

## 利用蛋白表达谱鉴定毛壳属真菌 2 个种的子囊果毛形态变异性

孙琴<sup>1,3</sup>, 刘小勇<sup>1</sup>, 王前<sup>2</sup>, 罗元明<sup>2\*</sup>, 王雪薇<sup>1\*</sup>

中国科学院微生物研究所,<sup>1</sup>真菌学国家重点实验室,<sup>2</sup>微生物资源前期开发国家重点实验室,北京 100101,<sup>3</sup>中国科学院研究生院,北京 100049

**摘要:**【目的】毛壳属真菌的子囊果毛形态曾是重要的分类性状,但因容易发生变异,在现代毛壳属的分类中它们的分类学价值受到质疑。印度毛壳 (*Chaetomium indicum*) 和绳生毛壳 (*Chaetomium funicola*) 是 2 个依据子囊果毛形态差异定义的物种,本研究旨在从蛋白表达谱水平认识这 2 个种的差异及其子囊果毛的变异性,同时探讨蛋白表达谱在真菌分类中的应用价值。【方法】通过形态学观察获得印度毛壳和绳生毛壳典型菌株和子囊果毛形态变异菌株,利用双向电泳技术对典型菌株和变异菌株的蛋白表达谱进行分析和比较。【结果】双向电泳 (2DE) 图谱特征反映出印度毛壳和绳生毛壳之间的蛋白表达谱差异明显。根据 Neighbor-joining (NJ) 算法生成的系统发育树进一步显示印度毛壳和绳生毛壳分别聚在 2 个不同分支,即同一种的典型菌株和变异菌株聚在一起。【结论】依据子囊果毛形态特征和种特异性的蛋白表达谱特征对印度毛壳和绳生毛壳的分类结果是一致的,表明子囊果毛特征仍然是毛壳属真菌分类的重要指标。

**关键词:** 双向电泳, 蛋白表达谱, 毛壳属, 分类

中图分类号: Q939 文献标识码: A 文章编号: 0001-6209 (2012) 10-1203-07

毛壳属 (*Chaetomium* Kunze) 是一类能够降解纤维素的真菌,具有复杂的形态多样性。依据子囊果毛等特征,属内迄今已有 400 多个种被描述<sup>[1]</sup>。但由于子囊果毛容易变异,目前的毛壳属分类学观点弱化了子囊果毛的分类学价值<sup>[2-3]</sup>,将许多主要依据子囊果毛差异描述的种合并,仅承认了其中不到 100 个种。但这一分类学变化还缺乏系统学证据。印度毛壳 (*Chaetomium indicum* Corda) 和绳生毛壳 (*Chaetomium funicola* Cooke) 是仅依据子囊果毛形态差异定义的两个种<sup>[1]</sup>: *C. indicum* 被描述为产生具有丰富二叉分枝的子囊果毛; *C. funicola* 具有两

种类型的子囊果毛,一种较长,刚毛状,仅在顶端偶尔分枝,另一种较短,多次二叉分枝。

我们的形态学研究发现,毛壳属专著性研究<sup>[2]</sup>所依据的一株 *C. indicum* 子囊果毛丧失了分枝特性,仅呈刚毛状,而另一株 *C. funicola* 的一些子囊果上所有果毛都呈多次二叉分枝。这些形态变异似乎动摇了这 2 个种的定义,因而促使我们深入探讨依据子囊果毛对 *C. indicum* 和 *C. funicola* 进行分类的合理性,并重新评估子囊果毛在毛壳属分类中的价值。

作为经典而成熟的分离技术,双向电泳 (2DE)

基金项目: 国家自然科学基金 (30570007); 国家科技部项目 (2006FY120100)

\* 通信作者。E-mail: luoym@im.ac.cn; wangxw@im.ac.cn

作者简介: 孙琴 (1983 -), 女, 湖北人, 硕士研究生。E-mail: sunq512@163.com

收稿日期: 2012-04-24; 修回日期: 2012-05-10

能够在凝胶上显示成百上千个基因的表达产物,从而提供了有价值的整体遗传信息。该技术已被广泛用于区分紫贻贝 (*mytilus*) 的种、亚种和种群<sup>[4]</sup>,鉴别狗鳕 (*hake*) 种<sup>[5]</sup>,确立灵长类动物 (hominoid primate)<sup>[6]</sup> 和果蝇 (*drosophila*)<sup>[7]</sup> 等的种间系统发育关系。2DE 还被用于植物的系统发育研究,例如小麦亚族 (*triticinae*)<sup>[8]</sup> 和 *Globodera pallida*<sup>[9]</sup>。但至今未见 2DE 在真菌系统分类学中应用的报道。鉴于子囊果高度变异导致对毛壳属种鉴定的困难,本研究尝试采用 2DE 技术,从蛋白质表达谱的角度分析 *C. indicum* 和 *C. funicola* 之间的关系,及其形态变异的遗传背景,同时确定双向电泳蛋白质表达谱在真菌分类中的应用价值。

