

真菌 Hog1 MAPK 信号通路研究进展

许机分 陈泓妃 王娜 刘晶

(1. 云南师范大学 云南省马铃薯生物学重点实验室, 昆明 650500; 2. 云南师范大学 云南省高校马铃薯生物学重点实验室, 昆明 650500)

摘要: 丝裂原活化蛋白激酶 (MAPK) 信号通路广泛存在于真核细胞并且高度保守, 是生物体内非常重要的信号转导系统之一。胞外刺激信号通过细胞膜上的特异性受体传递给胞内 MAPK 信号通路, 该信号通路通过磷酸化下游转录因子、调节各种酶类来调控转录水平及生化反应等, 进而使细胞适应外界环境变化。Hog1 MAPK 信号通路能够被胞外高渗透压胁迫等刺激激活, 对细胞在高渗环境下的存活至关重要。近年来, 越来越多的研究发现虽然该信号通路在真核生物中高度保守, 但不同物种中的组成仍有差异, 且该信号通路的功能也相对多元化。本文综述了 Hog1 MAPK 信号通路的组成、功能及其与其他信号通路之间的 cross-talk, 旨在为今后深入研究该信号通路的作用机制及其与其他信号通路间的 cross-talk 提供参考。

关键词: 真菌; Hog1; MAPK; 胁迫应答

DOI: 10.13560/j.cnki.biotech.bull.1985.2022-0335

Research Advances in Hog1 MAPK Signaling Pathway in Fungi

XU Ji-fen CHEN Hong-fei WANG Na LIU Jing

(1. Yunnan Key Laboratory of Potato Biology, Yunnan Normal University, Kunming 650500; 2. Key Laboratory of Potato Biology in Universities of Yunnan Province, Yunnan Normal University, Kunming 650500)

Abstract: Mitogen-activated protein kinases (MAPK) pathways are common and well conserved in eukaryotic cells, and they are one of the very important signal transduction systems in living organisms. The extracellular stimulatory signal is transmitted to the intracellular MAPK signaling pathway through specific receptors on the cell membrane, this signaling pathway regulates cellular transcription levels and biochemical reactions by phosphorylating downstream transcription factors and regulating various enzymes, thereby enabling cells to adapt to changes in the external environment. The Hog1 MAPK signaling pathway was activated by stimuli such as extracellular hyperosmotic stress, and was essential for cell survival in a hyperosmotic environment. In recent years, an increasing number of studies have found that although this signaling pathway was highly conserved in eukaryotes, its composition varied from species to species. And the function of this signaling pathway was relatively diversified. This article reviews the composition and function of Hog1 MAPK signaling pathway and the cross-talk between this pathway and other pathways, aiming to provide a reference for further research on the mechanism of Hog1 MAPK signaling pathway and its cross-talk with other signaling pathways.

Key words: fungi; Hog1; MAPK; stress response

真核生物的细胞能通过反应快速、高度复杂的信号通路来感知并应对外界环境变化。这些信号通路能够识别、放大并整合来自胞外的各种刺激, 最终通过调整基因转录水平及胞内生理生化反应使细

胞适应外界环境变化。其中, 以丝裂原活化蛋白激酶 (mitogen-activated protein kinases, MAPKs) 介导的细胞信号转导最为普遍和重要。在真核生物中, MAPK 信号通路普遍存在且高度保守, 该信号通路

收稿日期: 2022-03-16

基金项目: 国家自然科学基金项目 (32101665), 云南省基础研究计划项目 (202001AU070091)

作者简介: 许机分, 女, 硕士研究生, 研究方向: 植物病理学; E-mail: 1751578646@qq.com

通讯作者: 刘晶, 女, 博士, 讲师, 研究方向: 植物病原菌致病机制; E-mail: liujing@ynnu.edu.cn

能被环境信号、激素、生长因子、细胞因子等激活并调控细胞的生长、形态建成、繁殖和应激反应等,但调控不同的生理反应需要不同的 MAPK^[1]。MAPK 信号通路通常以三级激酶级联的方式进行信号转导,其组分包括下激酶 MAPKs、中激酶 MAPKKs (MAPK kinases) 和上激酶 MAPKKKs (MAPKK kinases),下激酶、中激酶和上激酶共同构成了蛋白激酶级联体。当胞外特定刺激信号通过特异受体传递到胞内后,MAPKKKs 首先被磷酸化激活,激活的 MAPKKKs 结合并磷酸化 MAPKKs 的丝氨酸和苏氨酸残基使 MAPKKs 激活,随后激活的 MAPKKs 磷酸化 MAPKs 高度保守的 T-G-Y 基序 (Thr-Gly-Tyr) 从而激活 MAPKs^[2-3]。激活的 MAPKs 通过作用于转录因子、细胞骨架相关蛋白和多种酶类等调控细胞的生理反应。酿酒酵母 (*Saccharomyces cerevisiae*) 中至少存在 5 条 MAPK 信号通路,即 Fus3、Kss1、Mpk1/Slt2、Hog1 和 Smk1 信号通路,这些信号通路分别接受不同的胞外刺激,调节酵母的信息素/配接反应、丝状生长、细胞壁完整性、渗透压胁迫应答以及子囊孢子的形成等^[4]。其中,Hog1 MAPK 信号通路主要应答酿酒酵母细胞的渗透压胁迫。酿酒酵母 Hog1 同源蛋白广泛存在于真菌和动物细胞中,在植物细胞中暂未发现 Hog1 同源蛋白存在^[5]。哺乳动物的 MAPK 数量较多(12 个),可分为 4 个亚族:ERK1/2、p38、JNKs 和 ERK5^[6]。其中,p38 与酿酒酵母的 Hog1 同源性较高,p38 MAPK 除了能够介导哺乳动物细胞应答不同环境压力外,还能调控 DNA 损伤修复、细胞免疫反应、细胞存活/细胞命运决定、细胞周期停滞、细胞凋亡等过程^[7]。相对于多细胞共同调控机体生理活动的动物而言,单个细胞就能存活的真菌面临着更多的外界环境压力。因此,真菌体内的 Hog1 MAPK 信号通路调控机制复杂程度不亚于动物细胞。真菌作为低等真核生物的代表,研究其 Hog1 MAPK 信号通路具有重要意义。本文从真菌 Hog1 MAPK 信号通路的组成、功能及其与其他信号通路间的 cross-talk 方面展开综述,以期后续 Hog1 MAPK 信号通路的研究提供理论参考和研究思路。

