

• 药材与资源 •

赤芝 FPS 基因酵母单杂交文库构建及其上游转录因子的筛选

徐晓兰¹, 赖荣才¹, 陈体强², 石林春³, 陈士林^{4*}

1. 福建农林大学蜂学学院, 福建 福州 350002
2. 福建省农业科学院食用菌研究所, 福建 福州 350014
3. 中国医学科学院 北京协和医学院药用植物研究所, 北京 100193
4. 中国中医科学院中药研究所, 北京 100700

摘要:目的 筛选赤芝三萜合成途径中法尼基焦磷酸合酶(farnesyl diphosphate synthase, FPS)基因的上游调控转录因子。方法 首先克隆了 FPS 基因启动子,并连接至 pAbAi 质粒构建诱饵载体 pAbAi-FPS。将 pAbAi-FPS 转化 Y1H 酵母感受态细胞构建诱饵菌。采用 SMART 技术构建赤芝酵母单杂交 cDNA 文库,再将纯化的双链 cDNA、pGADT7-Rec 共转化诱饵菌株,筛选 FPS 上游的转录调控因子。结果 构建了含 pAbAi-FPS 的诱饵载体并筛选出诱饵菌株,构建了 cDNA 文库并转化诱饵菌株,筛选出阳性克隆 37 个,得到作用 FPS 基因上游的转录调控因子 18 个,包括转录因子 3 个、核糖体蛋白 5 个及其他家族蛋白 10 个。结论 筛选出转录因子 GISNF2、GIMHR 和 GlZn2Cys6 为调控 FPS 表达的候选基因,为深入研究 FPS 基因的表达调控机制奠定了研究基础。

关键词: 赤芝; 法尼基焦磷酸合酶; 酵母单杂交; 转录因子; 灵芝三萜

中图分类号: R282.12 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2020)14-3770-07

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2020.14.022

Construction of yeast one-hybrid library and screening of transcription factors regulating FPS expression in *Ganoderma lucidum*XU Xiao-lan¹, LAI Rong-cai¹, CHEN Ti-qiang², SHI Lin-chun³, CHEN Shi-lin⁴

1. College of Bee Science, Fujian Agriculture and Forestry University, Fuzhou 350002, China
2. Institute of Edible and Medicinal Fungi, Fujian Academy of Agriculture Sciences, Fuzhou 350014, China
3. Institute of Medicinal Plant Development, Chinese Academy of Medical Sciences, Peking Union Medical College, Beijing 100193, China
4. Institute of Chinese Materia Medica, China Academy of Chinese Medical Sciences, Beijing 100700, China

Abstract: **Objective** To screen the upstream regulatory transcription factors of farnesyl diphosphate synthase (FPS) in the triterpenoid synthesis pathway in *Ganoderma lucidum*. **Methods** In this study, the FPS promoter was cloned and connected to the pAbAi plasmid to construct bait vector pAbAi-FPS, which was transformed into Y1H yeast competent cells to construct bait yeast. The yeast one-hybrid cDNA library was constructed by using SMART technology, then the purified ds-cDNA and pGADT7-Rec were co-transformed into bait yeast strain to screen the upstream transcriptional regulatory factors of FPS. **Results** The bait vector containing pAbAi-FPS was constructed and the bait strain was screened, the cDNA library was constructed and transformed to the bait strain. A total of 37 positive clones were screened and sequenced. The sequences of conserved domain were predicted and performed blast search against the whole-genome database to identify their function. As a result, a total of 18 upstream regulatory factors were screened out including three transcription factors, five ribosomal proteins, and 10 other transcription regulators. **Conclusion** The results indicated that transcription factors GISNF2, GIMHR, and GlZn2Cys6 were candidate genes for regulating the expression of FPS, and this study offered data for further study on the regulation mechanism of FPS expression.

