

巨大侧耳 $Zn(II)_2Cys_6$ 型转录因子在 Cd^{2+} 胁迫下的表达模式及其功能预测

刘悦, 宋学超, 张娜, 张蕊, 李维焕, 程显好, 杨树德*

鲁东大学园艺学院 山东省食药菌技术重点实验室 烟台市食药菌技术创新中心, 山东 烟台 264025

摘要: $Zn(II)_2Cys_6$ 型转录因子在真菌的初级与次级代谢、应激反应及细胞分裂等生命过程中发挥着关键的调控作用。本研究通过运用隐马尔可夫模型对巨大侧耳 *Pleurotus giganteus* 全基因组进行筛选, 鉴定出 67 个基因属于 $Zn(II)_2Cys_6$ 型转录因子基因家族。通过 Motif 分析, 揭示了巨大侧耳 $Zn(II)_2Cys_6$ 型转录因子家族成员具有显著的序列结构特征。系统发育分析将这 67 个家族基因划分为 4 个主要分支。基于转录组数据, 筛选出 53 个在 $10 \mu\text{mol/L Cd}^{2+}$ 胁迫 3、6、12 h 及 $100 \mu\text{mol/L Cd}^{2+}$ 胁迫处理 3、6、12、24 h 下差异表达的家族基因。利用加权基因共表达网络分析(WGCNA)、基因共表达网络拓扑分析和共表达基因的 GO、KEGG 富集分析, 预测了部分差异表达的家族基因的调控功能。本研究为阐明 $Zn(II)_2Cys_6$ 型转录因子家族在巨大侧耳应对 Cd^{2+} 胁迫响应机制中的作用提供了科学依据。

关键词: 侧耳属; 锌簇型转录因子; 基因家族; 转录组

[引用本文]

刘悦, 宋学超, 张娜, 张蕊, 李维焕, 程显好, 杨树德, 2026. 巨大侧耳 $Zn(II)_2Cys_6$ 型转录因子在 Cd^{2+} 胁迫下的表达模式及其功能预测. 菌物学报, 45(2): 250058

Liu Y, Song XC, Zhang N, Zhang R, Li WH, Cheng XH, Yang SD, 2026. Expression profiling and functional prediction of $Zn(II)_2Cys_6$ -type transcription factors in *Pleurotus giganteus* under cadmium stress. Mycosystema, 45(2): 250058

资助项目: 山东省现代农业产业技术体系食用菌创新团队遗传育种岗位(SDAIT-07-03); 山东省科技型中小企业创新能力提升工程项目(2021TSGC1233, 2023TSGC900)

This work was supported by the Genetic Breeding Position in Edible Mushroom Innovation Team of Shandong Modern Agricultural Industrial Technology System (SDAIT-07-03) and the Science and Technology-based Small and Medium-sized Enterprises Innovation Capacity Enhancement Project of Shandong Province (2021TSGC1233, 2023TSGC900).

*Corresponding author. E-mail: sdyang68@ldu.edu.cn

ORCID: YANG Shude (0000-0003-4482-8937)

Received: 2025-03-10; Accepted: 2025-09-23

Expression profiling and functional prediction of Zn(II)₂Cys₆-type transcription factors in *Pleurotus giganteus* under cadmium stress

LIU Yue, SONG Xuechao, ZHANG Na, ZHANG Rui, LI Weihuan, CHENG Xianhao, YANG Shude*

Key Laboratory of Edible and Medicinal Mushroom Technology of Shandong Province, Edible and Medicinal Mushroom Technology Innovation Center of Yantai, School of Horticulture of Ludong University, Yantai 264025, Shandong, China

Abstract: Zn(II)₂Cys₆-type transcription factors play pivotal regulatory roles in various biological processes in fungi, including primary and secondary metabolism, stress responses, and cell division. In this study, a hidden Markov model (HMM) was employed to screen the whole genome of *Pleurotus giganteus*, and 67 genes belonging to the Zn(II)₂Cys₆-type transcription factor family were identified. Motif analysis revealed distinct sequence features among the family members. Phylogenetic analysis further classified these 67 genes into four major clades. Based on transcriptomic data, 53 family genes with differential expression were identified under 10 μmol/L Cd²⁺ stress for 3 h, 6 h, and 12 h, as well as under 100 μmol/L Cd²⁺ stress for 3 h, 6 h, 12 h, and 24 h. By using weighted gene co-expression network analysis (WGCNA), gene co-expression network topological analysis, and GO/KEGG enrichment analysis of co-expressed genes, the regulatory functions of some differentially expressed family genes were predicted. This study provides a scientific basis for further understanding of the role of Zn(II)₂Cys₆-type transcription factor family in the response mechanisms of *P. giganteus* to cadmium stress.

Keywords: *Pleurotus*; zinc cluster transcription factor; gene family; transcriptome

巨大侧耳 *Pleurotus giganteus* (Berk.) Karun. & K.D. Hyde 商品名为猪肚菇, 隶属于蘑菇目 Agaricales、侧耳科 Pleurotaceae, 广泛分布于热带和亚热带地区(马海霞等 2022), 是近年来国内人工驯化的一种珍稀食用菌(Wu *et al.* 2019; 吴碧君 2020)。巨大侧耳具有独特的香味和浓郁的鲜味, 而且营养丰富, 蛋白质含量高, 氨基酸种类齐全, 必需氨基酸的数量及组成比一般食用菌更接近模式蛋白, 亮氨酸和异亮氨酸含量也为食用菌之首(杜佳馨等 2021)。

锌指蛋白是一类具有手指状结构域的转录因子, 根据其围绕锌离子折叠形成的保守结构域不同, 其结构及功能也不同, 锌指蛋白主要分为 C₂H₂ 型、C₄ 型和 C₆ 型(赵楠等 2009)。锌指蛋白对基因调控起重要的作用, 通过与靶分子 DNA、RNA、DNA-RNA 的序列特异性结合调控基因的表达,

也可以与其他蛋白质结合进一步调控基因表达。

Zn(II)₂Cys₆ 型锌指转录因子是真菌中特有的一类锌指蛋白, 它包含一个高度保守的 Cys-X₂-Cys-X₆-Cys-X₅₋₁₂-Cys-X₂-Cys-X₆₋₈-Cys 锌指基序(其中 X 代表任意氨基酸), 基序中的半胱氨酸残基与 2 个锌离子结合, 因此这类蛋白也被称为锌簇或锌双核簇蛋白。Zn(II)₂Cys₆ 型锌指转录因子参与调控真菌的初级和次级代谢、胁迫应答、细胞分裂和生殖生长等多个过程(MacPherson *et al.* 2006)。例如, 阮诗雨(2024)证实灵芝的 Zn(II)₂Cys₆ 型锌指转录因子通过结合 SQS 启动子区域正调控灵芝三萜生物合成参与了灵芝三萜生物合成; 程慧娇等(2021)克隆了广东虫草 *Cordyceps guangdongensis* T.H. Li, Q.Y. Lin & B. Song 的 Zn(II)₂Cys₆ 型转录因子 *TgPRO1*, 并发现该基因在菌丝体和子实体中随不同温度和光

照条件下的表达差异; Zhang *et al.* (2021)证明斑雨蕈 *Hypsizygus marmoreus* 的 Zn(II)₂Cys₆ 型转录因子 HADA-1 在菌丝生长、子实体发育、碳代谢、线粒体稳定性和氧化应激反应中的关键作用; 李永霞(2018)发现球孢白僵菌 *Beauveria bassiana* 中的 2 个 Zn(II)₂Cys₆ 锌指转录因子可能参与了球孢白僵菌生长过程中氮源的利用, 从而影响了分生孢子对 H₂O₂、刚果红的耐受性和对大蜡螟的毒力; 朱立华等(2022)发现苹果树腐烂病菌子囊菌黑腐皮壳属 *Valsa mali* 的 Zn(II)₂Cys₆ 锌指转录因子与该菌的生长发育和盐离子胁迫应答相关; Lu *et al.* (2014)敲除稻巨座壳 *Magnaporthe oryzae* 中 Zn(II)₂Cys₆ 类转录因子 CNF1 和 CNF2 后, 突变体菌株降低了水稻的致病力。

随着食、药用菌基因组测序数量的不断积累(吴冰等 2015), 越来越多的学者从全基因组水平鉴定 Zn(II)₂Cys₆ 型锌指转录因子基因家族, 并深入分析其在多种环境因子和营养因子调控下的表达模式。例如, 赵琛等(2021)通过对金针菇 *Flammulina filiformis* (= *Flammulina velutipes*, 戴玉成等 2021)基因组的研究, 鉴定了 Zn(II)₂Cys₆ 型锌指转录因子家族, 分析了蓝光对其家族基因表达的影响; 张雪蕊等(2021)在桑黄 *Sanghuangporus sanghuang* 中鉴定了该基因家族, 并系统研究了其在不同碳源条件下的差异表达模式; 此外, 罗玛妮娅等(2021)对肉桂色薄孔菌(牛樟芝) *Antrodia cinnamomea* Zn(II)₂Cys₆ 型转录因子基因家族进行了全面分析, 探讨了其在不同椴木培养基中的菌丝体和子实体中的动态表达特征。这些研究为深入理解 Zn(II)₂Cys₆ 型锌指转录因子在食、药用菌环境适应及代谢调控中的功能提供了重要依据。然而, 目前关于巨大侧耳 Zn(II)₂Cys₆ 型锌指转录因子家族基因的鉴定及其在重金属胁迫响应中的功能研究仍未见报道。

我国农田土壤重金属污染主要以 Cd、As、Hg、Pb 和 Cr 这 5 种健康风险重金属元素为主, 尤其以 Cd 风险最高, 土壤绿色治理迫在眉睫(陈世宝等 2019)。许多真菌具有独特的重金属富集能力, 能够通过胞外吸附、胞内转运和螯合作用对 Cd²⁺进行富集, 被认为是治理镉污染的理想

