

张蕾,艾嘉,韩毅强,等.大豆疫霉细胞周期蛋白依赖性蛋白激酶的生物信息分析[J].江苏农业科学,2018,46(4):33-37.
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2018.04.007

大豆疫霉细胞周期蛋白依赖性蛋白激酶的生物信息分析

张蕾,艾嘉,韩毅强,王彦杰,晏磊,高亚梅,王伟东

(黑龙江八一农垦大学生命科学技术学院,黑龙江大庆 163319)

摘要:细胞周期蛋白依赖性蛋白激酶(cyclin-dependent kinases, CDK)是调控细胞周期蛋白、维持细胞周期有序进行的关键蛋白。利用生物信息学方法在大豆疫霉基因组内共发现 11 个 CDK 家族蛋白,其中大豆疫霉 psCdc2 与勃利霉素抑制作用靶标的酵母 Cdc28 高度同源,位于进化树的同一分支,且两者蛋白的保守结构域高度相似。大豆疫霉的 psCdc2 为表达基因,其蛋白分子量为 35 478 u,等电点为 8.56 的稳定存在的蛋白,无信号肽,为 α/β 型蛋白。与酵母 Cdc28 基因存在相互作用的 10 个蛋白在大豆疫霉基因组内全部找到其同源蛋白,说明大豆疫霉内可能存在类似的蛋白相互作用网络。

关键词:细胞周期蛋白依赖性蛋白激酶;酵母 Cdc28 基因;大豆疫霉 psCdc2;生物信息学分析

中图分类号: Q555⁺.7 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2018)04-0033-04

卵菌是色菌界(Chromista)中一类二倍体真核微生物,包括许多重要的植物病原菌^[1]。卵菌的寄生范围很广,其中包括蔬菜、果树、中药材、花卉、棉、麻、油料等重要经济作物。由卵菌引起的植物病害大多难以控制,尤其是霜霉菌(霜霉病)和疫霉菌(疫病)潜伏期短,再侵染次数多,常暴发流行而导致损失严重^[2]。卵菌在进化上与真菌相差很远,进化上的差异使得疫霉菌拥有一套与其他真菌不同的致病机制,多数杀菌剂对植物疫病无效。大豆疫霉属(*Phytophthora sojae*)属于卵菌门的疫霉菌属,是大豆根腐病的主要病原菌之一,能在任何一个时间点使大豆染病,包括大豆的种子发育期。尽管包括大豆疫霉在内已有多个疫霉菌完成了基因组测序,但疫霉菌遗传转化困难,对疫霉菌与植物互作以及致病机理、基因功能等的研究进展缓慢^[3]。

细胞周期蛋白依赖性激酶(cyclin-dependent kinases, CDK),是一类丝氨酸/苏氨酸激酶,其 ATP 结合口袋位于较短的 N 端(β 片层)和较长的 C 端(α -螺旋)之间的“叶状”深裂,调控 ATP 或底物与细胞周期蛋白依赖性激酶的特异性结合^[4]。细胞周期蛋白(cyclin)属于细胞周期的正调控蛋白,具有组织特异性和种属特异性^[5]。CDK 与细胞周期蛋白以非共价键结合形成复合物,并通过调节细胞周期蛋白的表达和降解,参与酶的调节并维持细胞周期有序进行,其中 CDK 为催化亚基,细胞周期蛋白为调控亚基。不同的细胞周

期蛋白-CDK 复合物具有不同的生物学功能,并通过 CDK 的底物磷酸化,实现对细胞周期不同时期的推进和转化^[6-7]。完整的细胞周期过程受多种蛋白酶的调控,在动物细胞中,调控失调则会导致细胞过度增殖引发肿瘤,而通过抑制 CDK 的活性则可以抑制细胞的增殖^[8]。目前,已经筛选到了很多 CDK 的抑制剂。在酵母的研究中发现,勃利霉素可以抑制 Cdc28^[9]。大豆疫霉同样受勃利霉素的强烈抑制,但勃利霉素是否影响其 CDK 蛋白还不清楚。

