

微生物学报 *Acta Microbiologica Sinica*
54(9):971-976; 4 September 2014
ISSN 0001-6209; CN 11-1995/Q
<http://journals.im.ac.cn/actamicroen>
doi: 10.13343/j.cnki.wsxb.2014.09.001

Wzz 酶对 O 抗原糖链聚合度的调控

韩东雷, 马中瑞, 陈敏*

山东大学微生物技术国家重点实验室, 国家糖工程技术研究中心, 山东 济南 250100

摘要:革兰氏阴性细菌表面的 O 抗原在信号识别、黏附、免疫逃避等过程中发挥着重要作用。根据翻转酶的不同, O 抗原的合成可划分为 3 种机制, 其中依赖于 Wzy 的合成途径(Wzy-dependent)较为普遍。该机制中, *wzz* 基因参与调节 O 抗原多糖的聚合度。O 抗原糖链能够影响致病菌的抗原性并不同程度的刺激免疫系统。基于 Wzz 的蛋白晶体结构, 对 *wzz* 基因进行分子改造可以使菌株合成不同大小的 O 抗原糖链。利用病原菌的 O 抗原与特定载体蛋白结合而成的糖缀合物疫苗, 既具有很好的靶向性, 又有较强的免疫原性。因此了解 Wzz(调节糖链长短的蛋白)的功能、结构及作用机制对今后糖缀合物疫苗的开发与生产具有重要意义。

关键词: O 抗原, Wzz(调节糖链长短的蛋白), 重复糖单位

中图分类号: Q816 **文章编号:** 0001-6209(2014)09-0971-06

脂多糖(LPS)是革兰氏阴性细菌外壁层中特有的一种化学成分, 由类脂 A(内毒素)、核心多糖和 O 抗原三部分组成^[1-2]。脂多糖能够刺激人体的免疫系统, 引起机体产生一系列的免疫反应, 鉴于脂多糖在机体免疫中的重要作用, 利用病原菌的脂多糖尤其是 O 抗原可以进行糖疫苗的研发。O 抗原存在于几乎所有革兰氏阴性菌的表面, 是自然界中最具多样性的分子之一, 不同血清型的细菌在毒力和致病性等方面存在着重要差异^[3-4]。

O 抗原由多个结构相同的重复糖单位构成, 属于多糖抗原。根据糖链的长短, 一般可粗略地将 O 抗原划分为 long 型(16-25 个重复糖单位)、intermediate 型(10-18 个重复糖单位)和 short 型(<10 个重复糖单位)3 种类型^[5]。不同菌株的 O 抗原, 糖重复单位个数有所差别, 构成重复糖单位的单糖个数、单糖种类及糖苷键的类型也有较大差异。

根据合成机制(主要指反转酶)的不同, O 抗原的合成可划分为 3 种^[6], 分别为依赖 Wzy 的合成途径(Wzy-dependent)、依赖于 ABC 运转器的合成途径(ABC-transporter dependent)和依赖于合成酶的合成途径(synthase-dependent), 前两种途径比较普遍。

Wzy 依赖机制中存在一种重要的调节蛋白 Wzz, 负责 O 抗原糖链长短的调节。在 Wzz 的作用下, O 抗原糖链具有一定大小特异性^[7], 通过银染实验可以清晰看见其规律的梯状分布。O 抗原糖链能够影响部分分泌蛋白的功能, 进而影响细菌的毒力。O 抗原糖链的大小与致病菌的抗原性密切相关, 通过 Wzz 蛋白对 O 抗原糖链的大小进行改造可改变 O 抗原的抗原性, 进而开发具有特定效力的糖疫苗。

细菌感染会引起一系列的疾病, 针对大多数病原菌感染, 常规办法就是使用抗生素, 但长期使用抗生素会增加细菌的耐药性, 超级细菌的产生就给我

基金项目:国家自然科学基金项目(31270983, 31070824, J1103515); 山东省自然科学基金项目(2009ZR019SQ); 教育部留学回国人员科研启动基金

