

水稻黄单胞菌三型分泌系统效应物的研究进展

赵帅^{1,2,3} 张子宇¹ 冯家勋^{1*}

- (1. 广西大学 生命科学与技术学院 亚热带农业生物资源保护与利用国家重点实验室 广西 南宁 530004)
(2. 法国蒙彼利埃第二大学 蒙彼利埃 34070)
(3. 法国国家发展研究所 蒙彼利埃 34094)

摘要: 水稻黄单胞菌(*X. oryzae*)三型分泌系统(Type III secretion system, T3SS)效应物(Effector)一直被认为是水稻黄单胞菌最重要的致病因子之一。水稻黄单胞菌水稻致病变种(*Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*)和水稻黄单胞菌栖稻致病变种(*Xanthomonas oryzae* pv. *oryzicola*)分别引起水稻两大细菌病害水稻白叶枯病(Bacterial leaf blight)和水稻细菌性条斑病(Bacterial leaf streak)。基因组分析揭示, 水稻黄单胞菌中至少存在 28 个类型的 T3SS 效应物, 分为 TAL(Transcription activator-like effectors)效应物和 non-TAL 效应物(Non transcription activator-like effectors)两大类。通过对水稻黄单胞菌中 T3SS 效应物的数量、种类、结构、宿主靶标等方面进行综述, 为全面了解水稻-水稻黄单胞菌互作的分子机理, 调控网络以及水稻分子育种提供一种新洞察力。

关键词: 水稻黄单胞菌水稻致病变种, 水稻黄单胞菌栖稻致病变种, TAL 效应物, non-TAL 效应物, 宿主靶标

Current progresses in study on T3SS effectors of *Xanthomonas oryzae*

ZHAO Shuai^{1,2,3} ZHANG Zi-Yu¹ FENG Jia-Xun^{1*}

- (1. State Key Laboratory for Conservation and Utilization of Subtropical Agro-bioresources, College of Life Science and Technology, Guangxi University, Nanning, Guangxi 530004, China)
(2. University of Montpellier II, Montpellier 34070, France)
(3. Institut de Recherche pour le Développement, Montpellier 34094, France)

Abstract: The type III secretion system (T3SS) effector is considered as one of the key virulence factors in *Xanthomonas oryzae*. *X. oryzae* pv. *oryzae* and *X. oryzae* pv. *oryzicola* cause bacterial leaf blight and bacterial leaf streak in rice, which are important bacterial diseases of rice. Based on bioinformatic analysis of the bacterial genome and other recent reports, *X. oryzae* contains at least 28 classes of T3SS effectors, divided into two groups: TAL (transcription activator-like) effectors and non-TAL (non tran-

基金项目: 国家 973 计划项目(No. 2012CB114003); 中法联合培养博士奖学金; 广西博士研究生科研创新项目(No. T31036); 广西大学研究生联合培养和访学计划(No. L300278)

* 通讯作者: Tel: 86-771-3239401; Fax: 86-771-3239413; ✉: jiaxunfeng@sohu.com

收稿日期: 2011-06-17; 接受日期: 2011-10-08

scription activator-like) effectors. This paper reviews the number, classes, structure and host targets of T3SS effectors in *X. oryzae*, which may provide a new insight into the mechanism of rice-*X. oryzae* interaction, regulatory network and molecular breeding of rice.

Keywords: *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*, *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzicola*, TAL effectors, Non-TAL effectors, Host targets

水稻是中国居民的主要食物之一。由水稻黄单胞菌水稻致病变种(*Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*, *Xoo*)和水稻黄单胞菌稻致病变种(*Xanthomonas oryzae* pv. *oryzicola*, *Xoc*)引起的水稻白叶枯病(Bacterial Leaf Blight, BLB)和水稻细菌性条斑病(Bacterial Leaf Streak, BLS)是目前水稻最严重的细菌病害,对水稻生产具有极大的威胁^[1]。*Xoo*和*Xoc*是研究水稻和病原细菌相互作用的模式细菌。水稻黄单胞菌(*X. oryzae*)主要以 *hrp* (Hypersensitive response and pathogenicity)基因簇编码的三型分泌系统(Type III secretion system, T3SS)将效应分子(Effectors)——三型效应物注入寄主细胞中,促使其产生抗(感)病性^[2]。T3SS 效应物作为黄单胞菌属(*Xanthomonas*)主要致病因子之一,其识别和鉴定已为研究热点^[3]。

水稻黄单胞菌中,三型效应物主要分为两大类即 TAL (Transcription activator-like effectors) (AvrBs3/PthA)效应物和 non-TAL 效应物(Non transcription activator-like effectors)。目前,已有 3 个 *Xoo* 代表菌株(日本菌株 MAFF311018、韩国菌株 KACC10311、菲律宾菌株 PXO99^A)^[4-6]和 1 个菲律宾 *Xoc* 菌株 BLS256 的全基因组序列被测定(<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/GenBank/>)。最近,还测定了非洲 *Xoo* 菌株 AX01947^[7-8]和美国类似水稻黄单胞菌菌株 X11-5A 和 X8-1A 的基因组框架图^[9]。通过实验和生物信息学的方法,在水稻黄单胞菌中识别了 28 个类型 40 多个三型效应物^[7],同时证明水稻黄单胞菌与水稻互作符合“基因对基因(Gene-for-gene)”假说^[10]。然而基因组分析表明,水稻黄单胞菌中仍存在大量的 T3SS 效应物,需进一步鉴定。鉴于 T3SS 效应物作为水稻黄单胞菌最重要致病因子之一,本文对水稻黄单胞菌中 T3SS 效应物的数量、种类、结构、宿主靶标等研究进展进行综述。

1 Non-TAL 效应物的研究进展

1.1 Non-TAL 效应物的特征及分布

Non-TAL 效应物是由分泌信号转运区(Secretion/translocation signal)和功能区(Function domain)组成(图 1)。一般具有以下特征:启动子区域存在调控蛋白 HrpX 的作用位点 PIP-box 和-10 区序列(TTCGB-N₁₅-TTCGB-N₃₀₋₃₂-YANNRT, B 代表 C、G 或者 T; Y 代表 C 或者 T; R 代表 A、G 或者 T); N-端前 50 个特定氨基酸组成分泌信号区:脯氨酸(P)和丝氨酸(S)>20%,第 3 位和第 4 位其中之一为亮氨酸(L)或脯氨酸(P),前 12 位没有天冬氨酸(D)和谷氨酸(E)^[5,11-13]。基于以上特征,利用生物信息学已经在野油菜黄单胞菌野油菜致病变种(*Xanthomonas campestris* pv. *campestris*, *Xcc*)、茄科雷尔氏菌(*Ralstonia solanacearum*)中识别了大量的 T3SS 效应物^[14-16]。同时,利用报告蛋白百日咳杆菌(*Bordetella pertussis*)环溶血素(Cyclolysin)的腺苷酸环化酶(Adenylate cyclase, Cya)或者已知效应物的过敏反应诱导区(HR-inducing domain)识别 non-TAL 效应物,并已成功地应用于水稻黄单胞菌^[17](<http://www.xanthomonas.org/>)。过敏反应诱导区有 *Xcc* 中 AvrBs1 功能区 AvrBs1₅₉₋₄₄₅^[18],野油菜黄单胞菌辣椒斑点病致病变种(*X. campestris* pv. *vesicatoria*, *Xcv*)中 AvrBs2 功能区 AvrBs2₆₂₋₅₇₄^[19],AvrBs3 功能区 AvrBs3₅₁₋₃₈₈^[20]等。

几乎所有黄单胞菌属成员都含有 non-TAL 效应物(<http://www.xanthomonas.org/>; www.cmr.jcvi.org/; 表 1, 2)。但是,大部分只是生物信息学预测,仍需进一步实验证实:例如, *Xoo* 中 XopC、XopG、XopI、XopAD、XopAE。XopC 与 *Xcv* T3SS 效应物 XopC^[19]和茄科雷尔氏菌 GMI1000 中 Rsp1329 同源^[21];除 *Xcc* 外,其他黄单胞菌属成员都含有 XopC^[7]。XopG

是 *Xcc* ATCC33913 中被 HrpX 调控的效应物蛋白^[22], 与丁香假单胞菌(*P. syringae*)的 T3SS 效应物 HopH1、HopAPI^[23-24] 和茄科雷尔氏菌 GMI1000 的 Rsp0752^[21]同源; XopAD 是唯一基于茄科雷尔氏菌 T3SS 效应物预测的多基因家族成员, 与 SKWP 蛋白一样有 42 aa 的重复。XopAE 同源 T3SS 系统的 HpaF 蛋白和 XopL、XopC 一样包含有富含亮氨酸的重复 (Leucine-rich repeats, LRRs)。但是, 至今还没有证据证明 HpaF 通过 T3SS 转运^[7]。Xoc 中除了 XopQ 外都需要实验证明。因此, 本实验室成功构建了利用来自 *Xcc* 8004 的报道蛋白 AvrBs1₅₉₋₄₄₅ 在中国 *Xoo* 13751 菌株中识别 non-TAL 效应物的转运系统, 通过观察构建菌株在辣椒 ECW-10R 上的 HR, 成功检测到 9 个 non-TAL 效应物(赵帅等, 待发表)。同时, 我们发现利用 AvrBs1₅₉₋₄₄₅ 报道蛋白识别系统检测

T3SS 效应物的灵敏度没有 Cya 高, 有可能是因为构建菌株中候选基因的表达量低, 不足以引起过敏反应。研究表明过敏反应的发生与高接种浓度和融合蛋白的高表达密切相关。例如, 将低效率的 *LacZ* 启动子换作为高效率的 *NptII* 启动子, 将会识别出以往认为不是效应物的 non-TAL 效应物^[25]。

