

希金斯炭疽菌中碳水化合物酶类蛋白的理化性质分析

韩长志 祝友朋

西南林业大学生物多样性保护与利用学院/云南省森林灾害预警与控制重点实验室,昆明 650224

摘要 为深入了解希金斯炭疽菌中碳水化合物酶类蛋白(CAZymes)的功能,以前期获得的 238 个 CAZymes 为研究对象,对其进行理化性质预测分析,结果表明,近 2/3 的蛋白理论等电点小于 6,属于酸性蛋白,同时,通过随机数软件对上述蛋白进行 10%抽样分析,明确了不同理论等电点类别的分泌蛋白所具有的分子质量、分子式、半衰期、不稳定性系数、脂肪族氨基酸指数、总平均亲水性等理化性质。

关键词 希金斯炭疽菌; 碳水化合物活性酶; 理化性质

中图分类号 S 435.1 **文献标识码** A **文章编号** 1000-2421(2018)03-0046-06

碳水化合物酶类(CAZymes, carbohydrate-active enzymes)蛋白,是植物病原菌侵染过程中突破寄主细胞第一道屏障——植物细胞壁的关键因素^[1]。随着大量植物病原菌基因组测序的完成,通过比较基因组学分析病原菌的寄生性与基因组变异的关系已经成为研究热点^[2]。近些年来,碳水化合物结构(功能)活性酶类数据库(CAZy, carbohydrate-active enzymes database)的建立^[3]极大地推进了国内外学者对于植物病原菌胞外酶细胞壁降解酶活性基因的注释与聚类分析工作^[4-5],通过对不同营养类型的植物病原真菌 CAZymes 蛋白进行深入解析^[6],明确非活体营养型植物病原菌基因组较活体营养型病原菌具有更多的 CAZymes,该研究为深入探索不同营养型植物病原菌的侵染机制打下坚实的理论基础。

作为非活体营养型病原菌之一的希金斯炭疽菌(又称希金斯刺盘孢)(*Colletotrichum higginsanum* Sacc.),可以侵染菜心、萝卜、小油菜以及大白菜、结球甘蓝、羽衣甘蓝等十字花科蔬菜,从而造成上述植物发生炭疽病。炭疽病作为植物病害中可以造成重大经济损失的一大类重要世界性真菌病害之一^[7-9],严重地影响着世界各国各种农林作物的健康生长,严重地影响着各地的经济生产活动。在我国,广大

种植菜心地区,由 *C. higginsanum* 侵染菜心引起的菜心炭疽病,对广东等菜心种植地区的菜心产量及品质产生了重大影响,也造成了较大的经济损失,是菜心上最常见的真菌病害之一^[10-11]。学术界对希金斯炭疽菌的研究主要集中在效应分子预测以及相关基因功能的解析方面^[12]。

根据国内外学者的最新研究成果,以涵盖木质纤维素降解所需要的相关酶类进行分类,CAZymes 主要分为糖苷水解酶、糖基转移酶、多糖裂解酶、碳水化合物酯酶、辅助酶类家族以及碳水化合物绑定结构等六大类^[1]。截至 2016 年 8 月 27 日,CAZy 数据库中涉及上述类别酶家族分别有 135、100、24、16、13、80 个。

前期,本研究小组基于希金斯炭疽菌全基因组序列,利用一系列相关生物信息学分析工具,明确该菌中含有 658 个分泌蛋白^[13],后续通过 CAZymes Analysis Toolkit (<http://cricket.ornl.gov/cgi-bin/cat.cgi>) 分析,明确上述蛋白中含有 238 个 CAZymes^[14],然而,对于上述蛋白的理化性质以及功能解析一直缺少较为深入的后续研究报道。基于此,本研究通过对上述 CAZymes 蛋白的理化性质进行分析,以期为深入开展该菌 CAZymes 的功能研究打下坚实的基础。

收稿日期: 2017-09-25

基金项目: 国家自然科学基金项目(31560211); 云南省森林灾害预警与控制重点实验室开放基金项目(ZK150004); 云南省研发经费投入补助项目(2016YB462; 2017YB236); 云南省林学一流学科建设项目(51600625)

