

## 丝状真菌 G 蛋白信号途径的研究进展

李利<sup>1\*</sup> 陈莎<sup>2</sup> 毛涛<sup>3</sup> 陈福生<sup>4</sup>

(1. 长江大学 生命科学学院 湖北 荆州 434025)

(2. 长江大学图书馆 湖北 荆州 434023)

(3. 中国水产科学研究院 长江水产研究所 湖北 武汉 430223)

(4. 华中农业大学 食品科学与技术学院 湖北 武汉 430070)

**摘 要:** 丝状真菌在工业、农业、医药等领域具有重要经济价值, 一些亦可导致人类及动植物疾病, 造成经济损失。G 蛋白信号途径是真核生物中普遍存在的细胞跨膜信号转导途径。近年来, 丝状真菌中 G 蛋白信号途径的研究发展很快, 相关报道表明该信号途径参与感应并传递多种胞外信号刺激, 对丝状真菌的生长、分化、繁殖、致病性及真菌毒素等次生代谢产物合成有重要的调控作用。本文就丝状真菌中 G 蛋白信号途径的基本组成及其生理功能的研究现状进行简要综述。

**关键词:** 丝状真菌, G 蛋白信号途径, 生长, 繁殖, 致病性, 真菌毒素

## Heterotrimeric G-protein signaling in filamentous fungi: a review

LI Li<sup>1\*</sup> CHEN Sha<sup>2</sup> MAO Tao<sup>3</sup> CHEN Fu-Sheng<sup>4</sup>

(1. College of Life Science, Yangtze University, Jingzhou, Hubei 434025, China)

(2. Library of Yangtze University, Jingzhou, Hubei 434023, China)

(3. Yangze River Fisheries Research Institute, Chinese Academy of Fishery Sciences, Wuhan, Hubei 430223, China)

(4. College of Food Science and Technology, Huazhong Agricultural University, Wuhan, Hubei 430070, China)

**Abstract:** Filamentous fungi are of great economic importance in industry, agriculture and medicine. On the other hand, some of them can infect human, animals and plants which caused huge

\*通讯作者: Tel: 86-716-8066712; ✉: lily2012@yangtzeu.edu.cn

收稿日期: 2012-10-22; 接受日期: 2013-02-04

economic losses. G protein signaling pathways are conserved in all eukaryotes for the transmembrane signaling transduction. To date, in fungi, G protein signaling and its regulation have been intensively studied. It has been demonstrated that G protein signaling pathways play an important role in sense and respond to various external signals which essential for the regulation of growth, development, reproduction, pathogenesis and secondary metabolite biosynthesis. This review summarized recent advances in the understanding of the basic components and biological functions of G protein signaling pathways in filamentous fungi.

**Keywords:** Filamentous fungi, G protein signaling pathway, Growth, Reproduction, Pathogenesis, Mycotoxin

1993 年, Turner 等<sup>[1]</sup>从模式真菌粗糙脉孢菌 (*Neurospora crassa*) 中克隆得到 2 个 G 蛋白  $\alpha$  亚基 *gna-1* 和 *gna-2*。这是丝状真菌中 G 蛋白信号途径相关基因的第一篇报道。虽然相对动、植物而言, 丝状真菌中 G 蛋白信号途径的研究起步较晚, 但近年来发展很快, 该途径在丝状真菌生长、分化、繁殖、次生代谢及致病性等多方面的调控作用已经在不同种属中得到证实, 如粗糙脉孢菌、构巢曲霉 (*Aspergillus nidulans*) 等模式真菌; 稻瘟菌 (*Magnaporthe grisea*)、板栗疫病菌 (*Cryphonectria parasitica*) 等植物病原菌; 烟曲霉 (*A. fumigatus*) 等人类致病菌; 以及红色红曲菌 (*Monascus ruber*) 等工业真菌<sup>[2-6]</sup>。本文就丝状真菌中 G 蛋白信号途径的基本组成及生理功能的研究现状进行简要综述。

## 1 丝状真菌 G 蛋白信号途径的基本组成

G 蛋白偶联系统由 4 部分组成: G 蛋白偶联受体 (G protein coupled receptor, GPCR)、异三聚体 G 蛋白 (Heterotrimeric G protein, 简称 G 蛋白)、下游效应因子 (Effector)、以及信号调节蛋白 (Regulator)<sup>[2-3,7-8]</sup>。其中, 每部分又包括多个蛋白组分 (图 1)。

### 1.1 G 蛋白偶联受体

基因组序列分析发现, 模式真菌粗糙脉孢菌中至少存在 10 个 G 蛋白偶联受体编码基因, 根据同源性可以将这 10 个受体基因分为 5 个类群, 其中 2 个与酵母菌信息素受体 (Pheromone receptor) 同源; 3 个与 cAMP 受体 (cAMP receptor) 相似;

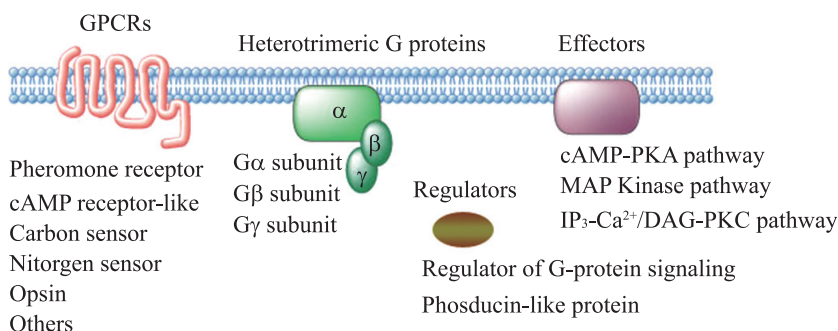


图 1 G 蛋白偶联系统的基本组成部分

Fig. 1 The basic components of the G protein signaling system

1 个与酵母菌碳源感应因子(Carbon sensor)同源; 2 个与古细菌视蛋白(Archaeal opsin)同源; 2 个与酵母菌氮源感应因子(Nitrogen sensor)同源<sup>[9]</sup>。Li 等<sup>[2]</sup>以粗糙脉孢菌的这 5 个类群为依据, 分析了 17 种丝状真菌基因组中的 G 蛋白偶联受体, 发现这 5 类受体在丝状真菌中普遍存在, 此外, 子囊菌纲(Ascomycete)和担子菌纲(Basidiomycetes)的一些种属还存在其它种类的 G 蛋白偶联受体(图 1)。

**1.1.1 信息素受体:** 最先报道的真菌信息素受体是酿酒酵母(*Saccharomyces cerevisiae*)中的 Ste2p 和 Ste3p<sup>[10]</sup>。子囊菌纲的丝状真菌中广泛存在类似于 Ste2p 和 Ste3p 的信息素受体; 担子菌纲中却只有类似于 Ste3p 的受体; 接合菌纲(Zygomycete)的米根霉(*Rhizopus oryzae*)基因组注释中, 没有发现任何同源的信息素受体基因。

**1.1.2 类 cAMP 受体:** 丝状真菌中类 cAMP 受体(cAMP receptor-like, CRL)的数量变化很大, 1–5 个不等, 如土曲霉(*A. terreus*)有 1 个, 构巢曲霉有 2 个, 烟曲霉有 3 个, 禾谷镰刀菌(*Fusarium graminearum*)有 5 个<sup>[2]</sup>。粗糙脉孢菌的 GPR-1 是子囊菌纲真菌中鉴定到的第一个类 cAMP 受体<sup>[11]</sup>。但是, 同为真菌的酿酒酵母和裂殖酵母(*Schizosaccharomyces pombe*)中, 并不存在类 cAMP 受体的 G 蛋白偶联受体。

**1.1.3 碳源感应因子:** Gpr1p 是酿酒酵母中具有感应碳源功能的 G 蛋白偶联受体, 大部分丝状真菌的基因组中均预测存在 Gpr1p 的同源蛋白<sup>[2]</sup>。粗糙脉孢菌的 GPR-4 是丝状真菌中首个鉴定的 Gpr1p 同源受体, 且参与碳源感应<sup>[12]</sup>。烟曲霉中与 Gpr1p 同源的 2 个受体 GprC 和 GprD 的功能也得到了鉴定, 但 GprC 和 GprD 不参与碳源感应, 而是与胁迫信号如温度、活性氧等的感应相关<sup>[13]</sup>。

**1.1.4 氮源感应因子:** Stm1 是裂殖酵母中与氮源

感应相关的 G 蛋白偶联受体<sup>[14]</sup>。这类受体在丝状真菌的基因组中广泛存在, 且相当保守, 都含有 PQ loop 重复结构<sup>[15]</sup>。但至今, 丝状真菌这类受体的功能鉴定还鲜见报道。

