



## 细菌 Cpx 双组分信号转导系统应对外界环境变化的响应调节机制研究进展

李国涛<sup>1</sup> 薛海玲<sup>1,2</sup> 姚远<sup>\*1,3</sup>

1 内蒙古大学生命科学学院 草原家畜生殖调控与繁育国家重点实验室 内蒙古 呼和浩特 010070

2 内蒙古乌兰察布市蒙古族中学 内蒙古 乌兰察布 012000

3 内蒙古自治区人民医院神经内科 内蒙古 呼和浩特 010017

**摘 要:** 细菌能够在其他微生物无法生存的环境中生长, 必然具有更加强大的适应外界环境的能力。细胞信号转导的效率决定了细菌对外界刺激做出应答反应的速率和能力。双组分调控系统是维持细菌在压力环境中存活的重要结构。Cpx 双组分信号转导系统是革兰氏阴性菌中普遍存在的双组分调控系统之一, 在响应外界环境变化并做出适应性反应的过程中起着主要作用。本文主要针对细菌中双组分信号转导系统的种类、Cpx 双组分信号转导系统参与的调控、Cpx 双组分信号转导系统所调控的靶基因及其生理行为的研究进展进行综述, 以为科研人员更深入的研究提供思路和理论基础。

**关键词:** 细菌, 双组分信号转导系统, Cpx 系统, 环境应答

## Research progress of Cpx two-component system in bacteria

LI Guotao<sup>1</sup> XUE Hailing<sup>1,2</sup> YAO Yuan<sup>\*1,3</sup>

1 State Key Laboratory of Reproductive Regulation & Breeding of Grassland Livestock, School of Life Sciences, Inner Mongolia University, Hohhot, Inner Mongolia 010070, China

2 Mongolian Nationality Middle School of Wulanchabu City, Wulanchabu, Inner Mongolia 012000, China

3 Department of Neurology, Inner Mongolia People's Hospital, Hohhot, Inner Mongolia 010017, China

**Abstract:** Bacteria can grow in the environment that other microorganisms can't survive, so it must have more powerful ability to adapt to the external environment. The efficiency of cell signal transduction determines the rate and ability of bacteria to respond to external stimulus. Two-component system is an important structure to maintain the survival of bacteria under conditions of stress. Two-component system Cpx is widely distributed in Gram-negative bacteria, which plays a major role in responding to the changes of external environment and making adaptive response. In this paper, the types of two-component signal transduction system in bacteria, the regulation of Cpx two-component system, the regulated target genes by Cpx two-component system and their physiological behavior were briefly reviewed to provide ideas and theoretical guidance for further research.

**Keywords:** bacteria, two-component system, Cpx system, environment response

**Foundation item:** Natural Science Foundation of Inner Mongolia Autonomous Region (2017BS0315)

**\*Corresponding author:** Tel: 86-471-3283206; E-mail: yuanyao129@imu.edu.cn

**Received:** 27-04-2020; **Accepted:** 22-03-2021; **Published online:** 26-04-2021

**基金项目:** 内蒙古自治区自然科学基金(2017BS0315)

**\*通信作者:** Tel: 0471-3283206; E-mail: yuanyao129@imu.edu.cn

**收稿日期:** 2020-04-27; **接受日期:** 2021-03-22; **网络首发日期:** 2021-04-26

双组分信号转导系统起源于原核生物,在低等真核生物和少部分植物中也有发现,但尚未在动物和人类体内发现<sup>[1-2]</sup>。真核生物中双组分信号转导系统是通过各种水平基因转移事件从祖先——蓝藻遗传而来的<sup>[3-6]</sup>。细菌利用双组分信号转导系统适应周围不断变化着的环境。

## 1 细菌双组分信号转导系统概述

Nixon 等在 20 世纪 80 年代末研究氮同化的过程中提出了原核生物双组分调控系统(Two-Component Regulatory Systems, TCRS)模型。他们发现两类非常保守的蛋白家族 NtrB (GlnL)和 NtrC (GlnG)参与了此过程。NtrB 系列的蛋白以非保守的 N-端结构域感知环境信号,并通过变构修饰将它们传递到细胞质中保守的 C-末端部分。然后, NtrB 系列蛋白质的 C-末端部分与其对应的 NtrC 系列蛋白质的 N-末端部分相互作用或修饰,通过对 NtrC 系列蛋白或者参与该反应的其他蛋白质的 C-末端结构域的变构效应来激活或抑制相关的生理过程<sup>[7]</sup>。然而在那个时期,蛋白磷酸化在真核生物中研究很多,而在原核生物中研究较少。在 Nixon 提出该模型后的 2 年当中, Ninf 和 Hess 等通过研究发现双组分系统(Two-Component System, TCS)通过磷酸基团的传递使相关蛋白磷酸化的机制来发挥调控作用,此发现极大地推动了原核生物中 TCRS 的研究<sup>[8-9]</sup>。

截至目前,在细菌中共发现约一千多种双组分信号转导系统,其中在大肠杆菌(*Escherichia coli*, *E. coli*)中发现了 29 种,按功能可以分为 4 种(表 1, 引用自文献[10])。

根据不同的磷酸基团传递步骤, TCS 可以分为 2 类:即经典系统和非经典系统(图 1)。不论是经典系统还是非经典系统,均包括以下 2 种成分:组氨酸蛋白激酶(Histidine Protein Kinase, HK)和反应调节蛋白(Response Regulator Protein, RR)。经典系统的磷酸传递过程仅需一步就可完成,即从组氨酸蛋白激酶到反应调节蛋白(图 1A);而在非经典的系统中,磷酸基团需要经过多步传递,其接力传递过程通常在多个组氨酸(His)和天冬氨酸(Asp)残

基之间交替进行(图 1B);组氨酸蛋白激酶是存在于细胞膜上的跨膜蛋白,包含有 2 个跨膜区, N 端感受外界信号的输入区和 C 端的信号转导区,该区具有自主磷酸激酶的功能,磷酸化的位点一般是保守的组氨酸残基<sup>[11]</sup>。反应调节蛋白主要由 2 个结构域组成,它们分别是 N 端 110 个氨基酸残基组成的信号接收区和 C 端输出区<sup>[12]</sup>,信号接收区负责接收来自组氨酸蛋白激酶传递来的磷酸基团,被磷酸化的反应调节蛋白可能发生构象变化,从而影响其输出区与目的基因启动子区域的结合能力。

表 1 大肠杆菌中的双组分信号转导系统<sup>[10]</sup>

Table 1 Two-component systems in *Escherichia coli*<sup>[10]</sup>

Two-component systems	Characteristic functions
<b>Metabolism</b>	
ArcB→ArcA	Aerobic/Anaerobic metabolism
AtoS→AtoC	Acetoacetate metabolism
CreC→CreB	Global regulator
DcuS→DcuR	C4-dicarboxylate metabolism
DpiB→DpiA	Citrate metabolism
NarX→NarP	Nitrate metabolism
NarX→NarL	Nitrate metabolism
TorS→TorR	Trimethylamine metabolism
UhpB→UhpA	Phosphate absorption
YfhK→YfhA	Amino sugar metabolism
YpdA→YpdB	Nutrient scavenging
YehU→YehT	Hypotonic growth
<b>Ion/metal</b>	
BasS→BasR	Fe response
CopS→CopR	Cu response
CusS→CusR	Cu response
KdpD→KdpE	K assimilation
NtrB→NtrC	N assimilation
PhoQ→PhoP	Mg assimilation
PhoR→PhoB	P assimilation
ZraS→ZraR	Zn and Pb response
<b>Stress</b>	
BaeS→BaeR	Drug resistance
BarA→UvrY	Oxidative stress response
CpxA→CpxR	Envelope stress response
EnvZ→OmpR	Osmotic stress response
EvgS→EvgA	Drug resistance
QseC→QseB	Quorum sensing
RcsC→YojN→RcsB	Capsule synthesis
RstB→RstA	Stress/stressosome
<b>Motility</b>	
CheA→CheY (CheB)	Chemotaxis

