

出國報告（出國類別：學術交流）

第十三屆國際植物病原菌大會
The 13th International Conference
on Plant Pathogenic Bacteria

服務機關：國立中興大學 生化所

姓名職稱：周三和，講座教授兼所長

派赴國家：大陸北京及上海

出國期間：103年6月5日至103年6月17日

報告日期：103年7月29日

摘要

第十三屆國際植物病原菌大會為國際上對於植物病原菌最盛大的會議，為四年才舉辦一次的大會。本次大會講究理論及實際並重，所以出席者除了美、英、德、法及中國大陸等，一般已開發國家外，尚包括許多開發中及尚待開發國家，如：非洲肯亞、美洲哥倫比亞、亞洲菲律賓、越南、泰國、馬來西亞等。而下次2018年的會議亦已決定在非洲烏干達舉辦。本次大會分成四個主題舉行，即病原菌基因組及演化組、致病性及調控組、抗病及抗病因子組、及傳染、生態組等，可說涵蓋了植物病原菌研究的主要及重要課題。本次會議內容極為精采，本人在會議中可說獲益良多，同時本人也在本次會議中結交許多學者，並與他們協定一些共同研究的課題。

在到上海參加此一盛會以前，本人亦應邀至北京大陸中科院微生物所及北京大陸農科院植物保護研究所各給予一場演講，同時亦簽訂一些共同研究的課題。故此行可說收穫良多，對本人將來在十字花科黑腐病原菌方面的研究將有很大的啟發。

目次

目的	-----	(IV)
過程	-----	(IV)
心得與建議	-----	(VIII)
附錄	-----	(IX)

目的

本人執行教育部 5 年 500 億計畫係聚焦在 Xcc (十字花科黑腐病菌) 的有關重要蛋白的結構與功能研究—即從結構角度探討植物病原菌裡有關 c-di-GMP (環雙鳥糞, 嘍呤核苷酸), c-di-AMP (環雙腺, 嘍呤核苷酸) 及 cGMP (環單鳥糞, 嘍呤核苷酸) 的合成、分解及結合蛋白的結構與功能。而此一大會為國際級在植物病原菌的盛會, 與會人士包括世界已開發國家如美、英、德、法及中國大陸外, 尚包括許多開發中及尚待開發國, 如: 非洲肯亞、美洲哥倫比亞、亞洲菲律賓、越南、泰國、馬來西亞等。而值得一提的是, 台灣在十字花科黑腐病菌方面的研究在大老級如本校曾義雄及胡念台教授退休後, 已呈現勢微的現象, 台灣本土研究此一重要植物病原菌的人員只剩下數人而已。但在大陸則尚有許多研究集團聚焦在十字花科病原菌, 如北京中科院的錢韋、何成洋, 上海的陳功友及何亞文, 廣西的唐紀良及海南島的何超祖等人。而本人為教育部 5 年 500 億計畫擔任微生物部份的主持人之一, 有必要參與此一盛會, 並與大陸及世界各地人士交流。本人參與此次大會前, 亦曾赴北京中科院及農科院的微生物研究所及植物保護研究給予演講, 並敲定合作研究事宜。在上海的大會中, 亦與愛爾蘭的 Max Dow 及英國的 Robert Ryan 博士及大陸廣西的唐紀良博士會面, 並敲定十月底再至大陸廣西大學好好的協商如何更深入的從結構及功能的角度, 來研究十字花科黑腐病菌的致病機理。所以本次大陸的北京及上海之行已獲至預期效益或欲達成事項, 希望不久的將來能獲致世界最高級的研究成果。

