

黄单胞菌毒性因子调控的研究进展

唐庆华¹, 张世清², 牛晓庆¹, 朱辉¹, 余凤玉¹, 覃伟权^{1*}

(1. 中国热带农业科学院椰子研究所, 海南省热带油料作物生物学重点实验室, 农业部热带油料作物科学观测试验站, 海南 文昌 571339; 2. 中国热带农业科学院热带生物技术研究所, 海南 海口 571101)

摘要: 黄单胞属植物病原细菌寄主非常广泛, 能引起许多种重要经济作物发生病害。黄单胞菌在寄主组织内的侵染和繁殖取决于分泌的多糖、脂多糖、吸附素和 III 型分泌系统等毒性因子。细菌毒性因子的协调表达是通过群体感应途径、双组分系统和 Clp、Zur、FhrR、HrpX 和 HpaR 等转录后调控因子精细调控的。此外, 毒力基因表达还受 RNA 结合蛋白 RsmA 转录后控制。在本综述中, 我们对黄单胞菌控制分泌毒性因子的调控网络的研究进展进行了概括。

关键词: 黄单胞菌; 毒性因子; 调控网络; 群体效应; 双组分系统; 环鸟苷二磷酸信号; RNA 结合蛋白 RsmA
中图分类号: S718.87 文献标志码: A 文章编号: 2095-3704 (2012) 02-0134-08

Advantages in Regulation of *Xanthomonas* Virulence Factors

TANG Qing-hua¹, ZHANG Shi-qing², NIU Xiao-qing¹, ZHU Hui¹,
YU Feng-yu¹, QIN Wei-quan¹

(1. Coconut Research Institute, Chinese Academy of Tropical Agricultural Sciences, Hainan Key Laboratory for Biology of Tropical Oil Crops, Scientific Observing and Experimental Station of Tropical Oil Plants of Ministry of Agriculture, P.R.China, Wenchang 571339, China; 2. Institute of Tropical Bioscience and Biotechnology, Chinese Academy of Tropical Agricultural Science, Haikou 571101, China)

Abstract: Plant pathogenic bacteria of the genus *Xanthomonas* infect a wide range of host plants and are responsible for important crop plant diseases worldwide. Infection and multiplication of bacterial in the host tissue often rely on the virulence factors secreted including polysaccharides, LPS, adhesins, and type III secretion system. The coordinated expression of bacterial virulence factors is orchestrated by quorum-sensing pathways, multiple two-component systems and transcriptional regulators such as Clp, Zur, FhrR, HrpX and HpaR. In addition, virulence gene expression is post-transcriptionally controlled by the RNA-binding protein RsmA. In this review, we summarize the current advantages on regulatory networks which control secreted virulence factors from *Xanthomonas* species.

Keywords: *Xanthomonas*; virulence factors; regulatory networks; Quorum sensing; Cyclic di-GMP signaling; two-component systems; RNA-binding protein RsmA

0 前言

黄单胞属植物病原细菌为革兰氏阴性细菌。黄单胞杆菌通常只有一根极性鞭毛, 耗氧型, 最适生

收稿日期: 2012-06-22

基金项目: 中央级公益性科研院所基本科研业务费专项 (1630052012016); 海南省自然科学基金 (312041); 公益性行业 (农业) 科研专项项目 (200903026); 海南省重点项目 (090106)

作者简介: 唐庆华, 男, 博士, 助理研究员, 主要从事病原细菌-植物互作的功能基因组学及植原体病害综合防治, E-mail: tchuna129@163.com。* 通信作者: 覃伟权, 研究员, 主要从事植物保护研究; E-mail: QWQ268@sohu.com。

长温度为 25~30℃^[1-5]。黄单胞属存在膜结合色素-黄色素,因此菌落通常是黄色的,黄色素可能起保护细菌免受发光生物危害的作用^[6]。在气候温暖湿润的地区,黄单胞属菌可侵染约 124 种单子叶和 268 种双子叶重要经济植物^[7]。例如野油菜黄单胞菌野油菜致病变种 *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* (Xcc) 可以侵染花椰菜、卷心菜、甘蓝、萝卜和模式植物拟南芥等多种十字花科植物,由其引起的黑腐病在全球周期性流行,危害极大^[8]。水稻黄单胞菌水稻变种 *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* (Xoo) 引起的水稻白叶枯病在亚洲热带国家是一种主要的水稻病害,许多高产水稻品种通常极易感染该病,发病严重时产量损失可达 50%^[3]。黄单胞菌通过自然孔口如排水器、气孔或伤口进入植物前一直附生在植物表面;进入植物组织后在局部增殖或定植在木质部导管的间隙内,然后在植物体内系统传播。黄单胞菌为半活体寄生型病原菌,最初依靠寄主组织生活,但在侵染阶段可导致植物细胞死亡。黄单胞菌在寄主组织内的侵染和繁殖取决于分泌的多糖、脂多糖和 III 型分泌系统等毒性因子,而这些毒性因子的表达是在群体感应等调控系统的精细调控下进行的。

