

植物糖原与真菌糖原的精细结构比较分析

李恩鹏¹, 李桐¹, 丁振¹, 李松南^{1,2*}

(1.扬州大学农学院, 植物功能基因组学教育部重点实验室, 江苏省作物基因组学和分子育种重点实验室, 江苏扬州 225009) (2.扬州大学农业科技发展研究院, 教育部农业与农产品安全国际合作联合实验室, 江苏扬州 225009)

摘要: 植物糖原和真菌糖原存在于植物突变体和真菌细胞中, 与其生长发育、代谢途径和应激响应等生理过程紧密相关。该研究通过体积排阻色谱、荧光辅助碳水化合物电泳和透射电子显微镜分别对3种植物糖原和4种真菌糖原的精细结构进行比较分析。研究发现, 植物糖原呈现单峰(10~20 nm)的全分子分布, 而真菌糖原主要呈现双峰(10~20 nm和>40 nm)的全分子分布。与植物糖原(4.4~6.9 DP)相比, 真菌糖原的平均链长(8.7~10.4 DP)更高。植物糖原和真菌糖原均呈现花椰菜状, 植物糖原以 β 颗粒(10~20 nm)为主, 而真菌糖原则同时存在 α 颗粒(50~180 nm)和 β 颗粒。该结果表明真菌拥有可以作为储能物质的大分子糖原, 也有能够快速释放能量的小分子糖原; 而在突变体植物只存在不稳定的小分子植物糖原。这项研究可以帮助理解植物糖原和真菌糖原在生物学功能上的差异以及在生物演化历程中的进化关系。

关键词: 植物糖原; 真菌糖原; 分子分布; 链长分布; 透射电镜

文章编号: 1673-9078(2024)10-26-31

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2024.10.1280

Comparative Analysis of Fine Structures for Phytoglycogen and Fungal Glycogen

LI Enpeng¹, LI Tong¹, DING Zhen¹, LI Songnan^{1,2*}

(1.Agricultural College of Yangzhou University, Key Laboratory of Plant Functional Genomics of the Ministry of Education, Jiangsu Key Laboratory of Crop Genomics and Molecular Breeding, Yangzhou 225009, China) (2.Institutes of Agricultural Science and Technology Development of Yangzhou University, Joint International Research Laboratory of Agriculture and Agri-product Safety of the Ministry of Education of China, Yangzhou 225009, China)

Abstract: Phytoglycogen and fungal glycogen exist in mutant plants and fungi, respectively, and they are closely related to physiological processes, such as growth and development, metabolic pathways, and the stress response. A comparative analysis was conducted on the fine structures of three types of phytoglycogen and four types of fungal glycogen using size-exclusion chromatography, fluorescence-assisted carbohydrate electrophoresis, and transmission electron microscopy. The results showed that phytoglycogen exhibited a unimodal (10~20 nm) full molecular distribution, while

引文格式:

李恩鹏,李桐,丁振,等.植物糖原与真菌糖原的精细结构比较分析[J].现代食品科技,2024,40(10):26-31.

LI Enpeng, LI Tong, DING Zhen, et al. Comparative analysis of fine structures for phytoglycogen and fungal glycogen [J]. Modern Food Science and Technology, 2024, 40(10): 26-31.

收稿日期: 2024-03-29

基金项目: 江苏省自然科学基金项目(BK20220585); 扬州市重点研发计划(社会发展)项目(YZ2022076); 扬州市“绿扬金凤计划”优秀博士项目(YZLYJFJH2021YXBS172); 扬州大学“青蓝工程”优秀青年骨干教师培养对象项目(137050543)

作者简介: 李恩鹏(1985-), 男, 博士, 讲师, 研究方向: 谷物淀粉营养品质, E-mail: lep@yzu.edu.cn

通讯作者: 李松南(1993-), 男, 博士, 助理研究员, 研究方向: 功能碳水化合物, E-mail: lsnyz2020@yzu.edu.cn

fungal glycogen mainly presented a bimodal (10~20 nm and >40 nm) full molecular distribution. Fungal glycogen had a higher average chain length (8.7~10.4 DP) than phytoglycogen (4.4~6.9 DP). Both phytoglycogen and fungal glycogen exhibited a cauliflower-like morphology. Phytoglycogen was mainly composed of β particles (10~20 nm), whereas fungal glycogen contained both α particles (50~180 nm) and β particles. These results showed that fungi not only have large glycogen molecules that act as storage materials, but also small glycogen molecules that can quickly release energy; however, plant mutants only have small, unstable phytoglycogen molecules. The findings of this study will help our understanding of the differences in biological functions and evolutionary relationships between phytoglycogen and fungal glycogen.

