

文章编号: 1004-0374(2010)09-0886-10

LuxR 家族调控蛋白的结构及功能

郑世超¹, 罗瑛¹, 鲁涛^{2*}

(1 昆明理工大学生命科学与技术学院, 衰老与肿瘤分子遗传学实验室, 昆明 650224 ; 2 云南大学, 云南省微生物研究所, 昆明 650091)

摘要: LuxR 家族调控蛋白是一类在革兰氏阴性细菌群体感应中起重要作用的调控蛋白, 它们参与由酰基高丝氨酸内酯介导的多种生物学过程, 调控细菌生物发光、质粒转移、生物膜形成以及多种胞外酶、毒力因子和次生代谢产物的合成。LuxR 家族蛋白的研究在医学、环境监测、生物防治和微生物发酵等方面具有巨大的应用潜力。该文综述了 LuxR 家族调控蛋白近期的研究进展、存在问题及应用前景。

关键词: LuxR; 调控蛋白; 群体感应

中图分类号: Q936; S476.1 **文献标识码:** A

The structure and function of LuxR-family regulators

ZHENG Shi-chao¹, LUO Ying¹, LU Tao^{2*}

(1 Laboratory of Molecular Genetics of Aging and Tumor, Faculty of Life Science and Technology, Kunming University of Science and Technology, Kunming 650224, China; 2 Yunnan Institute of Microbiology, Yunnan University, Kunming 650091, China)

Abstract: The LuxR-family regulators play important roles in acyl-homoserine lactones-mediated quorum sensing in Gram-negative bacteria, regulating many bacterial physiological processes such as bioluminescence, plasmid transfer, biofilm formation, and the production of extracellular enzymes, virulence factors, and secondary metabolites. LuxR protein-related studies have huge application potential in medicine, environmental monitoring, biocontrol, and microbial fermentation. Herein we reviewed the recent progress in the research on LuxR-family proteins, remaining questions, and the perspectives of their application.

Key words: LuxR; regulator; quorum sensing

细菌在生长繁殖过程中分泌一些被称为自主诱导物(autoinducers, AI)的化学信号分子,这种信号分子从胞内扩散到胞外,当达到一定阈值时(通常是在高细胞浓度时),它们就会启动或协调某些基因的表达,这一过程称为群体感应(quorum sensing, QS)。细菌的很多生理过程都与此类感应机制有关。LuxR 家族蛋白是在酰基高丝氨酸内酯(acyl-homoserine lactones, AHLs或acyl-HSL)介导的细菌群体感应机制中研究较多的一类重要的转录调控蛋白。它们是一类膜相关蛋白,能够与 AI 结合并参与细胞之间的感应^[1]。对 LuxR 蛋白的研究不但有助于了解细菌群体之间的信号传递和细菌与外界环境

的相互作用,而且在医学、环境监测、农业病虫害防治和微生物发酵等方面具有重要的应用价值。本文综述了 AHL 介导的细菌群体感应机制中, LuxR 型转录调控蛋白的结构、功能和调控机理等方面的研究进展,并展望了其在生物技术领域中的应用前景。

收稿日期: 2010-03-11; 修回日期: 2010-06-21

基金项目: 国家自然科学基金项目(30760096); 云南省自然科学基金项目(2006C0009M)

* 通讯作者: E-mail: taolu2000@yahoo.com; Tel: 13888538590

1 细菌群体感应

群体感应现象最早是在一种海洋发光细菌费希尔弧菌(*Vibrio fischeri*)中发现的,是细菌对信号传递分子(即激素样有机化合物AI)的应答过程。这种应答过程呈剂量依赖模式,是细菌细胞之间信号传递的重要机制,被认为是细菌的“语言”。AI可由同一菌种或不同菌丛的细菌分泌产生,调控细菌的多种生理活动如生物发光、质粒转移、生物被膜形成、胞外蛋白酶产生、抗生素合成以及致病菌毒力因子合成等,使细菌以多细胞体系行使单个细胞无法完成的功能^[2-12]。

根据细菌合成的信号分子和感应机制不同, QS 系统主要分为三种。第一种 QS 系统是革兰氏阴性菌中的 LuxR/I 系统。细菌之间的信息交流是通过产生酰基高丝氨酸内酯(AHL)作为信号分子,以受体蛋白进行信号传递^[3](图 1a)。其中 LuxI 型蛋白是 AHL 合成酶,以 S-腺苷甲硫氨酸(SAM)为底物; LuxR 型蛋白是 AHL 受体。第二种 QS 系统存在于革兰氏阳性菌中。细菌之间的信息交流通过寡肽作为信号分子来完成,信号的产生与双组分磷酸化机制

有关^[13]。此系统的 AI 是寡肽,不能自由穿越细胞膜,需 ABC 转运蛋白等膜通道蛋白协助完成跨膜。外膜感应因子(通常为激酶)通过磷酸化激活应答调节因子,后者结合于 DNA 的特定靶位,进行转录调控(图 1b)。此类 AI 特异性强于 AHLs,非同族 AI 及受体不能相互结合产生调控作用,同时同一细菌不同亚群产生的 AI 还可能通过竞争性结合抑制其他亚群的基因表达^[14]。第三种 QS 系统主要用于不同菌种间交流,多种革兰氏阴性菌及革兰氏阳性菌都使用,包括 LuxS/AI-2 和 AI-3/肾上腺素/去甲肾上腺素信号传递系统^[15]。

目前在细菌群体感应信号系统中研究较多的是以革兰氏阴性菌费希尔弧菌(*V. fischeri*)为模式生物的 LuxR/I 信号通路。迄今为止已发现 70 余种 LuxR/I 系统,除了哈氏弧菌(*V. harveyi*)和黄色黏球菌(*Myxococcus xanthus*),其余细菌中的群体感应都与费氏弧菌中由 LuxR/I 蛋白调控的群体感应系统相似,故称之为 LuxR/I 型群体感应。LuxR 家族调控蛋白是此系统中的枢纽蛋白,调控许多其他蛋白的表达,从而影响整个群体感应过程。