生物材料(Ghosh *et al.* 2023)。研究表明, 真菌细胞壁富含几丁质、葡聚糖和其他多糖, 这些成分上的羧基、氨基和巯基能够与 Cd²⁺结合, 从而实现初步吸附(Legorreta-Castañeda *et al.* 2020)。真菌细胞通过重金属转运蛋白(heavy metal transporters, HMATs)摄取和转运重金属, 不同 HMATs 家族功能有差异。活性氧(ROS)、一氧化氮(NO)和钙(Ca)信号在生物应对重金属胁迫中起调节作用(Liu *et al.* 2024)。镉进入真菌细胞后, 可与金属硫蛋白和谷胱甘肽结合, 形成稳定的复合物, 从而减轻其毒性(Priyadarshini *et al.* 2021)。同时, 抗氧化酶系统(如超氧化物歧化酶、过氧化氢酶)的激活也在缓解镉毒性中具有关键作用(Xu *et al.* 2021)。

目前尚未有关于巨大侧耳响应 Cd²⁺胁迫机制的系统研究报道。本研究基于巨大侧耳全基因组测序数据, 鉴定出 67 个 Zn(II)₂Cys₆ 型锌指转录因子家族成员, 并解析其保守基序和进化特征。有 53 个该家族的转录因子在 10 μmol/L 和 100 μmol/L Cd²⁺胁迫的菌丝体中差异表达, 提示其可能通过调控下游解毒通路介导 Cd²⁺胁迫响应。本研究为深入理解大型真菌应对 Cd²⁺胁迫的分子机制提供了新的视角和见解。

1 材料与方法

1.1 材料

供试菌株: 巨大侧耳菌株 18, 保藏于鲁东大学农学院食用菌技术重点实验室。

1.2 方法

1.2.1 Zn(II)₂Cys₆ 型转录因子的筛选及理化性质分析

本研究从 Pfam 数据库(<http://pfam.xfam.org/>)下载真菌 Zn(II)₂Cys₆ 型转录因子结构域(PF00172)模型的种子文件, 结合本课题组测的巨大侧耳全基因组数据, 使用 HMMER 软件(版本 3.3.2, Nov 2020)进行结构域检索, 筛选出含有 Zn(II)₂Cys₆ 结构域的蛋白质序列。使用 ClustalW 软件对这些序列进行比对, 并基于比对结果重构 HMM 文件。使用阈值 E-value < 0.001 对结果进行筛选, 提取唯一的蛋白 ID 和蛋白序列。然后利用

Conserved Domain Database (NCBI-CDD)数据库对上述蛋白序列进行检索, 筛选含有 Gal4 的结果, 再重新提取蛋白序列进行结果验证, 并分析蛋白质理化性质。

1.2.2 Zn(II)₂Cys₆ 型转录因子结构域的分析及分类

利用 Mafft 软件对巨大侧耳 Zn(II)₂Cys₆ 型转录因子的蛋白序列执行多重序列比对分析, 根据保守结构域 Gal4 的序列特征对转录因子进行分类, 进一步利用 R 语言进行数据统计, 并绘制 Gal4 结构域的 Logo 图谱。

1.2.3 Zn(II)₂Cys₆ 型转录因子家族成员系统进化分析

使用 Mafft (v7.515) 进行序列比对, 用 Fasttree (v 2.1.11) 构建系统发育树, 用 Interactive Tree Of Life (iTOL) 对系统发育树进行可视化。

1.2.4 Zn(II)₂Cys₆ 型转录因子的表达谱

基于在两种 Cd²⁺浓度(10 μmol/L、100 μmol/L)不同胁迫时间下(3、6、12 和 24 h)的巨大侧耳菌丝体的转录组测序数据, 利用 DESeq2 筛选出不同胁迫时间的处理组与 0 h 对照组之间差异表达的编码 Zn(II)₂Cys₆ 型转录因子的基因。绘制多组韦恩图, 展示不同比较组合之间差异基因的交集和独有部分, 并绘制基因表达量热图展示基因的表达量变化。

1.2.5 Cd²⁺胁迫下 Zn(II)₂Cys₆ 型转录因子的功能预测

利用 R 语言的 WGCNA 包分别对 10 μmol/L 和 100 μmol/L Cd²⁺胁迫的巨大侧耳菌丝体的转录组数据进行加权基因共表达网络分析(WGCNA)

(Langfelder & Horvath 2008), 确定 Zn(II)₂Cys₆ 型转录因子编码基因集中分布的基因模块, 然后计算该模块的拓扑重叠度量性矩阵(TOM), 从 TOM 矩阵中提取与 Zn(II)₂Cys₆ 型转录因子编码基因共表达的基因。将转录因子与其共表达基因的关系表导入 Gephi 软件构建网络图, 边权重保留 TOM 值, 经过加权模块化分析和加权度分析, 渲染网络图中节点的颜色和大小。最后利用 clusterprofiler 包对共表达基因进行 KEGG 富集分析(Wu *et al.* 2021), 基于富集到的代谢途径预测转录因子的调控功能。

1.2.6 部分 Zn(II)₂Cys₆ 型转录因子表达量的 RT-qPCR 验证

利用诺唯赞公司(Vazyme Biotech)的 FastPure Universal Plant Total RNA Isolation Kit 提取经 10 μmol/L Cd²⁺和 100 μmol/L Cd²⁺分别处理 0、3、6 和 12 h 的巨大侧耳菌丝体的总 RNA。随后使用 HIScript III 1st Strand cDNA Synthesis Kit 进行反转录合成 cDNA, 最后利用 ChamQ Universal SYBR qPCR Master Mix 对 6 个 Zn(II)₂Cys₆ 型转录因子编码基因的表达水平进行 qPCR 验证, 以 *actin* 的表达量为内参, Cd²⁺处理 0 h 的样本为对照。每个样本设置 3 次技术重复, 引物信息详见表 1。

2 结果与分析

2.1 Zn(II)₂Cys₆ 型转录因子理化性质分析

通过 NCBI-CDD 验证, 最终鉴定到 67 个含有 Gal4 结构域的 Zn(II)₂Cys₆ 型转录因子基因家族成员。理化性质分析表明, 20 个蛋白属于酸

表 1 RT-qPCR 引物序列

Table 1 A list of RT-qPCR primer sequence

基因名称 Gene ID	上游引物序列 Forward primer (5'→3')	下游引物序列 Reverse primer (5'→3')
EVM0006476 (Actin)	AGTTGACTGCTCTGTCGCCTTC	GACTCGTCGTACTIONCTGCTTGG
EVM0007165	GTTGAGTGTGCCCGAGTTGGT	AATATAGCCCGCTGGTGTAGC
EVM0000130	ACCACCTCTCCTTGCGAACTGT	CCAGCCATGAGACCAGCATCAG
EVM0002760	TGGCGATGTCACCTGGTGGGTTT	GGGAAGCATGGTGGGCAAGAAC
EVM0010988	GAGAACCAGTCCGTCGTCGAAT	TCACAGCAGCGGTAGCCATTG
EVM0006949	GCCCAACAAGACCTCGGATTTC	AGAGTACGCCGTCATCGCTGAT
EVM0010352	GCTCGCCGCTTCATCCCAATT	ACTTCGGGCACGCCTGGATT

性蛋白(等电点小于 7), 47 个属于碱性蛋白。蛋白质长度分布为 100–1 900 个氨基酸。

2.2 Zn(II)₂Cys₆ 型转录因子的 Gal4 结构域分析

在 67 个巨大侧耳的 Zn(II)₂Cys₆ 型转录因子蛋白中, 56 个转录因子的 Gal4 结构域位于 N 端, 2 个位于 C 端, 其余的位于近中间区域。有 46 个转录因子含有 MHR (调控区) 结构域, 1 个转录因子含有 3 个 Gal4 结构域, 2 个转录因子含有 2 个 Gal4 结构域, 15 个转录因子中还含有亮氨酸拉链结构域。

Zn(II)₂Cys₆ 型转录因子蛋白的 Gal4 结构域基序特征是在 Cys1–Cys2、Cys2–Cys3 和 Cys4–Cys5 区段氨基酸残基表现出高度保守性, 其氨基酸残基数分别为 2、6 和 2, 而 Cys3–Cys4 和 Cys5–Cys6 区段氨基酸的长度及序列表现出可变量, 为可变区(图 1)。依据 Gal4 结构域可变区的序列特征将巨大侧耳的 Zn(II)₂Cys₆ 型转录因子家族分为 21 个亚家族, 其中含有 C-X₂-C-X₆-C-X₅-C-X₂-C-X₄-C (C 代表半胱氨酸, X 代表任意氨基酸残基, 下标数字代表氨基酸个数) 基序的 Zn(II)₂Cys₆ 型转录因子数量最多(11 个, 表 2)。

2.3 Zn(II)₂Cys₆ 型转录因子基因家族的系统发育树分析

基于蛋白质序列相似性构建系统发育树分析发现 67 个家族基因可分为 4 个分支(图 2)。Gal4 结构域基序为 C-X₂-C-X₆-C-X₅-C-X₂-C-X_{6,8}-C 的 Zn(II)₂Cys₆ 型转录因子主要分布在第 I 分支, 基序为 C-X₂-C-X₆-C-X₆-C-X₂-C-X_{6,9}-C 的 Zn(II)₂Cys₆ 型转录因子主要分布在第 III 分支, 基序为 C-X₂-C-X₆-C-X₈-C-X₂-C-X₆-C 的 Zn(II)₂Cys₆ 型转录因子主要分布在第 IV 分支, 基序为 C-X₂-C-X₆-C-X₉-C-X₂-C-X_{6,8}-C 的 Zn(II)₂Cys₆ 型转录因子主要分布在第 II 分支。具有亮氨酸拉链结构域的转录因子分布在第 II 和第 III 分支。

2.4 Cd²⁺胁迫下巨大侧耳 Zn(II)₂Cys₆ 型转录因子基因的表达谱

转录组分析显示, 10 μmol/L Cd²⁺ 浓度胁迫的菌丝体中表达差异的 Zn(II)₂Cys₆ 型转录因子编码基因明显少于 100 μmol/L Cd²⁺ 胁迫的, 并

且随着胁迫时间的延长, 差异表达的基因易于恢复至正常水平(图 3)。10 μmol/L Cd²⁺ 胁迫 3、6、12 h 与 0 h 对照组之间共有 17 个差异表达的 Zn(II)₂Cys₆ 型转录因子编码基因(15 个上调, 2 个下调); 100 μmol/L Cd²⁺ 胁迫 3、6、12、24 h 下共有 50 个差异表达的 Zn(II)₂Cys₆ 型转录因子编码基因(40 个上调, 10 个下调)(图 4)。去重后共获得 53 个差异表达基因, 其表达水平呈时间和浓度依赖性。

