



丝状真菌中的 Velvet 家族蛋白

张虎, 曹双, 胡昌华*

西南大学药学院, 重庆 400715

摘要: 丝状真菌是重要的微生物资源, 能够产生大量的小分子活性化合物, 如 β -内酰胺类抗生素、夫西地酸、环孢霉素和他汀类药物等。这些小分子次级代谢产物的生物合成受全局性调控因子的调控, 除丝状真菌中已发现的 LaeA 外, 还存在一类具有 Velvet 结构域的特殊调控因子, 它们在丝状真菌的生长发育和次级代谢调控中发挥着重要的作用。本文综述了丝状真菌 Velvet 家族蛋白(VeA、VelB、VosA 和 VelC)的结构特征及其对有性生殖、无性生殖和次级代谢产物合成等方面的调控作用, 并探讨了可能的分子调控机制通路, 为揭示次级代谢调控网络和激活沉默基因产生新型结构的化合物提供一定的参考价值。

关键词: 丝状真菌, Velvet 复合物, 次级代谢, 生长发育

随着真菌基因组研究的不断深入, 人们发现在丝状真菌的基因组上聚集着许多代谢产物生物合成基因, 这些基因成簇聚集形成次级代谢产物的生物合成基因簇^[1]。研究发现这些基因簇受特异转录调控因子或与外界环境因素密切相关的全局性调控因子调控^[2-5]。LaeA 是 2004 年首次在构巢曲霉(*Aspergillus nidulans*)中被发现的第一个丝状真菌全局性调控因子, 后来在其他丝状真菌中也相继被发现, 它不仅调控一些已知代谢产物的生物合成, 还对一些真菌的生长发育产生一定的影响^[6-7]。Velvet 家族蛋白是一类丝状真菌特有的具有 Velvet 结构域蛋白的统称, 最早发现于 *A.*

nidulans 中, 因突变株的形态似绒状而将其命名为“Velvet”^[8], 它包括 VeA (Velvet)、VelB (Velvet like B)、VosA (viability of spores A)和 VelC (Velvet like C) 4 个成员。2008 年, Özgür Bayram 等^[9]在 *A. nidulans* 中发现了一个可参与柄曲霉素 (Sterigmatocystin)生物合成和菌丝生长发育调控的复合体 VelB-VeA-LaeA, VeA 像桥梁一样连接 VelB 和 LaeA 形成一个异源三聚体来调控生长发育及次级代谢^[10], 人们将这个三聚体命名为 Velvet 复合物。近期研究表明, 除 LaeA 外, 还存在其他与 LaeA 类似的甲基转移酶 LlmF 及 Velvet 家族蛋白 VelC、VosA 能与 VeA 相互作用^[11-12], 其中 VelC

基金项目: 重庆市科技攻关项目(cstc2016shmszx80102)

*通信作者。Tel: +86-23-68251225; E-mail: chhhu@swu.edu.cn

收稿日期: 2016-11-29; 修回日期: 2017-03-20; 网络出版日期: 2017-05-12

和 VosA 这两个蛋白与已知的 VeA 蛋白和 VelB 蛋白具有相同核定位信号(Nuclear localization signal, NLS)^[13]。目前, 对于 Velvet 家族蛋白在模式真菌 *A. nidulans* 中的研究较为深入, 本文结合实验室的相关工作就 Velvet 家族蛋白在丝状真菌次级代谢和生长发育过程中的功能和研究进展进行综述。

1 Velvet 家族蛋白的结构特征

Velvet 家族蛋白是丝状真菌特有的一类具有 Velvet 结构域蛋白的统称, Velvet 结构域是一个有 150 个氨基酸组成的特殊氨基酸区域。Velvet 结构域广泛存在于构巢曲霉(*A. nidulans*)、黄曲霉(*Aspergillus flavus*)、烟曲霉(*Aspergillus fumigatus*)、寄生曲霉(*Aspergillus parasiticus*)等子囊菌, 以及产黄头孢霉(*Acremonium chrysogenum*)、产黄青霉(*Penicillium chrysogenum*)及玉米黑粉菌(*Ustilago maydis*)等担子菌中, 另外在壶菌纲或接合菌纲中也发现了该结构域, 这说明 Velvet 结构域在真菌中高度保守^[12-13]。目前已发现的 Velvet 家族蛋白

成员 VeA、VelB、VosA 和 VelC, 各 Velvet 结构域对比分析如图 1-A 所示。在 *A. nidulans* 中, VeA 蛋白由 573 个氨基酸组成, 其 N 端包含 1 个 Velvet 结构域, 该结构域含 1 个 NLS 和核输出信号区域(Nuclear export signal, NES)。C 端含 1 个不稳定的富脯氨酸区域(PEST), 其中 NLS 可与 α 输入蛋白 KapA 相互作用, 从而影响 VeA 在细胞内的分布, 目前 NES 区域的功能暂不明确^[14-15]。VelB 蛋白由 369 个氨基酸组成, 其 Velvet 结构域被 99 氨基酸分割, 较小的 Velvet 结构域位于 N 端, 较大的 Velvet 结构域位于 C 端, VelB 蛋白不含 NLS 区域并依赖 VeA 蛋白在细胞质与细胞核间穿梭^[15]。VosA 蛋白由 430 个氨基酸组成, 主要位于成熟分生孢子细胞核, 其 N 端有 1 个 Velvet 结构域并含有 1 个 NLS, C 端含 1 个潜在的转录激活结构域(Transcription activation domain, TAD), 此区域与孢子形成过程中所需海藻糖的生物合成密切相关。VelC 蛋白由 524 个氨基酸组成, Velvet 结构域在其 C 端, 该结构域中包含 3 个保守区域和 1 个 PEST 区域^[16]。