本研究利用生物信息学方法对大豆疫霉细胞周期蛋白依赖性蛋白激酶进行分析,为大豆疫霉细胞周期蛋白依赖性蛋白激酶更加深入的功能研究及其抑制剂的筛选提供基础。

1 材料与方法

1.1 大豆疫霉基因组内 CDK 蛋白搜索

利用 CDK 蛋白的保守结构域在大豆疫霉基因组数据 Joint Genome Institute *Phytophthora sojae* database v. 1.1 进行序列比对分析,筛选获得大豆疫霉基因组包含的 CDK 蛋白,在蛋白激酶数据库 kinase.com 利用 BLAST 程序分析确定其所属类型,对其进行分类。

1.2 大豆疫霉 psCdc2 与酵母 Cdc28 同源性分析

所有预测到的细胞周期蛋白依赖性蛋白激酶与酵母的细胞周期蛋白依赖性蛋白激酶 Cdc28 蛋白质序列的氨基酸序列用 MEGA^[10]进行系统进化树的构建,建树方法采用邻接法(neighbor-joining method)。系统进化关系的稳健性通过 1 000 次自举法检验。将蛋白序列提交到 CDD^[11]进行保守区域预测,并预测其功能活性位点。将与酵母 Cdc28 高度同源的基因的转录序列提交到疫霉数据库的 BLAST 程序,数据库选择为 SANGER EST,搜索 EST 序列。

1.3 大豆疫霉细胞周期依赖性蛋白激酶 psCdc2 的生物信息分析

在 ExPasy 网站(www.expasy.org)利用 ProtParam 分析大

收稿日期:2017-05-05

基金项目:国家自然科学基金(编号:31301708);黑龙江省自然科学基金(编号:QC2013C027);黑龙江八一农垦大学博士启动项目(编号:XDB2014-14)。

作者简介:张蕾(1993—),女,黑龙江齐齐哈尔人,硕士,主要从事微生物分子生物学研究。E-mail:zhanglei1198815754@126.com。
通信作者:王伟东,博士,教授,主要从事微生物分子生态学, E-mail:wwdcy@126.com;高亚梅,博士,副教授,主要从事生物技术
与生物信息学研究与教学工作, E-mail:gaoym800@126.com。

豆疫霉细胞周期依赖性蛋白激酶 psCdc2 蛋白的基本特征,提交序列后,参数默认进行分析。利用 ProtScale 程序分析蛋白质的亲疏水性,参数默认。利用 Signal P 程序^[12]分析该蛋白是否含有信号肽,在 organism group 选项中选择真核生物,其他参数默认。利用 TMHMM^[13] (<http://www.cbs.dtu.dk/services/TMHMM/>) 进行跨膜结构预测;利用 ProtComp^[14] (<http://www.softberry.com/berry.phtml?topic=protcompanion&group=programs&subgroup=proloc>) 进行亚细胞定位预测;利用 GOR4^[15] (https://npsa-prabi.ibcp.fr/cgi-bin/npsa_automat.pl?page=npsa_gor4.html) 预测该蛋白的二级结构。利用 Expasy 提供的 SWISSMODEL 软件对该蛋白的三维结构

进行了模拟,选择自动模拟。在 STRING 数据库^[16]利用酵母 Cdc28 蛋白进行搜索获得相互作用蛋白,在 NCBI 数据库获得其对应的核酸序列,利用 NCBI 的 BLASTN 在大豆疫霉基因组内进行相似性搜索,获得对应的同源蛋白。

2 结果与分析

2.1 大豆疫霉基因组内的细胞周期依赖性蛋白激酶

在大豆疫霉基因组共发现 11 个 CDK 家族蛋白,在蛋白激酶数据库对其进行分类,将其归为 CDC2、CDC7、CDC8、CRK7 等(表 1),对 CDK 蛋白保守序列分析表明其均为蛋白激酶超家族(PKc-like superfamily)。

