

研究报告

Research Report

谢瓦氏曲霉间型变种(*Aspergillus chevalieri* var. *intermedius*) *esdC* 基因全长 cDNA 克隆与序列分析

刘荣^{1,2} 谭玉梅^{2,3} 刘永翔^{2,3} 刘作易^{2,4*}

1 贵州大学, 贵阳, 550025; 2 贵州省农业生物技术重点实验室, 贵阳, 550006; 3 贵州省生物技术研究所, 贵阳, 550006; 4 贵州省农业科学院, 贵阳, 550006

* 通讯作者, liuzuoyi@yahoo.com.cn

摘要 为探究 *esdC* 基因在谢瓦氏曲霉间型变种的结构特征, 从已构建的抑制性差减文库(SSH)中筛选得到 *esdC* 基因的 EST 序列, 采用 cDNA 末端快速扩增(RACE)技术扩增该基因片段的 5' 和 3' 端, 拼接得到全长 cDNA 1 472 bp。通过序列分析, 该 cDNA 序列含有一个开放阅读框(ORF), 长度为 819 bp, 从 396~1 214 bp, 含有 30 个腺嘌呤尾巴。预测编码 273 个氨基酸, 该蛋白质的等电点 pI 为 9.51, 分子量为 30.265 58 kD, 为不稳定蛋白。序列同源性分析表明, 该基因与费希新萨托菌(*Neosartorya fischeri* NRRL 181)有性发育蛋白 EsdC 相似度最高, 为 78%, 其保守区序列主要集中于蛋白质的 N 端。本实验为进一步研究 *esdC* 基因的分子功能及可能参与的调控途径奠定基础。

关键词 谢瓦氏曲霉间型变种, *esdC* 基因, RACE 法

cDNA Cloning and Sequence Analysis of *esdC* Gene from *Aspergillus chevalieri* var. *intermedius*

Liu Rong^{1,2} Tan Yumei^{2,3} Liu Yongxiang^{2,3} Liu Zuoyi^{2,4*}

1 Guizhou University, Guiyang, 550025; 2 Guizhou Key Laboratory of Agricultural Biotechnology, Guiyang, 550006; 3 Guizhou Institute of Biotechnology, Guiyang, 550006; 4 Guizhou Academy of Agricultural Sciences, Guiyang, 550006

* Corresponding author, liuzuoyi@yahoo.com.cn

DOI: 10.3969/gab.032.000036

Abstract The EST (expressed sequence tag) of *esdC* gene was isolated from the structured SSH (suppression subtractive hybridization) of *Aspergillus chevalieri* var. *intermedius* to further figure out the structure. The full length cDNA of *esdC* gene were obtained from the total RNA of *Aspergillus chevalieri* var. *intermedius* through RACE (rapid amplification of cDNA ends) technology. The sequence analysis revealed the full-length cDNA sequence of *esdC* gene is 1 472 bp in length, containing an 819 bp open reading frame from the start of 396 bp to the end of 1 214 bp, and 30 bp Poly (A). Coding region of 273 amino acids with the molecular weight of 30.265 58 kD and isoelectric point of 9.51 was an unstable polypeptide. The results of homologous analysis in GenBank demonstrated that the sequence had the highest 78% similarity with *Neosartorya fischeri* NRRL 181 on the nucleotide sequence, and a conservative sequence located mainly on protein N terminal. The research laid a foundation for further study on the function and the pathway.

