



植物微生物互作分子生物学实验室

Lab of Plant & Microbe Interactions Molecular Biology

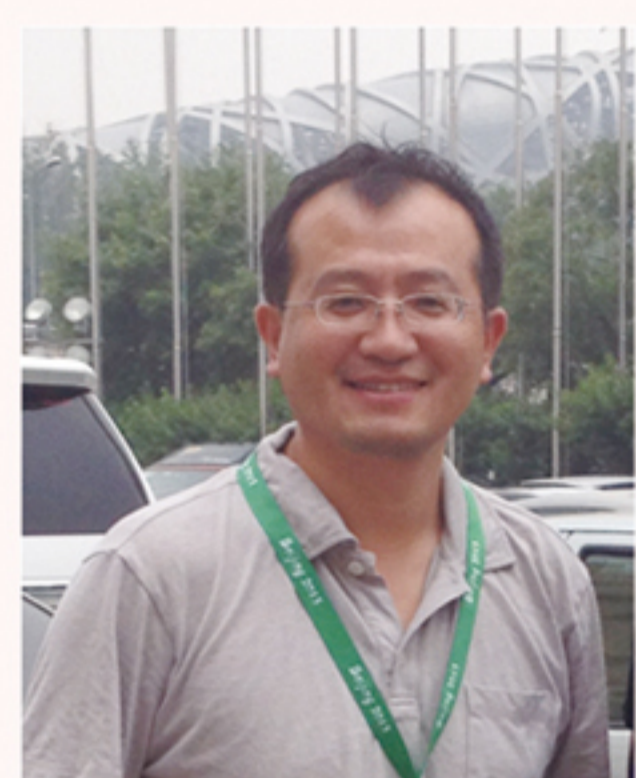
实验室简介

植物与微生物互作分子生物学实验室成立于2012年，是以江苏省特聘教授/长江客座教授金海翎教授牵头，赵弘巍教授和牛冬冬博士为骨干的研究团队，致力于植物与微生物互作分子机理的相关研究。目标是使用生化和分子生物学手段，以水稻和拟南芥等重要模式生物为对象，研究小分子RNA和其它非编码RNA对植物与微生物相互作用的调控，发现和鉴定关键的功能原件和信号通路，加深对植物与微生物互作过程中信号转导机制的认识，为开发新型植物病害防控技术和手段提供理论支持。

团队成员



金海翎 教授 博士生导师
长江学者奖励计划讲座教授
江苏省高层次创新创业引进人才
江苏特聘教授



赵弘巍 教授
博士生导师



牛冬冬 讲师



前排左起：卢唯、聂萍萍、王秀娟、李夏、王琳；中间：齐贝贝、宋晓欧、赵弘巍、王招云、汪顺娥、王彦如；后排：邱智涛、张鑫、乔露露、王建升、于东立

主要研究内容

本研究团队以满足国家和江苏省重要植物病害防控的科学前沿和技术需求为导向，瞄准不同病原菌与寄主互作过程中存在的共性科学问题，利用模式植物拟南芥及主要农作物水稻等为系统，研究植物防卫信号的产生和传导，以及植物小分子RNA介导的基因沉默对植物免疫的调控功能，在分子水平上解释植物对病原细菌、真菌和其它微生物的防御机制。研究内容包括：

水稻小分子RNA对稻瘟病抗性的调控：鉴定影响水稻稻瘟病抗性的小分子RNA及其靶标分子；分析小分子RNA参与的免疫调控途径；确定参与免疫调控的关键沉默因子；建立小分子RNA调控植物自身免疫的生物模型。

小分子RNA在蜡质芽孢杆菌诱导抗病中的机理研究：以蜡质芽孢杆菌AR156与拟南芥互作系统为对象，研究小分子RNA在AR156生物防治作用中的靶标基因，调控的信号通路以及调控过程中的关键生物原件，开发高效环保的生物防治手段和措施。

质膜蛋白磷酸化在稻瘟病抗性中的作用：通过免疫沉淀法富集磷酸化肽段，考察在稻瘟菌侵染过程中磷酸化修饰发生变化的质膜蛋白，确定其磷酸化位点，磷酸化修饰和活性之间的关系，以及鉴定其互作伙伴等，阐述稻瘟病侵染信号感受和传递机理。

承担的主要科研项目

- 长江讲座教授（2012；金海翎/主持）
- 江苏特聘教授（2012；金海翎/主持）
- 江苏省双创计划（2013-2016；金海翎/主持）
- 国家自然科学基金（小分子RNA在蜡质芽孢杆菌诱导抗病中的调节作用；项目编号：31228018；2013-2014；金海翎/主持）
- 教育部博士点基金（水稻质膜蛋白磷酸化在稻瘟菌侵染过程中作用研究；项目编号：B0201300664；2014-2016；赵弘巍/主持）
- 江苏省基础研究计划（自然科学基金）-面上研究项目（水稻基因沉默因子在水稻稻瘟病抗性中的作用研究；项目编号：BK20141360；2014-2017；赵弘巍/主持）
- 中央高校基本科研业务费重点项目（主要作物与重大有害生物互作及调控；项目编号：020-6J0926；2014-2016；赵弘巍/参加）