韩长志, 博士, 副教授。研究方向: 经济林木病害生物防治与真菌分子生物学。E-mail: hanchangzhi2010@163.com

1 材料与方法

1.1 希金斯炭疽菌 CAZymes 蛋白序列来源

前期所获得的 238 个 CAZymes 蛋白^[14]。

1.2 用于后续蛋白分析的确定规则

利用随机数形成软件, 根据上述 CAZymes 蛋白的 ID 号, 对其不同类别蛋白分别进行 10% 的随机抽样选择, 用于后续蛋白的深入分析。

1.3 CAZymes 理化性质预测及分析

利用蛋白质数据库 (<http://www.expasy.ch/tools/protparam.html>)^[15] 对上述 CAZymes 蛋白的等电点、分子量及氨基酸组成、脂肪族氨基酸指数等理化性质进行解析。

2 结果与分析

2.1 CAZymes 蛋白理论等电点

对希金斯炭疽菌中 238 个 CAZymes 蛋白所具有的理论等电点 (theoretical isoelectric point, pI) 数值进行排序分析, 明确上述蛋白 pI 值最低为 3.43, 最高为 9.77。接下来, 以 0.50 为一个间隔单位, 对上述蛋白进行归类分析, 明确位于 4.51~5.00 的蛋白最为集中, 数量也最多, 为 58 个, 所占比例为 24.37%, 其次, 集中在 5.01~5.50、5.51~6.00, 因此, 进一步对位于上述区间的蛋白数据进行分析, 明确位于 3.43~6.00 的 CAZymes 蛋白数量为 154 个, 所占比例高达 64.71%, 说明近 2/3 的 CAZymes 蛋白理论等电点小于 6.0; 此外, 明确 pI 高于 8.00

的 CAZymes 蛋白, 数量为 48 个, 所占比例为 15.13%, 而位于 6.00~8.00 的 CAZymes 蛋白的数量为 36 个, 所占比例为 20.17% (图 1)。

2.2 具有不同酸碱度的 CAZymes 蛋白理化性质

依据理论等电点所处的酸碱度范围不同, 进一步利用随机数形成软件, 对希金斯炭疽菌中 238 个 CAZymes 蛋白分别进行 10% 的随机抽样选择, 获得用于后续研究的蛋白基本信息 (表 1)。

在 15 个酸性蛋白 (pI 值位于 3.43~6.00) 中, 仅有 2 个为假定蛋白 (hypothetical protein), 所占比例为 13.33%, 其余 13 个蛋白均有所预测的功能, 分别为 LysM 结构域包含的蛋白 (LysM domain-containing protein)、kelch 结构域包含蛋白 (kelch domain-containing protein)、糖基水解酶家族 76 (glycosyl hydrolase family 76)、核酸内切酶/核酸外切酶/磷酸酶 (endonuclease/exonuclease/phosphatase)、糖基水解酶家族 43 (glycosyl hydrolase family 43) 等; 在 4 个中性蛋白 (pI 值位于 6.01~8.00) 中, 所预测的功能则涉及糖基水解酶家族 7 (glycosyl hydrolase family 7)、坏死诱导蛋白 (necrosis inducing protein)、多聚半乳糖 (polygalacturonase)、内切葡聚糖酶 (endoglucanase); 在 5 个碱性蛋白 (pI 值位于 8.01~9.00) 中, 所预测的功能涉及果胶裂解酶 (pectate lyase)、果胶裂解酶 Pel-34K (pectate lyase Pel-34K)、纤维素酶 (cellulosome enzyme)、糖基水解酶家族 10 (glycosyl hydrolase family 10) (表 1)。