**1.1.5 真菌视蛋白:** 视蛋白(Opsin)是一种光敏感的 G 蛋白偶联受体。1999 年, Bieszke 等<sup>[16–17]</sup>报道了粗糙脉孢菌中的视蛋白 NOP-1, 这是真核微生物中报道的第一个视蛋白, 与古细菌的视蛋白同源性达 81%。在 Li 等分析的 17 种丝状真菌中, 除灰盖鬼伞(*Coprinus cinereus*)和米根霉外, 其它丝状真菌注释的基因组中均发现了这类受体蛋白<sup>[2]</sup>。

**1.1.6 其它类型的 G 蛋白偶联受体:** 稻瘟菌的基因组中预测到了 3 类新的 G 蛋白偶联受体。一类与稻瘟菌致病蛋白 PTF11 相似性很高, 子囊菌纲的丝状真菌基因组中一般都存在这类受体, 且数量很多, 其中稻瘟菌有 60 个, 粗糙脉孢菌有 25 个, 担子菌纲的新型隐球菌(*Cryptococcus neoformans*)只有 1 个, 而玉米黑粉菌(*Ustilago maydis*)没有; 另一类与人类 mPR 激素受体相似, 子囊菌和担子菌中都存在这类受体, 一般 2–3 个; 第三类与鼠类的生长激素释放因子(MG00532)有弱同源性, 子囊菌基因组预测存在单个这类受体, 而在担子菌中没有预测到。此外, 还有拟南芥 AtRGS1 同源受体, 构巢曲霉的 Gprk 即为这类受体, 其特点是在其细胞质部分含有 1 个 RGS 结构域, 这类受体同样存在于其它子囊菌纲丝状真菌的基因组中<sup>[2,7]</sup>。

## 1.2 异三聚体 G 蛋白

异三聚体 G 蛋白由  $\alpha$ 、 $\beta$  和  $\gamma$  3 个亚基组成(图 1)。哺乳动物至少有 23 个  $G\alpha$  亚基, 6 个  $G\beta$  亚基和 12 个  $G\gamma$  亚基; 而在丝状真菌中, 大部分只有 3 个  $G\alpha$  基因, 1 个  $G\beta$  基因和 1 个  $G\gamma$  基因<sup>[2,18]</sup>。

**1.2.1  $G\alpha$  亚基:** 聚类分析表明, 丝状真菌的  $G\alpha$  亚基分为 3 个类群, 3 个  $G\alpha$  亚基分别属于不同的类群<sup>[2,4]</sup>。第 I 类群(Group I)和第 III 类群(Group

Ⅲ)  $G\alpha$  亚基氨基酸序列在不同种属间高度保守, 第Ⅱ类群(Group Ⅱ)的保守性不及前两类群。第Ⅰ类群  $G\alpha$  亚基目前研究最热、功能最多, 参与营养生长、有性繁殖、无性繁殖、致病性和真菌毒素合成等多种生理过程<sup>[2,4]</sup>。粗糙脉孢菌的  $GAN-1$ <sup>[1]</sup>、构巢曲霉的  $FadA$ <sup>[19]</sup>、小麦赤霉菌(*Gibberella zeae*)的  $GzGPA1$ <sup>[15]</sup>等都属于第Ⅰ类群  $G\alpha$  亚基, 该类群与哺乳动物  $G\alpha_i$  的同源性较高, 且羧基末端含有哺乳动物  $G\alpha_i$  亚基的特征性保守结构——百日咳毒素的 ADP 核糖基化位点(MGXXXS)<sup>[20]</sup>, 氨基末端含有豆蔻酰基化位点(MGXXXS)。第Ⅲ类  $G\alpha$  亚基的活化能使胞内 cAMP 升高, 因而被认为是哺乳动物  $G\alpha_s$  的类似物<sup>[4]</sup>, 构巢曲霉的  $GanB$  属于该类群。 $GanB$  通过参与胞外碳源的信号感应, 负调控无性产孢过程, 正调控孢子萌发<sup>[21]</sup>。第Ⅱ类群  $G\alpha$  亚基的研究报道较少, 功能也不明显。例如, 敲除灰葡萄孢菌(*Botrytis cinerea*)  $bcg-2$ , 菌落形态无明显变化, 致病性只有略微降低<sup>[22]</sup>; 构巢曲霉的  $ganA$  敲除后, 菌落形态也与野生型菌株一致, 其具体功能目前还未得到阐述<sup>[3,23]</sup>。

**1.2.2  $G\beta$  亚基:** 丝状真菌中的  $G\beta$  在不同种属间高度保守, 一致性为 66%–92%, 但与酵母菌  $G\beta$  的同源性不高, 与酿酒酵母的一致性为 38%, 与裂殖酵母的一致性为 45%<sup>[2]</sup>。尽管大多数丝状真菌只有 1 个  $G\beta$  亚基, 但米根霉的基因组中发现了 4 个  $G\beta$  基因。丝状真菌  $G\beta$  的缺失突变, 能导致营养生长、有性生殖和无性生殖等多方面的缺陷<sup>[15,23–27]</sup>。此外, 粗糙脉孢菌的研究表明,  $G\beta$  对 G 蛋白复合体的形成、及  $G\alpha$  和  $G\gamma$  的稳定性至关重要<sup>[26,28]</sup>。

**1.2.3  $G\gamma$  亚基:** 丝状真菌一般只有 1 个  $G\gamma$  亚基, 其蛋白质一般由约 100 个氨基酸残基组成, 在不同种属间的一致性为 39%–92%<sup>[2]</sup>。目前只发现新型隐球菌、灰盖鬼伞、柄孢霉(*Podospora anserina*)

和米根霉有 1 个以上的  $G\gamma$  亚基<sup>[2]</sup>。敲除粗糙脉孢菌的  $G\gamma$  基因  $gng-1$ , 其表型与  $G\beta$  基因  $gnb-1$  敲除子一样, 分生孢子产生异常, 不产生有性生殖结构、胞内 cAMP 水平降低<sup>[28]</sup>。

### 1.3 调节蛋白

G 蛋白信号调节子(Regulators of G protein signaling, RGS)是一种 GTPase 激活蛋白(GTPase activating protein, GAP), 通过增强  $G\alpha$  亚基 GTPase 活性, 加速与  $G\alpha$  结合的 GTP 的分解, 从而负调节 G 蛋白信号转导。构巢曲霉有 4 个 RGS 蛋白, 分别为  $FlbA$ 、 $RgsA$ 、 $RgsB$  和  $RgsC$ 。 $FlbA$  通过负调节第Ⅰ类  $G\alpha$  亚基  $FadA$  来调控营养生长和无性产孢<sup>[29]</sup>;  $RgsA$  通过负调节第Ⅲ类  $G\alpha$  亚基  $GanB$  来调控菌落生长速度、气生菌丝和色素的产生<sup>[23]</sup>; 关于  $RgsB$  和  $RgsC$  的功能研究还鲜见报道。

另一类 G 蛋白信号调节蛋白是类光传感因子蛋白(Phosducin-like proteins, PhLPs)。PhLPs 是一类通过正调节  $G\beta\gamma$  亚基而参与到 G 蛋白信号转导途径中的调节蛋白<sup>[3]</sup>。构巢曲霉中有 3 个 PhLPs, 分别为  $PhnA$ 、 $PhnB$  和  $PhnC$ , 其中  $PhnA$  与板栗疫病菌的  $G\beta\gamma$  激活蛋白  $Bdm-1$  相似<sup>[30]</sup>。Seo 和 Yu (2006)发现  $phnA$  位于 VIII 号染色体上与  $G\beta$  基因  $sfaD$  紧密相邻的位置, 仅距 1.4 kb;  $phnA$  敲除菌株的表型与  $\Delta sfaD$  菌株一样, 包括生物量减少、过度产孢、有性繁殖受阻。 $PhnB$  和  $PhnC$  的功能研究还鲜见报道。在传统食品发酵真菌红色红曲菌 M-7 的基因组中, 笔者预测分析发现,  $sfaD$  的同源基因  $Mgbl$  下游, 距其终止密码子 1 298 bp 处, 有一个 1 031 bp 长的 ORF, 其编码的蛋白质序列含有  $G\beta$  亚基的作用位点和 Phd-like 结构域, 且与构巢曲霉  $PhnA$  相似性达 68%, 推测其与  $PhnA$  同源, 是红色红曲菌中的 PhLP<sup>[31]</sup>。

