

# 担子菌Mating-Type序列生物信息学分析

杜琳霖<sup>1</sup>, 吴红梅<sup>1</sup>, 王祥培<sup>2</sup>, 唐光甫<sup>1</sup>, 满海乔<sup>1</sup>, 赵杰宏<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>贵州中医药大学, 贵州 贵阳

<sup>2</sup>贵州民族大学, 贵州 贵阳

收稿日期: 2022年2月6日; 录用日期: 2022年2月28日; 发布日期: 2022年3月8日

## 摘要

目的: 以草菇为研究对象, 对担子菌mating-type同源序列中的HD位点为靶标进行生物信息学初步分析。方法: 应用在线生物信息学软件预测HD序列的理化性质、疏水性/亲水性、导肽、跨膜结构、三维结构、功能结构域, 并构建了同亚门中其他物种该蛋白家族的系统进化树。结果: 同源mating-type序列中HD基因位点的氨基酸不稳定性指数在56%左右, 且无明显的信号肽、导肽和跨膜结构域, 三维结构由3个 $\alpha$ -螺旋和少数转角二级结构组成, 七种食用菌在氨基酸序列呈现较低的相似性。结论: 同源mating-type序列的HD1、HD2蛋白稳定性差, 无信号肽、导肽、跨膜结构, 无 $\beta$ -折叠, 在N-J进化树中不同物种间该氨基酸序列相似性极低, 表明HD位点具有丰富的多样性, 且结构简单。

## 关键词

草菇, 担子菌, 交配型, 异宗配合, 生物信息学

# Bioinformatics Analysis of Mating-Type Sequence of Basidiomycetes

Linlin Du<sup>1</sup>, Hongmei Wu<sup>1</sup>, Xiangpei Wang<sup>2</sup>, Guangpu Tang<sup>1</sup>, Haiqiao Man<sup>1</sup>, Jiehong Zhao<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>Guizhou University of Traditional Chinese Medicine, Guiyang Guizhou

<sup>2</sup>Guizhou Minzu University, Guiyang Guizhou

Received: Feb. 6<sup>th</sup>, 2022; accepted: Feb. 28<sup>th</sup>, 2022; published: Mar. 8<sup>th</sup>, 2022

## Abstract

**Objective:** The objective is to take *Volvariella volvacea* as the research object, and conduct a preliminary bioinformatics analysis on the HD site in the mating-type homologous sequence of Basi-

\*通讯作者。

文章引用: 杜琳霖, 吴红梅, 王祥培, 唐光甫, 满海乔, 赵杰宏. 担子菌 Mating-Type 序列生物信息学分析[J]. 微生物前沿, 2022, 11(1): 22-30. DOI: 10.12677/amb.2022.111003

**diomycetes. Methods:** Using online bioinformatics software to predict the physical and chemical properties, hydrophobicity/hydrophilicity, guide peptide, transmembrane structure, three-dimensional structure, and functional domains of HD sequences, and construct a system of this protein family of other species in the same subphylum evolutionary tree. **Results:** The amino acid instability index of the HD locus in the homologous mating-type sequence is about 56%, and there is no obvious signal peptide, guide peptide, and transmembrane domain. The three-dimensional structure consists of 3  $\alpha$ -helices and a few turns in terms of secondary structure, and the seven edible fungi show low similarity in amino acid sequence. **Conclusion:** The HD1 and HD2 proteins with homologous mating-type sequences have poor stability, no signal peptide, guide peptide, transmembrane structure, and no  $\beta$ -sheet. The amino acid sequence similarity between different species in the N-J evolutionary tree is extremely low, indicating that HD sites are rich in diversity and simple in structure.

## Keywords

*Volvariella volvacea*, Basidiomycotina, Mating-Type, Heterothallism, Bioinformatics

Copyright © 2022 by author(s) and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY 4.0).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