15 个在 10 μmol/L Cd²⁺ 胁迫的菌丝中上调的基因中, 除 EVM0011499 和 EVM0002571 之外, 其余均在 100 μmol/L Cd²⁺ 胁迫的菌丝中上调表达, 且上调的倍数较高。2 个(EVM0003093 和 EVM0008271)在 10 μmol/L Cd²⁺ 胁迫的菌丝中下调表达的基因中, EVM0003093 在 100 μmol/L Cd²⁺ 胁迫的菌丝中仍下调表达, 且下调幅度较大。表达热图显示, 高浓度胁迫下基因表达波动更剧烈(图 5, 图 6)。

2.5 部分差异表达的 Zn(II)₂Cys₆ 型转录因子的功能预测

对 10 μmol/L Cd²⁺ 胁迫的菌丝体的转录组进行 WGCNA 分析, 将基因分为 14 个模块, 其中有 7 个差异表达的 Zn(II)₂Cys₆ 型转录因子编码基因分布在 blue 模块, 其余模块各包含 1 个差异表达的 Zn(II)₂Cys₆ 型转录因子编码基因。计算 blue 模块的 TOM 矩阵, 从中提取与 7 个 Zn(II)₂Cys₆ 型转录因子编码基因共表达的基因(共 157 个, TOM 值>0.35), 利用 Gephi 软件构建转录因子与其共表达基因的相互作用图(图 7), 同时利用 clusterprofiler 包对共表达基因进行 GO 和 KEGG 富集分析(图 8)。

Zn(II)₂Cys₆ 型转录因子编码基因与其共表达基因的网络拓扑结构见图 7。节点大小基于加权度(weighted degree)渲染, 加权度越高(即与其他基因的共表达强度总和越大), 节点越大, 可直观反映节点在网络中的“枢纽性”。EVM0002031 可能为核心调控因子(图 7)。边的粗细代表边权重(TOM 值)信息, TOM 值越高则边越粗, 表示基因间关联得越强。节点的颜色则是根据模块化分区结果(modularity_class)着色, 同一颜色模块

内的基因具有高度共表达相关性,不同颜色区分功能异质性模块。模块化分析识别出3个主要模块,其中模块1包含1个Zn(II)₂Cys₆型转录因

子编码基因(EVM0002031),模块2包含2个(EVM0003984和EVM0010988),模块包含3个(EVM0007165、EVM0000130和EVM0002760)。



图1 巨大侧耳Zn(II)₂Cys₆型转录因子的Gal4结构域保守基序 Group 1–10代表表2所示的部分Gal4锌簇结构域的类型; x轴表示氨基酸的位置, y轴表示每个氨基酸在基序中的计数

Fig. 1 The conserved motif of Gal4 domain of Zn(II)₂Cys₆ TFs of *Pleurotus giganteus*. Group 1–10 representing the type of certain Gal4 zinc cluster domain shown in Table 2; The x-axis indicates the position of the amino acids, and the y-axis represents the number of hits of per amino acid within the motif.

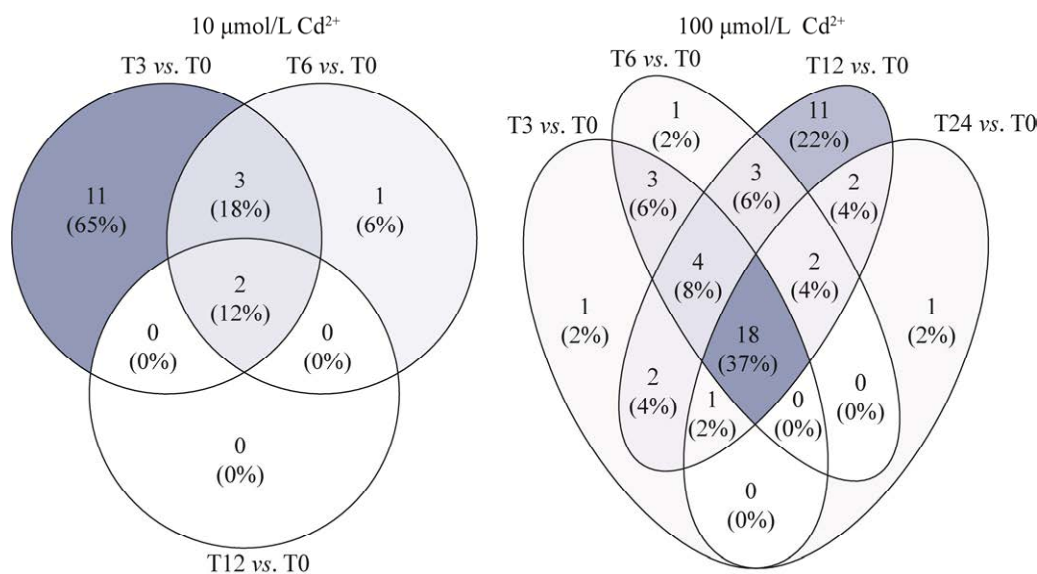


图 3 两种 Cd²⁺浓度胁迫下差异表达的 Zn(II)₂Cys₆ 型转录因子编码基因韦恩图

Fig. 3 Venn diagram of differentially expressed Zn(II)₂Cys₆ TF genes under two different Cd²⁺ concentration stresses.

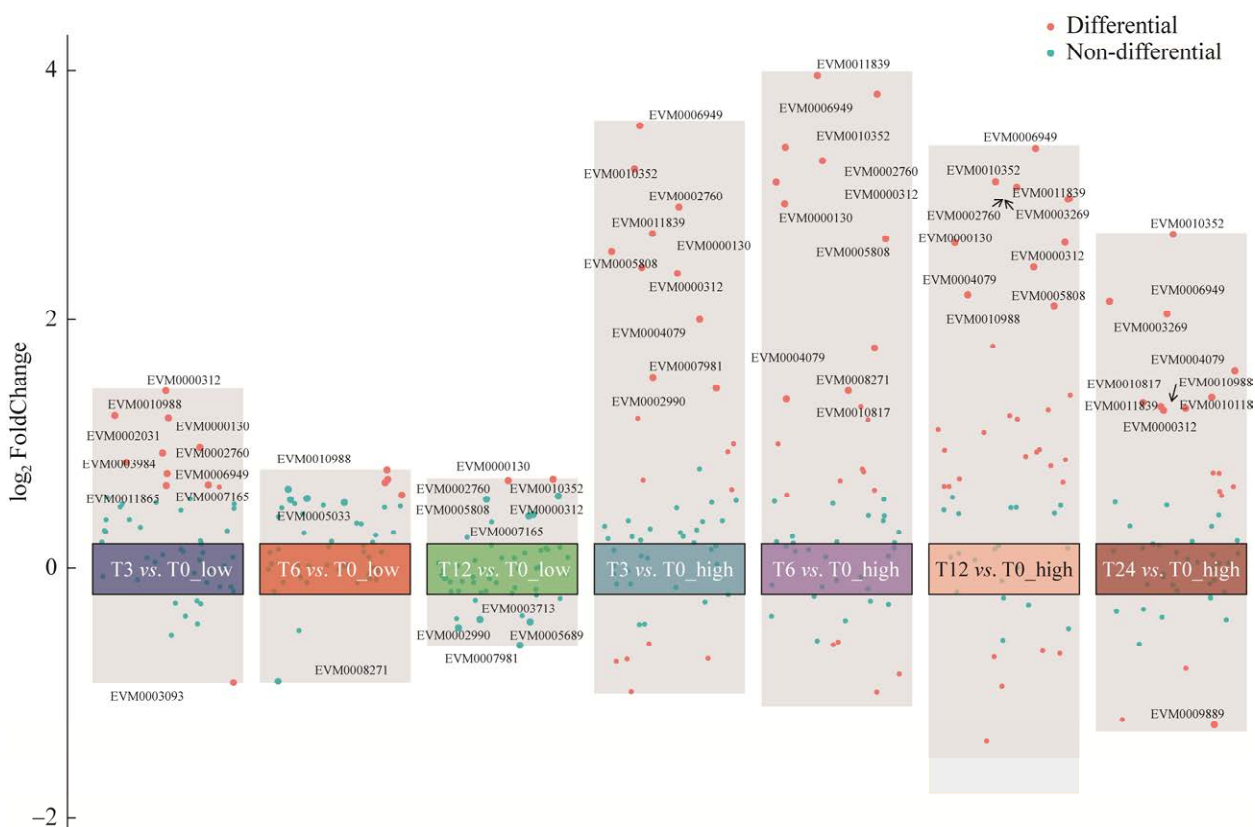


图 4 各处理组与对照组的差异表达基因 T 表示胁迫时间, low 表示 10 μmol/L Cd²⁺胁迫组, high 表示 100 μmol/L Cd²⁺胁迫组; 矫正的 P 值 < 0.05 且 |log₂ FoldChange| ≥ 0.585 的基因以红色表示, 而矫正的 P 值 ≥ 0.05 的基因以蓝色表示

Fig. 4 Differentially expressed genes between each treatment group and the control group. T denotes the duration of stress exposure, low indicates the treatment groups subjected to 10 μmol/L Cd²⁺ stress; high indicates the treatment groups subjected to 100 μmol/L Cd²⁺ stress. Genes with an adjusted P-value < 0.05 and |log₂ FoldChange| ≥ 0.585 are highlighted in red, while those with adjusted P-value ≥ 0.05 are indicated in blue.

