

牛 鑫,柴倩因,冯九海,等. 4 种鬼伞 β -1,3-葡聚糖转移酶的生物信息学分析[J]. 江苏农业科学,2021,49(6):33-39.
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2021.06.005

4 种鬼伞 β -1,3-葡聚糖转移酶的生物信息学分析

牛 鑫¹,柴倩因¹,冯九海¹,单华佳¹,柯善文¹,汉佳昕²,魏生龙¹

(1. 河西学院甘肃省应用真菌工程实验室/甘肃省食用菌遗传育种重点实验室/祁连山食用菌产业协同创新中心,甘肃张掖 734000;

2. 河西学院生命科学与工程学院,甘肃张掖 734000)

摘要:鬼伞是一类菌柄能在短时间内快速伸长并且伞盖易自溶形成墨汁的蘑菇,菌柄在伸长过程中细胞壁以伸长生长为主,细胞壁组分 β -1,3-葡聚糖发生重构修饰,GH72 家族的 β -1,3-葡聚糖转移酶能够将较低聚合度的寡糖转化生成更高聚合度的糖链。 β -1,3-葡聚糖转移酶可能参与鬼伞菌柄细胞壁中 β -葡聚糖组分重构修饰。以完成测序并有注释信息的灰盖拟鬼伞(*Coprinopsis cinerea*)、拟鬼伞(*Coprinopsis marcescibilis*)、晶粒小鬼伞(*Coprinellus micaceus*)和小脆柄菇(*Psathyrella aberdarensis*)等 4 种鬼伞的 β -1,3-葡聚糖转移酶的氨基酸序列为基础,采用 TargetP、WOLF PSORT、SignalP、Somp、TMHMM 2.0、Big - PI Fungal Predictor、MEME 和 SISS - MODEL 等生物信息学分析工具对其开展蛋白质亚细胞定位、细胞信号肽、二级结构、跨膜螺旋、糖基化磷脂酰肌醇(GPI)锚定位点、基序以及三级结构等进行分析,同时对上述序列开展遗传进化关系分析。研究结果可为进一步深入开展该蛋白在菌柄伸长过程中细胞壁 β -葡聚糖组分重构修饰研究作基础。

关键词:真菌细胞壁;菌柄伸长; β -1,3-葡聚糖;细胞壁重构;多序列比对;生物信息学

中图分类号:S188⁺.3 **文献标志码:**A **文章编号:**1002-1302(2021)06-0033-07

鬼伞(coprinoid mushrooms)是一类子实体形成后,菌柄能快速伸长,伞盖易自溶形成墨汁的大型

担子菌伞菌^[1]。旧的分类系统中鬼伞科(Coprinaceae)包含鬼伞属(*Coprinus*)、小脆柄菇属(*Psathyrella*)和斑褶菇属(*Panaeolus*),依据第 10 版《真菌词典》最新分子系统学研究表明,鬼伞属已移至蘑菇科(Agaricaceae),小脆柄菇提升到科分类级别,旧的鬼伞属中大部分成员被划分至拟鬼伞属(*Coprinopsis*)、小鬼伞属(*Coprinellus*)和近地伞属(*Parasola*),其与小脆柄菇属(*Psathyrella*)等属组成小脆柄菇科(Psathyrellaceae),也就是现在的鬼伞科^[2-4]。鬼伞菌柄的生长方式是一种类似植物胚芽鞘的顶端生长,其主要特征是细胞主要进行伸长生

收稿日期:2020-07-13

基金项目:河西学院科研创新与应用校长基金(编号:XZ2017006);河西学院科研创新与应用校长基金专题(编号:XXZX2020006);甘肃省高等学校创新基金(编号:2020A-104);甘肃省引导科技创新发展专项资金(编号:2017zx-10)。

作者简介:牛 鑫(1988—),男,甘肃通渭人,博士,副研究员,从事菌物生物信息学、菌物资源以及真菌细胞壁研究。E-mail:niuxin1988@126.com。

通信作者:魏生龙,教授,主要从事食用菌研究。E-mail:zyws0281@163.com。

[7]徐 慧,韩智勇,吴 进,等. 中德沼气工程发展过程比较分析[J]. 中国沼气,2018,36(4):101-108.

[8]张慧智,时 朝,李 红,等. 北京市大中型沼气工程典型商业模式浅析[J]. 中国沼气,2017,35(3):88-92.

[9]成潇伟,朱洪光,徐宇鹏,等. 沼气与生物天然气产业发展模式比较分析[J]. 安徽农业科学,2017,45(18):48-50.

