

# 丁香假单胞菌环式脂肽毒素的生理和分子生物学研究

高必达

(湖南农业大学植物保护系,长沙 410128)

**摘要** 综合评述了近 10 年来在丁香假单胞菌脂肽毒素生理和分子生物学研究上的发现。这些毒素依肽部 AA 数目可分两组。丁香假单胞菌毒素组 (*syringomycuns*) 已报告 4 个成员,肽部有 9 个 AA;丁香假单胞菌脂肽毒素组有 2 个成员,肽部分别有 22 个和 25 个 AA。肽部 C-端羧基与分子内羟基氨基酸残基(AA)的羟基酯化闭合成环,再由羟基脂肪酸酰化。两组毒素都诱导植物电解质渗漏、人和动物红血球溶解,其机制在于在细胞膜上形成二价阳离子可通过的寡体通道。对酵母菌的抑制作用受固醇的种类影响,以胆固醇的保护作用最强。丁香假单胞菌毒素的合成涉及一个多酶系统,有些负责肽合成,有些负责运输或调节,除受内源调节蛋白调节外,也受外源信号分子调节,尤其是受植物酚糖苷诱导。这些毒素具有抗真菌活性,对人和动物的一些病原霉菌有明显效果,在试验剂量无副作用,在医药上应用的前景良好。

**关键词** 丁香假单胞菌 脂肽毒素 抗菌活性 作用机制 分子生物学

植物病原细菌丁香假单胞菌 (*Pseudomonas syringae* pv. *syringae*) 产生两组诱导植物组织渗漏坏死的环式脂肽毒素,一组是环式脂壬肽毒素,即丁香假单胞菌毒素组 (SR 组),包括丁香假单胞菌毒素 (*syringomycin*, SR)、丁香假单胞菌毒素 (*syringotoxin*, ST)、丁香假单胞菌抑生素 (*syringostatin*, SS) 和假单胞菌毒素 A (*pseudomycin A*);另一组是环式脂多肽毒素,即丁香假单胞菌脂肽毒素组 (*syringopeptin*, SP 组),包括肽部有 22AA 的 SP-22A 和 25 个 AA 的 SP-25A 两种毒素。除丁香假单胞菌外,其它假单胞菌如 *Ps. asplenii*、*Ps. fuscovaginae*、*P. syringae* pv. *atrofaciens*、*P. syringae* pv. *aptata* 也产生 SR 组毒素。

这些脂肽毒素也具有抗真菌活性。近年来真菌对人的侵染加重,抗真菌药物不足以及真菌对现有抗真菌药物的耐性增强,导致了加快寻找新的抗真菌剂<sup>[1]</sup>。对丁香假单胞菌的脂肽毒素作某些修饰,有望得到潜在的改良抗真菌剂。因而这类毒素倍受关注,从生理活性到合成调节,已有不少报导。本文简述近 10 年来在这方面所取得的进展。

## 1 化学结构

组合 1D 和 2D<sup>1</sup>H 和 <sup>13</sup>C-NMR、FAB-MS、化学和酶学方法在 mg 水平进行研究,证明了 SR-E 肽部的 AA 序列为 Ser-Ser-Dab-Dab-Arg-Phe-Dhb-4(Cl) Thr-3(OH) Asp, C-端残基的 -羧基与 N-端 Ser 的羟

基成酯闭合成一大环,反过来又被 3-羟基十二碳酸酰胺化。SR-A1 和 SR-G 仅相应脂肪酸不同于 SRE,分别为 3-羟基癸酸和 3-羟基十四碳酸<sup>[2]</sup>。

ST 肽部的 AA 序列为 Ser-Dab-Gly-Hse-Orn-aThr-Dhb-(3-OH) Asp-(4-Cl) Thr。N-端 Ser 的羟基与 C-端羧基成酯闭合成大环,再被 3-羟基十四碳酸酰化。

