

# 稻瘟菌 Cdc42 若干推测互作蛋白的结构和表达特点

郑 武, 陈继圣, 郑士琴, 鲁国东, 王宗华

(福建农林大学生物农药与化学生物学教育部重点实验室, 福建农林大学功能基因组学研究中心, 福州 350002)

**摘要:** 【目的】已有研究表明稻瘟菌 Cdc42 (MgCdc42) 与酵母 Cdc42 (ScCdc42) 高度同源, 参与调控其形态分化和侵染过程, 通过分析可能的 MgCdc42 互作蛋白, 以明确这些蛋白结构和功能。【方法】用 ScCdc42 互作蛋白经 BLAST 搜索获得了稻瘟菌基因组中的相应同源物, 分析了这些同源物的结构, 并通过半定量 RT-PCR 分析 *MgCdc42* 不同突变情况下这些可能的调控蛋白及效应蛋白的表达情况。【结果】MgCdc42 正显性突变后, 导致所有推测互作蛋白表达量均有所提高; MgCdc42 负显性突变, 除 *MgBem1*、*Chm1*、*MgGic1* 表达量未见明显变化外, 其余表达量均有所降低; 当 MgCdc42 失活后, 所有可能的 MgCdc42 调控蛋白及效应蛋白之表达量均有所降低。【结论】稻瘟菌可能存在酵母 Cdc42 相似的信号途径, MgCdc42 在其中起着重要的调控作用。

**关键词:** Cdc42; 稻瘟菌; 鸟苷酸交换因子; GTP 酶激活蛋白

## Structure and Expression Pattern of Several Putative Cdc42-Interacting Proteins in *Magnaporthe grisea*

ZHENG Wu, CHEN Ji-sheng, ZHENG Shi-qin, LU Guo-dong, WANG Zong-hua

(The Ministry of Education Key Laboratory of Bio-pesticide and Chemistry Biology, Functional Genomics Center, Fujian Agriculture and Forestry University, Fuzhou 350002)

**Abstract:** 【Objective】 MgCdc42 (Cdc42 in *Magnaporthe grisea*), with high homology to ScCdc42 (Cdc42 in *Saccharomyces cerevisiae*), has been demonstrated to involve in its morphogenesis and infection process. To further dissect the signaling network, the putative MgCdc42-interacting proteins were analyzed. 【Method】 ScCdc42-interacting protein sequences were first used to BLAST against the *M. grisea* genome database to retrieve their corresponding analogs. Subsequently, conserved domains of these proteins were compared and expression patterns of their encoding genes in different MgCdc42 mutation states were analyzed by semi-quantitative RT-PCR. 【Result】 All retrieved analogs of ScCdc42-interacting proteins from the *M. grisea* database have conserved domains as those in *S. cerevisiae*. Expression of their encoding genes increased in MgCdc42CA mutant, and decreased in MgCdc42KO mutant. However, *MgBem1*, *Chm1* and *MgGic1* in MgCdc42DN mutant remained the same expression level as that in the wild type although *MgBem4*, *MgBoi2*, *MgCdc24*, *MgGic2*, *MgRga1* and *Mst20* decreased as expected. 【Conclusion】 Taking together, we conclude that there may exist a similar Cdc42 signal pathway in *M. grisea* as in *S. cerevisiae* and MgCdc42 plays a key role in the pathway.

**Key words:** Cdc42; *Magnaporthe grisea*; Guanine nucleotide exchange factor; GTPase-activating protein

## 0 引言

【本研究的重要意义】*Cdc42* (cell division cycle 42) 是从芽殖酵母 (*Saccharomyces cerevisiae*) 中首先克隆

到的与细胞分裂、细胞骨架形成及极性生长相关的重要基因<sup>[1,2]</sup>。此后, 在人、果蝇、老鼠、线虫、植物和其它丝状真菌中均克隆到 *Cdc42* 的同源基因。*Cdc42* 基因编码的蛋白 Cdc42 是鸟苷三磷酸酶级联机制中最

收稿日期: 2005-12-12; 接受日期: 2006-02-14

基金项目: 国家自然科学基金项目(30070030, 30470066)

