

植物病原丝状真菌 G 蛋白偶联受体的研究进展

韩长志

(西南林业大学林学院 云南省森林灾害预警与控制重点实验室 云南 昆明 650224)

摘要: 通过对丝状真菌 G 蛋白偶联受体(GPCR)的结构、分类以及功能方面进行综述,以期明确丝状真菌与其他模式生物 GPCR 之间的关系。基于已报道的模式生物及丝状真菌等不同生物中的 GPCR,通过 SMART 保守结构域分析,以及利用 Clustal X、MEGA 等软件对上述 GPCR 进行遗传关系分析。明确丝状真菌典型 GPCR 具有七跨膜结构域,新型 GPCR 则含有 PIPK、RGS 等保守结构域,明确不同学者对于 GPCR 的分类情况,以及新型 GPCR 所具有的特殊功能,明确模式生物 GPCR、丝状真菌 GPCR 分别各自聚类。丝状真菌中 GPCR 的数量较模式生物少,不同分类单元中真菌之间 GPCR 的数量也不尽相同,同时,丝状真菌 GPCR 除具有典型的七跨膜结构域外,还含有一些其他保守的结构域,上述研究为进一步开展其功能研究提供重要的理论基础。

关键词: 丝状真菌, G 蛋白, G 蛋白偶联受体, 功能

Advance in functional research of G protein-coupled receptors in phytopathogenic filamentous fungi

HAN Chang-Zhi

(The Key Laboratory of Forest Disaster Warning and Control of Yunnan Province, College of Forestry, Southwest Forestry University, Kunming, Yunnan 650224, China)

Abstract: To determine the structure, classification and functional aspects of G protein-coupled receptor (GPCR) in filamentous fungi, and to determine the relationship of GPCR between filamentous fungi and other model organisms. Based on the reported GPCR in the model organisms and filamentous fungi, the conserved domain was analyzed by SMART web service, and the genetic relationship between filamentous fungi and other model organisms was identified by Clustal X and MEGA software. There were seven transmembrane domains of typical GPCR and novel GPCR with PIPK, RGS and other conserved domains in filamentous fungi. The classification of GPCR from different scholars was identified, as well as novel GPCR has special function. The model organisms GPCR and filamentous fungi GPCR can be grouped into each category. The number of GPCR of filamentous fungi was less than that of the model organism, and the number of GPCR was not the same among fungal taxa. GPCR in

基金项目: 云南省优势特色重点学科生物学一级学科建设项目(No. 50097505); 云南省高校林下生物资源保护及利用科技创新团队项目(No. 2014015); 云南省教育厅科学研究基金项目(No. 2014Y330)

通讯作者: Tel: 86-871-63862918; 信箱: hanchangzhi2010@163.com

收稿日期: 2014-06-12; **接受日期:** 2014-08-25; **优先数字出版日期(www.cnki.net):** 2014-08-28

filamentous fungi contains a number of other conserved domains in addition to a typical seven transmembrane, which provide important theoretical basis for further study on its function.

Keywords: Filamentous fungi, G protein, G protein-coupled receptors (GPCR), Function

丝状真菌作为一类重要的真菌,在植物病害以及人类、动物疾病方面具有重要的影响作用,同时也在工业、医药方面发挥着重要作用。目前,学术界关于丝状真菌的研究主要集中在细胞凋亡^[1]、遗传转化^[2-3]、基因敲除技术^[4]、基因功能^[5]、小 RNA^[6]、启动子^[7]等方面。G 蛋白信号途径在植物与病原真菌互作过程中发挥重大作用,学术界对丝状真菌 G 蛋白信号途径展开了大量研究工作^[8],而且对该信号途径上的 G 蛋白调节蛋白也展开了诸多工作^[9-10]。

G 蛋白偶联受体(G protein-coupled receptors, GPCR)作为生物体内最大的一类跨膜蛋白受体家族,广泛存在于植物、动物、真菌以及人体。笔者利用 CNKI 数据库以及 ScienceDirect 数据库进行文献搜索,结果显示,无论是对国内期刊按照“篇名”、“主题”进行搜索,还是对国外期刊按照“GPCR”、“G protein-coupled receptors”进行检索,近十年间国内外期刊对于 GPCR 的研究报道呈上升趋势,最高年份出现在 2012 年,国内期刊报道有 300 篇,国外期刊报道有 280 篇。通过对上述文献内容进行梳理,发现前人对诸如酿酒酵母(*Saccharomyces cerevisiae*)、裂殖酵母(*Schizosaccharomyces pombe*)、粗糙脉孢霉(*Neurospora crassa*)、构巢曲霉(*Aspergillus nidulans*)、新型隐球酵母(*Cryptococcus neoformans*)等模式真菌^[11]以及大豆疫霉(*Phytophthora sojae*)、橡树疫霉(*Phytophthora ramorum*)、致病疫霉(*Phytophthora infestans*)等卵菌 GPCR 的研究开展了较多工作^[12],然而,对于稻瘟菌(*Magnaporthe oryzae*)、板栗疫病菌(*Cryphonectria parasitica*)等植物病原丝状真菌中的 GPCR 功能的研究缺乏较为深入的报道。本文基于已有的关于 GPCR 的研究报道,从其结构、分类以及功能等方面的研究现状进行综述、对比分析,并对植物病原丝状真菌中 GPCR 功能研究进行汇总分析,阐述 GPCR 研究中存在的问题,以期为进一步开展这类植

物病菌 GPCR 的研究提供重要的理论指导。

1 丝状真菌 GPCR

截止到 2014 年 12 月 31 日,已经报道了 3 088 个 GPCR (<http://www.uniprot.org/docs/7tmrlist>)。其中,尤以人类(Human)中的 GPCR 数量居多,为 825 个;其次为小鼠(Mouse)、大鼠(Rat),所含 GPCR 分别为 510、333 个(图 1)。在已经报道的 GPCR 中,有关丝状真菌 GPCR 尚缺乏深入性研究。目前,*M. oryzae* 至少有 13 个典型 GPCRs 以及 150 多个类似蛋白^[13],其中,含有 4 个感受外界信号的类 cAMP 受体 GPCR^[14]。*S. cerevisiae* 中含有 4 个 GPCR,*N. crassa* 中含有 10 个,*A. nidulans* 中含有 16 个。笔者通过对禾谷炭疽菌(*Colletotrichum graminicola*)、希金斯炭疽菌(*Colletotrichum higginsianum*)全基因组进行 BLASTp 比对分析以及关键词搜索,均获得 4 个 GPCR (韩长志等,另文发表)。与一些模式生物相比,丝状真菌所含的 GPCR 数量较少,产生该现象的原因尚不清楚,有待于今后进一步解析。

