

假单胞菌属的 GacS/GacA 双组分系统及其作用机制研究进展

尤欢, 邓强, 张雷, 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

尤欢, 邓强, 张雷, 张立新. 假单胞菌属的 GacS/GacA 双组分系统及其作用机制研究进展[J]. 微生物学通报, 2024, 51(11): 4349-4358.

YOU Huan, DENG Qiang, ZHANG Lei, ZHANG Lixin. Research progress in GacS/GacA two-component system and its mechanism of action in *Pseudomonas*[J]. Microbiology China, 2024, 51(11): 4349-4358.

摘要: 微生物的信号转导系统有助于它们适应复杂的环境变化, 由感应蛋白激酶和反应调控蛋白构成的双组分系统(two-component system, TCS)是革兰氏阴性细菌中的全局性调控系统, 在调控次生代谢和信号通讯中扮演着重要角色。GacS/GacA 双组分系统在细菌适应土壤环境、对植物的致病性和耐受性中起着调控的作用。假单胞菌属(*Pseudomonas*)中 GacS 和 GacA 的结构高度同源, 在属内不同的种以及致病变种中的调控机理存在不同程度的差异, 本文从 GacS/GacA 双组分系统在假单胞菌属中的信号转导、调控网络, 以及在调控途径中的主要功能等多个角度总结了其研究进展, 期望为 GacS/GacA 双组分系统参与调控细菌致病性的机理研究提供参考。

关键词: GacS/GacA; 假单胞菌属; 基因调控; 致病性; 信号转导

Research progress in GacS/GacA two-component system and its mechanism of action in *Pseudomonas*

YOU Huan, DENG Qiang, ZHANG Lei, 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 signal transduction system helps microorganisms adapt to complex environmental changes. In Gram-negative bacteria, the two-component system (TCS) composed of the sensor kinase GacS and the response regulator GacA is a global regulatory system and plays an important role in regulating secondary metabolism and signal communication. The GacS/GacA

资助项目: 国家自然科学基金(32072378)

This work was supported by the National Natural Science Foundation of China (32072378).

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

Received: 2024-03-20; Accepted: 2024-06-05; Published online: 2024-06-28

two-component system regulates multiple life activities of bacteria, including the adaptation to soil environment, the pathogenicity in plants, and antibiotic resistance. GacS and GacA in *Pseudomonas* present highly homologous structures and discrepant regulatory mechanisms in different species and pathogenic variants. This paper summarizes the research progress of the GacS/GacA two-component system in *Pseudomonas* from signal transduction, regulatory network, and main regulatory functions. This review is expected to provide reference for the research on the mechanism of the GacS/GacA two-component system in regulating bacterial pathogenicity.

Keywords: GacS/GacA; *Pseudomonas*; gene regulation; pathogenicity; signal transduction

植物细菌为了在复杂的环境条件下生长和生存,会利用多种信号转导途径迅速适应周围环境的变化^[1]。双组分系统(two-component system, TCS)是细菌识别信号分子并调节生理反应以适应环境变化的最重要的工具之一,典型的 TCS 由组氨酸激酶(histidine kinase, HK)和响应调节器(response regulator, RR)这 2 个保守成分组成,并在 2 个保守成分之间进行磷酸基团的转移,将环境刺激与细菌应激反应结合起来^[1]。HK 的自磷酸化和 RR 的磷酸化是 TCS 识别和调控的主要环节^[2]。HK 结构域可以结合 ATP 并具有组氨酸激酶活性,导致在保守的组氨酸残基上进行自磷酸化,从而产生活化形式的分子, HK 的自磷酸化功能使细菌能够持续感知环境变化,例如温度、渗透压、pH 和毒素的产生等^[3]。RR 磷酸化改变了效应结构域的活性,从而改变特定基因的表达来引起相应的生理变化^[3]。信号可以是非生物的(如不同的生理状态、代谢水平和 pH 值)^[4-6],也可以是生物的,一些信号由寄主产生,细菌群体自身也可以产生信号。对于后者,信号的产生可能与群体的菌体密度有关,通常称为群体感应(quorum-sensing, QS)效应的调控机制^[7]。

GacS/GacA 是一种具有与环境表型相关的具有全局调控能力的 TCS^[8]。例如,已在多个革兰氏阴性细菌中鉴定约 20 种 GacS 和 GacA 的同源物^[9],包括大肠杆菌(*Escherichia coli*)、肠炎沙门氏菌(*Salmonella enterica*)、胡萝卜果胶杆菌

(*Pectobacterium carotovorum* subsp. *carotovorum*)、假单胞菌属(*Pseudomonas*)、弧菌属(*Vibrio*)和棕色固氮菌(*Azotobacter vinelandii*)等,它们对病菌的毒力和致病力有重要影响^[3]。GacS/GacA 主要通过 Gac/Rsm 信号级联途径调控细菌的一系列生理活动^[10]。这一途径在不同菌株中进化保守,并发挥不同作用。GacS/GacA 双组分系统已被发现可以调节一系列的表型,包括调节次级代谢产物,如产生群体感应信号分子[N-酰基高丝氨酸内酯(N-acyl homoserine lactone, AHL)]和生物膜形成,藻酸盐的生物合成,毒素产生,参与急性和慢性感染、调节群集运动和介导抗生素耐药性等^[10-11]。

