

茄科雷尔氏菌的蛋白分泌系统及其特征

文奇根 叶小文 黄家权 廖伯寿*

(中国农业科学院油料作物研究所 农业部油料作物生物学重点开放实验室 湖北 武汉 430062)

摘要: 茄科雷尔氏菌利用自身的分泌系统能向胞外分泌上百种蛋白, 其中Ⅱ型和Ⅲ型分泌系统通过不同机制将分泌蛋白靶定到胞外或宿主细胞, 是决定茄科雷尔氏菌对宿主产生致病性的主要因素。其中Ⅲ型分泌系统不依赖 Sec 信号转导系统但必须依赖于宿主细胞的识别激活, 并在病原菌对宿主细胞的特异性识别和细菌在宿主细胞的生长增殖中发挥功能。到目前为止, 已经从茄科雷尔氏菌的 GMI1000 株系中鉴定出两类在宿主细胞中存在靶标, 并由Ⅲ型分泌系统分泌的效应蛋白 Pop2 和 Gala 蛋白家族。主要就茄科雷尔氏菌Ⅲ型分泌系统的基本特征以及效应蛋白及其宿主靶标的相互作用进行综述。

关键词: 茄科雷尔氏菌, 效应蛋白, 致病性, Sec 途径

Versatile and Features of Secretion Systems from Pathogenic Bacteria *Ralstonia solanacearum*

WEN Qi-Gen YE Xiao-Wen HUANG Jia-Quan LIAO Bo-Shou*

(Key Laboratory of Oil Crop Biology of the Ministry of Agriculture, Oil Crops Research Institute of the Chinese Academy of Agricultural Sciences, Wuhan, Hubei 430062, China)

Abstract: Hundreds of proteins are secreted extracellularly in *Ralstonia solanacearum* through several specialized protein secretion systems. Key factors to pathogenicity are the type II and type III secretion systems, both of which are able to export large repertoires of pathogenicity effectors with distinct mechanism. The type III secretion system play an important role in host plant recognition as well as in bacteria proliferation, the whole process depend on host microbe interaction and recognition, however, it is Sec signal transduction pathway independent. To date, two groups of type III secretion system effectors with host plant targets, named Pop2 and Gala family proteins, have been identified in *R. solanacearum* strain GMI1000. This review mainly focus on the secretion systems of *R. solanacearum* and the interaction between host plant target and the type III effectors proteins such as Pop2 and Gala family proteins.

Keywords: *Ralstonia solanacearum*, Effector, Virulence, Sec pathway

茄科雷尔氏菌是 β -变形菌亚门的一类滋生于土壤的革兰氏阴性细菌, 该细菌宿主广泛, 能侵染包

括茄科(拟南芥、烟草、番茄、马铃薯)、豆科(苜蓿、花生)在内的 50 多科 200 多种作物^[1]。茄科雷尔氏菌

基金项目: 国家 863 计划项目(No. 2006AA10A115)

* 通讯作者: Tel: 86-27-86712292; E-mail: lblbhd@126.com

收稿日期: 2010-04-15; 接受日期: 2010-06-23

© 中国科学院微生物研究所期刊联合编辑部 <http://journals.im.ac.cn>

从植株伤口或者根尖通过根系的次生结构进入宿主植物木质部,在木质部中大量繁殖并堵塞导管后导致植株叶片出现青枯萎焉^[2]的症状,因此由茄科雷尔氏菌侵染产生的植物病害获名“青枯病”。尽管茄科雷尔氏菌的致病机理以及植物宿主对茄科雷尔氏菌的抗病机理并未完全清楚,但是随着遗传和分子生物学研究的深入,特别是茄科雷尔氏菌一些特定株系如 GMI1000 等全基因组测序工作的完成^[3],凸显了蛋白分泌系统在茄科雷尔氏菌与宿主的互动中的关键作用,其中 II 型和 III 型分泌系统能够诱发细菌性青枯病的发生和发展,而通过 III 型分泌系统分泌的效应蛋白则被公认为是革兰氏阴性细菌侵染宿主的主要致病成分。本文主要就茄科雷尔氏菌的蛋白分泌系统的基本特征以及 III 型分泌系统的两类分泌效应蛋白与宿主细胞的互作进行综述。