Key words: *Ganoderma lucidum* (Leyss. ex Fr.) Karst.; FPS; yeast one-hybrid; transcription factors; ganoderma triterpenes

收稿日期: 2019-11-03

基金项目: 国家自然科学基金青年基金资助项目(81503189); 国家自然科学基金青年基金资助项目(81303158); 福建省科技厅区域发展项目(2018N3014); 福建省农业科学院创新团队(STIT2017-2-8)

作者简介: 徐晓兰, 讲师, 主要从事中药资源及生物技术研究。Tel: (0591)87640196 E-mail: xlxfz@126.com

*通信作者 陈士林 Tel: (010)57203877 E-mail: slchen@icmm.ac.cn

赤芝 *Ganoderma lucidum* (Leyss. ex Fr.) Karst. 为我国著名的药用真菌,主要药效成分为灵芝三萜,具抗肿瘤、保肝和提高免疫力等重要作用^[1]。合成灵芝三萜的前体化合物羊毛甾醇是经过甲羟戊酸途径 (mevalonate pathway, MVA 途径) 形成的。其中,法呢基焦磷酸合酶 (farnesyl diphosphate synthase, FPS) 处于 MVA 途径中的第一个分支点,催化两分子异戊烯基焦磷酸与二甲基烯丙基焦磷酸形成法呢基焦磷酸,是灵芝三萜合成过程中的关键酶之一^[2]。虽然赤芝 FPS 基因已经被克隆和鉴定,并在全基因组中得到注释,但其相关的转录调控机制还未得到阐述^[3]。

转录因子可以调控次生代谢途径中的多个代谢步骤,甚至会作用到整条代谢途径,因而转录因子在次生代谢物的生物合成中发挥了重要的作用,能显著提高或降低目标次生代谢物的合成量^[4]。赤芝全基因组的测序完成,为灵芝三萜生物合成的分子机制研究提供了大量的数据,使得赤芝作为药用模式真菌成为可能。在赤芝全基因组数据库中注释到 629 个转录因子,包括 C2H2、HLH、HMG、MADS 等家族^[5]。由于目前只有 3 个转录因子被报道参与灵芝酸合成和菌丝生长过程中,且它们所调控的目的基因仍是未知^[6-8]。因此,要充分发挥赤芝的模式作用,还需要对赤芝的生物学特性及其次生代谢路径的表达与调控进行更深入的研究。酵母单杂交技术通过验证 DNA 与蛋白之间的相互作用,可以分析真核细胞内的基因表达调控。由于此方法操作简便,假阳性低,可以检测转录因子与启动子区顺式作用元件之间的相互作用,因此被广泛用于调控目的基因的转录因子的筛选中。现已通过此技术在红豆杉、长春花、青蒿等多种药用植物中筛选出可以调控次生代谢产物的转录因子^[9-12]。

目前关于灵芝三萜合成 MVA 途径的报道,还仅限于 11 个酶基因的克隆和过表达研究,并未涉及到其转录调控机制。本实验扩增了 FPS 基因的启动子序列并构建其诱饵载体,应用酵母单杂交技术筛选与该启动子互作的转录因子,为研究 FPS 基因的转录调控机制提供基础。

1 材料

赤芝菌株 CGMCC5.0026 保存于本实验室。接至 PDA 固体培养基,28 ℃ 培养 7 d,再转接至 PDA 液体培养基中,28 ℃,180 r/min,培养 7 d,收集菌丝用于提取基因组 DNA。Matchmaker™ Gold

Yeast One-Hybrid Library Screening System 试剂盒 (Clontech) SD/-Ura DO Supplement、SD/-Leu DO Supplement、Aureobasidin A (AbA)、pMD 19-T、大肠杆菌 DH5 α 感受态细胞、Hind III 和 Sma I 酶均购自 Takara 公司;Trizol 试剂 (Invitrogen)、Dynabeads™ mRNA Purification Kit (Invitrogen) 购自 Thermo 公司;Adenine Sulfate (Ade) 购自 Amresco 公司;植物基因组 DNA 提取试剂盒购自天根生化科技 (北京) 有限公司;引物合成及测序由上海生物工程有限公司完成。

