

荧光假单胞菌 2P24 中 PcoI-PcoR 群体感应系统的自体反馈调控

吴小刚 付承梅 张力群*

(中国农业大学植物病理系 北京 100193)

摘要: 荧光假单胞菌 2P24 的 PcoI-PcoR 群体感应(QS)系统信号合成基因 *pcoI* 的表达受多种因子的调控, 其中 GacS-GacA 双因子调控系统在转录水平正调控信号合成基因 *pcoI* 的表达。为进一步研究 QS 系统调控因子, 将 2P24 基因组文库转入 *gacA* 缺失的 *pcoI* 基因转录报告菌株 PM203 (*pcoI-lacZ*, *gacA*⁻), 筛选可提高 *pcoI* 表达的基因。结果表明粘粒 pP32-24 可显著提高 *pcoI* 转录水平, 亚克隆实验证明其中的功能基因为 *pcoI*; 外源添加标准信号分子 3-氧-己酰高丝氨酸内酯(3-oxo-C8-HSL)同样可显著提高 *pcoI* 基因的表达, 表明 *pcoI* 基因的表达对自身有正调控作用。同时构建了 QS 系统的另外一个组分 *pcoR* 基因的缺失突变体, *pcoR* 基因缺失后 *pcoI* 的表达和 *N*-乙酰高丝氨酸内酯信号分子(AHL)的产量明显低于野生菌株及其互补菌株, 并显著降低该菌株的生物膜(Biofilm)形成能力。这些结果表明菌株 2P24 的 PcoI-PcoR QS 系统中, 信号合成基因 *pcoI* 的表达受自体反馈调控, *pcoR* 基因参与 *pcoI* 基因表达的调控以及生物膜的形成。

关键词: 群体感应系统, *N*-乙酰高丝氨酸内酯, 自体反馈调控, 荧光假单胞菌

Auto-induction of PcoI-PcoR Quorum-sensing System in *Pseudomonas fluorescens* 2P24

WU Xiao-Gang FU Cheng-Mei ZHANG Li-Qun*

(Department of Plant Pathology, China Agricultural University, Beijing 100193, China)

Abstract: PcoI-PcoR is a quorum-sensing (QS) system influencing the biofilm formation and rhizosphere colonization in *Pseudomonas fluorescens* 2P24. The expression of the *pcoI*, a *N*-acyl-homoserine lactone (AHL) biosynthesis gene, is under the regulation of a number of chromosomal factors, such as the GacS-GacA two-component system. In this paper, we investigated the upstream regulators that influence the transcription of *pcoI* gene using a chromosomal *pcoI-lacZ* fusion reporter strain PM203. Cosmids containing genomic DNA of the wild-type strain 2P24 were introduced into the reporter strain PM203 (*gacA*⁻, *pcoI-lacZ*) to screen positive transcriptional regulators of *pcoI* gene. One of them named pP32-24, which contained a 5-kb *Pst* I functional fragment was selected. Further analysis identified that the *pcoI* was the gene responsible for the increase of the *pcoI-lacZ* expression. The expression of *pcoI-lacZ* reporter was also

基金项目: 国家自然科学基金项目(No. 30671403, 30871666); 国家 863 计划项目(No. 2006AA10A211); 中澳 MOST-DEST 合作项目(No. 2007DFA31570)

* 通讯作者: Tel: 86-10-62733037; Fax: 86-10-62731464; E-mail: zhanglq@cau.edu.cn 中国科学院微生物研究所期刊联合编辑部 <http://journals.im.ac.cn>
收稿日期: 2008-11-13; 接受日期: 2009-02-18

improved in both PM101 (*pcol-lacZ*) and its *gacA*⁻ mutant PM203 after addition of exogenous AHL, indicating that the expression of *pcol* is positively regulated by AHL (autoinduction) in strain 2P24. In addition, deletion mutagenesis and complementation experiments demonstrated that the transcriptional regulator PcoR positively controlled the expression of *pcol* and the formation of biofilm. These results suggest that, in strain 2P24, the expression of PcoI-PcoR QS system is auto-induced, and the transcriptional factor PcoR is involved in the regulation of *pcol* transcription and the biofilm formation.