2 GPCR 结构

GPCR 在氨基酸序列方面不具有较为保守的 motif,而在蛋白质二级结构方面具有保守的七跨膜结构域^[15]。通过对盘基网柄菌(*Dictyostelium discoideum*)、智人(*Homo sapiens*)、秀丽隐杆线虫(*Caenorhabditis elegans*)、小鼠(*Mus musculus*)、非洲蟾蜍(*Xenopus laevis*)、斑马鱼(*Danio rerio*)、果蝇(*Drosophila melanogaster*)等模式生物中的典型 GPCR 序列进行 SMART^[16]保守结构域分析发现,典型的 GPCR 二级结构均具有较为保守的七跨膜结构域,对其位置进行分析发现,*D. discoideum* DdCr1C、DdCr1B 以及 *H. sapiens* HsSerotonin 仅含有单一的结构域且不含有内含子,而其余典型 GPCR 则含有 FRI 保守结构域(图 2A)。根据跨膜结构域位于 FRI 的位置,可以分为两类,一类为跨膜

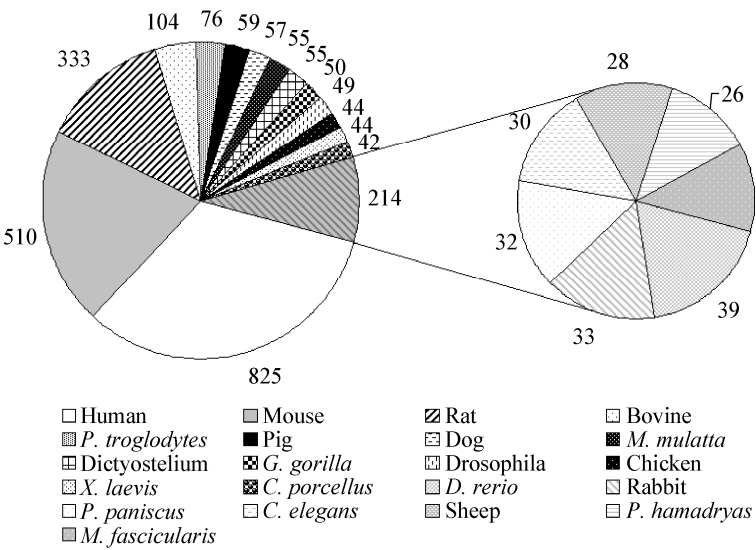


图 1 GPCR 在不同物种中的分布情况
Figure 1 The distribution of the GPCR in different species

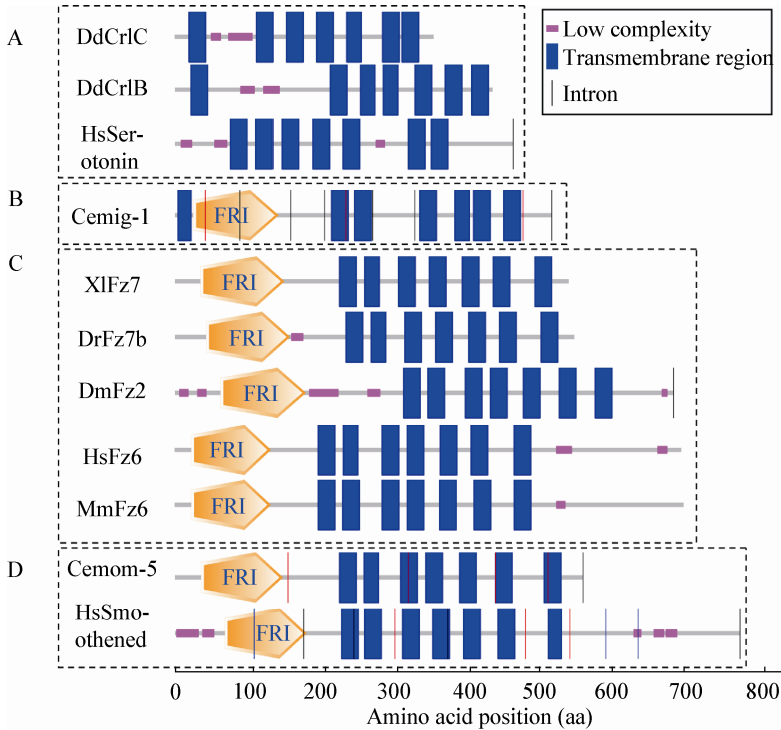


图 2 不同模式生物中典型 GPCR 结构 SMART 分析
Figure 2 SMART analyses on structure of typical GPCR in different model organisms

结构域位于 FRI 前方,如 *C. elegans* Cemig-1 (图 2B); 另一类为位于 FRI 后方,如 *X. laevis* XIFz7、*C. elegans* Cemom-5 等。同时,根据内含子的有无特点,可以将 GPCR 分为两类,不含有内含子的 GPCR 为: *X. laevis* XIFz7、*D. rerio* DrFz7b 等(图 2C), 含有内含子的 GPCR 为: *C. elegans* Cemom-5、*H. sapiens* HsSmoothened (图 2D)。通过对 *M. oryzae* 以及 *C. graminicola*、*C. higginsianum* 的研究发现,其所含的 GPCR 均具有典型的七跨膜结构域(韩长志等,另文发表)。

