

遗传育种与生物合成

竹黄菌CGMCC 2201生产竹红菌素发酵培养基的优化

卜光明¹ 杨海龙²

(1 浙江瑞邦药业股份有限公司, 温州 325000; 2 温州大学生命与环境科学学院, 温州 325035)

摘要: **目的** 优化竹黄菌CGMCC 2201发酵培养基提高竹红菌素产量。**方法** 采用单因素试验确定培养基关键因素, 利用中心组合设计与响应面分析法获得关键因素的最佳浓度, 结合植物油添加试验, 获得最优发酵培养基配方。**结果** 葡萄糖、硫酸铵、磷酸二氢钾、硫酸镁是发酵培养基中的关键因素。最优发酵培养基配方(g/L): 葡萄糖47.33, 硫酸铵2.14, 磷酸二氢钾2.87, 硫酸镁1.68, 豆油10。采用此发酵培养基的竹红菌素产量达257.66mg/L, 与优化前培养基相比, 提高了141.25%。**结论** 培养基是影响竹黄菌CGMCC 2201生物合成竹红菌素的重要因素, 发酵培养基优化后显著提高了竹红菌素的发酵产量。

关键词: 竹黄菌; 竹红菌素; 发酵培养基; 优化; 响应面法

中图分类号: Q815 **文献标志码:** A

Optimization of fermentation media for hypocrellin production by *Shiraia bambusicola* CGMCC 2201

Bu Guang-ming¹ and Yang Hai-long²

(1 Zhejiang Ruibang Pharmaceutical Co., Ltd., Wenzhou 325000;

2 School of Life & Environmental Science, Wenzhou University, Wenzhou 325035)

Abstract **Objective** To enhance the hypocrellin production by optimizing the fermentation media of *Shiraia bambusicola* CGMCC 2201. **Methods** The key components of fermentation media were firstly determined by one-factor-at-a-time experiment, and then the concentrations of key components were optimized by the central composite design and the response surface analysis. Moreover, the effects of plant oils on the hypocrellin biosynthesis were also investigated to obtain the optimal fermentation medium formula for hypocrellin production by submerged culture of *S. bambusicola* CGMCC 2201. **Results** Four key components of fermentation media were selected, which were glucose, ammonium sulfate, potassium dihydrogen phosphate, and magnesium sulfate, and soybean oil significantly enhanced the biosynthesis of hypocrellin. The components of the optimized fermentation media (g/L) were: glucose 47.33, ammonium sulfate 2.14, potassium dihydrogen phosphate 2.87, magnesium sulfate 1.68, and soybean oil 10. The hypocrellin yield reached 257.66mg/L in the optimal media, 141.25% higher than that in the initial media. **Conclusion** Media components were the important factors in the biosynthesis of hypocrellin in *S. bambusicola* CGMCC 2201, and the hypocrellin production was significantly increased by the optimization of fermentation media.

Key words *Shiraia bambusicola*; Hypocrellin; Fermentation media; Optimization; Response surface methodology

收稿日期: 2020-06-16

作者简介: 卜光明, 男, 生于1967年, 学士, 高级工程师。E-mail: ruibang@163.com

竹红菌素(hypocrellin)是一类从竹黄菌(*Shiraia bambusicola*)和竹红菌(*Hypocrella bambusae*)子座分离获得的天然花醌色素^[1],具有三重态量子产率和单重态氧量子产率高、光毒性强、暗毒性低、从正常组织中排出速度快等优点。竹红菌素及其衍生物^[2]能促使HeLa细胞^[3]、黑色素瘤细胞A375-S2^[4]、鼻咽癌细胞TW0-1^[5]、人肺腺癌细胞549^[6]、鳞状上皮癌细胞A431^[7]等肿瘤细胞发生凋亡或坏死,杀灭大肠埃希菌(*Escherichia coli*)、白念珠菌(*Candida albicans*)、铜绿假单胞菌(*Pseudomonas aeruginosa*)等致病菌^[8]。临床上作为光敏药物用于治疗风湿性关节炎、类风湿性关节炎、皮肤病等疾病,并在预防和治疗癌症、心血管疾病等方面也具有巨大的药用潜力^[9]。