Key words: phytoglycogen; fungal glycogen; molecular distribution; chain length distribution; TEM

在过去的几十年间,随着分子生物学和生物化学技术的不断进步,人们已经逐渐了解糖原的精细结构、生物合成与代谢调控的分子机制,揭示了糖原合成酶和糖原分支酶的调控机制^[1,2]。植物糖原是一种高度分支的可溶性葡聚糖,一般存在于淀粉脱分支酶功能缺陷的植物中,如甜玉米、甜高粱、生香蕉等。植物糖原还在植物的生长发育、胁迫应答等生理过程中起着关键作用^[3-5]。植物糖原的合成和分解途径对植物的生长发育和逆境适应具有重要意义。一些最新的研究表明,在环境应激下,植物能够调节植物糖原合成和降解途径,以适应不同的生长条件和胁迫因素^[6]。此外,植物糖原还与植物的抗病性和耐逆性密切相关;研究表明提高植物糖原水平可以增强植物对病原菌和逆境胁迫的抵抗能力^[7,8]。这为未来改良作物品质、增强作物抗逆性提供了新的研究思路和方法。

真菌糖原则是大多数真菌的主要储能物质。植物糖原和真菌糖原参与了调控植物和真菌生长发育、代谢途径和应激响应等生理过程^[3-5,9-13],它们的精细结构在一定程度上反映了这些生理过程。相较于植物糖原而言,真菌糖原的相关研究更少。但是通过生化和分子生物学技术,人们依旧对真菌糖原的生物合成途径和降解途径进行了深入探究,揭示了涉及的酶、底物和反应步骤,发现了参与糖原降解的酶系和相关代谢途径^[14-17]。这些研究不仅有助于理解真菌细胞内糖原合成的调控机制和糖原降解的分子机制,还为物质转化和生物能源利用提供了重要参考,为探索调控策略和生物技术应用提供了新思路。此外,由于真菌糖原在调控真菌生长、代谢途径和应激响应等生理过程的参与,其在某些疾病的发生和发展中可能起着重要作用^[9-12]。

目前关于植物糖原和真菌糖原精细结构之间差别的研究非常少。通过比较两者的精细结构,可以

深入了解它们在植物和真菌细胞内的具体功能以及在生理过程中的生物学意义,两者结构的差异可能解释了它们在不同生物体内的功能表现和适应性。这有助于揭示它们在生物进化过程中的进化历史和分化路径,可以为人们了解植物和真菌的演化关系提供线索,以及为它们在生态系统中角色的形成和差异提供解释。同时,两者精细结构的比较有助于探讨植物糖原和真菌糖原通过不同结构在生态环境中的适应性和生存策略,可以帮助理解植物和真菌在不同生态位中的演化和生态适应性,在深入理解植物和真菌的生物学特性、进化适应性以及在生态系统中的角色和功能等方面有着重要的科学意义和应用前景。

1 材料与方法

1.1 实验材料

该研究分别选取了一组水稻突变体品种 R-M3,收获于 2023 年扬州大学试验田;两组玉米突变体品种: M-M114 和 M-M3,同样收获于 2023 年扬州大学试验田。将新鲜的水稻籽粒通过脱粒机(model SY88-YJ, Korea)去除麸皮获得糙米,接着采用精米机(Kett, Yokyo, Japan)打磨 1 min 获得精米。R-M3 中植物糖原含量较高,籽粒偏软,仅去除稃皮。将水稻突变体籽粒放入液氮中冷冻,然后通过冷冻研磨机进行冷冻研磨,获得相应的水稻粉末。玉米籽粒水分含量相对较低,直接将其放入液氮中冷冻,然后通过冷冻研磨机进行冷冻研磨,获得相应的玉米粉末。两种作物的粉末均放置在 -20 °C 的冰箱内冷冻干燥长期保存。