注:表 1 引用自文献[10],并由作者重新绘制

Note: Table 1 was cited from reference [10], and was redrawn by the authors

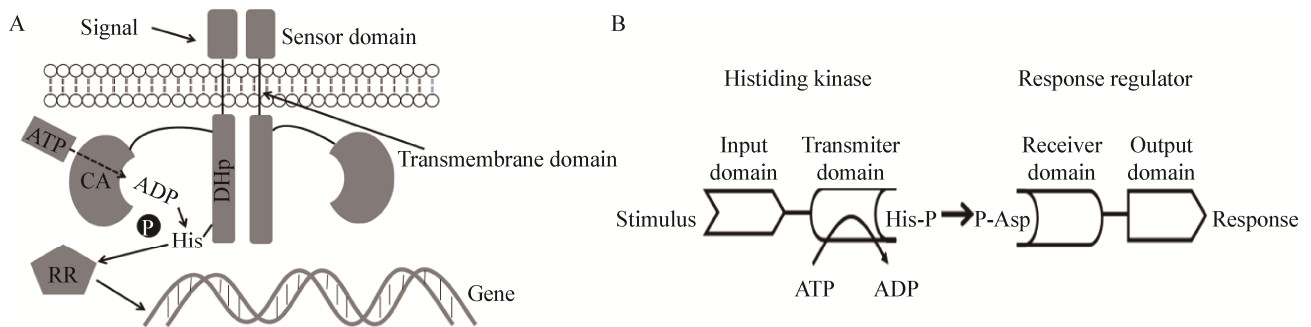


图 1 经典的磷酸转移步骤(A)和非典型的磷酸转移步骤(B)

Figure 1 Classical (A) and non-classical (B) phosphate group transfer procedures

注: 图 1 引自文献[11], 并由作者重新绘制

Note: The figure 1 was cited from reference [11], and was redrawn by the authors

很多情况下, 不同的双组分信号转导系统之间紧密合作、相互作用、相互协调, 感应外界环境并做出应答。这个交织在一起的调控网络可以同时感知外界环境中的各种刺激, 从而调节诸如能量代谢、群体感应、趋化性、休眠等各种复杂的细胞活动<sup>[13-16]</sup>。

## 2 Cpx 双组分信号转导系统概述

细菌只有具备完整的细胞膜才能够存活, 革兰氏阴性细菌的细胞膜由 3 个组成部分: 外膜、细胞质膜和周质空间。细菌膜附近的区域每时每刻都在进行着诸如结构、生理、信号转导等各种不同的细胞活动, 而这些活动的顺利进行通常需要各种与细胞膜相关蛋白的参与, 而且这个区域的损伤会给细菌带来严重危害, 因此细菌目前进化出  $\sigma^E$  系统、Cpx 系统、Bae 系统、Psp 系统和 Rcs 系统, 至少这 5 条调控通路可以感受胞膜压力并维持膜的稳定性; 尽管它们的功能类似, 即接受外界信号刺激并做出响应, 以适应环境和遗传的变化, 但每条途径所能接收的激活信号种类及其调控的靶基因则不同<sup>[17]</sup>。

1980 年, McEwen 等发现 *E. coli* 中的 *cpxA* (Conjugative Pilus Expression A) 基因的突变体减少了 F-质粒接合菌毛的表达, 从此开启了对 Cpx TCS 的研究<sup>[18]</sup>。1986 年, Albin 等在 *E. coli* 中通过序列分析发现了双组分调控系统的组氨酸蛋白激酶 CpxA, 并且证明它是一个镶嵌在细胞内膜上的蛋

白, 其编码基因位于某个操纵子的 3'端<sup>[19]</sup>。进而发现了 *cpxR* 基因位于 *cpxA* 基因的上游, *cpxR* 基因编码一种感知与 CpxA 蛋白同源的 RR 蛋白 CpxR<sup>[20]</sup>, 两者构成一个双组分信号转导系统。从此, 对 Cpx 系统的研究逐渐深入。Cpx 系统主要的功能是通过感受外部刺激导致的细胞内膜压力变化, 从而使下游基因有选择性地激活并转录, 实现对细菌生命活动的精细调控<sup>[21]</sup>。

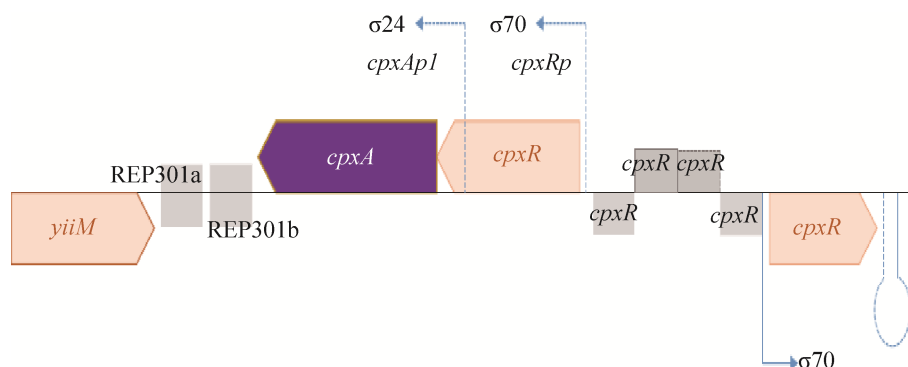
Cpx 双组分信号转导系统包括位于细胞内膜的 HK CpxA, 位于细胞质的 RR CpxR, 以及位于细胞周质的辅助调节蛋白 CpxP。三者之间相互调节, 对细菌的生命活动发挥重要作用。

经过研究者 20 多年的不断研究, 随着对 Cpx 双组分信号转导系统的了解越来越深入, 对其调控范围和机制有了更深入的认识。研究者发现 CpxA 在细菌细胞内膜上, 可以感受外来的压力(如毒力、磷霉素抗性等), 并通过自身磷酸化使一个保守的 His 残基磷酸化, 磷酸基团之后转移到位于细胞周质的反应调节蛋白 CpxR 的天冬氨酸残基上, 使 CpxR 活化, 最终活化的 CpxR 作为转录调控因子结合到目标基因启动子区域上的特定序列(如 *degP* 和 *dsbA*)并激活转录<sup>[22-23]</sup>。

## 3 Cpx 系统的信号转导

### 3.1 激活 Cpx 的信号

*cpx* 基因簇包含 *cpxRA* 操纵子和 *cpxP* (图 2)。在

图2 *cpx* 基因簇Figure 2 *cpx* gene cluster

*cpxRA* 的启动子区域内存在一个非常保守的序列[5'-GTAAA(N5)GTAAA-3'], 该序列是 CpxR 的转录调控结合位点<sup>[24]</sup>。1999 年, Subramaniam 等利用 Western Blot 和 *lacZ* 的融合实验证明了 CpxR 的一个调节子为 CpxRA<sup>[25]</sup>。

细胞周围环境及成分的各种变化都有可能激活 Cpx 系统。尽管尚未确定某些 Cpx 的激活压力与蛋白质错误折叠之间的关系, 但是激活 Cpx 的所有信号被认为是穿过内膜的蛋白分泌缺陷或分泌的内膜和(或)周质蛋白的错误折叠; Cpx 激活压力包括 pH 值升高、渗透压改变、细胞黏附到疏水表面、肽聚糖合成时的缺陷、直接与乙醇或者铜接触以及磷脂组成成分的变化、盐离子浓度的改变、脂蛋白运输缺陷等<sup>[17]</sup>。对这些压力的响应是通过一个经典的双组分系统传递的。

### 3.2 Cpx 的信号转导机制

Cpx 途径在体内被多种信号诱导, 包括 pH 值变化、氧化还原状态、渗透压和包膜蛋白折叠错误, 并被过量产生的 CpxP 抑制。

Cpx 信号通路至少含有 2 个上游组分, 一个是 CpxP, 其编码基因为 *cpxP*, 位于 *cpxAR* 的 5'端上游, 而且与 *cpxAR* 转录方向相反, CpxR 可以激活 *cpxP* 进行转录<sup>[26]</sup>。由于 CpxA 在周质空间有信号感应结构域, 因此在没有信号刺激的情况下, CpxP 通过与其相互作用, 从而导致 CpxA 的活性被抑制; 在  $\text{Cu}^{2+}$  存在的条件下, 环境 pH 为酸性或中性

的时候, CpxP 与 CpxA 特异结合, 从而使 CpxA 的活性被抑制, 此时 Cpx 通路处于关闭状态; 当 pH 值上升时,  $\text{Cu}^{2+}$  就会逐渐形成  $\text{Cu}(\text{OH})_2$  沉淀, CpxP 的束缚作用降低, CpxP 就会从 CpxA 处脱离, 并转而与细胞周质中的另一种底物结合; 这样一来, 抑制 CpxA 活性的条件被解除, CpxA 就会发生自身磷酸化, 并将磷酸基团传递给 CpxR, CpxR 因为磷酸化发生构象的改变, 暴露出 DNA 结合位点, 激活 *cpxP* 启动子; *cpxP* 能够编码一系列周质蛋白来对抗胞外的毒性蛋白, 它也是双组分信号转导系统中第一个被发现由 pH 值所调控的特异性启动子<sup>[26-27]</sup>。

