

细菌信号传导系统

彭文涛 焦瑞身

(中国科学院上海植物生理研究所, 上海 200032)

细菌生活在易变的环境中, 营养物水平、毒物水平、酸度、温度、克分子渗透压浓度、湿度等环境因子快速而不可预言地变化着, 为了生存, 细菌演化出高级的信号传导系统, 引起对环境的适应性反应^[1]。细菌的适应性反应从快速瞬间运动性的变化到基因表达和细胞形态的长期全面重建^[2]。

研究表明这些适应性反应是由机制类似的信号传导系统介导的, 即所谓的两组份调节系统。这些两组份调节系统能处理一系列的信号任务^[3], 包括引起共生或致病的寄主检测和侵入, 对碳源、氮源、电子受体和磷酸等变化的代谢适应, 对培养基克分子渗透压浓度变化的生理反应, 趋化性和逆境诱导的分化如孢子形成和果实体形成等等。两组份调节系统已在10多种细菌中发现, 这包括根瘤农杆菌、慢生型大豆根瘤菌、百日咳博德特氏菌、产气肠杆菌、大肠杆菌、产气克雷伯氏菌、肺炎克氏杆菌、黄色粘球菌、绿脓杆菌、豌豆根瘤菌、苜蓿根瘤菌、金黄色葡萄球菌、鼠伤寒沙门氏菌等, 从目前已有资料可推算出, 仅在大肠杆菌中就可能有多至50种两组份调节系统。

细菌适应性反应机器能处理以下一些信号任务^[3]: (1) 刺激检测; (2) 信号加工, 包括输入信号的放大和整合; (3) 产生适合的输出反应; 这些信号任务对所有细胞感觉系统都是基本的。

1 细菌信号传导

控制对环境信号反应的基因可通过分析对此反应有缺陷的突变株细菌而得以确认, 随着许多信号传导蛋白的序列测定, 目前已清楚一

大类细菌适应性反应是由结构和功能类似的两同源蛋白质族的成员所控制, 由于这些两组份的中心地位, 这些信号传导系统被命名为两组份调节系统^[4], 如表1所示细菌中存在的一些两组份调节系统。

这些两组份调节系统由传感器(sensor)蛋白和反应调节器(response regulator)蛋白组成, 一般来说编码传感器蛋白和其搭档反应调节蛋白的基因是连锁的, 有时还是同一操纵子的组成部分。

传感器蛋白常位于细胞质膜上, 监测环境因子, 反应调节器蛋白位于细胞质内, 介导传感器信号引起的基因表达或运动性的变化(图1)。传感器蛋白在其羧基端有一由约240个氨基酸组成的传递器(transmitter), 反应调节器蛋白在其氨基端有一由约120个氨基酸组成的接收器(receiver)元件, 这些功能区分别起输入和输出元件的作用^[1-3]。传感器蛋白的输入功能区调节传递器的活性, 接收器接收到传感器信号便激活或抑制与其相连的输出功能区的活性, 从而引发反应。