表 1 大豆疫霉基因组内 CDK 家族蛋白

数据库登录号	长度	催化结构域质量	结构域	在 kinase.com 的相近家族
PHYSODRAFT_349530	431	ok	STKc_CDK9_like[cd07840]	CMGC/CDK/CRK7
PHYSODRAFT_250438	326	ok	STKc_CDK9_like[cd07840]	CMGC/CDK/CRK7
PHYSODRAFT_565400	305	ok	STKc_CDK7[cd07841]	CMGC/CDK/CDK7
PHYSODRAFT_298151	470	ok	Protein Kinases, catalytic domain cl09925	CMGC/CDK/CDK8
PHYSODRAFT_294535	891	bad	STKc_CDK_like[cd07829];CYCLIN[cd00043]	CMGC/CDK/CDC2
PHYSODRAFT_504089	298	ok	STKc_CCRK[cd07832]	CMGC/CDK
PHYSODRAFT_343073	847	bad	STKc_CDK9_like[cd07840]	CMGC/CDK/CRK7
PHYSODRAFT_565808	1 540	bad	STKc_CDK9_like[cd07840]	CMGC/CDK/CRK7
PHYSODRAFT_349235	297	ok	STKc_CDK_like[cd07829]	CMGC/CDK/CDC2
PHYSODRAFT_554092	296	ok	STKc_CDK_like[cd07829]	CMGC/CDK/CDC2
PHYSODRAFT_352011	309	ok	STKc_CDK1_like[cd07835]	CMGC/CDK/CDC2
PHYSODRAFT_506652	395	ok	STKc_CDC2L1[cd07843]	CMGC/CDK/PITSLRE

2.2 大豆疫霉的细胞周期蛋白依赖性蛋白激酶 Cdc28/Cln2 同源基因

大豆疫霉 psCdc2 (PHYSODRAFT_352011) 与酵母 Cdc28 高度同源,两者蛋白质序列的一致性百分比为 66%,相似性

百分比为 80%,在进化树的同一分支(图 1)。大豆疫霉基因组数据库对其进行初步注释,初级转录物长度 1 153 bp,编码区 CDS 为 930 bp,多肽链为 309 个氨基酸,基因包含 1 个内含子。

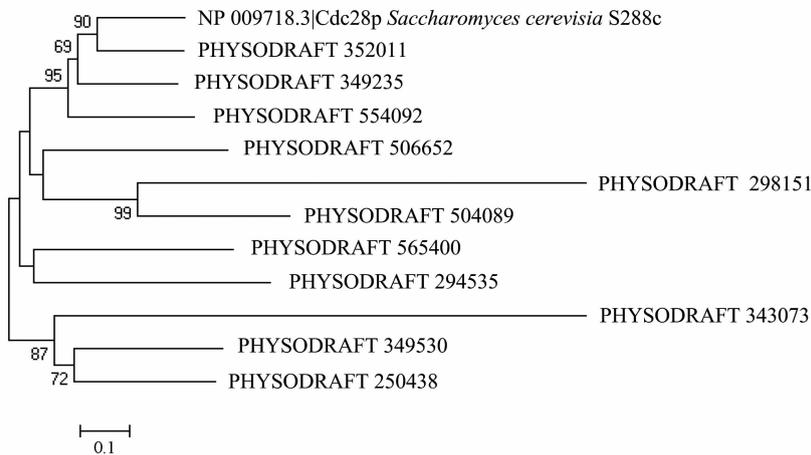


图 1 大豆疫霉 CDK 蛋白与酵母 Cdc28 蛋白的同源关系进化树

利用保守结构域分析大豆疫霉 psCdc2 (PHYSODRAFT_352011) 表明其包含特异性的细胞周期蛋白依赖性蛋白激酶的结构域(图 2),与酵母 Cdc28 蛋白的保守结构域高度相似。其主要的结构域是 STKc_CDK1_like,它包括其完成功能的活性位点:ATP 结合位点 17 个,分别为 V(10)G(11)E(12)G(13)A(31)K(33)V(65)F(81)E(82)F(83)V(84)D(87)R(90)Q(131)N(132)L(134)D(145);底物结合位点 27 个,分别为 I(11)G(12)E(13)G(14)V(19)A(32)K(34)R(51)

