

韩长志. 全基因组预测希金斯炭疽菌中碳水化合物酶类蛋白[J]. 江苏农业科学, 2017, 45(2): 24-28.
doi:10. 15889/j. issn. 1002-1302. 2017. 02. 006

全基因组预测希金斯炭疽菌中碳水化合物酶类蛋白

韩长志

(西南林业大学林学院/云南省森林灾害预警与控制重点实验室, 云南昆明 650224)

摘要:希金斯炭疽菌侵染菜心等十字花科植物引起的炭疽病, 给各国农业生产造成了巨大的经济损失。基于前期研究结果, 以 658 个分泌蛋白为基础序列, 利用 CAZymes Analysis Toolkit 预测程序, 分析上述蛋白中的碳水化合物酶类(CAZymes)蛋白, 明确该菌中含有 238 个 CAZymes, 分为主要类别和复合类别 2 类, 前者包括 75 个糖苷水解酶(GHs)、48 个碳水化合物结合结构(CBMs)、33 个辅助酶类家族(AAs)、30 个碳水化合物酯酶(CEs)、23 个多糖裂解酶(PLs)、4 个糖基转移酶(GTs), 后者则包括 17 个 GHs/CBMs、4 个 AAs/CBMs、4 个 CE/CBMs 等。研究结果可为深入开展该病菌侵染植物作用机制的研究提供一定的理论基础。

关键词:希金斯炭疽菌; 碳水化合物酶类蛋白; 预测程序; 全基因组预测

中图分类号: S432.4⁺4 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2017)02-0024-04

碳水化合物酶类(carbohydrate-active enzymes, 简称 CAZymes)是植物病原菌侵染过程中突破寄主细胞第一道屏障——细胞壁的关键因素^[1]。同时, 对不同营养类型的植物病原真菌进行分析, 可以明确非活体营养型病原菌基因组较活体营养型编码更多的 CAZymes^[2]。随着大量植物病原菌基因组测序的完成, 近些年关于 CAZymes 的研究进展较快^[3]。根据最新研究成果, 以涵盖木质纤维素降解所需要的相关酶类进行分类, 主要涉及以下 6 类: 糖苷水解酶(glycoside hydrolases, 简称 GHs)^[4]、糖基转移酶(glycosyl transferases, 简称 GTs)^[5]、多糖裂解酶(polysaccharide lyases, 简称 PLs)^[6]、碳水化合物酯酶(carbohydrate esterases, 简称 CEs)^[6]、辅助酶类家族(auxiliary activities, 简称 AAs)^[7]以及碳水化合物结合结构(carbohydrate-binding modules, 简称 CBMs)^[8]。

希金斯炭疽菌(*Colletotrichum higginsanum* Sacc.)作为半活体营养型植物病原菌, 可以侵染菜心、白菜、羽衣甘蓝、大白菜、萝卜、结球甘蓝等十字花科蔬菜引起炭疽病^[9-10], 是农业生产上较为严重的病害之一^[11]。国内外学者对其生物学特性、生防菌筛选以及遗传转化^[12]、致病基因^[13-14]、转化子的突变体库建立^[15-16]、防治^[17]、丝裂原活化蛋白激酶(MAPK)级联信号通路绘制^[18]、以及 G 蛋白信号调控因子(RGS)^[19]、磷脂酰肌醇转移蛋白(PI3P)^[20]、G 蛋白偶联受体(GPCR)^[21]、腺苷酸环化酶及其相关蛋白^[22-23]、14-3-3^[24]、胞裂蛋白(septin)^[25]、磷酸二酯酶(PDE)^[26]等在内的诸多蛋白进行了生物信息学分析。

本研究基于前期所获得的希金斯炭疽菌中 658 个分泌蛋白, 利用 CAZymes Analysis Toolkit(CAT)预测工具明确该菌中 CAZymes 不同亚家族的分布情况, 以期为进一步开展其功能研究打下坚实的基础。

