

벼 흰잎마름병균(*Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*)의 병원성 유전자의 분자유전학적 연구현황 및 비교유전체 분석

강희원^{1*} · 박영진² · 이병무²

¹한경대학교 생물환경 · 정보통신전문대학원, ²농업생명공학연구원

본 논문은 벼 흰잎마름병균인 *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* (Xoo)의 병원성 유전자의 분자유전학적 연구현황을 기술하고자 한다. 또한 국내 고유 벼 흰잎마름병균 KACC10331의 유전체해독 정보를 기반으로 다른 *Xanthomonas*의 유전체와 비교 분석함으로써, Xoo의 주요 병원성 유전자의 분자구조를 구명하고자 한다. 이를 통해 Xoo 고유 병원성 유전자 탐색 및 기능 해석을 위한 기초 자료를 제공하는데 목적이 있다. Xoo 유전체에는 5개 과(family)에 속하는 9 type의 Insertion sequence (IS)가 611 copy로 존재하고 있으며, 주로 병원성 관련 유전자군 주위에 많이 분포하고 있는 것으로 나타났다. 현재까지 연구가 수행된 주요 병원성 관련 유전자인 hypersensitive response and pathogenicity (*hrp*) 유전자, extracellular polysaccharide (EPS) 유전자, extracellular enzyme 유전자, lipopolysaccharides (LPS) 유전자, 그리고 avirulence 유전자의 분자유전학적 연구현황을 기술하였다.

Key words □ comparative sequence, molecular genetics, review, virulence genes, *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*

Xanthomonas oryzae pv. *oryzae* (Xoo)는 그람음성세균으로 벼에 감염하여 흰 잎마름병(Bacterial Blight, BB)을 일으키며, 우리나라를 포함한 아시아, 아프리카 등 전 세계의 벼 재배지에서 경제적으로 가장 큰 피해를 주는 식물병원세균이다(12, 29). 벼 흰잎마름병균은 전 세계 벼 재배지역에 따라 다양한 race가 분포하고 있으며, 병원균과 기주간의 상호반응(race와 벼 품종 간에 특이적 병원학적 상호관계 등)을 연구하는데 유용한 모델 병원균으로 연구자에게 흥미를 끌어왔다. 지금까지 Xoo의 병원성 관련 유전자로서 type III protein secretion system에 연관된 hypersensitive reaction pathogenicity (*hrp*) 유전자, 저항성 유도에 연관된 비병원성 유전자(avirulence gene), cellulase나 xylanase와 같은 세포벽 분해효소, extracellular polysaccharide (EPS) 생합성 관련 유전자, Lipopolysaccharide 생합성관련 유전자 등이 알려져 왔다(7, 38). 그러나 Xoo는 벼에만 병원성이 있는 기주특이적 특성을 가진 병원균이므로, Xoo 고유의 병원성 관련 유전자가 분포할 것으로 예상된다. 그러므로 다양한 Xoo의 병원성 유전자 기구에 대한 새로운 통찰이 요구되고 있는 시점에 있다. 병원성 유전자를 분리하는 방법으로는 transposon을 이용한 병원성 소실 변이체를 생산하여 파괴된 유전자를 동정하는 방법이 일반적이지만, Xoo의 경우는 균주에 따라 형질전환과 marker exchange가 매우 어려워 다른 *Xanthomonas* 종에 비하여 고유 병원성 유전자 분리연구가 미흡하였다. 하지만 최근에는 Xoo의 transposon 변이체 구축과 marker exchange 기술이 개발되어 Xoo 고유 유

전자의 분리과 신규 병원성 유전자 분리가 가능하게 되었다(31).

최근 다양한 세균 종들의 유전체 염기서열해독이 급진전되어, 현재 NCBI (National Center for Biotechnology Information Center)에는 식물병원세균의 경우 수목의 도관병을 일으키는 *Xylella fastidiosa* (40)를 필두로 배추혹부병균 *X. campestris* pv. *campestris* (Xcc) (8), 세균성테핑이병균 *X. axonopodis* pv. *citri* (Xac), *Pseudomonas syringae* pv. *tomato* (4), 가지과 작물의 풋마름병을 일으키는 *Ralstonia solanacearum* (37), 식물의 근두 암종균 *Agrobacterium tumefaciens* (51) 등의 유전체 염기서열해독결과가 보고되었으며, 2005년에는 우리나라 고유 균주인 벼 흰잎마름병균(*X. oryzae* pv. *oryzae*) KACC 10331 유전체 염기서열이 국내 연구진에 의해서 세계최초로 보고되었다(26). 지금까지 보고되었던 단편적인 유전자 구조에서 탈피하여, 구조 유전체학, 비교 유전체학 등의 분석기술을 통하여 유전체 수준에서 유전자간의 기능성 network를 통찰할 수 있다는 면에서 식물병원세균의 유전체 해독정보는 중요한 의미가 있다.

본 총설에서는 흰잎마름병균(*Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*)에서 보고된 병원성 유전자의 분자유전학적 연구현황을 기술하고 유전체 해독정보를 기초로 하여 다른 *Xanthomonas* 유전체를 비교 분석 함으로써, Xoo병원성 연관 유전자의 구조적 특성을 조사 하였다.

본 론

Insertion sequence (IS) 분포 및 특성

Transposon 일종인 IS element는 세균 유전체에 7개 과(family)

*To whom correspondence should be addressed.
Tel: 82-31-670-5420, Fax: 82-31-676-2602
E-mail: kanghw2@hknu.ac.kr

로 다수 분포하고 있으며, 환경적응에 중요한 역할을 하는 것으로 보고되었다(15). IS는 Xoo의 균주 또는 race에 따라 다양한 위치에 다수 반복 삽입 되어 있는 것으로 알려지면서 race 또는 strain간의 유전적 다양성 분석을 위한 DNA probe로 사용되어 왔다(1, 41). Xoo에서는 4 type의 IS element (IS1112, IS1113, TNX6, TNX7)가 분포하는 것으로 보고되었으나(12, 53), Xoo 유전체 염기서열 정보로부터 full length의 IS 삽입 개수를 분석한 결과 Table 1에서 보여 주는 것과 같이 Xoo유전체에는 5개 family에 속하는 9 type의 IS element가 133 copy 분포하고 있음을 확인하였다. 특히 IS5 family는 63%를 차지하고 있었으며, 그 중 ISXo3가 37 copy로 가장 많이 분포하고 있었다. 이는 Full length의 IS element를 각각 108 copy와 109 copy 보유한 *X. campestris* pv. *campestris*와 *X. axonopodis* pv. *citri* 유전체들과 비교할 때, 이들보다 30% 이상 많은 IS가 Xoo 유전체에 분포하는 것을 나타내고 있다. 더욱이 Xoo 유전체 내에는 truncated IS 삽입 개수를 합치면 총 27 type에 속하는 611 copy의 IS element가 분포하고 있다. IS의 삽입 부위는 균주 특이 유전자 근처 또는 변화된 codon usage와 GC 함량이 높은 부위에 삽입 되는 것으로 알려져 있으며, 이는 유전자의 수평전이(lateral transfer)에 의해서 획득되는 것으로 생각되고 있다(33). 또한 IS는 기능성 유전자 또는 non-coding 유전자 영역에 무작위로 삽입되어 세균류의 적응성 돌연변이(adaptive mutation)의 원인이 되는 것으로 보고되고 있어(33, 36), Xoo 유전체내의 IS element의 분포는 race에 따른 유전적 변이에 중요한 역할을 할 수 있을 것으로 추정되고 있다. 특히, Xoo 유전체에는 병원성 유전자의 인접영역 또는 비병원성 유전자의 인접영역에 다수의 IS element가 삽입되어 있는 것이 관찰되어, IS삽입과 병원성/비병원성 유전자사이에 어떠한 연관성이 있는 것인지 분자 유전학적 연구가 요구된다.