真菌样品为四种蘑菇样品,分别是白玉菇(Shimeji Mushroom, SM)、金针菇(Enoki Mushroom, EM)、双孢菇(Button Mushroom, BM)、香菇(Shiitake Mushroom, STM)。所有蘑菇均购买自扬州市市场,且

为当天采摘的新鲜蘑菇，以尽可能减少糖原的损耗。由于蘑菇本身的含水量极高、易于腐败，且细胞内可能时刻存在着糖原降解的问题，因此，刚获得的新鲜蘑菇应立即进行冻干、研磨、低温保存等处理，从而阻止蘑菇本身代谢作用对糖原的降解。将新鲜蘑菇冲洗干净后，擦净表面水分，将其剪切成小块，放入液氮中冷冻，然后放进冻干机 3~4 d 以去除所有水分。冻干后的蘑菇通过冷冻研磨机进行冷冻研磨，获得相应的蘑菇粉末，然后在 -20 °C 的冰箱内冷冻干燥长期保存。相较于完整的蘑菇个体，蘑菇粉末不仅利于保存，还利于蘑菇内糖原的提取。低温研磨技术已被证明可以最大限度地减少葡聚糖聚合物的降解^[18,19]。

1.2 蔗糖密度梯度超速离心法

称取 1 g 干蘑菇粉，向试管中加入 10 mL 糖原分离缓冲液（50 mmol/L Tris、pH 值 8、150 mmol/L NaCl、2 mmol/L EDTA、50 mmol/L NaF、5 mmol/L 焦磷酸钠），然后在 4 °C 下以 6 000×g 离心 10 min。保留上清液，然后在 4 °C 下以 360 000×g 离心 1.5 h。弃去上清液，将所得沉淀重悬于 2 mL 糖原分离缓冲液中。将 2 mL 悬浮液缓慢滴加到蔗糖梯度离心管中（滴加后可以看到三层，由下至上分别是 75% 蔗糖、37.5% 蔗糖、样品悬浮液），利用胶头滴管添加空白糖原提取缓冲液以配平。在 4 °C 下以 360 000×g 离心样品 2 h 后，弃去上清液。将所得沉淀悬浮在 400 μL 去离子水中。加入 1.6 mL 乙醇以沉淀糖原。样品放于 4 °C 冰箱内一夜以帮助糖原沉淀，在 4 °C 下以 6 000×g 离心 10 min。弃去上清液，将沉淀物重新溶解在 400 μL 去离子水，冻干并称重。冻干后的样品，放于 -20 °C 冰箱保存。

1.3 体积排阻色谱法

将干燥的样品在 80 °C 的温度下，于 DMSO/LiBr 溶液中溶解 3 h。LiBr 的加入增加了溶液的离子强度，减少了糖原与色谱柱的相互作用。接下来，将样品添加到 Agilent 1260 Infinity SEC 系统（Agilent, Santa Clara, CA, USA），使用 SUPREMA 前柱，1 000 和 10 000 柱（Polymer Standards Services, Mainz, Germany），温度为 80 °C，流速为 0.3 mL/min。折射率检测器（Optilab UT-rEX, Wyatt, Santa Barbara, CA, USA）用于确定每个洗脱体积下分子的相对重量^[20]。以摩尔质量范围为 342~2.35×10⁶ Da 的普鲁士兰标准品（PSS）为基础，建立了 SEC 通用校准

