

# 丁香假单胞菌中的 III 型分泌系统及其调控机制研究进展

王卓雅, 邓强, 张义菊, 张立新\*

安徽农业大学植物保护学院 作物有害生物综合治理安徽省重点实验室, 安徽 合肥 230036

王卓雅, 邓强, 张义菊, 张立新. 丁香假单胞菌中的 III 型分泌系统及其调控机制研究进展[J]. 微生物学通报, 2022, 49(9): 3979-3988

Wang Zhuoya, Deng Qiang, Zhang Yiju, Zhang Lixin. T3SS in *Pseudomonas syringae* and the regulatory mechanism: a review[J]. Microbiology China, 2022, 49(9): 3979-3988

**摘要:** 丁香假单胞菌(*Pseudomonas syringae*)是引起许多作物病害的一种革兰氏阴性病原细菌。该细菌入侵寄主植物细胞主要通过其 III 型分泌系统(type III secretion system, T3SS)将效应蛋白转入到寄主真核细胞内, 抑制寄主免疫功能, 以达到成功侵染和定殖的目的。III 型分泌系统的主调控因子 RhpR/S 通过感受环境信号的变化直接调控 hrpR/S 及其他毒力相关通路。同时 III 型分泌系统基因的表达也受到其他调控因子的影响, 包括  $\sigma$  因子 HrpL、双组分系统 GacA/S、Lon 蛋白酶、第二信使分子和环境信号等。本文在简要介绍丁香假单胞菌 III 型分泌系统组成和功能的基础上, 综述丁香假单胞菌 III 型分泌系统调控机制的最新研究进展, 以期为深入探究病原菌的致病机制提供参考和思路。

**关键词:** 丁香假单胞菌; III 型分泌系统; 调控机制

## T3SS in *Pseudomonas syringae* and the regulatory mechanism: a review

WANG Zhuoya, DENG Qiang, ZHANG Yiju, ZHANG Lixin\*

Anhui Province Key Laboratory of Integrated Pest Management on Crops, School of Plant Protection, Anhui Agricultural University, Hefei 230036, Anhui, China

**Abstract:** The Gram-negative *Pseudomonas syringae* causes diverse plant diseases. It injects effector proteins into host cells via type III secretion system (T3SS), thereby suppressing the immune system of

基金项目: 国家自然科学基金(32072378)

Supported by: National Natural Science Foundation of China (32072378)

\*Corresponding author: E-mail: lxzhang@ahau.edu.cn

Received: 2022-01-27; Accepted: 2022-04-05; Published online: 2022-04-28

the host and colonizing the host. RhpR/S, the main regulator of T3SS, directly regulates *hrpR/S* and other virulence-related pathways in response to changes in environmental signals. The expression of the T3SS genes is also affected by other regulatory factors, including sigma factor HrpL, two-component system GacA/S, Lon protease, second messenger molecules, and environmental signals. This paper aims to brief the composition and functions of T3SS in *P. syringae* and review the regulatory mechanism of T3SS in the bacterial species, which is expected to serve as a reference for in-depth research on the pathogenic mechanisms of *P. syringae*.

**Keywords:** *Pseudomonas syringae*; type III secretion system; regulatory mechanisms

丁香假单胞菌(*Pseudomonas syringae*)是一种重要的革兰氏阴性细菌,可导致番茄、大豆和烟草等多种经济作物病害<sup>[1]</sup>。由该细菌引起的病害发展迅速、危害严重且在各地流行性发生,成为全球关注的病原细菌,其引起植物病害的发生率居十大植物细菌性病害之首<sup>[1-2]</sup>。丁香假单胞菌属于假单胞菌属,根据寄主及引发的症状不同可将其分为 50 多个致病变种<sup>[2-3]</sup>。该细菌能够侵染大部分植物的气生组织,通过伤口或气孔等自然孔口进入质外体,继而迅速繁殖,导致寄主植物出现坏死、黄化等症状<sup>[1,3]</sup>。

丁香假单胞菌侵染寄主植物,通过分泌胞壁降解酶、毒素等物质破坏植物细胞的细胞壁、细胞膜等方式导致植物发病。当丁香假单胞菌进入植物组织的质外体后,通过 III 型分泌系统(type III secretion system, T3SS)将效应蛋白输入到寄主细胞中,抑制植物免疫反应的信号途径,从而逃避寄主植物的防御反应,以达到成功定殖<sup>[2,4]</sup>。编码 T3SS 结构蛋白和效应分子的基因在侵染寄主植物早期阶段被诱导表达<sup>[5-7]</sup>。若无 T3SS,病原菌便不能克服植物的基础抗性使其在植物体内定殖,反而会诱发寄主产生抗病反应<sup>[2]</sup>。除了假单胞菌,T3SS 在其他革兰氏阴性细菌中也存在,包括耶尔森氏菌、肠炎沙门氏菌、志贺氏菌和埃希氏大肠杆菌等<sup>[8]</sup>。虽然革兰氏阴性细菌的 T3SS 在分子结构和转运机制

上有许多相似之处,但是被转运的效应分子、T3SS 基因的表达调控方式及致病机理却有很大差异<sup>[9]</sup>。T3SS 综合调控网络的解析对深入了解丁香假单胞菌的致病机理及研发新的靶标药物具有重要的科学意义。为此,本文在简要介绍丁香假单胞菌 T3SS 组成和功能的基础上,对 T3SS 表达调控的研究进展进行综述和讨论。

## 1 T3SS 的组成及结构

T3SS 是存在于许多革兰氏阴性致病菌中的复杂分子装置,包括丁香假单胞菌、耶尔森氏菌、肠炎沙门氏菌、志贺氏菌和铜绿假单胞菌等<sup>[9]</sup>。该装置类似于针状结构(needle complex, NC),主要由蛋白质组成,跨越细菌内膜、周质空间、肽聚糖层、细菌外膜、细胞外空间和寄主细胞膜,为效应物从细菌的细胞质进入寄主提供了一条连续且直接的途径<sup>[10]</sup>。NC 由一个延伸的螺旋结构(针)和跨越内外细菌膜和周质空间的基底组成,基底本身由两组同心圆环复合物组成,嵌在每一层膜中;其在细胞外分为 3 个主要部分:(1)“针”,它是由 YscF 家族特定蛋白的上百个拷贝组成的螺旋聚合物<sup>[11]</sup>;(2)延伸区,由序列分化的蛋白组成;(3)易位孔,由来自 YopB 和 YopD 家族的 2 个蛋白组成。据推测,这 2 个蛋白寡聚成寄主膜上的通道,是效应物进入寄主细胞所必需的通道<sup>[12]</sup>。这些结构