過程

本人於 6/5 從桃園搭乘長榮航空前往北京。6/6、6/7 分別前往中國國家農學院及北京中科院微生物研究所訪問並給予演講。演講的主題為「從結構角度探討與環核苷酸有關的蛋白結構與功能」。由於這兩個中國最重要的農業研究機構並沒有結構生物學的專家, 所以本人以深入淺出的方式介紹結構生物學在最前沿的環單或環雙核苷酸的結構與功能研究, 並造成很大的迴響。其中在訪問中國農科院的何成洋研究員, 並與他的成員詳細討論有關 將來的合作事宜, 並與他們研究小組簽署一個簡單的合作協議, 以加強雙方的合作關係, 並希望能共同申請大陸的港澳台研究計畫。詳情請參閱附錄一。此一計畫要是能通過, 將來何教授的研究小組將可派遣一位博士後研究人員至台灣, 於本人實驗室學習如何利用 X-ray 晶體繞射技術或利用 NMR(核磁共振)技術研究雙方共同感到有興趣的研究課題。而在北京中科院的錢韋研究員時, 亦與予一同樣题目的演講。北京中科院

在過去幾年由於中陸經濟的高度發展及中央政府投入大量的研究經費，目前已遷移至奧運村附近，並大力添置高級研究設備及招聘人才。雖然中科院的生物物理研究所就在附近，並有極強的 X-ray 晶體繞射研究小組，但錢教授反而希望與本實驗室合作，因為我們研究課題較為相近。所以下午我們亦討論了一些可共同研究的課題。所以這二天的參訪及演講可說是收穫良多，不但展示了台灣在結構生物方面的研究實力，亦與這二個重要研究單位建立良好的合作關係。有關本人在此二機構的演講及交流照片請看附錄二。

6/8 本人則搭乘大陸的高鐵從北京前往上海，參加在上海交通大學舉辦的第十三屆國際植物病原菌大會。由於這是本人第一次搭乘大陸的高鐵系統，本以為大陸的高鐵速度應該很快，結果跟台灣的高鐵速度差不多，從北京到上海也花了將近六個小時左右。不過大陸的高鐵系統最近已貫穿大江南北，極為便利，可說相當進步。本次大會分成四個主題舉行，即病原菌基因組及演化組、致病性及調控組、抗病及抗病因子組、及傳染、生態組等，可說涵蓋了植物病原菌研究的主要及重要課題。本次會議內容極為精采，本人在會議中可說獲益良多。同時本人也在本次會議中結交許多學者，並與他們協定一些共同研究的課題。在此一大會中，來自愛爾蘭的 Dr. Max Dow 亦報導了一個新而且重要的 DSF（分散式信號因子）受體蛋白，突破了過去認為只有 RpfC（致病性因子調控蛋白 C）為分散式信號因子受體蛋白的概念，可說是細菌中信息傳遞的一大突破。我們雙方亦將就此新的分散式信號因子受體蛋白進行結構研究。本人的結構生物學在致病性及調控組及抗病及抗病因子組中可說是扮演重要的角色。而本次大會的另一特色為每天都撥出一些時間給貼海報的學生及博後有機會上台講述他們的工作。雖說每位只有短短的二分鐘，但是此一方式可訓練學生們如何在這麼短的時間內，用英文講出他們的研究成果，所以極為有趣。由於此次大會的四個主題散佈在會議期間，所以本人將於以下列出一些本人較感興趣，並可供參考研究的課題：

1. **病原菌基因組及演化組**：大會第一個演講主題由一荷蘭籍的教授講述他在植物的病原菌 38 年以來的回顧及展望。荷蘭為一重要的農業國家，其在植物病原菌的研究發展自然不在話下。而另一法國籍的學者則講述到植物與病原菌的武器競賽。此為一極有趣的課題，蓋因植物本身會因細菌本身特有的抗原，如鞭毛而使植物產生先天免疫現象以消滅細菌，但細菌則會利用所謂的第三型分泌機制將一些致病因子直接注射到植物細胞中。而這些細菌致病因子一旦進入植物細胞，會扮演各種不同的功能，如：酵素或轉譯因子以改變植物細胞的抵禦機制，使得植物病原菌得以在植物中存活。但植物經過長時間的演化，也會生成一些破壞致病因子的蛋白，從而再引起所謂致病因子引起的免疫功能失調。所以病原菌及植物細胞經過時間的

