

## 假单胞菌铁载体及色素研究

毛得奖<sup>1\*</sup> 朱亚玲<sup>2</sup> 韩宁<sup>1</sup>

(1. 山东轻工业学院 食品与生物工程学院 山东 济南 250353)

(2. 山东轻工业学院 化学与制药工程学院 山东 济南 250353)

**摘要:** 假单胞菌分布广泛, 种类繁多, 能够产生多种结构的铁载体及具有特定颜色的色素化合物, 这使假单胞菌在生物病害防治、医学研究等领域应用潜力巨大。假单胞菌铁载体具有菌种和菌株特异性, 可在一定程度上作为其分类依据。假单胞菌色素具有色调、结构、功能多样性, 与其铁载体在功能上具有一定重叠性。假单胞菌铁载体及色素分离纯化方法相对比较简单, 但它们的生物合成及转运代谢机制非常复杂。

**关键词:** 假单胞菌, 铁载体, 色素, 分离纯化, 合成与转运代谢调控机制

## Siderophores and pigments produced by *Pseudomonas* bacteria

MAO De-Jiang<sup>1\*</sup> ZHU Ya-Ling<sup>2</sup> HAN Ning<sup>1</sup>

(1. School of Food and Bioengineering, Shandong Polytechnic University, Jinan, Shandong 250353, China)

(2. School of Chemistry and Pharmaceutical Engineering, Shandong Polytechnic University, Jinan, Shandong 250353, China)

**Abstract:** The widely spread bacteria of *Pseudomonas* genus could produce siderophores with different chemical structures and pigments with special colors. These siderophores and pigments confer the *Pseudomonas* bacteria great practical application potency in diseases controlling and medical researches. In some content, siderophores could be used as a tool for *Pseudomonas* taxonomy. Pigments produced by *Pseudomonas* have diverse hues, chemical struc-

基金项目: 山东省高等学校科技计划项目(No. J09LB07)

\*通讯作者: ✉: maodej@126.com

收稿日期: 2012-05-02; 接受日期: 2012-08-20

tures and functions, in addition, some of them also function as siderophores. It is relatively simple to isolate and purify the *Pseudomonas*'s siderophores and pigments, while the biosynthesis and transport regulation mechanism are complicated very much.

**Keywords:** *Pseudomonas* bacteria, Siderophore, Pigment, Isolation and purification, Biosynthesis and transport regulation

假单胞菌属细菌分布广泛、种类繁多, 是一类能够同时产生多种色素类物质及铁载体化合物的特殊微生物。这些色素类物质及铁载体化合物有的兼具抗生素作用, 或与菌株毒力及菌体营养竞争相关联, 因而使假单胞菌与生物防治、环境保护、医学医药和天然色素研究开发等方面关系密切, 在农业、化肥工业、造纸印染工业和医药产业等领域应用广泛。

## 1 假单胞菌的分类

假单胞菌属 (*Pseudomonas*, 早期也写作 *Pseudomonads*) 是薄壁菌门假单胞菌科的模式属, 由 Migula 于 1894 年建立该分类单元, 其中包括各种各样的需氧性革兰氏阴性杆菌。由于分类方法的不同, 该属微生物菌株的分类依据复杂, 菌种分类归属及命名多有变动, 给相关领域的研究工作带来极大不便。Palleroni 依据 rRNA-DNA 杂交将假单胞菌属划分为 5 个 rRNA 同源群, 在群下再分为不同的 DNA 同源组。Aniza 依据 16S rRNA 将该属分成 7 个组, 各组下包含不同的种。原该属的一些种则转移到其它已存在的属或另立新属<sup>[1-2]</sup>。目前的假单胞菌属严格来说是指 Palleroni 的 rRNA I 群的荧光 DNA 组。该组包括铜绿假单胞菌(临床上称作绿脓杆菌, *Pseudomonas aeruginosa*)、荧光假单胞菌(*Pseudomonas fluorescens*)、恶臭假单胞菌(*Pseudomonas putida*)、产氮假单胞菌(*Pseudomonas azotoformans*)等, 它们在培养基上培养时能产生多种标志性荧光色素。

## 2 假单胞菌铁载体

铁元素是好氧和兼性厌氧微生物的必需营养元素, 在生物新陈代谢过程中起着非常重要的作用。虽然地壳中铁元素含量居第 4 位, 但在有氧条件下, 多以难溶态的氢氧化合物聚合体形式存在, 因此自然生境中生物可利用的游离态  $\text{Fe}^{3+}$  极度贫乏(约为  $10^{-9}$  mol/L 水平)<sup>[3]</sup>。微生物为满足自身铁素营养需求, 演化出合成和分泌铁载体以捕获周围环境中的铁离子的机制<sup>[4]</sup>。铁载体 [Siderophore, 源于希腊语, 铁运载工具之意, 也可称作铁色素(Siderochrome)] 是一类低分子量特异性螯铁分子。铁载体介导的铁元素摄入或许是细菌获取铁素营养的最普遍方式, 许多微生物甚至合成和分泌超出自身细胞干重的铁载体来满足铁素营养需求<sup>[3,5]</sup>。铁载体研究始于 20 世纪 40 年代, 迄今已知的铁载体约有 500 多种, 为分子量小于 1 000 Da (少数小于 1 500 Da) 的小分子化合物<sup>[6]</sup>, 其生物合成受基质中  $\text{Fe}^{3+}$  含量的负调控, 微量的  $\text{Fe}^{3+}$  (一般 < 50–100  $\mu\text{mol/L}$ ) 即可完全抑制铁载体的合成<sup>[7-9]</sup>。依据铁载体分子螯铁功能基团的不同, 大致可以分为 3 类<sup>[10-16]</sup>: (1) (儿茶)酚型基团铁载体[(Catechol) Phenolic groups], 如肠菌素 Enterobactin; (2) 羟肟酸型基团铁载体 (Hydroxamate groups), 如 Schizokinen; (3) 兼有(儿茶)酚型与羟肟酸型基团铁载体, 如分枝杆菌素 Mycobactin。

假单胞菌属细菌产生的铁载体主要有 3 种类型, 第一类是脓青素(Pyoverdine, PVD), 也称作

假单胞菌素(Pseudobactin), 与  $\text{Fe}^{3+}$  有着极高的亲和力(脓青素- $\text{Fe}^{3+}$  复合物的稳定常数可达  $10^{20}$ – $10^{30}$  数量级<sup>[17]</sup>)。假单胞菌属的代表性菌株——铜绿假单胞菌的脓青素相关分子机理在本属细菌中研究得最为深入<sup>[18]</sup>。脓青素在 1892 年就被作为一种色素而记载, 然而其生理功能直到 20 世纪 70 年代末才被揭示。1942 年 Turfiejier 首次提出“Pyoverdine”这一名称, 专指荧光性假单胞菌群产生的黄绿色水溶性具荧光的色素, 1958 年 Elliott 等将该名称泛指荧光性假单胞菌群产生的所有色素。在解析了荧光色素化合物的分子结构后“Pyoverdine”的含义被固定使用并沿用至今<sup>[17,19]</sup>。脓青素具有黄绿色荧光, 属于兼有(儿茶)酚型与羟肟酸型基团铁载体, 过量  $\text{Fe}^{3+}$  会使其水溶液呈红褐色, 其分子结构具有 3 个结构域(图 1): (1) 使整个分子具有颜色和荧光性的喹啉衍生物发色团; (2) 连接到发色团氨基上的酰基链(羧酸或酰胺); (3) 以氨基末端连接到发色团 C1 或 C3 位置的羧基上的 6–12 个氨基酸残基的肽链。脓青素分子结构中的酰基链多为二羧酸残基, 如琥珀酸或其酰胺、苹果酸或其酰胺、 $\alpha$ -酮戊二酸或谷氨酸。

脓青素分子中最重要的部分是多肽链, 其中氨基酸残基的种类和数量具有菌株特异性, 可以将其作为菌株分类的一种依据。1981 年, 第一个脓青素(由荧光假单胞 B10 菌株合成)分子结构被完全解析<sup>[20–21]</sup>; 至 2000 年, 已测定解析了近 40 种源于各种菌株的不同结构的脓青素分子, 预期在研究中还可以发现 30 多种脓青素。不同荧光性假单胞菌株合成的部分脓青素的肽链结构可参照文献[20]。依据脓青素的分子结构, 可将其划分为 3 个类型(图 2)<sup>[22–25]</sup>, 脓青素分型为其产生菌之间的生物型关系研究提供了一种简便快速的方法。

在某些荧光性假单胞菌的培养物上清液中含有少量脓青素的副产物, 它们与棕色固氮菌(*Azotobacter vinelandii*)产生的荧光色素兼铁载体——固氮菌素(Azotobactin)的发色团完全一样, 都在喹啉发色团上含有一个额外的尿素环, 暗示着脓青素与固氮菌素在合成过程中关系密切<sup>[22]</sup>。

假单胞菌属细菌合成的第二类主要的铁载体称为铜绿假单胞菌螯铁蛋白(Pyochelin, 或称绿脓杆菌螯铁蛋白)<sup>[18,26–27]</sup>, 由一分子水杨酸(Salicylic acid)与两分子半胱氨酸(Cysteine)残基