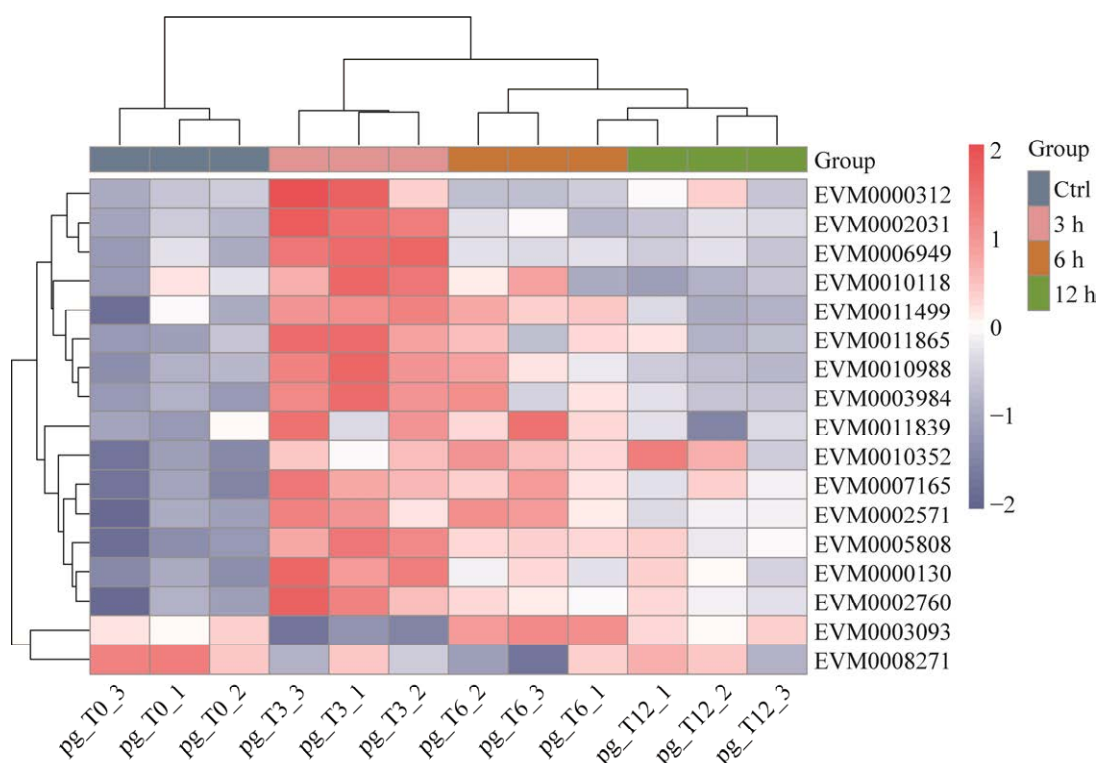


图 5 $10 \mu\text{mol/L Cd}^{2+}$ 胁迫下菌丝体中差异表达的 $\text{Zn(II)}_2\text{Cys}_6$ 型转录因子基因表达热图 每一行代表一个基因，每一列代表一个样本；处理组和对照组均有 3 个生物学重复，分别用数字(1、2、3)标记；T0、T3、T6、T12 分别代表处理时间为 0、3、6 和 12 h；图例标注了样本分组信息，Ctrl 表示处理时间为 0 h 的对照组；下同

Fig. 5 Heatmap of differentially expressed $\text{Zn(II)}_2\text{Cys}_6$ -type transcription factor genes in mycelia under $10 \mu\text{mol/L Cd}^{2+}$ treatment. Each row represents a gene, each column represents a sample. Each treatment group and control group has three biological replicates, labeled with numbers (1, 2, 3). T0, T3, T6, and T12 represent treatment times of 0, 3, 6, and 12 h, respectively. The legend indicates the grouping information of samples, with Ctrl representing the control group at a treatment time of 0 h. The same below.

基于模块中共表达基因的 GO 和 KEGG 富集分析结果(图 8)得知，模块 1 主要富集到 alkaloid biosynthetic process、terpenoid indole alkaloid biosynthetic process、sulfur metabolism、phenylalanine, tyrosine and tryptophan biosynthesis、riboflavin metabolism、folate biosynthesis 等通路；模块 3 富集到 benzoate degradation、butanoate metabolism、phenylpropanoid biosynthesis、tryptophan metabolism、valine, leucine and isoleucine degradation、propanoate metabolism 等代谢通路。此外，模块基因间存在协同作用，比如模块 1 和模块 2 共同富集到 response to oxidative stress、response to reactive oxygen species、response to toxic substance、ribosome biogenesis in eukaryotes、purine metabolism、selenocompound metabolism、ferroptosis、cysteine and methionine metabolism 等通路；

模块 1 和 3 共同富集到 citrate cycle、pyruvate metabolism 等通路；模块 1、2 和 3 共同富集到 acetyl-CoA metabolic process、nucleoside bisphosphate metabolic process、purine nucleoside bisphosphate metabolic process、sulfur compound metabolic process、thioester metabolic process、ABC transporters、biosynthesis of secondary metabolites、terpenoid backbone biosynthesis、isoprenoid metabolic process、farnesyl diphosphate metabolic process 通路。

对 $100 \mu\text{mol/L Cd}^{2+}$ 胁迫的菌丝体的转录组进行 WGCNA 分析，将基因分为 12 个模块，其中 21 个差异表达的 $\text{Zn(II)}_2\text{Cys}_6$ 型转录因子编码基因分布在 turquoise 模块，8 个分布在 yellow 模块，3 个分布在 black 模块，green、pink、red 和 blue 模块各 1 个。计算 turquoise 模块的 TOM

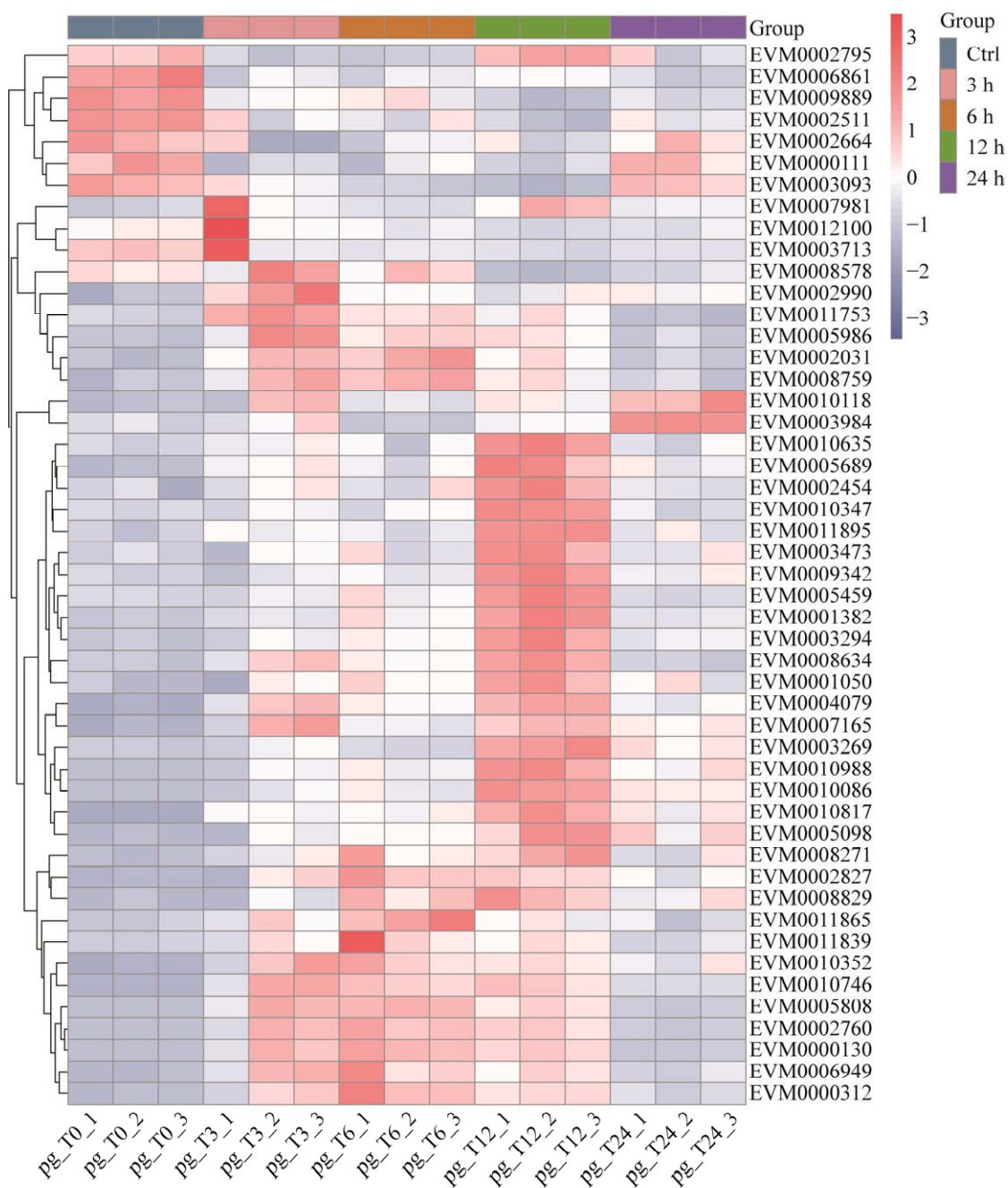


图 6 100 $\mu\text{mol/L}$ Cd^{2+} 胁迫下菌丝体中差异表达的 $Zn(II)_2Cys_6$ 型转录因子基因表达热图

Fig. 6 Heatmap of differentially expressed $Zn(II)_2Cys_6$ -type transcription factor genes in mycelia under 100 $\mu\text{mol/L}$ Cd^{2+} treatment.