Keywords *Aspergillus chevalieri* var. *intermedius*, *esdC* gene, RACE

丝状真菌有性产孢相关基因的研究已有较多的报道, 但具体的调控机制仍不明确。有性孢子形成的主要影响因素包括光、营养条件、空气、温度等(Dyer and Gorman, 2012); 其中, 外界环境压力对产孢的影

响尤其重要, 已报道与胁迫应答有关的基因有 *esdC*、*cpcA*、*cpcB*、*lsdA* 等(Lee et al., 2001; Scherer et al., 2002; Han et al., 2008)。*esdC* 基因(early sexual development)主要在有性发育早期表达, 所编码的 EsdC 蛋白在丝

基金项目 本研究由谢瓦氏曲霉间型变种基因组测序、分析及有性产孢相关功能基因的初步研究、黔农科院专项[2011]037 号资助

状真菌中是高度保守的,且含有一个糖原结合区域(Han et al., 2008; Jeong et al., 2000)。在模式生物构巢曲霉中 $\Delta esdC$ 突变体不能形成闭囊壳,却产生大量的分生孢子,证实 *esdC* 基因是有性发育阶段必需基因之一(Han et al., 2001)。对该基因进行超表达实验得出超表达并不能有效增强有性产孢,在 $\Delta flbA$ 和 $\Delta fadA^{G2R}$ 突变体中 *esdC* 基因只能少量表达,甚至不表达(Yu et al., 1996)。这些结果暗示 *esdC* 基因是有性孢子形成必需的,且与其它基因一起构成调控网络,调节丝状真菌的有性发育过程。

谢瓦氏曲霉间型变种(*Aspergillus chevalieri* var. *intermedius*)是从茯砖茶中分离出来的优势菌种(陈晓阳, 1997, 茶叶通讯, 1: 42-43)。目前,对该菌的研究主要表现在菌种鉴定、形态观察和功能性研究等方面。我们实验室对该菌的前期研究工作表明,影响该菌产孢的主导条件是渗透压,一般情况(即低渗透压条件下),此菌极易产生子囊孢子,而在高渗透压下产生大量分生孢子(刘作易等, 1991, 西南农业学报, 4(1): 73-77)。这些特征表明该菌为研究有性机理的良好材料。因此,研究谢瓦氏曲霉间型变种 *esdC* 基因具有重要的理论价值,也为其它曲霉的有性发育分子机制提供借鉴。

1 结果与分析

1.1 谢瓦氏曲霉间型变种总 RNA 的检测

采用 1.0%普通琼脂糖凝胶电泳对提取的总 RNA 进行完整度检测。如图 1 所示,电泳结果呈现完整的三条带,从上到下分别是 28 S、18 S 和 5.8 S,且 18 S 条带亮度的 2 倍与 28 S 条带的亮度相当。因此,断定所提取的总 RNA 已符合实验标准。

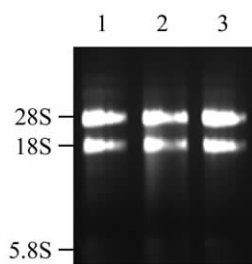


图 1 谢瓦氏曲霉间型变种总 RNA 电泳图
Figure 1 The electrophoresis result of total RNA from *Aspergillus chevalieri* var. *intermedius*

1.2 *esdC* 基因片段的克隆

用引物对 *esdCF* 和 *esdCR* 扩增得到 400 bp 的片段(如图 2),测序结果比对后证实为 *esdC* 基因的部分片段,因此将其命名为 *esdC* 基因。可以用于设计基因

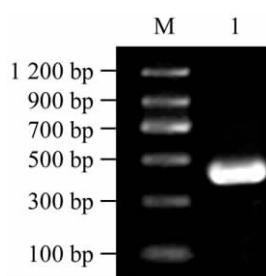


图 2 *esdC* 基因部分片段扩增
注: M: Marker ; 1: *esdC* 基因
Figure 2 Amplification of partial sequence of *esdC* gene by RT-PCR
Note: M: Marker ; 1: *esdC* gene