## 1 材料和方法

### 1.1 材料

表 1 本研究所用菌株

Table 1 Taxa used in this study

Species	Voucher information	Origin	Spot number in 2DE gels
<i>C. indicum</i>	CBS860.68	Air, Germany	478
<i>C. indicum</i>	CBS212.74	Dung of herbivore, Kenya	370
<i>C. indicum</i>	CGMCC3.14184	Soil, Wenshan, Yunnan, China	489
<i>C. funicola</i>	CBS158.52	-	506
<i>C. funicola</i>	CGMCC3.9459	Discarded shoe, Taibai, shaanxi, China.	394
<i>C. funicola</i>	CGMCC3.9466	Soil, Wenshan, Yunnan, China	502

**1.1.2 主要试剂和仪器:** DTT、SDS、尿素、硫脲、碘乙酰胺、考马斯亮蓝染色试剂 (PhastGel Blue R)、蛋白质定量试剂盒 (2-D Quant Kit)、蛋白酶抑制剂混合物 (Protease inhibitor Mix)、pH 3-10 非线性 IPG 胶条等均购自 GE Healthcare 公司 (UPPSala, Sweden); 蛋白提取试剂 C7BzO、核酸酶混合物 (Nuclease Mix) 及其他超纯试剂购自美国 Sigma 公司。主要仪器有 Ettan IPGphor 3 system 等电聚焦仪 (GE Healthcare 公司)、垂直板电泳系统 (Bio-Rad 公司)、ImageScanner III scanner 扫描仪 (GE Healthcare 公司)、ImageMaster 2D Platinum 6.0 分析软件 (GE Healthcare 公司)。

### 1.2 蛋白质提取

总蛋白提取方法参考文献中所报道的 TCA/丙酮沉淀法<sup>[10]</sup>,并依据真菌的菌体特征作了相应修改。将 50 毫克菌丝体粉末悬于 10 mmol/L 磷酸钾缓冲液 (0.07% DTT, 1% Nuclease Mix 和 1%

**1.1.1 菌株和形态:** 研究材料包括 *C. indicum* 2 个具典型形态特征的菌株和 1 个变异菌株, *C. funicola* 2 个典型菌株和 1 个变异菌株 (图 1)。其中菌株 CBS 860.68, CBS 212.74 (变异) 及 CBS 158.52 (变异) 购自荷兰国际微生物菌种保藏中心 (Centraalbureau voor Schimmelcultures, Utrecht, Netherlands, CBS), 且均为毛壳属世界专著 “The Ascomycete Genus *Chaetomium*” 中 2 个种形态描述依据的菌株<sup>[2]</sup>。其他菌株 (CGMCC 3.14184, CGMCC 3.9459 和 CGMCC 3.9466) 则分离自中国, 并保存于中国科学院微生物研究所中国普通微生物菌种保藏管理中心 (China General Microbiological Culture Collection Centre, CGMCC)。所有供试菌株均采用标准方法<sup>[2]</sup>接种于玉米粉 (3%) 琼脂培养基 (CMA), 在 25℃ 下于暗处培养, 直至子囊果成熟。子囊果和子囊果毛的形态特征通过光学显微镜观察获得。

Protease Inhibitor Mix, pH 7.4)。20000 × g 离心 15 min, 取上清, 然后加入 3 倍体积含 10% TCA 和 0.07% DTT 的预冷丙酮溶液, 在 -20℃ 下沉淀过夜。在 4℃ 下 20000 × g 离心 15 min, 用含 0.07% DTT 的预冷丙酮洗涤沉淀 2 次, 再用含 0.07% DTT 的 80% 丙酮洗涤 1 次。将获得的沉淀在室温下风干 10 min, 然后溶解于 300 μL 的裂解液 (7 mol/L 尿素, 2 mol/L 硫脲, 1% C7BzO, 20 mmol/L Tris, 20 mmol/L DTT, 1% Nuclease Mix 和 1% Protease Inhibitor Mix)。在 16℃ 下 20000 × g 离心 30 min, 收集上清。用 2-D Quant Kit 试剂盒 (GE Healthcare) 测定蛋白浓度, 并将样品分装储存于 -80℃ 备用。

