



Original Article

Selection and Structural Analysis by Bioinformatic Tools of Several Proteins Involved in Chitin Biosynthesis in the Fungus *Mucor lusitanicus*

Trieu Anh Trung*, Pham Si Nguyen, Le Duc Thinh

Hanoi National University of Education, 136 Xuan Thuy, Cau Giay, Hanoi

Received 06th June 2024

Revised 24th August 2024; Accepted 30th August 2024

Abstract: Mucormycosis is a fungal infection caused by many species of fungi belonging to the Mucorales order, mainly in immunocompromised patients. Although rare, this disease has a high mortality rate, especially during and after the COVID-19 pandemic. Currently, there is no specific treatment for this disease. This study aims to identify the major genes involved in chitin synthesis, an important component of cell structure. The list of candidate genes was selected based on the database of the *Mucor lusitanicus* fungal genome and its transcriptome analysis under both aerobic and anaerobic conditions. The candidate genes were analyzed for structure and function prediction using bioinformatics tools. The study identified two candidate genes encoding chitin synthase (*chs*) and one gene encoding chitin deacetylase (*cda*) with characteristic domain structures from a total of 70 related proteins. The results of this study provide a basis for experimental studies to analyze the functions of these proteins.

Keywords: Chitin, chitin synthase, chitin deacetylase, cell wall, mucormycosis, *Mucor lusitanicus*.

* Corresponding author.

E-mail address: trungta@hnue.edu.vn

<https://doi.org/10.25073/2588-1140/vnunst.5536>

Chọn lọc và nghiên cứu cấu trúc bằng công cụ tin sinh một số protein tham gia sinh tổng hợp chitin ở nấm *Mucor lusitanicus*

Triệu Anh Trung*, Phạm Sĩ Nguyên, Lê Đức Thịnh

Trường Đại học Sư phạm Hà Nội, 136 Xuân Thủy, Cầu Giấy, Hà Nội

Nhận ngày 06 tháng 6 năm 2024

Chỉnh sửa ngày 24 tháng 8 năm 2024; Chấp nhận đăng ngày 30 tháng 8 năm 2024

Tóm tắt: Mucormycosis là bệnh nhiễm trùng nấm sâu gây ra bởi nhiều loài nấm thuộc bộ Mucorales, chủ yếu trên các bệnh nhân bị suy giảm miễn dịch. Bệnh này tuy hiếm nhưng tỷ lệ gây chết cao, đặc biệt là giai đoạn trong và sau dịch COVID-19. Cho đến nay, chúng ta vẫn chưa có các liệu pháp điều trị bệnh mucormycosis một cách đặc hiệu. Nghiên cứu này nhằm xác định các gen chủ đạo tham gia sinh tổng hợp chitin - một thành phần cấu tạo quan trọng của thành tế bào. Danh sách các gen ứng viên được lựa chọn dựa trên cơ sở dữ liệu của hệ gen nấm *Mucor lusitanicus* và dữ liệu phân tích hệ phiên mã của nó trong điều kiện hiếu khí và kỵ khí. Các gen ứng viên được phân tích cấu trúc và dự đoán chức năng dựa trên các công cụ tin sinh học. Nghiên cứu đã chọn lọc được hai gen ứng viên mã hoá chitin synthase (*chs*) và một gen mã hoá chitin deacetylase (*cda*) có cấu trúc các domain đặc trưng từ tổng số 70 protein liên quan. Kết quả nghiên cứu này tạo tiền đề cho các nghiên cứu thực nghiệm nhằm phân tích chức năng của các protein nói trên.

Từ khóa: Chitin, chitin synthase, chitin deacetylase, mucormycosis, *Mucor lusitanicus*, thành tế bào.