[10]孙康泰,张 辉,魏 珣,等. 生物燃气产业发展现状与商业模式创新研究[J]. 林产化学与工业,2014,34(5):175-180.

[11]陈子爱,邓良伟,王 超,等. 欧洲沼气工程补贴政策概览[J]. 中国沼气,2013,31(6):29-34.

[12]Weiland P. Production and energetic use of biogas from energy crops and wastes in Germany [J]. Applied Bio-chemistry Biotechnology,2003,109:263-274.

[13]程 序,朱万斌. 欧盟国家新兴的生物天然气产业[J]. 中外能源,2011,16(6):22-29.

[14]Jang J. Exploring opportunities for biogas as a vehicle fuel in South Korea: learning from Sweden [D]. Lund: Lund University, 2009.

[15]李 颖,孙永明,李 东,等. 中外沼气产业政策浅析[J]. 新能源进展,2014,2(6):413-422.

[16]寿亦丰. 美国沼气产业发展现状与趋势[J]. 农业工程技术·新能源产业,2009(1):22-24.

[17]袁惊柱,朱 彤. 生物质能利用技术与政策研究综述[J]. 中国能源,2018,40(6):16-20.

[18]郑 戈,张全国. 沼气提纯生物天然气技术研究进展[J]. 农业工程学报,2013,29(17):1-6.

长,细胞基本不进行分裂^[5]。蘑菇菌柄细胞壁的伸长生长理论经历了“水解酶模型”^[6-7]、“细胞膨压理论”^[8]以及“水解酶-膨压折衷理论”^[9]等,最新研究表明,特定的内切几丁质酶^[10]和内切 β -1,3-葡聚糖酶均能引起灭活菌柄的伸长^[11]。

真菌细胞壁主要由葡聚糖、糖蛋白和几丁质组成,对真菌的生存、生长和真菌细胞的形态至关重要^[12-13]。尽管它是刚性结构,但它在细胞生长过程中具有可塑性,并能适应环境,因此,真菌细胞壁是一个动态变化的、有个组分相互交联在一起形成一个高强度的具有可塑性的三维复合结构^[13]。有4个家族的糖基水解酶或者糖基转移酶已被证明在细胞壁组分的交联中发挥作用^[12]。GH16家族水解酶(β -葡聚糖酶)已被证明可能参与葡聚糖和几丁质的交联^[14-15]。GH17家族水解酶(β -葡聚糖酶)在葡聚糖之间的交联中起作用^[16-17]。GH76家族的甘露聚糖酶在细胞壁的生物发生中起作用^[18-19]。GH72家族葡聚糖转移酶已被证明是形成正常细胞壁必不可少的,能够与 β -1,3-葡聚糖交联在一起。这些细胞壁重构酶中,尤其是GH72家族的 β -1,3-葡聚糖转移酶为细胞壁提供了可塑性^[20]。这些酶主要参与真菌细胞壁骨架结构多糖 β -1,3-葡聚糖的重构修饰,它们能够水解至少含10个葡萄糖单元的昆布寡糖中的 β -1,3-糖苷键,并且把新形成的带还原性末端的供体(含有5个以上葡萄糖单元)转移至另一个 β -1,3-寡聚糖的非还原性末端(受体)形成聚合度更高的寡糖。除 β -1,3-葡聚糖合成酶合成延长葡聚糖链外,这种转糖苷酶反应产生新的 β -1,3糖苷键为 β -1,3葡聚糖链的延长提供了另一种作用或者是协同作用机制^[21]。迄今为止,这类酶在酿酒酵母(*Saccharomyces cerevisiae*)、粟酒裂殖酵母(*Schizosaccharomyces pombe*)、烟曲霉(*Aspergillus fumigatus*)、白色念珠菌(*Candida albicans*)等酵母和丝状真菌中具有广泛的研究,酿酒酵母中这类蛋白被命名为Gasp(表面锚定糖酯类蛋白),烟曲霉中为Gelp(葡聚糖延伸蛋白),白色念珠菌中则为Phrp(pH值响应蛋白)^[22-23]。在酵母菌中,这些糖基转移酶在孢子和菌丝的细胞壁组装中具有重要作用,并在菌丝营养生长条件下维持细胞壁的完整性,是粟酒裂殖酵母生存不可缺少的^[24],烟曲霉中编码Gel4蛋白的基因也是必需基因^[21],但在大型伞菌中对该基因的研究较少。