1 材料与与方法

1.1 希金斯炭疽菌分泌蛋白序列来源

希金斯炭疽菌分泌蛋白, 来自笔者在前期研究中获得的 658 个分泌蛋白^[27]。

1.2 CAZymes 预测

利用在线工具 CAZymes Analysis Toolkit^[28]进行预测。

2 结果与分析

2.1 希金斯炭疽菌中含有的 CAZymes

通过 CAT 分析, 明确希金斯炭疽菌中共含有 238 个 CAZymes, 其中 GHs 含量较高, 所占比例为 31.51%; 其后依次为 CBMs、AAs、CEs、PLs、GTs, 所占比例分别为 20.17%、13.87%、12.61%、9.66%、1.68% (图 1)。此外, 在上述 CAZymes 的预测中, 不仅具有单一的酶类型, 而且有部分蛋白同属于 2 种酶的类型, 涉及 GHs/CBMs、AAs/CBMs、CEs/CBMs 等(图 1)。由于 CAZymes 分类系统的理论基础是建立在氨基酸序列的相似性上, 不同蛋白具有不同的结构折

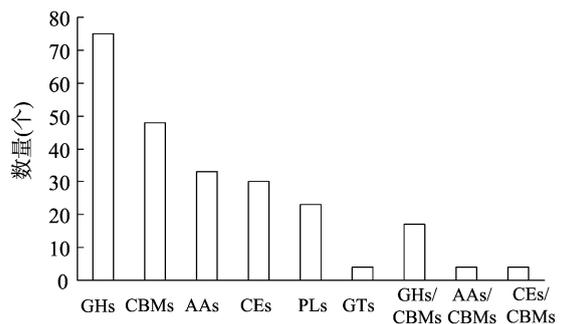


图1 希金斯炭疽菌中不同类别 CAZymes 的分布情况

收稿日期: 2015-12-16

基金项目: 国家自然科学基金(编号: 31560211); 云南省森林灾害预警与控制重点实验室开放基金(编号: ZK150004); 云南省优势特色重点学科生物学一级学科建设项目(编号: 50097505); 云南省高校林下生物资源保护及利用科技创新团队(编号: 2014015)。

作者简介: 韩长志(1981—), 男, 河北石家庄人, 博士, 副教授, 研究方向为经济林木病害生物防治与真菌分子生物学。E-mail: hanchangzhi2010@163.com。

叠类型,因此,对于同一蛋白具有不同酶类型的情况,推测病原菌在侵染植物过程中上述酶所发挥的功能具有较多特性。

2.2 希金斯炭疽菌中含有的 GHs

通过对上述糖基水解酶进行分析,发现 GH28 中蛋白数量较多,为 9 个,其次为 GH16,数量为 7 个(表 1)。值得关注

的是,GH105、GH128、GH132、GH20、GH30 等类别的酶均只含有 1 个蛋白,推测希金斯炭疽菌侵染不同植物所利用的酶并不相同,也从分泌酶角度可以解释其寄主广泛的原因。然而,对于为什么有些酶类所含数量较多,而大多数所含数量较少,有待进一步研究。