Xoo에서는 일부 IS DNA 단편이 race typing에 주로 이용되고 있으나, IS의 분자생물학적 기구에 대한 연구는 거의 이루어지지 않았다. 향후 race 또는 특정 균주에 따른 IS 삽입영역 차이를 분석하고, 이것과 병원성과의 연관성을 분자 수준에서 연구한다면 race 발생과 병원성 유전자의 품종 특이성 연구에 매우 유용한 접근을 이룰 수 있을 것으로 기대되고 있다.

hrp 유전자 영역

식물병원세균에서 비기주식물과의 과민감반응(Hypersensitive response; HR)과 기주식물에서의 병원성(Pathogenicity)에 관련된 특정 유전자영역이 발견되어 hr+p의 합성어로 hrp 유전자라 불리게 되었다(3, 50). hrp 유전자는 비병원성 유전자(avarulence gene) 산물인 effector protein을 식물세포로 분비하는 통로 역할을 하는 Type III protein secretion system (TTSS)로 알려져 있다(16). hrp 유전자는 다양한 식물병원세균에서 보존적으로 존재하는 유전자와 hrp 유전자 cluster의 인접부위는 세균 종에 따라 다양한 유전적 구조를 하고 있다. 이러한 hrp 유전자 cluster를 포함한 병원성 관련 유전자군을 Pathogenicity island (PAI)라고 한다(43, 52). PAI는 세균 종간에 수평적 전이(lateral transfer)로 세균종의 병원성 획득에 관여한다고 생각되고 있다(3, 16). 식물 병원세균의 PAI의 중심에는 동물병원세균과 같이 effector locus가 존재하며 비병원성 유전자 산물인 effector들은 이러한 TTSS를 통하여 식물내로 들어가 병원성을 나타내거나 저항성을 유도하게 된다. 식물 병원세균의 hrp 유전자는 감수성식물에는 병을 일으키는 병원성 유전자로서의 기능과, 저항성 식물에는 과민감반응(hypersensitive response)을 일으켜 저항성을 유도하는 것으로 알려지고 있다(23). 식물병원세균의 경우 약 25개의 유전자들이 hrp 유전자군을 형성하고 있으며 대부분의 유전자들이 TTSS를 구성하는 단백질을 만드는 유전자들이다(3, 56).

X. oryzae pv. *oryzae* KACC10331 유전체 내에서의 hrp유전자 cluster는 29,659 bp의 염기서열에 24개의 hrp 유전자가 분포한다. Fig. 1은 *X. oryzae* pv. *oryzae*, *X. axonopodis* pv. *citri* (Xac)와 *X. campestris* pv. *campestris* (Xcc)의 hrp 유전자 cluster를 비교한 그림으로 Xoo는 Xac와 Xcc보다 긴 염기서열구조를 보였으며 이는 hpaB와 hpaF 사이의 transposase 유전자가 삽입된 결과로 나타났다. 보존적인 hrp 유전자영역의 각각의 유전자 크기는 거의 같았으나 Xcc의 hrpF는 2,762 bp로 Xoo의 2,405 bp와 Xac의 2,472 bp보다 약 300 bp이상이 더 긴 염기서열 구조를 보였다. Hrp 유전자산물 간의 아미노산 수준에서의 상동성 비교는 Xoo와 Xca 간에 평균 95%의 상동성을 보였지만 HpaP (86.3%), HrpE (82.3%), HrpF (80.6%), HpaA (73.8 %), Hpa 1 (62.8%)는 비교적 낮은 상동성을 보였다.

Table 1. Characterization of major IS elements in *X. oryzae* pv. *oryzae* KACC10331 genome

Name	Synonyms	Family	Origin	Accession No.	Copy No.
IS1051		IS5	<i>X. campestris</i> pv. <i>dieffenbachiae</i> 11044	X70380	7
IS1112	ISOXOO1	IS30	<i>X. oryzae</i> pv. <i>oryzae</i> PXO86Rif	ND	10
IS1112a	IS203a	IS30	<i>X. oryzae</i> pv. <i>oryzae</i> PXO86Rif	ND	16
IS1114		IS5	<i>X. oryzae</i> pv. <i>oryzae</i>	AF232058	15
ISXa		IS4	<i>X. campestris</i> pv. <i>citri</i> XW45	Z73593	8
ISXo1		IS5	<i>X. oryzae</i> pv. <i>oryzae</i>	AF225214	25
ISXo2		ISNCY	<i>X. oryzae</i> pv. <i>oryzae</i>	AF225215	8
ISXo3		IS5	<i>X. oryzae</i> pv. <i>oryzae</i>	AF339839	37
ISXo7		IS630	<i>X. oryzae</i> pv. <i>oryzae</i>	AY035401	7



Fig. 1. Comparisons of the *hrp* gene cluster among *Xanthomonas* spp. *Xoo*; *X. oryzae* pv. *oryzae*, *Xac*; *X. axonopodis* pv. *citri*, *Xcc*; *X. campestris* pv. *campestris*.

HrpA는 N-terminal 부분에 signal peptide 특성을 보유한 64 kDa의 막 단백질의 특성을 보이고 있는 것으로 알려져 있으며 *hrpA* 유전자 상류영역에 존재하는 *hpa1*과 *hpa2* 유전자는 병원성에 연관되어 있는 것으로 알려져 있다(38). 특히 Hpa1은 *Erwinia* spp., *Pseudomonas syringae*, *R. solanacearum*의 Pop A와 같은 harpin 단백질과 유사한 특성이 있는 것으로 알려졌다(14). Harpin은 TTSS에 의하여 분비되는 단백질로 HR을 유도하는 effector 단백질로 보고되었으며(50), *X. campestris* pv. *vesicatoria*에서는 *hpa1*과 이중 상동성을 가지는 *xopA*가 동정되었으며 TTSS에 의하여 분비되는 단백질로 추정되고 있다(14). *hrpB* operon은 8개의 유전자로 구성되어 있으며, HrpB3와 HrpB6 단백질은 transmembrane의 특성의 signal peptide와 소수성 단백질 구조를 가지고 있어 effector 단백질의 식물체와 병원균 간의 전이통로로서 역할을 하는 것으로 추정되고 있으나 *Xoo*에서는 아직 직접적인 연구보고가 없다. HrpF는 *Rhizobium* species에서 발견된 기주특이성 인식에 역할을 하는 nodulation protein NolX와 유사한 기능적 특성이 있어 기주 인식기능에 중요 역할을 할 것으로 추측된다(19). *Xoo*의 *hrpF* 유전자변이체는 병원성을 소실하여 병원성에 중요한 역할을 하는 것으로 생각되고 있지만 그 기능에 관한 상세연구는 아직 없다. *X. campestris* pv. *vesicatoria*의 HrpF 단백질의 N-terminal 부분은 lipid 결합과 pore 형성 활성이 있는 것으로 나타나, 아마도 기주세포막을 통하여 effector 단백질을 전달하는 중개역할을 하는 것으로 생각되고 있다(6).