部件均通过基底体连接到细胞外空间, 并起着蛋白质分泌装置的作用<sup>[10]</sup>。T3SS 在植物-病原互动中起重要作用<sup>[13-14]</sup>, 负责把效应蛋白等毒力因子输送到寄主细胞。丁香假单胞菌的 T3SS 由 *hrp* 和 *hrc* 基因簇的产物编码和调控, 与许多 T3SS 效应基因聚集在一起, 形成一个致病相关的岛<sup>[15]</sup>。T3SS 存在一个高度复杂的调控网络, 其控制着丁香假单胞菌的致病性。细菌将 T3SS 针尖插入寄主细胞膜, 通过接触依赖性转运将效应蛋白注入到寄主真核细胞内, 使寄主细胞成为适宜侵染的环境<sup>[16-17]</sup>。

## 2 T3SS 的激活

假单胞菌、欧文氏菌和斯氏泛菌的大多数 T3SS 基因的表达主要由  $\sigma$  因子 HrpL 调控<sup>[15,18]</sup>。丁香假单胞菌 T3SS 基因的表达可被 HrpL 在不同水平(包括转录、稳定性和活性)上激活, *hrpL* 的诱导主要由 HrpR/S 控制, 该调控因子与 T3SS 基因启动子中高度保守的 *hrp* box (GGAACC-N<sub>15/16</sub>-CCACNNA) 结合<sup>[9,15]</sup>。*hrpL* 的诱导需要  $\sigma$  因子 rpoN ( $\sigma^{54}$ ) 和 2 个转录激活因子 HrpR 和 HrpS; *hrpR* 和 *hrpS* 基因是相邻的, 具有相同的启动子<sup>[15]</sup>。一般来说, HrpR 和 HrpS 作为一种异二聚体, HrpS 即使在无 HrpR 的情况下也能诱导少量的 *hrpL* 表达<sup>[9,19]</sup>。HrpR 和 HrpS 依赖  $\sigma^{54}$  因子进行转录调控<sup>[9]</sup>。在 T3SS 诱导条件下, HrpR/S 与 *hrpL* 启动子结合, 在 rpoN-RNA 聚合酶的协助下激活 *hrpL* 转录, 从而激活 T3SS 的表达<sup>[9]</sup>。

除此之外, *hrpL* 转录还受到其他胞内蛋白的影响。在 *aefR* 突变体中, T3SS 基因的诱导表达减弱, 细菌致病性降低, 表明 AefR 是群体感应和 T3SS 的双功能调节因子<sup>[20]</sup>。在 DC3000 菌株中, *hrpL* 操纵子受双组分系统 CorR/S 调控<sup>[21]</sup>。当丁香假单胞菌侵染寄主植物时, CorR/S

通过控制冠状毒素的产生来诱导寄主细胞气孔的开闭<sup>[22-23]</sup>。CorR 与 *hrpL* 上游区域结合, 直接调控 *hrpL* 基因的早期转录<sup>[21]</sup>。在 DC3000 菌株的 *psrA* 突变体中, *hrpL* 转录水平降低, 侵染番茄叶片的毒力减弱, 这表明 *psrA* 突变对 *hrpL* 的表达有正调控作用<sup>[24]</sup>。有研究表明, 一种脂蛋白 HrpT 能够以不依赖环境的方式抑制 *hrpL* 的表达<sup>[25]</sup>。

## 3 T3SS 的主要调控因子 RhpR/S

双组分系统是一种信号转导系统, 至少由两种蛋白组成, 即负责感知外部刺激的传感器激酶和反应调节因子, 是细菌适应外界环境变化的一种机制<sup>[26]</sup>。丁香假单胞菌的双组分系统 RhpR/S 直接调控 *hrpR/S* 和其他与毒力相关的通路, 并在 T3SS 的调控网络中发挥关键作用, 是参与 T3SS 调控的主要因子<sup>[15]</sup>。在富营养的条件下, RhpR 被 RhpS 磷酸化, 直接抑制 *hrpR/S*-*hrpL*-T3SS 级联反应<sup>[27-28]</sup>。RhpR/S 直接调控 *hrp/hrc* 基因的启动子区域<sup>[15]</sup>。植物病原细菌的 *hrp* 基因簇可分为两个类群: 一类 *hrp* 基因来自 *P. syringae*、*Erwinia* spp. 和 *Pantoea stewartii*; 另一类 *hrp* 基因来自 *Ralstonia solanacearum* 和 *Xanthomonas* spp.<sup>[15]</sup>。一般来说, 同一类群的 *hrp* 基因在其调控系统中具有相似的机制, 它们在诱导非寄主植物的过敏反应和引起寄主植物发病中发挥着重要作用<sup>[9,15]</sup>。研究表明, 双组分系统(RhpR/S、CvsR/S 和 GacA/S)与 AlgU 和 HrpA 共同调控 *hrpR/S* 的 mRNA 水平, HrpG 和 HrpV 是 HrpR/S 转录后重要的调控因子<sup>[15]</sup>, 这些因子都直接或间接参与了丁香假单胞菌 T3SS 的调控网络和途径。双组分系统在其他植物病原细菌的致病性中也具有重要作用。如在水稻条斑病菌中, RpfC/G 双组分系统通过降解 c-di-GMP 促进胞外多糖、生物膜等的转录表达,