代表性研究论文

- Niu D., Wang Z., Wang S., Qiao L., and Zhao H*. (2013) Profiling of small RNA involved in plant-pathogen interaction. In K. Mysore eds, Plant Gene Silencing: Methods in Molecular Biology, Humana Press, NY (Accepted)
- Weiberg A., Wang M., Lin F., Zhao H., Zhang Z., Kaloshian I., Huang H., Jin H*. (2013) Fungal Small RNAs Suppress Plant Immunity by Hijacking Host RNA Interference Pathways. Science 342, 118 (IF: 31.20)
- Zhao H., Sun R., Padmanabhan C., Albrecht U., Albano J. P., Wang A., Girke T., Wang Z., Close T., Roose M., Vadalakis G., Yokomi R. K., Rouse R., Bowman K. D., and Jin H*. (2013) Small RNA profiling reveals phosphorus deficiency as a contributing factor in symptom expression for citrus Huanglongbing disease. Molecular Plant 6(2): 301-10 (IF: 5.55)
- Zhang X, Zhao H#, Gao S, Wang W, Katiyar-Agarwal S, Huang H, Raikhel N, and Jin H* (2011) Arabidopsis argonaute 2 regulates innate immunity via miRNA393b*-mediated silencing of a Golgi-localized SNARE gene, MEMB12. Molecular Cell. 42(3) 356-366. (# Co-first author; IF: 14.19)



植物微生物互作分子生物学实验室

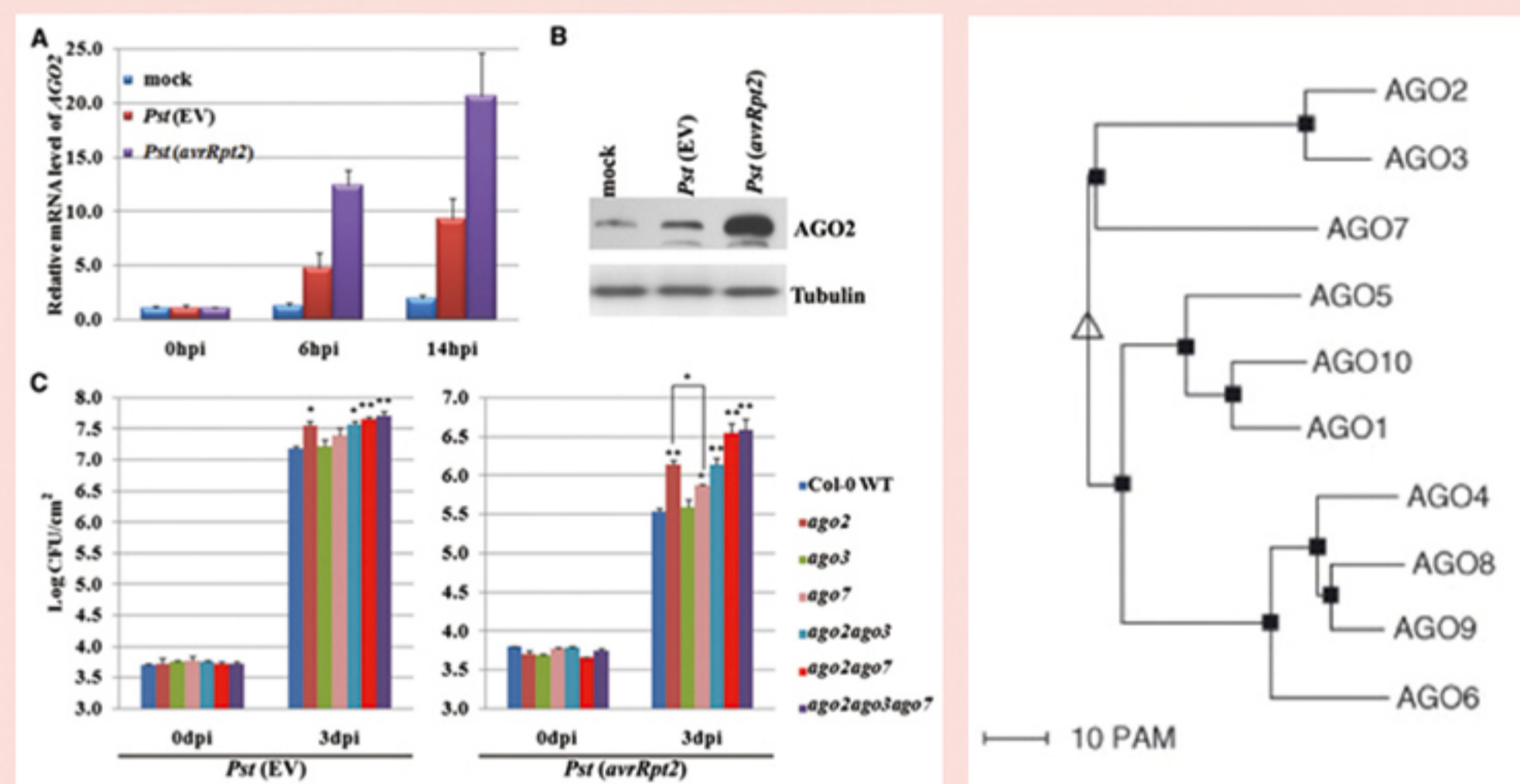
Lab of Plant & Microbe Interactions Molecular Biology