此外,一些真菌、卵菌中还存在诸如磷脂酰肌醇磷酸激酶(Phosphatidylinositol phosphate kinase, PIPK)、环核苷酸磷酸二酯酶(Cyclic nucleotide phosphodiesterases, PDE)、多磷酸肌醇磷酸化酶(Inositol polyphosphate phosphatase, INPP)、G 蛋白信号调控因子(Regulators of G-protein Signaling, RGS)、溶血素(Haemolysin, HLyIII)等特殊结构^[11-12,17]。

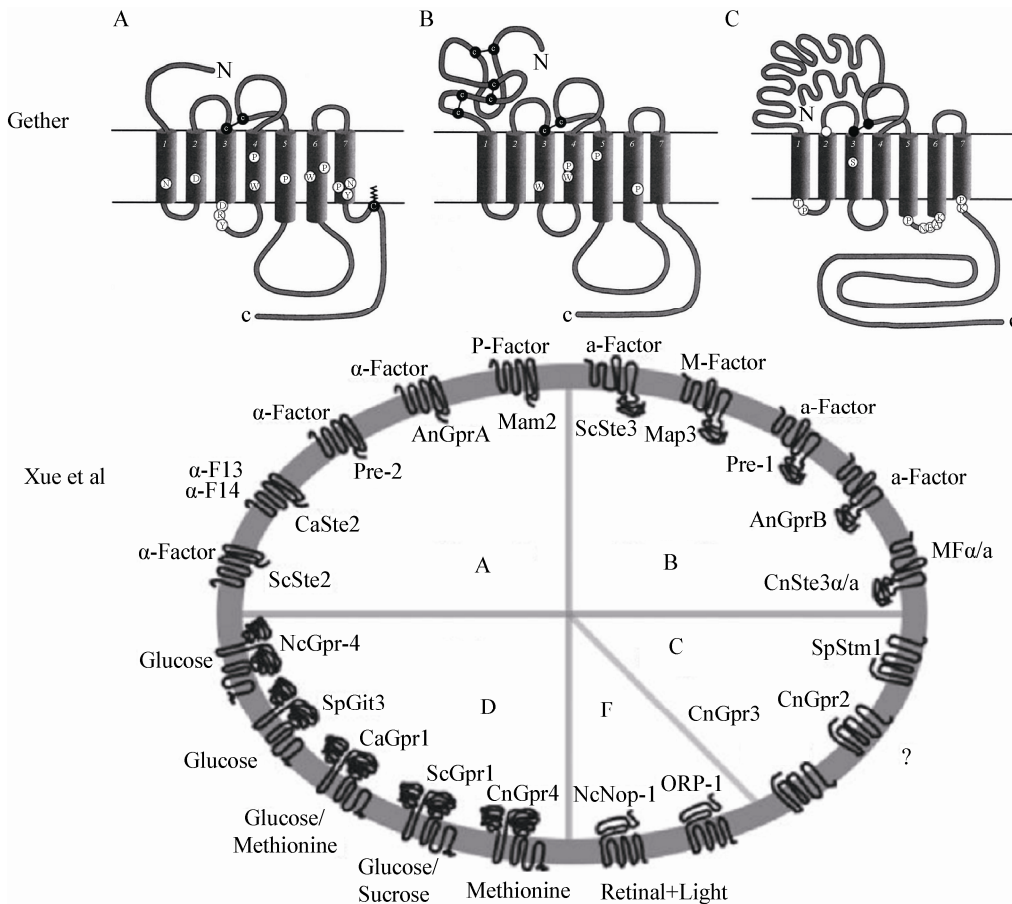
3 GPCR 分类情况

鉴于 GPCR 仅在二级结构方面具有典型的七跨

膜结构域,同时在已报道的植物、动物、真菌以及人所含 GPCR 中氨基酸序列的同源方面较低,因此,对于其分类而言,诸多学者依据不同的分类标准得到不同的分类结果(表 1),如 Gether^[18]根据 GPCR 胞外环套的大小及胞外环套关键性的氨基酸和二硫键的形成情况,对 1 000 多个 GPCR 进行分析,明确分为 A、B、C 三大类(图 3)。近些年来,随着人们所发现的 GPCR 数量越来越多,诸多学者以“序列同源性及功能相似性”、“序列同源性及结合的配体感知情况”等作为新的分类标准,对不同物种的 GPCR 进行分类。同时,还出现一些综合分类方法,前期 GPCR 数据库(GPCRDB)认为 GPCR 可以分为 A-E 五大类,其中 A-C 为动物所有,对于 D、E 则为真菌所特有^[19]。而目前,GPCRDB 对 GPCR 家族进行了如下分类,即 A 类,视紫质蛋白类(Class A Rhodopsin like),B 类,类分泌素受体蛋白(Class B Secretin like),C 类,代谢型谷氨酸/激素受体(Class C Metabotropic glutamate/pheromone)以及犁鼻器受体(Vomer nasal receptors)。

表 1 GPCR 的分类概况 Table 1 Classification of GPCR								
学者 Scholars	分类依据 Classification	类群数量 Numbers	类群 Species					
			A	B	C	D	E	F
Gether ^[18]	胞外环套的大小及胞外环套关键性的氨基酸和二硫键的形成	3	视紫质和β肾上腺受体	胰高血糖素、血管活性肠肽及降钙素等受体	味觉受体、代谢型谷氨酸受体、γ氨基丁酸受体和钙离子受体	—	—	—
Attwood et al ^[25] kolakowski Jr LF ^[26]	序列同源性及功能相似性	6	视紫质及视紫质类受体家族蛋白	分泌素受体家族	代谢型谷氨酸及激素受体家族	真菌的性激素受体家族	盘基网柄菌中感受腺苷酸环化酶的受体家族	果蝇中的卷曲/平滑受体家族
Han et al ^[21]	序列同源性及结合的配体感知情况	5	性激素受体 Ste-2	性激素受体 Ste-3	糖类受体 Gpr1	营养受体 Stm1	感受外源 cAMP 的受体	—
Xue et al ^[24]	综合前人研究成果	6	Ste-2 类激素受体	Ste-3 类激素受体	Stm1 类氮源感知受体	营养类受体	类 cAMP 受体	微生物视蛋白类受体

注: —: 该分类缺失。
Note: —: The classification is missing.