本文对黄单胞菌毒性因子和蛋白分泌系统进行了简单小结,重点介绍控制毒力基因表达的调控网络。

1 黄单胞菌主要毒性因子以及毒性相关蛋白分泌系统

黄单胞菌毒性因子有多种,主要包括胞外多糖 (exopolysaccharides, EPSs)、脂多糖 (lipopolysaccharides, LPSs) 和粘附素以及 *hrp* 基因等。黄单胞菌以及假单胞菌等其他细菌均可以产生胞外多糖,现已经证明胞外多糖为几种植物病原细菌产生水渍和萎蔫症状所必需^[2]。黄单胞菌与寄主表面相关的另一种毒性因子是脂多糖,它是细菌外膜的主要成分,可以保护细胞免受恶劣环境的危害。植物病原细菌的粘附素可能调解细菌附着到不同寄主细胞受体,并可能有助于不同阶段的侵染^[9]。植物病原细菌致病相关基因中编码 III 型分泌系统 (TTSS) 的 *hrp* 基因是最重要的,可以将效应蛋白注入寄主细胞。

为了在寄主植物中成功定植,植物病原细菌必须具有在植物表面吸附、侵入寄主组织细胞间隙、获得营养物质和抵抗植物防御反应的能力。对寄主植物的成功感染往往依赖于细菌的蛋白质分泌系统分泌蛋白进入胞外环境或运输效应蛋白直接进入寄主细胞质。一些黄单胞菌会使用不同的蛋白质分泌系统组合,以保证细菌繁殖和病程的进行^[10]。迄今已发现黄单胞菌至少有 6 种蛋白质分泌系统, I 型到 VI 型系统的组成和功能以及分泌的物质具有显著差异^[11]。不同黄单胞菌的主要毒性因子及分泌系统见表 1。

2 黄单胞菌毒性调控网络

黄单胞菌一生需经历不同生活阶段,在侵入叶片间隙之前常作为附生菌在叶表聚居。黄单胞菌的调控系统能调控毒性因子表达以适应不同的胞外环境,如菌体密度、养分供应、氧气含量和植物源信号分子的存在 (图 1, 参考 Büttner & Bonas, 2010)。外部信号的感知和转导常由双组分信号传导系统介导,该系统通常包括膜结合组氨酸激酶传感器和胞浆反应调节器。组氨酸激酶传感器一旦感知外部刺激后就会自动磷酸化,然后运输磷酸组分到相应反应调节器的接收结构域,这些信号反过来又激活靶基因的表达^[8]。通过序列比较分析预测油菜黄单胞菌野油菜致病变种 Xcc 含有超过 50 个传感器激酶和反应调节器^[12]。迄今为止,研究人员仅对部分调控系统对毒力贡献开展了研究,其中包括 RpfC/RpfG (参与群体感应和调控毒性因子)、RavS/RavR (参与毒性因子的调节)、RaxH/RaxR (AvrXa21 活性所需)、Colr/ColS (有助于 *hrp* 基因表达) 和反应调节器 HrpG (对 *hrp* 基因的表达很重要)^[8, 12, 13, 14]。

2.1 群体效应 QS 信号对毒性基因表达的调控

群体效应或群体感应 (Quorum sensing, QS) 一种细菌群体行为调控机制,是细菌细胞间利用可扩散的小分子物质 (扩散性信号分子, DSF) 进行信息交流的过程,以响应群体密度从而产生各种协调性行为,如调控基因表达^[15]。在 Xcc 中的一个 QS 信号分子 (DSF) 为顺-11-甲基-2-十二碳烯酸,该信号能调控包括致病基因在内的 165 个基因的表达^[16, 17]。DSF 的合成是由烯酰辅酶 A 水合酶 RpfF 和脂肪酰基辅酶 A 连接酶 RpfB 催化,两者都是通

过毒性因子基因簇调控 (*rpf*) 编码的^[18]。DSF 可以扩散跨越细菌膜结构, 可能被激酶传感器 RpfC 和反应调节器 RpfG^[19]组成的双组分信号转导系统感知。*rpfF*、*rpfG* 或 *rpfC* 突变可以导致突变子胞外多糖 EPS 和胞外酶产量降低并改变生物膜的形成,