第 2 个组分是外膜脂蛋白 NlpE, 当其过量表达时能够激活 Cpx 应激反应<sup>[28]</sup>。有研究表明, NlpE 的直接作用是感知细胞黏附到疏水表面, 这说明在 Cpx 系统中, NlpE 可能是一种辅助调节蛋白并且具有向 CpxA 传递信号的作用<sup>[17]</sup>。当 NlpE 与细胞膜锚定时, CpxP 就不能再与细胞膜结合, 相反地, 当 CpxP 对 Cpx 系统产生抑制作用时, 也就是 CpxP 结合到 CpxA 上时, NlpE 就不能激活系统<sup>[29-30]</sup>。Cpx 反应在应对脂蛋白靶向外膜缺陷引起的应激中起着重要的作用。这种缺陷使 NlpE 停留在内膜中, 从而可能直接激活 CpxA<sup>[17]</sup>。

重组 CpxA-His6 蛋白的自身激酶活性和磷酸转移活性受到 KCl 的刺激; NaCl 也参与了该过程, 但程度较小; 其他渗透活性溶质如甘氨酸甜菜

碱、蔗糖和脯氨酸无影响; 通过测试对传感器激酶抑制剂的敏感性发现, 氯氰碘柳胺抑制了溶解的活性, 但没有抑制重组 CpxA-His6 蛋白的活性; Fleischer 等进一步分析了 CpxP 对 CpxA 活性的影响, 纯化的无标签 CpxP 蛋白将 CpxA 的磷酸化状态降低到 50%, 但对 CpxA 磷酸转移或磷酸酶活性没有影响, 由于体外系统排除了其他因素的参与, 因此发现传感器激酶 CpxA 和周质蛋白 CpxP 之间蛋白-蛋白相互作用是直接导致 CpxA 自身激酶活性下调的一个生化证据<sup>[31]</sup>。

Cpx 系统对内膜压力做出反应, 因此其激活会对形成非必需膜蛋白复合物的基因进行直接或间接转录抑制, 导致电子传递链复合物(Nuo, Cyo)的下调, 进而可能会简化必需蛋白复合物的组装, 特别是Cpx激活引起的伴侣蛋白和蛋白酶表达的增加, Cpx 反应还增加肽聚糖对蛋白进行修饰、外排相关基因以及与金属和氧化还原稳态相关基因的表达, 这些转录修饰有助于恢复内膜的稳态<sup>[17]</sup>。

*cpxA* 的突变(即 *cpxA*\*等位基因)会引起 Cpx 系统激活, 与信号诱导无关; *cpxA*\*突变会导致细胞分裂有缺陷以及形成大小不规则的细胞和形状, 这种效应取决于 *cpxA*\*等位基因的强度, 对 Cpx 进一步诱导会导致在较低温度下细胞进行异常分裂; *cpxA*\*等位基因的过度诱导会导致细胞产生生长缺陷, 增加倍增时间, 这些菌株产生细丝状细胞和小细胞, 并且细胞宽度上存在缺陷; 通过删除 Cpx 调节因子中的肽聚糖交联酶基因 *ldtD*, 可以消除细胞在生长、细丝化和宽度上存在的缺陷; 但是, *ldtD* 的删除并没有完全抑制小细胞的产生<sup>[17]</sup>。总之, 这些结果表明, 尽管正常激活 Cpx 有助于响应肽聚糖压力, 但过度激活会导致肽聚糖结构产生缺陷, 从而对细胞造成不利影响。

研究发现, 可以通过 CpxA\*突变对 Cpx 系统的激活来抑制未折叠外膜蛋白 LamB 的突变体 LamB<sup>A23D</sup> 产生的毒性; 在 CpxA\*不存在的情况下, Cpx 被 LamB<sup>A23D</sup> 激活, 然而抑制机制仍不清楚。研究 Cpx 系统产生的 sRNA (即 CpxQ) 的功能, 发现

该 sRNA 在 CpxA\*突变抑制 LamB<sup>A23D</sup> 时是必需的。CpxQ 的靶点之一是 Skp, CpxQ 的表达导致 Skp 蛋白水平降低; 实际上, Skp 水平的降低是 CpxA\*突变抑制 LamB<sup>A23D</sup> 所必需的<sup>[17]</sup>。

与许多反应应答蛋白一样, CpxR 也能接受来自乙酰基的磷酸(Acetyl-P); Acetyl-P 是乙酰辅酶 A 转换成醋酸盐的高能中间产物(图 3); Acetyl-P 贮存的能量要多于 ATP<sup>[32]</sup>。该途径的发现, 表明 Cpx 双组分系统并不是单独发挥调控作用的, 而是与其他不同的调控途径相互交织在一起组成一个复杂的调控网络。

总之, CpxA、CpxR 和 CpxP 三者之间相互调控, 磷酸化的 CpxR (CpxR-P)含量被控制在不同的水平, 又由于 CpxR-P 对不同靶基因的调控序列具有不同的亲和性<sup>[33]</sup>, 最终导致 CpxR-P 根据刺激信号的强弱有选择地激活下游基因进行转录。

## 4 Cpx 系统所调控的靶基因及其生理行为

### 4.1 Cpx 系统维持膜结构蛋白的正确性

细菌利用酶或者其他功能性蛋白对膜结构蛋白进行保护, 使膜结构蛋白能够正确地折叠和组装; 为了消除由于膜蛋白的错误折叠、组装和过度积累而造成的膜压力, 细菌可以通过 Cpx 双组分信号转导系统对这些功能性蛋白的表达进行调控来实现。例如介导 DegP 蛋白的合成, DegP 蛋白是一种热击诱导的周质蛋白酶, 其主要功能是降解细胞中产生的错误折叠蛋白。在 *E. coli* 中, 激活 *degP* 基因转录需要 2 个途径<sup>[34]</sup>, 一种是  $\sigma^E$  因子参与的调控,  $\sigma^E$  因子在应答外膜蛋白表达过程中被某种信号途径所调控;  $\sigma^E$  因子可以调节多个基因, *degP* 基因就是其中之一。另外一种 Cpx 双组分信号转导系统。1995 年, Cho 等用带有 *degP-lacZ* 操纵子的 *E. coli* 突变体来验证分析 DegP 蛋白的转录调控, 他们研究发现如果 CpxA 发生突变会影响 DegP 蛋白的合成, 因为 CpxA 一旦发生突变, 就会影响磷酸基团向 CpxR 的传递, 影响 *degP* 启动子的活性, 这是因为 CpxR 结合到 *degP* 可开放阅读框的上游,



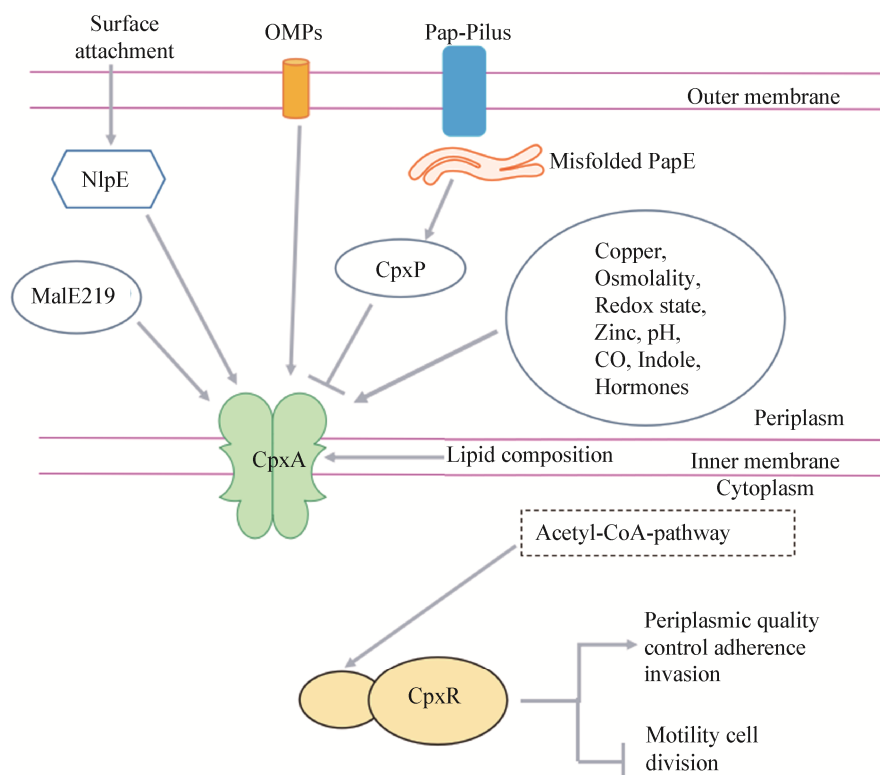


图3 CpxAR 信号转导通路的多刺激信号集成<sup>[24]</sup>

Figure 3 Signal integration of diverse stimuli by the CpxAR signal transduction system<sup>[24]</sup>

