

丝状真菌蛋白质组学研究进展

冀柳欣 胡又佳*

(中国医药工业研究总院张江分院 上海 201203)

摘要: 丝状真菌不仅是致病菌, 而且在异源表达工业酶、化学制品以及药物活性物质中发挥着越来越重要的作用。随着人类基因组计划的实施和推进, 生命科学研究已进入了功能基因组时代, 特别是蛋白质组学, 在蛋白质水平对丝状真菌细胞生命过程中蛋白质功能和蛋白质之间的相互作用以及特殊条件下的变化机制进行研究, 对生命的复杂活动进行深入而又全面的认识也为丝状真菌工业酶制剂和重组药物的开发提供广阔的创新空间。本文综述了蛋白质组学的研究内容和方法, 总结了其在丝状真菌致病菌、抗生素产生菌和纤维素酶产生菌中的应用现状。不同层次的功能基因组学分析可以从各个角度掌握生物体的代谢网络和调控机制, 本文还对蛋白质组学以及功能基因组学各部分内容的整合运用进行了展望。

关键词: 丝状真菌, 蛋白质组学, 功能基因组学

Research progress on proteomics in filamentous fungi

Ji Liu-Xin HU You-Jia*

(China State Institute of Pharmaceutical Industry, Zhangjiang Institute, Shanghai 201203, China)

Abstract: Filamentous fungi not only are pathogenic but also play a significant role in heterologous expressing enzymes, chemicals, and pharmaceuticals. Along with the implementation and promotion of Human Genome Project, life science has entered functional genomics era. Proteomics study is a type of functional genomics research in order to understand cellular process mechanism, protein functions and their interactions, which provides a vast potential for future production of industrial enzymes and recombinant pharmaceutical proteins by filamentous fungi. This review summarized the research contents and methods of proteomics study, and its applications in filamentous fungi including pathogenic, antibiotic producing and cellulase producing strains. Furthermore, future studies in transcriptomics, proteomics and metabolomics could offer a full scale of understanding the metabolic network and regulations in filamentous fungi.

Keywords: Filamentous fungi, Proteomics, Functional genomics

*Corresponding author: Tel: 86-21-20572117; E-mail: huyoujia@sinopharm.com

Received: October 17, 2017; Accepted: January 11, 2018; Published online (www.cnki.net): January 18, 2018

*通信作者: Tel: 86-21-20572117; E-mail: huyoujia@sinopharm.com

收稿日期: 2017-10-17; 接受日期: 2018-01-11; 网络首发日期(www.cnki.net): 2018-01-18

21 世纪生物学的发展经历了质的飞跃,从宏观到微观,从形态、表型特征的描述到分子机制、功能的研究,透过现象挖掘本质,对生物体的剖析逐步分解细化。人类基因组计划的完成把生物学带入了全新的系统科学的时代,生命科学研究的热点逐步从解析生命全套的遗传信息转移到基因功能、系统动态调控上,功能基因组学随着系统生物学的产生和发展应运而生。根据所涉及的研究对象的不同,功能基因组学研究主要包括转录组学(Transcriptomics)、蛋白质组学(Proteomics)和代谢组学(Metabolomics)等^[1],利用高通量研究方法在细胞内不同层面上进行研究探索。其中,蛋白质组学作为一种全局性研究的方法,已逐渐成为生命科学研究的热点,在重要工业生产菌丝状真菌中也得到了广泛的应用。

丝状真菌是真菌的一个重要类群,与人类的生产和生活关系密切,在工业、农业、医药以及基础生物学研究等领域都具有非常重要的作用。一直以来,构巢曲霉(*Aspergillus nidulans*)、粗糙脉孢菌(*Neurospora crassa*)等被作为模式菌株用于真核生物的一些基础生物学特性研究。而在工业生产中,丝状真菌常用于重组酶、有机酸、食品添加剂和抗生素等化合物的生产,尤其是作为细胞工厂生产异源蛋白取得了十分突出的成果^[2]。丝状真菌还能产生一些对人体有益的生物活性物质,如免疫抑制剂环孢素 A、有降胆固醇作用的洛伐他汀、抗癌剂紫杉醇、抗真菌剂灰黄霉素等^[3-4],其中他汀类药物在美国每年产生的市场价值可达 150 亿美元^[5]。

近年来,随着微生物遗传工程和分子生物学等新理论、新技术的迅速发展,尤其是组学技术和生物信息学等研究的不断深入,进一步拓宽了丝状真菌的研究和应用范畴,其遗传修饰和代谢工程研究已逐渐成为现代工业生物技术领域最具活力的研究方向之一。本文就丝状真菌蛋白质组学的研究进展予以综述,将蛋白质组学的研究内容和技术进行了归纳和评述,总结了其在丝状真菌中的应用现状,并对功能基因组学应用于丝状真菌的研究趋势