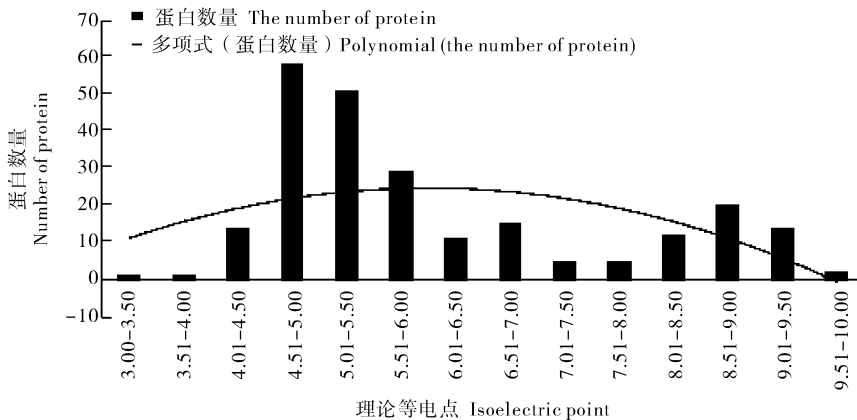


图 1 希金斯炭疽菌中 238 个 CAZymes 蛋白理论等电点的分布情况

Fig.1 The distribution of isoelectric point from 238 CAZymes in *C. higginsanum*

表 1 希金斯炭疽菌中不同酸碱度 CAZymes 蛋白的基本信息

Table 1 Basic information of CAZymes with different pH in *C. higginsanum*

| 分泌蛋白类型 Secreted protein species | 数量 Num. | 序号 No. | 蛋白 GI Protein GI | 理论等电点 pI 值 Theoretical isoelectric point | 预测功能 Prediction function |
|---------------------------------------|------------|-----------|---------------------|--|---|
| 酸性蛋白 Acidic protein | 15 | 1 | CH063_04323 | 4.42 | 结构域包含的蛋白 LysM Domain-containing protein LysM |
| | | 2 | CH063_09943 | 4.50 | 假定蛋白 Hypothetical protein |
| | | 3 | CH063_06886 | 4.53 | 枯草菌溶素 Subtilisin Carlsberg |
| | | 4 | CH063_04035 | 4.62 | 糖基水解酶家族 76 Glycosyl hydrolase family 76 |
| | | 5 | CH063_07792 | 4.67 | 核酸内切酶/核酸外切酶/磷酸酶 Endonuclease/exonuclease/phosphatase |
| | | 6 | CH063_02856 | 4.79 | 氧化还原酶 GMC Oxidoreductase GMC |
| | | 7 | CH063_05743 | 4.91 | 假定蛋白 Hypothetical protein |
| | | 8 | CH063_00845 | 5.07 | α -葡萄糖醛酸酶 A α -Glucuronidase A |
| | | 9 | CH063_01926 | 5.11 | 结构域包含蛋白 Kelch domain-containing protein kelch |
| | | 10 | CH063_06734 | 5.16 | 海藻糖酶 Trehalase |
| | | 11 | CH063_08007 | 5.17 | 胆碱氧化还原酶 Glucose-methanol-cholineoxidoreductase |
| | | 12 | CH063_05474 | 5.25 | 碱性蛋白酶 Alkaline proteinase |
| | | 13 | CH063_14945 | 5.31 | 糖基水解酶家族 43 Glycosyl hydrolase family 43 |
| | | 14 | CH063_09437 | 5.63 | 内切葡聚糖酶-6B Endoglucanase-6B |
| | | 15 | CH063_05244 | 5.79 | 过敏原 Asp F7 Allergen Asp F7 |
| 中性蛋白 Neutral protein | 4 | 16 | CH063_12008 | 6.18 | 糖基水解酶家族 7 Glycosyl hydrolase family 7 |
| | | 17 | CH063_10680 | 6.35 | 坏死诱导蛋白 Necrosis inducing protein |
| | | 18 | CH063_08202 | 6.92 | 多聚半乳糖 Polygalacturonase |
| | | 19 | CH063_07451 | 6.94 | 内切葡聚糖酶 Endoglucanase |
| 碱性蛋白 Basic protein | 5 | 20 | CH063_00224 | 8.04 | 假定蛋白 Hypothetical protein |
| | | 21 | CH063_07368 | 8.67 | 果胶裂解酶 Pectate lyase |
| | | 22 | CH063_06211 | 8.74 | 果胶裂解酶 Pel-34K Pectate lyase Pel-34K |
| | | 23 | CH063_00184 | 8.76 | 纤维素酶 Cellulosome enzyme |
| | | 24 | CH063_10587 | 9.49 | 糖基水解酶家族 10 Glycosyl hydrolase family 10 |

