

微生物学报 *Acta Microbiologica Sinica*
55 (5) :521 - 528; 4 May 2015
ISSN 0001 - 6209; CN 11 - 1995/Q
<http://journals.im.ac.cn/actamicrocn>
doi: 10.13343/j.cnki.wsxb.20140485

细菌体内的蛋白质降解

李淑娴, 姚玉峰*

上海交通大学医学院基础医学院免疫学与微生物学系, 上海 200025

摘要:为了适应多变的外界环境, 细菌利用蛋白降解来清除体内不需要的蛋白质。AAA + 蛋白酶降解机制在细菌蛋白质质量控制系统中发挥重要作用, 而在放线菌中发现的蛋白酶体揭示了原核生物体内一个崭新的蛋白质降解机制。蛋白酶只识别携带降解决定子的底物, 确保了蛋白质降解的特异性, 除此之外细菌还通过一些其他方式调控蛋白质的降解与否。随着真核生物体内泛素依赖的蛋白酶体降解途径的发现, 蛋白质降解过程参与调控机体生理活动的功能也逐渐为人所知。研究发现, 蛋白质降解参与调控细菌的生长、分化, 并与细菌的应激反应以及毒力等相关。本文将对细菌中存在的 AAA + 蛋白质降解机制, 包括其结构、对底物的降解过程及其生理功能等进行阐述。

关键词:细菌, 蛋白酶, 类泛素蛋白-蛋白酶系统, 受调控的蛋白质降解

中图分类号: Q936 **文章编号:** 0001-6209 (2015) 05-0521-08

细菌经常面临外界环境的变化, 比如温度、pH 的骤变、营养物质的匮乏等, 这些压力环境会造成细菌体内错误折叠蛋白的积累, 对于细菌是致命的。因此为了维持正常代谢和压力刺激下体内蛋白质的动态平衡, 细菌拥有一套由蛋白酶及伴侣分子组成的蛋白质质量控制系统 (protein quality control system, PQC)^[1]——清除体内错误折叠或不需要的蛋白质, 释放出氨基酸和能量以合成新的有功能的蛋白质。

组成 PQC 系统的主要是一些 AAA + (ATPases associated with diverse cellular activities)^[2] 蛋白酶和与其功能相关的分子伴侣。由于蛋白质降解是一个消耗 ATP 且不可逆的过程, 因此对底物的识别必须是高度特异的, 以防止蛋白质降解过程不受控制, 细菌还有一系列其他方式来调控在特定时间特殊蛋白

质的降解。20 世纪 80 年代首次发现在放线菌属中存在与真核生物类似的蛋白酶体, 这一降解机制在结核分枝杆菌中发挥重要功能。此外, 研究表明, 蛋白质降解参与了对细菌的调控过程, 通过对一些调控蛋白的激活或者抑制影响细菌的各项生命活动, 包括细菌的生长、分化、孢子的形成等, 还与细菌的应激反应以及毒力等相关^[3]。

1 AAA + 蛋白酶

细菌体内绝大部分蛋白质的降解由 AAA + 蛋白酶负责, 在革兰阴性菌例如大肠杆菌中主要有 5 种 AAA + 蛋白酶: ClpAP、ClpXP、HslUV、Lon 和 FtsH; 而在革兰阳性菌例如枯草芽孢杆菌中总计有 7 种不同的 AAA + 蛋白酶: ClpCP、ClpEP、ClpXP、

基金项目:国家自然科学基金项目 (31070114); 国家“973 项目”——国家重点基础研究发展计划 (2015CB554203)

* 通信作者。Tel/Fax: +86-21-64671226; E-mail: yfyao@sjtu.edu.cn

作者简介:李淑娴 (1990 -), 女, 江苏南京人, 硕士研究生, 研究方向为蛋白的乙酰化修饰。E-mail: shuxian532@126.com

收稿日期: 2014-10-11; **修回日期:** 2014-12-03

HslUV、LonA、LonB 和 FtsH。

1.1 蛋白酶的结构

虽然不同的蛋白酶通过识别不同底物而发挥不同功能,它们却有着相似的结构,所有的 AAA + 蛋白酶都由两部分组成,一个肽酶 (peptidase/protease) 和一个解折叠酶 (unfoldase/ATPase),关于 AAA + 蛋白酶的详细结构,请参考综述^[1],这里就不再赘述。

解折叠酶似六边形螺帽结构,其中一个六边形面与肽酶结合,两者的孔道对齐后为解折叠的蛋白质从 ATP 酶进入肽酶提供了一个通道^[4]。肽酶与一个或者两个 ATP 酶六聚体形成有活性的蛋白酶结构,它的功能在于进一步降解并清除已经被解折叠的底物^[1]。解折叠酶-肽酶复合物是动态变化的,例如 ClpXP 蛋白酶在 ADP 存在或者核苷酸缺失时,复合物发生解聚。

1.2 降解决定子 (degron)