注: 图3引自文献[24], 并由作者重新绘制

Note: The figure 3 was cited from the reference [24], and was redrawn by the authors

然后与  $\sigma^E$  因子再共同作用<sup>[22]</sup>。另外, 当 NlpE 过量表达时能激活 Cpx 双组分信号转导系统, 启动 DegP 蛋白的合成。

Isaac 等通过研究发现 Cpx 系统通过 CpxP 来感知外界的信号: 例如菌毛组分蛋白 PapE 的错误折叠而产生的压力信号, 导致 CpxP 与 PapE 结合在一起, 从而被 DegP 蛋白水解, 此时 CpxP 的抑制作用被解除, 导致 CpxA 被活化, 最终 Cpx 双组分系统被激活而促进靶基因 *degP* 和 *cpxP* 的转录; 一旦压力信号不存在, CpxP 重新作用于 CpxA, 使 Cpx 系统恢复静息状态<sup>[35]</sup>(图 4)。

#### 4.2 Cpx 系统对细菌生存和致病能力的影响

细菌的致病性依赖于大多数聚集在细胞膜区域的毒力因子, 其大部分可以穿过细胞膜而发挥作用, 因此细菌发挥毒力的关键因素是膜结构和功能的完整性, 然而当细菌细胞膜受到压力信号刺激

时, Cpx 双组分系统会对细菌的毒力产生直接或间接的影响。

近年来, CpxA/CpxR 系统已被证明与泌尿系统致病性大肠杆菌(Uropathogenic *Escherichia coli*, UPEC)和霍乱弧菌(*Vibrio cholerae*)的毒力有关。造成泌尿系统感染的原因有很多, 但最主要的原因是 UPEC, 其是世界上分布最广泛、适应性最强的病原体群之一。利用缺失突变体以及小鼠和斑马鱼感染模型, 证明 Cpx 系统对 2 种参考 UPEC 菌株(膀胱炎分离菌株 UTI89 和尿毒症分离菌株 CFT073)的适应性和毒力至关重要; 具体来说, 删除 *cpxRA* 操纵子会损坏 UTI89 在小鼠膀胱中的定殖能力, 并在斑马鱼胚胎全身和局部感染过程中大大降低 CFT073 的毒力, 这些缺陷与 UTI89 对宿主细胞的侵袭减弱以及对补体介导的杀伤和氨基糖苷类抗生素阿米卡星的敏感性增加相关<sup>[36]</sup>。

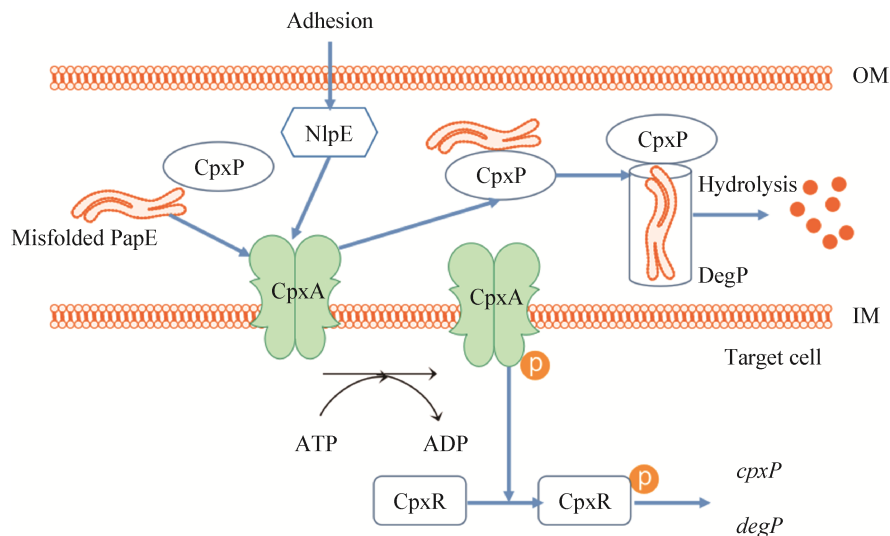


图4 CpxP 和 DegP 共同调节错误折叠的 PapE 蛋白水解过程<sup>[35]</sup>

Figure 4 The hydrolysis process of misfolded PapE is regulated by both CpxP and DegP<sup>[35]</sup>

注: 图4 引自文献[35], 并由作者重新绘制

Note: The figure 4 was cited from reference [35], and was redrawn by the authors

在霍乱弧菌中, 霍乱弧菌 EITor 菌株 C6706 中 Cpx 途径的激活导致该生物体中的主要毒力因子霍乱毒素(Cholera Toxin CT)和毒素成核菌毛(Toxin Coregulated Pilus, TCP)的表达降低, 研究结果表明, 这是通过抑制 ToxT 调节剂和其他上游转录因子 TcpP 的产生而发生的; 尽管 *crp* 基因的表达未改变, 但在环 AMP 受体蛋白(Cyclin AMP Receptor Protein, CRP)突变体中, Cpx 响应对 CT 和 TCP 表达的影响已基本消除; 由于 TcpP 的产生受 CRP 控制, 因此提出了一个模型, 其中 Cpx 反应会影响 CRP 的功能, 从而导致 TcpP、ToxT、CT 和 TCP 的产生减少<sup>[37]</sup>。

一些研究还提出, CpxA/CpxR 可能参与了胸膜肺炎放线杆菌(*Actinobacillus pleuropneumoniae*)的生物膜形成机制<sup>[38-39]</sup>, 然而这些研究并未使用缺失突变体来直接确认表型。虽然先前的研究已经证明 CpxA/CpxR 在 *E. coli* 和其他细菌生物膜的形成和毒力中起着重要作用, 但 CpxA/CpxR 在胸膜肺炎放线杆菌中的作用尚不清楚。最近发现, 在新的生长条件下(例如 42 °C、胰蛋白胨大豆肉汤培养基、静态), CpxA/CpxR 可以诱导胸膜肺炎放线杆菌生物膜的形成; 在此基础上, 研究了 CpxA/CpxR 在

生物膜形成中的作用, 重点研究了 *rpoE* 基因及其与 *pga* 操纵子表达的关系, 发现 CpxA/CpxR 对胸膜肺炎放线杆菌中 *rpoE* 基因的转录有促进作用, RpoE 可以直接结合到 *pga* 操纵子的启动子区域, CpxR 也可以直接结合到 *rpoE* 基因的启动子区域; 胸膜肺炎放线杆菌 CpxA/CpxR 能够通过 *rpoE* 调节 *pga* 操纵子的表达, 从而促进生物膜的形成; 通过定植试验和存活结果表明, CpxA/CpxR 有助于胸膜肺炎放线杆菌的致病性, 这些结果表明, CpxA/CpxR 对生物膜形成的调节可能与胸膜肺炎的发病机制有关<sup>[40]</sup>。

据报道, 生物膜的形成与逃离宿主免疫系统有关, 因此在胸膜肺炎放线杆菌体内的致病性中发挥重要作用<sup>[41-42]</sup>。急性胸膜肺炎的主要症状是高烧, 体温可升高至 41.8 °C<sup>[43-44]</sup>。Tremblay 等发现发热温度有助于胸膜肺炎放线杆菌生物膜的形成, 因此, 该机制可促进对肺炎放线杆菌诱导的发病机制的认识<sup>[38]</sup>。

### 4.3 Cpx 系统对酸碱压力的调控

在宋内志贺菌(*Shigella sonnei*)中, IpaBCD 蛋白引导该细菌进入宿主的上皮细胞, *ipaBCD* 基因的

表达受多种环境因素的影响,如温度和渗透压。此外,细胞外的 pH 也调控这种基因的表达,这种调控主要发生在质粒编码的 *ipaBCD* 阳性调控因子 *virF* 的表达阶段;*virF* 的表达在碱性(pH 7.4)条件下被激活,在酸性(pH 6.0)条件下被抑制;然而之后的研究发现,*E. coli* K-12 中分离到的 Tn10 转座子突变体中的 Tn10 插入到 *cpxA* 基因的阅读框中,CpxA 失活,导致 *virF* 的表达不会随着细胞环境中酸碱性的改变而改变;通过互补实验恢复了 CpxA 的功能,这种现象再次出现,表明 Cpx 双组分系统能够感应细胞外的酸碱度变化,从而直接或者间接地调控 *virF* 的表达<sup>[45]</sup>。在 *E. coli* 中,细胞外的酸碱度由酸性(pH 5.3)上升到碱性(pH 8.4)时,*cpxP* 的转录量升高了大约 50 倍;当删除 *cpxA* 基因时这种现象消失,表明这种现象依赖于 *cpxA*,进一步说明 pH 对 *cpxP* 的转录影响直接或间接依赖于 Cpx 系统,不过有研究者认为更有可能是间接作用,因为细胞膜的蛋白结构在碱性环境下被破坏,使细胞膜产生了压力信号,进而导致 Cpx 系统被激活<sup>[46]</sup>。