SP 的主要结构已用化学方法组合研究,包括 <sup>1</sup>H 和 <sup>13</sup>C NMR 光谱和 FAB 质谱。一种 SP 为 3-羟基癸酰基-Dhb-Pro-Val-Val-Ala-Ala-Val-Val-Dhb-Ala-Val-Ala-Ala-Dhb-aThr-Ser-Ala-Dhb-Ala-Dab-Dab-Tyr, Tyr 羧基与 Thr 羟基形成一个大内酯环,3-羟基十二酰基同系物的量少。另一种 SP 为 3-羟基癸酰基-Dhb-Pro-Val-Ala-Ala-Val-Leu-Ala-Ala-Dhb-Val-Dhb-Ala-Val-Ala-Ala-Dhb-aThr-Ser-Ala-Val-Ala-Dab-Dab-Tyr, Tyr 与 Thr 也形成大内酯环,3-羟基十二酰基同系物的量少<sup>[3]</sup>。

## 2 生理活性

### 2.1 植物毒性

脂肽毒素在细胞致病过程中起重要作用,其主要靶标似为质膜。SR-E 和 SP-22A 和 SP-25A 可逆地和非竞争性地抑制从玉米根质膜溶解提纯的 H<sup>+</sup>-ATP 酶<sup>[4]</sup>。在用胡萝卜组织和马铃薯块茎组织做的试验中,SP 组毒素的毒性高于 SR-E 和 ST,如 SP-22A 和 ST 诱导电解质泄漏的浓度分别为

0.4 $\mu\text{M}$ 和10 $\mu\text{M}$ <sup>[5]</sup>。在烟草原生质体测定中,SP-22A和SP-22B在50ng/ml的阈浓度造成原生质体解体的活性相当,可测出Ca<sup>2+</sup>流入,SR、ST和SS的毒性与SP22A和SP22B并没有多大差异<sup>[6]</sup>。

## 2.2 抗真菌活性

在用医学上重要的真菌菌株所做的抑菌试验中,3个环式脂壬肽(SR-E、ST-B、SS-A)均对大多数参试真菌表现出了广谱抗真菌活性和杀真菌活性。总体而言,环式脂壬肽对酵母比对丝状真菌更有效。SR-E和SS-A有非常相似的抗真菌活性。ST-B比SR-E和SS-A对大多数真菌毒性低<sup>[1]</sup>。

为探讨SR-E医用的可能性,评价了对鼠阴道念珠菌病的效果<sup>[7]</sup>。在一个试验中,用PEG-400或PEG油膏配成2%SR-E,鼠阴道内处理4天(b.i.d.),用1%clotrimazole作阳性对照,并设单用助剂的阴道对照。处理后第5天,与单用助剂相比,两种剂型的SR-E都减少了阴道内的酵母菌定殖(SR-E/PEG-400 P 0.06;SR-E/PEG膏剂 P 0.03),在第7天SR-E/PEG膏剂也减少了定殖(P 0.06)。在第二个试验中,SR-E用Aquaphor配成3种更高浓度(3%、6%、12%,w/v)。SR-E效果依赖于剂量。3%的SR-E无效而6%和12%的SR-E抑制了酵母增殖。在第5天(P 0.01)、第6天(P 0.06)、第7天(P 0.03)12%SR-E与阴性对照相比有显著抑菌作用,在第5天比clotrimazole更有效(P 0.03)。Clotrimazole在第6和第7天的抑菌效果与助剂对照无显著差异(P 0.01或P 0.01)。用SR-E处理未感染的动物,组织检查未发现阴道有发炎反应。在血浆、肾脏、肝中都未检出SR-E。

酵母中果绳红酵母(*Rhodotorula pilimanae*)的生长可受6.25 $\mu\text{M}$ SR-E或ST、12.5 $\mu\text{M}$ SP-22A和37.5 $\mu\text{M}$ SP-25A抑制<sup>[3]</sup>,酿酒酵母(*Saccharomyces cerevisiae*)细胞用SR处理约20min足以杀死<sup>[8]</sup>。

丝状真菌灰霉菌(*Botrytis cinerea*)菌丝生长受1.6 $\mu\text{M}$ SP-25-A、12.5 $\mu\text{M}$ SP-22A、18.7 $\mu\text{M}$ SR-E和25 $\mu\text{M}$ ST抑制。而对灰霉菌分生孢子萌发和芽管伸长的抑制活性则以SR-E最强<sup>[5]</sup>。SR组毒素对曲霉和镰刀菌也有抗菌活性,如SR-E在1.9mg/ml和7.8mg/ml浓度分别对曲霉和镰刀菌有显著致死作用<sup>[9]</sup>。SR-E与真菌细胞壁成分结合力依次为-1,3-葡聚糖>几丁质>甘露糖>麦角固醇=胆固醇。

