

稻瘟病菌磷酸甘露糖基转移酶 (PMT) 蛋白家族 基因结构特征分析

高飞, 孔亮, 郭敏*, 高智谋

(安徽农业大学植物保护学院, 合肥 230036)

摘要: 为阐述稻瘟病菌 (*Magnaporthe oryzae*) 磷酸甘露糖基转移酶 PMT 基因的结构特征及可能的生物学功能, 采用序列比对分析方法, 明确了稻瘟病菌 PMT 蛋白家族成员在氨基酸水平的保守性。研究发现它们与来自灰葡萄孢 (*Botrytis cinerea*)、粗糙脉孢菌 (*Neurospora crassa*)、玉米赤霉 (*Gibberella zeae*) 及构巢曲霉 (*Aspergillus nidulans*) 等丝状真菌的 PMT 蛋白高度同源; 进一步生物信息学分析表明, 稻瘟病菌 PMT 蛋白不含有信号肽, 为非分泌蛋白, 含有跨膜结构域, 作用于内质网膜上, 具有保守的 PMT motif 和 MIR motif。研究结果可为进一步阐明 PMT 蛋白在稻瘟病菌生长发育及致病过程中的作用机理奠定基础。

关键词: 稻瘟病菌; PMT 蛋白; 生物信息学; 结构特性

中图分类号: S435.111.41

文献标识码: A

文章编号: 1672-352X (2014)06-1027-06

Characterization of gene structure features of PMT protein family in *Magnaporthe oryzae*

GAO Fei, KONG Liang, GUO Min, GAO Zhimou

(School of Plant Protection, Anhui Agricultural University, Hefei 230036)

Abstract: To clarify the structure characteristics and the possible biological functions of the dolichyl- phosphate-mannose-protein mannosyltransferase encoding gene *PMTs* in *Magnaporthe oryzae*, the sequences of *PMTs* were analyzed. The results showed that the MoPMTs are conservative in the structure of amino acid and highly homologous with the PMT protein from *Botrytis cinerea*, *Neurospora crassa*, *Gibberella zeae*, and *Aspergillus nidulans*. Further bioinformatics analysis indicated the protein of PMT is a nonsecreted protein without a signal peptide, contains transmembrane domains, and localizes at the endoplasmic reticulum, and has conserved domain of PMT motif and MIR motif. These results will facilitate the further studies on the mechanism of *PMTs* in *M. oryzae*.

Key words: *Magnaporthe oryzae*; PMT protein; bioinformatics; structure characteristics

稻瘟病菌是危害水稻的重要致病真菌, 由该菌引起的稻瘟病每年造成的产量损失可养活 6000 万人口^[1]。目前, 对该病害的防控主要包括选育和利用抗病品种及化学药剂防治, 但由于田间致病菌易变异, 且长期大剂量施药易造成病菌产生抗药性, 继而使得生产上对该病害的控制变得十分困难。而从分子水平解析稻瘟病菌的致病机理, 对有效地控制该病害的发生具有重要的意义。

PMT 蛋白普遍存在于真菌及哺乳动物体内, 是由长萼基磷酸甘露糖蛋白甘露糖基转移酶家族基因

编码的高度保守蛋白。已有研究表明, PMT 基因参与构建真核生物细胞壁的结构^[2]、细胞形态建成^[3]及致病性^[4]等一系列重要生物过程。然而, 迄今有关稻瘟病菌 PMT 家族基因的结构特征及可能的生物学功能仍不清楚。本研究运用生物信息学方法, 从稻瘟病菌全基因组中发现了 3 个 PMT 蛋白的氨基酸序列, 通过比对及序列分析, 对 PMT 蛋白的结构特征及保守性进行了分析。研究结果为今后阐明 3 个 PMT 蛋白在稻瘟病菌生长发育及致病过程中的作用机理奠定基础。

