含量的提高有助于维持细胞壁完整性和抵御发酵过程中的环境压力<sup>[15]</sup>。甘露糖蛋白位于细胞壁最外层直接与外界环境接触, 在高渗透压环境下, 甘露糖蛋白含量增加使得外层结构更为紧密以适应环境压力<sup>[16]</sup>。为了提高菌株抗压能力, 可通过改造

酵母获得细胞壁刚性菌株。本研究组通过复合压力平板对传统紫外线诱变处理过的啤酒酵母菌株进行筛选, 得到两株抗压能力明显提高的菌株。对细胞壁的多糖组分进行分析发现葡聚糖与甘露聚糖含量均明显增加, 使得细胞壁能更好地抵挡外界环境因素的干扰<sup>[17]</sup>。

由于酵母细胞壁复杂的交联结构, 研究两种或多种组分之间的动态变化关系有助于进一步解析细胞壁重构对环境压力的应答机制。改变啤酒酵母的生长 pH 与培养基中甘油浓度, 甘露聚糖蛋白和  $\beta$ -1,6-葡聚糖的含量均有增加, 且  $P < 0.05$  具有显著性, 相关系数  $r = 0.661$ <sup>[18]</sup>。Sestak 等敲除酵母中编码细胞壁蛋白的 *SCW4* 和 *SCW10* 基因, 发现葡聚糖与甘露聚糖的含量没有显著变化; 依次利用  $\beta$ -1,3-葡聚糖酶和  $\beta$ -1,6-葡聚糖酶水解细胞壁测定游离葡萄糖与甘露糖, 发现甘露聚糖与  $\beta$ -1,6-葡聚糖的交联发生变化, 与野生菌相比甘露聚糖与几丁质的交联程度增加。说明基因敲除所导致的细胞壁重构不仅表现在组分含量的变化, 还表现在细胞壁组分之间的交联变化<sup>[19]</sup>。

### 2.2 细胞壁交联重构

#### 2.2.1 甘露糖蛋白-葡聚糖交联重构

对酵母自溶全过程进行跟踪发现, 由于葡聚糖酶水解葡聚糖导致细胞壁内层失去其纤维状连续结构, 随后细胞壁内外层交联紊乱, 细胞壁逐渐降解<sup>[20]</sup>。因此细胞壁蛋白与多糖之间的正常交联是保证细胞进行生理活动的基础之一, 其中 GPI-CWP $\rightarrow$  $\beta$ -1,6-葡聚糖 $\rightarrow$  $\beta$ -1,3-葡聚糖是正常状态下最主要的交联方式。

在该结构中, 甘露糖蛋白提供细胞壁表面的负电荷和亲水基团, 与酵母细胞的絮凝性有关。啤酒酵母的絮凝有助于酵母本身抵抗发酵期间的酒精胁迫和保持细胞活性, 且甘露糖蛋白具有高度交联的刚性结构, 这些特性共同增强酵母对渗透压和分解酶的抗性。在啤酒发酵过程中, 随着  $\text{CO}_2$

的产生啤酒酵母处于厌氧环境,与酵母絮凝性有关的甘露糖蛋白 *CWP* 基因和 *DAN* 基因的表达量发生变化,调控细胞壁交联以应答环境压力<sup>[21]</sup>。作为对多重压力的应答机制之一,甘露糖蛋白和葡聚糖会发生交联重构。据报道啤酒酵母在经过 3-7 次发酵周期后甘露糖蛋白表现出更紧密的交联结构并且含量增加; $(\alpha 1 \rightarrow 4)$ -糖苷键和  $(\beta 1 \rightarrow 4)$  糖苷键的交联结构的增加超过  $(1 \rightarrow 3)$  糖苷键,这种类纤维素的结构对细胞刚性的增强十分重要<sup>[22]</sup>。