携带降解决定子是大多数蛋白酶底物的一个共同特点,通常位于底物的 N 端或 C 端,因此容易被蛋白酶或者连接蛋白识别并结合。大多数降解决定子存在于靶蛋白编码序列中,而少数降解决定子存在于翻译过程中或翻译后添加到靶蛋白上。

1.2.1 固有识别信号: 很多蛋白 N 端附近的序列与降解密切相关,甚至 N 端一个氨基酸的改变可以致使蛋白质对蛋白酶敏感,这就是 N 端法则^[5]。比如在大肠杆菌中,以 F、L、W 或 Y 开始的蛋白可以被 ClpS 这个连接蛋白识别,然后靶蛋白被递送至 ClpAP 中降解^[6]; RepA N 端的 1 - 15 个氨基酸含 ClpAP 识别所必须的序列^[7]; UmuD N 端的 30 个氨基酸对于 Lon 降解 UmuD 是必须的^[8]。

除了 N 端法则,一些蛋白酶也能识别底物 C 端的降解信号。比如 Lon 对 SulA 的降解,需要其 C 端组氨酸的存在。Hoskins 等研究则发现,当固有识别信号存在于相反的末端或者中间部分时,底物也会被降解^[9]。

1.2.2 降解标签: 在真核生物中,底物先被泛素标记,进而被蛋白酶体识别后降解,而在细菌体内没有泛素的存在,只有少数已知的标记的蛋白质降解。其中最典型的就 SsrA 标签——11 个氨基酸序列 (AANDENYALAA),在反式翻译过程中被 tmRNA 添加到多肽链的 C 端。SsrA 标记的蛋白质主要依赖 ClpXP 的降解,FtsH、ClpAP 也可以降解一些携带

SsrA 序列的蛋白^[10-11]。

多聚磷酸盐能促进 Lon、ClpAP 对一些核糖体蛋白的降解,被认为是大肠杆菌中存在的另一种底物标记^[12]。多聚磷酸盐同时结合到蛋白酶和底物上,在体外和体内都能促进底物降解,但其激活降解的机制尚不清楚。

1.3 蛋白酶对底物的降解过程

1.3.1 底物识别: 由于蛋白酶对底物不可逆的降解作用,特异地识别、清除不需要的底物显得尤为重要。蛋白酶对底物的识别通常有两种形式:直接识别和在连接蛋白的协助下间接识别。

ClpXP 与 SsrA 降解标签之间的互作在直接识别类型中研究的最为透彻。虽然 SsrA 标签含 11 个氨基酸,ClpXP 只识别其末端的两个甘氨酸及 C 端的 α 羧基。ClpX 轴向孔中分布的 3 套 loops (RKH, pore1, pore 2 loops) 负责对 SsrA 降解标签的识别。RKH loops 围绕在 ClpX 孔道入口处,带正电,可以吸引带负电的序列。RKH loops 的突变体中,改变了 ClpX 的特异性并且降低了 ClpX 对 SsrA 标记底物的特异性,这暗示了 RKH loops 作为底物进入 ClpX 孔道的选择器。一旦底物进入了 ClpX 的孔道,位于 ClpX 孔道深处的 pore 2 loops 会与 SsrA 标签 C 端两个丙氨酸相互作用^[13]。

连接蛋白是一类能够传递特异性底物的蛋白质。目前,大肠杆菌中鉴定出 4 种连接蛋白, SspB、UmuD、RssB 给 ClpXP 传递底物,而 ClpS 传递底物至 ClpAP;在枯草杆菌中也鉴定出 4 种连接蛋白, MecA、McsB、YpbH 与蛋白酶 ClpC 相互作用, YjbH 则与 ClpX 一起发挥作用。SspB 首先在大肠杆菌中被鉴定出来,由两个功能区域组成,中间被一段非结构片段隔开。其 N 端形成二聚体,与结合 SsrA 标签相关,C 端为 ClpX 结合区域,因此 SspB 可以将携带 SsrA 标签的底物传递至 ClpX,有效提高了 ClpX 孔道附近的底物浓度,促进底物降解。解折叠酶 ClpX 识别 SsrA 标签 C 端的 AA 序列, SspB 结合到 SsrA 标签 N 端序列 (AAND—Y);而 ClpA 对 SsrA 的识别序列与 SspB 有重叠,因此 SspB 抑制 ClpA 对 SsrA 标记蛋白的降解^[14]。

1.3.2 底物的降解: 蛋白酶识别的底物,被解折叠后才能进入肽酶降解活性中心,这一过程主要由解折叠酶的 AAA + 模块执行。ATP 循环不断地结合、水解,导致解折叠酶的刚体构象发生改变,产生拉