图3 GPCR 分类情况^[18,24]Figure 3 Classification of GPCR^[18,24]

近年,随着诸多真菌全基因组序列的释放^[20],真菌中所含 GPCR 在特征及功能方面不能全部归为上述所分类别,因此出现了对真菌中所特有的 GPCR 进行划分的分类情况,共分为 5 类^[21];而后对构巢曲霉中 16 个 GPCR 进行的研究发现可划分至九大类^[22],粗糙脉孢霉中 10 个 GPCR 则分为五大类^[23];同时,对担子菌 *C. neoformans* 中鉴定出的非常庞大的七跨膜结构蛋白划分为五大类^[24](表 2)。而接合菌门的米根霉(*Rhizopus oryzae*)中仅含有 5 个推测的氮源感知受体 RO3G_03874、RO3G_15181、RO3G_13115、RO3G_13187、RO3G_10064,不含有其他类别的 GPCR。此外,对于轮枝菌属(*Verticillium*)真菌中的大丽轮枝菌(*V. dahliae*)、黑白轮枝菌(*V. albo-atrum*)进行全基因组预测 GPCR,结果显示,前者含有 22 个 GPCR,后

者含有 18 个 GPCR,上述 GPCR 可以分为 12 类,除包含原有的六大传统分类外,还包括与曲霉属同源的三类^[22],涉及 RGS、HLyIII 以及动物 GPCR 相似;还包括最新的 GPCR 类^[17],涉及 PTM1 GPCR、GPCR 89 类受体以及 Family C 类 GPCR (表 2)。

尽管如此,对于不同物种中存在的 GPCR 归类情况尚存在着较多的争论,如在 *D. discoideum* 中发现含有 1 个 GPCR-PIPK 结构的蛋白 DdRpkA,而在 *P. sojae*、*P. ramorum* 中则含有 12 个 GPCR-PIPK 结构,推测上述蛋白具有双信使功能^[12],这些蛋白如何进行归类,尚不清楚。因此,对于 GPCR 的结构研究还应进一步得到加强,当前乃至今后一段时间有待于建立一套以序列同源性、结构相似性、功能相似性为打分项的综合打分系统,从而较好地实现学术上对 GPCR 的分类,有助于进一步深入研

表 2 丝状真菌中典型 GPCR (按照 Xue 等 ^[24] 六大分类)						
Table 2 Classical GPCR in filamentous fungi based on Xue classification method						
真菌 Species	Ste-2 类激素受体 Ste2-like pheromone receptor	Ste-3 类激素受体 Ste3-like pheromone receptor	Stm1 类碳源感知受体* Stm1-like carbon receptor	营养类受体& Putative nutrient receptor	类 cAMP 受体 cAMP receptor-like	微生物视蛋白类受体 Microbial opsin
构巢曲霉 <i>Aspergillus nidulans</i> ^[27]	GprA(PreB)	GprB(PreA)	GprF, GprG, AN5720, GprJ	GprC, GprD, GprE	GprH, GprI, AN8262	NopA
稻瘟菌 <i>Magnaporthe oryzae</i> ^[28]	GprD, MGG_04711	GprD, MGG_06452	MGG_04698, MGG_02855	MGG_08803	Pre-1, MGG_06738	MGG_09015
粗糙脉孢霉 <i>Neurospora crassa</i> ^[23,29-30]	Pre-1	Pre-2	Gpr-5, Gpr-6	Gpr-4	Gpr-1, Gpr-2, Gpr-3	Nop-1, Orp-1
新型隐球酵母 <i>Cryptococcus neoformans</i> ^[31]	—	Ste3α/Ste3a、Cpr2	Gpr2, Gpr3	Gpr4	Gpr4, Gpr5	CNAG_03572, Ops1
米根霉 <i>Rhizopus oryzae</i> ^[24]	—	—	RO3G_03874, RO3G_15181, RO3G_13115, RO3G_13187, RO3G_10064	—	—	—
玉米黑粉菌 <i>Ustilago maydis</i> ^[24]	—	Pra1, Pra2	—	UM06006, UM01546	UM03423	UM02629, UM04125
灰盖鬼伞菌 <i>Coprinopsis cinerea</i> ^[24]	—	Rcb1, Rcb2, Rcb3, CC1G_02129	—	CC1G_07132, CC1G_04180	CC1G_02288、CC1G_02310	—
大丽轮枝菌 <i>Verticillium dahliae</i> ^[17]	VDAG_05622	VDAG_06338	VDAG_02461、VDAG_05794	VDAG_00060, VDAG_07964, VDAG_05120, VDAG_04720	VDAG_04611, VDAG_02846, VDAG_09140	VDAG_02933, VDAG_06764
黑白轮枝菌 <i>Verticillium albo-atrum</i> ^[17]	VDBG_04312	VDBG_08677	VDBG_02002	VDBG_00450, VDBG_09485	VDBG_09374, VDBG_02375	VDBG_02458, VDBG_07121

注：*：推测的氮源感知受体；&：碳源感知受体；—：该分类缺失。
Note: *: Putative carbon receptor; &: Putative nutrient receptor; -: The classification is missing.