## 1. 引言

多数常见的食用菌都属于担子菌,如香菇、金针菇、糙皮侧耳、双孢蘑菇、草菇等,常见担子菌类食用菌的交配型系统都非常复杂,具有很多独特的生物学特征[1]。担子菌的有性生殖方式可分成异宗配合和同宗配合两大类,90%的担子菌属于异宗配合,其余10%属于同宗配合[2]。异宗配合又可分为四极性和二极性交配型系统,其区别在于是由一个还是两个交配型位点而决定。四极性交配系统包含两个不连锁的交配型位点,通常称之为A位点和B位点,近年来,又被多学者建议根据交配型位点中基因的功能来命名这两个位点,即HD位点和PR位点[3][4][5]。在典型的担子菌A交配型位点包含两类等位基因,因为可以编码含有一个嵌入同源结构域基序的同源域转录因子蛋白(HD蛋白),通常分别命名为HD1和HD2基因[6]。HD蛋白序列中通常存在同源结构域、核定位信号序列等典型特征。使HD蛋白具有转录因子的功能,并在DNA双螺旋的大沟槽完成主要的蛋白质-DNA互作反应[7][8]。若能全面和深入了解交配型系统的分子结构,可有助于我们阐明交配型基因对子实体发育的调控及育种的相关科学问题。

目前,生物基因组序列数据正以爆发式增长,如何对这些序列数据进行科学的收集、管理和挖掘已经成为了研究的热点。随着生物信息学的发展,用生物软件预测蛋白质的结构变成现实,也成为一种趋势。本文利用比较基因组学和生物信息学的方法以草菇(*Volvariella volvacea* (Bull.) Singer)为研究对象,分析mating-type序列中HD位点的核苷酸序列以及所对应的氨基酸序列的理化性质、疏水性/亲水性、导肽、跨膜区域、二级结构、3D结构、功能结构域进行预测和分析,并与同亚门中不同物种的该蛋白质家族构建进化树,为下一步研究它在繁殖调控和开展生物大分子结构模型提供抛砖引玉的作用。

## 2. 材料与方法

### 2.1. 实验材料

因担子菌的有性生殖系统受交配型基因HD1和HD2调控[2],根据担子菌基因的高度同源性,以草

菇交配型基因序列进行分析。在 NCBI (National Center for Biotechnology Information) 数据库获得 HD1、HD2 的完整核苷酸及氨基酸序列(GI: 365940808, 365940807)。

## 2.2. 实验方法

本文在生物信息学分析中所需要应用的在线数据工具及其网址请参见表 1。

**Table 1.** Website of bioinformatics online analysis tool

**表 1.** 生物信息学在线分析工具网址

在线工具	网址
ProtParam	<a href="http://www.detaibio.com/tools/">http://www.detaibio.com/tools/</a>
SignalP 4.1	<a href="http://www.detaibio.com/tools/">http://www.detaibio.com/tools/</a>
TargetP 2.0	<a href="https://wolfsort.hgc.jp/">https://wolfsort.hgc.jp/</a>
TMHMM Server V 2.0	<a href="https://services.healthtech.dtu.dk/service.php?TMHMM-2.0">https://services.healthtech.dtu.dk/service.php?TMHMM-2.0</a>
ProtScale	<a href="https://web.expasy.org/protscale/">https://web.expasy.org/protscale/</a>
CD-Search	<a href="https://www.ncbi.nlm.nih.gov/Structure/cdd/wrpsb.cgi">https://www.ncbi.nlm.nih.gov/Structure/cdd/wrpsb.cgi</a>
CPHmodels 3.2	<a href="https://services.healthtech.dtu.dk/service.php?CPHmodels-3.2">https://services.healthtech.dtu.dk/service.php?CPHmodels-3.2</a>

本文从数据库 <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/> (NCBI) 上阅读并下载 HD1、HD2 的核苷酸序列，同时也应用 <http://www.detaibio.com/tools/>、<http://www.cbs.dtu.dk/> 等网站提供的各类氨基酸在线生物软件工具及其他生物信息学软件进行了分析。蛋白质序列和理化结构性质的预测和分析主要应用于在线生物工具 ProtParam；对氨基酸的同源比对及构建进化树的预测采用 Mega 6.0 软件，使用 Bootstrap Replications 算法，计算次数为 1000；导肽的预测和分析主要应用于在线的工具 TargetP 2.0；蛋白质序列的信号肽预测与分析应用 SignalP 4.1 工具；多肽链的亲水性与疏水性的预测和分析采用的工具为 ProtScale；跨膜理化结构的预测和分析使用 TMHMM Server 2.0；功能域的预测和分析使用 NCBI 数据库提供的 CD-Serch Server 工具；预测蛋白质 3D 结构用在线工具 CPHmodels 3.2。