表 1 希金斯炭疽菌中糖基水解酶分布情况

类别	序列号(ID)	数量(个)
GH10	CH063_06198、CH063_10354、CH063_10587、CH063_10781	4
GH105	CH063_06512	1
GH11	CH063_04649、CH063_11738	2
GH12	CH063_07236、CH063_11164	2
GH128	CH063_09943	1
GH131	CH063_01379、CH063_10510、CH063_11935	3
GH132	CH063_09013	1
GH16	CH063_01515、CH063_04321、CH063_06807、CH063_08906、CH063_09556、CH063_11562、CH063_12294	7
GH17	CH063_08156、CH063_11868、CH063_12934	3
GH18	CH063_00224、CH063_00541、CH063_00825、CH063_00936、CH063_02428、CH063_06886	6
GH20	CH063_08905	1
GH28	CH063_02692、CH063_05994、CH063_08202、CH063_08310、CH063_08911、CH063_09817、CH063_12781、CH063_14007、CH063_15598	9
GH3	CH063_07876、CH063_08006、CH063_08712	3
GH30	CH063_00184	1
GH31	CH063_02948	1
GH35	CH063_05430、CH063_09400	2
GH37	CH063_06734	1
GH43	CH063_00593、CH063_03076、CH063_05163、CH063_06789、CH063_08179、CH063_10386	6
GH47	CH063_11810	1
GH5	CH063_08902	1
GH53	CH063_04275	1
GH55	CH063_04323、CH063_11041	2
GH6	CH063_09437	1
GH62	CH063_12282	1
GH63	CH063_07420	1
GH67	CH063_00845	1
GH7	CH063_00249、CH063_04314、CH063_07251、CH063_12008	4
GH76	CH063_04035、CH063_04691、CH063_06929、CH063_11328	4
GH78	CH063_10402	1
GH79	CH063_11449	1
GH92	CH063_00263	1
GH93	CH063_05429	1
合计		75

注:ID 来自 Broad 数据库。下表同。

2.3 希金斯炭疽菌中含有的 CBMs

通过对碳水化合物结合结构蛋白进行分析,发现 CBM50 数量最多,为 18 个,其次为 CBM13,数量为 10 个,上述蛋白所占比例为 58.33%;此外,还涉及 CBM1、CBM2、CBM3、CBM5、CBM12、CBM32、CBM63、CBM67 等类别蛋白(表 2)。值得关注的是,CH063_04845 属于 CBM10/CBM2 类别,是 CZAymes 酶类主要类别中存在的唯一 1 个 CBM 蛋白,推测它在发挥 CBM 功能方面具有特殊性。因此,对于该蛋白有待于开展更为细致的工作,以期解释它们与其他蛋白之间的差别。

2.4 希金斯炭疽菌中含有的 AAs

通过对辅助酶家族进行分析,发现 AA9 数量较多,为 12 个,其次为 AA7,为 6 个,上述蛋白所占比例为 54.55%;此

外,还涉及 AA1、AA2、AA3、AA5 等类别蛋白(表 3)。该类蛋白作为近些年新分类蛋白,具有重要的生物学功能,因此,有待于开展后续生物学研究,从而更好地解析该类蛋白的功能。

2.5 希金斯炭疽菌中含有的 CEs

通过对碳水化合物酯酶蛋白进行分析,发现 CE5、CE10 数量较多,均为 9 个,其次为 CE1,数量为 3 个,上述蛋白所占比例为 70.00%;此外,还涉及 CE3、CE4、CE6、CE8、CE10 等类别蛋白(表 4)。

2.6 希金斯炭疽菌中含有的 PLs

通过对多糖裂解酶蛋白进行分析,发现 PL1 数量较多,为 10 个,其次为 PL3,数量为 8 个,上述蛋白所占比例为 78.26%;此外,还涉及 PL4、PL9 等类别蛋白,其数量较少(表 5)。

表2 希金斯炭疽菌中碳水化合物绑定结构分布情况

类别	序列号(ID)	数量(个)
CBM1	CH063_03600、CH063_05743	2
CBM10/ CBM2	CH063_04845	1
CBM12	CH063_03170、CH063_09702、CH063_15248	3
CBM13	CH063_01272、CH063_01323、CH063_03060、CH063_05294、CH063_05474、CH063_09340、CH063_10680、CH063_12969、CH063_14986、CH063_15391	10
CBM18	CH063_11773	1
CBM2	CH063_00266、CH063_04129、CH063_09019	3
CBM3	CH063_07792	1
CBM32	CH063_04834	1
CBM5	CH063_03799、CH063_05244、CH063_07969、CH063_14188	4
CBM50	CH063_00259、CH063_04445、CH063_05673、CH063_05905、CH063_06338、CH063_06824、CH063_07550、CH063_08085、CH063_08494、CH063_09424、CH063_10183、CH063_11930、CH063_12670、CH063_12722、CH063_13023、CH063_13519、CH063_13607、CH063_15796	18
CBM52	CH063_10272	1
CBM63	CH063_04336、CH063_08788	2
CBM67	CH063_04288	1
合计		48