作者简介: 郑 武 (1977-), 男, 福建福安人, 博士研究生, 研究方向为分子植物病理学, Tel: 0591-83779536; E-mail: zhengwuz@163.com。并列第一作者陈继圣 (1981-), 男, 福建福州人, 硕士研究生, 研究方向为生化与分子生物学, Tel: 0591-83779536; E-mail: sishenbb@163.com。通讯作者鲁国东, 男, 教授, E-mail: guodonglu@yahoo.com; 并列通讯作者王宗华, 男, 研究员, E-mail: zonghuaw@163.com

关键、而且最为保守的 rho 族 GTP 酶, 是细胞发育信号传导过程中的关键性调节蛋白, 在与 GTP 结合状态有活性, 而与 GDP 结合状态失活, 起到分子开关的作用<sup>[3]</sup>。Cdc42 通过与许多调控因子和下游效应蛋白互作以行使 GTPase 信号传导功能, 如鸟苷酸交换因子 (guanine nucleotide exchange factors, GEFs)、鸟苷酸解离抑制因子 (guanine nucleotide dissociation inhibitors, GDIs) 和 GTPase 激活蛋白 (GTPase activating proteins, GAPs) 等<sup>[4]</sup>。【前人研究进展】已知 Cdc42 信号途径是真核生物通用的, 参与肌动蛋白组配、细胞骨架的形成及其相关生长发育过程的调控。但更多的研究表明 Cdc42 功能存在明显的多样性。在酵母中, Cdc42 参与了一系列信号传导途径, 而影响了肌动蛋白骨架形成、极性生长, 胞质运动、形态建成、假菌丝生长、芽殖等<sup>[4-6]</sup>。在丝状真菌中, 如 *Schizophyllum commune*<sup>[7]</sup>、*Suillus bovinus*<sup>[8]</sup>、*Wangiella (Exophiala) dermatitidis*<sup>[9]</sup>、*Penicillium marneffe*<sup>[10]</sup>、*Claviceps purpurea*<sup>[11]</sup>、*Colletotrichum trifolii*<sup>[12]</sup>等, Cdc42 也被证实与细胞骨架维持、细胞极性生长及菌丝生长直接相关; *Claviceps purpurea* 中 Cdc42 还与其致病性有关<sup>[11]</sup>。在动物中, Cdc42 被证实可以诱导富含肌动蛋白的表面突出形成伪足或丝足<sup>[13]</sup>。

稻瘟菌 (*Magnaporthe grisea*) 是研究丝状真菌的重要模式生物, 也是引起水稻重要病害-稻瘟病的病原菌。该菌侵染循环过程经历了分生孢子萌发、附着胞分化、侵入栓的形成以及侵染生长, 这一过程涉及到复杂的细胞分化和信号传导过程<sup>[14]</sup>。

已知 MAPK 级联机制是调控稻瘟菌生长发育及侵染致病的两条信号传导途径之一<sup>[15]</sup>, 稻瘟菌中 Mst20 (酵母 Ste20 同源物) 及 Chm1 (酵母 Cla4 同源物) 均为 MAPK 途径成员, 其可能作为 Rho 族 GTP 酶之互作蛋白而受其调控<sup>[16]</sup>。Marcus 等对酵母的研究表明 MAPK 级联机制的上游, 受 Cdc42 激活<sup>[17]</sup>。Cdc42 及其互作蛋白 Ste20 已证实共同调控 Hog1 MAPK 途径<sup>[18]</sup>, 其互作还调控着酵母对信息素响应的信号途径<sup>[19]</sup>。酵母双杂交分析表明, 在酵母中至少有几十个蛋白构成 Cdc42 信号网络系统, 激活型 Cdc42 与 Bem1、Bem4、Boi2、Cla4、Gic1、Gic2、Rga1 和 Ste20 直接互作, 激活下游一系列互作蛋白; 而失活型 Cdc42 则可与 Bem1、Bem4 及 Cdc24 直接互作<sup>[20]</sup>。【本研究的切入点】笔者推测稻瘟菌与酵母中 Cdc42 蛋白网络可能非常相似。【拟解决的关键问题】因此, 分析稻瘟菌是否存在与酵母 Cdc42 互作蛋白的同源蛋白及其表

达情况, 将有助于了解稻瘟菌 Cdc42 信号途径中的相关蛋白, 明确这些蛋白与 MgCdc42 的互作关系; 也将有助于进一步了解丝状真菌分化与发育的调控机制, 制定更加有效合理的稻瘟病治理策略和措施。