Keywords: Quorum-sensing, *N*-acyl-homoserine lactones, Autoinduction, *Pseudomonas fluorescens*

细菌在长期的进化过程中,形成了多种调控基因表达的策略以适应外界环境的变化。其中群体感应系统(Quorum sensing, QS)是细菌通过感应自身产生的信号分子,监测其群体密度的变化进而调控基因表达的一种机制^[1]。在革兰氏阴性细菌中常见的信号分子是*N*-乙酰高丝氨酸内酯(*N*-acyl-homoserine lactone, AHL)。在典型的QS系统中,当*luxI*基因合成的AHL信号分子达到特定浓度时,转录调节子LuxR与AHL结合调控靶标基因的表达^[2,3]。QS系统可调控如抗生素的产生、生物膜(Biofilm)的形成、毒性因子的表达等多种生物表现型^[4,5];同时QS系统也受到其他调控因子的调控,*Pseudomonas*属的一些菌株中GacS/GacA双因子系统在转录水平正调控AHL合成基因的表达,从而影响AHL的产量^[6]。

P. fluorescens 2P24 分离自小麦全蚀病自然衰退土壤,可以有效防治多种植物病原真菌、细菌引起的土传病害。前期研究表明该菌株可产生 2,4-二乙酰基间苯三酚、氢氰酸、嗜铁素和蛋白酶等次生代谢物质^[7],这些次生代谢产物在植物病害生物防治过程中发挥重要作用;该菌中PcoI-PcoR QS调控系统影响生物膜的形成能力以及菌株群体在植物根部的定殖,间接影响其防治土传病害的能力^[8]。而GacS-GacA双因子系统控制着以上次生代谢物的产生,并且在转录水平调控信号合成基因*pcol*的表达,是该菌株在调控生物防治能力过程中一个重要的调控因子^[9-11]。本文通过检测*pcol*基因的转录表达,表明在*P. fluorescens* 2P24 中PcoI-PcoR QS系统存在自体反馈调控机制。同时我们的结果也明确*pcor*基因对*pcol*基因的作用及其对生物膜形成的影响。

1 材料与方法

1.1 菌株、质粒和培养条件

本实验所用菌株和质粒见表 1。培养条件参照

文献[7]。抗生素的使用浓度分别为:氨苄青霉素 50 μg/mL,卡那霉素 50 μg/mL,氯霉素 20 μg/mL,四环素 20 μg/mL。

1.2 DNA 操作与序列分析

DNA 操作参照文献[12]。亚克隆得到的片段由北京诺赛基因组研究有限公司测序。核苷酸序列分析由在线 Blast 搜索引擎完成(<http://www.ncbi.nlm.nih.gov>)。

1.3 粘粒库的筛选

含有*pcol-lacZ*转录融合结构的 2P24 菌株在含有X-gal的ABM培养基上呈浅蓝色,缺失*pcol*的正调控基因*gacA*后的突变体PM203^[10]呈白色。利用三亲交配的方法将 2P24 粘粒库^[10]在助手质粒pRK600^[16]的帮助下转入报告菌株PM203 中,三亲交配后在含有X-gal的ABM培养基上筛选菌落蓝色加深的转化子。

1.4 *pcor* 基因内缺失突变体的构建

pcor 基因内缺失突变体构建方法如下:以 *P. fluorescens* 2P24 基因组为模板,分别以引物对 R1130(5'-CCGAATTCTCCACCAGACTTGCCAT-3'), R2270(5'-CTGAGATCTCGCGAATCCTGTCTG-3') 和 R2790(5'-GCTAGATCTTCGCCAGGGAAAACAGT-3'), R3610(5'-TAGTCGACCATGAATCGCTGTCGAG-3')扩增 *pcor* 基因上游和下游片段,所得片段分别经 *EcoR* -*Bgl* 和 *Bgl* -*Sal* 酶切后,与经 *EcoR* I-*Sal* I 酶切的 pHSG299 连接得到自杀载体 p299-Δ*pcor*(图 1)。将该载体转入 2P24 中,2 次同源重组后,得到 *pcor* 基因内缺失突变体 PM109。该突变体通过引物 R1130 和 R3610 进行 PCR 验证。引物 RP(5'-TGACTGCAGACCATATCCGCGAGCG-3') 和 RH(5'-TGTAAGCTTGCCAATGTTCTGCGGAC-3') 可扩增得到含有完整 *pcor* 基因的片段,经 *Pst* I-*Hind* 酶切后,与穿梭载体 pRK415 连接得到互补载体 p415-R,用于互补实验。