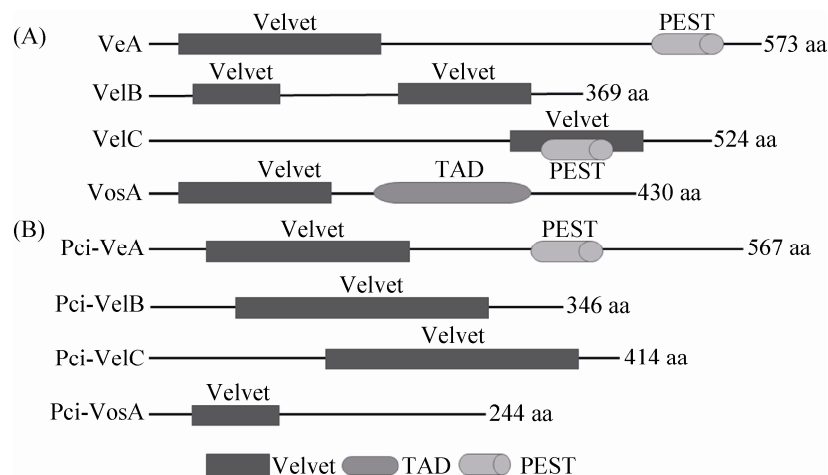


图 1. 丝状真菌 Velvet 家族蛋白结构域分析

Figure 1. Domain architecture of the Velvet family proteins in filamentous fungi. A: *A. nidulans*; B: *P. citrinum*. Velvet: Velvet domain; PEST: proline glutamic acid serine and threonine rich sequence; TAD: transcription activation domain.

本实验室研究的丝状真菌橘青霉(*Penicillium citrinum*)是一种重要的药用真菌,能产生美伐他汀、橘霉素等重要的次级代谢产物^[17]。美伐他汀是降血脂药物普伐他汀的前体,具有较好的药用开发价值^[18]。基于基因组数据分析,在*P. citrinum*中发现 Velvet 家族蛋白的同源蛋白,并对其结构域进行对比分析如图 1-B 所示, VeA 的 N 端含有 Velvet 结构域, C 端含有 PEST 结构域; VelB、VelC、VosA 皆含有典型的 Velvet 结构域。研究表明^[19], *P. citrinum* 中 Velvet 家族蛋白与其生长发育及代谢产物美伐他汀合成密切相关。最近发现,哺乳动物类的转录因子 NF- κ B 的 RHD (Rel homology domain) 结构域参与调控动物的免疫和生长发育,其结构与 Velvet 家族蛋白中 VosA 具有一定相似度,因此,人们推测 Velvet 家族蛋白也可能保守存在于丝状真菌之外的生物体内^[14]。

2 Velvet 家族蛋白对丝状真菌次级代谢产物的调控

2.1 VeA 对丝状真菌次级代谢产物的调控

大量研究表明 VeA 参与了丝状真菌次级代谢相关基因的表达和代谢产物的调控, *veA* 缺失突变株中一些代谢产物的产生受到了明显的抑制,说明 VeA 起到正向调控的作用。Kafer 等^[8]在 *A. nidulans* 中发现了一个受光调控的分生孢子负调控因子,并将其命名为 VeA。2002 年 Hyo-Young Jeong 等^[20]发现 VeA 可参与调控 *faoA* 基因的转录,其中 *faoA* 基因的表达受 fructosyl amines 诱导,在 *veA* 缺失菌株中 *faoA* 基因的表达与 fructosyl amines 诱导无关,在正常含 *veA* 基因的菌株里 *faoA* 基因的表达受 fructosyl amines 诱导表达调控。*A. nidulans* 中,柄曲霉素(sterigmatocystin)生物合成

基因簇由转录激活因子 *aflR* 基因激活调控, VeA 可通过影响 *aflR* 的转录表达来调控 sterigmatocystin 的生物合成,当 *veA* 缺失或敲除后会导致菌株不产 sterigmatocystin。近年来研究表明 VeA 高度保守,对次级代谢的调控在丝状真菌中具有普遍性^[21-22]。*P. chrysogenum* 中, VeA 参与调控青霉素(penicillin)的生物合成^[23]; 炭黑曲霉(*Aspergillus carbonarius*)中, *veA* 的敲除会导致 ochratoxin A 的生物合成量几乎为零^[24]; *P. citrinum* 中, *veA* 过表达后主要次级代谢产物美伐他汀产量明显升高^[25]; 而在 *A. flavus* 中, *veA* 的敲除会引起黄曲霉素合成基因 *atmC*、*atmG* 和 *atmM* 的不表达,同时会引起 Mycotoxins cyclopiazonic acid (环匹阿尼酸)、黄曲霉毒素(Aflatoxins)的生物合成量降低等^[26]; *veA* 的这种正调控作用在其他丝状真菌代谢产物中也相继得到证实,如 *Acremonium chrysogenum* 中 β -内酰胺类抗生素头孢菌素 C^[27]; 镰刀孢菌中伏马菌素、镰刀菌素^[28]等。Jeffrey 等对 *A. flavus* 全基因组分析发现有许多聚酮类的次级代谢产物受到 VeA 的影响, *veA* 缺失导致 *pks27* 基因簇上的基因转录剧烈下调进而失去产麦角菌硬粒的能力^[29]。分析与 VeA 调控相关的代谢产物类型,结果显示目前已报道的这些化合物大多是聚酮类化合物。