GacS/GacA 多分布在微生物中,功能多样,在哺乳动物体内的分布很少^[12]。本综述将以 GacS/GacA 为切入点,从分子机制、信号通路、功能与应用 3 个层面,深入探讨假单胞菌属中 GacS/GacA 的作用机理,为阐明病原菌毒力和耐药性等问题提供新的研究思路。

1 GacS/GacA 双组分系统的信号转导

TCS 是细菌感知环境信号和调节其生理行为的纽带。20 世纪 90 年代以来,人们对 GacS/GacA 进行了深入的研究。GacS/GacA 双组分系统广泛存在于原核生物中。传感器激酶 GacS,最早命名为 LemA,首次在丁香假单胞菌(*Pseudomonas*

syringae) B728a 中被发现, *gacS* 基因的缺失突变可导致该菌株毒性以及生态适应性丧失^[7-10]。反应调节因子 GacA 最早在生防菌株荧光假单胞菌(*P. fluorescens*) CHA0 中被提出, 它是抗生素和氰化物产生的全局激活因子, 同时也是抗真菌活性和生态适应性所必需的; 荧光假单胞菌 CHA0 的抗真菌活性由多个次生代谢产物共同形成, 抗真菌活性对植物根部病害的生防是必要的; 利用遗传分析和生物化学实验进行的研究表明, GacA 是 GacS 传感器的反应调节剂^[10],

二者构成一组 TCS。

GacS 包含一个周质检测结构域(GacSPD)、HAMP (组氨酸激酶、腺苷酸环化酶、甲基结合蛋白、磷酸酶)结构域和 3 个磷酸转移结构域: 发送结构域[一个二聚化和组氨酸磷酸转移结构域(DHP)和一个催化和 ATP 结合结构域(CA)]、接收结构域(REC)和组氨酸磷酸转移结构域(Hpt)^[1,11,13](图 1A)。

GacS 是假单胞菌细胞膜上的信号感应蛋白, 周质检测结构域在不同细菌中的保守性很

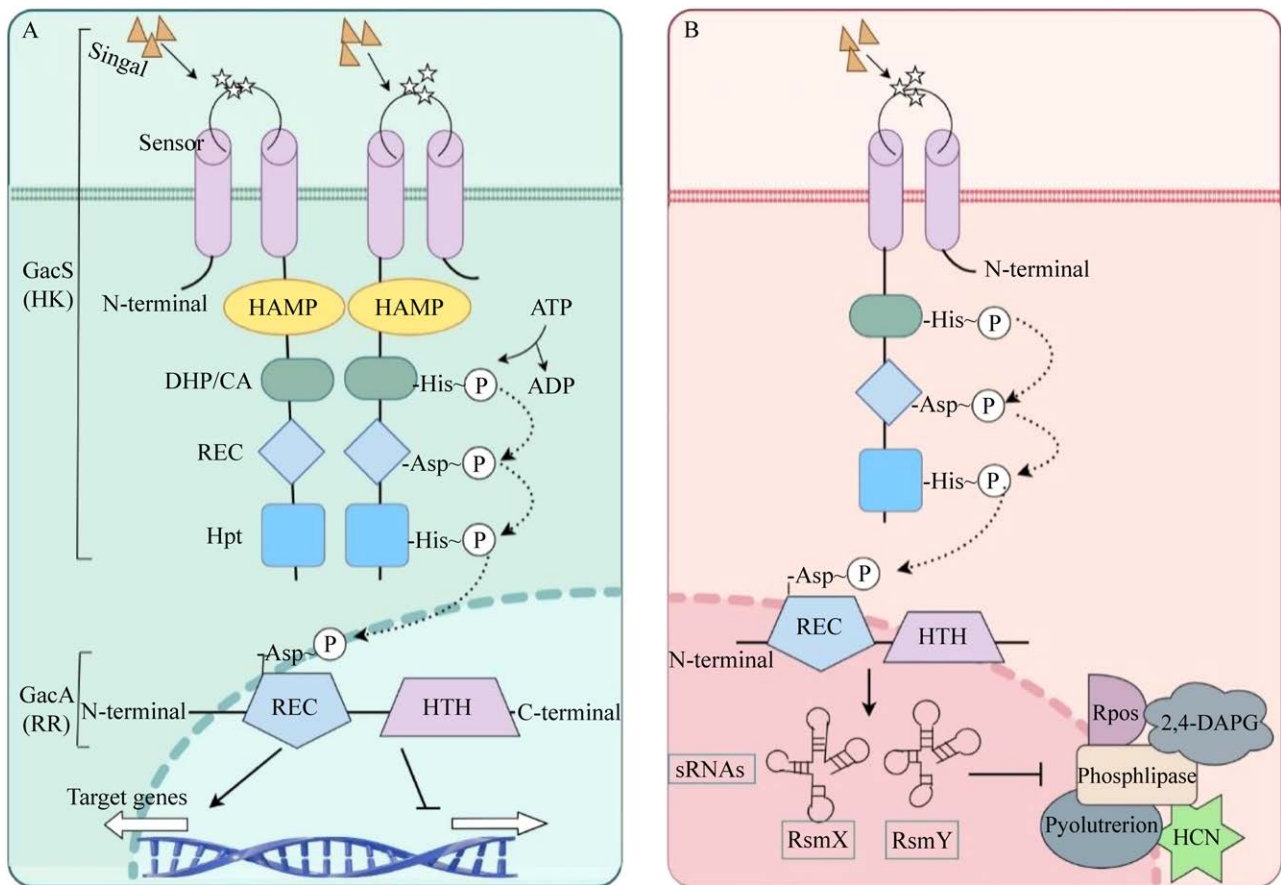


图 1 GacS/GacA 双组分系统在假单胞菌属中的信号响应和转导途径 A: GacS/GacA 的主要组成. B: GacS/GacA 在假单胞菌属中的信号转导途径. HTH: 螺旋-转角-螺旋(helix turn helix); HCN: 氰化氢; 2,4-DAPG: 2,4-二乙酰基苯酚

Figure 1 The signal response and transduction pathway of GacS/GacA two-component system in *Pseudomonas*. A: The main components of GacS/GacA. B: The signal transduction pathway of GacS/GacA in *Pseudomonas*. HTH: Helix-turn-helix; HCN: Hydrogen cyanide; 2,4-DAPG: 2,4-diacetylphloroglucinol.