2 方法

2.1 赤芝 FPS 基因启动子的克隆及序列分析

在赤芝全基因组数据库 (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/genome/?term=Ganoderma+lucidum>) 中,下载 FPS 基因启动子序列。在启动子区-1 000~0 bp 两端处设计引物,并引入 Hind III 和 Xho I 酶切位点。其正反向引物分别为 F: 5'-ATTGAA-aagcttGGAAGAGCATTGGTTG-3', R: 5'-ACATGC-ctcgagTTTGGCGCAGGGGTG-3'。提取赤芝基因组 DNA,扩增 FPS 基因启动子区。PCR 产物连接 pMD 19-T 载体,并转化大肠杆菌 DH5 α 感受态细胞,筛选阳性克隆送至上海生物工程有限公司进行测序。利用在线分析软件 PlantCARE (<http://bioinformatics.psb.ugent.be/webtools/plantcare/html/>) 分析 FPS 基因启动子区的顺式作用元件。

2.2 诱饵菌株 pAbAi-FPS 的构建

分别将载体 pAbAi 和含有 FPS 启动子的质粒用 Hind III 和 Xho I 酶进行双酶切,琼脂糖凝胶电泳后胶回收目的条带并连接,获得诱饵载体 pAbAi-FPS。用 Bbs I 酶将诱饵载体 pAbAi-FPS 和阳性对照 p53-AbAi 进行线性化,随后分别将线性化的诱饵质粒和阳性对照转化至 Y1H 酵母感受态细胞中。转化后,用 1 mL 0.9% NaCl 的重悬菌液并涂布于 SD/-Ura 平板上,30 ℃ 培养 4 d 后挑取单菌落,在 SD/-Ura 培养基上划线,30 ℃ 倒置培养 3 d,使用 Matchmaker Insert Check PCR Mix 1 进行 PCR 筛选阳性克隆,得到诱饵菌株 Y1H [pAbAi-FPS]。挑取正常生长的诱饵菌株,用 0.9% NaCl 溶液重悬,使得 A_{600} 为 0.002,进行 AbA 抗性实验。取 100 μ L 上述菌液涂布 SD/-Ura 板上,AbA 质量浓度分别为 0、200、500、1 000 ng/mL,30 ℃ 倒置培养 3 d,根据平板生长情况确定抑制诱饵菌株生长所需的最小 AbA 质量浓度,并制备诱饵菌株酵母感受态细胞。

2.3 cDNA 融合表达文库的构建及筛选

采用 Trizol 法提取赤芝菌丝总 RNA, 采用磁珠法纯化 mRNA。利用 SMART 技术逆转录获得 cDNA 第一条链, 然后经 LD-PCR (Long distance PCR) 合成双链的 ds-cDNA。将双链 cDNA、pGADT7-Rec 和诱饵菌株 Y1H [pAbAi-FPS] 感受态加入到预冷的无菌离心管中, 用 LiAC/PEG 法完成酵母共转化。将转化后的菌液涂布于 SD/-Leu/AbA (200 ng/mL) 平板上, 30 °C 培养 3~5 d 初步筛选阳性克隆。

2.4 阳性克隆的鉴定及测序分析

挑取 SD/-Leu/AbA (200 ng/mL) 平板上形态大小良好的单菌落接种于 YPDA 液体培养基中, 30 °C、220 r/min 培养 3~4 d 后再次划线于 SD/-Leu/AbA (200 ng/mL) 平板上。挑取正常生长

的菌落, 使用 Matchmaker Insert Check PCR Mix 2 进行 PCR。获得阳性克隆后进行回复鉴定。将所得序列在赤芝全基因组和 NCBI 数据库中用 Blast 工具进行比对, 并在 CDD 数据库 (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/cdd>) 中进行保守结构域的预测。

3 结果与分析

3.1 FPS 基因启动子的序列分析

以赤芝基因组 DNA 为模板, 扩增 FPS 启动子序列, 测序结果与全基因组序列一致。利用在线软件 plant CARE 分析启动子序列, 结果表明, 启动区含有启动子和增强子共同作用的顺式作用元件 CAAT-box, 光响应元件 G-box、L-box、Sp1 和 TCCC-motif, 植物激素响应元件 ABRE、CGTCA、TGA-element 和 TGACG-motif, 抗旱响应元件 MBS 及其他功能未知的作用元件等 (表 1)。