究该蛋白的功能。

研究者通过对模式生物与大豆疫霉中所含 GPCR 进行遗传关系分析，结果发现，具有 GPCR-PIPK 结构的蛋白聚为一类，而其他不含有该结构的蛋白可以聚为一类^[12]。尽管如此，对于丝状真菌中 GPCR 所存在的遗传关系尚不清楚，笔者通过对来自于 *D. discoideum*、*C. elegans*、*M. musculus*、*X. laevis*、*D. rerio*、*H. sapiens*、*D. melanogaster* 等模式生物的 GPCR 以及来自于禾谷炭疽菌、希金斯炭疽菌、胶孢炭疽菌、西瓜炭疽菌、大丽轮枝菌等丝状真菌中的 GPCR 进行遗传关系分析，发现模式生物与丝状真菌 GPCR 大致可以分为两大类，模式生物中的 GPCR 非常明显地聚成一类(图 4A)，而其他丝状真菌则以不同类型 GPCR 进行聚类，具体而言，

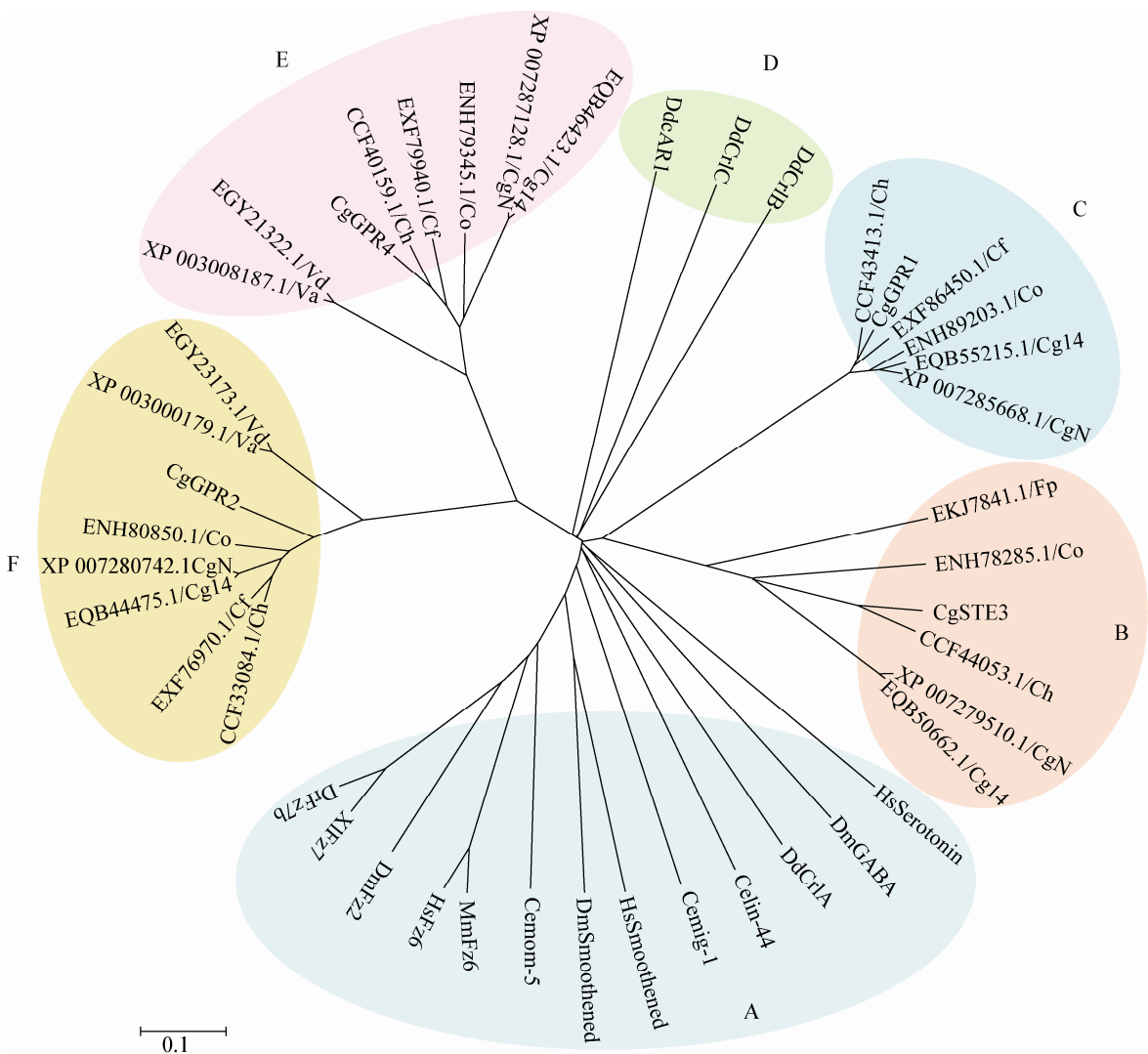


图 4 模式生物与丝状真菌中 GPCR 之间的遗传关系对比分析

Figure 4 Genetic relationships between model organisms and filamentous fungi GPCR

Note: The name of the model organism and GPCR ID Number: Cemom-5, AAC47750; HsSmoothened, AAH09989; MmFz6, AAH26150; XIFz7, AAH42228; DrFz7b, AAH49397; HsFz6, AAH60836; HsSerotonin, AAH69356; Celin-44, AAK85460; DdcChC, AAQ63680; DdcChB, AAQ63681; DdcAR1, AAS59250; Cemig-1, CCD71747.1; DmGABA, P25123; DmSmoothened, P91682; DmFz2, Q9VVX3; DdcChA, Q54U75.1. CgN *Colletotrichum gloeosporioides* Nara gc5; Cg14 *Colletotrichum gloeosporioides* Cg-14; Co *Colletotrichum orbiculare* MAFF 240422; Cf *Colletotrichum fioriniae* PJ7; Va *Verticillium alfalfae* VaMs.102; Vd *Verticillium dahliae* VdLs.17; Fp *Fusarium pseudograminearum* CS3096.

禾谷炭疽菌中存在的 4 个 GPCR 分别为 CgSTE3、CgGPR1、CgGPR4 以及 CgGPR2，其他与禾谷炭疽菌 GPCR 同源的丝状真菌 GPCR 较好地聚在一起(图 4B–F)。上述分析结果也说明，对于 GPCR 的分类不能单一依赖于物种、结构等单独因素进行，而应该充分考虑物种、结构、序列等综合因素进行类别划分。

4 丝状真菌 GPCR 功能

GPCR 作为人、动物、植物以及真菌等生物中分布最广、参与诸多功能的七跨膜表面受体，目前对该蛋白功能的研究多集中于与人类疾病(糖尿病、心脏病、肿瘤、免疫和感染性疾病、神经与精神疾