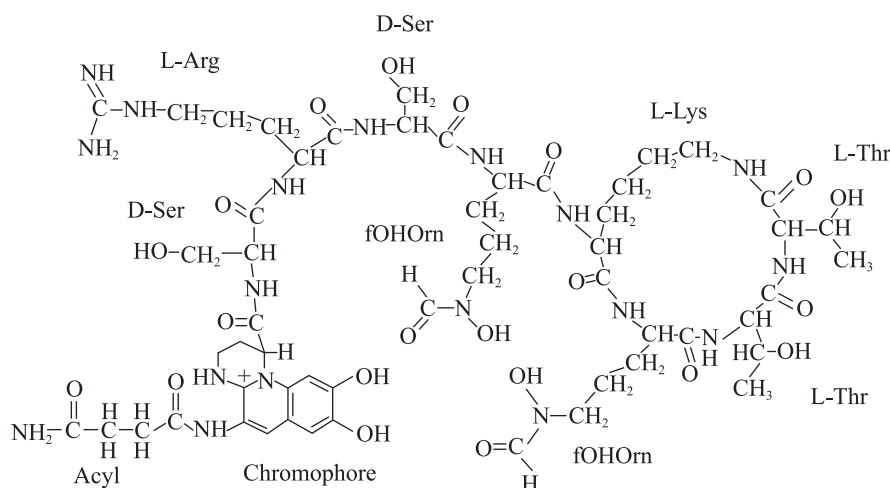


图 1 *Pseudomonas aeruginosa* PAO1 菌株脓青素(Pyoverdine)结构<sup>[27]</sup>

Fig. 1 Chemical structure of pyoverdine produced by *Pseudomonas aeruginosa* PAO1<sup>[27]</sup>

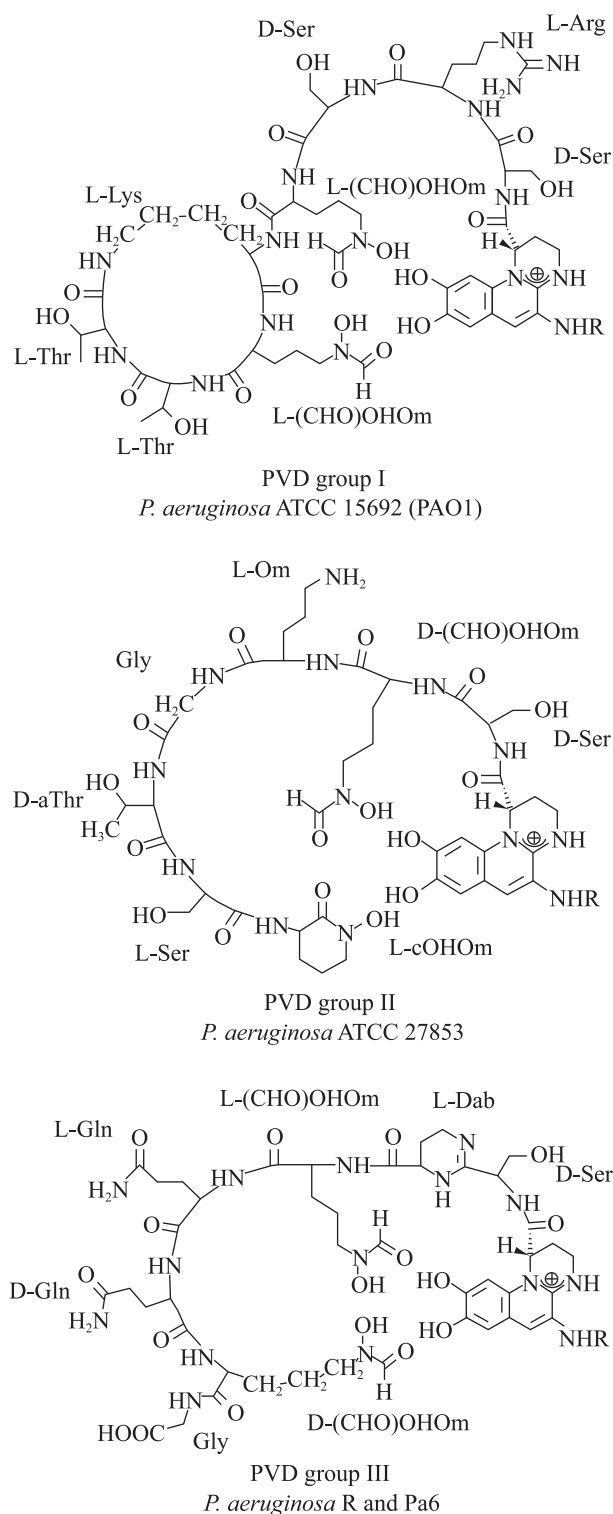
图2 I、II、III型脓青素(Pyoverdine)结构<sup>[23]</sup>

Fig. 2 Chemical structure of type I, II, III pyoverdine<sup>[23]</sup>

缩合而成。它与  $\text{Fe}^{3+}$  的亲合力远低于脓青素(约为  $10^5$  数量级), 与  $\text{Fe}^{3+}$  以 2:1 的比例形成复合物为细胞提供铁素营养(图 3)。Pyochelin 首先由 Cox 和 Graham 在 1979 年从铜绿假单胞 PAO1 菌株培养物中分离得到并命名<sup>[10]</sup>, 随后解析了其化学结构<sup>[11,28]</sup>。虽然假单胞菌属的另外一些细菌以及与铜绿假单胞菌关系密切的细菌也合成 Pyochelin, 但这些来源的 Pyochelin 分子中的 3 个手性中心的构型并未得到测定, 实验证明不同来源的手性结构不同的 Pyochelin 有着不同的生物活性<sup>[29]</sup>。

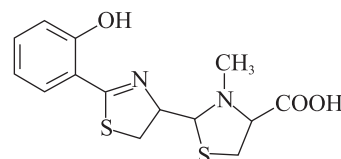


图3 Pyochelin 化学结构

Fig. 3 Chemical structure of pyochelin

假单胞菌属细菌产生的第三类主要的铁载体是喹诺菌素 (Quinolobactin), 为荧光假单胞 ATCC17400 菌株产生的除 Pyoverdine 之外的另一种新型铁载体(图 4)<sup>[30]</sup>。除此之外假单胞菌属细菌也产生 Thioquinolobactin<sup>[31]</sup>、Corrugatin<sup>[32]</sup>、Ornicorrugatin<sup>[33]</sup>等较少见的铁载体。

除了能够利用以上三类主要的铁载体外, 假单胞菌属细菌也能够产生其它类型的铁载体分子及识别和利用某些非本属细菌产生的铁载体分子<sup>[18,34]</sup>(图 5)。这些化合物有: (1) 其它细菌产生的铁载体分子, 如产气杆菌素(Aerobactin)与肠菌素(Enterobactin)以及它们的前体物 2,3-二羟基

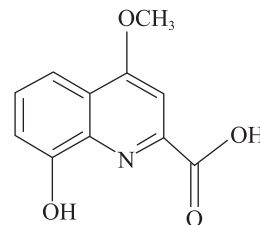
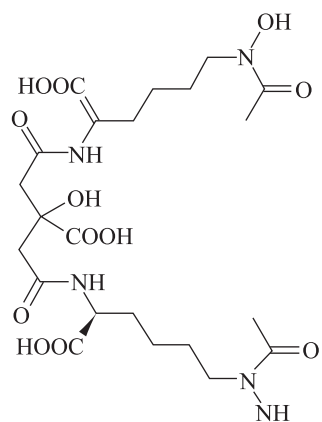
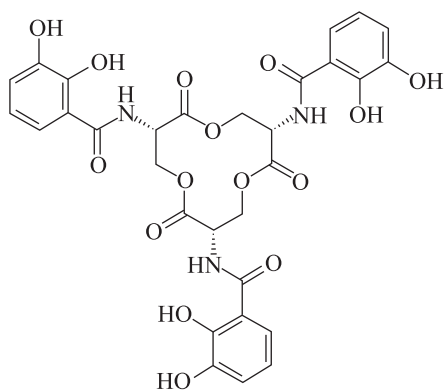


图4 Quinolobactin 化学结构

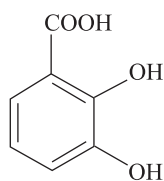
Fig. 4 Chemical structure of quinolobactin