## 1 材料与方法

### 1.1 蛋白序列同源性搜索

以 ScCdc42 互作蛋白 Bem1 (CAA45320)、Bem4 (AAB47774)、Boi2 (BAA07427)、Cdc24 (NP\_009359)、Cla4 (CAA57879)、Gic1 (NP\_011928)、Gic2 (NP\_010595)、Rga1 (CAA62445)、Ste20 (NP\_011856) 为靶蛋白在 NCBI (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov>) 及稻瘟菌基因组数据库 (<http://www.broad.mit.edu/annotation/fungi/magnaporthe/index.html>) 中进行 BLASTP 搜索, E 值设为  $1e+0$ , 获得稻瘟菌同源蛋白序列。序列比对利用 DNASTAR 中的 ClusterV 分析。蛋白保守结构域分析通过 Pfam 进行 (<http://www.sanger.ac.uk/Software/Pfam/search.shtml>)。

### 1.2 稻瘟菌 Rho 族蛋白编码基因的表达分析

1.2.1 菌丝体培养 稻瘟菌株 70-15 为美国普渡大学许金荣博士赠送, Cdc42KO (稻瘟菌 MgCdc42 插入失活突变体)、Cdc42CA (稻瘟菌 MgCdc42 正显性激活突变体)、Cdc42DN (稻瘟菌负显性失活突变体) 为本实验室构建。挑取在淀粉酵母培养基上活化好的稻瘟菌菌丝块转移至液体完全培养基 (酵母粉  $6\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ , 水解酪蛋白  $6\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ , 蔗糖  $10\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ ) 中,  $25^{\circ}\text{C}$ 、130r/min 振荡培养至球状菌丝团, 滤纸片过滤收集菌丝体。液氮冻干, 研磨菌丝成粉末, 以备提取总 RNA。

1.2.2 总 RNA 提取及检测 总 RNA 分离纯化采用 SV Total RNA Isolation System (Promega Corporation 产品), 具体步骤参照其说明书进行; 采用紫外分光光度计 (GeneQuant pro, Amersham Biosciences Inc. 产品) 检测总 RNA 样品的浓度和纯度, 并进一步通过变性凝胶电泳检测<sup>[21]</sup>。

1.2.3 引物 根据稻瘟菌 MgCdc42 互作蛋白和 Beta-tubulin 编码基因的序列, 用 DNASTAR 程序设计了可以特异扩增相应基因片段的引物, 其序列以及在 RT-PCR 时所用的退火温度见表 1。引物由北京三博远志生物技术有限公司合成。

1.2.4 反转录 单链 cDNA 的合成采用 SuperScript First-strand Synthesis System for RT-PCR (Invitrogen Corporation 产品), 具体方法参照试剂盒说明书, 采用  $3\mu\text{g}$  总 RNA 作为反转录合成第一链 cDNA 的模板。

表 1 用于检测 MgCdc42 互作蛋白编码基因表达的引物序列、退火温度及延伸时间

Table 1 Primer sequences, the corresponding annealing temperature and time for extension used in RT-PCR to detect the encoding gene expression of putative MgCdc42 interacting proteins in *M. grisea*