甘露糖蛋白-葡聚糖交联主要由葡聚糖重构酶负责,包括 *Gas1p*、*Exg1p* 和 *Bgl2p*,其在细胞壁合成与压力应答的过程中活跃着。*Gas1p* 为 GPI 锚定蛋白,负责  $\beta$ -1,3-葡聚糖的延长并且涉及酵母对低 pH、高渗透压力的适应机制;*Exg1p* 和 *Bgl2p* 分别具有外、内切- $\beta$ -1,3-葡聚糖酶活性,参与  $\beta$ -1,3-葡聚糖和  $\beta$ -1,6-葡聚糖的重构。目前对于葡聚糖重构酶参与环境压力应答机制的研究多在酿酒酵母中,发现过量表达 *GAS1* 能够增强酵母对低 pH 和高渗透压的抗性<sup>[23]</sup>,敲除 *BGL2* 基因引起几丁质含量上升<sup>[24]</sup>,敲除与过表达 *EXG1* 基因分别导致  $\beta$ -1,6-葡聚糖含量上升和下降<sup>[25]</sup>。这些研究结果对啤酒酵母细胞壁环境压力应答机制的研究具有借鉴意义。

### 2.2.2 葡聚糖-几丁质交联重构

增强葡聚糖-几丁质的交联结构是细胞对环境压力的应答之一,其中 GPI-CWP $\rightarrow$  $\beta$ -1,6-葡聚糖 $\leftarrow$ 几丁质这一交联起到重要作用。葡聚糖与几丁质的交联由 *Crh1p* 和 *Crh2p* 进行催化合成。*Crh1p* 和 *Crh2p* 为转糖基酶,主要负责几丁质与  $\beta$ -1,3-葡聚糖、 $\beta$ -1,6-葡聚糖之间的交联<sup>[26]</sup>。酵母细胞壁对环境压力的应答使得 *CRH* 的表达受到调控,葡聚糖-几丁质交联结构随之进行重构,有利于增强细胞壁的刚性。葡聚糖-几丁质交联程度的测定可用  $C^{14}$  同位素标记法特异性标记几丁质,用不同的水解酶,如  $\beta$ -1,3-葡聚糖酶、 $\beta$ -1,6-葡聚

糖酶和几丁质酶处理细胞壁,然后羧甲基化后通过排阻色谱比较各馏分<sup>[27]</sup>。酵母中大约 40% 的几丁质是游离的,而与  $\beta$ -1,3-葡聚糖和  $\beta$ -1,6-葡聚糖交联的几丁质含量分别占总含量的 40%-45% 和 15%-20%。

虽然细胞壁中几丁质含量微少,但是  $\beta$ -葡聚糖与几丁质交联组成的细胞壁骨架在细胞壁生物合成和完整性中起关键作用,也是决定细胞壁物理性质的重要因素。细胞壁组分的交联结构赋予细胞壁一定的刚性,这种刚性使得细胞壁在面对环境压力急剧变化时能够有效控制细胞体积变化,有利于压力的缓冲<sup>[14]</sup>。同时  $\beta$ -葡聚糖的合成影响葡聚糖-几丁质交联结构,从而导致酵母细胞壁完整性发生变化。*Wang* 等通过敲除酵母细胞壁  $\beta$ -1,3-葡聚糖合成酶 *FKS1*、*FKS2* 基因,发现菌株表现出对渗透压和细胞壁抑制剂的高度敏感, $\beta$ -1,3-葡聚糖的合成在细胞应答环境压力过程中不可或缺<sup>[28]</sup>。

## 3 信号通路调控与环境压力应答

环境压力应答过程中酵母细胞壁的多糖含量平衡、交联类型调整、重构酶调节等变化是由于细胞壁有关基因表达改变而引起的。环境压力激活细胞相应信号转导通路,从而调节通路相关基因表达和代谢<sup>[29]</sup>。

### 3.1 CWI 信号通路

有不少信号通路参与其中,其中酵母细胞壁完整性 (Cell wall integrity, CWI) 信号通路起到主要调控作用。CWI 信号通路由 MAPK 级联系统介导,首先由细胞壁压力感应因子 *Wsc1-3p*、*Mid2p* 和 *Mtl1p* 作用于鸟嘌呤核苷酸交换因子 (GEFs) *Rom2p*,激活 *Rho1p*。*Rho1p* 是 CWI 信号通路的主要调节因子,不仅负责细胞外界信号的输入还涉及细胞壁合成、蛋白分泌信号的输出。随后蛋白激酶 C (Protein kinase C, *Pkc1*) 被激活<sup>[30]</sup>,

