南京農業大學 Nanjing Agricultural University 植物保护学院

植物与疫霉互作实验室
Lab of Plant-Phytophthora Interactions

实验室概况

实验室主要以丝状病原菌（卵菌和真菌）与植物的互作体系为对象，综合利用现代生命科学技术手段，通过与国内外高水平实验室合作，研究重要植物病原菌的致病成灾规律，植物抗病性的机制与利用途径，在理论上做出同行认可的基础研究成果，在应用上为相关病害控制提供轻简化技术和方案。

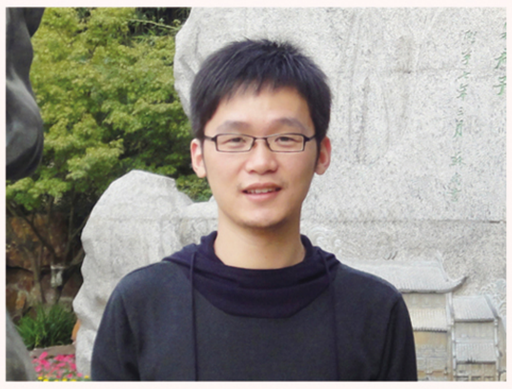
实验室现有教授1人，讲师1人和博士后3人，近5年承担国家转基因重大专项，自然科学基金和江苏省杰出青年基金等项目十余个，已在Nature Communications, Cell Host and Microbe等学术刊物上发表论文30余篇。

团队负责人及团队成员

窦道龙 教授

张美祥 博士

闫强 博士



沈丹宇 博士

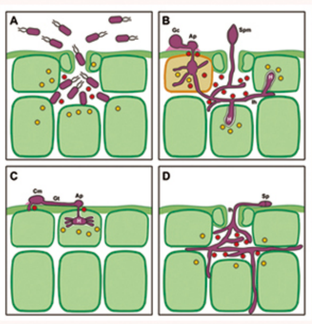
实验室部分成员合影

南京農業大學 Nanjing Agricultural University 植物保护学院

植物与疫霉互作实验室
Lab of Plant-Phytophthora Interactions

主要研究内容

病原菌在侵染植物过程中产生大量的分泌蛋白，在寄主细胞外或直接进入胞内干扰植物的防卫反应，促进其侵染，我们将这类蛋白称为效应子。本实验室以重要植物病原卵菌和真菌的效应子为切入点，围绕效应子的转运、抑制和诱导植物防卫反应的机制三个方向开展研究，以期揭示卵菌、真菌与寄主植物互作的分子基础，开发卵菌和真菌病害防控有效途径与技术手段。



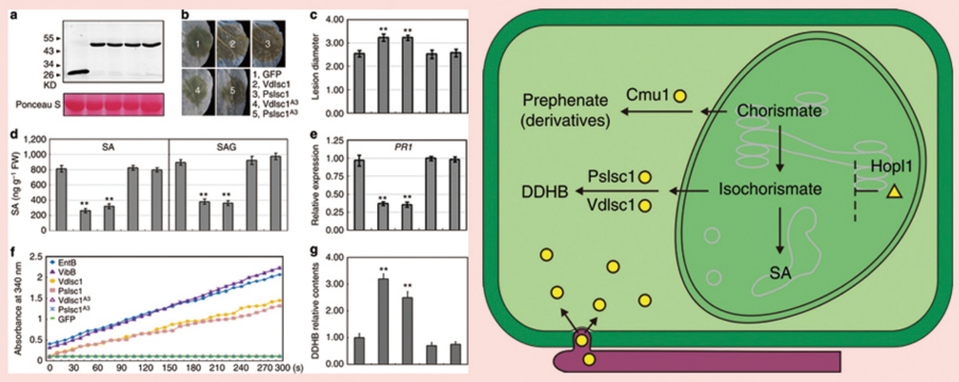
不同病原菌的侵染和效应子作用模型

Cell Host & Microbe

1.病原卵菌和真菌非典型分泌效应子

从大豆疫霉菌和棉花黄萎菌中鉴定了一组功能保守的效应子，发现他们在寄主细胞内作为异分支酸水解酶降解植物水杨酸合成的前体，从而抑制植物水杨酸的积累，降低植物的防卫反应，促进病原菌的侵染。同时发现这类效应子的分泌途径与已知效应子完全不同，是一种全新的分泌机制。研究结果从理论上解释了在协同进化过程中病原菌攻击寄主的分子机制，为病原菌新型效应子鉴定和无毒基因克隆提供了新思路（Liu et al., Nature Communications, 2014）。

