

植物病原细菌的 *hrp* 基因

杨 军¹, 尹启生¹, 宋纪真¹, 侯明生²

(1. 中国烟草总公司郑州烟草研究院, 郑州 450001; 2. 华中农业大学植物科技学院, 武汉 430070)

摘要: *hrp* 基因存在于 4 类革兰氏阴性植物病原细菌中, 决定病原细菌对寄主植物致病性和诱导非寄主及抗病植物过敏性反应。从 *hrp* 基因簇, *hrp* 基因 *avr* 基因的关系, *hrp* 基因的编码产物 harpin 蛋白, *hrp* 基因调控与功能以及 *hrp* 基因参与植物-细菌互作等几个方面, 较为详细地阐述了当前植物病原细菌 *hrp* 基因的研究状况, 并分析了 *hrp* 基因未来研究的趋势。

关键词: *hrp* 基因; 植物病原细菌; 过敏性反应; harpin 蛋白

中图分类号: S432.42

文献标识码: A

文章编号: 0253-9772(2005)05-0852-07

Review on *hrp* Genes of Plant Pathogenic Bacteria

YANG Jun¹, YIN Qi-Sheng¹, SONG Ji-Zhen¹, HOU Ming-Sheng²

(1. Zhengzhou Tobacco Research Institute of China National Tobacco Corporation, Zhengzhou 450001, China;

2. College of Plant Science and Technology, Huazhong Agricultural University, Wuhan 430070, China)

Abstract: The *hrp* genes exist in 4 kinds of Gram-negative plant pathogenic bacteria and are responsible for the pathogenicity of bacteria. They can induce hypersensitive response on non-host and resistant plants. In the present paper, we summarized the *hrp* genes clusters, the relationship between *hrp* and *avr* genes, harpin proteins encoded by *hrp* Genes, modulation and function of *hrp* genes, and plant-bacteria interactions mediated by *hrp* genes in more details. Moreover, trends in future research of plant pathogenic bacteria *hrp* genes have also been analyzed.

Key words: *hrp* genes; plant pathogenic bacteria; hypersensitive response; harpin proteins

植物在长期的进化过程中经常会受到一些病原细菌的侵袭, 一些非寄主或抗性植物在抵御病原菌侵害的过程中, 基于一种重要的抗病机制: 过敏反应 (hypersensitive reaction, HR), 发生不亲和反应导致病原菌侵入点周围植物细胞快速死亡而获得抗性; 而感病植物则和侵染细菌发生亲和反应, 最终病原细菌建立寄生并侵染致病。研究发现, 植物病原细菌的一种 *hrp* (hypersensitive reaction and pathogenicity gene) 基因参与和介导 HR 的发生, 并且能够决定病原菌的致病性^[1]。

1986 年, Lindgren 等首次在 *Pseudomonas syringae* pv. *phaseolicola* 中克隆到 *hrp* 基因^[2]。随后, 人们对植物病原细菌 *hrp* 基因的分布、结构、功能等进行了大量研究。现在已经证实, 许多革兰氏阴性细菌, 包括 *Erwinia*、*Pseudomonas*、*Ralstonia* 和 *Xanthomonas* 等属的植物病原细菌都含有 *hrp* 基因, 赋予病原细菌在非寄主或抗性植物上激发 HR 和在寄主植物上的寄生性或致病性能力。

1 *hrp* 基因

收稿日期: 2004-10-29; 修回日期: 2005-02-25

基金项目: 湖北省自然科学基金项目 (编号: 2003ABA113) 和郑州烟草研究院院长基金项目 (编号: 042004C050) [Supported by Hubei Province Foundation of Natural Sciences (No. 2003ABA113) and Foundation of Zhengzhou Tobacco Research Institute (No. 042004C050)]

作者简介: 杨 军 (1974—), 男, 河南人, 博士, 研究方向: 植物分子病毒学。Tel: 0371-67672319, E-mail: bjiangzeng@sohu.com

通讯作者: 侯明生 (1952—), 男, 湖北人, 教授, 博士生导师。E-mail: mingshenghou@tom.com

1.1 *hrp* 基因与 *hrc* 基因

自 *P. syringae* pv. *phaseolicola* 中克隆到 *hrp* 基因以来,相继对 *E. amylovora*、*P. syringae*、*R. solanacearum* 和 *X. campestris* 的 *hrp* 基因簇进行了全序列测定。序列分析表明,在植物病原细菌中至少存在 25 个 *hrp* 基因,一般都成簇相连分布,有些 *hrp* 基因与 *Yersinia* spp. 的毒性蛋白(Yop)分泌系统组分具有同源性,这些 *hrp* 基因在动植物病原细菌中是高度保守的,因此以 *Yersinia ysc* 同源基因最后一个字母重新命名为 *hrc* (HR and conserved)基因^[3]。目前已经在植物病原细菌的 *hrp* 基因簇中鉴定出 9 个 *hrc* 基因,是负责组装成 Hrp