唯一已阐明的传递器元件和接收器元件间通讯的机制涉及到磷酸化和脱磷酸化反应, 这些反应使传感器能调节其相应的接收器的磷酸化状态, 从而控制其输出活性。

这里需要指出的是, 两组分调节系统不能照字面上理解, 保留这个术语是因为它的历史重要性, 不同的传导系统常有两个以上的组分, 并且相当复杂。

表 1 细菌中存在的部分两组分调节系统

系 统	传感器	反应调节器	微生物
趋化性(Che)	CheA	CheB/CheY	Ea/Ec/St
氮素调节(Ntr)	NtrB(NRII)	NtrC(NRI)	Ec/Ka/Kp/Rm
外膜蛋白表达(Omp)	EnvZ	OmpR	Ec/St
磷素调节(Pho)	PhoR	PhoB	Bs/Ec/Kp/Pa/Sd
芽胞生成(Spo)	KinA/KinB	SpoOA/SpoOF	Bs
二羧酸运输(Dct)	DctB	DctD	Rl/Rm
磷酸甘油酸运输(Pgt)	PgtB	PgtA	St
农杆菌毒性(Vir)	VirA	VirG	At
沙门氏菌毒性(Vir)	PhoQ	PhoP	St
博德氏菌毒性(Vir)	BvgS	BvgA	Bp
运动和发育	FrzE	FrzE	Mx
固氮(Fix)	FixL	FixJ	Rm
结瘤(Nod)	NodV	NodW	Bj
硝酸盐还原酶表达(Nar)	NarX/NarQ	NarL	Ec
有氧代谢(Arc)	ArcB	ArcA	Ec
己糖磷酸吸收(Uhp)	UhpB	UhpA	Ec
感受态(Com)	ComP	ComA	Bs
降解性酶表达(Deg)	DegS	DegU	Bs

微生物缩写: At, *Agrobacterium tumefaciens*; Bj, *Bradyrhizobium japonicum*; Bp, *Bordetella pertussis*; Bs, *Bacillus subtilis*; Ea, *Enterobacter aerogenes*; Ec, *Escherichia coli*; Ka, *Klebsiella aerogenes*; Kp, *Klebsiella pneumoniae*; Mx, *Myxococcus xanthus*; Pa, *Pseudomonas aeruginosa*; Rl, *Rhizobium leguminosarum*; Rm, *Rhizobium meliloti*; Sd, *Shigella dysenteriae*; St, *Salmonella typhimurium*.

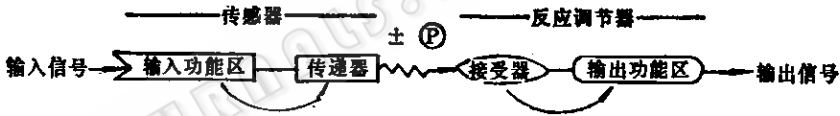


图 1 两组分调节系统模式图

2 传感器蛋白

传感器蛋白在其羧基端有约 240 个氨基酸顺序具有保守性, 这个保守功能区被称作传递器, 其氨基端部分的序列是可变的, 反映出它们能检测出不同类型的化学和物理刺激, 通常它们起输入元件的作用。

大多数的传感器蛋白位于细胞质膜上, 即跨膜蛋白, 其羧基端传递器元件伸向细胞质内, 它们一般都有两个疏水跨膜片段, 其间的序列构成了输入功能区(氨基端功能区), 部署在细胞质膜和细胞壁之间的围膜间隙里。少数几种传感器蛋白(如 NtrB)是可溶性的胞质蛋白, 没有疏水跨膜片段, 其氨基端可能具有输入功能, 对细胞内的信号起反应。

典型的传递器元件有几个由共同的几乎不

变的顺序组成的短的序列模块^[1](图 2)有着类似的排列方式, 但其间隔是可变的, 我们以其独特的氨基酸残基来命名这些序列模块: H、N、G1、G2 和 F 序列模块。H 序列模块位于传递器的氨基端部分, 是五个区域中最可变的, 其包含有自磷酸作用部位的组氨酸, 氨基端部分的剩余的氨基酸顺序是可变的, 氨基酸部分可能包含接收器特异性决定簇, 但目前尚无实验证据。其它的序列模块位于传递器的羧基端部分, 它们可能组成催化中心, G1 和 G1 序列模块富含甘氨酸, 类似于某些蛋白中的核苷酸结合花式, 它们之间的序列的长度和组成是可变的, 大约在间隔中间是 F 序列模块。

3 反应调节器蛋白

每一种传感器蛋白都有一相对应的反应调

节器蛋白。反应调节器蛋白在其氨基端大约有120个氨基酸顺序具有保守性,这个保守功能区被称为接收器。反应调节器蛋白总是胞质性质的,大多数情况下,它们的羧基端功能区(输出功能区)具有DNA结合或其它调节功能,对其目标基因进行转录调控。接收器元件和输出功能区常由易弯曲的衔接物连接。