收稿日期: 2014-03-

基金项目: 国家自然科学基金 (31101401) 资助。

作者简介: 高飞, 硕士研究生。E-mail: 731742967@qq.com

* 通信作者: 郭敏, 博士, 副教授。E-mail: kandylemon@163.com

1 材料与方法

1.1 材料

依据酿酒酵母 (*Saccharomyces cerevisiae*) PMT1p-PMT7p 的氨基酸序列对稻瘟病菌全基因组数据库 (http://www.broad.mit.edu/annotation/genome/magnaporthe_grisea/Home.html) 进行 Blast p, 获得 3 个高度同源的 MGG_02954.6、MGG_07190.6、MGG_04427.6 蛋白序列, 将其分别命名为 MoPMT1、MoPMT2 和 MoPMT4。将酿酒酵母的 PMT1、PMT2 和 PMT4 蛋白的氨基酸置于 NCBI 数据库中, 进行 Blast p, 获得其他生物体同源基因编码的氨基酸序列 (score>300)。

1.2 分析方法

1.2.1 信号肽预测 利用 SignalP-v3.0 对 MoPMT1、MoPMT2 和 MoPMT4 蛋白进行 N 端信号肽预测, 当 $S>0.6$ 及 $HMM>0.8$ 时, 则预测该蛋白含有 N 端信号肽, 为分泌蛋白 (SP⁺); 当 $S<0.25$ 及 $HMM<0.1$ 时, 则预测该蛋白不含有信号肽, 为非分泌蛋白 (SP⁻)^[5-6]。

1.2.2 亚细胞器定位及跨膜结构域预测分析 采用 ProtComp-v9.0^[7] 软件对 MoPMT1、MoPMT2 和 MoPMT4 蛋白进行亚细胞器定位分析, 当预测结果中的 Nnets ≥ 3 , PotLocDB 与 Pentamers 之和 ≥ 5 或 LocDB 与 Integral 的和 ≥ 10 时, 则表明该蛋白定位在此细胞器上。再利用 kyte-doolittle^[8] 软件对 MoPMT1、MoPMT2 和 MoPMT4 蛋白进行跨膜结

构域预测, 当跨膜结构域图中的峰值 ≥ 1.8 时, 则表明此位置含有跨膜结构域。

1.2.3 PMT 蛋白的序列同源性分析 利用 SMART^[9] (<http://smart.embl-heidelberg.de/>) 对 *M. oryzae* 及玉米黑粉菌 (*Ustilago maydis*)、酿酒酵母 (*S. cerevisiae*)、白色念珠菌 (*Candida albicans*)、黑腹果蝇 (*Drosophila melanogaster*)、人类 (*Homo sapiens*)、粟酒裂殖酵母 (*Schizosaccharomyces pombe*)、构巢曲霉 (*Aspergillus nidulans*)、粗糙脉孢霉菌 (*Neurospora crassa*)、玉米赤霉 (*Gibberella zeae*)、灰葡萄孢 (*Botrytis cinerea*) 的 PMT1、PMT2 和 PMT4 的保守结构域进行预测, 获得各自典型的 PMT motif 和 MIR motif 的序列。采用 Clustal X 1.83 软件对上述序列进行序列多重比对分析, 参数为软件默认值。

2 结果与分析

2.1 预测软件的可靠性

通过 Signalp-v3.0、ProtComp-v9.0、kyte-doolittle 软件对稻瘟病菌 BAS1、AvrPiz-t、AvrPia、AVR-Pita、CDC42、CHM1、ACE1 和 MIR1 蛋白预测, 结果表明, BAS1、AvrPiz-t、AvrPia、AVR-Pita 等为分泌蛋白 (SP⁺); 而 CDC42、CHM1、ACE1、MIR1 等为非分泌蛋白 (SP⁻) (表 1), 这与文献报道一致^[10-17]。因此, 可以确定 Signalp-v3.0、ProtComp-v9.0、kyte-doolittle 软件准确性强, 可用于对供试蛋白进行预测分析。

表 1 部分已报道的稻瘟病菌分泌蛋白和非分泌蛋白的验证

Table 1 The validation for some reported secreted proteins and nonsecreted proteins in *Magnaporthe oryzae*