矩阵,从中提取与 21 个 $Zn(II)_2Cys_6$ 型转录因子编码基因共表达的基因。利用 Gephi 软件构建转录因子与其共表达基因的相互作用图(图 9),同时利用 clusterprofiler 包对共表达基因进行 GO 富集分析(图 10)。

模块化分析识别出 7 个主要模块,其中模块

1 包含 1 个 $Zn(II)_2Cys_6$ 型转录因子编码基因(EVM0004079),模块 2 主要包含 2 个(EVM0010746 和 EVM0006949),模块 3 主要包含 1 个(EVM0010817),模块 4 主要包含 2 个(EVM0010988 和 EVM0010086),模块 5 主要包含 3 个(EVM0001382、EVM0003294 和 EVM0001050),模块 6 主要包

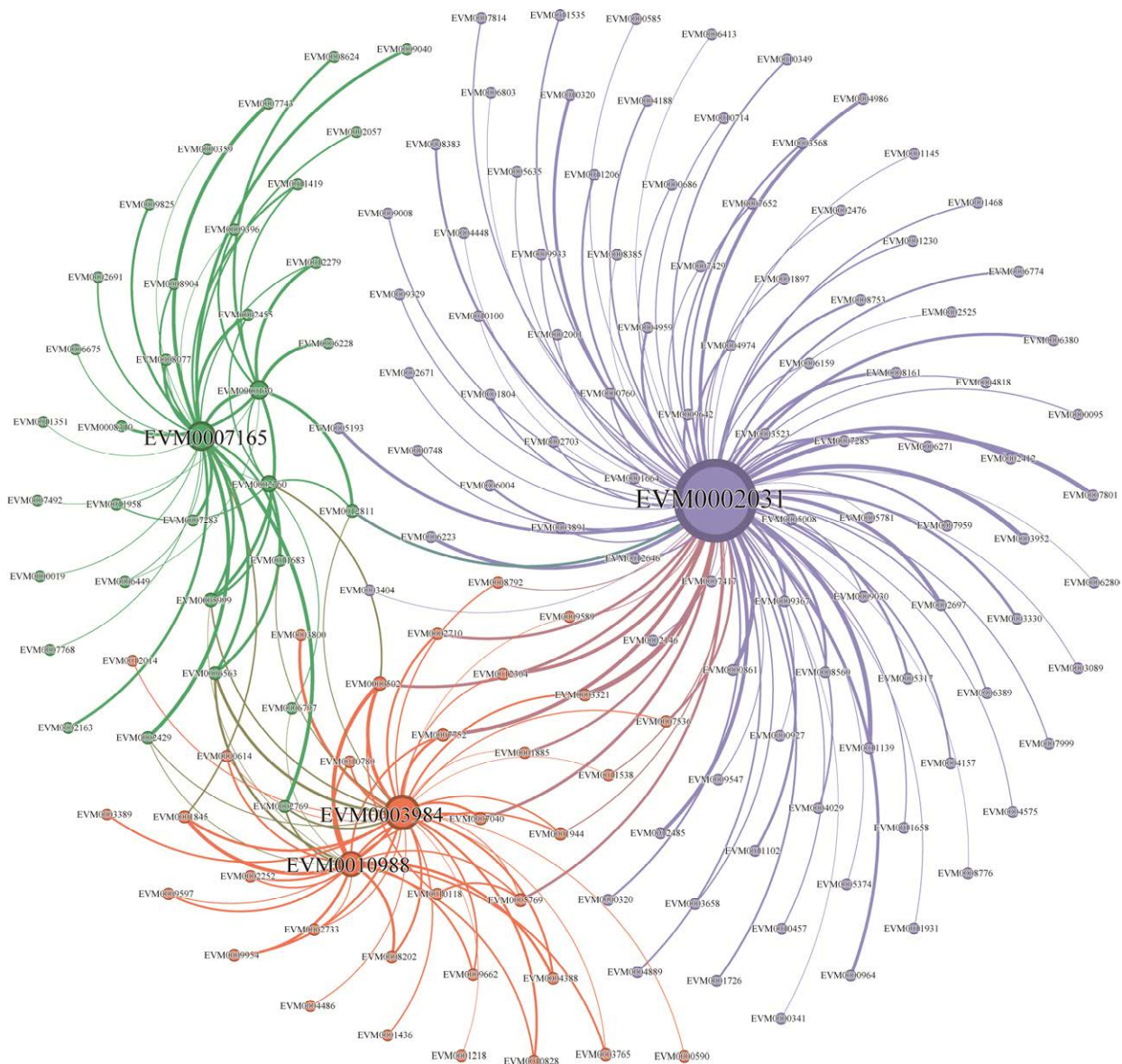


图 7 10 μmol/L Cd²⁺胁迫下 7 个转录因子与其共表达基因的相互作用网络
 Fig. 7 Interaction network of 7 transcription factors and their co-expressed genes under 10 μmol/L Cd²⁺ stress.

含 2 个(EVM0010352、EVM0007165), 模块 7 只包含一个转录因子(EVM0010118)和一个共表达基因(图 9)。

基于模块中共表达基因的KEGG富集分析结果(图 10)得知, 模块 1 主要富集到 sulfur metabolism、alkaloid biosynthetic process、indole alkaloid biosynthetic process、ergot alkaloid biosynthetic process 等途径; 模块 2 单独富集到 selenocompound metabolism 通路; 模块 5 富集到 endoplasmic reticulum-associated degradation (ERAD)途径; 模

块间基因的协同作用更加明显, 上述 5 个模块共同富集到 protein processing in endoplasmic reticulum、protein folding、response to nitrogen compound、vesicle-mediated transport 等多个途径; 模块 1 和 2 共同富集到 calcium signaling pathway 途径; 模块 1 和 3 共同富集到 glutathione metabolism、metabolism of xenobiotics by cytochrome P450、platinum drug resistance 途径; 模块 1 和 5 共同富集到 mTOR signaling pathway 途径; 模块 3、5 共同富集到 various types of N-glycan biosynthesis、

N-Glycan biosynthesis、protein localization to endoplasmic reticulum、response to endoplasmic reticulum stress 途径；模块 1、2 和 3 共同富集到 SNARE interactions in vesicular transport 途径；

模块 1、3 和 5 共同富集到 endoplasmic reticulum to Golgi vesicle-mediated transport、Golgi vesicle transport 途径；模块 3、4 和 5 共同富集到 ubiquitin-dependent ERAD pathway 途径；模块 1、

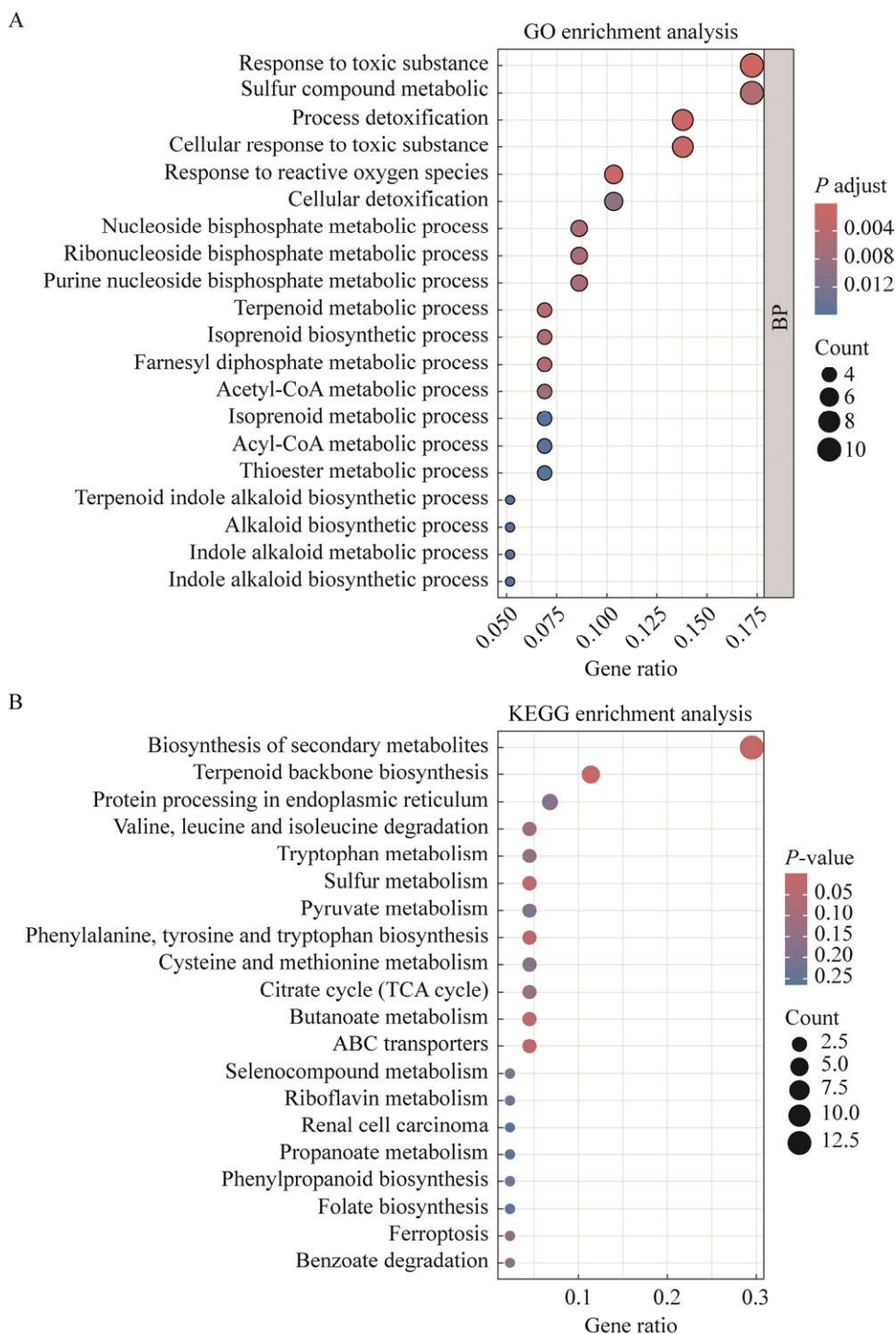


图 8 $10 \mu\text{mol/L}$ Cd^{2+} 胁迫下 7 个 $Zn(II)_2Cys_6$ 型转录因子的共表达基因的 GO 和 KEGG 富集分析

Fig. 8 GO and KEGG enrichment analysis of co-expressed genes of 7 $Zn(II)_2Cys_6$ -type transcription factors under $10 \mu\text{mol/L}$ Cd^{2+} stress.