演化而產生的軍備競賽，可說是自然界一極為有趣的現象。但此一大會主題更有意思的是大陸廣西大學的唐紀良博士所建立的 Xcc 十字花科黑腐病菌大型突變株基因庫。唐教授在大陸廣西大學成立一大陸國家重點實驗室，專門研究 Xcc 的基因體學。此次，他們以極大手筆建立此一大型突變基因庫，對瞭解 Xcc 基因體中每個基因可能的功能可說非常重要。而唐教授也是本人與英國及韓國的國際合作計畫中的成員，將來我們就可利用此一基因庫，研究在 Xcc 中較為特殊的蛋白的功能與結構。另一講題本人感興趣的是黑腐病菌中的非轉譯小 RNA（小核糖核酸）分子的鑑定。目前世界上 sRNA(小核糖核酸分子)的研究可說如火如荼，因為它們扮演極重要的基因調控角色。故此一報告對我們的研究 Xcc 的 sRNA 有很大的幫助。

2. **致病性及調控組**：此一主題可說是本人最感興趣的題目，蓋因結構生物學在此一主題扮演很重要的角色。首先一位美國教授談到在 *Pseudomonas syringae*（假單胞菌屬）中所有的 T3SS effectors（第三型分泌機制調控子），及它們可能的作用標的、作用及在抑制植物免疫的關係。其次一位華裔教授（為本校校友，目前在美國威斯康辛大學服務）談到有關小分子的大作用。這些小分子，如：環雙鳥糞、嘌呤核苷酸及小核糖核酸，已被發現在致病菌中扮演極重要的調控角色。有關環雙鳥糞、嘌呤核苷酸的結構及功能已是本實驗室研究的主軸，所以楊教授在這方面的研究本人已非常熟悉。但楊教授發現 sRNA 可調控第三型分泌機制調控子的合成，則有其重要性。而在此一主題中，本人最感興趣的題目，則為愛爾蘭的 Dr. Max Dow 有關 Rpf/DSF(致病性因子調控蛋白/分散式信號因子)系統的報告。Rpf/DSF 系統為 Xcc 細菌之門群眾信息傳導最重要的一環，在過去已被充份的研究。一般都認為細菌利用 RpfF 蛋白合成 DSF（分散式信號因子）蛋白，再分泌至胞外，並與 RpfC（致病性因子調控蛋白 C）膜蛋白結合，來偵測細菌的群聚現象。而這個訊息則傳至 RpfG（致病性因子調控蛋白 G）來分解環雙鳥糞、嘌呤核苷酸，造成 Xcc 的致病性。但是 Dr. Dow 在最近發現此一信息傳遞並非只有一條路徑。他的研究發現事實上 DSF 的結合可能有額外的途徑，如 RpfS（致病性因子調控蛋白 S），而此一蛋白的 N-端集團被發現與 DSF 有極強的結合能力。同時 RpfC 也可能辨識其它環境中的信號（不只是 DSF 而已！）。故 Dr. Dow 發現 Xcc 細菌中的信息傳遞並非為單一路徑，而是多信號多途徑的平行傳導。此一發現可說是極為重要。在 Dr. Dow 講完後，我們就馬上談妥合作的可能。我們計畫將解析十字花科黑腐病菌 RpfS 的 N-端集團與 DSF 的複合體結構。此一計畫要是成功，將是第一個 DSF 受體結構，可說具極大重要性。而 Dr. Ryan 的博士後 Dr. An（一位從大陸