同时,对上述 24 个 CAZymes 蛋白的相对分子质量、分子式等理化性质进行进一步分析,结果表明:

(1)就所预测的 CAZymes 蛋白所具有的不稳定系数而言,上述蛋白中除 GI 号为 CH063_04323、CH063_09943、CH063_05743、CH063_14945、CH063_05244、CH063_07451、CH063_00224 的蛋白为不稳定性蛋白外,其他均为稳定性蛋白(表 2);

(2)就所预测的 CAZymes 蛋白所具有的脂肪族氨基酸指数(Ai)而言,Ai 指数可以作为评价蛋白

质热稳定性的一个指标,该数值越高,表明蛋白质的热稳定性越高,不同的 CAZymes 蛋白所具有的 Ai 指数不尽相同,范围为 59.07~95.54,其中,CH063_10587 具有最高的 Ai 指数,为 95.54,而 CH063_12008 具有最低的 Ai 指数,为 59.07(表 2);

(3)上述蛋白的半衰期均为 30 h,并无明显差别(表 2);

(4)就上述蛋白的亲水性而言,除 CH063_05474 总平均亲水性大于 0,属于疏水性蛋白外,其他均属于亲水性蛋白(表 2)。

表2 希金斯炭疽菌中 CAZymes 蛋白的理化性质
Table 2 The physicochemical properties of CAZymes in *C. higginsanum*