## 3. 结果与分析

### 3.1. HD1、HD2 氨基酸序列的理化性质分析

利用在线工具 ProtParam 分析 HD1、HD2 氨基酸序列的特征。结果如表 2，HD1 中含有 492 个氨基酸，分子量达 53.54 kDa，理论等电点(pI)为 4.96；而 HD2 中含有 404 个氨基酸，分子量达 46.20 kDa，理论等电点(pI)为 9.73；HD1 碱性氨基酸比例较多，HD2 酸性氨基酸比例较多，两者蛋白质均不稳定，总平均疏水性数值中正值表示疏水性，负值表示亲水性，而数值介于-0.5~+0.5 主要为两性氨基酸[9]，由上述序列特征可知 HD1 为两性氨基酸，HD2 为疏水性氨基酸。

### 3.2. 信号肽的预测和分析

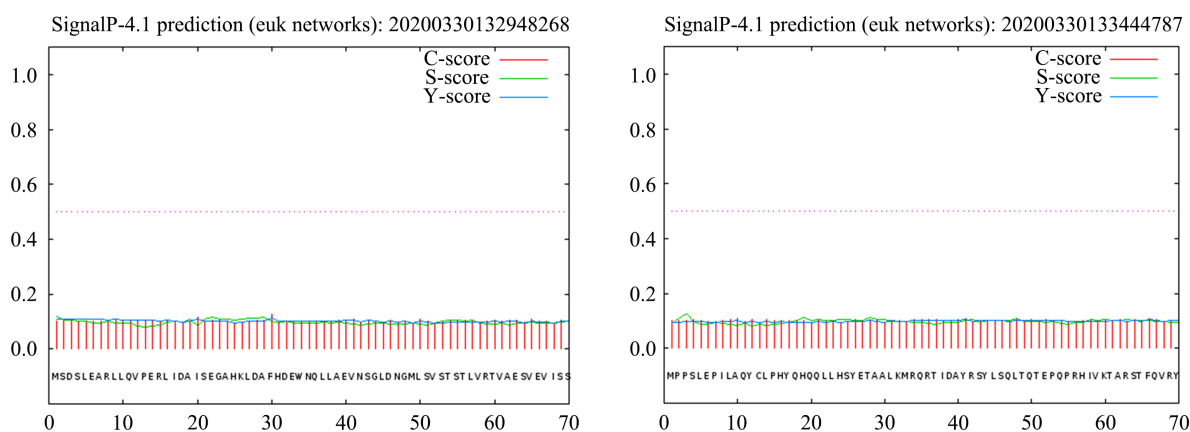
信号肽通常是位于氨基酸序列的 N 端，是一条短肽链，一般长度大约为 5~30 个氨基酸。信号肽的主要功能和作用之一是有效地促进细胞合成的蛋白质分泌转移到胞外，它在完成信号指引后会被细胞切除成为成熟蛋白[10]。利用在线分析工具 SignalP 4.1 分别分析了 HD1、HD2 的 N 端的短肽链。每个位点

中的氨基酸对应 1 个 S 值；C 值为原始剪切位点分值；Y 值则是综合考虑信号肽的 S 值和 C 值的一个重要参数，通常 S 值在陡峭区域且具有高 C 值的位点即为剪切点。由图 1 可以看出，HD1、HD2 均无信号肽。

**Table 2.** Amino acid sequence composition and physicochemical properties of HD1 and HD2 genes

**表 2.** HD1、HD2 基因的氨基酸序列组成及理化性质

氨基酸名称	推导氨基酸残基(aa)	分子量/kDa	理论等电点 (PI)	酸性氨基酸比例%	碱性氨基酸比例%	蛋白质不稳定性指数%	总平均疏水性
HD1	492	53.54	4.96	40	64	57.29 (不稳定)	0.349
HD2	404	46.20	9.73	57	35	56.97 (不稳定)	0.707



**Figure 1.** Prediction and analysis of HD1 (left) and HD2 (right) signal peptides

**图 1.** HD1 (左)和 HD2 (右)信号肽预测与分析

### 3.3. 导肽的预测和分析

导肽是通过引导肽链转运定位到对应细胞器的一段标签功能性序列，位于肽链 N 端，有助于蛋白质的亚细胞进行定位[11]。本文利用最新的在线软件 TargetP 2.0 分析了 HD1、HD2 的氨基酸序列。序列含有线粒体目标肽(mTP)及分泌途径信号肽(SP)的分值如下表 3，Loc 表示所预测最有可能的细胞器定位，其中“\_”表示除线粒体和细胞周质两处外的其他位置，即为定位到其他细胞器。RC 代表的数值是可靠性的级别；TPlen 可预测到剪切位点序列与氨基酸的个数；在表 3 中 HD1、HD2 预测剪切位点序列为均 0 个氨基酸，表示无氨基酸分裂位点。因此，HD1、HD2 可能不具有导肽，且预测的可靠性级别较高。