差,这可能与它感应不同的信号有关。环境信号被周质检测结构域感知,并引起构象变化,该构象变化由 HAMP 结构域传递到 HK 结构域,从而导致组氨酸残基的自磷酸化。GacS 的周质检测结构域在胞外信号的感知和结合中发挥着至关重要的作用。因此,HAMP 结构域的缺失将导致与信号无关的 Gac/Rsm 级联的激活^[12]。HK 结构域含有组氨酸激酶 A,外加一个类似组氨酸激酶的 ATPase。磷酸转移结构域负责将磷酸基团向胞质 GacA 响应调节因子传递,它可以结合 ATP 并具有组氨酸激酶活性,导致保守的组氨酸残基发生自磷酸化,从而产生磷酸基团^[14]。HK 结构域的第一个组氨酸残基的自磷酸化,使得磷酸基团转移到响应接收结构域(REC)的天冬氨酸残基上,随后转移到组氨酸磷酸转移(Hpt)结构域的第二组氨酸残基上;最后,磷酸基团被转移到 GacA 转录调节因子受体结构域中的保守天冬氨酸残基上;细菌感知环境信号后,GacS/GacA 可调节下游基因的表达,以响应环境的变化^[3](图 1A)。GacS 的 HAMP 结构域负责 GacS 的二聚化;GacS 的自磷酸化可能发生在 GacS 同源二聚体的反式结构中^[14]。

GacA 是一种典型的反应调节因子,由一个参与 DNA 结合的 C 端螺旋-转角-螺旋(HTH)结构域和 N 端接收结构域(REC)组成(图 1B)^[10]。GacA 中保守的天冬氨酸作为磷酸化受体,磷酸化的 GacA 激活(或抑制)调控元件的转录,进而在转录后水平上调控靶基因的表达,GacA 的 HTH 结构域可能决定了其对 DNA 识别的特异性^[15]。

2 GacS/GacA 双组分系统的调控网络

假单胞菌中的 Gac/Rsm 调控途径可以激活多种次级代谢产物的产生,如抗生素、铁载体和胞外酶等,最初 GacS/GacA 的调控机制被普

遍认为是在转录水平调控基因的表达,gacS 和 gacA 基因的核苷酸和氨基酸序列在不同假单胞菌中高度同源^[16]。后期研究表明 GacS/GacA 系统对 Rsm/Csr 是转录后调控,Rsm/Csr 通路中有 2 个组成部分:RNA 结合蛋白和非编码小 RNA (sRNA)^[15]。研究发现,GacA 磷酸化后可以与保守的上游激活序列(GacA 框)结合,启动 Rsm 级联反应^[9]。这些 sRNA 具有复杂的茎环结构,包含 GGA 基序,并且具有多个 RNA 结合位点,这意味着 sRNA 可以调节 RNA 结合蛋白对靶基因的激活/抑制作用^[3](表 1)。因此,Gac/Rsm 通路可在转录后水平调控多个表型相关基因^[3]。例如,荧光假单胞菌 2P24 中的 GacS/GacA 双组分系统,GacS 可以感受胞外的刺激,然后激活 GacA 反应调控蛋白,GacA 蛋白再调控下游 sRNA 的合成,这些 sRNA 对目的基因的转录进行调控,应对环境变化。在荧光假单胞菌中,存在一种调控关系使 GacS/GacA 成为功能调控的核心激活/抑制因子^[14]。GacA 可调节 RsmX、RsmY 和 RsmZ 这 3 种 sRNA 的转录;sRNA 可以调节 RNA 结合蛋白 RsmA 和 RsmE 对靶基因的激活/抑制作用,共同调节代谢包括氰化氢(HCN)、2,4-二乙酰基苯酚(2,4-DAPG)和外切蛋白酶^[3](图 1B)。

3 GacS/GacA 双组分系统在调控途径中的主要功能

3.1 GacS/GacA 参与生物膜的形成

生物膜主要由脂质、蛋白质和胞外多糖(extracellular polysaccharides, EPS)组成^[17],丁香假单胞菌产生的藻酸盐是 EPS 的主要成分。研究表明,丁香假单胞菌 B728a^[19]和棕色固氮菌^[20]的藻酸盐产生受 GacS/GacA 双组分系统调控。藻酸盐是丁香假单胞菌猕猴桃致病变种(*P. syringae* pv. *actinidiae*)成功侵染寄主植物的