表 1 菌株和质粒
Table 1 Strains and plasmids

菌株和质粒 Strains or plasmids	特征 Characteristics	来源 Source
Strains		
<i>P. fluorescens</i>		
2P24	Wild-type, Ap ^r	7
PM101	Derivative of 2P24, <i>pcoI-lacZ</i> reporter fusion, Ap ^r	11
PM109	Derivative of 2P24, <i>pcoR</i> gene in-frame deletion, Ap ^r	This study
PM203	Derivative of 2P24, <i>gacA</i> gene in-frame deletion, <i>pcoI-lacZ</i> reporter fusion, Ap ^r	11
PM204	Derivative of 2P24, <i>gacS</i> gene in-frame deletion, <i>pcoI-lacZ</i> reporter fusion, Ap ^r	11
<i>Agrobacterium tumefaciens</i> NTL4(pZLR4)	<i>A. tumefaciens</i> NT1 derivative carrying a <i>traG-lacZ</i> reporter fusion	13
<i>Escherichia coli</i> DH5α	F ⁻ <i>recA1 endA1 hsdR17 deoR thi-1 supE44 gyrA96 relA1(lacZYA-argF)U1698-(Ö80dlacZ ΔM15)</i>	14
Plasmids		
pRK415	IncP1 replicon, polylinker of pUC19, Tc ^r	15
pHSG299	Suicide plasmid for <i>Pseudomonas</i> spp., used for homologous recombination, Km ^r	TaKaRa
pRK600	Helper plasmid, Cm ^r	16
pP32-24	pLAFR5 containing <i>P. fluorescens</i> 2P24 genomic DNA, Tc ^r	This study
p415-32P	pRK415 containing the 5-kb <i>Pst</i> I fragment from pP32-24 with the <i>pcoI</i> gene, Tc ^r	This study
p415-I	pRK415 containing intact <i>pcoI</i> gene, Tc ^r	8
p415-R	pRK415 containing intact <i>pcoR</i> gene, Tc ^r	This study
p299-ΔpcoR	Suicide plasmid containing deleted <i>pcoR</i> gene on pHSG299, Km ^r	This study
p970-pcoI	pRG970Km containing <i>pcoI-lacZ</i> transcriptional fusion, Km ^r	11

1.5 信号分子 AHL 的提取、定量以及生物膜形成的检测

将 2P24 及其衍生菌株接种于 30 mL LB 液体培养基中, 28℃ 培养至对数生长后期, 12000 r/min 离心 1 min。将上清用等体积的乙酸乙酯萃取, 旋转蒸发抽干有机相, 将干物质溶于 0.1 mL 甲醇中。各取 5 μL 与报告菌 *A. tumefaciens* NTL4(pZLR4)混合, 培养 3 h 后, 检测 β-半乳糖苷酶活性。β-半乳糖苷酶活性的测定参照文献[17]。本实验所用 AHL 标准信号分子 3-氧-己酰高丝氨酸内酯(3-oxo-hexanoyl-homoserine lactone, 3-oxo-C8-HSL)购自 Sigma 公司。生物膜形成检测的具体操作方法参照文献[8]。

2 结果与分析

2.1 菌株 2P24 基因文库中筛选提高 *pcoI* 基因表达的基因

前期研究表明 *P. fluorescens* 2P24 中 GacS-GacA 双因子系统在转录水平正调控 QS 系统^[11]。为了筛选新的调控因子, 通过三亲交配的方法, 将 2P24 基因组粘粒文库转入菌株 PM203(*pcoI-lacZ*,

gacA⁻)中, 筛选到 4 个可使菌株 PM203 菌落明显变蓝的粘粒, 表明这些粘粒中的某些基因可提高 *pcoI-lacZ* 转录融合基因的表达。其中粘粒 pP32-24 经亚克隆得到一个约 5 kb 的 *Pst* 功能片段, 测序证明该片段包含了完整的 QS 系统组成成分 *pcoI* 和 *pcoR* 基因, 以及位于二者之间的 *pcoX* 基因(图 1), 表明在菌株 2P24 中 QS 系统可能存在自身反馈调控机制。

2.2 菌株 2P24 信号分子合成基因 *pcoI* 对 QS 系统的自身反馈调控

将只含有完整 *pcoI* 基因的载体 p415-I 分别转入 PM101(*pcoI-lacZ*)、PM203(*pcoI-lacZ*, *gacA*⁻)和 PM204(*pcoI-lacZ*, *gacS*⁻)中, 检测其对 *pcoI-lacZ* 表达水平的影响。结果表明质粒 p415-I 转入 PM101 后, 其 β-半乳糖苷酶的活性较出发菌株 PM101(pRK415)提高了大约 3 倍; 转入 2P24 的 *gacS*⁻ 或 *gacA*⁻ 突变体 (PM203 和 PM204)后, β-半乳糖苷酶活性也有显著提高(图 2)。