**Table 3.** Prediction and analysis of amino acid sequence guide peptides of HD1 and HD2

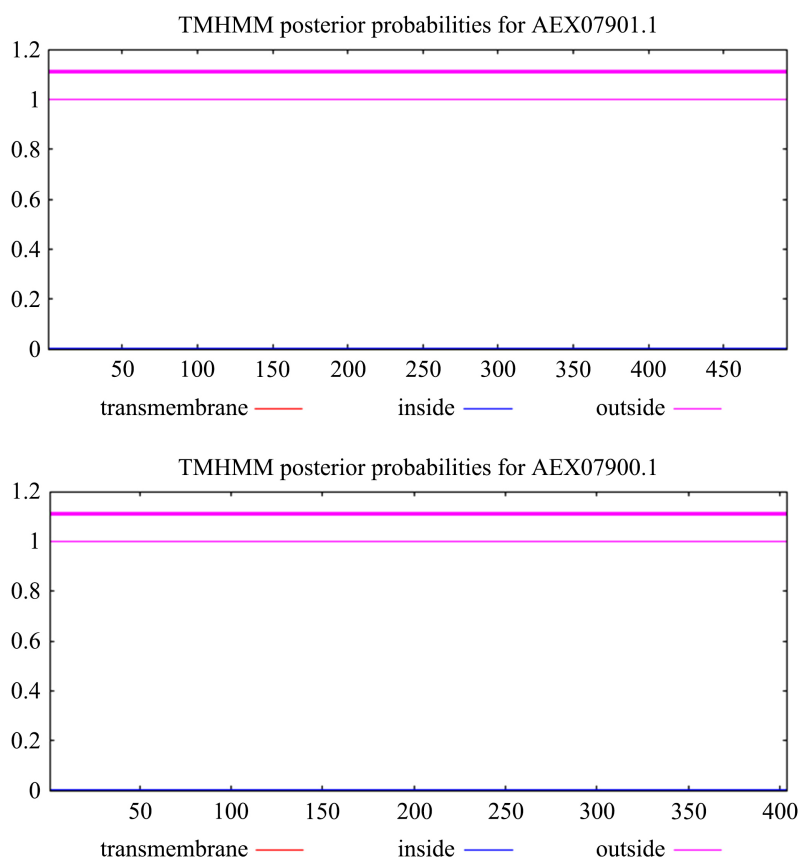
**表 3.** HD1、HD2 的氨基酸序列导肽预测与分析

Name	Len	mTP	SP	Other	Loc	RC	TPlen
HD1	492	0.072	0.098	0.910	_	1	0
HD2	404	0.091	0.095	0.881	_	2	0

### 3.4. 跨膜结构域预测

跨膜结构的区域一般包含 20~25 个左右的疏水氨基酸及其残基形成的  $\alpha$ -螺旋结构，在细胞磷脂膜双

分子层中形成的跨膜通道[12]。通过在线工具 TMHMM Server 2.0 对 HD1、HD2 进行预测，预测结果如下图 2 所示，HD1、HD2 两者均没有明显的跨膜结构域。



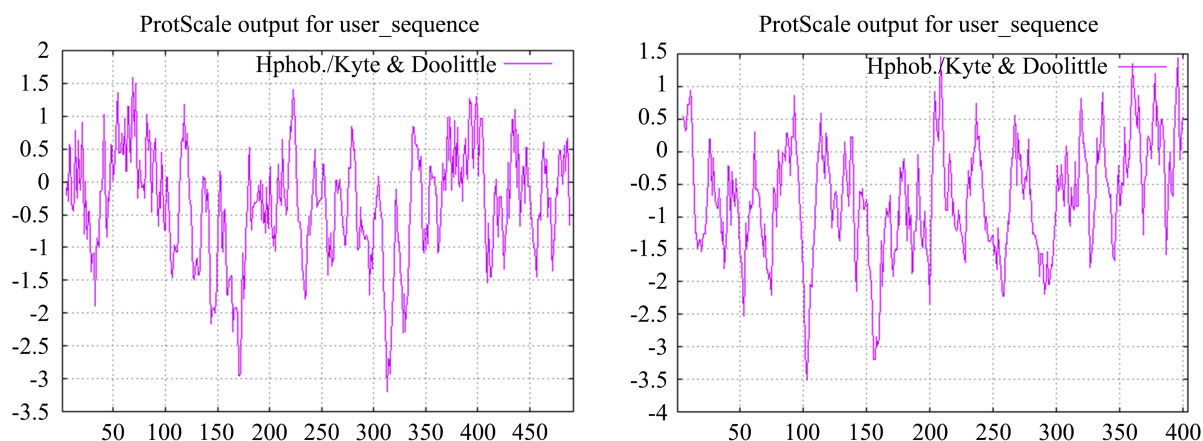
**Figure 2.** Prediction of HD1 (top) and HD2 (bottom) transmembrane domains  
**图 2.** HD1 (上)和 HD2 (下)跨膜结构域的预测