和前景予以展望。

1 蛋白质组学研究内容及方法

1.1 研究内容

蛋白质组学旨在阐明基因组所表达的真正执行生命活动的全部蛋白质的表达规律和生物功能,是以大规模、高通量、系统化研究方法为基础的科学。蛋白质组指基因组所表达的全部蛋白质总和,而蛋白质组在不同时间、条件下其组成是存在差异的。所以蛋白质组学就是研究特定时间、生理条件下蛋白丰度和特征的变化,进而在蛋白水平探索其作用机制、生理功能、调控模式以及蛋白间相互作用,并且根据研究目的和手段的不同可以分为表达蛋白质组学、结构蛋白质组学和功能蛋白质组学^[6]。

虽然高通量技术的应用使得基因组学、转录组学取得了前所未有的进展,但仅在基因层面研究生命科学是远远不够的。我们都知道,生物体的遗传信息由基因经转录向蛋白质传递,且其基因功能又由表达产物体现,因此蛋白质水平的研究是对分子水平的完善,是功能基因组学中非常重要的一环。蛋白质组学涉及所有蛋白表达、功能和调控研究,细胞中蛋白是功能单位,环境信号和生理条件对蛋白表达都有很大影响,除了可以研究大量蛋白质的分泌机制,对蛋白活性和功能有很大作用的翻译后修饰过程,如糖基化、磷酸化、酰基化和泛素化等,都可以经由蛋白质组学进行定性和定量研究^[7]。另外,生物体在不断地进化中经历了随机突变和定向筛选的过程,积累了许多有益突变,但这些改变从基因、蛋白水平来说都是未知的,而蛋白质组学的应用则可以对这些突变进行识别,找到生命进化的根源。因此,可以说蛋白质组学是对基因组学和转录组学进行补充的学科^[8],它们共同承担起了阐明生命现象本质和活动规律的重任。

1.2 技术方法

蛋白质组学技术的发展已经成为现代生物技术快速发展的重要支撑,并将引领生物技术取得关

键性的突破。相较于基因组学和转录组学来说,蛋白质组学研究的难点在于氨基酸残基数量多、翻译后修饰复杂和蛋白质无法体外扩增等。目前,蛋白质组学研究的技术核心包括蛋白质组的分离、鉴定以及生物信息学分析 3 个方面。蛋白质组的分离主要依靠双向凝胶电泳技术(2-DGE)、等电聚焦电泳和多维液相色谱技术等,其中 2-DGE 利用蛋白的等电点和分子量将各蛋白组分分离,是目前最为有效的分离蛋白质的手段。质谱技术是蛋白质组鉴定的关键技术,包括生物质谱、肽指纹图谱和电喷雾质谱等,并且不断有新型质谱技术、仪器的出现,通常与 2-DGE 技术联合使用,是目前蛋白质组学研究最经典的方法,应用也最为广泛。

近年来随着高通量、高精度蛋白质组分析数据的需求日益扩大,蛋白质芯片技术、酵母双杂交系统、信息组学技术,特别是同位素标记相对和绝对定量(iTRAQ)技术^[9]也逐渐发展起来。iTRAQ 技术是美国应用生物系统公司推出的一项新的体外同位素标记技术,采用 4 种或 8 种由报告基团(Reporter group)、平衡基团(Balance group)和肽反应基团(Peptide reactive group)组成的同位素试剂来标记相应的蛋白质样品,通过特异性标记多肽的氨基基团进行串联质谱分析,可同时比较这些样品中蛋白质的相对含量或绝对含量。同位素试剂中,肽反应基团用于连接肽段,报告基团和平衡基团的平衡分子量为 305,使得不同同位素在标记同一多肽后分子量完全相同。iTRAQ 技术的大体流程:首先将蛋白质裂解为肽段,然后用 iTRAQ 试剂进行差异标记,样品混合后经过 LC-MS/MS 分析,在二级质谱中平衡基团发生中性丢失,产生不同质荷比的峰,从而根据峰的高度和面积获得蛋白质的定量信息。该技术可以寻找差异表达蛋白,并分析其蛋白功能,同时可以对基因组表达的全部蛋白质或复杂的混合体系中的所有蛋白质进行精确定量和鉴定。

随着研究的不断深入,面临的巨大挑战演变为组学平台基础理论构建时产生的庞大数据库^[10],生

物信息学技术和各种高性能分析测试软件也成为制约蛋白质组学发展的重要因素之一。由此,蛋白质组学研究的技术路线可以简单理解为:由双向电泳分离蛋白质组,质谱和其他高通量技术获得庞大复杂的数据库,再通过生物信息学技术完成蛋白质种类、结构和功能的分析鉴定工作。

2 蛋白质组学在丝状真菌中的应用

随着高通量的基因组、转录组学分析的成熟,能够对 DNA 和 RNA 水平的样品进行大规模分析,筛选出海量的差异表达基因。基因组中虽然有相当部分基因 RNA 表达水平和蛋白是正相关的,但仍有一部分基因相关性较小,主要在翻译或翻译后调控修饰,且胞内、胞外膜蛋白的表达也有相当大的差异。因此,仍然需要直接从蛋白质水平入手,对样品进行分析。2000 年之后,蛋白质组学技术开始逐渐应用到丝状真菌的研究中,并且随着研究的深入和技术的发展对丝状真菌的生命活动、致病机制、代谢途径等研究起到了极大的推进作用。