| 序号 No. | 蛋白 GI Protein GI | 理论等 电点 pI 值 Theoretical isoelectric point | 相对分 子质量 Relative molecular mass | 分子式 Formula | 半衰期/h Half-life | 不稳定性 系数 Instability coefficient | 脂肪族氨 基酸指数 Aliphatic amino acid index | 总平均亲水性 (GRAVY) The total average hydrophilic |
|-----------|---------------------|---|---|---|--------------------|--|--|--|
| 1 | CH063_04323 | 4.42 | 32 972.6 | C ₁₄₂₈ H ₂₁₇₆ N ₃₈₀ O ₄₇₃ S ₂₃ | 30 | 43.78 | 72.62 | -0.271 |
| 2 | CH063_09943 | 4.50 | 13 537.9 | C ₅₉₀ H ₉₂₅ N ₁₆₁ O ₂₀₀ S ₂ | 30 | 44.18 | 86.95 | -0.209 |
| 3 | CH063_06886 | 4.53 | 50 839.2 | — | 30 | 29.82 | 80.35 | -0.105 |
| 4 | CH063_04035 | 4.62 | 31 617.2 | C ₁₄₂₆ H ₂₀₉₈ N ₃₆₆ O ₄₂₉ S ₁₂ | 30 | 27.66 | 69.20 | -0.156 |
| 5 | CH063_07792 | 4.67 | 70 080.8 | C ₃₁₄₇ H ₄₈₇₈ N ₈₂₄ O ₉₇₁ S ₉ | 30 | 35.89 | 92.80 | -0.008 |
| 6 | CH063_02856 | 4.79 | 63 451.4 | — | 30 | 20.77 | 88.63 | -0.051 |
| 7 | CH063_05743 | 4.91 | 54 803.4 | C ₂₄₂₆ H ₃₇₁₄ N ₆₅₀ O ₇₅₇ S ₂₂ | 30 | 43.16 | 70.55 | -0.293 |
| 8 | CH063_00845 | 5.07 | 93 427.7 | C ₄₂₀₄ H ₆₃₈₉ N ₁₁₂₅ O ₁₂₆₂ S ₁₇ | 30 | 28.64 | 84.94 | -0.246 |
| 9 | CH063_01926 | 5.11 | 76 909.0 | C ₃₃₉₄ H ₅₂₀₉ N ₉₃₃ O ₁₀₅₆ S ₂₉ | 30 | 28.67 | 73.44 | -0.224 |
| 10 | CH063_06734 | 5.16 | 75 994.3 | C ₃₄₁₇ H ₅₂₂₃ N ₉₁₁ O ₁₀₃₂ S ₁₃ | 30 | 37.67 | 80.22 | -0.382 |
| 11 | CH063_08007 | 5.17 | 21 034.3 | C ₉₃₂ H ₁₄₀₉ N ₂₅₅ O ₂₉₁ S ₆ | 30 | 42.11 | 72.28 | -0.172 |
| 12 | CH063_05474 | 5.25 | 41 300.9 | C ₁₈₂₉ H ₂₈₆₁ N ₄₉₇ O ₅₈₉ S ₂ | 30 | 20.79 | 85.67 | 0.025 |
| 13 | CH063_14945 | 5.31 | 32 010.5 | C ₁₄₄₅ H ₂₁₄₉ N ₃₈₁ O ₄₃₇ S ₅ | 30 | 40.52 | 74.43 | -0.344 |
| 14 | CH063_09437 | 5.63 | 42 158.2 | C ₁₈₈₈ H ₂₈₈₁ N ₅₂₁ O ₅₆₆ S ₇ | 30 | 27.34 | 79.20 | -0.283 |
| 15 | CH063_05244 | 5.79 | 30 332.8 | C ₁₃₂₄ H ₂₀₇₇ N ₃₆₁ O ₄₃₅ S ₁₀ | 30 | 57.14 | 60.62 | -0.336 |
| 16 | CH063_12008 | 6.18 | 47 287.7 | C ₂₀₆₂ H ₃₁₃₇ N ₅₇₁ O ₆₅₄ S ₂₈ | 30 | 21.86 | 59.07 | -0.290 |
| 17 | CH063_10680 | 6.35 | 31 377.3 | — | 30 | 25.91 | 62.85 | -0.474 |
| 18 | CH063_08202 | 6.92 | 47 241.6 | C ₂₀₉₁ H ₃₂₈₀ N ₅₇₆ O ₆₃₆ S ₁₈ | 30 | 33.05 | 86.68 | -0.176 |
| 19 | CH063_07451 | 6.94 | 22 894.3 | C ₉₉₄ H ₁₅₃₉ N ₂₈₃ O ₃₂₄ S ₈ | 30 | 41.49 | 64.25 | -0.148 |
| 20 | CH063_00224 | 8.04 | 46 553.1 | C ₁₉₉₄ H ₃₂₃₁ N ₅₃₇ O ₆₉₃ S ₂₃ | 30 | 41.35 | 59.14 | -0.239 |
| 21 | CH063_07368 | 8.67 | 24 513.0 | — | 30 | 18.05 | 79.92 | -0.068 |
| 22 | CH063_06211 | 8.74 | 33 918.7 | C ₁₄₈₈ H ₂₃₃₁ N ₄₂₅ O ₄₇₄ S ₅ | 30 | 14.14 | 77.75 | -0.299 |
| 23 | CH063_00184 | 8.76 | 48 528.6 | — | 30 | 24.31 | 73.22 | -0.119 |
| 24 | CH063_10587 | 9.49 | 36 703.1 | C ₁₆₅₁ H ₂₆₀₇ N ₄₆₃ O ₄₇₁ S ₇ | 30 | 29.5 | 95.54 | -0.082 |

注：“—”表示未能预测出分子式。Note：“—” indicates that the molecular formula cannot be predicted.

3 讨论

本研究明确希金斯炭疽菌 CAZymes 蛋白(238 个)占全部分泌蛋白(658 个)的比例为 36.17%，并对前期所获得的 238 个 CAZymes 蛋白进行了理化性质分析,明确近 2/3 的 CAZymes 蛋白的理论等电点均小于 6.00,属于酸性蛋白。同时,通过随机选择 10%的 CAZymes 蛋白进行理化性质分析,明确上述蛋白的相对分子质量、分子式、半衰期、不稳定性系数、脂肪族氨基酸指数、总平均亲水性等基本理化性质。该研究为进一步解析希金斯炭疽菌