基因文库 GenBank	蛋白名称 Protein name	S 均值 Mean S	HMM 值 HMM value	亚细胞定位 Subcellular location	跨膜域 Membrane domain	预测结果 Predicted result
XM_003710713	BAS1 ^[10]	0.939	1.000	Extraellular	0	SP ⁺
EU837058	AvrPiz-t ^[11]	0.922	0.996	Extracellular	0	SP ⁺
AB498873	AvrPia ^[12]	0.881	0.995	Extracellular	0	SP ⁺
AF207841	AVR-Pita ^[13]	0.877	0.815	Extraellular	0	SP ⁺
AF250928	CDC42 ^[14]	0.426	0.033	Plasma membrane	0	SP ⁻
AY057371	CHM1 ^[15]	0.218	0	Cytoplasmic	0	SP ⁻
AJ704622	ACE1 ^[16]	0.069	0	Nuclear	0	SP ⁻
XM_003718959	MIR1 ^[17]	0.020	0	Nuclear	0	SP ⁻

注: SP⁺为分泌蛋白, SP⁻为非分泌蛋白。Note: SP⁺ means secreted protein, and SP⁻ represents nonsecreted protein.

2.2 MoPMT1、MoPMT2 和 MoPMT4 蛋白结构特征分析

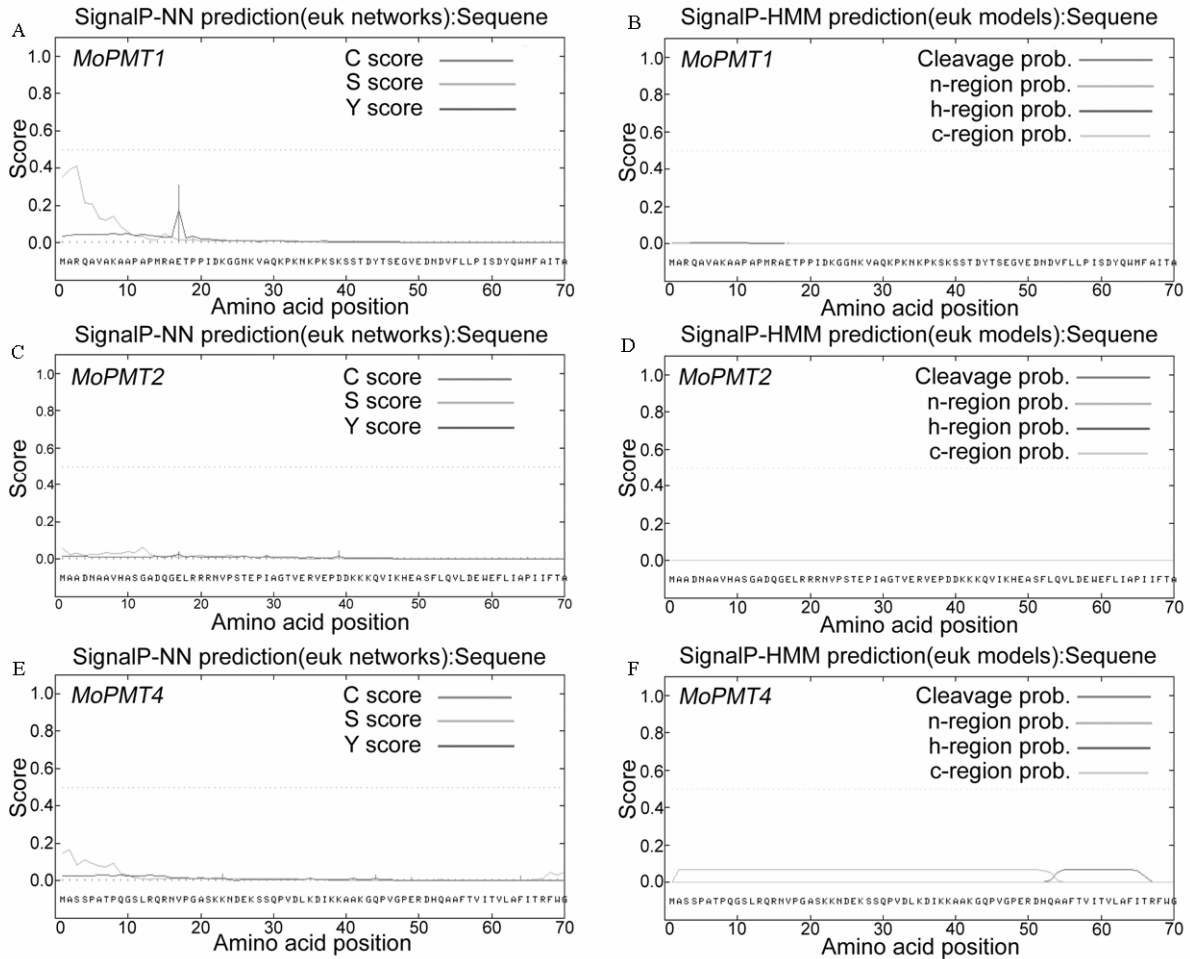
2.2.1 MoPMT1、MoPMT2 和 MoPMT4 蛋白信号肽分析 信号肽位于分泌蛋白 N 端, 由碱性氨基末端、功能区和加工区等 3 部分构成, 一般约有 15~30 个氨基