力,通过 pore loops 的上下运动将拉力传至底物,使底物穿过解折叠酶的孔道并生解折叠,进入肽酶的活性中心^[15]。这一“拉力”模型虽然受到普遍认可,但还需要进一步的实验证实。降解已被折叠的底物比降解未被折叠的底物快很多,这表明底物的解折叠是蛋白质降解过程的限速步骤。解折叠的速率以及成功与否跟降解标签所在局部区域的结构原件稳定性相关^[16]。不同的蛋白酶通过不同的活性位点来裂解肽键,一旦底物进入肽酶的催化水解中心,高浓度物活性位点可以确保底物被多次剪切,形成 10 个氨基酸左右的片段。小片段可直接扩散出蛋白酶,而大降解产物的输出需要解折叠酶的协助。

2 原核生物类泛素蛋白 (Pup)-蛋白酶体系统

泛素-蛋白酶体通路是真核生物调控细胞内蛋白质水平、消除错误折叠蛋白的重要机制。Dahlmann 等利用电镜技术在嗜酸性热原体中发现类似蛋白酶体核心颗粒的存在,首次证明原核生物体内存在蛋白酶体^[17]。2008 年, Pearce 等在结核分枝杆菌 (Mtb) 中发现了与泛素功能相似的蛋白质,命名为原核类泛素蛋白 (prokaryotic ubiquitin-like protein, Pup)^[18]。Pup 可以在辅助因子的作用下标记多种功能蛋白,即类泛素化修饰,并介导被标记的底物被蛋白酶体降解。Pup-蛋白酶体通路的发现揭示了原核生物中一个崭新的蛋白质降解机制。

2.1 原核蛋白酶体的结构

真核细胞中最普遍的是 26S 蛋白酶体,包含一个 20S 核心颗粒 (Core Particle, CP) 负责对底物的降解,和两个 19S 调节颗粒 (regulatory particle, RP) 负责对底物的解折叠并转移底物至 CP^[19]。Mtb 蛋白酶体的 CP 在结构上与真核生物的蛋白酶体 20S 核心颗粒相似,都是由 28 个亚基 ($\alpha\beta\beta\beta\alpha\gamma$) 构成高度约 150 Å、直径约 115 Å 的筒状结构,两个外部环状结构由 7 个 α 亚基构成,两个内部环状结构由 7 个 β 亚基构成^[20]。与真核生物不同的是, Mtb 蛋白酶体核心颗粒中只含有一种 α 亚基和一种 β 亚基。原核蛋白酶体外部的两个环状结构分别由 7 个相同的 α 亚基构成,这两个外环具有“门”的作用,阻止底物随意进入蛋白酶体^[21],研究发现 α 亚基 N 端 2-9 个氨基酸的缺失可以削弱“门”的阻碍作

用,提高蛋白酶体降解底物的活性^[22]。原核蛋白酶体的活性位点位于 β 亚基中, β 亚基的 N 端有胰凝乳蛋白酶活性,因此 β 亚基组成的两个内环具有蛋白质降解作用。真核蛋白酶体 7 个不同的 β 亚基决定对底物的偏好性,而 Mtb 蛋白酶体的底物结合口袋集合了真核蛋白酶体中各 β 亚基特点^[22],决定了其对底物具有广泛地特异性。 β 亚基在蛋白酶体装配过程中隐藏苏氨酸活性位点,以防止其暴露后降解正常蛋白。

2.2 蛋白酶体的 ATP 酶组分: Mpa (mycobacterial proteasome ATPase)

原核蛋白酶体也需要像真核蛋白酶体 19S 调节颗粒一样的分子伴侣,依赖 ATP 解折叠底物,并将底物传递至蛋白酶体催化活性中心。PAN (proteasome activating nucleotidase) 是甲烷球菌蛋白酶体的 ATP 酶,能够促进核心颗粒对于底物的降解。Mpa (mycobacterial proteasome ATPase) 是 Mtb 中与 PAN 同源的六聚体,但其 ATP 酶活性相对较低,主要功能为传递底物。与真核生物的 19S 调节颗粒相类比, Mpa 与核心颗粒也应有相互作用,但由于两者在体外的相互作用较弱^[23],它们之间如何互作还不清楚。细菌甚至哺乳动物的蛋白酶体 ATP 酶都含有一个 HbYX (疏水氨基酸-络氨酸-任意氨基酸) 的结构域,该结构域对于降解非常关键而与 ATP 酶活性无关。Mpa 也含有类似 HbYX 的结构,缺少该结构域的 Mpa 与 Mtb 20S 核心颗粒在体外的相互作用减弱^[24]。

2.3 类泛素蛋白

Rv2111c 是 Pearce 等利用细菌双杂交系统筛选与 Mpa 相互作用的蛋白时,鉴定到的一个蛋白^[18]。该蛋白不但与 Mpa 有相互作用,与 Mtb 蛋白酶体的一个底物 FabD 也具有相互作用,质谱结果显示 Rv2111c 的 C 端残基与 FabD 173 位赖氨酸之间形成异肽键。将 FabD 的第 173 位赖氨酸突变成后, FabD 不再被降解,证明了 Rv2111c 确实为蛋白降解的信号。一些已知的蛋白酶体底物如 PanB 等可以被 Rv2111c 在赖氨酸位点共价标记,因此 Rv2111c 被命名为原核类泛素蛋白 (Pup)。Pup 是一种具有螺旋倾向的无序蛋白, Pup 标记蛋白质后其 N 端仍保持无序状态, C 端形成螺旋结构,能与 Mpa 的 N 端螺旋结构域非共价作用,被 Mpa 传递入蛋白酶体进行降解^[25-26]。Pup 在放线菌中普遍存在,其 C 端