1 真菌 Hog1 MAPK 信号通路的组成

1.1 酿酒酵母 Hog1 MAPK 信号通路

Hog1 MAPK 信号通路首先在酿酒酵母中发现,该信号通路受到外界高渗胁迫的诱导,激活甘油合成相关酶基因的转录,使胞内积累高浓度的甘油以维持细胞较高的膨压,因此该通路又被称为高渗甘油通路 (high osmolarity glycerol, HOG)^[8-9]。Hog1 MAPK 信号通路是酿酒酵母调节高渗应激的主要机制,通过促进甘油积累及调整其他生理活动使细胞暂时停止生长以抵抗外界胁迫。此外,氧化胁迫、热胁迫等刺激信号也同样可以激活该通路^[9]。酿酒酵母的 Hog1 MAPK 信号通路含有 2 个上游分支 (Sln1 分支和 Sho1 分支),通过不同的 MAPKKK (Ste11、Ssk2/Ssk22) 共同作用于一个 MAPKK (Pbs2),进而传递给 MAPK (Hog1)^[8]。虽然 Sln1 分支和 Sho1 分支最终都能够激活 Hog1,但是这两个分支却有不同的分工。Sln1 是 Hog1 信号通路的负调控因子,破坏 *Sln1* 基因会不恰当地激活该信号通路而使细胞死亡,Sln1 分支的渗透压感受范围也较 Sho1 分支更为广泛^[10-11]。此外,还有研究表明 Sho1 分支突变株及 Sln1 分支突变株的 Hog1 磷酸化作用动力学不同,Sho1 分支对酿酒酵母的假丝状生长更为重要^[12-14]。

Sln1 分支由跨膜组氨酸激酶感受器 Sln1、磷酸转运蛋白 Ypd1、反应调节器 Ssk1 及 MAPKKK Ssk2/Ssk22 组成 (图 1-a)^[10]。在等渗条件下,Sln1 自身的组氨酸激酶结构域能够自动磷酸化并将磷酸基团转移到自身的天冬氨酸残基上,随后磷酸基团又被先后转移到 Ypd1 和 Ssk1 上,磷酸化的 Ssk1 处于失活状态,阻碍了 Ssk1 与 Ssk2/Ssk22 相互作用,从而阻断了信号的传递;在高渗条件下,Sln1 不能自动磷酸化而失活,进而使 Ypd1 和 Ssk1 去磷酸化并与下游 Ssk2/Ssk22 结合使其磷酸化,之后 Pbs2、Hog1 依次被磷酸化激活^[3, 10, 12]。

Sho1 分支由跨膜渗透压感受器 Sho1、小 G 蛋白 Cdc42、PAK 激酶 Ste20、衔接蛋白 Ste50 及 MAPKKK Ste11 组成 (图 1-b)^[10]。高渗胁迫下,Sho1 能够结合 Ste11 及 Pbs2,与此同时 Cdc42 结合并激活 Ste20,Ste20 再磷酸化激活 Ste11,激活

的 Ste11 在 Ste50 的协助下将信号传递给 Pbs2, 随后 Pbs2、Hog1 依次被磷酸化激活^[3, 11]。Ste11 除了在 HOG 信号通路发挥作用外, 还与 MAPKK Ste7 及 MAPK Fus3/Kss1 共同构成 Fus3/Kss1 MAPK 信号通路组分参与调控酵母的配接反应及生长发育等过程^[15]。

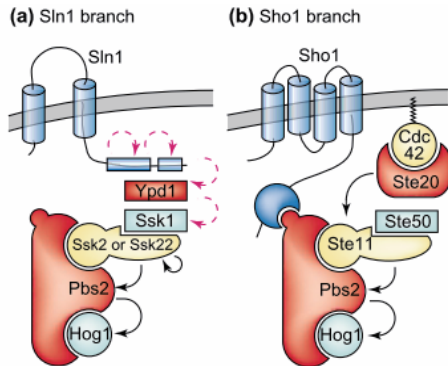


图1 酿酒酵母 Hog1 MAPK 信号通路上游两个分支示意图

Fig. 1 Diagram for two upstream branches of *S. cerevisiae* Hog1 MAPK pathway

Pbs2 起着支架蛋白的作用, 并能将上游 Sho1 分支及 Sln1 分支汇总, 它能被 Ste11、Ssk2/Ssk22 中的任何一个磷酸化而激活^[3, 16]。激活的 Pbs2 能使 Hog1 T-G-Y 基序中特定的 Thr174 和 Tyr176 残基磷酸化, 进而激活 Hog1^[10]。被激活的 Hog1 能迅速进入细胞核, 结合并磷酸化相关转录因子 (如 Hot1、Msn2/ Msn4、Sko1), 与染色质修饰酶及 RNA 聚合酶 II 等相互作用, 从而响应该高渗胁迫的上百种基因的表达^[4, 17]。Hog1 活性的下调 (即去磷酸化) 是由 3 种不同的蛋白磷酸酶, 即丝氨酸/苏氨酸蛋白磷酸酶 Ptc1、Ptc2、Ptc3, 酪氨酸蛋白磷酸酶 Ptp2、Ptp3 以及双特异性磷酸酶 Msg5、Sdp1 共同完成^[2, 18-19]。不同的蛋白磷酸酶调节同一 MAPK 信号通路保证了该通路被激活的持续时间及程度等。