2.1 蛋白质组学在致病菌中的应用

丝状真菌可以引发由于免疫功能缺失导致的条件性真菌感染,严重的可以使健康状况进一步恶化,这已经成为世界范围内传染病研究领域亟待解决的问题,越来越多的针对病原真菌的研究陆续展开^[11]。丝状真菌具有独特的形态发生和细胞组织,阐明其机制和功能是治疗感染的关键因素^[12],蛋白质组学的研究便可以对相关菌株的环境变化响应、致病机制和代谢途径等进行解析。

烟曲霉(*Aspergillus fumigatus*)是最受关注的病原真菌之一,对其研究最为全面和广泛。蛋白质组学应用的早期,主要是对烟曲霉胞内蛋白^[13]以及各种代谢途径关键酶和蛋白^[14-15]的研究,解析其合成、转运以及功能等。随着高通量技术的发展,利用蛋白质组学的烟曲霉致病机制研究越来越深入。Anjo 等^[16]利用定量蛋白质组学技术对烟曲霉分生孢子在不同生长时期的蛋白质组学和超微结构特征进行了剖析,发现蛋白质水平的变化与细胞凋

亡、自食的过程相一致,表明蛋白质和细胞形态的变化可能存在某种相关性。胶霉毒素是烟曲霉产生的毒素之一,对哺乳动物细胞具有免疫抑制及促凋亡作用,Shin 等^[17]利用蛋白质组学技术发现了 2 个可调控胶霉毒素生物合成基因簇表达的酶 BrlA 和 AbaA, $\Delta brlA$ 和 $\Delta abaA$ 两种烟曲霉突变株内的胶霉毒素生物合成基因簇表达水平显著下降,甚至不产生。此外,对烟曲霉的调控机制如 DNA 损伤反应^[18]、抗原血清学反应^[19]、基本元素匮乏(缺氧^[20-21]、缺铁^[22-24]等)、翻译后修饰^[25]及其对如卡泊净芬^[26]、伏立康唑^[27]、依曲康唑^[28]等抗真菌药物的反应进行了研究。这些研究不仅为烟曲霉致病机制、代谢规律的研究提供了依据和信息,也为其他条件致病菌的相关研究奠定了基础,同时也为改善感染控制策略和开发新的治疗药物提供了思路。

黄曲霉(*Aspergillus flavus*)也是一种重要的致病菌,其产生的黄曲霉毒素能够抑制蛋白质的合成,人们食用被黄曲霉毒素污染的食物而导致疾病。真菌性角膜炎是黄曲霉引起的常见疾病之一, Selvam 等^[29]从被感染的角膜、痰液和腐生菌中分离出黄曲霉类分泌物,并利用高分辨率质谱分析,共鉴定出了 637 种蛋白质,这是首次对不同来源的黄曲霉分泌蛋白组进行深入分析。之后, Selvam 等^[30]又鉴定出了一种超分泌碱性丝氨酸蛋白酶,进一步揭示了潜在的毒性因子。除此之外,还有研究利用蛋白质组学技术阐述了一些环境信号,如钙离子^[31]、硫元素^[32]甚至水分活度^[33]对黄曲霉蛋白质组的影响。

对致病丝状真菌的蛋白质组学研究非常广泛,包括其他一些致病菌的研究也在不断深入。Pedras 等^[34]发现植物抗毒素 Camalexin 可以改变甘蓝链格孢菌(*Alternaria brassicicola*)的蛋白质组,使芸苔属植物免受该菌的侵害。之后 Davanture 等^[35]通过研究甘蓝链格孢菌和灰霉菌(*Botrytis cinerea*)的磷酸蛋白质组,鉴定出了一系列参与细胞代谢、信号转导等过程的磷酸蛋白,并且找到了组氨酸激酶中

新的磷酸化作用位点。另外,镰刀菌也是一类重要的致病菌,如尖孢镰刀菌(*Fusarium oxysporum*)^[36]、禾谷镰刀菌(*Fusarium graminearum*)^[37]和层生镰刀菌(*Fusarium proliferatum*)^[38]等,其特定生长条件、修饰过程下的蛋白质组学研究也为致病菌代谢和感染过程的研究提供了重要信息。