为 Gly-Gly-Gln 序列,与泛素 C 端保守的 Gly-Gly 序列有所不同。抗类泛素化蛋白的多抗在 Mtb 中能够识别很多蛋白,表明类泛素化在 Mtb 中广泛存在,但未发现多聚类泛素化的现象。

2.4 Pup-蛋白酶体降解过程

在一系列辅助因子的协助下,Mtb 中 Pup-蛋白酶体对底物的降解过程可概括如下:Pup 的 C 端 Gln 在去酰胺酶 Dop 催化下形成 Glu;PafA 连接酶通过水解 ATP,使 Pup C 端 Glu 发生磷酸化,并催化其以共价键的形式与底物蛋白上的 Lys 相连;Pup 标记的底物通过 Pup C 端与 Mpa N 端相互作用,Mpa 水解 ATP 打开蛋白酶体核心区域的门(α 亚基),并传递底物蛋白到蛋白酶体的核心区域(β 亚基),同时 Dop 促使去类泛素化,使 Pup 可被循环使用;底物经由蛋白酶体被降解^[27]。

3 细菌对蛋白质降解的调控

蛋白质降解是一个不可逆且消耗能量的过程,所以细菌严格监控蛋白质降解的发生与否,可能从以下几个方面对这一过程进行调控。

3.1 蛋白酶的数量或活性发生改变

许多蛋白酶属于热激蛋白,蛋白在热激状态易错误折叠,蛋白酶数量的增多对于这些蛋白质的降解具有重要意义。枯草芽孢杆菌中,lonA 在高温压力下表达,参与维持一些调控因子的低水平状态;而 lonB 依赖芽孢形成时的特殊 σ 因子才表达^[28]。除了蛋白酶数量的改变,与蛋白酶的竞争性结合在基因调控网络中也发挥着重要作用, λ 噬菌体中 cIII 蛋白可与 FtsH 竞争性结合,保护 cII 免受 FtsH 降解,从而调控噬菌体的溶源性转变。另一个比较激烈的调控蛋白质降解的方法是 T4 噬菌体利用蛋白酶抑制剂比如 PinA 来抑制蛋白质的降解。

底物能够通过影响蛋白酶 Lon 的构象而调控其降解速率。当底物不存在时,Lon 主要以无活性的形式存在;当底物 SulA 与 Lon 结合,Lon 形成高 ATP 酶活而无降解底物活性的构象;当底物 β 20 与 Lon 结合,Lon 变成低 ATP 酶活,高降解活性的状态^[29]。

3.2 连接蛋白数量或活性变化

最典型的的就是大肠杆菌体内的重要 σ 因子 RpoS,其降解依赖蛋白酶 ClpXP 及连接蛋白 RssB。而只有磷酸化的 RssB 才能介导 RpoS 的降解,因此,

大肠杆菌很可能通过调控 RssB 的磷酸化状态而控制体内 RpoS 的降解水平^[30]。除了 RpoS,下文中提到的 ComK 的降解也受到其连接蛋白 MecK 的调控。

3.3 底物的可及性(accessibility)改变

底物的降解首先需要被蛋白酶识别,而底物的结构或者伴侣分子的变化等均会影响到底物与蛋白酶的接触,从而改变底物对蛋白酶的敏感性。 λ 噬菌体 O 蛋白在体内体外均不能稳定存在,而一旦其与 DNA 复制复合物结合就变得稳定^[31]。ClpX 对 MuA 的降解依赖底物的 C 端序列,而 MuB 也可以结合该 C 端序列,抑制降解。

值得一提的是,翻译后修饰特别是乙酰化,也可以影响到真核生物体内蛋白质的降解。比如在酵母体内发现,蛋白质 N 端的乙酰化可作为降解决定子,被泛素连接酶识别进而被降解^[32];Gibellini 等也发现线粒体中的 Lon 蛋白酶受到 SIRT3 的去乙酰化调控^[33]。我们课题组发现,细菌体内的蛋白酶比如 Lon 存在乙酰化修饰,并且乙酰化酶 Pat 在体外能够增强 Lon 的乙酰化水平。虽然原核生物体内关于乙酰化与蛋白质降解的关系还未见报道,但可以推测乙酰化在调控细菌体内的蛋白质降解过程也发挥作用,这一猜想需要我们进一步深入探索。

4 蛋白质降解对细菌的功能

为了适应外界多变的环境,细菌进化出了多种机制调控基因的表达,而蛋白质降解在一些调控机制中扮演了重要的角色。蛋白质降解对细菌的调控是多功能的,涉及细菌的分裂、分化、生长、应激反应、致病性等过程。