X. oryzae pv. *oryzae*에서 *hrpX*와 *hrpG* 유전자는 *hrp* 유전자와 effector 유전자 발현에 관여하는 것으로 알려져 있다(14, 44). *hrpG*는 two-component response regulator의 OrmpR family에 속하며 *hrpA*와 *hrpX*의 발현을 활성화하며, *hrpX*는 전사활성자(transcriptional activator)인 AraC family와 높은 상동성이 있으므로 cis-acting 발현조절인자로서 *hrpB*에서 *hrpF*까지의 operon과 비병원성 유전자 *avrXv3*를 포함한 다양한 병원성 관련 유전자의 발현조절에 기능적 역할을 하는 것으로 생각되고 있다(14, 44, 47, 48). *Xoo*에서 HrpX의 의존적 consensus sequence로서 TTCG...N15.....TTCGCG가 알려져 있는데, 이것은 Plant-elicitor-promoter (PIP) box라고 불리고 있다(44). 따라서 PIP box의 염기서열은 type III pathway의 *hrpX* 발현조절 유전자와 effector 유전자탐색에 이용되었다(44). *Xoo* genome promoter 영역에는 TTCG...N16.....TTCGCG (예측적인 PIP box)가 56 copy가 발견되

었다(26). 이들 중에서 6개의 유전자는 다른 종의 *Xanthomonas* genome에서 발견된 것과 동일하였으며, 이들 중 4개의 유전자는 *hrp* gene clusters에 존재하였으며 2개 유전자는 유전체에 흩어져 존재하였다. 다른 41개의 예측 PIP box는 iron receptor, *avr* 유전자, toxin 및 항생물질 저항성 등에 연관되어 있는 것으로 나타났다.

Xoo 유전체 분석에 의하여 *hrp* 유전자 구조가 모두 밝혀졌으며, 그 유전자의 예측기능도 이미 다른 식물, 동물 세균 중에서 보고된 *hrp* 유전자 기능분석 결과를 통해 알 수 있다. 그러나 *Xoo*는 벼와의 특이적 병원성 관계에 있으며 race/변 품종간의 다양한 병원성 차이를 보이고 있어 *Xoo*에 대한 벼 저항성 체계의 복잡한 유전적 기구가 예상되고 있다. 하지만 다른 *Xanthomonas* 종에 비하여 *Xoo*의 *hrp* 유전자의 기능 연구는 매우 미흡한 상태에 있다. 최근에는 *Xoo*의 marker exchange와 complementation 실험이 자유롭게 수행될 수 있게 되어 국내에서는 한국균주의 *hrp* 유전자 모두 변이체를 만들고 각각의 유전자의 병원성 관련 여부를 *Xoo* 유전체 내에서 추진하고 있다. 또한 실질적인 TTSS와 연관된 effector 단백질의 동정과 기능 연구가 수행되고 있어 *Xco*의 *hrp* 유전자 기능연구가 활발히 추진될 전망이다.

LPS 및 EPS생합성 관련 유전자

식물병원세균이 기주체와 첫 번째로 접하는 부분은 세포외막인 LPS (Lipopolysaccharide)와 세포분비 다당체인 EPS (Extracellular polysaccharide)이다. *Xanthomonas* 종에서 LPS와 EPS에 연관된 유전자가 분리·동정되었으며 중요한 병원성 유전자로 인식되고 있다(22). *Xanthomonas* 종은 sucrose 등의 당을 첨가한 배지에서 점액성의 다당체를 다량 생산하는데, 이를 EPS라 부른다. 대부분이 Xanthan gum이라는 EPS가 주요 성분으로 산업적으로 식품첨가물에 유용한 물질로 활용되고 있다(22, 27, 45). EPS는 병원균이 기주체에 부착과 정착하는데 관여하는 것으로 생각되고 있으며, *X. oryzae* pv. *oryzae*는 감염된 벼 병반의 도관 부위에 EPS가 다량 검출됨으로서 도관폐쇄에 중요한 역할을 하는 것으로 생각되고 있다(10). *Xoo*의 *gum* 유전자 변이체를 이용한 병원성 조사에서 *gumA*, *gumG*, *gumM* 유전자 변이체는 병원성 소실의 원인이 된다는 보고가 있어 *gum* 유전자가 병원성에 중요한 역할을 하는 것으로 밝혀졌다(9). Fig. 2는 *X. oryzae* pv. *oryzae*, *X. campestris* pv. *campestris*, *X. axonopodis* pv. *citri*, *Xylella fastidiosa* 유전체 해독정보로부터 EPS생성과 관련된 유

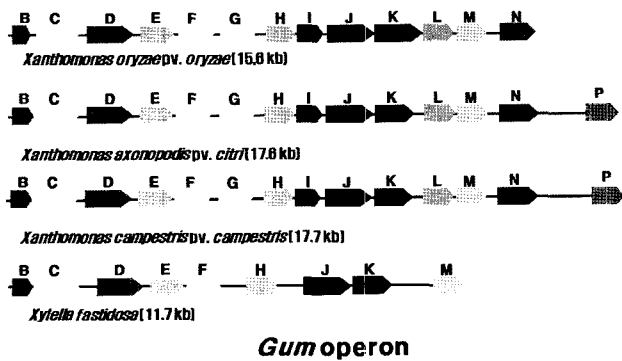


Fig. 2. Genetic organization of *gum* gene clusters in genomes of different phytopathogenic bacteria.

전자 영역인 *gum* 유전자 cluster의 유전적 구조를 비교 분석한 것이다. Xoo 유전체에서는 13개의 유전자로 구성된 총 염기서열 길이가 15,534 bp인 *gum* 유전자 cluster가 동정되었다. Xcc의 *gum* operon과 비교하면 *gumF*가 결여되어 있었으며 *gumN* 유전자가 말단에 존재하고 있었다. 그 외의 유전자는 거의 비슷한 분자 구조적 특성을 보이고 있다. *Xylella fastidiosa*는 Xoo에 비교했을 때 *gumG*, *gumI*, *gumL*, *gumN* 유전자를 결여되어 있음을 확인할 수 있었다. 최근 transposon 변이체를 이용한 병원성 유전자 동정실험으로 추가적으로 *gumBCDEHIJ* transposon 변이체를 분리하여 병원성 조사를 한 결과, 이 변이체들이 병원성을 소실하고 있음을 확인하여(자료 미제시) 다양한 *gum* 유전자가 병원성과 연관되어 있음을 시사하고 있다. *X. oryzae* pv. *oryzae*에서 EPS 합성은 two component system의 일부인 *rpfC* (regulation of pathogenicity factor) 유전자에 의하여 조절되는 것으로 보고 되었다(10). *rpfC* 유전자 변이체는 상당량의 EPS를 감소시키며 결국 병원성에도 영향을 끼치게 되는 것으로 알려져 있으나, 어떠한 유전자 조절에 의하여 EPS의 생산이 감소되는지에 대한 연구는 아직 알려지지 않고 있다. 최근에는 RT-PCR 분석으로 Xoo의 *gum* 유전자 cluster에서 유전자 발현 조절에 관여하는 프로모터 탐색이 수행되어 적어도 2개 이상의 *gum* operon 존재하는 것으로 보고되었다(55).