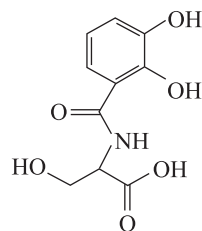
Aerobactin



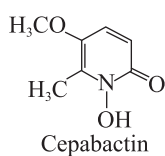
Enterobactin



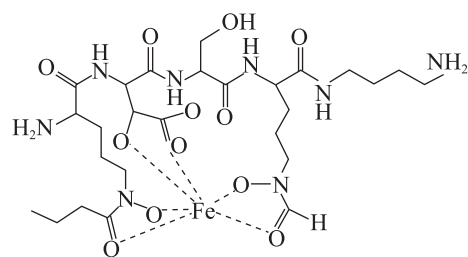
2,3-Dihydroxybenzoic acid



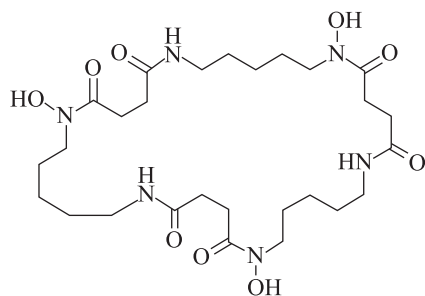
2,3-Dihydroxy-N-benzoyl-L-serine



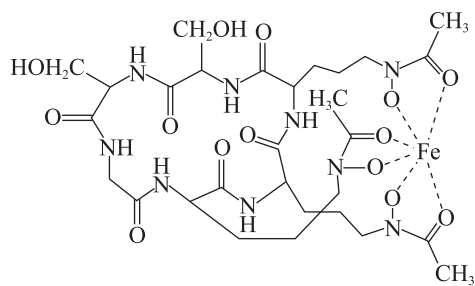
Cepabactin



Ornibactin



Deferrioxamine



Ferrichrysin

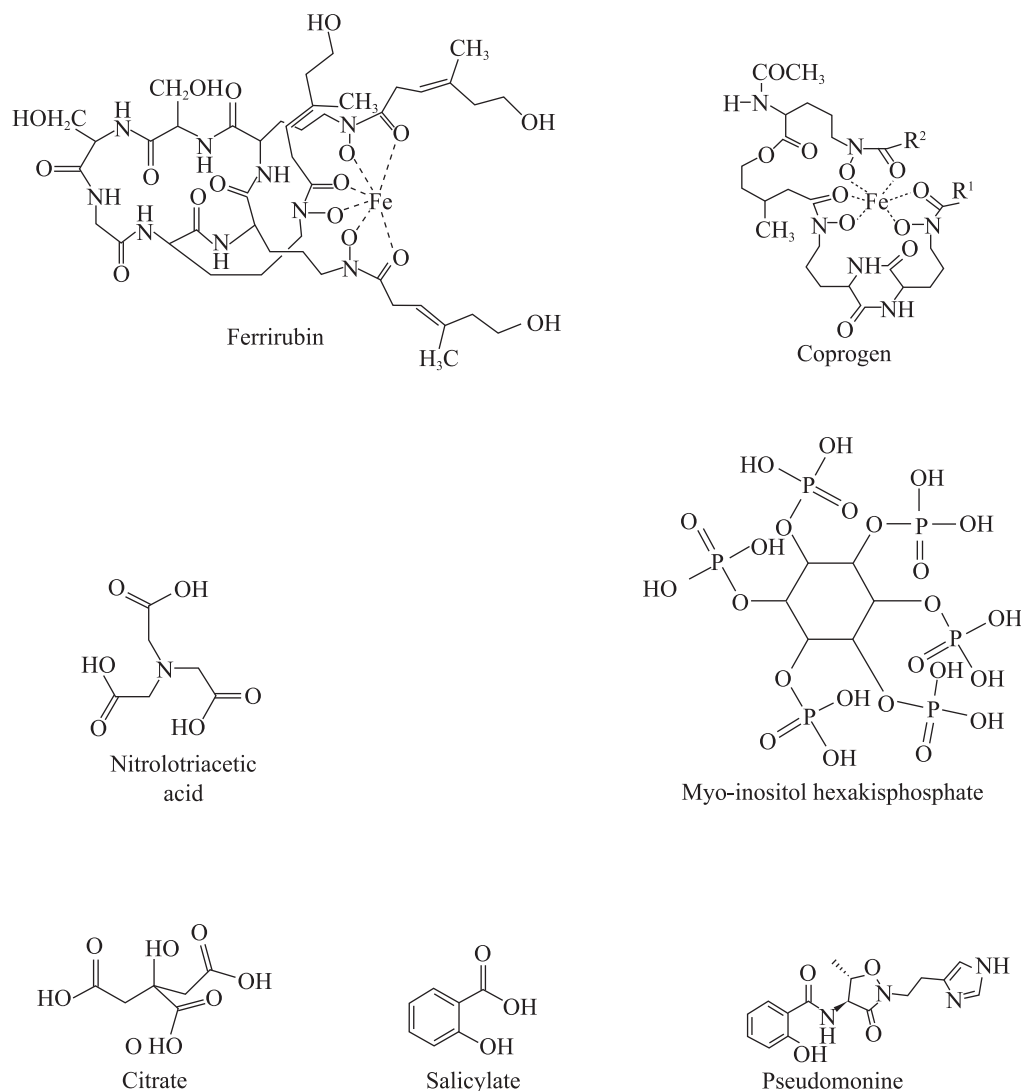


图5 荧光假单胞菌群可识别利用的其它铁载体化合物

Fig. 5 Chemical structures of other siderophores recognized and utilized by fluorescent *Pseudomonas*

苯甲酸(2,3-Dihydroxybenzoic acid)及其降解产物 N-(2,3-二羟基苯甲酰基)-L-丝氨酸[N-(2,3-dihydroxybenzoyl)-L-serine]、洋葱菌素(Cepabactin)<sup>[35]</sup>及鸟氨酸菌素(Ornibactin)[由原为假单胞菌,现归到伯克霍尔德菌属(*Burkholderia*)的细菌合成]、不同假单胞菌产生的 Pyoverdine (或称 Pseudobactin); (2) 其它真菌产生的铁载体分子,如去铁胺(Deferrioxamines)、去铁柯因(Deferrichrysin)、去铁品红(Deferrirubin)、粪原因

子(Coprogen)等。(3) 人工合成的螯合剂,如次氮基三乙酸(Nitrolotriacetic acid)。(4) 天然存在的螯合剂,如柠檬酸(Citric acid)、肌醇六磷酸(Myoinositol hexakisphosphate)。许多荧光性假单胞菌也合成水杨酸(Salicylic acid)。尽管水杨酸也能结合铁并促进对铁的摄入吸收,但它通常仅被看作是合成 Pyochelin 的前体物。铜绿假单胞菌还能识别和利用荧光假单胞菌产生的新型异噁唑酮类铁载体——Pseudomonine<sup>[36-37]</sup>, 而其合成

看起来也与水杨酸有关。

假单胞菌属细菌不仅能够利用自身合成的多种铁载体,而且也能够利用其它种属微生物合成的多种“铁载体-铁”复合物。然而假单胞菌属细菌合成的脓青素(Pyoverdine)铁载体却不能被本属外的其它细菌利用,这些生物学特性使假单胞菌属细菌相比其它微生物在对铁素营养的竞争上具有很大优势,也因此使该属细菌在促进植物生长、防治植物病害等农业应用领域具有诱人的潜力和前景<sup>[37]</sup>。

### 3 假单胞菌色素化合物

许多微生物在其生长过程中能够合成多种呈色物质,其中假单胞菌属细菌产色素物质的特性比其它微生物更为显著<sup>[38]</sup>。该属细菌产生的色素化合物颜色丰富,有红色、蓝色、黄绿色、黄色、褐色、黑色等。仅铜绿假单胞菌产生的色素颜色就有红褐色、红木色、褐黑色、黑色、深褐色、巧克力色及褐色<sup>[39]</sup>。假单胞菌属细菌产生的脓青素(Pyoverdine)目前已发现有近 70 种,约有 64 种不同的分子量值(889–1 764 Da),它们既是高效的铁载体,同时又是具有黄绿色荧光的色素化合物<sup>[22,40]</sup>。该类化合物因具有共同的喹啉(Quinoline)发色基而表现出荧光性,因此最初被称作细菌荧光素(Bacterial fluorescein)或(二氢)荧光素(Fluorescein)(暗红色,图 6),但这两个名称常被看作是间苯二酚酞(Resorcinolphthalein)或间苯二酚酞隐(Resorcinolphthalin)的同义词而引起混淆,实际上假单胞菌产生的荧光铁载体色素(Pyoverdine)与这二种荧光素毫无关系<sup>[26]</sup>。

吩嗪类化合物是假单胞菌属细菌产生的另一类含氮杂环色素物质,颜色多呈黄色、蓝色,如亮蓝色的绿脓菌素(Pyocyanin)、黄绿色的 1-羟基吩嗪(1-Hydroxyl-phenazine)、桔黄色的 2-羟基吩嗪-1-羧酸(2-Hydroxy-phenazine-1-carboxylic

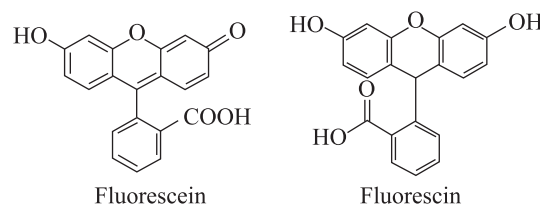


图 6 荧光素(Fluorescein)和二氢荧光素(Fluorescein)  
Fig. 6 Chemical structures of fluorescein and fluorescein

acid)、柠檬黄色的吩嗪-1-羧酸(Phenazine-1-carboxylic acid)、氧绿菌素(Oxychlororaphin)、深红色的铜绿菌素 A 或 B (Aeruginosin A, B)、黄色的吩嗪- $\alpha$ -羧基酰胺(Phenazine-1-carboxylamide)等<sup>[41–43]</sup>。其中研究较多的是铜绿假单胞菌产生的多种吩嗪类色素,尤其是深蓝色无荧光的绿脓菌素(Pyocyanin)(但在酸性条件下绿脓菌素会呈粉到深红色,图 7)。该色素为铜绿假单胞菌所特有,其它荧光性假单胞菌株则不产生<sup>[44–47]</sup>。几乎所有的吩嗪化合物对细菌和真菌都具有生物防治活性。

铜绿假单胞菌也是一种临床上常见的代谢多样化的机会性致病菌,是引起烧伤、免疫力低下、慢性阻塞性肺疾病及囊性纤维变性患者的致命性感染的主要原因。在感染过程中,它能够代谢产生脓黑素(也称脓褐素, Pyomelanin, 图 8)和绿脓菌红素(Pyorubin, 也有学者称其为 Aeruginosin A。尽管与吩嗪类色素“Aeruginosin A”在名称上一致,但二者是化学结构不同的色素物质)<sup>[38,48–49]</sup>。