1 茄科雷尔氏菌蛋白分泌系统概述

病原菌与宿主细胞相互作用过程中,病原细菌通过蛋白分泌系统将效应蛋白定位到细菌表面或分泌到胞外。细菌分泌的蛋白数量和种类很多,并且分泌的蛋白具有包括蛋白质磷酸化/去磷酸化、蛋白质水解、细胞毒性等在内的多种功能,在细菌中存在多种途径将这些功能蛋白从细菌的细胞质运输到细菌表面或胞外。目前已经从茄科雷尔氏菌中鉴定的蛋白分泌系统主要包括 I 型、II 型、III 型、IV 型、V 型、VI 型、Two-partner secretion (TPS) 以及 Twin arginine transport (Tat) 分泌系统,这些系统几乎存在于所有革兰氏阴性细菌中^[4]。

通过不同的蛋白分泌系统,茄科雷尔氏菌能向胞外分泌超过 100 种蛋白,这些分泌蛋白的多样性不仅决定了茄科雷尔氏菌地理分布的多样性^[5],而且参与了茄科雷尔氏菌对宿主的选择特异性以及诱导了宿主的致病反应。其中能够诱导宿主对茄科雷尔氏菌产生致病反应的蛋白分泌系统主要有包括依赖 Sec 系统的 II 型分泌系统、Tat 分泌系统以及不依赖 Sec 系统的 III 型分泌系统等。

2 茄科雷尔氏菌致病性相关的蛋白分泌系统

细菌首先通过 Sec 和 Tat 分泌系统将蛋白从细菌的细胞质膜定位到周质,然后通过 II 型、III 型分

泌系统或以分子伴侣的形式运输到胞外。Tat 分泌系统是一种不依赖于 Sec 蛋白与 ATP 的蛋白运输系统,茄科雷尔氏菌 GMI1000 株系中至少存在 70 种 Tat 系统分泌蛋白,这些分泌蛋白在氮素代谢(NasF、NosL、NosZ 等)、植物细胞壁(PehC)降解以及细菌细胞膜稳定性维持(AmiC、MltB、LpxK)等方面发挥功能, Gonzalez 等利用定向突变的方法破坏茄科雷尔氏菌株系 K60 的 Tat 蛋白分泌系统后,发现茄科雷尔氏菌的菌体大小以及胞外多糖的形态与野生型均存在差异,并且细胞膜受到了损伤。从细菌对烟草及番茄植株的致病性表现上看, Tat 蛋白分泌系统受破坏后,细菌在植株中的生长繁殖能力以及对植株的侵染能力均明显减弱。另外,通过 Tat 系统分泌的蛋白如 Rsp1575 功能的丧失也导致了茄科雷尔氏菌的致病性的弱化^[6]。

II 型分泌系统首先由 Sec 介导,将细菌底物蛋白转运至周质,进而靶定到细菌内膜和外膜结构上^[7],这一分泌系统的组成与主要功能在假单胞杆菌(*Pseudomonas*)属、克雷伯氏杆菌(*Klebsiella*)属细菌中已基本清楚^[8-9]。茄科雷尔氏菌中约 30 种蛋白,主要包括参与植物细胞壁降解的胞外多糖、纤维素酶、果胶甲酯酶、纤维二糖糖苷酶以及多聚半乳糖醛酸酶等都由 II 型分泌系统分泌^[10-12]。对茄科雷尔氏菌 GMI1000 株系进行定向突变的研究结果表明, II 型分泌系统遭受破坏的株系对番茄植株的致病力明显低于野生株系,同时,蛋白纤维素酶与果胶酶对致病性的作用也存在明显差异,但由 II 型分泌系统分泌的效应蛋白导致细胞壁降解并不是茄科雷尔氏菌产生致病性的唯一因素^[13], II 型分泌系统介导的病原菌与宿主的互作机理并不清楚。