Ⅲ型分泌系统的重要蛋白分子,具有将各种病原菌效应蛋白因子转运穿过植物细胞壁和细胞膜至植物细胞内部的能力。

序列分析表明,*E. amylovora* 和 *P. syringae* 具有共同的调控基因,并且 *hrp* 基因高度保守;而 *R. solanacearum* 和 *X. campestris* 的 *hrp* 基因则密切相关,与 *E. amylovora* 和 *P. syringae* 的 *hrp* 基因相比有明显差异,因此基于 *hrp* 基因结构和调控组分的差异,将这 4 种植物病原细菌分为 2 组,Ⅰ组以 *E. amylovora* 和 *P. syringae* 为代表,Ⅱ组以 *R. solanacearum* 和 *X. campestris* 为代表^[4](图 1)。

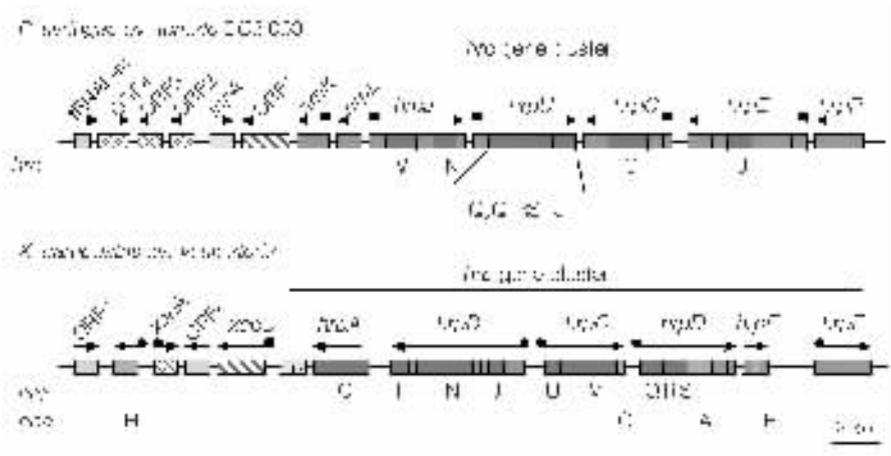


图 1 *P. syringae* pv. *tomato* DC3 000(group I)和 *X. campestris* pv. *vesicatoria*(group II) *hrp* 基因簇以及左侧翼区域示意图

包括 *hrp*、*hrc* 和 *hpa* 基因,箭头所示为基因转录方向;黑色圆点及方块分别指存在 PIP 盒(plant inducible promoter box)和 *hrp* 盒(harp box);斜线代表低 G+C 含量区域;黄色代表可移动遗传因子(mobile genetic elements)。

Fig.1 Schematic overview of the *hrp* gene clusters and the left flanking regions from *P. syringae* pv. *tomato* DC3 000(group I) and *X. campestris* pv. *vesicatoria* (group II)

The regions contain *hrp*, *hrc* and *hpa* genes. Arrows indicate the direction of transcription. Black dots and squares refer to the presence of plant inducible promoter box and harp box, respectively. Hatched regions correspond to sequences with low G+C content; yellow regions refer to mobile genetic elements.

1.2 *hrp* 基因与 *avr* 基因

植物病原细菌一般拥有两套基因来调控它们与植物之间的互动,除 *hrp* 基因之外,另外一种为病原细菌的无毒基因(avirulence gene, *avr* gene),*avr* 基因存在与否决定着病原菌能否入侵含相应抗病基因的寄主植物或入侵后细菌能否大量增殖,因此与植物 HR 以及致病性紧密相关。

与 *hrp* 基因簇相比较,*avr* 基因在植物病原细

菌中分布较为分散,目前已经克隆分离了 40 多个 *avr* 基因,其中大部分来源于 *Pseudomonas* 和 *Xanthomonas*。同 *hrp* 基因产物能够激发 HR 明显不同的是,当侵染无匹配抗病基因(resistance gene, *R* gene)的栽培植物时,绝大多数 *avr* 基因在病原细菌适宜寄生、侵染致病以致激发 HR 方面将无所作为。*Avr* 效应蛋白的特征包括:不能够在培养基中分泌,具亲水性,缺少 N 末端信号肽或者其他可识别的分

泌信号(这一特征潜在的符合 Hrp Ⅲ型分泌途径)。越来越多的证据表明,Avr 蛋白在病原菌毒力方面具有重要的功能,其中 *avr-R* 基因互作启动 HR 效应是主要和上位性的。至于 Avr 蛋白怎样推动病原细菌建立寄生现在还不是很清楚,观察的结果是 Avr 蛋白的作用位点在寄主细胞内,这些基本作用的发挥依赖于 Hrp Ⅲ型分泌系统,负责将 Avr 蛋白以及其他与致病性有关的效应蛋白因子分泌转运至植物细胞^[5]。在受 *X. campestris* pv. *vesicatoria* 侵染的植物细胞中,能够观察到 AvrBs2 和 AvrBs3 蛋白的存在,为 Hrp Ⅲ型分泌系统分泌转运病原细菌 Avr 蛋白并且定位于植物细胞的直接证据^[6,7]。