通过对 *Xoo* 和 *Xoc* 菌株的基因组序列分析发现, non-TAL 效应物十分保守, 但数量却不尽相同(表 1, 2)。Xoo KACC10331、MAFF311018、PXO99^A 分别有 19、24、20 个 non-TAL 效应物, Xoc BLS256 有 26 个^[4-6](表 1, 2; <http://www.xanthomonas.org/>)。其中, 18 个普遍存在于黄单胞菌属中; 4 个(XopU、XopW、XopY、XopAB)是水稻黄单胞菌特有的; XopT 和 XopAF 分别存在于 *Xoo* 和 *Xoc*; XopO 和 XopAJ 仅仅存在于 *Xoc* 和 *Xcv*^[7]中(表 2)。值得研究

表 1 黄单胞菌属中 non-TALs 和 TALs 的数目列表^{[w][27]}
Table 1 Number of non-TALs and TALs in *Xanthomonas*^{[w][27]}

黄单胞菌属 <i>Xanthomonas</i> spp.	最初来源 Primary origin	参考菌株 Reference strains	宿主 Host plant	病害 Disease	Non-TAL 数目 Number of non-TALs	TAL 数目 Number of TALs
地毯草黄单胞菌柑桔致病变种 <i>X. axonopodis</i> pv. <i>citri</i>	unknown	306 ^[22] , NA-1 ^[28] , KC21 ^[29] , Xc270 ^[30] , X0053 ^[30]	柑桔 Citrus	柑桔溃疡病 Citrus Canker	23	1-4
野油菜黄单胞菌假辣根致病变种 <i>X. campestris</i> pv. <i>armoraciae</i>	东亚 East Asia	756C ^[w] , 5 ^[31]	卷心菜 <i>Brassica oleracea</i> var. <i>capitata</i>	十字花科蔬菜叶斑病 Leaf Spot	11	0-3
野油菜黄单胞菌野油菜致病变种 <i>X. campestris</i> pv. <i>campestris</i>	肯塔基州 Kentucky (USA)	ATCC33913 ^[22,32] , B100 ^[32] , 8004 ^[33]	甘蓝 <i>Brassica oleracea</i> var. <i>botrytis</i>	黑腐病 Bacterial Rot	24-26	0-1
野油菜黄单胞菌香蕉致病变种 <i>X. campestris</i> pv. <i>musacearum</i>	乌干达 Uganda	NCPBB4381 ^[w]	香蕉 Banana	香蕉细菌性青枯病 Bacterial Wilt	>23	0
野油菜黄单胞菌甘蔗致病变种 <i>X. campestris</i> pv. <i>vasculorum</i>	津巴布韦 Zimbabwe	NCPBB702 ^[w]	甘蔗 Sugarcane	甘蔗流胶病 Gumming disease	>22	0
野油菜黄单胞菌辣椒斑点病致病变种 <i>X. campestris</i> pv. <i>vesicatoria</i>	佛罗里达 Florida (USA)	85-10 ^[w] , 82-8 ^[34-35] , 71-21 ^[36-38]	辣椒 Pepper	辣椒细菌性叶斑病 Bacterial Spot	34	0-2
水稻黄单胞菌水稻致病变种 <i>X. oryzae</i> pv. <i>oryzae</i>	日本 Japan	KACC10331 ^[4] , MAFF311018 ^[5] , PXO99 ^A ^[6] , PXO86 ^[39] , PXO61 ^[40] , KXO85 ^[41] , GX1329 ^[42]	水稻 Rice	水稻白叶枯病 Bacterial Leaf Blight	19-24	7-19
水稻黄单胞菌稻秆致病变种 <i>X. oryzae</i> pv. <i>oryzicola</i>	菲律宾 Philippines	BLS256 ^[w] , BLS303 ^[40] , African strains ^[43]	水稻 Rice	水稻细菌性条斑病 Bacterial Leaf Streak	26	12-35
水稻黄单胞菌美国菌株 <i>X. oryzae</i> US strain	美国 USA	X11-5A ^[9] , X8-1A ^[8]	水稻 Rice	未知 Unknown	未知 Unknown	0

Note: [W]: <http://www.xanthomonas.org/>.

表 2 水稻黄单胞菌 non-TAL 效应物的分布和特点
 Table 2 Distribution and characteristics of non-TAL effectors from *Xanthomonas oryzae*

效应物 Effector	<i>Xoo</i> KACC 10331	<i>Xoo</i> MAFF 311018	<i>Xoo</i> PXO 99 ^A	<i>Xoc</i> BLS 256	分布 Distribution	生物化学或结构模块 Biochemical or structural motifs	(预测的)致病功能 (Possible) Virulence function	参考文献 Reference
AvrBs2	XOO 0168	XOO 0148	PXO 03330	Xoryp 00730	<i>Xanthomonas</i>	磷酸甘油磷酸二酯酶 Glycerolphosphoryl diester phosphodi- esterase	无致病性(水稻 IR24) No virulence function (Rice IR24)	[7,20,44,W]
HpaA	XOO 0079	XOO 0097	PXO 03408	Xoryp 21975	<i>Xac, Xcv,</i> <i>Xcc, Xcr,</i> <i>Xoo, Xoc</i>	T3SS 调控蛋白 T3SS regulatory protein	NT	[W]
XopA/ Hpa1	XOO 0095	XOO 0081	PXO 03392	Xoryp 21895	<i>Xac, Xcv,</i> <i>Xcc, Xcr,</i> <i>Xoo, Xoc</i>	Harpin	增强水稻抗病能力 Improve the ability of rice disease resistance	[W]
XopC	XOO 3424	XOO 3221	PXO 02108	Xoryp 06135	<i>Xac, Xcv,</i> <i>Xoo, Xoc</i>	类似盐酸脱卤化酶的 水解酶 Haloacid dehalo- genase-like hydrolase	无致病性(水稻 IR24) No virulence function (Rice IR24)	[7,20,44, W]
XopF	XOO 0074	XOO 0103	PXO 03413	Xoryp 22005	<i>Xac, Xcv,</i> <i>Xcc, Xcr,</i> <i>Xoo, Xoc</i>	未知 Unknown	无致病性(水稻 IR24) No virulence function (Rice IR24)	[7,20,44,W]
XopG	NA	XOO 4258	NA	NA	<i>Xac, Xcv,</i> <i>Xcc, Xoo</i>	M27 家族蛋白酶 M27 zinc protease	NT	[7,W]
XopI	XOO 3847	XOO 3626	PXO 04390/ 04389	Xoryp 03990	<i>Xac, Xcv,</i> <i>Xoo, Xoc</i>	F-box 蛋白 F-box protein	NT	[7,W]
XopK	XOO 1768	XOO 1669	PXO 01625	Xoryp 16075	<i>Xac, Xcv,</i> <i>Xcc, Xoo,</i> <i>Xoc</i>	未知 Unknown	无致病性(水稻 IR24) No virulence function (Rice IR24)	[7,20,44,W]
XopL	XOO 1762	XOO 1662	PXO 01620	Xoryp 16110	<i>Xac, Xcv,</i> <i>Xcc, Xoo,</i> <i>Xoc</i>	LRR 蛋白 LRR protein	无致病性(水稻 IR24) No virulence function (Rice IR24)	[7,44,W]
XopN	XOO 0343	XOO 0315	PXO 02760	Xoryp 01735	<i>Xac, Xcv,</i> <i>Xcc, Xoo,</i> <i>Xoc</i>	ARM/HEAT 重复区 ARM/HEAT repeat	无致病性(水稻 IR24) No virulence function (Rice IR24)	[7,20,44,W]
XopO	NA	NA	NA	Xoryp 05930	<i>Xoc, Xcv</i>	未知 Unknown	NT	[7,W]
XopP	XOO 3426/ 3425	XOO 3222	PXO 02107	Xoryp 06110	<i>Xac, Xcv,</i> <i>Xcc, Xcr,</i> <i>Xoo, Xoc</i>	未知 Unknown	无致病性(水稻 IR24) No virulence function (Rice IR24)	[7,20,44,W]
XopQ	XOO 4466	XOO 4208	PXO 03901	Xoryp 00510	<i>Xac, Xcv,</i> <i>Xcc, Xoo,</i> <i>Xoc</i>	同源次黄嘌呤-尿嘧 啶核苷酸水解酶 Structural homology to in- osine-uridine nucleoside N-ribohydrolase	<i>Xoo</i> 中无致病性(IR24) <i>Xoc</i> 中致病性增强 (IR24) No virulence in <i>Xoo</i> ; Strong virulence in <i>Xoc</i> (Rice IR24)	[7,13,20,44, W]
XopR	XOO 4391	XOO 4134	PXO 03819	Xoryp 22735	<i>Xac, Xcv,</i> <i>Xcc, Xcr,</i> <i>Xoo, Xoc</i>	未知 Unknown	无致病性(水稻 IR24) No virulence (Rice IR24)	[7,20,44,W]
XopT	XOO 4824	XOO 2210	NA	NA	<i>Xoo</i>	未知 Unknown	无致病性(水稻 IR24) No virulence (Rice IR24)	[7,20,W]
XopU	NA	XOO 2877	PXO 00236	Xoryp 12270	<i>Xoo, Xoc</i>	未知 Unknown	无致病性(水稻 IR24) No virulence (Rice IR24)	[7,20,44,W]
XopV	XOO 4033	XOO 3803	PXO 04172	Xoryp 03155	<i>Xac, Xcv,</i> <i>Xoo, Xoc</i>	未知 Unknown	无致病性(水稻 IR24) No virulence (Rice IR24)	[7,20,44,W]

