

真菌二型态环境因子及信号转导途径研究进展

刘娟¹ 吴尧¹ 马爱民^{1*} 陈立国²

(1. 华中农业大学食品科技学院 武汉 430070)

(2. 华中农业大学植物科技学院 武汉 430070)

摘要: 真菌二型态是指某些真菌在环境因子的影响下而具有在酵母型和菌丝型两种形态间发生互变的能力。二型态致病真菌因其形态转换的过程常与致病性有密切关系而引起了人们的广泛关注。真菌二型态转换过程与其培养环境中的物理、化学和营养等环境因子有关, 内部则主要与cAMP-PKA、MAPK和Rim101等信号转导途径有关。现对影响真菌二型态的外界环境影响因子和内部信号转导途径等方面的研究进展进行综述。

关键词: 真菌, 二型态, 环境因子, 信号转导途径

Research Progress of Environmental Factors and Signal Transduction Pathways of Dimorphism in Fungi

LIU Juan¹ WU Yao¹ MA Ai-Min^{1*} CHEN Li-Guo²

(1. College of Food Science and Technology, Huazhong Agricultural University, Wuhan 430070)

(2. College of Plant Science and Technology, Huazhong Agricultural University, Wuhan 430070)

Abstract: Dimorphism is the capacity displayed by different fungi to grow in the form of yeast or mycelium, depending on the environmental conditions. It has long been believed that phase transition between yeast and mycelium is obligatory for pathogenicity in some dimorphic fungi, so dimorphism of fungi attracts a great deal of attention in recent years. Dimorphic transition is regulated by a variety of extracellular factors including physical factors, chemical factors and nutritional factors, and it is also regulated by intracellular signal transduction pathways such as cAMP-PKA, MAPK and Rim101. This review focuses on recent research progress on environmental factors and signal transduction pathways that affect dimorphism in fungi.

Keywords: Fungi, Dimorphism, Environmental factor, Signal transduction pathway

真菌二型态(Dimorphism)又称二型性、二相性或二型现象,是指真菌在环境因素的影响下而具有改变其形态的能力,通常是在酵母型(Yeast form)和菌丝型(Mycelium form)两种形态间发生互变^[1]。以酵母型生长意味着真菌通过芽殖或裂殖分裂形式来产生两个独立的细胞;而对菌丝型来说,分裂时核

分开后细胞并没有分开,后续过程决定菌丝型的形态分化为假菌丝型(Pseudohyphal form)或丝状体型(Hyphal form)。对某些真菌来说,子细胞间形成了明显的细胞壁,但是它们仍然连接在一起形成一连串长形细胞,称为假菌丝型;对另一些真菌而言,分裂后细胞连接处没有形成缢痕,称为丝状体型^[2]。

具有二型态现象的真菌很多, 接合菌、子囊菌、担子菌和半知菌中都有存在。玉米黑粉菌(*Ustilago maydis*)、白假丝酵母菌(*Candida albicans*)、酿酒酵母菌(*Saccharomyces cerevisiae*)、银耳(*Tremella fuciformis*)等是一些典型二型态真菌^[3-5]。研究表明, 一些二型态病原真菌形态的转换与其感染性和致病性密切相关。如白假丝酵母菌的菌丝型细胞对入侵寄主是必须的, 不能形成菌丝的突变体, 其致病能力降低或消失^[4]。也即对某些二型态致病真菌而言, 形态转换的过程可能伴随着入侵与粘附细胞、分泌胞外蛋白酶等致病过程^[6]。因此, 从实践的观点来说, 研究二型态现象对进一步阐明真菌致病机理具有十分重要的指导意义。本文就近年来影响真菌二型态的外界环境因子和内部信号转导途径等方面的研究进展综述如下。

1 真菌二型态环境影响因子

二型态真菌形态转换过程中转型生长的最初启动因子是受环境条件影响的。对不同真菌来说, 形态转换需要不同的环境因子, 有些真菌依赖于单一因子就可以转变, 而有些则需要几种因子共同起作用。体外触发二型态真菌形态互变的环境因子大致可分为以下几类。