病原细菌 *avr* 基因,在含有相匹配抗病基因的植物上激发 HR 和获得抗性,要依靠 *hrp* 基因来决定这种表型表达;在侵染感病植物时,Avr 蛋白很可能是扮演一种细菌毒力因子,操纵着寄主植物向着有利于病原菌侵染的细胞进程发展,以至于建立适宜病原细菌寄生繁殖以及症状形成。研究证实,非致病性的 *P. fluorescens* (*avrB*⁺) 分别接种大豆和拟南芥(分别含与 *avr* 基因相匹配的 *RPG1* 和 *RPM1* 等 *R* 基因)、*E. coli* (*avrPto*⁺) 接种番茄(含与 *avrPto* 基因相匹配的 *PTO* 基因),能够激发基因型特异性的 HR。这种非亲和性反应必须是在同一细菌细胞内的 Hrp Ⅲ型分泌系统、HrpZ 蛋白(激发子蛋白)激活表达,同时植物细胞转入的 *avr* 基因得以表达^[8]。说明这些 Avr 蛋白的作用位点应该在植物细胞内部,而将其转运至植物细胞中则依赖于 Hrp Ⅲ型分泌系统。

1.3 *hrp* 基因产物:harpin

hrp 基因除负责编码组装 Hrp Ⅲ型分泌系统以及调控其他致病相关基因外,还编码能够激发非寄主或抗性植物产生 HR 的非特异性激发子(elicitor):harpin 蛋白。1992 年首次报道从 *E. amylovora* 中分离到一种 *hrp* 基因产物 harpin 蛋白:harpin_{Ea}(由 *hrpN* 基因编码,也称之为 *hrpN*),能够作为一种 HR 激发子在烟草上诱发 HR^[9]。随后对 harpin 蛋白的研究得到广泛开展。

植物病原革兰氏阴性细菌 *Erwinia*、*Pseudomonas*、*Ralstonia* 和 *Xanthomonas* 等属相应 *hrp* 基

因均能编码分泌能够激发 HR 的 harpin 蛋白。在 *Erwinia* 属中,除 harpin_{Ea} 之外,还相继分离获得了 HrpW(*E. amylovora*)^[10] 和 Harpin_{Ech}(*E. chrysanthemum*)^[11] 等蛋白激发子;在 *Pseudomonas* 属中,已经发现了分别由 *hrpW* 和 *hrpZ* 基因编码的 HrpW(*P. s. pv. tomato*)^[12]、harpin_{Pss}(*P. s. pv. syringae*)^[13]、harpin_{Psg}(*P. s. pv. glycinea*) 和 harpin_{Pst}(*P. s. pv. tomato*)^[14] 等蛋白激发子,HrpW 的 harpin 活性域(1~186 aa)与 HrpZ 一样,存在着 6 个丰富的甘氨酸重复序列,提取的 HrpW harpin 活性域片段同样具有 HR 激发子活性^[12];harpin_{Pss} 蛋白激发子由 *hrpZ* 基因编码,与已知的 harpin 蛋白没有相似性,该蛋白 C-末端 1~148 氨基酸区域内含有两个直接重复序列(GGGLGTP 和 QTGT),对于激发子活性是必须的^[13];在 *R. solaniciarium* 中分离到的由 *popA1* 基因编码的 PopA1,并非由 *hrp* 基因编码,算是一个例外^[15];在 *Xanthomonas* 属中,从 *X. c. pv. vesicatoria*、*X. axonopodis* pv. *Glycine* 中分离出分别由 *hrpA1* 基因和 *hpaG* (*hrp-associated*) 基因编码的 HrpA1 与 HpaG 蛋白,具有 harpin 蛋白激发子的特征^[16,17]。

harpin 具有共同的特征:缺少半胱氨酸而富含甘氨酸,缺少 N 末端信号肽,在培养基中当 *hrp* 系统表达时能够以 Hrp Ⅲ型分泌途径被分泌,热稳定,具亲水性,能在烟草以及其他多种植物上激发 HR。

2 *hrp* 基因调控及功能

革兰氏阴性病原细菌都有一种特异的蛋白分泌系统,称为 Hrp Ⅲ型分泌系统,负责转运 Avr 等效应蛋白因子到达寄主细胞里面。至于 Avr 蛋白是怎样通过该系统转运的,现在了解得还很少。不过,研究揭示在 *P. syringae* pv. *tomato*、*E. amylovora* 和 *R. solanacearum* 细胞外部存在一种主要由 Hrp 蛋白组装的线状附属物(Hrp pilus),具有与细菌鞭毛相类似的遗传学和形态学特征,Hrp Ⅲ型分泌系统功能的正常发挥需要有 Hrp pilus 结构与之相伴随^[18~21];近来免疫细胞化学分析亦证实这种 Hrp pilus 结构扮演着运输 Hrp Ⅲ型分泌系统分泌蛋白管道的作用^[20,22]。