这表明 DSF 的信号参与了毒性因子的调控^[17, 19, 20]。此外, 在 *Xcc* 中 *rpf* 依赖的信号是细菌应答植物气孔关闭必需的, 气孔关闭是植物受原菌感染^[21]后激活的一种防御反应。

表 1 黄单胞菌的毒性因子

黄单胞菌	蛋白分泌系统及其分泌的毒性因子	其他毒性因子
<i>Xac</i>	3 型分泌系统; 5 型分泌系统 (类纤维状红细胞凝集素蛋白 XacFhaB)	ABC 转运蛋白 (XAC2072、XAC3600); TonB 依赖受体 (XAC0144); 蛋白酶 (XAC3980); 淀粉酶(XAC0798)
<i>Xag</i>	3 型分泌系统	Sucrose hydrolase SUH
<i>Xcc</i>	Xps-2 型分泌系统(多聚半乳糖醛酸酶 PghAxc、PghBxc; 淀粉酶); 3 型分泌系统(效应蛋白 XopXccN); 4 型分泌系统	参与 EPS/LPS 的基因; <i>rpf</i> 基因; TonB 依赖受体 SuxA (葡萄糖转运蛋白)
<i>Xcv</i>	3 型分泌系统 (溶解性转糖酶 HpaH; 效应蛋白 AvrBs2、XopD、XopN、XopX)	
<i>Xoo</i>	Xps-2 型分泌系统(脂肪酶/酯酶; 纤维二糖糖苷酶; 纤维素酶; 内切葡聚糖酶 EglXoB); 3 型分泌系统(效应蛋白 AvrXa7、AvrXa10、PthXo6、PthXo7); 5 型分泌系统(粘附素 XadA、XadB、YapH)	<i>rpf</i> 基因; 参与 EPS 和 LPS 合成的基因; IV 型菌毛组分 PilQ
<i>Xoc</i>	3 型分泌系统	<i>rpf</i> 基因; IV 型菌毛组分; 参与 LPS 合成的基因

注: *Xac*, 柑桔溃疡病菌 (黄单胞杆菌柑橘致病变种) *X. axonopodis* pv. *citri*; *Xag*, 大豆斑疹病菌 *X. axonopodis* pv. *glycines*; *Xcc*, 十字花科黑腐病菌 (油菜黄单胞菌野油菜致病变种) *X. campestris* pv. *campestris*; *Xcv*, 黄单胞菌番茄致病变种 (辣椒/番茄斑点病菌) *X. campestris* pv. *vesicatoria*; *Xoo*, 黄单胞菌水稻致病变种 (水稻白叶枯病菌) *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*; *Xoc*, 水稻细菌性条斑病菌 *X. oryzae* pv. *oryzicola*。