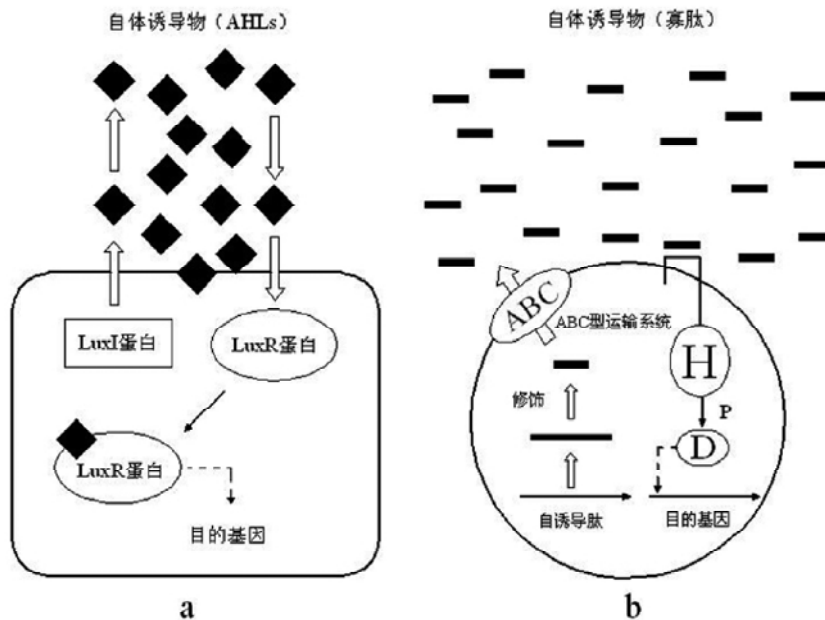


图1 细菌的群体感应信号系统

a: 革兰氏阴性细菌 LuxR/I 信号通路。LuxI 是自体诱导物合成酶,催化合成信号分子(AHL),信号分子可以自由地穿过细胞膜到达胞外,当信号分子达到一定阈值后, LuxR 蛋白与自体诱导物结合,该复合体进而与目的基因的转录起始区域结合,启动转录; b: 革兰氏阳性细菌寡肽/双组分蛋白信号通路。革兰氏阳性细菌核糖体合成的自体诱导肽经过修饰与加工,成为稳定且具有活性的寡肽信号分子,通过 ABC 型转运系统(ATP-binding-cassette)或其他膜通道蛋白作用达到胞外,随浓度增大,激活膜上的组氨酸蛋白激酶(H),其通过磷酸化作用(P)进一步激活应答调节蛋白(D),使其与目的基因结合,进而调控目的基因的表达

2 LuxR 家族蛋白的结构和种类

2.1 LuxR 的结构特点

LuxR 型蛋白是由约 252 个氨基酸组成的肽链, N 端为信号分子 AHL 的结合区域, 占整个蛋白的三分之二; C 端含有保守的螺旋-转角-螺旋(helix-turn-helix, HTH) 结构, 能够与目的基因特异结合。虽然 LuxR 的高级结构大体相同, 但是 LuxR 的一级结构却存在较大的差异。通过对在 NCBI 上已发表的部分 LuxR 蛋白的氨基酸序列进行分析发现, 不同属的微生物之间, 其 LuxR 的氨基酸序列有较多的替代, 差异较大。图 2 是 21 种不同菌株的 LuxR 的氨基酸序列分析, 它们在进化树中分为四类, 其中 I、II 和 III 类中除了 *Burkholderia cenocepacia* (β -变形菌) 外均为 α -变形菌, 而第 IV 类为 γ -变形

菌, 这与它们的分类地位大致相符。该结构表明 LuxR 家族蛋白在进化过程中起源较早, 与 Lerat 等^[16]的分析一致。通过序列对比发现虽然以上四组 LuxR 的氨基酸序列有较大差异, 但是在 70~100、120~150、200~260 三个区间具有一些相同的氨基酸, 这些氨基酸在不同的 LuxR 分子中一直存在, 因而这些氨基酸可能对于 LuxR 蛋白的功能至关重要。前两个区中的不变氨基酸可能与 AHL 结合有关, 而第三个区中的不变氨基酸可能与分子和下游目的基因结合有关。每一类 LuxR 型蛋白中的前两个区相同, 不同类间不同, 说明在不同类中, 这两个区可能与不同的 AI 结合。总体来讲, 四类菌的 LuxR 氨基酸序列相似性不高, 甚至在同一聚类中的微生物的 LuxR 氨基酸序列也有较大的差异。