Hrp III型分泌系统装置的组装本身就是一种调控过程,分泌装置组分的表达是不连续的,而是一个依次程序性激活的调控过程。在不同属的植物病原细菌中,介入 *hrp* 基因调控的蛋白组分亦存在差异。

在植物病原细菌 I 组调节系统中,*E. amylovora* 含有与 *P. syringae* 具有同源的 *hrpL* 基因调控 *hrp* 操纵子的活化,编码一种属于细胞质外功能家族(EOF)的 δ 因子:HrpL^[23];研究发现,*hrp* 与 *avr* 基因在转录水平的调控关系极为密切,在所有依赖 HrpL 调控的 *hrp*、*hrc* 和 *avr* 基因启动子区存在着一种极为保守的 *hrp* 盒式序列(harp box,一致性序列框架为 GGAACCNA-N₁₄-CCACNNA)^[24]。HrpL 通过识别启动子中的 harp box 来激活 *hrp* 和 *avr* 基因的转录,但两病原菌 *hrpL* 基因并无功能性的交叉互补,预示它们调控 *hrp* 基因的方式或许存在差异。在 HrpL 的上游,还存在 HrpR 和 HrpS 两种活化因子,它们负责感应寄主组织刺激信号然后通过一种级联调控方式来启动 HrpL 的活化表达^[25]。

在 II 组 *hrp* 调节系统中,*hrpG* 和 *hrpX* 是编码调控 *X. campestris* 中 *hrp* 基因的调控蛋白基因,这两个基因相互毗邻,但并不与大的 *hrp* 基因簇直接相连;对 *R. solanacearum* 而言,*hrp* 基因则受分别与 *X. campestris* pv. *vesicatoria* *hrpG* 和 *hrpX* 基因部分同源、部分功能互补的 *hrpG* 和 *hrpB* 基因调控。在 HrpX 的上游,同样存在其他活化因子,在 *X. campestris* 中为 HrpG,*R. solanacearum* 为 PrhA (plant regulated *hrp*),最近还在 *R. solanacearum* 中发现了另外两个重要的调控基因:*prhJ* 和 *hrpG*^[26]。PrhA 作为一种细菌外膜蛋白,据认为是导致整个 *hrp* 基因表达级联调控反应的顶端,能够作为植物细胞壁附着的非扩散性分子的传感分子,感应植物信号分子后转录于 *prhJ* 上,*hrpG* 的表达受 PrhJ(plant-regulated *hrp*) 的调控,HrpG 调控 *hrpB* 基因。与 *R. solanacearum* 相比,*X. campestris* pv. *vesicatoria* 负责传送外部刺激信号至细菌细胞内部的受体分子尚不得而知。

多个受 *X. campestris* pv. *vesicatoria* *hrpX* 基因调控的启动子区域含有一种 PIP 盒(plant-inducible promoter,一致性序列为 TTCGC-N₁₅-TTCGC),

该序列框架可能介入 *hrpX* 基因介导的 *hrp* 基因调控^[27]。而在有些并不依赖 *hrpX* 基因调控的基因(如 *avrRxv*)启动子区域也含有 PIP 盒^[28],预示着 *hrpX* 基因并不足以诱导 PIP 盒的开启;况且许多经由 *hrpG* 和 *hrpX* 调控的 *xop* (*Xanthomonas* outer proteins gene)基因并不含有 PIP 盒^[29]。HrpX 蛋白与含有 PIP 盒的启动子区域结合的直接证据目前还没有得到证实,因此,对于 PIP 盒是否作为一种转录调控因子尚无定论。

对于 *X. campestris* pv. *vesicatoria* *hrp* 基因而言,HrpX 蛋白属于 AraC 家族成员,能够激活 *hrpB* 到 *hrpF* 基因操纵子的转录,*hrpX* 和 *hrpA* 基因的表达依赖于 *hrpG* 基因的表达^[30,31]; *hrpG* 基因是另外一个重要转录激活调控因子,经由 *hrpG* 作用于 *hrpX*,控制着包括 *hrp* 和 *xop* 基因的转录表达^[29],*hrpG* 基因编码表达的一种双组分调控蛋白因子:HrpG 蛋白,与 *E. coli* OmpR 以及 *Agrobacterium tumefaciens* VirG 蛋白极为相似;在 NYG 复合培养基中 *X. campestris* *hrp* 基因是被抑制的,但在细胞质膜或者合成性的 XVM2 培养基中能够由 *hrpX* 和 *hrpG* 调控表达。