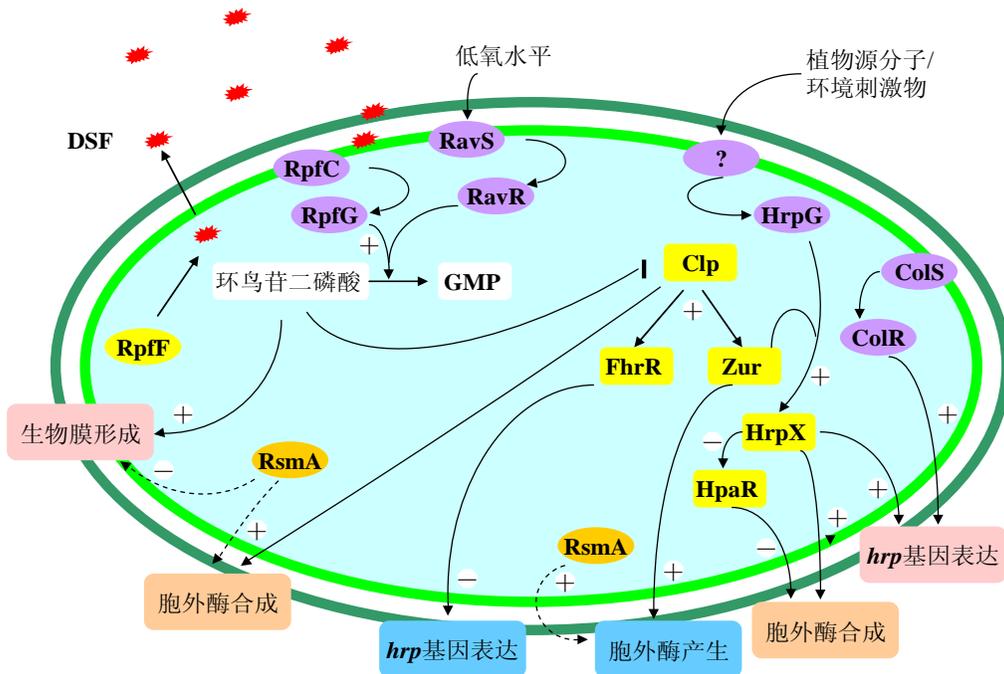


图 1 十字花科黑腐病菌控制毒性基因表达的调控网络

反应调节器 RpfG 包含一个革兰氏阳性和革兰氏阴性菌中保守的 HD-GYP 结构域(字母代表保守

的氨基酸), 据推测该结构域与环鸟苷二磷酸水解有关^[22], 因为 RpfG 是一个活性环鸟苷二磷酸磷酸

二酯酶。酶活性对 RpfG 依赖的基因表达调控是必需的, 这表明环鸟苷二磷酸是一个重要的信使分子。环鸟苷二磷酸是在木葡糖酸醋杆菌中作为纤维素合成酶的变构抑制剂第一次鉴定的^[23]。环鸟苷二磷酸作为细胞内第二信使, 可能调节各种细胞功能如生物膜的形成和致病基因的表达。有证据表明, 高浓度的环鸟苷二磷酸可以促进生物膜的形成, 而低浓度促进毒力因子的运动和表达^[24]。环鸟苷二磷酸信号可能参与一个具有保守的 PilZ 结构域的蛋白, 该蛋白可能为环鸟苷二磷酸提供了一个结合位点^[23]。Xcc 中有 2 个 PilZ 蛋白质对细菌毒力有贡献。除 PilZ 蛋白外, 环鸟苷二磷酸其他的靶标还有转录因子, 该蛋白质有一个 GGDEF 结构域和核糖开关, 表明环鸟苷二磷酸参与多种细胞功能的调节^[25]。

2.2 第二信使环鸟苷二磷酸对转录激活子 Clp 和 Zur 的激活作用

DSF 和 RpfC/RpfG 可以激活转录调节子 Clp (CAP-like protein), 该结构域包含核苷酸结合结构域和 DNA 结合结构域并可结合靶基因的启动子, 例如 Xcc 中的果胶裂解酶和内切葡聚糖酶^[26, 27, 28]。环鸟苷二磷酸可体外抑制柑桔溃疡病菌 Clp 蛋白结合 DNA^[29]。在 Xcc 中 Clp 能诱导 DSF 调节子基因的表达, 如编码胞外酶、T2S 和 T3S 系统组分以及参与 EPS 胞外多糖合成的基因。但 Clp 不参与调控依赖 DSF 的生物膜形成。通过分析 Xcc 调控基因发现了两个转录因子, 一个是包含 TetR 家族转录因子结构域的 FhrR 蛋白, 一个属于 Fur 家族转录因子的锌吸收调节子 Zur。FhrR 调节鞭毛、HR 和核糖体蛋白编码基因的表达, Zur 蛋白有调节铁的吸收、耐药性和解毒^[27]的功能。Zur 最初在大肠杆菌 *E. coli* 和枯草芽孢杆菌 *Bacillus subtilis* 中鉴定为锌吸收系统抑制剂, 也有助于 Xcc 的毒性^[30]。最近研究显示, 野 Xcc 菌株 8004 的 ZurX 可能通过转录激活子 HrpX 正向调控 *hrp* 基因的表达^[31]。相反, Zur 和 FhrR 则能抑制 Xcc 菌株 XC1 中 *hrp* 基因的表达^[27]。因此, 该结果表明可能有多个级联信号参与毒性因子的调控或 DSF 介导的基因表达调控机制因 Xcc 菌株不同而具有差异。

迄今为止, 在 Xcc 中依赖 DSF 的信号已被广泛研究。此外, 水稻白叶枯病菌 *X. oryzae* pv. *oryzae* (Xoo) 和大豆斑疹病菌 *X. axonopodis* pv. *glycines* (Xag) 的 *rpf* 基因也有助于毒力并参与编码胞外酶

和 EPS 胞外多糖产生的基因表达。有趣的是, 嗜麦芽窄食单胞菌 *S. maltophilia* 的中 RpfF 可能也参与 LPS 脂多糖的产生^[5]。

2.3 双组份系统 RavS/RavR 对环鸟苷二磷酸水平的调控

黄单胞菌基因组编码大量参与环鸟苷二磷酸合成或降解的蛋白, 两者分别含有保守的 GGDEF、HD-GYP 和 EAL 结构域。在 Xcc 全基因组范围内对有 HD-GYP、GGDEF 或 EAL 结构域的蛋白进行突变从而鉴定了可能调节环鸟苷二磷酸水平的其他毒性因子^[17]。其中双组份系统反应调节器 RavR 包含 GGDEF-EAL 结构域, 该系统有助于 EPS 胞外多糖的产生以及胞外蛋白酶和纤维素酶的活性^[14]。RavR 有助于 Xcc 菌株 XC1 对大白菜的毒性。但是, Xcc 菌株 8004 缺失同源基因 XC2228 并不影响该菌在萝卜上的病斑长度, 这表明该蛋白毒性功能的调节取决于病原菌遗传背景或寄主植物^[14, 17]。