XopW	NA	XOO 0037	PXO 03356	Xoryp 02385	<i>Xoo, Xoc</i>	未知 Unknown	无致病性(水稻 IR24) No virulence (Rice IR24)	[7,20,44,W]
XopX	XOO 4287	XOO 4042	PXO 03702	Xoryp 03105	<i>Xac, Xcv, Xcc, Xoo, Xoc</i>	未知 Unknown	无致病性(水稻 IR24) No virulence (Rice IR24)	[7,20,44,W]
XopY	NA	XOO 1488	NA	Xoryp 17145	<i>Xoo, Xoc</i>	未知 Unknown	无致病性(水稻 IR24) No virulence (Rice IR24)	[7,20,44,W]
XopZ	XOO 2543	XOO 2402	PXO 01041	Xoryp 11725	<i>Xac, Xcv, Xcc, Xoo, Xoc</i>	未知 Unknown	致病性(水稻 IR24) Virulence (Rice IR24)	[7,20,44,W]
XopAA	XOO 3022	XOO 2875	PXO 00234	Xoryp 12260	<i>Xcv, Xoo, Xoc</i>	未知 Unknown 大肠杆菌素的 C8 和 C9 区; 早期萎黄因子(ECF) Colicin Ia C8 and C9 domains; ECF	无致病性(水稻 IR24) No virulence (Rice IR24)	[7,20,44,W]
XopAB	NA	XOO 3150	NA	Xoryp 08090	<i>Xoo, Xoc</i>	未知 Unknown	无致病性(水稻 IR24) No virulence (Rice IR24)	[7,20,44,W]
XopAD	XOO 4401	XOO 4145	PXO 03833	Xoryp 22175	<i>Xac, Xcv, Xcr, Xoo, Xoc</i>	SKWP 蛋白 SKWP protein	NT	[7,44,W]
XopAE	XOO 0065	XOO 0110	PXO 03420	Xoryp 22030	<i>Xac, Xcv, Xoo, Xoc</i>	未知 Unknown	无致病性(水稻 IR24) No virulence (Rice IR24)	[7,20,44,W]
XopAF	NO	NO	NO	Xoryp 02210	<i>Xoc</i>	未知 Unknown	NT	[W]
XopAJ	NA	NA	NA	Xoryp 19990	<i>Xoc, Xcv</i>	未知 Unknown 巯基蛋白酶, ATP/GTP 结合区 Thiol protease, ATP/GTP binding	NT	[7,45,W]
XopAK	NA	NA	NA	Xoryp 19400	<i>Xoc, Xac, Xcv</i>	未知 Unknown	NT	[7,W]

Note: NA: Not annotated; NT: Not tested; W: <http://www.xanthomonas.org>; *Xcr*: *X. campestris* pv. *armoraciae* 756C; *Xcv*: *X. campestris* pv. *vesicatoria* 85-10; *Xoo*: *X. oryzae* pv. *oryzae*; *Xac*: *X. axonopodis* pv. *citri* 306; *Xcc*: *X. campestris* pv. *campestris* ATCC33913、8004、B100; *Xoc*: *X. oryzae* pv. *oryzicola* BLS256.

的是, 水稻黄单胞菌成员基因组 DNA 同源性高于 90%, 但是出现很多不同的 non-TAL 效应物, 可能是进化的结果。当 T3SS 效应物基因 G+C 含量低于基因组 DNA G+C 平均含量时, T3SS 效应物基因易与转座因子相结合, 进行菌株间的水平遗传转移^[19]。这与丁香假单胞菌的 T3SS 效应物类似。通过对 3 个丁香假单胞菌菌株(*P. syringae* pv. *tomato* DC3000, *P. syringae* pv. *syringae* B728a 和 *P. syringae* pv. *phaseolicola* 1448A)的基因组序列比较, 它们的基因组在 DNA 水平上相似性达到 97%, 但是共有的、保守的 T3SS 效应物却很少, 说明效应物可能来源于其他生物^[26]。但是, 如此之多的水稻黄单胞菌 non-TAL 效应物, 进入宿主细胞中后如何起作用, 需要进一步研究。

1.2 Non-TAL 效应物的毒力功能和生物学功能

至今, 植物病原细菌 T3SS 效应物的生物学功能主要分为四大类: (1)破坏宿主的泛素化蛋白系统(HopAB2); (2)具有蛋白酶作用, 修饰宿主蛋白(XopD, XopJ); (3)改变宿主蛋白的磷酸化(AvrB1, HopAO1); (4)作为转录因子(AvrBs3/PthA 家族, 见下文)^[45]。但是, 其生物学功能研究进展缓慢, 尤其是对水稻黄单胞菌中 non-TAL 效应物。利用生物信息学, 仅仅预测了 7 个 T3SS 效应物(AvrBs2、XopC、XopG、XopN、XopQ、XopAA 和 XopAJ)的生物学功能(<http://www.xanthomonas.org>)^[7], 但是在水稻黄单胞菌中还没有得到生物实验证实。其中, 5 个效应物预测具有酶活性(蛋白酶、水解酶、二酯酶等)(表 2)。

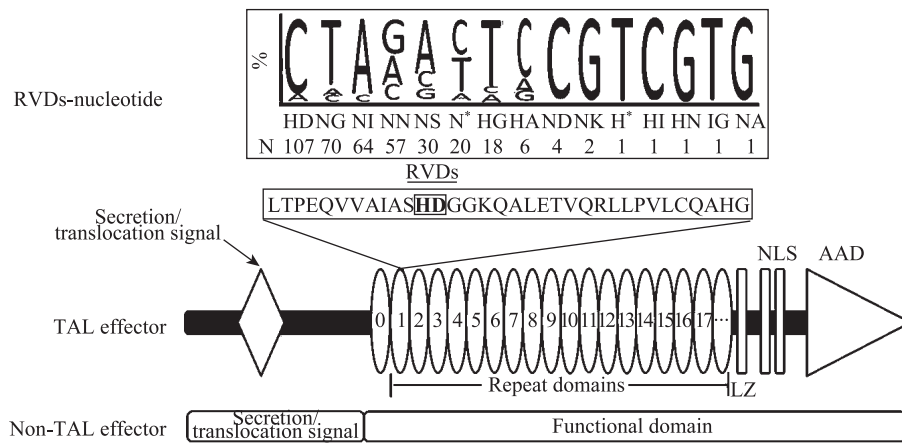


图 1 水稻黄单胞菌 T3SS 效应物的结构和功能区域^[46-47]

Fig. 1 Structure and functional domains of T3SS effectors from *X. oryzae*^[46-47]

注: RVDs: 重复可变双残基; LZ: 亮氨酸拉链结构; NLSs: 核定位信号; AAD: 酸性转录激活区域。

Note: RVDs: Repeat-variable diresidue; LZ: Leucine zipper; NLSs: Nuclear localization signals; AAD: Acidic activation domain.

明确 T3SS 效应物在植物病原细菌致病过程中的作用对了解病菌的致病机理和培育抗病水稻品种是非常重要的。目前, 常用方法是构建基因的突变体, 检测突变体的毒力。由于 T3SS 效应物出现功能冗余现象, 突变一个基因, 往往在毒力方面看不出变化。只有同时突变几个 T3SS 效应物基因, 才能看到明显的毒力减弱^[21,48-51], 这为鉴定致病效应物增加了难度。

十几年来, 在黄单胞菌中, 仅仅发现少量 Xop (*Xanthomonas* out protein) 家族是致病效应物。AvrBs2 是第一个发现的致病 non-TAL 效应物, 广泛存在黄单胞菌中。Xcv 的 AvrBs2 在番茄中具有促进细菌的生长的功能^[52]。同时, AvrBs1-4 也有不同程度影响番茄感染部位的细菌生长^[53]。进一步, 来自野油菜黄单胞菌的 XopD、XopN 和 XopX 在对感病寄主的致病过程中起作用^[54-58]。实验证明, XopD 和 XopX 抑制植物免疫系统基因的表达^[55], 然而, XopN 与番茄非典型激酶受体 (Atypical receptor-like kinase, TARLK1) 相结合抑制与其相关的免疫过程^[56], 也证明 XopN 和 XopJ 抑制与防御有关的胼胝质沉积^[57,59]。至今, 大部分致病 T3SS 效应物通过干扰效应物激发的免疫性 (Effector-triggered immunity, ETI) 或病菌关联分子形式激发的免疫性 (Pathogen-associated molecular pattern triggered

immunity, PTI) 在致病中起作用^[60]。令人惊奇的是, 水稻黄单胞菌如此之多的 non-TAL 效应物中 (表 2), 仅仅发现菲律宾菌株 PXO99^A 中 XopZ 在致病中起作用, 抑制水稻的先天性免疫^[44]。另外, 在 Xoo 中, xopQ 突变体在 IR24 上, 与野生型相比, 毒力不下降, 但 Xoc 的 xopQ 突变体毒力比野生型增强^[13]。Xoo 和 Xoc 虽然属于同一个种, 同源的 T3SS 效应物在同一寄主水稻致病功能却不同, 因为其致病机理, 调控系统不一样, 例如 hrp 簇、伴侣蛋白等。研究表明, 水稻黄单胞菌具有寄主水稻专一性, 不同品种水稻对病原细菌具有不同的抗病性和感病性。因此, 同一个 non-TAL 效应物应该在多个水稻品种上测试其毒力, 才能更好的确认其致病功能。更加疑惑的是, 为什么 non-TAL 效应物在野油菜黄单胞菌的致病过程中起重要作用, 但在水稻黄单胞菌中没有, 这是一个值得研究的问题。

2 TAL 效应物的研究进展

2.1 TAL 效应物的特征和分布

目前, 科学家把主要的精力集中在 TAL 效应物的研究上, 认为它是黄单胞菌最重要的致病因子之一。AvrBs3 是第一个被发现的 TAL 效应物 (AvrBs3/PthA 家族), 来自于 Xcv, 编码的蛋白质大小为 125 kD, 具有 17.5 个 34 个氨基酸 (aa) 的重