V(65)F(81)E(82)F(83)V(84)D(87)K(129)Q(131)N(132)L(134)D(145)L(148)T(160)E(162)V(163)T(165)W(167)G(205)D(206)。活性环(A-loop)包含 24 个氨基酸,位于 144~167 之间,氨基酸序列为 GDFGLAREYGVPLRRYTHEVVTLW;CDK/cyclin 相互作用界面包括 12 个氨基酸,分别为 L(36)E(41)G(42)I(43)S(45)M(48)R(49)I(51)S(52)K(55)E(56)Y(74)。该结构域在数据库中的注释为细胞周期蛋白依赖性蛋白 1-类似的丝氨酸/苏氨酸激酶

(serine/threonine kinases, STKs)催化结构域。丝氨酸/苏氨酸激酶催化 ATP 的 γ -磷酸基团转移到蛋白质的丝氨酸/苏氨酸残基。依据上述对大豆疫霉 psCdc2 (PHYSODRAFT_35201) 序列的详细分析,认为其为酵母 Cdc28 的同源基因,

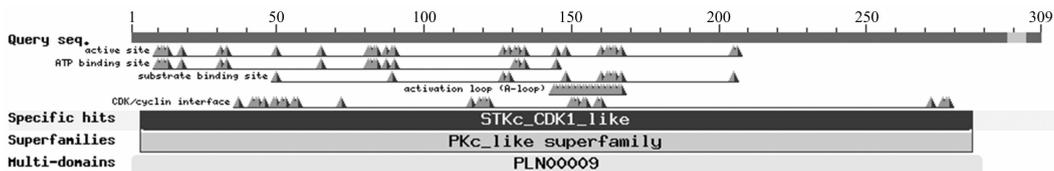


图2 CDD 预测的 PHYSODRAFT_352011 保守结构域

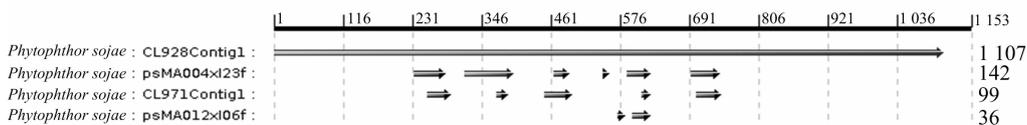


图3 大豆疫霉 psCdc2 在 EST 数据库搜索结果

2.3 大豆疫霉 psCdc2 (PHYSODRAFT_352011) 蛋白基本特征分析

对大豆疫霉细胞周期蛋白依赖性蛋白激酶 psCdc2 蛋白的基本特征进行分析。该蛋白由 20 种氨基酸组成,其中亮氨酸与缬氨酸含量最高,不含有吡咯赖氨酸 (Pyl) 与硒半胱氨酸 (Sec)。使用 TMHMM 工具进行跨膜结构分析,结果表明该蛋白不存在跨膜结构域。使用 ProtComp 分析工具进行细胞内定位分析,结果显示该蛋白都主要分布在细胞质与细胞核内。ProtParam 分析结果显示,该蛋白分子量为 35 478 u,等电点为 8.56。该蛋白在大肠杆菌体内的半衰期大于 10 h,酵母体内的半衰期大于 20 h,属于稳定存在蛋白。蛋白的脂肪族系数为 92.72,ProtScale 程序的亲疏水性分析表明其亲水性略强(图4)。信号肽分析程序 Signal P 分析结果显示,该蛋白质无信号肽(图5)。

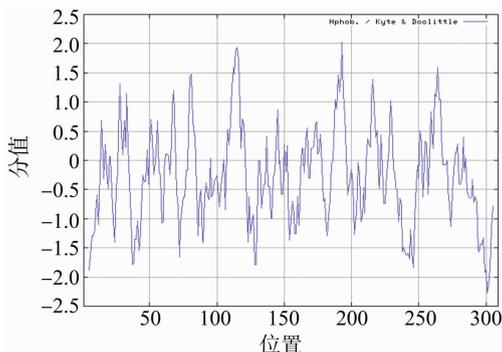


图4 大豆疫霉细胞周期蛋白依赖性蛋白激酶 psCdc2 亲疏水性预测结果

利用二级结构预测软件 GOR4 预测该蛋白的二级结构组成。该蛋白的二级结构组分为 α 螺旋占 32%, β 折叠占 15%, 无规则卷曲为 53%, 二级结构预测结果见图 6-A。预测的三维结构见图 6-B, 其为单体结构,属于 α/β 型蛋白。