Small RNA 在植物内源免疫中的作用

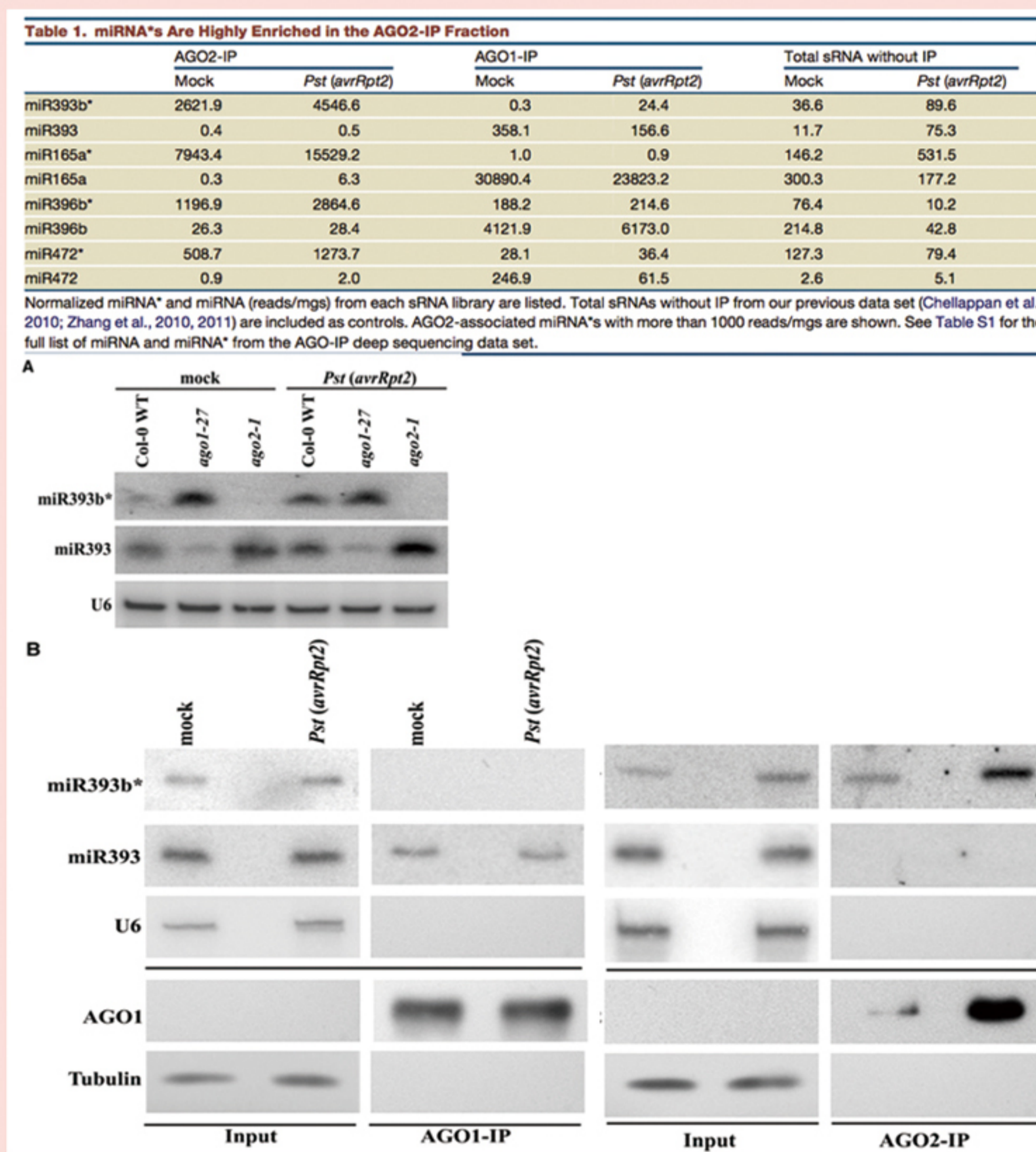
small RNA (sRNA)介导的基因沉默在动物和植物免疫调控系统中起着重要作用。本实验室主要致力于阐明sRNA在植物抗细菌和真菌侵染过程中的作用及其分子生物学机理。以拟南芥、番茄、及柑橘为系统，我们对sRNA在植物内源免疫不同层次(PTI&ETI)的调控进行了研究，并对sRNA在柑橘黄龙病的发病及抗病响应进行了深入分析。

我们在拟南芥中的研究表明，植物sRNA基因沉默的重要因子，Argonaute2(AGO2)，受细菌性病原菌*Pseudomonas syringae* pv. *tomato* (*Pst*)的特异诱导。免疫共沉淀数据表明，microRNA 393b-star (miR393b*)和AGO2高度富集，而非如以前理论认为其被降解而无生物功能。分析显示，miR393b*特异性的靶标是一个Golgi体定位的SNARE蛋白，MEMB12。AGO2通过调节特定抗性相关蛋白的外运而在植物抗细菌病原菌免疫过程中发挥作用。这与AGO1通过调节miR393介导的乙烯信号通路相结合，构成了一个相互协作的植物细菌免疫精细调节系统。