2.3 外源 AHL 信号分子对 QS 系统 *pcoI* 基因的影响

野生型菌株 2P24 产生的主要信号分子之一与

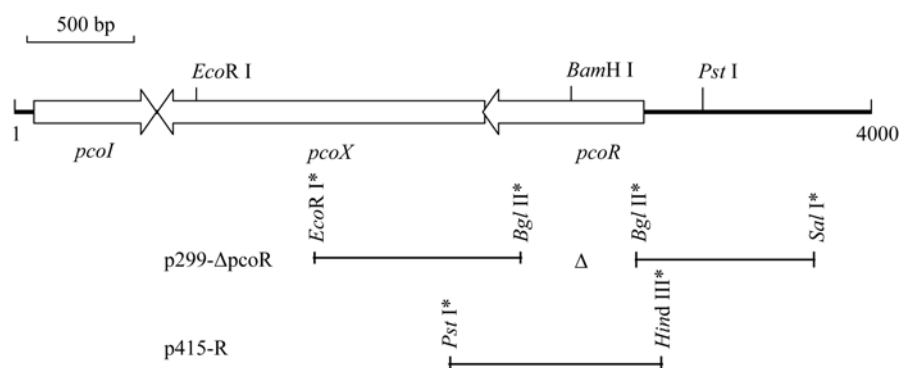


图1 *P. fluorescens* 2P24 *pcoI*、*pcoR* 群体感应系统基因物理图谱

Fig. 1 Physical location of the *pcoI*, *pcoR* QS genes in *Pseudomonas fluorescens* 2P24

Note: The bars designate the fragments cloned into the vector pHSG299 to give p299-Δ*pcoR*, into pRK415 to give p415-R. The fragment inserted in p415-R was used to complement the *pcoR* mutation in PM109.

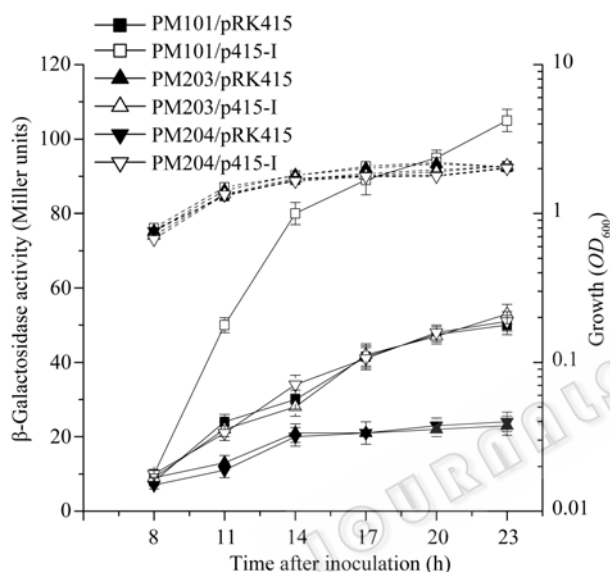


图2 *P. fluorescens* 2P24 中信号分子合成基因 *pcoI* 转录水平正调控自身表达

Fig. 2 Auto-regulation of the *pcoI* gene in *P. fluorescens* 2P24

Note: β-Galactosidase activity of the genomic fusion *pcoI-lacZ* in PM101 and its derivatives was measured at various time points after inoculation into LB medium. Growth is indicated by dotted lines. All experiments were performed in triplicate, and the $x \pm s$ are indicated.

标准信号分子 3-oxo-C8-HSL 在 TLC 法检测实中的形态和迁移率一致^[8], 因此利用外源添加标准信号分子 3-oxo-C8-HSL 的方法进一步研究 PcoI-PcoR QS 系统中 AHL 自体正调控作用。各待测菌株培养 11 h 后将 3-oxo-C8-HSL 加入待测菌液中使其终浓度达到 1 μmol, 并监测 *pcoI* 基因的表达情况。添加外源 AHL 后, 菌株 PM101 的 *pcoI* 基因的表达是未加 AHL 的 2 倍; 而且 *gacA*⁻ 突变菌株 PM203 *pcoI*