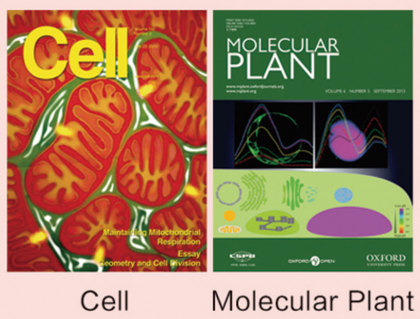
Nature Communications



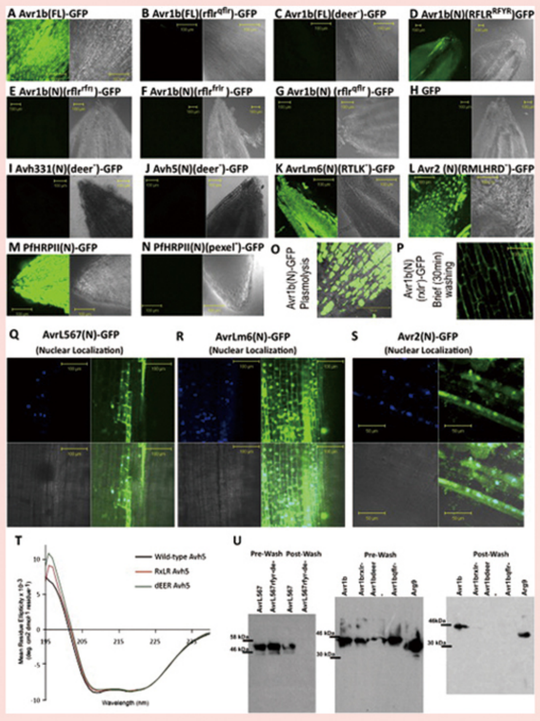
卵菌和真菌非典型分泌效应因子干扰寄主水杨酸合成

2. 卵菌效应子的转运机制

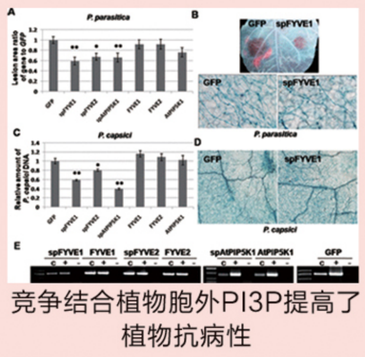
发现了卵菌效应子向寄主胞内转运的新机制，证明效应子中的保守序列结构元件不需要病原菌系统的辅助,本身就能介导蛋白质的跨寄主胞膜转运(Dou et al., Plant Cell, 2008a)。认为卵菌效应子的序列元件与磷脂酰肌醇激酶类似，富含电荷的氨基酸较多，其受体可能都是磷脂酰肌醇（Kale, et al., Cell, 2010）。随后系统研究了大豆疫霉菌三磷酰肌醇（PI3P）的功能，发现PI3P是一种新的致病因子，给该化合物的生物学功能提供一个新的线索，发现疫霉侵染过程中能产生PI3P，为卵菌效应子与PI3P结合提供了有力的遗传学证据，重要的是发现在植物中表达PI3P特异结合分子或分解酶能提高植物抗性，为植物抗病育种提供了一个新的思路（Lu et al., Molecular Plant, 2013）。