表 1 赤芝 FPS 启动子区的顺式元件

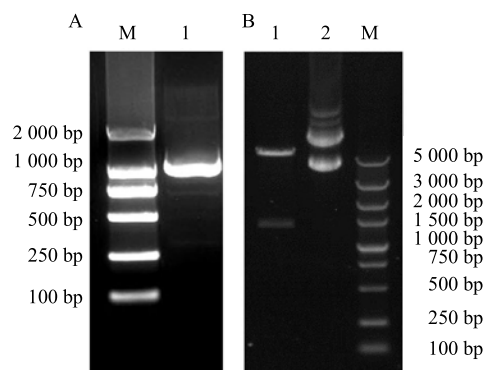
Table 1 Cis-acting element analysis of FPS promoter of *G. lucidum*

名称	序列	功能	发生次数
ABRE	ACGTG/CGCACGTGTC	abscisic acid-responsive element	2
ATCT	AATCTAATCC	light-responsive element	1
CAAT-box	CAAAT/CAAT	common cis-acting element in promoter and enhancer regions	12
CGTCA	CGTCA	MeJA-responsive element	2
DRE core	GCCGAC	Function unknown	2
G-box	CACGTT/TACGTG/CACGAC	light-responsive element	2
L-box	ATCCCACCTAC	light-responsive element	1
MBS	CAACTG	MYB binding site involved in drought-inducibility	1
MYC	CATTTG	Function unknown	2
Myb	CAACTG	Function unknown	2
STRE	AGGGG	Function unknown	3
Sp1	GGGCGG	light-responsive element	1
TCCC-motif	TCTCCCT	light-responsive element	1
TGA-element	AACGAC	auxin-responsive element	1
TGACG-motif	TGACG	MeJA-responsive element	2
Unnamed_1	CGTGG	Function unknown	1
Unnamed_4	CTCC	Function unknown	24
WRE3	CCACCT	Function unknown	2
as-1	TGACG	Function unknown	2

3.2 诱饵载体的鉴定

将 pAbAi 载体和含有 FPS 启动子的质粒进行双酶切、纯化、连接, 连接产物转化 *E. coli* TOP10 感受态细胞, 挑选阳性克隆扩增得到的产物大小约 1 000 bp (图 1-A), 和目的片段大小一致。阳性克隆用 *Hind*

III 和 *Xho* I 进行双酶切, 琼脂糖凝胶电泳检测。酶切产物有 2 条带, 大片段约 5 000 bp 为质粒条带, 小片段约 1 000 bp 为目的基因片段 (图 1-B)。将 PCR 和双酶切验证的阳性克隆送测, 测序结果与目的片段序列一致, 表明诱饵载体 pAbAi-FPS 构建成功。



M-Marker A1-pAbAi-FPS 转化 *E. coli* 的 PCR 产物 B1-pAbAi-FPS 的 *Hind*/Sma I 双酶解产物 B2-pAbAi-FPS 质粒

M-Marker A1- PCR product of vector pAbAi-FPS transformed *E. coli* TOP10 cells B1-pAbAi-FPS plasmid digested with *Hind*/Sma I B2-pAbAi-FPS plasmid

图 1 pAbAi-FPS 的 PCR 鉴定 (A) 和双酶解产物 (B)

Fig. 1 PCR detection (A) and restriction enzyme digestion (B) of pAbAi-FPS

3.3 诱饵菌株的筛选

将诱饵载体 pAbAi-FPS 转化至酵母菌株 Y1H 后, 涂布于 SD/-Ura 培养基上, 可以长出单菌落, 表明已成功构建诱饵菌株 (图 2-A)。诱饵菌株的 AbA 背景浓度的筛选表明, 在 AbA 浓度为 200 ng/mL 时, 可以完全抑制诱饵菌株的生长 (图 2-B)。

3.4 cDNA 文库的构建及转化诱饵菌株

提取灵芝菌丝 RNA, 凝胶电泳检测显示, 28 S rRNA 和 18S rRNA 条带清晰, 质量较好 (图 3)。

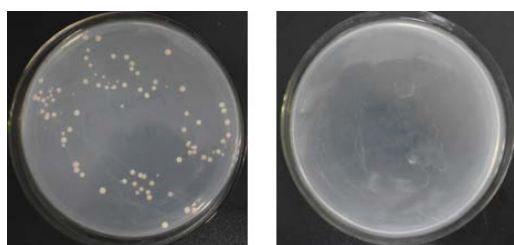


图 2 诱饵菌株在 SD/-ura (A) 和 SD/-ura/AbA (200 ng/mL) (B) 培养基上的生长情况

Fig. 2 Growth situation of bait strain on solid media SD/-ura (A) and SD/-ura/AbA (200 ng/mL) (B)