曲线，将洗脱体积转换为 R_h （流体力学半径）。来自 DRI 检测器的数据可以表示为 SEC 权重分布 $w(\log R_h)$ 作为 R_h 的函数。

1.4 荧光辅助碳水化合物电泳法

链长分布反映了糖原分子中不同长度分支的相对数量，该结果可通过荧光辅助碳水化合物电泳法（FACE）分析获得^[21]。在 0.5 mg 冻干糖原样品中加入 90 μL 去离子水，80 °C 恒温震荡 10 min。待其冷却至室温后，加入 5.0 μL 醋酸钠缓冲液（0.1 mol/L，pH 值 3.5）、2.0 μL 异淀粉酶溶液（180 U/mg）和 1.0 μL 的 Proclin 溶液来去除糖原分支。在 37 °C 下孵育 3 h 后，加入 5.0 μL（0.1 mol/L）氢氧化钠溶液，将 pH 调高至 7.0。在 80 °C 恒温震荡 1 h 后，将溶液浸入液氮中并冷冻干燥 12 h。用 1.5 μL 8-氨基丙烷-1,3,6-三磺酸盐（APTS）溶液（5 mg APTS 加入 50 μL φ=15% 冰醋酸中）和 1.5 μL 四氢呋喃（Tetrahydrofuran, THF）标记糖原的脱分支链，在 60 °C 条件下黑暗孵育 1.5 h。加入 60 μL 去离子水溶解标记的糖原链。使用 PA-800 Plus FACE 系统（Beckman-Coulter, Brea, CA, USA），将该稀释液 50 μL 转移到 FACE 微瓶中进行分析。数据显示为每个聚合度（DP，符号 X）的脱分支链的相对数量（ $N_{de}(X)$ ）。

1.5 透射电子显微镜

将提取出的样品在 pH 值 7 的 50 mmol/L tris 缓冲盐水中以 1 mg/mL 的质量浓度重悬。然后将悬浮液稀释 10 倍，并应用于发光放电铜网格（400 目）上。在 2 min 后，用滤纸抽去多余的样品，用 2~3 滴 1 wt.% 醋酸铀酰染色网格。使用日立 H-7000 透射电子显微镜（TEM）在 75 kV 下使用 AnalySiS 图像管理软件对制备进行检查。

1.6 数据分析

该实验中每个样品至少做了 2 个重复，实验数据采用 IBM SPSS Statistics 26 统计分析。使用方差分析（ANOVA）与 Tukey 成对比较（ $P < 0.05$ ），报告平均值 ± 标准差（SD）和统计显著差异。

2 结果与分析

2.1 植物糖原和真菌糖原的全分子尺寸分布比较

图 1a 为水稻品种 R-M3 和玉米品种 M-M114、

M-M3 中植物糖原的全分子 SEC 质量分布图。植物糖原的分子大小呈现单峰分布，大小类似与动物糖原的 β 颗粒 (R_h 10~20 nm)^[21]。玉米植物糖原的尺寸分布峰值要小于水稻植物糖原 (表 1)，这种差异可能部分源自于玉米和稻米两种作物之间的差别。而真菌糖原的全分子大小分布呈现双峰分布 (图 1b, 双孢菇 BM 除外)，与动物糖原相类似，具有明显的 α 颗粒 ($R_h > 40$ nm, 表 1) 和 β 颗粒^[22]。排除杂质等因素所造成的噪声干扰，植物糖原与真菌糖原的尺寸分布范围有着比较大的差异性。这些观察结果不仅与以往的研究结果相吻合，也为进一步的研究提供了重要线索^[19,23]。在植物中最主要的储能物质是淀粉，植物糖原只存在于一些突变体中。而植物突变体普遍无法合成生理结构稳定的储能物质，只能生成分子尺寸比较小的多糖 (植物糖原)。而真菌生物和动物既可以合成分子尺寸大并且具有稳定生理结构的糖原分子 (α 颗粒) 作为储能物质，也可以合成分子尺寸小并可以快速水解的 β 颗粒来提供能量。因此，真菌糖原和植物糖原在全分子结构上的不同与各自的演化进程有着直接的关联。