### 3.5. 疏水性与亲水性的预测和分析

蛋白质中间的疏水基团在维持整个蛋白质构象和折叠中发挥了很好的作用。根据疏水性或亲水性氨基酸的数值，可以推测整个蛋白质分子表面的疏水性或亲水性氨基酸残基的分布[13]。利用在线的工具 ProtScale 对 HD1、HD2 进行分析，结果如下图 3，HD1 在 492 个多肽氨基酸中，亲水性与疏水性的氨基酸均匀分布，整个肽链表现为两性氨基酸。HD2 在 404 个多肽氨基酸中，整体疏水性氨基酸较多呈现疏水性，该阶段 HD1、HD2 所预测的结果与 3.1 中总平均疏水性指数的结论相吻合。

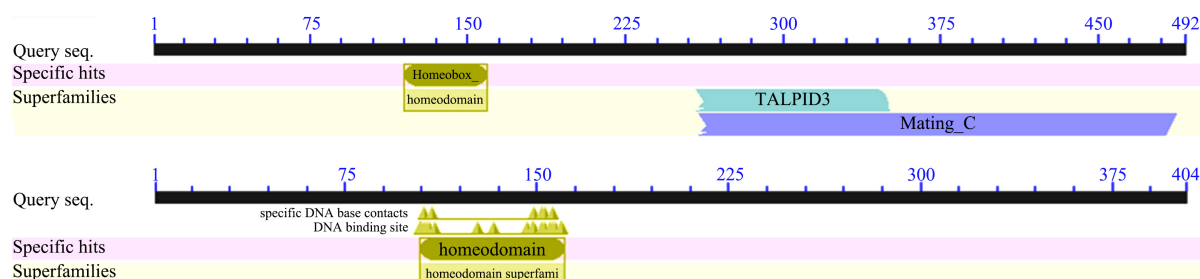
### 3.6. 功能域的预测和分析

功能域是蛋白质三级结构中发挥功能的关键区域，是相对独立和保守的功能结构单位[14]。利用在线工具 Conserved Domain Search service 分析 HD1、HD2 的氨基酸序列，搜索匹配结果(图 4)，在 HD1 中具有一个特定匹配(specific hits) Homeobox\_KN 域，是 homeodomain 超级家族中独有的成员，也是同源域转录因子蛋白的保守域。在 HD2 结果中(图 4)发现具有一个特定匹配(specific hits homeodomain)同源异型结构域，属于 homeodomain 超级家族的成员，同源异型结构域是结合 DNA 序列的区域，同源结构域的存在可以表明 HD 蛋白具有转录因子的功能。