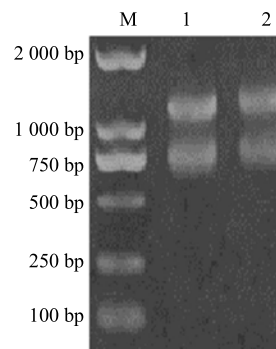
纯化得到 mRNA 后合成 cDNA 第一条链, 再利用 LD-PCR 获得双链 cDNA。琼脂糖凝胶电泳检测显示, 纯化后得到的双链 cDNA 片段主要在 0.5~3 kb (图 4)。

将纯化的双链 cDNA 与线性化的 pGADT7 载体

共转化诱饵菌株 Y1H [pAbAi-Ls] 感受态细胞, 涂布于 SD/-Leu/AbA (200 ng/mL) 平板上, 培养 3 d 后, 平板上有菌落生长 (图 5-A)。将阳性克隆挑取出来, 再次在 SD/-Leu/AbA (200 ng/mL) 平板上培养 (图 5-B)。

3.5 cDNA 融合表达文库鉴定及序列分析

对再次培养长出的单菌落进行 PCR 扩增, 送测

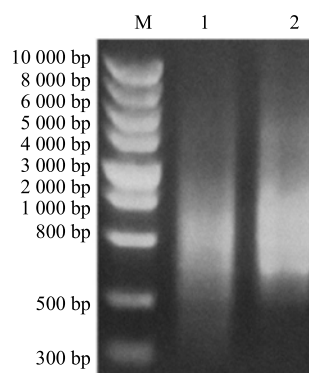


M-Marker 1、2-赤芝总 RNA

M-Marker 1、2-total RNA extracted from hyphae of *G. lucidum*

图 3 赤芝总 RNA 凝胶电泳图

Fig. 3 Electrophoresis of total RNA extracted from hyphae of *G. lucidum*



M-Marker 1、2-纯化的双链 cDNA

M-Marker 1、2-ds-cDNA

图 4 纯化的双链 cDNA 凝胶电泳图

Fig. 4 Electrophoresis of purified ds-cDNA

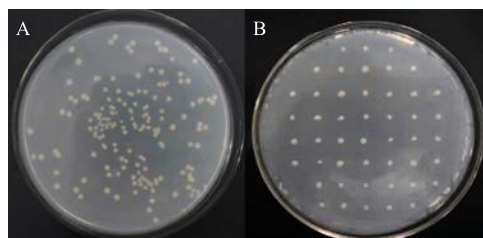


图 5 部分阳性克隆的生长情况 (A) 和其二次培养 (B)

Fig. 5 Growth of partial positive mono-clone in solid medium (A) and their secondary culture (B)

500 bp 以上的阳性克隆。共送测 37 个阳性克隆 (图 6), 得到 18 条序列。

将测序结果与赤芝基因组进行 Blast 比对, 比对上 9 个蛋白; 将未与基因组数据比对上的其他 9

个蛋白, 在 NCBI 进行比对和保守结构域预测。最终得到 17 个功能已知的蛋白, 包括 3 个转录因子、2 个热休克蛋白、5 个核糖体蛋白等。此外, 还有 1 个功能未知的蛋白 (表 2)。