### 1.4 下游效应因子

活化的 G 蛋白主要通过 3 条信号通路进行信

号传递: cAMP-PKA 途径、MAP (Mitogen activated protein) 激酶途径和  $\text{IP}_3\text{-Ca}^{2+}$ /DAG-PKC 途径<sup>[3]</sup>。丝状真菌的相关研究中发现这些信号通路分别参与碳/氮感应和信息素应答等过程<sup>[2]</sup>。

cAMP-PKA 途径的主要组分有腺苷酸环化酶和 PKA, 其中 PKA 由催化亚基和调节亚基两部分组成。腺苷酸环化酶活化后催化产生第二信使 cAMP, cAMP 与 PKA 的调节亚基结合, 从而活化 PKA 的催化亚基, 引起下游目标蛋白的磷酸化。构巢曲霉腺苷酸环化酶 *cyaA*, PKA 的催化亚基 *pkaA* 和 *pkaB* 的功能研究均有报道<sup>[32-33]</sup>。此外, 在植物致病真菌中, 如玉米黑粉病菌(*Ustilago maydis*)、小麦壳针孢(*Mycosphaerella graminicola*)、盘长孢状刺盘孢(*Colletotrichum trifolii*)、稻梨孢(*Pyricularia oryzae*)和核盘菌(*Sclerotinia sclerotiorum*)等, 亦有大量关于 PKA 和腺苷酸环化酶的报道。

MAP 激酶, 即促分裂原活化蛋白激酶, 是一种 Ser/Thr 蛋白激酶。MAP 激酶途径由 MAPKKK (MAP3K)、MAPKK (MAP2K)和 MAPK 3 类激酶组成的三酶级联反应系统调控, 即通过 MAP3K、MAP2K 和 MAPK 依次磷酸化将上游信号传递至下游应答分子。在植物病原真菌中发现了 PMK1、MPS1 和 OSM1 等 3 条 MAP 激酶途径, 它们参与孢子萌发、附着胞形成、菌丝生长、无性繁殖、有性交配、渗透胁迫调节、致病性的产生等过程<sup>[34-36]</sup>。板栗疫病菌和稻瘟病菌的相关研究表明丝状真菌能采取类似于酿酒酵母信息素应答的方式, 通过  $\text{G}\beta$  将信号传递给 MAP 激酶途径, 调控有性繁殖过程<sup>[25,27]</sup>。

$\text{IP}_3\text{-Ca}^{2+}$ /DAG-PKC 途径的主要组分有磷脂酶 C (PLC)、蛋白激酶 C (PKC)、钙调素(CaM)和钙调磷酸酶(CaN)等。Chung 等从板栗疫病菌中克隆到了 PLC 编码基因 *cplc1*, 并验证了其在致病

过程中的作用<sup>[14]</sup>。Schumacher 等克隆了灰葡萄孢中的 2 个 PLC 基因, 并发现  $\text{G}\alpha$  亚基 BCG1 与其中的 1 个 PLC 基因 BcPLC1 及下游的钙调素激酶基因协调作用, 构成  $\text{IP}_3\text{-Ca}^{2+}$ 途径的重要组分<sup>[37]</sup>。关于丝状真菌的钙调素和钙调素激酶的鉴定也有少量报道<sup>[38-39]</sup>。

## 2 丝状真菌 G 蛋白信号途径参与的生理过程

### 2.1 感应外界的营养物质成分

营养物质能给微生物提供生命活动所必需的能量、以及合成菌体和代谢产物的原料, 还参与调节代谢活动的正常进行。目前, G 蛋白信号途径在碳、氮源感应中的作用研究较多。如图 2 所示, 丝状真菌主要通过第 III 类  $\text{G}\alpha$  亚基感应碳源, 将信号传递给下游 cAMP 信号通路, 进而激活孢子萌发、生长、分化、有性繁殖等多种生理过程, 但是目前参与该过程的 GPCR 受体却不明确; 此外, 某些真菌的第 III 类  $\text{G}\alpha$  亚基除参与碳源感应外, 还可以被其他 GPCR 受体激活, 参与氨基酸类氮源的感应。

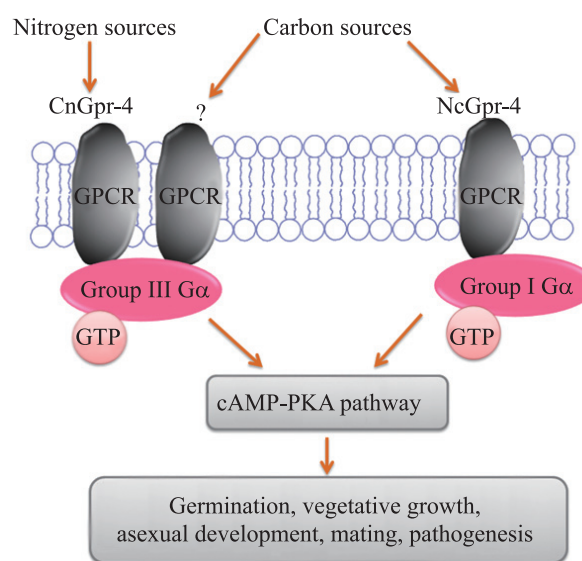


图 2 G 蛋白信号途径介导的营养物质感应  
Fig. 2 G protein-mediated nutrient sensing



2004 年, Chang 等<sup>[21]</sup>发现构巢曲霉的第Ⅲ类  $G\alpha$  亚基 GanB 参与调控孢子萌发; 2005 年, Lafon 等<sup>[40]</sup>在后续研究中发现 GanB 与  $G\beta$  亚基 SfaD 和  $G\gamma$  亚基 GpgA 组成的异三聚体 G 蛋白 GanB-SfaD-GpgA 能通过感应碳源的刺激, 使胞内 cAMP 迅速升高, 引起孢子萌发。ganB、sfaD 和 gpgA 任一基因的缺失突变菌株的孢子萌发率均显著低于野生型菌株; 且 ganB 可能还参与到除葡萄糖以外其它碳源的感应中, 如甘油、乙醇、半乳糖和果糖等<sup>[40]</sup>。此外, 灰霉菌 (*Botrytis cinerea*) 的第Ⅲ类  $G\alpha$  亚基 BCG3 也参与碳源诱导的孢子萌发过程<sup>[41]</sup>。马尔尼菲青霉 (*Penicillium marneffeii*) 的第Ⅲ类  $G\alpha$  亚基 GasC 虽然也与孢子萌发相关, 但未参与碳源感应过程<sup>[42]</sup>。

新型隐球菌的第Ⅲ类  $G\alpha$  亚基 gal1 也参与营养物质的感应, 通过 cAMP-PKA 途径影响致病因子黑色素(Melanin)和多糖荚膜(Capsule)的产生、以及交配(Mating)等过程。Alspaugh 等<sup>[43]</sup>发现, 饥饿处理后, 再向培养基中加入葡萄糖, 能导致新型隐球菌胞内 cAMP 含量急速升高, 即葡萄糖能诱导 cAMP 合成。但是 gal1 或腺苷酸环化酶基因 cac1 的缺失突变株饥饿处理后加入葡萄糖, 没有检测到胞内 cAMP 的变化; 同时向培养基中补充 cAMP, 能使缺失突变株致病因子黑色素和多糖荚膜的缺陷发生回复<sup>[43]</sup>。Xue 等<sup>[44]</sup>发现 gal1 与 G 蛋白偶联受体 Gpr4 (CnGpr-4)作用, 还参与氮源感应(图 2)。氮源甲硫氨酸作为配基, 与 G 蛋白偶联受体 Gpr4 结合, 激活 Gpr4, 通过  $G\alpha$  亚基 gal1, 将信号传到 cAMP-PKA 途径, 正调控多糖荚膜的产生和交配过程。与新型隐球菌 Gpr4 不同, 粗糙脉孢菌的同源受体 Gpr-4 (NcGpr-4)调控碳源感应, 而不是氮源感应<sup>[12]</sup>。在含劣质碳源 (Poor carbon source)甘油的培养基中,  $\Delta gpr-4$  生物量的积累减少; 且将其转移到葡萄糖为碳源的培养基中, 没有观察到 cAMP 含量的升高, 而在野

生型菌株中却检测到 cAMP 水平的升高<sup>[12]</sup>。此外, 酵母双杂交实验表明, 与粗糙脉孢菌 Gpr-4 受体存在互作的是第Ⅰ类  $G\alpha$  亚基 GAN-1, 而不是前面提到的第Ⅲ类  $G\alpha$  亚基<sup>[12]</sup>, 这是目前丝状真菌第Ⅰ类  $G\alpha$  亚基参与感应营养物质的唯一报道(图 2)。

## 2.2 感应信息素进行有性繁殖

酿酒酵母的信息素应答已经得到深入的研究, 该应答系统包括肽类信息素  $\alpha$  因子和 a 因子、信息素受体 Ste2p 和 Ste3p, 异三聚体 G 蛋白 Gpa1p/Ste4p/Ste18p, 以及下游 MAP 激酶途径<sup>[45]</sup>。基因组分析表明, 许多丝状真菌都有这些保守的信号转导组分<sup>[2,7,9]</sup>, 在有性繁殖过程, 肽类信息素与细胞膜上的信息素受体结合, 活化的信息素受体激活第Ⅰ类  $G\alpha$  亚基和  $G\beta\gamma$  二聚体, 通过 MAP 激酶途径引起交配相关基因表达量的改变(图 3)。