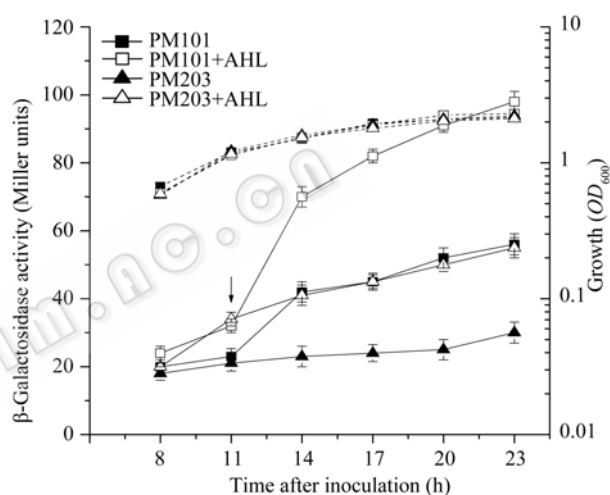


图3 外源信号分子 AHL 对 *pcoI* 基因的影响

Fig. 3 Effect of exogenous synthetic AHL on the expression of *pcoI*

Note: β-Galactosidase activity of the genomic fusion *pcoI-lacZ* in PM101 and its derivatives was measured at various time points after inoculation into LB medium. Arrowhead indicates the time point that exogenous *N*-acyl-homoserine lactone was added. Growth is indicated by dotted lines. All experiments were performed in triplicate, and the $x \pm s$ are indicated.

基因的表达也显著提高(图 3)。这些结果表明外源信号分子 3-oxo-C8-HSL 可促进 QS 系统信号合成基因 *pcoI* 的表达; 同时外源添加 AHL 可克服 *gacA* 基因缺失对 *pcoI* 基因转录的抑制作用。

2.4 转录调控因子 PcoR 对 *pcoI* 基因表达的影响

多数 QS 系统中的 LuxR 蛋白与 AHL 信号分子结合后, 其复合物可调控下游基因的表达^[15]。在菌株 2P24 中, 我们构建了录调控因子 *pcoR* 基因的内缺失突变菌株 PM109(图 4), 用以研究 PcoR 对 *pcoI* 基因的影响。将 *pcoI* 基因启动子融合质粒 p970-*pcoI*

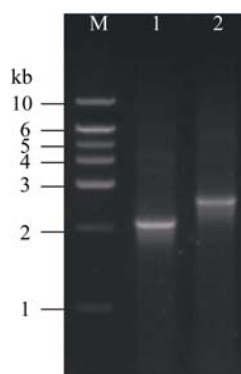


图 4 PCR 验证 *pcoR* 内缺失突变菌株

Fig. 4 Identification of the *pcoR* deletion mutant PM109 by PCR

Note: The fragments were amplified with primers R1130 and R3610 from 2P24 and *pcoR* mutant PM109. M: Marker; 1: PM109; 2: 2P24.

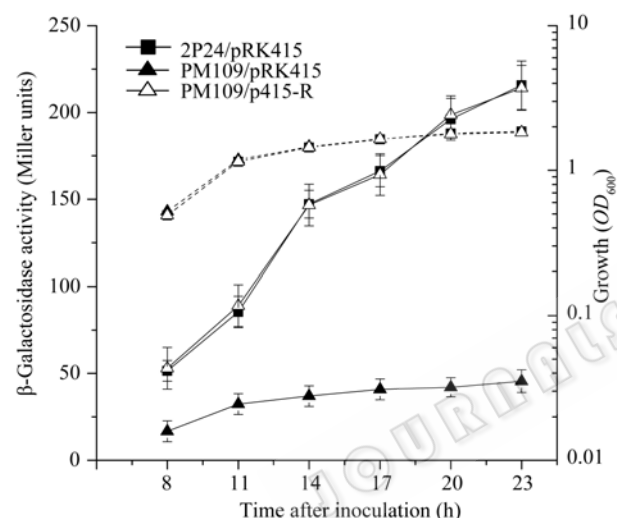


图 5 *P. fluorescens* 2P24 中 *pcoR* 基因对 *pcoI* 基因的影响

Fig. 5 Regulation of the transcriptional expression of *pcoI* gene by *pcoR*

Note: β -Galactosidase activity of the plasmid p970-*pcoI* in the wild-type 2P24 and its derivatives was measured at various time points after inoculation into LB medium. Growth is indicated by dotted lines. All experiments were performed in triplicate, and the $\bar{x} \pm s$ are indicated.