## 2.3 溶血活性

SR-E、ST、SP-22-A和SP-25-A都造成绵羊红血

球溶解,SP组毒素比SR-E和ST活性更强。SP-22-A和SP-25-A溶血浓度为0.8 $\mu\text{M}$ 和0.6 $\mu\text{M}$ ,而SR-E和ST为1.4 $\mu\text{M}$ 和5.9 $\mu\text{M}$ 。SP-22A和SP-25A形成的病痕半径约1nm,而SR-E形成的病痕依剂量而异,从0.7nm到1.7nm<sup>[5]</sup>。

SR-E加到人红血球细胞(RBC)中浓度大于2 $\times 10^6$ 分子/细胞(50mg/ml RBC)时造成RBC一个小的亚群体快速和依赖浓度的解体,未解体细胞的膜对离子的通透性增大<sup>[10]</sup>。在500ng/ml阈浓度,SR通过在膜上形成离子通道而诱导溶血,从渗透保护研究推测通道半径在0.6nm和1nm之间。离子通道可透过单价阳离子也可透过二价阳离子<sup>[11]</sup>。脂壬肽毒素假单胞霉素A(pseudomycin A)也造成人红血球溶解<sup>[12]</sup>。

## 2.4 免疫抑制活性

SR-E象环孢素(cyclosporine)、FK506和rapamycin一样具有免疫抑制活性,SR-E不影响人红血淋巴细胞的体外正常增殖,但显著抑制细胞分裂促进剂诱导的淋巴细胞增殖。用美洲商陆细胞分裂促进剂(PWM)诱导时比用植物凝血素(PHA)或CD3单克隆抗体(anti-CD3)时抑制效果更明显。鉴于这些细胞分裂促进剂诱导依赖T细胞的细胞免疫性,可以认为SR-E是一种新的免疫抑制性化合物<sup>[13]</sup>。

## 3 作用机制

### 3.1 离子通道

上述结果似表明丁香假单胞菌分泌的两组脂肽毒素通过形成二价阳离子可透过的离子通道,促进被动的跨膜离子流,造成植物细胞坏死和红血球溶解。为证明这一点,用人工膜做了模拟试验。

在模拟试验中脂肽毒素表现出表面活性,形成的肽单层平均分子区1.2nm<sup>2</sup>、1.5nm<sup>2</sup>、1.3nm<sup>2</sup><sup>[14]</sup>,SR能降低水的界面张力至31mN/m<sup>[12]</sup>。SP组的两种毒素也显示了强烈的表面活性剂特性,分别降低高压液相色谱级水的界面张力至36nm/m和34.5nm/m<sup>[6]</sup>。SR-E、SP-22A和SP-25A也分配到脂质单层中,占据0.6nm<sup>2</sup>至1.7nm<sup>2</sup>的分子区,依肽和依膜的脂质组成而异<sup>[14]</sup>。

脂肽毒素在人工脂质泡囊中形成由4-7个单体构成的寡体通道,可从泡囊释放原已掺入的荧光染料钙黄绿素(calcein),SP组寡体小于SR-E寡体和ST寡体<sup>[14]</sup>。SR-E和SP-22-A和SP-25A还增大质子在磷脂酰胆碱/磷脂酰乙醇胺脂体上的被动的

透过能力,SP组毒素比SR-E效果更明显<sup>[4]</sup>。

SR-E掺入平面的双层脂膜时,形成大小两类通道,大的通道是小通道群集而成,同步关闭<sup>[15]</sup>。

### 3.2 固醇和磷脂与毒素的互作

研究了固醇对SR毒害的保护作用。SR对生长态的酿酒酵母细胞比对停滞态的细胞毒害作用大得多。但SR对细胞的毒害在含有固醇的环境中减轻。培养基中只要含有10 $\mu$ M胆固醇,就可完全抵消2.5 $\mu$ M的SR对细胞的毒害作用,麦角固醇(真菌细胞主要固醇)、谷固醇和豆固醇(植物细胞主要固醇)也有保护作用,但不如胆固醇有效,胆固醇乙酸酯无保护作用<sup>[8]</sup>。