일반적으로 Lipopolysaccharide (LPS)는 세균 종의 외막성분으로 lipid A와 core oligo당과 고분자의 O-antigen 반복 영역으로 되어 있다. 외막은 외부물질의 선택적 투과와 endotoxin에 대한

면역적, 생물학적 특성을 나타내는 중요한 역할을 하며, 식물병원균의 LPS는 식물의 병 저항성 유도에 역할을 하는 것으로 보고된 바 있다(30, 31). LPS 구조는 세균 종에 따라서 매우 다양하며 O-antigen LPS 부분이 매우 변이가 심하여 병원세균의 계통간 구조적 다양성에 중요한 역할을 하는 것으로 알려져 있다(11). Xcc로부터 15개의 유전자로 구성된 LPS 유전자 cluster가 분리, 동정되었으며 각각의 유전자의 transposon 변이체로부터 LPS를 분리하고 SDS-PAGE 분석으로 LPS O-antigen과 LPS core oligosaccharide와 연관된 유전자를 동정한 바 있다(46). Xoo의 LPS 생합성 관련 유전자 cluster가 동정되었으며 *metB*, *wxA*, *wxC* 유전자가 변이되면 병원성이 소실되고 EPS 생산이 현저히 감소하는 것으로 관찰되어 병원성에 중요한 유전자로 밝혀졌다(9). 또한 분자 진화적 연구에서 Xoo의 LPS 생합성 유전자 영역은 인도의 일부 Xoo strain (BOX8)과 *X. oryzae* pv. *oryzicola* 유전체에는 존재하지 않으나 *X. campestris* pv. *campestris* 등의 이종 *Xanthomonas* 속에는 일부 LPS 유전자가 존재하는 것으로 밝혀짐에 따라 LPS 유전자가 *Xanthomonas* spp.간에 수평적 전이가 일어난다고 보고한 바 있다(32).

X. oryzae pv. *oryzae* KACC 10331의 유전체 염기서열을 기초로 한 유전자 annotation 결과에서 17 유전자로 구성된 LPS 생합성 관련 유전자 영역을 동정하였다(31). Transposon 삽입 부위를 경계로 하여 cluster I은 *cysB-xometC-xomtA-wxoABCD* 등 7개의 유전자로 구성되며, cluster II는 *wzt-wzm-ettAB-rmlBACD-xanBA*까지의 총 10개 유전자로 구성되어 있다(Fig. 3). 최근에는 Fig. 3에 나타낸 Xoo의 17개 LPS 유전자를 disruption하고 야생주에 marker exchange하여 만든 변이체의 병원성을 조사한 결과 *wxD*를 제외하고 모두 병원성이 소실 또는 감소하는 현상이 관찰되어 LPS 생합성 유전자는 병원성과 밀접한 관련성이 있는 것으로 나타났다(31). 한편, 이러한 병원성 소실 변이체들은 EPS 생산량이 현저히 감소하는 현상을 보였으며 colony 모양이 야생주와 비교하여 낮은 점액성이 관찰되므로, EPS 생산과 밀접한 관련성이 있는 것으로 추측된다. Xoo의 LPS 합성관련 유전자군과 *X. campestris* pv. *campestris* (Xcc)의 유전체 내에 존재하는 LPS 생합성관련 유전자군과 비교하면, Xoo의 LPS 영역은 *wxA*에서 *wzm* 유전자까지 6개의 유전자가 존재하나 Xcc 유전체의 경우 *wxcABCD* 등을 포함한 15 유전자가 존재하는 것으로 나타나 다른 유전적 구조를 보이고 있다. Xoo의 LPS 연관 유전자의 예측기능을 살펴보면 5' 말단에 *cysB* (cystathion synthase)-

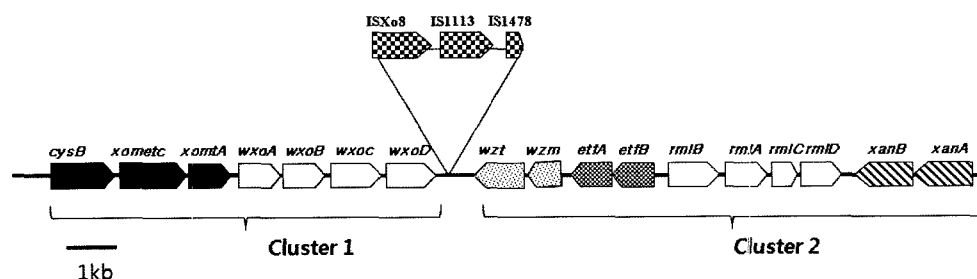


Fig. 3. LPS biosynthesis related gene clusters of *X. oryzae* pv. *oryzae*.

xometC (cystathion gamma lysas)-*xomtA* (methyltransferase)의 특이적인 구조를 하고 있으며, 이 유전자들은 methionine 합성과 연관된 효소로서 알려져 있다(13, 24). *wxoA*는 epimerase, *wxoBC*는 glycosyl transferase의 기능이 예측되고, *wxoD*는 LPS 변형에 요구되는 O-antigen acetylase의 역할이 예측된다. 그 밖에 *wzt* (ATP-binding protein), *effA* (electron transfer flavoprotein), *rmlA* (glucose-1-phosphatethymidyl transferase), *xanB* (phosphoglucomutase) 유전자가 말단부에 존재한다(25).

Xcc의 15 LPS 유전자 변이체로부터 LPS를 추출하여 SDS-PAGE에서 LPS 밴드 검출 여부를 분석한 결과, *wxcABCD*와 *wzt* 유전자 변이주는 고분자량의 LPS O-antigen 밴드가 검출되지 않아 LPS O-antigen 생합성에 연관된 것으로 보고되었으며, 그 밖의 다른 유전자는 저분자량의 LPS core oligosaccharide 생성에 연관되어 있음이 확인되었다(46). Xoo의 경우 *metB*, *wxoA*, *wxoC* 변이체로부터 분리한 LPS 추출물은 SDS-PAGE 분석에서 LPS core oligosaccharide라고 생각하는 부분이 결실되어 있음을 관찰하였으나(31, 32), Xcc나 다른 세균 중에서 분리된 LPS 양

상과 현저히 다르고, 특히 야생주에서도 LPS O-antigen이 SDS-PAGE 상에서 검출 되지 않아 LPS 분리 등의 정확한 LPS 분획 분리기술을 다시 확립하여 적용할 필요가 있을 것으로 생각된다.

LPS와 EPS는 기주식물체와 첫 번째로 접하는 병원세균의 외막체로서 기주세포의 인식과 부착, biofilm 형성 등 병원성 기구에서 매우 중요하며 다른 다양한 유전자와 상호적 기능을 할 것으로 추측된다. Xcc의 경우 EPS와 LPS 생합성에 *opsX*와 *rpjC* 유전자가 연관되어 있음이 보고됨으로써(10, 42), *trans-acting* factor의 가능성을 시사하였다. 그러나 Xoo의 경우에는 위 유전자의 직접적인 연관성에 관한 실험적 증거가 매우 미흡하다. 더욱이 LPS 생합성 유전자의 발현기구에 관한 연구가 전무한 상태이다. 따라서, 향후 Xoo 내에서의 EPS와 LPS 유전자의 발현 조절에 관한 *cis*와 *trans-acting* factor 탐색과 발현조절연구를 수행함으로써 EPS와 LPS의 핵심기능을 밝혀 나가야 할 것이다.