2.2 蛋白质组学在抗生素产生菌中的应用

部分丝状真菌如产黄青霉(*Penicillium chrysogenum*)和顶头孢霉(*Acremonium chrysogenum*)是重要的 β -内酰胺类抗生素产生菌,分别能产生青霉素和头孢菌素 C (CPC),这类菌株的蛋白质组学研究也受到广泛关注。产黄青霉蛋白质组学的早期研究集中在菌种的优化过程, Jami 等^[39]对 3 株不同的产黄青霉工业菌株进行了比较蛋白质组学研究,鉴别出 950 个蛋白质,并阐明该菌种在工业菌种改良过程中发生了全局性代谢重排。通过研究青霉素合成基因簇的拷贝数对青霉素产量的影响对产黄青霉菌种进行了优化, Barreiro 等^[40]在产黄青霉高产菌株(AS-P-78)的蛋白质组变化研究中发现,虽然其与青霉素合成相关的基因拷贝数增加了,但直接与青霉素合成相关的蛋白并没有显著提高。另外,通常讲诱导剂能够通过改变青霉素合成途径中的相关酶系从而影响青霉素的生物合成,有研究发现 1,3-二氨基丙烷和亚精胺可使产黄青霉蛋白质组发生变化,并且促进了青霉素的合成^[41-42]。目前,产黄青霉蛋白质组学研究的方向逐渐向信号通路等机制方面进行, Carrasco-Navarro 等^[43]就对产黄青霉中异源三聚体 G 蛋白 Pga1 介导的信号通路的蛋白质组学进行了分析,识别了 30 种丰度依赖于 Pga1 活动水平的蛋白质,这些蛋白涉及 ATP、NADPH 和半胱氨酸生物合成的初级代谢通路,另外在嘌呤代谢、蛋白质折叠、应激反应和形态发生等方面 Pga1 信号也有相应的作用,而这些因素都会对青霉素的产量产生影响。

本实验室致力于对顶头孢霉的研究,为了从整体代谢网络中掌握影响 CPC 合成的代谢途径,于 2011 年首次开展了对顶头孢霉的比较蛋白质组学

研究,首先采用尿素-硫脲结合三氯乙酸(TCA)-丙酮提取法建立了一种顶头孢霉蛋白质组的制备方法,这种方法获得的蛋白浓度高、条带多,双向电泳图像清晰,横条纹较少,拖带现象轻,并在后续的顶头孢霉高低产菌比较蛋白质组学研究中发现了19个生长期差异蛋白和35个发酵期差异蛋白,这些蛋白涉及碳水化合物代谢、能量代谢、氨基酸代谢等多个代谢途径^[44]。与转录组的比较分析鉴定出的4329个差异表达基因及涉及到的丙酮酸代谢、苹果酸代谢、天冬氨酸代谢、甘油酯代谢、嘧啶代谢等24条差异代谢途径相比^[45],有4个与硫胺素合成相关的蛋白,即噻唑合成酶、丙酮酸氧化酶、FAD依赖的氧化还原酶和硫载体蛋白,在高低产菌中有不同程度的差异表达,且高产菌中的表达量明显高于低产菌。随后克隆了噻唑合成酶的编码基因与转录组测序结果中的一段命名为*acthi*的基因序列同源性较高,且*acthi*的转录水平在高低产菌中也有显著差异。经体内敲除及过表达研究证实*acthi*基因表达产物对CPC的合成有重要作用,并推测硫胺素代谢途径可能作为CPC分子育种的潜在靶点^[46]。进一步对*acthi*基因的表达产物进行的研究也证实了*acthi*基因编码的是噻唑合成酶,参与硫胺素前体噻唑的合成^[47],表明初级代谢生物合成会影响到次级代谢的生物合成。另外,针对顶头孢霉高低产菌初级代谢转录水平差异的研究中还发现了5个重要的分支节点,在这些节点周围观察到了显著的基因转录水平的变化,而这些变化有可能调控着初级代谢中代谢流流向CPC合成,从而导致顶头孢霉CPC产量提高^[48]。顶头孢霉CPC生物合成途径的研究已经十分透彻,而其调控机制和初级代谢以及前体的生物合成途径对次级代谢生物合成的影响则尚不清楚,组学技术的应用提供了新的思路,特别是蛋白质组学技术可以跳出基因序列的限制,重新审视顶头孢霉生物合成CPC的代谢网络^[49]。

2.3 蛋白质组学在工业酶生产菌中的应用

丝状真菌是重要的工业酶生产菌株,例如黑曲

霉(*Aspergillus niger*)、米曲霉(*Aspergillus oryzae*)和里氏木霉(*Trichoderma reesei*)等在商业酶制剂生产领域处于核心地位^[50];特别是占据了广阔市场的木质纤维素酶^[51]。2007年,Sato等^[52]用2-DGE方法从生长于两种不同培养基的黄孢原毛平革菌(*Phanerochaete chrysosporium*)中鉴定出了18种与木质纤维素酶表达相关的蛋白;之后,里氏木霉和黑曲霉的纤维素酶系也通过2-DGE和LC-MS联用的方法从分泌蛋白质组中鉴定得到^[53-54]。其中,黑曲霉的研究中就鉴定出了水解酶类在内的102个特异性蛋白,包括纤维素酶、半纤维素酶、水解酶、蛋白酶、过氧化物酶和转运蛋白等^[55]。2011年,Gonzalez-Vogel等^[56]对降解半纤维素和木质素的模式菌株产紫青霉(*Penicillium purpurogenum*)进行了蛋白质组分析,在非变性条件鉴定出了该菌株与纤维素降解相关的酶复合物,该酶复合物是由 β -半乳糖苷酶、脂酶和木聚糖酶等组成的一类高分子蛋白复合物,并利用免疫共沉淀技术研究了复合物各组分之间的相互作用,为深入理解木质纤维素降解机制提供了理论依据。近年来,高通量iTRAQ技术越来越多地用于此类蛋白质组分析,解析胞质蛋白和膜蛋白、细胞活动机制和规律、蛋白间的相互作用以及能够促进纤维素酶分泌的潜在代谢途径^[57]。诸如黑曲霉^[55]、黄孢原毛平革菌^[58]、褐色嗜热单孢菌(*Thermobifida fusca*)^[57]、里氏木霉^[59]、烟曲霉^[60]等一系列木质纤维素酶产生菌及其共生菌的蛋白质组也通过iTRAQ和LC-MS联用的方法解析出来^[61],发现了一系列具有催化活性的新颖蛋白复合体,通过蛋白-蛋白交互作用提供了研究此类独特酶系的一种更为有效的方法,也为这些丝状真菌所产酶的产业化进程提供了新的思路。