1.2 其他真菌的 Hog1 MAPK 信号通路

近年来的研究表明, Hog1 MAPK 信号通路广泛存在于其他真菌中, 如模式生物: 裂殖酵母 (*Schizosaccharomyces pombe*)、棉阿舒囊霉 (*Ashbya gossypii*)、粗糙脉孢菌 (*Neurospora crassa*); 植物病原真菌: 禾谷镰孢菌 (*Fusarium graminearum*)、稻

瘟病菌 (*Magnaporthe grisea*)、玉米黑粉菌 (*Ustilago maydis*); 人类致病真菌: 烟曲霉 (*Aspergillus fumigatus*)、白色念珠菌 (*Candida albicans*); 条件致病菌米根霉 (*Rhizopus oryzae*) 等^[3]。除烟曲霉有两个 *Hog1* 同源基因 (*SakA* 和 *MpkC*) 外, 以上所列真菌均只含一个 *Hog1* 同源基因^[3]。此外, 不同真菌的 Hog1 MAPK 信号通路组成与酿酒酵母不尽相同。

在白色念珠菌中, Hog1 仅由一个 Ssk2 调控, Ste11 与 Hog1 信号通路没有任何联系, 这与酿酒酵母的 Hog1 信号通路组成有着明显区别^[8]。敲除烟曲霉中 *Sln1* 的同源基因 *TcsB* 后, 敲除株在生长及形态上与野生株没有明显差别, 并且在 H_2O_2 胁迫下敲除株的 Hog1 仍能被磷酸化, 说明 *TcsB* 是 Hog1 MAPK 信号通路的非必需基因, 这与酿酒酵母中敲除 *Sln1* 致死的结果截然不同^[11, 20]。在构巢曲霉中, 高渗或氧化胁迫信号通过 SskB (Ssk2)、PbsB (Pbs2) 的相继磷酸化传递给 HogA (Hog1), 而 ShoA (Sho1) 支路在构巢曲霉 Hog1 MAPK 信号通路中并不起作用^[21]。Liu 等^[22]利用基因敲除、Western Blot、酵母双杂交等手段研究了球孢白僵菌 (*Beauveria bassiana*) Hog1 MAPK 信号通路, 结果表明酿酒酵母的 Ssk2 和 Ssk22 在球孢白僵菌中合二为一成为 Ssk2, 并且球孢白僵菌的 Ste11 不参与调控 Hog1 信号通路, 这与酿酒酵母的模式差异较大。

2 真菌 Hog1 MAPK 信号通路的功能

2.1 参与真菌的生长发育及胞内某些物质的生物合成

已有研究表明, 食用菌斑玉蕈 (*Hypsizygus marmoreus*) 在菌丝培养过程中, 一部分 Hog1 MAPK 信号通路中的组分基因随培养时间的延长其相对表达量逐渐下降, 另一部分基因的表达量则先上调后下调, 该结果表明 Hog1 MAPK 信号通路与调节菌丝增殖生长和子实体形成有关^[23]。王调兰^[24]研究证明, 敲除梨果黑斑病菌 (*Alternaria alternata*) *Hog1* 基因后, 敲除株的孢子形态和大小均发生改变, 菌落生长缓慢, 产孢量显著下降; 敲除株在蜡质表面及疏水表面孢子萌发率、附着胞和侵染菌丝的产生率均显著下降。Su 等^[25]研究表明, Hog1 MAPK 信

号通路参与了白色念珠菌的形态转换, Hog1 通过抑制在白色念珠菌菌丝形成过程中起正调控作用的 Brg1 进而抑制菌丝的形成。还有研究表明, Hog1 MAPK 信号通路通过抑制促进细胞壁合成的 Cek1 途径参与白色念珠菌细胞壁的生物合成^[26]。此外, 短梗霉属的 Hog1 MAPK 信号通路能够调控普鲁兰多糖和多元醇酯 liamocin 的生物合成^[27]。

2.2 应答外界非生物胁迫

Hog1 MAPK 信号通路在不同真菌中已相继有报道, 该信号通路除参与应答高渗胁迫外还参与细胞的其他胁迫响应。已有研究证明, Hog1 MAPK 信号通路除了应答高渗胁迫外, 还能被氧化剂、低温及高温、亚砷酸盐、DNA 损伤剂、杀菌剂、细胞壁干扰剂等胁迫因素激活。

胶孢炭疽菌 (*Colletotrichum gloeosporioides*) 的 Hog1 通过调控胞内渗透物质 (如甘油) 的合成从而参与高渗胁迫, 在 0.6 mol/L CaCl₂、0.4 mol/L NaCl、0.4 mol/L KCl 及 1.2 mol/L Sorbitol 处理下, 突变体菌株的生长几乎被完全抑制; 而突变体菌株对药剂咯菌腈的耐受增强, 这可能与突变体菌株提高了细胞内的囊泡运输能力相关^[28]。Liu 等^[22]研究表明, 分别敲除球孢白僵菌 Hog1 MAPK 信号通路中的 *Ssk2*、*Pbs2*、*Hog1* 基因后, 3 个基因敲除菌株均能够被 1 mol/L NaCl 及 1.5 mol/L Sorbitol 完全抑制或大部分抑制 (87%~91%), 但是 3 个基因敲除菌株对药剂咯菌腈的耐受性则显著增强; 此外, 25℃ 高温胁迫显著抑制了 3 个敲除菌株的生长。破坏白色念珠菌 *Hog1* 后, 敲除菌株对杀菌剂及细胞壁干扰剂具有明显抗性, 表明 Hog1 与杀菌剂敏感性及细胞壁的功能调节相关^[26]。敲除梨果黑斑病菌的 *Hog1* 基因后, 敲除菌株对各种外界胁迫试剂 (NaCl、Sorbitol、Congo Red、SDS、H₂O₂) 均敏感^[24]。李珊^[29]通过研究发现, 红冬孢酵母 (*Rhodospiridium kratochvilovae*) 的 RKHog1 蛋白能够在低温条件下上调菌株中多不饱和脂肪酸的合成, 进而促进菌株的低温生长适应性。Huang 等^[30]研究表明, 当在酿酒酵母中添加 DNA 损伤剂甲磺酸甲酯 (MMS) 后能够诱导 Hog1 持续激活, 并且 MMS 对 Hog1 的激活不依赖于磷酸酶而是通过该信号通路上的 Sln1 分支介导并激活。还有