1. Mở đầu

Mucormycosis là một trong những loại bệnh nhiễm trùng nấm hiếm gặp nhưng tỉ lệ gây tử vong cao. Đây là một loại bệnh cơ hội nên đặc biệt nguy hiểm với những bệnh nhân suy giảm miễn dịch như người mắc bệnh tiểu đường, cấy ghép nội tạng, AIDS, bệnh nhân COVID-19 [1]. Bệnh mucormycosis gây ra bởi nhiều loài trong bộ Mucorales [2, 3]. Các loài gây bệnh chủ yếu thuộc các họ *Rizopus*, *Mucor*, *Lichtheimia*, *Apophysomyces*, *Rhizomucor* và *Cunninghamella*. Mucormycosis là một trong những bệnh nhiễm trùng nấm sâu khó điều trị, do bệnh đáp ứng kém với các loại thuốc trị nấm thông thường như amphotericin B và đến nay chưa có liệu pháp điều trị hiệu quả. Nguyên nhân chủ yếu là do những hiểu biết về cơ chế gây bệnh còn hạn chế và thiếu những nghiên

cứu về các yếu tố độc lực của các tác nhân gây bệnh [4].

Nấm *Mucor lusitanicus* CBS277.49 (tên cũ là *Mucor circinelloides* f. *lusitanicus* CBS277.49) là một trong các loài nấm mô hình dùng cho nhiều nghiên cứu khác nhau như cơ chế phân tử của RNAi, sinh tổng hợp carotene, lipid và bệnh mucormycosis [5]. Loài nấm này cũng là một trong số các tác nhân gây bệnh mucormycosis. Nghiên cứu của chúng tôi phân tích cấu trúc và chức năng của một số gen và họ gen tham gia vào kiểm soát kiểu hình hệ sợi và khả năng gây bệnh của loài nấm này, như họ gen mã hóa myosin II, myosin V [6, 7]. Các nghiên cứu này cho thấy độc lực của nấm *M. lusitanicus* có mối liên quan khá chặt chẽ với một số đặc điểm kiểu hình của nó. Cụ thể là tốc độ sinh trưởng, năng suất sinh bào tử và sự sinh trưởng kiểu nấm men là những dấu hiệu làm giảm độc lực của nấm [6].

Thành tế bào nấm là cấu trúc bảo vệ bên ngoài của tế bào nấm, nó có cấu trúc phức tạp gồm nhiều thành phần khác nhau [8]. Trong đó, chitin là một trong những cấu trúc đặc trưng

* Tác giả liên hệ.

Địa chỉ email: trungta@hnue.edu.vn

<https://doi.org/10.25073/2588-1140/vnunst.5536>

của thành tế bào nấm và có liên quan đến độc lực của nấm [9]. Chitin là chất đồng trùng hợp $\beta(1,4)$ mạch thẳng của các gốc N-acetylglucosamine (GlcNAc), là thành phần quan trọng của thành tế bào nấm và được tổng hợp ở phía hướng vào tế bào chất của màng tế bào bằng các enzyme chitin synthase gắn màng [10].

Do đó, chúng tôi đề xuất giả thuyết rằng những gen tham gia hình thành cấu trúc thành tế bào nấm có liên quan chặt chẽ đến cấu trúc hệ sợi cũng như khả năng gây bệnh của loài nấm này.

Trong nghiên cứu này, chúng tôi tập trung chọn lọc và phân tích cấu trúc của một số enzyme tham gia sinh tổng hợp thành tế bào ở nấm *M. lusitanicus*. Dựa trên các dữ liệu hệ gen và hệ phiên mã của loài nấm này ở một số điều kiện sinh trưởng khác nhau, chúng tôi đã chọn lọc và phân tích đặc điểm cấu trúc của hai gen ứng viên mã hoá chitin synthase (*Chs*) và một gen mã hoá chitin deacetylase (*Cda*) có cấu trúc các domain đặc trưng từ tổng số 70 protein liên quan. Các enzyme chitin synthase và chitin deacetylase lần lượt là những nhân tố chính tham gia vào các quá trình tổng hợp và phân giải chitin cấu tạo nên thành tế bào nấm. Kết quả này là cơ sở để thực hiện các nghiên cứu tiếp theo nhằm phân tích chức năng của các protein nói trên dựa trên các dữ liệu thực nghiệm.