检测基因	引物序列	退火温度	延伸时间
Genes detected	Primer names and sequences	Annealing temperature(°C)	Time for extension(min)
<i>Beta-tubulin</i>	TFF:5'-GCTGCTCGTCGATCTCGA-3' TFR:5'-CAGAGCAGGTCAGGTAACGA-3'	53	1
<i>MgCdc42</i>	MCF:5'-ATGGTGGTTGCA ACGATT-3' MCR:5'-TCAAAGGATCAGGCTCTT-3'	58	1
<i>MgBem1</i>	MB1F:5'-TACATATCATATGAAGGCCTTACGGCG-3' MB1R:5'-CCATCGATTATATGTGATCAACGTA-3'	59	2
<i>MgBem4</i>	MB4F:5'-AAGAATTCATGTCTTACGGCCAGAG-3' MB4R:5'-AAGGATCCTTACAGCGCCTTGATCG-3'	59	3
<i>MgBoi2</i>	MBOF:5'-TACATATCATATGGCCGCGAGAGGGAAC-3' MBOR:5'-TATCCCGGGCTAAGCACTCTGGGGCAT-3'	60	4
<i>MgCdc24</i>	MC24F:5'-CAGGATCCATGAATCAAGCTTCGAGA-3' MC24R:5'-AGAATTCCTACTCGCCACCAATGCC-3'	60	4
<i>Chm1</i>	MCLF:5'-GGAATTCATGAACCCTGGACCTGCC-3' MCLR:5'-ATACCCGGGTTATTTGGCATGCTTCTTG-3'	60	3
<i>MgGic1</i>	MG1F:5'-ATAATCCAATGGCAGCAGACACACA-3' MG1R:5'-TACCCGGGTCAACCATCGCCGCTCT-3'	50	3
<i>MgGic2</i>	MG2F:5'-ATGGCCCGCACGGCAAAGTCG-3' MG2R:5'-TCAACCGACAGCGGGCGGAGG-3'	59	1
<i>Mst20</i>	MSTF:5'-AGAATTCATGGACGGGCATTGCAAC-3' MSTR:5'-TAGGATCCTTATTGGCCCTCCGAGC-3'	60	3
<i>MgRga1</i>	MRGF:5'-GGAATTCATGGACGACTATCTGGACAG-3' MRGR:5'-CTGGATCCCTAAGCCTCTTCGAAGATG-3'	60	4

1.2.5 PCR PCR 反应体系的总体积为 25 $\mu$ l, 其中含模板 (单链 cDNA) 2 $\mu$ l, 10 $\times$ PCR 缓冲液 (含 20mmol $\cdot$ L<sup>-1</sup>Mg<sup>2+</sup>) 2.5 $\mu$ l, dNTP0.05 mmol $\cdot$ L<sup>-1</sup>、引物 0.2  $\mu$ mol $\cdot$ L<sup>-1</sup>, Taq DNA 聚合酶 1U (大连宝生物)。

PCR 热循环条件如下: 95 $^{\circ}$ C 预变性 2 min; 94 $^{\circ}$ C 变性 30 s, 按表 1 根据扩增不同基因片段设计相应的退火温度, 并退火 45 s, 72 $^{\circ}$ C 延伸 1 min, 重复 30 个循环; 最后 72  $^{\circ}$ C 延伸 7 min。

取 10  $\mu$ l PCR 扩增产物用 1.5%琼脂糖凝胶电泳, 于 EB 染色 20~30 min, 然后在紫外透射反射仪 300 nm 紫外线下观察, 并摄像。

## 2 结果与分析

### 2.1 稻瘟菌 Cdc42 互作同源蛋白搜索

以酵母 Cdc42 之互作蛋白为靶蛋白用 BLASTP 的方法分别搜索稻瘟菌基因组数据库, 分别获得了对应于 Bem1、Bem4、Boi2、Cdc24、Cla4、Gic1、Gic2、Rga1、Ste20 的同源蛋白序列。分别将这些蛋白命名为 MgBem1 (MG01702.4)、MgBem4 (MG00879.4)、MgBoi2 (MG07310.4)、MgCdc24 (MG09697.4)、Chm1

(AAL15449)、MgGic1 (MG07663.4)、MgGic2 (MG01025.4)、MgRga1 (MG04186.4)、Mst20 (AAP93639), 它们在氨基酸水平与酵母同源蛋白之一致性分别为 24.0%、11.7%、16.9%、17.4%、34.8%、12.1%、12.6%、17.0%、32.1%。

结构域分析(图 1)表明, 蛋白 MgBem1 含有 SH3、PX、PB1 等结构域, 其中 PB1 与 ubiquitin 和 Ras-结合结构域相似, PX 是磷酸肌醇结合元件, 具有脂质结合特性。MgBem4 含有 Muts-I、-II、-III、-IV、-V 等结构域, 这些结构存在于 MutS 家族蛋白 (DNA 错配修复蛋白)。MgBoi2 含有 SH3、SAM、PH 等结构域, SAM (Sterile Alpha Motif) 结构域与各种蛋白与蛋白互作有关; PH (pleckstrin homology) 结构域在胞内信号传导蛋白及细胞骨架组分蛋白所具有。MgCdc24 含有 Cdc24 Calponin、RhoGEF、PB1 等结构域, Cdc24 Calponin 是 calponin 同源物结构域; RhoGEF 是 Rho/Rac/Cdc42 类 GTP 酶之调控因子——鸟苷酸交换因子 (GEF) 所具有的, 该调控因子促使该 Rho 族 GTP 酶从 GDP 结合态转变为 GTP 结合态。MgGic1 含有 PseudoU\_synt 结构域, 其最早在 tRNA 假尿苷合成酶