3 结语与展望

目前,致病真菌的耐药问题日趋严重,传统方法显得束手无策,根本原因就在于对其致病机制缺乏透彻的认识,蛋白质组学则可以研究蛋白质与致病性的关系,了解其对抗生素的响应机制,并根据

这些信息寻找新的作用靶位进行药物开发。而对于抗生素生产菌的分子育种来讲,蛋白质组学可以发挥寻找新基因、鉴定基因功能、提高育种效率的作用,具有重要的意义。另外,在工业酶生产方面,蛋白质组分析有助于在分子水平上理解高效菌株的系统发生和机制,为工业酶生产菌更多蛋白分泌途径的研究及挖掘高产潜力提供基础。丝状真菌不仅是致病菌,还在异源表达工业酶、化学制品以及药物活性物质中发挥着越来越重要的作用,而蛋白质组学研究更是为丝状真菌工业酶制剂和重组药物的开发提供了广阔的创新空间。

与其他功能组学相比,蛋白质组学优势在于:

(1) 蛋白质组的组成更加的庞大与复杂,蛋白质组技术能够更灵敏、准确和稳定地从复杂生物样品中鉴别蛋白质^[62],从而在更多的角度和深度去研究生物体。(2) 虽然 RNA 水平可以一定程度上反映蛋白质水平,但蛋白质还存在运输、装配方式、降解时间和途径等相对独立的代谢过程,且无法在基因水平检测,而这些过程往往会影响到甚至改变蛋白质的活性和功能。(3) 蛋白质组学的研究范围较为宽泛,可以检测胞内、胞外、膜蛋白质组和分泌蛋白质组等,这些也是 RNA 水平无法检测的。(4) 蛋白质之间存在着活跃、广泛的相互作用,并且能够对生物机体内部及外界因素产生反应,蛋白质组学的研究则可以更加贴切地掌握生命的现象和本质,找到生命活动的规律。因此,可以说蛋白质组学研究的应用是大势所趋,虽然蛋白质组分析也存在如底物的交叉反应性、比色法检测的灵敏度等劣势,但通过与其他功能组学的研究互相补充、相辅相成,相信在未来的发展中将应用到更广泛的研究领域。

随着人类基因组计划的实施和推进,生命科学已进入了功能基因组时代,除了蛋白质组学之外,其研究内容还包括转录组学和代谢组学。转录组学研究的是细胞在特定功能状态下全部转录物的种类、结构和功能,对动态的 mRNA 变化进行定量测量,量化不同条件下各类转录物表达水平的

变化^[63],反映出特定状态下细胞中基因的表达水平;代谢组学则是对生物样本中所有代谢产物以及详细代谢通路进行分析,从整体上分析生物体代谢轮廓特征,描述生物内源性代谢物质对内、外因变化应答的规律以及在特定环境和条件下代谢组的变化,是系统生物学研究领域最为重要的技术手段之一^[64]。

我们都知道,生物体的遗传信息由基因经转录向蛋白质传递,其基因功能又由表达产物体现,这些功能基因组学利用高通量方法在细胞不同层面上进行研究探索,各部分内容紧密相连,环环相扣。功能基因组学的各部分内容(转录组学、蛋白质组学和代谢组学)在不同水平和尺度上系统分析丝状真菌细胞的生理功能和作用模式,然后多层次数据进行整合分析,更有助于从全局精确掌握丝状真菌的代谢网络和调控机制,为后续的菌种优化、代谢工程等研究提供更广阔的思路 and 空间。