RavR 是一个环鸟苷二磷酸的磷酸二酯酶, 它包含 EAL 结构域 RavR 被包含两个 PAS 结构域的同源组氨酸激酶 RavS 激活, 其他革兰氏阴性菌的几种信号传导蛋白中也具有该结构域, 其作用是氧分子感应器。PAS 的第二个 RavS 结构域对一些蛋白的功能是必需的, 这表明 RavS/RavR 调节毒性因子的产生以应答低水平的氧胁迫^[14], 证据是在 Xcc 菌株 8004 中一个预测有 PAS 结构域中环鸟苷二磷酸磷酸二酯酶 (XC2324) 对低氧条件下毒力因子的产生是必需的^[17]。在 Xcc 菌株 XC1 进行微阵列分析表明 RavR 至少能激活 206 个基因的表达, 包括 *clp*、*hrp* 和参与胞外酶、EPS 胞外多糖以及 LPS 脂多糖合成的基因。因此, RavR 可能是通过 Clp 调节毒力基因的表达, 这表明毒性因子合成控制的目的是为了应答 QS 信号和低氧环境^[14]。

2.4 *hrp* 基因表达的调控

hrp 基因不是组成性表达, 但当细菌进入植物或在某些基本培养基培养时才激活^[5]。尽管 Xcc 中 *hrp* 基因的表达受 DSF 和环鸟苷二磷酸水平的调控, 但 QS 并不足以引起 *hrp* 基因的表达。突变分析表明, *hrp* 基因表达依赖于关键调节子 HrpG, HrpG 是一个 OmpR 型反应调节器并可能通过一个未知感应激酶识别环境信号^[32]。HrpG 在某些基本培养基和植物表面上是轻微诱导表达的, 但是一旦细菌进入植物体 HrpG 的表达就很显著^[33]。在

水稻白叶枯病菌 *Xoo* 中 HrpG 表达是由多个调控通路控制的,包括双组分系统 PhoPQ、H-NS 蛋白 XrvA 和 GntR 调控子家族成员 TrH^[34, 35]。

调控基因 *hrpX* 的表达受 HrpG 激活, *hrpX* 编码一个 AraC 型的转录激活子并结合到一个保守的序列元件 (TTCGC-N15-TTCGC, 植物诱导型启动子 plant-inducible promoter, PIP), 该元件存在于大多数 HrpG 诱导基因的启动子区域。然而, 值得注意的是, HrpX 依赖的基因在没有 PIP box 时也表达, 这表明存 PIP box 对 HrpX 的诱导不是必需的^[36]。

辣椒/番茄细菌性斑点病菌 *X. campestris* pv. *vesicatoria* (*Xcv*) 的 HrpG 和 HrpX 对毒力是重要的, 且有助于该菌的附生生活^[37]。有趣的是, 相对于菌毛基因 HrpE 突变, HrpG/hrpX 基因突变体的附生生活更缺乏抵抗力, 而 HrpE 基于对于 T3S 泌出系统是重要的^[37]。这表明 HrpG 和 HrpX 对毒性因子的激活不依赖于有助于附生阶段的 T3S 泌出系统。支持该假设的证据是 *Xcv* 的 cDNA 基因扩增片段长度多态性和其他黄单胞菌中的表达研究表明 HrpG 可调控全基因组水平调节子的表达, 包括编码诸如 III 型效应蛋白和 T2S 泌出底物的毒力基因^[36, 38, 39], 有关茄科雷尔氏菌 HrpG 同源基因的研究中也有类似的报道^[40]。有趣的是, *Xcc* 中 HrpG 调控基因包括具有 PilZ 结构域的两蛋白, 该结构域对细菌毒力是必需的, 可能参与环鸟苷二磷酸信号感应。此外, *Xcc* 的 HrpG 和 HrpX 可激活编码 MarR 家庭转录调控子调控的 *hpaR* 基因的表达^[41]。*Xcc* 菌株 8004 的 *hpaR* 缺失突变体丧失了对白菜的毒力, 并导致其在非寄主植物胡椒上的 HR 诱导表达降低。此外, *hpaR* 突变体胞外蛋白酶的活性有所提高, 表明 *HpaR* 可以抑制蛋白酶的产生^[41], 与该发现一致的是 *Xcv* 中 HrpG/HrpX 可抑制胞外蛋白酶的活性^[36]。