酸, 能够将目标蛋白从合成场所转运出胞外。

利用 SignalP-v3.0 软件对来自稻瘟病菌中的 MoPMT1、MoPMT2 和 MoPMT4 蛋白进行信号肽预测。结果表明, MoPMT1、MoPMT2 和 MoPMT4 蛋白的 S 值分别为 0.145、0.032 和 0.113, 均 <0.25

(图 1 A、C、E), HMM 值分别为 0.009、0.000 和 0.000, 均<0.1 (图 1 B、D、F), 推测 MoPMT1、

MoPMT2 和 MoPMT4 蛋白的 N 端均不含有信号肽, 为非分泌蛋白。



A、B: MoPMT1 蛋白的信号肽预测 Signal peptide prediction for MoPMT1; C、D: MoPMT2 蛋白的信号肽预测 Signal peptide prediction for MoPMT2; E、F: MoPMT4 蛋白的信号肽预测 Signal peptide prediction for MoPMT4

图 1 MoPMT1、MoPMT2 和 MoPMT4 蛋白信号肽预测

Figure 1 Signal peptide prediction for MoPMT1, MoPMT2 and MoPMT4

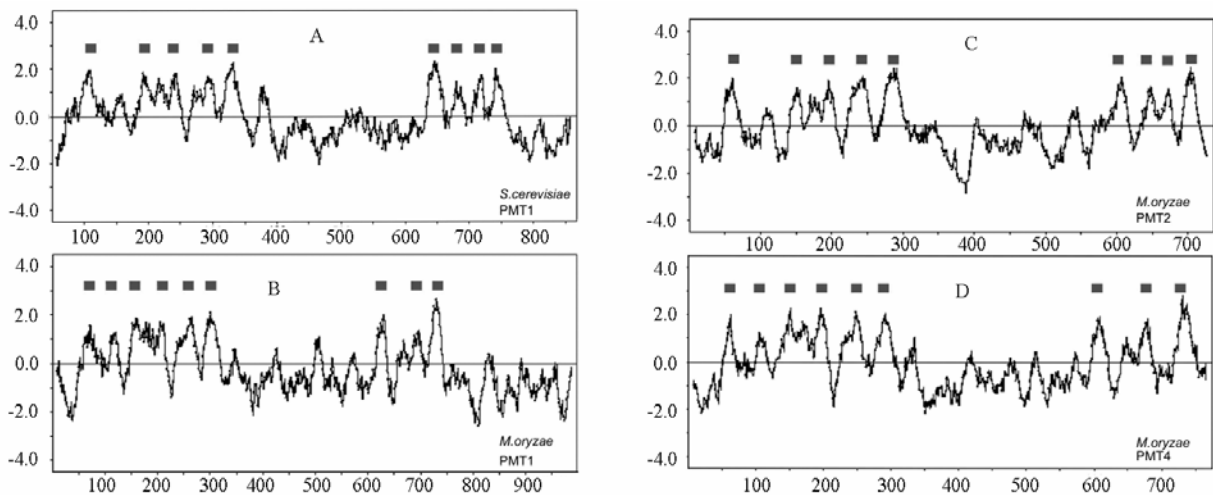
2.2.2 MoPMT1、MoPMT2 和 MoPMT4 蛋白亚细胞器定位分析 信号肽预测结果显示, MoPMT1、MoPMT2 和 MoPMT4 均不含信号肽, 推测 MoPMT1、MoPMT2 和 MoPMT4 可能作用于细胞内。利用 ProtComp-v9.0 软件分别对 MoPMT1、MoPMT2 和 MoPMT4 进行了预测分析, 软件参数为系统默认值。结果表明, 在内质网 (Endoplasm. Retic) 中, 蛋白 MoPMT1、MoPMT2 和 MoPMT4 的 PotLocDB 和 Pentamers 之和 >5, 且 LocDB 和 Integral 值的和 >10, 在其他亚细胞器中的 Nnets <3, PotLocDB 和 Pentamers 之和 <5, 且 LocDB 和 Integral 的和 <10 (表 2)。因此可以推测 MoPMT1、MoPMT2、