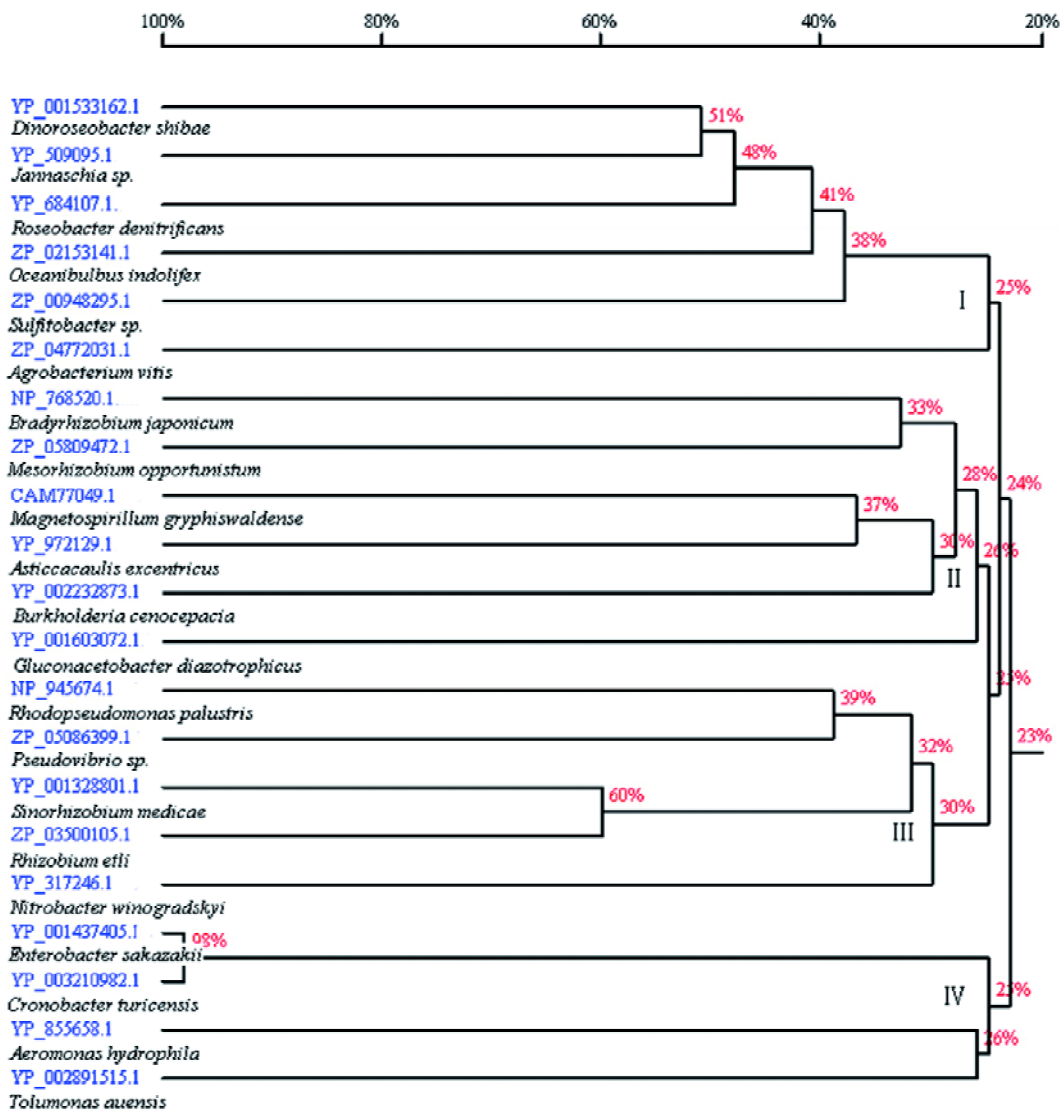


图2 21种不同微生物LuxR的氨基酸序列同源性比较

但是, 从二级结构方面的分析中我们看到, 其C端的HTH结构是一直保留的。这说明在漫长的进化过程中, 微生物为了适应周围环境产生了具有各自特点、符合其生存需求的调控机制。这些不同的LuxR蛋白变化后如何适应诱导物AI的诱导及如何保持其DNA结合特性等问题尚有待研究。

而对同属不同种微生物中的LuxR家族蛋白分析表明, LuxR蛋白氨基酸序列的同源性远高于不同属的微生物, 如链霉菌属(*Streptomyces*)不同种中LuxR蛋白虽然存在变异, 但是幅度较小(图3), 因而链霉菌属内不同菌种对AI信号的感应机制应该大致相似。

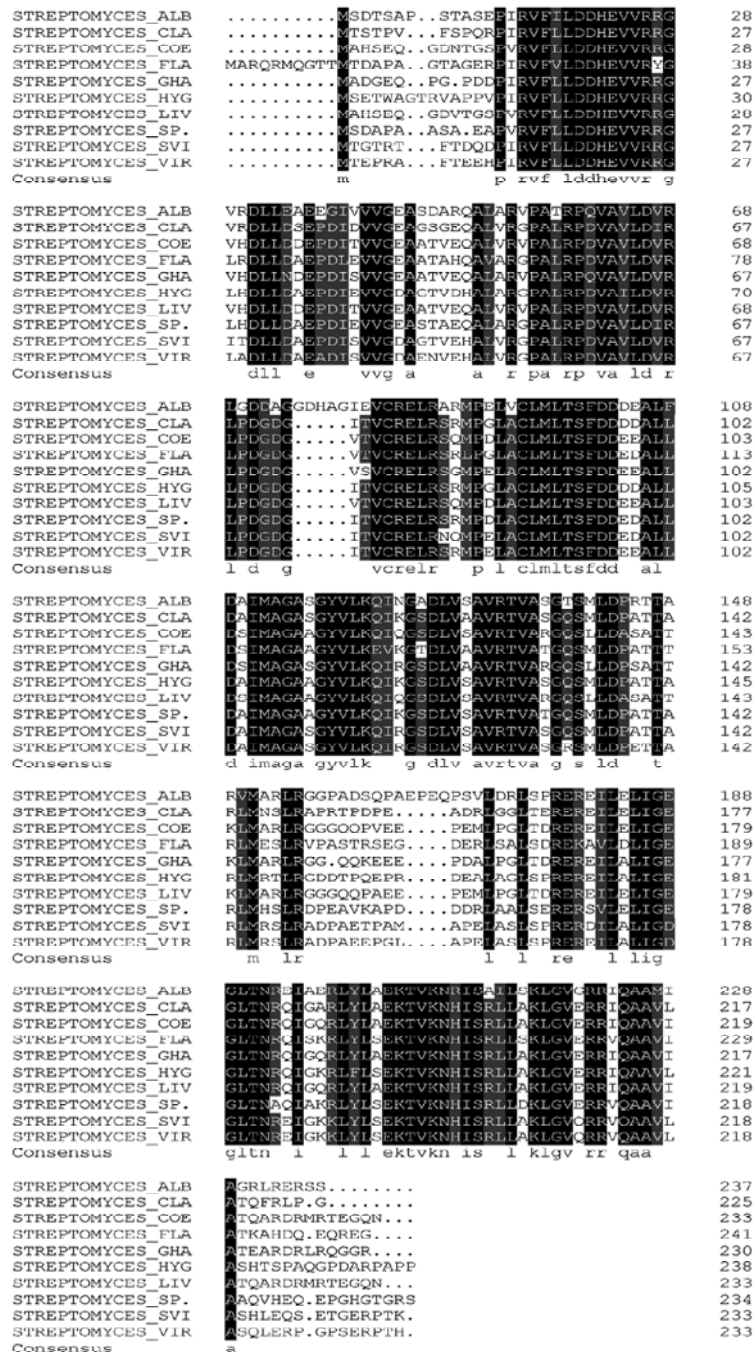


图3 *Streptomyces*属LuxR蛋白氨基酸序列比较

Streptomyces coelicolor NP_624539.1; *Streptomyces lividans* ZP_05528683.1; *Streptomyces ghanaensis* ZP_04684142.1; *Streptomyces sviveus* ZP_05021051.1; *Streptomyces viridochromogenes* ZP_05535119.1; *Streptomyces hygroscopicus* ZP_05512509.1; *Streptomyces clavuligerus* ZP_05008669.1; *Streptomyces sp.*: ZP_04996993.1; *Streptomyces flavogriseus* ZP_05801896.1; *Streptomyces albus* ZP_04705479.1

2.2 LuxR 与 AHL 的结合

对根癌土壤杆菌 (*Agrobacterium tumefaciens*) 中 TraR 的结构分析表明,它具有 AHL 结合区域(图4)^[17]。此区域由相连的五个反向平行的 β 片层折叠与三个 α 螺旋组成。AHL 通过四个氢键与 TraR 蛋白结合,这四个氢键分别在 AHL 的 3-酮基基团和水分子(图4 ①)、Tyr53 和 1-酮基基团(图4 ②)、AHL 的酮基环和残基 Trp57(图4 ③)和残基 Asp70 和亚氨基基团之间(图4 ④)。其中 Thr129 和 Ala38 用来稳定第一个氢键(图4 ①)。在与 AHL 形成氢键的氨基酸残基中, Trp57 和 Asp70 在 LuxR 型蛋白家族中严格保守。AHL 的酰胺侧链与 β 片层折叠平行,通过疏水作用与 Leu40、Thr51、Tyr53、Tyr61、Phe62、Val72、Trp85 和 Ile110 作用进一步稳定。在这些与酰胺侧链相互作用的氨基酸残基中,由于酰胺侧链长度的可变性和 LuxR 家族蛋白的多样性,只有 Tyr61 和 Trp85 严格保守。在 TraR 中, Phe62 主要负责酰胺侧链末端与配体结合后的封闭作用,所以 AHL 能够不可逆地与 TraR 结合。而在其他的 LuxR 型蛋白中 Phe62 不保守,且在相应的位置比 Phe 所占空间小,导致 AHL 结合位点打开,所以 AHL 与其他 LuxR 蛋白的结合是可逆的。