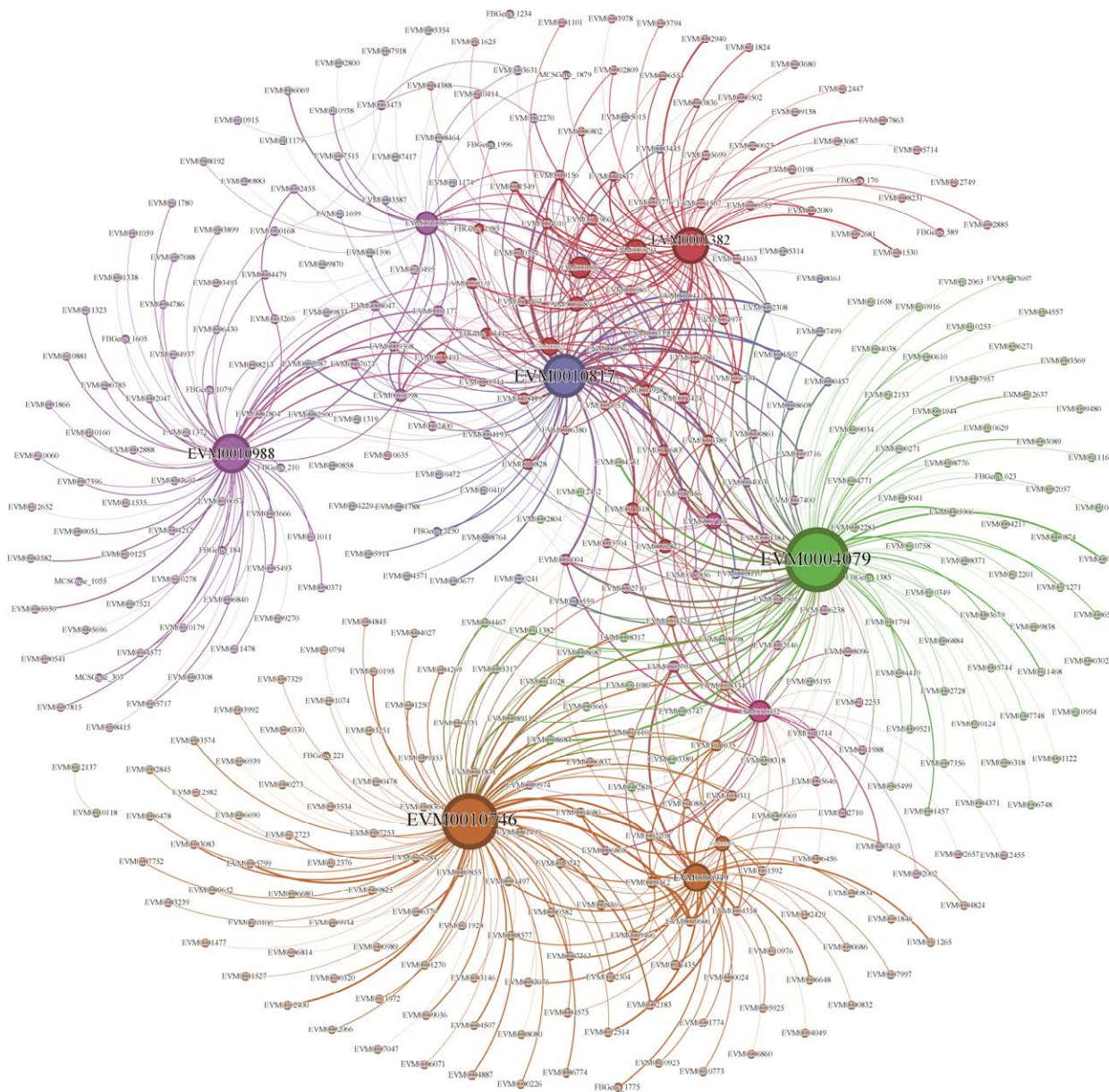


图 9 100 $\mu\text{mol/L}$ Cd^{2+} 胁迫下 21 个转录因子与其共表达基因的相互作用网络
 Fig. 9 Interaction network of 21 transcription factors and their co-expressed genes under 100 $\mu\text{mol/L}$ Cd^{2+} stress.

2、3 和 4 共同富集到 amino sugar and nucleotide sugar metabolism 途径；模块 1、3、4 和 5 共同富集到 phagosome、protein processing in endoplasmic reticulum 途径。

从 GO 和 KEGG 富集分析结果(图 8, 图 10) 得知, 两种 Cd^{2+} 浓度胁迫下的共表达基因均显著富集于硫代谢、萜类物质合成、硒化合物代谢等途径, 表明无论镉离子浓度高低, 巨大侧耳均通过调节硫化合物代谢(如含硫氨基酸合成、谷

胱甘肽等解毒物质生成)、萜类物质的合成和硒蛋白的合成来应对镉离子胁迫引起的活性氧胁迫, 这是其核心防御机制之一。然而低浓度镉离子下 KEGG 代谢通路以次级代谢与基础能量代谢为主, 如 biosynthesis of secondary metabolites、terpenoid backbone biosynthesis、citrate cycle、pyruvate metabolism 等; 富集到的 GO term 则侧重对外源有毒物质的直接响应, 与镉离子的清除与氧化损伤修复有关, 如 response to toxic substance、

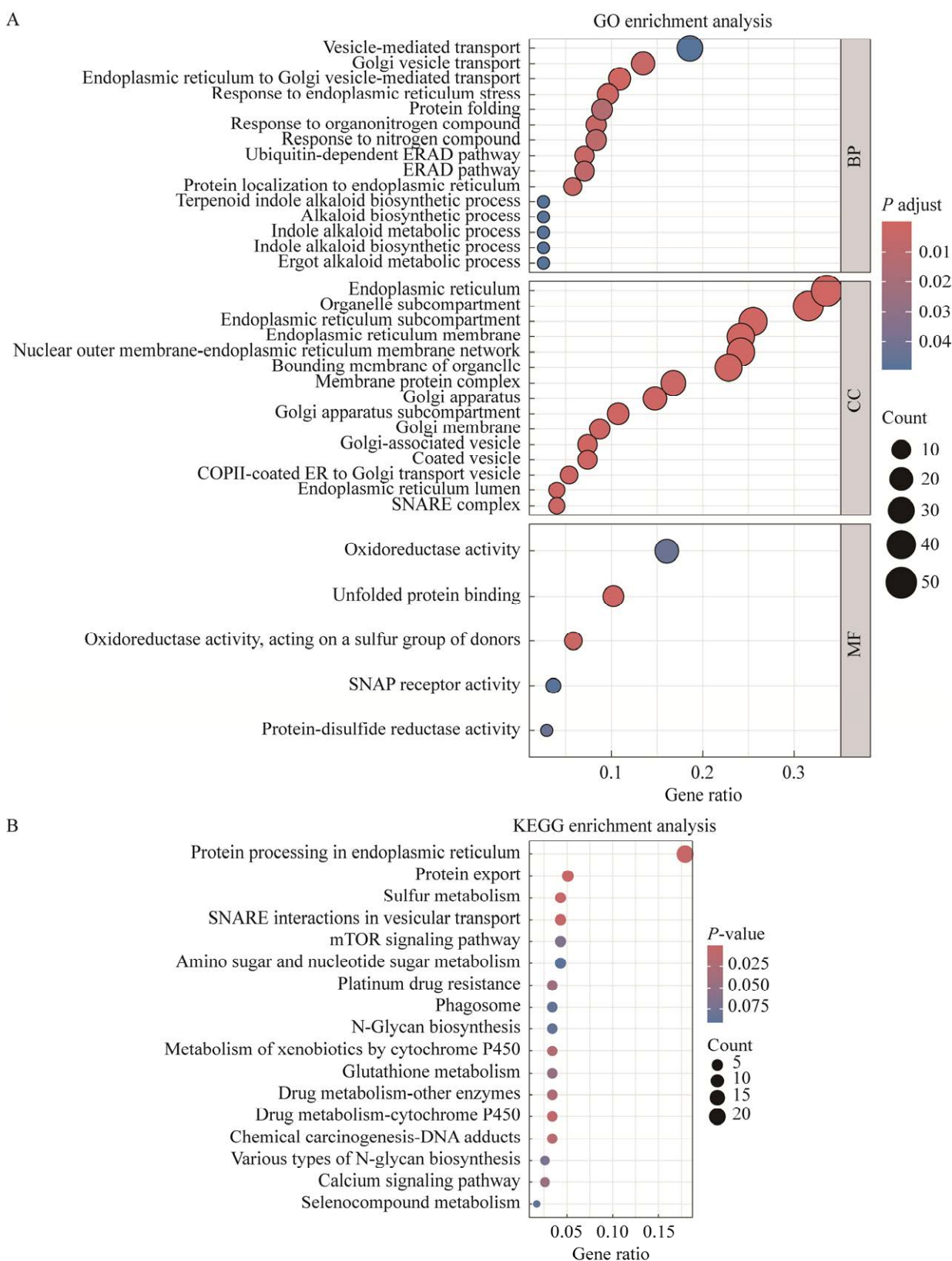
图 10 $100 \mu\text{mol/L}$ Cd^{2+} 胁迫下 21 个 $Zn(II)_2Cys_6$ 型转录因子的共表达基因的 GO 和 KEGG 富集分析

Fig. 10 GO and KEGG enrichment analysis of co-expressed genes of 21 $Zn(II)_2Cys_6$ -type transcription factors under $100 \mu\text{mol/L}$ Cd^{2+} stress.

detoxification、response to reactive oxygen species 等。提示菌丝通过增强抗氧化/螯合类次级代谢物(如萜类)的合成、氨基酸和蛋白质的合成以及能量代谢等代谢的适应性调整来缓解低浓度 Cd²⁺胁迫,维持生长,表现为较为温和的应答。高浓度镉离子下 KEGG 代谢通路以蛋白质加工、信号转导与外源物质代谢为主,如 protein processing in endoplasmic reticulum、SNARE interactions in vesicular transport、mTOR signaling pathway、metabolism of xenobiotics by cytochrome P450、phagosome 等;富集到的 GO term 侧重细胞内稳态调控, Golgi vesicle transport、endoplasmic reticulum stress response、ubiquitin-dependent ERAD pathway 等,与蛋白质运输、折叠纠错及细胞器功能协调有关。表明菌丝为应对强烈的 Cd²⁺胁迫启动了

生存防御模式,通过强化蛋白质折叠/降解、囊泡运输及外源毒性物质代谢通路维持细胞稳态,抑制生长或诱导死亡。以上结果表明, Zn(II)₂Cys₆ 型转录因子家族成员在巨大侧耳应对 Cd²⁺胁迫的反应中分工协作。

2.6 部分 Zn(II)₂Cys₆ 型转录因子编码基因表达量的 RT-qPCR 验证

为验证转录组测序结果的可靠性,采用实时荧光定量 PCR (qPCR)技术对 6 个基因的表达水平进行了验证(图 11)。10 μmol/L Cd²⁺胁迫下的 EVM0007165 和 EVM0010352 基因的 qPCR 检测表达量与转录组测序结果存在较大差异, 100 μmol/L Cd²⁺胁迫下 EVM0010352 基因的表达趋势与转录组数据不一致。其余基因的表达趋势与转录组结果基本一致,仅在个别胁迫时间点的表达量有