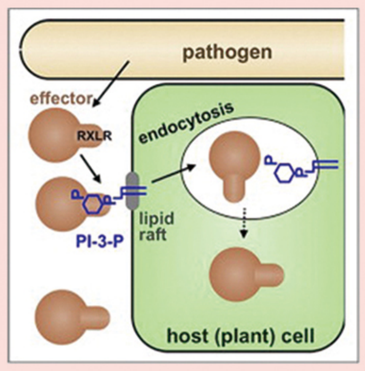
Cell　　Molecular Plant



真核病原菌效应子的转运机制



竞争结合植物胞外PI3P提高了植物抗病性

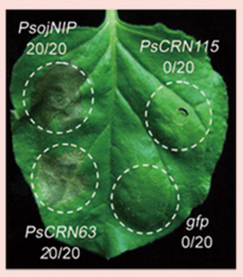


真核病原菌效应子的转运模型

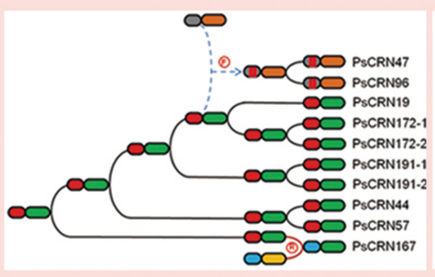
3. 卵菌效应子调控寄主细胞死亡机理

较早提出并系统证明了卵菌效应子具有调控寄主细胞程序化死亡活性的观点，深入认识了病原菌效应子与寄主细胞死亡的关系(Dou et al., Plant Cell, 2008b)。基于多数疫霉菌为半活体营养型病原菌的特点，认为效应子是抑制和诱导细胞死亡的主要活性物质，由于这两个相反的进化方向，驱使效应子在卵菌中的数量扩张，该设想从理论上解释了卵菌效应子数量众多的进化原因和动力，也对研究其它半活体或活体营养型病原菌的致病机制具有借鉴意义(Dou & Zhou,Cell Host Microbe, 2012)，并在大豆疫霉上进行了系统研究与证明，发现由于基因组重组和复制是效应子数量扩张的主要原因，分析了效应子进化与功能的关系(Shen et al.,Plos One, 2013)。鉴定了两个致病关键效应子，发现它们转录下降后，能显著降低病原菌的致病性,揭示它们在调控植物细胞死亡上具有相反的活性 (Liu et al., Plant Physiology,2011)，最近研究表明这两个效应子都能通过与植物过氧化氢分解酶互作，进一步来调控细胞死亡。

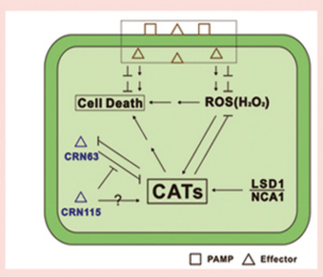
Plant Physiology



大豆疫霉菌两个致病必需的效应子



大豆疫霉菌效应子的进化模型



大豆疫霉菌两个效应子通过与植物过氧化氢分解酶互作调控细胞死亡

4. 大豆疫霉菌无毒基因克隆

寄主植物的免疫系统有时会识别病原菌效应子，诱导植物的免疫反应，这类效应子也就是无毒蛋白，其编码基因传统上被称为无毒基因。我们克隆了*Avr4*、*Avr6* (Dou et al., MPMI, 2010)和*Avr1k* (Song et al., MPMI， 2013) 3个无毒基因。证明*Avr4/Avr6*逃脱大豆两个抗病基因识别的机制可能是翻译水平上的调节，此机制在植物病原菌中还未见相关报道。发现大豆*Rps1k*基因至少能识别大豆疫霉的两个无毒基因，并且这两个基因都对病原菌的致病性具有重要作用，进化上很难同时丢失，因此从理论上揭示了大豆*Rps1k*基因有效和广谱的分子机制，生产上为监测大豆*Rps1k*基因的适用性提供了分子靶标。为了解病原物与寄主协同进化和病害成灾的机制奠定了理论基础，在病害控制上为监控病原菌的变异、培育和合理布局抗病品种提供了技术支撑。

南京農業大學 Nanjing Agricultural University 植物保护学院

植物与疫霉互作实验室
Lab of Plant-Phytophthora Interactions

承担的主要科研项目

国家自然科学基金面上项目（30971889，31171831，31371894）
国家自然科学基金青年基金（31301613）
国家转基因重大专项（2009ZX08009-055B，2014ZX0800910B）
江苏省杰出青年基金（BK2012027）