所有 LuxR 型蛋白都通过理想配比 1:1 的比例与 AHL 分子结合^[18,19]。但是,调控蛋白与其配体结合的稳定程度存在一定的区别。比如, *V. fischeri* LuxR-3-oxo-C6-HSL 复合物可通过稀释法可逆地分离开来,证明 AHL 与 LuxR 蛋白的结合并不非常紧

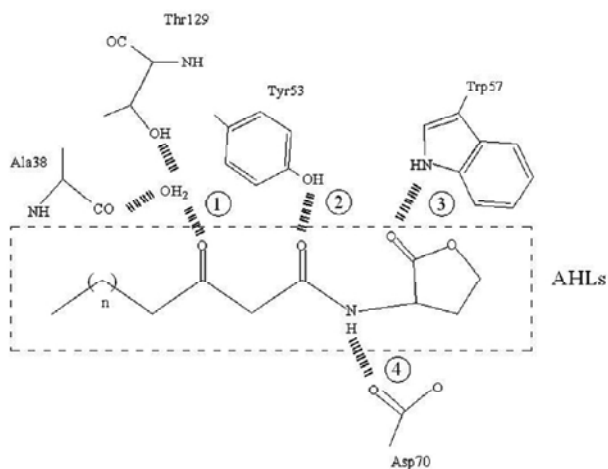


图4 TraR与AHLs的结合区域

AHL 与 TraR 结合形成氢键的简图。虚线框中的分子式为 AHLs 的基本结构, ①②③④为 AHLs 与 TraR 蛋白结合的四氢键。

密^[20]。而另外一种 LuxR 家族蛋白 TraR 则与其信号分子结合的十分紧密^[21]。

2.3 LuxR 与目的基因的相互作用

LuxR 蛋白的 C 端含有保守的螺旋-转角-螺旋结构,能够以二聚体形式特异性结合目的基因转录调控区被称为 *lux box* 的序列(5'-ACC TGT AGG ATG GTA CAG G-3'),进而调控该基因的转录^[22]。虽然 LuxR 家族蛋白与其靶基因结合的位点相似,但是它们也包含一些细微的区别,例如铜绿假单胞菌 (*Pseudomonas aeruginosa*) 中 LuxR 家族的两个成员 LasR 和 QscR 的结合位点都包含 20 bp 的保守序列,其中 15 bp 是必需的,但是两者与靶基因结合时不能交换结合^[23]。

LuxR 家族蛋白大部分为激活子, LuxR 蛋白与 DNA 作用会诱导 RNA 聚合酶与目的基因启动子结合,进而启动转录。在这一过程中, AHL 与 LuxR 蛋白的结合是 LuxR 与目的基因结合的先决条件^[21],如果没有 AHL, N 端会遮盖 C 端的 DNA 结合域,干扰 DNA 与 LuxR 结合;如果 AHL 存在,就会促使 LuxR 的 DNA 结合域暴露。一些 LuxR 蛋白则为抑制子^[24,25],这些 LuxR 蛋白与 AHL 的结合会导致 C 端的构象变化,使 LuxR 蛋白与 DNA 解离;但是 AHL 与 LuxR 蛋白的结合是如何导致 C 端构象变化的还有待进一步研究。

此外,某些 LuxR 家族蛋白与 DNA 的结合表现出协同性,如伯克氏菌 *Burkholderia cenocepacia* 中的 CepR 在凝胶阻滞实验 (EMSA) 中与 *cepI* 和 *aidA* 基因的启动子结合表现出协同作用^[26],这种协同作用使得受 CepR 调控的基因只有在细胞内 CepR 蛋白的水平达到一定阈值时才高效表达,有利于在必要时行使细菌群体移动、生物膜形成等功能。而另外一些却没有协同性,如 LuxR^[20] 和 TraR^[27]。此外,还有一些与不同的目的基因结合表现出不同的协同性,如 *Pseudomonas aeruginosa* 中的 LasR 蛋白^[19],这使得受 LasR 调控的基因能够在不同时期或不同条件下表达以行使不同的功能。通常,如果目的基因启动子包含保守的 *lux box*,则不会表现出协同作用;如果目的基因启动子相对保守的 *lux box* 有变化的序列,则会表现出协同性^[19]。

2.4 LuxR 在细菌中的分布

LuxR 蛋白广泛存在于各种细菌中。在产生 AHL 的细菌中,胡萝卜软腐欧文氏菌 (*Erwinia carotovora* subsp. *betavasculorum*) 中的 Expr^[28]、铜

绿假单胞菌(*P. aeruginosa*)中的LasR蛋白^[29]和RhIR蛋白^[30]、豌豆根瘤菌(*Rhizobium leguminosarum* bv. *viciae*)中的BisR蛋白^[31]、草木樨中华根瘤菌(*Sinorhizobium meliloti*)中的SinR蛋白^[32]等均属于LuxR蛋白。还有很多不产生AHL信号分子的细菌也含有LuxR蛋白,比如水稻白叶枯菌(*Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*)中的OryR蛋白^[33]以及大肠埃希氏杆菌(*Escherichia coli*)中的SdiA蛋白^[34]等。对265种变形杆菌门(Proteobacteria)的基因组分析表明,至少68种变形杆菌中含有LuxI和LuxR蛋白类似物,而另外45种只有LuxR蛋白,缺少LuxI蛋白(AHL合成酶)^[35]。在没有LuxI蛋白的细菌中,有些可能通过其他途径产生AHL,或者不产生AHL的细菌能够通过本身的LuxR蛋白监测到其他微生物产生的信号分子并作出应答反应^[36]。目前对这类不产AHL细菌中的LuxR蛋白研究较少。总之无论细菌合成AHL与否,LuxR在细菌中都广泛存在。

3 LuxR 家族蛋白的调控机理

3.1 在细菌发光中的调控

发光细菌是一类在正常的生理条件下能够发射可见荧光的细菌,这种可见荧光波长在450~490 nm之间,在黑暗处肉眼可见。研究人员最早在海洋细菌费氏弧菌(*V. fischeri*)和哈维氏弧菌(*V. haverii*)中发现了由细菌群体感应控制的生物发光现象。*V. fischeri*群体感应系统由调控蛋白LuxR蛋白、合成自体诱导物的合成酶LuxI蛋白和信号分子三部分组成。其中LuxI蛋白负责产生群体感应信号AHL,并催化其生成*N*-3-氧-己酰高丝氨酸内酯(*N*-3-oxo-hexanoyl-L-homoserine lactone,简称3-oxo-C6-HSL)。在高细胞浓度时,自主诱导物可穿越细胞壁扩散至环境中,当积累到一定的阈值后,3-oxo-C6-HSL自主诱导物会与LuxR蛋白结合形成LuxR-3-oxo-C6-HSL复合物,该复合物促使荧光酶转录,激活发光基因操纵子*lux*(*luxICDABEG*)和其他17种基因,进而使细菌发光^[37]。