本研究选取已完成基因组测序且有注释信息的

4种鬼伞:灰盖拟鬼伞(*Coprinopsis cinerea*)、拟鬼伞(*C. marcescibilis*)、晶粒小鬼伞(*Coprinellus micaceus*)和小脆柄菇(*Psathyrella aberdarensis*),对其 β -1,3-葡聚糖转移酶进行生物信息学和遗传进化分析。

1 材料与方法

1.1 试验材料

根据烟曲霉中已报道的 β -1,3-葡聚糖转移酶Gel1蛋白序列(登录号:XP_749253.1),在美国国家生物技术信息中心(national center for biotechnology information,简称NCBI)数据库中的组装库(Assembly)中分别检索“Coprinopsis”“Coprinellus”“Psathyrella”,获得CC3、Copmar1、Copmic2和ASM412641v1等4个基因组组装数据,分别点击“BLAST the assembly”选项进入“BLAST”比对界面,点击切换至tblastn,将Gel1蛋白登录号XP_749253.1粘贴至文本框,点击BLAST,对期望值小于 10^{-3} 的结果点击GenBank从Feature中查看CDS详情获得“protein_id”。

1.2 试验方法

1.2.1 蛋白信号肽预测 利用SignalP 5.0(<http://www.cbs.dtu.dk/services/SignalP/>)在线预测蛋白的信号肽。

1.2.2 蛋白的基本理化性质预测 利用ExPASy中的ProtParam(<http://web.expasy.org/protparam/>)对蛋白的分子量、等电点、氨基酸组成、不稳定指数、脂肪族系数和总平均疏水指数等基本理化参数进行预测。

1.2.3 蛋白的亚细胞定位预测 利用WoLFPSORT(<https://wolfpsort.hgc.jp/>)进行蛋白的亚细胞定位预测。

1.2.4 蛋白二级结构预测 采用SompA(https://npsa-prabi.ibcp.fr/cgi-bin/npsa_automat.pl?page=npsa_sopma.html)在线预测蛋白的二级结构。

1.2.5 蛋白质跨膜结构域预测 利用TMHMM 2.0(<http://www.cbs.dtu.dk/services/TMHMM-2.0/>)对蛋白质的跨膜区结构进行预测。

1.2.6 糖基化磷脂酰肌醇(GPI)修饰预测 利用big-PI Fungal Predictor(http://mendel.imp.ac.at/gpi/fungi_server.html)对蛋白的GPI修饰位点进行预测。

1.2.7 蛋白基序(motif)分析 采用MEME(<http://meme-suite.org/tools/meme>)对蛋白序列

中的基序进行分析。

1.2.8 系统进化树构建 在 NCBI 中找寻 Gel 的同源序列,利用 MEGA 7 中的 Clustal X 进行多重比对分析,然后以邻接法构建系统进化树。

1.2.9 蛋白三级结构预测 利用 SWISS - MODE (<http://swissmodel.expasy.org/>) 对蛋白进行同源建模预测分析。

2 结果与分析

2.1 Gel 蛋白序列及其信号肽、基本理化特性和亚细胞定位分析

通过烟曲霉 GelI 对灰盖拟鬼伞、拟鬼伞、晶粒小鬼伞、小脆柄菇的基因组数据 CC3、Copmar1、Copmic2 和 ASM412641v1 进行 tblastn 比对,结果如表 1 所示。结果表明,灰盖拟鬼伞有 2 个 Gel 蛋白,

拟鬼伞有 4 个 Gel 蛋白,晶粒小鬼伞和小脆柄菇各仅含有 1 个 Gel 蛋白。

由表 1 可知,各鬼伞 Gel 蛋白均含有信号肽,除晶粒小鬼伞和小脆柄菇的信号肽为 N 端前 24 个氨基酸,其他均为前 20 个氨基酸,结合 WoLF PSORT 亚细胞定位分析,Gel 蛋白均分泌到胞外。其氨基酸组成数量在 520 ~ 550 个之间,分子量为 55 ku 左右,等电点呈酸性,在 4 ~ 5 之间,除拟鬼伞的 Gel (TFK21136.1 和 TFK21135.1) 为不稳定蛋白,其他均为稳定蛋白,灰盖拟鬼伞 Gel (XP_001831707.1) 的脂肪族指数最低,为 69.89,而晶粒小鬼伞 Gel (TEB39055.1) 的脂肪族指数最高,为 87.09。除晶粒小鬼伞 Gel 为疏水蛋白外,其他均为亲水性蛋白。此 4 种鬼伞 Gel 蛋白的优势氨基酸均为丝氨酸 (Ser)、丙氨酸 (Ala) 和甘氨酸 (Gly)。