세포벽 분해효소

Cellulose와 hemicellulose는 식물세포벽의 주성분으로서 식물병

Table 2. Cell wall degrading enzymes identified in *X. oryzae* pv. *oryzae* KACC10331 genome

Synonym	Start	End	Length	Genes	Functions
XOO0281	289805	291106	1302	<i>egl 1</i>	cellulase
XOO0282	291788	292921	1134	<i>egl 2</i>	cellulase
XOO0283	293570	294700	1131	<i>egl 3</i>	cellulase
XOO4035	4313615	4315633	2019		1,4-beta-cellobiosidase
XOO4036	4316042	4317814	1773		cellulase
XOO1076	1099419	1100177	759	<i>celS</i>	cellulase S
XOO1077	1100446	1101396	951		cellulase S
XOO4019	4291073	4292674	1602	<i>engXCA</i>	cellulase
XOO2352	2491994	2494315	2322	<i>bglS</i>	beta-glucosidase
XOO4423	4712121	4714835	2715		glucan 1,4-beta-glucosidase
XOO2356	2499565	2502231	2667	<i>celD</i>	glucan 1,4-beta-glucosidase
XOO4123	4398993	4401164	2172	<i>bglX</i>	beta-glucosidase
XOO2910	3118452	3119789	1338	<i>xylA</i>	xylose isomerase
XOO2911	3119838	3121343	1506		D-xylulokinase
XOO2914	3122549	3125476	2928	<i>xylS</i>	alpha-xylosidase
XOO3121	3345909	3347624	1716	<i>xsa</i>	xylosidase; arabinosidase
XOO3618	3881275	3882447	1173		xylanase
XOO0191	196004	196132	129		xylosidase; arabinosidase
XOO4417	4702149	4703522	1374	<i>xylA</i>	xylose isomerase
XOO4422	4710406	4712118	1713	<i>xylB</i>	xylosidase; arabinosidase
XOO4433	4728959	4729993	1035	<i>xsa</i>	xylosidase; arabinosidase
XOO4540	4839151	4840248	1098		xylosidase
XOO4541	4839971	4840180	210		xylosidase
XOO2265	2381302	2382081	780		pectate lyase L precursor
XOO0821	838993	840033	1041	<i>pel</i>	pectate lyase

원균 침입으로부터 물리적 방어벽으로 작용한다(28). 병원균은 이 방어벽을 침투하기 위하여 세포벽 분해효소인 cellulase, pectinase, xylanase 등을 생성하여 분비한다(2, 21). *X. campestris* pv. *campestris*에서는 cellulase 등의 세포벽 분해효소가 병원성에 직접적인 연관성이 없는 것으로 보고된 바 있다(7). 그러나 Xoo의 경우 세포벽 분해효소인 Xylanase 유전자가 병원성과 연관되어 있다고 보고되었으며(34, 35) 최근에는 cellulase 유전자인 *eglXoB*도 보고되어(18), Xoo가 보유하는 세포벽 분해효소가 병원성에 중요한 역할을 하는 것으로 생각되고 있다. 병원세균의 세포벽 분해효소는 세포외로 분비되어 기주체에 직접적인 병원성 요인으로 작용한다. 이러한 효소들은 general secretory passway (GSP)인 Type II secretion system (T2S)에 의하여 세균 세포외로 분비되는 것으로 알려져 있다(21, 37) *Xanthomonas* 종에는 *Xanthomonas* protein secretion (*xps*) 유전자가 T2S에 관여하는 것으로 알려져 있으며, 이 유전자가 변이되면 병원성이 소실된다(35). Cellulase, xylanase, lipase/esterase가 T2S 분비시스템에 의하여 세포외로 분비 되는 것으로 알려져 있어 T2S effector라고 부르고 있다(35). Xoo 유전체에는 총 11개 유전자로 구성된 *xpsEFGHIJKLMND*가 T2S에 연관된 유전자로서 존재한다.

최근 보고에서 cellulase를 전처리하고 Xoo를 접종할 경우 병원성이 나타나지 않는다는 것이 관찰되어, cellulase와 cellobiosidase가 HR 유사반응을 유도하는 것으로 보고되었다(20). Xoo의 cellulase와 cellobiosidase에 의한 HR 반응 유도는 TTSS에 의하여 억제된다고 하였으나, 어떠한 병원성 기구에 의하여 위의 T2S effector가 저항성 반응을 나타내는지 그리고 TTSS가 어떻게 저항성 반응을 억제하는지는 아직 해명되지 않고 있다. Table 2는 Xoo genome의 염기서열에서 annotation된 세포벽 분해효소를 정리한 것으로 12종류의 cellulase 유전자, 11종류의 xylanase 관련 효소, 2종류의 pectin 분해효소 유전자가 동정되었다. Cellulase S, 1,4-beta-cellobiosidase, cellulase (XOO4036) 등의 유전자들과 cellulase 유전자인 *egl123*는 같은 영역에 cluster로 위치하고 있었으며, 이 cellulases 간에는 60%에서 95%의 높은 상동성을 나타낸다.

최근에 Xoo의 중요 병원성 유전자로서 세포벽 분해효소가 부각되고 있다. 최근의 보고에서 제시한 것을 보더라도 cellulase가 단지 세포벽 분해에만 참여하는 것이 아니라, *hrp* 유전자등 다른 병원성 유전자와의 연관성도 예상되고 있다. 따라서, Xoo 유전체 내의 세포벽 분해 유전자들의 병원성 관련 여부를 연구하고, *xps* 유전자의 T2S 분비기구와의 연관성 및 발현조절 연구를 수행함으로써 Xoo의 세포벽 분해효소의 병원성 기구를 해명하는 노력이 필요할 것으로 생각된다.

비 병원성(avirulence) 유전자

품종/병원균의 특이적 상호작용 이론인 gene-for-gene 이론은 병원균이 보유하고 있는 비병원성 유전자(avirulence gene)가 기주식물체의 특정 저항성 유전자(resistance gene, R gene)와의 상호작용을 통해 저항성을 유도한다는 이론이다(23, 49). *avr* 유전자 중에는 병원성과 비병원성의 양면적 역할을 하는 *avr* 유전자

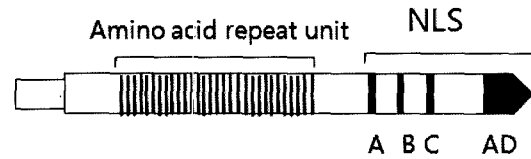


Fig. 4. The general structure of *avrBs3* family. NLS; nuclear localization signal.

가 존재하며(38), TTSS에 의하여 비병원성 유전자 산물이 식물체 내로 분비되는 것으로 생각되기 때문에, *avr* 유전자 산물을 TTSS effector 단백질로 부르고 있다(43). Xoo에서 비병원성 유전자의 분자구조의 특징을 살펴보면, 다수의 아미노산을 반복적으로 암호화하는 repeat sequence가 중앙부위에 존재하고 Carboxyl terminal에는 nuclear localization signal (NLS)와 함께 진행생물의 전사인자에서 보이는 acidic activation domain과 유사한 부위가 보인다(Fig. 4). *X. oryzae* pv. *oryzae*의 비병원성 유전자는 amino acid의 반복서열 수와 배열적 특성에 따라 구분되었다(17). 대표적인 Xoo의 비병원성 유전자로서 *avrXa5*, *avrXa7*, *avrXa10*이 분리 동정되어 분자구조 특징과 기주식물간의 상호작용이 연구된 바 있으며, 모두 *avrBs3* family에 속하는 것으로 알려져 있다(54). 최근에는 map based cloning에 의하여 monogenic 벼 품종 IRBB27로부터 Xa27이 분리되었으며, 동시에 Xoo에서 TTSS effector로 *avrXa27*이 분리·동정되었다(23). Xoo의 *avrXa27*에 의하여 벼의 Xa27 저항성 유전자가 특이적으로 발현되며, Xa27 발현에 NLS와 활성영역이 요구되는 것으로 밝혀졌다. 그러나 *avrXa27*이 직접적으로 Xa27의 프로모터에 결합하여 발현에 기여하는지, 간접적인 방법으로 연관된 전사인자의 활성을 통하여 발현에 기여하는지는 규명되지 않았다. 이밖에 Xoo에 대한 병 저항성 유전자로서 Xa21 유전자가 야생 벼로부터 분리·동정되었는데, 이 유전자는 일부 한국 균주를 제외하고 세계의 다양한 Xoo 균주에 대하여 강한 저항성을 나타내는 것으로 receptor kinase 특성을 갖는 leucine rich repeat (LRR)로 분류되었다(39). 최근에는 Xa21 저항성 유전자에 대항하는 *avrXa21* 유전자에 대한 연구가 수행되고 있고, 6종의 *rax* 유전자가 *avrXa21* 활성에 중요한 역할을 하는 것으로 보고되고 있으나 아직 *avrXa21* 유전자 본체는 동정되지 않았다(39). *raxA*, *raxB*, *raxC*는 그람 음성균의 Type I secretion 시스템 성분과 유사한 기능을 가지며, *raxP*와 *raxQ*는 ATP sulfurylase와 adenosine phosphosulfate kinase 활성을 가지고 있고, *raxST*는 *raxAB*와 유전자 발현에 관련되어 있는 것으로 알려져 있다. 최근 연구에서 새로운 신호전달에 연관된 *raxR*과 *raxH7*가 *rax* 유전자 영역에서 동정되어 *avrXa21* 활성에 중요한 역할을 하는 것으로 밝혀지고 있다(5, 39).