**Figure 3.** Prediction of hydrophilicity or hydrophobicity for HD1 (left) and HD2 (right)

**图 3.** HD1 (左)和 HD2 (右)亲水性或疏水性的预测

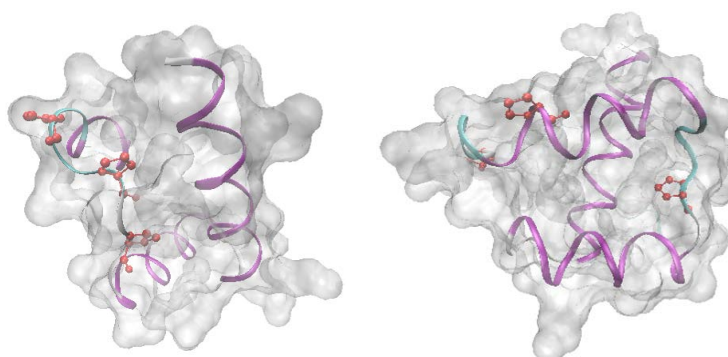


**Figure 4.** Prediction of HD1 (top) and HD2 (bottom) functional domains

**图 4.** HD1 (上) HD2 (下)功能域的预测

### 3.7. 三维结构的预测和分析

蛋白质和酶只有在形成三级空间结构时,才更加接近天然构象,才能充分发挥生理活性。利用在线工具 CPHmodels 3.2 可以对现有多肽链进行 3D 结构预测。由下图 5 可知,HD1 预测的三级蛋白结构由 3 个  $\alpha$ -螺旋、1 个转角结构,看上去是由 3 个松散泡影组成的正 U 型三维结构,含有 3 个脯氨酸(红色分子球)。HD2 预测的三级蛋白结构由 3 个  $\alpha$ -螺旋、3 个转角结构,看上去是由 5 个松散泡影的二级结构组成的扭曲型团块三维结构,含有 3 个脯氨酸(红色分子球)。HD1、HD2 同预测整体三维结构组成并不复杂且无  $\beta$ -折叠。可直观地观察到 HD1、HD2 两种蛋白质性质不稳定这与 3.1 中蛋白质不稳定性指数的结论相吻合。



**Figure 5.** 3D structure of HD1 (left) and HD2 (right) amino acids

**图 5.** HD1 (左)和 HD2 (右)氨基酸三维结构图

### 3.8. 交配型基因的系统进化分析

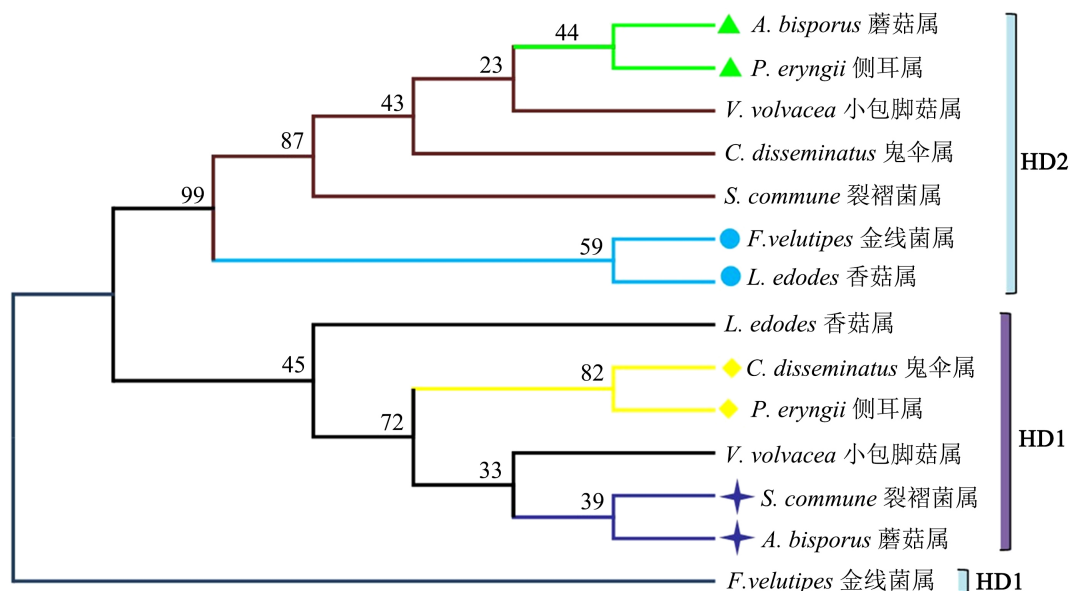
将交配型基因编码的蛋白序列与其他同属担子菌亚门的 6 种食用真菌中已经鉴定的交配型基因编码的蛋白序列进行多重序列比对，登录 NCBI 下载各个真菌序列。其真菌 GI 登记号及真菌名称如下表 4。

**Table 4.** Detailed list of protein sequences encoded by seven basidiomycete mating-type genes

**表 4.** 七种担子菌交配型基因编码的蛋白序列详细表

中文名	科属	学名	GI 登记号
双孢蘑菇	蘑菇属	<i>Agaricus bisporus</i>	5976966168、597966166
香菇	香菇属	<i>Lentinula edodes</i>	344323327、344323326
刺芹侧耳	侧耳属	<i>Pleurotus eryngii</i>	1596062537、159602538
灰盖鬼伞	鬼伞属	<i>Coprinrllus disseminatus</i>	71039733、71039732
草菇	小包脚菇属	<i>Volvariella volvacea</i>	365940808、365940807
裂褶菌	裂褶菌属	<i>Schizophylum commune</i>	169863、169861
金针菇	金线菌属	<i>Flammulina velutipes</i>	459464515、459464514