除了 HrpG 和 HrpX 外, *Xcc* 的 *hrp* 基因簇中 HrpC 和 HrpE 操纵子的表达受双组分调控系统 ColR/ColS 控制, 这表明不同的信号通路参与了 *hrp* 基因表达的调控, 也表明不同信号通路可能同时调控一个 *hrp* 操纵子^[13], 其证据是 *Xac* 中几个 *hrp* 基因在基本培养基 XVM2 上是诱导表达的, 而 *hrpB1* 的表达却受到压抑^[42]。然而, 基因芯片分析发现水稻白叶枯病菌和水稻条斑病菌 Hrp 基因的调控具有差异, 这表明 *hrp* 基因表达可能存在特定致病变种

的差异^[43]。总之, 对依赖 HrpG 的基因表达谱分析表明控制细菌毒力的信号通路确实非常复杂, 也表明多个调控通路之间存在相互作用。

2.5 次生代谢抑制剂(RsmA)对毒性基因表达的转录后调控

在 *Xcc* 中毒性基因的表达还受 RNA 结合蛋白 RsmA 的转录后水平调控。RsmA 属于保守的 RNA 结合蛋白家族, 最初被鉴定为碳代谢抑制剂(carbon storage regulator, CsrA, 碳储存器)。RsmA/CsrA 家族成员结合到靶标 mRNA 的 Shine-Dalgarno 序列附近的特异性结合位点从而阻止核糖体结合。RsmA/CsrA 的转录抑制可被结合到 RsmA/CsrA 蛋白的小分子 RNA 解除^[44]。值得注意的是, 一些动物病原菌和欧文氏菌中 RsmA/CsrA 蛋白可调控毒性基因的表达。在 *Xcc* 中 RsmA 突变导致细菌完全丧失运动性、丧失在萝卜上的毒力和诱导非寄主植物 HR 反应的能力, 并增强了生物膜的形成。*Xcc* 的 RsmA 有助于 EPS、胞外内切葡聚糖酶和淀粉酶的合成并能调控 *hrp* 和效应因子基因的转录水平。相反, 胞外蛋白酶活性、*hrpG* 以及 *hrpX* 的表达却不受影响^[45]。由于 RsmA 常作为负转录调控子, RsmA 对基因表达的正向调控可能是其他调控因子通过 RsmA 介导的转录后调控间接实现的。黄单胞菌中结合到 RsmA 的小分子 RNA 尚待阐明。

3 结论与展望

黄单胞菌的毒性因子非常复杂, 其成功侵染寄主往往取决于细菌吸附以及与寄主细胞信号交流的能力。大多数毒性因子如细菌表面结构和外泌蛋白等可能是通过细菌群体感应以及抑制植物防御反应而促进细菌获取营养。为了更好的操纵植物细胞, 细菌还将效应蛋白运输到植物细胞质, 这需要 T3S 系统的参与。然而, 效应蛋白和其他毒性因子的功能往往很复杂, 个别缺失突变体并不削弱毒力, 这表明分泌蛋白间功能可能是冗余的。全面阐释外泌毒力因子活性的分子机制是今后研究的一个热点, 效应蛋白的详细描述不仅可以揭示细菌毒力策略而且可以提供了有关植物发育过程的信息。除了 T3S 泌出系统外, 黄单胞菌可能还采用其他蛋白质分泌系统以便成功侵染其寄主植物, 例如最近发现的可以将细菌蛋白转运到真核细胞的 T6S 系统。我们需要关注的是这些蛋白质分泌系统的特征及

其相应的泌出物质从而深化对植物-病原菌互作的认识。此外,比较分析毒力相关蛋白的泌出机制可能有助于揭示不同分泌系统间的功能互作。一些毒性因子如 III 型效应因子和降解酶的表达是受几个调控子协调完成,这表明不同蛋白分泌系统存在功能对话(crosstalk)。