2. Phương pháp nghiên cứu

2.1. Khai thác cơ sở dữ liệu hệ gen nấm *M. lusitanicus*

Dữ liệu hệ gen nấm *M. lusitanicus* được khai thác từ các cơ sở dữ liệu quốc tế, bao gồm: cơ sở dữ liệu hệ gen nấm *Mucor lusitanicus* CBS277.49 v3.0 tại cổng thông tin hệ gen nấm MycoCosm, thuộc JGI (Joint Genome Institute), quản lý bởi The US Department of Energy (DOE) (<https://mycocosm.jgi.doe.gov/Mucci3/Mucci3.home.html>) [11, 12]. Bên cạnh đó, dữ liệu hệ gen nấm cũng được khai thác và tham chiếu sử dụng cơ sở dữ liệu FungiDB (<https://fungidb.org/fungidb/app>) thuộc chương

trình The Eukaryotic Pathogen, Vector and Host Informatics Resource (VEuPathDB) [13].

2.2. Khai thác dữ liệu hệ phiên mã (transcriptome) của nấm *M. lusitanicus*

Do hệ gen nấm *M. lusitanicus* có nhiều gen có trình tự tương đồng nhau, dẫn đến khó khăn trong việc chọn lọc các gen có độ biểu hiện cao. Để sàng lọc các gen có khả năng đóng vai trò quan trọng trong việc sinh tổng hợp chitin, chúng tôi đã sử dụng các dữ liệu hệ phiên mã (transcriptome) khác nhau. Các nguồn dữ liệu hệ biểu phiên mã bao gồm: sự biểu hiện gen ở nấm *M. lusitanicus* trong điều kiện hiếu khí và kỵ khí [14], và sự biểu hiện gen do tác động của nhân tố phiên mã ATF [15].

2.3. Phân tích các đặc tính lý-hóa, trình tự và cấu trúc protein

Các trình tự protein liên quan đến sinh tổng hợp chitin đã được tìm kiếm và khai thác từ các cơ sở dữ liệu hệ gen nói trên sử dụng các công cụ tìm kiếm tích hợp. Kết quả tìm kiếm được sàng lọc thông qua so sánh với dữ liệu của hệ phiên mã của loài nấm *M. lusitanicus*.

Các đặc tính lý - hóa của các protein trong nghiên cứu tương đồng ở các loài nấm mô hình đã nêu được tính toán bằng công cụ ProtParam của Expasy. Các domain bảo tồn của các protein được xác định thông qua công cụ tìm kiếm sử dụng trình tự các protein trên cơ sở dữ liệu Conserved Domain Database (NCBI, <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/Structure/cdd/cdd.shtml>).

3. Kết quả và thảo luận

3.1. Danh sách các gen ứng viên được lựa chọn

Sử dụng các công cụ tìm kiếm của các cơ sở dữ liệu “Annotation” hệ gen bằng các từ khóa tương ứng với mục tiêu tìm các gen ứng viên có liên quan đến cơ chế trao đổi chitin, chúng tôi đã xác định được các gen ứng viên với số lượng lớn trong hệ gen nấm *M. lusitanicus*. Cụ thể, số lượng gen ứng viên thu được khi tìm bằng các từ khóa “chitin”, “chitin synthase” và “chitin deacetylase” là lượt

là 70, 29 và 25 từ hệ gen *M. lusitanicus* CBS277.49 v3.0 (MycCosm, JGI).

Với số lượng lớn các gen ứng viên tiềm năng thu được gây khó khăn cho việc nghiên cứu chức năng gen. Nhằm loại bỏ các gen ít hoặc không biểu hiện, chúng tôi đã sử dụng các kết quả nghiên cứu đã công bố về hệ phiên mã của loài *M. lusitanicus*.