粗糙脉孢菌的有性生殖属于异宗配合, 有 2 种不同的结合型 A 和 a。氮源匮乏能诱导分化雌性生殖结构原子囊壳(Protoperithecia), 当从原子囊壳上生长出的特化菌丝受精丝(Trichogyne)接

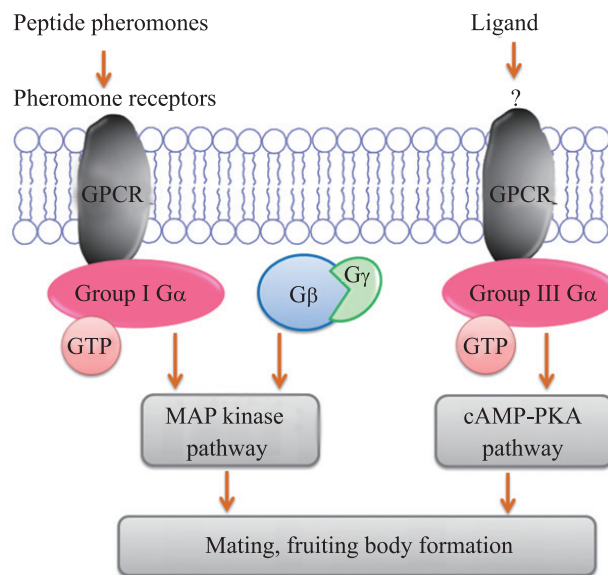


图3 G 蛋白信号途径介导的信息素感应

Fig. 3 G protein-mediated pheromone sensing

触到相反接合型的组织时(通常为分生孢子), 会接受 1 个核并将其送回原子囊壳<sup>[46]</sup>。粗糙脉孢菌的基因组中有 2 个信息素基因 *cgc-4* 和 *mfa-1*, 2 个信息素受体基因 *pre-1* 和 *pre-2*<sup>[47-51]</sup>。其中, *pre-1* 和 *cgc-4* 在结合型为 A 的细胞中表达, *pre-2* 和 *mfa-1* 在结合型为 a 的细胞中表达。信息素对雄性的育性至关重要, 信息素受体是受精丝识别相反结合型细胞所必需的<sup>[49-50]</sup>。第 I 类  $G\alpha$  亚基 *gna-1*,  $G\beta$  亚基 *gnb-1* 和  $G\gamma$  亚基 *gng-1* 组成三聚体 G 蛋白 GNA-1/GNB-1/GNG-1 调控 2 种信息素受体介导的信号转导,  $\Delta gna-1$ ,  $\Delta gnb-1$  和  $\Delta gng-1$  菌株表现为雌性不育, 但不影响雄性的可育性<sup>[26,28,48,52]</sup>。交配过程完成后, 很快进行有丝分裂和子囊壳(Perithecial)的发育, 粗糙脉孢菌的这些过程也受 G 蛋白信号转导途径的影响。CRL 型 G 蛋白偶联受体 *gpr-1* 的敲除会导致子囊壳发育和子囊孢子喷出方面的缺陷; 2 个  $\Delta gna-1$  亲本的后代子囊孢子的可育性降低<sup>[11,53]</sup>。

构巢曲霉既能进行同宗结合生殖, 也能进行异宗结合生殖, 并产生闭囊壳。构巢曲霉也有两个信息素受体 *GprA* 和 *GprB*<sup>[42]</sup>。敲除 *gprA* 或 *gprB* 后, 产生的闭囊壳变小且减少; 同时敲除 *gprA* 和 *gprB*, 同宗结合产生的子代不产生闭囊壳<sup>[42]</sup>。目前, 构巢曲霉中未发现有  $G\alpha$  亚基与此过程相关, 但  $G\beta\gamma$  二聚体 SfaD-GpgA 和光敏因子 PhnA 与闭囊壳形成相关, 敲除 SfaD 和 GpgA, 或敲除 PhnA 都能导致不能形成闭囊壳<sup>[30,34-55]</sup>。

此外, 第 III 类  $G\alpha$  亚基能通过与信息素受体以外的其它 GPCR 受体互作, 调节胞内 cAMP 的含量, 影响有性繁殖相关基因的表达, 从而参与调控有性繁殖过程(图 3)。玉米黑粉菌的 *gpa3* (第 III 类  $G\alpha$ ) 和 *bbp1* ( $G\beta$ ) 突变菌株不能形成结合管且信息素基因不表达, 但补充 cAMP 后, 能促使突变菌株恢复产生结合管的能力, 表明 *gpa3* 和 *bbp1* 是通过 cAMP-PKA 途径实现对有性繁殖的调

节作用<sup>[56]</sup>。新型隐球菌中也有类似的研究报道<sup>[57]</sup>。新型隐球菌 *gpa1* (第 III 类  $G\alpha$ ) 缺失突变菌株的担孢子(Basidiospore)产生减少, 补充 cAMP 后也能得到恢复。

## 2.3 调控侵染致病过程

许多丝状真菌对植物、动物、人类均有致病性。病原真菌引起的病害会给农业造成巨大的损失, 同时也会对人类健康造成威胁。而且, 某些植物病原真菌产生的真菌毒素会引发人体疾病。异三聚体 G 蛋白介导的信号转导在病原真菌侵染致病和真菌毒素合成中扮演着重要角色。第 I 类或 III 类  $G\alpha$  亚基通过 cAMP 信号途径,  $G\beta\gamma$  二聚体通过其它下游途径, 如 MAP 激酶途径等, 参与调控真菌致病过程<sup>[58]</sup>(图 4)。

**2.3.1 参与植物病原真菌的致病过程:** 板栗疫病菌是引起板栗疫病(Chestnut blight)的丝状真菌。板栗疫病菌所带的低毒病毒(Hypovirus)能降低板栗疫病菌的致病力, 下调其第 I 类  $G\alpha$  亚基 Cpg-1 的表达水平, 延迟宿主 MAP 激酶途径的活化等<sup>[59-60]</sup>。Cpg-1 在致病过程中的必要性源于其对

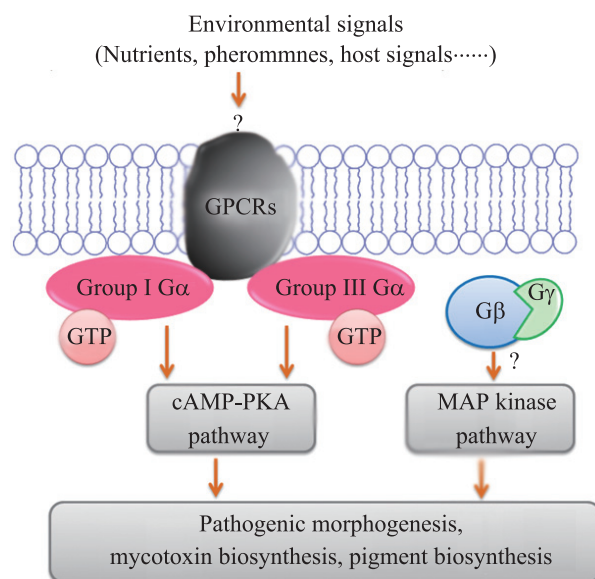


图 4 G 蛋白信号途径介导的致病过程及次生产物合成  
Fig. 4 G protein-mediated pathogenesis and secondary metabolite biosynthesis

营养生长和分生孢子的调节作用,而且在致病力调控方面,Cpg-1具有一些独立于G $\beta$  $\gamma$ 的调节功能<sup>[59,61-62]</sup>。G $\beta$  (Cpgb-1)负调控致病力,但不是营养生长所必需的<sup>[63]</sup>。该G蛋白介导的信号途径同样受PhLP类调节蛋白Bdm-1和RGS蛋白Cprgs-1的共同协调调节<sup>[64-65]</sup>。

稻瘟菌能产生特化结构附着胞直接穿透完整的宿主表面进行侵染<sup>[66]</sup>。研究表明,MagB(第I类Ga)、Mgb1(G $\beta$ )和Mgg1(假定的G $\gamma$ )调控附着胞的形成<sup>[27,67-68]</sup>。在依赖cAMP识别宿主疏水性表面并产生附着胞的过程中,MagB和Mgb1扮演非常重要的角色<sup>[27,68]</sup>。然而,在 $\Delta$ mgb1和 $\Delta$ mgg1菌株中,附着胞穿透和侵染过程中cAMP含量并没有减少,这表明该信号调控利用了cAMP-PKA途径以外的其它下游途径,如MAP激酶途径等<sup>[27,67]</sup>。另外,假定的(Putative)G蛋白偶联受体Pth11可能通过识别宿主的疏水表面和角质层的角质单体,参与调节附着胞的形成<sup>[69]</sup>。因此,Pth11/MagB/Mgb1/Mgg1组成一个G蛋白偶联受体/G蛋白系统,调控稻瘟菌识别宿主表面分子,形成附着胞。