1.1 营养因子

影响真菌二型态的营养因子主要是指真菌生长过程中所必需的一些营养成分, 如碳源、氮源等。对酿酒酵母菌而言, 氮饥饿时细胞能够从酵母型转变为假菌丝型^[7]。而液态环境下的氮饥饿条件则抑制解脂酵母菌(*Yarrowia lipolytica*)菌丝型的形成。二糖、半乳糖和N-乙酰葡萄糖胺等能促进白假丝酵母菌菌丝型发育, 乙醇、甘油和 α -脱氧葡萄糖等抑制其菌丝型的发育^[8]。己糖是卷枝毛霉(*Mucor circinelloides*)酵母型形成所必需的^[9]。

1.2 化学因子

影响真菌二型态的化学因子是指体外诱导真菌形态转换时添加的一些化学物质, 其本身可能并非真菌生长所必不可少的物质。如脂类物质能促进玉米黑粉菌菌丝型生长, 而高级饱和脂肪酸与高级不饱和脂肪酸对白假丝酵母菌菌丝型发育的作用正好相反^[10]。荚膜组织胞浆菌(*Histoplasma capsulatum*)的二型态受温度控制, 但是控制其酵母型生长的基

因仅能在高温并且同时含巯基存在的培养条件下才能表达^[11]。某些特异的抗体物质能抑制白假丝酵母菌菌丝型的发育, 而血清、cAMP等对白假丝酵母菌的形态转换也有影响^[11]。

1.3 物理因子

物理因子常指培养温度、pH值以及培养时的气体环境等。Prakash报道当尿素、氯化铵、天门冬酰胺、谷氨酰胺等中的任意一种作为氮源时, 一定的CO₂浓度可促进白假丝酵母菌菌丝型生长^[12]。在严格无氧以及有己糖碳源存在的条件下, 卷枝毛霉以酵母型细胞存在; 而在有氧或微量氧的条件下则以菌丝型生长^[13]。巴西芽生菌(*Paracoccidioides brasiliensis*)是一种典型的依赖于温度的二型态真菌, 在20℃时呈菌丝型, 37℃时呈酵母型^[14]。自然pH条件下, 玉米黑粉菌以酵母型存在, 而在酸性条件下以菌丝型存在^[10]。

1.4 其它环境因子

除了上述3类因子外, 还存在一些其它环境因子也对真菌二型态起作用。在含葡萄糖、脯氨酸等的培养基中, 当接种量大于10⁶个孢子/mL时, 榆枯萎病菌(*Ceratocystis ulmi*)的细胞发育成酵母型; 相反, 当接种量小于10⁶个孢子/mL时, 细胞则成菌丝型^[15]。体外长时间保存真菌时, 不同的保存方法对真菌的二型态有一定影响^[16]。此外, 培养基的类型对二型态也有影响, 有些环境因子在液体和固体两种培养基中的作用效果并不相同^[16]。

2 真菌二型态信号转导途径

真菌的二型态除了受外界环境因子影响外, 还涉及到内部多条信号转导途径。对二型态真菌信号转导途径中信号识别的受体、组分和目标基因的研究有助于了解某些病原真菌侵染过程的分子机制。

2.1 cAMP-PKA途径

通过对酿酒酵母菌的研究, 已明确cAMP (cyclic adenosine monophosphate)-PKA (protein kinase K) 途径参与调节其形态转换的过程。在氮饥饿等营养条件的刺激下, 膜受体蛋白Gpr1和Mep2将信号传递至小G蛋白Ras2和Gpa2, Ras2和Gpa2可以激活腺苷酸环化酶生成cAMP。PKA全酶含2个催化亚基和2个调节亚基, 共有3个Tpk基因编码蛋白。调节亚基(Bcy1)上有cAMP结合位点, 当调节亚基与cAMP结合后, 催化亚基呈游离状态而具有活性,

其中Tpk2 可促进转录因子Sok2 和Flo8 的磷酸化, 从而促进菌丝型的生长^[7]。另外两个Tpk基因编码蛋白Tpk1 和Tpk3 对菌丝型生长起负调节作用^[17](见图 1)。