Nhóm tác giả Homa và cộng sự (2022) đã phân tích sự thay đổi biểu hiện của các gen trong hệ phiên mã (transcriptome) ở nấm *M. lusitanicus* trong điều kiện hiếu khí và kỵ khí [14]. Sự thay đổi trong hệ phiên mã của loài nấm này khi diễn ra sự tương tác giữa nấm với túi thực bào (phagosome) cũng đã được phân tích [15]. Từ đó, chúng tôi đã sàng lọc ra được 3 gen, bao gồm gen mã hoá chitin deacetylase (*Cda1*, ID 155630) và hai gen mã hoá chitin synthase, gồm *Chs1* (ID 151786) và *Chs2* (ID 85917). Các gen này được lựa chọn do có mức độ biểu hiện khác biệt nhau đáng kể ở hai điều kiện nuôi cấy. Cụ thể là trong điều kiện kỵ khí, các gen *Cda1*, *Chs1* và *Chs2* có mức độ thay đổi biểu hiện so với điều kiện hiếu khí (\log_2 fold change) lần lượt là 4,04; -5,58 và -3,24. Điều này có nghĩa là gen *Cda1* tăng biểu hiện, còn các gen *Chs1* và *Chs2* giảm mạnh biểu hiện [14]. Kết quả này phù hợp với chức năng theo dự đoán của các gen này, cụ thể: chitin synthase và chitin deacetylase lần lượt là những enzyme tham gia các quá trình tổng hợp và phân giải chitin ở tế bào nấm.

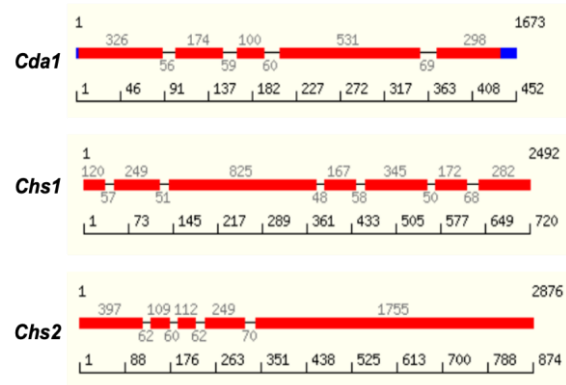
3.2. Đặc điểm cấu trúc các gen trong nghiên cứu

Khai thác thông tin dữ liệu hệ gen, chúng tôi thu được trình tự và cấu trúc các gen ứng viên như sau (Hình 1). Các gen *Cda1*, *Chs1* và *Chs2* lần lượt có kích thước 1673, 2492 và 2876 bp. Các gen *Cda1*, *Chs1* và *Chs2* lần lượt có số exon/intron là 5/4, 7/6 và 5/4. Kích thước của các đoạn exon, intron và các vùng 5'UTR, 3'UTR được chỉ ra trong Hình 1.

Do số lượng các gen ứng viên được chọn trong nghiên cứu này chỉ chiếm một phần nhỏ so với các gen liên quan trong hệ gen của nấm *M. lusitanicus* (xem mục 3.1), nên chúng tôi không tiến hành so sánh về trình tự các gen này so

với các loài khác. Vì số lượng gen này không đại diện cho toàn bộ các gen liên quan trong hệ gen.

Tuy nhiên, khi sử dụng công cụ BLAST để tìm kiếm các gen tương đồng trong hệ gen của loài *Mucor racemosus* (JGI, <https://mycosm.jgi.doe.gov/Mucrac1/Mucrac1.home.html>) cũng thu được các gen tương đồng cao và có kích thước tương đương. Cụ thể là các gen ID 7705, ID 1813 và ID 11072 có chiều dài tương ứng là 462, 2869 và 2840 bp.



Hình 1. Sơ đồ cấu trúc các gen ứng viên trong nghiên cứu. Các hộp màu đỏ và màu xanh lần lượt là vùng exon và vùng UTR. Các đoạn nối là vùng intron. Các con số chỉ kích thước (bp) của các đoạn tương ứng.