MoPMT4 蛋白均定位于内质网上。

2.2.3 稻瘟病菌 PMT1、PMT2 和 PMT4 蛋白跨膜结构域分析 亚细胞定位分析表明 MoPMT1、MoPMT2 和 MoPMT4 均位于内质网上。为进一步明确其作用位点, 采用 kyte-doolittle 软件对上述 3 个 PMT 蛋白作跨膜结构域分析, 参数为系统默认值。结果显示, MoPMT1、MoPMT2 和 MoPMT4 蛋白均有 9 个在 1.8 以上的峰值 (图 2), 表明 MoPMT1、MoPMT2 和 MoPMT4 蛋白都含有 9 个跨膜结构域, 但是这些跨膜结构域点因不同蛋白而异。综合信号肽和亚细胞定位分析结果, 推测 MoPMT1、MoPMT2 和 MoPMT4 蛋白是定位在内质网膜上。

表 2 MoPMT1、MoPMT2 及 MoPMT4 蛋白亚细胞定位预测
Table 2 Prediction of sub-cellular localization for MoPMT1, MoPMT2 and MoPMT4

Protein type	Location weights	LocDB	PotLocDB	Neural nets	Pentamers	Integral
MoPMT1 (XM_003720705)	Nuclear	0.0	0.0	0.00	0.00	0.03
	Plasma membrane	0.0	0.0	2.40	0.01	1.40
	Extracellular	0.0	0.0	0.01	0.07	0.00
	Cytoplasmic	0.0	0.0	0.01	0.00	0.36
	Mitochondrial	0.0	0.0	0.02	0.77	0.00
	Endoplasm. retic.	5.0	3.0	0.01	2.70	7.76
	Peroxisomal	0.0	0.0	0.13	0.00	0.45
	Lysosomal	0.0	0.0	0.17	0.02	0.00
	Golgi	0.0	0.0	0.14	0.00	0.00
	Vacuolar	0.0	0.0	0.11	0.00	0.00
	MoPMT2 (XM_003715348)	Nuclear	0.0	0.0	0.00	0.00
Plasma membrane		0.0	0.0	0.05	0.00	0.00
Extracellular		0.0	0.0	0.00	0.04	0.00
Cytoplasmic		0.0	0.0	0.13	0.00	0.01
Mitochondrial		0.0	0.0	0.00	0.11	0.04
Endoplasm. retic.		5.0	3.0	2.71	3.13	9.95
Peroxisomal		0.0	0.0	0.04	0.04	0.00
Lysosomal		0.0	0.0	0.00	0.02	0.01
Golgi		0.0	0.0	0.07	0.01	0.00
Vacuolar		0.0	0.0	0.00	0.00	0.00
MoPMT4 (XM_003713472)		Nuclear	0.0	0.0	0.01	0.00
	Plasma membrane	0.0	0.0	0.00	0.05	0.03
	Extracellular	0.0	0.0	0.07	0.15	0.08
	Cytoplasmic	0.0	0.0	0.04	0.00	0.00
	Mitochondrial	0.0	0.0	0.00	0.16	0.03
	Endoplasm. retic.	5.0	3.0	2.56	2.92	9.84
	Peroxisomal	0.0	0.0	0.32	0.01	0.00
	Lysosomal	0.0	0.0	0.00	0.00	0.01
	Golgi	0.0	0.0	0.00	0.02	0.01
	Vacuolar	0.0	0.0	0.00	0.00	0.00