复单元,在对寄主的致病过程中起关键作用^[36]。从此,拉开了 TAL 效应物时代。TAL 效应物不同于 non-TAL 效应物,主要存在于黄单胞菌和茄科雷尔氏菌中^[7,27] (<http://www.xanthomonas.org/>; <http://sequence.toulouse.inra.fr/R.solancearum>; 表 1)。水稻黄单胞菌含有 TAL 效应物数量最多,达到 7–35 个。但是,其他成员含量有限^[43]。具体原因未知,可能是水平遗传转移和环境选择的结果。奇怪的是,最近测序两个美国类似水稻黄单胞菌菌株 X11-5A 和 X8-1A 的基因组发现,没有 TAL 效应物的存在,推测水稻黄单胞菌的祖先通过获取 TAL 效应物幸存和进化^[9]。虽然茄科雷尔氏菌含有黄单胞菌 TAL 效应物的同源物,但是 TAL 效应物的 N 端和 C 端却具有很低的相似性,而且,其效应物之间的不同主要表现在 C 端。

TAL 效应物具有 80%–97% 的同源性,结构上具有以下共性: (1) N 端高度保守,具有 T3SS 分泌信号; (2) 中间区域是几乎一样的含 34/35 个氨基酸重复单元的重复区,不同效应物间的差异主要在于含重复单元数目的不同(0.5–33.5 个); (3) C 端依次含有亮氨酸拉链结构(Leucine zipper, LZ)、核定位信号(Nuclear localization signals, NLSs)和酸性转录激活区域(Acidic activation domain, AAD); (4) 每个重复单元的第 12 和第 13 位氨基酸易发生变异(Repeat-variable diresidue, RVD)。通过比较 RVDs 发现,HD、NG、NI 和 NN 出现的几率最多,为 75% (图 1)^[61–62]。

目前,已克隆编码 TAL 效应物的基因有 12 个,即 *avrXa3* (JXOIII)、*avrxa5* (PXO86; JXOIII)、*avrXa7* (PXO86, KXO85, T7174)、*avrXa10* (PXO86)、*avrXa27* (PXO99^A)、*pthXo1* (PXO99^A)、*pthXo2* (PXO71, T7174)、*pthXo3* (PXO61)、*pthXo6* (PXO99^A)、*pthXo7* (PXO99^A)、*pthXo8* (PXO99^A)、*talC* (BAI3)等^[5,7,40,63–69] (表 3、4)。*Xoo* 韩国菌株 KACC10331、日本菌株 MAFF311018、菲律宾菌株 PXO99^A、*Xoc* 菲律宾菌株 BLS256, BLS303, 中国菌株 RS105 分别含有 15、17、19、28、33 和 20 个 TAL 效应物^[4–6,40,62,70] (<http://www.xanthomonas.org/>)。另

外,本实验室利用 *avrXa10* 保守区作为探针,与从广西防城港市分离的 *Xoo* 菌株基因组进行 Southern 杂交,发现 *Xoo* 不同生理小种间存在不同数量的 TAL 效应物基因(杨淑青等,未发表)。

2.2 TAL 效应物的宿主靶标

TAL 效应物进入植物细胞后定位在植物细胞核,作为转录激活因子(Transcriptional activators),具有功能二重性:毒性或无毒功能。直到现在,关于 TAL 效应物的致病功能和植物靶标了解甚少。激活 TAL 效应物的活性依赖于含 34/35aa 的重复单元与抗病基因(Resistance gene, *R* gene)启动子区域的结合,主要是 RVDs。RVDs 与 DNA 具有亲和性,决定 TAL 效应物的种类^[70]。DNA-TAL 效应物结合具有专一性、多样性和复杂性。令人不解的是,不同 TAL 效应物结合的 DNA 结合区没有相似性。因此,发现碱基和氨基酸配对密码是一件很困难的事情,十几年来举步不前。

很早就知道来自 *Xcv* 的 TAL 效应物 *AvrBs3* 结合辣椒 *Bs3* 基因启动区域保守原件 *UPA_{AvrBs3}* box (Up-regulated by *AvrBs3*), 诱导 20 多个辣椒 *UPA* 基因的表达。最近,发现另外一个来自于大豆黄单胞菌(*Xanthomonas gardneri*, *Xg*) 的 TAL 效应物 *AvrHah1* 同样诱导辣椒 *Bs3* 基因^[71]。*UPA20* 基因作为 *AvrBs3* 的直接靶标之一,诱导植物叶肉细胞增大,促使病原细菌从感染部位向周围扩散^[37,72]。*UPA20* 编码碱性的螺旋-环-螺旋(Basic helix-loop-helix, b-HLH)转录因子,控制细胞的增大^[36]。继而,一些水稻抗病基因 *Xa3*、*xa5*、*xa13* 和 *Xa27* 等和感病基因(Susceptible gene, *S* gene) *Os8N3/Xa13*、*Os11N3*、*OsTFIIAγ1* 和 *OsTFX1* 等的克隆,为寻找 TAL 效应物的靶标基因提供了基础。表 3 列出了已知和预测的 TAL 效应物的植物靶标基因。

PthXo1、*avrXa7*、*pthXo6* 和 *pthXo7* 是 *Xoo* 重要的致病基因,研究的较为详细,分别诱导 *S* 基因 *Os8N3/Xa13*、*Os11N3*、*OsTFX1* 和 *OsTFIIAγ1* 的表达(表 3)。*Os8N3/Xa13* 是通过 *pthXo1* 诱导的 *S* 基因,其隐性基因 *xa13* 是水稻抗 *Xoo* 的 *R* 基因^[7,64]。但是,

只有在水稻不含 *Os8N3* 的情况下, *xa13* 才起抗病作用。*Os8N3* 编码 MtN3 相似蛋白, 参与植物花粉的发育。苜蓿中, *MtN3* 基因编码的产物 MtN3 是 nodulin 3 (N3) 蛋白^[7,64,73]。*MtN3* 和 *Os8N3* 同属于水稻调节基因家族, 该家族由 17–20 成员组成。感病水稻和抗病水稻 (*xa13/xa13*) 之间最重要的区别是基因 *Os8N3* 有无表达。在感病水稻被细菌侵染过程中, *Os8N3* 的表达提高; 在抗病水稻被细菌侵染过程中, 缺乏 *Os8N3* 的诱导表达^[64,74]。因此, *xa13* 提供的抗病性是由于水稻被细菌侵染过程中 *Os8N3* 的表达没有提高^[75]。另外, 两个重要的致病因子 AvrXa7 和 AvrBs3 的靶标基因 *Os11N3* 和 *UPA16* 也属于 nodulin MtN3 家族^[70,76–77] (表 3)。

然而, 感病基因 *OsTFX1* 和 *OsTFIIAγ1* 不同于 *Os8N3*, 属于不同的家族(表 3)。其中, *OsTFX1* 定位在水稻第 9 号染色体, 属于 bZIP 家族, 但是其功能未知。PXO99^A 的 *pthXo6* 突变体感染水稻后, 毒力下降大约 35%, 菌数下降 50%。在转 *OsTFX1* 基因水稻中, *OsTFX1* 的过量表达可以免除 *pthXo6* 的诱导, 但是不能使水稻更加易感 PXO99^A^[64]。因此, *OsTFX1* 的过量表达有可能成为检测 *Xoo* 诱导基因能力的工具^[74]。*PthXo7* 诱导 *OsTFIIAγ1* 表达升高仅仅在 PXO99^A 中发现。因此, 拥有隐性抗病基因 *xa13* 和 *xa5* 的水稻对 PXO99^A 表现的抗病能力, 有可能是因为 *xa5* 诱导的 *TFIIAγ^{xa5}* 没有干扰 TAL 效应物的能力, 或者通过改变 *OsTFIIAγ1* 的表达水平适应 *xa5* 的抗性^[65,75]。

Xa27 和 *Xa3/Xa26* 是水稻广泛存在的 R 基因。*Xa27* 属于未知家族, 既存在于感病水稻, 也存在于抗病水稻。其转录需要 T3SS 效应物 AvrXa27 的激活。研究表明, AvrXa27 对 *Xa27* 转录的激活过程需要水稻隐性抗病基因 *xa5* 编码的转录因子 *OsTFIIAγ5* 的帮助。AvrXa27 诱导 *Xa27* 的转录在水稻 *xa5* 突变的背景下衰减, 同时, AvrXa27 在水稻 *xa5* 遗传背景下, 具有弱毒力^[78]。但是, 只有当含有 *avrXa27* 的 *Xoo* 菌株感染抗病水稻时, *Xa27* 才表达^[63,78], 其在感病水稻中的功能至今仍未知^[63]。*Xa27* 定位在水稻细胞的质外体空间, 与其细胞膜和

细胞壁中被诱导的基因相互作用, 保护水稻^[63,79–80]。*Xa3* 属于 RLK 家族, 为 LRR 受体激酶, 其具体生物学功能未知, 需要进一步研究^[81]。

另外一个重要的植物靶标是 *Oshen1*, 被两个 TAL 效应物 *Xoc Tal1c* 和 *Xoo Tal9a* 诱导。*Oshen1* 编码预测的甲基转移酶类似于 Hua Enhancer (Hen1), 通过转移甲基参与小 RNA (Micro RNA) 的加工^[70]。但其功能未知, 需要进一步探索。

综上所述, 不同的 TAL 效应物可以诱导同样的植物靶标基因, 或者诱导属于同一家族的靶标基因。至今, TAL 效应物的植物靶标属于少数家族, 可能与 TAL 效应物的功能有关, 还需要进一步的研究(表 3)。

最近, 两个独立的研究打破了这个瓶颈—破译识别植物靶标的密码: 最重要的一个是 *UPA* box 的长度大约和 AvrBs3 中 RVDs 的数目一样, 即一个 RVD 对应一对碱基的假设^[47,82]; 另外一个就是利用生物信息学, 证实 TAL 效应物的 RVDs-DNA 的识别不受周围 RVDs 的影响^[47]。TAL 效应物的靶标 DNA 结合区的大量识别, 使了解 TAL 效应物的作用机理前进了一大步。利用 *UPA_{AvrBs3}* box, Römer 等^[83] 识别了 *Xoo* TAL 效应物 AvrXa27 结合区 *UPT_{AvrXa27}* (5'-ATAGAAGAAGAGACCC-3'), 位于水稻抗性基因 *Xa27* 的启动子区域, 不同于 *UPA_{AvrBs3}* box (5'-ATATAAACCTAACCATCT-3')。而且二者不能互相识别, 具有专一性。继而, 已知 TAL 效应物 *PthXo1*、*PthXo6*、*AvrXa7* 及 *PthXo7* 和被诱导的水稻基因 *Os8N3*、*Xa13*、*OsTFX1*、*Os11N3* 和 *OsTFIIAγ1* 启动子区域 *UPT* boxes: *UPT_{PthXo1}*、*UPT_{PthXo6}*、*UPT_{AvrXa7}* 及 *UPT_{PthXo7}* 被揭示(表 4)^[77,83]。