根据上面的分析,以 *X. campestris* pv. *vesicatoria* 为例,我们可以大致模拟推断出,在植物病原细菌侵染致病过程中,植物病原细菌质膜通过一种尚属未知的途径,感应外界环境的刺激,激活 *hrpG* 基因表达,表达的 *hrpG* 蛋白因子随即激活 *hrpX* 和 *hrpA* 基因的转录,通过一种级联信号传导,HrpX 激活 *hrp* 基因的转录,使得 *hrpB* → *hrpF* 基因、*xop* 基因相继转录表达,转录表达的各种病原菌 Hrp 和 Hrc 蛋白作为 Hrp III型分泌系统的重要建构蛋白分子,组装成分泌系统装置,其中 HrpE1、HrpB2 和 HrpF 起着至关重要的作用。随即通过这种 Hrp III型分泌系统,将病原细菌的各种效应蛋白因子(包括 Avr 蛋白)分泌穿过植物细胞壁,转运至植物细胞内部,通过 Avr 蛋白对于植物抗病基因的识别和结合,形成抗病信号,激活各种防卫相关基因的表达,最终导致各种防卫反应的活化和抗病性的表现;或者通过 Avr 蛋白以及其他病原细菌毒力因子,对于感病寄主植物相应受体的识别,活化信号传导链,使得病原细菌建立寄生和致病(图 2)。

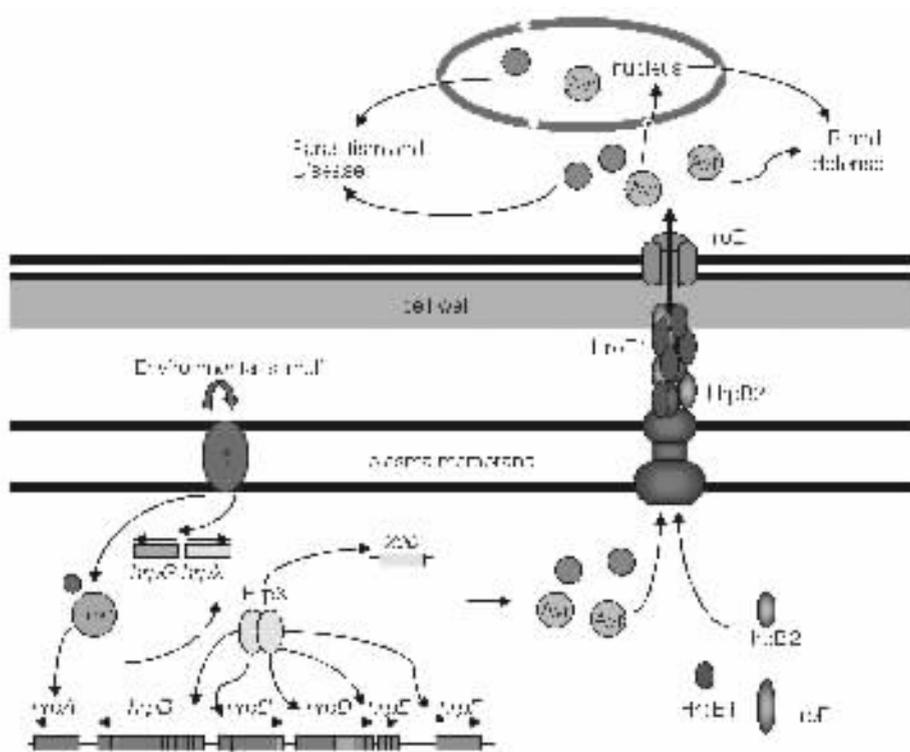


图2 *hrp* 基因调控及Ⅲ型蛋白泌出系统转运 Avr 等效应蛋白因子至植物细胞示意图 (*X. campestris pv. vesicatoria*)

Fig.2 Schematic representation for *hrp* gene regulation and type III secretion system in *X. campestris pv. vesicatoria*, which transport effector proteins (including Avr proteins) across the plant plasma membrane to the plant cell

3 *hrp* 基因参与植物-病原细菌互作

植物病原细菌 *hrp* 基因究竟是如何参与、介导植物-病原细菌互作, 现在还不是十分清楚, 大致的情形是: 植物通过细胞表面或亚细胞表面的受体分子感应病原菌的 *hrp* 基因调控信号, 与经过 Hrp Ⅲ型分泌系统分泌的病原菌效应蛋白(主要是 harpin 蛋白和 Avr 蛋白)结合, 随后启动级联信号系统, 引起受感染抗病植物产生主动的防御反应, 活化防卫基因的表达, 最终表现对病原菌的抗性; 或者通过 Avr 蛋白以及其他病原细菌毒力因子, 识别感病寄主植物的相应受体, 活化信号传导链, 使得病原细菌建立寄生和致病。