Pkc1p 作为 MAPK 级联系统的核心, 激活 MAPK 模块使 Bck1p 磷酸化, 再由 Bck1p 将信号传导至 Mkk1p/Mkk2p, 最终激活 Slt2p。Slt2p 作用于环境压力应答的 Rlm1p 和调控细胞周期的 Swi4/6p 两个转录因子。Rlm1p 调节至少 25 个基因的表达, 大多数与细胞壁蛋白或细胞壁应激蛋白的编码有关<sup>[31]</sup>。作为酵母细胞壁环境压力应答最重要的途径之一, CWI 信号通路上的基因表达调控对酵母细胞适应压力环境显得尤为重要。负责  $\beta$ -1,3-葡聚糖合成的 *FKS* 家族基因包括 *FKS1*、*FKS2* 和 *FKS3*。Fks1p 和 Fks2p 分别为催化亚基(Catalytic subunit) 和调节亚基 (Regulatory subunit)。Fks3p 是 Fks1p 的同源蛋白, 与 Fks1p 和 Fks2p 有 56% 的同源性, 通过调节葡聚糖合成影响子囊孢子壁的形成。*FKS* 家族基因的缺失会激活 CWI 信号通路, 导致细胞壁重构。本研究组敲除了酵母的 *FKS3* 基因, CWI 信号通路上游的感应因子 *WSC2* 基因表达量发生明显上调, 细胞壁葡聚糖含量增加, 重组菌的抗自溶能力增强<sup>[32]</sup>。*WSC2* 基因的上调有利于细胞壁快速应答环境变化, 增强对环境的适应能力。此外, 与 *WSC2* 基因同为感应因子的 *MID2* 和 *MTL1* 基因在酵母自溶过程中转录水平发生下调。啤酒酵母自溶过程中细胞壁受到外界压力胁迫, 细胞壁对低渗、氧化等压力的感知降低, *MID2* 和 *MTL1* 基因的转录水平下调导致细胞壁对于这些压力的抵御能力下降<sup>[33]</sup>。

### 3.2 CWI 与 HOG 信号通路的共同调控

尽管 CWI 信号通路是细胞壁的主要调控途径, 但是维持细胞稳定必然需要与其他信号通路共同调控。HOG (High-osmolarity glycerol) 信号通路和 CWI 信号通路同属于级联调控, 主要调控细胞对高渗透压的应答。HOG 信号通路包含 Sho1p 和 Sln1p 两条分支: Sho1p 支路由 Sho1p、Hkr1p 和 Msb2p 感应因子传递信号, 激活 PAK 家族的 Ste20p, 随后级联调控启动, Ste11p、Pbs2p、

Hog1p 依次被激活; Sln1p 支路的压力信号通过应答调节蛋白 Ypd1p 和 Ssk1p 传递至 Ssk2p/Ssk22p 级联调控, 磷酸化激活 Pbs2p 和 Hog1p。被激活的 Hog1p 作用于多个转录因子, 从而调控细胞应答环境压力<sup>[34]</sup>。在啤酒酵母自溶过程中, 感应因子 *HKR1*、*MSB2* 和 MAPK 模块中的 *SSK1*、*SSK2/22*、*PBS2* 基因表达发生明显上调, 说明环境压力激活了细胞的抗渗透压能力<sup>[35]</sup>。啤酒酵母在高渗透压环境下连续发酵 20 代, 发现 *PBS2* 基因表达明显上调, 细胞调节 HOG 信号通路上的基因表达以适应环境的渗透压力<sup>[36]</sup>。