不象传递器,接收器元件的结构研究得较清楚。典型的接收器有高度保守的一级结构(图2),有类似的高级结构^[4,6,7]。CheY只由接收器元件组成,无输出功能区,有关其结构和活化的信息能应用于所有反应调节器的接收器元件。四个高度保守的残基,相应于CheY上的Asp-12, Asp-13, Asp-57和Lys-109,在接收器元件的磷酸化和信号传导活性中起着中心作用。CheY是一种 α/β 桶,包括五套交替出现的由短环或转角连接的 β 链和 α -螺旋, β -链(1-5)平行排列形成一疏水内核, α -螺旋片段(A-E)缠绕在分子的外部,氨基端和羧基端都在这种粗糙圆筒结构的一端,而功能关键的残基(Asp-12, Asp-13, Asp-57和Lys-109)在相反端。三个天冬氨酸残基(Asp-12, Asp-13和Asp-57)位于两邻近 β 链的羧基端,位置相互靠近形成一种酸囊(acid pocket),Asp-57是CheY的磷酸化部位,酸囊是典型接收器所具有的特性,Asp-13几乎普遍存在,但大约有一半的接收器在位置12处是谷氨酸而不是天冬氨酸,许多接收器在位置14处也有酸性残基。在CheY里,Asp-13和Asp-57有助于结合二价离子,特别是 Mg^{2+} ,这在其磷酸化活性中起关键作用。

反应调节器蛋白羧基端区域的顺序是可变的,

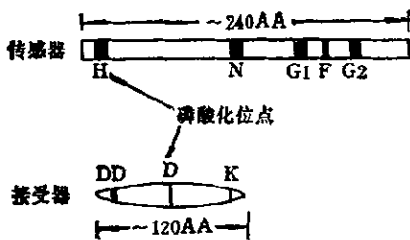


图2 通讯元件的顺序特性

的,根据它们之间顺序同源性,可以把它们划分为几大类^[2,3,9]:

NtrC 类。这一类包括 NtrC, DctD, PgtA, HydG 等。它们的羧基端功能区具有顺序同源性,这种同源性也在一些缺乏反应调节器氨基端功能区的蛋白质,如 NifA、TyrR 等中发现,它们有两个输出功能区,其中央的功能区与 σ 54形式的RNA多聚酶全酶反应,促进开放转录复合物的形成,羧基端功能区具有螺旋-转角-螺旋DNA结合花式,能结合在受调节的靶基因附近的增强子顺序。

OmpR 类。这一类包括 OmpR, PhoB, PhoMORF2, VirG, ArcA, PhoP 等,它们都是典型的DNA结合转录激活蛋白,它们中有些能结合在被调节的启动子上游的特异靶顺序。

FixJ 类。包括 FixJ, NodW, NarL, UhpA, BvgA, DegU, ComA 等,这些蛋白也被认为是起转录调节物的作用,有DNA结合功能,但它们的作用机制还不清楚。

第四类由 CheY 和 SpoOF 等组成,它们只有保守的接收器元件。

第五类有 CheB, AlgR, AgrA 和 SpbOA 等,它们羧基端功能区不类似于其它反应调节器。其中 CheB 的羧基端部分是一蛋白质甲基酯酶,它能在没有氨基端功能区的情况下起作用。

4 信号传导机制

大量的研究表明细菌的信号传导有一共同的机制^[1,2,6,7],一种激酶转移ATP上的 γ -磷酸到自身的某一组氨酸残基上,然后转移磷酸到一种反应调节器蛋白的某一天冬氨酸残基上,调节反应调节器蛋白的活性,最后,一种特异性的磷酸酶活性通过恢复反应调节器蛋白至其未磷酸化状态来使系统复位。在每种情况下,反应调节器蛋白磷酸化水平受环境条件的控制。磷酸基转移是一种信号传导形式,最早发现这种机制的是在大肠杆菌的氮素调节系统中,随后在趋化性系统中发现。传感器蛋白起组氨酸蛋白激酶的作用,它们能对其自身磷酸化,并作为磷酸转移酶,能与其搭档反应调节蛋白反应