对于 *E. amylovora* *hrpN* 基因的突变分析显示, 能够显著降低病原菌在烟草上的 HR 以及在易感、未成熟梨上的致病性, 说明 *hrpN* 基因以及其编码的激发子蛋白 Harpin_{Ea} 对 *E. amylovora* 的致病性是必需的^[9]; *E. amylovora* 负责编码分泌 HrpW 激发子蛋白的 *hrpW* 基因突变体病菌却能够仍然保

持野生型的能力, 能够在非寄主或抗性植物上诱发 HR 以及在寄主上致病^[10]。

P. syringae pv. *syringae* 61 harpin_{Pss} 蛋白激发子由 *hrpZ* 基因编码, 不仅能够激发 HR^[13], 同样能够引发 SAR^[32] 和植物 HR 相关基因 (*hin1*) 的表达^[33]。对于 *P. syringae* *hrpZ* 和另外一个 *hrpW* 基因的单突变实验结果显示, 对于在烟草上的 HR 激发活性无明显影响, 而二者的双突变则显著降低 HR 激发活性^[16, 12], 预示着这两个 *hrp* 基因或者其编码产物 harpin 激发子蛋白在激发 HR 反应中具有交叉互补功能。

在 *R. solanacearum* 中编码具有激发子功能和性状的 PopA1 蛋白的 *popA1* 基因, 同 *P. syringae* *hrpZ* 基因突变分析相类似, *popA1* 基因的突变对病原菌的致病性没有影响^[15], 说明 PopA1 蛋白与病原细菌致病性关联不大, 或者说 *R. solanacearum* *hrp* 基因编码分泌多个 harpin 蛋白激发子; 从 *X. axonopodis* pv. *Glycines* 中分离到一种经由 Hrp Ⅲ型分泌系统分泌的 harpin-like 蛋白激发子, 由 *hrp-hrc*

基因簇区域内 *hpaG* (*hrp*-associated) 基因编码, 提纯的 HpaG 蛋白在浓度为 1.0 $\mu\text{mol/L}$ 时能够激发辣椒、烟草以及 *Arabidopsis thaliana* 产生 HR, 激发子活性与 *Erwinia* 的 HrpN 相当^[17]。

在 *hrp* 基因应用于植物抗病基因工程方面, 利用 *E. amylovora* 的 *hrpN* 基因转化马铃薯获得转基因植株, 用马铃薯晚疫病病菌 (*Phytophthora infestans*) 复合生理小种挑战接种测定表明, HrpN 蛋白在转基因植株中的组成型表达以及病原菌侵染诱导表达均能降低病斑的扩展速率, 基于病原菌诱导表达 HrpN 蛋白的转基因植株能够拮抗病原菌的侵染^[34]。

4 结束语

hrp 基因广泛存在于植物病原细菌中, 参与 Hrp III 型分泌系统的组装, 通过该系统, 可以将多种病原菌效应蛋白 (包括 Avr 蛋白)、harpin 蛋白以及其他致病性因子分泌转运到植物体内, 在非寄主或抗性植物上激发 HR 或导致抗病性, 而在感病寄主植物上引起病害。因此, *hrp* 基因在 *avr-R* 基因介导的抗性表达、致病性和决定寄主范围中起重要作用。鉴于此, 在对 *hrp* 基因进行深入研究的基础上, 可以尝试设计新的化学药剂和抗体阻止 Hrp III 型分泌系统的组装或致病毒力蛋白因子的分泌运输, 将为限制植物细菌病害的发展提供新的思路。

有证据显示, *P. syringae* 的 HrpW 蛋白与 Avr 蛋白在发挥功能时处于不同的细胞位置, 多个 Avr 蛋白在植物细胞壁内侧, 而 HrpW 则在细胞壁外侧发挥作用^[12]。*hrp* 基因负责编码组装 Hrp III 型分泌系统, 同时身兼两种生物化学功能: 基因调控和蛋白分泌。这种看似简单的病原细菌, 身处千变万化的复杂环境和植物细胞物理结构中, 为了获得赖以生存的营养成分, 能够进化出如此精细的信号感应和蛋白转运系统, 实属非凡。那么通过 Hrp III 型分泌系统转运的各种病原细菌效应蛋白因子究竟是怎样能够改变或者说是适应寄主植物的代谢机制, 乃至推动病原细菌在植物细胞间隙中生长繁殖, 是一个值得探索的问题。

近几年来, 在 *hrp* 基因序列测定、基因功能研究等方面取得较大进展。目前 *hrp* 基因研究中存在的一个主要问题是 Hrp (Hrc) 蛋白是以何种方式组装成 Hrp III 型分泌系统的? 此外, 在这个系统中, Hrp

(Hrc) 蛋白和 Avr 蛋白究竟是如何互作以致于激发 HR 反应或者表现致病性? 一般认为, 植物病原细菌属中的 *hrp* (*hrc*) 基因是相对保守的, 而决定病害病程、症状特征的其他病原细菌效应蛋白 (包括 Avr 蛋白) 基因则是变异的, 那么这种比较保守的 *hrp* (*hrc*) 基因及其编码产物组装的 Hrp III 型分泌系统究竟是如何适应不断变化的各种效应蛋白因子, 同样是一个值得认真研究的问题。