* 通信作者。E-mail: chenmin@sdu.edu.cn

作者简介:韩东雷(1988-), 男, 山东省济宁市金乡县人, 硕士研究生, 主要从事微生物疫苗及糖生物学方面的研究。

收稿日期: 2013-11-15; **修回日期:** 2014-03-06

们敲响了一个警钟。疫苗具有良好的免疫效果,不仅能够抵御病原菌的感染,而且对人没有副作用。O 抗原位于细菌表面,与细菌的致病性密切相关,在细菌信号识别、黏附、免疫逃避等过程中发挥着重要作用。通过基因工程的方法,对病原菌 *wzz* 基因或者 Wzz 蛋白进行改造,使其 O 抗原具有特定的糖链的大小,人工控制病原菌的抗原性。细菌抗原性的改变对于菌体疫苗的改进具有重要意义,对目前糖疫苗合成的也具有引导作用。

因此,熟悉调节蛋白 Wzz 的功能、结构及作用机制有利于我们了解病原菌的致病机理,也有利于人们预防病原菌的感染。

1 O 抗原的合成过程

大肠杆菌中合成 O 抗原的基因一般相邻存在,

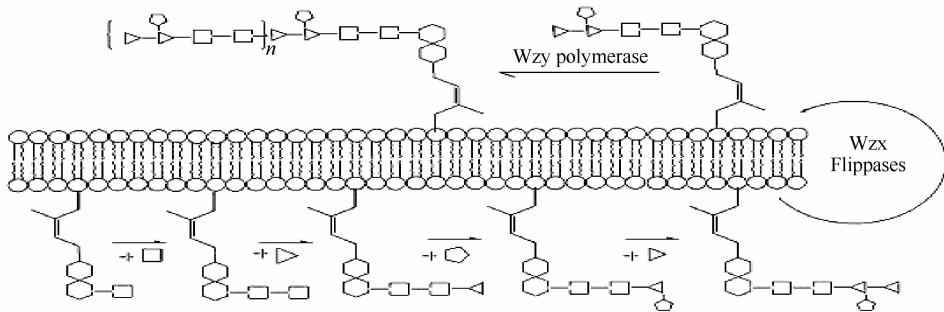


图 1. 寡糖重复单元的合成过程^[16]

Figure 1. Synthesis of oligosaccharides repeat unit^[16].

O 抗原能够刺激人体产生免疫反应,不同种属的病原菌刺激机体产生的免疫效果不同。这种不同是病原菌 O 抗原的结构决定的,了解了 O 抗原的合成过程及相关酶的催化,通过分子生物学的方法,可以对病原菌的 O 抗原合成路径进行改造,改变 O 抗原糖重复单位的结构或者 O 抗原的大小进而改变病原菌的免疫原性。通过对连接酶 Waal 进行缺失突变,合成的 O 抗原就不会与类脂 A-核心多糖结合形成脂多糖,如果设计好蛋白底物,病原菌的 O 抗原也可以和目的蛋白结合。

2 调节蛋白 Wzz 的功能与分类

O 抗原 (ECA_{LPS}) 属于肠道菌共同抗原 ECA (Enterobacterial Common Antigen) 的一种,在细菌表

在染色体上形成一个 *rfb* 基因簇^[8]。O 抗原合成过程大体上分为起始、延伸、翻转、聚合、终止及连接几个步骤。在糖基转移酶的催化下,O 抗原还原端第一个单糖以磷酸化的形式向脂载体异戊烯醇上转移,这是寡糖重复糖单位合成的第一步反应。在不同糖基转移酶的作用下,其他单糖再被一个个的添加到脂载体上,直至一个完整重复糖单位形成。合成重复糖单位的反应都是在胞质侧完成的。胞质侧的重复糖单位通过翻转酶 Wzx 翻转到周质空间。在聚合酶 Wzy 的作用下,重复糖单位在周质空间发生聚合,每次聚合反应使糖链的非还原端增加一个重复糖单位的长度^[9]。O 抗原合成的途径如图 1 所示。O 抗原合成结束后与类脂 A-核心多糖进行共价连接,此步反应是由连接酶 Waal 催化的。*waal* 基因游离于 *rfb* 基因簇之外,位于合成核心多糖的基因簇中。

面还广泛存在着其他多糖结构,如由磷酸甘油酯连接的抗原多糖 ECA_{PC} ^[10]。 ECA_{PC} 糖链的长短由 WzzE 调节蛋白控制,本篇综述,我们只讨论脂多糖 O 抗原糖链大小的调节,对 WzzE 不做介绍。