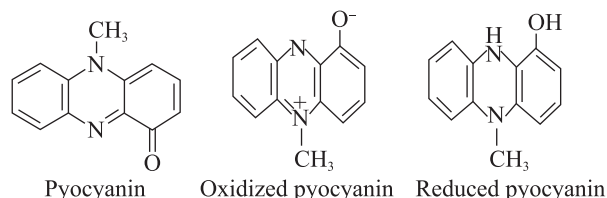


图 7 绿脓菌素及其氧化型和还原型

Fig. 7 Chemical structure of pyocyanin and the oxidized or reduced pyocyanin



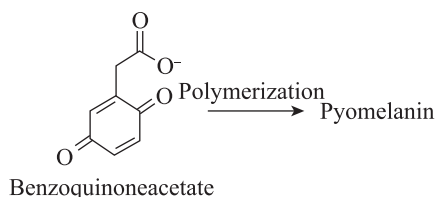


图 8 脓黑素的形成

Fig. 8 Pyomelanin formed by polymerization of benzoquinoneacetate

假单胞菌属细菌还能够产生多羟基苯类衍生物类型的色素, 如黄色的藤黄绿菌素(Pyoluteorin)和 2,4-二乙酰藤黄酚(又称 2,4-二乙酰间苯三酚, 2,4-Diacetylphloroglucinol, 见图 9)。转荧光假单胞菌 Q2-87 (*P. fluorescens* Q2-87)菌株的 2,4-二乙酰藤黄酚编码基因片段的重组菌还能伴产一种红色素。这些色素同时也具有广谱抗生素作用, 具有抗细菌、抗真菌(尤其是卵菌属真菌)、除草剂活性<sup>[50-55]</sup>。荧光假单胞菌还能够能够在有氧条件下共代谢 3-氯代苯甲酸的过程中合成氯代儿茶酚(Chlorinated catechol)型黑色素<sup>[56]</sup>。

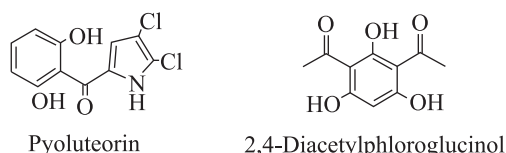


图 9 藤黄绿菌素(Pyoluteorin)和 2,4-二乙酰藤黄酚(2,4-Diacetylphloroglucinol)

Fig. 9 Chemical structure of pyoluteorin and 2,4-diacetylphloroglucinol

## 4 假单胞菌铁载体及色素化合物的分离纯化方法

对假单胞菌荧光铁载体色素——脓青素(Pyoverdine)多采用离心除菌→溶剂萃取→柱层析纯化→浓缩干燥的分离纯化方法。Elliott R. P. 曾用活性炭吸附而后用醇的水溶液洗脱获得褐色非晶体状脓青素残留物, 但纯度不高。Nowak-Thompson B.等先用  $\text{FeCl}_3$  溶液处理培养

物的离心上清液, 使其变为红棕色, 然后以 Amberlite XAD-4 树脂取代活性炭吸附上清液中的脓青素-铁复合物, 继而以丙酮水溶液洗脱, 经冻干后得到暗棕色粉末。重新溶解后又使用 CM-Sephadex C25 柱层析以吡啶醋酸盐缓冲液洗脱以进一步进行分离纯化<sup>[57]</sup>。此后的研究者虽改用氯仿/苯酚混合有机溶剂萃取法代替树脂吸附, 但该过程中仍要首先使脓青素形成与铁的复合物, 若要对产生的脓青素进行化学分析则必须进行脱铁处理<sup>[17,47,58]</sup>。目前则利用酸化培养物离心上清液(pH 6)以 XAD-4 树脂吸附, 50%甲醇洗脱后再进行 CM-Sephadex C25 及 Biogel P-2 凝胶柱层析的方法而获得无铁脓青素, 可用于化学分析<sup>[23-24]</sup>。相对于脓青素的提取, 绿脓杆菌螯铁蛋白的提取则比较简单: 离心除菌后以盐酸酸化上清液至 pH 1-2, 然后加入乙酸乙酯萃取。合并乙酸乙酯相后减压旋转蒸干得到绿脓杆菌螯铁蛋白的粗提物。甲醇溶解粗提物后可以用于(纸色谱)薄层层析(以水:醋酸:丙酮为展开剂)或柱层析纯化<sup>[10,29,59]</sup>。吩嗪类色素化合物如蓝色的绿脓菌素(Pyocyanin)在提取时以氯仿多次萃取离心除菌后的上清液, 合并氯仿相后减压浓缩, 以氯仿和甲醇的混合溶剂为洗脱剂进行硅胶柱层析纯化<sup>[42]</sup>。

## 5 假单胞菌铁载体及色素化合物的合成与调控机制

20 世纪 80 年代初期, 对假单胞菌铁载体生物合成过程及所涉及基因的组织情况研究得较少; 从 80 年代中期开始, 陆续展开了相关的工作, 如在假单胞菌 B10 菌株(*Pseudomonas* sp. B10)假单胞菌素(Pseudobactin)的合成中最少需要排布在 4 个基因簇中的 12 个基因<sup>[60]</sup>, 恶臭假单胞菌 WCS358 菌株(*P. putida* WCS358)有至少 5 个基因簇的最少 7 个基因与其铁载体合成有关<sup>[9]</sup>,



至 20 世纪 90 年代,在非假单胞菌铁载体方面的研究成果有:由质粒或由染色体基因编码合成;存在“TonA”(或称 T-1,现称 FhuA)、“FepA”、“TonB”等几种外膜受体蛋白转运机制;以及铁摄入调控基因 *fur* (Ferric uptake regulation)及其编码产物蛋白 Fur 在 DNA 上的结合序列——“铁盒”(Fur box, 序列为 GATAATGATAATCATTATC)<sup>[14]</sup>等为假单胞菌铁载体的合成与调控机制研究奠定了基础。

随后,如图 10 所示,假单胞菌铁载体——脓青素(Pyoverdine, PVD)的合成、转运、调控过程中的许多基因被克隆和鉴定(以铜绿假单胞菌 PAO1 菌株研究得最为深入):*pvdADFIJ* 五个基因分别编码合成 I 型脓青素肽段的酶<sup>[61-64]</sup>,*pvdE* 编码负责脓青素外泌的 ABC 转运子(ATP-binding-cas-sette)<sup>[65]</sup>,而 PvdE 其实只负责将无荧光的脓青素前体(即铁细菌素: Ferriibactin)从细胞质外泌至周质中,却并不负责将成熟脓青素从周质外泌至胞外环境中<sup>[66]</sup>。*pvcABCD* 基因产

物用于合成喹啉发色团<sup>[26,67]</sup>,*fpvA*、*fpvB* 基因编码  $\text{Fe}^{3+}$ -脓青素受体蛋白<sup>[68-69]</sup>,*fpvI* 基因编码 *fpvA* 基因表达所需的周质功能因子(ECF)中的  $\sigma$  因子<sup>[70]</sup>,*pvdS* 基因编码的选择性  $\sigma$  因子蛋白 PvdS 调控所有脓青素合成基因<sup>[3]</sup>,而 *fpvR* 基因则编码调控 PvdS 和 FpvI 因子蛋白的反  $\sigma$  因子<sup>[71]</sup>。尽管 *pvc* 基因产物能够合成脓青素的喹啉发色团,但它对于脓青素的合成来说不是必需的。在此基础上,又发现了 8 个新的 *pvd* 基因(*pvdGHLMNOPQ*),它们可能指导合成二羟基喹啉发色团和与其连接的侧链羧酸或酰胺基团<sup>[27]</sup>。

铜绿假单胞菌不同脓青素类型(I、II、III、其它类型)菌株间存在脓青素合成与调控基因位点分布的多样性,在基因组序列分析的基础上发现 PA2412 基因编码与 MbtH 蛋白类似的蛋白,它对于正常水平的脓青素合成与分泌是需要的,但对铁离子-脓青素复合物的摄入及利用没有作用<sup>[72]</sup>。*pvdR*、*pvdT*、*opmQ* 三个基因编码的产物构成三位一体的 ABC 外泌转运子——PvdRT-

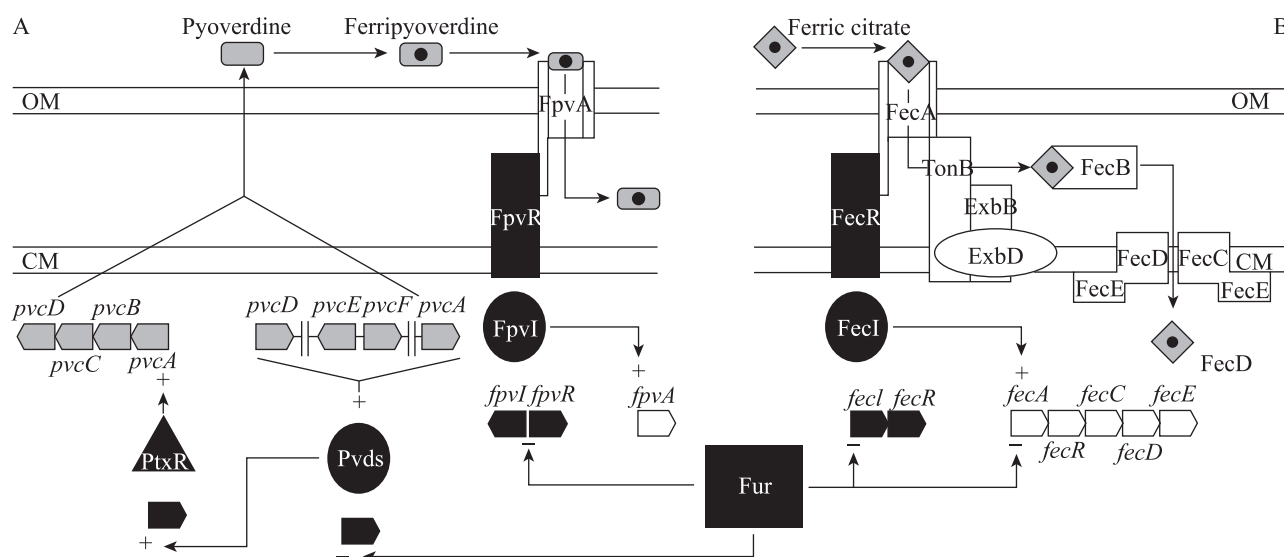


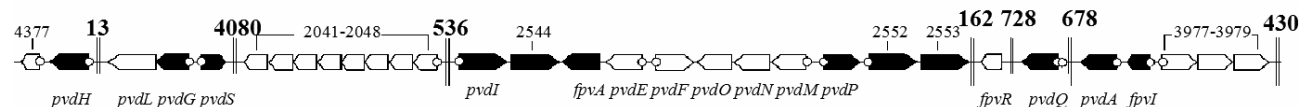
图 10 脓青素(Pyoverdine)介导的铁摄入系统调节模式<sup>[3]</sup>  
Fig. 10 The regulation mode of ferric intake system mediated by pyoverdine<sup>[3]</sup>