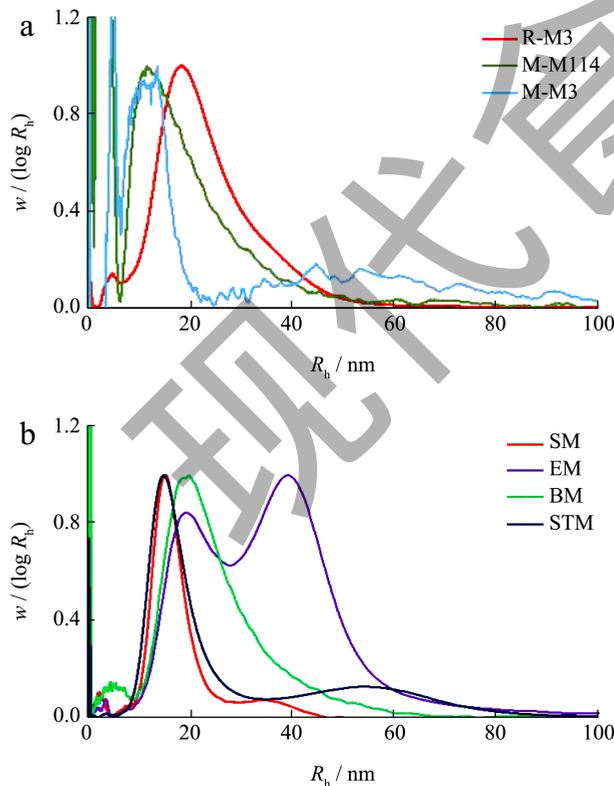


图 1 植物糖原 (a) 和真菌糖原 (b) 的 SEC 重量分布
Fig.1 SEC weight distributions of phytyglycogen (a) and fungal glycogen (b)

表 1 植物糖原和真菌糖原中 α 颗粒和 β 颗粒的平均尺寸大小和平均链长

Table 1 Average size combined with average chain length of α and β particles from phytyglycogen and fungal glycogen

样品	R_h , peak values of β particles/nm	R_h , peak values of α particles/nm	Average chain length/DP
R-M3	20.1 ± 0.2^d	—	6.9 ± 0.0^e
M-M114	17.3 ± 1.3^c	—	4.4 ± 0.5^a
M-M3	13.1 ± 2.5^{ab}	—	5.8 ± 0.6^b
SM	16.0 ± 0.4^{bc}	53.4 ± 2.9^a	10.1 ± 0.0^f
EM	20.9 ± 0.1^c	59.3 ± 0.0^b	10.4 ± 0.2^f
BM	19.5 ± 0.4^d	—	8.7 ± 0.4^d
STM	14.5 ± 0.3^a	52.3 ± 2.0^d	9.7 ± 0.1^e

注：显示的值是平均值 \pm 标准差，同一列中具有不同字母的值在 $P < 0.05$ 的水平上显著不同。

2.2 植物糖原和真菌糖原的链长分布比较

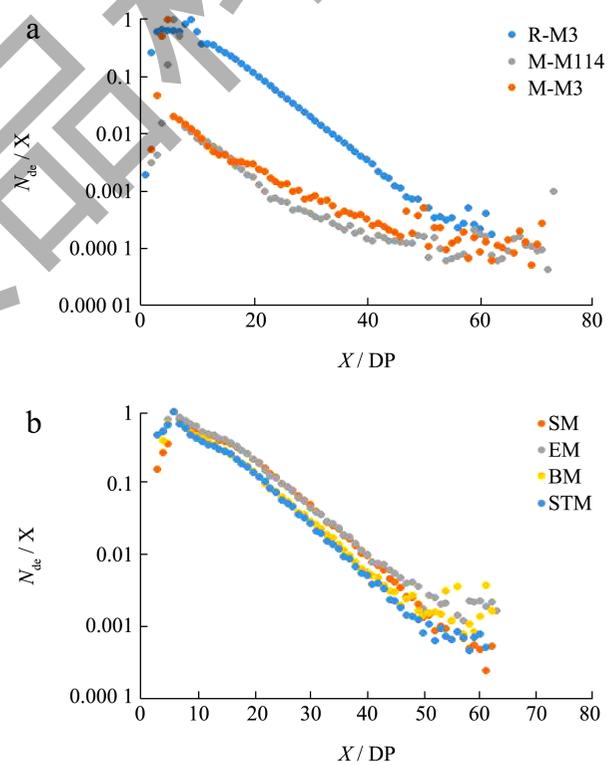


图 2 植物糖原 (a) 和真菌糖原 (b) 的链长分布图

Fig.2 The chain length distribution of phytyglycogen (a) and fungal glycogen (b)

相较于淀粉而言，植物糖原和真菌糖原的分子量较小，且链长较短。因此，我们在这里采用荧光辅助碳水化合物电泳 (FACE) 来确定植物糖原和真菌糖原的链长分布。这种技术具有更高的分辨率和对小分支的敏感性更强，且没有体积排阻色谱法