当酵母受到温度压力时, CWI 信号通路起主要调控作用。感应因子 Wsc1p 和 Mid2p 传递压力信号激活通路, 调控细胞应激基因表达, 导致细胞膜流动性增加, 胞内海藻糖积累<sup>[37]</sup>。同时观察到 Sho1p 和 Hog1p 发生高度磷酸化, 说明 HOG 信号通路的 Sho1p 分支共同参与热压力的应答调控<sup>[38]</sup>。当酵母受到高渗透压胁迫时, 细胞膨压减小、体积缩小。胞内甘油的溶出和细胞膨压的变化激活 HOG 信号通路, 引起胞内甘油积累。随后胞内甘油水平的变化导致 CWI 信号通路的 Slt2p 级联调控模块被激活, 有助于细胞维持细胞壁形态以抵御外界渗透压胁迫<sup>[39]</sup>。对于氧化压力应答来说, Sln1p 和 Sho1p 通路基因缺失的酵母表现出对过氧化氢的高度敏感, 且 Hog1p 发生高度磷酸化, 说明 CWI 和 HOG 信号通路共同作用于细胞的氧化压力应答<sup>[40]</sup>。酵母细胞在 Zymolyase 压力胁迫下, HOG 和 CWI 信号通路之间的共同调控现象更为明显。Zymolyase 是一种  $\beta$ -1,3-葡聚糖酶, 能够抑制细胞壁合成。细胞壁损伤压力由 Sho1p 途径传导至 Hog1p, 随后激活 CWI 信号通路上的 Rho1p 引发下游的调控, 补偿细胞壁损伤。这种调控过程不涉及 CWI 信号通路的上游感应因子与鸟嘌呤核苷酸交换因子, CWI 通路的激活依赖于 HOG 通路的信号传导<sup>[41]</sup>(图 2)。

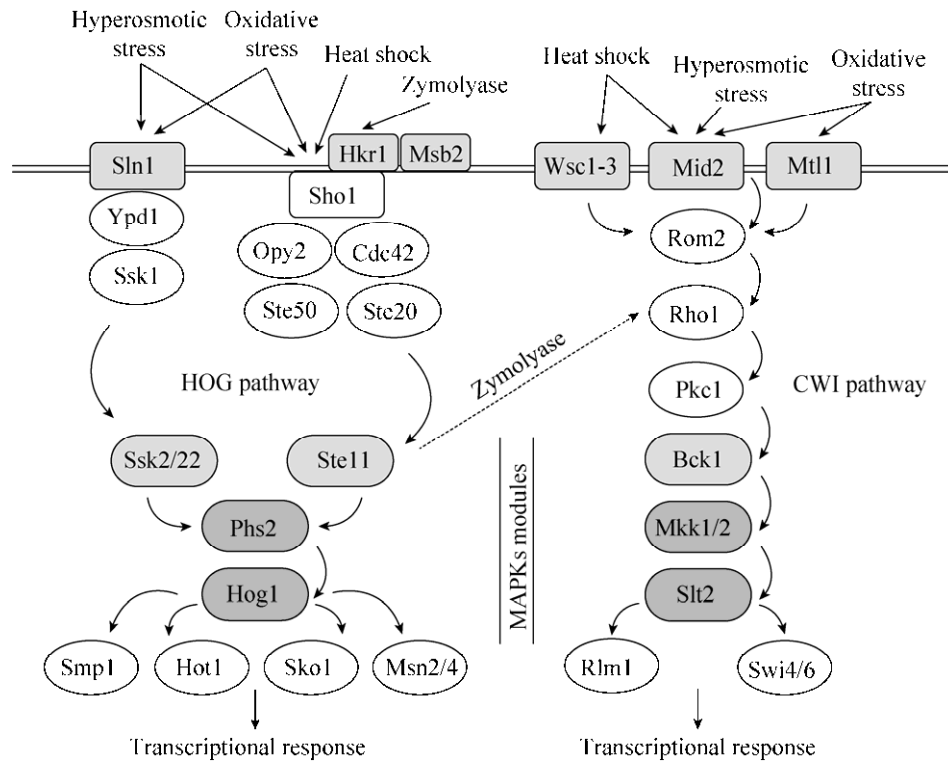


图2 细胞壁完整性 (CWI) 信号通路与高渗透性甘油 (HOG) 信号通路<sup>[42]</sup>

Fig. 2 The cell wall integrity (CWI) signaling pathway and the high-osmolarity glycerol response (HOG) signaling pathway<sup>[42]</sup>.