3.2 在胞外酶产生中的调控

胡萝卜软腐欧文氏菌(*Erwinia carotovora* subsp. *betavasculorum*)的主要致病机理是可协同分泌很多高水平的酶类,包括果胶酶、纤维素酶、蛋白酶等,这些酶可以降解植物细胞壁,释放出养分以供细菌生长使用。软腐欧文氏菌胞外酶的产生受到LuxR家族蛋白类似物ExpR和ExpI蛋白的调控,两者根

据细菌细胞密度变化来控制胞外酶的表达^[28]。AHL是软腐欧文氏菌亚种产生胞外酶所必需的,之前的研究证明AHL不足会引起一种胞外酶产生的负调控子——一种RNA结合蛋白RsmA的高水平表达,而ExpR蛋白可以激活RsmA的产生^[38]。这说明LuxR家族蛋白在细菌群体感应中也有负调控效应。

3.3 在毒力因子产生过程中的调控

铜绿假单胞菌(*P. aeruginosa*)中存在众多由LuxR家族蛋白调控产生的毒力因子。在该菌中存在两套群体感应系统,LasI/R和RhII/R。LasI/R系统包括转录激活蛋白LasR和acyl-HSL合成酶LasI及3-氧癸酰基-L-高丝氨酸内酯(3-oxo-C12-HSL)。*lasI*基因位于*lasR*基因的下游,其产物参与合成铜绿色假单胞菌的自体诱导物(PAI)3-oxo-C12-HSL。RhII/R系统包括调节子RhIR和acyl-HSL合成酶RhII及其对应的丁酰基-L-高丝氨酸内酯(C4-HSL)。这两套系统密切相关,共同参与调控众多的毒力因子^[39,40]。LasR调控铜绿假单胞菌多个毒力因子基因的表达,包括*lasA*、*lasB*、*aprA*和*toxA*。RhII/R需在LasI/R调控下进一步激活其他目的基因,参与产生毒力因子及某些次级代谢产物。

此外,Malott等^[41]在伯克氏菌(*B. cenocepacia*)中发现了LuxR类似的蛋白CepR2,能够调控毒力因子的产生,所有的*B. cenocepacia*菌株中都含有这种蛋白。

3.4 在质粒接合转移中的调控

细菌质粒能在细胞中自我复制,并随细菌分裂稳定地传递给后代。多数细菌的质粒具有传递和遗传交换能力,能在不同细菌间转移。在豌豆根瘤菌(*R. leguminosarum* bv. *viciae*)共生质粒pRL1JI上存在两个调控接合转移的基因*bisR*和*traR*,它们与质粒转移操纵子*traI-trbBCDEJKLFGHI*相邻,分别编码LuxR型调控蛋白BisR和TraR。pRL1JI的受体菌细胞利用自身产生的自体诱导物*N*-(3-hydroxy-7-cis-tetradecenoyl)-L-homoserine lactone(3-OH-C14:1-HSL),对供体菌体内BisR蛋白进行诱导。BisR进一步诱导*traR*基因产生TraR蛋白,该蛋白作用于*traI-trb*操纵子,在它们的协同作用下,促使质粒发生接合转移^[31]。此外,BisR还参与豌豆根瘤菌的生长抑制作用,但机制尚不清楚。

3.5 在次级代谢产物中的调控

LuxR蛋白在微生物的次级代谢产物合成中也起着重要的调控作用,例如He等^[42]从吸水链霉菌

(*Streptomyces hygroscopicus*) 17997中克隆了格尔德霉素(Geldanamycin, Gdm)生物合成酶基因簇,通过生物信息学分析发现了两个LuxR家族调控基因*gdmR I*和*gdmR II*。基因阻断和回复实验证明这两个基因表达的蛋白对格尔德霉素的产生具有正调控的作用。

我们从自溶链霉菌(*Streptomyces autolyticus*)的次生代谢产物中发现了一个新的格尔德霉素结构类似物,称为自溶霉素(autolytimycin)。自溶霉素被证实具有很好的生物活性,具有成为新型抗肿瘤药物的良好前景。我们对自溶霉素生物合成基因簇中两个LuxR家族蛋白AlmRI和AlmRII的研究表明,携带*almRI*基因或*almRII*基因的多拷贝载体质粒经接合转移导入到自溶霉菌中可以提高自溶霉素的产量。同时,实时定量PCR测定表明,产量较高的菌株中*almRI*基因或*almRII*基因的表达也相对较高,说明*almRI*基因和*almRII*基因在自溶霉素生物合成中起到了正调控的作用(未发表数据)。对这些基因的进一步研究可以使我们了解自溶霉素生物合成的调控机制,为将来对产生菌进行遗传工程改良以提高自溶霉素产量奠定基础。

许多假单胞菌属(*Pseudomonas* spp.)细菌能够产生抗生素环脂肽,具有重要的生物学意义。系统发生学分析显示假单胞菌属中的环脂肽生物合成受LuxR型蛋白调控。在多数假单胞菌属中环脂肽的产生仅由一个LuxR家族的蛋白调控,而在*P. fluorescens* SBW25中由两个LuxR家族蛋白调控黏液菌素的合成。在*P. fluorescens* SBW25菌株中对编码LuxR型调节蛋白的两个基因中的任何一个进行定点突变,都会导致环脂肽抗生素黏液菌素产量为零,表明这两个LuxR蛋白都参与了环脂肽抗生素黏液菌素的合成^[43]。

3.6 与宿主的相互作用

LuxR蛋白在细菌与宿主的相互作用之间也占有重要地位。Alonso-Hearn等^[44]通过研究LuxR蛋白对分枝杆菌(Mycobacteria)细胞膜组成的影响,发现LuxR调控蛋白与寄生菌侵入宿主有关。Ferluga等^[33]在一种能够导致植物叶片枯萎的水稻白叶枯菌(*Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*)中发现了LuxR家族蛋白,并命名为OryR蛋白,它是宿主与病原菌之间交流的重要调控蛋白。实验证明水稻白叶枯菌没有LuxI家族AHL合成酶,不产生AHL信号分子,在这种情况下OryR会与另外一种未知信号分子结