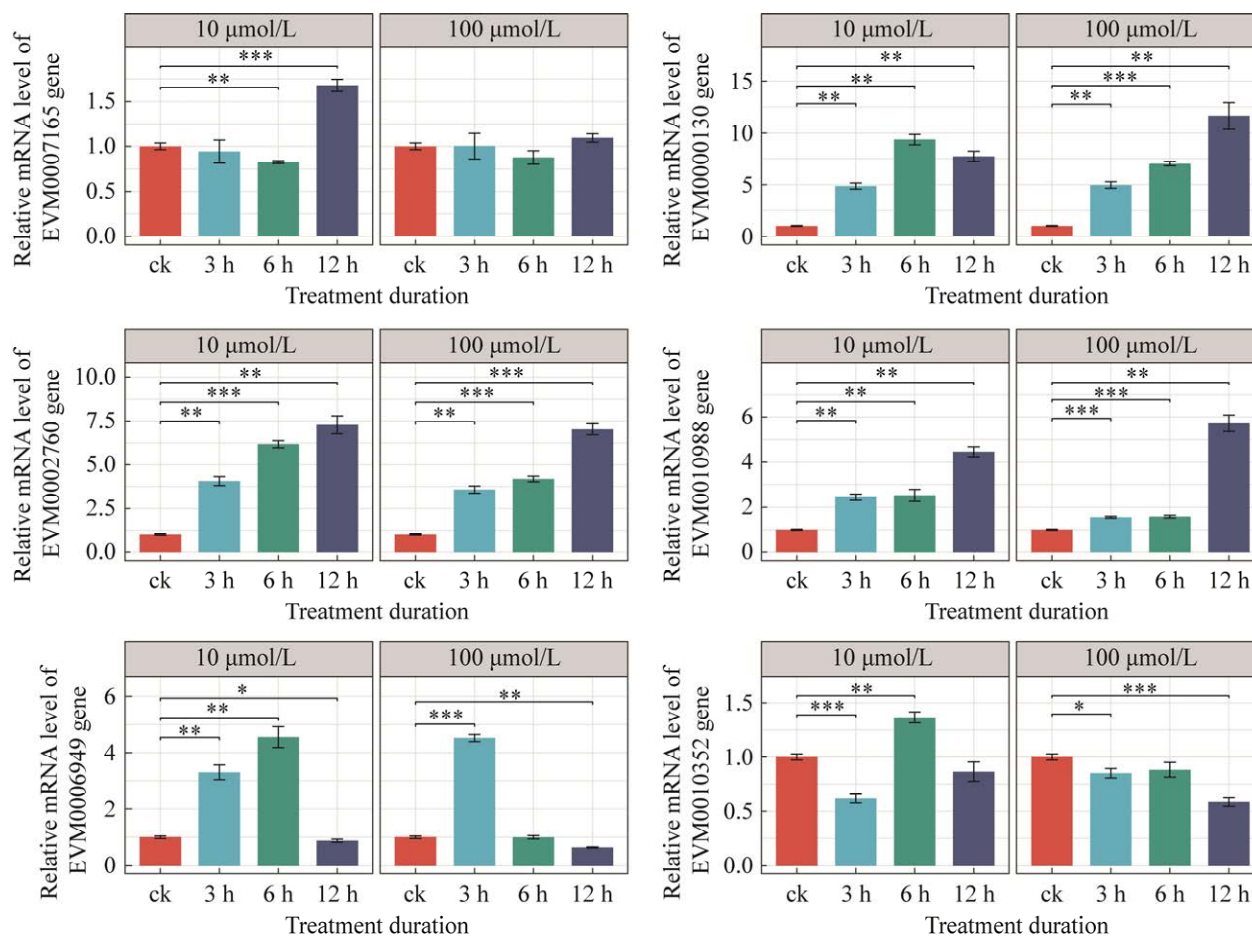


图 11 10 μmol/L Cd²⁺和 100 μmol/L Cd²⁺胁迫下基因的相对 mRNA 水平

Fig. 11 Relative mRNA level of gene under 10 μmol/L Cd²⁺ and 100 μmol/L Cd²⁺ cadmium ion stress. * *P*<0.05, ** *P*<0.01, *** *P*<0.001, ANOVA, *n*=3.

一定波动。上述差异可能源于方法学上的不同,转录组测序反映的是基因所有转录本的平均表达水平,而 qPCR 则针对特定转录本(如通过引物设计靶向单一可变剪切体)进行定量,二者的检测维度存在本质区别。尽管存在部分定量结果的差异,两种技术均证实 $Zn(II)_2Cys_6$ 型转录因子编码基因的表达水平对 Cd^{2+} 浓度及胁迫时间有依赖性,验证了转录组数据的生物学可靠性。

3 讨论

本研究利用隐马尔可夫模型在巨大侧耳基因组中鉴定出 67 个 $Zn(II)_2Cys_6$ 型转录因子基因家族成员。这一结果与金针菇和肉桂色薄孔菌中该家族基因数量的报道相近(罗玛妮娅等 2021; 赵琛等 2021),表明 $Zn(II)_2Cys_6$ 型转录因子在真菌中具有广泛的保守性和多样性。

通过 Motif 分析发现, Gal4 结构域在 $Zn(II)_2Cys_6$ 型转录因子中具有显著保守性,其 Cys-X₂-Cys-X₆-Cys-X₅₋₁₂-Cys-X₂-Cys-X₆₋₈-Cys 基序通过半胱氨酸残基与 Zn^{2+} 结合,形成稳定的双核锌簇结构,这一特征与其调控 DNA 结合能力直接相关(MacPherson *et al.* 2006)。此外,系统发育分析进一步将这 67 个基因划分为 4 个主要分支,揭示了该家族在进化过程中的分化。不同分支的转录因子可能对应功能分化。例如,低浓度 Cd^{2+} 胁迫下上调表达的 15 个转录因子基因中有 9 个属于分支 III, 3 个属于分支 II, 而高浓度 Cd^{2+} 胁迫下分支 I 的转录因子多呈下调或无差异表达。

转录组分析显示, 10 $\mu\text{mol/L}$ 和 100 $\mu\text{mol/L}$ Cd^{2+} 胁迫下分别有 17 和 50 个 $Zn(II)_2Cys_6$ 型转录因子差异表达,其中 42 个基因为上调表达,表明基因的表达水平具有浓度依赖特性。例如, EVM0003093 在两种浓度下均下调表达,而 EVM0008271 的表达仅在低浓度胁迫下受抑制。表明 $Zn(II)_2Cys_6$ 型转录因子在巨大侧耳应对 Cd^{2+} 胁迫中发挥着重要的调控作用。

KEGG 富集分析表明,两种 Cd^{2+} 浓度胁迫下菌丝中上调表达的转录因子的靶基因都富集到硫代谢、萜类物质合成、硒化合物代谢等代谢通路,说明不管 Cd^{2+} 浓度高低,菌丝都需要应

对氧化应激。值得注意的是,硒代谢通路在植物中可通过硒与硫代谢协同作用抑制重金属吸收,并利用硒蛋白增强抗氧化能力(Lanza & Reis 2021),本研究首次在大型真菌中发现其潜在抗 Cd^{2+} 胁迫作用,提示巨大侧耳可能通过硒蛋白合成增强抗氧化能力。此外,我们使用在线程序 antiSMASH (<https://fungismash.secondarymetabolites.org/#!/start>)对 42 个在 Cd^{2+} 胁迫下上调表达的 $Zn(II)_2Cys_6$ 型转录因子编码基因所在 contig 进行基因簇预测分析,发现 EVM000312 位于一个合成萜类化合物的基因簇内, EVM0011753 接近一个合成萜类化合物的基因簇, EVM0006949 接近一个合成非核糖体肽(NRPS)簇, EVM0001382 位于一个非核糖体肽合成簇内,推测这 4 个转录因子可能分别是萜类化合物和非核糖体肽的合成途径的特异性转录因子。这些结果与先前的研究相近,表明 $Zn(II)_2Cys_6$ 型转录因子在真菌应对环境胁迫中发挥了重要作用。例如,灵芝中的 $Zn(II)_2Cys_6$ 型转录因子通过调控三萜生物合成途径参与应激反应(阮诗雨 2024),而真姬菇中的 $Zn(II)_2Cys_6$ 型转录因子(HADA-1)在维持线粒体稳态和氧化应激反应中发挥了关键作用(Zhang *et al.* 2021)。

不同强度的 Cd^{2+} 胁迫对菌丝的影响有明显差异。在 10 $\mu\text{mol/L}$ Cd^{2+} 胁迫下,菌丝通过调节细胞基础代谢(蛋白质合成、TCA 循环)、促进次级代谢产物合成、激活硫代谢和 ABC 转运蛋白络合并外排 Cd^{2+} 等途径可逆性缓解胁迫,维持生长。而在 100 $\mu\text{mol/L}$ Cd^{2+} 胁迫下,菌丝则启动蛋白质折叠修复(内质网应激通路)和外源物质代谢(细胞色素 P450 通路),反映细胞从“适应性生长”向“紧急防御”的策略转变。

合成生物学驱动的蘑菇定制化有助于将农业废弃物转化为食物等更多产品,是未来发展的方向(Zou *et al.* 2023)。阐明食用菌的基因调控机制,可以提高基因工程的育种效率,促进满足工业要求的快速生长的蘑菇底盘(chassis)的创建。本研究初步揭示了巨大侧耳 $Zn(II)_2Cys_6$ 型转录因子在 Cd^{2+} 胁迫下的表达模式及其潜在功能,但需进一步明确其与菌丝富集 Cd^{2+} 能力的调控

关系。基于本研究结果,未来可针对可能调控下游金属转运蛋白(如 ABC 转运蛋白、囊泡运输相关蛋白)或螯合分子(如谷胱甘肽)的合成的 Zn(II)₂Cys₆ 型转录因子进行重点研究,通过基因干扰或过表达实验构建转基因菌株,测定 Cd²⁺胁迫下转基因菌株的 Cd²⁺含量、亚细胞分布等,揭示它们直接调控 Cd²⁺的跨膜运输与胞内解毒进程的作用。若能证实特定转录因子可正向调控镉富集效率,可通过基因编辑技术培育高富集能力的工程菌株,应用于重金属污染土壤的生物修复;反之,若发现负调控因子,则可为培育低镉积累的食用菌新品种提供靶点,降低食品安全风险。

