

革兰阴性菌群体感应系统中 LuxR 家族蛋白的研究进展

陈征 向军

Advances in the research of LuxR family protein in quorum-sensing system of gram-negative bacteria Chen Zheng, Xiang Jun. Department of Burns and Plastic Surgery, Ruijin Hospital, School of Medicine, Shanghai Jiao Tong University, Shanghai 200025, China

Corresponding author: Xiang Jun, Email: 13801789791@163.com

【Abstract】 Quorum sensing (QS) is a cell-density-dependent method for information transmission among bacteria, as well as a mechanism for the bacteria to adapt to environment. LuxR family protein plays a key role in gram-negative bacterial QS system as a kind of transcription regulators and participates in a variety of biological behaviors with LuxI protein and signal molecules, such as bioluminescence, biofilm formation, virulence factors production, and so on. The advances in the research of LuxR family protein in QS system of gram-negative bacteria were summarized in this review.

【Key words】 Gram-negative bacteria; Quorum sensing; Receptor protein; Transcription

Fund program: Shanghai Municipal Natural Science Foundation (16ZR1420800)

【关键词】 革兰氏阴性菌; 群体感应; 受体蛋白; 转录

基金项目:上海市自然科学基金(16ZR1420800)

群体感应(QS)是细胞与细胞间的信息传递方式,是细菌生存和适应环境的一种机制^[1]。细菌本身通过分泌扩散性小分子感知周围细菌群体的密度,启动菌体中相关基因的表达^[2],调控细菌的生物学行为。LuxR 家族蛋白是细菌 QS 系统中一类具有转录调控作用的受体蛋白,对 LuxR 家族蛋白的研究可为临床感染性疾病的治疗提供理论依据。本文对革兰阴性菌 QS 系统中, LuxR 家族蛋白的结构、功能和调控机制等方面的研究进展作一综述。

1 革兰阴性菌的 QS 系统

20 世纪 70 年代,Nealson 首次发现费氏弧菌的菌体密度与海洋生物发光的相关性,证实了细菌的细胞间确实存在信息交流。Fuqua 将这一现象命名为“QS”。QS 现象在革兰阴性菌中普遍存在,机制作用方式基本相似。在革兰阴性菌中, QS 系统由被称为 LuxI(自诱导物合成酶)、AI(自诱导物)的化学信号分子和 LuxR(自诱导物受体蛋白)组成^[3]。革兰阴性菌的 QS 系统中常见的自诱导物是 N-酰基高丝氨酸内酯(AHL)。细菌通过 LuxI 产生 AHL, AHL 扩散到细胞

外后感受周围环境中的细菌密度并随着细胞密度的增加而积累。当细胞外的 AHL 达到一定浓度时会返回至胞内与 LuxR 特异性结合形成 AHL-LuxR 复合物。AHL-LuxR 复合物结合至特定的 DNA 序列区域,激活转录、调控下游靶基因的表达,最终引起细菌群体的生理功能及生物学行为改变^[4]。LuxR 家族蛋白作为革兰阴性菌 QS 系统中的枢纽蛋白,越来越受到人们的重视^[3]。



2 LuxR 家族蛋白

2.1 LuxR 家族蛋白结构特点

LuxR 家族蛋白分子肽链包含约 250 个氨基酸,目前已经发现与革兰阴性菌 QS 系统相关的 LuxR 家族蛋白超过 100 种^[5]。众多 LuxR 家族蛋白成员拥有共同结构,包括 C 端和 N 端 2 个功能区和位于二者中间的连接区。C 端为目的基因结合区域,含有保守的螺旋-转角-螺旋(helix-turn-helix, HTH)结构;N 端为信号分子结合区域,占整个蛋白分子的 2/3。通过对 LuxR 的同系物行晶体结构分析得出, LuxR 蛋白分子可能以二聚体形式存在,而且 AHL 与蛋白 N 端的结合,使 AHL 完全嵌入到蛋白中,有助于进一步稳定其二聚体结构^[6]。LuxR 家族蛋白 N 端与 AHL 一旦结合,即形成 AHL-LuxR 复合物,进一步促进 AHL-LuxR 复合物 C 端 HTH 与 lux-box 结合,从而激活/抑制下游靶基因的转录、表达,引发一系列生物学行为,如生物发光、形成生物膜、产生毒力因子和其他次生代谢物^[4]。lux-box 是位于 LuxR 家族蛋白靶基因转录起始位点上游的一段 20 bp 的反向回文序列,该结构与转录过程的激活密切相关^[7]。