进而影响细菌的毒力<sup>[29]</sup>。

### 3.1 转录因子 HrpR/S

转录因子是由基因编码的一类蛋白质,能够与基因启动子区域中的顺式作用元件发生特异性作用,其功能是通过它们之间以及与其他相关蛋白之间的相互作用来激活或抑制某些基因的转录水平,从而改变细胞生理状态<sup>[30-31]</sup>。丁香假单胞菌的转录因子 HrpR 和 HrpS 通过在 *hrpL* 启动子处激活  $\sigma^{54}$  依赖的转录来激活 T3SS 参与的毒性<sup>[19]</sup>。HrpS 是 HrpRS 复合物的的重要组成部分,是控制 T3SS 基因表达的关键转录因子,其能单独调控细菌 T3SS 的表达、运动性和生物膜的形成<sup>[32-33]</sup>。硫代烷能直接修饰 HrpS 蛋白,从而抑制细菌 T3SS 表达和毒力<sup>[3,32,34]</sup>。*hrpR* 的启动子和编码序列保守,只有 *hrpR* 激活才能使 *hrp* 调节子的转录水平提高<sup>[3]</sup>。HrpS 作为同源低聚体激活转录,与 HrpR 直接作用形成一种高度依赖的异六聚体复合物,触发 T3SS 参与的毒性<sup>[9,19]</sup>。*hrpR* 和 *hrpS* 串联排列,转录为单一的操纵子,并表现出高度的序列相似性,因此它们很可能由共同的原始基因进化成相互依赖的复合体<sup>[3,33]</sup>。

HrpR 和 HrpS 是 T3SS 表达的正向调控因子,它们均是增强子结合蛋白家族(EPS)中的成员<sup>[35-36]</sup>,通常作为双组分系统的反应调节因子<sup>[37]</sup>。大多数增强子结合蛋白是模块化的,由调节接收结构域(AB)、与  $\sigma^{54}$  相互作用的中心结构域(C)及与增强子或上游激活区结合的结构域(D)组成<sup>[38-39]</sup>。与其他增强子结合蛋白类似,HrpR 和 HrpS 保留了与  $\sigma^{54}$  相互作用的中心结构域(C)和 DNA 结合域(D)<sup>[38-39]</sup>,但不同于大多数在双组分系统中发挥作用的增强结合子,原因在于它们明显缺乏受体域,而受体域在响应磷酸化调节中发挥作用<sup>[9,40]</sup>。虽然 HrpR 和 HrpS 协同调控 *hrpL*,但它们也有各自的调控特点。

HrpS 与其他胞内蛋白相互作用,而 HrpR 倾向与核苷酸结合来发挥作用<sup>[19]</sup>。HrpS 单独激活 T3SS 效应基因 *hopAJI* 和 *hrp* (*hrpK1* 和 *hrpA2*) 的转录,表明其在 T3SS 级联调控中的核心作用<sup>[19,34]</sup>。也有研究表明,HrpS 可以独立于 HrpR 来激活丁香假单胞菌 *hrp* 基因的表达<sup>[15]</sup>。T3SS 诱导环境中,在  $\sigma^{54}$  因子 RpoN 的帮助下,HrpR 与 HrpS 形成异源二聚体,直接激活 T3SS 的转录<sup>[3]</sup>。

### 3.2 *hrpR/S* 操纵子的诱导受 RhpR/S 的调控

双组分系统使微生物能够感知并对环境刺激做出反应,典型的双组分系统包括感知胞外信号的组氨酸激酶和调控下游基因表达的同源反应调节因子<sup>[41-42]</sup>。*hrpR/S* 操纵子的转录受双组分系统 RhpR/S 的调控<sup>[15]</sup>。组氨酸激酶 RhpS 负责感知外部营养条件的变化,直接抑制下游 *hrpR/S* 操纵子的转录,进而调控 RhpR<sup>[20,27,43]</sup>。*rhpR* 和 *rhpS* 位于同一个操纵子中,其中 *rhpR* 基因编码反应调节因子,而 *rhpS* 编码同源的感应激酶<sup>[15]</sup>。在 T3SS 诱导条件下(植物组织内或 MM 培养基),*rhpS* 的缺失可显著降低 T3SS 基因的表达,从而抑制非寄主植物的过敏性反应以及对寄主植物的致病性<sup>[44]</sup>。此外,*rhpR/S* 双突变体与野生型菌株具有类似的 *hrpR/S* 诱导水平和毒性,表明 RhpR 具有负调控 *hrpR/S* 的作用<sup>[15]</sup>。

RhpR 的磷酸化位点 D70 在负调控 T3SS 基因表达中至关重要<sup>[44]</sup>。磷酸化的 RhpR 控制多种与细菌毒力相关的表型,包括 T3SS、运动性、c-di-GMP 水平、脂多糖和生物膜的形成等<sup>[15]</sup>。RhpS 磷酸化后优先与携带反向重复基元(GTATC-N<sub>6</sub>-GATAC)的区域(包括自身的启动子区域)结合<sup>[27,43]</sup>。研究发现,RhpR 可直接与 *hrpR/S* 上游区域的 5'端不完全反向重复基元结合,表明其直接调控 *hrpRS-hrpL*-T3SS 的级联反应<sup>[27]</sup>。

## 4 HrpR/S 异质二聚体的组装

HrpG 和 HrpV 是 HrpRS 转录后重要的调控因子, 在丁香假单胞菌中, *hrpG* 和 *hrpV* 基因位于同一个操纵子上; 在 T3SS 诱导培养基中, *hrpV* 负调控 T3SS<sup>[15]</sup>。HrpV 直接与 HrpS 中的 AAA<sup>+</sup>结构域结合, 干扰 HrpR/S 异质二聚体的形成, 进而影响 T3SS 基因的表达<sup>[19]</sup>。相反地, HrpG 可以阻断过表达的 *hrpV* 对 T3SS 基因的抑制<sup>[45]</sup>。T3SS 的 2 个伴侣蛋白 HrpJ 和 HrpF 也参与了 HrpR/S/V/G 的调控<sup>[46-48]</sup>。HrpJ 直接与 HrpGV 异二聚体结合形成 1:1:1 的 HrpGVJ 三联体, 并附着在细菌膜上, 可能是通过阻止 HrpGV 接触 DNA, 从而负调控 T3SS 基因的表达<sup>[48]</sup>。此外, HrpF 可直接与 HrpG 蛋白结合, 通过 HrpR/S/V/G 途径对 T3SS 起负调控作用<sup>[47]</sup>。