O 抗原糖链的长短是由调控基因 *wzz* 决定的,糖链的长短会影响致病菌对抗菌多肽、血清补体及细胞吞噬的抵抗作用^[11]。*wzz* 基因一般位于 O 抗原基因簇 *rfb* 下游的 *gnd* 和 *his* 基因之间,有些菌株的 *wzz* 基因也可能位于 *rfb* 基因簇的 5' 末端^[12]。1991 年,Roger 等^[13]在大肠杆菌 (*Escherichia coli*) 中第一次发现了 *wzz* 基因,当时命名为 *rol* 基因;后来 Renato Morona 等^[14]在弗氏志贺菌 (*Shigella flexneri*) 中对 *wzz* 基因的位置和功能进行了确定,不同菌株的 *wzz* 基因在功能上是互补的^[15],在体外实验中,Woodward 等^[16]也证明了 Wzz 具有调节 O 抗原糖链长短的功能。

Kayo 等^[17]体外克隆不同 *wzz* 基因分别转化到大肠杆菌 O157 中,使菌株表达不同大小的 O 抗原,结果发现 O 抗原糖链的长短能够影响大肠杆菌 O157 对人血清的敏感性,糖链越短对人血清越敏感。O 抗原能够影响菌株与血清中补体的相互作用,阻止补体与细菌表面接触,进而保护菌体不被裂解。利用大肠杆菌 O157 的 O 抗原糖链与白喉毒素蛋白载体结合生产大肠杆菌 O157 的糖蛋白结合疫苗,通过糖链的长短调节糖蛋白疫苗的免疫原性,开发适合大众人群的抗病原菌大肠杆菌 O157 的疫苗,最终有可能解决大肠杆菌 O157 在全世界范围内的流行暴发难题。

调节蛋白 Wzz 包括 WzzB 和 Wzz_{FepE} 两种,相对于调节蛋白 WzzB,关于 Wzz_{FepE} 的研究较晚,上文我们所说的调节 O 抗原糖链大小的 Wzz 蛋白其实特指的 WzzB。Murray 和 Renato 等^[18]于 2003 年在鼠伤寒沙门氏菌 (*Salmonella typhimurium*) 中发现“第 2 个 Wzz 蛋白 Wzz_{FepE}”,Wzz_{FepE} 也普遍存在于细菌中。细菌 O 抗原糖链大小一般集中分布在 2 个区域,一部分 O 抗原重复糖单位介于 5 - 25 之间,糖链长短由酶 WzzB 调节;另一部分 O 抗原相对分子质量比较大,重复糖单位一般大于 80 个,糖链长短由调节蛋白 Wzz_{FepE} 调节。脂多糖 O 抗原糖链的大小由 WzzB 和 Wzz_{FepE} 共同控制。Wzz_{FepE} 蛋白对菌株在特定环境的生存至关重要。沙门氏菌在小鸡生殖系统的繁殖克隆能力与密切 Wzz_{FepE} 蛋白相关,*wzz_{FepE}* 基因缺失的沙门氏菌对胆汁酸的耐受性降低,不能在入肠道中生存^[19-20]。

O 抗原糖链的大小不仅参与免疫反应,对细菌的运动性、附着性也有间接影响,细菌表面多糖的缺失,使得细菌更容易接触细胞表面的黏附蛋白,从而增加细菌对细胞的附着性。

3 Wzz 的结构

Wzz 蛋白分子属于多糖辅聚合酶 (PCP, polysaccharide co-polymerase) 家族,PCP 家族的蛋白为膜结合蛋白,具有 N 端和 C 端跨膜结构域。周质空间的 α - β 结构域位于蛋白的氮末端,靠近膜;反向平行的 α -螺旋结构向周质空间内部延伸^[21-22],周质空间的 Wzz 蛋白序列相对保守并具有亲水性。不同菌株的 Wzz 蛋白的一级结构序列相似性很低,

只有 21% - 27%,但是折叠后的高级结构极为相似。周质空间中的 Wzz 蛋白的各结构域的功能相对独立,在一定程度上不被跨膜区域限制,Chris 等学者利用核苷酸的突变对 Wzz 蛋白的结构及其在聚合反应中的功能进行研究,结果发现周质空间远膜端的 α -螺旋结构对调节 O 抗原糖链的长短具有非常重要的功能^[23]。