III 型分泌系统主要存在于革兰氏阴性菌中,其分泌的蛋白可以直接作为效应蛋白侵染宿主。III 型分泌系统具有 4 个特征:只有在细菌与宿主细胞相互作用后才能被激活,一些细菌的 III 型分泌系统的分泌蛋白具有末端可切除的信号肽序列而缺乏明显的分泌信号,III 型分泌系统不依赖 Sec 的介导,该系统需要分泌可通过细菌内外膜的蛋白,因此有赖于其他分子伴侣的协助。III 型分泌系统的组成成分与构成鞭毛基体的组分类似^[14],系统进化分析的结果也显示植物病原细菌 III 型分泌系统的进化与编码鞭毛组分的蛋白进化较为一致,可能这两类系统来源

于同一较为古老的系统^[15]。

3 茄科雷尔氏菌的Ⅲ型分泌系统

植物与病原微生物的互作研究结果表明, 革兰氏阴性细菌特异的Ⅲ型分泌系统分泌效应蛋白并注入到植物细胞中^[16-17], 从而引起宿主细胞的致病反应和非宿主细胞的过敏反应。

3.1 茄科雷尔氏菌Ⅲ型分泌系统的基本特征

在茄科雷尔氏菌中, Ⅲ型分泌系统由 *hrp* 基因簇编码^[18], 并且受 *AraC* 基因家族成员 *HrpB* 的转录调节。在茄科雷尔氏菌 GMI1000 株系中, 已经鉴定出至少 74 种属于Ⅲ型分泌系统分泌的蛋白, 与其他细菌类似, 这些分泌蛋白在茄科雷尔氏菌的巨型质粒和染色体上均有分布, 其中 28 种已经被证实能被分泌到培养基或宿主细胞中, 大约 45% 的Ⅲ型分泌系统的分泌蛋白编码基因在其他细菌中找到同源基因, 另有一半以上的编码基因可能为茄科雷尔氏菌所特有^[4], 而且这些茄科雷尔氏菌所特有的编码基因在株系间并不完全保守。GMI1000 的测序结果Ⅲ型分泌系统的分泌蛋白编码基因主要为基因家族 (如 GALA 效应蛋白等) 成员与含有内部重复序列 (如锚蛋白重复序列、富含亮氨酸蛋白重复序列等) 的基因。

近来, 日本研究小组通过构建携带依赖钙调蛋白的腺苷酸环化酶报告体系的转座载体, 检测茄科雷尔氏菌菌株 RS1000 侵染后活体植株中 cAMP 含量, 检测了 72 种能通过Ⅲ型分泌系统分泌到宿主植物中的效应蛋白。与 GMI1000 株系中的效应蛋白类似, RS1000 株系中也存在类似真核生物中存在的膜体序列, 如锚蛋白重复序列、丝氨酸/苏氨酸乙酰转移酶序列、丝氨酸/苏氨酸激酶序列、PPR (Pentatricopeptide) 重复序列等。然而, 不同茄科雷尔氏菌株之间的Ⅲ型分泌系统的分泌效应蛋白存在差异, RS1000 株系与同属于 Race1 的 GMI1000 株系间效应蛋白的一致性达到 95% 以上, 而与属于 Race3 的 UW551 株系间的一致性仅为 50%–85%^[19-20]。