在 STRING 数据库中利用酵母 Cdc28 基因进行分析,共发现有 10 个蛋白与 Cdc28 基因存在相互作用,形成复杂的互作网络(图7)。

利用 BLAST 在大豆疫霉基因组内对这些同源基因进行搜索,找到了全部的10个同源蛋白(表2),蛋白的一致性百

具有相似的细胞周期调控的功能(图3)。在蛋白激酶数据库确定其为 CMGC/CDK/CDC2C,与 CDK2_Hsa 相似性为 82%,一致性百分比为 66%,E 值为 10^{-114} 。

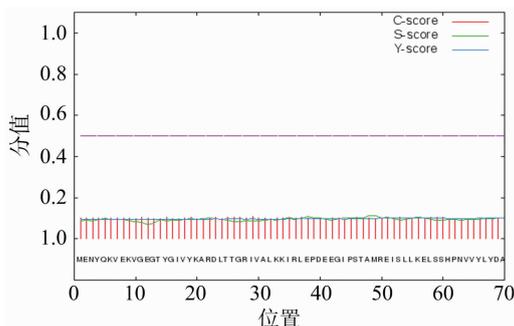


图5 大豆疫霉细胞周期蛋白依赖性蛋白激酶 psCdc2 信号肽预测结果

分比在 26% ~ 46%,说明在大豆疫霉基因组内可能同样存在它们之间的相互作用网络,共同调节细胞周期过程。

3 结论与讨论

细胞周期蛋白依赖性蛋白激酶是细胞周期顺利进行的催化剂,很多研究表明细胞周期蛋白依赖性蛋白激酶家族是高度复杂的^[17-19]。细胞周期的形成过程中,需要通过精密调控姐妹染色体的分离、纺锤体的形成以及细胞骨架构建,从而达到在时间和空间上高度协调一致,使得整个进程顺利进行。目前已经在致病疫霉中发现,在游动孢子囊的形成起着重要调控作用的 *PiCdc14* 基因,在菌丝生长阶段并不转录,只在游动孢子囊形成阶段特异地转录^[20]。在大豆疫霉基因组中找到了它的同源基因 *PsCdc14* 基因,该基因在游动孢子囊形成的过程中发挥着同样的作用^[21]。该基因与致病疫霉中的 *PiCdc14* 基因具有相似的转录模式,在游动孢子囊产生阶段、游动孢子阶段和休止孢阶段上调表达。在本研究中通过对大豆疫霉基因组进行分析,共发现了大豆疫霉中有 11 个 CDK 家族蛋白,对其中大豆疫霉 psCdc2 基因进行研究与功能预测,为后续研究奠定基础。

在酵母研究中发现,酵母细胞周期蛋白依赖性蛋白激酶 Cdc28/Cln2 的有效抑制剂勃利霉素,可以抑制酵母的细胞周期,导致细胞停留在 G1 期,不能进行 RNA 和蛋白质的生物合成,不能够进入下一阶段 S 期^[9,22]。勃利霉素在酵母中通过苏氨酸 tRNA 合成酶和细胞周期调节蛋白 2 条途径发挥作