4.1 蛋白质降解与细菌的生长分化

在新月柄杆菌的细胞周期中,关键蛋白质的降解显得尤为重要。新月柄杆菌在细胞周期中必须经历从无柄游动细胞到有柄细胞的形态转变,有柄细胞才具有复制功能。TacA 是有柄细胞合成的转录因子,同时也是蛋白酶 ClpXP 的底物,ClpXP 可通过降解 TacA 的与否则来调控细菌的形态,从而影响细菌的分裂过程^[34]。Jonas 等发现,在压力状态下,蛋白酶 Lon 受到激活并降解复制起始蛋白 DnaA,从而控制新月柄杆菌在不良条件下的复制起始^[35]。

Raju 等利用蛋白质组学的方法鉴定出了 Mtb

蛋白酶 ClpP 的一个底物 WhiB1, 并且发现 WhiB1 的积累会导致 Mtb 的生长受到抑制^[36]。

生长进入稳定期的枯草芽孢杆菌为了适应外界环境变化可以分化成不同的细胞, 比如孢子、能够摄取外源 DNA 的感受态细胞或者生物膜形成细胞等, 这些生长分化过程都与蛋白质降解密切相关。感受态细胞的形成由转录激活因子 ComK 控制, 在对数生长期, ComK 被配体蛋白 MecA 识别后经 ClpCP 降解, 因此对数生长期几乎不形成感受态细胞。进入稳定期后, 随着细菌密度增加会激活抗配体蛋白 ComS, 与 ComK 竞争结合 MecA, 抑制 ComK 的降解, ComK 含量升高到一定程度的细胞形成感受态细胞^[37]。枯草芽孢杆菌在恶劣环境中会形成强耐受孢子, 这一复杂的过程则需要蛋白酶 FtsH、ClpP、

ClpC 和 ClpX 的参与。

4.2 蛋白质降解与细菌的应激反应

细菌对压力环境的反应通常是由 σ 转录因子负责, 在 *E. coli* 体内有 7 种不同的 σ 因子, 每种 σ 因子在不同的压力环境中快速激活一系列特殊基因的表达。

σ^s 是 *E. coli* 中应激反应的主要调控因子, 在非压力状态下, σ^s 合成之后很快被配体蛋白 RssB 识别, 经 ClpXP 降解 (图 1)。而在饥饿、高渗透压、高温等压力条件下, σ^s 能够稳定存在不被降解^[38]。这是由于压力环境激活抗连接蛋白 IraP、IraM 和 IraD 等表达, 干扰 RssB 与 σ^s 的结合, 同时 σ^s 合成增加。除了 σ^s , 与热击反应相关的 σ^{32} 对细菌的调控与蛋白酶 FtsH 相关。

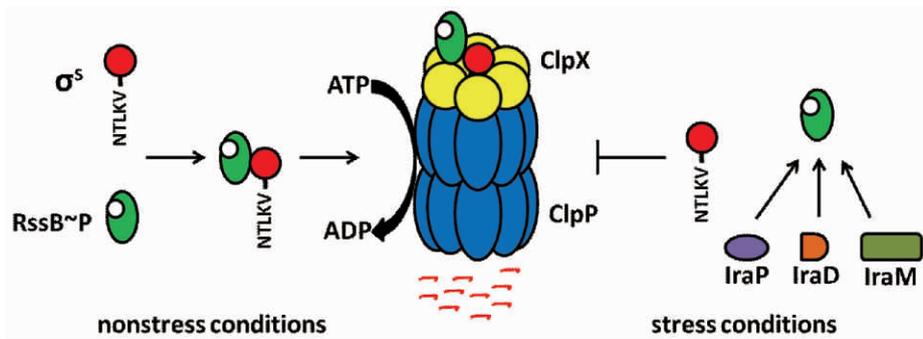


图 1. 大肠杆菌体内受调控的 σ^s 的降解

Figure 1. Regulated degradation of σ^s in *E. coli*.

持留菌是指一类对抗生素敏感的细菌中出现的极少量能够抵御抗生素杀伤作用的细菌, 在抗生素存在时处于静止状态不生长, 一旦抗生素去除, 又可恢复生长。Maisonneuve^[39] 等研究发现, 持留菌的形成与其体内抗毒素被 Lon 降解直接相关。

4.3 蛋白质降解与细菌的毒力

细菌病原体侵染宿主过程也依赖蛋白质的降解。一方面, 清除病原菌进入宿主后累积的错误折叠蛋白, 提高了细菌对不良环境的耐受; 另一方面, 及时降解一些毒力调节因子, 增强细菌毒力。