### 1.3 双向电泳

每个菌株取 350 μg 蛋白, 分别上样于 pH 3-10 的非线性 IPG 胶条 (18 cm; GE Healthcare), 并用 Ettan IPGphor 3 system 等电聚焦仪 (GE Healthcare) 进行第一向等电聚焦电泳, 总伏特小时数为 85 kVh。

等电聚焦程序如下: 30 v 下进行 IPG 胶条重泡胀 12 h, 然后 100 v 下 1 h, 500 v 下 1 h, 1000 v 下 1 h, 在 1 h 内梯度上升至 4000 v, 然后在 1 h 内梯度上升至 8000 v, 最后在 8000 v 下保持 10 h。等电聚焦后, 先将胶条在含 1% DTT 的平衡液 (6 mol/L 尿素, 30% 甘油, 2% SDS, 50 mmol/L Tris-HCl, 1% DTT, pH 6.8) 中平衡 15 min, 然后在含 2.5% 碘乙酰胺的平衡液 (6 mol/L 尿素, 30% 甘油, 2% SDS, 50 mmol/L Tris-HCl, 2.5% (w/v) 碘乙酰胺, pH 6.8) 中平衡 15 min。将胶条转移到 12% 的变性 SDS 聚丙烯酰胺凝胶进行第二向垂直板电泳。电泳结束后, 用溶解于甲醇/乙酸/蒸馏水 (3/1/6 的体积比) 溶液中的考马斯蓝 R 350 (0.02% PhastGel Blue R, GE Healthcare) 对凝胶进行染色。采用 ImageScanner III scanner (GE Healthcare) 扫描仪对凝胶图像进行扫描。

#### 1.4 蛋白表达谱的统计学分析

为了比较不同菌株的蛋白表达谱特征, 每个菌株至少获得 3 张重复性较好的凝胶电泳图谱。使用 ImageMaster 2D Platinum 6.0 软件 (GE healthcare) 对电泳图谱进行分析。首先利用每个菌株的 3 张重复的 2D 胶图谱进行合成胶制备, 将 3 张 2D 胶图谱中均出现的蛋白点保留在合成胶图谱中。对于仅在某

1 张或某 2 张图谱中出现的蛋白点, 在排除假阳性的前提下, 且肉眼观察为明显的蛋白点的也保留在合成胶图谱中。假阳性蛋白点通过设置显著性 (saliency) 和最小面积 (minimum area) 值来排除。对 6 个菌株的合成胶图谱进行蛋白点自动匹配和手动匹配, 统计出相应的蛋白点数。然后根据蛋白点的存在与否计算菌株间的 Jaccard 距离指数 ( $D_j$ )<sup>[11]</sup>。在统计学分析中未考虑蛋白点表达量的差异, 而只考虑蛋白斑点的出现与否。距离指数  $D_j$  的计算公式如下<sup>[11]</sup>:

$$D_j = 1 - n_{xy} / (n_{xy} + n_{x_0} + n_{y_0})$$

其中  $n_{xy}$  是 2 个菌株的合成胶图谱中共有的蛋白点数,  $n_{x_0}$  是仅存在于其中 1 个菌株的合成胶图谱中的蛋白点数, 而  $n_{y_0}$  是仅存在于另 1 个菌株的合成胶图谱中的蛋白点数。根据以上公式所计算出的距离矩阵, 用 PAUP\* 4.0 b8 软件<sup>[12]</sup> 和 Neighbor-joining (NJ) 算法生成系统发育树。