利用 MEGA 6.0 软件对 7 种担子菌进行氨基酸序列比对，去除两端不齐序列，选择可视化的 N-J 树项，采用 Bootstrap Replications 算法，计算次数为 1000，其他参数默认，分别构建 HD1、HD2 基因的有根系统发育树，得到如图 6 所示。



**Figure 6.** Phylogenetic tree of HD1 and HD2 amino acid sequences of seven basidiomycetes

**图 6.** 七种担子菌 HD1、HD2 氨基酸序列的系统进化树

不同真菌的 HD 同源蛋白聚类，HD1、HD2 明显可以分成两大群组，且金线菌属的金针菇 HD1 序列似乎脱离了 HD1 群，从而确定了树根。这与学者 Van Peer 表明金针菇 HD- $\alpha$  亚位点的功能可能已经退化，

不再具有调控交配过程的功能描述相符合[15]。HD1 群其余成员可以分为三小组香菇属为组 I，鬼伞属和侧耳属为组 II，蘑菇属、裂褶菌属和小包脚菇属为组 III。HD2 群可区分的小组较分散，各成员间遗传差异偏大。可见 HD 蛋白的遗传多样性较高。

#### 4. 讨论

在大多数真菌中，无论是在子囊菌还是担子菌中均可探索到交配型基因的身影，近些年来大多数食用真菌和药用真菌的遗传育种研究开始泛热，研究人员把在研究的目光逐渐投向了基因分子水平上，而在担子菌的异宗配合根据交配型系统中 HD 蛋白具有转录因子的功能，并可完成主要的蛋白质-DNA 互作反应，在遗传和繁育有着一定影响力[16]。本文从生物信息学的角度，以草菇作为主要研究对象，对其 HD1、HD2 基因的氨基酸序列进行理化性质、功能域作用、结构组成、细胞器定位和三维结构等预测和分析。本文预测的结果显示 HD1、HD2 两者均是一种不稳定性质的蛋白质，无信号肽、导肽及稳定的磷脂双分子层的跨膜结构，从氨基酸三维结构预测中可看到，HD1 蛋白呈现正 U 形状，HD2 蛋白为扭曲团块形状，从形态上 HD2 较比 HD1 相对保守，这可能与 HD2 螺旋 III 包含一个典型的、高度保守的 DNA 结合基序 WFXNXR [17]有关，另一方面，HD1 蛋白螺旋 III 的 DNA 结合基序中的氨基酸序列具有更高的多态性，HD1 蛋白较 HD2 蛋白更容易在 DNA 结合基序中发生 DNA 突变[18] [19] [20]。同源结构域的氨基末端区域负责区分亲和与不亲和的相互作用，这个识别域内的关键残基的取代能够影响 HD 蛋白的特异性，若能对 HD 蛋白的关键残基进行一定的修饰或者调控，是否能对担子菌的有性繁殖过程起到深层次的认识及推动作用，其相关性研究还需待进一步研究。