## 5 T3SS 的其他调控因子

GacA/S 是参与调控 T3SS 高度保守的双组分系统, 是不同病原细菌毒力性状的重要调控因子, 包括丁香假单胞菌和铜绿假单胞菌等<sup>[26]</sup>。膜结合的传感器激酶 GacS 能被环境信号激活, 使细胞质内的反应调节子 GacA 磷酸化, 磷酸化的 GacA 蛋白结合 sRNA 基因 *RsmX*、*RsmY* 和 *RsmZ* 的启动子区域, 进而促进它们的转录<sup>[49]</sup>。在丁香假单胞菌中, GacA/S 作为与细菌毒力性状相关的主调控因子, 调控了 T3SS 的表达、毒素产生和运动性<sup>[26,50]</sup>。GacA 是丁香假单胞菌 T3SS 的负调节因子, *gacA* 基因的突变可导致 *hrpRS* 和 *hrpL* 的诱导水平减弱, 进而导致细菌毒性降低<sup>[51,15]</sup>。我们课题组前期研究发现, *gacA* 突变后可导致细菌的游动性、胞外多糖的产生和生物膜的形成减弱, 也可以引起烟草的过敏反应减弱<sup>[52]</sup>。此外, 有研究发现 GacA 也影响了丁香假单胞菌群体感应信号 N-acyl-homoserine 的

生物合成<sup>[51]</sup>。

CvsR/S 双组分系统的诱导依赖环境中的 Ca<sup>2+</sup>浓度, 这是丁香假单胞菌发挥毒性的必要条件; CvsR 直接激活 T3SS 调节基因 *hrpR* 和 *hrpS* 的表达, 通过 T3SS 控制细菌的毒力<sup>[53]</sup>。AlgU 是一种胞外功能因子, 其能调节藻酸盐的产生以及对环境胁迫的抗性<sup>[15]</sup>。研究表明, AlgU 上调了 T3SS 基因 *hrpR/S*、*hrpL*、*hrpV* 和其他效应基因的表达, 而且可以直接诱导 *hrpR/S* 的表达<sup>[54]</sup>。*hrpA* 是 HrpL 的调控基因, 能被可溶性的植物细胞信号诱导<sup>[55-56]</sup>。研究表明, HrpA 上调了 *hrpR/S* 操纵子的表达<sup>[57]</sup>。

Lon 蛋白酶是 ATP 依赖的一种高度保守的多功能酶, 能够降解失去活性的蛋白<sup>[58]</sup>。在丁香假单胞菌中, Lon 蛋白酶能够靶向并切割 HrpR 蛋白, 但不能切割 HrpS 蛋白, 其负调控 T3SS 的表达<sup>[25]</sup>。在梨火疫病病菌中, *lon* 基因突变也导致 T3SS 的表达上调<sup>[59]</sup>, 但在铜绿假单胞菌中, *lon* 基因突变下调了 T3SS 相关基因的表达<sup>[59]</sup>。除此之外, Lon 还参与了 RhpR/S 介导的 T3SS 调控<sup>[60]</sup>, 同时其也可以作为蛋白酶参与丁香假单胞菌的代谢<sup>[59]</sup>。最近的一项研究发现, 在丁香假单胞 NPS3121 菌株的 *rhpC* 突变体中 T3SS 的表达降低: 在丁香假单胞菌的基因组中, *rhpC* 位于 *rhpP* 的下游, 共同组成 *rhpPC* 操纵子; 在缺失 *rhpC* 时, RhpP 蛋白酶影响了 HrpL 的积累, 从而抑制 T3SS 基因的表达<sup>[61]</sup>。

细菌的第二信使分子负责感知传递胞外信号和控制各种细胞进程, 使细菌能适应复杂的外界环境, 这对细菌生存尤为重要<sup>[62-63]</sup>。鸟苷四/五磷酸(p)ppGpp 和环二鸟苷酸 c-di-GMP 作为第二信使分子被证实能够调节丁香假单胞菌 T3SS 的级联反应; 在丁香假单胞菌中, (p)ppGpp 调控了多个毒力相关的通路, 如 T3SS 的表达、铁载体的产生、抗逆性、运动性和细胞形态<sup>[64]</sup>。

c-di-GMP 调节许多细菌生物膜的形成以及通过负调控 T3SS 的表达影响细菌毒力等<sup>[15,64]</sup>。在黄单胞菌中,环二鸟苷酸 c-di-GMP 水平降低会导致 EPS 和胞外酶类的产量增多,T3SS 的表达上调,进而导致病原细菌致病性降低<sup>[65]</sup>。

环境对微生物病原菌的侵染也至关重要。与野生型拟南芥相比,缺乏 *att1* 基因的拟南芥突变体接种 *P. syringae* pv. *tomato* 后, *avrPto* 和 *hrpL* 的表达升高; *att1* 基因编码一种催化脂肪酸氧化的酶 CYP86A2,这一结果表明,寄主植物合成的脂肪酸可能会抑制细菌 T3SS 基因的表达<sup>[66]</sup>。在 DC3000 菌株中, *hrpK* 的表达在番茄渗出液中被激活,说明可溶性低分子量植物信号参与了 T3SS 基因的诱导<sup>[56]</sup>。丁香假单胞

菌的 T3SS 表达在富营养的条件下被抑制,而在营养胁迫的条件下被诱导,说明 T3SS 不仅受内源因素的控制,而且也受外部信号的影响<sup>[15]</sup>。多项研究表明, T3SS 还受 pH、碳源、氮源、有机酸、温度和渗透压等一系列环境因素的影响<sup>[15]</sup>。在 DC3000 菌株中,果糖能有效诱导 *hrpRS* 的表达, *hrpL* 和几个 T3SS 效应基因在低细胞密度下也能被一些有机酸和糖(如蔗糖、葡萄糖、甘露醇和琥珀酸)显著激活<sup>[67]</sup>。在番茄中,己酸可以用来防御丁香假单胞菌的侵染<sup>[68]</sup>。然而,在高浓度的己酸下, *avrPtoB* 和 *hrpL* 的表达却上调。这种结果可能是由于过量己酸引起了非生物胁迫,同时也说明 T3SS 在细菌的生存和适应性中发挥重要作用<sup>[69]</sup>。