## 2 结果

### 2.1 菌株的形态学特征

新分离自中国的菌株 CGMCC 3.14184 (图 1-C) 具有典型的 *C. indicum* 形态特征, 即具有丰富二叉

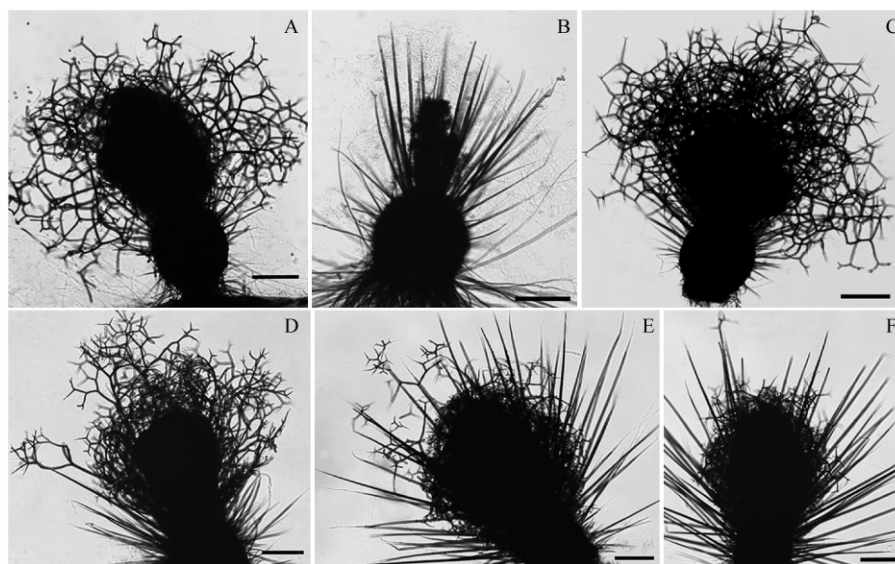


图 1 印度毛壳 (*C. indicum*) 和绳生毛壳 (*C. funicola*) 子囊果毛的典型形态特征和变异

Fig.1 Morphologies and their variation of ascematal hairs occurring in *C. indicum* and *C. funicola*. A: Typical morphology of *C. indicum* (CBS 860.68); B: Variation of *C. indicum* (CBS 212.74); C: Typical morphology of *C. indicum* (CGMCC 3.14184); D: Variation of *C. funicola* (CBS 158.52); E: Typical morphology of *C. funicola* (CGMCC 3.9459); F: Typical morphology of *C. funicola* (CGMCC 3.9466). Bars = 100  $\mu$ m.

分枝的子囊果毛,而菌株 CGMCC 3.9459 (图 1-E) 和 CGMCC 3.9466 (图 1-F) 具有典型的 *C. funicola* 形态特征,即具有两种类型的子囊果毛,一种较长,刚毛状,仅在顶端偶尔分枝,另一种较短,多次二叉分枝。来自荷兰国际微生物菌种保藏中心(CBS)的 3 个菌株均为毛壳属专著“*The Ascomycete Genus Chaetomium*”中 2 个种形态描述所依据的权威菌株<sup>[2]</sup>。其中 *C. indicum* 菌株 CBS 860.68 仍保持典型物种形态特征(图 1-A),但菌株 CBS 212.74 的子囊果毛丧失了分枝特性,仅呈现刚毛状(图 1-B)。*C. funicola* 菌株 CBS 158.52 的部分子囊果则变异为所有的附属毛都呈多次二叉分枝(图 1-D)。这些子囊果形态变异,与 *C. indicum* 和 *C. funicola* 这两个种原始形态描述相矛盾,因而我们将借助新的方法,即 2DE 方法对这 2 个种的概念进行检验。

## 2.2 蛋白质表达谱分析

对于每个菌株,至少获得 3 张重复 2DE 胶图谱,用于生成合成胶图谱。每个菌株在合成胶图谱中的蛋白点数见表 1。6 个供试菌株的代表性 2DE 图谱见图 2。如图 2 所示,所获得的 2DE 图谱具有良好的分辨率和重复性,印度毛壳(*C. indicum*) 菌株呈现了相似的蛋白斑点分布模式,如区域‘a’和‘b’。*C. funicola* 菌株也呈现相似的蛋白斑点分布模式,如区域‘c’和‘d’。进一步根据 2DE 图谱中蛋白斑点的存在与分布计算出的各菌株间的距离指数  $D_j$ ,得到距离矩阵(见表 2)。表中左上角虚线框中 3 个 *C. funicola* 菌株之间亲缘关系的距离值和右下角虚线框中 3 个 *C. indicum* 菌株之间亲缘关系的距离值均较小,即亲缘关系较近。基于该距离矩阵,运用 NJ 法构建了 6 个菌株蛋白表达谱的系统发育树(图 3)。图中明显分出了 2 个分枝,将 *C. indicum* 和 *C. funicola* 清晰地分开。