3种不同结构的固醇可影响SR-E与平坦脂双层的互作能力。在含有50mol%胆固醇的脂双层SR-E诱导电导增大的效果比在无固醇脂双层约低1000倍。麦角固醇对SR-E的影响比胆固醇小得多,而豆固醇不显著影响SR-E诱导电导增大的能力。胆固醇可能是通过增大通道形成的能量障碍而不是自身参与通道形成来影响靶膜对SR-E的感受性<sup>[16]</sup>。

通过突变体分析鉴别了酿酒酵母编码受SR-E抑制所必需的基因。分离了耐SR-E的突变体,发现其含有单个隐性突变,可分为8个基因互补组。5个组的代表菌系耐制霉菌素,质膜缺乏麦角固醇。所有突变体菌系也耐ST和SS。结果表明:1)至少有8个由基因编码的功能参与了对SR的抑制性反应;2)麦角固醇对这个反应重要;3)SR-E、ST、SS有类似的作用方式<sup>[17]</sup>。

在最近的一项研究中,只含麦角固醇、胆固醇、-谷固醇、豆固醇之一的酿酒酵母固醇营养缺乏型菌系FY-14细胞都对SR-E敏感,后两种细胞更敏感<sup>[18]</sup>。

对酿酒酵母诱变得到了耐SR的突变体,通过突变体互补试验,克隆了SYR1基因的一个2.5kb DNA片段。测序后发现这个片段上有一开放读码框编码一个40kD、365AA多肽。SYR1蛋白上有4个被亲水区隔开的疏水区,与ERG3相同,后者编码麦角固醇生物合成所需的C-5固醇去饱和酶。消去SYR1/ERG3不致死但导致了膜C-5不饱和固醇不足。syr1突变体细胞与SR结合的能力显著降低,耐SR。结果表明C-5不饱和固醇参与了SR与细胞结合<sup>[19]</sup>。

一个新的酵母基因SYR2可使耐坏死性SR的酿酒酵母突变体恢复感受态。克隆了SYR2并测

序,发现其编码一种定位于内质网上的349AA蛋白。SYR2与SUR2相同,与营养不足时的存活有关。SYR2基因破坏或过度表达不影响细胞活力也不影响麦角固醇水平,但影响细胞磷脂水平<sup>[20]</sup>。SYR2基因在神经鞘脂生物合成中为长链骨架的4-羟基化所需。在外源4-羟基神经鞘长链骨架掺入神经鞘脂时,syr2突变体菌系的耐SRE表现型受遏制。SR-E对酵母的活性必须有神经鞘脂的4-羟基参与<sup>[21]</sup>。这些发现暗示磷脂是SR抑制生长的重要作用位点。

## 4 合成和输出

目前只有SR的合成研究得较为清楚。SR由丁香假单胞菌的多酶型肽合成酶体系合成。这个体系包含SyrA、SyrB、SyrC、SyrD、SyrE等5种蛋白。SyrB、SyrC、SyrE是肽合成酶,SyrA似为一种调节蛋白,SyrD与SR输出有关。

syrA基因长约2.3-2.8kb,插入突变导致不产SR也不致病。

在合成酶SyrB和SyrE上有9个涉及与SR9个氨基酸结合的模块,其中SyrE有8个模块。重组的SyrB与SyrE的第一和第二模块(SyrE1和SyrE2)在大肠杆菌中表达并提纯。SyrB与SR肽部的苏氨酸结合,而SyrE1和SyrE2分别与SR的第一和第二个氨基酸残基(丝氨酸残基)结合<sup>[22]</sup>。