2.2 VelB 对丝状真菌次级代谢产物的调控

VelB 通常与 Velvet 家族成员形成聚合体来参与发育和代谢的调控,由于 VelB 蛋白缺少核定位信号位点,因此一般有 VeA 蛋白协同进行核转运过程^[9]。2008 年, Bayram 等^[9]从 *A. nidulans* 中发现了 Velvet(VelB/VeA/LaeA)复合物,首次揭示了 VelB 蛋白的存在, VeA 和 VelB 构成二聚体,在光照条件下,该二聚体主要分布在细胞质中,在黑暗条件下, α 输入蛋白 KapA 携带二聚体进入细胞核中,与细胞核蛋白 LaeA 通过 SAM

(S-adenosylmethionine)位点结合,形成 Velvet 三聚复合物参与次级代谢调节。*A. nidulans* 中, *velB* 敲除后,光照条件下,sterigmatocystin 产量较野生型大幅下降;在黑暗条件下,sterigmatocystin 产量与野生型的光照条件产量相当,这表明 VelB 调控毒素的合成与光照密切相关。*A. flavus* 中, *velB* 敲除后,无论在光照还是黑暗条件下,aflatoxins (黄曲霉毒素)产量均大幅度下降^[30]; *P. chrysogenum* 中, *velB* 敲除,penicillin 产量并没有显著变化^[23];在葡萄孢菌(*Botrytis cinerea*)中, *velB* 缺失后,melanin (黑色素)的产量显著升高,与 melanin 合成相关的基因簇表达量显著提高;此外禾谷镰刀菌(*Fusarium graminearum*)中, *velB* 基因的敲除影响菌株色素的合成,色素合成相关基因 *PKS12*、*Gip1*、*Gip2* 表达量下降, *AurJ*、*AurF*、*AurO*、*AurR* 表达量明显上调^[31], Yu 课题组在 *A. nidulans* 中也有相同的发现, *velB* 基因缺失后可以促进褐色素的积累^[10]。

3 Velvet 家族蛋白对丝状真菌生长发育的调控

3.1 VeA 对丝状真菌生长发育的调控

研究已经证实, VeA 通过调控有性、无性发育相关的基因表达来影响真菌的生长发育,不同种属间 VeA 对发育过程的调控作用不同。VeA 介导大多数真菌的发育分化,呈光依赖性,是最早被发现的 Velvet 蛋白。在 *A. nidulans* 中, α 输入蛋白 KapA 可与 VeA 结构域中的 NLS 区域相互作用,进而介导 VeA 的核定位,同时敲除 VeA 蛋白的 N 端,可引起向细胞核中转运的 VeA 蛋白减少^[32]。光照条件下, VeA 在细胞质中积累;黑暗中, VeA 在细胞核中积累较多,在 N 端缺失

的 *VeA1* 突变体中细胞定位显示其对光照不敏感^[33]。2002 年, Kim 等^[34]从一株不能形成有性结构的 *VeA1* 突变株出发,首次确定了 *veA* 基因编码一个由 573 氨基酸组成的蛋白,随后由过表达手段证实了 VeA 正向调控 *A. nidulans* 的有性繁殖,且同时反向调控无性繁殖,这为后续探究丝状真菌中 VeA 的功能及对菌丝发育的调控奠定了研究基础。随后, Jeong 等^[20]发现编码甘露糖蛋白(一个参与菌丝发育的蛋白) *mnpA* 基因的表达受到 *fadA*、*flbA* 和 *veA* 的调控。2003 年, Kato 等^[35]发现 VeA 对 *A. nidulans* 有性繁殖相关基因 *nsdD* 和 *steA* 的表达有较弱的影响,同时 VeA 可参与调控无性繁殖调控基因 *brlA* 的表达和 *A. nidulans* 体内有性繁殖和无性繁殖的比例,这为进一步探究 VeA 对丝状真菌生长发育的分子调控机制奠定了基础。Han 等^[36]的研究表明 VeA 可正向调控参与有性繁殖起始过程的 *esdC* 基因的转录。随后, Vienken^[37]等发现 VeA 蛋白的第 36 个氨基酸与反向调控 *A. nidulans* 有性繁殖的 RosA 蛋白的功能相关,且 RosA 蛋白可能参与抑制 *veA* 的转录。2007 年, Cary 等^[38]在 *A. flavus* 的 *veA* 敲除菌株中发现, *veA* 的敲除能降低无性发育,而与之相反的是,在 *A. parasiticus* 中 *veA* 的敲除会导致无性繁殖过程的分生孢子产量减少,这表明不同种属间 VeA 的调控机制可能存在差异^[39]。后来,在互隔交链孢霉(*Alternaria alternata*)的 *veA* 敲除中,孢子的产量明显下调,随后研究发现, VeA 的序列不能与具有已知功能的多肽进行匹配,仅在 N 端具有一个高度保守的编码区域^[37]。

3.2 VelB 对丝状真菌生长发育的调控

在丝状真菌生长发育过程中, VelB 蛋白大多通过影响子囊孢子细胞壁的形成来调控孢子产量,参与发育调控。*A. nidulans* 中, VelB 通过与 β -