Table 3은 Xoo KACC10331 genome 염기서열에서 동정된 *avr* gene들로서 13종류의 *avr* 유전자가 동정되었다. 그중 *avrBs3* family의 *avr* 유전자가 8종류로 가장 많이 분포하고 있었으며 *avrBs2* Family와 PopC 유사 비병원성 유전자의 존재가능성을 시사하고 있다. 게다가, *X. campestris*에서 유래된 *pth*와 상동성

Table 3. Distribution of *avrulence* genes in *X. oryzae* pv. *oryzae* KACC10331 genome

Gene ID	Names	Family	Genomic location/size (bp)
XOO168	avrBs2	avrBs2	170538-168382/2157
XOO1237	avrB6	AvrBs3	1265906-1262688/3219
XOO1238	ND		1269067-1266686/2382
XOO1239	avrXa3	AvrBs3	1270183-1269128/1056
XOO4256	avrXa3	AvrBs3	4532988-4534484/1497
XOO0065	HpaF	PopC	59901-58273/1629
XOO2131	pthA1	AvrBs3	2237881-2233670/4212
XOO2275	pthA4	AvrBs3	2396490-2400998/4509
XOO2279	ND		2407066-2411565/4500
XOO3013	pthA2	AvrBs3	3219883-3223686/3804
XOO3014	ND		3224466-3229838/5373
XOO3015	pthA3	AvrBs3	3230618-3234457/3840
XOO4255	avrXa7	AvrBs3	4530410-4533652/3243

ND: Not determined

있는 4종의 비병원성 유전자와, *avr* 유전자 특성이 확인되지 않은 3개의 putative *avr* 유전자(XOO1238, XOO2279, XOO3014)가 동정되어 Xoo KACC10331 genome 내에 다양한 *avr* 유전자가 존재하는 것으로 나타났다. Monogenic line의 벼 계통과 race 간 특이적 병원성 조사에 따르면, 이론적으로 Xoo genome에는 Gene-for-Gene 이론에 비취어 *Xa* 저항성 유전자에 대항하는 23 종류의 비병원성 유전자가 존재할 것으로 추정된다. 아마도 첨가적인 비병원성 유전자는 다양한 Xoo race에 존재할 것으로 생각될 수 있다. 비록 비병원성 유전자 산물에 의한 기주식물체 내의 저항성 유전자 발현기구가 다른 식물병원세균에서 제시되고 있지만 Xoo의 경우는 비병원성 유전자의 기주식물체의 저항성발현기구 해명을 위해서 보다 정확한 실험적 접근이 요구되고 있다. 또한 비병원성 유전자의 기능이 각각의 저항성 유전자에 대항하는 *avr* 유전자에 의해서만 그 저항성 기구가 형성되는지 또는 *Xa21*과 같이 Xoo 내에서 다양한 유전자군이 비병원성 유전자의 활성을 위해서 참여하는지에 관한 연구가 다각도로 이루어져야 할 것으로 생각된다.

결 론

본고에서 *X. oryzae* pv. *oryzae* 유전체를 기초로 하여 병원성에 연관된 주요 유전자들과 연구현황에 관하여 기술하였다. Xoo 유전체내에는 611개로 다수 IS가 분포하는 것으로 나타났으며, 이들 IS는 Xoo의 유전적 구조에 중요 역할을 하는 것으로 병원성 유전자 주변에 집중적으로 삽입되어 있음이 관찰되었다. 주요 병원성 유전자군인 *hrp* 유전자군과 *gum* 유전자군의 경우에는 다른 *Xanthomonas* 종들과 매우 유사한 유전자 구조가 동정되었다. 그러나 Xoo와 기주와의 병원성 성립을 위하여 기주식물체와 병

원균 간에 복잡한 유전자의 발현제어가 요구된다. 또한 Xoo의 경우는 벼에만 병원성을 나타내는 기주 특이성이 있으며, 병 발생에 있어서 다른 *Xanthomonas* 종과는 차별된 병원성 유전자 발현기구를 가지고 있을 것으로 예측할 수 있다. Xoo병원성 유전자로서 세포벽분해효소와 LPS 생합성관련 유전자는 유전적 구조와 기능, 역할 면에서 다른 *Xanthomonas*와는 차이점이 있는 것으로 나타났다. 특히, 세포벽 분해효소인 cellulase와 xylanase는 다른 *Xanthomonas* 종과는 달리 Xoo에서 매우 중요한 병원성 인자로 나타났다. LPS와 EPS는 기주세포와 직접적인 접촉을 하는 세포외부 구성성분으로 Xoo는 다른 *Xanthomonas* 종과 유전적 구조면에서 많은 차이점이 발견되기 때문에, 기주와 병원균 간의 특이적 상호작용을 위한 주요 성분으로 추측할 수 있었다. Xoo의 비 병원성 유전자와 기주와의 특이적 저항성 발현기구는 저항성 벼 창출을 위한 핵심연구로 응용될 수 있다. Xoo KACC10331의 유전체 분석에서 13종류의 비병원성 유전자 후보가 동정됨으로서 이들의 병원학적 기구와 대항하는 벼 저항성 유전자 분리 연구가 추진된다면 다양한 흰 잎마름병균 저항성 유전자 분리와 저항성 벼 창출이 가능할 것으로 생각된다.

Xoo 유전체 중에는 그 기능을 알지 못하는 유전자가 40% 이상을 차지함에 따라 이들 유전자의 병원성과의 연관성 및 기능 해명이 해결 하여야할 과제로 남아 있다. Xoo의 병원성 기구는 알려지지 않은 다양한 병원성 factor와 기 보고된 병원성 유전자의 상호 연관성 등에 의하여 결정될 것으로 생각되며, 이를 위하여 새로운 병원성 유전자 동정과 기능연구가 필요하다. 최근에는 무작위로 Xoo 변이체 제작 기술이 개발되었으며 다수의 변이체를 이용한 병원성 유전자 탐색이 가능하게 되어 병원성 관련 신규 유전자 발굴이 가능하게 되었다. 따라서, 병원성 관련 유전자를 분리 동정하고, 유전체 해독정보로 동정된 병원성 유전자의 유전적 구조를 확인할 수 있으며, 비교유전체로 병원성 유전자의 예측 기능을 확인함으로써, 기능 연구가 유전체 수준에서 효율적으로 진행될 수 있을 것으로 전망 된다. 또한, 총괄적 병원성 연관 유전자 발굴을 위하여 DNA microarray를 활용한다면 병원성 기구해명에 유용할 것으로 생각된다.