尽管科学家对黄单胞菌的毒力调控系统进行了深入研究,但是依然还有很多问题需要回答。例如参与环鸟苷二磷酸降解的蛋白中保守的HD-GYP结构域,迄今对该结构域的了解依然很有限,该结构域及其蛋白是否还有其他功能?该蛋白是否具有特异的细胞定位功能?再如环鸟苷二磷酸是通过何种途径调控细胞如此众多的功能?是否存在其它受体分子?受体分子结合环鸟苷二磷酸后是如何介导下游调控反应?c-di-GMP是否可能通过碱基互补配对的方式结合其它RNA分子而实施调控作用?环鸟苷二磷酸信号途径与其它信号途径的关系如何?总之,阐明毒力相关的调控网络是目前科学家面对的主要挑战之一,这既包括转录激活子,也包括RNA结合蛋白和小分子RNA,这需要科学家持之不懈的努力和独到的视野以及不畏艰难的探索精神。总之,目前科学家对黄单胞菌毒力策略的了解仅仅是万里长征走完了第一步。

参考文献:

- [1] 方中达. 植病研究方法(第3版)[M]. 北京: 中国农业出版社, 1998: 171-177.
- [2] 王金生. 植物病原细菌学[M]. 北京: 中国农业出版社, 2000: 213-225.
- [3] 邹丽芳. 水稻黄单胞菌遗传操作体系的建立及hrp基因和avrBs3/pthA家族基因的功能研究(博士学位论文)[D]. 南京: 南京农业大学, 2007: 1~6.
- [4] Bradbury J F. Genus II *Xanthomonas* Dowson 1939. Bergey's Manual of Systematic Bacteriology [M], Vol. 1 (Krieg NR & Holt JG, eds), pp. 199-210. Williams and Wilkins, London. 1984.
- [5] Büttner D & Bonas U. Regulation and secretion of *Xanthomonas* virulence factors [J]. FEMS Microbiol Rev, 2010, 34: 107-133
- [6] Rajagopal L, Sundari C S, Balasubramanian D, et al. The bacterial pigment xanthomonadin offers protection against photodamage [J]. FEBS Lett, 1997, 415: 125-128.
- [7] Chan J W Y F & Goodwin P H. The molecular genetics of virulence of *Xanthomonas campestris* [J]. Biotechnol Adv, 1999, 17: 489-508.
- [8] Qian W, Han Z J, Tao J, et al. Genome-scale mutagenesis and phenotypic characterization of two-component signal transduction systems in *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* ATCC 33913 [J]. Mol Plant Microbe, 2008a, 21: 1128-1138.
- [9] Das A, Rangaraj N & Sonti RV. Multiple adhesin-like functions of *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* are involved in promoting leaf attachment, entry, and virulence on rice [J]. Mol Plant Microbe, 2009, 22: 73-85.
- [10] Preston G M, Studholme D J & Caldelari I. Profiling the secretomes of plant pathogenic Proteobacteria [J]. FEMS Microbiol Rev, 2005, 29: 331-360.
- [11] Gerlach R G & Hensel M. Protein secretion systems and adhesins: the molecular armory of Gram-negative pathogens [J]. Int J Med Microbiol, 2007, 297: 401-415.
- [12] Qian W, Han Z J & He C. Two-component signal transduction systems of *Xanthomonas* spp.: a lesson from genomics [J]. Mol Plant Microbe, 2008b, 21: 151-161.
- [13] Zhang S S, He Y Q, Xu L M, et al. A putative colR (XC1049)-colS (XC1050) two-component signal transduction system in *Xanthomonas campestris* positively regulates hrpC and hrpE operons and is involved in virulence, the hypersensitive response and tolerance to various stresses. Res Microbiol, 2008, 159: 569-578.
- [14] He Y W, Boon C, Zhou L, et al. Co-regulation of *Xanthomonas campestris* virulence by quorum sensing and a novel two-component regulatory system RavS/RavR [J]. Mol Microbiol, 2009, 71: 1464-1476.
- [15] Von Bodman S B, Bauer W D & Coplin D L. Quorum sensing in plant-pathogenic bacteria [J]. Annu Rev Phytopathol, 2003, 41: 455-482.
- [16] Wang L H, He Y, Gao Y et al. A bacterial cell-cell communication signal with cross-kingdom structural analogues [J]. Mol Microbiol, 2004, 51: 903-912.
- [17] Ryan R P, Fouhy Y, Lucey J F, et al. Cyclic di-GMP signalling in the virulence and environmental adaptation of *Xanthomonas campestris* [J]. Mol Microbiol, 2007, 63: 429-442.
- [18] Tang J L, Liu Y N, Barber C E, et al. Genetic and