特异性引物。

1.3 *esdC* 基因全长 cDNA 的获得及序列分析

从图 3 可以看出,通过 RACE 法扩增得到 *esdC* 基因 3'-RACE 和 5'-RACE 端,其大小分别为 750 bp 和 1100 bp 左右。将得到的 3' 和 5' 末端片段克隆测序后,利用 BioEdit 软件对其拼接分析,得到 *esdC* 基因全长 cDNA 为 1472 bp。将序列提交到 Softberry 的 Gene Finding 工具进行序列分析,结果表明该基因含有一个开放阅读框(ORF),长度为 819 bp,从 396~1214 bp。5' 端非编码区为 395 bp,3' 端非编码区为 255 bp,含有 30 个腺嘌呤尾巴,预测编码 273 个氨基酸(图 4)。

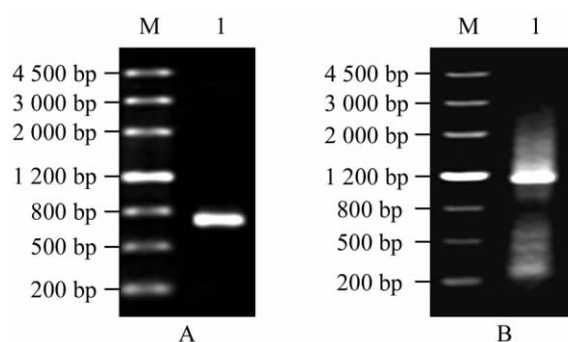


图 3 *esdC* 基因的 RACE 结果
注: M: Marker ; A: *esdC* 基因的 3' RACE 结果; B: *esdC* 基因的 5' RACE 结果
Figure 3 RACE results of *esdC* gene
Note: M: Marker ; A: 3' RACE result of *esdC* gene; B: 5' RACE result of *esdC* gene

将 *esdC* 基因的序列在 NCBI (national center for biotechnology information, NCBI) 上进行 BLASTn (核苷酸序列比对) 和 BLASTx (蛋白质序列比对) 同源比对, BLASTn 的结果发现: 该基因与费希新萨托菌 (*Neosartorya fischeri*) NRRL 181 有性发育蛋白 EsdC

```

>esdC 1472
ttgacgttaggcgaagtgcggaaggacaggaatctagcgttagttccgcgctggcggtttggcgcgagcagtcgaatattggcgcgagcagcag 91
cgaagattcatccgactcggggacgtcgaagtggaacttgctaccacgcaccagcacaacgctcaacggccccttcttctgctcggtcggtt 182
cctagccttaaggcctacgaaacaccgagaccaccgggaacccgacgacatcgccaaggcgctgcccctctcgcctcccgcacatccacc 273
accctaaagccctccaagccctacacctctcgcagctccgtgaagcggggggtgaggtcatccatacatgggctagtgaatcctttttgga 364
atctacaaaaaacgaaaaccataaggcaaaaATGGCTGCCGTTTCAGTCAAGTTAACTTCCGCACTTCGCCTAACGTCGAAGACCGTGCAC 455
      M A A V Q L K F N F R T S P N V K T V H
TTGGTCCGGTTCGTTGGGACCCTACGATCGCCAGATTCTCTCTCCAAGGATTCGTTCAAGCCTGGTGCCTGGGTAGGCAAGTTCGATTCC 546
L V G S W D H Y D R Q I P L S K D S S K P G A W V G K F R F
AGACGTCGATGCTCAAGTTGGTGGGAGATACTGGTACTACTACATCATGGATGGCTACCACGCTCTCCACGACCCTGCCGTCGAATACAC 637
Q T S M L K L G G R Y W Y Y Y I M D G Y H V S H D P A V E Y T
CGTCGAACCCACCACCGGCCGAAGCTCAACATCCTGGACGTCCTCCCTCCGGCAAGGCCACTCCTCAGCCCCAAGACCCGCCGGGAATCC 728
V E P T T G R K L N I L D V P S G K A T S S A P K T R R E S
GACGACATCGCCAAGGGCCGTGCCTCTCGCCCTCCCGCATCCACCACCCAAAGCCCTCCAAGCCCTACGCCTCTCGCCAGCTCCGCGAAG 819
D D I A K G R A L S P S R I H H P K P S K P Y A S R Q L R E
GACGACATCGCCAAGGGCCGTGCCTCTCGCCCTCCCGCATCCACCACCCAAAGCCCTCCAAGCCCTACGCCTCTCGCCAGCTCCGCGAAG 910
A D F T P T M D D L T R R F A G S R M S D E Y S P Y S S Y S S
GCACTCCTTCTCCAACAGCCCGCCAGCTCGGCTGGTTCGTCGCTGTCTCCCGCTCTTCCCGCTCGTCTGGTAGCACTTCTCCATCTTCG 1001
H S F S N S P P S S A G S S L S S R S S R S S G S T S P S S
CTGTGTCGATGAGTACCCGCCACGCCACCTGCCACTGCGAGCGTTACGGAATCACTCGTAAGGGAGACCGGGTCAAGCTTGACTGCG 1092
L S S M S D P P T P T C H C E R Y G I T R K G D R V K L D C
GGGGAAGCCGGTGGGATACGTGACGGAGTCGAGCGAGGCTAGTTGCTCCGAGTCAGATAGCGATGAGGAGTACCGGCAGGCAAAAGCTGC 1183
G G S R C G Y V T E S S E A S C S E S D S D E E Y R Q A K A A
TGTGCGCCGTCAGGGAATTGTCGTGCGGAGGTAAttgagtgcaattgtttcccccctgttttttcgattactctttacgatcaattattgca 1274
V R R Q G I V V R R
tcggcccggtgacgagcgtccagtgcactgagcagtcggagcccgccagccggcttggctatatctcgagccgttatggctaccaacagt 1365
ttcgcatcggttaaatgcgagcgtcactcctttgactgacaggtgacaatcacctgcaagaccattttacaaccgaaataaaaaaaaaaaaa 1456
aaaaaaaaaaaaaaaaaaaa 1472