3.3. Một số đặc tính lý hoá của các protein trong nghiên cứu

Bảng 2 thể hiện các đặc tính của các protein đã được lựa chọn sử dụng công cụ ProtParam của ExpASy. Căn cứ vào các số liệu thu được dựa trên trình tự và đặc tính của các axit amin của các protein trong nghiên cứu, có thể rút ra một số nhận định trong Bảng 1.

Các phân tử protein CDA1, CHS1 và CHS2 lần lượt có kích thước gồm 451, 719 và 872 axit amin. Các protein CDA1 và CHS1 có thể ổn định trong điều kiện *in vitro* hơn so với CHS2. Mặc dù protein CHS1 có kích thước ngắn hơn nhiều so với CH2, nhưng thể tích tương đối của CHS1 có thể lớn hơn CHS2 do nó mang nhiều axit amin có các chuỗi bên không vòng hơn. Hơn nữa, CHS1 có khả năng là protein kỵ nước, trong khi CDA1 và CHS2 có khả năng là protein ưa nước.

Bảng 1. Một số đặc tính lý hóa học của các protein trong nghiên cứu

Protein	Chiều dài (aa)	MW (kDa) ¹	pI ²	II ³	AI ⁴	GRAVY ⁵
CDA1	451	4,74	4,73	32,67	72,11	-0,120
CHS1	719	8,16	6,44	35,01	88,30	0,065
CHS2	872	9,78	9,00	41,09	82,81	-0,108

Ghi chú: ¹MW: khối lượng phân tử, ²pI: điểm đẳng điện (Isoelectric point); ³II (Instability Index): protein có II < 40 được xem là ổn định trong điều kiện ống nghiệm, và ngược lại. ⁴AI (Aliphatic Index): thể tích tương đối bị chiếm bởi các chuỗi bên không vòng (Ala, Val, Ile, Leu). ⁵Protein có GRAVY > 0 có nhiều khả năng là protein kỵ nước, và ngược lại.

3.4. Cấu trúc domain của các gen ứng viên

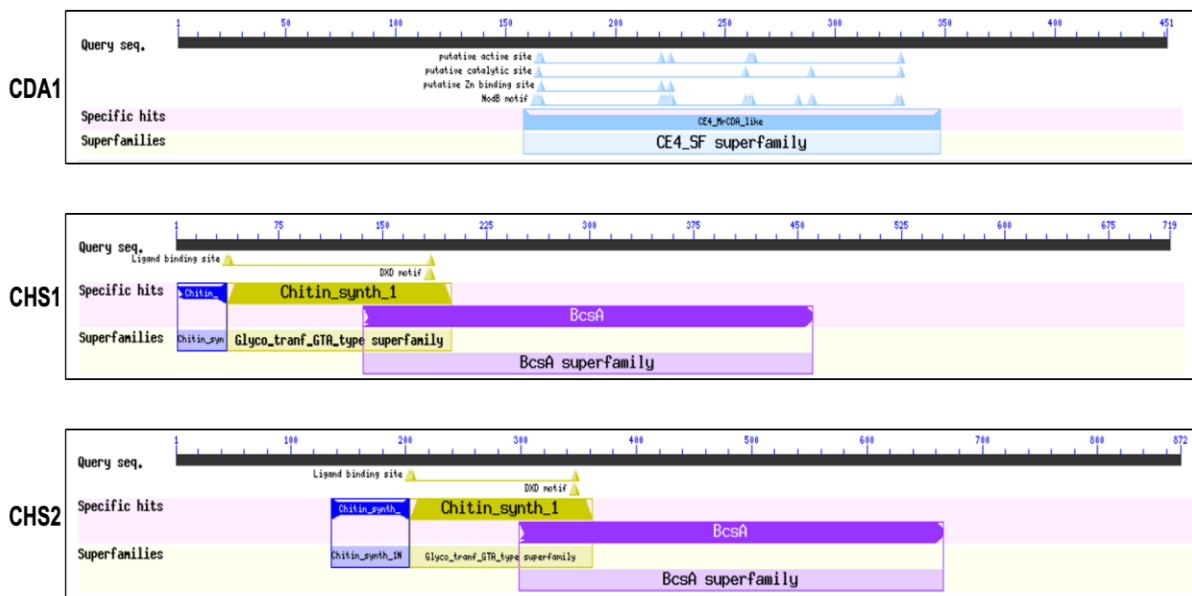
Sử dụng công cụ tìm kiếm các domain có tính bảo tồn cao của NCBI (Conserved Domains Database), chúng tôi đã phát hiện được các cấu trúc domain điển hình của các protein trong nghiên cứu. Các cấu trúc domain này phù hợp với cấu trúc điển hình của các họ protein tương ứng.