到英國留學的學生，同時也是與本人一起發表論文的合作者）也談到了環單鳥糞、嘌呤核苷酸的合成酵素及其與環單鳥糞、嘌呤核苷酸受體蛋白的關係。在此一主題中，也有學者談到 PrhG（致病過敏因子 G）為 HrpG（過敏及致病性因子 G）的同源體（72%相似度）含有一約額外 50 胺基酸的片斷，可以與其它區域結合來抑制原有的 HrpG 蛋白的功能。而當作者把此一片斷移除時，就可發現這類特殊 PrhG 蛋白具一般 HrpG 蛋白功能。所以這類 HrpG 蛋白似乎在被抑制狀態中，可能只有當它與未知的 ligand（配子）結合時，才能造成 PrhG 蛋白構型改變，使它被活化。而此一主題的壁報中，亦有一些非常有趣的結果，可用結構生物學的方法加強解釋。如大陸上海交大的一研究小組發現一含多 Ala（丙氨酸）胺基酸的膜蛋白，對於細菌的 T3SS（第三型分泌機制）有多功能的影響。此一發現令本人非常興奮，主要為這是一個非常特殊的膜蛋白，它含有超過 1/3 以上的丙氨酸，而這些丙氨酸在一些類似的序列中都是高度保留。更重要的是，此類膜蛋白亦含有很多 Asp（天冬氨酸）及 Glu（谷氨酸），在可能的膜蛋白迴紋區，並且可能與銅離子結合，或與另一重要的 HrpB2（過敏及致病性因子 B2）蛋白結合，來影響此一病原菌的第三型分泌機制。所以從結構生物學的角度來看，此類蛋白（AOMP, Ala-rich outer membrane protein, 富含谷氨酸的外膜蛋白）實在是非常精彩。要是能將此類蛋白結構解出來，並瞭解它對細菌 T3SS 的影響，將是一個非常有意義的工作。本人已與大陸上海交大教授陳功友（本屆大會主席）談妥，共同合作研究此一非常特殊的膜蛋白結構與功能。而陳功友教授研究小組另外一個發現為 HrcT（過敏控制因子 T）為主要調控 HrpX（過敏及致病性因子 X）及 HrpG（過敏及致病性因子 G）蛋白的上游調控因子。由於 HrpX 及 HrpG 蛋白結構目前都還沒被解析出（可能由於含有無結構序列區域，不易結晶的關係），故 HrcT 與 HrpX 及 HrpG 蛋白的結構將可利用 NMR（核磁共振）來完成它們的解析。另外一個有意思的壁報為 RaxST（硫酸根轉遞信號傳遞系統因子 ST）的 two component transduction system（二信號因子傳遞系統）。它與一般二信號因子傳遞系統不同的是，它負責傳遞硫酸根，而非磷酸根。在 Xoo（稻米白熱病菌）中居然有如此特別的硫酸根傳遞系統，實在是一個很值得研究的項目。

3. **致病性及調控組**：目前世界對此一主題的研究也非常積極，也想找出這些致病因子如何影響寄主而導致疾病的發生。這個領域最近最重要的發現大概是所謂的 TAL（轉譯因子類似蛋白）因子。它為一轉譯活化類似因子，但與一般的轉譯因子不同。此種因子一般都含有從 17-35 個重複胺基酸序列，而每一重複胺基酸序列可辨識二個核苷酸，故此種轉譯活化類似因子

可辨識約 20-40 不同的核苷酸序列。而這些轉譯因子類似蛋白最近也被發展可以用來做專一性的基因組辨識，並做專一性的雙股核酸剪切，進而專一性的改變基因組的任一序列。另外一大類致病因子為 Avr（非致病性）蛋白。在此一主題中，美國一位科學家發現在 Xc（黃單胞菌）中，AvrRxo1（非致病性 Rxo1 因子）可與一個 chaperon Arc1（伴護子 Arc1）結合，而二者的作用卻類似細菌的 Toxin-Antitoxin（毒性-抗毒性）系統，相當有趣。同時，大會亦安排了一個在上海的生技公司，講述如何利用最先進的單分子定序系統，將一般不易完成全序列的細菌基因組順利組裝完成。細菌的基因組中常含有不同程度的重複核酸序列，造成基因組無法完全組裝起來。由於單分子定序系統（此一公司與美國公司合作）可一次定序幾千個核酸序列，故可大幅減少 Gap（基因空隙）的產生。此一講員講述如何利用 NGS（下世代基因定序）技術，順利完成 35 個細菌的基因組的完全序列。本人目前亦在定序一個 Xcc 的基因組，雖然已與很多國內學者合作，目前亦還是含有二個大的 Gap 無法補齊。但此一定序費用將花費新台幣 25 萬元左右，所以尚無法決定是否需要利用此一方式來完成此一 Xcc 的全基因序列。不過參與此種會議可獲得最先進的定序技術也是另一個有價值之處。