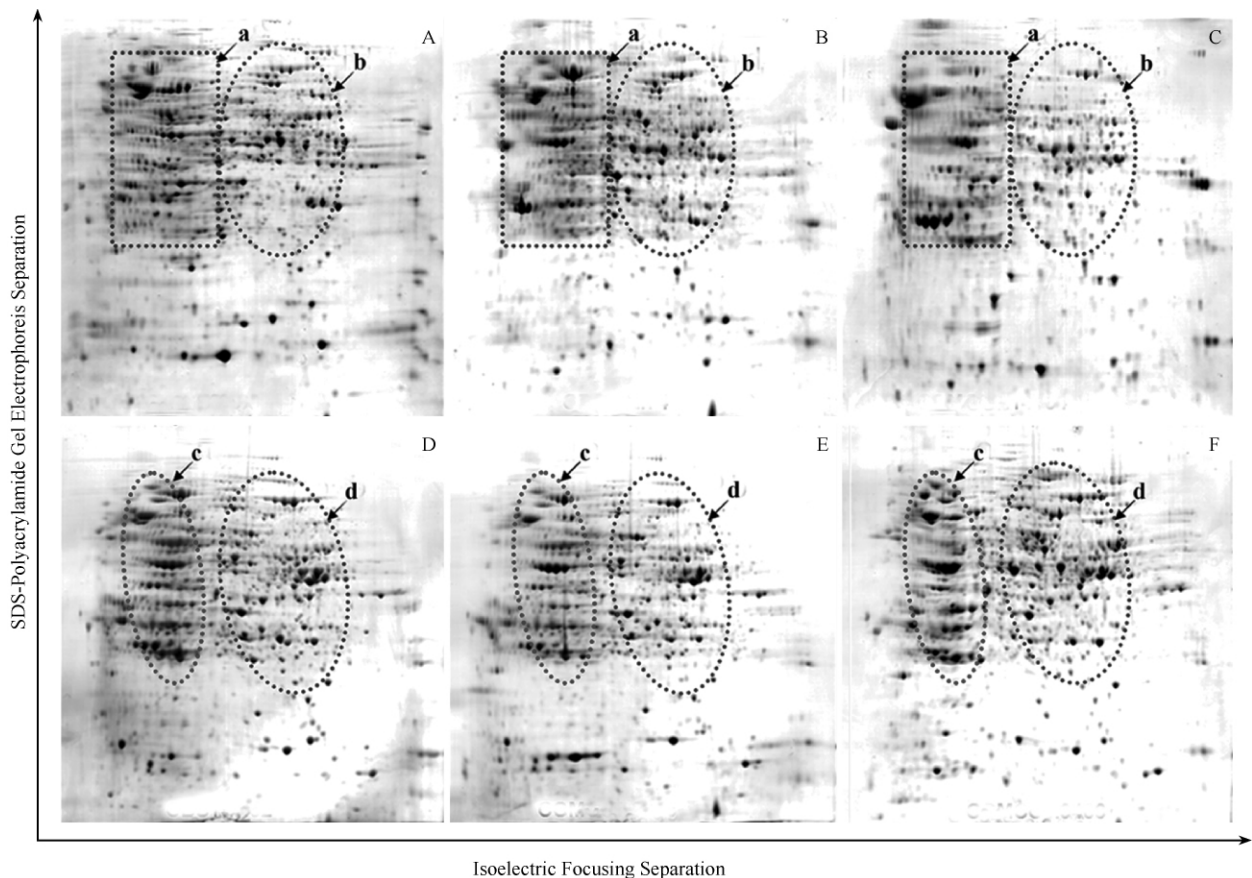


图 2 六个供试菌株的代表性 2DE 图谱

Fig. 2 Representative 2DE maps of the six strains. Nonlinear IPG strips of pI 3 – 10 were used for the isoelectric focusing in the first dimensional separation. SDS-polyacrylamide gel electrophoresis is used for the second dimensional separation. A: *C. indicum*, CBS 860.68; B: *C. indicum*, CBS 212.74; C: *C. indicum*, CGMCC 3.14184; D: *C. funicola*, CBS 158.52; E: *C. funicola*, CGMCC 3.9459; F: *C. funicola*, CGMCC 3.9466.