Cấu trúc protein CDA1

Protein CDA1 ở *M. lusitanicus* bao gồm 451 axit amin, trong đó có một domain xúc tác NodB, tương đồng với domain NodB của protein chitin deacetylase (MrCDA) của loài nấm *Mucor rouxii*. Domain NodB của protein CDA1 định vị ở vị trí axit amin từ 158 đến 348

(Hình 2). Điều này cho thấy protein CDA1 thuộc họ protein chitin deacetylase.

Theo mô tả của NCBI, họ protein này được đại diện bởi chitin deacetylase (MrCDA, EC 3.5.1.41) của nấm *M. rouxii*. MrCDA là một glycoprotein có tính axit có tính đặc hiệu đối với các homopolyme N-acetylglucosamine liên kết với β1-4. Nó cần ít nhất bốn gốc (chitotetraose) để xúc tác và có thể đạt được quá trình khử acetyl trên diện rộng trên các polyme chitin. MrCDA có độ tương đồng về trình tự cao với *Colletotrichum lindemuthianum* chitin deacetylase (CICDA), protein cũng có một domain xúc tác duy nhất [16].



Hình 2. Sơ đồ cấu trúc các protein với các domain được phát hiện dựa trên cơ sở dữ liệu các domain bảo tồn của NCBI. Các vùng domain chính trong các phân tử protein gồm: CE4_MrCDA_like (vùng hoạt động NodB thuộc Chitin deacetylase của nấm *Mucor rouxii*), Chitin_synth_1 (Chitin synthase), Chitin_synth_1N (Chitin synthase N-terminal), BcsA (Glycosyltransferase).

Cấu trúc các protein CHS.

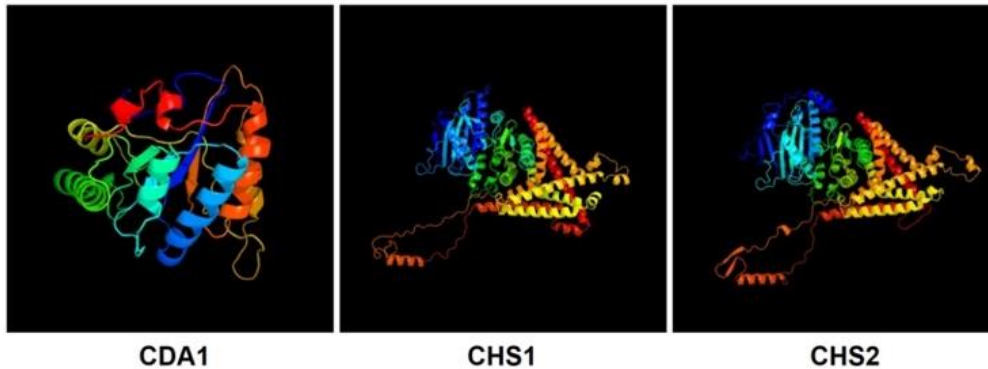
Sơ đồ cấu trúc các domain của protein CHS ở nấm *M. lusitanicus* trên Hình 2 cho thấy cả hai protein này đều mang các cấu trúc domain điển hình của các protein trong họ chitin synthase. Hai protein CHS1 và CHS2 lần lượt có chứa 719 và 872 axit amin. Cả hai protein đều có chứa các cấu trúc domain tương tự nhau, gồm có 3 domain sau đây:

i) Chitin_synth_1N (Chitin synthase N-terminal), đây là domain phía đầu N của enzyme Chitin synthase (pfam01644);

ii) Chitin_synth_1 (Chitin synthase), đây là vùng domain thường được phát hiện ở các loại enzyme chitin synthases lớp I, II và III;

iii) BcsA (Accession number: COG1215). BcsA, hay glycosyltransferase, là domain có hoạt tính xúc tác của các enzyme cellulose synthase và poly-beta-1,6-N-acetylglucosamine synthase trong tế bào.

Dựa trên trình tự các axit amin và các cấu trúc domain của các protein trong nghiên cứu, chúng tôi đã sử dụng công cụ Phyre 2 (Protein Homology/analogy Recognition Engine V 2.0, <http://www.sbg.bio.ic.ac.uk/>) để xây dựng cấu trúc không gian 3 chiều của chúng (Hình 3). Dựa trên hình ảnh 3D, có thể nhận thấy rằng hai protein CHS1 và CHS2 có sự tương đồng cao về cấu trúc không gian, chứng tỏ chúng có chức năng tương tự nhau. Nhận định này cần kiểm tra bằng các thực nghiệm về chức năng gen trong tương lai.



Hình 3. Hình ảnh cấu trúc không gian 3 chiều của các protein trong nghiên cứu được xây dựng bằng công cụ Phyre 2.

Những phân tích về cấu trúc của các protein nêu trên cho thấy các gen *Cda1*, *Chs1* và *Chs2* mã hóa các protein có cấu trúc điển hình của các enzyme chitin deacetylase và chitin synthase.

4. Kết luận

Nghiên cứu này đã chọn lọc và nghiên cứu một số đặc tính của 3 gen ứng viên gồm một gen mã hóa chitin deacetylase (*Cda1*) và hai gen mã hóa chitin synthase (*Chs1* và *Chs2*) từ 70 gen liên quan đến sinh tổng hợp chitin ở nấm *M. lusitanicus* dựa trên dữ liệu hệ gen và hệ phiên mã. Các phân tích về cấu trúc gen, cấu trúc và đặc tính lý hóa của các protein cho thấy các protein này có cấu trúc điển hình của các họ

protein tương ứng. Kết quả này tạo tiền đề cho các nghiên cứu chức năng sinh học của các gen liên quan đến sinh tổng hợp chitin ở thành tế bào của loài nấm gây bệnh này.

Tài liệu tham khảo

- [1] K. A. Marr, R. A. Carter, F. Crippa, A. Wald, L. Corey, Epidemiology and Outcome of Mould Infections in Hematopoietic Stem Cell Transplant Recipients, *Clin Infect Dis*, Vol. 34, No. 7, 2002, pp. 909-917, <https://doi.org/10.1086/339202>.
- [2] M. Richardson, The Ecology of the Zygomycetes and its Impact on Environmental Exposure, *Clin Microbiol Infect*, Vol. 15, No. 5, 2009, <https://doi.org/10.1111/j.1469-0691.2009.02972.x>.