表 1 GacS/GacA 及其同源物和功能

Table 1 Homologous and function of GacS/GacA

物种 Species	GacS/GacA 同源物 GacS/GacA homologue	受调控的 sRNA Regulated sRNA	功能 Function	参考文献 Reference
荧光假单胞菌 <i>Pseudomonas fluorescens</i>	GacS/GacA	RsmX, RsmY, RsmZ	蛋白酶、磷脂酶、RpoS、运动性 Protease, phospholipase, RpoS, motility	[17]
铜绿假单胞菌 <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	GacS/GacA	RsmX, RsmY	N-酰基高丝氨酸内酯、毒力、生物膜、 运动性、新陈代谢、T3SS、T6SS N-acyl homoserine lactone, virulence, biofilm, motility, metabolism, T3SS, T6SS	[18]
丁香假单胞菌 <i>Pseudomonas syringae</i>	GacS(LemA)/GacA	RsmX1-5, RsmY, RsmZ	生长、丁胺卡那霉素、运动性、藻酸 盐、毒力、群体感应 Growth, amikacin, motility, alginate, virulence, quorum sensing	[11]
绿针假单胞菌 <i>Pseudomonas chlororaphis</i>	GacS/GacA	RsmX, RsmY, RsmZ	群体感应、生物膜、HCN、海藻糖、 铁载体、运动性 Quorum sensing, biofilm, HCN, trehalose, siderophores, motility	[9]
大肠杆菌 <i>Escherichia coli</i>	BarA/UvrY	CsrB, CsrC	新陈代谢、运动性、生物膜、压力、 抗药性、毒力、群体感应 Metabolism, motility, biofilm, stress, resistance, virulence, quorum sensing	[3]
胡萝卜果胶杆菌 <i>Pectobacterium carotovorum</i> subsp. <i>carotovorum</i>	ExpS/ExpA	RsmB	胞外酶、毒力、鞭毛、T2SS、T6SS Extracellular enzymes, virulence, flagella, T2SS, T6SS	[3]
霍乱弧菌 <i>Vibrio cholerae</i>	VarS/VarA	CsrB, CsrC, CsrD	群体感应、生物膜、毒力、细胞形状 Quorum sensing, biofilm, virulence, cell shape	[7]

重要因子，一旦细菌不能产生藻酸盐，它就会在生物膜形成过程中表现出严重缺陷^[21-22]。生物膜的形成赋予细菌对环境挑战、抗生素渗透和宿主免疫系统更强的抵抗力^[22-24]，Ali-ahmad 等^[18]发现，在铜绿假单胞菌(*P. aeruginosa*)中 *gacA* 基因的缺失导致生物膜形成能力降低至正常水平的十分之一。GacS 存在一个由 126 个残基组成的 GacSPD 结构域，Olivares 等^[25]分析了铜绿假单胞菌 PAK 中 GacSPD 的功能，发现该细菌的 GacSPD 结构域在生物膜形成方面表现出与 PAKΔ*gacS* 相似的表型，生物膜厚度减少至 PAK 野生型菌株的四分之一。邓强^[16]研究表明在丁香假单胞猕猴桃致病变种中，*gacS* 基因

缺失的菌株中生物膜的形成能力不受影响，*gacA* 基因缺失的菌株中生物膜的形成能力明显减弱。阐明 GacS/GacA 对生物膜形成的调控机制，有助于明确生物膜引起的不良影响，尤其可为控制临床实践中病原细菌的慢性感染和抗生素耐药性的介导作用提供解决方案。

3.2 调节 AHL 的产生

微生物通过 QS 系统调节生理行为，从而大大提高环境适应能力^[25]。QS 感应是细菌自身产生胞外化学信号后，通过菌体浓度依赖的方式调控特定基因的表达；在革兰氏阴性细菌中，这类信号分子通常是 AHL；群体感应调节着丁香假单胞菜豆致病变种 B728 的附生菌群、胞外

多糖的产生、运动性和毒力^[16]。已有研究显示, QS 可调控 GacS/GacA 的表达, 由于 GacA 的表达受生长过程调控, 在稳定期达到高峰, 同时 GacS/GacA 下游多个靶基因的表达量也随之升高^[7]。因此, 有人推测高浓度生长的细菌会分泌激活 GacS/GacA 的信号分子^[26-28], 尽管这类信号很大程度上仍不为人所知。Yu 等^[29]揭示了生防菌绿针假单胞菌 (*P. chlororaphis*) 30-84 中 GacS/GacA 调控途径的复杂性, 并揭示了 GacS/GacA 和 AHL 共同作用控制基因的表达; 绿针假单胞菌 30-84 的转录组数据显示, *gacA* 基因参与调控吩嗪类抗生素合成基因 (*phzXYFABCD* 和 *phzO*) 的表达; 与此同时, GacS/GacA 可调控 AHL 合成基因 *phzI* 的表达; 这意味着 Gac/Rsm 通路可以直接调节吩嗪类抗生素的产生, 也可以通过 AHL 分子间接调节吩嗪类抗生素的产生。此外, Tsai 等^[30]发现, GacS/GacA 可调节 QS 信号分子 AHLs 的合成, 从而间接参与 QS。在铜绿假单胞菌中, 群体感应对于多种胞外毒力因子的产生和分泌是必需的, 如蛋白酶和毒素^[18]。Tsai 等^[30]发现, 铜绿假单胞菌 PAO1 中 *gacA* 基因的缺失会延迟并减少 C4-HSL、RhIR 和 LasR 的产生, 铜绿假单胞菌中存在 2 种典型的 AHLs, 一种是 *N*-3-氧代十二碳酰-L-高丝氨酸内酯(3O-C12-HSL), 由 LasR/LasI QS 系统合成和调控; 另一种是 *N*-丁酰-L-高丝氨酸内酯(C4-HSL), 其合成依赖于 RhIR/RhII 的 QS 系统。此外, Ahmed 等^[31]研究了 GacS/GacA 对 AHL 的调控机制, 发现缺失 *rsmY* 和 *rsmZ* 会影响 C4-HSL 的产生, 在铜绿假单胞菌中 *gacA* 缺失突变体中也出现了同样的现象。