中存在。MgRga1 含有 LIM 和 RhoGAP 结构域，RhoGAP 结构域是 Rho/Rac/Cdc42 类 GTPases 调控因子——鸟苷酸激活蛋白（guanine activated proteins, GAP）所具有的；LIM 结构域结合于两个锌离子，其似乎作为蛋白与蛋白互作的中介。Mst20 含有 PBD、PKinase 结构域，PBD（P21-Rho-binding domain）结

构域是该蛋白与 Cdc42p- 或其它 Rho 族小 GTP 酶结合相关的，也被称作为 CRIB（Cdc42/Rac interactive binding）结构域；C 端之 PKinase 为 serine/threonine 水解激酶结构域，该二个结构是 PAK 激酶所具有的特征。Chm1 则含有 PBD、PH 和 Pkinase 结构域。

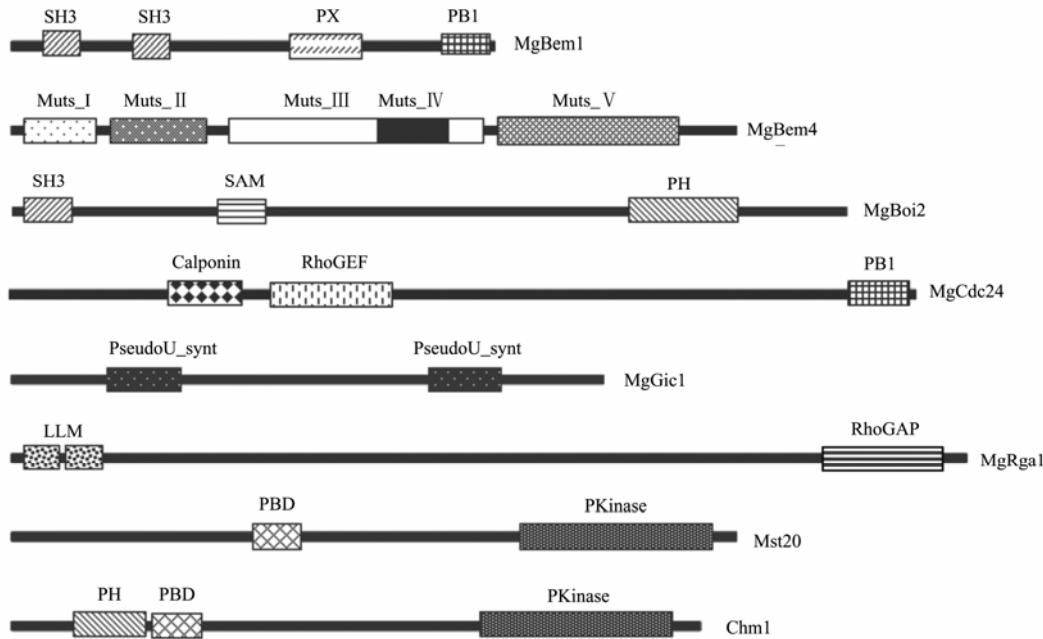


图 1 可能的 MgCdc42 调控蛋白及效应蛋白结构分析

Fig. 1 Structure of the regulators and effectors of the putative MgCdc42

## 2.2 稻瘟菌 MgCdc42 互作蛋白表达分析

为初步明确稻瘟菌 MgCdc42 互作蛋白网络系统及其互作关系，进一步采用 RT-PCR 检测了 MgCdc42 野生型、插入失活、正显性激活、负显性失活状态下，上述 MgCdc42 可能的调控蛋白及效应蛋白在稻瘟菌中的表达情况（图 2）。为避免取样误差，试验时以 Beta-tubulin 为内标检测稻瘟菌野生型菌株及突变体之初始 RNA 量，从图 2 中可以看出用于分析的菌株总 RNA 量基本一致。MgCdc42 正显性突变后，导致 MgBem1、MgBem4、MgBoi2、MgCdc24、Chm1、MgGic1、MgGic2、MgRga1、Mst20 表达量均有所提高。MgCdc42 负显性突变，除 MgBem1、Chm1、MgGic1 表达量未见明显变化外，其余表达量均有所降低。当 MgCdc42 插入失活后，所有可能的 MgCdc42 调控蛋白及效应蛋白之表达量均有所降低，但未导致这些相关互作蛋白的编码基因不表达。