竹黄菌和竹红菌子座的资源有限,生物发酵法是大量生产竹红菌素的重要途径,Cai等^[10]分离获得了菌株*Shiraia* sp. SUPER-H168,经固态发酵竹红菌素产率为2.02~4.71mg/g,但固态发酵周期较长,而液体发酵效率高,易于大规模工业化生产^[11],我们前期从竹黄菌子座筛选获得产竹红菌素较好的优良菌株,本研究通过响应面优化其发酵条件,旨在为实现竹红菌素的发酵生产提供基础。

1 材料与方法

1.1 供试菌株

竹黄菌*Shiraia bambusicola* CGMCC 2201,由本研究团队筛选保藏于中国普通微生物菌种保藏管理中心。

1.2 主要试剂和仪器

竹红菌甲素(>95%)由本研究团队从竹黄菌子座分离制备;葡萄糖、酪蛋白、 MgSO_4 、 KH_2PO_4 、 NaCl 、丙酮等试剂均购买于国药集团化学试剂有限公司。

VS-840K-U超净工作台,苏州安泰空气技术有限公司;LDZX-40SBI立式自动电热蒸汽灭菌器,上海申安医疗器械厂;LRH-250H生化培养箱,广东医疗器械厂;ZHWY-2112B全温振荡培养箱,上海智城分析仪器制造有限公司;TU-1810紫外可见分光光度计,北京普析通用仪器有限责任公司。

1.3 培养基与发酵条件

1.3.1 基础培养基(g/L)

葡萄糖 30, $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 3, K_2HPO_4 1.0, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.5, KCl 0.5。

1.3.2 菌种的活化

配制PDA平皿培养基,接种,在25℃恒温培养箱中培养5d。

1.3.3 发酵培养

于500mL的三角瓶中加入100mL培养基,培养基成分根据试验设计配制。从活化菌种平板上以自制菌种打孔器取 $0.3 \times 0.3\text{cm}^2$ 的菌丝体接入三角瓶培养基中,在旋转式摇床上25℃, 180r/min培养5d。

1.4 生物量的测定

发酵结束后,于4000r/min离心20min,沉淀用蒸馏水洗涤两次,置于已称重的小烧杯中,放入温度设定为60℃的烘箱中烘至恒重后称重,计算出烧杯的差值,即竹黄菌的生物量。

1.5 竹红菌素浓度分析

将发酵液离心取一定量的菌丝体,加入6mol/L HCl溶液后振荡混匀,再放置于60℃的水浴中水解1h;水解后离心,取沉淀,再加入一定量的丙酮后振荡混匀,提取竹红菌素60min,离心取提取液,重复两次,合并丙酮提取液,适当稀释后于465nm测定吸光值,根据标准曲线计算竹红菌素含量^[11]。

1.6 培养基优化单因素试验

碳源影响试验:采用基础培养基,用浓度为3.0%的葡萄糖、乳糖、麦芽糖、蔗糖、甘露醇、木糖、果糖分别替代基础培养基中的葡萄糖,按照1.3.3项的方法进行发酵培养,测定每种碳源对竹红菌素发酵的影响,选择最佳碳源。同时为确定竹黄菌发酵产竹红菌素的最佳碳源的浓度,以 K_2HPO_4 0.1%, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.05%, KCl 0.05%, $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 0.3%为基础培养基,分别添加1%, 2%, 3%, 4%, 5%, 6%的碳源,发酵5d后测定竹红菌素含量,以确定最佳碳源浓度。

氮源影响试验:采用基础培养基,用浓度为0.3%的酵母膏、蛋白胨、酪蛋白、尿素、硫酸铵、硝酸钠、硝酸铵分别替代基础培养基中的硫酸铵,按照“1.3.3”项的方法进行发酵培养,测定每种氮源对竹红菌素发酵的影响,选择最佳氮源。同时为确定竹黄菌发酵产竹红菌素的最佳氮源浓度,以葡萄糖4.0%, K_2HPO_4 0.1%, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.05%, KCl 0.05%为基础培养基,分别加入0.1%, 0.2%, 0.3%, 0.4%, 0.5%和0.6%的氮源,发酵5d后测定竹红菌素含量,以确定最佳氮源浓度。