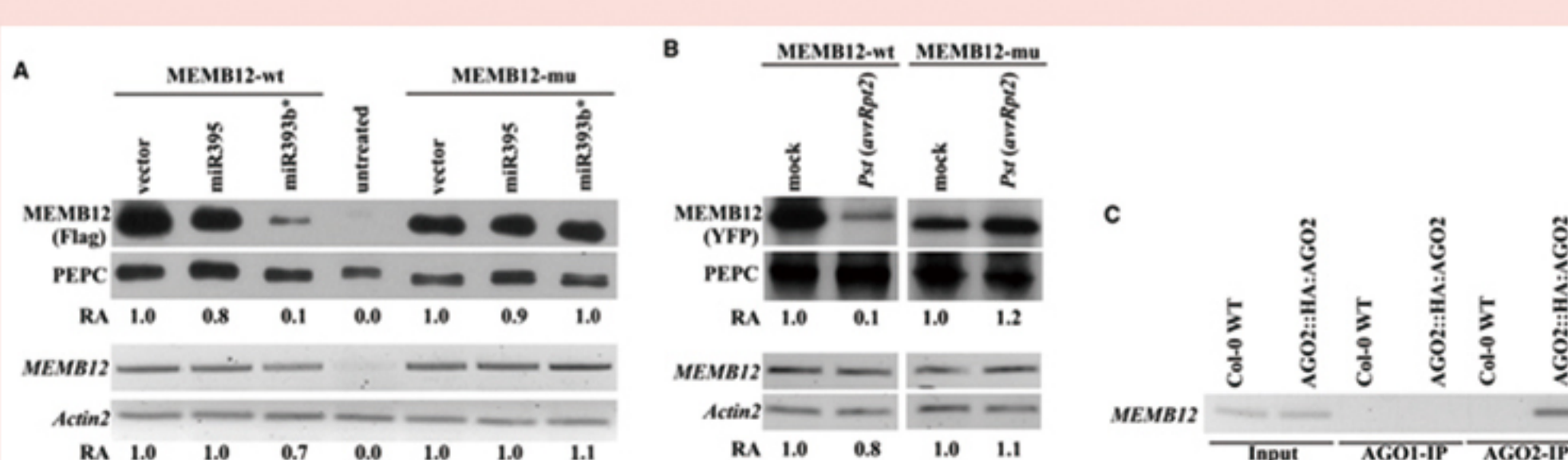
1. AGO2特异性的受病原细菌诱导



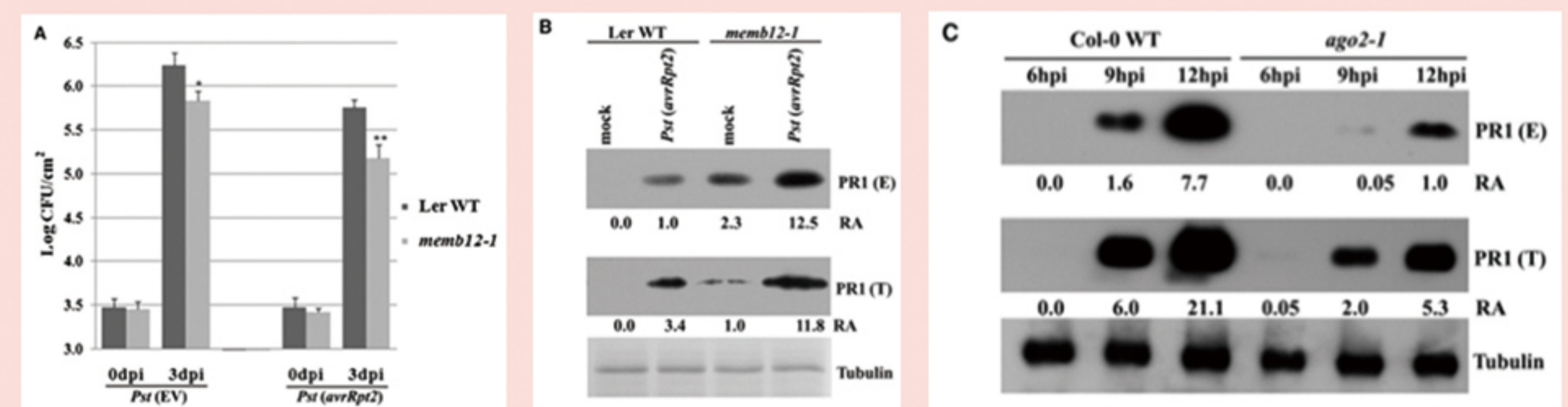
2. AGO2 特异性的富集miR393b*



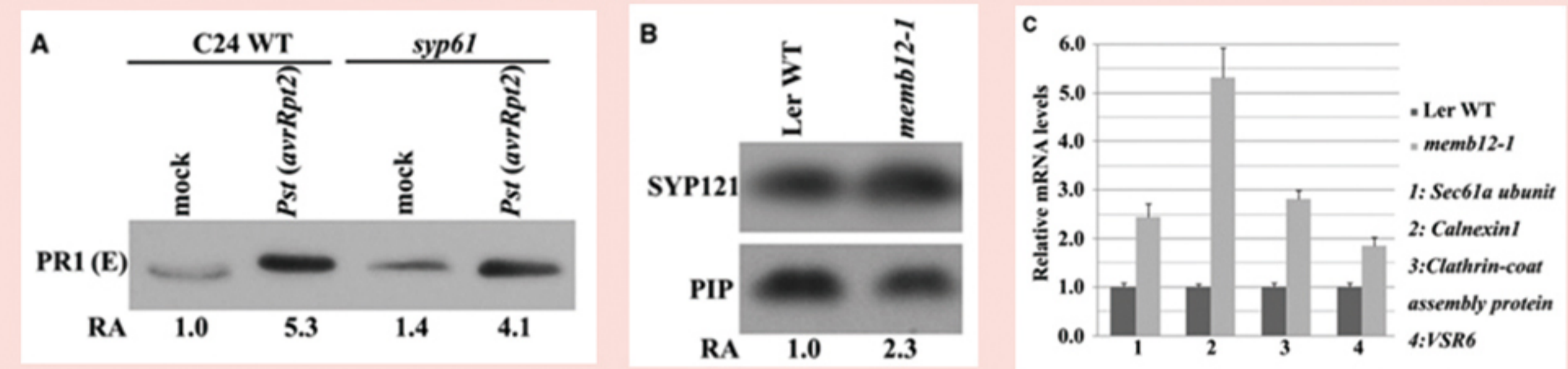
3. miR393b* 靶标MEMB12, 一个SNARE蛋白基因



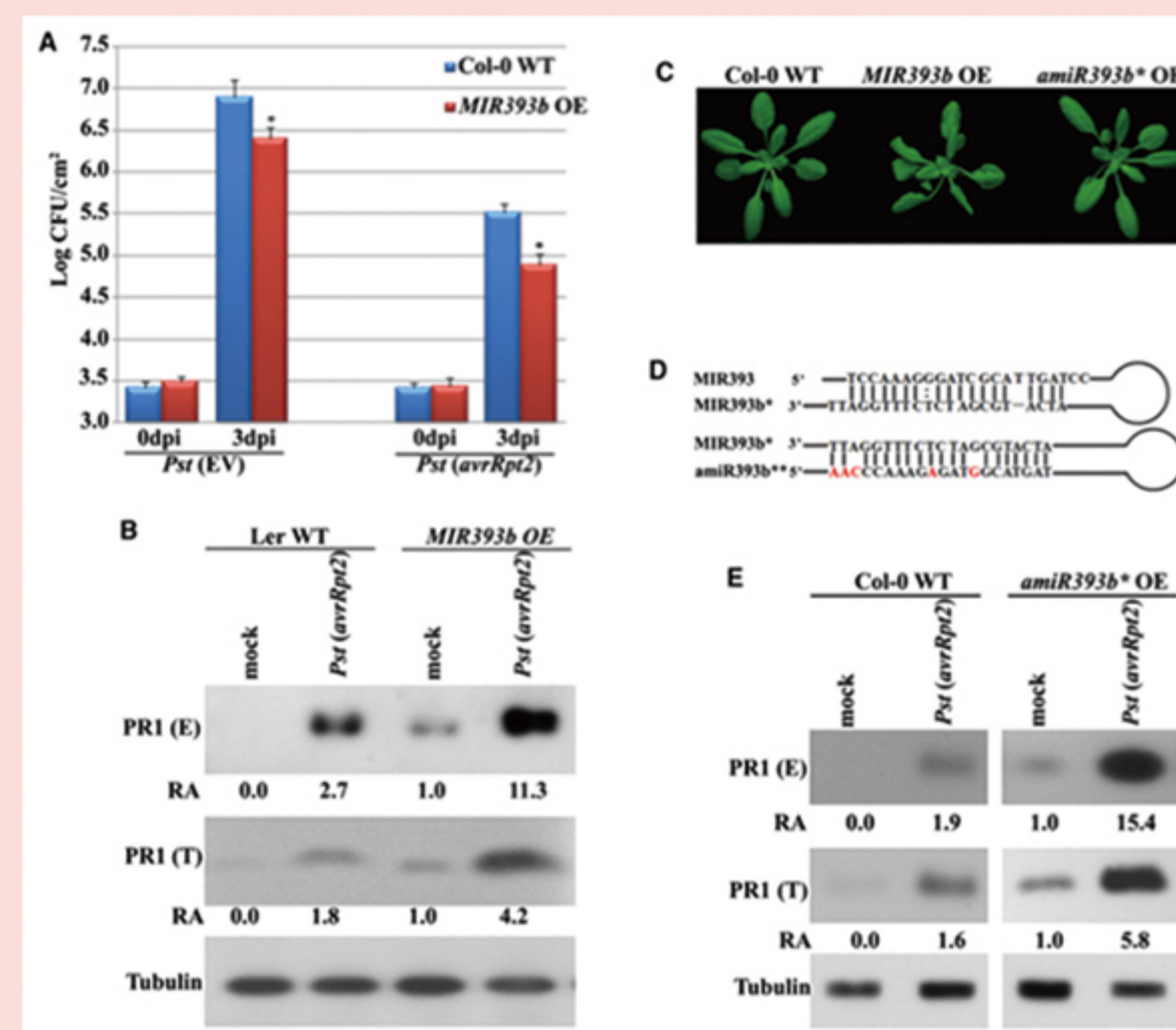
4. MEMB12突变导致抗感表型，并促进PR1蛋白外运



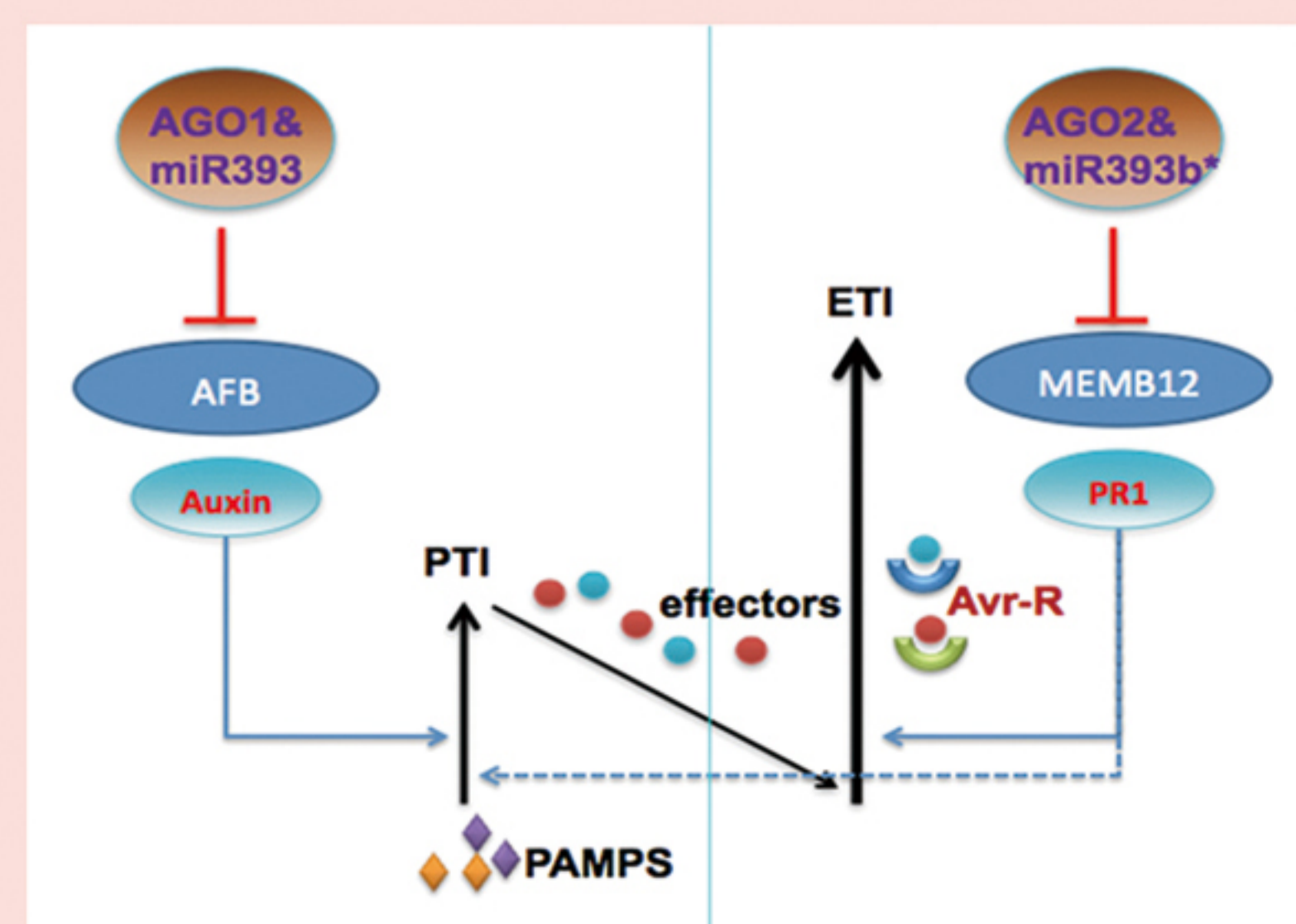
5. MEMB12特异性的调控PR1蛋白外运



6. miR393b* 过表达与memB12-1植株具有相似抗感表型



7. miR393/393b*协同免疫系统





植物微生物互作分子生物学实验室

Lab of Plant & Microbe Interactions Molecular Biology

Small RNA 在植物内源免疫中的作用

柑橘黄龙病是一种由细菌性病原菌“*Candidatus Liberibacter*” (*Ca. L.*) 引起的病害，在世界范围内影响柑橘产业。急需开发黄龙病快速诊断试剂以及采取有效的控制手段。研究表明，sRNA在宿主免疫系统中参与调节作用，并在临床上用来作为癌症早期诊断指标。经过对健康及*Ca. L.