分别转入野生菌株 2P24 和突变菌株 PM109 中, 检测其 β -半乳糖苷酶活性, 结果表明与野生菌株相比缺失 *pcoR* 基因显著降低了 *pcoI* 基因的表达, 而 *pcoR* 基因的互补菌株中 *pcoI* 基因的转录水平恢复到野生型水平(图 5)。

进一步利用报告菌株 *A. tumefaciens* NTL4 (pZLR4) 定量测定了 2P24 各菌株 AHL 信号分子的积累。与上述结果相似, *pcoR* 基因的缺失也显著减少了 AHL 信号分子的产生, 其互补菌株信号分子的产

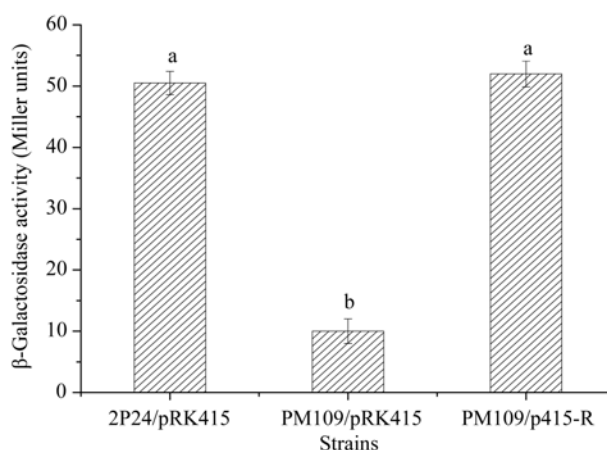


图 6 菌株 2P24 中 *pcoR* 基因缺失突变体对 AHL 信号分子产量的影响

Fig. 6 Regulation of AHL production by *pcoR* gene

Note: β -Galactosidase activity of the *traG-LacZ* fusion in the bio-sensor strain *A. tumefaciens* NTL4 (pZLR4) was measured after incubation with AHL extracted from the wild-type 2P24 and its derivatives. All experiments were performed in triplicate, and Error bars indicate standard deviation; those with a different letter are significantly different according to least significance difference test ($P < 0.05$).

量与野生型相同(图 6)。这些结果表明菌株 2P24 中调控因子 PcoR 在转录水平上正调控 *pcoI* 基因的表达, 以及 AHL 信号分子的产生。

2.5 转录调控因子 PcoR 影响生物膜(Biofilm)的形成

许多细菌中 QS 系统在生物膜的形成过程中起重要作用。以前的结果表明菌株 2P24 中 *pcoI* 基因正调控生物膜的形成^[8]。本研究对 *pcoR* 基因对生物膜形成的影响进行了检测, 结果表明 *pcoR* 基因内缺失突变菌株 PM109 形成生物膜的能力在所有检测时间点上显著低于野生型; 将含有完整 *pcoR* 基因的质粒 p415-R 转入突变菌株其形成的生物膜则可恢复到野生型菌株的水平(图 7)。这些结果表明在 2P24 中 QS 系统转录调控因子 PcoR 正调控生物膜的形成。

3 讨论

典型的 LuxI-LuxR QS 系统中, LuxR-AHL 复合物通过结合下游靶标基因启动子区域的 *lux box* 影响该基因的表达。许多细菌的信号合成基因 *luxI* 启动子区域也存在 *lux box* 区域, 因此形成了 QS 系统的自体反馈调控机制^[5,6]。本研究通过转入信号合成基因以及添加标准信号分子的方法, 检测染色体 *pcoI-lacZ* 转录融合基因的活性, 表明菌株 2P24 的 PcoI-PcoR QS 系统存在自体反馈调控机制(图 2、3)。

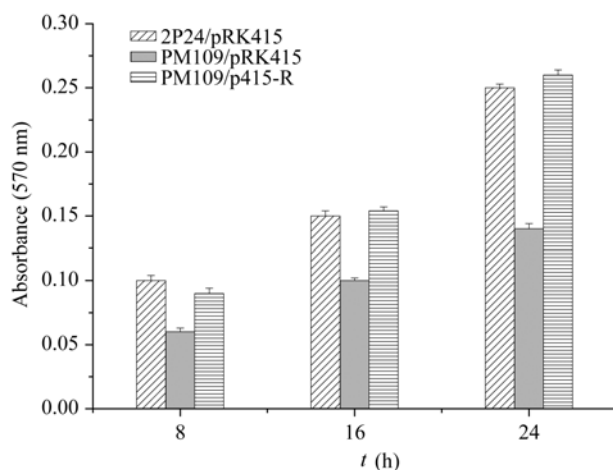


图7 *pcoR* 基因缺失突变体对生物膜产生的影响

Fig. 7 Regulation of biofilm formation by PcoR

Note: Quantification of bacteria in biofilm formation by the wild-type 2P24, the *pcoR* mutant PM109 and its complemented mutant. All experiments were performed in triplicate, and the $\bar{x} \pm s$ are indicated.