3.2 茄科雷尔氏菌Ⅲ型分泌系统的分泌效应蛋白功能

根据植物受侵染后产生的不同反应, 茄科雷尔氏菌的效应蛋白分为致病性效应蛋白和非致病性效应蛋白两类。Ⅲ型分泌系统分泌的效应蛋白是茄科

雷尔氏菌对宿主细胞产生致病性的主要因子, 一旦编码Ⅲ型分泌系统组分的 *hrp* 基因发生突变, 细菌对烟草、番茄、矮牵牛、苜蓿等作物的致病性则丧失^[21-24], 另外, 茄科雷尔氏菌与植物接触也能诱导一些效应蛋白的表达, 这些效应蛋白在对宿主细胞的特异性识别、促进菌体自身在植株中扩繁以及避开植物的防卫反应等方面发挥功能^[25]。

3.2.1 茄科雷尔氏菌的致病性效应蛋白功能: 革兰氏阴性细菌通过Ⅲ型分泌系统向宿主细胞分泌蛋白, 这些蛋白能够抑制由宿主细胞自身固有的免疫系统引发的防卫反应, 从而激活细菌对宿主的致病性。这种抑制作用主要通过破坏宿主细胞的信号转导途径以及转录或转录后调控来实现, 而有的蛋白则行使蛋白降解酶的功能, 破坏宿主的泛素化途径或 26S 蛋白体来破坏植物的防卫系统^[26], 从而引起宿主感病。一旦这些引起宿主感病的蛋白失活, 细菌对宿主的致病性也随之消失, 因此这种决定细菌毒性的蛋白 (Virulence factor) 被称之为致病性效应蛋白, 茄科雷尔氏菌中已经分离鉴定的致病性效应蛋白并不多, 比较成功的是 Gala 蛋白家族。

茄科雷尔氏菌 Gala 蛋白家族为含有 LRR 和 F-box 结构域的效应蛋白, GMI1000 株系中存在 7 个 Gala 成员^[27], 而在 Molk2 和 UW551^[28] 株系中至少含有 6 个 Gala 成员。利用 Gala6 效应蛋白能够通过Ⅲ型分泌系统进入植物细胞中的特性, Angot 等利用酵母双杂交技术鉴定了拟南芥对 GMI1000 菌株 Gala6 效应蛋白的靶标 ASK (Arabidopsis SKP1-like) 蛋白。Gala 效应蛋白与拟南芥 ASK 蛋白家族成员存在不同程度的互作, 这种互作主要与 Gala 蛋白的 F-box 结构域有关, F-box 结构域介导 Gala 蛋白对拟南芥的致病性, Gala 效应蛋白的作用机制可能是通过与 ASK 蛋白的互作, 形成与真核生物类似的 SCF (Skp1-Cullin-F-box) 泛素连接酶复合物, 参与泛素化途径。Gala 蛋白在不同的宿主条件下, 功能有所不同, 同时敲除 GMI1000 株系中的 7 个 Gala 效应蛋白能显著破坏 GMI1000 对拟南芥的致病性, 但在番茄中致病性的弱化程度并不显著。另外, Gala 蛋白还具有扩大茄科雷尔氏菌的宿主范围的作用, 如 Gala7 是决定 GMI1000 菌株侵染苜蓿的关键因子^[29]。除了 F-box 结构域, Gala 蛋白家族还存在与植物抗性蛋白一致的富含亮氨酸拉链 (LRR) 结构域,

3D 结构预测的结果表明该 LRR 结构域与植物内源 CC-LRR (Cysteine-containing LRR) 结构一致^[30], 但这一特殊结构是否有助于茄科雷尔氏菌避开植物的防卫体系尚不清楚。