* 侵染的柑橘(*Citrus sinensis*) sRNA进行比对，我们发现许多sRNA(包括miRNA和small interfering RNA[siRNA])在受到侵染的柑橘中特异性地上调或下调。其中有特别意义的是miR399，一个在无机磷转运中起调节作用的miRNA，揭示了植物体内磷代谢和黄龙病的潜在联系。我们的数据显示，在黄龙病阳性植株体内，无机磷比阴性对照组低35%。体外施加无机磷肥料，可以有效地缓解黄龙病症状，并增加感病植株果实产量。我们的分子生物学、生理学、以及田间实验结果显示无机磷代谢和黄龙病相关联。此外，我们还鉴定了一批siRNA,可以用来开发成为黄龙病早期鉴定的分子标记，具有潜在市场价值。

1. 柑橘sRNA测序结果

	Healthy 10 wpi		HLB-positive 10 wpi		Healthy 14 wpi		HLB-positive 14 wpi		All libraries	
	Total	Unique	Total	Unique	Total	Unique	Total	Unique	Total	Unique
Raw sequences	810341	427224	833604	380915	909208	382251	831306	363150	3384459	590736
>=18nt & <=28nt	759061	357327	748328	365001	774328	359978	763231	345720	3044948	483833
Citrus sequences	464627	164133	459236	162134	530049	208571	468624	165325	1922536	225116
Citrus sRNA (citrus sequence - rRNA, tRNA, snRNA, and snoRNA)	312314	135820	308961	134242	449136	185372	315140	136862	1385551	187908
Citrus miRNAs	80942	3960	168556	6982	97588	4138	176597	5832	523683	8398
Citrus siRNAs	231372	131860	140405	127260	351548	181234	138543	131030	861868	179510

Table. *C. sinensis* small RNA information. Deep-sequencing results from four *Citrus sinensis* small RNA libraries are summarized. Both total and unique reads from raw sequence (total reads), *C. sinensis* sRNAs (reads aligned to citrus EST Uniset database), and miRNAs and siRNAs (citrus sequences subtract RNAs reads such as rRNA, tRNA, snRNA, and snoRNA) are presented. wpi: weeks post-inoculation.

2. 受黄龙病侵染影响的miRNA(左)和siRNA(右)