玉米黑粉菌(*Ustilago maydis*)是一种双相真菌(Dimorphic fungus),能在酵母型和菌丝型两种形态间互变,其致病性与该形态转换过程密切相关,当通过有性交配转换成菌丝型时,才具有感染性<sup>[70]</sup>。异三聚体G蛋白及其偶联受体通过信息素应答和cAMP-PKA途径,在调控玉米黑粉菌交配和致病力方面起着重要作用<sup>[56,71]</sup>。在已鉴定的G蛋白亚基中,Gpa3(第III类Ga)和Bpp1(G $\beta$ )是交配和cAMP-PKA途径所必需的,但仅有Gpa3直接控制致病性<sup>[56,72]</sup>。Gpa3将信号传递到cAMP信号途径,该途径包括Uac1(腺苷酸环化酶)和Adr1(cAMP依赖的PKA)等组分<sup>[72]</sup>。

G蛋白介导的侵染致病过程在许多其它纲的真菌中也被证实。灰霉菌(*Botrytis cinerea*)的

Bcg1,雪腐镰刀菌(*Fusarium oxysporum*)的Fga1,三叶草刺盘孢(*Colletotrichum trifolii*)的Ctg-1,颖枯壳多孢(*Stagonospora nodorum*)的Gna1,和烟草赤星病菌(*Alternaria alternata*)的Aga1等Ga亚基已经被鉴定,它们在致病过程中起着必不可少的作用<sup>[22,73-75]</sup>。其中,Bcg1,Fga1和Aga1都与cAMP-PKA途径相关<sup>[22,74-75]</sup>。此外,灰霉菌和雪腐镰刀菌第III类Ga亚基Bcg3和Fga2,玉米小斑病菌(*Cochliobolus heterostrophus*)和雪腐镰刀菌的G $\beta$ 亚基Cgb1和Fgb1都是毒性(Virulence)所必需的<sup>[41,76-78]</sup>。

**2.3.2 参与人类病原真菌的致病过程:**真菌感染引发的人类疾病是公众健康的重大问题,特别是在免疫系统受损的病人中。真菌的生长及其对人体防御系统的抵抗是决定其致病性的主要因素。很多致病真菌的G蛋白信号途径在调控致病及产生毒力因子方面扮演了很重要的角色。

新型隐球菌的胞外多糖荚膜和黑色素对其侵染致病非常重要。多糖荚膜能抵抗人体巨噬细胞的吞噬,而黑色素能抵抗宿主和抗菌药物产生的氧化物的伤害<sup>[79-80]</sup>。新型隐球菌的第III类Ga亚基Gpa1和腺苷酰环化酶Cac1正调控多糖荚膜形成、黑色素的产生及其毒力<sup>[43-44,81]</sup>。RGS基因 $crg1$ 的敲除,会导致毒力的显著增加<sup>[82]</sup>。然而,敲除G $\beta$ 亚基Gpb1不影响荚膜的形成、黑色素的合成及毒力的产生<sup>[25]</sup>。G蛋白偶联受体 $gpr4$ 的缺失突变会导致荚膜产量减少,但是这些菌株能产生黑色素并具有致病性<sup>[44]</sup>。这些结果揭示了新型隐球菌中的一个致病模式:未知的G蛋白偶联受体作用于Gpa1和Cac1上游,正调控致病过程,同时,RGS调节蛋白Crg1能负调节Gpa1活性影响信号强度。

烟曲霉是最常见的空气散播性病原性真菌,能导致传染性的曲霉病和肺炎<sup>[83]</sup>。寄主吸入的分生孢子一旦突破宿主肺部免疫系统屏障,就会引



起感染。分生孢子的色素是烟曲霉重要的毒力因子,因为它能够抵抗人类细胞产生的活性氧<sup>[83]</sup>。另外, PksP 也是一种毒力因子,它的作用是抵御巨噬细胞的吞噬作用<sup>[84]</sup>。第Ⅲ类 Gα 亚基 GpaB 正调控烟曲霉分生孢子在巨噬细胞中的存活以及 *pksP* 的表达<sup>[85]</sup>。Δ*gpaB* 突变菌株产生分生孢子,但是这些分生孢子在被人类单核巨噬细胞摄入后的存活率极大地降低了<sup>[85]</sup>。另外,在 Δ*gpaB* 中 *pksP* 基因的表达水平也极大地降低了<sup>[85]</sup>。Δ*gpaB* 和腺苷酰环化酶突变体(Δ*acyA*)的表型相似,且都是依赖于 cAMP,因此,烟曲霉中, GpaB 调控 cAMP 信号途径来调节致病过程<sup>[86]</sup>。

## 2.4 调节真菌次生产物的生物合成

真菌毒素是由产毒真菌分泌产生的有毒次生代谢产物,大都是在经济作物收获后由感染的腐生真菌产生的。水果、蔬菜、谷物等粮食被真菌毒素污染后,危害人类和动物健康,造成巨大经济损失。如图 4 所示, G 蛋白信号途径对丝状真菌的毒素、色素等次生代谢产物生物合成的调控主要由第Ⅰ类 Gα 亚基和 Gβγ 二聚体介导,其中第Ⅰ类 Gα 亚基的下游途径是 cAMP-PKA 途径, Gβγ 的作用机理未知。

尽管构巢曲霉通常不感染植物,但能产生真菌毒素柄曲霉素(ST),具有致癌性。构巢曲霉中,活化的 FadA (第Ⅰ类 Gα)正调控 cAMP-PKA 途径,导致 ST 合成相关的转录因子 aflR 的表达水平很低,从而负调控 ST 合成;而 RGS 蛋白 FlbA 通过加速 FadA-ATP 的水解,抑制 FadA 介导的信号转导,促进 ST 的产生<sup>[19,29,87]</sup>。Δ*sfaD* (Gβ)和 Δ*gpgA* (Gγ)的缺失突变体也不产生 ST,表明这 2 个基因对于 ST 合成是必需的,但其作用机理尚不清楚<sup>[30,55]</sup>。

黄曲霉毒素(Aflatoxin)是以 ST 为前体物质合成的强致癌性真菌毒素,主要由寄生曲霉(*A. parasiticus*)和黄曲霉(*A. flavus*)产生,比 ST 更

受关注。FadA 介导的黄曲霉毒素合成的信号途径相当保守,持续活化的 FadA 能抑制寄生曲霉和黄曲霉中黄曲霉毒素的合成<sup>[19,59]</sup>。单端孢霉烯毒素(Trichothecenes)和腐马素毒素(Fumonisin)是由镰刀菌产生的 2 种真菌毒素。向拟枝孢镰刀菌(*Fusarium sporotrichioides*)中引入构巢曲霉显性活化的(Dominant constitutively activated) *fadA* 基因片段,促进了单端孢霉烯毒素 T-2 毒素的生物合成,并改变了单端孢霉烯合成相关基因的表达<sup>[88]</sup>。

禾谷镰刀菌(*Fusarium graminearum*)能感染玉米、高粱和小麦等谷物,并产生具有雌激素作用的真菌毒素脱氧雪腐镰刀菌烯醇(DON)和玉米赤霉烯酮(ZEA),威胁人类和动物的健康。Yu 等<sup>[15]</sup>发现敲除禾谷镰刀菌中的第Ⅰ类 Gα 亚基 GzGPA1 (与 FadA 同源)或 Gβ 亚基 GzGPB1 (与 *sfaD* 同源),能促进 DON 和 ZEA 的产生,由此推测禾谷镰刀菌 GzGPA1 和 GzGPB1 负调控真菌毒素的产生。

红曲菌(*Monascus* spp.)是重要的药食两用微生物,能够产生红曲色素、莫纳可林 K (Monacolin K)、γ-氨基丁酸等多种有益次生代谢物质。近年来,研究发现部分红曲菌菌株在某些条件下能产生真菌毒素桔霉素(Citrinin),给红曲的安全性带来挑战。陈福生等<sup>[5,31,89]</sup>在红曲菌 G 蛋白信号途径对红曲色素和桔霉素的调控方面进行了多年的研究,发现 Mga1 (第Ⅰ类 Gα)、Mgb1 (Gβ)和 Mgg1 (Gγ)组成的异三聚体 G 蛋白对红曲色素和桔霉素的产生有重要调控作用。敲除 *Mga1*、*Mgb1* 或 *Mgg1* 都能导致红曲色素和桔霉素的显著性升高,而过表达 *Mga1*、*Mgb1* 或 *Mgg1* 的菌株红曲色素产量无明显变化,桔霉素却显著降低。通过 *Mga1* 的活化突变(*Mga1*<sup>G42R</sup>)和外源 cAMP 实验,发现 *Mga1* 对红曲色素和桔霉素的调控作用有一部分是通过 cAMP-PKA 途径实现的<sup>[5,31,89-90]</sup>。此外,