最近有一项研究证明,Cpx 系统还能够抑制抗酸关键基因(*cadA*、*cydA*、*cydB*、*gadA*、*gadC*、*hdeA*、*hdeB* 和 *hdeD*)的表达,导致细菌在极端酸应激下的生存能力降低<sup>[47]</sup>,但是 Cpx 系统能否直接感应酸胁迫尚属未知。目前发现直接参与感知和应答酸环境的 TCS 包括 EnvZ/OmpR、EvgA/EvgS、PhoP/PhoQ、RstA/RstB 和 RcsB/RcsD/RcsC<sup>[48-52]</sup>。这些 TCSs 感知酸环境的功能由连接胞质内外的 HK 承担,EvgS 在感知极酸环境时,EvgS 的周质区可以感受到 K<sup>+</sup>,而除了周质区外,还需要 EvgS 的细胞质连接区才能感受到低 pH 值<sup>[49]</sup>。激活的 EvgS 会将磷酸基团传递至 EvgA 使其活化并结合到 *ydeO* 基因的启动子区域来诱导其表达<sup>[53]</sup>,而 YdeO 可以调控 *gadE* 的表达,GadE 进而激活相关基因 *gadA*、*gadBeA* 的表达<sup>[49,54]</sup>,因此可以认为 EvgA/EvgS 双组分系统通过间接调节关键因子 GadE 的表达来参与抗酸(Acid Resistance, AR)途径(图 5)。另外,活化的 EvgA

(EvgA-P)还可以调控膜蛋白 SafA 的表达,其作为连接蛋白与 PhoQ (HK)相互作用激活 PhoP/PhoQ 系统<sup>[55]</sup>,PhoP/PhoQ 系统直接诱导另外一个连接蛋白 IraM 与响应调节器 RssB 结合并稳定 RpoS,细胞内 RpoS 水平的升高增强了许多抗酸基因的表达,如 *gadA*、*gadBC* 和 *hdeA*<sup>[50]</sup>(图 2)。除了 RpoS 的稳定外,PhoP/PhoQ 的激活还诱导 AR 基因 *gadE*、*gadW* 和 *hdeA* 的表达<sup>[49]</sup>。由 PhoP/PhoQ 参与的应答外界酸压力对于致病菌的定殖和致病性都起到关键作用<sup>[56-57]</sup>。在 *E. coli* 和沙门氏菌中,RstA/RstB TCS 应答蛋白 RstA 受 PhoP/PhoQ 的控制,已知低 Mg<sup>2+</sup> 和酸性 pH 可以激活 PhoP/PhoQ,激活的 PhoP 通过结合到 *rstA* 启动子区域激活其表达<sup>[58-59]</sup>(图 5)。南开大学研究团队利用 RNA-Seq 技术比较 EHEC O157 野生型与 EHEC O157  $\Delta rstA$  突变菌株发现,*asr*、*hdeAB* 和 *gadEW* 抗酸基因的表达在  $\Delta rstA$  突变体中下调,在 pH 3.0 的 LB 肉汤培养基中  $\Delta rstA$  突变体的存活率要显著低于野生型<sup>[51]</sup>。在一项对禽致病性大肠杆菌  $\Delta rstAB$  缺失细胞的转录组分析中发现, $\Delta rstAB$  缺失可能下调 *hdeAB*、*hdeD*、*gadA*、*gadB* 和 *gadE* 抗酸基因的表达,进一步的验证试验发现 RstA 会结合到 *hdeD* 启动子区域激活其表达(图 5)<sup>[60]</sup>。显然上述 RstA 可能调控的基因均与抗酸相关,其中 Asr 不仅在极酸环境下可以帮助 EHEC O157 幸存,还可以帮助 EHEC O157 定殖于小鼠小肠细胞<sup>[61]</sup>。

上述研究结果均表明 RstA 可以调控基因表达来帮助细胞抗酸与定殖,然而 RstB 是否直接响应低 pH 作为激活耐酸途径的信号尚不清楚,需要进一步研究。RcsB/RcsD/RcsC 系统是一种由多个蛋白分子参与磷酸传递的 TCS,当细胞外产生刺激信号时,被外膜上的 RcsF 与细胞内膜上的 RcsC (HK)接收,导致 RcsC 自磷酸化并将磷酸基团传递给 RcsD,最终 RcsD 会将自身携带的磷酸基团传递给应答调节蛋白 RcsB (RR)并使其活化(图 5)<sup>[62]</sup>。激活的 RcsB 会参与第 2 条抗酸途径(AR2),当细胞处在



稳定生长期时, *rscB* 缺失突变菌株在极酸环境下难以存活, 此时谷氨酸脱羧酶基因 *gadABC* 的表达显著降低(图 5), 随后的研究发现 RcsB 对 *gadABC* 的表达调控还需要关键抗酸因子 GadE<sup>[48]</sup>。Chakraborty 等利用芯片技术对 *E. coli* 和沙门氏菌 OmpR 应对外界渗透压和酸环境进行转录组特性分析(GEO Accession No. GSE14069), 确定了 OmpR 作为抗酸、细菌毒性和代谢关键调节因子的功能<sup>[63]</sup>。值得一提的是, 中国科学院武汉物理与数学研究所姜凌研究员团队利用核磁共振和结晶技术研究沙门氏菌 OmpR/EnvZ 双组分系统, 发现在酸胁迫下 EnvZ 会发生构象变化, 以此作为 EnvZ 磷酸化的开关, 从而影响 OmpR 对毒力因子的调控<sup>[64]</sup>。磷酸化的 OmpR 对靶基因调控是通过直接结合到松弛 DNA 结构上发挥功能, 因为研究者发现酸胁迫下 DNA 拓扑结构发生变化, DNA 松弛促进了 OmpR 与 DNA 的结合<sup>[65]</sup>, 但也有研究人员对此持反对意

见, 他们发现酸胁迫下 OmpR 对靶基因的调控需要其结合到超螺旋模板上, 而不是松弛的 DNA<sup>[52]</sup>。我们推测这种感知和应答酸胁迫的机制可能广泛存在于双组分信号转导系统中, 或许我们可以假设细菌中存在一个广泛的 AR 调控网络, 可能存在更多 TCS 参与其中。

Cpx 系统在碱性环境下能够帮助细胞存活, 但在酸性环境下却能降低细菌的生存能力, 其生物学意义仍需探明, 并可能成为未来研究的一个方向。我们知道在胃(pH 2.5)和胰腺管(pH 10.0)这 2 种极酸和极碱环境下病原菌不容易生存, 但是有少部分肠道病原菌能够在这种极端环境下存活, 从而能够通过胃进入肠道生存繁殖并致病。因此, Cpx 系统或许可以作为双组分抑制剂的靶标进行药物开发。之前的研究发现, 当 ABTGcasa 培养基中加入 20 mmol/L 氧化三甲胺(Trimethylamine Oxide, TMAO)时, 培养基呈碱性。因此, *E. coli*Δ*torR*