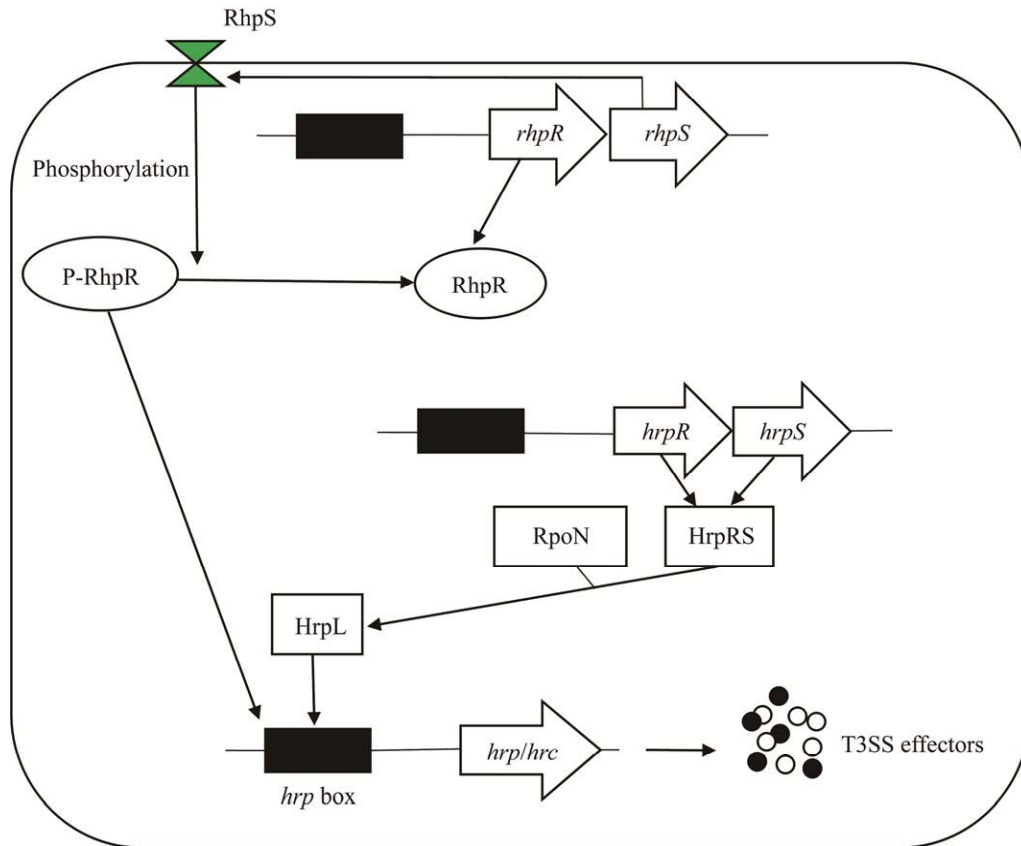


图 1 T3SS 调控丁香假单胞菌 *hrpRS-hrpL* 级联的模型

Figure 1 Model of T3SS regulation on *hrpRS-hrpL* cascade in *Pseudomonas syringae*.

## 6 结语与展望

T3SS 具有复杂的结构和功能, 细菌通过复杂的 T3SS 网络以快速响应外部环境的变化来实现成功入侵寄主, 从而使得病菌流行性传播。目前学者们对丁香假单胞菌 T3SS 的组成与结构及调控机制等方面进行了较多研究, 并取得了重要的进展, 但仍存在许多问题亟待解决。例如, T3SS 不仅受细胞内调控因子的影响, 同时也受外界环境信号和寄主因素等的调控。双组分系统 RhpRS 是 T3SS 的关键开关, 并鉴定发现了其他调节 T3SS 的信号转导系统<sup>[16]</sup>, 但细菌如何感应环境信号并做出相应反应的机制还知之甚少。双组分系统主要负责感知外界信号, 其在阐明环境寄主信号和 T3SS 调控互作关系过程中扮演着关键角色, 然而对于引发或抑制 T3SS 的环境和寄主信号分子仍不清楚。因此, 双组分系统信号途径或将成为控制丁香假单胞菌的主要靶标。设计靶向药物阻断信号转导途径或干扰关键蛋白的正常功能, 可有望干扰细菌的毒性等生物学功能。此外, 我们仍未完全清楚 T3SS 综合调控网络和特定的分子机制。T3SS 综合调控网络的解析有助于全面理解丁香假单胞菌 T3SS 的调控机制, 有利于发现抑制细菌侵染的分子靶标。筛选和鉴定与 T3SS 调控相关的关键基因, 并以此来设计靶向药物, 并将环境与寄主信号的调控途径进行联系, 构建出完整而全面的调控网络系统, 这不仅有助于更好地了解这种细菌, 也将有助于寻找生态友好和可持续的方法来控制丁香假单胞菌引起的病害。

## REFERENCES

[1] Turner SE, Pang YY, O'Malley MR, Weisberg AJ, Fraser VN, Yan Q, Chang JH, Anderson JC. A DeoR-type transcription regulator is required for