表 1 4 种鬼伞 Gel 蛋白的信号肽、基本理化性质及其亚细胞定位预测结果

蛋白登录号	物种名	信号肽 剪切位点	组成氨基酸 数量(个)	分子量 (u)	理论 等电点	不稳定 指数	脂肪族 指数	总平均 疏水指数	优势 氨基酸	亚细胞 定位
XP_001831707.1	<i>Coprinopsis cinerea</i>	20 ~ 21 VAA - IP	527	55 657.74	4.18	31.82	69.89	-0.255	Ala,Ser	extr
XP_002912150.1	<i>Coprinopsis cinerea</i>	20 ~ 21 VAA - IP	530	55 471.90	4.14	37.97	76.45	-0.086	Ala,Ser	extr
TFK30742.1	<i>Coprinopsis marcescibilis</i>	20 ~ 21 VQA - IP	542	56 198.87	4.18	29.42	77.27	-0.070	Gly,Ala,Ser	extr
TEB39055.1	<i>Coprinellus micaceus</i>	24 ~ 25 VAA - IP	531	54 934.42	4.24	36.46	87.09	0.046	Ser,Ala	extr
TFK21136.1	<i>Coprinopsis marcescibilis</i>	20 ~ 21 VQA - IS	539	56 926.89	4.65	40.99	73.02	-0.180	Ala,Ser	extr
TFK21138.1	<i>Coprinopsis marcescibilis</i>	20 ~ 21 VHA - IQ	546	56 590.50	4.17	38.75	81.94	-0.033	Ala,Gly	extr
TFK21135.1	<i>Coprinopsis marcescibilis</i>	20 ~ 21 VLS - IP	528	56 569.97	4.74	40.80	78.56	-0.124	Ser,Ala	extr
RXW23863.1	<i>Psathyrella aberdarensis</i>	24 ~ 25 VHA - IP	537	55 978.67	4.30	32.71	74.77	-0.056	Ala,Ser	extr

注:extr 表示胞外。

2.2 Gel 蛋白的二级结构、跨膜螺旋以及 GPI 修饰位点预测

4 种鬼伞的 Gels 蛋白中二级结构以无规则卷曲和 α - 螺旋为主,其次是延伸链和 β - 转角。 α - 螺旋比例在 30% ~ 36% 之间,灰盖拟鬼伞 Gel 蛋白 XP_001831707.1 的最高,为 35.28%,拟鬼伞中 TFK30742.1 的比例最低,为 30.96%;延伸链的占比在 13% ~ 17% 之间,拟鬼伞中 TFK30742.1 的比例最高,为 16.55%,而 TFK21138.1 的最低,为 13.69%; β - 转角占比最低,约为 5% 左右;无规则卷曲占比最高,在 44% ~ 50% 之间。除拟鬼伞中 TFK21138.1 和小脆柄菇 RXW23863.1 在 C 端具有跨膜区域,其他 Gel 蛋白均不含跨膜结构。所有 Gel 蛋白均含有 GPI 修饰,主要修饰位点发生在 C 段区域的丝氨酸残基上(表 2)。

2.3 Gel 蛋白的基序分析、多序列比对及三级结构预测

4 种鬼伞的 Gel 蛋白序列中均含有 3 个基序(图 1)。4 种鬼伞 Gel 蛋白具有较高的同源性,同源性矩阵分析结果表明其同源性均在 50% 以上(表 3)。晶粒小鬼伞和小脆柄菇的 Gel 蛋白同源性最高,将近 80%;其次是灰盖拟鬼伞的 2 个 Gel 蛋白,其同源性为 76.2%;晶粒小鬼伞的 Gel 与拟鬼伞的 Gel (TFK21136.1) 同源性最低,但也达到了 51.6%。通过 Gel 蛋白的多序列比对(图 2)可以看出,4 种鬼伞的 Gel 蛋白中含有 177 个保守氨基酸,其中包含甘氨酸 (G) 和亮氨酸 (L) 各 17 个,15 个酪氨酸 (Y),14 个丝氨酸 (S),半胱氨酸 (C) 和脯氨酸 (P) 各 13 个,以及 11 个天冬酰胺 (N) 等。4 种鬼伞的 Gel 序列中均包含糖基水解酶超家族 (Glyco_hydro