RGS 调节蛋白 MrflbA 通过抑制 Mga1 ( $G\alpha$ ) 的活性参与调控该信号转导途径, 对红曲色素和桔霉素的分泌起正调节作用, MrflbA 功能缺失菌株产红曲色素和桔霉素的能力均显著降低<sup>[6,91]</sup>。

### 3 展望

丝状真菌已被广泛应用于食品发酵、抗生素、氨基酸和维生素等物质的生产中, 在工业、农业、医药等领域具有重要的经济价值。但一些丝状真菌, 如烟曲霉、禾谷镰刀菌等, 亦可导致人类及动、植物疾病, 或产生真菌毒素污染粮食及饲料, 造成经济损失。因此, 丝状真菌一直被广泛地研究, 以便了解和控制其有益和不利性状, 更好地服务于人类。

在过去的 20 年里, G 蛋白信号途径在丝状真菌重要生理过程的作用已被广泛的研究。越来越多的研究表明, G 蛋白在识别营养状况、信息素, 以及宿主信号分子等过程中扮演重要角色, 直接影响营养物质的利用、孢子的萌发及产生、次生代谢产物的合成、宿主的侵染等生理过程。尽管目前模式真菌构巢曲霉和粗糙脉孢菌中 G 蛋白信号途径得到了相对比较系统的研究, 但是 G 蛋白信号途径在不同丝状真菌中的作用差异很大, 即使同一信号组分, 在不同种属的同一生理过程中的影响可能完全相反。因此, 为了更加透彻地了解丝状真菌中 G 蛋白信号途径的作用及其调控机理, 必需进行更加广泛而深入的调查研究, 特别是在异三聚体 G 蛋白的下游信号通路、上游 GPCR 受体及其对应的胞外配体、以及不同信号通路间的交互作用(Cross-talk)等方面面临着很大的挑战, 所以高通量的基因功能研究方法、基因动态表达研究方法以及蛋白质相互作用研究方法在该领域的应用, 是未来发展的必然趋势。此外, 目前的研究报道, 基本局限于模式真菌和动植物致病菌的生长、分化和致病性等方面, 加强

对大量具有经济价值工业真菌的 G 蛋白信号途径的研究, 特别是其对这些真菌中有益及有害代谢产物调控方面的研究, 将对更好地利用这类真菌具有重要意义。

### 参考文献

- [1] Turner GE, Borkovich KA. Identification of a G protein  $\alpha$  subunit from *Neurospora crassa* that is a member of the  $G_i$  family[J]. The Journal of Biological Chemistry, 1993, 268(20): 14805–14811.
- [2] Li L, Wright SJ, Krystofova S, et al. Heterotrimeric G protein signaling in filamentous fungi[J]. Annual Review of Microbiology, 2007, 61: 423–452.
- [3] Yu JH. Heterotrimeric G protein signaling and RGSs in *Aspergillus nidulans*[J]. Journal of Microbiology, 2006, 44(2): 145–154.
- [4] Bolker M. Sex and crime: heterotrimeric G proteins in fungal mating and pathogenesis[J]. Fungal Genetics and Biology, 1998, 25(3): 143–156.
- [5] Li L, Shao Y, Li Q, et al. Identification of *Mga1*, a G-protein  $\alpha$ -subunit gene involved in regulating citrinin and pigment production in *Monascus ruber* M7[J]. FEMS Microbiology Letters, 2010, 308(2): 108–114.
- [6] Yang Y, Li L, Li X, et al. *mrflbA*, encoding a putative FlbA, is involved in aerial hyphal development and secondary metabolite production in *Monascus ruber* M-7[J]. Fungal Biology, 2012, 116(2): 225–233.
- [7] Lafon A, Han KH, Seo JA, et al. G-protein and cAMP-mediated signaling in aspergilli: a genomic perspective[J]. Fungal Genetics and Biology, 2006, 43(7): 490–502.
- [8] Rockman HA, Koch WJ, Lefkowitz RJ. Seven-transmembrane-spanning receptors and heart function[J]. Nature, 2002, 415(6868): 206–212.
- [9] Galagan JE, Calvo SE, Borkovich KA, et al. The genome sequence of the filamentous fungus *Neurospora crassa*[J]. Nature, 2003, 422(6934): 859–868.
- [10] Dohlman HG, Thorner JW. Regulation of G protein-initiated signal transduction in yeast:

- paradigms and principles[J]. Annual Review of Biochemistry, 2001, 70: 703–754.
- [11] Krystofova S, Borkovich KA. The predicted G-protein-coupled receptor GPR-1 is required for female sexual development in the multicellular fungus *Neurospora crassa*[J]. Eukaryotic Cell, 2006, 5(9): 1503–1516.
- [12] 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]. Eukaryotic cell, 2006, 5(8): 1287–1300.
- [13] Gehrke A, Heinekamp T, Jacobsen ID, et al. Heptahelical receptors GprC and GprD of *Aspergillus fumigatus* are essential regulators of colony growth, hyphal morphogenesis, and virulence[J]. Applied and Environmental Microbiology, 2010, 76(12): 3989–3998.
- [14] Chung KS, Won M, Lee SB, et al. Isolation of a novel gene from *Schizosaccharomyces pombe*: *stm1*<sup>+</sup> encoding a seven-transmembrane loop protein that may couple with the heterotrimeric G $\alpha$  2 protein, Gpa2[J]. The Journal of Biological Chemistry, 2001, 276(43): 40190–40201.
- [15] Yu HY, Seo JA, Kim JE, et al. Functional analyses of heterotrimeric G protein G $\alpha$  and G $\beta$  subunits in *Gibberella zeae*[J]. Microbiology, 2008, 154: 392–401.
- [16] Bieszke JA, Spudich EN, Scott KL, et al. A eukaryotic protein, NOP-1, binds retinal to form an archaeal rhodopsin-like photochemically reactive pigment[J]. Biochemistry, 1999, 38(43): 14138–14145.
- [17] Bieszke JA, Braun EL, Bean LE, et al. The *nop-1* gene of *Neurospora crassa* encodes a seven transmembrane helix retinal-binding protein homologous to archaeal rhodopsins[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 1999, 96(14): 8034–8039.
- [18] Trusov Y, Rookes JE, Tilbrook K, et al. Heterotrimeric G protein  $\gamma$  subunits provide functional selectivity in G $\beta\gamma$  dimer signaling in *Arabidopsis*[J]. The Plant Cell, 2007, 19(4): 1235–1250.
- [19] Hicks JK, Yu JH, Keller NP, et al. *Aspergillus* sporulation and mycotoxin production both require inactivation of the FadA G $\alpha$  protein-dependent signaling pathway[J]. The EMBO Journal, 1997, 16(16): 4916–4923.
- [20] Simon MI, Strathmann MP, Gautam N. Diversity of G proteins in signal transduction[J]. Sciences, 1991, 252(5007): 802–808.
- [21] Chang MH, Chae KS, Han DM, et al. The GanB G $\alpha$ -protein negatively regulates asexual sporulation and plays a positive role in conidial germination in *Aspergillus nidulans*[J]. Genetics, 2004, 167(3): 1305–1315.
- [22] Gronover CS, Kasulke D, Tudzynski P, et al. The role of G protein  $\alpha$  subunits in the infection process of the gray mold fungus *Botrytis cinerea*[J]. Molecular Plant-Microbe Interactions, 2001, 14(11): 1293–1302.
- [23] Han KH, Seo JA, Yu JH. Regulators of G-protein signalling in *Aspergillus nidulans*: RgsA downregulates stress response and stimulates asexual sporulation through attenuation of GanB (G $\alpha$ ) signalling[J]. Molecular Microbiology, 2004, 53(2): 529–540.
- [24] Shin KS, Kwon NJ, Yu JH. G $\beta\gamma$ -mediated growth and developmental control in *Aspergillus fumigatus*[J]. Current Genetics, 2009, 55(6): 631–641.
- [25] Wang P, Perfect JR, Heitman J. The G-protein  $\beta$  subunit GPB1 is required for mating and haploid fruiting in *Cryptococcus neoformans*[J]. Molecular and Cellular Biology, 2000, 20(1): 352–362.
- [26] Yang Q, Poole SI, Borkovich KA. A G-protein  $\beta$  subunit required for sexual and vegetative development and maintenance of normal G $\alpha$  protein levels in *Neurospora crassa*[J]. Eukaryotic Cell, 2002, 1(3): 378–390.
- [27] Nishimura M, Park G, Xu JR. The G-beta subunit MGB1 is involved in regulating multiple steps of infection-related morphogenesis in *Magnaporthe grisea*[J]. Molecular Microbiology, 2003, 50(1): 231–243.
- [28] Krystofova S, Borkovich KA. The heterotrimeric G-protein subunits GNG-1 and GNB-1 form a G $\beta\gamma$  dimer required for normal female fertility, asexual development, and G $\alpha$  protein levels in *Neurospora*