表 2 供试菌株之间的距离指数 (Dj) 矩阵

Table 2 Matrix of distance indices (Dj) of six strains

	CBS158. 52	CGMCC3. 9459	CGMCC3. 9466	CBS212. 74	CBS860. 68
CBS158. 52					
CGMCC3. 9459	0.525				
CGMCC3. 9466	0.629	0.653			
CBS212. 74	0.858	0.787	0.787		
CBS860. 68	0.917	0.712	0.824	0.732	
CGMCC3. 14184	0.947	0.747	0.781	0.750	0.731

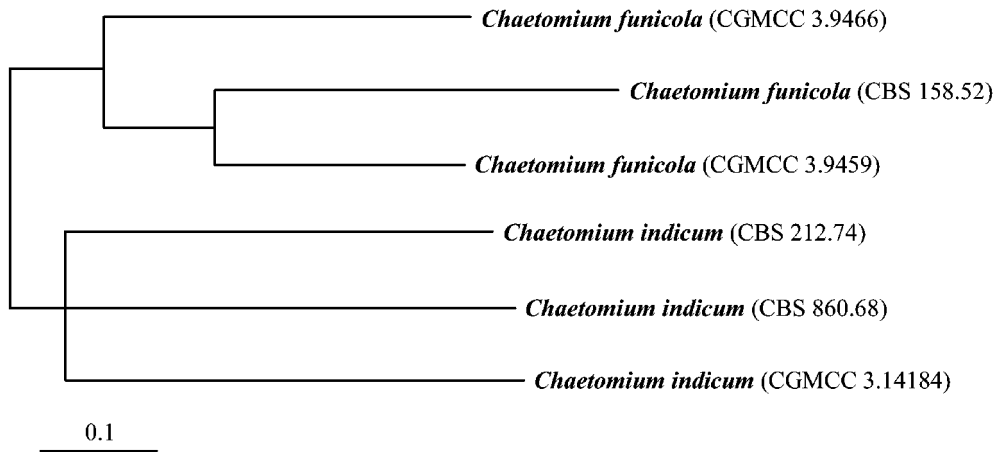


图 3 基于距离矩阵 (表 2) 和 NJ 算法构建的系统树图

Fig. 3 Dendrogram constructed based on the distance matrix (Table 2) with the Neighbor-joining algorithm. The dendrogram was rooted using the midpoint method. CGMCC refers to China General Microbiological Culture Collection Centre. CBS refers to Centraalbureau voor Schimmelcultures, Utrecht, Netherlands. Numbers in parentheses represent the accession numbers of the strains in CGMCC or CBS. The scale bar represents 0.1 of unit of Jaccard distance index.

### 3 讨论

在毛壳属中, 较长而直立不分枝子囊果毛的存在被认为是 *C. funicola* 区别于 *C. indicum* 的唯一特征<sup>[1, 13-14]</sup>。我们的研究显示, *C. indicum* 和 *C. funicola* 具有明显不同的蛋白表达谱, 支持二者属于不同的种。形态学观察表明直接来自于自然生境的新鲜菌株, 其子囊果毛形态特征能够反映物种的特征, 可作为分种的依据。但长期保存和反复传代可导致部分菌株的子囊果毛发生变异, 这一结果验证了前人的观察<sup>[14]</sup>。通过比较变异菌株和典型菌株可知, 这类子囊果毛的变异并未导致菌株蛋白表达谱特征的明显改变。由此证明毛壳属真菌的双向电泳蛋白表达谱具有物种的特异性和稳定性, 可作为鉴定形态不稳定物种的有效辅助手段。同时也揭示出子囊果毛的形态特征在毛壳属分类中不容忽视。

目前, 18S、28S rDNA 和  $\beta$ -tubulin 基因的序列分析已用于毛壳属及其相关属分类中<sup>[15-20]</sup>, 但所涉及物种数量很有限。另一方面, 对于单个基因或少数几个基因的系统学分析是否反映整个生物体的进化历史还存在着争议<sup>[21-22]</sup>。随着真菌完整基因组信息的不断增加, 利用比较基因组或比较蛋白质组学方法确立真菌的系统发育关系成为可能<sup>[22-23]</sup>。但对于大多数的真菌物种而言, 现有的基因组数据不足以用来分析彼此间的系统发育关系。作为一种可能的替代手段, 2DE 已在植物和动物中用于确定不同类群, 尤其是种间和属之间的关系<sup>[11, 24-26]</sup>。在本研究中, 2DE 蛋白表达谱分析揭示出种内的相似性明显高于种间相似性, 初步证明了蛋白表达谱特征在真菌系统分类中的应用价值。然而, 2DE 劳动强度较大, 通量和效率较低, 不适合大批量菌株的分类研究, 因而不适合单独应用, 可考虑作为形态学及 DNA 分子系统学等方法的补充和验证。