(SEC)的谱代增宽效应,能够更准确地揭示具有糖原的链长分布情况。

植物糖原和真菌糖原经异淀粉酶脱分支后的链长分布如图2所示。水稻R-M3品种植物糖原的链长分布峰型与真菌糖原基本一致,但是平均链长要显著小于真菌糖原(表1)。玉米M-M114和玉米M-M3链长分布峰型则与真菌糖原差异较大,其平均链长也显著小于真菌糖原和稻米植物糖原。这与全分子尺寸分布结果一致,突变体植物只能合成短葡萄糖支链,而真菌可以合成相对稳定的长葡萄糖支链。稻米样品和玉米样品的差异可能源于它们内部淀粉分支酶(SBE)的表达水平不同,因为这些突变体植株中缺乏淀粉脱支酶(DBE)^[19,23]。R-M3与M-M114、M-M3的籽粒都偏软且不饱满,也因为淀粉脱支酶的缺失导致籽粒内部淀粉无法正常合成,从而导致大量植物糖原生成。与全分子分布结果不同,4种蘑菇真菌糖原的链长分布峰型非常相似,尽管它们有着不同的平均链长。这说明不同蘑菇糖原中含有的不同数量的葡萄糖链;同时可能暗示在蘑菇演化过程中,糖原合成酶(主要负责葡萄糖链的延长)的活性没有发生大的变化,而糖原分支酶(主要负责葡萄糖分支的形成和葡萄糖链合成的中止)则随着演化而发生了明显的改变。

2.3 植物糖原和真菌糖原的TEM图像比较

TEM图像显示了植物糖原和真菌糖原分子都呈现花椰菜状(图3),与动物糖原的形状类似^[21]。TEM结果也表明这项研究采用的糖原提取方法对糖原的分子结构没有造成显著的破坏。植物糖原(图3a)只有比较小的 β 颗粒,大小约为10~20 nm,而真菌糖原(图3b)则可以观察到大的 α 颗粒(约为50~180 nm)和 β 颗粒。这个结果与上述的分子结构分析结果相一致,都表明相比于植物糖原真菌糖原具有更加稳定的分子结构。

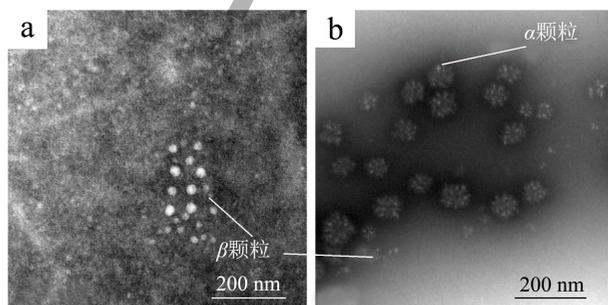


图3 植物糖原(a)和真菌糖原(b)的TEM图像

Fig.3 TEM images of phytoglycogen (a) and fungal glycogen (b)

3 结论

该研究利用体积排阻色谱法和荧光辅助碳水化合物电泳法,对植物糖原和真菌糖原的尺寸分布和链长分布进行了分析比较。研究结果显示,淀粉脱分支酶基因完全缺失的植物所生成的植物糖原与真菌糖原在全分子分布、链长分布和TEM微观形貌上均有比较明显的不同,植物糖原的平均分子尺寸(10~20 nm)和平均葡萄糖链长(4.4~6.9 DP)都要显著小于真菌糖原。大分子糖原可以作为真菌的主要储能供能物质,而小分子糖原则可以快速为真菌提供能量;植物突变体则只能合成生理结构不稳定的小分子糖原。这是因为植物和真菌在进化过程中逐渐发生分化,植物糖原和真菌糖原在生物合成过程中涉及到的酶及其调控机制都有显著的不同,导致它们拥有不同的分子精细结构。该研究的结果有助于帮助深入探究植物糖原和真菌糖原的生物合成机制以及它们在生物学功能上的差异和相似之处,未来还需要进一步的实验和研究来探讨其中潜在的生物化学机制和意义,以推动相关领域的进一步发展和应用。