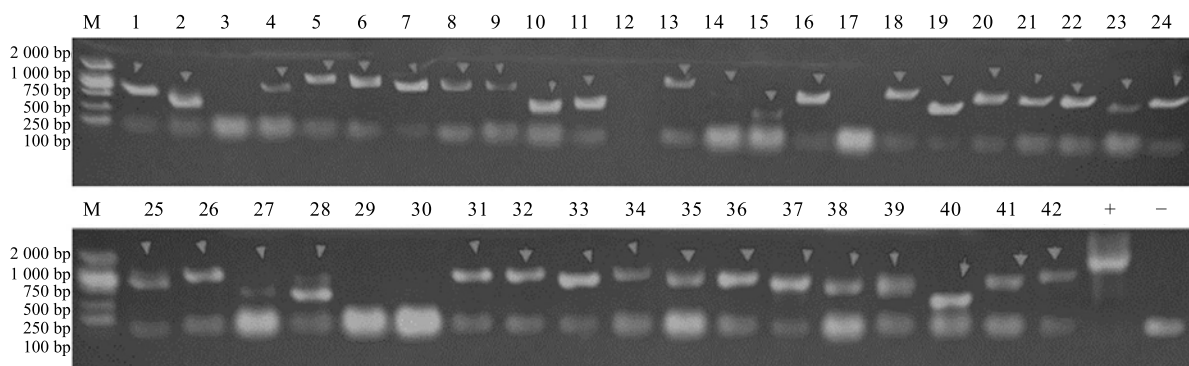


图 6 部分阳性克隆的 PCR 鉴定

Fig. 6 PCR identification of partial positive clones

表 2 与赤芝 FPS 启动子互作的蛋白

Table 2 Proteins that interacting with FPS promoter of *G. lucidum*

编号	Gene ID	NCBI ID	E 值	家族
1	GL17291	PIL28183.1	3.00×10^{-42}	Ferredoxin reductase superfamily
2	GL18172	PIL36713.1	2.00×10^{-61}	BolA protein
3	GL20588	PIL28988.1	1.00×10^{-21}	Ribosome protein S30
4	GL22280	PIL27514.1	7.00×10^{-61}	Ribosome protein L24e/L24 superfamily
5	GL22329	PIL23247.1	1.00×10^{-29}	Ubiquitin-conjugating enzymes
6	GL22913	PIL30314.1	2.00×10^{-77}	heat shock protein, Hsp
7	GL24318	PIL33833.1	7.00×10^{-15}	Lysine-dependent metalloendopeptidase
8	GL25188	PIL32183.1	7.00×10^{-26}	Function unknow
9	GL25628	PIL36303.1	1.00×10^{-63}	transcription factor MHR
10	—	AHC00614.1	7.00×10^{-18}	cyclophilin, CYP
11	—	PIL25109.1	2.00×10^{-28}	Ribosome protein 37ae
12	—	AGW47789.1	2.00×10^{-69}	Ribosome protein 27a
13	—	PIL37202.1	1.00×10^{-23}	ER membrane protein complex subunit 10
14	—	PIL25233.1	3.00×10^{-43}	Ribosome protein L35A
15	—	PIL30303.1	8.00×10^{-76}	heat shock protein 20, Hsp 20
16	—	PIL33763.1	3.00×10^{-87}	Myo-Inositol-1-Phosphate Synthases
17	—	PIL36188.1	5.00×10^{-41}	transcription factor Zn2Cys6
18	—	PIL35001.1	8.00×10^{-57}	transcription factor SNF2

4 讨论

MVA 途径的产物是许多生物分子的合成前体, 如类萜、类固醇等。赤芝中, 此途径的转录调控会影响三萜产物含量的高低, 其中 FPS 基因为该途径的关键酶基因之一。Ding 等^[3]克隆了赤芝 FPS 基因,

其 cDNA 序列全长为 1 083 bp, 编码 360 个氨基酸。该基因在原基阶段表达量显著高于菌丝阶段, 与灵芝三萜的含量成正相关。通过分析 FPS 启动子序列, 发现在该序列上存在着转录调控核心元件、植物激素响应元件及逆境响应元件等。为了深入了解 FPS

基因表达的转录调控,本研究通过酵母单杂交技术获得了 18 个与该基因启动子互作的调控因子,包括转录因子、热休克蛋白、核糖体蛋白等。

筛选出的数据与基因组进行 Blast, 只比对上 9 个基因,其他 9 个未比对成功。但是未比对上的 9 个基因与紫芝数据库中的序列有较高的相似性,这些基因也是在赤芝基因组中存在的,没有和赤芝基因组比对上的原因,可能是因为本实验使用的是二倍体菌丝而基因组测序使用的是单倍体菌丝。