OpmQ 负责将细胞周质内卸载  $\text{Fe}^{3+}$  后的脓青素分子外泌到胞外环境中以实现循环利用, 却不参与胞质内新合成的脓青素的外泌过程<sup>[66]</sup>。其它一些与脓青素合成及调控有关的基因(*pvdX*、*pvdY*、PA2403-2411)的具体功能仍然未知<sup>[73]</sup>。

在荧光假单胞菌 Pf-5 菌株(*Pseudomonas fluorescens* Pf-5)中与脓青素合成及摄入相关的基因分布在 3 个基因簇中, 除在基因位点和方向上与其它荧光性假单胞菌群的菌株有少许差异外,

大致的组织方式相似<sup>[74]</sup>。而荧光假单胞菌 SBW25 菌株(*P. fluorescens* SBW25)的基因组中有 31 个据推测参与脓青素合成、转运及调控的基因, 分布在 7 个不同的基因簇中(图 11)。*fvpR* 基因(编码细胞质跨膜反  $\sigma$  因子)由 FpvI 蛋白正调控, 这与铜绿假单胞菌 PAO1 菌株的情形不同。SBW25 菌株的基因组据推测至少有 24 个铁载体受体基因, 这使其能够利用不同假单胞菌株的近 20 种不同结构的脓青素<sup>[75]</sup>。

### *P. fluorescens* SBW25



### *P. aeruginosa* PAO1

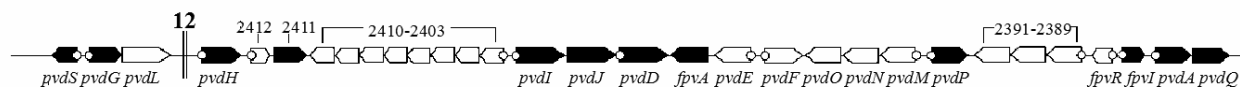


图 11 绿脓杆菌 PAO1 菌株及荧光假单胞 SBW25 菌株中 PVD 编码基因的排布情况<sup>[75]</sup>

Fig. 11 The PVD coding genes arranged in *P. aeruginosa* PAO1 and *P. fluorescens* SBW25<sup>[75]</sup>

脓青素合成与分泌过程中所涉及的  $\text{Fe}^{3+}$  响应基因的表达都要受  $\text{Fe}^{3+}$  摄入调控 Fur 蛋白的调控。除此之外, Fur 蛋白还对多种类型的铁摄入机制具有调控作用。与  $\text{Fe}^{3+}$  响应有关的铜绿假单胞菌生物膜的形成可能并不仅与脓青素铁载体或周质功能  $\sigma$  因子直接相关, 而是由任一只要能提供足够量的细胞内  $\text{Fe}^{3+}$  的铁离子摄入系统所激活的铁离子信号通路所调控<sup>[76]</sup>。

绿脓杆菌螯铁蛋白(Pyochelin, PCH)需要两个分离的 *pchDCBA* 和 *pchEFGHI* 操纵元的基因参与其合成(图 12): PchA 及 PchB 酶将分支酸(Chorismic acid)转变为水杨酸(Salicylic acid), 然后在水杨酸腺苷化酶 PchD、肽合成酶 PchE 与 PchF、还原酶 PchG 的参与下使水杨酸与半胱氨酸连结在一起。PchE 的尾部结构域在螯铁蛋白的噻唑啉环形成过程中可将 L-半胱氨酸转变 D-半

胱氨酸, PchF 的尾部结构域则将噻唑啉的 N 原子甲基化。螯铁蛋白合成基因的表达受其自身的强烈诱导, 也依赖于 AraC 型调控子 PchR 及铁摄入调控子(Fur)中的细胞表面受体蛋白 FptA<sup>[29]</sup>。关于脓青素与螯铁蛋白更为详细的合成、转运、调控内容可参照 Poole 和 McKay 的文献[18]。

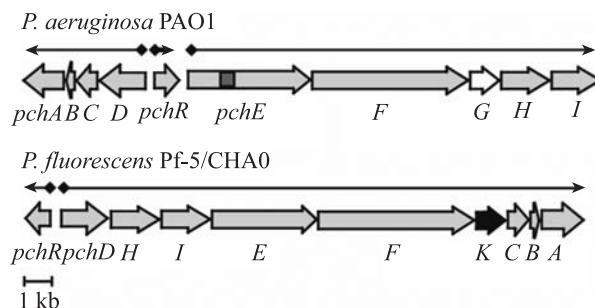


图 12 绿脓杆菌 PAO1 菌株、荧光假单胞 Pf-5 及 CHA0 菌株中绿脓杆菌螯铁蛋白编码基因的排布情况<sup>[29]</sup>

Fig. 12 The PCH coding genes arranged in *P. aeruginosa* PAO1 and *P. fluorescens* Pf-5, CHA0 strains<sup>[29]</sup>

最新研究发现二氢乳清酸脱氢酶编码基因(*pyrD*)突变导致 *P. pseudoalcaligenes* 丧失合成铁载体能力, 因此认为 *pyrD* 基因是铁载体合成相关的基因<sup>[77]</sup>。

假单胞菌株中吩嗪化合物的合成始于前体物莽草酸(Shikimic acid), 经多步反应后转变为吩嗪-1-羧酸(Phenazine-1-carboxylic acid, PCA)——形成各种吩嗪衍生物的中间产物<sup>[78]</sup>。大多数假单胞菌中编码吩嗪生物合成酶的基因(*phzABCDEFG*)位于一个操纵元中(在铜绿假单胞菌中有 2 个这样的操纵元, 但分别由不同机制调控)。在吩嗪生物合成基因研究比较深入的 4 种假单胞菌株(*P. aeruginosa* PAO1、*P. fluorescens* 2-79、*P. chlororaphis* PCL1391、*P. aureofaciens* 30-84)中, 该核心序列的同源性很高(70%–95%)。另外在致金色假单胞菌株(*P. aureofaciens* 30-84)中还存在与 *phzA* 和 *phzB* 分别同源的基因 *phzX* 和 *phzY*。*phzA* 和 *phzB* 的编码蛋白可能通过稳定 *phzF* 的编码蛋白而参与反式-2,3-二氢-3-羟基邻氨基苯甲酸(Trans-2,3-dihydro-3-hydroxyanthranilic acid, DHHA)之后的转变, 它们对于吩嗪的生物合成不是必需的。*phzC* 编码蛋白的功能可能是合成莽草酸。*phzD* 编码蛋白将 2-氨基-2-脱氧-异分支酸(2-Amino-2-deoxy-isochorismic acid, ADIC)转变为 DHHA, *phzE* 基因编码的酶将分支酸转变为 ADIC, 而 *phzF* 与 *phzG* 基因产物则将 DHHA 转变为 PCA。另外一些基因 *phzH*、*phzM*、*phzO*、*phzS* 主要负责对 PCA 进行修饰, 分别将 PCA 转变为吩嗪-1-羧酰胺(Phenazine-1-carboxamide, PCN)、5-甲基吩嗪-1-羧酸甜菜碱(5-Methylphenazine-1-carboxylic acid betaine)、2-羟基吩嗪-1-羧酸(2-Hydroxyphenazine-1-carboxylic acid)、1-羟基吩嗪(1-Hydroxyphenazine)或绿脓菌素(Pyocyanin, PYO)<sup>[78]</sup>。吩嗪类化合物的生物合成调控机制非常复杂。首要的影响因素是群体

密度(群体感应), 属于响应调控子中 *luxI-luxR* 家族的 *phzI* 和 *phzR* 调控吩嗪生物合成操纵元的表达: *phzI* 编码的酶合成群体感应信号分子 N-酰基高丝氨酸内酯(AHL), 该类化合物与 *phzR* 的基因产物结合并激活它, 进而由该复合物启动吩嗪生物合成操纵元的表达。群体感应调控的进程也受 GacS-GacA 系统及胁迫响应因子(如氧气、铁离子、磷酸盐、碳源等  $\sigma$  因子)这类全局性调控系统的调控, 胁迫响应因子可能通过 *psrA* 和 *rpoS* 基因(后者基因产物为  $\sigma^s$ )起作用。另外也有抑制子可在群体感应调控系统之上控制吩嗪化合物的生物合成<sup>[79–82]</sup>。