3.3 GacS/GacA 调控次级代谢物和胞外酶的产生

GacS/GacA 激活了许多胞外酶和次级代谢

产物的基因, 如嗜苜酸类 (pyoverdine 和 pyochelin) 和毒力因子^[10]。毒力因子[如焦花青素(*phz*)、HCN(*hcnABC*)和 2,4-DAPG(*phl*)]在提高细菌适应性和侵染方面发挥重要作用^[18]。GacS/GacA 可控制数百个基因的表达, 并通过 sRNA 调控各种次级代谢产物的产生^[11]。在生防细菌荧光假单胞菌 CHA0 中, 发现 GacA 能调节生物控制因子(RsmX、RsmY、RsmZ)的生物合成; 缺失 *gacS* 或 *gacA* 会大大降低 HCN、2,4-DAPG 所需基因的表达, 从而使得突变株丧失定殖寄主的能力^[30]。此外, 色氨酸侧链氧化酶(Tryptophan sidechain oxidase)是吲哚-3-乙酸合成途径中第一个发挥作用的酶, 它在生防细菌荧光假单胞菌 CHA0 中也受到 GacS/GacA 的调控^[30]。微生物是次生代谢产物和酶的重要资源, 许多菌株都是理想的酶生产者^[31]。除了参与毒力因子的合成, Sacherer 等^[32]还证实 *gacA* 也是荧光假单胞菌产生 2 种胞外酶(蛋白酶和磷脂酶 C)的必要条件。在胡萝卜果胶杆菌中, 由于 RsmB/RsmA 对胞外酶表达的抑制作用增强, *gacA* 缺失突变体产生果胶裂解酶、蛋白酶和纤维素酶的能力降低^[33]。因此, 作为次生代谢产物和胞外酶不可或缺的一部分, GacS/GacA 及其调控途径可以作为靶标开发动植物病原菌的抑制剂和生防菌的诱导剂。

3.4 GacS/GacA 介导分泌系统和急性/慢性感染

病原细菌通过调节 III 型分泌系统(type III secretion system, T3SS)和 VI 型分泌系统(type VI secretion system, T6SS)的交替来维持急性和慢性感染^[33]。GacS/GacA 可调控病菌分泌系统的表达, 包括 T3SS 和 T6SS^[34]。铜绿假单胞菌是一种普遍存在的条件致病菌, 可引起急性和慢性感染。铜绿假单胞菌感染经常发生在囊性纤维化(cystic fibrosis, CF)病例中; CF 患者最初表

现为急性感染, 后来由于分泌系统的表达而发展为慢性呼吸道疾病; GacS/GacA 可通过 Rsm 系统负向调节与急性感染相关的 T3SS, 正向调节与慢性感染相关的 T6SS^[35]。此外, 许多与急性和慢性毒力相关的表型已被证明受到 RsmA/RsmF 的反向调节; RsmA/RsmF 是一种重要的细胞内信号分子, 在体内过表达 *rsmA/rsmF* 时, 细胞内的 RsmA/RsmF 可促进细胞内急性毒力相关因子的表达^[36]。研究表明, Ca^{2+} 可通过 Gac/Rsm 信号途径诱导病原菌由急性毒力向慢性毒力的转变^[34]。

3.5 GacS/GacA 调节细菌的运动性

植物病原细菌通常借助自身的运动能力靠近并定殖于寄主植物表面, 在合适的环境条件下入侵植物细胞。运动性是植物相关假单胞菌的重要特征之一, 假单胞菌有 3 种运动类型, 即游动、群集和蹭行^[37]。Muriel 等^[38]证实, 荧光假单胞菌 F113 的这 3 种运动相关表型受 GacS/GacA 的负调控; 此外, *P. fluorescens* 中 *gacS* 的缺失产生了更大的泳动晕圈。也有报道称, 在 *P. syringae* pv. *tomato* DC3000 和 *P. syringae* pv. *syringae* 中, Gac 双组分系统调控着群集运动, 在 *P. syringae* pv. *tomato* DC3000 中, GacS/GacA 正向调控游动和群集运动, 而 RsmA 负向调控群集运动, 不调控游动性^[1]; 这揭示了 Gac/Rsm 通路在调控运动性方面的差异性。Gac/Rsm 可减少鞭毛调控基因 *fleQ* 的表达, 从而降低细菌的运动能力, 这种抑制作用在过表达 *rsmA* 和 *rsmE* 的菌株中丧失^[17]。Zhang 等^[39]研究表明, *gacA* 基因的缺失突变导致丁香假单胞猕猴桃致病变种的运动性减弱。

3.6 GacS/GacA 介导的抗生素耐药性

近年来, 抗生素的过度使用导致了多重耐药细菌的出现。已知的抗生素耐药机制主要包括外排泵的过度表达、抗生素修饰酶的产生、

抗生素靶向位点的修饰和生物膜的形成^[40]。Li 等发现 *gacS* 的缺失可降低铜绿假单胞菌 PAK 对庆大霉素、丁胺卡那霉素和氯霉素的最小抑菌浓度(MIC)^[40]。这说明 GacS/GacA 可以调控细菌的抗生素抗性。