- sugar-induced expression of type III secretion-encoding genes in *Pseudomonas syringae* pv. *tomato* DC3000[J]. *Molecular Plant-Microbe Interactions*, 2020, 33(3): 509-518
- [2] 王丹丹, 王清明. 丁香假单胞菌的分子生物学研究进展[J]. *西北农业学报*, 2017, 26(4): 487-496  
Wang DD, Wang QM. Research advancement of molecular biology in *Pseudomonas syringae*[J]. *Acta Agriculturae Boreali-Occidentalis Sinica*, 2017, 26(4): 487-496 (in Chinese)
- [3] Hutcheson SW, Bretz J, Sussan T, Jin S, Pak K. Enhancer-binding proteins HrpR and HrpS interact to regulate hrp-encoded type III protein secretion in *Pseudomonas syringae* strains[J]. *Journal of Bacteriology*, 2001, 183(19): 5589-5598
- [4] Ichinose Y, Taguchi F, Mukaiharu T. Pathogenicity and virulence factors of *Pseudomonas syringae*[J]. *Journal of General Plant Pathology*, 2013, 79(5): 285-296
- [5] Xin XF, Kvitko B, He SY. *Pseudomonas syringae*: what it takes to be a pathogen[J]. *Nature Reviews Microbiology*, 2018, 16(5): 316-328
- [6] 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
- [7] Coburn B, Sekirov I, Finlay BB. Type III secretion systems and disease[J]. *Clinical Microbiology Reviews*, 2007, 20(4): 535-549
- [8] Hueck CJ. Type III protein secretion systems in bacterial pathogens of animals and plants[J]. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 1998, 62(2): 379-433
- [9] Miletic S, Goessweiner-Mohr N, Marlovits TC. The structure of the type III secretion system needle complex[J]. *Current Topics in Microbiology and Immunology*, 2020, 427: 67-90
- [10] Yip CK, Strynadka NCJ. New structural insights into the bacterial type III secretion system[J]. *Trends in Biochemical Sciences*, 2006, 31(4): 223-230
- [11] Cordes FS, Komoriya K, Larquet E, Yang SX, Egelman EH, Blocker A, Lea SM. Helical structure of the needle of the type III secretion system of *Shigella flexneri*[J]. *Journal of Biological Chemistry*, 2003, 278(19): 17103-17107
- [12] Schubert KA, Xu Y, Shao F, Auerbuch V. The *Yersinia* type III secretion system as a tool for studying cytosolic innate immune surveillance[J]. *Annual Review of Microbiology*, 2020, 74: 221-245
- [13] Hutcheson SW. The hrp Cluster of *Pseudomonas*

- syringae*: a Pathogenicity Island Encoding a Type III Protein Translocation Complex? [M]. John Wiley & Sons, Ltd, 2014: 309-329
- [14] Kaper JB, Hacker J. Pathogenicity Islands and Other Mobile Virulence Elements[M]. Washington, DC, USA: ASM Press, 1999
- [15] Xie YP, Shao XL, Deng X. Regulation of type III secretion system in *Pseudomonas syringae*[J]. Environmental Microbiology, 2019, 21(12): 4465-4477
- [16] O'Malley MR, Anderson JC. Regulation of the *Pseudomonas syringae* type III secretion system by host environment signals[J]. Microorganisms, 2021, 9(6): 1227
- [17] Shao XL, Tan MM, Xie YP, Yao CY, Wang TT, Huang H, Zhang YC, Ding YQ, Liu JG, Han LL, et al. Integrated regulatory network in *Pseudomonas syringae* reveals dynamics of virulence[J]. Cell Reports, 2021, 34(13): 108920
- [18] Brutinel ED, Vakulskas CA, Brady KM, Yahr TL. Characterization of ExsA and of ExsA-dependent promoters required for expression of the *Pseudomonas aeruginosa* type III secretion system[J]. Molecular Microbiology, 2008, 68(3): 657-671
- [19] Jovanovic M, James EH, Burrows PC, Rego FGM, Buck M, Schumacher J. Regulation of the co-evolved HrpR and HrpS AAA+ proteins required for *Pseudomonas syringae* pathogenicity[J]. Nature Communications, 2011, 2: 177
- [20] Deng X, Xiao YM, Lan LF, Zhou JM, Tang XY. *Pseudomonas syringae* pv. *phaseolicola* mutants compromised for type III secretion system gene induction[J]. Molecular Plant-Microbe Interactions, 2009, 22(8): 964-976
- [21] Sreedharan A, Penalzoza-Vazquez A, Kunkel BN, Bender CL. CorR regulates multiple components of virulence in *Pseudomonas syringae* pv. *tomato* DC3000[J]. Molecular Plant-Microbe Interactions, 2006, 19(7): 768-779
- [22] Bender CL, Alarcón-Chaidez F, Gross DC. *Pseudomonas syringae* phytotoxins: mode of action, regulation, and biosynthesis by peptide and polyketide synthetases[J]. Microbiology and Molecular Biology Reviews, 1999, 63(2): 266-292
- [23] Panchal S, Roy D, Chitrakar R, Price L, Breitbach ZS, Armstrong DW, Melotto M. Coronatine facilitates *Pseudomonas syringae* infection of *Arabidopsis* leaves at night[J]. Frontiers in Plant Science, 2016, 7: 880
- [24] Chatterjee A, Cui YY, Hasegawa H, Chatterjee AK. PsrA, the *Pseudomonas sigma* regulator, controls regulators of epiphytic fitness, quorum-sensing signals, and plant interactions in *Pseudomonas syringae* pv. *tomato* strain DC3000[J]. Applied and Environmental Microbiology, 2007, 73(11): 3684-3694
- [25] Ortiz-Martín I, Thwaites R, Mansfield JW, Beuzón CR. Negative regulation of the Hrp type III secretion system in *Pseudomonas syringae* pv. *phaseolicola*[J]. Molecular Plant-Microbe Interactions, 2010, 23(5): 682-701
- [26] Heeb S, Blumer C, Haas D. Regulatory RNA as mediator in GacA/RsmA-dependent global control of exoproduct formation in *Pseudomonas fluorescens* CHA0[J]. Journal of Bacteriology, 2002, 184(4): 1046-1056
- [27] Deng X, Liang HH, Chen K, He C, Lan LF, Tang XY. Molecular mechanisms of two-component system RhpRS regulating type III secretion system in *Pseudomonas syringae*[J]. Nucleic Acids Research, 2014, 42(18): 11472-11486
- [28] Xie YP, Shao XL, Zhang YC, Liu JG, Wang TT, Zhang WT, Hua CF, Deng X. *Pseudomonas savastanoi* two-component system RhpRS switches between virulence and metabolism by tuning phosphorylation state and sensing nutritional conditions[J]. mBio, 2019, 10(2): e02838-18
- [29] Jiang GF, Jiang BL, Yang M, Liu S, Liu J, Liang XX, Bai XF, Tang DJ, Lu GT, He YQ, et al. Establishment of an inducing medium for type III effector secretion in *Xanthomonas campestris* pv. *campestris*[J]. Brazilian Journal of Microbiology, 2014, 44(3): 945-952
- [30] Mejía-Almonte C, Busby SJW, Wade JT, van Helden J, Arkin AP, Stormo GD, Eilbeck K, Palsson BO, Galagan JE, Collado-Vides J. Redefining fundamental concepts of transcription initiation in bacteria[J]. Nature Reviews Genetics, 2020, 21(11): 699-714
- [31] 安礼渝, 王志敏, 汤青林, 王永清, 杨洋, 田时炳, 宋明. 转录因子在茄科植物中的研究进展[J]. 生物技术通报, 2015, 31(6): 13-19
- An LY, Wang ZM, Tang QL, Wang YQ, Yang Y, Tian SB, Song M. Research progress of transcription factors in *Solanaceae* plants[J]. Biotechnology Bulletin, 2015, 31(6): 13-19 (in Chinese)
- [32] Wang W, Yang J, Zhang J, Liu YX, Tian CP, Qu BY, Gao CL, Xin PY, Cheng SJ, Zhang WJ, et al. An *Arabidopsis* secondary metabolite directly targets expression of the bacterial type III secretion system to inhibit bacterial virulence[J]. Cell Host & Microbe, 2020, 27(4): 601-613.e7