#### 参考文献

- [1] 戴玉成, 庄剑云. 中国菌物已知种数[J]. 菌物学报, 2010, 29(5): 625-628.
- [2] Kües, U., James, T.Y. and Heitman, J. (2011) Mating Type in Basidiomycetes: Unipolar, Bipolar and Tetrapolar Patterns of Sexuality. In: Puggeler, S. and Wuostemeyer, J., Eds., *Evolution of Fungi and Fungal-Like Organisms. The Mycota*, Vol. XIV, Springer, Heidelberg, 97-160. [https://doi.org/10.1007/978-3-642-19974-5\\_6](https://doi.org/10.1007/978-3-642-19974-5_6)
- [3] Heitman, J., Sun, S. and James, T.Y. (2013) Evolution of Fungal Sexual Reproduction. *Mycologia*, **105**, 1-27. <https://doi.org/10.3852/12-253>
- [4] James, T.Y., Sun, S., Li, W.J., Heitman, J., Kuo, H.C., Lee, Y.H., Asiegbu, F.O. and Olson (2013) Polyporales Genomes Reveal the Genetic Architecture Underlying Tetrapolar and Bipolar Mating Systems. *Mycologia*, **105**, 1374-1390. <https://doi.org/10.3852/13-162>
- [5] Nieuwenhuis, B.P.S., Billiard, S., Vuilleumier, S., Petit, E., Hood, M.E. and Giraud, T. (2013) Evolution of Unifore and Bifactorial Sexual Compatibility Systems in Fungi. *Heredity*, **111**, 445-455. <https://doi.org/10.1038/hdy.2013.67>
- [6] Kües, U. and Casselton, L.A. (1993) The Origin of Multiple Mating Types in Mushrooms. *Journal of Cell Science*, **104**, 227-230. <https://doi.org/10.1242/jcs.104.2.227>
- [7] Casselton, L.A. and Kues, U. (2007) The Origin of Multiple Mating Types in the Model Mushrooms *Coprinopsis cinerea* and *Schizophyllum commune*. In: Heitman, J., Kronstad, J.W., Taylor, J.W. and Casselton, L.A., Eds., *Sex in Fungi. Molecular Determination and Evolutionary Implications*, ASM Press, Washington DC, 283-300. <https://doi.org/10.1128/9781555815837.ch17>
- [8] Fraser, J.A., Hsueh, Y.P., Findley, K.M. and Heitman, J. (2007) Evolution of the Mating-Type Locus: The Basidiomycetes. In: Heitman, J., Kronstad, J., Taylor, J. and Casselton, L., Eds., *Sex in Fungi: Molecular Determination and Evolutionary Implications*, ASM Press, Washington DC, 19-34. <https://doi.org/10.1128/9781555815837.ch2>
- [9] 付海辉, 辛培尧, 许玉兰, 等. 几种经济植物 UFGT 基因的生物信息学分析[J]. 基因组学与应用生物学, 2010, 30(1): 92-102.
- [10] 周军, 姚泉洪, 彭日荷, 等. 巨峰葡萄查尔酮异构酶基因克隆及表达分析[J]. 西北植物学报, 2009, 29(9): 1723-1729.
- [11] 金元昌, 向育君, 李景鹏. 重组人促性腺激素释放激素及导肽的分离纯化与活性分析[J]. 生物技术通报, 2008(3): 87-91.
- [12] 王希成. 生物化学[M]. 北京: 清华大学出版社, 2001: 46.



- 
- [13] 薛庆中. DNA 和蛋白质序列数据分析工具[M]. 北京: 科学出版社, 2009: 72-100.
- [14] 王镜岩, 朱圣庚, 徐长法. 生物化学: 上册(3 版) [M]. 北京: 高等教育出版社, 2002: 222-223.
- [15] Van Peer, A.F., Park, S.Y., Shin, P.G., *et al.* (2011) Comparative Genomics of the Mating-Type Loci of the Mushroom *Flammulina velutipes* Reveals Widespread Synteny and Recent Inversions. *PLoS ONE*, **6**, e22249. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0022249>
- [16] 鲍大鹏. 担子菌类食用菌交配型位点结构的研究进展[J]. 菌物学报, 2019, 38(12): 2061-2077.
- [17] Duboule, D. (1994) Guidebook to the Homeobox Genes. Oxford University Press, New York, 27-71.
- [18] Kües, U., Göttgens, B., Stratmann, R., Richardson, W.V., O'Shea, S.F. and Casselton, L.A. (1994) A Chimeric Homeodomain Protein Causes Self-Compatibility and Constitutive Sexual Development in the Mushroom *Coprinus cinereus*. *The EMBO Journal*, **13**, 4054-4059. <https://doi.org/10.1002/j.1460-2075.1994.tb06722.x>
- [19] Asante-Owusu, R.N., Banham, A.H., Böhnert, H.U., Mellor, E.J.C. and Casselton, L.A. (1996) Heterodimerization between Two Classes of Homeodomain Proteins in the Mushroom *Coprinus cinereus* Brings Together Potential DNA-Binding and Activation Domains. *Gene*, **172**, 25-31. [https://doi.org/10.1016/0378-1119\(96\)00177-1](https://doi.org/10.1016/0378-1119(96)00177-1)
- [20] Schlesinger, R., Kahmann, R. and Kämper, J. (1997) The Homeodomains of the Heterodimeric bE and bW Proteins of *Ustilago maydis* Are Both Critical for Function. *Molecular & General Genetics: MGG*, **254**, 514-519. <https://doi.org/10.1007/PL00008609>