代表性研究论文

实验室已发表论文30余篇，影响因子总和超过200，被引用1500余次。

1. Liu T, Song T, Zhang X, Yuan H, Su L, Li W, Xu J, Liu S, Chen L, Chen T, Zhang M, Gu L, Zhang B, Dou D. Unconventionally secreted effectors of two filamentous pathogens target plant salicylate biosynthesis. **Nat Commun**. 2014, 26;5:4686. doi: 10.1038/ncomms5686
2. Chen L, Shen D, Sun N, Xu J, Wang W, Dou D. *Phytophthora sojae* TatD nuclease positively regulates sporulation and negatively regulates pathogenesis. **MPMI**, 2014, 27(10):1070-80
3. Rajput NA, Zhang M, Ru Y, Liu T, Xu J, Liu L, Mafurah JJ, Dou D. *Phytophthora sojae* effector PsCRN70 suppresses plant defenses in Nicotiana benthamiana. **PLoS ONE**, 2014, 9(5): e98114
4. Yan Q, Cui X, Su L, Xu N, Guo N, Xing H, Dou D. GmSGT1 is differently required for soybean *Rps* genes-mediated and basal resistance to *Phytophthora sojae*. **Plant Cell Rep**, 2014, 33(8): 1275-88
5. Shen D, Liu T, Ye W, Liu L, Liu P, Wu Y, Wang Y, Dou D. Gene duplication and fragment recombination drive functional diversification of a superfamily of cytoplasmic effectors in *Phytophthora sojae*. **PLoS ONE**, 2013, 8(7): e70036
6. Chai C, Lin Y, Shen D, Wu Y, Li H, Dou D. Identification and Functional Characterization of the Soybean *GmaPPO12* Promoter Conferring *Phytophthora sojae* Induced Expression. **PLoS ONE**, 2013, 8(6): e67670.
7. Song T, Kale SD, Arredondo FD, Shen D, Su L, Liu L, Wu Y, Wang Y, Dou D, Tyler BM. Two RxLR avirulence genes in *Phytophthora sojae* determine soybean Rps1k-mediated disease resistance. **MPMI**, 2013, 26(7):711-20
8. Lu S, Chen L, Tao K, Sun N, Wu Y, Lu X, Wang Y, Dou D. Intracellular and extracellular phosphatidylinositol 3-phosphate produced by *Phytophthora* species are important for infection. **Mol Plant**, 2013, 6(5):1592-604
9. Dou D, Zhou J. Phytopathogen effectors subverting host immunity: different foes, similar battleground. **Cell Host Microbe**, 2012, 12(4):484-95
10. Liu T, Ye W, Ru Y, Yang X, Gu B, Tao K, Lu S, Dong S, Zheng X, Shan W, Wang Y, Dou D. Two host cytoplasmic effectors are required for pathogenesis of *Phytophthora sojae* by suppression of host defenses. **Plant Physiology**, 2011, 155: 490-501
11. Guo N, Ye W, Wu X, Shen D, Wang Y, Xing H, Dou D. Microarray profiling reveals microRNAs involving soybean resistance to *Phytophthora sojae*. **Genome**, 2011, 54:1-5
12. Dou D, Kale SD, Liu T, Tang Q, Wang X, Arredondo F, Basnayake S, Whisson S, Drenth A, Maclean D, Tyler BM. Different domains of *Phytophthora sojae* effector Avr4/6 are recognized by soybean resistance genes Rps4 and Rps6. **MPMI**, 2010, 23(4):425-435
13. Kale SD, Gu B, Capelluto D, Dou D, Feldman E, Rumore A, Arredond F, Hanlon R, Fudal I, Rouxel T, Lawrence C, Shan W, Tyler BM. External Lipid PI3P Mediates Entry of Eukaryotic Pathogen Effectors into Plant and Animal Host Cells. **Cell**, 2010, 142 (2): 284-295 Erratum in: 142(6):981-983
14. Dou D, Kale SD, Wang X, Jiang RH, Bruce NA, Arredondo FD, Zhang X, Tyler BM. RXLR-mediated entry of *Phytophthora sojae* effector Avr1b into soybean cells does not require pathogen encoded machinery. **Plant Cell**, 2008, 20(7)：1930-1947
15. Dou D, Kale SD, Wang X, Chen Y, Wang Q, Wang X, Jiang RH, Arredondo FD, Anderson RG, Thakur PB, McDowell JM, Wang Y, Tyler BM. Conserved C-terminal motifs required for avirulence and suppression of cell death by *Phytophthora sojae* effector Avr1b. **Plant Cell**, 2008, 20(7):1118-1133

代表性成果

Tyler BM, Dou D, Kale, SD, Gu B, 2010, Compositions and methods to protect cells by blocking entry of pathogen proteins, United States Patent (授权号：US20100093601；申请号：12/468,470)