3.2.2 茄科雷尔氏菌的非致病性效应蛋白功能:除了向宿主细胞分泌致病性效应蛋白, 革兰氏阴性细菌还能通过 III 型分泌系统分泌一类能够被宿主细胞中相应的抗性蛋白识别, 并通过这种识别诱发宿主产生过敏反应, 在细菌与宿主的接触位点发生细胞程序性死亡, 从而抑制细菌的侵染, 因此这类不能引起宿主细胞感病的无毒因子 (Avirulence factor) 被称作非致病性效应蛋白。茄科雷尔氏菌 III 型分泌系统分泌的 74 种效应蛋白中存在与 *Pseudomonas syringae* 和 *Xanthomonas campestris* 等细菌同源的非致病性效应蛋白, 如 AvrPtoB、AvrBs、AvrPphE 等, 其中 AvrPtoB、AvrBs^[31-32] 在番茄等植物均鉴定出相应的抗性蛋白, 而 AvrPphE 等可能参与细菌对宿主的特异性选择, 但是茄科雷尔氏菌中的此类效应蛋白是否具有同样的功能尚不清楚。另外, RipA、RipB、RipG、RipT 也被鉴定为茄科雷尔氏菌的非致病性效应蛋白, 其中 RipA 和 RipG 为茄科雷尔氏菌所特有, 并多个基因家族成员编码, RipT 与另一类非致病性效应蛋白 PopP2 类似, 均具有半胱氨酸蛋白酶活性^[27]。

Wroblewski^[33] 等分析茄科雷尔氏菌 BS048 株系中 41 类效应蛋白以及 GMI1000 株系中 5 类效应蛋白与莴苣、番茄、辣椒、烟草等植物叶片的互作发现, GMI1000 株系的 HopQ1-1 能够诱导烟草产生严重的褪绿表型, HopQ1-1 已被鉴定为 *P. syringae* 中的非致病性效应蛋白, HopQ1-1 失活能恢复 *P. syringae* 对烟草的侵染性^[34]。BS048 株系中存在至少 10 类能诱导莴苣、番茄、辣椒、烟草不同品种产生不同程度的坏死或褪绿症状, 其中包括 AvrA、HopAV1、HopX 等, 另外, 非宿主叶片中由效应蛋白诱导产生的坏死或褪绿症状较宿主叶片中产生的更为明显。

AvrA 是一类已经被证实的茄科雷尔氏菌 III 型分泌系统分泌的非致病性效应蛋白, 能够诱导烟草植株产生过敏反应从而抵御 AW1 和 GMI1000 株系的侵染^[35-36], 但 AvrA 并不是决定烟草植株对 AW1 株系产生过敏反应的唯一因子, PopP1 也参与诱导宿主产生过敏反应。利用 GMI1000 侵染烟草属 3 个

不同种的研究结果表明, AvrA 与 PopP1 都能诱导烟草产生过敏反应, 但这种互作存在宿主选择性, 另外, 茄科雷尔氏菌侵染矮牵牛的研究结果也证实 PopP1 具有对宿主选择的特异性^[37]。

尽管 AvrA 和 PopP1 已经被证实为能诱导宿主细胞产生过敏反应的关键因子, 但是两者在宿主细胞中是否存在相应的抗性蛋白并不清楚, Deslandes^[38] 等利用拟南芥抗性品种 ND-1 筛选 GMI1000 突变株系时发现, 效应蛋白 PopP2 缺失菌株能侵染拟南芥 ND-1, 将 PopP2 的基因重新导入缺失菌株后, ND-1 对该菌株的侵染产生了抗性, 表明 PopP2 是 GMI1000 株系中关键的非致病性效应蛋白。PopP2 在宿主细胞中被抗性蛋白 RRS1-R 识别, 并定位到植物的细胞核中。酵母双杂交的结果表明, 除了抗性蛋白 RRS1-R, 一种定位于液泡的半胱氨酸蛋白酶 RD19 参与了 RRS1-R 介导的拟南芥对 GMI1000 菌株侵染的抗性, 与 RRS1-R 类似, RD19 也被重新定位到植物细胞核中^[39-40], 但是 RD19 基因不包含核定位序列, 由 PopP2 介导的 RD19 进入宿主细胞核的机制尚不清楚。