表 2 4 种鬼伞 Gel 的二级结构、跨膜螺旋以及 GPI 修饰位点预测

蛋白登录号	α -螺旋比例 (%)	延伸链比例 (%)	β -转角比例 (%)	无规卷曲比例 (%)	跨膜螺旋位置	GPI 修饰位点
XP_001831707.1	35.28	14.81	5.12	44.79	None	517 ~ 518 AG
XP_002912150.1	33.27	15.45	3.82	47.45	None	521 ~ 522 GS
TFK30742.1	30.96	16.55	4.09	48.40	None	531 ~ 532 NS
TEB39055.1	33.69	14.77	6.13	45.41	None	523 S,529 G
TFK21136.1	31.31	14.85	5.55	48.30	None	535 ~ 536 GA
TFK21138.1	31.45	13.69	4.95	50.00	546 ~ 565	537 N,540 G
TFK21135.1	33.39	14.05	5.47	47.08	None	525 ~ 526 SS
RXW23863.1	33.51	15.86	4.99	45.63	536 ~ 558	529 ~ 530 NS

注:None 表示无跨膜螺旋;下划线氨基酸表示有 GPI 修饰。

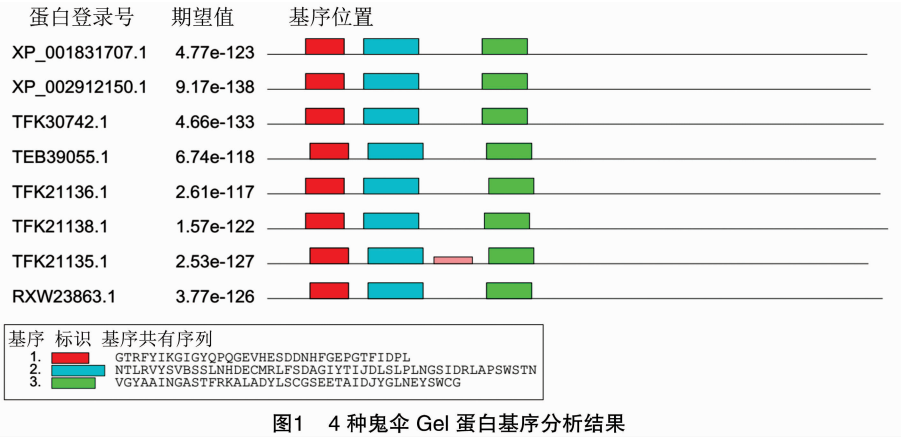


图1 4 种鬼伞 Gel 蛋白基序分析结果

表 3 4 种鬼伞中 Gel 蛋白的同源性矩阵分析结果

Gel 蛋白	蛋白之间的同源性 (%)							
	RXW23863.1	TFK21135.1	TFK21138.1	TFK21136.1	TEB39055.1	TFK30742.1	XP_002912150.1	XP_001831707.1
RXW23863.1	100.0							
TFK21135.1	52.2	100.0						
TFK21138.1	55.0	57.4	100.0					
TFK21136.1	54.6	55.1	56.4	100.0				
TEB39055.1	79.8	52.9	53.8	51.6	100.0			
TFK30742.1	63.3	54.8	57.2	57.5	61.4	100.0		
XP_002912150.1	67.9	55.2	57.6	55.9	68.2	68.8	100.0	
XP_001831707.1	63.4	56.0	56.8	55.6	63.2	65.5	76.2	100.0

super family) 和 8 个半胱氨酸 - 盒子 (Cys - box/X8) 保守域, 在 C 端的丝氨酸或者甘氨酸或者天冬酰胺上发生 GPI 修饰。使用酿酒酵母 β -1,3-葡聚糖糖基转移酶 GAS2 的晶体结构 (261.1. A) 作为模板, 采用 Swiss - model 对 4 种鬼伞 Gel 蛋白进行在线同源建模预测分析, 结果表明预测结构与模板序列相似度均在 35% 左右, 覆盖度约为 80%, 各鬼伞 Gel 蛋白的三级结构十分相似 (图 3)。

2.4 Gel 蛋白的进化分析

结合研究较多的子囊菌中的烟曲霉 (*Aspergillus fumigatus*) 和酿酒酵母 (*Saccharomyces cerevisiae*) 中的 β -1,3-葡聚糖糖基转移酶蛋白以及担子菌中的玉蜀黍黑粉菌 (*Ustilago maydis*) 和双孢蘑菇 (*Agaricus bisporus*)、平菇 (*Pleurotus ostreatus*)、灰树花 (*Grifola frondosa*) 以及灵芝 (*Ganoderma boninense*) 的 Gel 同源蛋白使用 MEGA7^[25] 进行演