因此,酵母受到上述压力胁迫时 HOG 和 CWI 信号通路的应答有所不同, Hog1p 的磷酸化快速且短暂,而 Slt2p 在其后才被激活且可维持一段时间。HOG 信号通路对环境压力作出快速应答, CWI 信号通路在 HOG 通路被激活的情况下参与维持细胞壁的稳定,二者的共同调控机制用于维持细胞的正常生理活动,高效精确地应答多种环境压力。这种与 CWI 途径复杂的共同调控现象的机制研究在酿酒酵母中已有了一定的进展,然而在啤酒酵母中仍需进一步研究。

#### 4 展望

啤酒酵母是决定啤酒质量的重要因素之一,优良的酵母需要具有高发酵能力、抗环境压力与抗自溶能力等条件,使其对环境压力的变化具备快速适应能力和耐受性。目前啤酒酵母细胞壁压

力应答的研究多在于发酵或自溶过程中细胞壁多糖组分变化和细胞壁压力应答基因研究,但对于细胞壁重构的酶及组分交联的详细机制仍需要进一步了解。基于细胞壁组分交联对酵母刚性的贡献,可增强和改造组分交联结构提高酵母耐压能力。酵母在压力应答过程中涉及基因表达水平和胞内代谢物的变化,通过转录组学、蛋白组学以及代谢组学的分析可对酵母环境压力应答机制有更全面的了解。通过了解啤酒酵母细胞壁的动态变化及其环境压力应答机制,有利于提高啤酒质量,指导传统方式育种选育环境耐受性和抗自溶性能优良的工业啤酒酵母,促进啤酒行业发展。

#### REFERENCES

- [1] Klis FM, Mol P, Hellingwerf K, et al. Dynamics of cell wall structure in *Saccharomyces cerevisiae*. FEMS