4 小结与展望

蛋白分泌系统是茄科雷尔氏菌侵染宿主细胞的主要武器, 蛋白分泌系统的多样性决定了茄科雷尔氏菌在生长分化等方面的多样性, 其中 II 型和 III 型分泌系统被认为在茄科雷尔氏菌侵染宿主细胞的过程中发挥重要的功能, 其他的蛋白分泌系统在茄科雷尔氏菌侵染宿主细胞过程中扮演何种角色以及不同的蛋白分泌系统之间是否存在协同作用尚需进一步研究。

GMI1000^[41]、UW551^[28] 等菌株全基因组测序工作的完成, 以及高通量筛选和新的功能鉴定体系^[33] 的建立, 推动了雷尔氏菌 III 型分泌系统及其效应蛋白的功能研究, 为更好地筛选决定菌株特异性侵染的蛋白以及研究菌株与宿主的协同进化打下了坚实的基础, 这也将进一步带动茄科雷尔氏菌其他蛋白分泌系统的研究。

另一方面, 茄科雷尔氏菌蛋白分泌系统中致病性效应蛋白的剖析也有利于推动宿主细胞防卫机制的研究, 尽管到目前为止已经成功分离了与茄科雷尔氏菌互作的某些植物靶标组分, 但它们之间的作

用机制尚未完全证实。而致力于茄科雷尔氏菌蛋白分泌系统中非致病性效应蛋白的研究, 则将加深茄科雷尔氏菌对植物的致病机理的研究, 并加速植物内源抗性基因的分离, 为定向提高植物对茄科雷尔氏菌的抗性提供理论依据。