作者贡献

刘悦: 论文撰写、试验、数据整理及分析;
宋学超: 试验、数据整理及分析; 张娜: 实验及数据处理; 张蕊和李维焕: 实验指导、文章审核;
程显好: 文章审核; 杨树德: 实验设计及指导、数据审核、论文修改。

利益冲突声明

该研究不存在任何潜在利益冲突的商业或财务关系。

[REFERENCES]

- Chen SB, Wang M, Li SS, Zheng H, Lei XQ, Sun XY, Wang LF, 2019. Current status of and discussion on farmland heavy metal pollution prevention in China. *Earth Science Frontiers*, 26(6): 35-41 (in Chinese)
- Cheng HJ, Zhang CH, Wang GZ, Xi PG, Deng WQ, Li TH, 2021. Cloning and expression analysis of Zn(II)₂Cys₆ transcription factor TgRPO1 from *Tolypocladium guangdongense*. *Acta Edulis Fungi*, 28(1): 22-29 (in Chinese)
- Dai YC, Yang ZL, Cui BK, Wu G, Yuan HS, Zhou LW, He SH, Ge ZW, Wu F, Wei YL, Yuan Y, Si J, 2021. Diversity and systematics of the important macrofungi in Chinese forests. *Mycosystema*, 40: 770-805 (in Chinese)
- Du JX, Xi JP, Fang DL, Sun HL, Hu QH, Zhao LY, 2021. Nutritional evaluation and flavor characteristic analysis of different parts of *Clitocybe maxima*. *Journal of Zhejiang University (Agriculture and Life Sciences)*, 47(6): 743-756 (in Chinese)
- Ghosh S, Rusyn I, Dmytruk OV, Dmytruk KV, Onyeaka H, Gryzenhout M, Gafforov Y, 2023. Filamentous fungi for sustainable remediation of pharmaceutical compounds, heavy metal and oil hydrocarbons. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*, 11: 1106973
- Langfelder P, Horvath S, 2008. WGCNA: an R package for weighted correlation network analysis. *BMC Bioinformatics*, 9(1): 559
- Lanza MGDB, Reis ARD, 2021. Roles of selenium in mineral plant nutrition: ROS scavenging responses against abiotic stresses. *Plant Physiology and Biochemistry*, 164: 27-43
- Legorreta-Castañeda A, Lucho-Constantino C, Beltrán-Hernández R, Coronel-Olivares C, Vázquez-Rodríguez G, 2020. Biosorption of water pollutants by fungal pellets. *Water*, 12(4): 1155
- Li YX, 2018. Role of two Zn(II)₂Cys₆ transcription factors in colony growth and stress tolerance of *Beauveria bassiana*. MS Thesis, Southwest University, Chongqing. 1-65 (in Chinese)
- Liu Q, Zheng X, Du R, Shao Y, Wen Q, Shen X, Wang F, Qi Y, Shen J, Hu Y, 2024. Enrichment characteristics of Cd and Hg and regulation of heavy metal transporter signaling in *Pleurotus ostreatus*. *Science of the Total Environment*, 955: 176909
- Lu J, Cao H, Zhang L, Huang P, Lin F, 2014. Systematic analysis of Zn₂Cys₆ transcription factors required for development and pathogenicity by high-throughput gene knockout in the rice blast fungus. *PLoS Pathogens*, 10(10): e1004432
- Luo MNY, Wang Y, Zheng Y, Zhang Z, Wang J, Yang YM, 2021. Genome-wide identification and analysis of Zn(II)₂Cys₆ transcription factors in *Antrodia cinnamomea*. *Journal of Forest and Environment*, 41(2): 157-163 (in Chinese)
- Ma HX, Si J, Dai YC, Zhu AH, Cui BK, Fan YG, Yuan Y, He SH, 2022. Diversity of wood-inhabiting macrofungi in Hainan Province, South China. *Mycosystema*, 41: 695-712
- MacPherson S, Larochelle M, Turcotte B, 2006. A fungal family of transcriptional regulators: the zinc cluster proteins. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 70(3): 583-604
- Priyadarshini E, Priyadarshini S, Cousins B, Pradhan N, 2021. Metal-fungus interaction: review on cellular processes underlying heavy metal detoxification and synthesis of metal nanoparticles. *Chemosphere*, 274: 129976
- Ruan SY, 2024. Molecular mechanism of Zn(II)₂Cys₆ zinc finger transcription factor regulating triterpene

- biosynthesis in *Ganoderma lingzhi*. MS Thesis, Zhejiang A&F University, Hangzhou. 1-73 (in Chinese)
- Wu B, Zhang XL, Cui BK, Dai YC, 2015. Comparative genomic analysis of edible (medicinal) fungi reveals different ecological habitats. *Mycosystema*, 34: 742-760 (in Chinese)
- Wu BJ, 2020. Research progress and prospect for *Panus giganteus*. *Journal of Anhui Agricultural Sciences*, 48(22): 25-27 (in Chinese)
- Wu F, Zhou LW, Yang ZL, Bau T, Li TH, Dai YC, 2019. Resource diversity of Chinese macrofungi: edible, medicinal and poisonous species. *Fungal Diversity*, 98: 1-76
- Wu T, Hu E, Xu S, Chen M, Guo P, Dai Z, Feng T, Zhou L, Tang W, Zhan L, Fu X, Liu S, Bo X, Yu G, 2021. ClusterProfiler 4.0: a universal enrichment tool for interpreting omics data. *The Innovation*, 2(3): 100141
- Xu F, Chen P, Li H, Qiao S, Wang J, Wang Y, Wang X, Wu B, Liu H, Wang C, Xu H, 2021. Comparative transcriptome analysis reveals the differential response to cadmium stress of two *Pleurotus* fungi: *Pleurotus cornucopiae* and *Pleurotus ostreatus*. *Journal of Hazardous Materials*, 416: 125814
- Zhang J, Hao H, Liu H, Wang Q, Chen M, Feng Z, Chen H, 2021. Genetic and functional analysis of the Zn(II)₂Cys₆ transcription factor HADA-1 in *Hypsizygus marmoreus*. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 105(7): 2815-2829
- Zhang XR, Zhang ZY, Wang Y, Yuan XL, Yang Y, 2021. Zn(II)₂Cys₆-type transcription factors in *Sanghuangporus sanghuang* grown under different carbon and nitrogen sources. *Mycosystema*, 40(7): 1676-1687 (in Chinese)
- Zhao C, Tao YX, Ma XB, Yang H, Liu YY, Yao S, Li J, Xie BG, 2021. Identification of Zn(II)₂Cys₆ transcription factor genes in *Flammulina filiformis* and their response to blue light. *Acta Edulis Fungi*, 28(6): 1-10 (in Chinese)
- Zhao N, Zhao F, Li YH, 2009. Advances in research on zinc finger protein. *Letters in Biotechnology*, 20(1): 131-134 (in Chinese)
- Zhu LH, Liu ZY, Liu W, Zhang XY, Huang LL, Feng H, 2022. Identification and functional analysis of Vmzcf-07, Zn(II)₂Cys₆ transcription factor from *Valsa mali*. *Journal of Northwest Forestry University*, 37(4): 188-195 (in Chinese)
- Zou G, Nielsen JB, Wei Y, 2023. Harnessing synthetic biology for mushroom farming. *Trends Biotechnology*, 41(4): 480-483

[附中文参考文献]

- 陈世宝, 王萌, 李杉杉, 邓涵, 雷小琴, 孙晓艺, 王立夫, 2019. 中国农田土壤重金属污染防治现状与问题思考. *地学前缘*, 26(6): 35-41
- 程慧娇, 张成花, 王刚正, 习平根, 邓旺秋, 李泰辉, 2021. 广东虫草 Zn(II)₂Cys₆ 转录因子 TgPRO1 克隆及表达分析. *食用菌学报*, 28(1): 22-29
- 戴玉成, 杨祝良, 崔宝凯, 吴刚, 袁海生, 周丽伟, 何双辉, 葛再伟, 吴芳, 魏玉莲, 员媛, 司静, 2021. 中国森林大型真菌重要类群多样性和系统学研究. *菌物学报*, 40: 770-805
- 杜佳馨, 席嘉佩, 方东路, 孙海澜, 胡秋辉, 赵立艳, 2021. 猪肚菌不同部位的营养评价及风味特征分析. *浙江大学学报(农业与生命科学版)*, 47(6): 743-756
- 李永霞, 2018. 两个 Zn₂Cys₆ 锌指蛋白对球孢白僵菌生长及抗逆性的影响. 西南大学硕士论文, 重庆. 1-65
- 罗玛妮娅, 王毅, 郑元, 张璋, 王娟, 杨宇明, 2021. 牛樟芝 Zn(II)₂Cys₆ 转录因子的全基因组鉴定与分析. *森林与环境学报*, 41(2): 157-163
- 马海霞, 司静, 戴玉成, 朱安红, 崔宝凯, 范宇光, 员媛, 何双辉, 2022. 中国海南省木生大型真菌多样性研究. *菌物学报*, 41: 695-712
- 阮诗雨, 2024. Zn₂Cys₆ 锌指转录因子调控灵芝三萜生物合成的分子机制研究. 浙江农林大学硕士论文, 杭州. 1-73
- 吴碧君, 2020. 巨大革耳研究现状及展望. *安徽农业科学*, 48(22): 25-27
- 吴冰, 章小灵, 崔宝凯, 戴玉成, 2015. 食(药)用真菌比较基因组分析揭示其生态特性. *菌物学报*, 34: 742-760
- 张雪蕊, 张子蕴, 王毅, 原晓龙, 杨焱, 2021. 桑黄 Zn(II)₂Cys₆ 锌簇蛋白转录因子及其在不同碳氮源条件下的表达. *菌物学报*, 40(7): 1676-1687
- 赵琛, 陶永新, 马新斌, 杨环, 刘媛媛, 姚森, 李建, 谢宝贵, 2021. 金针菇 Zn₂Cys₆ 型锌指转录因子家族分析及其对蓝光的响应. *食用菌学报*, 28(6): 1-10
- 赵楠, 赵飞, 李玉花, 2009. 锌指蛋白结构及功能研究进展. *生物技术通讯*, 20(1): 131-134
- 朱立华, 刘召阳, 刘维, 张贤玉, 黄丽丽, 冯浩, 2022. 苹果树腐烂病菌 Zn(II)₂Cys₆ 类转录因子 Vmzctf-07 的鉴定及其功能分析. *西北林学院学报*, 37(4): 188-195