研究表明SyrB和SyrC功能为SR生物合成的硫模板机制中的肽合成酶<sup>[22]</sup>。

syrB的开放读码框(ORF)长2,847bp,预期编码一种近105-kD的949AA蛋白SyrB。搜索数据库发现SyrB与涉及多种微生物中抗生肽合成和载铁分子合成的腺苷酸合成酶超家族的成员有同源性。SyrB与铜绿假单胞菌(*Pseudomonas aeruginosa*)的pyoverdine合成酶PvdD的第一个氨基酸活化域有最高程度的总体相似性(56.4%)和同一性(33.8%),SyrB的N-端近600AA的一个域,与利用硫模板的肽合成酶的氨基酸-活化域相似。SyrB含有6个信号核心序列域,与所有已知的涉及非核糖体肽合成的氨基酸-活化域的排序相同,间隔距离相同。例如,SyrB的6号核心序列与4-磷酸泛酸硫基乙胺(硫酸形成所需的一个辅因)的结合位点相似<sup>[23]</sup>。

syrC的ORF(1,299bp)位于syrB ORF下游175bp处。分析了syrB基因和syrC基因之间的转录和翻译关系。证明了这两个基因独立表达。syrC

的 ORF 预期编码 433AA 近 48-kD 的蛋白产物,该蛋白与大量的硫酯酶包括脂肪酸硫酯酶、卤过氧化物酶、乙酰基转移酶有 42%至 48%相似,含有一个特征性的 GX<sub>2</sub>(C)XG 部。此外邻近 SyrC 的 C 端有一个锌-结合部<sup>[23]</sup>。

syrD 基因编码在 SR 输出中发挥功能的蛋白。syrD 开放读码框为 1695bp 长,编码预期的蛋白 SyrD,分子量近 63kD。搜索数据库发现 SyrD 与运输蛋白的 ATP-结合匣(ABC)超级家族有高度相似性,这些蛋白负责原核生物吸收特定营养和分泌某些细胞产物,也负责哺乳动物对多种药物的抗性。SyrD 和 ABC 蛋白的氨基酸序列同源性就构成这些蛋白的 ATP-结合匣的保守残基而言是很高的。这些残基位于 SyrD 亲水的 C-端那一半。SyrD 的 N-端预期是疏水的,含有 6 个跨膜  $\alpha$ -螺旋。菌系 B301D-R 的 syrD 突变体的毒力显著弱于其它 syr 突变体,4 个被认为是 SR 合成酶复合体组分的主要多肽不足,syrB-lacZ 标记基因的融合体的表达弱。提出 SyrD 是一种胞质膜蛋白,功能为 SR 分泌所需的 ATP-驱动的流出泵<sup>[24]</sup>。

用 syr 基因区段作 DNA 探针,发现产生 SR 或其氨基酸类似物 ST 和 SS 之一的众多丁香假单胞菌菌系都有 syrB 基因和 syrD 基因,两基因都是单拷贝,保守于一个 15kb 或更小的 DNA 区段。丁香假单胞菌的 6 个致病变种和菜豆荚斑菌(*P. viridiflava*)的代表菌系不能与基因探针杂交,表明 syr 序列是丁香假单胞菌及其相近不致病菌系专有的。RFLP 图谱的最苛分析法用来评价菌系间 syrB 基因区和 syrD 基因区内的相似性。一个描述菌系间最小进化变化的树状图,揭示了 syr 基因区内相当大的多样性,发现一些菌系亚组似共享与植物-病原体互作相关的特定性质<sup>[25]</sup>。

## 5 调节和诱导

### 5.1 调节

脂肽毒素的合成可受内源蛋白调节

在菌系 B301D 的 syrB 和 syrD 基因的间隔区发现一个 1,059bp 开放读码框(ORF),指定为 syrP。这个 ORF 的预期产物为 39.6kD,353AA 蛋白,搜索蛋白序列数据库证明了 SyrP 与大肠杆菌的 CheA 调节蛋白最相似。预期的 SyrP 序列有一段与 CheA 的 N 端,即对应于 CheA 磷酸转移域和受体位点同源。SyrP 与 CheA 磷酸转移域同源的区含有一个 His<sub>101</sub>,其侧翼为二元调节系统的非正统的传感激酶

亚族的弱同义序列。定点插入诱变 syrP 基因得到的一个菌系 B301D-31 呈现了异常的多效性表现型,包括在液体培养基中不能产生 SR,而在琼脂培养基上产生高水平的毒素。这个 syrP 突变体的产毒不再受遏制,同时在琼脂培养基上无机磷酸盐积累,浓度大于 1mM。然而在用樱桃果实做的致病性测定中,这个 syrP 突变体的毒力实质上弱于野生型菌系。这些结果暗示 syrP 基因编码一种参与磷酸化级联的调节蛋白,控制丁香假单胞菌 SR 的产生和毒力<sup>[26]</sup>。