REFERENCES

- [1] Chaudhary AK, Dhakal D, Sohng JK. An insight into the "omics" based engineering of streptomycetes for secondary metabolite overproduction[J]. BioMed Research International, 2013, 2013: Article ID 968518
- [2] Fleißner A, Dersch P. Expression and export: recombinant protein production systems for *Aspergillus*[J]. Applied Microbiology and Biotechnology, 2010, 87(4): 1255-1270
- [3] Brakhage AA, Caruso ML. Biotechnical genetics of antibiotic biosynthesis[A]//Genetics and Biotechnology[M]. Berlin, Heidelberg: Springer, 2004: 317-353
- [4] Leathers TD. Biotechnological production and applications of pullulan[J]. Applied Microbiology and Biotechnology, 2003, 62(5/6): 468-473
- [5] Kim Y, Nandakumar M, Marten MR. Proteomics of filamentous fungi[J]. Trends in Biotechnology, 2007, 25(9): 395-400
- [6] Yin W, Fu X, Li P. Application research progress of proteomics[J]. Biotechnology Bulletin, 2014(1): 32-38 (in Chinese)
尹稳, 伏旭, 李平. 蛋白质组学的应用研究进展[J]. 生物技术通报, 2014(1): 32-38
- [7] Chen XZ, Shen W, Fan Y, et al. Genomics and metabolic engineering of filamentous fungi in the post-genomics era[J]. Hereditas, 2011, 33(10): 1067-1078 (in Chinese)
陈献忠, 沈微, 樊游, 等. 后基因组时代的丝状真菌基因组学与代谢工程[J]. 遗传, 2011, 33(10): 1067-1078
- [8] Wilkins MR, Appel RD, Williams KL, et al. Proteome Research: Concepts, Technology and Application[M]. 2nd edition. New York: Springer, 2007