参 考 文 献

- [1] Hayward A. *Ralstonia solanacearum*. *Encyclopedia of Microbiology*, 2000(4): 32–42.
- [2] Vasse J, Frey P, Trigalet A. Microscopic studies of intercellular infection and protoxylem invasion of tomato roots by *Pseudomonas solanacearum*. *Molecular Plant-Microbe Interactions*, 1995(8): 241–251.
- [3] Salanoubat M, Genin S, Artiguenave F, *et al.* Genome sequence of the plant pathogen *Ralstonia solanacearum*. *Nature*, 2002, **415**(6871): 497–502.
- [4] Poueymiro M, Genin S. Secreted proteins from *Ralstonia solanacearum*: a hundred tricks to kill a plant. *Current Opinion in Microbiology*, 2009, **12**(1): 44–52.
- [5] Valls M, Genin S, Boucher C. Integrated regulation of the type III secretion system and other virulence determinants in *Ralstonia solanacearum*. *PLoS Pathog*, 2006, **2**(8): 798–807.
- [6] González ET, Brown DG, Swanson JK, *et al.* Using the *Ralstonia solanacearum* tat secretome to identify bacterial wilt virulence factors. *Appl Environ Microbiol*, 2007, **73**(12): 3779–3786.
- [7] Tseng TT, Tyler BM, Setubal JC. Protein secretion systems in bacterial-host associations, and their description in the gene ontology. *BMC Microbiology*, 2009, **9**(Suppl 1): S2.
- [8] Cianciotto N. Type II secretion: a protein secretion system for all seasons. *Trends in Microbiology*, 2005, **13**(12): 581–588.
- [9] Filloux A. The underlying mechanisms of type II protein secretion. *BBA-Molecular Cell Research*, 2004, **1694**(1/3): 163–179.
- [10] González ET, Allen C. Characterization of a *Ralstonia solanacearum* operon required for polygalacturonate degradation and uptake of galacturonic acid. *Molecular Plant-Microbe Interactions*, 2003, **16**(6): 536–544.
- [11] Kang YW, Huang JZ, Mao GZ, *et al.* Dramatically reduced virulence of mutants of *Pseudomonas solanacearum* defective in export of extracellular proteins across the outer membrane. *Molecular Plant-Microbe Interactions*, 1994, **7**(3): 370–377.
- [12] Liu H, Denny TP. Proteomics analysis indicates that *Ralstonia solanacearum* has a distinctive type II secretion system. *Phytopathology*, 2007(97): S66–S67.
- [13] Liu H, Zhang SP, Schell MA, *et al.* Pyramiding unmarked deletions in *Ralstonia solanacearum* shows that secreted proteins in addition to plant cell-wall-degrading enzymes contribute to virulence. *Molecular Plant-Microbe Interactions*, 2005, **18**(12): 1296–1305.
- [14] Gophna U, Ron E, Graur D. Bacterial type III secretion systems are ancient and evolved by multiple horizontal-transfer events. *Gene*, 2003(312): 151–163.
- [15] He SY, Nomura K, Whittam TS. Type III protein secretion mechanism in mammalian and plant pathogens. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular Cell Research*, 2004, **1694**(1/3): 181–206.
- [16] McCann HC, Guttman DS. Evolution of the type III secretion system and its effectors in plant-microbe interactions. *New Phytologist*, 2008, **177**(1): 33–47.
- [17] Hogenhout SA, Van der Hoorn R, Terauchi R, *et al.* Emerging concepts in effector biology of plant-associated organisms. *Molecular Plant-Microbe Interactions*, 2009, **22**(2): 115–122.
- [18] Cunac S, Boucher C, Genin S. Characterization of the cis-acting regulatory element controlling *hrpB*-mediated activation of the type III secretion system and effector genes in *Ralstonia solanacearum*. *Journal of Bacteriology*, 2004, **186**(8): 2309–2318.
- [19] Mukaiharu T, Tamura N. Identification of novel *Ralstonia solanacearum* type III effector proteins through translocation analysis of *hrpB*-regulated gene products. *Microbiology*, 2009, **155**(7): 2235–2344.
- [20] Mukaiharu T, Tamura N, Iwabuchi M. Genome-wide identification of a large repertoire of *Ralstonia solanacearum* type III effector proteins by a new functional screen. *Molecular Plant-Microbe Interactions*, 2010, **23**(3): 251–262.
- [21] Vasse J, Genin S, Frey P, *et al.* The *hrpB* and *hrpG* regulatory genes of *Ralstonia solanacearum* are required for different stages of the tomato root infection process. *Molecular Plant-Microbe Interactions*, 2000, **13**(3): 259–267.
- [22] Vailleau F, Sartorel E, Jardinaud M, *et al.* Characterization of the interaction between the bacterial wilt pathogen *Ralstonia solanacearum* and the model legume plant *Medicago truncatula*. *Molecular Plant-Microbe Interactions*, 2007, **20**(2): 159–167.
- [23] Zolobowska L, Van Gijsegem F. Induction of lateral root structure formation on petunia roots: a novel effect of GM1000 *Ralstonia solanacearum* infection impaired in *hrp* mutants. *Molecular Plant-Microbe Interactions*, 2006, **19**(6): 597–606.
- [24] Kanda A, Yasukohchi M, Ohnishi K, *et al.* Ectopic expression of *Ralstonia solanacearum* effector protein popA early in invasion results in loss of virulence. *Molecular Plant-Microbe Interactions*, 2003, **16**(5): 447–455.
- [25] Aldon D, Brito B, Boucher C, *et al.* A bacterial sensor of plant cell contact controls the transcriptional induction of *Ralstonia solanacearum* pathogenicity genes. *EMBO J*,