前期研究工作表明 *P. fluorescens* 2P24 中, GacS-GacA 双因子调控系统转录水平正调控 PcoI-PcoR QS 系统信号合成基因 *pcoI* 的表达, *gacA* 或 *gacS* 基因的突变会显著降低 *pcoI* 基因的转录以及信号分子的产量^[10]。但在 *gacA* 或 *gacS* 基因突变背景下, 导入的信号合成基因或外源添加信号分子同样显著地提高 *pcoI-lacZ* 活性, 表明如果菌液中含有大量的信号分子, 则可克服因 *gacA* 或 *gacS* 基因缺失对 *pcoI* 基因造成的影响(图 2、3)。而在 GacS-GacA 双因子调控系统中, 反应调控因子 GacA 是通过结合下游基因启动子附近的 USA 区域转录水平调控该基因的表达^[18]。这表明在 2P24 中 *pcoI* 基因启动子附近可能存在 GacA 调控因子结合区域和一个 AHL-PcoR 复合物的结合区域。通过对 *pcoI* 基因启动子的分析, 发现 *pcoI* 基因启动子区域并不存在保守的 *lux box* 区域, 但存在一个长度为 19 bp 的反向重复序列^[8], 该区域是否是调控因子的结合位点还需要进一步的研究。实际上并非所有的 QS 系统都存在自体反馈调控机制, 在 *Yersenia enterocolitica* 的 YenI-YenR QS 系统中, 信号分子合成基因 *yenI* 启动子区域没有 *lux box* 结构, *yenI* 基因表达不受 AHL-YenR 复合物的调控, 不存在自身反馈调控机制^[19]。由于 PcoI-PcoR QS 系统调控菌株 2P24 在植物根围的定殖能力, 因此 PcoI-PcoR QS 系统存在自体反馈调控机制很可能有利于该菌在与环境的互作中对某些信号物质迅速做出反应, 快速

适应外界环境条件。

在 PcoI-PcoR QS 系统中, 转录调控因子 PcoR 参与调控 *pcoI* 基因的表达及 AHL 的积累(图 5、6)。PcoR 对 *pcoI* 基因的调控可能是影响了 PcoI-PcoR QS 系统自体反馈机制的结果, 因为 *pcoR* 基因的缺失会直接影响 AHL-PcoR 复合物的形成。前期研究表明缺失信号合成基因 *pcoI* 会削弱生物膜的形成, 本文研究表明 PcoR 也参与生物膜的形成, *pcoR* 基因的缺失显著降低生物膜的形成(图 7), 表明转录调控因子 PcoR 是生物膜形成过程中一个重要的调控因子, 而 PcoR 的调控作用需要 AHL 的参与。

GacS-GacA 双因子系统和 QS 系统是生防菌株 2P24 防病能力的重要调控因子。目前已知该系统除了通过转录水平调控 QS 系统, 影响该菌在植物根围定殖以外, 还控制着抗生素、氢氰酸、嗜铁素和蛋白酶等生防能力相关的次生代谢物的产生, 而这些次生代谢物的产生并不受 QS 系统调控。本研究利用菌株 PM203(*pcoI-lacZ*, *gacA*⁻) 在 2P24 基因文库中除筛选到 *pcoI* 基因影响 *pcoI-lacZ* 转录, 还有其他因子影响 *pcoI* 基因表达。因此进一步的研究将着力于明确菌株 2P24 中 GacS/GacA 双因子系统下游其他调控 QS 系统和调控次生代谢物的因子, 从而勾画出该菌株中调控植物病害生物防治相关性状更为详细的信号传递途径。

参考文献

- [1] Miller MB, Bassler BL. Quorum sensing in bacteria. *Annu Rev Microbiol*, 2001, **55**: 165–199.
- [2] Eberhard A, Burlingame AL, Eberhard C, et al. Structural identification of autoinducer of *Photobacterium fischeri* luciferase. *Biochemistry*, 1981, **20**(9): 2444–2449.
- [3] Engebrecht J, Nealson K, Silverman M. Bacterial bioluminescence: isolation and genetic analysis of functions from *Vibrio fischeri* Cell, 1983, **32**(3): 773–781.
- [4] Fuqua C, Parsek MR, Greenberg EP. Regulation of gene expression by cell-to-cell communication: acyl-homoserine lactone quorum sensing. *Annu Rev Genet*, 2001, **35**: 439–468.
- [5] Waters CM, Bassler BL. Quorum sensing: cell-to-cell communication in bacteria. *Annu Rev Cell Dev Bi*, 2005, **21**: 319–346.
- [6] Heeb S, Haas D. Regulatory roles of the GacS/GacA two-component system in plant-associated and other gram-negative bacteria. *Mol Plant-Microbe Interact*, 2001, **14**(12): 1351–1363.