葡聚糖相关基因 *fksA* 的启动子结合, 抑制 *fksA*、*gela* 基因表达, 从而抑制子囊孢子细胞壁的形成, 使有性孢子产量大大减少, 分生孢子产量提高, 孢子存活率下降, 孢子对外界环境 UV 等敏感^[10]。*A. flavus* 中, *velB* 缺失后, 黑暗条件下分生孢子产量明显下降, 菌核产量也明显下降^[30]。*Botrytis cinerea* 中, *VelB* 突变体菌丝稍粗, 菌丝表面不光滑, 气生菌丝明显减少, 疏水性发生变化, 与疏水性相关基因 *FgHYD1*、*FgHYD2* 表达量显著下降, 可以调节疏水性基因表达, 维持菌丝疏水性^[21]。

3.3 VosA 对丝状真菌生长发育的调控

在 *A. nidulans* 中, *vosA* 是一个高拷贝基因, 抑制分生孢子的萌发且促进孢子中海藻糖的积累, 海藻糖作为生物抵御环境压力的一种保护剂, 其生物合成受到 *vosA* 基因的调控, 海藻糖的缺失使得生物体失去长期生存的能力^[40]。Ni 等^[40]在 *A. nidulans* 中首先发现了 *VosA*, *vosA* 缺失后, 产生和积累海藻糖能力下降, 菌株孢子细胞壁成分发生变化, 孢子存活率显著下降, 与分生孢子相关的基因 *brlA*、*rodA* 表达量上调, 而 *wetA* 表达量下调。Hee-Soo Park 等^[41]在 *A. nidulans* 中通过对比 $\Delta vosA$ 和野生型转录组发现 *vosA* 缺失后, β -葡聚糖相关基因 *fksA*、*gela* 和几丁质合成基因 *chsA*、*chsB*、*gfaB* 表达量明显提高, *VosA* 抑制孢子细胞壁形成的相关基因, 并且调节孢子壁的多糖组分和结构。在白僵菌 (*Beauveria bassiana*) 中, *vosA* 缺失后, 分生孢子产量下降 88%^[42]。在禾旋腔孢菌 (*Cochliobolus sativus*) 中, *vosA* 缺失后, 分生孢子产量增加, 但是分生孢子中海藻糖含量大幅下降, 分生孢子存活率也明显下降, 分生孢子对高温、高盐 and H_2O_2 敏感度增加^[43]。

3.4 VelC 对丝状真菌生长发育的调控

VelC 在部分真菌中参与调节有性生殖和无性

生殖, *VelC* 蛋白通常作为一个激活剂, 正调控有性生殖, 抑制无性生殖, 在有性生殖的早期发挥重要的调控作用。*A. nidulans* 生长阶段, 只在有性生殖中可以检测到 *VelC* 存在, *velC* 敲除后, 无性生殖的分生孢子产量明显上升, 子实体的数量显著下降, 与无性生殖相关的基因 *brlA*、*abaA*、*wetA*、*vosA* 等表达量明显上升; 过表达 *velC* 后, 在有性发育初期, 菌株有性生殖能力增加, 子实体产量明显增加^[21]。在 *A. fumigatus* 中, *velC* 敲除后菌株并没有明显的表型差异^[30]。而 *P. chrysogenum* 中, *VelC* 抑制分生孢子形成, 并且调节青霉素的生物合成^[23]。在尖孢镰刀菌 (*Fusarium oxysporum*) 中, *velC* 敲除后, 分生孢子产量明显提高^[44]。

4 Velvet 家族蛋白的调控机制

在丝状真菌中, *Velvet* 家族蛋白主要调节真菌发育和次级代谢, 这个调控途径十分复杂。*Velvet* 家族蛋白主要通过形成异源、同源二聚体和 *LaeA* 蛋白形成三聚体来调节真菌次级代谢和生长发育过程, 如图 2 所示。

这个简图描述了在丝状真菌发育中, 光照和黑暗条件下 *Velvet* 复合体的形成过程和可能的机制。 α 输入蛋白 *KapA* 携带 *VelB*-*VeA* 二聚体进入细胞核中, 在细胞核中 *VelB* 可以形成两种不同的复合体, *VosA*-*VelB* 二聚体抑制无性孢子形成并控制孢子成熟和海藻糖的合成; *VelB*-*VeA* 与 *LaeA* 蛋白形成三聚体调控有性发育和次级代谢^[45]。