目前, TAL 效应物的 RVDs 大约有 23 种可能: HD、NG、NI、NN、NS、N*、HG、HA、ND、NK、H*、HI、HN、IG、NA、NC、NV、NH、HH、S*、SN、SS 和 YG。但是, 出现频率最多的是 HD、NG、NI 和 NN, 达到 75% 以上(图 1, 表 4)^[80,83], 其原因不详。罕见的 RVDs 是否有生物学功能和在 DNA-RVDs 结合过程中的作用还需要进一步探索。一般来说, DNA-RVDs 具有专一性, 例如: HD-C, NG-T, NI-A。但是, 通过实验检测 AvrXa10 和

AvrXa27 的 *UPT* box, 发现相同的 RVDs 可以对应不同的核苷酸(RVD4-NN:G/A) (表 4)^[83]。同时, 在检测其他 TAL 效应物的 *UPT* boxes 时候, 也发现同样的现象, 表明一些 RVDs 识别核苷酸具有多样性^[47,71]。有趣的是, TAL 效应物的 DNA 靶标 box 通常在 5'端比 RVDs 对应的序列长 1bp, 总是 T。这个

重复区被定义为第 0 个, 但是和其他的 RVDs 不同, 有很低的保守性^[80]。根据以上的原则, 总结了已知的 TAL 效应物靶标的 *UPT* box^[47,70,77, 82], 并且, 预测了更多的植物靶标^[47](表 4)。水稻抗病基因中 *UPT* boxes 的多样性与水稻对水稻黄单胞菌感病和抗病有关, 可能是环境因素诱导的。

表 3 水稻黄单胞菌 TAL 效应物的候选或证实的水稻靶标
Table 3 The candidate and identified targets of *Xanthomonas oryzae* TAL effectors in rice

TAL effector	Plant target	Description	Reference
Xcv AvrBs3	Bs3 (Pepper)	Resistance gene	[38]
Xg AvrHah1	Bs3 (Pepper)	Resistance gene	[71]
Xoc Tal1c	<i>OsHEN1</i> (Rice)	sRNA biogenesis	[47]
Xoo Tal9a	<i>OsHEN1</i> (Rice)	sRNA biogenesis	[47]
Xcv AvrBs3	<i>UPA16</i> (Pepper)	Nodulin MtN3 family	[76]
Xoo PthXo1	<i>Os8N3/Xa13</i> (Rice)	Nodulin MtN3 family	[64]
Xoo AvrXa7	<i>Os11N3</i> (Rice)	Nodulin MtN3 family	[77]
Xoo PthXo7	<i>OsTFIIAγ</i> (Rice)	Small subunit of TFIIA; compensates rice <i>xa5</i> mutation in <i>OsTFIIAγ5</i>	[65]
Xoo PthXo6	<i>OsTFX1</i> (Rice)	bZip family	[65]
Xoo AvrXa27	<i>Xa27</i> (Rice)	Inducible	[47,75]
Xoo AvrXa10	<i>Xa10</i> (Rice)		[47,82]
Xoo AvrXa3	<i>Xa3</i> (Rice)	RLK	[80]
Xoo TalC	<i>Os11N3</i> (Rice)	Nodulin MtN3 family	[69]
Xoo Tal7a/8a	Os01g68740 (Rice)		[47]
Xoo Tal7b/8b	Os01g40290 (Rice)		[47]
<u>Xoc 1572</u>	Os03g03034 (Rice)		[47]
<u>Xoc 1570</u>	Os04g49194 (Rice)		[47]
<u>Xoc 1709</u>	Os05g27590 (Rice)		[47]
<u>Xoc 2010</u>	Os03g37840 (Rice)		[47]
<u>Xoc 2009</u>	Os09g32100 (Rice)		[47]
<u>Xoc 2007</u>	Os06g37080 (Rice)		[47]
<u>Xoc 2857</u>	Os07g47790 (Rice)		[47]

注: 下划线是其植物靶标预测的 TAL 效应物。

Note: The TAL effectors with predicted plant targets were underlined.

表 4 预测的和证实的 TAL 效应物 DNA 靶标序列^[47,70,77,82]
Table 4 Predicted and confirmed DNA target sequences of TAL effectors^[68,75,80-81]

TAL effectors/targets	Repeat	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29		
AvrBs3/Bs3	RVDs	HD	NG	NS	NG	NI	NI	NI	HD	HD	NG	NS	NS	HD	HD	HD	NG	HD	NG														
	<i>UPT</i> box	TA	T	A	T	A	A	A	C	C	T	A	A	C	C	A	T	C	T														
AvrHah1/Bs3	RVDs	NN	IG	NI	NI	NI	HD	HD	NG	NN	NI	HD	HD	HD	NG																		
	<i>UPT</i> box	TA	T	A	A	A	C	C	T	A	A	C	C	A	T																		
AvrXa27/Xa27	RVDs	NI	NN	N*	NG	NS	NN	NN	NN	NI	NN	NI	N*	HD	HD	NI	NG	NG															
	<i>UPT</i> box	TA	G	A	A	G	A	A	G	A	G	A	C	C	C	A	T	A															
PthXo1/xa13	RVDs	NN	HD	NI	HG	HD	NG	CG	HD	HD	NI	NG	NG	NI	HD	NG	NN	NG	NI	NI	NI	NI	NG	NS	NG								
	<i>UPT</i> box	TG	C	A	T	C	T	C	C	C	C	C	T	A	C	T	G	T	A	C	A	C	C	A	C								
PthXo6/OsTFX1	RVDs	NI	HG	NI	NN	NN	NN	NN	HD	NI	HD	HG	HD	NI	N*	NS	NI	NI	HG	HD	NS	NS	NG										
	<i>UPT</i> box	TA	T	A	A	A	A	G	G	C	C	C	T	C	A	C	C	A	A	C	C	C	A	T									
AvrXa7/Os11N3	RVDs	NI	HG	NI	NI	NS	HD	NN	HD	HD	HD	NS	NG	NG	HD	HD	NS	NS	NN	NN	NI	NG	NN	NI	NG	NS	NG						
	<i>UPT</i> box	TA	T	A	T	A	A	A	C	C	C	C	C	T	C	C	A	A	C	C	A	G	G	T	G	C	T						
PthXo7/OsTFIIA γ 1	RVDs	NI	NG	NI	NI	N*	NN	HD	HD	N*	NI	NI	NI	NG	HD	HG	NN	NS	NN	HD	HD	NG	N*										
	<i>UPT</i> box	TA	T	A	A	T	C	C	C	C	A	A	A	T	C	C	C	C	T	C	C	T	C	T	C								
Avrxa5/xa5	RVDs	HD	HD	HD	NG	N*	NN	HD	HD	N*	NI	NN	HD	HI	ND	HD	NI	HD	HD	NG	NG												
	<i>UPT</i> box	TC	C	C	T	#	R	C	C	#	A	R	C	#	#	C	A	C	C	T	T												

(待续)

(续表 4)