藤黄绿菌素(Pyoluteorin, Plt)的生物合成基因约有 10 个, 位于荧光假单胞 Pf-5 菌株基因组的一个 24 kb 的片段上。在 *pltLABCDEFG* 基因簇内含有 8 个结构基因, 基因间间隔少于 50 bp, 它们共同构成一个单一的操纵元。*pltA*、*pltD* 编码卤化酶, *pltB*、*pltC* 编码 I 型聚酮合成酶, *pltE* 编码酰基辅酶 A 脱氢酶, *pltF* 编码酰基辅酶 A 合成酶, 而 *pltG* 则是硫酯酶的编码基因。在该基因簇上游约 486 bp 处还有编码转录激活子的 *pltR* 基因及编码卤化酶(加氯作用)的 *pltM* 基因, 但这两个基因与 *pltLABCDEFG* 基因簇在转录上是分离的<sup>[83]</sup>。藤黄绿菌素的生物合成既受各种不同调控基因的影响, 也受环境因子的影响。在荧光假单胞菌 Pf-5 菌株中双组分 GacS-GacA 系统正调控藤黄绿菌素的合成, 但 *rpoS* 或 *Lon* 基因却抑制藤黄绿菌素的过量合成; 而在荧光假单胞 CHA0 菌株中管家  $\sigma$  因子的编码基因 *rpoD* 正调控藤黄绿菌素的合成, 但 *pqq* 基因却抑制藤黄绿菌素的过量合成。另外环境因子也参与藤黄绿菌素生物合成的调控:  $\text{Zn}^{2+}$ 、 $\text{Co}^{2+}$ 、甘油促进藤黄绿菌素的合成, 而葡萄糖、磷酸(100 mmol/L)则抑制藤黄绿菌素的合成。除此之外, 藤黄绿菌素的合成也受 2,4-二乙酰藤黄酚和水杨酸的强烈抑制。在同时产藤黄

绿菌素和 PCA 的假单胞菌 M18 菌株(*P. sp.* M18)中, 翻译抑制子编码基因 *rsmA* 及 *plt* 基因簇下游的调控基因 *pltZ* 的突变失活可致藤黄绿菌素的合成量增加 4–6 倍, 而对 PCA 的合成却基本没有影响<sup>[84–85]</sup>。

## 6 假单胞菌铁载体及色素化合物的功能与应用前景

假单胞菌铁载体在为其产生菌提供铁素营养的同时, 也能够被植物直接吸收利用, 从而改善植物的铁素营养状况<sup>[4,86]</sup>。铁载体的高效螯铁能力使其产生菌与同一环境中的其它微生物在对铁素营养的竞争中占据优势, 从而能够有效抑制许多植物病害的发生<sup>[87–89]</sup>, 某些铁载体甚至具有信号分子作用, 可以诱导植物产生系统抗病性<sup>[90]</sup>。铁载体与赤潮藻类的生长过程关系密切, 可望作为预报赤潮发生的监测指标。铁载体的受体介导转运作用模式使其具有靶向药物载体的开发潜力<sup>[91]</sup>, 绿脓杆菌螯铁蛋白还具有参与有机锡污染物降解的功能<sup>[92]</sup>。

假单胞菌产生的许多色素化合物也具有不同的生理活性功能, 如吩嗪化合物、藤黄绿菌素等就是具有抗生素功能的代谢产物, 它们是其产生菌发挥生防功能的重要物质基础<sup>[90,93–94]</sup>, 也是一些致病性假单胞菌的毒力决定因子。吩嗪类及其它一些具有氧化还原活性的抗生素还能够促进微生物细胞内的铁、锰氧化物的还原<sup>[95]</sup>, 对部分赤潮藻类也有一定的抑制作用<sup>[44]</sup>。除此之外, 吩嗪化合物也具有胞内信号调控和一定程度上的铁载体功能<sup>[82]</sup>。因此, 假单胞菌铁载体、色素、抗生素物质之间并没有十分明确的界限<sup>[22,58]</sup>。

假单胞菌种类繁多, 代谢产物功能多样并且十分庞杂, 其中许多在农业、日化、肥料、食品、医药、造纸印染工业及环境保护和治理领

域<sup>[92,96–97]</sup>应用前景非常广阔。因此, 积极、广泛、深入地开展假单胞菌及其代谢产物研究必将具有重要的理论和应用指导意义。

## 参 考 文 献

- [1] 赵乃昕. 假单胞菌属的分类现状[J]. 国外医学(微生物学分册), 1996(2): 20–23, 26.
- [2] 郭亚辉, 郭坚华, 李斌. 根据 16S rRNA 序列对假单胞菌属分类学的研究进展[J]. 微生物学杂志, 2004, 24(2): 38–41.
- [3] Visca P, Leoni L, Wilson MJ, et al. Iron transport and regulation, cell signalling and genomics: lessons from *Escherichia coli* and *Pseudomonas*[J]. Molecular Microbiology, 2002, 45(5): 1177–1190.
- [4] Vansuyt G, Robin A, Briat JF, et al. Iron acquisition from Fe-pyoverdine by *Arabidopsis thaliana*[J]. Molecular Plant-Microbe Interactions, 2007, 20(4): 441–447.
- [5] Wandersman C, Delepelaire P. Bacterial iron sources: from siderophores to hemophores[J]. Annual Review of Microbiology, 2004, 58: 611–647.
- [6] Ratledge C. Iron metabolism and infection[J]. Food and Nutrition Bulletin, 2007, 28(S 4): S515–S523.
- [7] 陈绍兴, 费宗伟, 何明涛, 等. 假单胞菌荧光与非荧光铁载体对铁离子的应答差异[J]. 微生物学通报, 2008, 35(10): 1572–1576.
- [8] Rachid D, Ahmed B. Effect of iron and growth inhibitors on siderophores production by *Pseudomonas fluorescens*[J]. African Journal of Biotechnology, 2005, 4(7): 697–702.
- [9] Marugg JD, van Spanje M, Hoekstra WPM, et al. Isolation and analysis of genes involved in siderophore biosynthesis in plant-growth-stimulating *Pseudomonas putida* WCS358[J]. Journal of Bacteriology, 1985, 164(2): 563–570.
- [10] Cox CD, Graham R. Isolation of an iron-binding compound from *Pseudomonas aeruginosa*[J]. Journal of Bacteriology, 1979, 137(1): 357–364.

- [11] Cox CD, Rinehart KL Jr, Moore ML, et al. Pyochelin: novel structure of an iron-chelating growth promoter for *Pseudomonas aeruginosa*[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 1981, 78(7): 4256–4260.
- [12] 王伟. 荧光嗜铁素的发酵条件及其应用初探[D]. 上海: 上海师范大学硕士学位论文, 2006: 1–53.
- [13] 于素芳. 恶臭假单胞菌 D15和 E19铁载体合成相关基因的克隆及功能初步分析[D]. 泰安: 山东农业大学硕士学位论文, 2008: 1–83.
- [14] Neilands JB. Siderophores: structure and function of microbial iron transport compounds[J]. Journal of Biological Chemistry, 1995, 270(45): 26723–26726.
- [15] 崔艳华, 董爱军, 曲晓军. 微生物铁载体运输系统[J]. 生命的化学, 2008, 28(6): 786–790.
- [16] 梁建根, 郝中娜, 王连平, 等. 嗜铁素功能研究概述[J]. 中国农学通报, 2011, 27(5): 284–287.
- [17] Meyer JM, Abdallah MA. The fluorescent pigment of *Pseudomonas fluorescens*: biosynthesis, purification and physicochemical properties[J]. Journal of General Microbiology, 1978, 107(2): 319–328.
- [18] Poole K, McKay GA. Iron acquisition and its control in *Pseudomonas aeruginosa*: many roads lead to Rome[J]. Frontiers in Bioscience, 2003, 8(1/3): 661–686.
- [19] Elliott RP. Some properties of pyoverdine, the water-soluble fluorescent pigment of the *Pseudomonas*[J]. Applied Microbiology, 1958, 6(4): 241–246.
- [20] Teintze M, Hossain MB, Barnes CL, et al. Structure of ferric pseudobactin, a siderophore from a plant growth promoting *Pseudomonas*[J]. Biochemistry, 1981, 20(22): 6446–6457.
- [21] Teintze M, Leong J. Structure of pseudobactin A, a second siderophore from plant growth promoting *Pseudomonas* B10[J]. Biochemistry, 1981, 20(22): 6457–6462.
- [22] Meyer JM. Pyoverdines: pigments, siderophores and potential taxonomic markers of fluorescent *Pseudomonas* species[J]. Archives of Microbiology, 2000, 174(3): 135–142.
- [23] Meyer JM, Stintzi A, De Vos D, et al. Use of siderophores to type *Pseudomonads*: the three *Pseudomonas aeruginosa* pyoverdine systems[J]. Microbiology, 1997, 143(Pt1): 35–43.
- [24] Meyer JM, Stintzi A, Coulanges V, et al. Siderotyping of fluorescent *Pseudomonads*: characterization of pyoverdines of *Pseudomonas fluorescens* and *Pseudomonas putida* strains from Antarctica[J]. Microbiology, 1998, 144(11): 3119–3126.
- [25] Meyer JM, Gruffaz C, Raharinosy V, et al. Siderotyping of fluorescent *Pseudomonas*: molecular mass determination by mass spectrometry as a powerful pyoverdine siderotyping method[J]. Biometals, 2008, 21(3): 259–271.
- [26] Stintzi A, Cornelis P, Hohnadel D, et al. Novel pyoverdine biosynthesis gene(s) of *Pseudomonas aeruginosa* PAO[J]. Microbiology, 1996, 142(Pt5): 1181–1190.
- [27] Lamont IL, Martin LW. Identification and characterization of novel pyoverdine synthesis genes in *Pseudomonas aeruginosa*[J]. Microbiology, 2003, 149(4): 833–842.
- [28] Cox CD. Iron uptake with ferripyochelin and ferric citrate by *Pseudomonas aeruginosa*[J]. Journal of Bacteriology, 1980, 142(2): 581–587.
- [29] Youard ZA, Mislin GLA, Majcherczyk PA, et al. *Pseudomonas fluorescens* CHA0 produces enantio-pyochelin, the optical antipode of the *Pseudomonas aeruginosa* siderophore pyochelin[J]. Journal of Biological Chemistry, 2007, 282(49): 35546–35553.
- [30] Mossialos D, Meyer JM, Budzikiewicz H, et al. Quinolobactin, a new siderophore of *Pseudomonas fluorescens* ATCC 17400, the production of which is repressed by the cognate pyoverdine[J]. Applied and Environmental Microbiology, 2000, 66(2): 487–492.
- [31] Matthijs S, Tehrani KA, Laus G, et al. Thioquinolobactin, a *Pseudomonas* siderophore with antifungal and anti-*Pythium* activity[J]. Environmental Microbiology, 2007, 9(2): 425–434.
- [32] Risse D, Beiderbeck H, Taraz K, et al. Corrugatin, a