## 3 讨论

在稻瘟菌基因组数据库中获得了所有酵母 Cdc42 互作蛋白的同源物，氨基酸序列同源性比较表明这些蛋白与酵母中的与 Cdc42 互作的蛋白序列一致性较高，说明它们可能与 MgCdc42 互作。但是蛋白结构分析结果表明仅有 Mst20 及 Chm1 含有与 Cdc42/Rac 蛋白互作之结合的 PBD 结构域，说明 Mst20 及 Chm1 与 MgCdc42 可以直接互作。此外，MgRga1 含有 RhoGAP 结构域，可能起着 MgCdc42 调控蛋白 GAP 的作用；而 MgCdc24 含有 RhoGEF 结构域，推测起着 MgCdc42 之 GEF 作用。其余蛋白是否与 MgCdc42 互作有待于进一步分析。

从 MgCdc42 的变化导致了其相关蛋白编码基因表达变化的结果来看，纵然 MgCdc42 的插入失活，导致了这些相关蛋白编码基因的表达量降低，但未见这

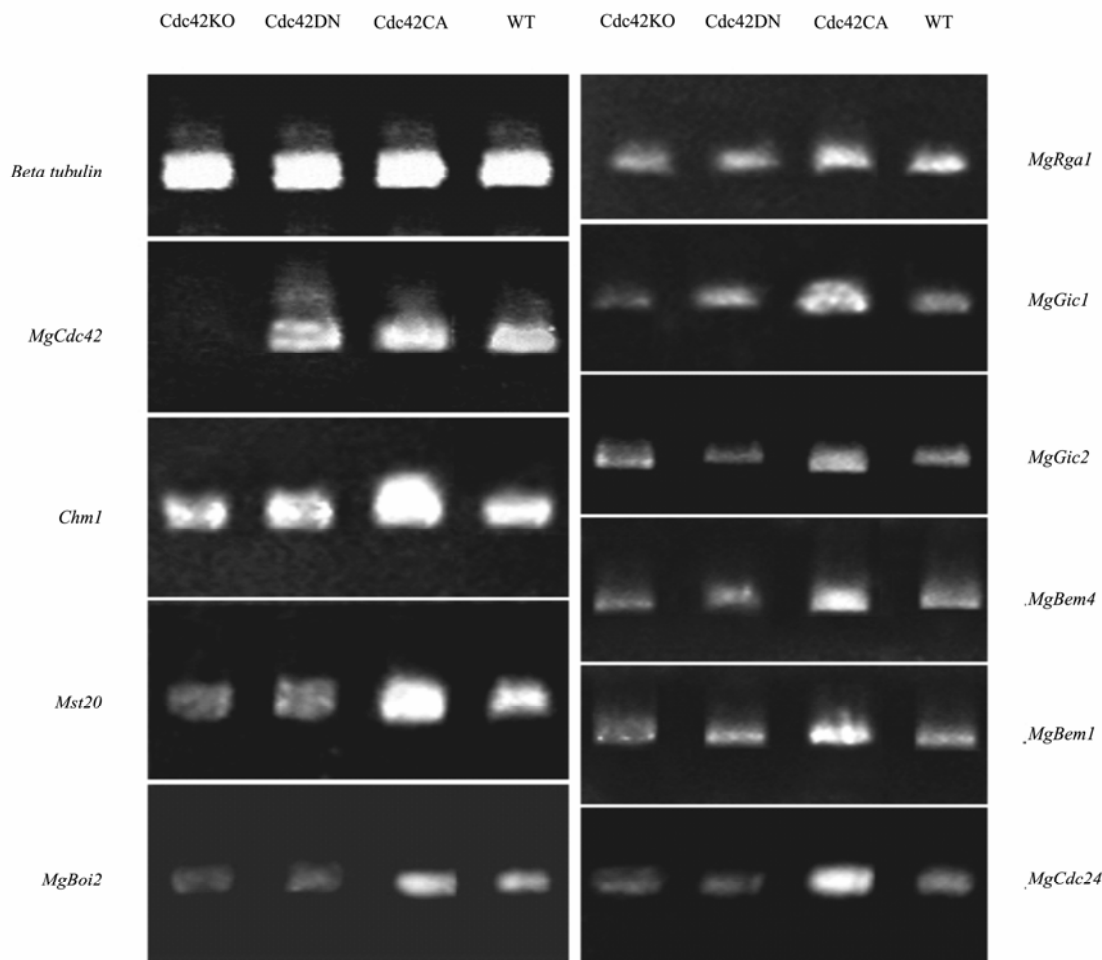


图 2 稻瘟菌 MgCdc42 可能调控蛋白和效应蛋白的表达情况

Fig.2 The encoding gene expression patterns of MgCdc42 putative regulators and effectors in *M. grisea*