<u>Tal1c/OsHEN1</u>	RVDs	HD HD HD HD HD NG HD NN HD NG HG NN HD N* NG NG
	UPT box	TC C C C C T C G C T T C C C T T
<u>AvrXa10</u>	RVDs	NI HG NI HG NI NI NN HD NI HD NN HG NS NG HD NG
	UPT box	TA T A T A A A/GC A C A/GT A T C T
<u>TalC/OsIIN3</u>	RVDs	NS NG NS HD NI NG NN NG HD NI NN N* NI NN HD NG NI NN N* HD NN NG
	UPT box	TA T G C A T G T C A G C A G C T G G T C A T
<u>AvrXa3 (JXOIII)</u>	RVDs	HD HD HD NG NG NN HD HD NG
	UPT box	TC C C T T R C C T
<u>XOO2131 (KACC)</u>	RVDs	NN HD NS NG HD NN NG NI HD NS HD NN HD NN HD NN NN NN NN NN NN HD NG
	UPT box	TR C N T C R T A C N C R C R C R R R R R R R C T
<u>XOO3013 (KACC)</u>	RVDs	NI NG NN NG NK NG NI NN NI NN NI NN NS NG NS NN NI NG NS
	UPT box	TA T R T # T A R A R A R N T N R A T N
<u>XOO3015 (KACC)</u>	RVDs	NI HG NI NI NS HD NN HD HD HD NS NG N* HD HD NS NN NG
	UPT box	TA # A A N C R C C C N T # C C N N R T
<u>XOO2275 (KACC)</u>	RVDs	NI N* NI NS NN NG NN NS N* NS NN NS N* HD HG HD HD HD NS N* HD HG HD HD HD NG
	UPT box	TA # A N R T R N # N R N # C # C C N # C # C C C C T
<u>Tal2a (PXO99^A)</u>	RVDs	NI NG NN NG NK NG NI NN NI NN NI HD N* NS NG
	UPT box	TA T R T # T A R A R A C # N T
<u>Tal4 (PXO99^A)</u>	RVDs	NI NN NN NI NI NI HD NS HG NN NN NN NI NI HG HD
	UPT box	TA R R A A A C N # R R R A A # C
<u>Tal5a (PXO99^A)</u>	RVDs	NI NS HD HG NS NN HD H* NG NN NN HD HD NG HD NG
	UPT box	TA N C # N R C # T R R C C T C T
<u>Tal6a (PXO99^A)</u>	RVDs	NI N* NI NS NN NG NN NS N* NS NN NS N* NI HG HD NI HD HD NG
	UPT box	TA # A N R T R N # N R N # A # C A C C T
<u>Tal7a (PXO99^A)</u>	RVDs	NI HG NI NI NI NN HD NS NN NS NN HD NN NI HD NN NS NG
	UPT box	TA # A A A R C N R N R C R A C R N T
<u>Tal7b (PXO99^A)</u>	RVDs	NI HG NS HG HG HD NS NG HD NN NG HG NG HD HG HD HD NI NN NG
	UPT box	TA # N # # C N T C R T # T C # C C A R T
<u>Tal8a (PXO99^A)</u>	RVDs	NI HG NI NI NI NN HD NS NN NS NN HD NN NI HD NN NS NG
	UPT box	TA # A A A R C N R N R C R A C R N T
<u>Tal8b (PXO99^A)</u>	RVDs	NI HG NS HG HG HD NS NG HD NN NG HG NG HD HG HD HD NI NN NG
	UPT box	TA # N # # C N T C R T # T C # C C A R T
<u>Tal9a (PXO99^A)</u>	RVDs	HD HD HD NG N* NN HD HD N* NI NI NN HD HI ND HD NI HD NG NG
	UPT box	TC C C T # R C C # A A R C # # C A C T T
<u>Tal9b (PXO99^A)</u>	RVDs	HD HD NN NN NG NG HD NS HG HD NG N* HD HD HD N* NN NI NN HD HI ND HD HG NN HG NG
	UPT box	TC C R R T T C N # C T # C C C # R A R C # # C # R # T
<u>Tal9d (PXO99^A)</u>	RVDs	NI NN NI HG HG NN HG HD HG HD HD HD NG
	UPT box	TA R A # # R # C # C C C T
<u>Tal9e (PXO99^A)</u>	RVDs	NN HD NS NG HD NN N* NI HD NS HD NN HD NN HD NN NN NN NN NN NN HD NG
	UPT box	TR C N T C R # A C N C R C R R R R R R R C T
<u>PthXo2 (JX01)</u>	RVDs	NI HG NI NN NN NI NN HD NI HD NS NS NS HD NN HD NG HD HD HD NG NG
	UPT box	TA # A R R A R C A C N N N C R C T C C C T T
<u>PthXo3 (PXO61)</u>	RVDs	NI HG NI HG NI NI NI HD NN HD HD HD NG HD NG NI HD HD NN NS NI NN NN NG NN HD N* NS N*
	UPT box	TA # A # A A A C R C C C T C T A C C R N A R R T R C # N #
<u>PthC8a (XooC8)</u>	RVDs	NN HD HD HD NI NI NN NI HD HD HD HG NN NN HD NS NN HD N* NS N*
	UPT box	TR C C C A A R A C C C # R R C N R C # N #
<u>PthC8b (XooC8)</u>	RVDs	NI HG NI NI NI NN HD NS NN NS NN HD NN NI HD NN NS NG
	UPT box	TA # A A A R C N R N R C R A C R N T
<u>Avr/Pth14 (Xoc)</u>	RVDs	NS HD NI NG NI HG NI NI NG NG HD NN NI NG HD NN NS NN NG NN
	UPT box	TN C A T A T A A T T C R A T C R N R T R
<u>Avr/Pth3 (Xoc)</u>	RVDs	NS HD NI NG NI HG HG HD NN NI NG HD NN NS NN NG NN
	UPT box	TN C A T A T T C R A T C R N R T R

注: 下划线是其 DNA 靶标序列预测的 TAL 效应物; *: 缺失的 13rd 氨基酸; #: 未知; R: A 或者 G; N: A、T、C 或者 G。

Note: The TAL effectors with predicted DNA target sequences were underlined; *: The deleted 13rd amino acid; #: Unknown; R: A or G; N: A, T, C or G.

两个奇怪的现象一直困扰人们: (1) TAL 效应物重复单元(Repeat unit)的氨基酸数目不是一成不变的(34 aa), 还有 19、20、30 (Xoc4248, BLS256)、33、35、39、40 (XOO2866, MAFF311018; AvrXa7-3M, PXO356; XOO3014, KACC10331)、42 (XOO1136, MAFF311018; TAL-C9b, PXO99^A)。他们所对应的 UPT box 很难去预测和证实, 其 RVDs 是否存在与 34 aa 的重复单元的 RVDs 同样的功能, 还不清楚^[70]。(2) 重复单元的数目(Copy number)变化多端, 从 0.5–33.5 个不等。Boch 等^[70]通过人工组装不同数目的 RVDs 的 TAL 效应物, 发现诱导靶标基因转录的最小 RVDs 为 6.5 个, 10.5 个 RVDs 将有效的行使其全部的生物功能^[47]。剩余的 RVDs 是否起作用, 或者有其他的功能仍需进一步探究。

2.3 TAL 效应物的蛋白质结构

目前, 关于 TAL 效应物的研究主要集中在 DNA 水平, 蛋白质水平研究甚少。二级结构预测显示每个 AvrBs3 的重复单元包含有 2 个保守的 α -螺旋(Alpha helices), 旁侧为包含多变碱基的环^[71], 类似于螺旋蛋白的超家族。进一步, PSIPRED 预测出 TAL 效应物高度类似 TPR (Tetratricopeptide repeat) 蛋白和 PPR (Pentatricopeptide repeat) 蛋白^[27,38,83–84]。TPR 在几乎所有生物中都有发现, 拟南芥(*Arabidopsis thaliana*)有 79 个 TPR; 人类有 260 个 TPR; 酿酒酵母(*Saccharomyces cerevisiae*)有 15 个, 执行多种功能^[85]。TPR 是由 34 个氨基酸残基组成的序列单元, 约 3–16 串联重复排列组成, 介导蛋白质-蛋白质互作, 具有特异性识别靶标蛋白的特征, 在多蛋白复合体的组装中发挥作用。该蛋白家族参与许多重要的生命活动如细胞周期调控、转录控制、线粒体和过氧化物酶体的运输等^[26,70,85]。然而, PPR 主要存在于高等植物中, 包含 2–26 串 35 个氨基酸残基组成的序列单元, 或者不同的 31 个氨基酸残基, 36 氨基酸残基组成, 和单链的 RNA 相互结合(拟南芥含有大于 450 个 PPR 蛋白; 人类只含有 6 个 PPR)^[27,70,86]。因此, 预测在 TAL 效应物中, RVDs 一个挨着一个, 正向 DNA 双螺旋, 容易固定 TAL-DNA 的相互结合^[26,70]。

3 展望

水稻是人类的主要粮食。Xoo 和 Xoc 是水稻-病原细菌相互作用的模式菌株。全基因组测序加快了水稻-病原细菌互作的功能基因组学及了解其分子机理的进程。Xoo 和 Xoc 菌株的全基因组揭示了大量的 T3SS 效应物基因。Non-TAL 效应物的大量识别, 为了解其水稻靶标及其致病功能奠定了基础; TAL 效应物与靶标基因的结合区密码的揭秘, 加快了识别更多的 TAL 效应物和水稻靶标, 以及了解如何诱导靶标基因。目前和将来, 研究主要集中在: (1) T3SS 效应物在 Xoo 和 Xoc 中的分布, 群体结构如何; (2) Non-TAL 效应物的水稻靶标是什么, 如何起作用; (3) TAL 效应物如何诱导其水稻靶标, 如何与一般的基因诱导转录途径相共存; (4) T3SS 效应物在致病过程中如何起作用; (5) non-TAL 效应物和 TAL 效应物二者谁更为重要; (6) 如何解释出现功能冗余现象。这将为全面了解水稻-水稻黄单胞菌互作的分子机理, 调控网络以及水稻分子育种提供一种新洞察力。

参考文献

- [1] Niño-Liu DO, Ronald PC, Bogdanove AJ. *Xanthomonas oryzae* pathovars: model pathogens of a model crop[J]. Molecular Plant Pathology, 2006, 7(5): 303–324.
- [2] 陈功友 邹丽芳, 王邢平, 等. 水稻白叶枯病菌致病性分子遗传学基础[J]. 中国农业科学, 2004, 37(9): 1301–1307.
- [3] Büttner D, Bonas U. Regulation and secretion of *Xanthomonas* virulence factors[J]. FEMS Microbiology Review, 2009, 34(2): 107–133.
- [4] Lee BM, Park YJ, Park DS, et al. The genome sequence of *Xanthomonas oryzae* pathovar *oryzae* KACC10331, the bacterial blight pathogen of rice[J]. Nucleic Acids Research, 2005, 33(2): 577–586.
- [5] Ochiai H, Inoue Y, Takeya M, et al. Genome sequence of *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* suggests contribution of large numbers of effector genes and insertion sequences to its race diversity[J]. Japan Agricultural Research Quarterly, 2005, 39(4): 275–287.
- [6] Salzberg SL, Sommer DD, Schatz MC, et al. Genome sequence and rapid evolution of the rice pathogen *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* PXO99^A[J]. BMC