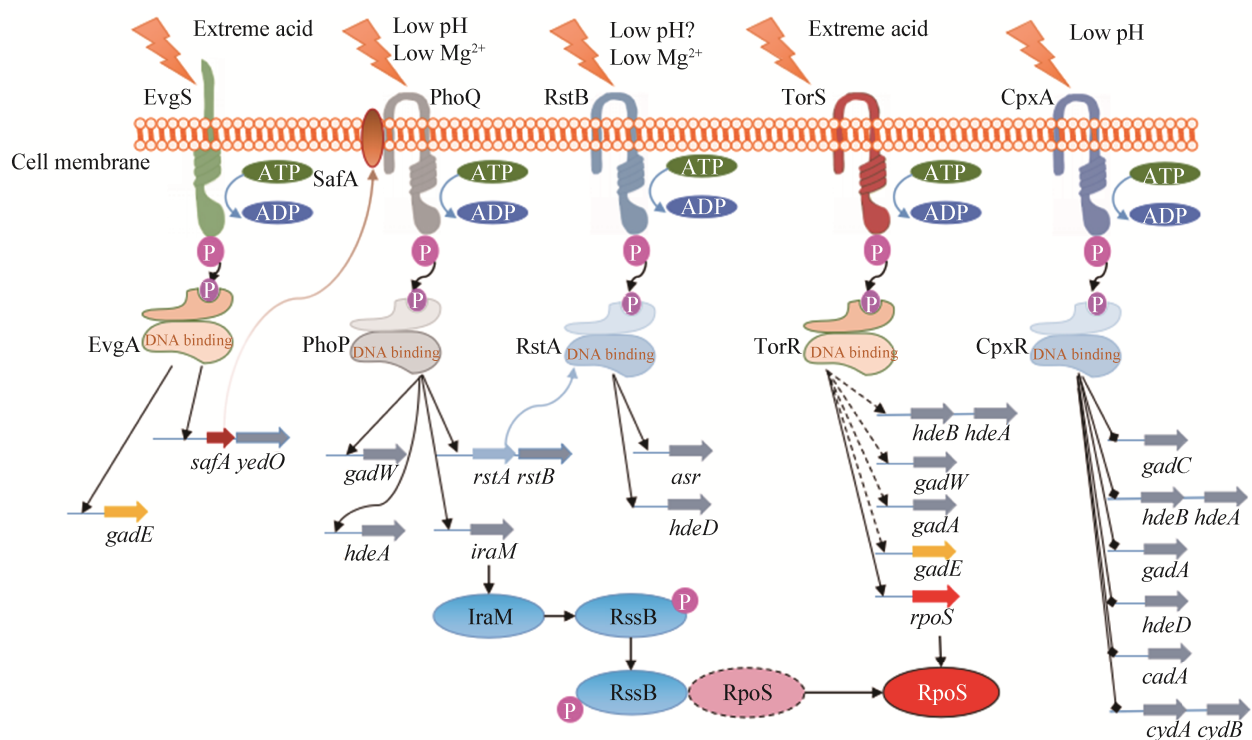


图 5 大肠杆菌双组分信号转导系统参与抗酸反应<sup>[48,59-60,66-68]</sup>

Figure 5 Two-component systems of *Escherichia coli* participate in acid resistance<sup>[48,59-60,66-68]</sup>

注: 黑色实线则代表已经得到证实的途径, 虚线表示有待证明的途径; OmpR/EnvZ 未显示

Note: The black solid line represents the confirmed path, and the dotted line represents the path to be proved. OmpR/EnvZ is not shown

菌株在此培养基中无氧生长到对数期时会出现明显的生长缺陷,而 *E. coli*Δ*torR*/pACYC177-*torR* 菌株的生长速率则与野生型相似,并没有表现出明显的生长缺陷<sup>[69]</sup>。此结果与国外学者研究结果相符,即在无氧和TMAO存在的情况下,*tnaA*基因被TorR激活并表达<sup>[70]</sup>,表达的TnaA蛋白可能通过与RpoS相互协调来帮助细菌耐受极碱环境<sup>[69]</sup>。另外,在极酸环境(pH 2.0、3.0)下 *E. coli* TorR/TorS 缺失使细胞生长受到明显抑制,激酶蛋白TorS可以直接感知极酸环境,在极酸刺激下Δ*torS*中仍然可以检测到磷酸化的TorR;当TorR缺失时,抗酸相关基因的表达量升高,TorR可以调控包括生存压力应答基因*rpoS*在内的多个抗酸基因的表达,从而抵抗外界极酸环境<sup>[69,71-73]</sup>,这说明TorR蛋白可能帮助细胞在碱性和酸性环境下维持生存。结合以上结果,我们推测TorR调控基因表达依赖于其磷酸化程度,TorR在不同位点磷酸化后可能会改变其构象,进而影响其结合靶基因启动子区域的特性,以此区别碱性或者酸性应答,当然未来需要更多的工作进行验证。

#### 4.4 Cpx 系统对耐药性的调控

在 *E. coli* 中,CpxR的过量表达会导致细菌对许多药物的耐受性提高,比如氧胆酸盐、新生霉素、卡那霉素和丁胺卡那霉素,进一步研究发现Cpx系统是通过调节和控制与药物外排系统相关的基因*acrD*的表达来发挥抗药机制<sup>[74]</sup>。以上研究说明,Cpx系统通过调控膜蛋白的表达对细菌的抗药能力产生间接的影响。此外,沙门氏菌(*Salmonella*)和 *E. coli* 能够通过双精氨酸转运系统(Twin Arginine Translocation, Tat)向细胞外分泌肽聚糖脱酰胺酶来对抗硫酸鱼精蛋白和α螺旋-抗菌肽的抑菌作用,而Cpx系统能够激活肽聚糖脱酰胺酶编码基因*amiA*和*amiC*的转录,因此认为Cpx系统可以增强细菌对抗菌肽的降解能力<sup>[75]</sup>。在鼠伤寒沙门菌(*Salmonella enterica*)标准菌株中,如果将CpxAR进行缺失突变,使得菌株对β-内酰胺类的头孢曲松、头孢噻吩等的敏感性升高,因此可以认为CpxAR对菌株的耐药性至关重要<sup>[76]</sup>。

#### 4.5 Cpx 系统对毒力因子的调控

Cpx系统能够感应胞外出现装配错误的细胞器,并且调控细胞器的组装过程。例如UPEC中P菌毛的生物合成、肠道致病性大肠杆菌(Enteropathogenic *Escherichia coli*, EPEC)中IV型维管束菌毛的组装等<sup>[77-78]</sup>。此外,*E. coli*的毒力因子卷曲菌毛(Curli Fibrils)能够通过黏附作用介导其侵染宿主,其中*csgD*是编码FixJ家族的一个关键调节因子,促进卷曲菌毛和纤维素的合成,而CpxR在高盐培养基中抑制*csgD*的表达,从而导致卷曲菌毛的合成受到抑制;虽然以上3种菌毛在结构上有差别,但都在菌膜的形成和宿主细胞黏附等方面发挥重要作用,所以Cpx系统对病原菌的生存和黏附感染产生间接影响<sup>[45]</sup>。

在假结核耶尔森菌(*Yersinia pseudotuberculosis*)中,Cpx系统能够激活并影响Ysc-Yop III型分泌系统(Ysc-Yop Type III Secretion System, T3SS)的效率,调控T3SS的效应因子YopS定位到真核细胞内部来调节透明质酸酶以及调控因子*rovA*的转录,间接影响细菌对宿主细胞的黏附、入侵和抵抗淋巴细胞吞噬的能力<sup>[79]</sup>。

嗜线虫致病杆菌(*Xenorhabdus nematophila*)中CpxR对线虫的运动性和分泌的脂肪酶活性以及共生所需基因的转录具有促进作用,而对溶血素、蛋白酶和抗生素活性以及编码菌毛蛋白的*mrxA*基因的表达具有抑制作用,说明Cpx系统从多个方面参与调控细菌与宿主之间的相互作用<sup>[80]</sup>。

在杜克嗜血杆菌(*Haemophilus ducreyi*)中,*lspB-lspA2*操纵子编码使机体能够抵抗宿主免疫细胞吞噬的蛋白质,DsrA是协助细菌来对抗宿主血清杀伤作用的主要决定因子,而CpxR对*lspB-lspA2*操纵子和*dsrA*都具有负调控作用,因此,Cpx系统的激活削弱了人被细菌感染时皮肤形成丘疹和脓疱的能力<sup>[81]</sup>。

## 5 结论与展望

细菌具有强大的生存能力,能够在几乎所有的

环境中生存, 因此其自身具有能够应对胞内和胞外复杂环境的能力。其中, 双组分信号转导系统是细菌中最常见的, 研究它对于我们进一步了解细菌适应不断变化的环境具有重要意义。Cpx 信号转导系统可以感知 pH 值、渗透压、细胞黏附到疏水表面、肽聚糖合成时的缺陷、直接与乙醇或者铜接触以及磷脂组成成分的变化、盐离子浓度的改变、脂蛋白运输缺陷等信号并做出相应的响应, 该过程主要是通过构成 Cpx 系统的 2 种蛋白质 CpxA 和 CpxR 来实现, CpxQ、CpxP 和 NlpE 等辅助蛋白的参与使该系统的功能更加完善。CpxR 具有感受外界刺激信号的功能, 其中大多数信号直接作用于 CpxA, 使自身磷酸化并把磷酸基团传递给 CpxR 并磷酸化生成 CpxR-P, 从而调控细菌相关基因的表达, 进而对细菌的生命活动进行调控, 使其免受生存环境的迫害。CpxA、CpxR 和 CpxP 三者之间形成一个相互调控的网络, 将磷酸化的 CpxR (CpxR-P) 控制在不同的水平, 又因为 CpxR-P 对不同靶基因的调控序列具有不同的亲和性, 从而使 CpxR-P 可以根据信号的强弱有选择地激活下游基因的转录<sup>[33]</sup>。