参考文献 (References):

- [1] Lindgren P B. The role of *hrp* Genes during plant-bacterial interactions. *Annu Rev Phytopathol*, 1997, 35: 129~152.
- [2] Lindgren P B, Peet R C, Panopoulos N J. Gene cluster of *Pseudomonas syringae* pv. "phaseolicola" controls pathogenicity of bean plants and hypersensitivity on nonhost plants. *J Bacteriol*, 1986, 168: 512~522.
- [3] Gough C L, Genin S, Zischek C, Boucher C A. *hrp* Genes of *Pseudomonas solanacearum* are homologous to pathogenicity determinants of animal pathogenic bacteria and are conserved among plant pathogenic bacteria. *Mol Plant Microbe Interact*, 1992, 5(5): 384~389.
- [4] Kim J F, Wei Z M, Beer S V. The *hrpA* and *hrpC* operons of *Erwinia amylovora* encode components of a type III pathway that secretes Harpin. *J Bacteriol*, 1997, 179(5): 1690~1697.
- [5] He S Y. Elicitation of plant hypersensitive response by bacteria. *Plant Physiol*, 1996, 112: 865~869.
- [6] Casper-Lindley C, Dahlbeck D, Clark E T, Staskawicz B J. Direct biochemical evidence for type III secretion dependent translocation of the AvrBs2 effector protein into plant cells. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2002, 99(12): 8336~8341.
- [7] Szurek B, Rossier O, Hause G, Bonas, U. Type III-dependent translocation of the *Xanthomonas* AvrBs3 protein into the plant cell. *Mol Microbiol*, 2002, 46: 13~23.
- [8] Gopalan S, Bauer D W, Alfano J R, Loniello A O, He S Y, Collmer A. Expression of the *Pseudomonas syringae* avirulence protein AvrB in plant cells alleviates its dependence on the hypersensitive response and pathogenicity (Hrp) secretion system in eliciting genotype-specific hypersensitive cell death. *Plant Cell*, 1996, 8: 1095~1105.
- [9] Wei Z W, Laby R G, Zumoff C H, Bauer D W, He S Y, Collmer A, Beer S V. Harpin, elicitor of the hypersensitive response produced by the plant pathogen *Erwinia amylovora*. *Science*, 1992, 257: 85~88.
- [10] Kim J F, Beer S V. HrpW of *Erwinia amylovora*, a new harpin that contains a domain homologous to pectate lyases of a distinct class. *J Bacteriol*, 1998, 180: 5203~5210.
- [11] Bauer D W, Wei Z M, Beer S V, Collmer A. *Erwinia chrysanthemi* harpin_{Ech}: An elicitor of the hypersensitive response that