丁香假单胞菌的 lemA 基因编码细菌二元信号传导系统的传感激酶。依赖 lemA 的表现型包括在菜豆上形成病斑、产生胞外蛋白酶和产生抗生物质 SR<sup>[27]</sup>。

诱变分析发现丁香假单胞菌的 gacA 基因编码 lemA 传感激酶的反应调节蛋白。gacA 基因也与病斑形成、蛋白酶和 SR 的合成有关。gacA 基因最初被鉴定为荧光假单胞菌(*Pseudomonas fluorescens*)合成胞外抗生物质的调节物,预期的 GacA 蛋白是细菌反应调节物 FixJ 家族的成员。B728 菌系 GacA 蛋白的序列与荧光假单胞菌的 GacA 蛋白有 92%相同。插入诱变 gacA 基因的丁香假单胞菌不能在菜豆上形成病斑、不能合成胞外蛋白酶和毒素 SR<sup>[28]</sup>。

为鉴别与 LemA 互作的额外的组分,寻找了 lemA 诱变的遏制物。发现 1 个位点当多拷贝存在时,恢复了丁香假单胞菌的 lemA 插入突变体产胞外蛋白酶的能力。这个位点编码丁香假单胞菌与大肠杆菌等细菌核糖体蛋白 L20 和 L35 同系的蛋白<sup>[28]</sup>。

一个指定为 salA 的基因,当存在于在一个 ple-拷贝质粒上时可恢复一个 lemA 突变株产 SR 的能力。在室内实验中破坏染色体 salA,则不产生 SR 也不形成病斑。分析 salA 的序列发现它编码一个有 DNA 结合区但与目前数据库中所有蛋白无显著相似性的蛋白。染色体标记物融合试验揭示 lemA 和 gacA 正调 salA,salA 上调自身的表达且正调 syrB 的表达,不遏制 lemA 突变株的蛋白酶缺陷表现型,salA 突变株自身的蛋白酶产生也不受影响。因而,salA 似编码一新的调节物,至少活化二套分隔的 lemA/gacA 调节元,一路径导致 SR 生成,另一路径导致植物发病<sup>[29]</sup>。

### 5.2 诱导

SR 的生成可受外源信号分子诱导,尤其是植物

酚糖苷类。

在加有不同植物成分的培养基上培养含有 *syrB-lacZ* 融合基因的菌系 B3AR132, 34 种参试植物酚类化合物中,熊果苷、苯基-D-吡喃葡萄糖苷和水杨苷是 *syrB* 的强诱导物,在 100 $\mu$ M 浓度诱导约 1,200U 的  $\alpha$ -半乳糖苷酶活性,七叶苷和绣线菊苷是中度诱导者,在 100 $\mu$ M 浓度约诱导 250U 至 400U 的  $\alpha$ -半乳糖苷酶活性。而农杆菌和根瘤菌中分别在起信号分子作用的乙酰丁香酮和类黄酮无诱导作用。所有 *syrB* 的诱导物都是酚类葡萄糖苷,如苯基-D-吡喃半乳糖苷也缺乏诱导活性。没有一种配基衍生物单独有诱导活性。特定的糖如植物组织中的普通糖包括 D-果糖、D-甘露糖和蔗糖可使酚信号活性增大 2-5 倍。可能是增大丁香假单胞菌对植物信号酚的敏感性。糖对 *syrB* 诱导的影响以低浓度酚糖苷(1 至 10 $\mu$ M)最为引人注目。熊果苷和 D-果糖也诱导了母菌系 B3AR 的 SR 生物合成,产生 250U 以上的毒素<sup>[30]</sup>。

当熊果苷和 D-果糖加到培养基中时,42 个含有 *syr* 同源序列的产毒菌系 90% 以上产生大量的毒素,其中 13 个菌系产生 10 倍高的毒素水平,一些菌系仅在存在这些信号时产生毒素<sup>[25]</sup>。