研究表明, 亚砷酸盐进入酿酒酵母细胞后首先被相关酶转化成甲基亚砷酸盐, 随后甲基亚砷酸盐抑制了 Ptp2 和 Ptp3 的活性, 使得 Hog1 的磷酸化水平升高而不激活 Hog1 上游的蛋白激酶^[31]。

2.3 调控病原真菌的致病力

研究显示, 植物病原真菌的 Hog1 MAPK 信号通路在侵染宿主过程中发挥重要作用。在禾生球腔菌 (*Mycosphaerella graminicola*) 中 *Hog1* 同源基因的缺失导致配接反应不正常, 细胞不能由酵母状生长转变为丝状生长, 最终导致突变体不能侵染小麦叶片^[32]。灰霉病菌 (*Botrytis cinerea*) 的 *Hog1* 同源基因 *SAK1* 对其自身的毒力及穿透未破损的植物组织有重要贡献^[33]。在禾谷镰孢菌中, 敲除 Hog1 MAPK 信号通路中的 3 个基因后, 敲除株均表现出明显增强的色素沉积, 并且气生菌丝不能够产生单端孢霉烯毒素^[34]。敲除梨果黑斑病菌的 *Hog1* 基因后, 敲除菌株的细胞壁降解酶活性及 ALT 毒素的含量均显著低于野生型, 损伤接种早酥梨后病斑直径被显著抑制且病斑面积不随贮藏时间延长而扩展^[24]。

在哺乳动物及昆虫病原真菌中, Hog1 MAPK 信号通路与病原菌的致病力相关。Alonso-Monge 等^[35]的研究结果表明, 白色念珠菌 *Hog1* 突变株在血清诱导的菌丝形成中能够解除阻遏, 突变株的毒力也有所下降。敲除马尔尼菲篮状菌 (*Talaromyces marneffei*) *Hog1* 同源基因 *SakA* 后, 敲除菌株对小鼠的致死率显著下降, 说明该基因对调控马尔尼菲篮状菌毒力因子密切相关^[36]。在昆虫病原真菌中也有 Hog1 信号通路与病原菌的致病性相关的报道^[37]。分别敲除球孢白僵菌的 *Ssk2*、*Pbs2* 及 *Hog1* 基因后, 经体壁侵染及经血腔注射昆虫大蜡螟的半致死时间均显著延长^[22]。在另一种重要昆虫病原真菌蝗绿僵菌 (*Metarhizium acridum*) 中, *Hog1* 基因突变株对昆虫的毒力显著下降, 推测可能是由于蝗绿僵菌分生孢子萌发率下降、附着胞减少以及在昆虫血腔的生长率下降等因素引起^[38-39]。Chen 等^[40]将罗伯茨绿僵菌 (*Metarhizium robertsii*) 的 *Ssk2*、*Pbs2* 及 *Hog1* 基因分别敲除后发现, 基因敲除菌株对昆虫的致病力较野生菌株均显著下降, 后续研究证明敲除菌株的附着胞形成率显著减少导致了基因敲除菌株

致病力的显著降低。

2.4 调控细胞周期

众多研究结果表明, Hog1 MAPK 信号通路不仅能够通过基因表达、蛋白翻译等过程调控细胞生理活动, 还能通过调控细胞周期使细胞适应外界环境^[41]。

Hog1 与胁迫条件下细胞周期在 G1 期停滞相关。Escoté 等^[42]的研究结果显示, 高渗胁迫条件下, 酵母 Hog1 能够与细胞周期蛋白依赖性激酶抑制物 Sic1 直接作用并将 Sic1 C 末端的一个氨基酸残基磷酸化, 与此同时细胞周期蛋白表达量下调并最终致使 Sic1 稳定, 细胞周期停留在 G1 期, 细胞周期进程被抑制。Correia 等^[43]研究发现, H₂O₂ 能够在细胞周期 G1 期诱导瞬时停滞, 白色念珠菌 *Hog1* 突变体相较于野生菌株需要更长时间才能在 H₂O₂ 诱导后恢复生长, 证明 Hog1 在氧化应激后恢复细胞周期过程中起重要作用。还有研究显示, Hog1 通过磷酸化转录调节因子 Whi5 和 Msa1 来下调 G1 期细胞周期蛋白进而暂停细胞周期^[44]。

Hog1 在应答高渗胁迫时会使 S 期延迟。Hog1 能够使用至少两种不同的机制来调控 S 期进程: 在 S 期早期, Hog1 通过延迟 S 期周期蛋白 Clb5 和 Clb6 的积累来阻止 DNA 复制起始; 在 S 期后期, Hog1 能够与 DNA 复制复合体相互作用, 延迟 DNA 聚合酶 Dpb2 亚基的磷酸化^[45]。Hog1 起作用的两种机制能分别使复制起始延迟和延长 DNA 的复制, 由 Hog1 引起的复制延迟对在 DNA 复制前 Hog1 诱导基因表达尤为重要。还有研究发现, 在高渗胁迫下, 酿酒酵母 Hog1 能够与复制复合体组分 Mrc1 相互作用, 并使 Mrc1 N 端的 Thr169、Ser215 和 Ser229 位点磷酸化^[46]。Mrc1 的磷酸化又通过阻止 Cdc45 的装载来延迟 S 期早期和晚期的复制起始, 同时减慢复制复合体的进程^[47]。