4.1 Velvet 家族蛋白形成同源、异源二聚体调控次级代谢和生长发育

A. nidulans 中, 核蛋白 *VelB* 没有核定位序列结合位点, 需要和 *Velvet* 家族其他蛋白结合形成二聚体, 参与调控。黑暗条件下, 细胞质 *VelB*、

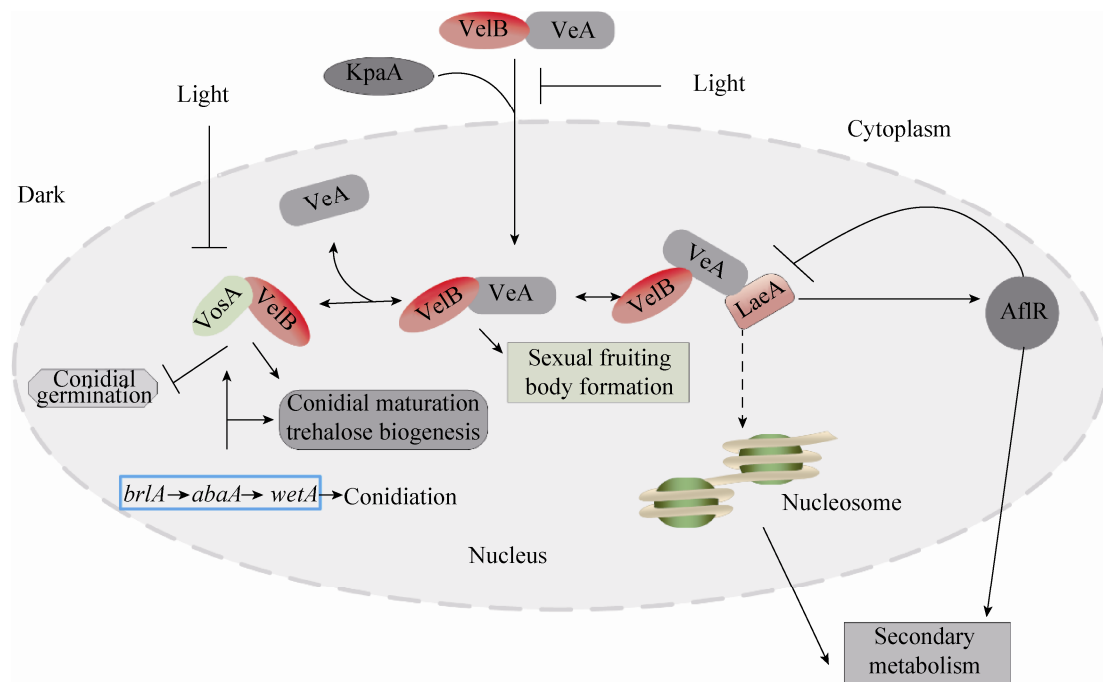


图 2. Velvet 家族蛋白及 LaeA 复合体调控网络图

Figure 2. The regulatory network of Velvet family proteins and LaeA in filamentous fungi.

VeA 形成二聚体，进入细胞核内，促进子实体发育，抑制棕色色素的合成。2010 年 Sarikaya 等^[45]发现与真菌有性生殖相关的 VosA 也可以和 VelB 形成二聚体参与调控有性和无性生殖过程。VelB-VosA 异源二聚体可以促进海藻糖的合成调控孢子壁葡聚糖的成分和含量而影响孢子的存活率。VosA-VelB 可以解除黑暗条件对无性生殖的抑制作用。2013 年，Park 等^[21]在 *A. nidulans* 中发现 VosA 与 VelC 也可以形成异源二聚体，在菌丝起始阶段，VeA 和 VelB 结合，促进有性生殖的产生，在有性生殖初期 VelC 表达，VelC 与 VosA 结合，维持细胞核内 VeA-VelB 二聚体数量，从而促进子实体的形成。VelB 也可以形成同源二聚体 VelB-VelB，促进 *A. nidulans* 的无性生殖^[21]。VosA 也可以形成同源二聚体 VosA-VosA，抑制孢子合成基因 *brlA* 的表达，从而抑制分生孢子的合成^[21]。在曲霉分生孢子的产生中，人们普遍认为存在这样一

个保守的中心调控通路 *brlA*→*abaA*→*wetA*^[46]，在瓶梗中 *AbaA* 激活 *velB* 和 *vosA* 的表达，VelB-VosA 二聚体在激活孢子成熟相关基因 *wetA* 和 *tpsA* 中扮演着双重角色，负反馈调控 *brlA* 和其他发育相关基因的表达。VosA 也可形成复合体在孢子的形成和 *brlA* 基因的表达中作为一个抑制子存在。

4.2 Velvet 家族蛋白和 LaeA 蛋白协同调控次级代谢和生长发育

2008 年 Bayram 等^[9]在 *A. nidulans* 中确定 LaeA 可以结合 VeA-VelB 二聚体，形成异源三聚体，这个复合体在体内分布受光依赖蛋白 VeA 的影响，在光照条件下，VeA 合成减少，LaeA 与 VeA 和 VelB 三聚体含量很少，次级代谢产物杂色曲霉素和子囊体的合成受到抑制。在黑暗条件下，细胞质中 VelB-VeA 二聚体，通过相互作用蛋白 KapA 运输到细胞核内，与核蛋白 LaeA 形成 LaeA-VeA-VelB 三聚体，促进 sterigmatocystin 合

成和无性生殖。VeA 是该三聚体的桥梁, 连接 LaeA 和 VelB, 共同调节丝状真菌次级代谢和生长发育过程。在 *Penicillium citrinum* 中, 通过体外蛋白异源共表达和体内串联亲和的方法验证了 VeA 和 LaeA 蛋白具有相互作用^[19]。