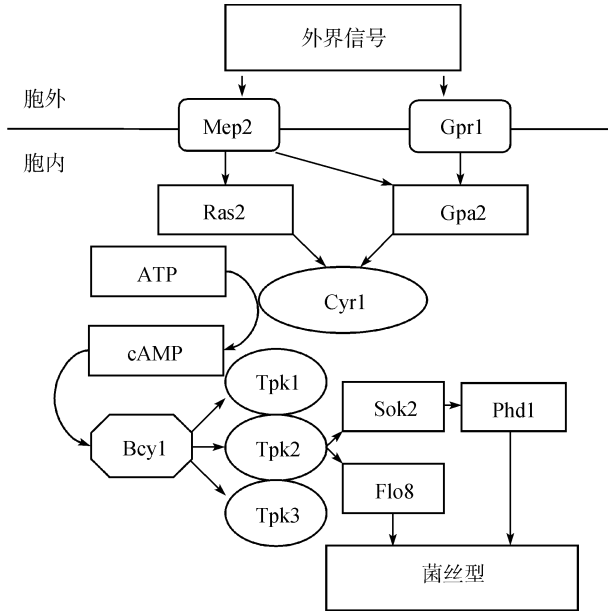


图 1 酿酒酵母菌 cAMP-PKA 信号转导途径
Fig. 1 cAMP-PKA signaling pathway in *S. cerevisiae*

2.2 MAPK 途径

MAPK (Mitogen activated protein kinase)是一组进化上高度保守的蛋白激酶, 在生物体中占有非常重要的地位。Liu等^[18]等最先发现MAPK途径在酿酒酵母菌的形态转换中有重要作用, 后又发现该途径与白假丝酵母菌的二型态也有关。

玉米黑粉菌具有双因子交配系统, 在交配型a、b因子的控制下, 具有不同极性的可亲合的酵母状细胞配对产生萌发管, 融合并形成双核菌丝。在玉米黑粉菌的二型态转换中也存在MAPK途径。其膜受体蛋白Pra1/2 为1个含 α 、 β 、 γ 3个亚基的G蛋白。外界信号作用于Pra1/2 并将其解离成G α 亚基和G β/γ 二聚体, G α 亚基参与cAMP途径, G β/γ 二聚体则参与MAPK途径, 但具体解离机制暂不清楚。下游因子Ubc4、Ubc5和Ubc3依次作为MAPKKK、MAPKK和MAPK而起作用, 从而进一步将信号放大。其中Ubc5和Ubc3分别与交配信息素信号途径因子Fuz7和Kpp2相同, 转录因子Prf1则参与调节交配型a、b因子的表达^[19,20](见图 2)。

2.3 Rim101 途径

外界pH值能显著影响白假丝酵母菌的形态分化, 这种对碱性pH的应答是由锌指蛋白转录因子

Rim101 介导的pH应答途径控制的。在白假丝酵母菌Rim101 途径中, Rim9p 和Rim21p作为膜上受体感受外界pH信号, 但目前还不能肯定Rim9p是该途径的成员。Rim8p是1个未知功能蛋白^[21]。Rim20p与Rim101p的C末端结构域相互作用, 并且可能作为1个支架蛋白使得Rim13p准确识别全长Rim101p的酶切位点。Rim13p与钙蛋白酶(Calpain proteases)具有很高的同源性, 在Rim101p途径中起蛋白水解酶的作用。在碱性pH时, 全长的Rim101p在Rim13p的作用下, 水解去除C端富含D/E的区域, 加工后的Rim101p才具有活性^[22](见图 3)。