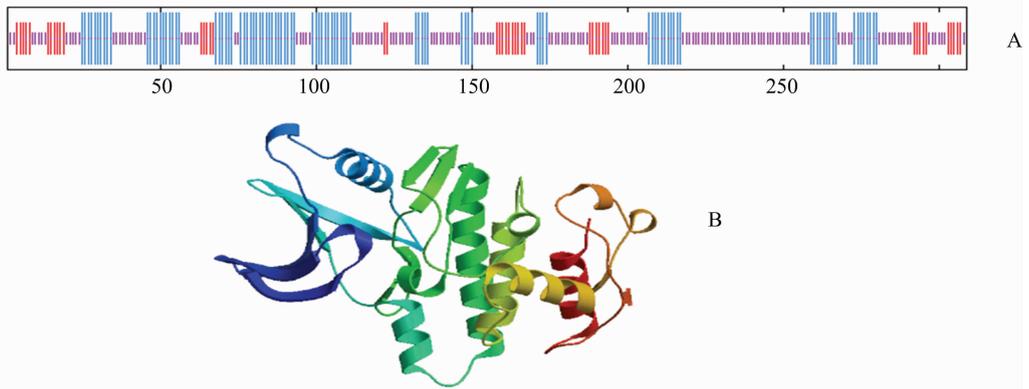


图6 大豆疫霉细胞周期蛋白依赖性蛋白激酶 psCdc2 二级结构(A)与三维结构(B)预测结果

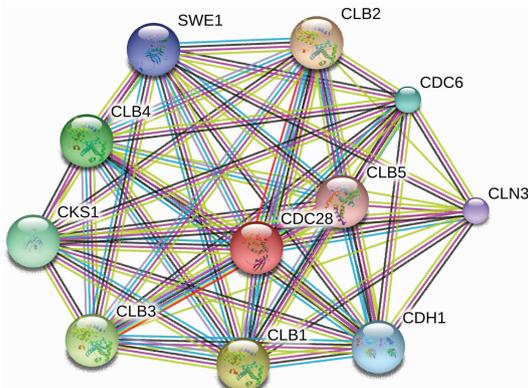


图7 酵母 Cdc28 蛋白与其他相互作用蛋白的互作网络

用。目前的研究发现,在大豆疫霉中勃利霉素也能通过苏氨酰 tRNA 合成酶途径发挥作用^[22-23],在对大豆疫霉 psCdc2 与酵母 Cdc28 进行比对时发现,两者高度同源,在进化树的同一分支,且两者蛋白的保守结构域高度相似,确定了大豆疫霉 psCdc2 中的细胞周期蛋白依赖性蛋白 1 - 类似的丝氨酸/苏氨酸激酶 (serine/threonine kinases, STKs) 催化结构域的主要结构域 STKc_CDK1_like,说明其具有与酵母相似的调控细胞周期的功能。对酵母 *Cdc28* 基因分析中,共发现有 10 个蛋白与 *Cdc28* 基因存在相互作用,并在大豆疫霉基因组找到其全部同源蛋白。由此推测勃利霉素对疫霉的细胞周期蛋白依赖性蛋白激酶也存在抑制作用,为勃利霉素抗卵菌的多途径作用机理研究提供依据与参考。

表 2 大豆疫霉基因组内与酵母 *Cdc28* 基因相互作用蛋白的同源蛋白

酵母蛋白名称	登录号	比对覆盖率 (%)	E 值	一致性百分比 (%)	大豆疫霉蛋白名称	登录号
CDC6	NP_012341.1	55	2.00×10^{-16}	26	psCDC6	NW_009258115.1
CLB2	NP_015444.1	48	6.00×10^{-28}	38	psCLB2	NW_009258116.1
CLB5	NP_015445.1	37	1.00×10^{-25}	36	psCLB5	NW_009258116.1
CKS1	NP_009693.3	54	1.00×10^{-8}	46	psCKS1	NW_009258120.1
CLB3	NP_010126.1	57	4.00×10^{-31}	33	psCLB3	NW_009258122.1
CDH1	NP_011512.1	59	9.00×10^{-88}	44	psCDH1	NW_009258116.1
CLB4	NP_013311.1	48	7.00×10^{-38}	34	psCLB4	XP_009519210.1
CLN3	NP_009360.1	12	7.00×10^{-12}	40	psCLN3	XP_009533916.1
CLB1	NP_011622.1	49	3.00×10^{-35}	33	psCLB1	XP_009519210.1
SWE1	NP_012348.1	40	5.00×10^{-20}	35	psSWE1	NW_009258119.1