- [33] Lawton E, Jovanovic M, Joly N, Waite C, Zhang N, Wang BJ, Burrows P, Buck M. Determination of the self-association residues within a homomeric and a heteromeric AAA+ enhancer binding protein[J]. *Journal of Molecular Biology*, 2014, 426(8): 1692-1710
- [34] Wang JR, Shao XL, Zhang YC, Zhu YN, Yang P, Yuan J, Wang TT, Yin CY, Wang W, Chen S, et al. HrpS is a global regulator on type III secretion system (T3SS) and non-T3SS genes in *Pseudomonas savastanoi* pv. *phaseolicola*[J]. *Molecular Plant-Microbe Interactions*, 2018, 31(12): 1232-1243
- [35] Deng WL, Preston G, Collmer A, Chang CJ, Huang HC. Characterization of the *hrpC* and *hrpRS* operons of *Pseudomonas syringae* pathovars *syringae*, *tomato*, and *glycinea* and analysis of the ability of *hrpF*, *hrpG*, *hrcC*, *hrpT*, and *hrpV* mutants to elicit the hypersensitive response and disease in plants[J]. *Journal of Bacteriology*, 1998, 180(17): 4523-4531
- [36] Grimm C, Panopoulos NJ. The predicted protein product of a pathogenicity locus from *Pseudomonas syringae* pv. *phaseolicola* is homologous to a highly conserved domain of several procaryotic regulatory proteins[J]. *Journal of Bacteriology*, 1989, 171(9): 5031-5038
- [37] Parkinson JS, Kofoid EC. Communication modules in bacterial signaling proteins[J]. *Annual Review of Genetics*, 1992, 26: 71-112
- [38] Morett E, Segovia L. The sigma 54 bacterial enhancer-binding protein family: mechanism of action and phylogenetic relationship of their functional domains[J]. *Journal of Bacteriology*, 1993, 175(19): 6067-6074
- [39] Osuna J, Soberón X, Morett E. A proposed architecture for the central domain of the bacterial enhancer-binding proteins based on secondary structure prediction and fold recognition[J]. *Protein Science*, 1997, 6(3): 543-555
- [40] Shingler V. Signal sensing by sigma 54-dependent regulators: derepression as a control mechanism[J]. *Molecular Microbiology*, 1996, 19(3): 409-416
- [41] Stock AM, Robinson VL, Goudreau PN. Two-component signal transduction[J]. *Annual Review of Biochemistry*, 2000, 69: 183-215
- [42] Mascher T, Helmann JD, Uuden G. Stimulus perception in bacterial signal-transducing histidine kinases[J]. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 2006, 70(4): 910-938
- [43] Deng X, Lan LF, Xiao YM, Kennelly M, Zhou JM, Tang XY. *Pseudomonas syringae* two-component response regulator RhpR regulates promoters carrying an inverted repeat element[J]. *Molecular Plant-Microbe Interactions*, 2010, 23(7): 927-939
- [44] Xiao YM, Lan LF, Yin CT, Deng X, Baker D, Zhou JM, Tang XY. Two-component sensor RhpS promotes induction of *Pseudomonas syringae* type III secretion system by repressing negative regulator RhpR[J]. *Molecular Plant-Microbe Interactions*, 2007, 20(3): 223-234
- [45] Wei CF, Deng WL, Huang HC. A chaperone-like HrpG protein acts as a suppressor of HrpV in regulation of the *Pseudomonas syringae* pv. *syringae* type III secretion system[J]. *Molecular Microbiology*, 2005, 57(2): 520-536
- [46] Crabill E, Karpisek A, Alfano JR. The *Pseudomonas syringae* HrpJ protein controls the secretion of type III translocator proteins and has a virulence role inside plant cells[J]. *Molecular Microbiology*, 2012, 85(2): 225-238
- [47] Huang YC, Lin YC, Wei CF, Deng WL, Huang HC. The pathogenicity factor HrpF interacts with HrpA and HrpG to modulate type III secretion system (T3SS) function and *t3ss* expression in *Pseudomonas syringae* pv. *averrhii*[J]. *Molecular Plant Pathology*, 2016, 17(7): 1080-1094
- [48] Charova SN, Gazi AD, Mylonas E, Pozidis C, Sabarit B, Anagnostou D, Psatha K, Aivaliotis M, Beuzon CR, Panopoulos NJ, et al. Migration of type III secretion system transcriptional regulators links gene expression to secretion[J]. *mBio*, 2018, 9(4): e01096-18
- [49] Jahanshah G, Yan Q, Gerhardt H, Pataj Z, Lammerhofer M, Pianet I, Josten M, Sahl HG, Silby MW, Loper JE, et al. Discovery of the cyclic lipopeptide gacamide A by genome mining and repair of the defective GacA regulator in *Pseudomonas fluorescens* Pf0-1[J]. *Journal of Natural Products*, 2019, 82(2): 2903-2913
- [50] Mole BM, Baltrus DA, Dangl JL, Grant SR. Global virulence regulation networks in phytopathogenic bacteria[J]. *Trends in Microbiology*, 2007, 15(8): 363-371
- [51] Chatterjee A, Cui YY, Yang HL, Collmer A, Alfano JR, Chatterjee AK. GacA, the response regulator of a two-component system, acts as a master regulator in *Pseudomonas syringae* pv. *tomato* DC3000 by controlling regulatory RNA, transcriptional activators, and alternate sigma factors[J]. *Molecular Plant-Microbe Interactions*, 2003, 16(12): 1106-1117
- [52] Zhang LX, Shi YR, Wu ZR, Tan GJ. Characterization of response regulator GacA involved in phaseolotoxin production, hypersensitive response and cellular processes in *Pseudomonas syringae* pv. *actinidiae*