无机盐影响试验:以葡萄糖4.0%, K_2HPO_4 0.05%, $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 0.2%为基础培养基,分别加入

0.05%的 $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 、 KCl 、 NaCl 、 $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 、 NaH_2PO_4 、 KH_2PO_4 、 $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 、 $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ 、 MnSO_4 、 $\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 、 NaMoO_4 、 CaCl_2 和 H_3BO_3 ，按照1.3.3项的方法进行发酵培养，测定每种无机盐对竹红菌素含量的影响，选择最优无机盐。

1.7 响应面法优化发酵培养基

采用中心组合设计(central composite design, CCD)。变量为葡萄糖浓度(2.0%~6.0%)， $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 浓度(0.1%~0.4%)， KH_2PO_4 浓度(0.1%~0.4%)， MgSO_4 浓度(0.05%~0.25%)，每个变量设5个水平：-2，-1，0，1，2(表1)。中心组合旋转设计见表2，用标准多项式回归方法对实验数据进行拟合，得到二次多项式方程。该方程为描述响应变量(因变量)与自变量的经验模型。对于4个变量的系统，模型可表达为：

$$Y = a_0 + a_1x_1 + a_2x_2 + a_3x_3 + a_4x_4 + a_{11}x_1^2 + a_{12}x_1x_2 + a_{13}x_1x_3 + a_{14}x_1x_4 + a_{22}x_2^2 + a_{23}x_2x_3 + a_{24}x_2x_4 + a_{33}x_3^2 + a_{34}x_3x_4 + a_{44}x_4^2 \quad (1)$$

式中 a_0 为截距， a_1 、 a_2 、 a_3 、 a_4 为线性系数， a_{11} 、 a_{22} 、 a_{33} 、 a_{44} 为平方系数， a_{12} 、 a_{13} 、 a_{14} 、 a_{23} 、 a_{24} 、 a_{34} 为交叉项系数。对此方程所代表的面进行分析，可以推测出最优条件。统计分析以SAS/Statistic Version 8.0进行，用Student *t*检验测试回归系数的显著性，多项式模型方程拟合的性质由相关系数 R^2 及方差分析判定，其统计学上的显著性由*F*检验确定。

1.8 植物油对竹红菌素产量的影响

在响应面优化后的发酵培养基中分别添加0.1%、0.25%、0.5%和1.0%的植物油，每个浓度设3个平行重复，试验的植物油包括豆油、芝麻油、玉米油、橄榄油。按照“1.3.3”项的方法进行发酵培养，测定每种植物油对竹红菌素含量的影响。

2 结果与讨论

2.1 碳源对竹红菌素发酵产量的影响

碳源影响试验结果表明，葡萄糖为碳源时竹红菌素的产量达162.80mg/L，效果最佳。而采用蔗

糖、果糖、木糖、甘露醇、麦芽糖作为碳源时的竹红菌素产量依次为129.02，120.71，110.06，48.40和25.11mg/L。不同碳源对竹黄菌的生长及竹红菌素发酵产量的影响程度不同，菌体生物量与竹红菌素产量之间不呈明显正相关，如采用蔗糖为碳源时的生物量最大(11.65g/L)，但竹红菌素产量(129.02mg/L)低于葡萄糖作为碳源。本试验中麦芽糖对菌体生物量和竹红菌素产量的影响效果不佳，与石贵阳等^[12]和李达旭等^[13]的研究结果认为麦芽糖是竹黄菌发酵最佳碳源的结论不一致，可能是不同菌株代谢利用麦芽糖的能力差异所致。