A: ScPMT1 蛋白跨膜结构域的预测 Transmembrane domain prediction for ScPMT1; B: MoPMT1 蛋白跨膜结构域的预测 Transmembrane domain prediction for MoPMT1; C: MoPMT2 蛋白跨膜结构域的预测 Transmembrane domain prediction for MoPMT2; D: MoPMT4 蛋白跨膜结构域的预测 Transmembrane domain prediction for MoPMT4

图 2 MoPMT1、MoPMT2 和 MoPMT4 蛋白跨膜结构域预测

Figure 2 Transmembrane domain prediction for MoPMT1, MoPMT2 and MoPMT4

2.3 不同来源的 PMT 蛋白保守结构域同源性比较

采用 Smart (<http://smart.embl-heidelberg.de/>) 网站提供的方法, 对 PMT1、PMT2 和 PMT4 蛋白质进行了保守结构域的预测分析, 分别与玉米黑粉菌 (*U. maydis*)、酿酒酵母 (*S. cerevisiae*)、白色念珠菌 (*C. albicans*)、黑腹果蝇 (*D. melanogaster*)、人类 (*H. sapiens*)、粟酒裂殖酵母 (*S. pombe*)、构巢曲霉 (*A. nidulans*)、粗糙脉孢霉菌 (*N. crassa*)、小麦赤霉 (*G. zeae*) 及灰葡萄孢 (*B. cinerea*) 等 10 种生物体的 PMT1、PMT2 和 PMT4 蛋白组进行保守结构域的同源性比对分析。结果表明, MoPMT1 与 BcPMT1、NcPMT1、GzPMT1 及 AnPMT1 氨基酸的同源性较

高, 分别达到 80%、78%、78% 和 73%; 与 SpPMT1、DmPMT1 氨基酸的同源性较低, 仅为 31% 和 38% (图 3A)。MoPMT2 与 GzPMT2、NcPMT2、BcPMT2 和 AnPMT2 的同源性较高, 分别达到 80%、77%、75% 和 73%; 与 DmPMT2 氨基酸的同源性较低, 仅为 43% (图 3B)。MoPMT4 与 NcPMT4、GzPMT4、BcPMT4 及 AnPMT4 氨基酸的同源性较高, 分别达到 87%、82%、81% 和 74%; 与 DmPMT4、HsPMT4 氨基酸的同源性较低, 仅为 32% 和 38% (图 3C)。上述结果表明, MoPMTs 蛋白在丝状真菌中具有很高的保守性。

A			B			C		
MoPMT1	PMT	MIR	MoPMT2	PMT	MIR	MoPMT4	PMT	MIR
UmPMT1	52%	55%	UmPMT2	57%	57%	UmPMT4	55%	52%
ScPMT1	42%	58%	ScPMT2	55%	48%	ScPMT4	53%	50%
CaPMT1	47%	54%	CaPMT2	58%	51%	CaPMT4	58%	44%
GzPMT1	78%	79%	GzPMT2	80%	81%	GzPMT4	82%	75%
BcPMT1	80%	78%	BcPMT2	75%	77%	BcPMT4	81%	69%
SpPMT1	31%	43%	SpPMT2	49%	52%	SpPMT4	61%	48%
AnPMT1	73%	72%	AnPMT2	73%	77%	AnPMT4	74%	66%
NcPMT1	78%	82%	NcPMT2	77%	81%	NcPMT4	87%	80%
DmPMT2	38%	42%	DmPMT2	41%	45%	DmPMT1	32%	30%
HsPMT2	41%	38%	HsPMT2	43%	39%	HsPMT1	38%	30%