筛选出的 3 个转录因子分别属于 SNF2、MHR 和 Zn2Cys6 家族。SWI2/SNF2 基因家族广泛存在于真核生物中,具有 SWI2/SNF2 和高度保守的 ATPase/Helicase 功能域,是 ATP 依赖性染色质重塑复合物,是一些染色质重塑复合体的催化亚基,可参与到复制、重组、转录激活和转录抑制等过程中^[13-14]。MHR 家族转录因子,在 N 端有一个类似 GAL4 的 C6 型锌指结构。该家族转录因子可负调控嗜热真菌纤维素酶基因的表达量,还能影响糙皮侧耳、裂褶菌、双色蜡蘑等真菌子实体的形成^[15-18]。Zn2Cys6 家族转录因子由 2 个锌离子和 6 个 Cys 残基结合,仅存在于真菌之中。该家族转录因子能够调控真菌的生长发育和次级代谢产物的合成。构巢曲霉中 NosA 和 RosA 共同调节着烟曲霉的子实体发育,RosA 在初期发育中起着重要的作用,而 NosA 决定着原基的成熟^[19-20]。此外,Zn2Cys6 家族转录因子还能调控 D-galacturonic acid、鼠李糖、长链脂肪酸等化合物的合成及代谢^[21-22]。酵母单杂交实验结果表明,以上 3 个转录因子均能与 FPS 启动子发生互作,说明它们均可能参与到 FPS 的转录调控中。

近年来的一些研究表明核糖体蛋白除了能参与蛋白质的合成外,还可直接或间接调控基因的转录。例如,酵母核糖体蛋白 YP1 的 N 端融合到 GAL4-BD 中,产生转录激活作用^[23]。灰霉菌核糖体蛋白 Nop53 可以调控相关蛋白的合成而影响其生长、发育及感染等过程等^[24]。本实验中筛选了 5 个核糖体蛋白,这些核糖体蛋白也可能具有核糖体外功能并参与到 FPS 基因的转录调控中。

此外,还有热休克蛋白家族、铁氧还蛋白还原酶、BolA 蛋白、泛素结合酶、赖氨酸特异性金属内肽酶、亲环蛋白样结构域、ER 膜蛋白复合物亚基 10 和肌醇-1-磷酸合成酶等 10 个蛋白,这些蛋白是否能参与到 FPS 基因的转录调控中仍未知。

综上所述,本实验运用酵母单杂交的方法初步筛选出 FPS 上游的 18 个可能的调控因子,其中包括转录因子 G1SNF2、G1MHR 和 G1Zn2Cys6,为深入研究 FPS 基因的表达机制奠定了基础,但是这 18 个蛋白是如何参与到 FPS 基因的表达调控中,还需要更深入的研究。

参考文献

- [1] Li P, Deng Y P, Wei X X, *et al.* Triterpenoids from *Ganoderma lucidum* and their cytotoxic activities [J]. *Nat Prod Res*, 2013, 27(1): 17-22.
- [2] 陈 慧, 杨海龙, 刘高强, 等. 灵芝三萜的生物合成和发酵调控 [J]. *菌物学报*, 2015, 34(1): 1-9.
- [3] Ding Y X, Yang X, Shang C H, *et al.* Molecular cloning, characterization, and differential expression of a farnesyl-diphosphate synthase gene from the basidiomycetous fungus *Ganoderma lucidum* [J]. *Biosc Biotechnol Biochem*, 2008, 72(6): 1571-1579.
- [4] Afrin S, Huang J J, Luo Z Y. JA-mediated transcriptional regulation of secondary metabolism in medicinal plants [J]. *Sci Bull*, 2015, 60(12): 1062.
- [5] Chen S, Xu J, Liu C, *et al.* Genome sequence of the model medicinal mushroom *Ganoderma lucidum* [J]. *Nat Commun*, 2012, 3: 913-919.
- [6] Zhang G, Ren A, Shi L, *et al.* Functional analysis of an APSES transcription factor (G1Swi6) involved in fungal growth, fruiting body development and ganoderic-acid biosynthesis in *Ganoderma lucidum* [J]. *Microbiol Res*, 2018, 207: 280-288.
- [7] Wu F L, Zhang G, Ren A, *et al.* The pH-responsive transcription factor PacC regulates mycelial growth, fruiting body development, and ganoderic acid biosynthesis in *Ganoderma lucidum* [J]. *Mycologia*, 2016, 108(6): 1104-1113.
- [8] Wang S, Shi L, Hu Y, *et al.* Roles of the Skn7 response regulator in stress resistance, cell wall integrity and GA biosynthesis in *Ganoderma lucidum* [J]. *Fung Genetics Biol: FG & B*, 2018, 114: 12-23.
- [9] Li S, Zhang P, Zhang M, *et al.* Functional analysis of a WRKY transcription factor involved in transcriptional activation of the DBAT gene in *Taxus chinensis* [J]. *Plant Biol*, 2013, 15: 19-26.
- [10] Chebbi M, Ginis O, Courdavault V, *et al.* ZCT1 and ZCT2 transcription factors repress the activity of a gene promoter from the methyl erythritol phosphate pathway in *Madagascar periwinkle* cells [J]. *J Plant Physiol*, 2014, 171(16): 1510-1513.
- [11] 杨致荣. 调控长春花中萜类吲哚生物碱合成的 WRKY