CAZymes 蛋白在该菌侵染和操控植物提供了重要的理论基础。

前期笔者所在研究小组在对禾谷炭疽菌 CAZymes 进行理化性质分析过程中,也发现近 2/3 的 CAZymes 蛋白的理论等电点均小于 6.00 等现象^[16-17],存在这么多理论等电点小于 6.00 的蛋白或者这些 CAZymes 蛋白多数属于酸性蛋白,同时,大多数蛋白均属于亲水性蛋白,在侵染植物过程中发挥什么作用以及后期操控植物防卫方面具有什么特殊功能,均有待于今后进一步通过生物学试验进行验证。

此外,本研究与前人报道不仅在 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^[18]。前人对核盘菌开展 CAZymes 编码基因的表达模式进行了分析,明确 501 个 CAZymes 蛋白中有 315 个在不同的生长发育阶段受到显著调控(与菌丝生长阶段相比),同时,明确 CAZymes 在侵染阶段表现出多样化的表达模式^[19]。笔者通过 Cluster W、MEGA 等聚类分析软件对于希金斯炭疽菌中 238 个 CAZymes 蛋白进行了聚类分析,然而,并未发现具有明显的聚类倾向(数据未显示),有待于进一步获取基因芯片数据进行深入解析,以期解析不同 CAZymes 蛋白所发挥的功能。学术界对于植物病原真菌、拮抗菌等真菌中 CAZymes 蛋白的研究尚缺乏深入细致的研究,有待进一步开展后续研究^[20]。

目前,与 *C. higginsanum* 同为炭疽菌属的植物病原真菌——胶孢炭疽菌(*Colletotrichum gloeosporioides*),同样此病原菌也可以引起诸如葡萄、橡胶、芒果等多种农林作物上的炭疽病,其对多菌灵的抗药性受到国内学者的广泛关注^[21-25],而生产上尚未有新的有效药剂用于上述炭疽病的防治。同时,前期本研究小组对 *C. higginsanum*、里氏木霉等分泌蛋白开展了预测分析^[26],以及对黄单胞菌 *Xanthomonas campestris* pv. *raphani* 756C 中 VI 型分泌蛋白开展预测及生物信息学分析^[27],然而,目前学术界针对 *C. higginsanum* 开展 CAZymes 及分泌蛋白功能的研究鲜有报道。因此,对于希金斯炭疽菌 CAZymes 及分泌蛋白展开深入研究,有助于为进一步找寻新型作用靶标的药剂提供重要的指导作用。

此外,前人研究发现 Ai 指数往往受到氨基酸组成中丙氨酸(Ala)、缬氨酸(Val)、异亮氨酸(Ile)和亮氨酸(Leu)4 种脂肪族氨基酸比例的影响^[28],本研究中发现 CH063_10587 蛋白中含有上述氨基酸的组成数量为 119 个,所占比例高达 35.7%,而 CH063_12008 蛋白中含有上述氨基酸组成数量为 111 个,所占比例仅为 25.0%,与前人报道相同。