4.3 Velvet 家族蛋白和 LaeA 类似蛋白之间的相互作用

2013 年 Palmer 等^[11]发现在 *A. nidulans* 中存在和 LaeA 高度同源的 Llmf 蛋白, 它可以和 VeA 结合将 VeA 固定在细胞质中, 抑制其进入细胞核内和 LaeA 结合, 进而调节 *A. nidulans* 的次级代谢和生长发育。在 *C. heterostrophus* 中, 也存在 LaeA 同源蛋白 Llm1 参与调节有性、无性生殖和毒力。2014 年的研究^[12]发现在 *A. nidulans* 中存在新的调控机制, VapA-VipC-VapB 通过 VeA 参与调控生长发育和次级代谢, VipC、VapB 均含有 SAM 位点, VipC 与 laeA 具有 52% 同源性。在细胞膜上有 VapA-VipC-VapB 三聚体, 在外界信号光的刺激下, VapA 解聚, VipC-VapB 二聚体进入细胞核内, VipC 通过 SAM 位点与细胞核内的 VeA 结合, 从而减少细胞核内三聚体 VelB-VeA-LaeA, 促进无性生殖, 抑制有性生殖。Velvet 家族蛋白在不同的丝状真菌中可能发挥不同的功能, 并且可能受不同的外界信号调控。构巢曲霉中 Velvet 家族受光信号调节, 荚膜组织胞浆菌 Velvet 家族同源蛋白 Ryp2 (VosA) 和 (VelB) 蛋白缺失后, 菌体对温度不敏感, 不能从腐生菌丝状态向致病的单细胞酵母状态转变, 菌体一直处于菌丝的生长阶段^[47]。

5 问题与展望

丝状真菌是地球上最大的群体之一, 它能产

生大量的次级代谢产物, 这些次级代谢产物可能具有潜在的药用价值。随着全基因组测序技术的发展, 真菌次级代谢基因簇被大量鉴定和发掘, 激活沉默基因簇, 修饰改造已有的基因簇来获得新型活性化合物成为了当前研究的热点。丝状真菌的次级代谢途径非常复杂, 许多调节次级代谢和生长发育的调控因子大多已被鉴定, 如 Velvet 家族蛋白、LaeA 蛋白和 LaeA 同源蛋白等, 但这些调控因子如何调节真菌生长发育和次级代谢, VeA 作为一个连接载体与 VeA、VelB、VelC 及 LaeA 形成聚合体后如何在真菌生长发育及次级代谢过程中发挥调节, 除了最近在构巢曲霉中发现的 VapA-VipC-VapB 三聚体调控机制外, 是否还存在其他调控机制等这些问题都不断地萦绕在人们的心上, 等待人们的解答。丝状真菌中次级代谢途径和真菌的生长发育密不可分, 真菌发育阶段的转变往往会影响次级代谢产物, 探究丝状真菌复杂的转录调控途径有利于更好地服务医药业和农业。

参考文献

- [1] Brakhage AA. Regulation of fungal secondary metabolism. *Nature Reviews Microbiology*, 2012, 11(1): 21–32.
- [2] Gacek A, Strauss J. The chromatin code of fungal secondary metabolite gene clusters. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 2012, 95(6): 1389–1404.
- [3] Palmer JM, Keller NP. Secondary metabolism in fungi: does chromosomal location matter. *Current Opinion in Microbiology*, 2010, 13(4): 431–436.
- [4] Strauss J, Reyes-Dominguez Y. Regulation of secondary metabolism by chromatin structure and epigenetic codes. *Fungal Genetics and Biology*, 2011, 48(1): 62–69.
- [5] Feng HY, Xing W, Hu CH. Research advances in global regulator LaeA of filamentous fungi—a review. *Acta Microbiologica Sinica*, 2011, 51(9): 1141–1145. (in Chinese) 冯慧云, 邢伟, 胡昌华. 丝状真菌新型全局性调控因子 LaeA. *微生物学报*, 2011, 51(9): 1141–1145.