Wzz 蛋白由不同数目的单体构成,单体间具有相似的二级结构,可简单表示为 TM1- β 1- α 1- α 2- α 3- α 4- α 5- β 2- β 3- α 6- α 7- α 8- β 4-TM2 (TM 代表跨膜结构域; α 代表 α -螺旋; β 代表 β 折叠)。蛋白单体间通过跨膜区首尾相连组装成大小不同的聚合物,聚合物中间有一个大的空腔,聚合物的上半部分对糖链长短的调节至关重要。

改变 O 抗原糖链的大小,一方面我们可以克隆不同的 *wzz* 基因进行调节,如 Kayo 在大肠杆菌 O157 菌株中的操作;另一方面,既然我们对 Wzz 蛋白的晶体结构有所了解,我们可以对重要位点的核苷酸或者氨基酸进行定向的突变。Wzz 晶体结构中,位于 105 位的 Ala,212 位的 Val 和 272 位的 Asp 对调节糖链属于 intermediate 型或者 short 型至关重要;调节 Long 型糖链的氨基酸主要集中在 35 - 90 位的 α -螺旋区域,如 77 位的 Met,83 位的 Gln,另外,90、91 位的 Asp 和 Leu 对调节糖链属于 long 型也至关重要。通过这些特异性位点,我们可以尝试着对 O 抗原糖链大小进行有目的改造,合成出任意大小的 O 抗原糖链。

4 作用机理

Wzz 蛋白是如何调节 O 抗原糖链长度的,至今还没有一个确定的说法。目前主要有 3 种假说,各假说之间并不是完全对立的。Bastin 等^[24]认为 O 抗原的聚合过程与多肽的合成机制相似。Wzy 聚合酶上存在 A 位点和 P 位点,相当于核糖体上的 A 位点和 P 位点,新引入的重复糖单位占据 A 位点,延伸的多糖聚合物从邻近的 P 位点转到 A 位点并在 A 位点完成一次聚合作用,多糖聚合物就增加一个重复糖单位;紧接着,多糖聚体再被移回到原来的 P 位点,这样就完成了一次循环。这种机制中,Wzz 调节蛋白通过“分子钟机制”控制着糖链的长短。Wzz 蛋白存在两种构象,一种构象的 Wzz 有利于 O 抗原

糖链的延伸,另一种构象的 W_{zz} 促进 O 抗原糖链与类脂 A-核心多糖进行共价连接,W_{zz} 蛋白就像 1 个分子时钟,通过构象变化控制着 O 抗原糖链的延伸或延伸的终止。第二种假说^[25]认为 W_{zz} 蛋白作为分子伴侣调节聚合酶 W_{zy} 和连接酶 WaaL 的活性,连接酶 WaaL 通过把 O 抗原运转至类脂 A-核心多糖受体来终止聚合作用,进而终止 O 抗原的合成。但是有证据表明,O 抗原的结构是否完整并不影响连接作用。

Tocilj 等^[26]提出第三种模型,W_{zz} 调节蛋白招募 W_{zy} 蛋白,在 W_{zz} 周围形成一个 W_{zy} 集合体,O 抗原的延伸由 W_{zy} 集合体进行催化聚合。W_{zz} 寡聚体的大小将决定 W_{zy} 蛋白的数量,进而决定 O 抗原糖链合成的速度。越来越多的晶体学数据与第三种假说相符,即在 O 抗原合成过程中,W_{zz}、W_{zx} 和 W_{zy} 蛋白分子间存在着复杂的相互作用。但是到目前为止,还没有在体内发现它们之间的相互作用的直接证据。或许,这些蛋白分子间是通过中间蛋白相互作用的^[27]。

脂多糖的合成受很多基因的共同控制,基因间存在着复杂的相互作用,部分基因目前还没有被发现^[28]。Farizano^[29]于 2012 年发现 PmrAB 系统在脂多糖合成过程中的作用,提出只有当 PmrA 酶与 *wzz_{FepE}* 基因的启动子结合时,才能诱导 *wzz_{FepE}* 基因的表达。相比于脂多糖,O 抗原的合成过程比较清晰,但 W_{zz} 蛋白是通过什么机制来调节糖链的长短我们还不能确定。随着更多关于 W_{zz} 蛋白晶体结构及蛋白间作用的发现,W_{zz} 蛋白调节 O 抗原糖链大小的机制最终会被阐明。