```

图 4 谢瓦氏曲霉间型变种 *esdC* 基因的全长 cDNA 序列及编码的氨基酸序列

注: 起始密码子和终止密码子用下划线表示; 小写字母表示 5' 和 3' 端非翻译区; 大写字母表示开放阅读框

Figure 4 The full length cDNA and its encoded amino acid sequence of *esdC* gene from *Aspergillus chevalieri* var. intermedius

Note: The initiation codon and termination codon were underlined; The 5' and 3'-UTRs were showed in lowercase letters; The ORF (open reading frame) was showed in uppercase

(XM_001262829.1) 同源性最高, $jidentity=78%$ 。其所预测的蛋白序列也与费希新萨托菌(*Neosartorya fischeri*) NRRL 181 有性发育蛋白 EsdC (XM_001262829.1) 的同源性最高, $jidentity=81%$ 。其保守区序列主要集中于蛋白质的 N 端。将该基因序列预测的蛋白质氨基酸序列提交到 protparam 网站上, 推测该蛋白质的等电点 pI 为 9.51, 分子量为 30.265 58 kD。负电荷氨基酸 (Asp+Glu) 总数为 28, 正电荷氨基酸 (Arg+Lys) 总数为 40, 是一种碱性蛋白; 不稳定参数为 63.54, 属于不稳定蛋白。该蛋白含有较多的亲水性氨基酸, 平均疏水性为 -0.829 670, 而且没有发现跨膜螺旋结构。将 *esdC* 基因序列预测的蛋白质氨基酸序列提交到 SignalP-4.0 进行信号肽预测, 结果显示没有信号肽。Sosui 在线软件预测为可溶性蛋白。在 wolfsort 网站上分析该蛋白质可能位于细胞核。

2 讨论

绝大多数丝状真菌在自然条件下以产生无性孢

子进行繁殖(刘静等, 2009)。因此, 与无性产孢机理的研究工作相比, 人们对于有性产孢机制的研究相对缓慢。而谢瓦氏曲霉间型变种却比较特殊, 它在自然条件下只进行有性繁殖, 在高渗透压下进行无性繁殖, 是研究丝状真菌有性产孢机制的理想材料。