合,而这种信号分子是由植物本身产生的小分子物质,他们将这种分子命名为水稻信号分子(RSM)。当水稻白叶枯菌感染水稻时,OryR蛋白浓度增加,表明LuxR家族蛋白也可以检测到真核生物产生的非AHL信号物质。

LuxR家族蛋白在细菌与植物的共生或联合共生中同样起到重要作用。植物细菌天山根瘤菌(*Mesorhizobium tianshanense*)中LuxR的类似物MrtR对于根瘤菌和宿主植物的共生十分重要,其与N-乙酰高丝氨酸内酯形成二聚体,结合到DNA区域,激活下游基因表达^[45]。草木樨中华根瘤菌(*S. meliloti*)中的Sin/ExpR细菌群体感应系统在它与宿主植物紫花苜蓿(*Medicago sativa*)之间联合共生时也起着重要的作用^[46]。有趣的是,*S. meliloti* Rml021编码四个额外的可能的LuxR类似物,这几个调控蛋白具有LuxR家族蛋白的特征,N端有自体诱导物调控区,C端有螺旋-转角-螺旋区域,其中一个LuxR型调控蛋白NesR会影响*S. meliloti*的甲基化循环。当*S. meliloti*遇到高渗透压、营养缺乏等恶劣的环境时,NesR能够提高*S. meliloti*的适应能力,由此提高该植物在根际胁迫时的存活机率^[47]。

3.7 LuxR家族蛋白调控总结

虽然LuxR家族蛋白识别信号分子并对其作出反应的机理并不复杂,即不同的LuxR家族蛋白与特定的信号分子特异结合,发生构象变化,然后与靶基因启动区的特异序列结合或分离,调控靶基因的表达。但是在多种细菌群落共存的复杂环境条件下,由于存在不同细菌类群分泌的众多相似的信号分子,每一特定细菌种群必须能够识别其自身的群体感应信号并作出反应。同时,在很多情况下同一细菌中存在多种LuxR蛋白,需要对多种不同的信号分子作出反应,这些不同反应途径之间的协调与平衡是一个非常复杂的过程。不同的信号反应途径既可以以级联的形式存在(如铜绿假单胞菌中LuxR家族蛋白LasI/R和RhII/R对毒力因子产生的调控^[39,40]),也可以平行存在(如哈维氏弧菌针对三种不同信号分子的相互协同反应途径^[48])。LuxR家族蛋白在这些反应途径中的作用大多数是正调控,但在一些情况下也可以是负调控,如*Pantoea stewartii*中的EsaR^[24]、*Serratia marcescens*中的SpnR^[25]、*Erwinia chrysanthemi*中的ExpR^[49]和*E. carotovora*中的VirR^[50]等。LuxR参与的调控途径通常都受到精细的控制,在一些情况下细菌通过不同的调控蛋白来达到

这种精细控制, 如铜绿假单胞菌中的 QscR 蛋白就对 LasI/R 和 RhII/R 介导的 QS 起到负调控作用^[23, 51]。在另外一些情况下则通过不同的调控机制来实现。如根瘤土壤杆菌 (*A. tumefaciens*) 中, Ti 质粒编码的 TraM 蛋白能够控制 TraR-AHL 复合物活性, 使得 TraR-AHL 只有在达到一定阈值时才会发挥功能^[52]; 同时, 根瘤土壤杆菌 (*A. tumefaciens*) 还通过一种与 TraR 结构类似的调控因子 TrlR 与 TraR 结合, 使之失活或稀释 AHL, 从而对 TraR 行使的生理功能进行负调控^[53]。此外, 不同的信号系统之间也存在相互干扰, 如细菌与其寄生的宿主植物之间, 宿主细胞的信号分子会对寄主 AHL 介导的 QS 产生抑制^[54]。总之, 细菌细胞之间的信号交流是一个非常复杂的过程, 诸多 LuxR 家族蛋白调控的信号途径之间既有相互协同, 也存在相互拮抗。在自然界特定的微环境中, 各种不同的细菌群落通过这些信号系统进行交流, 使得它们能够协调各自种群的行为, 而整个细菌群体则在协同与胁迫中适应环境、共同生存。

4 LuxR 家族蛋白研究的应用前景

人们对 LuxR 蛋白的研究在环境监测、农业病虫害防治、医学和微生物发酵等方面具有广泛的应用前景。例如在环境监测和食品检测方面, 将发光细菌中的群体感应系统导入合适的噬菌体中, 利用噬菌体对宿主菌的侵入作用, 检测宿主菌的数量活性等数据, 可以作为环境微生物检测的方法^[55]; 利用转入发光基因的发光乳杆菌可以检测牛奶中的抗菌素或其他对细胞代谢有害的物质^[56]。在农业上可以将 LuxR/I 系统导入植物根瘤菌中, 通过发光检测设备对工程菌产生光线进行监测, 对细菌侵入植物的整个过程实施实时在线监测^[57]; 培育能够合成 AHL 的转基因植物可以防止病虫害, 如在植物叶绿体中表达 *Yersinia enterocolitica* 的 *yenI* 基因可以促进 *P. aureofaciens* 的共生, 而其由 PhzR/I 群体感应系统调控分泌的吩嗪抗生素可以防止真菌感染^[58]。在医学方面, 可以通过酶、抗体或结构类似物来干扰细菌群体感应信号, 如使用天然呋喃酮及其他一些 AHL 分子类似物抑制 LuxR 介导的 QS, 从而利于被感染宿主对致病菌的清除^[59, 60]; 也可以通过抑制 LuxR 家族蛋白的功能来达到降低细菌致病力的目的, 如敲除 *P. aeruginosa* 的 *lasR rhIR* 可以降低其致病力^[61]。此外通过生物技术手段, 可以使产生 LuxR

蛋白的基因过表达, 从而大规模生产抗生素。还可以根据 LuxR 型家族蛋白细菌群体感应的作用原理应用于发酵工业方面, 采用基因工程手段改造发酵菌株, 建立集细胞生长、代谢、基因表达等于一体的模式系统, 构成缜密、精确控制的调控网络, 将更加有利于基因工程菌的高效率生产。总之, 随着对 LuxR 家族蛋白研究的不断深入, 对细菌群体感应的人为控制将具有非常良好的应用前景。