- lipopeptide siderophore from *Pseudomonas corrugata*[J]. Zeitschrift fur Naturforschung C: Journal of Biosciences, 1998, 53(5/6): 295–304.
- [33] Matthijs S, Budzikiewicz H, Schäfer M, et al. Ornicorrugatin, a new siderophore from *Pseudomonas fluorescens* AF76[J]. Zeitschrift fur Naturforschung C: Journal of Biosciences, 2008, 63(1/2): 8–12.
- [34] Cornelis P, Matthijs S. Diversity of siderophore-mediated iron uptake systems in fluorescent *Pseudomonads*: not only pyoverdines[J]. Environmental Microbiology, 2002, 4(12): 787–798.
- [35] Meyer JM, Hohnadel D, Hallé F. Cepabactin from *Pseudomonas cepacia*, a new type of siderophore[J]. Journal of General Microbiology, 1989, 135(6): 1479–1487.
- [36] Mercado-Blanco J, Van der Drift KGM, Olsson PE, et al. Analysis of the *pmsCEAB* gene cluster involved in biosynthesis of salicylic acid and the siderophore pseudomonine in the biocontrol strain *Pseudomonas fluorescens* WCS374[J]. Journal of Bacteriology, 2001, 183(6): 1909–1920.
- [37] Matthijs S, Laus G, Meyer JM, et al. Siderophore-mediated iron acquisition in the entomopathogenic bacterium *Pseudomonas entomophila* L48 and its close relative *Pseudomonas putida* KT2440[J]. Biometals, 2009, 22(6): 951–964.
- [38] Moss MO. Bacterial pigments[J]. Microbiologist, 2002, 3(4): 10–12.
- [39] 钱伯钦. 形成黑色素的绿脓假单胞菌[J]. 国际检验医学杂志, 1981(2): 54–55.
- [40] Loper JE, Lindow SE. A biological sensor for iron available to bacteria in their habitats on plant surfaces[J]. Applied and Environment Microbiology, 1994, 60(6): 1934–1941.
- [41] Leisinger T, Margraff R. Secondary metabolites of the fluorescent *Pseudomonads*[J]. Microbiological Reviews, 1979, 43(3): 422.
- [42] Turner JM, Messenger AJ. Occurrence, biochemistry and physiology of phenazine pigment production[J]. Advances in Microbial Physiology, 1986, 27: 211–275.
- [43] 戴祥鹏, 刘惠敏, 曹杰, 等. 绿针假单胞菌色素的研究[J]. 微生物学通报, 1982, 9(4): 159–161.
- [44] 龚良玉, 王修林, 李雁宾, 等. 铜绿假单胞菌产吩嗪类色素的分离纯化及其对赤潮生物生长的影响[J]. 复旦学报: 自然科学版, 2004, 43(4): 494–499, 506.
- [45] 陆吉顺. 假单胞菌株 M18 中 *pqsR* 基因的功能鉴定及 *las* 和 *rhl* 群体感应系统级联关系研究[D]. 上海, 上海交通大学硕士学位论文, 2009: 7–10.
- [46] 徐海津, 单志英, 林伟利, 等. 铜绿假单胞菌色素代谢相关基因的研究[J]. 微生物学报, 2005, 45(1): 14–18.
- [47] Becerra C, Albasa I, Eraso AJ. Leukotoxicity of pyoverdin, production of reactive oxygen species, and effect of UV radiation[J]. Biochemical and Biophysical Research Communications, 2001, 285(2): 414–418.
- [48] Hunter RC, Newman DK. A putative ABC transporter, HatABCDE, is among molecular determinants of pyomelanin production in *Pseudomonas aeruginosa*[J]. Journal of Bacteriology, 2010, 192(22): 5962–5971.
- [49] Ferguson D, Cahill OJ, Quilty B. Phenotypic, molecular and antibiotic resistance profiling of nosocomial *Pseudomonas aeruginosa* strains isolated from two Irish hospitals[J/OL]. Journal of Medical and Biological Science, 2007, 1(1). <http://www.scientificjournals.org/journals2007/articles/1055.htm>.
- [50] Brodhagen M, Henkels MD, Loper JE. Positive autoregulation and signaling properties of pyoluteorin, an antibiotic produced by the biological control organism *Pseudomonas fluorescens* Pf-5[J]. Applied and Environmental Microbiology, 2004, 70(3): 1758–1766.
- [51] de Souza JT, Arnould C, Deulvot C, et al. Effect of 2,4-diacetylphloroglucinol on *Pythium*: cellular responses and variation in sensitivity among propagules and species[J]. Phytopathology, 2003, 93(8): 966–975.
- [52] Schnider-Keel U, Seematter A, Maurhofer M, et al.



- Autoinduction of 2,4-diacetylphloroglucinol biosynthesis in the biocontrol agent *Pseudomonas fluorescens* CHA0 and repression by the bacterial metabolites salicylate and pyoluteorin[J]. Journal of Bacteriology, 2000, 182(5): 1215–1225.
- [53] Fenton AM, Stephens PM, Crowley J, et al. Exploitation of gene(s) involved in 2,4-diacetylphloroglucinol biosynthesis to confer a new biocontrol capability to a *Pseudomonas* strain[J]. Applied and Environmental Microbiology, 1992, 58(12): 3873–3878.
- [54] Bangera MG, Thomashow LS. Characterization of a genomic locus required for synthesis of the antibiotic 2,4-diacetylphloroglucinol by the biological control agent *Pseudomonas fluorescens* Q2-87[J]. Molecular Plant-Microbe Interactions, 1996, 9(2): 83–90.
- [55] Bangera MG, Thomashow LS. Identification and characterization of a gene cluster for synthesis of the polyketide antibiotic 2,4-diacetylphloroglucinol from *Pseudomonas fluorescens* Q2-87[J]. Journal of Bacteriology, 1999, 181(10): 3155–3163.
- [56] Fava F, Gioia DD, Romagnoli C, et al. Biosynthesis and cytoplasmic accumulation of a chlorinated catechol pigment during 3-chlorobenzoyl aerobic co-metabolism in *Pseudomonas fluorescens*[J]. Archives of Microbiology, 1993, 160(5): 350–357.
- [57] Nowak-Thompson B, Gould SJ. A simple assay for fluorescent siderophores produced by *Pseudomonas* species and an efficient isolation of pseudobactin[J]. Biometals, 1994, 7(1): 20–24.
- [58] Eraso AJ, Albesa I. Elevation of alanine amino transferase and aspartate amino transferase produced by pyoverdine, a photolabile pigment of *Pseudomonas fluorescens*[J]. Natural Toxins, 1998, 6(2): 61–65.
- [59] Reimann C, Serino L, Beyeler M, et al. Dihydroaeruginosic acid synthetase and pyochelin synthetase, products of the *pchEF*, are induced by extracellular pyochelin in *Pseudomonas aeruginosa*[J]. Microbiology, 1998, 144(11): 3135–3148.
- [60] Moores JC, Magazin M, Ditta GS, et al. Cloning of genes involved in the biosynthesis of pseudobactin, a high-affinity iron transport agent of a plant growth-promoting *Pseudomonas* strain[J]. Journal of Bacteriology, 1984, 157(1): 53–58.
- [61] Visca P, Ciervo A, Orsi N. Cloning and nucleotide sequence of the *pvdA* gene encoding the pyoverdine biosynthetic enzyme L-ornithine  $N^5$ -oxygenase in *Pseudomonas aeruginosa*[J]. Journal of Bacteriology, 1994, 176(4): 1128–1140.
- [62] Merriman TR, Merriman ME, Lamont IL. Nucleotide sequence of *pvdD*, a pyoverdine biosynthetic gene from *Pseudomonas aeruginosa*: PvdD has similarity to peptide synthetase[J]. Journal of Bacteriology, 1995, 177(1): 252–258.
- [63] McMorran BJ, Shanta Kumara HM, Sullivan K, et al. Involvement of a transformylase enzyme in siderophore synthesis in *Pseudomonas aeruginosa*[J]. Microbiology, 2001, 147(Pt6): 1517–1524.
- [64] Lehoux DE, Sanschagrin F, Levesque RC. Genomics of the 35-kb *pvd* locus and analysis of novel *pvdIJK* genes implicated in pyoverdine biosynthesis in *Pseudomonas aeruginosa*[J]. FEMS Microbiology Letters, 2000, 190(1): 141–146.
- [65] McMorran BJ, Merriman ME, Rombel LT, et al. Characterisation of the *pvdE* gene which is required for pyoverdine synthesis in *Pseudomonas aeruginosa*[J]. Gene, 1996, 176(1/2): 55–59.
- [66] Imperi F, Tiburzi F, Visca P. Molecular basis of pyoverdine siderophore recycling in *Pseudomonas aeruginosa*[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 2009, 106(48): 20440–20445.
- [67] Stintzi A, Johnson Z, Stonehouse M, et al. The *pvc* gene cluster of *Pseudomonas aeruginosa*: role in synthesis of the pyoverdine chromophore and regulation by PtxR and PvdS[J]. Journal of Bacteriology, 1999, 181(13): 4118–4124.
- [68] Poole K, Neshat S, Krebs K, et al. Cloning and nucleotide sequence analysis of the ferripyoverdine receptor gene *fpvA* of *Pseudomonas aeruginosa*[J]. Journal of Bacteriology, 1993, 175(15): 4597–4604.
- [69] Ghysels B, Dieu BTM, Beatson SA, et al. FpvB, an alternative type I ferripyoverdine receptor of