2.2 LuxR 家族蛋白与信号分子结合的特点

LuxR 家族蛋白的 N 端和 C 端 2 个功能区具有高度保守性,大量该家族成员序列分析提示,95% 以上的家族成员含有 9 个相同的氨基酸残基,其中 6 个氨基酸残基在信号分子连接区域形成疏水性空腔,另外 3 个位于 C 端的 HTH 区域^[8]。LuxR 家族蛋白与信号分子的结合具有相对特异性,绝大部分 LuxR 家族蛋白成员只与某种具有特定结构的信号分子结合,但二者的结合并非严格的一对一关系^[9],如在鲍氏不动杆菌中 LuxR 的同系物 AbaR 以 3-hydroxy-C12-HSL 为主要作用信号分子,其与 3-Oxo-C6-HSL 不存在特异性结合,但目前已知 AbaR 还可以识别并结合另外至少 4 种与 3-hydroxy-C12-HSL 结构类似的信号分子。研究表明, LuxR 家族蛋白作为转录调控受体蛋白,主要通过与其靶基因的结合或解离,在转录水平表现出激活或抑制的双向作用^[10-11]。

2.3 孤儿蛋白

孤儿蛋白是近年发现的 LuxR 家族蛋白的一类新分支。基因序列检测证实了孤儿蛋白所在的 QS 系统中只存在

DOI:10.3760/ema.j.issn.1009-2587.2016.09.005

作者单位:200025 上海交通大学医学院附属瑞金医院烧伤整形科

通信作者:向军,Email:13801789791@163.com

luxR 基因^[12], 缺乏类似 *luxI* 的基因序列, 因此不伴有 LuxI 蛋白合成酶, 也不存在内源性信号分子, 但此类蛋白本身仍具有 LuxR 家族蛋白的特征性 C 端和 N 端结构, 如铜绿假单胞菌中的 QscR^[13]、肠道沙门菌中的 SdiA。孤儿蛋白所在的 QS 系统虽然不能直接合成内源性信号分子, 但可通过与其他蛋白所在的 QS 系统的信号分子相互作用, 反而扩大了调节网络。然而, 有关孤儿蛋白与信号分子之间的具体作用机制仍待进一步研究。

3 LuxR 家族蛋白在革兰阴性菌中的调控机制

3.1 LuxR 家族蛋白在铜绿假单胞菌中的调控机制

3.1.1 LasR 铜绿假单胞菌是临床最常见的革兰阴性菌之一, 可引起一系列急性和慢性感染, 并表现出高度耐药性。LasR 是铜绿假单胞菌中第 1 个被发现的 LuxR 家族蛋白, 由 239 个氨基酸分子组成。LasI/LasR 系统是目前研究相对透彻的 QS 系统^[14]。LasI/LasR 系统与费氏弧菌中的 LuxI/LuxR 系统十分相似, LasR 与信号分子结合后, 随即激活下游靶基因的表达, 产生毒力因子及某些次级代谢产物; LasI/LasR 系统也参与生物膜的分化成熟过程, 可引起铜绿假单胞菌的持续感染^[15]。另有研究表明, LuxI/LasR 系统与铜绿假单胞菌的毒力作用、耐药性形成密切相关^[16]。

3.1.2 RhlR RhlR 是铜绿假单胞菌中第 2 个被发现的 LuxR 家族蛋白, 因为其对鼠李糖脂 (rhamnolipid) 的调控作用而得名, 其与相应的自诱导物合成酶 RhlI、信号分子 C4-HSL 共同构成 RhlI/RhlR 系统。研究表明, 在铜绿假单胞菌中, RhlI/RhlR 系统和 LasI/LasR 系统共同调控着超过 350 个基因 (约占铜绿假单胞菌 PA01 基因组的 6%), 其中约 30% 的基因与毒力因子作用相关, 二者在转录和翻译水平上, 既可独立作用, 形成各自的正反馈调节回路, 同时又相互影响, 形成复杂的调控网络^[17]。在转录及转录后水平上, RhlI/RhlR 系统受 LasI/LasR 系统调控, LasI/LasR 系统明显体现出相对于 RhlI/RhlR 系统较高的“管理”地位^[18]。