- crassa*[J]. Eukaryotic Cell, 2005, 4(2): 365–378.
- [29] Yu JH, Wieser J, Adams TH. The *Aspergillus* FlbA RGS domain protein antagonizes G protein signaling to block proliferation and allow development[J]. The EMBO Journal, 1996, 15(19): 5184–5190.
- [30] Seo JA, Yu JH. The phosducin-like protein PhnA is required for G $\beta\gamma$ -mediated signaling for vegetative growth, developmental control, and toxin biosynthesis in *Aspergillus nidulans*[J]. Eukaryotic Cell, 2006, 5(2): 400–410.
- [31] 李利. 红色红曲菌 G 蛋白信号途径相关基因的克隆及功能研究[D]. 武汉: 华中农业大学博士学位论文, 2011.
- [32] Fillinger S, Chaverocche MK, Shimizu K, et al. cAMP and ras signalling independently control spore germination in the filamentous fungus *Aspergillus nidulans*[J]. Molecular Microbiology, 2002, 44(4): 1001–1016.
- [33] Ni M, Riererson S, Seo JA, et al. The *pkaB* gene encoding the secondary protein kinase A catalytic subunit has a synthetic lethal interaction with *pkaA* and plays overlapping and opposite roles in *Aspergillus nidulans*[J]. Eukaryotic Cell, 2005, 4(8): 1465–1476.
- [34] Segmuller N, Ellendorf U, Tudzynski B, et al. BcSAK1, a stress-activated mitogen-activated protein kinase, is involved in vegetative differentiation and pathogenicity in *Botrytis cinerea*[J]. Eukaryotic Cell, 2007, 6(2): 211–221.
- [35] Eliahu N, Igbaria A, Rose MS, et al. Melanin biosynthesis in the maize pathogen *Cochliobolus heterostrophus* depends on two mitogen-activated protein kinases, Chk1 and Mps1, and the transcription factor Cmr1[J]. Eukaryotic Cell, 2007, 6(3): 421–429.
- [36] Moriwaki A, Kubo E, Arase S, et al. Disruption of *SRM1*, a mitogen-activated protein kinase gene, affects sensitivity to osmotic and ultraviolet stressors in the phytopathogenic fungus *Bipolaris oryzae*[J]. FEMS Microbiology Letters, 2006, 257(2): 253–261.
- [37] Schumacher J, Viaud M, Simon A, et al. The Ga subunit BCG1, the phospholipase C (BcPLC1) and the calcineurin phosphatase co-ordinately regulate gene expression in the grey mould fungus *Botrytis cinerea*[J]. Molecular Microbiology, 2008, 67(5): 1027–1050.
- [38] Warwar V, Oved S, Dickman MB. Antisense expression of the calmodulin gene from *Colletotrichum trifolii* impairs prepenetration development[J]. FEMS Microbiology Letters, 2000, 191(2): 213–219.
- [39] Harel A, Bercovich S, Yarden O. Calcineurin is required for sclerotial development and pathogenicity of *Sclerotinia sclerotiorum* in an oxalic acid-independent manner[J]. Molecular Plant-Microbe Interactions, 2006, 19(6): 682–693.
- [40] Lafon A, Seo JA, Han KH, et al. The heterotrimeric G-protein GanB( $\alpha$ )-SfaD( $\beta$ )-GpgA( $\gamma$ ) is a carbon source sensor involved in early cAMP-dependent germination in *Aspergillus nidulans*[J]. Genetics, 2005, 171(1): 71–80.
- [41] Doehlemann G, Berndt P, Hahn M. Different signalling pathways involving a Ga protein, cAMP and a MAP kinase control germination of *Botrytis cinerea* conidia[J]. Molecular Microbiology, 2006, 59(3): 821–835.
- [42] Seo JA, Han KH, Yu JH. The *gprA* and *gprB* genes encode putative G protein-coupled receptors required for self-fertilization in *Aspergillus nidulans*[J]. Molecular Microbiology, 2004, 53(6): 1611–1623.
- [43] Alsbaugh JA, Pukkila-Worley R, Harashima T, et al. Adenylyl cyclase functions downstream of the Ga protein Gpa1 and controls mating and pathogenicity of *Cryptococcus neoformans*[J]. Eukaryotic Cell, 2002, 1(1): 75–84.
- [44] 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 of the Cell, 2006, 17(2): 667–679.
- [45] Bardwell L. A walk-through of the yeast mating pheromone response pathway[J]. Peptides, 2005, 26(2): 339–350.
- [46] 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, 2004, 68(1): 1–108.
- [47] Bobrowicz P, Pawlak R, Correa A, et al. The *Neurospora crassa* pheromone precursor genes are regulated by the mating type locus and the circadian clock[J]. Molecular Microbiology, 2002, 45(3): 795–804.
- [48] Kim H, Borkovich KA. A pheromone receptor gene, *pre-1*, is essential for mating type-specific directional growth and fusion of trichogynes and female fertility in *Neurospora crassa*[J]. Molecular Microbiology, 2004, 52(6): 1781–1798.
- [49] Kim H, Borkovich KA. Pheromones are essential for male fertility and sufficient to direct chemotropic polarized growth of trichogynes during mating in *Neurospora crassa*[J]. Eukaryotic Cell, 2006, 5(3): 544–554.
- [50] Kim H, Metzenberg RL, Nelson MA. Multiple functions of *mfa-1*, a putative pheromone precursor gene of *Neurospora crassa*[J]. Eukaryotic Cell, 2002, 1(6): 987–999.
- [51] Poggeler S, Kuck U. Identification of transcriptionally expressed pheromone receptor genes in filamentous ascomycetes[J]. Gene, 2001, 280: 9–17.
- [52] Ivey FD, Hodge PN, Turner GE, et al. The Gai homologue *gna-1* controls multiple differentiation pathways in *Neurospora crassa*[J]. Molecular Biology of the Cell, 1996, 7(8): 1283–1297.
- [53] Kays AM, Rowley PS, Baasiri RA, et al. Regulation of conidiation and adenylyl cyclase levels by the G $\alpha$  protein GNA-3 in *Neurospora crassa*[J]. Molecular and Cellular Biology, 2000, 20(20): 7693–7705.
- [54] Seo JA, Han KH, Yu JH. Multiple roles of a heterotrimeric G-protein  $\gamma$ -subunit in governing growth and development of *Aspergillus nidulans*[J]. Genetics, 2005, 171(1): 81–89.
- [55] Rosen S, Yu JH, Adams TH. The *Aspergillus nidulans* *sfaD* gene encodes a G protein  $\beta$  subunit that is required for normal growth and repression of sporulation[J]. The EMBO Journal, 1999, 18(20): 5592–5600.
- [56] Muller P, Leibbrandt A, Teunissen H, et al. The G $\beta$ -subunit-encoding gene *bpp1* controls cyclic-AMP signaling in *Ustilago maydis*[J]. Eukaryotic Cell, 2004, 3(3): 806–814.
- [57] Alspaugh JA, Perfect JR, Heitman J. *Cryptococcus neoformans* mating and virulence are regulated by the G-protein  $\alpha$  subunit GPA1 and cAMP[J]. Genes & Development, 1997, 11: 3206–3217.
- [58] Lengeler KB, Davidson RC, D'Souza C, et al. Signal transduction cascades regulating fungal development and virulence[J]. Microbiology and Molecular Biology Reviews, 2000, 64(4): 746–785.
- [59] Choi GH, Chen B, Nuss DL. Virus-mediated or transgenic suppression of a G-protein  $\alpha$  subunit and attenuation of fungal virulence[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 1995, 92(1): 305–309.
- [60] Turina M, Zhang L, Van Alfen NK. Effect of Cryphonectria hypovirus 1 (CHV1) infection on Cpkk1, a mitogen-activated protein kinase kinase of the filamentous fungus *Cryphonectria parasitica*[J]. Fungal Genetics and Biology, 2006, 43(11): 764–774.
- [61] Gao S, Nuss DL. Distinct roles for two G protein  $\alpha$  subunits in fungal virulence, morphology, and reproduction revealed by targeted gene disruption[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 1996, 93(24): 14122–14127.
- [62] Segers GC, Nuss DL. Constitutively activated G $\alpha$  negatively regulates virulence, reproduction and hydrophobin gene expression in the chestnut blight fungus *Cryphonectria parasitica*[J]. Fungal Genetics and Biology, 2003, 38(2): 198–208.
- [63] Kasahara S, Nuss DL. Targeted disruption of a fungal G-protein  $\beta$  subunit gene results in increased vegetative growth but reduced virulence[J]. Molecular Plant-Microbe Interactions, 1997, 10(8): 984–993.
- [64] Kasahara S, Wang P, Nuss DL. Identification of *bdm-1*, a gene involved in G protein  $\beta$ -subunit function and  $\alpha$ -subunit accumulation[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 2000, 97(1): 412–417.
- [65] Segers GC, Regier JC, Nuss DL. Evidence for a role of the regulator of G-protein signaling protein