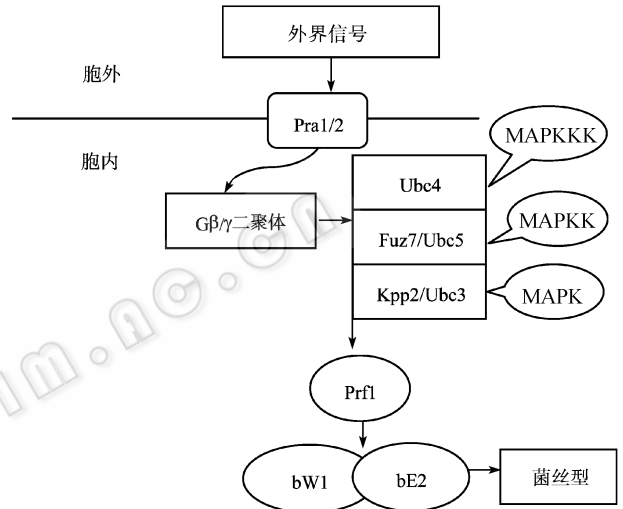


图 2 玉米黑粉菌 MAPK 信号转导途径
Fig. 2 MAPK signaling pathway in *U. maydis*

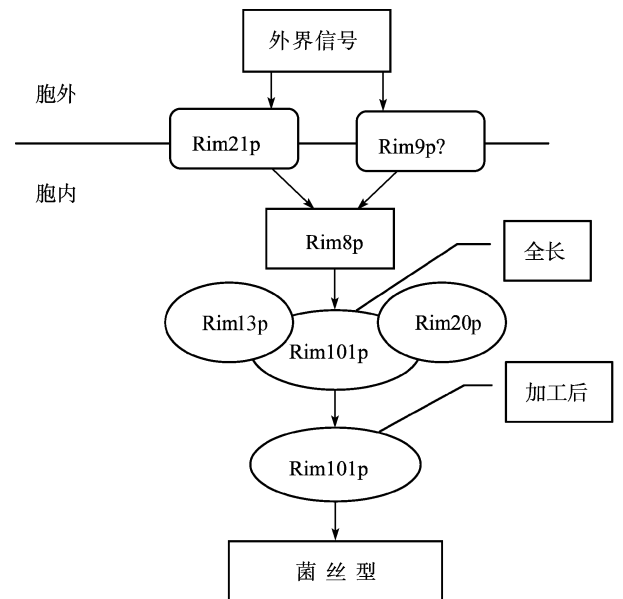


图 3 白假丝酵母菌 Rim101 信号转导途径
Fig. 3 Rim101 signaling pathway in *C. albicans*

酵母菌的形态转换也与 Rim101 途径有关, 但其 Rim101p 的酶解加工过程与白假丝酵母菌有区别^[23]。

2.4 其它途径

除上述 3 种主要信号转导途径外, 还有一些信号转导途径也与二型态有关。例如双组分(Two-component)组氨酸激酶信号转导途径。在白假丝酵母菌中, 双组分途径可以调节菌丝的形成, 对菌株毒力也有一定影响, 还可能参与调节细胞内的氧化应激反应^[24]; 而Tup1介导的负调控信号途径则能显著负向调控白假丝酵母菌的菌丝形成, 该途径是在能阻遏转录的特异DNA接合蛋白CaTup1介导下由CaNrg1和CaRfg1共同完成的^[25]。

3 小结及展望

除上述环境因子和信号转导途径是目前真菌二型态的研究热点外, 国内外对二型态还有一些其他方面的研究, 主要集中在以下几个方面:(1) 真菌二型态基因水平上的研究。通过SSH、EST和微阵列等技术得到与二型态发育相关的基因。如近年来已分离到许多只在白假丝酵母菌菌丝型细胞中专一表达的基因^[26]。(2) 二型态相关感受和效应蛋白的研究。通过双向电泳和质谱技术相接合, 分离鉴定二型态相关感受和效应蛋白^[27,28]。(3) 二型态真菌细胞壁构成的研究。研究表明巴西芽生菌酵母型细胞中壁多糖成分主要是 α -1,3-葡聚糖, 而菌丝型中主要是 β -1,3-葡聚糖^[29]。(4) 其它生理生化研究。对银耳酵母型和菌丝型细胞的酯酶、过氧化物酶和多酚氧化酶进行同工酶电泳分析时发现形态的转换伴随了同工酶的变化^[5]。对白假丝酵母菌来说, 相变的同时表达于细胞表面的抗原也有量的变化^[30]。