- Genomics, 2008, 9: 204–219.
- [7] White FF, Potnis N, Jones JB, et al. The type III effectors of *Xanthomonas*[J]. Molecular Plant Pathology, 2009, 10(6): 749–766.
- [8] Ryan RP, Vorhölter FJ, Potnis N, et al. Pathogenomics of *Xanthomonas*: understanding bacterium-plant interactions[J]. Nature Review Microbiology, 2011, 9(5): 344–355.
- [9] Triplett LR, Hamilton JP, Buell CR, et al. Genomic analysis of *Xanthomonas oryzae* isolates from rice grown in the United States reveals substantial divergence from known *X. oryzae* pathovars[J]. Applied and Environmental Microbiology, 2011, 77(12): 3930–3937.
- [10] Flor HH. Current status of the gene-for-gene concept[J]. Annual Review of Phytopathology, 1971, 9(1): 275–296.
- [11] Furutani A, Nakayama T, Ochiai H, et al. Identification of novel HrpXo regulons preceded by two *cis*-acting elements, a plant-inducible promoter box and a -10 box-like sequence, from the genome database of *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*[J]. FEMS Microbiology Letter, 2006, 259(1): 133–141.
- [12] Schechter LM, Roberts KA, Jamir Y, et al. *Pseudomonas syringae* type III secretion system targeting signals and novel effectors studied with a Cya translocation reporter[J]. Journal of Bacteriology, 2004, 186(2): 543–555.
- [13] 裴俊国 邹丽芳, 邹华松, 等. 水稻条斑病菌 *xopQI_{Xoc}* 在病程中功能的初步研究[J]. 中国农业科学, 2010, 43(17): 3538–3546.
- [14] Casper-Lindley C Dahlbeck D, Clark ET, et al. Direct biochemical evidence for type III secretion-dependent translocation of the AvrBs2 effector protein into plant cells[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences USA, 2002, 99(12): 8336–8341.
- [15] Cunnac S, Occhialini A, Barberis P, et al. Inventory and functional analysis of the large Hrp regulon in *Ralstonia solanacearum*: identification of novel effector proteins translocated to plant host cells through the type III secretion system[J]. Molecular Microbiology, 2004, 53(1): 115–128.
- [16] Jiang W, Jiang BL, Xu RQ, et al. Identification of six type III effector genes with the PIP box in *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* and five of them contribute individually to full pathogenicity[J]. Molecular Plant-Microbe Interaction, 2009, 22(11): 1401–1411.
- [17] Furutani A, Takaoka M, Sanada H, et al. Identification of novel type III secretion effectors in *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*[J]. Molecular Plant-Microbe Interactions, 2009, 22(1): 96–106.
- [18] Xu RQ, Blanvillain S, Feng JX, et al. AvrAC_{Xcc8004}, a type III effector with a leucine rich repeat domain from *Xanthomonas campestris* pathovar *campestris* confers avirulence in vascular tissues of *Arabidopsis thaliana* ecotype Col-0[J]. Journal of Bacteriology, 2008, 190(1): 343–355.
- [19] Roden JA, Belt B, Ross JB, et al. A genetic screen to isolate type III effectors translocated into pepper cells during *Xanthomonas* infection[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences USA, 2004, 101(49): 16624–16629.
- [20] Noël L, Thieme F, Gäbler J, et al. XopC and XopJ, two novel type III effector proteins from *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria*[J]. Journal of Bacteriology, 2003, 185(24): 7092–7102.
- [21] Salanoubat M, Genin S, Artiguenave F, et al. Genome sequence of the plant pathogen *Ralstonia solanacearum*[J]. Nature, 2002, 415(6871): 497–502.
- [22] da Silva ACR, Ferro JA, Reinach FC, et al. Comparison of the genomes of two *Xanthomonas* pathogens with differing host specificities[J]. Nature, 2002, 417(6887): 459–463.
- [23] Almeida NF, Yan S, Lindeberg M, et al. A draft genome sequence of *Pseudomonas syringae* pv. *tomato* T1 reveals a type III effector repertoire significantly divergent from that of *Pseudomonas syringae* pv. *tomato* DC3000[J]. Molecular Plant-Microbe Interactions, 2009, 22(1): 52–62.
- [24] Feil H, Feil WS, Chain P, et al. Comparison of the complete genome sequences of *Pseudomonas syringae* pv. *syringae* B728a and pv. *tomato* DC3000[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences USA, 2005, 102(31): 11064–11069.
- [25] Macho AP, Zumaquero A, Ortiz-Martín I, et al. Competitive index in mixed infections: a sensitive and accurate assay for the genetic analysis of *Pseudomonas syringae*-plant interactions[J]. Molecular Plant Pathology, 2007, 8(4): 437–450.
- [26] Hann DR, Gimenez-Ibanez S, Rathjen JP. Bacterial virulence effectors and their activities[J]. Current Opinion in Plant Biology, 2010, 13(4): 388–393.
- [27] Scholze H, Boch J. TAL effectors are remote controls for gene activation[J]. Current Opinion in Microbiology, 2011, 14(1): 47–53.
- [28] Amori H, Tsuyumu S. Comparison of nucleotide sequences of canker-forming and non-canker-forming *pthA* homologues in *Xanthomonas campestris* pv. *citri*[J]. Annal Phytopathology Soc Japan, 1998, 64(5): 462–470.
- [29] Shiotani H, Fujikawa T, Ishihara H, et al. A *pthA* homolog from *Xanthomonas axonopodis* pv. *citri* responsible for

- host-specific suppression of virulence[J]. *Journal of Bacteriology*, 2007, 189(8): 3271–3279.
- [30] Al-Saadi A, Reddy JD, Duan YP, et al. All five host-range variants of *Xanthomonas citri* carry one *pthA* homolog with 17.5 repeats that determines pathogenicity on citrus, but none determine host-range variation[J]. *Molecular Plant-Microbe Interactions*, 2007, 20(8): 934–943.
- [31] Kay S, Boch J, Bonas U. Characterization of AvrBs3-like effectors from a *Brassicaceae* pathogen reveals virulence and avirulence activities and a protein with a novel repeat architecture[J]. *Molecular Plant-Microbe Interactions*, 2005, 18(8): 838–848.
- [32] Vorhölter FJ, Schneider S, Goesmann A, et al. The genome of *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* B100 and its use for the reconstruction of metabolic pathways involved in xanthan biosynthesis[J]. *Journal of Biotechnology*, 2008, 134(1/2): 33–45.
- [33] Qian W, Jia YT, Ren SX, et al. Comparative and functional genomic analyses of the pathogenicity of phytopathogen *Xanthomonas campestris* pv. *campestris*[J]. *Genome Research*, 2005, 15(6): 757–767.
- [34] Bonas U, Conrads-Strauch J, Balbo I. Resistance in tomato to *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria* is determined by alleles of the pepper-specific avirulence gene *avrBs3*[J]. *Molecular and General Genetics*, 1993, 238(1/2): 261–269.
- [35] Schornack S, Ballvora A, Gürlebeck D, et al. The tomato resistance protein Bs4 is a predicted non-nuclear TIR-NB-LRR protein that mediates defense responses to severely truncated derivatives of AvrBs4 and overexpressed AvrBs3[J]. *The Plant Journal*, 2004, 37(1): 46–60.
- [36] Bonas U, Stall RE, Staskawicz B. Genetic and structural characterization of the avirulence gene *avrBs3* from *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria*[J]. *Molecular and General Genetics*, 1989, 218(1): 127–136.
- [37] Kay S, Hahn S, Marois E, et al. A bacterial effector acts as a plant transcription factor and induces a cell size regulator[J]. *Science*, 2007, 318(5850): 648–651.
- [38] Römer P, Hahn S, Jordan T, et al. Plant pathogen recognition mediated by promoter activation of the pepper *Bs3* resistance gene[J]. *Science*, 2007, 318(5850): 645–651.
- [39] Hopkins CM, White FF, Choi SH, et al. Identification of a family of avirulence genes from *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*[J]. *Molecular Plant-Microbe Interactions*, 1992, 5(6): 451–459.
- [40] Yang B, White FF. Diverse members of the AvrBs3/PthA family of type III effectors are major virulence determinants in bacterial blight disease of rice[J]. *Molecular Plant-Microbe Interactions*, 2004, 17(11): 1192–1200.
- [41] Yang B, Zhu WG, Johnson LB, et al. The virulence factor AvrXa7 of *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* is a type III secretion pathway-dependent nuclear-localized double-stranded DNA-binding protein[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA*, 2000, 97(17): 9807–9812.
- [42] 张子宇, 赵帅, 莫伟兰, 等. 水稻白叶枯病菌 GX1329 基因组文库的构建及含编码 TAL 效应物基因的克隆的分离[J]. *基因组学与应用生物学*, 2011, 30(4): 352–358.
- [43] Gonzalez C, Szurek B, Manceau C, et al. Molecular and pathotypic characterization of new *Xanthomonas oryzae* strains from West Africa[J]. *Molecular Plant-Microbe Interactions*, 2007, 20(5): 534–546.
- [44] Song CF, Yang B. Mutagenesis of 18 type III effectors reveals virulence function of *XopZ_{PXO99A}* in *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*[J]. *Molecular Plant-Microbe Interactions*, 2010, 23(7): 893–902.
- [45] Da Cunha L, Sreerekha MV, Mackey D. Defense suppression by virulence effectors of bacterial phytopathogens[J]. *Current Opinion in Plant Biology*, 2007, 10(4): 349–357.
- [46] Yang Y, Zhao JY, Morgan RL, et al. Computational prediction of type III secreted proteins from gram-negative bacteria[J]. *BMC bioinformatics*, 2010, 11: S47.
- [47] Moscou MJ, Bogdanove AJ. A simple cipher governs DNA recognition by TAL effectors[J]. *Science*, 2009, 326(5959): 1501.
- [48] Guttman DS, Vinatzer BA, Sarkar SF, et al. A functional screen for the type III (Hrp) secretome of the plant pathogen *Pseudomonas syringae*[J]. *Science*, 2002, 295(5560): 1722–1726.
- [49] Gürlebeck D, Thieme F, Bonas U. Type III effector proteins from the plant pathogen *Xanthomonas* and their role in the interaction with the host plant[J]. *Journal of Plant Physiology*, 2006, 163(3): 233–255.
- [50] Cunnac S, Lindeberg M, Collmer A. *Pseudomonas syringae* type III secretion system effectors: repertoires in search of functions[J]. *Current Opinion in Microbiology*, 2009, 12(1): 53–60.
- [51] Kvitko BH, Park DH, Velásquez AC, et al. Deletions in the repertoire of *Pseudomonas syringae* pv. *tomato* DC3000 type III secretion effector genes reveal functional overlap among effectors[J]. *PLoS Pathogens*, 2009, 5(4): e1000388.
- [52] Kearney B, Staskawicz BJ. Widespread distribution and fitness contribution of *Xanthomonas campestris*