在构巢曲霉中 *esdC* 基因已被克隆, 编码 266 个氨基酸, 含一个 59 bp 内含子, 是有性发育过程的重要调节基因(Han et al., 2008)。而且, GenBank 中的大部分 *esdC* 基因的开放阅读框为 798 bp, 而谢瓦氏曲霉间型变种 *esdC* 基因的开放阅读框大小和内含子的长度与构巢曲霉略有不同。由于基因的表达具有时空性, 这些结果可能导致其编码的蛋白质的功能发生变化。对 EsdC 蛋白进行 Blast 分析显示, 该蛋白在曲霉中是保守的, 且预测该蛋白可能调控有性产孢。正如 *veA* 和 *nsdD* *esdC* 基因可能形成一个调控网络卷入有性发育(Adams et al., 1998; Kim et al., 2002; Han et al., 2001)。而该基因在谢瓦氏曲霉间型变种是否具有相同或相似的功能需要我们进一步研究。这些实验结果

为进一步研究该基因的分子功能及可能参与的调控途径打下了基础。

3 材料与方法

3.1 实验材料

3.1.1 菌株

谢瓦氏曲霉间型变种 *Aspergillus chevalieri* var. *intermedius* (菌株号为 GZAAS20.1004) 和大肠杆菌 *E.coli* DH5 α 均保存于贵州省农业生物技术重点实验室。pMD[®] 19-T 载体购于 TaKaRa 公司。

3.1.2 试剂

RNAiso Plus 购自 TaKaRa 公司、cDNA 第一链合成试剂盒购自 Fermentas 公司、引物合成由上海捷瑞生物公司完成、2 \times Taq PCR MasterMix 和普通琼脂糖凝胶 DNA 回收试剂盒购于 Tiangen 公司、SMARTer RACE cDNA Amplification Kit 购于 Clontech 公司。MYA 培养基 麦芽提取物 20 g 酵母粉 5 g 蔗糖 30 g 琼脂 15 g, 加蒸馏水定容至 1000 mL。

3.1.3 仪器

各种规格的移液枪(Eppendorf)、C1000[™] Thermal Cycler PCR 仪(Bio-RAD)、超低温冰箱(Thermo Forma)、5418 型离心机(eppendorf)、琼脂糖凝胶电泳仪(安玛西亚)、SS-325 型高压灭菌锅(Tomy Kogyo)等。

3.2 实验方法

3.2.1 实验样品的准备

接种孢子悬液(浓度: 10⁶ 个/mL) 50 μ L 于 100 mL MYA 培养液中 28 $^{\circ}$ C、220 r/min 培养 5~6 d 后, 再将菌丝挑出接种于 MYA 固体培养基上 28 $^{\circ}$ C 培养 16 h 左右, 收集菌丝。

3.2.2 总 RNA 的提取

总 RNA 提取步骤参照大连宝生物公司 RNAiso Plus 试剂盒说明书进行(马权等, 2012)。

3.2.3 cDNA 第一链的合成

反转录实验步骤按照 Fermentas 公司 cDNA 第一链合成试剂盒说明书进行。

3.2.4 *esdC* 基因片段的克隆

根据筛选得到的序列设计引物 *esdCF* (5'-CGCA TCCACCACCCAAAG-3') 和 *esdCR* (5'-CGCTATCT GACTCGGAGCAACT-3'), 以谢瓦氏曲霉间型变种产子囊孢子初期的总 RNA 反转录产物作为模板进行