敲除 *lon* 的鼠伤寒沙门菌虽然出现了诱导巨噬细胞大量凋亡、对上皮细胞的入侵增强以及 SPI1 (Salmonella pathogenicity island 1) 基因表达上调的表型^[40], 但是其半数致死量却是野生型的 $10^3 - 10^6$ 倍, 且在小鼠巨噬细胞中无法存活^[41], 这表明敲除

lon 的沙门菌毒力下降。值得注意的是, *lon* 敲除后 SPI1 基因表达上调, 这是由于 HilC、HilD 均为 Lon 的底物, 而 HilC、HilD 的积累导致 HilA 表达上调, 进而 SPI1 基因表达上调^[42]。此外, Lon 缺失的沙门菌对氧化压力、酸性压力敏感^[41]。综合上述, 蛋白酶 Lon 在沙门菌侵染过程中的最大贡献在于抵抗氧化压力等对细菌的杀伤。

溶胞素 (listeriolysin O, LLO) 是病原体李斯特菌的重要毒力因子, 入侵过程中病原菌借助分泌的 LLO 躲避宿主吞噬体。LLO 活性依赖蛋白酶 ClpP, ClpP 突变的李斯特菌在宿主体内复制能力大大降低, 很快被宿主清除^[43]。除了毒力因子 LLO, ClpC 还调控 *inlA*、*inlB*、*actA* 的表达^[44], 揭示了 ClpP 介导的蛋白质降解在调控李斯特菌毒力因子表达过程中具有一定的普遍性。

5 结语

近年来,随着蛋白质降解参与对细菌调控的功能被普遍认可,对于蛋白酶参与的细菌调控网络研究很多,但仍然存在很多关键的问题有待解决,比如一些调控蛋白是怎样被识别的,其降解又是怎样被激活或抑制的。很多的结果都是以大肠杆菌为实验对象获得的,在其他细菌体内蛋白质降解是否有相同的功能还需进一步验证。另外,目前已经鉴定出来的蛋白酶底物很少,极大地妨碍了对于蛋白质降解功能的研究。我们期待基因组学、转录组学、蛋白质组学的快速发展能够协助更多底物被鉴定出来,从而帮助我们更好的理解蛋白酶的降解机制,更深入地探索蛋白质降解在细菌各种生理过程的作用。

参考文献

- [1] Dougan D. Regulated Proteolysis in Microorganisms. New York: Springer, 2013:1-327
- [2] Neuwald AF, Aravind L, Spouge JL, Koonin EV. AAA + : A class of chaperone-like ATPases associated with the assembly, operation, and disassembly of protein complexes. *Genome Research*, 1999, 9(1): 27-43.
- [3] Konovalova A, Sogaard-Andersen L, Kroos L. Regulated proteolysis in bacterial development. *FEMS Microbiology Reviews*, 2014, 38(3): 493-522.
- [4] Sousa MC, Trame CB, Tsuruta H, Wilbanks SM, Reddy VS, McKay DB. Crystal and solution structures of an HslUV protease-chaperone complex. *Cell*, 2000, 103(4): 633-643.
- [5] Kim HK, Kim RR, Oh JH, Cho H, Varshavsky A, Hwang CS. The N-terminal methionine of cellular proteins as a degradation signal. *Cell*, 2014, 156(1-2): 158-169.
- [6] Erbse A, Schmidt R, Bornemann T, Schneider-Mergener J, Mogk A, Zahn R, Dougan DA, Bukau B. ClpS is an essential component of the N-end rule pathway in *Escherichia coli*. *Nature*, 2006, 439(7077): 753-756.
- [7] Hoskins JR, Kim SY, Wickner S. Substrate recognition by the ClpA chaperone component of ClpAP protease. *Journal of Biological Chemistry*, 2000, 275(45): 35361-35367.
- [8] Gonzalez M, Frank EG, Levine AS, Woodgate R. Lon-mediated proteolysis of the *Escherichia coli* UmuD mutagenesis protein: in vitro degradation and identification of residues required for proteolysis. *Genes & Development*, 1998, 12(24): 3889-3899.
- [9] Hoskins JR, Yanagihara K, Mizuuchi K, Wickner S. ClpAP and ClpXP degrade proteins with tags located in the interior of the primary sequence. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2002, 99(17): 11037-11042.
- [10] Gottesman S, Roche E, Zhou Y, Sauer RT. The ClpXP and ClpAP proteases degrade proteins with carboxy-terminal peptide tails added by the SsrA-tagging system. *Genes & Development*, 1998, 12(9): 1338-1347.
- [11] Herman C, Thevenet D, Bouloc P, Walker GC, D'Ari R. Degradation of carboxy-terminal-tagged cytoplasmic proteins by the *Escherichia coli* protease HflB (FtsH). *Genes & Development*, 1998, 12(9): 1348-1355.
- [12] Kuroda A, Nomura K, Ohtomo R, Kato J, Ikeda T, Takiguchi N, Ohtake H, Kornberg A. Role of inorganic polyphosphate in promoting ribosomal protein degradation by the Lon protease in *E. coli*. *Science*, 2001, 293(5530): 705-708.
- [13] Martin A, Baker TA, Sauer RT. Diverse pore loops of the AAA + ClpX machine mediate unassisted and adaptor-dependent recognition of ssrA-tagged substrates. *Molecular Cell*, 2008, 29(4): 441-450.
- [14] Dougan DA, Weber-Ban E, Bukau B. Targeted delivery of an ssrA-tagged substrate by the adaptor protein SspB to its cognate AAA plus protein ClpX. *Molecular Cell*, 2003, 12(2): 373-380.
- [15] Martin A, Baker TA, Sauer RT. Pore loops of the AAA plus ClpX machine grip substrates to drive translocation and unfolding. *Nature Structural & Molecular Biology*, 2008, 15(11): 1147-1151.
- [16] Cordova JC, Olivares AO, Shin Y, Stinson BM, Calmat S, Schmitz KR, Aubin-Tam ME, Baker TA, Lang MJ, Sauer RT. Stochastic but highly coordinated protein unfolding and translocation by the ClpXP proteolytic machine. *Cell*, 2014, 158(3): 647-658.
- [17] Dahlmann B, Kopp F, Kuehn L, Niedel B, Pfeifer G, Hegerl R, Baumeister W. The multicatalytic proteinase (prosome) is ubiquitous from eukaryotes to archaeobacteria. *FEBS Letters*, 1989, 251(1-2): 125-131.
- [18] Pearce MJ, Mintseris J, Ferreyra J, Gygi SP, Darwin KH. Ubiquitin-like protein involved in the proteasome pathway of *Mycobacterium tuberculosis*. *Science*, 2008,