目前虽然对 Cpx 双组分信号转导系统的研究已经取得了突破性的进展, 但是也存在一些亟待解决的问题, 例如: (1) CpxA 是 Cpx 系统的感受器蛋白, CpxA 感受器结构域的错误折叠可以激活 CpxA, 进而激活 Cpx 系统, 那么 CpxA 自身激活的分子机制是什么? 这个过程有无其他蛋白质分子参与? 是否存在额外的蛋白质分子促使感受器结构域错误折叠? (2) NlpE 可能作为辅助调节蛋白在 Cpx 系统中发挥着向 CpxA 传递信号的作用, 那么 NlpE 与 CpxA 之间如何直接相互作用? (3) 研究发现, Cpx 系统产生的 sRNA, 即 CpxQ 负调控 CpxP 和 Skp (一种周质伴侣蛋白) 的翻译, 那么 CpxQ 在 Cpx 系统中扮演何种角色? 如何协助 Cpx 系统调控基因表达? (4) 近年来的研究证明 Cpx 系统还能够抑制抗酸关键基因的表达, 导致细菌在极端酸应激下的生存能力降低, 但是 Cpx 系统能否直接感应酸胁迫? 这些都是我们研究过程中所面临的巨大挑战, 也是当前

研究细菌适应复杂多变环境的研究热点。虽然有许多尚未解决的问题, 但是我们目前已经获得了 *E. coli* CpxP 蛋白的晶体结构<sup>[82]</sup>。因此, 对于 Cpx 系统的研究, 可以借鉴获取 CpxP 晶体结构的方法来获取 CpxA 和 CpxR 的晶体结构, 从而为研究构成 Cpx 双组分信号转导系统的蛋白质及各种辅助蛋白因子之间的相互作用奠定基础, 也为进一步阐明 Cpx 系统中各种蛋白质、辅助因子和外界刺激导致的应激反应之间的作用机制和信号转导机制创造条件。

## REFERENCES

- [1] Xu XG, Zhang ZP, Cheng B. Progression on the research of two-component signal transduction system in fungus and its inhibitors[J]. Chinese Journal of Mycology, 2011, 6(6): 370-372,380 (in Chinese)  
徐西光, 张子平, 程波. 真菌双组分信号转导系统及其抑制剂研究进展[J]. 中国真菌学杂志, 2011, 6(6): 370-372,380
- [2] Chauhan N, Calderone R. Two-component signal transduction proteins as potential drug targets in medically important fungi[J]. Infection and Immunity, 2008, 76(11): 4795-4803
- [3] Koretke KK, Lupas AN, Warren PV, Rosenberg M, Brown JR. Evolution of two-component signal transduction[J]. Molecular Biology and Evolution, 2000, 17(12): 1956-1970
- [4] Ahmad B, Azeem F, Ali MA, Nawaz MA, Nadeem H, Abbas A, Batool R, Atif RM, Ijaz U, Nieves-Cordones M, et al. Genome-wide identification and expression analysis of two component system genes in *Cicer arietinum*[J]. Genomics, 2020, 112(2): 1371-1383
- [5] Desai C, Mavrianos J, Chauhan N. *Candida albicans* SRR1, a putative two-component response regulator gene, is required for stress adaptation, morphogenesis, and virulence[J]. Eukaryotic Cell, 2011, 10(10): 1370-1374
- [6] Mavrianos J, Berkow EL, Desai C, Pandey A, Batish M, Rabadi MJ, Barker KS, Pain D, Rogers PD, Eugenin EA, et al. Mitochondrial two-component signaling systems in *Candida albicans*[J]. Eukaryotic Cell, 2013, 12(6): 913-922
- [7] Nixon BT, Ronson CW, Ausubel FM. Two-component regulatory systems responsive to environmental stimuli share strongly conserved domains with the nitrogen assimilation regulatory genes *ntfB* and *ntfC*[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 1986, 83(20): 7850-7854
- [8] Ninfa AJ, Magasanik B. Covalent modification of the *glnG* product, NR<sub>I</sub>, by the *glnL* product, NR<sub>II</sub>, regulates the transcription of the *glnALG* operon in *Escherichia coli*[J].

- Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 1986, 83(16): 5909-5913
- [9] Hess JF, Oosawa K, Matsumura P, Simon MI. Protein phosphorylation is involved in bacterial chemotaxis[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 1987, 84(21): 7609-7613
- [10] Marijuán PC, Navarro J, Del Moral R. On prokaryotic intelligence: strategies for sensing the environment[J]. Biosystems, 2010, 99(2): 94-103
- [11] Hoch JA. Two-component and phosphorelay signal transduction[J]. Current Opinion in Microbiology, 2000, 3(2): 165-170
- [12] Li M, Hu FQ, Tang JQ. Dual signal transduction system and bacterial pathogenicity[J]. Journal of Microbiology, 2007, 27(1): 50-54 (in Chinese)  
李明, 胡福泉, 唐家琪. 二元信号转导系统与细菌的致病性[J]. 微生物学杂志, 2007, 27(1): 50-54
- [13] Ying BW, Yama K. Gene expression order attributed to genome reduction and the steady cellular state in *Escherichia coli*[J]. Frontiers in Microbiology, 2018, 9: 2255
- [14] Held NA, McIlvin MR, Moran DM, Laub MT, Saito MA. Unique patterns and biogeochemical relevance of two-component sensing in marine bacteria[J]. mSystems, 2019, 4(1): e00317-18
- [15] Scharf BE, Aldridge PD, Kirby JR, Crane BR. Upward mobility and alternative lifestyles: a report from the 10th biennial meeting on Bacterial Locomotion and Signal Transduction[J]. Molecular Microbiology, 2009, 73(1): 5-19
- [16] Thomas L, Cook L. Two-component signal transduction systems in the human pathogen *Streptococcus agalactiae*[J]. Infection and Immunity, 2020, 88(7): e00931-19
- [17] Mitchell AM, Silhavy TJ. Envelope stress responses: balancing damage repair and toxicity[J]. Nature Reviews Microbiology, 2019, 17(7): 417-428
- [18] McEwen J, Silverman P. Chromosomal mutations of *Escherichia coli* that alter expression of conjugative plasmid functions[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 1980, 77(1): 513-517
- [19] Albin R, Weber R, Silverman PM. The Cpx proteins of *Escherichia coli* K12. Immunologic detection of the chromosomal *cpxA* gene product[J]. Journal of Biological Chemistry, 1986, 261(10): 4698-4705
- [20] Dong JM, Shiro L, Hoi-Shan K, Lu Z, Lin ECC. The deduced amino-acid sequence of the cloned *cpxR* gene suggests the protein is the cognate regulator for the membrane sensor, CpxA, in a two-component signal transduction system of *Escherichia coli*[J]. Gene, 1993, 136(1/2): 227-230
- [21] Xu X, Zhou XH, He XL. Cpx two-component regulatory system in Gram-negative bacteria: a review[J]. Acta Microbiologica Sinica, 2014, 54(3): 269-275 (in Chinese)  
徐乐, 周晓辉, 何晓亮. 革兰氏阴性菌的 Cpx 双组分调控系统[J]. 微生物学报, 2014, 54(3): 269-275
- [22] Cho H, Choi Y, Min K, Son JB, Park H, Lee HH, Kim S. Over-activation of a nonessential bacterial protease DegP as an antibiotic strategy[J]. Communications Biology, 2020, 3: 547
- [23] Guest RL, Wang JS, Wong JL, Raivio TL. A bacterial stress response regulates respiratory protein complexes to control envelope stress adaptation[J]. Journal of Bacteriology, 2017, 199(20): e00153-e00117
- [24] Hunke S, Keller R, Müller VS. Signal integration by the Cpx-envelope stress system[J]. FEMS Microbiology Letters, 2012, 326(1): 12-22
- [25] Subramaniam S, Müller VS, Hering NA, Mollenkopf H, Becker D, Heroven AK, Dersch P, Pohlmann A, Tedin K, Porwollik S, et al. Contribution of the Cpx envelope stress system to metabolism and virulence regulation in *Salmonella enterica* serovar typhimurium[J]. PLoS One, 2019, 14(2): e0211584
- [26] Danese PN, Silhavy TJ. CpxP, a stress-combative member of the Cpx regulon[J]. Journal of Bacteriology, 1998, 180(4): 831-839
- [27] Keller R, Ariöz C, Hansmeier N, Stenberg-Bruzell F, Burstedt M, Vikström D, Kelly A, Wieslander Å, Daley DO, Hunke S. The *Escherichia coli* envelope stress sensor CpxA responds to changes in lipid bilayer properties[J]. Biochemistry, 2015, 54(23): 3670-3676
- [28] Delhay A, Laloux G, Collet JF. The lipoprotein NlpE is a cpx sensor that serves as a sentinel for protein sorting and folding defects in the *Escherichia coli* envelope[J]. Journal of Bacteriology, 2019, 201(10): e00611-18
- [29] DiGiuseppe PA, Silhavy TJ. Signal detection and target gene induction by the CpxRA two-component system[J]. Journal of Bacteriology, 2003, 185(8): 2432-2440
- [30] Otto K, Silhavy TJ. Surface sensing and adhesion of *Escherichia coli* controlled by the Cpx-signaling pathway[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 2002, 99(4): 2287-2292
- [31] Fleischer R, Heermann R, Jung K, Hunke S. Purification, reconstitution, and characterization of the CpxRAP envelope stress system of *Escherichia coli*[J]. Journal of Biological Chemistry, 2007, 282(12): 8583-8593
- [32] Dbeibo L, Van Rensburg JJ, Smith SN, Fortney KR, Gangaiah D, Gao HY, Marzooq J, Liu YL, Mobley HLT, Spinola SM. Evaluation of CpxRA as a therapeutic target for uropathogenic *Escherichia coli* infections[J]. Infection and Immunity, 2018, 86(3): e00798-e00717
- [33] Grabowicz M, Silhavy TJ. Envelope stress responses: an interconnected safety net[J]. Trends in Biochemical Sciences, 2017, 42(3): 232-242
- [34] Danese PN, Oliver GR, Barr K, Bowman GD, Rick PD, Silhavy TJ. Accumulation of the enterobacterial common antigen lipid II biosynthetic intermediate stimulates *degP* transcription in *Escherichia coli*[J]. Journal of Bacteriology, 1998, 180(22): 5875-5884