참고문헌

- Adhikari, T.B., T.W. Mew, and J.E. Leach. 1999. Genotypic and pathotypic diversity in *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* in Nepal. *Phytopathol.* 89, 687-694.
- Barras, F. 1994. Extracellular enzymes and pathogenesis of soft-rot *Erwinia*. *Annu. Rev. Phytopath.* 32, 201-234.
- Bonas, U. 1994. *hrp* Genes of phytopathogenic bacteria. *Curr. Top. Microbiol. Immunol.* 192, 79-98.
- Buell, C.R., V. Joardar, M. Lindeberg, J. Selengut, I.T. Paulsen, M.L. Gwinn, R.J. Dodson, R.T. Deboy, A.S. Durkin, J.F. Kolonay, R. Madupu, et al. 2003. The complete genome sequence of the Arabidopsis and tomato pathogen *Pseudomonas syringae* pv. *tomato* DC3000. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 100, 10181-10186.
- Burdman, S., Y. Shen, S.W. Lee, Q. Xue, and P. Ronald. 2004. RaxH/RaxR: A two-component regulatory system in *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* required for AvrXa21 activity. *Mol. Plant-*

- Microbe Interact.* 17, 602-612.
6. Buttner, D., D. Nennstiel, B. Klusener, and U. Bonas. 2002. Functional analysis of HrpF, a putative type III translocator protein from *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria*. *J. Bacteriol.* 184, 2389-2398.
 7. Chan, J.W. and P.H. Goodwin. 1999. The molecular genetics of virulence of *Xanthomonas campestris*. *Biotech. Advan.* 17, 489-580.
 8. Da Silva, A.C., J.A. Ferro, F.C. Reinach, C.S. Farah, L.R. Furlan, R.B. Quaggio, C.B. Monteiro-Vitorello, M.A. Van Sluys, N.F. Almeida, L.M. Alves, A.M. Do Amaral, *et al.* 2002. Comparison of genomes of two *Xanthomonas* pathogens with differing host specificities. *Nature* 417, 459-463.
 9. Dharmapuri, S., J. Yashitola, M.R. Vishnupriya, and R.V. Sonti. 2001. Novel genomic locus with atypical G+C content that is required for extracellular polysaccharide production and virulence in *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*. *Mol. Plant-Microbe Interact.* 14, 1335-1339.
 10. Dow, J.M., L. Crossman, and K. Findlay, Y.Q. He, J.X. Feng, and J.L. Tang. 2003. Biofilm dispersal in *Xanthomonas campestris* is controlled by cell-cell signaling and is required for full virulence to plants. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 100, 10995-12100.
 11. Dow, J.M., A.E. Osbourn, T.J. Wilson, and M.J. Daniels. 1995. A locus determining pathogenicity of *Xanthomonas campestris* is involved in lipopolysaccharide biosynthesis. *Mol. Plant-Microbe Interact.* 8, 768-777.
 12. Ezuka, A. and H. Kaku. 2000. A historical review of bacterial blight of rice. *Bull. Natl. Inst. Agrobiol. Resour. Japan* 15, 1-207.
 13. Fernandez, M., W. Van Doesburg, G.A.M. Rutten, J.D. Marugg, A.C. Alting, R. Van Krannenburgh, and O.P. Kuipers. 2000. Molecular and functional analyses of metC gene of *Lactococcus lactis*, encoding cystathionine gamma lyase. *Appl. Environ. Microbiol.* 66, 42-48.
 14. Furutani, A., S. Tsuge, T. Oku, K. Tsuno, Y. Inoue, H. Ochiai, H. Kaku, and Y. Kubo. 2003. HpaI secretion via type III secretion system in *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*. *J. Gen. Plant Pathol.* 69, 271-278.
 15. Galas, D.J. and M. Chandler. 1989. Bacterial insertion sequences, p. 109-162. In D.E. Berg and M.M. Howe (eds.), *Mobile DNA*. American society for Microbiology, Washington, D.C., USA.
 16. Gophna, U., E.Z. Ron, and D. Graur. 2003. Bacterial type III secretion systems are ancient and evolved by multiple horizontal-transfer events. *Gene* 312, 151-163.
 17. Hopkins, C.M., F.F. White, S. Choi, A. Guo, and J.E. Leach. 1992. Identification of a family of avirulence genes from *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*. *Mol. Plant-Microbe Interact.* 5, 451-459.
 18. Hu, J., W. Qian, and C.Z. He. 2007. The *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* *eglXoB* endoglucanase gene is required for virulence to rice. *FEMS Microbiol. Lett.* 269, 273-279.
 19. Huguot, E. and U. Bonas. 1997. *hrpF* of *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria* encodes an 87-kDa protein with homology to NolX of *Rhizobium fredii*. *Mol. Plant-Microbe Interact.* 10, 488-498.
 20. Jha, G., R. Rajeshwari, and R.V. Sonti. 2007. Functional interplay between two *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* secretion systems in modulating virulence on rice. *Mol. Plant-Microbe Interact.* 20, 31-40.
 21. Jha, G., R. Rajeshwari, and R.V. Sonti. 2005. Bacterial type two secretion system secreted proteins: double-edged swords for plant pathogens. *Mol. Plant-Microbe Interact.* 18, 891-898.
 22. Katzen, F., A. Becker, A. Zorreguieta, A. Puhler, and L. Ielpi. 1996. Promoter analysis of the *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* gum operon directing biosynthesis of the xanthan polysaccharide. *J. Bacteriol.* 178, 4313-4318.
 23. Keyu, Gu., B. Yang, D. Tian, L. Wu, D. Wang, C. Sreekala, F. Yang, Z. Chu, G.L. Wang, F.F. White, and Z. Yin. 2005. R gene expression induced by a type-III effector triggers disease resistance in rice. *Nature* 435, 1122-1125.
 24. Kingsley, M.T., D.W. Gabriel, G.C. Marlow, and P.D. Toberts. 1993. The *opsX* locus of *Xanthomonas campestris* affects host range and biosynthesis of lipopolysaccharide and extracellular polysaccharide. *J. Bacteriol.* 175, 5839-5850.
 25. Koplín, R., G. Wang, B. Hotte, U.B. Priefer, and A. Puhler. 1993. A 3.9-kb DNA region of *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* that is necessary for lipopolysaccharide production encodes a set of enzymes involved in the synthesis of dTDP-rhamnose. *J. Bacteriol.* 175, 7786-7792.
 26. Lee, B.M., Y.J. Park, D.S. Park, H.W. Kang, J.G. Kim, E.S. Song, I.C. Park, U.H. Yoon, J.H. Hahn, B.S. Koo, *et al.* 2005. The genome sequence of *Xanthomonas oryzae* pathovar *oryzae* KACC10331, the bacterial blight pathogen of rice. *Nucleic Acids Res.* 33, 577-586.
 27. Leigh, J.A. and D.L. Coplin. 1992. Exopolysaccharides in plant-bacterial interactions. *Annu. Rev. Microbiol.* 46, 307-346.
 28. McNeil, M., A.G. Darvill, S.C. Fry, and P. Albersheim. 1984. Structure and function of the primary-cell walls of plants. *Annu. Rev. Biochem.* 53, 625-663.
 29. Mew, T.W., A.M. Alvarez, J.E. Leach, and J. Swing. 1993. Focus on bacterial blight of rice. *Plant Disease* 77, 5-12.
 30. Newman, M.A., M.J. Daniels, and J.M. Dow. 1995. Lipopolysaccharide from *Xanthomonas campestris* induces defense-related gene expression in *Brassica campestris*. *Mol Plant-Microbe Interact.* 8, 778-780.
 31. Park, Y.J. 2007. Functional analysis of gene cluster of lipopolysaccharide biosynthesis in *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*. Ph. D. thesis. Hankyong National University, Republic of Korea.
 32. Patil, P.B. and R.V. Sonti. 2004. Variation suggestive of horizontal gene transfer at a lipopolysaccharide (*lps*) biosynthetic locus in *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*, the bacterial leaf blight pathogen of rice. *BMC Microbiol.* <http://biomedcentral.com/1471-2180/4/40>.
 33. Rajeshwari, R. and R.V. Sonti. 2001. Stationary-phase variation due to transposition of novel insertion elements in *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*. *J. Bacteriol.* 82, 4797-4802.
 34. Rajeshwari, R., G. Jha, and R.V. Sonti. 2005. Role of an in planta-expressed xylanase of *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* in promoting virulence on rice. *Mol Plant-Microbe Interact.* 18, 830-837.
 35. Ray, S.K., R. Rajeshwari, and R.V. Sonti. 2000. Mutants of *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* deficient in general secretory pathway are virulence deficient and unable to secrete xylanase. *Mol. Plant-Microbe Interact.* 13, 394-40112.
 36. Ryba, W., M.N. Sakthivel, C. Yun, R. White, and J.E. Leach. 2005. Identification and characterization of IS1112 and IS1113 insertion element sequences in *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*. *DNA Seq.* 16, 75-79.
 37. Salanoubat, M., S. Genin, F. Artiguenave, J. Gouzy, S. Mangenot, M. Arlat, A. Billault, P. Brottier, J.C. Camus, L. Cattolico, *et al.* 2002. Genome sequence of the plant pathogen *Ralstonia solanacearum*. *Nature* 415, 497-502.
 38. Shen, Y. and P. Ronald. 2002. Molecular determinants of disease and resistance in interactions of *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*