**致谢** 感谢荷兰国际微生物菌种保藏中心(CBS)提供菌株培养物。同时感谢新疆农业大学硕士研究生刘富江同学对本研究给予的帮助。

## 参考文献

- [1] Anonymous. The CABI Bioscience Database of Fungal Names (Index Fungorum, <http://www.indexfungorum.org/Names/Names.Asp>, accessed on December 5, 2011), 2008.
- [2] Arx JA, Guarro J, Figueras MJ. The Ascomycete genus *Chaetomium*. *Beihfte Zur Nova Hedwigia*, 1986, 84: 1-162.
- [3] Kirk PM, Cannon PF, Minter DW, Stalpers JA. Ainsworth & Bisby's Dictionary of the Fungi. 10<sup>th</sup> eds. Wallingford: CAB International, 2008.
- [4] Lopez JL. Role of proteomics in taxonomy: the Mytilus complex as a model of study. *Journal of Chromatography B: Analytical technologies in the Biomedical and Life Sciences*, 2005, 815 (1-2): 261-274.
- [5] Piñeiro C, Vázquez J, Marina AI, Barros-Velázquez J, Gallardo JM. Characterization and partial sequencing of species-specific sarcoplasmic polypeptides from commercial hake species by mass spectrometry following two-dimensional electrophoresis. *Electrophoresis*, 2001, 22 (8): 1545-1552.
- [6] Goldman D, Giri PR, O'Brien S. A molecular phylogeny of the hominoid primates as indicated by two-dimensional protein electrophoresis. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 1987, 84 (10): 3307-3311.
- [7] Spicer GS. Molecular evolution among some *Drosophila* species groups as indicated by two-dimensional electrophoresis. *Journal of Molecular Evolution*, 1988, 27 (3): 250-260.
- [8] Thiellement H, Seguin M, Bahrman N, Zivy M. Homoeology and phylogeny of the A, S, and D genomes of the triticinae. *Journal of Molecular Evolution*, 1989, 29 (1): 89-94.
- [9] Fullaondo A, Vicario A, Aguirre A, Barrena I, Salazar A. Quantitative analysis of two-dimensional gel electrophoresis protein patterns: a method for studying genetic relationships among *Globodera pallida* populations. *Heredity*, 2001, 87 (3): 266-272.
- [10] Damerval C, de Vienne D, Zivy M, Thiellement H. Technical improvements in two-dimensional electrophoresis increase the level of genetic variation detected in wheat-seedling proteins. *Electrophoresis*, 1986, 7 (1): 52-54.
- [11] Marquès K, Sarazin B, Chané-Favre L, Zivy M, Thiellement H. Comparative proteomics to establish genetic relationships in the Brassicaceae family. *Proteomics*, 2001, 1 (11): 1457-1462.
- [12] Swofford DL. PAUP\*: phylogenetic analysis using parsimony (\* and other methods). Version 4.0b8, Sunderland, Massachusetts: Sinauer Associates, 2001.
- [13] Ames LM. A monograph of the Chaetomiaceae. Durham, North Carolina: Army Research office, 1963: 1-125.
- [14] Skolko AJ, Groves JW. Notes on seed-borne fungi V. *Chaetomium* species with dichotomously branched hairs. *Canadian Journal of Research*, 1948, 26c (3): 269-280.
- [15] Spatafora JW, Blackwell M. Cladistic analysis of partial ssrDNA sequences among unitunicate perithecial ascomycetes and its implications on the evolution of centrum development. // Hawksworth DL. *Ascomycetes Systematics, Problems and Perspectives in the Nineties*. New York: Plenum Press, 1994: 1-466.
- [16] Lee S, Hanlin RT. Phylogenetic relationships of *Chaetomium* and similar genera based on ribosomal DNA sequences. *Mycologia*, 1999, 91 (3): 434-442.
- [17] Untereiner WA, Débois V, Naveau FA. Molecular systematics of the ascomycete genus *Farrowia* (Chaetomiaceae). *Canadian Journal of Botany*, 2001, 79 (3): 321-333.
- [18] Huhndorf SM, Miller AN, Fernández FA. Molecular systematics of the Sordariales: the order and the family Lasiosphaeriaceae redefined. *Mycologia*, 2004, 96 (2): 368-387.
- [19] Greif MD, Stehigel AM, Huhndorf SM. A re-evaluation of genus *Chaetomidium* based on molecular and morphological characters. *Mycologia*, 2009, 101 (4): 554-564.
- [20] Asgari B, Zare R. The genus *Chaetomium* in Iran, a phylogenetic study including six new species. *Mycologia*, 2011, 103 (4): 863-882.
- [21] Boucher Y, Douady CJ, Papke RT, Walsh DA, Boudreau ME, Nesbo CL, Case RJ, Doolittle WF. Lateral gene transfer and the origins of prokaryotic groups. *Annual Review of Genetics*, 2003, 37: 283-328.
- [22] Fitzpatrick DA, Logue ME, Stajich JE, Butler G. A fungal phylogeny based on 42 complete genomes derived from supertree and combined gene analysis. *BMC Evolutionary Biology*, 2006, 6 (1): 99.