已有研究表明, GacS/GacA 通过增加生物膜的形成参与细菌的抗生素耐受性^[18]。GacS/GacA 可通过 RsmA/RsmZ 参与对以四环素、妥布霉素和环丙沙星为代表的不同抗生素的耐药性的调节; 在它们的最低抑制浓度下, 受 Gac/Rsm 调节的生物膜形成会增加抗生素耐药性; 在铜绿假单胞菌 PA14 中 *gacS* 的缺失会导致生物膜形成减少, 对抗生素的敏感性增加^[41]。

3.7 GacS/GacA 对毒力因子的表达调控

在植物和动物病原细菌中, GacS/GacA 双组分系统对病原菌成功侵染宿主和毒力因子的表达发挥着重要的作用^[33]。在胡萝卜果胶杆菌中, GacS/GacA 双组分系统正调控该细菌群体感应系统, 以及果胶裂解酶、果胶酶和纤维素酶调节基因 *pel*、*peh* 和 *celV* 的表达, 增强了侵染宿主细胞的能力, 同时该病原菌缺失 *gacA* 基因后丧失了毒力^[42]。水稻白叶枯病菌(*Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*)和水稻条斑病菌(*X. oryzae* pv. *oryzicola*)中, 缺失 GacS/GacA 双组分系统时, 病原菌致病性相关基因的表达均受影响^[43]。GacS/GacA 可通过控制各种转录和转录后因子来调节毒力因子的合成^[42]。在引起动物致病的铜绿假单胞菌中发现, GacS/GacA 是调控毒力因子表达的主要系统之一, 并依赖 Rsm 转录后系统发挥作用^[18]。

4 结语与展望

TCS 对细菌生长和适应复杂的环境至关重要, GacS/GacA 是一种具有全局调控能力的 TCS, 通过 Gac/Rsm 信号级联途径发挥作用^[9]。

本综述重点介绍了 GacS/GacA 的调控网络和 GacS/GacA 双组分系统在调控途径中的主要功能。GacS/GacA 双组分系统广泛参与调控细菌的致病性和毒力、群体感应、次级代谢产物产生和生物膜形成^[42]，它通过感知环境调控不同的基因表达。GacS/GacA 对 AHL 的调控作用使其信号调控网络变得更加复杂，研究不同信号通路之间的相互影响可以更深入地了解细菌如何适应复杂多变的环境条件。然而，对 GacS/GacA 双组分系统参与调控细菌致病性的机理研究仍有很多亟待解决的问题：(1) 在无 GacS 的情况下，GacA 下游靶基因能否正常转录表达。(2) GacS/GacA 双组分系统通过感受外界刺激调控下游基因的表达，但不同 TCS 间的作用机制仍不清楚，例如，在 *P. syringae* pv. *phaseolicola* 1448A 中，GacS/GacA 如何与 CvsS/CvsR 相互作用并调控 T3SS 中 *hrpR* 和 *hrpS* 的表达。因此，基于 GacS/GacA 双组分系统在致病性方面的重要作用 and 独特的应答调控机制，揭示病原菌的信号转导途径不仅有助于更好地了解细菌的致病机制，也有助于减少植物细菌病害造成的经济损失。众所周知，GacS/GacA 的全局调控能力可赋予细菌产生次级代谢产物的优势，因此可对相应的产生途径进行合理的定向改造，以获得大量所需的产物。GacS/GacA 对毒性和抗生素耐药性的调控使其成为药物治疗的潜在靶标。对 GacS/GacA 调控网络的解析有助于全面理解其调控机制，使我们更了解这种细菌，并有助于寻找可持续的方法来控制其引起的病害。

REFERENCES

- [1] ZHANG B, ZHANG Y, LIANG F, MA YN, WU XG. An extract produced by *Bacillus* sp. BR3 influences the function of the GacS/GacA two-component system in *Pseudomonas syringae* pv. *tomato* DC3000[J]. *Frontiers in Microbiology*, 2019, 10: 2005.
- [2] WANG MX, GUO Q, ZHU KF, FANG B, YANG YF, TENG MK, LI X, TAO YY. Interface switch mediates signal transmission in a two-component system[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2020, 117(48): 30433-30440.
- [3] CAMPA AR, SMITH LM, HAMPTON HG, SHARMA S, JACKSON SA, BISCHLER T, SHARMA CM, FINERAN PC. The Rsm (Csr) post-transcriptional regulatory pathway coordinately controls multiple CRISPR-Cas immune systems[J]. *Nucleic Acids Research*, 2021, 49(16): 9508-9525.
- [4] ISHII E, EGUCHI Y. Diversity in sensing and signaling of bacterial sensor histidine kinases[J]. *Biomolecules*, 2021, 11(10): 1524.
- [5] ORTET P, FOCESATO S, BITBOL AF, WHITWORTH DE, LALAOUNA D, SANTAELLA C, HEULIN T, ACHOUAK W, BARAKAT M. Evolutionary history expands the range of signaling interactions in hybrid multikinase networks[J]. *Scientific Reports*, 2021, 11: 11763.
- [6] WALSH UF, MORRISSEY JP, O'GARA F. *Pseudomonas* for biocontrol of phytopathogens: from functional genomics to commercial exploitation[J]. *Current Opinion in Biotechnology*, 2001, 12(3): 289-295.
- [7] CONTRERAS FU, CAMACHO MI, PANNURI A, ROMEO T, ALVAREZ AF, GEORGELLIS D. Spatiotemporal regulation of the BarA/UvrY two-component signaling system[J]. *The Journal of Biological Chemistry*, 2023, 299(6): 104835.
- [8] ALVAREZ AF, GEORGELLIS D. The role of sensory kinase proteins in two-component signal transduction[J]. *Biochemical Society Transactions*, 2022, 50(6): 1859-1873.
- [9] FERREIRO MD, BEHRMANN LV, CORRAL A, NOGALES J, GALLEGOS MT. Exploring the expression and functionality of the *rsm* sRNAs in *Pseudomonas syringae* pv. *tomato* DC3000[J]. *RNA Biology*, 2021, 18(11): 1818-1833.
- [10] SONG HH, LI YY, WANG Y. Two-component system GacS/GacA, a global response regulator of bacterial physiological behaviors[J]. *Engineering Microbiology*, 2023, 3(1): 100051.
- [11] PANAYIDOU S, GEORGIADIS K, CHRISTOFI T, TAMANA S, PROMPONAS VJ, APIDIANAKIS Y. *Pseudomonas aeruginosa* core metabolism exerts a widespread growth-independent control on virulence[J]. *Scientific Reports*, 2020, 10: 9505.