- [6] Karimi-Aghcheh R, Bok JW, Phatale PA, Smith KM, Baker SE, Lichius A, Omann M, Zeilinger S, Seiboth B, Rhee C, Keller NP, Freitag M, Kubicek CP. Functional analyses of *Trichoderma reesei* LAE1 reveal conserved and contrasting roles of this regulator. *G3: Genes, Genomes, Genetics*, 2013, 3(2): 369–378.
- [7] Zheng YL, Cao S, Huang YQ, Liao GJ, Hu CH. Overexpression of *LaeA* enhances mevastatin production and reduces sporulation of *Penicillium citrinum*. *Acta Microbiologica Sinica*, 2014, 54(12): 1438–1445. (in Chinese) 郑跃亮, 曹双, 黄宇琪, 廖国建, 胡昌华. 过表达全局调控因子 *LaeA* 对橘青霉美伐他汀的合成及产孢的影响. *微生物学报*, 2014, 54(12): 1438–1445.
- [8] Käfer E. Origins of translocations in *Aspergillus nidulans*. *Genetics*, 1965, 52(1): 217–232.
- [9] Bayram Ö, Krappmann S, Ni M, Bok JW, Helmstaedt K, Valerius O, Braus-Stromeyer S, Kwon NJ, Keller NP, Yu JH, Braus GH. VelB/VeA/LaeA complex coordinates light signal with fungal development and secondary metabolism. *Science*, 2008, 320(5882): 1504–1506.
- [10] Park HS, Ni M, Jeong KC, Kim YH, Yu JH. The role, interaction and regulation of the velvet regulator VelB in *Aspergillus nidulans*. *PLoS One*, 2012, 7(9): e45935.
- [11] Palmer JM, Theisen JM, Duran RM, Grayburn WS, Calvo AM, Keller NP. Secondary metabolism and development is mediated by LlmF control of VeA subcellular localization in *Aspergillus nidulans*. *PLoS Genetics*, 2013, 9(1): e1003193.
- [12] Sarikaya-Bayram Ö, Bayram Ö, Feussner K, Kim JH, Kim HS, Kaefer A, Feussner I, Chae KS, Han DM, Han KH. Membrane-bound methyltransferase complex VapA-VipC-VapB guides epigenetic control of fungal development. *Developmental Cell*, 2014, 29(4): 406–420.
- [13] Bayram Ö, Braus GH. Coordination of secondary metabolism and development in fungi: the velvet family of regulatory proteins. *FEMS Microbiology Reviews*, 2012, 36(1): 1–24.
- [14] Ahmed YL, Gerke J, Park HS, Bayram Ö, Neumann P, Ni M, Dickmanns A, Kim SC, Yu JH, Braus GH, Ficner R. The velvet family of fungal regulators contains a DNA-binding domain structurally similar to NF- κ B. *PLoS Biology*, 2013, 11(12): e1001750.
- [15] Lan N, Zhang HX, Hu CC, Wang WZ, Calvo AM, Harris SD, Chen S, Li SJ. Coordinated and distinct functions of velvet proteins in *Fusarium verticillioides*. *Eukaryotic Cell*, 2014, 13(7): 909–918.
- [16] Calvo AM. The VEA regulatory system and its role in morphological and chemical development in fungi. *Fungal Genetics and Biology*, 2008, 45(7): 1053–1061.
- [17] Malmström J, Christophersen C, Frisvad JC. Secondary metabolites characteristic of *Penicillium citrinum*, *Penicillium steckii* and related species. *Phytochemistry*, 2000, 54(3): 301–309.
- [18] Barrios-González J, Miranda RU. Biotechnological production and applications of statins. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 2010, 85(4): 869–883.
- [19] Zheng YL. The global regulation and mechanism of *veA* in *Penicillium citrinum*. Chongqing: Master's Thesis of Southwest University, 2015. (in Chinese) 郑跃亮. 橘青霉 *veA* 的全局性调控作用及其分子机制. 西南大学硕士学位论文, 2015.
- [20] Jeong HY, Kim H, Han DM, Jahng KY, Chae KS. Expression of the *mnpA* gene that encodes the mannoprotein of *Aspergillus nidulans* is dependent on *fadA* and *flbA* as well as *veA*. *Fungal Genetics and Biology*, 2003, 38(2): 228–236.
- [21] Park HS, Nam TY, Han KH, Kim SC, Yu JH. VelC positively controls sexual development in *Aspergillus nidulans*. *PLoS ONE*, 2014, 9(2): e89883.
- [22] Rauscher S, Pacher S, Hedtke M, Kniemeyer O, Fischer R. A phosphorylation code of the *Aspergillus nidulans* global regulator VelvetA (VeA) determines specific functions. *Molecular Microbiology*, 2016, 99(5): 909–924.
- [23] Kopke K, Hoff B, Bloemendal S, Katschorowski A, Kamerewerd J, Kück U. Members of the *Penicillium chrysogenum* velvet complex play functionally opposing roles in the regulation of penicillin biosynthesis and conidiation. *Eukaryotic Cell*, 2013, 12(2): 299–310.
- [24] Crespo-Sempere A, Marín S, Sanchis V, Ramos AJ. VeA and *LaeA* transcriptional factors regulate ochratoxin A biosynthesis in *Aspergillus carbonarius*. *International Journal of Food Microbiology*, 2013, 166(3): 479–486.
- [25] Cao S, Zheng YL, Zhang H, Huang YQ, Liao GJ, Hu CH. On investigation of *veA* gene in regulating mevastatin biosynthesis, conidia development in *Penicillium citrinum*. *Journal of Southwest China Normal University (Natural Science Edition)*, 2016, 41(6): 67–73. (in Chinese) 曹双, 郑跃亮, 张虎, 黄宇琪, 廖国建, 胡昌华. 过表达 *veA* 对橘青霉美伐他汀生物合成的影响. *西南师范大学学报(自然科学版)*, 2016, 41(6): 67–73.
- [26] Duran RM, Cary JW, Calvo AM. Production of cyclopiiazonic acid, aflatrem, and aflatoxin by *Aspergillus flavus* is regulated by *veA*, a gene necessary for sclerotial formation. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 2007, 73(5): 1158–1168.
- [27] Dreyer J, Eichhorn H, Friedlin E, Kürnsteiner H, Kück U. A