- 2000, **19**(10): 2304–2314.
- [26] Block A, Li G, Fu ZQ, *et al.* Phytopathogen type III effector weaponry and their plant targets. *Current Opinion in Plant Biology*, 2008, **11**(4): 396–403.
- [27] 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. *Molecular Microbiology*, 2004, **53**(1): 115–128.
- [28] Gabriel DW, Allen C, Schell M, *et al.* Identification of open reading frames unique to a select agent: *Ralstonia solanacearum* race 3 biovar 2. *Molecular Plant-Microbe Interactions*, 2006, **19**(1): 69–79.
- [29] Angot A, Peeters N, Lechner E, *et al.* *Ralstonia solanacearum* requires F-box-like domain-containing type III effectors to promote disease on several host plants. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2006, **103**(39): 14620–14625.
- [30] Kajava AV, Anisimova M, Peeters N. Origin and evolution of GALA-LRR, a new member of the CC-LRR subfamily: from plants to bacteria? *PLoS One*, 2008, **3**(2): 1–9.
- [31] Abramovitch RB, Kim YJ, Chen SR, *et al.* *Pseudomonas* type III effector AvrPtoB induces plant disease susceptibility by inhibition of host programmed cell death. *EMBO J*, 2003, **22**(1): 60–69.
- [32] Szurek B, Rossier O, Hause G, *et al.* Type III-dependent translocation of the *Xanthomonas* AvrBs3 protein into the plant cell. *Molecular Microbiology*, 2002, **46**(1): 13–23.
- [33] Wroblewski T, Caldwell KS, Piskurewicz U, *et al.* Comparative large-scale analysis of interactions between several crop species and the effector repertoires from multiple pathovars of *Pseudomonas* and *Ralstonia*. *Plant Physiol*, 2009, **150**(4): 1733–1749.
- [34] Wei CF, Kvitko BH, Shimizu R, *et al.* A *Pseudomonas syringae* pv. tomato DC3000 mutant lacking the type III effector HopQ1-1 is able to cause disease in the model plant *Nicotiana benthamiana*. *The Plant Journal*, 2007, **51**(1): 32–46.
- [35] Carney BF, Denny TP. A cloned avirulence gene from *Pseudomonas solanacearum* determines incompatibility on *Nicotiana tabacum* at the host species level. *J Bacteriol*, 1990, **172**(9): 4836–4843.
- [36] Poueymiro M, Cunnac S, Barberis P, *et al.* Two type III secretion system effectors from *Ralstonia solanacearum* GMI1000 determine host-range specificity on tobacco. *Molecular Plant-Microbe Interactions*, 2009, **22**(5): 538–550.
- [37] Lavie M, Shillington E, Eguiluz C, *et al.* PopP1, a new member of the YopJ/AvrRxv family of type III effector proteins, acts as a host-specificity factor and modulates aggressiveness of *Ralstonia solanacearum*. *Molecular Plant-Microbe Interactions*, 2002, **15**(10): 1058–1068.
- [38] Deslandes L, Olivier J, Peeters N, *et al.* Physical interaction between RRS1-R, a protein conferring resistance to bacterial wilt, and PopP2, a type III effector targeted to the plant nucleus. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2003, **100**(13): 8024–8029.
- [39] Deslandes L, Olivier J, Theulieries F, *et al.* Resistance to *Ralstonia solanacearum* in *Arabidopsis thaliana* is conferred by the recessive RRS1-R gene, a member of a novel family of resistance genes. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2002, **99**(4): 2404–2409.
- [40] Bernoux M, Timmers T, Jauneau A, *et al.* RD19, an *Arabidopsis* cysteine protease required for RRS1-R-mediated resistance, is relocalized to the nucleus by the *Ralstonia solanacearum* PopP2 effector. *Plant Cell*, 2008, **20**(8): 2252–2264.
- [41] Genin S, Boucher C. Lessons learned from the genome analysis of *Ralstonia solanacearum*. *Annu Rev Phytopathol*, 2004(42): 107–134.

稿件书写规范

论文中有关正、斜体的约定

物种的学名：菌株的属名、种名(包括亚种、变种)用拉丁文斜体。属的首字母大写，其余小写，属以上用拉丁文正体。病毒一律用正体，首字母大写。

限制性内切酶：前3个字母用斜体，后面的字母和编码正体平排，例如：*Bam*H I、*Msp* I、*Sau*3A I 等。

氨基酸和碱基的缩写：氨基酸缩写用3个字母表示时，仅第一个字母大写，其余小写，正体。碱基缩写为大写正体。

基因符号用小写斜体，蛋白质符号首字母大写，用正体。