322 (5904) : 1104-1107.

- [19] Pickart CM, Cohen RE. Proteasomes and their kin: proteases in the machine age. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, 2004, 5 (3) : 177-187.
- [20] Hu G, Lin G, Wang M, Dick L, Xu RM, Nathan C, Li H. Structure of the *Mycobacterium tuberculosis* proteasome and mechanism of inhibition by a peptidyl boronate. *Molecular Microbiology*, 2006, 59 (5) : 1417-1428.
- [21] Li D, Li H, Wang T, Pan H, Lin G, Li H. Structural basis for the assembly and gate closure mechanisms of the *Mycobacterium tuberculosis* 20S proteasome. *The EMBO Journal*, 2010, 29 (12) : 2037-2047.
- [22] Lin G, Hu G, Tsu C, Kunes YZ, Li H, Dick L, Parsons T, Li P, Chen Z, Zwickl P, Weich N, Nathan C. *Mycobacterium tuberculosis* prcBA genes encode a gated proteasome with broad oligopeptide specificity. *Molecular Microbiology*, 2006, 59 (5) : 1405-1416.
- [23] Wang T, Li H, Lin G, Tang C, Li D, Nathan C, Darwin KH. Structural insights on the *Mycobacterium tuberculosis* proteasomal ATPase Mpa. *Structure*, 2009, 17 (10) : 1377-1385.
- [24] Striebel F, Hunkeler M, Summer H, Weber-Ban E. The mycobacterial Mpa-proteasome unfolds and degrades pupylated substrates by engaging Pup' s N-terminus. *EMBO Journal*, 2010, 29 (7) : 1262-1271.
- [25] Chen X, Solomon WC, Kang Y, Cerda-Maira F, Darwin KH, Walters KJ. Prokaryotic ubiquitin-like protein Pup is intrinsically disordered. *Journal of Molecular Biology*, 2009, 392 (1) : 208-217.
- [26] Wang T, Darwin KH, Li HL. Binding-induced folding of prokaryotic ubiquitin-like protein on the *Mycobacterium tuberculosis* proteasomal ATPase targets substrates for degradation. *Nature Structural & Molecular Biology*, 2010, 17 (11) : 1352-U1208.
- [27] Wang CJ, Lin J, Zhang JJ. Progress in the study of prokaryotic ubiquitin-like protein (Pup)-proteasome system. *Progress in Biochemistry and Biophysics*, 2011, 38 (12) : 1091-1098. (in chinese)
汪春军, 林进, 张俊杰. 原核生物类泛素蛋白 Pup-蛋白酶体系的研究进展. *生物化学与生物物理进展*, 2011, 38 (12) : 1091-1098.
- [28] Serrano M, Hovel S, Moran CP, Jr., Henriques AO, Volker U. Forespore-specific transcription of the lonB gene during sporulation in *Bacillus subtilis*. *Journal of Bacteriology*, 2001, 183 (10) : 2995-3003.
- [29] Gur E, Sauer RT. Degrons in protein substrates program the speed and operating efficiency of the AAA + Lon proteolytic machine. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2009, 106 (44) : 18503-18508.
- [30] Zhou Y, Gottesman S, Hoskins JR, Maurizi MR, Wickner S. The RssB response regulator directly targets sigma (S) for degradation by ClpXP. *Genes & Development*, 2001, 15 (5) : 627-637.
- [31] Wegrzyn G, Pawlowicz A, Taylor K. Stability of coliphage lambda DNA replication initiator, the lambda O protein. *Journal of Molecular Biology*, 1992, 226 (3) : 675-680.
- [32] Hwang CS, Shemorry A, Varshavsky A. N-terminal acetylation of cellular proteins creates specific degradation signals. *Science*, 2010, 327 (5968) : 973-977.
- [33] Gibellini L, Pinti M, Beretti F, Pierri CL, Onofrio A, Riccio M, Carnevale G, De Biasi S, Nasi M, Torelli F, Boraldi F, De Pol A, Cossarizza A. Sirtuin 3 interacts with Lon protease and regulates its acetylation status. *Mitochondrion*, 2014, 18 : 76-81.
- [34] Bhat NH, Vass RH, Stoddard PR, Shin DK, Chien P. Identification of ClpP substrates in *Caulobacter crescentus* reveals a role for regulated proteolysis in bacterial development. *Molecular Microbiology*, 2013, 88 (6) : 1083-1092.
- [35] Jonas K, Liu J, Chien P, Laub MT. Proteotoxic stress induces a cell-cycle arrest by stimulating Lon to degrade the replication initiator DnaA. *Cell*, 2013, 154 (3) : 623-636.
- [36] Raju RM, Jedrychowski MP, Wei JR, Pinkham JT, Park AS, O' Brien K, Rehren G, Schnappinger D, Gygi SP, Rubin EJ. Post-translational regulation via Clp protease is critical for survival of *Mycobacterium tuberculosis*. *PLoS Pathogens*, 2014, 10 (3) : e1003994.
- [37] Smits WK, Eschevins CC, Susanna KA, Bron S, Kuipers OP, Hamoen LW. Stripping *Bacillus*: ComK auto-stimulation is responsible for the bistable response in competence development. *Molecular Microbiology*, 2005, 56 (3) : 604-614.
- [38] Battesti A, Majdalani N, Gottesman S. The RpoS-mediated general stress response in *Escherichia coli*. *Annual Review of Microbiology*, 2011, 65 : 189-213.
- [39] Maisonneuve E, Castro-Camargo M, Gerdes K. (p) ppGpp controls bacterial persistence by stochastic induction of toxin-antitoxin activity. *Cell*, 2013, 154 (5) : 1140-1150.
- [40] Boddicker JD, Jones BD. Lon protease activity causes