病等)相关药物靶标受体而开展有关工作, 据统计, 已开发的药剂中有 50%以上均是以该蛋白为作用靶标^[32]。最初认为 GPCR 作为一种“分子开关”来对 G 蛋白进行调控, 从而影响后续信号的传递, 目前认为该蛋白作为一个“微型处理器”, 除了接受外界信号外, 还对信号传递、下游效应器发挥其重要的影响。GPCR 作为重要的 G 蛋白细胞信号途径传递过程中的受体蛋白, 与 G 蛋白偶合发生生物学特性, 广泛参与外界信号感知、内部信号传递从而完成多种涉及生长、发育、细胞增殖和凋亡过程等多种生理生化以及病理反应^[33]。

然而, 在 NCBI 中, 通过对已完成测序的植物病原真菌的“属名+GPCR”关键词进行搜索, 结果并未发现在已知全基因组测序的丝状真菌 *Sclerotinia*、*Cochliobolus*、*Mycosphaerella*、*Ustilago*、*Sporisorium*、*Melampsora*、*Fusarium*、*Colletotrichum*、*Stagonospora*、*Botrytis* 等属中有关 GPCR 的研究报道, 对于植物病原丝状真菌 GPCR 研究尚不够深入, 直接导致目前农药开发未能进一步发展, 有待于进一步开展相关研究。

构巢曲霉中含有 9 个 GPCR (GprA-I)^[34], 其发挥的功能各不相同, 但总体而言与 *S. pombe* 中诸多 GPCR 具有较大的同源性。随着诸多丝状真菌全基因组序列的公开, 发现 *M. oryzae* 中包括大量的类 GPCR 基因, 包括之前尚未报道的 61 个基因^[35];

同时, 也发现了诸多具有不同新型结构的 GPCR, 如羧基末端的 CFEM 结构(Conserved fungal-specific extracellular membrane-spanning)^[36]。*A. nidulans* 中仅含有 2 个上述结构蛋白、*N. crassa* 仅含有 1 个。而在一些非丝状真菌白色念球菌 (*Candida albicans*)、卡氏肺孢子虫(*Pneumocystis carinii*)中则完全缺失, 或是在一些担子菌中的 *C. neoformans*、玉米黑粉菌(*Ustilago maydis*)、黄孢原毛平革菌(*Phanerochaete chrysosporium*)中也不存在上述结构^[35], 这些含有 CFEM 结构的蛋白在丝状真菌中具有何种功能, 有待于进一步开展相关研究。此外, 该特殊结构对于进一步开展不同类别的丝状真菌的研究分类工作具有重要的可借鉴价值。新的 GPCR 蛋白家族不断出现^[37], 对于其功能的认识也在不断加深, 为进一步解析以该蛋白为靶标的药剂开发提供重要的理论基础。

M. oryzae 中还具有一些新型结构的 GPCR, 如对附着胞形成表面识别的受体 PTH11^[13], 以及其他真菌中也含有其他类型的 GPCR, 如 *V. dahliae*、*V. albo-atrum* 均存在具有 RGS 结构域、HLyIII 结构域等新型 GPCR 以及与动物 GPCR 相似、类 PTM1 GPCR、GPCR 89 类受体、Family C 类 GPCR 等类型^[17](表 3)。尽管如此, *A. nidulans* 中的 GprM、GprN 作为新型的 GPCR, 尚不清楚归为哪一类, 有待于今后进一步研究明确。

表 3 丝状真菌中具有特殊功能的 GPCR ^[17,27,38]						
Table 3 Special features for GPCR in filamentous fungi ^[17,27,38]						
真菌 Species	含有 RGS 结构域 RGS domain GPCR	含有 HLyIII 结构域 HLyIII domain GPCR	与动物 GPCR 相似 Similar to animal GPCR	类 PTM1 GPCR PTM1-like GPCR	GPCR 89 类受体 GPCR 89 like receptors	Family C 类 GPCR Family C-like GPCR
构巢曲霉 <i>Aspergillus nidulans</i>	GprK	GprO, GprP	—	—	—	—
大丽轮枝菌 <i>Verticillium dahliae</i>	VDAG_08194, VDAG_09977	VDAG_03447, VDAG_00450, VDAG_03172	VDAG_03157	VDAG_06634	VDAG_10279	VDAG_00541
黑白轮枝菌 <i>Verticillium albo-atrum</i>	VDBG_08528, VDBG_03371	VDBG_06292, VDBG_00835, VDBG_06012	VDBG_06000	VDBG_06989	VDBG_06942	VDBG_00931

5 展望

关于生物中 GPCR 的研究还在不断地深入,随着新型 GPCR 的出现,该蛋白二级结构上所具有的传统典型七跨膜结构特征正在受到挑战,一些卵菌中新发现的 GPCR 含有 5-9 个跨膜结构域^[11]。同样,在卵菌 GPCR 中的羧基端还含有一些如 RGS、PIPK、PDE、INPP 等特殊结构,上述特殊结构有待于进一步在丝状真菌中开展结构、功能等方面的相关研究,而对于这些含有不同结构 GPCR 之间的关系如何,各自特殊结构所具有的功能又是如何,均有待于今后开展更加深入的研究。

5.1 卵菌与丝状真菌 GPCR 数量之间差异

卵菌中的大豆疫霉、橡树疫霉以及致病疫霉,其形态如丝状真菌,最初归为真菌。然而,对其全基因组序列进行深入解析,发现上述病菌与真菌亲缘关系较远,而与藻类以及植物关系较近^[39]。全基因组生物信息学分析表明,大豆疫霉、致病疫霉和橡树疫霉所含候选 GPCR 编码基因数量分别为 59、67 和 56 个^[11],说明卵菌所含有的 GPCR 数量与丝状真菌所含 GPCR 数量之间存在较大的差异,这种差别是由于生物信息学分析所造成的,还是物种之间真正存在的差异有待进一步通过生物学试验进行验证。

5.2 不同类别丝状真菌之间 GPCR 数量差异

就目前丝状真菌中所含 GPCR 而言,属于不同类别(分类系统)中丝状真菌 GPCR 数量方面存在着较大的差异,担子菌门中的 *C. neoformans* 与接合菌门中的 *R. oryzae* 在所含 GPCR 数量方面为什么会产生如此大的差异,是个别现象还是普通存在不同分类单元中的规律,以及其他真菌中的 GPCR 在物种进化过程中发挥着何种作用均有待于今后进行深入研究。