- Microbiol Rev, 2002, 26(3): 239–256.
- [2] Wang JJ, Xu WN, Li XE, et al. Absence of Fks1p in lager brewing yeast results in aberrant cell wall composition and improved beer flavor stability. *World J Microbiol Biotechnol*, 2014, 30(6): 1901–1908.
- [3] Alexandre H, Guilloux-Benatier M. Yeast autolysis in sparkling wine - a review. *Aust J Grape Wine Res*, 2006, 12(2): 119–127.
- [4] Xu WN, Wang JJ, Chen X, et al. Changes in autolysis solution of brewer's yeasts and the evaluation of autolysis. *J Food Sci Biotechnol*, 2013, 32(6): 574–580 (in Chinese).  
许维娜, 王金晶, 陈希, 等. 啤酒酵母自溶液中的物质变化及酵母自溶评价指标探索. *食品与生物技术学报*, 2013, 32(6): 574–580.
- [5] Wang JJ, Yang JJ, Ding HJ, et al. Research progress in yeast global stress response during beer brewing. *Food Ferment Ind*, 2017, 43(1): 266–270, 275 (in Chinese).  
王金晶, 杨静静, 丁华建, 等. 啤酒发酵过程中酵母环境压力应答机制研究进展. *食品与发酵工业*, 2017, 43(1): 266–270, 275.
- [6] Lesage G, Bussey H. Cell wall assembly in *Saccharomyces cerevisiae*. *Microbiol Mol Biol Rev*, 2006, 70(2): 317–343.
- [7] Wang JJ, Li MQ, Zheng FY, et al. Cell wall polysaccharides: before and after autolysis of brewer's yeast. *World J Microbiol Biotechnol*, 2018, 34(9): 137.
- [8] Sanz AB, García R, Rodríguez-Peña JM, et al. The CWI pathway: regulation of the transcriptional adaptive response to cell wall stress in yeast. *J Fungi*, 2018, 4(1): E1.
- [9] Orlean P. Architecture and biosynthesis of the *Saccharomyces cerevisiae* cell wall. *Genetics*, 2012, 192(3): 775–818.
- [10] Lipke PN, Ovalle R. Cell wall architecture in yeast: new structure and new challenges. *J Bacteriol*, 1998, 180(15): 3735–3740.
- [11] Klis FM, Boorsma A, De Groot PWJ. Cell wall construction in *Saccharomyces cerevisiae*. *Yeast*, 2006, 23(3): 185–202.
- [12] Gibson BR, Lawrence SJ, Leclaire JPR, et al. Yeast responses to stresses associated with industrial brewery handling. *FEMS Microbiol Rev*, 2007, 31(5): 535–569.
- [13] Arroyo J, Farkaš V, Sanz AB, et al. Strengthening the fungal cell wall through chitin-glucan cross-links: effects on morphogenesis and cell integrity. *Cell Microbiol*, 2016, 18(9): 1239–1250.
- [14] Ene IV, Walker LA, Schiavone M, et al. Cell wall remodeling enzymes modulate fungal cell wall elasticity and osmotic stress resistance. *mBio*, 2015, 6(4): e00986–15.
- [15] Li J, Wang JJ, Li Q. Overexpression of *FKS1* to improve yeast autolysis-stress. *Chin J Biotech*, 2015, 31(9): 1344–1354 (in Chinese).  
李佳, 王金晶, 李崎. 18S rDNA 介导的 *FKS1* 基因过表达对酵母自溶性能的影响. *生物工程学报*, 2015, 31(9): 1344–1354.
- [16] Bzducha-Wróbel A, Błażej S, Kieliszek M, et al. Modification of the cell wall structure of *Saccharomyces cerevisiae* strains during cultivation on waste potato juice water and glycerol towards biosynthesis of functional polysaccharides. *J Biotechnol*, 2018, 281: 1–10.
- [17] Li XE, Wang JJ, Phornsanthia S, et al. Strengthening of cell wall structure enhances stress resistance and fermentation performance in lager yeast. *J Am Soc Brew Chem*, 2014, 72(2): 88–94.
- [18] Bzducha-Wróbel A, Kieliszek M, Błażej S. Chemical composition of the cell wall of probiotic and brewer's yeast in response to cultivation medium with glycerol as a carbon source. *Eur Food Res Technol*, 2013, 237(4): 489–499.
- [19] Sestak S, Hagen I, Tanner W, et al. Scw10p, a cell-wall glucanase/transglucosidase important for cell-wall stability in *Saccharomyces cerevisiae*. *Microbiology*, 2004, 150(10): 3197–3208.
- [20] Tudela R, Gallardo-Chacón JJ, Rius N, et al. Ultrastructural changes of sparkling wine lees during long-term aging in real enological conditions. *FEMS Yeast Res*, 2012, 12(4): 466–476.
- [21] Lawrence SJ, Gibson BR, Smart KA. Expression of the cell wall mannoprotein genes *CWP* and *DAN* during industrial-scale lager fermentations. *J Am Soc Brew Chem*, 2009, 67(1): 58–62.
- [22] Bastos R, Coelho E, Coimbra MA. Modifications of *Saccharomyces pastorianus* cell wall polysaccharides with brewing process. *Carbohydr Polym*, 2015, 124: 322–330.
- [23] Bzducha-Wróbel A, Błażej S, Kawarska A, et al. Evaluation of the efficiency of different disruption