参考文献:

- [1] Kamoun S. Molecular genetics of pathogenic oomycetes [J]. *Eukaryotic Cell*, 2003, 2(2): 191-199.
- [2] Tyler B M. *Phytophthora sojae*: root rot pathogen of soybean and model oomycete [J]. *Molecular Plant Pathology*, 2007, 8(1): 1-8.
- [3] 高亚梅, 王相晶, 向文胜. 农作物病原卵菌基因组数据库资源概述 [J]. *植物保护*, 2013, 39(6): 1-6.
- [4] 刘文虎, 常晋霞, 王仕宝. 细胞周期蛋白依赖性激酶及其抑制剂构效关系研究进展 [J]. *国际药学研究杂志*, 2014, 41(1): 37-44.
- [5] 高磊, 石有珍, 任玉红, 等. CDKs (细胞周期依赖性蛋白激酶) 调控细胞周期中的作用 [J]. *畜牧兽医杂志*, 2010, 29(2): 41-42.
- [6] Aleem E, Kaldis P. Mouse models of cell cycle regulators: new paradigms [J]. *Results and Problems in Cell Differentiation*, 2006, 42: 271-328.
- [7] Lim S, Kaldis P C. Cyclins and CKIs: roles beyond cell cycle regulation [J]. *Development*, 2013, 140(15): 3079-3093.
- [8] Obaya A J, Sedivy J M. Regulation of cyclin-CDK activity in mammalian cells [J]. *Cellular and Molecular Life Sciences*, 2002, 59(1): 126-142.
- [9] Tsuchiya E, Yukawa M, Miykawa T, et al. Borrelidin inhibits a cyclin-dependent kinase (CDK), Cdc28/Cln2, of *Saccharomyces cerevisiae* [J]. *Journal of Antibiotics (Tokyo)*, 2001, 54(1): 84-90.
- [10] Cummings M P. MEGA (molecular evolutionary genetics analysis) [M] // *Dictionary of bioinformatics and computational biology*. Hoboken: John Wiley & Sons, Inc., 2004.
- [11] Marchler-Bauer A, Anderson J B, Cherukuri P F, et al. CDD: a conserved domain database for protein classification [J]. *Nucleic*

梁文洁,张丽,郭新勇,等.薄荷组织培养及抗除草剂基因的遗传转化[J].江苏农业科学,2018,46(4):37-39.
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2018.04.008

薄荷组织培养及抗除草剂基因的遗传转化

梁文洁,张丽,郭新勇,王爱英,向本春,祝建波
(石河子大学生命科学学院农业生物技术重点实验室,新疆石河子 832003)

摘要:薄荷(*Mentha haplocalyx* Briq.)是一类用途广泛的中药材,是世界三大香料之一,也是我国重要的经济作物。以薄荷茎段为外植体,建立高效的薄荷离体培养植株再生体系,确定草甘膦筛选的选择压,并将带除草剂标记的植物表达载体 pBI121-Ubi-epsps 通过农杆菌介导转化薄荷,用 PCR 和 RT-PCR 法对转化薄荷进行分子鉴定。结果表明,薄荷对除草剂草甘膦的最适筛选浓度为 10 mg/L,通过分子鉴定确定转基因薄荷已获得。试验结果对后期杂种优势的利用、种质资源的保存以及植物新品种的培育奠定基础,具有重要的理论与实践意义。

关键词:薄荷;除草剂;组织培养;遗传转化

中图分类号: Q789 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2018)04-0037-03

全世界薄荷属植物(*Mentha* L.)约有 30 种,140 多个变种,其中有 20 多个变种在世界各地栽培^[1-2]。我国约有 12 种,其中 6 种为野生品种,其余为引进栽培品种^[3]。薄荷属植物常见的栽培种有薄荷(*M. haplocalyx* Briq.)、留兰香(*M. spicata* L.)、椒样薄荷(*M. piperita* L.)、唇萼薄荷(*M. pulegium* L.)、水薄荷(*M. aquatica* L.)及柠檬留兰香(*M.*

citrata L.)等。结合本种形态特征和地理分化趋势,可将薄荷划分为两大种群且作为 2 个种处理,即欧洲、西亚及北美地区的薄荷种群,用学名 *M. arvensis* L.,东亚及热带亚洲的薄荷种群,用学名 *M. haplocalyx* Briq.。