葡萄糖浓度对竹红菌素发酵产量的影响结果显示，培养基中分别添加1%，2%，3%，4%，5%和

表2 中心组合设计及结果

试验序号	x_1	x_2	x_3	x_4	竹红菌素产量(mg/L)
1	-1	-1	-1	-1	159.49
2	1	-1	-1	-1	219.06
3	-1	1	-1	-1	132.98
4	1	1	-1	-1	212.41
5	-1	-1	1	-1	159.04
6	1	-1	1	-1	202.05
7	-1	1	1	-1	157.41
8	1	1	1	-1	206.30
9	-1	-1	-1	1	186.59
10	1	-1	-1	1	221.62
11	-1	1	-1	1	178.42
12	1	1	-1	1	219.92
13	-1	-1	1	1	179.23
14	1	-1	1	1	184.07
15	-1	1	1	1	181.60
16	1	1	1	1	180.87
17	-2	0	0	0	138.84
18	2	0	0	0	187.99
19	0	-2	0	0	192.98
20	0	2	0	0	133.99
21	0	0	-2	0	205.15
22	0	0	2	0	221.34
23	0	0	0	-2	157.75
24	0	0	0	2	198.31
25	0	0	0	0	192.99
26	0	0	0	0	206.75
27	0	0	0	0	188.26
28	0	0	0	0	192.02
29	0	0	0	0	190.87
30	0	0	0	0	202.73

表1 中心组合设计的试验因素及水平

因素	编码	水平(g/L)				
		-2	-1	0	+1	+2
葡萄糖	x_1	2.0	3.0	4.0	5.0	6.0
硫酸铵	x_2	0.1	0.175	0.25	0.325	0.4
磷酸二氢钾	x_3	0.1	0.175	0.25	0.325	0.4
硫酸镁	x_4	0.05	0.1	0.15	0.2	0.25

6%的葡萄糖时,其发酵竹红菌素含量依次为34.71, 48.91, 162.77, 185.17, 160.01和148.73mg/L,葡萄糖浓度为4%竹红菌素产量最大。

2.2 氮源对竹红菌素发酵产量的影响

氮源影响试验结果表明,硫酸铵为氮源时竹红菌素的产量达163.06mg/L,效果最佳。而采用酪蛋白、蛋白胨、酵母膏、硝酸铵、硝酸钠、尿素作为氮源时的竹红菌素产量依次为153.92, 97.17, 63.98, 28.40, 18.75和5.85mg/L。

硫酸铵浓度对竹红菌素发酵产量的影响结果显示,培养基中分别添加0.1%, 0.2%, 0.3%, 0.4%, 0.5%和0.6%的硫酸铵时,其发酵竹红菌素含量依次为144.47, 201.56, 172.71, 58.52, 50.78和58.04mg/L,硫酸铵浓度为0.2%时竹红菌素产量最大。

2.3 无机盐对竹红菌素发酵产量的影响

无机盐影响试验结果表明,在所试验的13种无机盐中,只有硫酸镁和磷酸二氢钾可促进竹黄菌合成竹红菌素,产量分别为150.53和167.67mg/L。

发酵培养基中若缺失硫酸镁,即使加入其它无机盐,竹黄菌在发酵时只长菌体,合成竹红菌素的能力很差,可能 Mg^{2+} 是竹红菌素合成过程中关键酶的重要辅助因子。 Mg^{2+} 浓度对竹红菌素合成的影响结果显示,培养基中分别添加0.025%, 0.05%, 0.1%和0.2%硫酸镁时,其发酵竹红菌素含量依次为127.38, 137.15, 148.92和143.91mg/L,最佳硫酸镁浓度为0.1%~0.2%。

以葡萄糖4.0%, $MgSO_4$ 0.1%, $(NH_4)_2SO_4$ 0.2%为基础培养基,分别添加0.05%, 0.1%, 0.15%, 0.2%和0.3%磷酸二氢钾,试验磷酸二氢钾浓度对竹红菌素合成的影响,结果显示,竹红菌素含量依次为183.04, 198.82, 207.07, 223.42和211.38mg/L,最佳磷酸二氢钾浓度为0.2%~0.3%。