些推测的互作蛋白编码基因的表达完全受到抑制,说明稻瘟菌中应存在功能冗余蛋白,而与这些蛋白共同互作。基因组分析结果证实了稻瘟菌还有其它 6 个 Rho 族蛋白。*MgCdc42* 正显性激活导致了所有其推测互作蛋白编码基因表达量提高,这可能是稻瘟菌中这些推测的互作蛋白与 GTP 结合态的 MgCdc42 互作而导致表达量提高。但 *MgCdc24* 作为酵母 *Cdc24* 之同源基因,在 *MgCdc42* 正显性激活时表达量也随之增高。因为在酵母中 *Cdc24* 是与 *Cdc42*-GDP 结合态互作<sup>[20]</sup>。此外,研究还发现 *MgCdc42* 负显性失活,也未能引起 *MgCdc24* 的表达量提高,更进一步表明 *MgCdc24* 与酵母 *Cdc24* 功能可能不同。*Chm1* 及 *MgGic1* 的表达量未因 *MgCdc42* 的负显性失活而发生变化,说明还有其它 Rho 族蛋白与之互作。在酵母中,除 *Cdc42* 与其互作蛋白存在直接互作外,*Cdc42* 还调

控了这些调控蛋白与效应蛋白之间的互作,如 *Rga1* 与 *Gic2* 间的互作等<sup>[20]</sup>。因而稻瘟菌中应当也存在类似关系,而使 *Cdc42* 网络中蛋白互作关系变得更为复杂。此外,虽然酵母与稻瘟菌同属于囊菌,但稻瘟菌作为高等丝状子囊菌,预示进化出更为复杂的信号途径。因此,进一步通过酵母双杂交或免疫共沉淀技术分析 *MgCdc42* 蛋白互作的网络系统非常有必要。

## 4 结论

本研究通过基因表达分析证实了通过生物信息学方法分析所获得的相关蛋白与稻瘟病菌 *MgCdc42* 关系密切,这些蛋白可能为稻瘟病菌 *MgCdc42* 信号途径中的关键组分。