黄色框选区为保守氨基酸；蓝色和绿色框选区为保守半胱氨酸残基；绿色区域为半胱氨酸-盒子(Cys-box)/X8 保守区；橘黄色区域氨基酸残基为可能的 GPI 修饰位点

图2 4 种鬼伞 Gel 蛋白的多序列比对结果



化分析,采用邻接(neighbor-joining)法推导其演化历史^[26],得到分支长度和为 8.760 563 63 的最优树(图 4)。Bootstrap 测试设置 1 000 次重复,进化距离采用基于 JTT 矩阵的方法^[27]计算,以每个位点的氨基酸取代数为单位。分析包括 24 个氨基酸序列。所有包含间隙和缺失数据的位置被消除。最终数据集中共有 347 个位置。可以看出,4 种鬼伞的 Gel

蛋白基本按照种属分类关系进行聚类,拟鬼伞属聚类为一组,小鬼伞属和小脆柄菇属聚为一组。根据序列 C 端是否有半胱氨酸富集结构域,GH72 家族可分为 2 个亚类:GH72 + (含 CBM43 或者 X8)和 GH72 - (没有 CBM43 或者 X8)^[28]。所有担子菌的 Gel 蛋白序列中均含有 X8 结构域,因此属于 GH72 +。

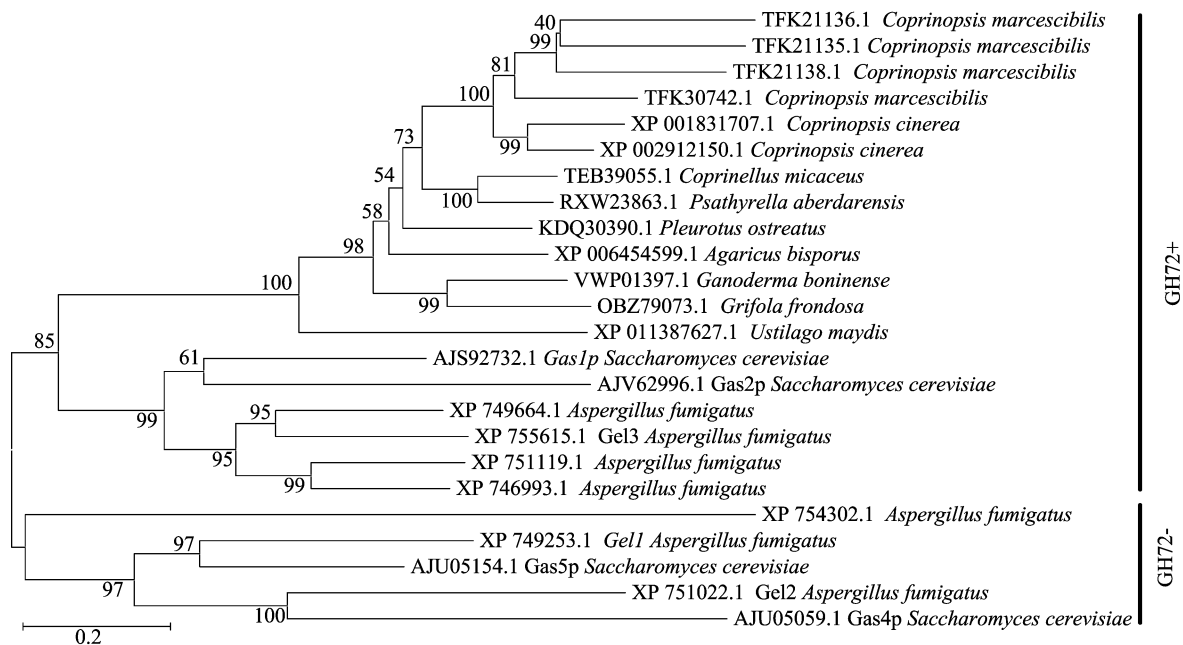


图4 4种鬼伞 Gel 蛋白的进化关系分析结果

3 讨论

众所周知,GH72 家族葡聚糖转移酶是 GPI 锚定修饰的细胞壁蛋白。该类蛋白在子囊菌中有较多研究,在酿酒酵母中含有 5 个 GAS 基因,白色念珠菌中含有 5 个 PHR 基因,粟酒裂殖酵母含有 4 个 GAS 基因,烟曲霉中含有 7 个 GEL 基因,稻瘟病菌中含有 5 个 GEL 基因,粗糙脉孢菌中含有 5 个 GEL 基因^[29]。在本研究中除拟鬼伞外,大部分担子菌中仅有 1~2 个该类基因,明显少于子囊菌。因此,担子菌葡聚糖转移酶基因的生理功能可能不完全等同于子囊菌。GH72 酶可分为 2 类^[30],GH72 + 酶包含葡聚糖转移结构域和 1 个来自转移酶结构域的羧基末端第 2 个碳水化合物结合 X8 或 CBM43 结构域。GH72 - 酶缺乏 X8/CBM43 碳水化合物结合域。4 种鬼伞的 Gel 蛋白均属于 GH72 +,且均含有信号肽序列,因此,鬼伞的 Gel 可能在细胞周质空间中对新添加的细胞壁组分 β -1,3-葡聚糖进行修饰。Hurtado-Guerrero 等首次解析了 GH72 + 与昆布五

糖和昆布七糖水解产物有关的 ScGas2 转糖苷酶的晶体结构,结构表明存在 1 个(β/α)₈ 的催化核心,紧紧地与 C 端 CBM43 葡聚糖绑定结构域相互作用,活性位点位于不常见的半胱氨酸富集的沟槽,有 2 个谷氨酸作为催化残基。定点突变数据结合 ScGas2 - o 寡糖复合体的晶体结构,表明在受体位点产生绑定在调节水解和转糖苷之间的平衡至关重要^[31]。该酶作用的位点包含 2 个催化残基(Glu176 和 Glu275),和 3 个酪氨酸残基(Tyr107、Tyr244、Tyr307),这些位点在 GH72 家族中均是保守的。去除 GPI 修饰位点该酶的转糖基活性不受影响,但去除 X8 结构域后其不再具有转糖基活性^[30]。本研究基于已测序并有注释信息的 4 种鬼伞的 Gel 蛋白序列,通过对鬼伞 Gel 蛋白的生物信息学分析,为担子菌中 Gel 基因的生理功能研究奠定了基础。

参考文献:

[1] Kuo M. Coprinoid mushrooms: the inky caps [Z]. <http://www.>

- mushroomexpert.com/coprinoïd.html.
- [2] Kirk P M, Cannon P F, Minter D W, et al. Ainsworth & bisby's dictionary of the fungi[M]. 10th ed. Wallingford CABI Publishing, 2008:169.
 - [3] 周茂新, 文华安. 中国鬼伞属的研究现状[C]//第八届海峡两岸菌物学学术研讨会论文集. 长春, 2007:10-14.
 - [4] Redhead S A, Vilgalys R, Moncalvo J M, et al. *Coprinus* Pers. and the disposition of *Coprinus* species *sensu lato* [J]. *Taxon*, 2001, 50 (1):203-241.
 - [5] Zhang W M, Wu X X, Zhou Y J, et al. Characterization of stipe elongation of the mushroom *Coprinopsis cinerea* [J]. *Microbiology* (Reading, England), 2014, 160 (Pt 9):1893-1902.
 - [6] Kamada T, Takemaru T, Prosser J I, et al. Right and left handed helicity of chitin microfibrils in stipe cells in *Coprinus cinereus* [J]. *Protoplasma*, 1991, 165 (1):64-70.
 - [7] Kamada T, Fujii T, Nakagawa T, et al. Changes in (1→3)- β -glucanase activities during stipe elongation in *Coprinus cinereus* [J]. *Current Microbiology*, 1985, 12 (5):257-259.
 - [8] Mol P C, Vermeulen C A, Wessels J. Diffuse extension of hyphae in stipes of *Agaricus bisporus* may be based on a unique wall structure [J]. *Mycological Research*, 1990, 94 (4):480-488.
 - [9] Bartnicki-García S. Glucans, walls, and morphogenesis: on the contributions of J. G. H. Wessels to the golden decades of fungal physiology and beyond [J]. *Fungal Genetics and Biology*, 1999, 27 (2/3):119-127.
 - [10] Zhou J S, Kang L Q, Liu C C, et al. Chitinases play a key role in stipe cell wall extension in the mushroom *Coprinopsis cinerea* [J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2019, 85 (15):519-532.
 - [11] Kang L Q, Zhou J S, Wang R, et al. Glucanase-induced stipe wall extension shows distinct differences from chitinase-induced stipe wall extension of *Coprinopsis cinerea* [J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2019, 85 (21):1319-1345.
 - [12] Free S J. Fungal cell wall organization and biosynthesis [J]. *Advances in Genetics*, 2013, 81:33-82.
 - [13] Latgé J P. The cell wall: a carbohydrate armour for the fungal cell [J]. *Molecular Microbiology*, 2007, 66 (2):279-290.
 - [14] Cabib E, Blanco N, Grau C, et al. Crh1p and Crh2p are required for the cross-linking of chitin to β (1-6) glucan in the *Saccharomyces cerevisiae* cell wall [J]. *Molecular Microbiology*, 2007, 63 (3):921-935.
 - [15] Pardini G, De Groot P W, Coste A T, et al. The CRH family coding for cell wall glycosylphosphatidylinositol proteins with a predicted transglycosidase domain affects cell wall organization and virulence of *Candida albicans* [J]. *The Journal of Biological Chemistry*, 2006, 281 (52):40399-40411.
 - [16] Goldman R C, Sullivan P A, Zakula D, et al. Kinetics of β -1,3 glucan interaction at the donor and acceptor sites of the fungal glucosyltransferase encoded by the *BGL2* gene [J]. *European Journal of Biochemistry*, 1995, 227 (1/2):372-378.