2.4 响应面法优化发酵培养基

为考察碳源(葡萄糖)、氮源(硫酸铵)和无机盐(磷酸二氢钾、硫酸镁)对竹黄菌发酵生产竹红菌素的影响,采用中心组合设计试验,结果见表2,将实验数据与竹红菌素产量进行回归分析,得到二阶多项式方程为:

$$\begin{aligned} Y = & 195.60 + 17.08x_1 - 6.63x_2 - 1.98x_3 \\ & + 6.86x_4 - 6.92x_1^2 + 1.67x_1x_2 - 7.47x_1x_3 \\ & - 9.39x_1x_4 - 6.90x_2^2 + 2.80x_2x_3 + 1.24x_2x_4 \\ & + 5.54x_3^2 - 5.10x_3x_4 - 3.26x_4^2 \end{aligned} \quad (2)$$

其中 Y 为竹红菌素产量, x_1 、 x_2 、 x_3 和 x_4 分别为葡萄糖、硫酸铵、磷酸二氢钾、硫酸镁的编码。

对方程(2)进行方差分析的结果(表3)表明, $P=0.0002$,失拟项差异不显著,相关系数 $R^2=0.8748$,说明回归具有统计学意义,此模型拟合充分,适用于竹红菌素的发酵培养基成分浓度的优化预测。

对方程的系数的显著性检测结果(表4)表明,葡萄糖(x_1)、硫酸铵(x_2)和硫酸镁(x_4)的浓度与竹红菌素产量显著相关,同时,葡萄糖(x_1)与磷酸二氢钾(x_3)、葡萄糖(x_1)与硫酸镁(x_4)存在显著的交互作用。

在发酵培养基中硫酸铵(x_2)和硫酸镁(x_4)浓度保持固定的情况下,葡萄糖(x_1)和磷酸二氢钾(x_3)对竹红菌素产量影响的三维响应面图(图1)显示,当磷酸二氢钾(x_3)浓度较低时,随着葡萄糖添加量的增加竹红菌素产量亦增加;而在葡萄糖较低浓度时,提高磷酸二氢钾的浓度也有利于提高竹红菌素的产量;葡萄

表3 竹红菌素发酵二次多项式模型方差分析表
Tab. 3 ANOVA for the fitted quadratic polynomial model of hypocrellin

	平方和	自由度	均方	F值	P值
模型	16146	14	1152.28	7.48	0.0002
失拟项	2040.64	10	204.06	3.76	0.0782
误差项	271.04	5	54.21		
残差总和	2311.68	15	154.11		

$R=0.9353$, $R^2=0.8748$

表4 竹红菌素二次多项式模型方程系数及显著性检验
Tab. 4 Regression coefficients and their significance for the hypocrellin model

模型系数项	系数估计值	标准差	t值	P值
常数	195.60	5.068	38.60	<0.0001
a_1	17.08	2.534	6.74	<0.0001
a_2	-6.63	2.534	-2.62	0.0194
a_3	-1.98	2.534	-0.78	0.4466
a_4	6.86	2.534	2.71	0.0162
a_{11}	-6.92	2.370	-2.92	0.0106
a_{12}	1.67	3.104	0.54	0.5995
a_{13}	-7.47	3.104	-2.41	0.0294
a_{14}	-9.39	3.104	-3.03	0.0085
a_{22}	-6.90	2.370	-2.91	0.0107
a_{23}	2.80	3.104	0.90	0.3810
a_{24}	1.24	3.104	0.40	0.6951
a_{33}	5.54	2.370	2.34	0.0387
a_{34}	-5.10	3.104	-1.64	0.1209
a_{44}	-3.26	2.370	-1.38	0.1886

糖和磷酸二氢钾两因素的浓度同时增加或减少时,均不利于提高竹红菌素的产量。

在发酵培养基中硫酸铵(x_2)和磷酸二氢钾(x_3)浓度保持固定的情况下,葡萄糖(x_1)和硫酸镁(x_4)对竹红菌素产量影响的三维响应面图(图2)显示,当硫酸镁(x_4)浓度较低时,随着葡萄糖添加量的增加竹红菌素产量亦增加;同样地,当葡萄糖(x_1)浓度较低时,随着硫酸镁添加量的增加竹红菌素产量也增加,但是,同时提高葡萄糖和硫酸镁两因素的浓度不利于提高竹红菌素的产量。