5 展望

病原菌给我们的生活生产带来了极大地影响,针对病原菌感染的流行,最好的方法莫过于开发相应疫苗。疫苗的应用已经有效控制了天花、麻疹、百日咳等重大疾病。生物被膜形成过程中的不同环节都可作为细菌疾病治疗的突破口,细菌表面结构与细菌感染密不可分,细菌 O 抗原位于细胞最外层,能够激起宿主产生免疫反应。许多研究者都想利用病原菌的 O 抗原来研发疫苗,但是普遍免疫原性比较差,将 O 抗原与免疫蛋白载体结合而成疫苗可以解决这一难题。随着细菌 N-糖基化系统的发现,O

抗原与免疫蛋白载体在细菌中结合成为了可能。

利用细菌的糖基化系统,将病原菌的 O 抗原糖链与载体蛋白结合得到的糖蛋白疫苗既具有很好的靶向性,又具有较强的免疫原性。Cuccui 等^[30]已经应用此方法成功制备了抗土拉弗朗西斯菌 (*Francisella tularensis*) 菌株的结合疫苗。大肠杆菌 O157 在世界范围内流行,在中国更是创造了流行范围、流行时间、感染人数、死亡人数的世界之最,我国已将肠出血性大肠杆菌列为 21 世纪可能对国人卫生健康有重大影响的 12 种病原微生物之一。利用大肠杆菌 O157 的 O 抗原可开发针对大肠杆菌 O157 的疫苗,调节 O 抗原糖链的大小来控制疫苗的免疫原性。我们课题组已经成功构造出生产抗大肠杆菌 O157 的糖蛋白疫苗的工程菌株,目前正在做动物实验。改变疫苗 O 抗原糖链的大小,并通过动物实验观察疫苗的效果差异,这方面还没有人做过。O 抗原糖链能够刺激宿主免疫系统并影响致病菌的抗原性,通过 W_{zz} 蛋白对 O 抗原糖链的大小进行改造,可生产出免疫原性不同的糖蛋白结合疫苗,这对疫苗在不同人群中的应用至关重要。

目前,W_{zzB} 蛋白的晶体学结构还没有被完全解析,特定结构域的功能还不能确定,也没有直接证据证明 W_{zzB} 调节 O 抗原糖链长度的作用机制,另一方面,关于 W_{zz_{FepE}} 蛋白功能的研究才刚刚起步。因此,在 W_{zz} 蛋白结构与功能领域,还存在着许多空白。

参考文献

- [1] Caroff M, Karibian D. Structure of bacterial lipopolysaccharides. *Carbohydrate Research*, 2003, 338 (23): 2431-2447.
- [2] Goldman RC, Hunt F. Mechanism of O-antigen distribution in lipopolysaccharide. *Journal of Bacteriology*, 1990, 172(9): 5352-5359.
- [3] Waldor MK, Colwell R, Mekalanos JJ. The *Vibrio cholerae* O139 serogroup antigen includes an O-antigen capsule and lipopolysaccharide virulence determinants. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 1994, 91(24): 11388-11392.
- [4] Zhang L, Radziejewska-Lebrecht J, Krajewska-Pietrasik D, Toivanen P, Skurnik M. Molecular and chemical characterization of the lipopolysaccharide O-antigen and its role in the virulence of *Yersinia enterocolitica* serotype O:

8. *Molecular Microbiology*, 1997, 23(1): 63-76.
- [5] Kenyon JJ, Reeves PR. The Wzy O-antigen polymerase of *Yersinia pseudotuberculosis* O:2a has a dependence on the Wzz chain-length determinant for efficient polymerization. *FEMS Microbiology Letters*, 2013, 349(2): 163-170.
- [6] Raetz CR, Whitfield C. Lipopolysaccharide endotoxins. *Annual Review of Biochemistry*, 2002, 71: 635-700.
- [7] Kong Q, Yang J, Liu Q, Alamuri P, Roland KL, Curtiss R, 3rd. Effect of deletion of genes involved in lipopolysaccharide core and O-antigen synthesis on virulence and immunogenicity of *Salmonella enterica* serovar typhimurium. *Infection and Immunity*, 2011, 79(10): 4227-4239.
- [8] Whitfield C. Biosynthesis of lipopolysaccharide O antigens. *Trends in Microbiology*, 1995, 3(5): 178-185.
- [9] Samuel G, Reeves P. Biosynthesis of O-antigens: genes and pathways involved in nucleotide sugar precursor synthesis and O-antigen assembly. *Carbohydrate Research*, 2003, 338(23): 2503-2519.
- [10] Gilbreath JJ, Colvocoresses Dodds J, Rick PD, Soloski MJ, Merrell DS, Metcalf ES. Enterobacterial common antigen mutants of *Salmonella enterica* serovar Typhimurium establish a persistent infection and provide protection against subsequent lethal challenge. *Infection and Immunity*, 2012, 80(1): 441-450.
- [11] Murray GL, Attridge SR, Morona R. Altering the length of the lipopolysaccharide O antigen has an impact on the interaction of *Salmonella enterica* serovar Typhimurium with macrophages and complement. *Journal of Bacteriology*, 2006, 188(7): 2735-2739.
- [12] Daniels C, Morona R. Analysis of *Shigella flexneri* wzz (Rol) function by mutagenesis and cross-linking: wzz is able to oligomerize. *Molecular Microbiology*, 1999, 34(1): 181-194.
- [13] Batchelor RA, Haraguchi GE, Hull RA, Hull SI. Regulation by a novel protein of the bimodal distribution of lipopolysaccharide in the outer membrane of *Escherichia coli*. *Journal of Bacteriology*, 1991, 173(18): 5699-5704.
- [14] Morona R, van den Bosch L, Manning PA. Molecular, genetic, and topological characterization of O-antigen chain length regulation in *Shigella flexneri*. *Journal of Bacteriology*, 1995, 177(4): 1059-1068.
- [15] Franco AV, Liu D, Reeves PR. A Wzz (Cld) protein determines the chain length of K lipopolysaccharide in *Escherichia coli* O8 and O9 strains. *Journal of Bacteriology*, 1996, 178(7): 1903-1907.
- [16] Woodward R, Yi W, Li L, Zhao G, Eguchi H, Sridhar PR, Guo H, Song JK, Motari E, Cai L, Kelleher P, Liu X, Han W, Zhang W, Ding Y, Li M, Wang PG. In vitro bacterial polysaccharide biosynthesis: defining the functions of Wzy and Wzz. *Nature Chemical Biology*, 2010, 6(6): 418-423.
- [17] Osawa K, Shigemura K, Iguchi A, Shirai H, Imayama T, Seto K, Raharjo D, Fujisawa M, Osawa R, Shirakawa T. Modulation of O-antigen chain length by the wzz gene in *Escherichia coli* O157 influences its sensitivities to serum complement. *Microbiology and Immunology*, 2013, 57(9): 616-623.
- [18] Murray GL, Attridge SR, Morona R. Regulation of *Salmonella typhimurium* lipopolysaccharide O antigen chain length is required for virulence; identification of FepE as a second Wzz. *Molecular Microbiology*, 2003, 47(5): 1395-1406.
- [19] Coward C, Sait L, Cogan T, Humphrey TJ, Maskell DJ. O-antigen repeat number in *Salmonella enterica* serovar Enteritidis is important for egg contamination, colonisation of the chicken reproductive tract and survival in egg albumen. *FEMS Microbiology Letters*, 2013, 343(2): 169-176.
- [20] Crawford RW, Keestra AM, Winter SE, Xavier MN, Tsolis RM, Tolstikov V, Baumler AJ. Very long O-antigen chains enhance fitness during *Salmonella*-induced colitis by increasing bile resistance. *PLoS Pathogens*, 2012, 8(9): e1002918.
- [21] Larue K, Kimber MS, Ford R, Whitfield C. Biochemical and structural analysis of bacterial O-antigen chain length regulator proteins reveals a conserved quaternary structure. *The Journal of Biological Chemistry*, 2009, 284(11): 7395-7403.
- [22] Papadopoulos M, Morona R. Mutagenesis and chemical cross-linking suggest that Wzz dimer stability and oligomerization affect lipopolysaccharide O-antigen modal chain length control. *Journal of Bacteriology*, 2010, 192(13): 3385-3393.
- [23] Morona R, Van Den Bosch L, Daniels C. Evaluation of Wzz/MPA1/MPA2 proteins based on the presence of coiled-coil regions. *Microbiology*, 2000, 146(Pt 1): 1-4.
- [24] Bastin DA, Stevenson G, Brown PK, Haase A, Reeves PR. Repeat unit polysaccharides of bacteria: a model for