表3 希金斯炭疽菌中辅助酶类家族分布情况

类别	序列号(ID)	数量(个)
AA1	CH063_05571、CH063_06775、CH063_09677	3
AA2	CH063_00654、CH063_07077、CH063_12543	3
AA3	CH063_02856、CH063_03333、CH063_07482、CH063_08007、CH063_09712	5
AA5	CH063_00752、CH063_05952、CH063_12820、CH063_13642	4
AA7	CH063_00732、CH063_00765、CH063_01837、CH063_05663、CH063_06416、CH063_08888	6
AA9	CH063_00478、CH063_02022、CH063_02187、CH063_02758、CH063_03856、CH063_04014、CH063_04369、CH063_04370、CH063_05160、CH063_08100、CH063_10618、CH063_15103	12
合计		33

表4 希金斯炭疽菌中碳水化合物酯酶的分布情况

类别	序列号(ID)	数量(个)
CE1	CH063_06088、CH063_12940、CH063_15712	3
CE10	CH063_01069、CH063_02000、CH063_07654、CH063_09144、CH063_09860、CH063_09962、CH063_10884、CH063_12149、CH063_13223	9
CE12	CH063_11746	1
CE16	CH063_04032、CH063_07483	2
CE3	CH063_06832	1
CE4	CH063_02920、CH063_13276	2
CE5	CH063_01858、CH063_02422、CH063_02983、CH063_04492、CH063_05840、CH063_07824、CH063_08944、CH063_11700、CH063_13676	9
CE6	CH063_08593	1
CE8	CH063_07984、CH063_15550	2
合计		30

表5 希金斯炭疽菌中多糖裂解酶的分布情况

类别	序列号(ID)	数量(个)
PL1	CH063_00353、CH063_00891、CH063_01213、CH063_02546、CH063_06211、CH063_06748、CH063_09965、CH063_11170、CH063_14797、CH063_15171	10
PL3	CH063_02303、CH063_03488、CH063_04079、CH063_07368、CH063_07889、CH063_10727、CH063_13381、CH063_14446	8
PL4	CH063_00338、CH063_04643	2
PL9	CH063_03761、CH063_04844、CH063_06129	3
合计		23

表6 希金斯炭疽菌中糖基转移酶的分布情况

类别	序列号(ID)	数量(个)
GT2	CH063_00779	1
GT8	CH063_11721	1
GT22	CH063_11413	1
GT34	CH063_15057	1
合计		4

2.7 希金斯炭疽菌中含有的 GTs

通过对糖基转移酶蛋白进行分析,发现仅包含 GT2、GT8、GT22、GT34 等 4 个蛋白,其 ID 分别为 CH063_00779、CH063_11721、CH063_11413、CH063_15057(表 6)。与其他酶类进行比较,该酶类较少,推测它们在希金斯炭疽菌危害植物过程中发挥着特有功能。

2.8 希金斯炭疽菌中含有的复合类别蛋白

通过对希金斯炭疽菌中 CAZymes 进行分析,发现除含有典型的 GHs、CBMs、AAs、CEs、GTs 以外,还含有一些复合类别的蛋白,涉及 GHs/CBMs、AAs/CBMs、CEs/CBMs 等 3 类,尤以 GHs/CBMs 类别中的蛋白数量居多,为 17 个,所占比例高达