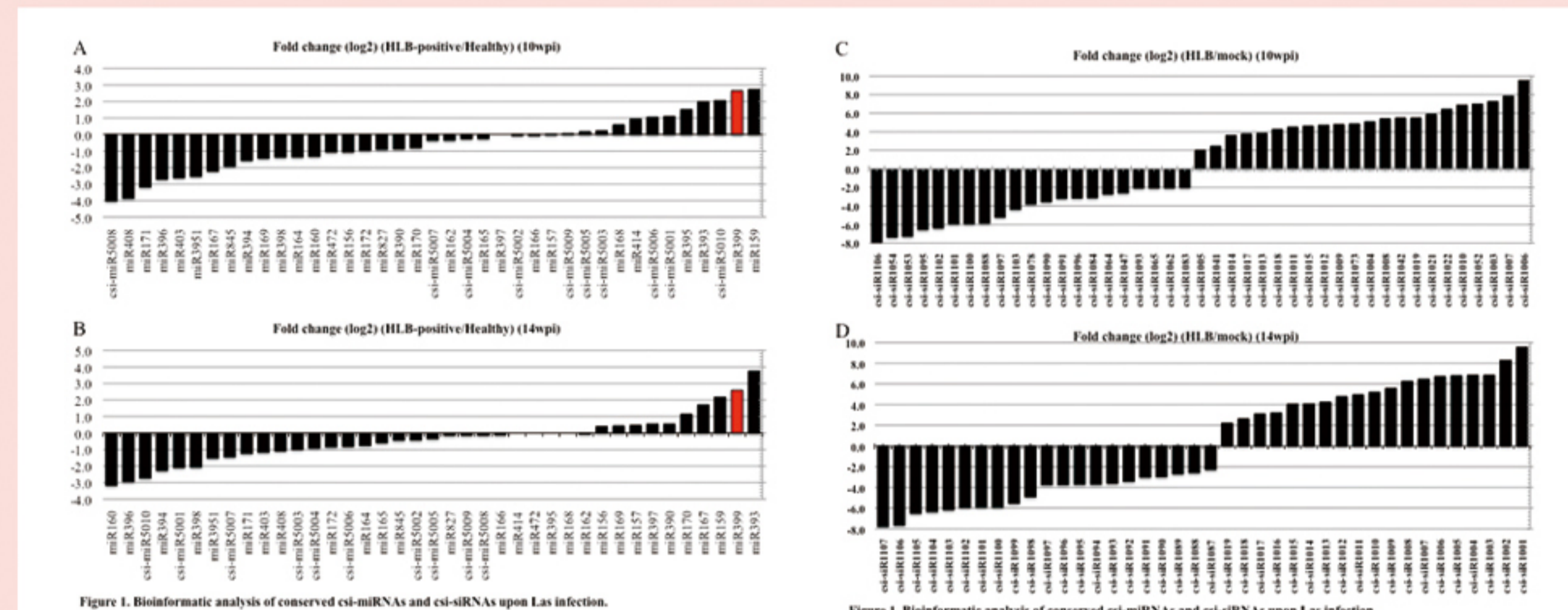


Figure 1. Bioinformatic analysis of conserved miRNAs and siRNAs upon Las infection.

2. 黄龙病对柑橘miRNA的特意影响

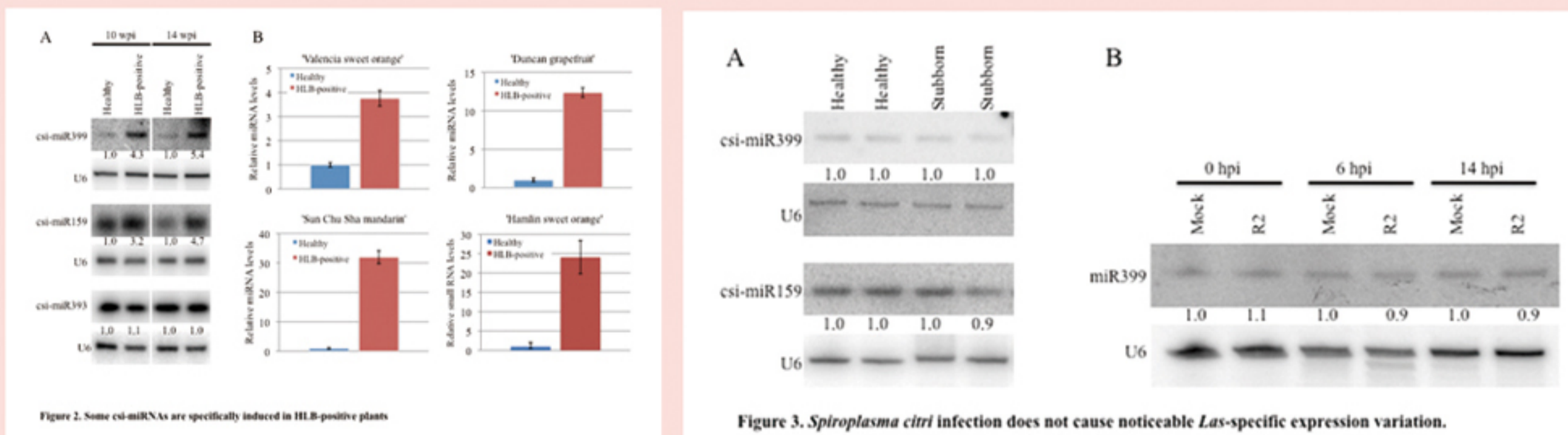


Figure 2. Some miRNAs are specifically induced in HLB positive plants.