还有研究证明, 酵母细胞 Hog1 在应答高渗胁迫时除了需要与 Sic1 互作使细胞停留在 G1 期之外, 还需要调节 G2 期进程。激活的 Hog1 直接磷酸化 Hsl7 的一个残基 (细胞周期检验点激酶 Hsl1 的停泊位点), 这导致了来自胞裂蛋白环的 Hsl7 移位、Swe1 的积累以及细胞周期蛋白 Clb2 的下调, 进而

延迟了细胞周期从 G2 期向 M 期过渡^[48-50]。

Tognetti 等^[51]的研究结果表明, 高渗胁迫下的酿酒酵母 Hog1 能够磷酸化核仁蛋白 Net1 的 Thr62 和 Ser385 位点, 改变其对磷酸酶 Cdc14 的亲合性, 使 Net1-Cdc14 复合物对细胞周期蛋白依赖性激酶活性更具抵抗力, Cdc14 因此被隔离在核仁中并被延迟释放, 最终细胞有丝分裂进程 (M 期) 被延迟。

3 真菌 Hog1 MAPK 信号通路与其他信号通路间的 cross-talk

真核细胞中 MAPK 信号通路是非常保守的, 并且在胞内信号转导中具有重要作用。不同的信号通路之间有着精确的绝缘机制从而保证了不同通路间的错误对话 (cross-talk) 不会发生。但不同的 MAPK 信号通路有共用的信号元件, 例如在酵母细胞中, 3 个 MAPK 信号通路 (Fus3、Kss1、Hog1) 都共用一个 MAPKKK Ste11。已有的研究证实不同通路间的 cross-talk 也在细胞内发挥作用。

3.1 Hog1 MAPK 信号通路与其他 MAPK 信号通路间的 cross-talk

Hog1 MAPK 信号通路与 Mpk1/Slt2 MAPK 信号通路之间存在 cross-talk。在酿酒酵母中, Hog1 MAPK 信号通路与 Mpk1/Slt2 MAPK 信号通路可以共同调控胞内应激反应。前者主要在酵母细胞适应高渗环境时发挥作用, 后者则主要应答细胞壁干扰胁迫。虽然 MAPK 信号通路的传递具有专一性, 但这两个信号通路并不相互竞争, 而是正向协同调控应激反应。由于细胞壁在稳定细胞内膨压方面起着重要作用, 故推测细胞壁合成与胞内渗透压调节一定有着精确的协调作用^[52]。在球孢白僵菌中, Chen 等^[53]分别敲除 Mpk1/Slt2 MAPK 信号通路中的 3 个级联激酶, 结果发现敲除菌株对细胞壁干扰剂及高渗透剂均十分敏感, 进一步的 Western 杂交结果显示在高渗胁迫下各敲除株的磷酸化水平大大减弱或消失, 说明球孢白僵菌的 Hog1 MAPK 信号通路与 Mpk1/Slt2 MAPK 信号通路之间存在功能对话。还有证据表明, Hog1 MAPK 信号通路在非胁迫条件下对细胞壁合成有一定作用: Pbs2 和 Hog1 都参与酵母胞壁重塑时葡聚糖酶 EXG1 的转录调节; Pbs2 的过表达导致 β -1,3 葡聚糖网的改变; 在非高渗环境下,

酵母糖基转移酶 Mnn1 (高尔基体中参与胞壁蛋白甘露糖基化的一个蛋白) 的定位需要 Hog1 MAPK 信号通路的本底信号^[54-56]。

另有研究发现, Hog1 MAPK 信号通路与 Fus3、Kss1 MAPK 信号通路之间也存在 cross-talk。敲除 Hog1 MAPK 信号通路中的 *Pbs2* 或 *Hog1* 基因后, 被高渗胁迫激活的 Ste11 能够不恰当地激活 Fus3 MAPK 信号通路^[56]。为进一步研究上述现象可能的原因, Westfall 等^[57] 构建了一个功能齐全的 *Hog1* 类似物敏感等位基因 (该基因产物能够在无其他细胞刺激的情况下抑制其本身的活性), 结果发现 Hog1 的催化活性能够防止该信号通路与 Fus3 及 Kss1 MAPK 信号通路之间的错误对话。Hao 等^[58] 研究发现, 高渗胁迫可以同时激活酿酒酵母的 Kss1 和 Hog1, 进一步研究显示 Hog1 能够磷酸化 Ste50, 而 Ste50 的磷酸化限制了 Kss1 被激活的时间以防止高渗胁迫下酵母的侵入性生长。Yamamoto 等^[59] 将 Ste50 的磷酸化位点突变, 结果导致高渗胁迫下 Hog1 被过度激活同时不恰当地激活 Kss1 MAPK 信号通路。由此看出, MAPK 信号通路中共享组件的反馈调节可以限制竞争性 MAPK 的活性以确保信号的保真度。

3.2 Hog1 MAPK 信号通路与其他非 MAPK 信号通路间的 cross-talk

在高渗胁迫情况下, Ca^{2+} /钙调磷酸酶 (calcineurin, CaN) 信号通路也能参与调控过程, 该通路通过 Sln1 参与 Hog1 MAPK 信号通路的负调控^[3]。还有报道显示在细胞生长调控过程中, Hog1 MAPK 信号通路与 Ca^{2+} /CaN 信号通路对酵母出芽过程的调控作用是相互拮抗的^[60]。最近的研究显示, Ca^{2+} /CaN 信号通路可延长高渗胁迫下 Hog1 的活化从而延长细胞周期停滞的时间^[61]。另有研究显示, 在新型隐球菌 (*Cryptococcus neoformans*) 中, 高基础水平的 Hog1 磷酸化可能通过与 cAMP 通路间的 cross-talk 负调控两种关键毒力性状^[62]。