- polymerization resembling that of ribosomes and fatty acid synthetase, with a novel mechanism for determining chain length. *Molecular Microbiology*, 1993, 7(5): 725-734.
- [25] Morona R, van den Bosch L, Manning PA. Molecular, genetic, and topological characterization of O-antigen chain length regulation in *Shigella flexneri*. *Journal of Bacteriology*, 1995, 177(4): 1059-1068.
- [26] Tocilj A, Munger C, Proteau A, Morona R, Purins L, Ajamian E, Wagner J, Papadopoulos M, Van Den Bosch L, Rubinstein JL, Fethiere J, Matte A, Cygler M. Bacterial polysaccharide co-polymerases share a common framework for control of polymer length. *Nature Structural & Molecular Biology*, 2008, 15(2): 130-138.
- [27] Kalynych S, Ruan X, Valvano MA, Cygler M. Structure-guided investigation of lipopolysaccharide O-antigen chain length regulators reveals regions critical for modal length control. *Journal of Bacteriology*, 2011, 193(15): 3710-3721.
- [28] Farizano JV, Pescaretti Mde L, Lopez FE, Hsu FF, Delgado MA. The PmrAB system-inducing conditions control both lipid A remodeling and O-antigen length distribution, influencing the Salmonella Typhimurium-host interactions. *The Journal of Biological Chemistry*, 2012, 287(46): 38778-38789.
- [29] Pescaretti Mde L, Lopez FE, Morero RD, Delgado MA. The PmrA/PmrB regulatory system controls the expression of the wzzfepE gene involved in the O-antigen synthesis of Salmonella enterica serovar Typhimurium. *Microbiology*, 2011, 157(Pt 9): 2515-2521.
- [30] Cuccui J, Thomas RM, Moule MG, D'Elia RV, Laws TR, Mills DC, Williamson D, Atkins TP, Prior JL, Wren BW. Exploitation of bacterial N-linked glycosylation to develop a novel recombinant glycoconjugate vaccine against *Francisella tularensis*. *Open Biology*, 2013, 3(5): 130002.

Regulation of the O-antigen polysaccharide chain length by Wzz – A review

Donglei Han, Zhongrui Ma, Min Chen *

National Glycoengineering Research Center, State Key Laboratory of Microbial Technology, Shandong University, Jinan 250100, Shandong Province, China

Abstract: The O-antigen of Gram-negative bacterium plays an important role in the signal identification, adhesion, immune evasion and other processes. There are three O-antigen polysaccharides biosynthesis mechanisms according to the type of the flippase that is involved. The Wzy-dependent mechanism is more commonly seen. In Wzy-dependent mechanism, the *wzz* gene is involved in regulating the length of O-antigen polysaccharide chain which can affect antigenicity of the pathogen and immune response of the host. Based on the crystal structure of Wzz (regulator of the O-antigen polysaccharides length), different length of O-antigen chain can be obtained through molecular modification of the gene *wzz*. Conjugating O-antigen or its mutants of a pathogen to a carrier protein could help to develop a vaccine that have both a good target specificity and a strong immunogenicity. Therefore, it is important to understand the function, structure and mechanism of Wzz for the development and production of glycoconjugates vaccine.

Keywords: O-antigen, Wzz (regulator of the O-antigen polysaccharides length), polysaccharide repeat unit

(本文责编: 张晓丽)

Supported by the National Natural Science Foundation of China (31270983, 31070824, J1103515), by the Natural Science Foundation of Shandong Province (2009ZRB019SQ) and by the Scientific Research Foundation for the Returned Overseas Chinese Scholars of State Education Ministry

* Corresponding author. E-mail: chenmin@sdu.edu.cn

Received: 15 November 2013/Revised: 6 March 2014