A:PMT1 保守结构域比对分析 Analysis of conserved domain alignment of PMT1;B:PMT2 保守结构域比对分析 Analysis of conserved domain alignment of PMT2;C:PMT4 保守结构域比对分析 Analysis of conserved domain alignment of PMT4

图 3 不同来源的 PMT 蛋白保守结构域比对分析

Figure 3 Comparison analysis on the conserved motif of PMT protein from different organisms

3 讨论

PMT 蛋白家族包括 PMT1, PMT2 和 PMT4 3 个亚科^[18]。有研究表明, 缺失 PMT1 可导致构巢曲霉 (*A. nidulans*) 分生孢子产量降低 50%, 菌丝分枝增多^[3]; 缺失 PMT2 会造成粗糙脉孢霉菌 (*N. crassa*)^[19]、灰葡萄孢 (*B. cinerea*)^[20]、构巢曲霉 (*A. nidulans*)^[21] 产生分生孢子的能力降低, 细胞壁的完整性被破坏; 缺失 PMT4 会造成构巢曲霉 (*A. nidulans*) 的生长速率降低, 正常条件下丧失产孢的能力, 细胞壁的完整性被破坏^[3]。为了明确 MoPMT 蛋白家族的结构特征及可能的生物学功能, 经 Signalp-v3.0、ProtComp-v9.0、kyte-doolittle 和 SMART 等软件分析, 发现来自稻瘟病菌的 3 个 PMT 蛋白均不含有信号肽, 具有跨膜结构域, 定位于内质网膜上, 其各自的 N 端和 C 端分别含有保守的 PMT motif 和 MIR motif, 这些 motif 与来自灰葡萄孢、粗糙脉孢霉菌、构巢曲霉等丝状真菌的 PMT

motif 及 MIR motif 高度同源。推测在稻瘟病菌中, 这些高度同源的编码 PMT 蛋白家族的基因在功能上可能亦具有高度保守性, MoPMT1、MoPMT2 和 MoPMT4 可能参与稻瘟病菌菌丝的营养生长, 分生孢子的形成及致病性等生物学功能, 缺失 MoPMT1、MoPMT2 和 MoPMT4 可能会导致突变体菌株的生长速率和菌丝形态发生变化, 影响分生孢子的形成, 降低对水稻的致病性等, 这需进一步利用分子生物学的方法进行验证。本研究结果对今后阐明 MoPMT 蛋白家族成员在调控稻瘟病菌生长速率、细胞壁结构、外源胁迫因子耐受性、产孢及致病性等生物学过程具有重要的指导意义。

参考文献:

- [1] Talbot N J. On the trail of a cereal killer: Exploring the biology of *Magnaporthe grisea* [J]. Annual Review of Microbiology, 2003, 57: 177-202.
- [2] Willer T, Brandl M, Sipiczki M, et al. Protein O-mannosylation is crucial for cell wall integrity, septa-