5 结语与展望

LuxR 型家族蛋白是一类在细菌群体感应机制中起重要作用的调控蛋白, 随着对 LuxR 家族蛋白研究的不断深入, 对细菌群体感应的人为控制具有非常良好的应用前景。目前细菌群体感应的研究已逐渐进入了一个多种细菌混合群体的新阶段, 弄清楚 LuxR 类蛋白的功能地位至关重要。虽然现在对 LuxR 家族蛋白的研究已经取得了一些进展, 认识了该蛋白的晶体结构和化学特性, 也了解了一些 LuxR 型蛋白的结构与功能的关系, 但是仍有许多问题有待进一步研究。例如: LuxR 家族蛋白在与自体诱导物及 DNA 结合后的构象变化如何, 这些构象变化与其功能之间存在何种联系; 处于多种 AHLs 环境中的不同细菌群体之间是如何通过不同的信号系统相互作用的; 诸多不产生 AHL 的细菌中 LuxR 家族蛋白的功能及系统进化关系如何; 细菌群体行为是否存在局限性; 其预感和判断周围环境的群体行为标准是否统一等等。对这些问题的深入研究不但有助于了解细菌群体之间的信号传递和细菌与外界环境的相互作用, 而且能够促进对细菌群体感应系统的人为控制, 使细菌的生理过程达到人们的特定需要。

[参 考 文 献]

- [1] Nasser W, Reverchon S. New insights into the regulatory mechanisms of the LuxR family of quorum sensing regulators. *Anal Bioanal Chem*, 2007, 387(2): 381-90
- [2] Schauder S, Bassler BL. The languages of bacteria. *Genes Dev*, 2001, 15(12): 1468-80
- [3] Fuqua C, Parsek MR, Greenberg EP. Regulation of gene expression by cell-to-cell communication: Acyl-homoserine lactone quorum sensing. *Annu Rev Genet*, 2001, 35(1): 439-68
- [4] Whitehead NA, Barnard AM, Slater H, et al. Quorum-sensing in Gram-negative bacteria. *FEMS Microbiol Rev*, 2001, 25(4): 365-404
- [5] Bassler BL. Small talk. Cell-to-cell communication in bacteria.

- Cell, 2002, 109(4): 421-4
- [6] Waters CM, Bassler BL. Quorum sensing: cell-to-cell communication in bacteria. *Annu Rev Cell Dev Biol*, 2005, 21: 319-46
- [7] Gonzalez JE, Keshavan ND. Messing with bacterial quorum sensing. *Microbiol Mol Biol Rev*, 2006, 70(4): 859-75
- [8] Reading NC, Sperandio V. Quorum sensing: the many languages of bacteria. *FEMS Microbiol Lett*, 2006, 254(1): 1-11
- [9] Camilli A, Bassler BL. Bacterial small-molecule signaling pathways. *Science*, 2006, 311(5764): 1113-6
- [10] Williams P. Quorum sensing, communication and cross-kingdom signalling in the bacterial world. *Microbiology*, 2007, 153(Pt 12): 3923-38
- [11] von Bodman SB, Willey JM, Diggle SP. Cell-cell communication in bacteria: united we stand. *J Bacteriol*, 2008, 190(13): 4377-91
- [12] Atkinson S, Williams P. Quorum sensing and social networking in the microbial world. *JRSoc Interface*, 2009, 6(40): 959-78
- [13] Lyon GJ, Novick RP. Peptide signaling in *Staphylococcus aureus* and other Gram-positive bacteria. *Peptides*, 2004, 25(9): 1389-403
- [14] Novick RP. Autoinduction and signal transduction in the regulation of staphylococcal virulence. *Mol Microbiol*, 2003, 48(6): 1429-49
- [15] Vendeville A, Winzer K, Heurlier K, et al. Making 'sense' of metabolism: autoinducer-2, LuxS and pathogenic bacteria. *Nat Rev Microbiol*, 2005, 3(5): 383-96
- [16] Lerat E, Moran NA. The evolutionary history of quorum-sensing systems in bacteria. *Mol Biol Evol*, 2004, 21(5): 903-13
- [17] Vannini A, Volpari C, Gargioli C, et al. The crystal structure of the quorum sensing protein TraR bound to its autoinducer and target DNA. *EMBO J*, 2002, 21(17): 4393-401
- [18] Welch M, Todd DE, Whitehead NA, et al. *N*-acyl homoserine lactone binding to the CarR receptor determines quorum-sensing specificity in *Erwinia*. *EMBO J*, 2000, 19(4): 631-41
- [19] Schuster M, Urbanowski ML, Greenberg EP. Promoter specificity in *Pseudomonas aeruginosa* quorum sensing revealed by DNA binding of purified LasR. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2004, 101(45): 15833-9
- [20] Urbanowski ML, Lostroh CP, Greenberg EP. Reversible acyl-homoserine lactone binding to purified *Vibrio fischeri* LuxR protein. *J Bacteriol*, 2004, 186(3): 631-7
- [21] Zhu J, Winans SC. The quorum-sensing transcriptional regulator TraR requires its cognate signaling ligand for protein folding, protease resistance, and dimerization. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2001, 98(4): 1507-12
- [22] Eglund KA, Greenberg EP. Quorum sensing in *Vibrio fischeri*: elements of the luxI promoter. *Mol Microbiol*, 1999, 31(4): 1197-204
- [23] Lee JH, Lequette Y, Greenberg EP. Activity of purified QscR, a *Pseudomonas aeruginosa* orphan quorum-sensing transcription factor. *Mol Microbiol*, 2006, 59(2): 602-9
- [24] 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. *Mol Microbiol*, 2002, 44(6): 1625-35
- [25] 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*. *Mol Microbiol*, 2002, 45(6): 1655-71
- [26] Weingart CL, White CE, Liu S, et al. Direct binding of the quorum sensing regulator CepR of *Burkholderia cenocepacia* to two target promoters *in vitro*. *Mol Microbiol*, 2005, 57(2): 452-67
- [27] Zhu J, Winans SC. Autoinducer binding by the quorum-sensing regulator TraR increases affinity for target promoters *in vitro* and decreases TraR turnover rates in whole cells. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1999, 96(9): 4832-7
- [28] Andersson RA, Eriksson AR, Heikinheimo R, et al. Quorum sensing in the plant pathogen *Erwinia carotovora* subsp. *carotovora*: the role of expR (Ecc). *Mol Plant Microbe Interact*, 2000, 13(4): 384-93
- [29] Gambello MJ, Iglewski BH. Cloning and characterization of the *Pseudomonas aeruginosa* lasR gene, a transcriptional activator of elastase expression. *J Bacteriol*, 1991, 173(9): 3000-9
- [30] Brint JM, Ohman DE. Synthesis of multiple exoproducts in *Pseudomonas aeruginosa* is under the control of RhlR-RhII, another set of regulators in strain PA01 with homology to the autoinducer-responsive LuxR-LuxI family. *J Bacteriol*, 1995, 177(24): 7155-63
- [31] Danino VE, Wilkinson A, Edwards A, et al. Recipient-induced transfer of the symbiotic plasmid pRL1JI in *Rhizobium leguminosarum* bv. *viciae* is regulated by a quorum-sensing relay. *Mol Microbiol*, 2003, 50(2): 511-25
- [32] Marketon MM, Gronquist MR, Eberhard A, et al. Characterization of the *Sinorhizobium meliloti* sinR/sinI locus and the production of novel *N*-acyl homoserine lactones. *J Bacteriol*, 2002, 184(20): 5686-95
- [33] Ferluga S, Venturi V. OryR is a LuxR-family protein involved in interkingdom signaling between pathogenic *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* and rice. *J Bacteriol*, 2009, 191(3): 890-7
- [34] Van Houdt R, Aertsen A, Moons P, et al. *N*-acyl-L-homoserine lactone signal interception by *Escherichia coli*. *FEMS Microbiol Lett*, 2006, 256(1): 83-9
- [35] Case RJ, Labbate M, Kjelleberg S. AHL-driven quorum-sensing circuits: their frequency and function among the Proteobacteria. *ISME J*, 2008, 2(4): 345-9
- [36] Subramoni S, Venturi V. LuxR-family 'solos': bachelor sensors/regulators of signalling molecules. *Microbiology*, 2009, 155(Pt 5): 1377-85
- [37] Antunes LC, Ferreira RB, Lostroh CP, et al. A mutational analysis defines *Vibrio fischeri* LuxR binding sites. *J Bacteriol*, 2008, 190(13): 4392-7
- [38] Cui Y, Chatterjee A, Hasegawa H, et al. ExpR, a LuxR homolog of *Erwinia carotovora* subsp. *carotovora*, activates transcription of rsmA, which specifies a global regulatory RNA-binding protein. *J Bacteriol*, 2005, 187(14): 4792-803
- [39] Passador L, Cook JM, Gambello MJ, et al. Expression of *Pseudomonas aeruginosa* virulence genes requires cell-to-cell communication. *Science*, 1993, 260(5111): 1127-30