- [9] Ghimire PS, Jin C. Genetics, molecular, and proteomics advances in filamentous fungi[J]. *Current Microbiology*, 2017, 74(10): 1226-1236
- [10] Kumar C, Mann M. Bioinformatics analysis of mass spectrometry-based proteomics data sets[J]. *FEBS Letters*, 2009, 583(11): 1703-1712
- [11] Jin C. Protein glycosylation in *Aspergillus fumigatus* is essential for cell wall synthesis and serves as a promising model of multicellular eukaryotic development[J]. *International Journal of Microbiology*, 2012, 2012: Article ID 654251
- [12] Klein DA, Paschke MW. Filamentous fungi: the indeterminate lifestyle and microbial ecology[J]. *Microbial Ecology*, 2004, 47(3): 224-235
- [13] Kniemeyer O, Lessing F, Scheibner O, et al. Optimisation of a 2-D gel electrophoresis protocol for the human-pathogenic fungus *Aspergillus fumigatus*[J]. *Current Genetics*, 2006, 49(3): 178-189
- [14] Carberry S, Neville CM, Kavanagh KA, et al. Analysis of major intracellular proteins of *Aspergillus fumigatus* by MALDI mass spectrometry: identification and characterisation of an elongation factor 1B protein with glutathione transferase activity[J]. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 2006, 341(4): 1096-1104
- [15] Vödisch M, Albrecht D, Leßing F, et al. Two-dimensional proteome reference maps for the human pathogenic filamentous fungus *Aspergillus fumigatus*[J]. *Proteomics*, 2009, 9(5): 1407-1415
- [16] Anjo SI, Figueiredo F, Fernandes R, et al. A proteomic and ultrastructural characterization of *Aspergillus fumigatus*' conidia adaptation at different culture ages[J]. *Journal of Proteomics*, 2017, 161: 47-56
- [17] Shin KS, Kim YH, Yu JH. Proteomic analyses reveal the key roles of BrIA and AbaA in biogenesis of gliotoxin in *Aspergillus fumigatus*[J]. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 2015, 463(3): 428-433
- [18] Shin KS, Park HS, Kim Y, et al. *Aspergillus fumigatus* spore proteomics and genetics reveal that VeA represses DefA-mediated DNA damage response[J]. *Journal of Proteomics*, 2016, 148: 26-35
- [19] Teutschbein J, Simon S, Lothar J, et al. Proteomic profiling of serological responses to *Aspergillus fumigatus* antigens in patients with invasive aspergillosis[J]. *Journal of Proteome Research*, 2016, 15(5): 1580-1591
- [20] Barker BM, Kroll K, Vödisch M, et al. Transcriptomic and proteomic analyses of the *Aspergillus fumigatus* hypoxia response using an oxygen-controlled fermenter[J]. *BMC Genomics*, 2012, 13: 62
- [21] Grahl N, Shepardson KM, Chung D, et al. Hypoxia and fungal pathogenesis: to air or not to air[J]. *Eukaryotic Cell*, 2012, 11(5): 560-570
- [22] Cassat JE, Skaar EP. Iron in infection and immunity[J]. *Cell Host & Microbe*, 2013, 13(5): 509-519
- [23] Baldin C, Valiante V, Krüger T, et al. Comparative proteomics of a tor inducible *Aspergillus fumigatus* mutant reveals involvement of the Tor kinase in iron regulation[J]. *Proteomics*, 2015, 15(13): 2230-2243
- [24] Lamb AL. Breaking a pathogen's iron will: Inhibiting siderophore production as an antimicrobial strategy[J]. *Biochimica et Biophysica Acta*, 2015, 1854(8): 1054-1070
- [25] Adav SS, Ravindran A, Sze SK. Quantitative proteomic study of *Aspergillus fumigatus* secretome revealed deamidation of secretory enzymes[J]. *Journal of Proteomics*, 2015, 119: 154-168
- [26] Vargas-Muñiz JM, Renshaw H, Waitt G, et al. Caspofungin exposure alters the core septin AspB interactome of *Aspergillus fumigatus*[J]. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 2017, 485(2): 221-226
- [27] Amarsaikhan N, Albrecht-Eckardt D, Sasse C, et al. Proteomic profiling of the antifungal drug response of *Aspergillus fumigatus* to voriconazole[J]. *International Journal of Medical Microbiology*, 2017, 307(7): 398-408
- [28] Gautam P, Mushahary D, Hassan W, et al. In-depth 2-DE reference map of *Aspergillus fumigatus* and its proteomic profiling on exposure to itraconazole[J]. *Medical Mycology*, 2016, 54(5): 524-536
- [29] Selvam RM, Nithya R, Devi PN, et al. Data set for the mass spectrometry based exoproteome analysis of *Aspergillus flavus* isolates[J]. *Data in Brief*, 2015, 2: 42-47
- [30] Selvam RM, Nithya R, Devi PN, et al. Exoproteome of *Aspergillus flavus* corneal isolates and saprophytes: identification of proteoforms of an oversecreted alkaline protease[J]. *Journal of Proteomics*, 2015, 115: 23-35
- [31] Delgado J, Owens RA, Doyle S, et al. Quantitative proteomics reveals new insights into calcium-mediated resistance mechanisms in *Aspergillus flavus* against the antifungal protein PgAFP in cheese[J]. *Food Microbiology*, 2017, 66: 1-10
- [32] El-Sayed AS, Yassin MA, Ali GS. Transcriptional and proteomic profiling of *Aspergillus flavipes* in response to sulfur starvation[J]. *PLoS One*, 2015, 10(12): e0144304
- [33] Zhang F, Zhong H, Han XY, et al. Proteomic profile of *Aspergillus flavus* in response to water activity[J]. *Fungal Biology*, 2015, 119(2/3): 114-124
- [34] Pedras MSC, Minic Z, Abdoli A. The phytoalexin camalexin induces fundamental changes in the proteome of *Alternaria brassicicola* different from those caused by brassinin[J]. *Fungal Biology*, 2014, 118(1): 83-93
- [35] Davanture M, Dumur J, Bataillé-Simoneau N, et al. Phosphoproteome profiles of the phytopathogenic fungi *Alternaria brassicicola* and *Botrytis cinerea* during exponential growth in axenic cultures[J]. *Proteomics*, 2014, 14(13/14): 1639-1645
- [36] Lopez-Fernandez L, Roncero MIG, Prieto A, et al. Comparative proteomic analyses reveal that Gnt2-mediated N-glycosylation affects cell wall glycans and protein content in *Fusarium oxysporum*[J]. *Journal of Proteomics*, 2015, 128: 189-202
- [37] Serchi T, Pasquali M, Leclercq CC, et al. 2-D DIGE proteomic profiles of three strains of *Fusarium graminearum* grown in agmatine or glutamic acid medium[J]. *Data in Brief*, 2016, 6: 985-988
- [38] Li TT, Gong L, Wang Y, et al. Proteomics analysis of *Fusarium proliferatum* under various initial pH during fumonisin production[J]. *Journal of Proteomics*, 2017, 164: 59-72
- [39] Jami MS, Barreiro C, García-Estrada C, et al. Proteome analysis of the penicillin producer *Penicillium chrysogenum*: characterization of protein changes during the industrial strain improvement[J]. *Molecular & Cellular Proteomics*, 2010, 9(6): 1054-1070