## 6 前景

现有的研究成果已显示丁香假单胞菌脂肽毒素具有医用价值,尤其是 SR 对真菌的毒性大而对红血球的毒性较低。为进入实用阶段,作者建议从以下 5 个方面作进一步研究。1) 筛选天然的高产 SR 菌株;2) 物理诱变筛选高产 SR 菌株;3) 转位子插入诱变调节基因如 *syrP*, 得到产毒不受控制的高产菌株;4) 细菌培养时加诱导剂如酚糖苷提高产量;5) 进一步作临床试验。

## 参考文献

- [ 1 ] Sorensen KN, Kim KH, et al. *Antimicrob Agents Chemother*, 1996;40(12):2710-3
- [ 2 ] Segre A, Bachmann RC, et al. *FEBS Lett*, 1989;255(1):27-31
- [ 3 ] Ballio A, Barra D, et al. *FEBS Lett*, 1991;291(1):109-12
- [ 4 ] Camoni L, Di Giorgio D, et al. *Biochem Biophys Res Commun*, 1995;214(1):118-24
- [ 5 ] Lavermicocca P, Santa Iacobellis N, et al. *Physiol. Mol. Plant*

- Pathol*. 1997;50(2):129-40
- [ 6 ] Hutchison ML, Gross DC, *Mol Plant Microbe Interact*, 1997;10(3):347-54
- [ 7 ] Sorensen KN, Wanstrom AA, et al. *J Antibiot (Tokyo)*, 1998;51(8):743-9
- [ 8 ] Julmanop C, Takano Y, et al. *J Gen Microbiol*, 1993 Oct;139(Pt 10):2323-7
- [ 9 ] De Lucca AJ, Jacks TJ, et al. *Antimicrob Agents Chemother*, 1999;43(2):371-3
- [ 10 ] Blasko K, Schagina L V, et al. *Biochim Biophys Acta*, 1998;1373(1):163-9
- [ 11 ] Hutchison ML, Tester MA, Gross DC, *Mol Plant Microbe Interact*, 1995;8(4):610-20
- [ 12 ] Di Giorgio D, Camoni L, et al. *Phytochemistry*, 1997;45(7):1385-91
- [ 13 ] Singh VK, Takemoto J Y, *FEMS Immunol Med Microbiol*, 1996;15(2-3):177-9
- [ 14 ] Dalla Serra M, Fagioli G, et al. *Mol Plant Microbe Interact*, 1999;12(5):391-400
- [ 15 ] Kaulin YA, Schagina L V, et al. *Biophys J*, 1998;74(6):2918-25
- [ 16 ] Feigin AM, Schagina LV, et al. *Biochim Biophys Acta*, 1997;1324(1):102-10
- [ 17 ] Takemoto J Y, Yu Y, et al. *FEMS Microbiol Lett*, 1993;114(3):339-42
- [ 18 ] Wangspa R, Takemoto J Y, *FEMS Microbiol Lett*, 1998;167(2):215-20
- [ 19 ] Taguchi N, Takano Y, et al. *Microbiology*, 1994;140(Pt 2):353-9
- [ 20 ] Cliften P, Wang Y, et al. *Microbiology*, 1996;142(Pt 3):477-84
- [ 21 ] Grilley MM, Stock SD, et al. *J Biol Chem*, 1998;273(18):11062-8
- [ 22 ] Guenzi E, Galli G, et al. *J Biol Chem*, 1998;273(49):32857-63
- [ 23 ] Zhang J H, Quigley NB, et al. *J Bacteriol*, 1995;177(14):4009-20
- [ 24 ] Quigley NB, Mo Y Y, Gross DC, *Mol Microbiol*, 1993;9(4):787-801
- [ 25 ] Quigley NB, Gross DC, *Mol Plant Microbe*, 1994;7(1):78-90
- [ 26 ] Zhang J H, Quigley NB, et al. *Appl Environ Microbiol*, 1997;63(7):2771-8
- [ 27 ] Kitten T, Willis DK. *J bacteriol*, 1996;178(6):1548-55
- [ 28 ] Rich JJ, Kinscherf TG, et al. *J Bacteriol*, 1994;176(24):7468-75
- [ 29 ] Kitten T, Kinscherf TG, et al. *Mol Microbiol*, 1998;28(5):917-29
- [ 30 ] Mo Y Y, Gross DC. *J Bacteriol*, 1991;173(18):5784-92