68.00% (表 7)。上述复合类别的蛋白所具有的具体类别呈 发挥着多种功能。 现出多样性特点,推测它们在希金斯炭疽菌危害植物过程中

表 7 希金斯炭疽菌中复合类别蛋白的分布情况

类别	具体类别	序列号 (ID)	数量 (个)
GHs/CBMs	GH18/CBM18	CH063_13923	1
	GH15/CBM20	CH063_03185	1
	GH71/CBM24	CH063_05460	1
	GH16/CBM6	CH063_01916、CH063_06605	2
	GH10/CBM1	CH063_15707	1
	GH26/CBM35	CH063_10481	1
	GH43/CBM35	CH063_02947、CH063_11854、CH063_14945	3
	GH5/CBM1	CH063_07451、CH063_08036、CH063_11000	3
	GH6/CBM1	CH063_05476、CH063_06629	2
	GH7/CBM1	CH063_14737	1
	GH18/CBM50/CBM18	CH063_08081	1
AAs/CBMs	AA9/CBM1	CH063_13231	1
	AA9/CBM18	CH063_05724	1
	AA5/CBM32	CH063_00655、CH063_01926	2
CEs/CBMs	CE4/CBM18	CH063_01681、CH063_05487、CH063_14379、CH063_14486	4
合计			25

3 讨论与结论

随着希金斯炭疽菌全基因组序列的释放^[29],学术界对其致病因子开展了大量研究。本研究结果与前人报道^[29]不仅在 CAZymes 总数量方面有所差别,而且在具体的酶类别数量方面也有一定的差别。究其原因,就总数量而言,由于本研究所依赖的蛋白属于前期通过生物信息学分析所获得的分泌蛋白;在数量统计方面,以 CAZymes 主要类别和复合类别分别进行的统计,使得归属类别方面存在一定的差异,若将复合类别中的 CAZymes 分别归属到主要类别中,那么总的数量为 263 个,当然该统计存在 25 个重复蛋白;此外,就不同类别中 CAZymes 数量而言,按照上述统计方法,本研究所获得 GHs、GTs、CBMs、CEs、PLs 以及 AAs 则分别含有 75、4、48、30、23、33 个。可以发现,本研究所获得 GHs 数量明显少于前人所报道的 361 个^[29],原因尚不明确,有待于进一步研究。前人所开展的研究中 CAZymes 的具体类别有 5 个^[29],而最新的分类类别有 6 个,造成具体不同类别分项数量方面的差异。

本研究基于前期通过全基因组序列预测所获得的分泌蛋白,利用现有在线工具所获得的 CAZymes 是否为希金斯炭疽菌中的全部,均有待于进一步开展试验进行验证。在数量方面,O'Connell 等报道为 689 个^[29],该报道的数量远远高于本研究结果,就每一类中的数量报道也有不同,原因也有待于进一步明确。

前期明确希金斯炭疽菌中含有 658 个分泌蛋白,本研究利用 CAT 在线预测程序,明确该菌中含有 238 个 CAZymes,分为主要类别和复合类别 2 类,前者包括 75 个 GHs、48 个 CBMs、33 个 AAs、30 个 CEs、23 个 PLs、4 个 GTs;后者则包括 17 个 GHs/CBMs、4 个 AAs/CBMs、4 个 CEs/CBMs 等。本研究为深入开展希金斯炭疽菌中 CAZymes 的功能研究以及进一步找寻新的药剂作用靶标打下了一定的理论基础。

参考文献:

[1] van den Brink J, de Vries R P. Fungal enzyme sets for plant polysac-

charide degradation [J]. Applied Microbiology and Biotechnology, 2011, 91 (6): 1477 - 1492.