- [3] J. A. Ribes, C. L. V. Sams, D. J. Baker, Zygomycetes in Human Disease, *Clin Microbiol Rev*, Vol. 13, No. 2, 2000, pp. 236-301, <https://doi.org/10.1128/cmr.13.2.236>.
- [4] L. L. Fernandez, M. Sanchis, P. Navarro-Rodríguez et al., Understanding *Mucor circinelloides* Pathogenesis by Comparative Genomics and Phenotypical Studies, *Virulence*, Vol. 9, No. 1, 2018, pp. 707-720, <https://doi.org/10.1080/21505594.2018.1435249>.
- [5] F. E. Nicolás, S. T. Martínez, R. M. R. Vázquez, Two Classes of Small Antisense RNAs in Fungal RNA Silencing Triggered by Non-integrative Transgenes, *EMBO J.*, Vol. 22, No. 15, 2023, pp. 3983-3991, <https://doi.org/10.1093/emboj/cdg384>.
- [6] T. A. Trieu, P. A. Nguyen, M. N. Le, H. N. Chu, Myosin-II Proteins are Involved in the Growth, Morphogenesis, and Virulence of the Human Pathogenic Fungus *Mucor circinelloides*, *Front. Cell. Infect. Microbiol.*, Vol. 12, No. December, 2022, pp. 1-16, <https://doi.org/10.3389/fcimb.2022.1031463>.
- [7] T. A. Trieu, M. I. N. Mendoza, C. P. Arques et al., RNAi-Based Functional Genomics Identifies New Virulence Determinants in Mucormycosis, *PLoS Pathog.*, Vol. 13, No. 1, 2017, pp. 1-26, <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1006150>.
- [8] R. G. Rubio, H. C. D. Oliveira, J. Rivera, N. T. Contador, The Fungal Cell Wall: Candida, Cryptococcus, and Aspergillus Species, *Front Microbiol*, Vol. 10, 2020, <https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.02993>.
- [9] J. Liu, J. Dong, J. Gao et al., Three Chitin Deacetylase Family Members of *Beauveria bassiana* Modulate Asexual Reproduction and Virulence of Fungi by Mediating Chitin Metabolism and Affect Fungal Parasitism and Saprophytic Life, *Microbiol Spectr*, Vol. 11, No. 2, 2023, <https://doi.org/10.1128/spectrum.04748-22>.
- [10] M. D. Lenardon, C. A. Munro, N. A. R. Gow, Chitin Synthesis and Fungal Pathogenesis, *Curr Opin Microbiol*, Vol. 13, No. 4, 2010, <https://doi.org/10.1016/j.mib.2010.05.002>.
- [11] I. V. Grigoriev, R. Nikitin, S. Haridas et al., MycoCosm Portal: Gearing up for 1000 Fungal Genomes, *Nucleic Acids Res*, Vol. 42, No. D1, 2014, <https://doi.org/10.1093/nar/gkt1183>.
- [12] I. V. Grigoriev, D. Cullen, S. B. Goodwin et al., Fueling the Future with Fungal Genomics, *Mycology*, Vol. 2, No. 3, 2011, <https://doi.org/10.1080/21501203.2011.584577>.
- [13] B. Amos, C. Aurrecoechea, M. Barba et al., VEuPathDB: The Eukaryotic Pathogen, Vector and Host Bioinformatics Resource Center, *Nucleic Acids Res*, Vol. 50, No. D1, 2022, <https://doi.org/10.1093/nar/gkab929>.
- [14] M. Homa, S. Ibragimova, C. Szebenyi, G. Nagy, N. Zsindely, L. Bodai, C. Vágvölgyi, G. Nagy, T. Papp, Differential Gene Expression of *Mucor lusitanicus* under Aerobic and Anaerobic Conditions, *J. Fungi*, Vol. 8, No. 4, 2022, <https://doi.org/10.3390/jof8040404>.
- [15] C. P. Arques, M. I. N. Mendoza, L. Murcia, C. Lax, P. M. García, J. Heitman, F. E. Nicolás, V. Garre, *Mucor Circinelloides* Thrives Inside the Phagosome through an Atf-mediated Germination Pathway, *MBio*, Vol. 10, No. 1, 2019, <https://doi.org/10.1128/mBio.02765-18>.
- [16] D. E. Blair, O. Hekmat, A. W. Schüttelkopf, B. Shrestha, K. Tokuyasu, S. G. Withers, D. M. F. V. Aalten, Structure and Mechanism of Chitin Deacetylase from the Fungal Pathogen *Colletotrichum lindemuthianum*, *Biochemistry*, Vol. 45, No. 31, 2006, <https://doi.org/10.1021/bi0606694>.