- [23] Robbertse B, Reeves JB, Schoch CL, Spatafora JW. A phylogenomic analysis of the Ascomycota. *Fungal Genetics and Biology*, 2006, 43 (10) : 715-725.
- [24] Picard P, Bourgoïn-Grenèche M, Zivy M. Potential of two-dimensional electrophoresis in routine identification of closely related durum wheat line. *Electrophoresis*, 1997, 18 (1) : 174-181.
- [25] Navas A, Albar JP. Application of proteomics in phylogenetic and evolutionary studies. *Proteomics*, 2004, 4 (2) : 299-302.
- [26] Kim Y, Nandakumar MP, Marten MR. Proteomics of filamentous fungi. *Trends in Biotechnology*, 2007, 25 (9) : 395-400.

## Protein expression patterns identify morphological variability of ascomatal hairs in two species of genus *Chaetomium*

Qin Sun<sup>1,3</sup>, Xiaoyong Liu<sup>1</sup>, Qian Wang<sup>2</sup>, Yuanming Luo<sup>2\*</sup>, Xuwei Wang<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>State Key Laboratory of Mycology, <sup>2</sup>State Key Laboratory of Microbial Resources, Institute of Microbiology, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100101, China

<sup>3</sup>Graduate School of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049, China

**Abstract:** [Objective] Morphology of ascomatal hairs was traditionally used as a primary character in the classification of the fungal genus *Chaetomium*. However, the taxonomic value of ascomatal hair morphology is questioned in modern taxonomy of *Chaetomium*. *Chaetomium indicum* and *C. funicola* are two species proposed only by their differences in ascomatal hairs. The aim of this study is to understand the difference between these two species and their variability in the morphology of ascomatal hairs at the level of protein expression patterns, as well as to assess the taxonomic value of the ascomatal hairs. [Methods] We performed microscopic examination to obtain the morphological characters of the typical and variable strains in both *C. indicum* and *C. funicola*. Then we used two-dimensional gel electrophoresis (2DE) to compare the protein expression patterns of the two species, including their typical and variable strains. [Results] The comparison of the obtained 2DE maps indicated that *C. indicum* and *C. funicola* exhibited species-specific protein expression patterns. The phylogenetic tree derived from the distance matrix of expression patterns with Neighbor-joining algorithm also revealed that the tested strains of *C. indicum* and *C. funicola* fell into two distinct clades, among which the variant strains were grouped together with the typical strains of the same species. [Conclusion] The consistency of species delimitation between *C. indicum* and *C. funicola* based on morphological characters of ascomatal hairs and species-specific protein expression patterns demonstrates that ascomatal hairs can be still used as potential morphological parameters in taxonomy of *Chaetomium*.

**Keywords:** two-dimensional gel electrophoresis, protein expression pattern, *Chaetomium*, taxonomy

(本文责编:王晋芳)

Supported by the National Natural Science Foundation of China (30570007) and by the National Basic Research Program of China (2006FY120100)

\* Corresponding authors. Yuanming Luo, Tel: +86-10-64807432, Fax: +86-10-64807429, E-mail: luoym@im.ac.cn; Xuwei Wang, Tel: +86-10-64807301, E-mail: wangxw@im.ac.cn

Received: 24 April 2012 / Revised: 10 May 2012