4 展望

综上所述, Hog1 MAPK 信号通路对细胞应答外界非生物胁迫, 调控细胞生长发育、细胞周期及病原菌致病力等都有重要作用。同时, Hog1 信号通路

还与其他信号通路间存在 cross-talk, 从而协调细胞的各项生理活动以达到对细胞生长的最有利条件。目前, 细胞应答高渗胁迫的机制已经被大量报道, 许多重要的系统生物学研究都基于 Hog1 MAPK 信号通路。尽管经过多年的深入研究, 许多有价值的信息被陆续挖掘, 但有关 Hog1 MAPK 信号通路的详细作用机制问题仍未完全解决。此外, 越来越多的研究发现虽然该信号通路相对独立, 但它与其他信号通路之间仍然存在 cross-talk, 多种信号通路间错综复杂的 cross-talk 确保了细胞在应答外界胁迫时能够精确地调整自身生理活动, 从而最大限度地适应环境并存活下来。Hog1 MAPK 信号通路与其他信号通路之间的 cross-talk 可能将成为未来的一个研究热点。

参考文献

- [1] Alonso-Monge R, Román E, Arana DM, et al. Fungi sensing environmental stress [J]. Clin Microbiol Infect, 2009, 15 (Suppl 1): 17-19.
- [2] Martín H, Flández M, Nombela C, et al. Protein phosphatases in MAPK signalling: we keep learning from yeast [J]. Mol Microbiol, 2005, 58 (1): 6-16.
- [3] Rispail N, Soanes DM, Ant C, et al. Comparative genomics of MAP kinase and calcium-calmodulin signalling components in plant and human pathogenic fungi [J]. Fungal Genet Biol, 2009, 46 (4): 287-298.
- [4] Chen RE, Thorner J. Function and regulation in MAPK signaling pathways: lessons learned from the yeast *Saccharomyces cerevisiae* [J]. Biochim Biophys Acta, 2007, 1773 (8): 1311-1340.
- [5] Jiang M, Zhang YZ, Li P, et al. Mitogen-activated protein kinase and substrate identification in plant growth and development [J]. Int J Mol Sci, 2022, 23 (5): 2744.
- [6] Kaur P, Goyal N. Pathogenic role of mitogen activated protein kinases in protozoan parasites [J]. Biochimie, 2022, 193: 78-89.
- [7] Whitaker RH, Cook JG. Stress relief techniques: p38 MAPK determines the balance of cell cycle and apoptosis pathways [J]. Biomolecules, 2021, 11 (10): 1444.
- [8] Cheetham J, Smith DA, da Silva Dantas A, et al. A single MAPKKK regulates the Hog1 MAPK pathway in the pathogenic fungus *Candida albicans* [J]. Mol Biol Cell, 2007, 18 (11): 4603-4614.