2.5 最优发酵培养基的确定

利用SAS/Statistic Version 8.0软件对统计模型和回归方程进行分析计算,得到优化培养基成分浓度为:葡萄糖(x_1)为47.33g/L,硫酸铵(x_2)为2.14g/L,磷

酸二氢钾(x_3)为2.87g/L,硫酸镁(x_4)为1.68g/L。

将最优条件下的实验结果与预测最高值进行比较,以确定模型的有效性。10组验证实验得到竹红菌素平均产量为209.52mg/L,与预测值204.63mg/L基本吻合,证明此模型是合适有效的。

2.6 植物油对竹红菌素发酵生产的影响

植物油添加试验结果(表5)表明,芝麻油对竹黄菌深层发酵生产竹红菌素具有一定的抑制作用,随着添加量的增加对竹红菌素的抑制作用也增强。添加低浓度的橄榄油(<0.25%)对竹红菌素的合成有促进作用,但添加量过高(>0.5%),则对竹红菌素的合成有抑制作用。豆油和玉米油在竹黄深层发酵中对竹红菌素的产生有明显的促进效果,以添加1.0%豆油时的促进效果最好,竹红菌素含量达257.66mg/L。

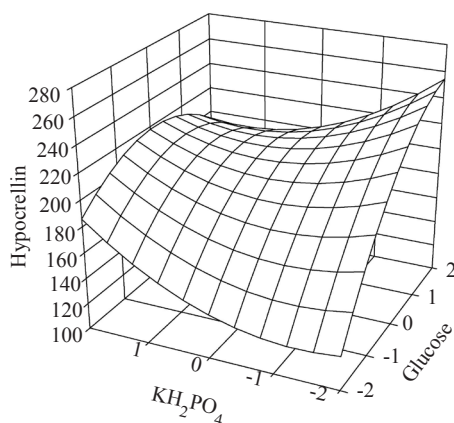


图1 葡萄糖(x_1)和 KH_2PO_4 (x_3)对竹红菌素产量影响的响应面图

Fig. 1 Response surfaces showing the effect of glucose and KH_2PO_4 concentration on the hypocrellin production

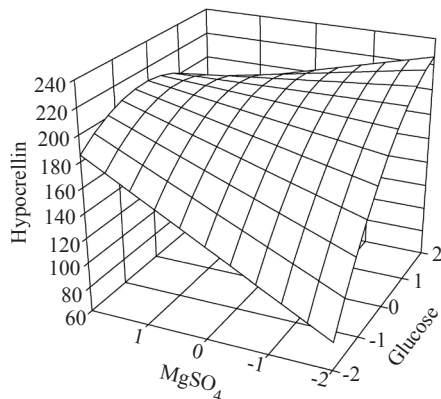


图2 葡萄糖(x_1)和 MgSO_4 (x_4)对竹红菌素产量影响的响应面图

Fig. 2 Response surfaces showing the effect of glucose and MgSO_4 concentration on the hypocrellin production

表5 植物油对竹红菌素生产的影响

Tab. 5 Effects of plant oil on the hypocrellin production

植物油	添加量(% V/V)	菌体量(g/L)	最终pH	竹红菌素(mg/L)
对照	0	10.84	1.74	202.55
豆油	0.1	11.15	1.76	204.37
豆油	0.25	10.95	1.79	199.75
豆油	0.5	10.55	1.78	218.95
豆油	1.0	10.47	1.80	257.66
芝麻油	0.1	10.05	1.79	184.23
芝麻油	0.25	10.10	1.79	169.74
芝麻油	0.5	10.23	1.74	132.56
芝麻油	1.0	10.44	1.75	97.89
玉米油	0.1	9.65	1.77	196.43
玉米油	0.25	10.67	1.76	219.57
玉米油	0.5	9.17	1.79	236.92
玉米油	1.0	9.75	1.78	210.59
橄榄油	0.1	10.84	1.74	215.79
橄榄油	0.25	8.56	1.77	208.96
橄榄油	0.5	9.78	1.76	144.27
橄榄油	1.0	8.85	1.77	88.71