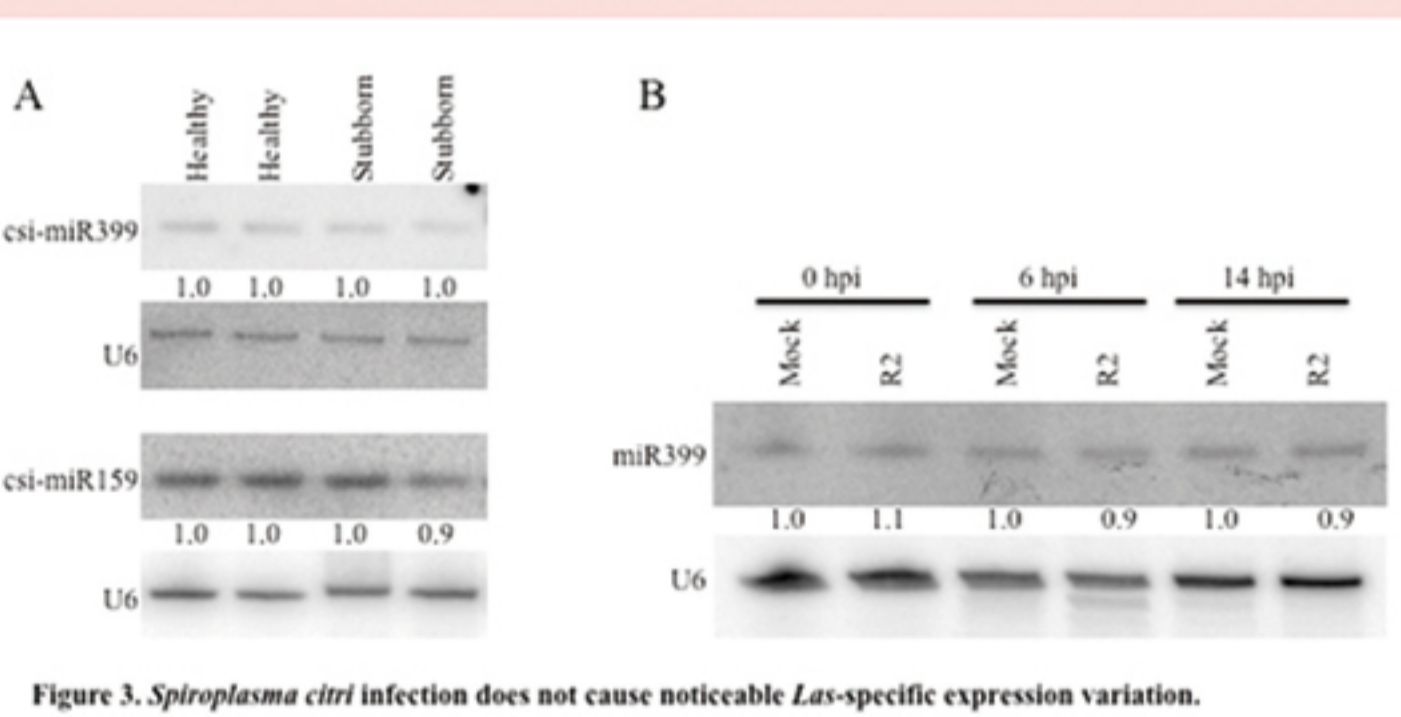
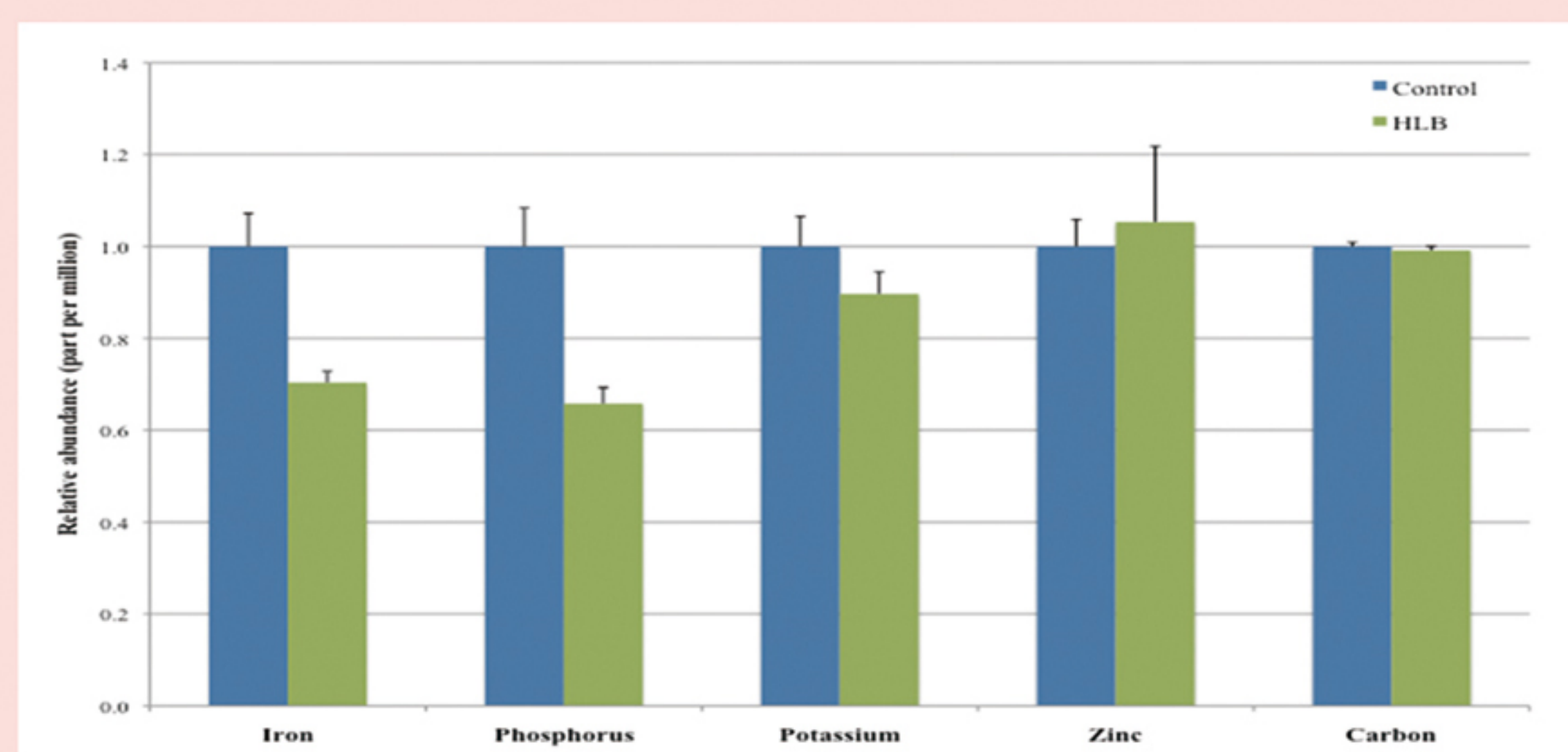


Figure 3. *Spiroplasma citri* infection does not cause noticeable Las-specific expression variation.

3. 黄龙病影响柑橘无机磷积累



4. 体外施磷缓解黄龙病症状，增加果实产量