PCR 扩增, 测序分析。反应体系(50 μ L) 2 \times Taq PCR MasterMix 25 μ L cDNA 模板 1 μ L *esdCF* 1 μ L *esdCR* 1 μ L ddH₂O 22 μ L。PCR 反应参数为 94 $^{\circ}$ C 5 min, 94 $^{\circ}$ C 30 s, 59 $^{\circ}$ C 45 s, 72 $^{\circ}$ C 1 min, 30 个循环, 72 $^{\circ}$ C 10 min, 12 $^{\circ}$ C, 保存。使用浓度为 1.2% 的琼脂糖凝胶电泳检测 PCR 产物, 若 PCR 产物条带单一, 直接将产物送由北京诺赛生物公司测序。

3.2.5 RACE 法扩增 *esdC* 基因的全长 cDNA

(1) 3' 和 5' RACE ready cDNA 的合成。3' 和 5' RACE ready cDNA 以谢瓦氏曲霉间型变种产子囊孢子初期的总 RNA 为模板, 按照 SMARTer RACE cDNA Amplification Kit 说明书进行合成。

(2) 3' 和 5' RACE cDNA 的扩增。根据测序获得的 *esdC* 基因扩增的片段序列设计一对基因特异性引物(GSP), 分别用于 3' RACE 和 5' RACE 的扩增。引物信息如下:

10 \times Universal Primer A Mix (UPM) uncultured microorganism

Long (0.4 μ mol/L) 5'-CTAATACGACTCACTAT AGGGCAAGCAGTGGTATCAACGCGAGT-3'

Short (2 μ mol/L) 5'-CTAATACGACTCACTAT AGG GC-3'

3' RACE Gsp1 : 5'-GCATCCACCACCCAAAGCC CTCCA-3'

5' RACE Gsp2 : 5'-TCGACTCCGTACAGTATCC GCACC-3'

反应体系(25 μ L) 2 \times Taq PCR MasterMix 12.5 μ L, 10 \times UPM 2.5 μ L, GSP 引物 1 μ L, 3'/5'-RACE Ready cDNA 1.5 μ L, 补足 ddH₂O 至 25 μ L。反应程序 94 $^{\circ}$ C 30 s, 72 $^{\circ}$ C 3 min, 循环 5 次, 94 $^{\circ}$ C 30 s, 70 $^{\circ}$ C 30 s, 72 $^{\circ}$ C 3 min, 循环 5 次, 94 $^{\circ}$ C 30 s, 68 $^{\circ}$ C 30 s, 72 $^{\circ}$ C 3 min, 循环 30 次, 12 $^{\circ}$ C 保存。

(3) 扩增产物的克隆测序。PCR 产物在 1.5% 琼脂糖凝胶电泳后, 利用胶回收试剂盒回收产物, 连接到 pMD[®] 19-T 载体, 转化 *E. coli* DH5 α 感受态细胞, 筛选重组子并进行菌落 PCR 验证, 将阳性克隆送北京诺赛公司测序。

(4) 全长 cDNA 的序列拼接。根据测序结果利用 bioedit 软件进行拼接得到 *esdC* 基因的全长 cDNA 序列。

3.2.6 *esdC* 基因全长 cDNA 的获得及序列分析

(1) 通过拼接得到 *esdC* 基因的全长 cDNA 序列, 利用 Softberry 的 GeneFinding 工具(<http://linux1.softberry.com/berry.phtml>) 预测开放阅读框及翻译的氨基酸。

在 NCBI (national center for biotechnology information, NCBI) 上进行 BLASTn 和 BLASTx 同源比对。

(2) 基因序列预测的蛋白质氨基酸序列分析

蛋白质的基本分析 <http://webexpasy.org/protparam/>

疏水 / 亲水性分析 <http://web.expasy.org/protscal/e/>

跨膜结构分析 <http://www.ch.embnet.org/software/>

TMPRED_form.html

<http://www.cbs.dtu.dk/services/TMHMM-2.0>

http://bp.nuap.nagoya-u.ac.jp/sosui/cgi-bin/adv_so_sui.cgi

sui.cgi

重复序列分析 <http://www.embl.de/~andrade/papers/rep/search.html>

信号肽分析 <http://www.cbsdtudk/services/SignalP/>

保守结构域分析 <http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>

亚细胞定位 <http://wolfsort.org/>

作者贡献

刘荣是本研究的实验设计和实验研究的执行人；谭玉梅参与实验设计和论文修改；刘永翔参与试验结果分析和论文修改；刘作易是项目的构思者和负责人；指导实验设计、数据分析、论文写作与修改；全体作者都阅读并同意最终的文本。