尽管对真菌二型态的环境因子和信号转导途径等方面已经展开了不少卓有成效的工作, 但迄今为止依然存在许多不明的地方: 各二型态真菌中信号转导途径是否相似、信号转导途径中的上下游组分是否保守、如何控制细胞形态变化相关的信号转导途径的启动、胞外信号通过何种感受受体激活体内的信号途径、被激活的信号途径与菌丝型细胞极性生长之间的关系如何、外界信号受体是否可作为药物作用的靶位以便扰乱其信号转导过程从而达到抗真菌的目的、引导真菌细胞形态变化的靶位酶有哪

些以及这些酶如何进行调节、酵母型和菌丝型细胞间某些基因序列的差异是否同耐药有关等等。相信这些问题将成为未来真菌二型态研究的热点问题。

此外, 正如前文图 2 所述, 玉米黑粉菌 MAPK 途径成员 Ubc5 和 Ubc3 分别与其交配信息素信号途径成员 Fuz7 和 Kpp2 相同, 这可能意味着玉米黑粉菌 MAPK 途径与其交配途径存在一定联系, 因此, 研究不同信号途径之间的交叉互动也应该是一个值得重视的新的研究方向。

参 考 文 献

- [1] López CE. Dimorphism and pathogenesis of *Histoplasma capsulatum*. *Rev Argent Microbiol*, 2006, **38**(4): 235–242.
- [2] Nemecek JC, Wüthrich M, Klein B. Global control of dimorphism and virulence in fungi. *Science*, 2006, **312**(5773): 583–588.
- [3] Marques ER, Ferreira MES, Drummond RD. Identification of genes preferentially expressed in the pathogenic yeast phase of *Paracoccidioides brasiliensis*, using suppression subtraction hybridization and differential macroarray analysis. *Mol Genet Genomics*, 2004, **271**(6): 667–677.
- [4] Lo HJ, Köhler JR, DiDomenico B, et al. Nonfilamentous *Candida albicans* mutants are avirulent. *Cell*, 1997, **90**(5): 939–949.
- [5] 刘娟, 马爱民, 盛桂华, 等. 银耳二型态细胞差异性的初步研究. *微生物学通报*, 2007, **34**(5): 880–884.
- [6] Nunes LR, Costa de Oliveria R, Leite DB, et al. Transcriptome analysis of *Paracoccidioides brasiliensis* cells undergoing mycelium-to-yeast transition. *Eukaryot Cell*, 2005, **4**(12): 2115–2128.
- [7] Pan X, Heitman J. Cyclic AMP-dependent protein kinase regulates pseudohyphal differentiation in *Saccharomyces cerevisiae*. *Mol Cell Biol*, 1999, **19**(7): 4874–4887.
- [8] Herrero AB, Lopez MG, Lago LF, et al. *Candida albicans* and *Yarrowia lipolytica* as alternative models for analyzing budding patterns and germ tube formation in dimorphic fungi. *Microbiology*, 1999, **145**(10): 2727–2737.
- [9] Wolff AM, Arnaul J. Cloning of glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase-encoding genes in *Mucor circinelloides* (Syn. *racemosus*) and use of the *gpd1* promoter for recombinant protein production. *Fungal Genet Biol*, 2002, **35**(1): 21–29.
- [10] Klose J, Sa MM, Kronstad JW. Lipid-induced filamentous growth in *Ustilago maydis*. *Mol Microbiol*, 2004, **52**(3): 823–835.
- [11] Oh KB, Miyazawa H, Naito T, et al. Purification and characterization of an autoregulatory substance capable of regulating the morphological transition in *Candida albi*