- CPRGS-1 in G $\alpha$  subunit CPG-1-mediated regulation of fungal virulence, conidiation, and hydrophobin synthesis in the chestnut blight fungus *Cryphonectria parasitica*[J]. Eukaryotic Cell, 2004, 3(6): 1454–1463.
- [66] Dean RA. Signal pathways and appressorium morphogenesis[J]. Annual Review of Phytopathology, 1997, 35: 211–234.
- [67] Liang S, Wang ZY, Liu PJ, et al. A G $\gamma$  subunit promoter T-DNA insertion mutant-A1-412 of *Magnaporthe grisea* is defective in appressorium formation, penetration and pathogenicity[J]. Chinese Science Bulletin, 2006, 51(18): 2214–2218.
- [68] Liu S, Dean RA. G protein alpha subunit genes control growth, development, and pathogenicity of *Magnaporthe grisea*[J]. Molecular Plant-Microbe Interactions, 1997, 10(9): 1075–1086.
- [69] DeZwaan TM, Carroll AM, Valent B, et al. *Magnaporthe grisea* *pthlp* is a novel plasma membrane protein that mediates appressorium differentiation in response to inductive substrate cues[J]. The Plant Cell, 1999, 11(10): 2013–2030.
- [70] Bolker M. *Ustilago maydis*—a valuable model system for the study of fungal dimorphism and virulence[J]. Microbiology, 2001, 147: 1395–1401.
- [71] Regenfelder E, Spellig T, Hartmann A, et al. G proteins in *Ustilago maydis*: transmission of multiple signals?[J]. The EMBO Journal, 1997, 16(8): 1934–1942.
- [72] Kruger J, Loubradou G, Regenfelder E, et al. Crosstalk between cAMP and pheromone signalling pathways in *Ustilago maydis*[J]. Molecular Genetics and Genomics, 1998, 260: 193–198.
- [73] Jain S, Akiyama K, Mae K, et al. Targeted disruption of a G protein  $\alpha$  subunit gene results in reduced pathogenicity in *Fusarium oxysporum*[J]. Current Genetics, 2002, 41(6): 407–413.
- [74] Solomon PS, Tan KC, Sanchez P, et al. The disruption of a G $\alpha$  subunit sheds new light on the pathogenicity of *Stagonospora nodorum* on wheat[J]. Molecular Plant-Microbe Interactions, 2004, 17(5): 456–466.
- [75] Yamagishi D, Otani H, Kodama M. G protein signaling mediates developmental processes and pathogenesis of *Alternaria alternata*[J]. Molecular Plant-Microbe Interactions, 2006, 19(11): 1280–1288.
- [76] Delgado-Jarana J, Martinez-Rocha AL, Roldan-Rodriguez R, et al. *Fusarium oxysporum* G-protein  $\beta$  subunit Fgb1 regulates hyphal growth, development, and virulence through multiple signalling pathways[J]. Fungal Genetics and Biology, 2005, 42(1): 61–72.
- [77] Ganem S, Lu SW, Lee BN, et al. G-protein  $\beta$  subunit of *Cochliobolus heterostrophus* involved in virulence, asexual and sexual reproductive ability, and morphogenesis[J]. Eukaryotic Cell, 2004, 3(6): 1653–1663.
- [78] Jain S, Akiyama K, Takata R, et al. Signaling via the G protein  $\alpha$  subunit FGA2 is necessary for pathogenesis in *Fusarium oxysporum*[J]. FEMS Microbiology Letters, 2005, 243(1): 165–172.
- [79] Kozel TR, Gotschlich EC. The capsule of *Cryptococcus neoformans* passively inhibits phagocytosis of the yeast by macrophages[J]. Journal of Immunology, 1982, 129(4): 1675–1680.
- [80] Wang Y, Aisen P, Casadevall A. *Cryptococcus neoformans* melanin and virulence: mechanism of action[J]. Infection and Immunity, 1995, 63(8): 3131–3136.
- [81] Alsbaugh JA, Perfect JR, Heitman J. *Cryptococcus neoformans* mating and virulence are regulated by the G-protein  $\alpha$  subunit GPA1 and cAMP[J]. Genes & Development, 1997, 11(23): 3206–3217.
- [82] Wang P, Cutler J, King J, et al. Mutation of the regulator of G protein signaling Crg1 increases virulence in *Cryptococcus neoformans*[J]. Eukaryotic Cell, 2004, 3(4): 1028–1035.
- [83] Jahn B, Koch A, Schmidt A, et al. Isolation and characterization of a pigmentless-conidium mutant of *Aspergillus fumigatus* with altered conidial surface and reduced virulence[J]. Infection and Immunity, 1997, 65(12): 5110–5117.
- [84] Jahn B, Langfelder K, Schneider U, et al. PKSP-dependent reduction of phagolysosome fusion and intracellular kill of *Aspergillus fumigatus* conidia by human monocyte-derived macrophages[J]. Cellular Microbiology, 2002, 4(12): 793–803.

- [85] Liebmann B, Gattung S, Jahn B, et al. cAMP signaling in *Aspergillus fumigatus* is involved in the regulation of the virulence gene *pksP* and in defense against killing by macrophages[J]. Molecular Genetics and Genomics, 2003, 269(3): 420–435.
- [86] Liebmann B, Muller M, Braun A, et al. The cyclic AMP-dependent protein kinase a network regulates development and virulence in *Aspergillus fumigatus*[J]. Infection and Immunity, 2004, 72(9): 5193–5203.
- [87] Shimizu K, Hicks JK, Huang TP, et al. Pka, Ras and RGS protein interactions regulate activity of AflR, a Zn(II)<sub>2</sub>Cys<sub>6</sub> transcription factor in *Aspergillus nidulans*[J]. Genetics, 2003, 165(3): 1095–1104.
- [88] Tag A, Hicks J, Garifullina G, et al. G-protein signalling mediates differential production of toxic secondary metabolites[J]. Molecular Microbiology, 2000, 38(3): 658–665.
- [89] 贺璐. 红色红曲菌 G 蛋白  $\beta$  与  $\gamma$  亚基基因功能的初步研究[D]. 武汉: 华中农业大学硕士学位论文, 2011.
- [90] Lai, Y, Wang, L, Qing, L, et al. Effects of cyclic AMP on development and secondary metabolites of *Monascus ruber* M-7[J]. Letters in Applied Microbiology, 2011, 52: 420–426.
- [91] 邵彦春. 红曲霉产色素相关基因的克隆及功能研究[D]. 武汉: 华中农业大学博士学位论文, 2007.

## 稿件书写规范

### 高校教改纵横栏目简介及撰稿要求

“高校教改纵横”栏目, 是中国微生物学会主办的科技期刊中唯一的教学类栏目, 也是中国自然科学核心期刊中为数不多的教学栏目。该栏目专为微生物学及其相关学科领域高校教师开辟, 一方面为高校微生物学科的教师提供一个发表论文的平台, 同时微生物关联学科的一部分确实优秀的论文也可以在此发表, 是微生物学及相关领域教学研究、交流、提高的园地。

本栏目的文章有别于其他实验类研究报告, 特色非常鲜明。要求作者来自教学第一线, 撰写的稿件内容必须要有新意、要实用, 不是泛泛地叙述教学设计与过程, 而是确实有感而发, 是教学工作中的创新体会, 或者在教学中碰到的值得商榷的、可以与同行讨论的有价值的论题。在内容选材上应该有鲜明的特点和针对性, 做到主题明确、重点突出、层次分明、语言流畅。教师的教学思路应与时俱进, 注意将国内外新的科技成果和教学理念贯穿到教学之中, 只有这样才能真正起到教与学的互动, 促进高校生物学教学的发展, 更多更好地培养出国家需要的高科技创新人才。这也是本栏目的目的所在。

同时, 为了给全国生物学领域的教学工作者提供一个更广阔更高层次的交流平台, 本栏目还开辟了“名课讲堂”版块, 邀约相关生命科学领域, 如微生物学、分子生物学、生物医学、传染病学、环境科学等的教学名师、知名科学家就教学和学生培养发表观点, 推荐在教学改革、教学研究、引进先进教学手段或模式以及学生能力培养等方面有突出成绩的优秀论文, 为高校教师以及硕士、博士研究生导师提供一个可资交流和学习平台, 促进高校教学和人才培养水平的提高。

欢迎投稿! 欢迎对本栏目多提宝贵意见!