- A18[J]. *Physiological and Molecular Plant Pathology*, 2018, 103: 137-142
- [53] Fishman MR, Zhang J, Bronstein PA, Stodghill P, Filiatrault MJ.  $\text{Ca}^{2+}$ -induced two-component system CvsSR regulates the type III secretion system and the extracytoplasmic function sigma factor AlgU in *Pseudomonas syringae* pv. *tomato* DC3000[J]. *Journal of Bacteriology*, 2018, 200(5): e00538
- [54] Markel E, Stodghill P, Bao ZM, Myers CR, Swingle B. AlgU controls expression of virulence genes in *Pseudomonas syringae* pv. *tomato* DC3000[J]. *Journal of Bacteriology*, 2016, 198(17): 2330-2344
- [55] Thwaites R, Spanu PD, Panopoulos NJ, Stevens C, Mansfield JW. Transcriptional regulation of components of the type III secretion system and effectors in *Pseudomonas syringae* pv. *phaseolicola*[J]. *Molecular Plant-Microbe Interactions*, 2004, 17(11): 1250-1258
- [56] Haapalainen M, van Gestel K, Pirhonen M, Taira S. Soluble plant cell signals induce the expression of the type III secretion system of *Pseudomonas syringae* and upregulate the production of pilus protein HrpA[J]. *Molecular Plant-Microbe Interactions*, 2009, 22(3): 282-290
- [57] Wei W, Plovianich-Jones A, Deng WL, Jin QL, Collmer A, Huang HC, He SY. 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*[J]. *PNAS*, 2000, 97(5): 2247-2252
- [58] 肖磊, 潘佳滢. 线粒体 Lon 蛋白酶的生理作用研究进展[J]. *生物化工*, 2021, 7(5): 155-157
- Xiao L, Pan JY. Research progress on the physiological function of mitochondrial lon protease[J]. *Biological Chemical Engineering*, 2021, 7(5): 155-157 (in Chinese)
- [59] Hua CF, Wang TT, Shao XL, Xie YP, Huang H, Liu JG, Zhang WT, Zhang YC, Ding YQ, Jiang L, et al. *Pseudomonas syringae* dual-function protein Lon switches between virulence and metabolism by acting as both DNA-binding transcriptional regulator and protease in different environments[J]. *Environmental Microbiology*, 2020, 22(7): 2968-2988
- [60] Zhou TH, Yin CY, Zhang YC, Shi H, Wang JR, Sun LB, Shao XL, Gao RX, Wang W, Deng X. Lon protease is involved in RhpRS-mediated regulation of type III secretion in *Pseudomonas syringae*[J]. *Molecular Plant-Microbe Interactions*, 2016, 29(10): 807-814
- [61] Li K, Zhu YN, Yan W, Deng X, Xiao YM, Song LY, Fang RX, Jia YT, Tang XY. Two components of the rhpPC operon coordinately regulate the type III secretion system and bacterial fitness in *Pseudomonas savastanoi* pv. *phaseolicola*[J]. *PLoS Pathogens*, 2019, 15(4): e1007673
- [62] 艾连中, 范艺周, 熊智强. 第二信使分子调控细菌胞外多糖生物合成研究进展[J]. *中国食品学报*, 2021, 21(4): 1-8
- Ai LZ, Fan YZ, Xiong ZQ. Advances in bacterial exopolysaccharide biosynthesis regulated by the second messenger molecule[J]. *Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology*, 2021, 21(4): 1-8 (in Chinese)
- [63] 杜斌, 孙建和. 环二腺苷酸(c-di-AMP): 细菌的一种新型第二信使[J]. *微生物学报*, 2015, 55(2): 126-133
- Du B, Sun JH. Cyclic diadenosine monophosphate—a new second messenger in bacteria: a review[J]. *Acta Microbiologica Sinica*, 2015, 55(2): 126-133 (in Chinese)
- [64] Wang TT, Cai Z, Shao XL, Zhang WT, Xie YP, Zhang YC, Hua CF, Schuster SC, Yang L, Deng X. Pleiotropic effects of c-di-GMP content in *Pseudomonas syringae*[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2019, 85(10): e00152-19
- [65] Chatnaparat T, Li Z, Korban SS, Zhao YF. The bacterial alarmone (p)ppGpp is required for virulence and controls cell size and survival of *Pseudomonas syringae* on plants[J]. *Environmental Microbiology*, 2015, 17(11): 4253-4270
- [66] Xiao FM, Goodwin SM, Xiao YM, Sun ZY, Baker D, Tang XY, Jenks MA, Zhou JM. *Arabidopsis* CYP86A2 represses *Pseudomonas syringae* type III genes and is required for cuticle development[J]. *The EMBO Journal*, 2004, 23(14): 2903-2913
- [67] Stauber JL, Loginicheva E, Schechter LM. Carbon source and cell density-dependent regulation of type III secretion system gene expression in *Pseudomonas syringae* pathovar *tomato* DC3000[J]. *Research in Microbiology*, 2012, 163(8): 531-539
- [68] Vicedo B, Flors V, De la O Leyva M, Finiti I, Kravchuk Z, Real MD, García-Agustín P, González-Bosch C. Hexanoic acid-induced resistance against *Botrytis cinerea* in tomato plants[J]. *Molecular Plant-Microbe Interactions*, 2009, 22(11): 1455-1465
- [69] Scalschi L, Camañes G, Llorens E, Fernández-Crespo E, López MM, García-Agustín P, Vicedo B. Resistance inducers modulate *Pseudomonas syringae* pv. *tomato* strain DC3000 response in tomato plants[J]. *PLoS One*, 2014, 9(9): e106429