- [7] 魏海雷, 王 焱, 张力群, 等. 生防菌株 2P24 与 CPF-10 的鉴定及其生防相关性状的初步分析. 植物病理学报, 2004, **34**(1): 80–85.
- [8] Wei H, Zhang L. Quorum-sensing system influences root colonization and biological control ability in *Pseudomonas fluorescens* 2P24. *Antonie Van Leeuwenhoek*, 2006, **89**: 267–280.
- [9] 闫小雪, 张力群, 杨之为, 等. 调控基因 *gacA* 在荧光假单胞菌 2P24 防治土传病害中的作用. 植物病理学报, 2004, **34**(3): 272–279.
- [10] 魏海雷, 张力群. 荧光假单胞杆菌 2P24 中生防相关调控基因 *gacS* 的克隆和功能分析. 微生物学报, 2005, **45**(3): 368–372.
- [11] Yan Q, Wu XG, Wei HL, *et al.* Differential control of the PcoI/PcoR quorum-sensing system in *Pseudomonas fluorescens* 2P24 by sigma factor RpoS and the GacS/GacA two-component regulatory system. *Microbiol Res*, 2009, **164**: 18–26.
- [12] Maniatis T, Fritsch EF, Sambrook J. Molecular Cloning: A Laboratory Manual. New York: Cold Spring Harbor Laboratory Press, 1982.
- [13] Cha C, Gao P, Chen YC, *et al.* Production of acyl-homoserine lactone quorum-sensing signals by gram-negative plant-associated bacteria. *Mol Plant-Microbe Interact*, 1998, **11**(11): 1119–1129.
- [14] Hanahan D. Studies on transformation of *Escherichia coli* with plasmids. *J Mol Biol*, 1983, **166**(4): 557–580.
- [15] Keen NT, Tamaki S, Kobayashi D, *et al.* Improved broad-host-range plasmids for DNA cloning in gram-negative bacteria. *Gene*, 1988, **70**(1): 191–197.
- [16] Finan TM, Kunkel B, de Vos GF, *et al.* Second symbiotic megaplasmid in *Rhizobium meliloti* carrying exopolysaccharide and thiamine synthesis genes. *J Bacteriol*, 1986, **167**(1): 66–72.
- [17] Miller JH. Experiments in molecular genetics. New York: Cold Spring Harbor Laboratory Press, 1972.
- [18] Kay E, Humair B, Denervaud V, *et al.* Two GacA-dependent small RNAs modulate the quorum-sensing response in *Pseudomonas aeruginosa*. *J Bacteriol*, 2006, **188**(16): 6026–6033.
- [19] Throup JP, Camara M, Briggs GS, *et al.* Characterisation of the *yenI/yenR* locus from *Yersenia enterocolitica* mediating the synthesis of the two *N*-acylhomoserine lactone signal molecules. *Mol Microbiol*, 1995, **17**(2): 345–356.

栏目介绍

教学科研单位及成果展示

为了更好地宣传我国生命科学领域取得的成绩, 总结和交流我国微生物学研究和开发的新成果, 增强学术刊物与科研、教学和开发等各界同仁的广泛合作与联系, 共谋发展, 决定开设“教学科研单位及成果展示”栏目, 现诚邀有关单位参加。具体安排如下:

- 1、在《微生物学通报》显著位置开辟精美彩色专版, 刊登科研、开发、教学单位介绍, 展示科研成果、学科建设成就、生物技术新产品等, 图文并茂, 生动活泼, 每页内容要求: 图片 2~5 张, 文字 1000 字以内。
- 2、参加单位将获赠刊有本单位宣传内容的本期《微生物学通报》刊物 5 本; 获赠《微生物学通报》杂志全文检索数据光盘版 (1974~2006) 一张。
- 3、参加单位提供的简介、科研及教学成果、学科建设成就、新产品新技术展示、招生信息、人才引进及招聘启事、优秀人才推介等内容均可在本刊网站的“科研单位成果展示”等栏目免费发布一年, 并可将主页网址与我刊友情链接。
- 4、参加单位应保证宣传材料真实客观、数据翔实、文责自负, 来稿请加盖公章, 以示负责。
- 5、本栏目将适当收取版面制作及网页维护费。
- 6、本栏目联系方式:

联系电话: 010-64807336; 010-64807521

联系人: 武文 王 闵

电子信箱: gg@im.ac.cn