致谢

本研究由贵州省农业科学院专项(黔农科院专项[2011]037)资助。作者感谢在实验过程中对本研究关心和帮助的贵州省农业生物技术重点实验室所有人。

参考文献

Adams T.H., Wieser J.K., and Yu J.H., 1998, Asexual sporulation in *Aspergillus nidulans*, *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 62(1): 35-54

Dyer P.S., and O'Gorman C.M., 2012, Sexual development and cryptic sexuality in fungi: Insights from *Aspergillus* species, *FEMS Microbiol. Rev.*, 36(1): 165-192

Han K.H., Han K.Y., Yu J.H., Chae K.S., Jahng K.Y., and Han

D.M., 2001, The *nsdD* gene encodes a putative GATA-type transcription factor necessary for sexual development of *Aspergillus nidulans*, *Molecular Microbiology*, 41(2): 299-309

Han K.H., Kim J.H., Moon H., Kim S., Lee S.S., Han D.M., Jahng K.Y., and Chae K.S., 2008, The *Aspergillus nidulans* *esdC* (early sexual development) gene is necessary for sexual development and is controlled by *veA* and a heterotrimeric G protein, *Fungal Genetics and Biology*, 45(3): 310-318

Jeong H.Y., Han D.M., Jahng K.Y., and Chae K.S., 2000, The *rpl6a* gene for ribosomal protein L16A identified from expressed sequence tags is differentially expressed during sexual development of *Aspergillus nidulans*, *Fungal Genetics and Biology*, 31(2): 69-78

Kim H.S., Han K.Y., Kim K.J., Han D.M., Jahng K.Y., and Chae K.S., 2002, The *veA* gene activates sexual development in *Aspergillus nidulans*, *Fungal Genetics and Biology*, 37(1): 72-80

Lee D.W., Kim S., Kim S.J., Han D.M., Jahng K.Y., and Chae K.S., 2001, The *lsdA* gene is necessary for sexual development inhibition by a salt in *Aspergillus nidulans*, *Curr. Genet.*, 39(4): 237-243

Liu J., Li Z.Y., Wang J.E., Liu X.K., and Chen Y., 2009, Research progress of sporulation mechanism and related genes in filamentous fungi, *Guizhou Nongye Kexue (Guizhou Agricultural Sciences)*, 37(4): 81-83 (刘静, 李中元, 王军娥, 刘晓魁, 陈异, 2009, 丝状真菌产孢机制及其相关基因研究进展, *贵州农业科学*, 37(4): 81-83)

Ma Q., Liu Y.X., and Liu Z.Y., 2012, Full-length cloning and sequence analysis of *veA* gene from *Aspergillus chevalieri* var. *intermedius*, *Xinan Nongye Xuebao (Southwest China Journal of Agricultural Sciences)*, 25(1): 136-139 (马权, 刘永翔, 刘作易, 2012, 谢瓦氏曲霉间型变种 *veA* 基因全长克隆及序列分析, *西南农业学报*, 25(1): 136-139)

Scherer M., Wei H., Rand L., Rand L., and Fischer R., 2002, *Aspergillus nidulans* catalase-peroxidase gene (*cpeA*) is transcriptionally induced during sexual development through the transcription factor StuA, *Eukaryotic Cell*, 1(5): 725-735

Yu J.H., Wieser J., and Adams T.H., 1996, The *Aspergillus* FibA RGS-domain protein antagonizes G-protein signaling to block proliferation and allow development, *EMBO J.*, 15(19): 5184-5190