- [2] 陈相永, 陈捷胤, 肖红利, 等. 植物病原真菌寄生性与分泌蛋白组 CAZymes 的比较分析 [J]. 植物病理学报, 2014, 44 (2): 163 - 172.
- [3] Lombard V, Ramulu H G, Drula E, et al. The carbohydrate - active enzymes database (CAZy) in 2013 [J]. Nucleic Acids Research, 2014, 42: D490 - D495.
- [4] Bourne Y, Henrissat B. Glycoside hydrolases and glycosyltransferases: families and functional modules [J]. Current Opinion in Structural Biology, 2001, 11 (5): 593 - 600.
- [5] Campbell J A, Davies G J, Bulone V, et al. A classification of nucleotide - diphospho - sugar glycosyltransferases based on amino acid sequence similarities [J]. Biochemical Journal, 1998, 329 (3): 939 - 941.
- [6] Lombard V, Bernard T, Rancurel C, et al. A hierarchical classification of polysaccharide lyases for glycogenomics [J]. Biochemical Journal, 2010, 432 (3): 437 - 444.
- [7] Levasseur A, Drula E, Lombard V, et al. Expansion of the enzymatic repertoire of the CAZy database to integrate auxiliary redox enzymes [J]. Biotechnology for Biofuels, 2013, 6 (1): 1 - 14.
- [8] Boraston A B, Bolam D N, Gilbert H J, et al. Carbohydrate - binding modules: fine - tuning polysaccharide recognition [J]. Biochemical Journal, 2004, 382 (3): 769 - 81.
- [9] 沈瑞清, 张 萍, 郭成瑾, 等. 宁夏炭疽菌属真菌资源研究 [J]. 河南农业科学, 2012, 41 (5): 100 - 102.
- [10] Hyde K D, Cai L, Cannon P F, et al. Colletotrichum - names in current use [J]. Fungal Diversity, 2009, 39 (1): 147 - 182.
- [11] 卢博彬, 杨 暹. 菜心炭疽病研究进展 [J]. 长江蔬菜, 2009 (24): 1 - 5.
- [12] 况福元, 吴小丽, 吕凤青, 等. 菜心炭疽病菌拮抗细菌的筛选及鉴定 [J]. 微生物学通报, 2009, 32 (9): 1350 - 1355.
- [13] Huser A, Takahara H, Schmalenbach W, et al. Discovery of pathogenicity genes in the crucifer anthracnose fungus *Colletotrichum higginsianum*, using random insertional mutagenesis [J]. Molecular Plant - Microbe Interactions, 2009, 22 (2): 143 - 156.

陈国梁,田瑞康,赵康,等. 一步 PCR 法融合狗头枣 *ACO I* 基因片段[J]. 江苏农业科学,2017,45(2):28-30.
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2017.02.007

一步 PCR 法融合狗头枣 *ACO I* 基因片段

陈国梁,田瑞康,赵康,杨成成,安鹏,张向前
(延安大学生命科学学院/陕西省红枣重点实验室,陕西延安 716000)

摘要:以狗头枣 *ACO I* 基因外显子 III 和 IV 的部分序列为靶标序列,采用一步 PCR 法对其进行融合扩增。经与 T 载体连接、测序。结果表明:经一步 PCR 法扩增到大小为 589 bp 的融合基因片段,经序列比对,其与 *ACO I* 外显子 III 和 IV 序列一致性为 100%。表明在一个 PCR 反应体系中通过 4 引物一次性扩增可获得融合基因,该方法是一种简便、经济、有效的融合基因构建方法。

关键词:狗头枣;*ACO I* 基因;一步 PCR 法

中图分类号:Q786 **文献标志码:**A **文章编号:**1002-1302(2017)02-0028-03

乙烯是植物主要内源激素之一,对植物的生长发育特别是果实成熟和衰老过程的调节有重要作用,是公认的果实成熟激素^[1-6]。在果实的成熟过程中,乙烯的大量生成会提高与果实成熟有关酶的活性,进而促进果实的成熟^[5-14]。ACC 氧化酶(1-aminocyclopropane-1-carboxylic acid oxidase, ACO)是植物中乙烯生物合成途径的关键酶之一,可直接催化 ACC 转变为乙烯^[3,5]。鉴于乙烯生物合成相关基因在调控

果品成熟及衰老方面的重要作用,采用生物技术对该基因调控,以便在基因水平上控制 *ACO* 的表达,则有可能从根本上解决果实延熟、抗衰老等问题。该研究选择了狗头枣 *ACO I* 基因外显子 III 及 IV 的部分基因片段^[15],通过一步 PCR 法将其融合,用于 RNAi 的植物表达载体的构建,为调控红枣 *ACO I* 基因的表达来延缓枣果的成熟,为延熟、耐储红枣新品种的培育奠定基础。