并使其磷酸化。传感器蛋白以两种方式调节反应调节器的磷酸化状态,首先,它们有自激酶活性,将 ATP 上的磷酸基连接至其自身的某一组氨酸残基上,这种自磷酸化反应是可逆的,其产物磷酸组氨酸可作为随后的磷酸基转移至反应调节器的某一天冬氨酸残基的反应的高能中间体。其次,某些或许有许多传感器蛋白对其相应的反应调节器蛋白有明显的磷酸酶活性。感觉的刺激靠调节传感器蛋白的这两种活性来调节磷酸基的流向,传感器蛋白可能以二聚体的形式起作用,一个亚基的催化部位使另一亚基上的受体部位磷酸化。

反应调节器蛋白能利用诸如乙酰磷酸、氨基磷酸酯之类的小分子供体,使它们磷酸化,传感器蛋白磷酸组氨酸可作为这种磷酸化反应的底物。在体内,反应调节器可能靠催化从同类的传感器,或在某些情况下,从乙酰磷酸之类的磷酸供体的磷酸基转移来获取磷酸基,反应调节器也能催化自身磷酸基的水解,半衰期从几秒到许多分钟,磷酸化的反应调节器蛋白的独特的寿命对其体内信号传导功能起关键作用,因为改变了脱磷酸速度的反应调节器突变株表现出畸形的调节行为。传感器蛋白的磷酸酶活性是依赖于 ATP 的,ATP 是作为辅助因子起作用的,可能是作为构象效应物。

5 通讯特异性和交叉调节

大肠杆菌可能包含多至 50 对传感器-反应调节器,这就提出了通讯专一性和交叉调节的问题^[7],磷酸转移的专一性是首要的,不适宜的交叉调节是有限度的,说明反应调节器蛋白是与其同类的传感器精确匹配的。但异源对的传感器蛋白和反应调节器蛋白之间的磷酸转移已在体内和体外的某些情况下观察到,反应调节器蛋白不仅从它们同类的传感器蛋白而且从

异源的传感器蛋白获取磷酸基,在某些情况下,直接从诸如氨基磷酸酯或乙酰磷酸之类的小分子获取,研究表明此类磷酸化可能在体内发生,而且提供一种基因表达可以受细胞内代谢中间物水平影响的途径。总之,交叉调节可能是一种重要的全面控制形式,将两组分调节系统的反应调节器蛋白联系起来,或与其它一般调节系统联系起来^[10]。

两组分调节系统在细菌中普遍存在,细菌信号系统经常由通讯元件即促进蛋白质间或蛋白质内信息转移的结构域所构建,这些通讯元件(传递器和接收器)可能是古老的元件,由于它们在不同信号场合下的实用性,它们可能广泛分布于原核生物界。最近两个研究小组分别在酵母菌和植物中发现了类似细菌两组分的设计^[11,12],说明这种信号传导机制在真核生物中和在原核生物中一样重要。

参 考 文 献

- [1] Pakinson J S, Kofoid E C. *Annu Rev Genet*, 1992 **26**: 71—112.
- [2] Stock J B, Ninfa A J, Stock A M. *Microbiol Rev*, 1989 **53**, 450—490.
- [3] Pakinson J S. *Cell*, 1993 **73**: 857—871.
- [4] Nixon B T, Ronson C W, Ausubel F M. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1986 **83**: 7850—7854.
- [5] Kofoid E C, Pakinson J S. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1988 **85**: 4981—4985.
- [6] Bourret R B, Borkovich K A, Simon M I. *Annu Rev Biochem*, 1991 **60**: 401—441.
- [7] Hazelbauer G L, Berg H C, Matsumura P. *Cell*, 1993 **73**: 15—22.
- [8] Gross R, Arico B, Rappuoli P. *Mol Microbiol*, 1989 **3**: 1661—1667.
- [9] Albright L M, Huala E, Ausubel F M. *Annu Rev Genet*, 1989 **23**: 311—336.
- [10] Winner B L. *J Bacteriol*, 1992, **174**: 2053—2058.
- [11] Chang C, Kwok S F, Bleeker A B, Meyerowitz E M. *Science*, 1993 **262**: 539—544.
- [12] Ota I, Varshavsky A. *Science*, 1993 **262**: 566—569.