参 考 文 献

- [1] 韩长志,许僖.植物病原丝状真菌分泌蛋白及 CAZymes 的研究进展[J].南京林业大学学报(自然科学版),2017,41(5):152-160.
- [2] SCHMIDT S M, PANSTRUGA R. Pathogenomics of fungal plant parasites: what have we learnt about pathogenesis? [J]. Current biology, 2011, 14(4): 392-399.
- [3] CANTAREL B L, COUTINHO P M, RANCUREL C, et al. The carbohydrate-active enzymes database (CAZy): an expert resource for glycogenomics [J]. Nucleic acids research, 2009, 37 (Database issue): 233-238.
- [4] PARK B H, KARPINETS 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.
- [5] LOMBARD V, GOLACONDA RAMULU H, DRULA E, et al. The carbohydrate-active enzymes database (CAZy) in 2013 [J]. Nucleic acids research, 2014, 42 (Database issue): 490-495.
- [6] 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.
- [7] 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(5):100-102,149.
- [8] 梁惠凌,唐辉.广西常见花卉真菌性病害的防治[J].广西园艺,2002(2):18-19.
- [9] HYDE K, CAI L, CANNON P, et al. *Colletotrichum*-names in current use [J]. Fungal diversity, 2009(39):147-182.
- [10] 原田.希金斯刺盘孢 Ch-DES1 和 Ch-STE12 基因的功能分析 [D].武汉:华中农业大学,2016.
- [11] 张华,周而勋,刘自珠,等.菜心炭疽病苗期抗病性鉴定技术[J].华南农业大学学报,1998,19(3):50-53.
- [12] 韩长志.希金斯炭疽菌 G 蛋白信号途径绘制及相关蛋白生物信息学分析 [M].北京:中国林业出版社,2016.
- [13] 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.
- [14] 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.
- [15] GASTEIGER E, HOOGLAND C, GATTIKER A, et al. Protein identification and analysis tools on the ExPASy server [M]. New Jersey: Humana Press, 2005: 571-607.
- [16] 韩长志.基于全基因组测序的禾谷炭疽菌中碳水化合物酶类蛋白预测 [J].河南师范大学学报(自然科学版),2016,44(4):118-124.
- [17] 韩长志,许僖.禾谷炭疽菌碳水化合物酶类蛋白注释及其理化性质分析 [J].河南师范大学学报(自然科学版),2017,45(3):48-52.
- [18] 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]. Nat Genet, 2012, 44(9):1060-1065.
- [19] 吕学良.比较基因组、转录组和基因功能研究揭示核盘菌致病和发育的分子机理 [D].武汉:华中农业大学,2015.

- [20] 韩长志, 许僖. 粘绿木霉 Gv29-8 的碳水化合物活性酶类蛋白预测及遗传关系分析[J]. 华中农业大学学报, 2017, 36(5): 39-44.
- [21] 李洋. 辽宁葡萄炭疽病菌对多菌灵抗药性研究[D]. 兰州: 甘肃农业大学, 2009.
- [22] 曹学仁, 车海彦, 杨毅, 等. 2014 年海南省橡胶炭疽病菌对多菌灵和咪鲜胺的敏感性测定[J]. 植物病理学报, 2015, 45(6): 626-631.
- [23] 詹儒林, 郑服从. 芒果炭疽病菌 β -微管蛋白基因的克隆及其与多菌灵抗药性发生的关系[J]. 微生物学报, 2004, 44(6): 827-829.
- [24] 张新怡, 李雪, 高兆银. 热带亚热带水果胶孢炭疽菌对多菌灵的抗药性测定[J]. 热带农业科学, 2014, 34(11): 71-74.
- [25] 张令宏, 李敏, 高兆银, 等. 抗多菌灵的芒果炭疽病菌的杀菌剂筛选及其交互抗性测定[J]. 热带作物学报, 2009(3): 347-352.
- [26] 韩长志, 王娟. 基于全基因组序列预测里氏木霉 QM6a 的分泌蛋白[J]. 华中农业大学学报, 2017, 36(2): 28-32.
- [27] 韩长志, 王娟. 黄单胞菌 *Xanthomonas campestris* pv. *raphani* 756C 中 VI 型分泌蛋白的生物信息学分析[J]. 华中农业大学学报, 2016, 35(4): 42-48.
- [28] 卢柏松, 王国力, 黄培堂. 嗜热与嗜常温微生物的蛋白质氨基酸组成比较[J]. 微生物学报, 1998, 38(1): 20-25.

Physicochemical properties of CAZymes protein in *Colletotrichum higginsianum*

HAN Changzhi ZHU Youpeng

College of Biodiversity Conservation and Utilization, Southwest Forestry University/
The Key Laboratory of Forest Disaster Warning and Control of Yunnan Province,
Kunming 650224, China

Abstract To identify the function of CAZymes proteins in *Colletotrichum higginsianum*, the physical and chemical properties were analyzed based on the 238 CAZymes proteins sequence. The results showed that the protein isoelectric point was less than 6 in nearly two-thirds proteins, belonging to acidic protein. Ten percent of the sample proteins were then screened by the random number software, to define the molecular mass, the molecular formula, half-life, the instability factor, aliphatic amino acid index, and total average hydrophilicity properties of secreted protein from different theoretical isoelectric point category.

Keywords *Colletotrichum higginsianum*; CAZymes; physicochemical property

(责任编辑:边书京)