参考文献

- [1] ZHANG P, NADA S S, TAN X, et al. Exploring glycogen biosynthesis through Monte Carlo simulation [J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2018, 116: 264-271.
- [2] BEZBORODKINA N N, CHESTNOVA A Y, VOROBEV M L, et al. Spatial structure of glycogen molecules in cells [J]. Biochemistry (Mosc), 2018, 83(5): 467-482.
- [3] 蔡臻颖.拟南芥GSK3调节脱落酸信号通路的机制研究[D].上海:复旦大学,2014.
- [4] 李忠锐.GmBINL1的克隆与功能分析[D].广州:华南农业大学,2011.
- [5] 苗雨露.香蕉果实糖原起始合成酶基因的鉴定及MaGN12的功能研究[D].海口:海南大学,2018.
- [6] 冯昭,覃洋,刘世鹏,等.决明GSK基因家族全基因组鉴定及其表达分析[J].药学学报,2023,58(5):1383-1394.
- [7] 张令慧,张沛沛,刘媛,等.小麦TaGSK5基因的克隆与表达分析[J].甘肃农业大学学报,2021,56(6):64-72.
- [8] 郑庆伟.浙江省农科院揭示糖原合成酶激酶在水稻防御病毒侵染过程中的作用机制[J].农药市场信息,2021, 1:48.
- [9] WALKEY C J, LUO Z L, BORCHERS C H, et al. The Saccharomyces cerevisiae fermentation stress response protein Igd1p/Yfr017p regulates glycogen levels by

- inhibiting the glycogen debranching enzyme [J]. *Fems Yeast Research*, 2011, 11(6): 499-508.
- [10] WILSON W A, ROACH P J, MONTERO M, et al. Regulation of glycogen metabolism in yeast and bacteria [J]. *Fems Microbiology Reviews*, 2010, 34(6): 952-985.
- [11] BHUTADA G, KAVSCEK M, LEDESMA-AMARO R, et al. Sugar versus fat: elimination of glycogen storage improves lipid accumulation in *Yarrowia lipolytica* [J]. *Fems Yeast Research*, 2017, 17(3): 10.
- [12] GSELL M, FANKL A, KLUG L, et al. A yeast mutant deleted of GPH1 bears defects in lipid metabolism [J]. *PLOS ONE*, 2015, 10(9): 19.
- [13] 李健,黄蕾,姚远,等.高度支化碳水化合物植物糖原的研究进展[J].农产品加工(学刊),2010,50(4):35-38.
- [14] SAMOKHVALOV V A, MEL'NIKOV G V, IGNATOV V V. The role of trehalose and glycogen in the survival of aging *Saccharomyces cerevisiae* cells [J]. *Microbiology*, 2004, 73(4): 378-382.
- [15] FRANÇOIS J, PARROU J L. Reserve carbohydrates metabolism in the yeast *Saccharomyces cerevisiae* [J]. *Fems Microbiology Reviews*, 2001, 25(1): 125-145.
- [16] ALGRANATI I D, CABIB E. The synthesis of glycogen in yeast [J]. *Biochimica Et Biophysica Acta*, 1960, 43: 141-142.
- [17] CHESTER V E, BYRNE M J. Carbohydrate composition and UDP-glucose concentration in a normal yeast and a mutant deficient in glycogen [J]. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 1968, 127(1): 556-562.
- [18] SYAHARIZA Z A, LI E, HASJIM J. Extraction and dissolution of starch from rice and sorghum grains for accurate structural analysis [J]. *Carbohydrate Polymers*, 2010, 82(1): 14-20.
- [19] POWELL P O, SULLIVAN M A, SHEEHY J J, et al. Acid hydrolysis and molecular density of phytoglycogen and liver glycogen helps understand the bonding in glycogen α (composite) particles [J]. *PLOS ONE*, 2015, 10(3): e0121337.
- [20] VILAPLANA F, GILBERT R G. Characterization of branched polysaccharides using multiple-detection size separation techniques [J]. *Journal of Separation Science*, 2010, 33(22): 3537-3554.
- [21] LIU X, WANG K, ZHOU J, et al. Metformin and Berberine suppress glycogenolysis by inhibiting glycogen phosphorylase and stabilizing the molecular structure of glycogen in db/db mice [J]. *Carbohydrate Polymers*, 2020, 243: 116435.
- [22] LIU X, ZHANG P, GILBERT R G. Formation mechanism of α particles in glycogen: testing the budding hypothesis by Monte-Carlo simulation [J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2023, 263: 130332.
- [23] POWELL P O, SULLIVAN M A, SWEEDMAN M C, et al. Extraction, isolation and characterisation of phytoglycogen from su-1 maize leaves and grain [J]. *Carbohydrate Polymers*, 2014, 101: 423-431.