- tion and viability in fission yeast [J]. *Molecular Microbiology*, 2005, 57(1): 156-170.
- [3] Goto M, Harada Y, Oka T, et al. Protein O-mannosyltransferases B and C support hyphal development and differentiation in *Aspergillus nidulans*[J]. *Eukaryotic Cell*, 2009, 8(10): 1465-1474.
- [4] Olson G M, Fox D S, Wang P, et al. Role of protein O-mannosyltransferase Pmt4 in the morphogenesis and virulence of *Cryptococcus neoformans*[J]. *Eukaryotic Cell*, 2007, 6(2): 222-234.
- [5] Nielsen H, Engelbrecht J, Brunak S, et al. Identification of prokaryotic and eukaryotic signal peptides and prediction of their cleavage sites[J]. *Protein Engineering Design and Selection*, 1997, 10(1): 1-6.
- [6] 陈继圣, 郑士琴, 郑武, 等. 全基因组预测稻瘟菌的分泌蛋白[J]. *中国农业科学*, 2006, 39(12): 2474-2482.
- [7] Soderlund C, Haller K, Pampanwar V, et al. MGOS: a resource for studying *Magnaporthe grisea* and *oryza sativa* interactions[J]. *Molecular Plant-Microbe Interactions*, 2006, 19(10): 1055-1061.
- [8] Chapman E G, Piontkivska H, Walker J M, et al. Extreme primary and secondary protein structure variability in the chimeric male-transmitted cytochrome oxidase subunit II protein in the freshwater mussels: Evidence for an elevated amino acid substitution rate in the face of domain-specific purifying selection[J]. *BMC Evolutionary Biology*, 2008(8): 165.
- [9] Feng Y, Liu Q P, Xue Q Z. Comparative phylogenetic analysis of the rice and *Arabidopsis* PHD-finger proteins [J]. *Acta Genetica Sinica*, 2004, 31(11): 1284-1293.
- [10] Mosquera G, Giraldo M C, Khang C H, et al. Interaction transcriptome analysis identifies BAS1-4 as biotrophy-associated secreted proteins in rice blast disease[J]. *The Plant Cell*, 2009, 21: 1273-1290.
- [11] Li W, Wang B H, Wu J, et al. The *Magnaporthe oryzae* avirulence gene *AvrPiz-t* encodes a predicted secreted protein that triggers the immunity in rice mediated by the blast resistance gene *Piz-t*[J]. *Molecular Plant-Microbe Interactions*, 2009, 22(4): 411-420.
- [12] Miki S, Matsui K, Kito H, et al. Molecular cloning and characterization of the AVR-Pia locus from a Japanese field isolate of *Magnaporthe oryzae*[J]. *Molecular Plant Pathology*, 2009, 10(3): 361-374.
- [13] Khang C H, Lee Y H, Park S Y, et al. Genome organization and evolution of the AVR-Pita avirulence gene family in the *Magnaporthe grisea* species complex[J]. *Molecular Plant-Microbe Interactions*, 2008, 21: 658-670.
- [14] Zheng W, Chen J S, Zheng S Q, et al. Structure and expression pattern of several putative Cdc42-interacting proteins in *Magnaporthe grisea*[J]. *Scientia Agricultura Sinica*, 2006, 39(4): 709-714.
- [15] Li L, Xue C, Bruno K, et al. Two PAK kinase genes, CHM1 and MST20, have distinct functions in *Magnaporthe grisea* [J]. *Molecular Plant-Microbe Interactions*, 2004, 17: 547-556.
- [16] 李湘龙, 柏斌, 吴俊, 等. 第二代测序技术用于水稻和稻瘟菌互作早期转录组的分析[J]. *遗传*, 2012, 34(1): 102-112.
- [17] Li L, Ding S L, Sharon A, et al. Mir1 is highly upregulated and localized to nuclei during infectious hyphal growth in the rice blast fungus[J]. *Molecular Plant-Microbe Interactions*, 2007, 20:448-458.
- [18] Strahl-Bolsinger S, Scheinost A. Transmembrane topology of Pmt1p, a member of an evolutionarily conserved family of protein O-mannosyltransferases[J]. *The Journal of Biological Chemistry*, 1999, 274: 9068-9075.
- [19] Bowman S M, Piwowar A, Dabbous M A, et al. Mutational analysis of the glycosylphosphatidylinositol (GPI) anchor pathway demonstrates that GPI-anchored proteins are required for cell wall biogenesis and normal hyphal growth in *Neurospora crassa* [J]. *Eukaryotic Cell*, 2006, 5(3): 587-600.
- [20] Gonzalez M, Brito N, Frias M, et al. Botrytis cinerea protein O-mannosyltransferases play critical roles in morphogenesis, growth, and virulence [J]. *PLoS ONE*, 2013, 8(6): e65924.
- [21] Oka T, Hamaguchi T, Sameshima Y, et al. Molecular characterization of protein O-mannosyltransferase and its involvement in cell-wall synthesis in *Aspergillus nidulans*[J]. *Microbiology*, 2004, 150: 1973-1982.