(下转第 43 页)

## 参考文献

- [ 1 ] Fodor SPA ,Science ,1997 ,277 :393 - 395.
- [ 2 ] Schena M ,SDhalon D ,Davis RW , et al. Science ,1995 ,270 : 467 - 470.
- [ 3 ] Schena M ,Heller RA , Theriault TP ,et al. Trends in Biotechnol ,1998 ,16 ,301 - 306.
- [ 4 ] Watson A ,Mazumder A ,Stewart M ,et al. Current Opinion in Biotechnol , 1998 ,9 :609 - 614.
- [ 5 ] Hoheisel JD ,Trends in Biotechnol ,1997 ,15 :465 - 469.
- [ 6 ] Pease AC ,Solas D ,Sullivan EJ ,et al. Proc Natl Acad Sci USA , 1994 ,91 :5022 - 5026.
- [ 7 ] [http: www.affymetrix.com/products/faq.htm](http://www.affymetrix.com/products/faq.htm)
- [ 8 ] Cheung V G ,Morley M ,Aguilar F ,et al. Naure Genet Suppl. 1999 ,21 :15 - 19.
- [ 9 ] Southern EM ,Case Green SC ,Elder Jk ,et al. Nucleic Acid Res , 1994 ,22 :1368 - 1373.
- [10] Chen Y ,Dougherty ER , Bittner ML J Biomed Optics ,1997 ,2 : 364 - 374.
- [11] Harris CC , Hollstein M ,N Engl J Med ,1993 ,329 :1318 - 1327.
- [12] Lamb P ,Crawford L ,Mol Cell Biol ,1986 ,6(5) :1379 - 1385.
- [13] Hussain SP ,Harris CC ,Mutation Res , 1999 ,428 :23 - 32.
- [14] Hollstein M ,Sidraansky D ,Harris CC ,Science ,1991 ,253 :49 - 53
- [15] Greenblatt MS ,Benett WP , Hollstein M ,et al. Cancer Res , 1994 ,54 :4855 - 4878.
- [16] Tamura G ,Kihana T ,Nomura K ,et al. Cancer Res ,1991 ,51 : 3056 - 3058.
- [17] Ahrendt SA ,Halachmi S ,Chow J T ,et al. Proc Natl Acad Sci USA ,1999 ,96 :7382 - 7387.

(接第 59 页)

## Physiology and Molecular Biology of Lipodepsipeptide Toxins Produced

by *Pseudomonas syringae* pv. *syringae*

Gao Bida

(Hunan Agricultural University Changsha 410128)

**Abstract** Recent progress in molecular biological research on lipodepsipeptide toxins produced by *Pseudomonas syringae* pv. *syringae* was reviewed. *Pseudomonas* pv. *syringae* produces two groups of macrocyclic lipodepsipeptide phyto toxins, lipodepsinona-peptide (syringomycins) including syringomycin (SR) ,syringotoxin (ST) ,syringostatin (SS) and pseudomycin A ,and more complex syringopeptins (SP) containing SP-22A and SP25A. Lipodepsinona-peptides have 9 amino acid residues (AA) in their peptide moiety; Two forms of syringopeptins have 22 or 25 AA respectively. C-terminal carboxyl group on the lipodepsipeptides close a macrocyclic ring on the hydroxyl group of the hydroxy amino acid residue ,and is ,in turn ,acylated. by C<sub>10</sub> , C<sub>12</sub> - or C<sub>14</sub> . hydroxy fatty acids. Both of groups cause electrolyte leakage from plant tissues ,haemolysis of human and animal erythrocytes by forming oligomeric channels. Inhibition of the toxins on yeasts are affected by composition of membrane sterols. Cholesterol exhibited the highest protctio. A multi-enzymesystem is involved in synthesis of lipodepsipeptides which is regulated by regulatory proteins and induced by plant signal molecules especially phenolic glucosides. Those toxins showed antibiotic activity against fungi including human and animal pathogenic fungi without side effect and have potential medical use.

**Key words** *Pseudomonas syringae* pv. *Syringae* Lipodepsipeptides Anti-fungal activity Action mechanism Molecular biology ,Review