- 1182-1198
- [40] Barreiro C, Martín JF, García-Estrada C. Proteomics shows new faces for the old penicillin producer *Penicillium chrysogenum*[J]. Journal of Biomedicine and Biotechnology, 2012, 2012: Article ID 105109
- [41] Martín J, García-Estrada C, Rumero Á, et al. Characterization of an autoinducer of penicillin biosynthesis in *Penicillium chrysogenum*[J]. Applied and Environmental Microbiology, 2011, 77(16): 5688-5696
- [42] García-Estrada C, Barreiro C, Jami MS, et al. The inducers 1, 3-diaminopropane and spermidine cause the reprogramming of metabolism in *Penicillium chrysogenum*, leading to multiple vesicles and penicillin overproduction[J]. Journal of Proteomics, 2013, 85: 129-159
- [43] Carrasco-Navarro U, Vera-Estrella R, Barkla BJ, et al. Proteomic analysis of the signaling pathway mediated by the heterotrimeric G α protein Pga1 of *Penicillium chrysogenum*[J]. Microbial Cell Factories, 2016, 15(1): 173
- [44] Liu H, Liu Y, Xie LP, et al. Proteome preparation for *Acremonium chrysogenum*[J]. Chinese Journal of Pharmaceuticals, 2011, 42(6): 412-415 (in Chinese)
- 刘红, 刘艳, 谢丽萍, 等. 顶头孢霉蛋白质组的制备[J]. 中国医药工业杂志, 2011, 42(6): 412-415
- [45] Liu Y, Xie LP, Gong GH, et al. De novo comparative transcriptome analysis of *Acremonium chrysogenum*: High-yield and wild-type strains of Cephalosporin C producer[J]. PLoS One, 2014, 9(8): e104542
- [46] Liu Y, Zhang W, Xie LP, et al. *Acthi*, a thiazole biosynthesis enzyme, is essential for thiamine biosynthesis and CPC production in *Acremonium chrysogenum*[J]. Microbial Cell Factories, 2015, 14: 50
- [47] Song ZH, Pan J, Xie LP, et al. Expression, purification, and activity of ActhiS, a Thiazole biosynthesis enzyme from *Acremonium chrysogenum*[J]. Biochemistry(Moscow), 2017, 82(7): 852-860
- [48] Han S, Liu Y, Xie LP, et al. Comparative expression profiling of genes involved in primary metabolism in high-yield and wild-type strains of *Acremonium chrysogenum*[J]. Antonie Van Leeuwenhoek, 2016, 109(3): 357-369
- [49] Hu YJ, Zhu BQ. Study on genetic engineering of *Acremonium chrysogenum*, the cephalosporin C producer[J]. Synthetic and Systems Biotechnology, 2016, 1(3): 143-149
- [50] Beneton T, Wijaya IPM, Postros P, et al. High-throughput screening of filamentous fungi using nanoliter-range droplet-based microfluidics[J]. Scientific Reports, 2016, 6: 27223
- [51] Frisvad JC, Andersen B, Thrane U. The use of secondary metabolite profiling in chemotaxonomy of filamentous fungi[J]. Mycological Research, 2008, 112(2): 231-240
- [52] Sato S, Liu F, Koc H, et al. Expression analysis of extracellular proteins from *Phanerochaete chrysosporium* grown on different liquid and solid substrates[J]. Microbiology, 2007, 153(9): 3023-3033
- [53] Jun H, Kieselbach T, Jönsson LJ. Enzyme production by filamentous fungi: analysis of the secretome of *Trichoderma reesei* grown on unconventional carbon source[J]. Microbial Cell Factories, 2011, 10: 68
- [54] Do Vale LHF, Gómez-Mendoza DP, Kim MS, et al. Secretome analysis of the fungus *Trichoderma harzianum* grown on cellulose[J]. Proteomics, 2012, 12(17): 2716-2728
- [55] Adav SS, Li AA, Manavalan A, et al. Quantitative iTRAQ secretome analysis of *Aspergillus niger* reveals novel hydrolytic enzymes[J]. Journal of Proteome Research, 2010, 9(8): 3932-3940
- [56] Gonzalez-Vogel A, Eyzaguirre J, Oleas G, et al. Proteomic analysis in non-denaturing condition of the secretome reveals the presence of multienzyme complexes in *Penicillium purpurogenum*[J]. Applied Microbiology and Biotechnology, 2011, 89(1): 145-155
- [57] Adav SS, Ng CS, Sze SK. iTRAQ-based quantitative proteomic analysis of *Thermobifida fusca* reveals metabolic pathways of cellulose utilization[J]. Journal of Proteomics, 2011, 74(10): 2112-2122
- [58] Manavalan A, Adav SS, Sze SK. iTRAQ-based quantitative secretome analysis of *Phanerochaete chrysosporium*[J]. Journal of Proteomics, 2011, 75(2): 642-654
- [59] Adav SS, Chao LT, Sze SK. Quantitative secretomic analysis of *Trichoderma reesei* strains reveals enzymatic composition for lignocellulosic biomass degradation[J]. Molecular & Cellular Proteomics, 2012, 11(7): M111-012419
- [60] Liu DY, Li J, Zhao S, et al. Secretome diversity and quantitative analysis of cellulolytic *Aspergillus fumigatus* Z5 in the presence of different carbon sources[J]. Biotechnology for Biofuels, 2013, 6(1): 149
- [61] Sharma Ghimire P, Ouyang HM, Wang Q, et al. Insight into enzymatic degradation of corn, wheat, and soybean cell wall cellulose using quantitative secretome analysis of *Aspergillus fumigatus*[J]. Journal of Proteome Research, 2016, 15(12): 4387-4402
- [62] Manavalan T, Manavalan A, Thangavelu KP, et al. Secretome analysis of *Ganoderma lucidum* cultivated in sugarcane bagasse[J]. Journal of Proteomics, 2012, 77: 298-309
- [63] Costa V, Angelini C, de Feis I, et al. Uncovering the complexity of transcriptomes with RNA-Seq[J]. Journal of Biomedicine & Biotechnology, 2010, 2010: Article ID 853916
- [64] Nguyen QT, Merlo ME, Medema MH, et al. Metabolomics methods for the synthetic biology of secondary metabolism[J]. FEBS Letters, 2012, 586(15): 2177-2183