- contributes to soft-rot pathogenesis. *Mol Plant-Microbe Interact*, 1995, 8: 484~491.
- [12] Charkowski A O, Alfano J R, Preston G, Jin Y, He S Y, Collmer A. The *Pseudomonas syringae* pv. *tomato* HrpW protein has domains similar to harpins and pectate lyases and can elicit the plant hypersensitive response and bind to pectate. *J Bacteriol*, 1998, 180(19): 5211~5217.
- [13] He S Y, Huang H C, Collmer A. *Pseudomonas syringae* pv. *syringae* harpinPss: a protein that is secreted via the Hrp pathway and elicits the hypersensitive response in plants. *Cell*, 1993, 73(7): 1255~1266.
- [14] Preston G, Huang H C, He S Y, Collmer A. The HrpZ proteins of *Pseudomonas syringae* pv. *syringae*, *glycinea*, and *tomato* are encoded by an operon containing Yersinia ysc homologs and elicit the hypersensitive response in tomato but not soybean. *Mol Plant-Microbe Interact*, 1995, 8(5): 717~732.
- [15] Arlat M F, Van Gijsegem F, Huet J C, Pernollet J C, Boucher C A. PopA1, a protein which induces a hypersensitive-like response on specific *petunia* genotypes, is secreted via the Hrp pathway of *Pseudomonas solanacearum*. *EMBO J*, 1994, 13: 543~553.
- [16] Wengelnik K, Marie C, Russel M, Bonas, U. Expression and localization of HrpA1, a protein of *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria* essential for pathogenicity and induction of the hypersensitive reaction. *J Bacteriol*, 1996, 178: 1061~1069.
- [17] Kim J G, Park, B K, Yoo C H, Jeon E, Oh J, Hwang I. Characterization of the *Xanthomonas axonopodis* pv. *glycines* Hrp pathogenicity island. *J Bacteriol*, 2003, 185(10): 3155~3166.
- [18] Roine E, Wei W, Yuan J, Nurmiaho-Lassila E L, Kalkkinen N, Romantschuk M, He S Y. Hrp pilus; an *hrp*-dependent bacterial surface appendage produced by *Pseudomonas syringae* pv. *tomato* DC 3000. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1997, 94(7): 3459~3464.
- [19] Jin Q, He S Y. Role of the Hrp Pilus in type III protein secretion in *Pseudomonas syringae*. *Science*, 2001, 294: 2556~2558.
- [20] Jin Q, Hu W, Brown I, McGhee G, Hart P, Jones A L, He S Y. Visualization of secreted Hrp and Avr proteins along the Hrp pilus during type III secretion in *Erwinia amylovora* and *Pseudomonas syringae*. *Mol Microbiol*, 2001, 40(5): 1129~1139.
- [21] Van Gijsegem F, Vasse J, Camus J C, Marena M, Boucher C. *Ralstonia solanacearum* produces *hrp*-dependent pili that are required for PopA secretion but not for attachment of bacteria to plant cells. *Mol Microbiol*, 2000, 36(2): 249~260.
- [22] Brown I R, Mansfield J W, Taira S, Roine E, Romantschuk M. Immunocytochemical localization of HrpA and HrpZ supports a role for the Hrp pilus in the transfer of effector proteins from *Pseudomonas syringae* pv. *tomato* across the host plant cell wall. *Mol Plant Microbe Interact*, 2001, 14(3): 394~404.
- [23] Fouts D E, Abramovitch R B, Alfano J R, Baldo A M, Buell C R, Cartinour S, Chatterjee A K, D'Ascenzo M, Gwinn M L, Lazarowitz S G, Lin N C, Martin G B, Rehm A H, Schneider D J, van Dijk K, Tang X Y, Collmer A. Genomewide identification of *Pseudomonas syringae* pv. *tomato* DC3000 promoters controlled by the HrpL alternative sigma factor. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2002, 99(4): 2275~2280.
- [24] Xiao Y, Hutcheson S W. A single promoter sequence recognized by a newly identified alternate sigma factor directs expression of pathogenicity and host range determinants in *Pseudomonas syringae*. *J Bacteriol*, 1994, 176(10): 3089~3091.
- [25] Wei W, Plovianich-Jones A, Deng W L, Jin Q L, Collmer A, Huang H C, He S Y. The gene coding for the Hrp pilus structural protein is required for type III secretion of Hrp and Avr proteins in *Pseudomonas syringae* pv. *tomato*. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2000, 97(5): 2247~2252.
- [26] Brito B, Marena M, Barberis P, Boucher C, Genin S. *prhJ* and *hrpG*, two new components of the plant signal-dependent regulatory cascade controlled by PrhA in *Ralstonia solanacearum*. *Mol Microbiol*, 1999, 31: 237~251.
- [27] Wengelnik K, Bonas U. HrpXv, an AraC-type regulator, activates expression of five of the six loci in the *hrp* cluster of *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria*. *J Bacteriol*, 1996, 178(12): 3462~3469.
- [28] Ciesiolka L D, Hwin T, Gearlds J D, Minsavage G V, Saenz R, Bravo M, Handley V, Conover S M, Zhang H, Caporgno J, Phengrasamy N B, Toms A O, Stall R E, Whalen, M C. Regulation of expression of avirulence gene *avrRxv* and identification of a family of host interaction factors by sequence analysis of *avrBsT*. *Mol Plant Microbe Interact*, 1999, 12(1): 35~44.
- [29] Büttner D, Bonas U. Getting across-bacterial type III effector proteins on their way to the plant cell. *EMBO J*, 2002, 21: 5313~5322.
- [30] Noël L, Thieme F, Nennstiel D, Bonas U. Two novel type III-secreted proteins of *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria* are encoded within the *hrp* pathogenicity island. *J Bacteriol*, 2002, 184: 1340~1348.
- [31] 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 Bacteriol*, 1999, 181(21): 6828~6831.
- [32] Strobel N E, Gopalan J S, Kuc J A, He S Y. Induction of systemic acquired resistance in cucumber by *Pseudomonas syringae* pv. *syringae* 61 *hrpZ*_{PSS} protein. *Plant J*, 1996, 9: 431~439.
- [33] Gopalan S, Wei W, He S Y. *hrp* gene-dependent induction of *hin1*; a plant gene activated rapidly by both harpins and the *avrPto* gene-mediated signal. *Plant J*, 1996; 10(4): 591~600.
- [34] Li Ru-Gang, FAN Yun-Liu. Reduction of lesion growth rate of late blight plant disease in transgenic potato expressing harpin protein. *Science in China (Series C)*, 1999, 42(1): 96~101.
- 李汝刚, 范云六. 表达 harpin 蛋白的转基因马铃薯降低晚疫病斑生长率. *中国科学(C辑)*, 1999, 29(1): 56~61.