3 结论

经单因素试验,确定葡萄糖、硫酸铵、磷酸二氢钾和硫酸镁是竹黄菌CGMCC 2201发酵生产竹红菌素培养基中的关键成分。经响应面法优化和植物油添加试验,确定最优发酵培养基配方(g/L):葡萄糖47.33,硫酸铵2.14,磷酸二氢钾2.87,硫酸镁1.68,豆油10。采用此发酵培养基可使竹红菌素产量达257.66mg/L,较优化前的106.80mg/L提高了141.25%。

参考文献

- [1] Kishi T, Tahara S, Taniguchi N, *et al.* New perylenequinones from *Shiraia bambusicola*[J]. *Planta Med*, 1991, 57: 376-379.
- [2] 徐尚杰, 张晓星, 陈申, 等. 新型光动力药物—竹红菌素衍生物的研究与进展[J]. *科学通报*, 2003, 48(10): 1005-1014.
- [3] Yang H Y, Wu T, Zhang M H, *et al.* A novel photosensitizer, 2-butylamino-2-demethoxy-hypocrellin B(2-BA-2-DMHB)-its photodynamic effects on HeLa cells: efficacy and apoptosis[J]. *Bba-Mol Cell Res*, 2001, 1540: 22-31
- [4] 陈洁, 藤利荣, 郑克岩, 等. 竹红菌甲素诱导人黑色素瘤(A375-S2)细胞死亡的分子机制[J]. *中国药理学杂志*, 2005, 40(6): 431-434.
- [5] Ali S M, Chee S K, Yuen G Y, *et al.* Hypericin and hypocrellin induced apoptosis in human mucosal carcinoma cells[J]. *J Photoch Photobio B*, 2001, 65: 59-73
- [6] Qi S, Guo L, Yan S, *et al.* Hypocrellin A-based photodynamic action induces apoptosis in A549 cells through ROS-mediated mitochondrial signaling pathway[J]. *Acta Pharm Sin B*, 2019, 9(2): 279-293.
- [7] Niu T, Tian Y, Wang G, *et al.* Inhibition of ROS-NF- κ B-dependent autophagy enhances hypocrellin A united LED red light-induced apoptosis in squamous carcinoma A431 cells[J]. *Cell Signal*, 2020, 69: 109550.
- [8] Jan A, Liu C, Deng H, *et al.* *In vitro* photodynamic inactivation effects of hypocrellin B on azole-sensitive and resistant *Candida albicans*[J]. *Photodiagn Photodyn*, 2019, 27: 419-427.
- [9] 赵宁, 陈双林. 竹黄遗传多样性与竹红菌素合成和抗癌作用的研究进展[J]. *生物技术通报*, 2018, 34(4): 16-23.
- [10] Cai Y J, Liang X H, Liao X R, *et al.* High-yield hypocrellin A production in solid-state fermentation by *Shiraia* sp. SUPER-H168[J]. *Appl Biochem Biotech*, 2010, 160: 2275-2286.
- [11] Yang H L, Xiao C X, Ma W X, *et al.* The production of hypocrellin colorants by submerged cultivation of the medicinal fungus *Shiraia bambusicola*[J]. *Dyes Pigments*, 2009, 82(2): 142-146.
- [12] 石贵阳, 张大兵, 楼志华, 等. 竹黄菌液体培养条件下生成竹红菌素的研究[J]. *药物生物技术*, 2004, 11(5): 299-301.
- [13] 李达旭, 赵建, 何颖, 等. 一种竹寄生真菌的分离鉴定及其有效成分发酵的初步研究[J]. *四川大学学报(自然科学版)*, 2003, 40(1): 139-143.