- [12] ALVAREZ AF, RODRÍGUEZ C, GONZÁLEZ-CHÁVEZ R, GEORGELLIS D. The *Escherichia coli* two-component signal sensor BarA binds protonated acetate via a conserved hydrophobic-binding pocket[J]. *The Journal of Biological Chemistry*, 2021, 297(6): 101383.
- [13] ALVAREZ AF, GEORGELLIS D. Environmental adaptation and diversification of bacterial two-component systems[J]. *Current Opinion in Microbiology*, 2023, 76: 102399.
- [14] ZHANG Y, ZHANG B, WU HY, WU XG, YAN Q, ZHANG LQ. Pleiotropic effects of RsmA and RsmE proteins in *Pseudomonas fluorescens* 2P24[J]. *BMC Microbiology*, 2020, 20(1): 191.
- [15] SULTAN M, ARYA R, KIM KK. Roles of two-component systems in *Pseudomonas aeruginosa* virulence[J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2021, 22(22): 12152.
- [16] 邓强. 双组分系统 GacS/GacA 参与调控猕猴桃溃疡病菌致病性的作用机制研究[D]. 合肥: 安徽农业大学硕士学位论文, 2023.
DENG Q. Action mechanisms of two-component system GacS/GacA involved in the pathogenicity in *Pseudomonas syringae* pv. *actinidiae*[D]. Hefei: Master's Thesis of Anhui Agricultural University, 2023 (in Chinese).
- [17] SOBRERO PM, VALVERDE C. Comparative genomics and evolutionary analysis of RNA-binding proteins of the CsrA family in the genus *Pseudomonas*[J]. *Frontiers in Molecular Biosciences*, 2020, 7: 127.
- [18] ALI-AHMAD A, FADEL F, SEBBAN-KREUZER C, BA M, PÉLISSIER GD, BORNET O, GUERLESQUIN F, BOURNE Y, BORDI C, VINCENT F. Structural and functional insights into the periplasmic detector domain of the GacS histidine kinase controlling biofilm formation in *Pseudomonas aeruginosa*[J]. *Scientific Reports*, 2017, 7: 11262.
- [19] POURCIAU C, LAI YJ, GORELIK M, BABITZKE P, ROMEO T. Diverse mechanisms and circuitry for global regulation by the RNA-binding protein CsrA[J]. *Frontiers in Microbiology*, 2020, 11: 601352.
- [20] JIA RL, ZHAO YM, HATTORI M. Crystal structure of the catalytic ATP-binding domain of the PhoR sensor histidine kinase[J]. *Proteins: Structure, Function, and Bioinformatics*, 2023, 91(7): 999-1004.
- [21] HEREDIA-PONCE Z, de VICENTE A, CAZORLA FM, GUTIÉRREZ-BARRANQUERO JA. Beyond the wall: exopolysaccharides in the biofilm lifestyle of pathogenic and beneficial plant-associated *Pseudomonas*[J]. *Microorganisms*, 2021, 9(2): 445.
- [22] FERREIRO MD, GALLEGOS MT. Distinctive features of the Gac-Rsm pathway in plant-associated *Pseudomonas*[J]. *Environmental Microbiology*, 2021, 23(10): 5670-5689.
- [23] HEREDIA-PONCE Z, GUTIÉRREZ-BARRANQUERO JA, PURTSCHERT-MONTENEGRO G, EBERL L, CAZORLA FM, de VICENTE A. Biological role of EPS from *Pseudomonas syringae* pv. *syringae* UMAF0158 extracellular matrix, focusing on a Psl-like polysaccharide[J]. *NPJ Biofilms and Microbiomes*, 2020, 6(1): 37.
- [24] YAN J, BASSLER BL. Surviving as a community: antibiotic tolerance and persistence in bacterial biofilms[J]. *Cell Host & Microbe*, 2019, 26(1): 15-21.
- [25] OLIVARES E, BADEL-BERCHOUX S, PROVOT C, PRÉVOST G, BERNARDI T, JEHL F. Clinical impact of antibiotics for the treatment of *Pseudomonas aeruginosa* biofilm infections[J]. *Frontiers in Microbiology*, 2020, 10: 2894.
- [26] AFRAMIAN N, ELDAR A. A bacterial tower of babel: quorum-sensing signaling diversity and its evolution[J]. *Annual Review of Microbiology*, 2020, 74: 587-606.
- [27] HE L, LE KY, KHAN BA, NGUYEN TH, HUNT RL, BAE JS, KABAT J, ZHENG Y, CHEUNG GYC, LI M, OTTO M. Resistance to leukocytes ties benefits of quorum sensing dysfunctionality to biofilm infection[J]. *Nature Microbiology*, 2019, 4: 1114-1119.
- [28] CELLINI A, DONATI I, FIORENTINI L, VANDELLE E, POLVERARI A, VENTURI V, BURIANI G, VANNESTE JL, SPINELLI F. N-acyl homoserine lactones and lux solos regulate social behaviour and virulence of *Pseudomonas syringae* pv. *actinidiae*[J]. *Microbial Ecology*, 2020, 79(2): 383-396.
- [29] YU JM, WANG DP, RIES TR, PIERSON LS, PIERSON EA. An upstream sequence modulates phenazine production at the level of transcription and translation in the biological control strain *Pseudomonas chlororaphis* 30-84[J]. *PLoS One*, 2018, 13(2): e0193063.
- [30] TSAI YC, LEE YP, LIN NT, YANG HH, TEH SH, LIN LC. Therapeutic effect and anti-biofilm ability assessment of a novel phage, phiPA1-3, against carbapenem-resistant *Pseudomonas aeruginosa*[J]. *Virus Research*, 2023, 335: 199178.
- [31] AHMED SAKS, RUDDEN M, SMYTH TJ, DOOLEY JSG, MARCHANT R, BANAT IM. Natural quorum