- homologue of the *Aspergillus velvet* gene regulates both cephalosporin C biosynthesis and hyphal fragmentation in *Acremonium chrysogenum*. *Applied and Environmental Microbiology*, 2007, 73(10): 3412–3422.
- [28] Myung K, Li SJ, Butchko RAE, Busman M, Proctor RH, Abbas HK, Calvo AM. *FvVE1* regulates biosynthesis of the mycotoxins fumonisins and fusarins in *Fusarium verticillioides*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2009, 57(11): 5089–5094.
- [29] Cary JW, Harris-Coward PY, Ehrlich KC, di Mavungu JD, Malysheva SV, de Saeger S, Dowd PF, Shantappa S, Martens SL, Calvo AM. Functional characterization of a *veA*-dependent polyketide synthase gene in *Aspergillus flavus* necessary for the synthesis of asparosone, a sclerotium-specific pigment. *Fungal Genetics and Biology*, 2014, 64: 25–35.
- [30] Chang PK, Scharfenstein LL, Li P, Ehrlich KC. *Aspergillus flavus* *VelB* acts distinctly from *VeA* in conidiation and may coordinate with *FluG* to modulate sclerotial production. *Fungal Genetics and Biology*, 2013, 58-59: 71–79.
- [31] Jiang JH, Liu X, Yin YN, Ma ZH. Involvement of a velvet protein *FgVeA* in the regulation of asexual development, lipid and secondary metabolisms and virulence in *Fusarium graminearum*. *PLoS One*, 2011, 6(11): e28291.
- [32] Stinnett SM, Espeso EA, Cobeño L, Araújo-Bazán L, Calvo AM. *Aspergillus nidulans* *VeA* subcellular localization is dependent on the importin α carrier and on light. *Molecular Microbiology*, 2007, 63(1): 242–255.
- [33] Spröte P, Brakhage AA. The light-dependent regulator velvet A of *Aspergillus nidulans* acts as a repressor of the penicillin biosynthesis. *Archives of Microbiology*, 2007, 188(1): 69–79.
- [34] Kim HS, Han KY, Kim KJ, Han DM, Jahng KY, Chae KS. The *veA* gene activates sexual development in *Aspergillus nidulans*. *Fungal Genetics and Biology*, 2002, 37(1): 72–80.
- [35] Kato N, Brooks W, Calvo AM. The expression of sterigmatocystin and penicillin genes in *Aspergillus nidulans* is controlled by *veA*, a gene required for sexual development. *Eukaryotic Cell*, 2003, 2(6): 1178–1186.
- [36] Han KH, Prade RA. Osmotic stress-coupled maintenance of polar growth in *Aspergillus nidulans*. *Molecular Microbiology*, 2002, 43(5): 1065–1078.
- [37] Estiarte E, Lawrence CB, Sanchis V, Ramos AJ, Crespo-Sempere A. *LaeA* and *VeA* are involved in growth morphology, asexual development, and mycotoxin production in *Alternaria alternata*. *International Journal of Food Microbiology*, 2016, 238: 153–164.
- [38] Cary JW, Obrian GR, Nielsen DM, Nierman W, Harris-Coward P, Yu J, Bhatnagar D, Cleveland TE, Payne GA, Calvo AM. Elucidation of *veA*-dependent genes associated with aflatoxin and sclerotial production in *Aspergillus flavus* by functional genomics. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 2007, 76(5): 1107–1118.
- [39] Roze LV, Chanda A, Laivenieks M, Beaudry RM, Artymovich KA, Koptina AV, Awad DW, Valeeva D, Jones AD, Linz JE. Volatile profiling reveals intracellular metabolic changes in *Aspergillus parasiticus*: *veA* regulates branched chain amino acid and ethanol metabolism. *BMC Biochemistry*, 2010, 11: 33.
- [40] Ni M, Yu JH. A novel regulator couples sporogenesis and trehalose biogenesis in *Aspergillus nidulans*. *PLoS One*, 2007, 2(10): e970.
- [41] Park HS, Man YY, Lee MK, Jae MP, Chang KS, Yu JH. Velvet-mediated repression of β -glucan synthesis in *Aspergillus nidulans* spores. *Scientific Reports*, 2015, 5: 10199
- [42] Li F, Shi HQ, Ying SH, Feng MG. *WetA* and *VosA* are distinct regulators of conidiation capacity, conidial quality, and biological control potential of a fungal insect pathogen. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 2015, 99(23): 10069–10081.
- [43] Wang R, Leng YQ, Zhong SB. The regulatory gene *VosA* affects conidiogenesis and is involved in virulence of the fungal cereal pathogen *Cochliobolus sativus*. *Fungal Biology*, 2015, 119(10): 884–900.
- [44] López-Berges MS, Hera C, Sulyok M, Schäfer K, Capilla J, Guarro J, Pietro AD. The velvet complex governs mycotoxin production and virulence of *Fusarium oxysporum* on plant and mammalian hosts. *Molecular Microbiology*, 2013, 87(1): 49–65.
- [45] Bayram ÖS, Bayram O, Valerius O, Park HS, Irniger S, Gerke J, Ni M, Han KH, Yu JH, Braus GH. *LaeA* control of velvet family regulatory proteins for light-dependent development and fungal cell-type specificity. *PLoS Genetics*, 2010, 6(12): e1001226.
- [46] Tao L, Yu JH. *AbaA* and *WetA* govern distinct stages of *Aspergillus fumigatus* development. *Microbiology*, 2010, 157(2): 313–326.
- [47] Webster RH, Sil A. Conserved factors *Ryp2* and *Ryp3* control cell morphology and infectious spore formation in the fungal pathogen *Histoplasma capsulatum*. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2008, 105(38): 14573–14578.

Velvet family protein in filamentous fungi

Hu Zhang, Shuang Cao, Changhua Hu*

College of Pharmaceutical Sciences, Southwest University, Chongqing 400715, China

Abstract: Secondary metabolites including β -lactam antibiotics, flusidic acid, cyclosporine and statins are produced by several groups of filamentous fungi. Secondary metabolism, growth and development process of filamentous fungi are regulated by global regulatory factor and specifically regulating factors, such as LaeA and velvet family. This review elaborates the structural features of the Velvet family proteins (VeA, VelB, VosA, VelC), analyzes the regulation of the sexual and asexual development and the secondary metabolism, and discusses possible molecular mechanisms. These results might provide a significant reference to reveal fungi regulatory networks and activate the silencing gene to produce novel compounds.

Keywords: filamentous fungi, Velvet family, secondary metabolism, growth and development

(本文责编: 李磊)

Supported by the Chongqing Key Science and Technology Research Program (cstc2016shmszx80102)

*Corresponding author. Tel: +86-23-68251225; E-mail: chhhu@swu.edu.cn

Received: 29 November 2016; Revised: 20 March 2017; Published online: 12 May 2017