5.3 模式生物与丝状真菌 GPCR 研究方面的差异

鉴于模式生物在开展其他物种研究方面具有便利性及可借鉴性的特点,学术界对模式生物中

GPCR 的研究取得了大量的成果,相对而言,植物病原丝状真菌中 GPCR 的研究就逊色许多,如何更好地借鉴模式生物中所取得的成果,较好地借鉴生物信息学分析方法以及结合一定的遗传转化、基因工程等技术开展丝状真菌 GPCR 的研究成为今后研究的重要方向。

5.4 G 蛋白相关效应酶与 GPCR 研究方面的差异

G 蛋白细胞信号转导系统涉及 RGS 以及 G 蛋白下游效应酶,目前对 RGS 的研究取得了较多成果^[10]。然而,对于 GPCR 的研究尚缺乏有效的技术手段,特别是对该蛋白结构的解析仍然是困扰蛋白质科学研究的难题之一,也是揭示外界信号跨膜转导机制的重要组成部分。未来能否成功突破 GPCR 结构解析瓶颈,不仅有助于解决涉及 G 蛋白信号转导过程中信号传递的问题,也有助于推动用于预防和治疗人类疾病、动物疾病、植物病害的新型医药、兽药、农药的开发和利用。

参考文献

- [1] Li XD, Lu JP, Li HJ, et al. Apoptosis in filamentous fungi[J]. Microbiology China, 2011, 38(2): 242-249 (in Chinese)
厉晓东, 卢建平, 李海娇, 等. 丝状真菌的细胞凋亡[J]. 微生物学通报, 2011, 38(2): 242-249
- [2] Li J, Yang JK, Liang LM, et al. Advance in the research on genetic transformation system of filamentous fungi[J]. Acta Agriculturae Universitatis Jiangxiensis, 2006, 28(4): 516-520 (in Chinese)
李娟, 杨金奎, 梁连铭, 等. 丝状真菌遗传转化系统研究进展[J]. 江西农业大学学报, 2006, 28(4): 516-520
- [3] Zhang T, Tang KX. Progress on genetic engineering of filamentous fungi[J]. Journal of Shanghai Jiao Tong University (Agricultural Science Edition), 2010, 28(5): 480-486 (in Chinese)
张田, 唐克轩. 丝状真菌的遗传工程研究进展[J]. 上海交通大学学报: 农业科学版, 2010, 28(5): 480-486
- [4] Xu Y, Tu Z. Application and progress of filamentous fungi gene targeting[J]. Journal of Food Science and Biotechnology, 2007, 26(1): 120-126 (in Chinese)
许杨, 涂追. 丝状真菌基因敲除技术研究进展[J]. 食品与生物技术学报, 2007, 26(1): 120-126
- [5] Li CH, Li ZF, Feng ZL, et al. Applications of gene knockout by ATMT in filamentous fungus functional genomics[J]. Cotton Science, 2013, 25(3): 262-268 (in Chinese)
李彩红, 李志芳, 冯自力, 等. 农杆菌介导的基因敲除技术在丝状真菌基因功能研究中的应用[J]. 棉花学报, 2013, 25(3): 262-268
- [6] Liu J, Li ZY, Wang JE, et al. Research progress of sporulation mechanism and related genes in filamentous fungi[J]. Guizhou Agricultural Sciences, 2009, 37(4): 81-83 (in Chinese)