- avirulence gene *avrBs2*[J]. *Nature*, 1990, 346(6282): 385–386.
- [53] Wichmann G, Bergelson J. Effector genes of *Xanthomonas axonopodis* pv. *vesicatoria* promote transmission and enhance other fitness traits in the field[J]. *Genetics*, 2004, 166(2): 693–706.
- [54] Hotson A, Chosed R, Shu HJ, et al. *Xanthomonas* type III effector XopD targets SUMO-conjugated proteins in planta[J]. *Molecular Microbiology*, 2003, 50(2): 377–389.
- [55] Jiang BL, He YQ, Cen WJ, et al. The type III secretion effector XopXccN of *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* is required for full virulence[J]. *Research in Microbiology*, 2008, 159(3): 216–220.
- [56] Kim JG, Taylor KW, Hotson A, et al. XopD SUMO protease affects host transcription, promotes pathogen growth, and delays symptom development in *Xanthomonas*-infected tomato leaves[J]. *The Plant Cell*, 2008, 20(7): 1915–1929.
- [57] Kim JG, Li XY, Roden JA, et al. *Xanthomonas* T3S effector XopN suppresses PAMP-triggered immunity and interacts with a tomato atypical receptor-like kinase and TFT1[J]. *The Plant Cell*, 2009, 21(4): 1305–1323.
- [58] Metz M, Dahlbeck D, Morales CQ, et al. The conserved *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria* effector protein XopX is a virulence factor and suppresses host defense in *Nicotiana benthamiana*[J]. *The Plant Journal*, 2005, 41(6): 801–814.
- [59] Bartetzko V, Sonnwald S, Vogel F, et al. The *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria* type III effector protein XopJ inhibits protein secretion: evidence for interference with cell wall-associated defense responses[J]. *Molecular Plant-Microbe Interactions*, 2009, 22(6): 655–664.
- [60] Büttner D, He SY. Type III protein secretion in plant pathogenic bacteria[J]. *Plant Physiology*, 2009, 150(4): 1656–1664.
- [61] Bogdanove AJ, Schornack S, Lahaye T. TAL effectors: finding plant genes for disease and defense[J]. *Current Opinion in Plant Biology*, 2010, 13(4): 394–401.
- [62] 李玉蓉, 邹丽芳, 武晓敏, 等. 水稻黄单胞菌 *avrBs3/PthA* 家族基因研究进展[J]. *中国农业科学*, 2007, 40(10): 2193–2199.
- [63] Gu KY, Yang B, Tian DS, et al. *R* gene expression induced by a type-III effector triggers disease resistance in rice[J]. *Nature*, 2005, 435(7045): 1122–1125.
- [64] Yang B, Sugio A, White FF. *OsδN3* is a host disease-susceptibility gene for bacterial blight of rice[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA*, 2006, 103(27): 10503–10508.
- [65] Sugio A, Yang B, Zhu T, et al. Two type III effector genes of *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* control the induction of the host genes *OsTFIIA1* and *OsTFXI* during bacterial blight of rice[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA*, 2007, 104(25): 10720–10725.
- [66] Bai JF, Choi SH, Ponciano G, et al. *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* avirulence genes contribute differently and specifically to pathogen aggressiveness[J]. *Molecular Plant-Microbe Interactions*, 2000, 13(12): 1322–1329.
- [67] Li P, Long JY, Huang YC, et al. *AvrXa3*: A novel member of *avrBs3* gene family from *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* has a dual function[J]. *Progress in Natural Science*, 2004, 14(9): 767–773.
- [68] Zou HS, Zhao WX, Zhang XF, et al. Identification of an avirulence gene, *avrxa5*, from the rice pathogen *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*[J]. *Science China Life Sciences*, 2010, 53(12): 1440–1449.
- [69] Yu YH, Streubel J, Balzergue S, et al. Colonization of rice leaf blades by an African strain of *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* depends on a new TAL effector that induces the rice nodulin-3 *OsIIN3* gene[J]. *Molecular Plant-Microbe Interactions*, 2011, 24(9): 1102–1113.
- [70] Boch J, Bonas U. *Xanthomonas* AvrBs3 family-type III effectors: discovery and function[J]. *Annual Review of Phytopathology*, 2010, 48(1): 419–436.
- [71] Schornack S, Minsavage GV, Stall RE, et al. Characterization of AvrHah1, a novel AvrBs3-like effector from *Xanthomonas gardneri* with virulence and avirulence activity[J]. *New Phytologist*, 2008, 179(2): 546–556.
- [72] Marois E, Van den Ackerveken G, Bonas U. The *Xanthomonas* type III effector protein AvrBs3 modulates plant gene expression and induces cell hypertrophy in the susceptible host[J]. *Molecular Plant-Microbe Interactions*, 2002, 15(7): 637–646.
- [73] Gamas P, de Carvalho Niebel F, Lescure N, et al. Use of a subtractive hybridization approach to identify new *Medicago truncatula* genes induced during root nodule development[J]. *Molecular Plant Microbe Interactions*, 1996, 9(4): 233–242.
- [74] Yuan M, Chu ZH, Li XH, et al. Pathogen-induced expressional loss of function is the key factor in race-specific bacterial resistance conferred by a recessive *R* gene *xa13* in rice[J]. *Plant and Cell Physiology*, 2009, 50(5): 947–955.
- [75] White FF, Yang B. Host and pathogen factors controlling the rice-*Xanthomonas oryzae* interaction[J]. *Plant Physiology*, 2009, 150(4): 1677–1686.
- [76] Kay S, Hahn S, Marois E, et al. Detailed analysis of the DNA recognition motifs of the *Xanthomonas* type III effectors AvrBs3 and AvrBs3Δrep16[J]. *The Plant Journal*,

- 2009, 59(6): 859–871.
- [77] Römer P, Recht S, Strauß T, et al. Promoter elements of rice susceptibility genes are bound and activated by specific TAL effectors from the bacterial blight pathogen, *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*[J]. *New Phytologist*, 2009, 187(4): 1048–1057.
- [78] Gu KY, Tian DS, Qiu CX, et al. Transcription activator-like type III effector AvrXa27 depends on OsTFIIAγ5 for the activation of *Xa27* transcription in rice that triggers disease resistance to *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*[J]. *Molecular Plant Pathology*, 2009, 10(6): 829–839.
- [79] Tian DS, Yin ZC. Constitutive heterologous expression of *avrXa27* in rice containing the *R* gene *Xa27* confers enhanced resistance to compatible *Xanthomonas oryzae* strains[J]. *Molecular Plant Pathology*, 2009, 10(1): 29–39.
- [80] Wu LF, Goh ML, Sreekala C, et al. XA27 depends on an amino-terminal signal-anchor-like sequence to localize to the apoplast for resistance to *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*[J]. *Plant Physiology*, 2008, 148(3): 1497–1509.
- [81] Zhou Y, Cao YL, Huang Y, et al. Multiple gene loci affecting genetic background-controlled disease resistance conferred by *R* gene *Xa3/Xa26* in rice[J]. *Theoretical and Applied Genetics*, 2009, 120(1): 127–138.
- [82] Boch J, Scholze H, Schornack S, et al. Breaking the code of DNA binding specificity of TAL-type III effectors[J]. *Science*, 2009, 326(5959): 1509–1512.
- [83] Römer P, Recht S, Lahaye T. A single plant resistance gene promoter engineered to recognize multiple TAL effectors from disparate pathogens[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA*, 2009, 106(48): 20526–20531.
- [84] Murakami MT, Sforça ML, Neves JL, et al. The repeat domain of the type III effector protein PthA shows a TPR-like structure and undergoes conformational changes upon DNA interaction[J]. *Proteins*, 2010, 78(16): 3386–3395.
- [85] D’Andrea LD, Regan L. TPR proteins: the versatile helix[J]. *Trends in Biochemical Sciences*, 2003, 28(12): 655–662.
- [86] O’Toole N, Hattori M, Andres C, et al. On the expansion of the pentatricopeptide repeat gene family in plants[J]. *Molecular Biology and Evolution*, 2008, 25(6): 1120–1128.

稿件书写规范

高校教改纵横栏目简介及撰稿要求

“高校教改纵横”栏目，原“高等院校教学”，是中国微生物学会主办的科技期刊中唯一的教学类栏目，也是中国自然科学核心期刊中为数不多的教学栏目。该栏目专为微生物学及其相关学科领域高校教师开辟，一方面为高校微生物学科的教师提供一个发表论文的平台，同时微生物关联学科的一部分确实优秀的论文也可以在此发表，是微生物学及相关领域教学研究、交流、提高的园地。

本栏目的文章有别于其他实验类研究报告，特色非常鲜明。要求作者来自教学第一线，撰写的稿件内容必须要有新意、要实用，不是泛泛地叙述教学设计与过程，而是确实有感而发，是教学工作中的创新体会，或者在教学中碰到的值得商榷的、可以与同行讨论的有价值的论题。在内容选材上应该有鲜明的特点和针对性，做到主题明确、重点突出、层次分明、语言流畅。教师的教学思路应与时俱进，注意将国内外新的科技成果和教学理念贯穿到教学之中，只有这样才能真正起到教与学的互动，促进高校生物学教学的发展，更好地培养出国家需要的高科技创新人才。这也是本栏目的目的所在。

同时，为了给全国生物学领域的教学工作者提供一个更广阔更高层次的交流平台，本栏目还开辟了“名师名课”版块，邀约相关生命科学领域，如微生物学、分子生物学、生物医学、传染病学、环境科学等的教学名师、知名科学家就教学和学生培养发表观点，推荐在教学改革、教学研究、引进先进教学手段或模式以及学生能力培养等方面有突出成绩的优秀论文，为高校教师以及硕士、博士研究生导师提供一个可资交流和学习的平台，促进高校教学和人才培养水平的提高。

欢迎投稿！欢迎对本栏目多提宝贵意见！