## References

- [1] Johnson D I, Pringle J R. Molecular characterization of CDC42, a *Saccharomyces cerevisiae* gene involved in the development of cell polarity. *The Journal of Cell Biology*, 1990, 111:143-152.
- [2] Adams A E, Johnson D I, Longnecker R M, Sloat B F, Pringle J R. CDC42 and CDC43, two additional genes involved in budding and the establishment of cell polarity in the yeast *Saccharomyces cerevisiae*. *The Journal of Cell Biology*, 1990, 111: 131-142.
- [3] Yang Z. Small GTPases versatile signaling switches in plants. *The Plant Cell*, 2002, 14:S375-S388.
- [4] Johnson, D. I. Cdc42: an essential rho-type GTPase controlling eukaryotic cell polarity. *Microbiology And Molecular Biology Reviews*, 1999, 63: 54-105.
- [5] Nelson W J. Mum, this bud's for you: where do you want it? Roles for Cdc42 in controlling bud site selection in *Saccharomyces cerevisiae*. *BioEssays*, 2003, 25: 833-836.
- [6] Caviston JP, Tcheperegine S E, Bi E. Singularity in budding: a role for the evolutionarily conserved small GTPase Cdc42p. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 2002, 99: 12185-12190.
- [7] Weber M, Salo V, Uuskallio M, Raudaskoski M. Ectopic expression of a constitutively active Cdc42 small GTPase alters the morphology of haploid and dikaryotic hyphae in the filamentous homobasidiomycete *Schizophyllum commune*. *Fungal Genetics and Biology*, 2005, 42: 624-637.
- [8] Gorfer M, Tarkka M T, Hanif M, Pardo A G, Laitiainen E, Raudaskoski M. Characterization of small GTPases Cdc42 and Rac and the relationship between Cdc42 and actin cytoskeleton in vegetative and ectomycorrhizal hyphae of *Suillus bovinus*. *Molecular Plant-Microbe Interactions*, 2001, 14: 135-144.
- [9] Ye X, Szanislo P J. Expression of a constitutively active Cdc42 homologue promotes development of sclerotic bodies but represses hyphal growth in the zoopathogenic fungus *Wangiella (Exophiala) dermatitidis*. *Journal of Bacteriology*, 2000, 182: 4941-4950.
- [10] Boyce K J, Hynes M J, Andrianopoulos A. The CDC42 homologue of the dimorphic fungus *Penicillium marneffe* is required for correct cell polarization during growth but not development. *Journal of Bacteriology*, 2001, 183: 3447-3457.
- [11] Scheffer J, Chen C, Heidrich P, Dickman M B, Tudzynski P. A CDC42 homologue in *Claviceps purpurea* is involved in vegetative differentiation and is essential for pathogenicity. *Eukaryotic Cell*, 2005, 4: 1228-1238.
- [12] Chen C, Ha Y S, Min J Y, Memmott S D, Dickman M B. Cdc42 is required for proper growth and development in the fungal pathogen *Colletotrichum trifolii*. *Eukaryotic Cell*, 2006, 5: 155-166.
- [13] Nobes C D, Hall A. Rho, rac, and cdc42 GTPases regulate the assembly of multimolecular focal complexes associated with actin stress fibers, lamellipodia, and filopodia. *Cell*, 1995, 81: 53-62.
- [14] Talbot N J. On the trail of a cereal killer: Exploring the biology of *Magnaporthe grisea*. *Annual Review of Microbiology*, 2003, 57: 177-202.
- [15] Xu J R, Staiger C J, Hamer J E. Inactivation of the mitogen-activated protein kinase Mps1 from the rice blast fungus prevents penetration of host cells but allows activation of plant defense responses. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 1998, 95: 12713-12718.
- [16] Li L, Xue C, Bruno K, Nishimura M, Xu J R. Two PAK kinase genes, CHM1 and MST20, have distinct functions in *Magnaporthe grisea*. *Molecular Plant-Microbe Interactions*, 2004, 17: 547-556.
- [17] Marcus S, Polverino A, Chang E, Robbins D, Cobb M H, Wigler M H. Shk1, a homolog of the *Saccharomyces cerevisiae* Ste20 and mammalian p65PAK protein kinases, is a component of a Ras/Cdc42 signaling module in the fission yeast *Schizosaccharomyces pombe*. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 1995, 92: 6180-6184.
- [18] Raitt D C, Posas F, Saito H. Yeast Cdc42 GTPase and Ste20 PAK-like kinase regulate Sho1-dependent activation of the Hog1 MAPK pathway. *The EMBO Journal*, 2000, 19: 4623-4631.
- [19] Ash J, Wu C, Larocque R, Jamal M, Stevens W, Osborne M, Thomas D Y, Whiteway M. Genetic analysis of the interface between Cdc42p and the CRIB domain of Ste20p in *Saccharomyces cerevisiae*. *Genetics*, 2003, 163: 9-20.
- [20] Drees B L, Sundin B, Brazeau E, Caviston J P, Chen G C, Guo W, Kozminski K G, Lau M W, Moskow J J, Tong A, Schenkman L R, McKenzie A 3rd, Brennwald P, Longtine M, Bi E, Chan C, Novick P, Boone C, Pringle J R, Davis T N, Fields S, Drubin D G. A protein interaction map for cell polarity development. *The Journal of Cell Biology*, 2001, 154: 549-571.
- [21] 萨姆布鲁克 J, 拉塞尔 D W. 分子克隆实验指南(第三版). 北京: 科学出版社, 2002: 540-544.
- Sambrook J, Russell D W. *Molecular Cloning: A Laboratory Manual* (3<sup>rd</sup> edition). Beijing: Science Press, 2002: 540-544. (in Chinese)

(责任编辑 王红艳)