3.1.3 QscR QscR 是铜绿假单胞菌中第 3 个被发现的 LuxR 家族蛋白, 因其表现出对 QS 系统的抑制作用而得名^[19]。与 LasR 和 RhlR 不同, QscR 是孤儿蛋白, 不伴有自诱导物合成酶, 也不存在内源性信号分子, 它在菌体内的活性依赖于 LasI 的合成信号分子。可能正因为如此, QscR 和 LasR 对 3-Oxo-C12-HSL 有着相似的亲和性, 从而推测 QscR 可能是通过竞争性抑制方式, 间接达到抑制 QS 系统的目的^[20]。除此以外, QscR 还可以和多种 AHL 结合, 其信号传递作用从铜绿假单胞菌内扩展到不同种菌群间。另有研究表明, QscR 与铜绿假单胞菌的毒力因子作用密切相关, 缺乏 QscR 的铜绿假单胞菌突变株能更快地表达大量铜绿假单胞菌素、弹性蛋白酶等毒力因子^[19]。

3.2 LuxR 家族蛋白在鲍氏不动杆菌中的调控机制

鲍氏不动杆菌是近 30 年来备受关注的条件致病菌^[21], 对多种抗生素的耐药率逐年上升。研究表明, 鲍氏不动杆菌的致病力和耐药性与其生物膜的形成密切相关^[22]。目前研究得出鲍氏不动杆菌中也存在与铜绿假单胞菌中 LasI/LasR 系统类似的 QS 系统^[23]。AbaI/AbaR 系统是目前已知的鲍

氏不动杆菌中唯一的 QS 系统, 由 AbaI 和 AbaR 组成, 二者分别是 *luxI* 同源基因 *abaI* 和 *luxR* 同源基因 *abaR* 的表达产物^[24]。AbaR 是包含 198 个氨基酸的蛋白质分子, 其一级结构与 LasR 十分相似, 该分子的序列检测提示其为 LuxR 家族蛋白成员^[25]。AbaI 作为自诱导物合成酶^[26], 能够合成至少 5 种 AHL, 以 3-hydroxy-C12-HSL 为主, 构型为正反馈信号分子^[27-28]。窦懿等^[22]的研究提示, 鲍氏不动杆菌 QS 系统与生物膜形成存在一定的调节关系, AbaR 作为信号受体, 可能通过与信号分子结合激活或拮抗靶基因表达, 干预鲍氏不动杆菌游走和生物膜形成, 影响细菌耐药性。但 AbaR 是如何通过调控靶向基因的表达来影响鲍氏不动杆菌的生物行为的, 目前尚不清楚。

4 总结与展望

LuxR 家族蛋白作为细菌 QS 系统中起重要作用的调控蛋白, 在革兰阴性菌中广泛存在。虽然目前对 LuxR 家族蛋白的研究已经取得了一些进展, 认识了该蛋白的结构、与信号分子及靶基因的结合特点和部分调控机制, 但是仍有许多问题尚不明确, 如 LuxR 蛋白与靶基因结合后的构象变化以及这些构象变化与其功能之间存在何种联系等等。目前临床上使用的抗生素均以细菌的重要代谢过程为靶点, 直接杀死或抑制细菌生长。在这种生存压力下, 细菌逐渐产生耐药性。与传统抗生素作用于细菌的机制不同, 通过影响细菌本身 QS 系统的 LuxR 家族蛋白, 不仅可能阻断细菌的毒力作用, 还不影响细菌菌群的生长, 避免对细菌耐药性产生选择性压力。如以 LuxR 为靶点, 阻碍 LuxR 蛋白两端功能区与信号分子或靶基因序列的特异性结合, 直接切断信号通路, 从而影响细菌生物膜的形成、毒力因子的合成等, 达到阻断或减弱病原菌作用的目的。总而言之, 针对 LuxR 家族蛋白的靶点干扰研究, 可为建立新型的抗感染治疗模式提供理论依据, 为抗感染新药的研发提供新思路。