- Pseudomonas aeruginosa*[J]. Microbiology, 2004, 150(6): 1671–1680.
- [70] Rédly GA, Poole K. Pyoverdine-mediated regulation of FpvA synthesis in *Pseudomonas aeruginosa*: involvement of a probable extracytoplasmic-function sigma factor, FpvI[J]. Journal of Bacteriology, 2003, 185(4): 1261–1265.
- [71] Lamont IL, Beare PA, Ochsner U, et al. Siderophore-mediated signaling regulates virulence factor production in *Pseudomonas aeruginosa*[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 2002, 99(10): 7072–7077.
- [72] Drake EJ, Cao J, Qu J, et al. The 1.8Å crystal structure of PA2412, an MbtH-like protein from the pyoverdine cluster of *Pseudomonas aeruginosa*[J]. Journal of Biological Chemistry, 2007, 282(28): 20425–20434.
- [73] Smith EE, Sims EH, Spencer DH, et al. Evidence for diversifying selection at the pyoverdine locus of *Pseudomonas aeruginosa*[J]. Journal of Bacteriology, 2005, 187(6): 2138–2147.
- [74] Paulsen IT, Press CM, Ravel J, et al. Complete genome sequence of the plant commensal *Pseudomonas fluorescens* Pf-5[J]. Nature Biotechnology, 2005, 23(7): 873–878.
- [75] Moon CD, Zhang XX, Matthijs S, et al. Genomic genetic and structure analysis of pyoverdine-mediated iron acquisition in the plant growth-promoting bacterium *Pseudomonas fluorescens* SBW25[J/OL]. BMC Microbiology, 2008, <http://www.biomedcentral.com/1471-2180/8/7>.
- [76] Banin E, Vasil ML, Greenberg EP. Iron and *Pseudomonas aeruginosa* biofilm formation[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 2005, 102(31): 11076–11081.
- [77] 丁延芹, 黄伟红, 姚良同, 等. *Pseudomonas pseudoalcaligenes* B50铁载体合成相关基因 *pyrD* 的克隆与功能分析[J]. 微生物学通报, 2010, 37(7): 981–985.
- [78] Chin-A-Woeng TFC, Bloemberg GV, Lugtenberg BJJ. Phenazines and their role in biocontrol by *Pseudomonas bacteria*[J]. New Phytologist, 2003, 157(3): 503–523.
- [79] Wood DW, Gong FC, Daykin MM, et al. N-acyl-homoserine lactone-mediated regulation of phenazine gene expression by *Pseudomonas aureofaciens* 30-84 in the wheat rhizosphere[J]. Journal of Bacteriology, 1997, 179(24): 7663–7670.
- [80] Girard G, van Rij ET, Lugtenberg BJJ, et al. Regulatory roles of *psrA* and *rpoS* in phenazine-1-carboxamide synthesis by *Pseudomonas chlororaphis* PCL1391[J]. Microbiology, 2006, 152(1): 43–58.
- [81] Mavrodi DV, Blankenfeldt W, Thomashow LS. Phenazine compounds in fluorescent *Pseudomonas* spp. biosynthesis and regulation[J]. Annual Review of Phytopathology, 2006, 44: 417–445.
- [82] Price-Whelan A, Dietrich LEP, Newman DK. Rethinking ‘secondary’ metabolism: physiological roles for phenazine antibiotics[J]. Nature Chemical Biology, 2006, 2(2): 71–78.
- [83] Nowak-Thompson B, Chaney N, Wing JS, et al. Characterization of the pyoluteorin biosynthetic gene cluster of *Pseudomonas fluorescens* Pf-5[J]. Journal of Bacteriology, 1999, 181(7): 2166–2174.
- [84] Huang XQ, Zhu DH, Ge YH, et al. Identification and characterization of *pltZ*, a gene involved in the repression of pyoluteorin biosynthesis in *Pseudomonas* sp. M18[J]. FEMS Microbiology Letters, 2004, 232(2): 197–202.
- [85] Zhang XH, Wang SL, Geng HF, et al. Differential regulation of *rsmA* gene on biosynthesis of pyoluteorin and phenazine-1-carboxylic acid in *Pseudomonas* sp. M18[J]. World journal of Microbiology and Biotechnology, 2005, 21(6/7): 883–889.
- [86] Crowley DE, Reid CP, Szaniszló PJ. Utilization of microbial siderophores in iron acquisition by oat[J]. Plant Physiology, 1988, 87(3): 680–685.
- [87] Loper JE, Buyer JS. Siderophores in microbial interactions on plant surfaces[J]. Molecular Plant-Microbe Interactions, 1991, 4(1): 5–13.
- [88] Buysens S, Heungens K, Poppe J, et al. Involvement of pyochelin and pyoverdine in

- suppression of *Pythium*-induced damping-off tomato by *Pseudomonas aeruginosa* 7NSK2[J]. Applied and Environmental Microbiology, 1996, 62(3): 865–871.
- [89] 许煜泉, 高虹, 童耕雷, 等. 假单胞菌株 JKD-2 分泌铁载体抑制稻瘟病菌[J]. 微生物学通报, 1999, 26(3): 180–183.
- [90] Audenaert K, Pattery T, Cornelis P, et al. Induction of systemic resistance to *Botrytis cinerea* in tomato by *Pseudomonas aeruginosa* 7NSK2: role of salicylic acid, pyochelin, and pyocyanin[J]. Molecular Plant-Microbe Interactions, 2002, 15(11): 1147–1156.
- [91] Roosenberg JM, Lin YM, Lu Y, et al. Studies and syntheses of siderophores, microbial iron chelators, and analogs as potential drug delivery agents[J]. Current Medicinal Chemistry, 2000, 7(2): 159–197.
- [92] Sun GX, Zhou WQ, Zhong JJ. Organotin decomposition by pyochelin, secreted by *Pseudomonas aeruginosa* even in an iron-sufficient environment[J]. Applied and Environmental Microbiology, 2006, 72(9): 6411–6413.
- [93] Tambong JT, Höfte M. Phenazines are involved in biocontrol of *Pythium myriotylum* on cocoyam by *Pseudomonas aeruginosa* PNA1[J]. European journal of Plant Pathology, 2001, 107(5): 511–521.
- [94] Compant S, Duffy B, Nowak J, et al. Use of plant growth-promoting bacteria for biocontrol of plant diseases: principles, mechanisms of action, and future prospects[J]. Applied and Environmental Microbiology, 2005, 71(9): 4951–4959.
- [95] Hernandez ME, Kappler A, Newman DK. Phenazines and other redox-active antibiotics promote microbial mineral reduction[J]. Applied and Environmental Microbiology, 2004, 70(2): 921–928.
- [96] 余贤美, 郑服从. 嗜铁素在促进植物生长及病害防治等方面的应用[J]. 中国农学通报, 2007, 23(8): 507–510.
- [97] Kim JB, Cho KS, Jeong SK, et al. Identification and characterization of a pigment-producing denitrifying bacterium[J]. Biotechnology and Bioprocess Engineering, 2008, 13(2): 217–223.

## 稿件书写规范

### 专论与综述论文的撰写要点

专论与综述是本刊重要栏目之一, 主要反映国内外微生物学及相关领域学科研究最新成果和进展, 其内容要求新颖丰富, 观点明确, 论述恰当, 应包含作者自己的工作内容和见解。因此, 作者在动笔之前必须明确选题, 一般原则上应选择在理论和实践中具有重要意义的学科专题进行论述。围绕专题所涉及的各个方面, 在综合分析和评价已有资料基础上提出其演变规律和趋势, 即掌握其内在的精髓, 深入到专题研究的本质, 论述其发展前景。作者通过回顾、观察和展望, 提出合乎逻辑并具有启迪性的看法和建议。另外, 作者也可以采用以汇集文献资料为主的写作方法, 辅以注释, 客观而有少量评述, 使读者对该专题的过去、现在和将来有一个全面、足够的认识。

需要特别说明的是: (1) 我刊要求作者投稿时在正文前写上主要作者的简介, 并指出自己的工作(已发表的文章)在综述中的体现, 同时请在稿件中用不同颜色标出来。(2) 在专论与综述中引用的文献应该主要是近 5 年国内外正式发表的研究论文, 引用文献数量不限。