- [9] 吴雪昌, 胡森杰, 钱凯先. 酵母 HOG-MAPK 途径 [J]. 细胞生物学杂志, 2005, 27 (3): 247-252.
- Wu XC, Hu SJ, Qian KX. HOG-MAPK pathway in yeast [J]. *Chin J Cell Biol*, 2005, 27 (3): 247-252.
- [10] O'Rourke SM, Herskowitz I, O'Shea EK. Yeast go the whole HOG for the hyperosmotic response [J]. *Trends Genet*, 2002, 18 (8): 405-412.
- [11] Maeda T, Takekawa M, Saito H. Activation of yeast PBS2 MAPKK by MAPKKs or by binding of an SH3-containing osmosensor [J]. *Science*, 1995, 269 (5223): 554-558.
- [12] O'Rourke SM, Herskowitz I. Unique and redundant roles for HOG MAPK pathway components as revealed by whole-genome expression analysis [J]. *Mol Biol Cell*, 2004, 15 (2): 532-542.
- [13] O'Rourke SM, Herskowitz I. The Hog1 MAPK prevents cross talk between the HOG and pheromone response MAPK pathways in *Saccharomyces cerevisiae* [J]. *Genes Dev*, 1998, 12 (18): 2874-2886.
- [14] Ramezani Rad M, Jansen G, Bühring F, et al. Ste50p is involved in regulating filamentous growth in the yeast *Saccharomyces cerevisiae* and associates with Ste11p [J]. *Mol Gen Genet MGG*, 1998, 259 (1): 29-38.
- [15] Wang YQ, Dohlman HG. Pheromone signaling mechanisms in yeast: a prototypical sex machine [J]. *Science*, 2004, 306 (5701): 1508-1509.
- [16] Warmka J, Hanneman J, Lee J, et al. Ptc1, a type 2C Ser/Thr phosphatase, inactivates the HOG pathway by dephosphorylating the mitogen-activated protein kinase Hog1 [J]. *Mol Cell Biol*, 2001, 21 (1): 51-60.
- [17] Reiser V, Ruis H, Ammerer G. Kinase activity-dependent nuclear export opposes stress-induced nuclear accumulation and retention of Hog1 mitogen-activated protein kinase in the budding yeast *Saccharomyces cerevisiae* [J]. *Mol Biol Cell*, 1999, 10 (4): 1147-1161.
- [18] Wurgler-Murphy SM, Maeda T, Witten EA, et al. Regulation of the *Saccharomyces cerevisiae* HOG1 mitogen-activated protein kinase by the PTP2 and PTP3 protein tyrosine phosphatases [J]. *Mol Cell Biol*, 1997, 17 (3): 1289-1297.
- [19] Winkler A, Arkind C, Mattison CP, et al. Heat stress activates the yeast high-osmolarity glycerol mitogen-activated protein kinase pathway, and protein tyrosine phosphatases are essential under heat stress [J]. *Eukaryot Cell*, 2002, 1 (2): 163-173.
- [20] Du C, Sarfati J, Latge JP, et al. The role of the sakA (Hog1) and tcsB (sln1) genes in the oxidant adaptation of *Aspergillus fumigatus* [J]. *Med Mycol*, 2006, 44 (3): 211-218.
- [21] Furukawa K, Hoshi Y, Maeda T, et al. *Aspergillus nidulans* HOG pathway is activated only by two-component signalling pathway in response to osmotic stress [J]. *Mol Microbiol*, 2005, 56 (5): 1246-1261.
- [22] Liu J, Wang ZK, Sun HH, et al. Characterization of the Hog1 MAPK pathway in the entomopathogenic fungus *Beauveria bassiana* [J]. *Environ Microbiol*, 2017, 19 (5): 1808-1821.
- [23] 吴雪兰, 郝海波, 黄建春, 等. CWI 和 HOG 信号通路基因在斑玉蕈不同发育阶段的表达模式 [J]. 菌物学报, 2021, 40 (6): 1388-1399.
- Wu XL, Hao HB, Huang JC, et al. The expression pattern of CWI and HOG signal pathway genes during the growth and development of *Hypsizygus marmoreus* [J]. *Mycosystema*, 2021, 40 (6): 1388-1399.
- [24] 王调兰. Hog1、Slr2-MAP 激酶对梨果蜡质及疏水性诱导 *Alternaria alternata* 感染结构分化的调控作用 [D]. 兰州: 甘肃农业大学, 2020.
- Wang TL. Regulation role of Hog1 and Slr2 MAP kinases on infection structural differentiation of *Alternaria alternata* induced by pear cuticular wax and hydrophobicity [D]. Lanzhou: Gansu Agricultural University, 2020.
- [25] Su C, Lu Y, Liu HP. Reduced TOR signaling sustains hyphal development in *Candida albicans* by lowering Hog1 basal activity [J]. *Mol Biol Cell*, 2013, 24 (3): 385-397.
- [26] Morales-Menchén A, Navarro-García F, Guirao-Abad JP, et al. Non-canonical activities of Hog1 control sensitivity of *Candida albicans* to killer toxins from *Debaryomyces hansenii* [J]. *Front Cell Infect Microbiol*, 2018, 8: 135.
- [27] Chi Z, Kong CC, Wang ZZ, et al. The signaling pathways involved in metabolic regulation and stress responses of the yeast-like fungi *Aureobasidium* spp [J]. *Biotechnol Adv*, 2022, 55: 107898.
- [28] Li YF, He P, Tian CM, et al. CgHog1 controls the adaptation to both sorbitol and fludioxonil in *Colletotrichum gloeosporioides* [J]. *Fungal Genet Biol*, 2020, 135: 103289.
- [29] 李珊. *RKHog1* 基因敲除对红冬孢酵母 YM25235 低温生长适应性的影响 [D]. 昆明: 昆明理工大学, 2019.