参考文献

- [1] Li Z, Nair SK. Quorum sensing: how bacteria can coordinate activity and synchronize their response to external signals? [J]. Protein Sci, 2012, 21 (10): 1403-1417. DOI: 10.1002/pro.2132.
- [2] Galloway WR, Hodgkinson JT, Bowden SD, et al. Quorum sensing in Gram-negative bacteria: small-molecule modulation of AHL and AI-2 quorum sensing pathways [J]. Chem Rev, 2011, 111 (1): 28-67. DOI: 10.1021/cr100109t.
- [3] Nasser W, Reverchon S. New insights into the regulatory mechanisms of the LuxR family of quorum sensing regulators [J]. Anal Bioanal Chem, 2007, 387 (2): 381-390. DOI: 10.1007/s00216-006-0702-0.
- [4] Pompeani AJ, Irgon JJ, Berger MF, et al. The *Vibrio harveyi* master quorum-sensing regulator, LuxR, a TetR-type protein is both an activator and a repressor; DNA recognition and binding specificity at target promoters [J]. Mol Microbiol, 2008, 70 (1): 76-88. DOI: 10.1111/j.1365-2958.2008.06389.x.
- [5] Pérez PD, Weiss JT, Hagen SJ. Noise and crosstalk in two quorum-sensing inputs of *Vibrio fischeri* [J]. BMC Syst Biol, 2011, 5: 153. DOI: 10.1186/1752-0509-5-153.
- [6] Zhu J, Winans SC. The quorum-sensing transcriptional regulator TraR requires its cognate signaling ligand for protein folding, pro-