down-regulation of *Salmonella* pathogenicity island 1 invasion gene expression after infection of epithelial cells.

Infection and Immunity, 2004, 72 (4) : 2002-2013.

- [41] Takaya A, Suzuki M, Matsui H, Tomoyasu T, Sashinami H, Nakane A, Yamamoto T. Lon, a stress-induced ATP-Dependent protease, is critically important for systemic *Salmonella enterica* serovar typhimurium infection of mice. *Infection and Immunity*, 2003, 71 (2) : 690-696.
- [42] Takaya A, Kubota Y, Isogai E, Yamamoto T. Degradation of the HilC and HilD regulator proteins by

ATP-dependent Lon protease leads to downregulation of *Salmonella* pathogenicity island 1 gene expression.

Molecular Microbiology, 2005, 55 (3) : 839-852.

- [43] Gaillot O, Pellegrini E, Bregenholt S, Nair S, Berche P. The ClpP serine protease is essential for the intracellular parasitism and virulence of *Listeria monocytogenes*. *Molecular Microbiology*, 2000, 35 (6) : 1286-1294.
- [44] Nair S, Milohanic E, Berche P. ClpC ATPase is required for cell adhesion and invasion of *Listeria monocytogenes*. *Infection and Immunity*, 2000, 68 (12) : 7061-7068.

Proteolysis in bacteria – A review

Shuxian Li, Yufeng Yao *

Department of Immunology and Microbiology, School of Medicine, Shanghai Jiao Tong University, Shanghai 200025, China

Abstract: To adapt quickly to the environmental change, bacteria have evolved a protein quality control (PQC) network to remove unwanted proteins. AAA + (ATPases associated with diverse cellular activities) proteases form a major part of this PQC network, and the discovery of Pup (prokaryotic ubiquitin-like protein) –proteasome system revealed a novel mechanism of prokaryotic protein degradation. Proteolytic machines only degrade substrates bearing a degradation tag or degron to insure the proteolysis specificity. In addition, bacteria adopt different strategies to regulate the protein degradation. With the discovery of Ubiquitin-mediated protein degradation in eukaryotes, it has become evident that regulated protein degradation plays a crucial role in the cell response to environment change among eukaryotes and prokaryotes. Regulation by proteolysis has been shown to be involved in diverse bacterial cellular processes including growth, division, differentiation, pathogenesis and stress response. This review will focus on the structure, degradation process, and the function of AAA + proteolytic machines in bacteria.

Keywords: bacteria, protease, Pup-proteasome system, regulated proteolysis

(本文责编:王晋芳)

Supported by the National Natural Science Foundation of China (31070114) and by the Key Project of China National Programs for Fundamental Research and Development (2015CB554203)

* Corresponding author. Tel/Fax: +86-21-64671226; E-mail: yfyao@sjtu.edu.cn

Received: 11 October 2014/Revised:3 December 2014