- and rice. *Microbe Infect.* 4, 1361-1367.
39. Shen, Y., P. Sharma, F.G. Da Silva, and P. Ronald. 2002. The *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* *raxP* and *raxQ* genes encode an ATP sulphurylase and adenosine-5'-phosphosulphate kinase that are required for AvrXa21 avirulence activity. *Mol. Microbiol.* 44, 37-48.
 40. Simpson, A.J.G., F.C. Reinach, P. Arruda, F.A. Abreu, M. Acencio, R. Alvarenga, L.M.C. Alves, J.E. Araya, G.S. Baia, C.S. Baptista, et al. 2000. The genome sequence of the plant pathogen *Xylella fastidiosa*. *Nature* 406, 151-157.
 41. Skinner, T., W. Mew, and J.E. Leach. 1995. Genetic diversity of *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* in Asia. *Appl. Environ. Microbiol.* 61, 966-971.
 42. Tang, J.L., Y.N. Liu, C.E. Barber, J.M. Dow, J.C. Wootton, and M. J. Daniels. 1991. Genetic and molecular analysis of a cluster of *rpf* genes involved in positive regulation of synthesis of extracellular enzymes and polysaccharide in *Xanthomonas campestris* pathovar *campestris*. *Mol. Gen. Genet.* 226, 409-417.
 43. Thomas, L. and U. Bonus. 2001. Molecular secrets of bacterial type III effector protein. *Trends Plant Sci.* 6, 479-485.
 44. Tsuge, S., S. Terashima, A. Furutani, H. Ochiai, T. Oku, K. Tsuno, H. Kaku, and Y. Kubo. 2005. Effects on promoter activity of base substitutions in the *cis*-acting regulatory element of HrpXo regulons in *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*. *J. Bacteriol.* 187, 2308-2314.
 45. Vojnov, A.A., A. Zorreguieta, J.M. Dow, M.J. Daniels, and M.A. Dankert. 1998. Evidence for a role for the *gumB* and *gumC* gene products in the formation of xanthan from its pentasaccharide repeating unit by *Xanthomonas campestris*. *Microbiology* 144, 1487-1493.
 46. Vörholter, F.J., K. Nichaus, and A. Puhler. 2001. Lipopolysaccharide biosynthesis in *Xanthomonas campestris* pv. *campestris*: a cluster of 15 genes is involved in the biosynthesis of the LPS O-antigen and the LPS core. *Mol. Genet. Genom.* 266, 79-95.
 47. Wengelnik, K., G. Van Den Ackerveken, and U. Bonus. 1996. HrpG, a key *hrp* regulatory protein of *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria* is homologous to two-component response regulators. *Mol. Plant-Microbe Interact.* 9, 704-712.
 48. Wengelnik, K. and U. Bonus. 1996. HrpXv, an AraC-type regulator, activates expression of five out of six loci in the *hrp* cluster of *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria* essential for pathogenicity and induction of the hypersensitive reaction. *J. Bacteriol.* 178, 3462-3469.
 49. White, F.F., B. Yang, and L.B. Johnson, 2000. Prospects for understanding avirulence gene function. *Curr. Opin. Plant Biol.* 3, 291-298.
 50. Willis, D.K., J.J. Rich, and E.M. Hrabak. 1991. *hrp* Genes of phytopathogenic bacteria. *Mol. Plant-Microbe Interact.* 4, 132-138.
 51. Wood, D.W., J.C. Setubal, and R. Kaul. 2001. The genome of the natural genetic engineer *Agrobacterium tumefaciens* C58. *Science* 294, 2317-2323.
 52. Xiao, Y., Y. Lu, S. Heu, and S.W. Hutcheson. 1992. Organization and environmental regulation of the *Pseudomonas syringae* pv. *syringae* 61 *hrp* cluster. *J. Bacteriol.* 174, 1734-1741.
 53. Xie, J., X. Wang, F. Li, Y. Peng, and G. Zhou. 2007. Three new loci of insertion element IS1112 in Chinese strains of *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*. *J. Microbiol.* 45, 219-226.
 54. Yang, B. and F. White. 2004. Diverse members of the AvrBs3/PthA family of type III effectors are major virulence determinants in bacterial blight disease of rice. *Mol. Plant-Microbe Interact.* 17, 1192-1200.
 55. Yoon, K.H. and J.Y. Cho. 2007. Transcriptional analysis of the *gum* gene cluster from *Xanthomonas oryzae* pathovar *oryzae*. *Bio-technol. Lett.* 29, 95-103.
 56. Zhu, W., M.M. Magbanua, and F.F. White. 2000. Identification of two novel *hrp*-associated genes in the *hrp* gene cluster of *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*. *J. Bacteriol.* 182, 1844-1853.

(Received October 30, 2007/Accepted March 1, 2008)

ABSTRACT : Current Status on Molecular Genetic Study and Comparative Genomic Analysis of Virulence Related Genes in *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*

Hee-Wan Kang^{1*}, Young-Jin Park², and Byeong-Moo Lee² (¹Graduate School of Biotechnology and Information Technology, Hankyong National University, Ansong 456-749, Republic of Korea, ²National Institute of Agricultural Biotechnology, Suwon 441-707, Republic of Korea)

Xanthomonas oryzae pv. *oryzae* (Xoo) is the causal agent of bacterial blight on rice. In this paper, current status on molecular genetic study of major virulence genes, hypersensitive response and pathogenicity (*hrp*), productions of extracellular polysaccharide (EPS), extracellular enzymes and lipopolysaccharides (LPS), *avr* genes were reviewed. The IS elements with 611 copies including 133 ORF IS were inserted in various regions of the Xoo genome and in especially regions flanking virulence genes. Whole genome sequence of *X. oryzae* pv. *oryzae* KACC10331 were used for defining genetic organization of the virulence genes. Furthermore, the virulence genes in Xoo genome were compared to those of other *Xanthomonas* species in Blast GenBank data base.