- sensing inhibitors effectively downregulate gene expression of *Pseudomonas aeruginosa* virulence factors[J]. Applied Microbiology and Biotechnology, 2019, 103(8): 3521-3535.
- [32] SACHERER P, DÉFAGO G, HAAS D. Extracellular protease and phospholipase C are controlled by the global regulatory gene *gacA* in the biocontrol strain *Pseudomonas fluorescens* CHA0[J]. FEMS Microbiology Letters, 1994, 116(2): 155-160.
- [33] YAMCHI A, RAHIMI M, AKBARI R, GHOBADI C, ARYAPOUR H. Effects of *Bacillus* in *Pectobacterium* quorum quenching: a survey of two different acyl-homoserine lactonases[J]. Folia Microbiologica, 2024: 1-14.
- [34] PUSIC P, SONNLEITNER E, BLÄSI U. Specific and global RNA regulators in *Pseudomonas aeruginosa*[J]. International Journal of Molecular Sciences, 2021, 22(16): 8632.
- [35] WHEELER KM, CÁRCAMO-OYARCE G, TURNER BS, DELLOS-NOLAN S, CO JY, LEHOUX S, CUMMINGS RD, WOZNIAK DJ, RIBBECK K. Mucin glycans attenuate the virulence of *Pseudomonas aeruginosa* in infection[J]. Nature Microbiology, 2019, 4: 2146-2154.
- [36] LABORDA P, SANZ-GARCÍA F, HERNANDO-AMADO S, MARTÍNEZ JL. *Pseudomonas aeruginosa*: an antibiotic resilient pathogen with environmental origin[J]. Current Opinion in Microbiology, 2021, 64: 125-132.
- [37] ZHAO KL, LI WJ, LI J, MA T, WANG KL, YUAN Y, LI JS, XIE R, HUANG T, ZHANG YG, ZHOU YS, HUANG NY, WU WL, WANG Z, ZHANG J, YUE BS, ZHOU ZG, LI J, WEI YQ, ZHANG XY, et al. TesG is a type I secretion effector of *Pseudomonas aeruginosa* that suppresses the host immune response during chronic infection[J]. Nature Microbiology, 2019, 4: 459-469.
- [38] MURIEL C, BLANCO-ROMERO E, TRAMPARI E, ARREBOLA E, DURÁN D, REDONDO-NIETO M, MALONE JG, MARTÍN M, RIVILLA R. The diguanylate cyclase AdrA regulates flagellar biosynthesis in *Pseudomonas fluorescens* F113 through SadB[J]. Scientific Reports, 2019, 9: 8096.
- [39] 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.
- [40] LI YY, FENG T, WANG Y. The role of bacterial signaling networks in antibiotics response and resistance regulation[J]. Marine Life Science & Technology, 2022, 4(2): 163-178.
- [41] QIAO P, ZHAO M, GUAN W, WALCOTT R, YE YF, YANG YW, ZHAO TC. A putative multi-sensor hybrid histidine kinase, BarA_{Ac}, inhibits the expression of the type III secretion system regulator HrpG in *Acidovorax citrulli*[J]. Frontiers in Microbiology, 2022, 13: 1064577.
- [42] HASHEM I, van IMPE JFM. A game theoretic analysis of the dual function of antibiotics[J]. Frontiers in Microbiology, 2022, 12: 812788.
- [43] RAMAMURTHY T, NANDY RK, MUKHOPADHYAY AK, DUTTA S, MUTREJA A, OKAMOTO K, MIYOSHI SI, NAIR GB, GHOSH A. Virulence regulation and innate host response in the pathogenicity of *Vibrio cholerae*[J]. Frontiers in Cellular and Infection Microbiology, 2020, 10: 572096.