- methods on yeast cell wall preparation for  $\beta$ -glucan isolation. *Molecules*, 2014, 19(12): 20941–20961.
- [24] Tabera L, Muñoz R, Gonzalez R. Deletion of *BCY1* from the *Saccharomyces cerevisiae* genome is semidominant and induces autolytic phenotypes suitable for improvement of sparkling wines. *Appl Environ Microbiol*, 2006, 72(4): 2351–2358.
- [25] Jiang B, Ram AFJ, Sheraton J, et al. Regulation of cell wall  $\beta$ -glucan assembly: *PTC1* Negatively affects *PBS2* Action in a pathway that includes modulation of *EXG1* transcription. *Mol Gen Genet*, 1995, 248(3): 260–269.
- [26] Rodríguez-peña JM, Cid VJ, Arroyo J, et al. A novel family of cell wall-related proteins regulated differently during the yeast life cycle. *Mol Cell Biol*, 2000, 20(9): 3245–3255.
- [27] Cabib E. Two novel techniques for determination of polysaccharide cross-links show that Crh1p and Crh2p attach chitin to both  $\beta(1-6)$ - and  $\beta(1-3)$ glucan in the *Saccharomyces cerevisiae* cell wall. *Eukaryot Cell*, 2009, 8(11): 1626–1636.
- [28] Wang JJ, Mao JC, Yang G, et al. The *FKS* family genes cause changes in cell wall morphology resulted in regulation of anti-autolytic ability in *Saccharomyces cerevisiae*. *Bioresour Technol*, 2018, 249: 49–56.
- [29] Smits GJ, Kapteyn JC, van den Ende H, et al. Cell wall dynamics in yeast. *Curr Opin Microbiol*, 1999, 2(4): 348–352.
- [30] Kono K, Ikui AE. A new cell cycle checkpoint that senses plasma membrane/cell wall damage in budding yeast. *BioEssays*, 2017, 39(4): 1600210.
- [31] Jendretzki A, Wittland J, Wilk S, et al. How do I begin? Sensing extracellular stress to maintain yeast cell wall integrity. *Eur J Cell Biol*, 2011, 90(9): 740–744.
- [32] Yang G. The function of *FKS* family genes on the yeast cells morphology and anti-autolytic ability[D]. Wuxi: Jiangnan University, 2017 (in Chinese).  
杨歌. *FKS* 家族基因对酵母细胞形态及抗自溶性能的作用[D]. 无锡: 江南大学, 2017.
- [33] Xu WN, Wang JJ, Li Q. Microarray studies on lager brewer's yeasts reveal cell status in the process of autolysis. *FEMS Yeast Res*, 2014, 14(5): 714–728.
- [34] Arroyo J, Bermejo C, García R, et al. Genomics in the detection of damage in microbial systems: cell wall stress in yeast. *Clin Microbiol Infect*, 2009, 15(S1): 44–46.
- [35] Xu WN, Wang JJ, Li Q. Comparative proteome and transcriptome analysis of lager brewer's yeast in the autolysis process. *FEMS Yeast Res*, 2014, 14(8): 1273–1285.
- [36] Bühligen F, Rüdinger P, Fetzer I, et al. Sustainability of industrial yeast serial repitching practice studied by gene expression and correlation analysis. *J Biotechnol*, 2013, 168(4): 718–728.
- [37] Dunayevich P, Baltanás R, Clemente JA, et al. Heat-stress triggers MAPK crosstalk to turn on the hyperosmotic response pathway. *Sci Rep*, 2018, 8: 15168.
- [38] Winkler A, Arkind C, Mattison CP, et al. Heat stress activates the yeast high-osmolarity glycerol mitogen-activated protein kinase pathway, and protein tyrosine phosphatases are essential under heat stress. *Eukar Cell*, 2002, 1(2): 163–173.
- [39] Levin DE. Cell wall integrity signaling in *Saccharomyces cerevisiae*. *Microbiol Mol Biol Rev*, 2005, 69(2): 262–291.
- [40] Hahnazari E, Heyer WD. The Hog1 MAP kinase pathway and the Mec1 DNA damage checkpoint pathway independently control the cellular responses to hydrogen peroxide. *DNA Repair*, 2004, 3(7): 769–776.
- [41] Bermejo C, Rodríguez E, García R, et al. The sequential activation of the yeast HOG and SLT2 pathways is required for cell survival to cell wall stress. *Mol Biol Cell*, 2008, 19(3): 1113–1124.
- [42] Rodríguez-Peña JM, García R, Nombela C, et al. The high-osmolarity glycerol (HOG) and cell wall integrity (CWI) signalling pathways interplay: a yeast dialogue between MAPK routes. *Yeast*, 2010, 27(8): 495–502.

(本文责编 陈宏宇)