- tease resistance, and dimerization [J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2001, 98 (4) : 1507-1512. DOI: 10. 1073/pnas. 98. 4. 1507.
- [7] Miyashiro T, Ruby EG. Shedding light on bioluminescence regulation in *Vibrio fischeri* [J]. Mol Microbiol, 2012, 84 (5) : 795-806. DOI: 10. 1111/j. 1365-2958. 2012. 08065. x.
- [8] González JF, Venturi V. A novel widespread interkingdom signaling circuit [J]. Trends Plant Sci, 2013, 18 (3) : 167-174. DOI: 10. 1016/j. tplants. 2012. 09. 007.
- [9] Minogue TD, Wehland-von Trebra M, Bernhard F, et al. The autoregulatory role of EsaR, a quorum-sensing regulator in *Pantoea stewartii* ssp. *stewartii*: evidence for a repressor function [J]. Mol Microbiol, 2002, 44 (6) : 1625-1635. DOI: 10. 1046/j. 1365-2958. 2002. 02987. x.
- [10] Horng YT, Deng SC, Daykin M, et al. The LuxR family protein SpnR functions as a negative regulator of N-acyl-homoserine lactone-dependent quorum sensing in *Serratia marcescens* [J]. Mol Microbiol, 2002, 45 (6) : 1655-1671. DOI: 10. 1046/j. 1365-2958. 2002. 03117. x.
- [11] Rutherford ST, Bassler BL. Bacterial quorum sensing: its role in virulence and possibilities for its control [J]. Cold Spring Harb Perspect Med, 2012, 2 (11) : a012427. DOI: 10. 1101/cshperspect. a012427.
- [12] van Kessel JC, Ulrich LE, Zhulin IB, et al. Analysis of activator and repressor functions reveals the requirements for transcriptional control by LuxR, the master regulator of quorum sensing in *Vibrio harveyi* [J]. MBio, 2013, 4 (4) : e00378-13. DOI: 10. 1128/mBio. 00378-13.
- [13] Ledgham F, Ventre I, Soscia C, et al. Interactions of the quorum sensing regulator QscR: interaction with itself and the other regulators of *Pseudomonas aeruginosa* LasR and RhlR [J]. Mol Microbiol, 2003, 48 (1) : 199-210. DOI: 10. 1046/j. 1365-2958. 2003. 03423. x.
- [14] Mattmann ME, Shipway PM, Heth NJ, et al. Potent and selective synthetic modulators of a quorum sensing repressor in *Pseudomonas aeruginosa* identified from second-generation libraries of N-acylated L-homoserine lactones [J]. ChemBiochem, 2011, 12 (6) : 942-949. DOI: 10. 1002/cbic. 201000708.
- [15] 陈佳, 宋建新. 铜绿假单胞菌和白假丝酵母的跨界相互作用 [J]. 微生物与感染, 2010, 5 (3) : 171-175. DOI: 10. 3969/j. issn. 1673-6184. 2010. 03. 010.
- [16] Chugani S, Greenberg EP. An evolving perspective on the *Pseudomonas aeruginosa* orphan quorum sensing regulator QscR [J]. Front Cell Infect Microbiol, 2014, 4 : 152. DOI: 10. 3389/fcimb. 2014. 00152.
- [17] Schuster M, Greenberg EP. A network of networks: quorum-sensing gene regulation in *Pseudomonas aeruginosa* [J]. Int J Med Microbiol, 2006, 296 (2/3) : 73-81. DOI: 10. 1016/j. ijmm. 2006. 01. 036.
- [18] Rasmussen TB, Givskov M. Quorum-sensing inhibitors as anti-pathogenic drugs [J]. Int J Med Microbiol, 2006, 296 (2/3) : 149-161. DOI: 10. 1016/j. ijmm. 2006. 02. 005.
- [19] Lequette Y, Lee JH, Ledgham F, et al. A distinct QscR regulon in the *Pseudomonas aeruginosa* quorum-sensing circuit [J]. J Bacteriol, 2006, 188 (9) : 3365-3370. DOI: 10. 1128/JB. 188. 9. 3365-3370. 2006.
- [20] Lee JH, Lequette Y, Greenberg EP. Activity of purified QscR, a *Pseudomonas aeruginosa* orphan quorum-sensing transcription factor [J]. Mol Microbiol, 2006, 59 (2) : 602-609. DOI: 10. 1111/j. 1365-2958. 2005. 04960. x.
- [21] Howard A, O'Donoghue M, Feeney A, et al. *Acinetobacter baumannii*: an emerging opportunistic pathogen [J]. Virulence, 2012, 3 (3) : 243-250. DOI: 10. 4161/viru. 19700.
- [22] 窦懿, 朱彩莲, 宋菲, 等. 鲍曼不动杆菌 *abaI* 基因表达对生物膜形成的影响 [J]. 中华创伤杂志, 2013, 29 (10) : 924-927. DOI: 10. 3760/cma. j. issn. 1001-8050. 2013. 10. 006.
- [23] Doughari HJ, Ndakidemi PA, Human IS, et al. The ecology, biology and pathogenesis of *Acinetobacter* spp.: an overview [J]. Microbes Environ, 2011, 26 (2) : 101-112.
- [24] Niu C, Clemmer KM, Bonomo RA, et al. Isolation and characterization of an autoinducer synthase from *Acinetobacter baumannii* [J]. J Bacteriol, 2008, 190 (9) : 3386-3392. DOI: 10. 1128/JB. 01929-07.
- [25] 向军, 孙珍, 杨新刚, 等. 烧伤临床鲍曼不动杆菌分离株生物膜内菌 *abaI* 基因表达的变化 [J]. 中华烧伤杂志, 2012, 28 (2) : 101-105. DOI: 10. 3760/cma. j. issn. 1009-2587. 2012. 02. 005.
- [26] Castillo-Juárez I, Maeda T, Mandujano-Tinoco EA, et al. Role of quorum sensing in bacterial infections [J]. World J Clin Cases, 2015, 3 (7) : 575-598. DOI: 10. 12998/wjcc. v3. i7. 575.
- [27] Kang YS, Jung J, Jeon CO, et al. *Acinetobacter oleivorans* sp. nov. is capable of adhering to and growing on diesel-oil [J]. J Microbiol, 2011, 49 (1) : 29-34. DOI: 10. 1007/s12275-011-0315-y.
- [28] Bhargava N, Sharma P, Capalash N. Quorum sensing in *Acinetobacter*: an emerging pathogen [J]. Crit Rev Microbiol, 2010, 36 (4) : 349-360. DOI: 10. 3109/1040841X. 2010. 512269.

(收稿日期:2016-04-18)

(本文编辑:贾津津)

本文引用格式

陈征, 向军. 革兰阴性菌群体感应系统中 LuxR 家族蛋白的研究进展 [J]. 中华烧伤杂志, 2016, 32 (9) : 536-538. DOI: 10. 3760/cma. j. issn. 1009-2587. 2016. 09. 005.

Chen Z, Xiang J. Advances in the research of LuxR family protein in quorum-sensing system of gram-negative bacteria [J]. Chin J Burns, 2016, 32 (9) : 536-538. DOI: 10. 3760/cma. j. issn. 1009-2587. 2016. 09. 005.