收稿日期:2015-12-11

基金项目:陕西省重点实验室项目(编号:15JS123);延安市农业攻关项目(编号:2011kn-09);延安大学高水平大学建设项目(编号:2012SXTS06);延安大学校级科研项目(编号:YDZ2012-12、YD2014-01);地方高校国家级大学生创新训练计划(编号:201410719041)。

作者简介:陈国梁(1974—),男,陕西定边人,副教授,硕士生导师,研究方向为植物生物技术。E-mail:glc9359@163.com。

1 材料与amp;方法

1.1 菌株、质粒及试剂

菌株 *E. coli* DH5 α 、质粒 pGM-TACC I(含 *ACO I* 基因)均为笔者所在课题组保存,DNA 回收试剂盒、*Taq* DNA Polymerase、限制性内切酶等购自 TaKaRa 公司,DNA Marker 购自天为时代公司,其他试剂均为进口或国产分析纯,PCR 引物合成和 DNA 测序由上海生工生物技术有限公司完成。

[14] Ushimaru T, Terada H, Tsuboi K, et al. Development of an efficient gene targeting system in *Colletotrichum higginsianum* using a non-homologous end-joining mutant and *Agrobacterium tumefaciens*-mediated gene transfer[J]. *Molecular Genetics and Genomics*, 2010, 284(5):357-371.

[15] 周鹏. 希金斯刺盘孢 T-DNA 插入体库的构建、筛选及相关突变体基因的克隆[D]. 武汉:华中农业大学,2011.

[16] 赵典. 希金斯刺盘孢 T-DNA 插入体库的筛选及相关突变体基因的克隆[D]. 武汉:华中农业大学,2012.

[17] 郭巨先,刘玉涛,杨暹. 钾营养对菜薹(菜心)炭疽病发生和植株防御酶活性的影响[J]. *中国蔬菜*, 2012(14):86-89.

[18] 林春花,蔡志英,黄贵修. 全基因组法绘制禾谷炭疽菌和希金斯炭疽菌中 MAPK 级联信号途径简图[J]. *热带作物学报*, 2012, 33(4):674-680.

[19] 韩长志. 希金斯炭疽菌 RGS 蛋白生物信息学分析[J]. *生物技术*, 2014, 49(1):36-41.

[20] 韩长志. 希金斯炭疽菌 P1TP 生物信息学分析[J]. *湖北农业科学*, 2015, 54(3):713-716.

[21] 韩长志. 希金斯炭疽菌 GPCR 蛋白生物信息学分析[J]. *华中师范大学学报(自然科学版)*, 2015(2):246-251.

[22] 韩长志. 希金斯炭疽菌腺苷酸环化酶生物信息学分析[J]. *湖北农业科学*, 2014, 53(20):4992-4996.

[23] 韩长志. 希金斯炭疽菌腺苷酸环化酶相关蛋白生物信息学分析[J]. *生物技术*, 2014, 53(6):4992-4996.

[24] 韩长志. 希金斯炭疽菌 14-3-3 蛋白质生物信息学分析[J]. *湖北农业科学*, 2014, 53(15):3669-3672.

[25] 韩长志. 希金斯炭疽菌中 5 个典型 Septin 的生物信息学分析[J]. *河南农业科学*, 2014, 43(8):91-96.

[26] 韩长志. 希金斯炭疽菌磷酸二酯酶生物信息学分析[J]. *科学技术与工程*, 2014, 14(27):163-167.

[27] 韩长志. 全基因组预测希金斯炭疽菌的候选效应分子[J]. *生物技术*, 2015, 25(6):546-551.

[28] Park B H, Karpinetes T V, Syed M H, et al. CAZymes Analysis Toolkit (CAT): web service for searching and analyzing carbohydrate-active enzymes in a newly sequenced organism using CAZy database[J]. *Glycobiology*, 2010, 20(12):1574-1584.

[29] O'Connell R J, Thon M R, Hacquard S, et al. Lifestyle transitions in plant pathogenic *Colletotrichum* fungi deciphered by genome and transcriptome analyses[J]. *Nature Genetics*, 2012, 44(9):1060-1065.