- 刘静, 李中元, 王军娥, 等. 丝状真菌产孢机制及其相关基因研究进展[J]. 贵州农业科学, 2009, 37(4): 81-83
- [7] Lin T, Huang JZ. Research advance on promoters for heterologous gene expression in filamentous fungi[J]. Journal of Anhui Agricultural Science, 2013, 41(7): 2862-2863, 2865 (in Chinese)
- 林涛, 黄建忠. 丝状真菌启动子研究进展[J]. 安徽农业科学, 2013, 41(7): 2862-2863, 2865
- [8] Li L, Chen S, Mao T, et al. Heterotrimeric G-protein signaling in filamentous fungi: a review[J]. Microbiology China, 2013, 40(8): 1493-1507 (in Chinese)
- 李利, 陈莎, 毛涛, 等. 丝状真菌 G 蛋白信号途径的研究进展[J]. 微生物学通报, 2013, 40(8): 1493-1507
- [9] Han CZ. Bioinformatics analysis on regulators of G-protein signaling in *Colletotrichum graminicola*[J]. Microbiology China, 2014, 41(8): 1582-1594 (in Chinese)
- 韩长志. 禾谷炭疽菌 RGS 蛋白生物信息学分析[J]. 微生物学通报, 2014, 41(8): 1582-1594
- [10] Zhao Y, Wang YC, Jiang DW, et al. Advances in functional research of RGS proteins in fungi[J]. Microbiology China, 2014, 41(4): 712-718 (in Chinese)
- 赵勇, 王云川, 蒋德伟, 等. 真菌 G 蛋白信号调控蛋白的功能研究进展[J]. 微生物学通报, 2014, 41(4): 712-718
- [11] Zhao W. Function analysis of GPCR-PIPKs family and PsYKT6 in *Phytophthora sojae*[D]. Nanjing: Doctoral Dissertation of Nanjing Agricultural University, 2010 (in Chinese)
- 赵伟. 大豆疫霉 GPCR-PIPKs 基因家族及 PsYKT6 功能分析[D]. 南京: 南京农业大学博士学位论文, 2010
- [12] Bakthavatsalam D, Meijer HJ, Noegel AA, et al. Novel phosphatidylinositol phosphate kinases with a G-protein coupled receptor signature are shared by *Dictyostelium* and *Phytophthora*[J]. Trends in Microbiology, 2006, 14(9): 378-382
- [13] Kulkarni RD, Thon MR, Pan H, et al. Novel G-protein-coupled receptor-like proteins in the plant pathogenic fungus *Magnaporthe grisea*[J]. Genome Biology, 2005, 6(3): R24
- [14] Fang KH, Liu WD, Wang AR, et al. Bioinformatic analysis of cAMP receptor-like GPCRs in *Magnaporthe grisea*[J]. Chinese Agricultural Science Bulletin, 2009, 25(7): 42-46 (in Chinese)
- 方坤海, 刘文德, 王爱荣, 等. 稻瘟病菌 cAMP 受体类 GPCR 的生物信息学分析[J]. 中国农学通报, 2009, 25(7): 42-46
- [15] Sun DY, Cui SJ, Sun Y. Signal Transduction: The Basics[M]. 4th ed. Beijing: Science Press, 2010 (in Chinese)
- 孙大业, 崔素娟, 孙颖. 细胞信号转导——基础篇[M]. 第4版. 北京: 科学出版社, 2010
- [16] Letunic I, Doerks T, Bork P. SMART 7: recent updates to the protein domain annotation resource[J]. Nucleic Acids Research, 2012, 40(D1): D302-D305
- [17] Zheng H, Zhou L, Dou T, et al. Genome-wide prediction of G protein-coupled receptors in *Verticillium* spp.[J]. Fungal Biology, 2010, 114(4): 359-368
- [18] Gether U. Uncovering molecular mechanisms involved in activation of G protein-coupled receptors[J]. Endocrine Reviews, 2000, 21(1): 90-113
- [19] Horn F, Bettler E, Oliveira L, et al. GPCRDB information system for G protein-coupled receptors[J]. Nucleic Acids Research, 2003, 31(1): 294-297
- [20] Fu BZ, Liu L, Wu JR. Progress of genome sequencing of plant pathogens[J]. Biotechnology Bulletin, 2010(9): 8-15 (in Chinese)
- 傅本重, 刘丽, 伍建榕. 植物病原生物基因组测序进展[J]. 生物技术通报, 2010(9): 8-15
- [21] Han KH, Seo JA, Yu JH. A putative G protein-coupled receptor negatively controls sexual development in *Aspergillus nidulans*[J]. Molecular Microbiology, 2004, 51(5): 1333-1345
- [22] Lafon A, Han KH, Seo JA, et al. G-protein and cAMP-mediated signaling in aspergilli: a genomic perspective[J]. Fungal Genetic Biology, 2006, 43(7): 490-502
- [23] Borkovich KA, Alex LA, Yarden O, et al. Lessons from the genome sequence of *Neurospora crassa*: tracing the path from genomic blueprint to multicellular organism[J]. Microbiology and Molecular Biology Reviews: MMBR, 2004, 68(1): 1-108
- [24] Xue CY, Hsueh YP, Heitman J. Magnificent seven: roles of G protein-coupled receptors in extracellular sensing in fungi[J]. FEMS Microbiology Reviews, 2008, 32(6): 1010-1032
- [25] Attwood T, Findlay J. Fingerprinting G-protein-coupled receptors[J]. Protein Engineering, 1994, 7(2): 195-203
- [26] Kolakowski Jr LF. GCRDB: a G-protein-coupled receptor database[J]. Receptors & Channels, 1994, 2(1): 1
- [27] Xue Y, Battle M, Hirsch JP. GPR1 encodes a putative G protein-coupled receptor that associates with the Gpa2p Galpha subunit and functions in a Ras-independent pathway[J]. EMBO Journal, 1998, 17(7): 1996-2007
- [28] Xu JR, Peng YL, Dickman MB, et al. The dawn of fungal pathogen genomics[J]. Annual Review Phytopathology, 2006, 44: 337-366
- [29] Li L, Borkovich KA. GPR-4 is a predicted G-protein-coupled receptor required for carbon source-dependent asexual growth and development in *Neurospora crassa*[J]. Eukaryot Cell, 2006, 5(8): 1287-1300
- [30] Galagan JE, Calvo SE, Borkovich KA, et al. The genome sequence of the filamentous fungus *Neurospora crassa*[J]. Nature, 2003, 422(6934): 859-868
- [31] Xue C, Bahn YS, Cox GM, et al. G protein-coupled receptor Gpr4 senses amino acids and activates the cAMP-PKA pathway in *Cryptococcus neoformans*[J]. Molecular Biology Cell, 2006, 17(2): 667-679
- [32] Drews J. Drug discovery: a historical perspective[J]. Science, 2000, 287(5460): 1960-1964
- [33] Xu YJ, Wang S, Liang QM. Relation between G protein-coupled receptor and development of tumour[J]. Chinese Journal of Cancer Prevention and Treatment, 2013, 20(9): 712-716 (in Chinese)
- 许云吉, 王松, 梁庆模. G 蛋白偶联受体与肿瘤发生发展相关性研究现状[J]. 中华肿瘤防治杂志, 2013, 20(9): 712-716
- [34] Yu J. Heterotrimeric G protein signaling and RGSs in *Aspergillus nidulans*[J]. Journal of Microbiology, 2006, 44(2): 145
- [35] Dean RA, Talbot NJ, Ebbole DJ, et al. The genome sequence of the rice blast fungus *Magnaporthe grisea*[J]. Nature, 2005, 434(7036): 980-986
- [36] Kulkarni RD, Kelkar HS, Dean RA. An eight-cysteine-containing CFEM domain unique to a group of fungal membrane proteins[J]. Trends in Biochemical Sciences, 2003, 28(3): 118-121
- [37] Park SH, Das BB, Casagrande F, et al. Structure of the chemokine receptor CXCR1 in phospholipid bilayers[J]. Nature, 2012, 491(7426): 779-783
- [38] DeZwaan TM, Carroll AM, Valent B, et al. *Magnaporthe grisea* pth11p is a novel plasma membrane protein that mediates appressorium differentiation in response to inductive substrate cues[J]. Plant Cell, 1999, 11(10): 2013-2030
- [39] Tyler BM, Tripathy S, Zhang X, et al. Phytophthora genome sequences uncover evolutionary origins and mechanisms of pathogenesis[J]. Science, 2006, 313(5791): 1261-1266