- molecular analysis of a cluster of *rpf* genes involved in positive regulation of synthesis of extracellular enzymes and polysaccharide in *Xanthomonas campestris* pathovar *campestris* [J]. *Mol Gen Genet*, 1991, 226: 409-417.
- [19] Slater H, Alvarez-Morales A, Barber C E, et al. A two-component system involving an HD-GYP domain protein links cell-cell signalling to pathogenicity gene expression in *Xanthomonas campestris* [J]. *Mol Microbiol*, 2000, 38: 986-1003.
- [20] Dow J M, Crossman L, Findlay K, et al. Biofilm dispersal in *Xanthomonas campestris* is controlled by cell-cell signaling and is required for full virulence to plants [J]. *P Natl Acad Sci USA*, 2003, 100: 10995-11000.
- [21] Gudesblat G E, Torres P S & Vojnov A A. *Xanthomonas campestris* overcomes Arabidopsis stomatal innate immunity through a DSF cell-to-cell signal-regulated virulence factor [J]. *Plant Physiol*, 2008, 149: 1017-1027.
- [22] Galperin M Y, Nikolskaya A N & Koonin E V. Novel domains of the prokaryotic two-component signal transduction systems [J]. *FEMS Microbiol Lett*, 2001, 203: 11-21.
- [23] Römling U & Amikam D. Cyclic di-GMP as a second messenger [J]. *Curr Opin Microbiol*, 2006, 9: 218-228.
- [24] Tischler A D & Camilli A. Cyclic diguanylate (c-di-GMP) regulates *Vibrio cholerae* biofilm formation [J]. *Mol Microbiol*, 2004, 53: 857-869.
- [25] Pesavento C & Hengge R. Bacterial nucleotide-based second messengers. *Curr Opin Microbiol*, 2009, 12: 170-176.
- [26] Hsiao Y M, Fang M C, Sun P F, et al. Clp and RpfF up-regulate transcription of *pelA1* gene encoding the major pectate lyase in *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* [J]. *J Agr Food Chem*, 2009, 57: 6207-6215.
- [27] He Y W, Ng A Y, Xu M, et al. *Xanthomonas campestris* cell-cell communication involves a putative nucleotide receptor protein Clp and a hierarchical signalling network [J]. *Mol Microbiol*, 2007, 64: 281-292.
- [28] Ge C & He C. Regulation of the type II secretion structural gene *xpsE* in *Xanthomonas campestris* pathovar *campestris* by the global transcription regulator Clp [J]. *Curr Microbiol*, 2008, 56: 122-127.
- [29] Leduc J L & Roberts G P. Cyclic di-GMP allosterically inhibits the CRP-like protein (Clp) of *Xanthomonas axonopodis* pv. *citri* [J]. *J Bacteriol*, 2009, 191: 7121-7122.
- [30] Tang D J, Li X J, He Y Q, et al. The zinc uptake regulator Zur is essential for the full virulence of *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* [J]. *Mol Plant Microbe*, 2005, 18: 652-658.
- [31] Huang D L, Tang D J, Liao Q, et al. The Zur of *Xanthomonas campestris* is involved in hypersensitive response and positively regulates the expression of the hrp cluster via *hrpX* but not *hrpG* [J]. *Mol Plant Microbe*, 2009, 22: 321-329.
- [32] Wengelnik K, Rossier O & Bonas U. Mutations in the regulatory gene *hrpG* of *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria* result in constitutive expression of all *hrp* genes [J]. *J Bacteriol*, 1999, 181: 6828-6831.
- [33] Zhang Y, Callaway E M, Jones J B, et al. Visualisation of hrp gene expression in *Xanthomonas euvesicatoria* in the tomato phyllosphere [J]. *Eur J Plant Pathol*, 2009, 124: 379-390.
- [34] Lee S W, Jeong K S, Han S W, et al. The *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* PhoPQ two component system is required for AvrXA21 activity, *hrpG* expression, and virulence [J]. *J Bacteriol*, 2008, 190: 2183-2197.
- [35] Feng J X, Song Z Z, Duan C J, et al. The H-NS-like protein-encoding gene *xrvA* of *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* regulates virulence in rice [J]. *Microbiology*, 2009, 155: 3033-3044.
- [36] Noël L, Thieme F, Nennstiel D, et al. cDNA-AFLP analysis unravels a genome-wide *hrpG*-regulon in the plant pathogen *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria* [J]. *Mol Microbiol*, 2001, 41: 1271-1281.
- [37] Moss W P. Interactions of *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria* *hrp* mutants with the pathogenic parent and the host plant leading to biological control of bacterial spot disease of tomato [D]. PhD Thesis, Auburn University, Auburn, AL. 2000.
- [38] Wang L, Rong W & He C. Two *Xanthomonas* extracellular polygalacturonases, PghAxc and PghBxc, are regulated by type III secretion regulators HrpX and HrpG and are required for virulence [J]. *Mol Plant Microbe*, 2008, 21: 555-563.
- [39] Yamazaki A, Hirata H & Tsuyumu S. HrpG regulates type