薄荷属植物是一种用途广泛的中药材,也是世界上主要的香料植物之一^[4-6]。薄荷属植物种间杂交十分普遍,有性繁殖极易造成品种混杂,难以区分。一般都采用无性繁殖,但长期采用无性繁殖,导致病毒病十分普遍,引起品种的退化和产量、质量的下降。通过组织培养可以对植株进行脱毒复壮,并且可以保持植物优良性状遗传的稳定性,防止品种过快退化^[7]。组织培养技术还可以用来进行薄荷的诱变育种和种质保存,如方晓志等在组织培养条件下进行了薄荷化学试剂和射线辐射诱变育种技术的研究,获得了多个薄荷株系^[8];

收稿日期:2016-09-15

基金项目:国家自然科学基金(编号:30960034、31160049);国家转基因专项(编号:2011ZX08005-004)。

作者简介:梁文洁(1986—),山西定襄人,硕士研究生,主要从事植物基因工程研究。E-mail:1374357967@qq.com。

通信作者:祝建波,博士,研究员,主要从事植物基因工程研究。E-mail:zjbshz@126.com。

Acids Research,2005,33:D192-D196.

[12] Petersen T N, Brunak S, von Heijne G, et al. SignalP 4.0: discriminating signal peptides from transmembrane regions [J]. Nature Methods,2011,8(10):785-786.

[13] Chen Y J, Yu P, Luo J C, et al. Secreted protein prediction system combining CJ-SPHMM, TMHMM, and PSORT [J]. Mammalian Genome,2003,14(12):859-865.

[14] Emanuelsson O, Nielsen H, Brunak S, et al. Predicting subcellular localization of proteins based on their N-terminal amino acid sequence [J]. Journal of Molecular Biology,2000,300(4):1005-1016.

[15] Sen T Z, Jernigan R L, Garnier J, et al. GOR V server for protein secondary structure prediction [J]. Bioinformatics,2005,21(11):2787-2788.

[16] Von Mering C, Jensen L J, Snel B, et al. STRING: known and predicted protein-protein associations, integrated and transferred across organisms [J]. Database Issue,2005,33:433-437.

[17] Aleem E, Arceci R J. Targeting cell cycle regulators in hematologic malignancies [J]. Frontiers in Cell and Developmental Biology, 2015,3(16):16.

[18] Lee J, Das A, Yamaguchi M, et al. Cell cycle function of a rice B2-

type cyclin interacting with a B-type cyclin-dependent kinase [J]. Plant Journal for Cell & Molecular Biology,2003,34(4):417-425.

[19] Nieduszynski C A, Murray J, Carrington M. Whole-genome analysis of animal A- and B-type cyclins [J]. Genome Biology,2002,3(12):70.

[20] Ah F M, Judelson H S. Cell cycle regulator Cdc14 is expressed during sporulation but not hyphal growth in the fungus-like oomycete *Phytophthora infestans* [J]. Molecular Microbiology,2003,50(2):487-494.

[21] 赵伟,杨新宇,董莎萌,等.外源合成 dsRNA 介导大豆疫霉 PsCdc14 基因沉默后对孢子囊发育的影响 [J]. 中国科学:生命科学,2011,41(12):1177-1184.

[22] Tsuchiya E, Yukawa M, Ueno M, et al. A novel method of screening cell-cycle blockers as candidates for anti-tumor reagents using yeast as a screening tool [J]. Bioscience Biotechnology and Biochemistry,2010,74(2):411-414.

[23] Gao Y M, Wang X J, Zhang J, et al. Borrelidin, a potent antifungal agent: insight into the antifungal mechanism against *Phytophthora sojae* [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry,2012,60(39):9874-9881.