- cans. PNAS*, 2001, **98**(8): 4664–4668.
- [12] Prakash P, Solanki A, Joshi KR. A simple synthetic liquid medium for development of yeast and mycelial form of pathogenic species of *Candida albicans*. *Indian J Pathol Microbiol*, 1997, **40**(1): 55–58.
- [13] Blasco JL, Garcia-Sanchez MA, Ruiz-Herrera JR, *et al.* A gene coding for ornithine decarboxylase (*odcA*) is differentially expressed during the *Mucor circinelloides* yeast-to-hypha transition. *Res Microbiol*, 2002, **153**(3): 155–164.
- [14] Bastos KP, Bailão AM, Borges CL, *et al.* The transcriptome analysis of early morphogenesis in *Paracoccidioides brasiliensis* mycelium reveals novel and induced genes potentially associated to the dimorphic process. *BMC Microbiol*, 2007, **7**: 29 Doi: 10.1186/1471-2180-7-29.
- [15] Hornby JM, Jacobitz-Kizzier SM, McNeel DJ, *et al.* Inoculum size effect in dimorphism fungi: extracellular control of yeast-mycelium dimorphism in *Ceratocystis ulmi*. *Appl Environ Microb*, 2004, **70**(3): 1356–1359.
- [16] Ferreti de Lima R, de Moraes Borba C. Viability, morphological characteristics and dimorphic ability of fungi preserved by different methods. *Rev Iberoam Micol*, 2001, **18**(4): 191–196.
- [17] Truckses DM, Garrenton LS, Thorner J. Jekyll and Hyde in the microbial world. *Science*, 2004, **306**(5701): 1509–1511.
- [18] Liu H, Kohler J, Fink GR. Suppression of hyphal formation in *Candida albicans* by mutation of a *STE12* homolog. *Science*, 1994, **266**(5191): 1723–1726.
- [19] Bölker M. *Ustilago maydis* - a valuable model system for the study of fungal dimorphism and virulence. *Microbiology*, 2001, **147**(6): 1395–1401.
- [20] Böhmer M, Colby T, Böhemr C, *et al.* Proteomic analysis of dimorphic transition in the phytopathogenic fungus *Ustilago maydis*. *Proteomics*, 2007, **7** (5): 675–685.
- [21] Li M, Martin SJ, Bruno VM, *et al.* *Candida albicans* Rim13p, a protease required for Rim101p processing at acidic and alkaline pHs. *Eukaryot Cell*, 2004, **3**(3): 741–751.
- [22] Davis D. Adaptation to environmental pH in *Candida albicans* and its relation to pathogenesis. *Curr Genet*, 2003, **44**(1): 1–7.
- [23] Penalva MA, Arst HN. Regulation of gene expression by ambient pH in filamentous fungi and yeasts. *Microbiol Mol Biol Rev*, 2002, **66**(3): 426–446.
- [24] Nemecek JC, Wüthrich M, Klein BS. Detection and measurement of two-component systems that control dimorphism and virulence in fungi. *Method Enzymol*, 2007, **422**: 465–488.
- [25] Khalaf RA, Zitomer RS. The DNA binding protein Rfg1 is a repressor of filamentation in *Candida albicans*. *Genetics*, 2001, **157**(4): 1503–1512.
- [26] Zahiri AR, Babu MR, Saville BJ. Differential gene expression during teliospore germination in *Ustilago maydis*. *Mol Genet Genomics*, 2005, **273**(5): 394–403.
- [27] Hernandez R, Nombela C, Diez-Orejas R, *et al.* Two-dimensional reference map of *Candida albicans* hyphal forms. *Proteomics*, 2004, **4**(2): 374–382.
- [28] Thomas DP, Pitarch A, Monteoliva L, *et al.* Proteomics to study *Candida albicans* biology and pathogenicity. *Infect Disord Drug Targets*, 2006, **6**(4): 335–342.
- [29] Klein BS, Tebbets B. Dimorphism and virulence in fungi. *Curr Opin Microbiol*, 2007, **10**: 1–6.
- [30] Ashman RB, Papadimitriou JM, Ott AK, *et al.* Antigens and immune responses in *Candida albicans* infection. *Immunol Cell Biol*, 1990, **68**(1): 1–3.

稿件书写规范

论文中阿拉伯数字的使用

凡是可以使用阿拉伯数字且很得体的地方均应使用阿拉伯数字。世纪、年代、年、月、日、时刻必须使用阿拉伯数字，年份必须用全称。对科技期刊来说，凡处在计量单位和计数单位前面的数字，包括9以下的各位数字，除个别特例外，均应使用阿拉伯数字。不是表示科学计量和有统计意义数字的一位数可以用汉字，例如：一本教材、两种商品等。