大會的第四個主題為與細菌的分類或生態有關。由於此一主題與本的專長較無關聯，故本人在此不予闡述。

心得及建議

本次大會在上海的一會議中心舉行，會議主辦單位為上海交通大學生科院的陳功友教授。陳教授可說極為負責與熱心，使得大會極為成功。本人在此大會亦學習到許多先進知識，並與一些國內外教授談妥可資合作研究的項目，故非常滿意此次大陸之行。有關這次大陸之行的資料附錄於以下。

附錄

一、與中國農業科學院的協議書

Scientific Research Collaboration Agreement

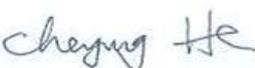
between Dr. Shan-Ho Chou, Agricultural Biotechnology Center, National Chung Hsing University and Dr. Chenyang He, Institute of Plant Protection, Chinese Academy of Agricultural Sciences

Dr. Shan-Ho Chou, the professor of Agricultural Biotechnology Center, National Chung Hsing University and Dr. Chenyang He, the professor of Institute of Plant Protection, Chinese Academy of Agricultural Sciences, have agreed to develop and implement the scientific collaboration and joint research projects in both laboratories within next five years (June 2014-June 2019).

We share the common research interests of both sides: the elucidation of molecular mechanism of virulence regulation by c-di-GMP signaling pathways and resolution of the crystal structure of the c-di-GMP/receptor/interacting protein complex of *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*. Based on such overlapping interests, we will present joint research proposals to get the funds from various funding resources, such as ISTCP (International Science & Technology Cooperation Program of China) and others. In addition, we will submit detailed plans including mutual visits, seminars and workshops, exchange and sharing of scientific ideas and materials, and development of joint partnership for collaborative researches. We are targeting the higher level publications to be shared by both sides during the scientific research collaboration.

We are anticipating to establish and develop a stable, long-term and reliable scientific and technological cooperation, to provide the training and opportunity for young scientists, researchers and students getting involved in this activity.

Dr. Shan-Ho Chou  June 6, 2014

Dr. Chenyang He  June 6, 2014

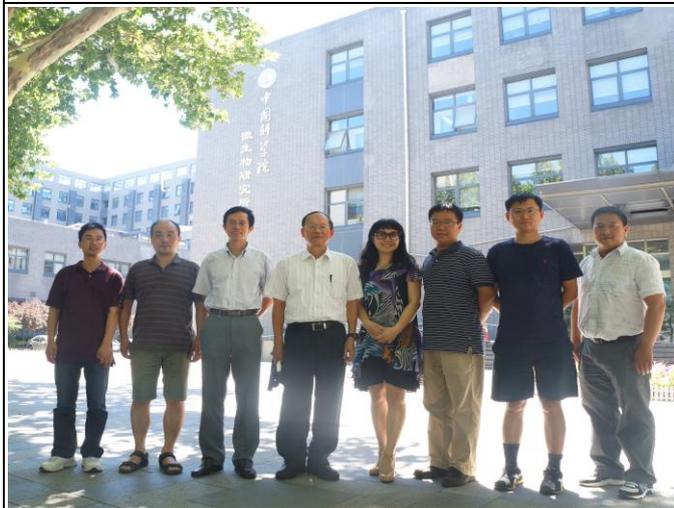
二、活動照片



在中國農業科學院的演講



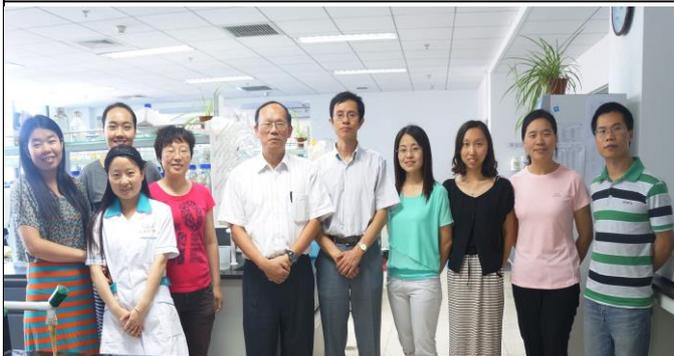
在中國農業科學院的演講



在中科院微生物研究所的演講



攝於上海第十三屆國際植物病原菌大會



在中科院微生物研究所的演講