 - [17] Amandine G A, Mouyna I, Simenel C, et al. Characterization of a new β (1-3)-glucan branching activity of *Aspergillus fumigatus* [J]. *The Journal of Biological Chemistry*, 2010, 285 (4):2386-2396.
 - [18] Kitagaki H, Ito K, Shimoi H. A temperature-sensitive *dew1* mutant of *Saccharomyces cerevisiae* is cell cycle arrested with small buds which have aberrant cell walls [J]. *Eukaryotic Cell*, 2004, 3 (5):1297-1306.
 - [19] Maddi A, Fu C, Free S J. The *Neurospora crassa* *dfg5* and *dew1* genes encode α -1,6-mannanases that function in the incorporation of glycoproteins into the cell wall [J]. *PLoS One*, 2012, 7 (6):e38872.
 - [20] Cabib E, Arroyo J. How carbohydrates sculpt cells: chemical control of morphogenesis in the yeast cell wall [J]. *Nature Reviews Microbiology*, 2013, 11 (9):648-655.
 - [21] Amandine G A, Fontaine T, Latgé J P, et al. β (1-3) glucanosyltransferase *gel4p* is essential for *Aspergillus fumigatus* [J]. *Eukaryotic Cell*, 2010, 9 (8):1294-1298.
 - [22] Delso I, Valero-Gonzalez J, Gomollón-Bel F, et al. Inhibitors against fungal cell wall remodeling enzymes [J]. *ChemMedChem*, 2018, 13 (2):128-132.
 - [23] Luo Z, Zhang T, Liu P, et al. The *Beauveria bassiana* *gas3* β -glucanosyltransferase contributes to fungal adaptation to extreme alkaline conditions [J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2018, 84 (15):1018-1086.
 - [24] Medina-Redondo M M, Arnáiz-Pita Y, Clavaud C, et al. β (1,3)-glucanosyltransferase activity is essential for cell wall integrity and viability of *Schizosaccharomyces pombe* [J]. *PLoS One*, 2010, 5 (11):e14046.
 - [25] Kumar S, Stecher G, Tamura K. MEGA7: molecular evolutionary genetics analysis version 7.0 for bigger datasets [J]. *Molecular Biology and Evolution*, 2016, 33 (7):1870-1874.
 - [26] Saitou N, Nei M. The neighbor-joining method: a new method for reconstructing phylogenetic trees [J]. *Molecular Biology and Evolution*, 1987, 4 (4):406-425.
 - [27] Jones D T, Taylor W R, Thornton J M. The rapid generation of mutation data matrices from protein sequences [J]. *Computer Applications in the Biosciences*, 1992, 8 (3):275-282.
 - [28] Ragni E, Fontaine T, Gissi C, et al. The *gas* family of proteins of *Saccharomyces cerevisiae*: characterization and evolutionary analysis [J]. *Yeast*, 2007, 24 (4):297-308.
 - [29] Kar B, Patel P, Ao J, et al. *Neurospora crassa* family GH72 glucanosyltransferases function to crosslink cell wall glycoprotein N-linked galactomannan to cell wall lichenin [J]. *Fungal Genetics and Biology*, 2019, 123:60-69.
 - [30] Popolo L, Degani G, Camilloni C, et al. The PHR family: the role of extracellular transglycosylases in shaping *Candida albicans* cells [J]. *Journal of Fungi*, 2017, 3 (4):59.
 - [31] Hurtado-Guerrero R, Schüttelkopf A W, Mouyna I, et al. Molecular mechanisms of yeast cell wall glucan remodeling [J]. *The Journal of Biological Chemistry*, 2009, 284 (13):8461-8469.