- [40] Smith RS, Iglewski BH. *P. aeruginosa* quorum-sensing systems and virulence. *Curr Opin Microbiol*, 2003, 6(1): 56-60
- [41] Malott RJ, O'Grady EP, Toller J, et al. A *Burkholderia cenocepacia* orphan LuxR homolog is involved in quorum-sensing regulation. *J Bacteriol*, 2009, 191(8): 2447-60
- [42] He W, Lei J, Liu Y, et al. The LuxR family members GdmRI and GdmRII are positive regulators of geldanamycin biosynthesis in *Streptomyces hygroscopicus* 17997. *Arch Microbiol*, 2008, 189(5): 501-10
- [43] de Bruijn I, Raaijmakers JM. Diversity and functional analysis of LuxR-type transcriptional regulators of cyclic lipopeptide biosynthesis in *Pseudomonas fluorescens*. *Appl Environ Microbiol*, 2009, 75(14): 4753-61
- [44] Alonso-Hearn M, Eckstein TM, Sommer S, et al. A *Mycobacterium avium* subsp. paratuberculosis LuxR regulates cell envelope and virulence. *Innate Immun*, 2009 [Epub ahead of print]
- [45] Yang M, Giel JL, Cai T, et al. The LuxR family quorum-sensing activator MrtR requires its cognate autoinducer for dimerization and activation but not for protein folding. *J Bacteriol*, 2009, 191(1): 434-8
- [46] Hoang HH, Becker A, Gonzalez JE. The LuxR homolog ExpR, in combination with the Sin quorum sensing system, plays a central role in *Sinorhizobium meliloti* gene expression. *J Bacteriol*, 2004, 186(16): 5460-72
- [47] Patankar AV, Gonzalez JE. An orphan LuxR homolog of *Sinorhizobium meliloti* affects stress adaptation and competition for nodulation. *Appl Environ Microbiol*, 2009, 75(4): 946-55
- [48] Mok KC, Wingreen NS, Bassler BL. *Vibrio harveyi* quorum sensing: a coincidence detector for two autoinducers controls gene expression. *EMBO J*, 2003, 22(4): 870-81
- [49] Nasser W, Bouillant ML, Salmond G, et al. Characterization of the *Erwinia chrysanthemi* expI-expR locus directing the synthesis of two N-acyl-homoserine lactone signal molecules. *Mol Microbiol*, 1998, 29(6): 1391-405
- [50] Burr T, Barnard AM, Corbett MJ, et al. Identification of the central quorum sensing regulator of virulence in the enteric phytopathogen, *Erwinia carotovora*: the VirR repressor. *Mol Microbiol*, 2006, 59(1): 113-25
- [51] Chugani SA, Whiteley M, Lee KM, et al. QscR, a modulator of quorum-sensing signal synthesis and virulence in *Pseudomonas aeruginosa*. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2001, 98(5): 2752-7
- [52] Hwang I, Smyth AJ, Luo ZQ, et al. Modulating quorum sensing by antiactivation: TraM interacts with TraR to inhibit activation of Ti plasmid conjugal transfer genes. *Mol Microbiol*, 1999, 34(2): 282-94
- [53] Chai Y, Zhu J, Winans SC. Tr1R, a defective TraR-like protein of *Agrobacterium tumefaciens*, blocks TraR function *in vitro* by forming inactive Tr1R:TraR dimers. *Mol Microbiol*, 2001, 40(2): 414-21
- [54] Givskov M, de Nys R, Manefield M, et al. Eukaryotic interference with homoserine lactone-mediated prokaryotic signalling. *J Bacteriol*, 1996, 178(22): 6618-22
- [55] Krickal J. Clinical and biochemical applications of luciferases and luciferins. *Anal Biochem*, 1988, 175(1): 14-21
- [56] Ahmad KA, Stewart GSAB. The production of bioluminescent lactic acid bacteria suitable for the rapid assessment of starter culture activity in milk. *Appl Bacteriol*, 1991, 70: 113-20
- [57] de Weger LA, Dunbar P, Mahafee WF, et al. Use of bioluminescence markers to detect *Pseudomonas* spp. in the rhizosphere. *Appl Environ Microbiol*, 1991, 57(12): 3641-4
- [58] Pierson LS 3rd, Thomashow LS. Cloning and heterologous expression of the phenazine biosynthetic locus from *Pseudomonas aureofaciens* 30-84. *Mol Plant Microbe Interact*, 1992, 5(4): 330-9
- [59] Manefield M, Rasmussen TB, Hentzer M, et al. Halogenated furanones inhibit quorum sensing through accelerated LuxR turnover. *Microbiology*, 2002, 148(Pt 4): 1119-27
- [60] Wu H, Song Z, Hentzer M, et al. Synthetic furanones inhibit quorum-sensing and enhance bacterial clearance in *Pseudomonas aeruginosa* lung infection in mice. *J Antimicrob Chemother*, 2004, 53(6): 1054-61
- [61] Wu H, Song Z, Givskov M, et al. *Pseudomonas aeruginosa* mutations in lasI and rhlI quorum sensing systems result in milder chronic lung infection. *Microbiology*, 2001, 147(Pt 5): 1105-13