- Li S. Effects of *RKHog1* gene deletion on the adaptation of *Rhodospiridium kratochvilovae* YM25235 to low temperature [D]. Kunming: Kunming University of Science and Technology, 2019.
- [30] Huang S, Zhang D, Weng FL, et al. Activation of a mitogen-activated protein kinase Hog1 by DNA damaging agent methyl methanesulfonate in yeast [J]. *Front Mol Biosci*, 2020, 7: 581095.
- [31] Lee J, Levin DE. Intracellular mechanism by which arsenite activates the yeast stress MAPK Hog1 [J]. *MBoC*, 2018, 29 (15): 1904-1915.
- [32] Mehrabi R, Zwiers LH, de Waard MA, et al. MgHog1 regulates dimorphism and pathogenicity in the fungal wheat pathogen *Mycosphaerella graminicola* [J]. *Mol Plant Microbe Interact*, 2006, 19 (11): 1262-1269.
- [33] Segmüller N, Ellendorf U, Tudzynski B, et al. BcSAK1, a stress-activated mitogen-activated protein kinase, is involved in vegetative differentiation and pathogenicity in *Botrytis cinerea* [J]. *Eukaryot Cell*, 2007, 6 (2): 211-221.
- [34] Ochiai N, Tokai T, Nishiuchi T, et al. Involvement of the osmosensor histidine kinase and osmotic stress-activated protein kinases in the regulation of secondary metabolism in *Fusarium graminearum* [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2007, 363 (3): 639-644.
- [35] Alonso-Monge R, Navarro-García F, Molero G, et al. Role of the mitogen-activated protein kinase Hog1p in morphogenesis and virulence of *Candida albicans* [J]. *J Bacteriol*, 1999, 181 (10): 3058-3068.
- [36] 魏金瑛. *SakA* 基因影响马尔尼菲篮状菌应激反应、抗真菌药物敏感性以及在感染动物模型中的作用机制研究 [D]. 南宁: 广西医科大学, 2017.
- Wei JY. *SakA* gene regulates stress response, drug sensitivity and virulence of *Talaromyces marneffe* [D]. Nanning: Guangxi Medical University, 2017.
- [37] Ownley BH, Gwinn KD, Vega FE. The ecology of fungal entomopathogens [M]. Springer Netherlands, 2010.
- [38] Jin K, Ming Y, Xia YX. MaHog1, a Hog1-type mitogen-activated protein kinase gene, contributes to stress tolerance and virulence of the entomopathogenic fungus *Metarhizium acridum* [J]. *Microbiology (Reading)*, 2012, 158 (Pt 12): 2987-2996.
- [39] Zhang YJ, Zhao JH, Fang WG, et al. Mitogen-activated protein kinase hog1 in the entomopathogenic fungus *Beauveria bassiana* regulates environmental stress responses and virulence to insects [J]. *Appl Environ Microbiol*, 2009, 75 (11): 3787-3795.
- [40] Chen XX, Xu C, Qian Y, et al. MAPK cascade-mediated regulation of pathogenicity, conidiation and tolerance to abiotic stresses in the entomopathogenic fungus *Metarhizium robertsii* [J]. *Environ Microbiol*, 2016, 18 (3): 1048-1062.
- [41] Hohmann S. Osmotic stress signaling and osmoadaptation in yeasts [J]. *Microbiol Mol Biol Rev*, 2002, 66 (2): 300-372.
- [42] Escoté X, Zapater M, Clotet J, et al. Hog1 mediates cell-cycle arrest in G1 phase by the dual targeting of Sic1 [J]. *Nat Cell Biol*, 2004, 6 (10): 997-1002.
- [43] Correia I, Alonso-Monge R, Pla J. The Hog1 MAP kinase promotes the recovery from cell cycle arrest induced by hydrogen peroxide in *Candida albicans* [J]. *Front Microbiol*, 2017, 7: 2133.
- [44] González-Novo A, Jiménez J, Clotet J, et al. Hog1 targets Whi5 and Msa1 transcription factors to downregulate cyclin expression upon stress [J]. *Mol Cell Biol*, 2015, 35 (9): 1606-1618.
- [45] Yaakov G, Duch A, García-Rubio M, et al. The stress-activated protein kinase Hog1 mediates S phase delay in response to osmotic stress [J]. *Mol Biol Cell*, 2009, 20 (15): 3572-3582.
- [46] Alcasabas AA, Osborn AJ, Bachant J, et al. Mrc1 transduces signals of DNA replication stress to activate Rad53 [J]. *Nat Cell Biol*, 2001, 3 (11): 958-965.
- [47] Duch A, Felipe-Abrio I, Barroso S, et al. Coordinated control of replication and transcription by a SAPK protects genomic integrity [J]. *Nature*, 2013, 493 (7430): 116-119.
- [48] Alexander MR, Tyers M, Perret M, et al. Regulation of cell cycle progression by Swe1p and Hog1p following hypertonic stress [J]. *Mol Biol Cell*, 2001, 12 (1): 53-62.
- [49] Clotet J, Posas F. Control of cell cycle in response to osmotic stress: lessons from yeast [J]. *Methods Enzymol*, 2007, 428: 63-76.
- [50] Clotet J, Escoté X, Adrover MA, et al. Phosphorylation of Hsl1 by Hog1 leads to a G2 arrest essential for cell survival at high osmolarity [J]. *EMBO J*, 2006, 25 (11): 2338-2346.
- [51] Tognetti S, Jiménez J, Viganò M, et al. Hog1 activation delays mitotic exit via phosphorylation of Net1 [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2020, 117 (16): 8924-8933.

- [52] Rodríguez-Peña JM, García R, Nombela C, et al. The high-osmolarity glycerol (HOG) and cell wall integrity (CWI) signalling pathways interplay : a yeast dialogue between MAPK routes [J] . *Yeast*, 2010, 27 (8) : 495-502.
- [53] Chen Y, Zhu J, Ying SH, et al. Three mitogen-activated protein kinases required for cell wall integrity contribute greatly to biocontrol potential of a fungal entomopathogen [J] . *PLoS One*, 2014, 9 (2) : e87948.
- [54] Jiang B, Ram AFJ, Sheraton J, et al. Regulation of cell wall β -glucan assembly : *PTC1* Negatively affects *PBS2* Action in a pathway that includes modulation of *EXG1* transcription [J] . *Mol Gen Genet MGG*, 1995, 248 (3) : 260-269.
- [55] Lai MH, Silverman SJ, Gaughran JP, et al. Multiple copies of *PBS2*, *MHP1* or *LRE1* produce glucanase resistance and other cell wall effects in *Saccharomyces cerevisiae* [J] . *Yeast*, 1997, 13 (3) : 199-213.
- [56] Reynolds TB, Hopkins BD, Lyons MR, et al. The high osmolarity glycerol response (HOG) MAP kinase pathway controls localization of a yeast Golgi glycosyltransferase [J] . *J Cell Biol*, 1998, 143 (4) : 935-946.
- [57] Westfall PJ, Thorner J. Analysis of mitogen-activated protein kinase signaling specificity in response to hyperosmotic stress : use of an analog-sensitive HOG1 allele [J] . *Eukaryot Cell*, 2006, 5 (8) : 1215-1228.
- [58] Hao N, Zeng YX, Elston TC, et al. Control of MAPK specificity by feedback phosphorylation of shared adaptor protein Ste50 [J] . *J Biol Chem*, 2008, 283 (49) : 33798-33802.
- [59] Yamamoto K, Tatebayashi K, Tanaka K, et al. Dynamic control of yeast MAP kinase network by induced association and dissociation between the Ste50 scaffold and the Opy2 membrane anchor [J] . *Mol Cell*, 2010, 40 (1) : 87-98.
- [60] Shitamukai A, Hirata D, Sonobe S, et al. Evidence for antagonistic regulation of cell growth by the calcineurin and high osmolarity glycerol pathways in *Saccharomyces cerevisiae* [J] . *J Biol Chem*, 2004, 279 (5) : 3651-3661.
- [61] Leech CM, Flynn MJ, Arsenault HE, et al. The coordinate actions of calcineurin and Hog1 mediate the stress response through multiple nodes of the cell cycle network [J] . *PLoS Genet*, 2020, 16 (4) : e1008600.
- [62] Bahn YS, Kojima K, Cox GM, et al. Specialization of the HOG pathway and its impact on differentiation and virulence of *Cryptococcus neoformans* [J] . *Mol Biol Cell*, 2005, 16 (5) : 2285-2300.

(责任编辑 朱琳峰)