- 转录因子的鉴定和功能分析 [D]. 晋中: 山西农业大学, 2013.
- [12] Xu L, Wei M J, Ling Z, *et al.* AaERF1 positively regulates the resistance to *Botrytis cinerea* in *Artemisia annua* [J]. *PLoS One*, 2013, 8(2): e57657.
- [13] 王会平, 徐勤枝, 周平坤. 染色质重构因子 CHD 蛋白家族的研究进展 [J]. 国际放射医学核医学杂志, 2006, 30(1): 42-47.
- [14] Sang Y, Claudia O Silva-Ortega, Wu S, *et al.* Mutations in two non-canonical Arabidopsis SWI2/SNF2 chromatin remodeling ATPases cause embryogenesis and stem cell maintenance defects [J]. *Plant J*, 2012, 72(6): 15.
- [15] 王娟, 龚艳芬, 来亚鹏, 等. 干扰 MHR1 对嗜热毁丝霉纤维素酶活性的影响 [J]. 深圳大学学报: 理工版, 2018, 35: 15-21.
- [16] 申进文, 梁思思, 邱立友, 等. 糙皮侧耳子实体发育相关基因 *fst3* 的克隆及分析 [J]. 食用菌学报, 2015, 22(1): 15-20.
- [17] Ohm R, Jong J F J D, Bekker C C D, *et al.* Transcription factor genes of *Schizophyllum commune* involved in regulation of mushroom formation [J]. *Mol Microbiol*, 2011, 81(6): 1433-1445.
- [18] Martin F, Aerts A, Ahren D, *et al.* The genome of *Laccaria bicolor* provides insights into mycorrhizal symbiosis [J]. *Nature*, 2008, 452: 88-92.
- [19] Vienken K, Scherer M, Fischer R. The Zn(II)2Cys6 Putative *Aspergillus nidulans* transcription factor repressor of sexual development inhibits sexual development under low-carbon conditions and in submersed culture [J]. *Genetics*, 2005, 169(2): 619-630.
- [20] Vienken K, Fischer R. The Zn (II) (2) Cys (6) putative transcription factor NosA controls fruiting body formation in *Aspergillus nidulans* [J]. *Mol Microbiol*, 2010, 61(2): 544-554.
- [21] Pardo E, Orejas M. The *Aspergillus nidulans* Zn (II) 2 Cys6 transcription factor AN5673/RhaR mediates *L*-rhamnose utilization and the production of α -*L*-rhamnosidases [J]. *Microb Cell Fact*, 2014, 13(1): 161-169.
- [22] Yusof M T, Kershaw M J, Soanes D M, *et al.* FAR1 and FAR2 regulate the expression of genes associated with lipid metabolism in the rice blast fungus *Magnaporthe oryzae* [J]. *PLoS One*, 2014, 9(6): e99760.
- [23] Tchórzewski M, Boldyreff B, Grankowski N. Extraribosomal function of the acidic ribosomal P1-protein YP1alpha from *Saccharomyces cerevisiae* [J]. *Acta Biochim Polon*, 1999, 46(4): 901-910.
- [24] Sheng N C, Yuan Y, Qin Y, *et al.* The pre-rRNA processing factor Nop53 regulates fungal development and pathogenesis via mediating production of reactive oxygen species [J]. *Environm Microbiol*, 2018, 20: 1531-1549.