- [35] Isaac DD, Pinkner JS, Hultgren SJ, Silhavy TJ. The extracytoplasmic adaptor protein CpxP is degraded with substrate by DegP[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2005, 102(49): 17775-17779
- [36] Debnath I, Norton JP, Barber AE, Ott EM, Dhakal BK, Kulesus RR, Mulvey MA. The Cpx stress response system potentiates the fitness and virulence of uropathogenic *Escherichia coli*[J]. *Infection and Immunity*, 2013, 81(5): 1450-1459
- [37] Acosta N, Pukatzki S, Raivio TL. The Cpx system regulates virulence gene expression in *Vibrio cholerae*[J]. *Infection and Immunity*, 2015, 83(6): 2396-2408
- [38] Tremblay YD, Deslandes V, Jacques M. *Actinobacillus pleuropneumoniae* genes expression in biofilms cultured under static conditions and in a drip-flow apparatus[J]. *BMC Genomics*, 2013, 14(1): 364
- [39] Hathroubi S, Hancock MA, Bossé JT, Langford PR, Tremblay YDN, Labrie J, Jacques M. Surface polysaccharide mutants reveal that absence of O antigen reduces biofilm formation of *Actinobacillus pleuropneumoniae*[J]. *Infection and Immunity*, 2016, 84(1): 127-137
- [40] Li H, Liu F, Peng W, Yan K, Zhao HX, Liu T, Cheng H, Chang PX, Yuan FY, Chen HC, et al. The CpxA/CpxR two-component system affects biofilm formation and virulence in *Actinobacillus pleuropneumoniae*[J]. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, 2018, 8: 72
- [41] Bossé JT, Sinha S, Li MS, O'Dwyer CA, Nash JH, Rycroft AN, Kroll JS, Langford PR. Regulation of *pga* operon expression and biofilm formation in *Actinobacillus pleuropneumoniae* by  $\delta^E$  and H-NS[J]. *Journal of Bacteriology*, 2010, 192(9): 2414-2423
- [42] Hathroubi S, Loera-Muro A, Guerrero-Barrera AL, Tremblay YDN, Jacques M. *Actinobacillus pleuropneumoniae* biofilms: role in pathogenicity and potential impact for vaccination development[J]. *Animal Health Research Reviews*, 2018, 19(1): 17-30
- [43] Menzel A, Beyerbach M, Siewert C, Gundlach M, Hoeltig D, Graage R, Seifert H, Waldmann KH, Verspohl J, Hennig-Pauka I. *Actinobacillus pleuropneumoniae* challenge in swine: diagnostic of lung alterations by infrared thermography[J]. *BMC Veterinary Research*, 2014, 10: 199
- [44] Sassu EL, Bossé JT, Tobias TJ, Gottschalk M, Langford PR, Hennig-Pauka I. Update on *Actinobacillus pleuropneumoniae*-knowledge, gaps and challenges[J]. *Transboundary and Emerging Diseases*, 2018, 65(Suppl 1): 72-90
- [45] Jubelin G, Vianney A, Beloin C, Ghigo JM, Lazzaroni JC, Lejeune P, Dorel C. CpxR/OmpR interplay regulates curli gene expression in response to osmolarity in *Escherichia coli*[J]. *Journal of Bacteriology*, 2005, 187(6): 2038-2049
- [46] Nakayama S, Watanabe H. Involvement of cpxA, a sensor of a two-component regulatory system, in the pH-dependent regulation of expression of *Shigella sonnei virF* gene[J]. *Journal of Bacteriology*, 1995, 177(17): 5062-5069
- [47] Surmann K, Ćudić E, Hammer E, Hunke S. Molecular and proteome analyses highlight the importance of the Cpx envelope stress system for acid stress and cell wall stability in *Escherichia coli*[J]. *MicrobiologyOpen*, 2016, 5(4): 582-596
- [48] Castanié-Cornet MP, Treffandier H, Francez-Charlot A, Gutierrez C, Cam K. The glutamate-dependent acid resistance system in *Escherichia coli*: essential and dual role of the His-Asp phosphorelay RcsCDB/AF[J]. *Microbiology: Reading, England*, 2007, 153(Pt 1): 238-246
- [49] Zeng J, Wu LW, Liu Z, Lv Y, Feng JZ, Wang WJ, Xue YX, Wang D, Li JB, Drlica K, et al. Gain-of-function mutations in acid stress response (*evgS*) protect *Escherichia coli* from killing by gallium nitrate, an antimicrobial candidate[J]. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 2021, 65(3): e01595-20
- [50] Bader MW, Sanowar S, Daley ME, Schneider AR, Cho U, Xu WQ, Klevit RE, Le Moual H, Miller SI. Recognition of antimicrobial peptides by a bacterial sensor kinase[J]. *Cell*, 2005, 122(3): 461-472
- [51] Liu YT, Li SJ, Li WD, Wang PS, Ding P, Li LY, Wang JY, Yang P, Wang Q, Xu TT, et al. RstA, a two-component response regulator, plays important roles in multiple virulence-associated processes in enterohemorrhagic *Escherichia coli* O157:H7[J]. *Gut Pathogens*, 2019, 11: 53
- [52] Foo YH, Spahn C, Zhang HF, Heilemann M, Kenney LJ. Single cell super-resolution imaging of *E. coli* OmpR during environmental stress[J]. *Integrative Biology: Quantitative Biosciences from Nano to Macro*, 2015, 7(10): 1297-1308
- [53] Masuda N, Church GM. *Escherichia coli* gene expression responsive to levels of the response regulator EvgA[J]. *Journal of Bacteriology*, 2002, 184(22): 6225-6234
- [54] Johnson MD, Bell J, Clarke K, Chandler R, Pathak P, Xia YD, Marshall RL, Weinstock GM, Loman NJ, Winn PJ, et al. Characterization of mutations in the PAS domain of the EvgS sensor kinase selected by laboratory evolution for acid resistance in *Escherichia coli*[J]. *Molecular Microbiology*, 2014, 93(5): 911-927
- [55] Yoshitani K, Ishii E, Taniguchi K, Sugimoto H, Shiro Y, Akiyama Y, Kato A, Utsumi R, Eguchi Y. Identification of an internal cavity in the PhoQ sensor domain for PhoQ activity and SafA-mediated control[J]. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*, 2019, 83(4): 684-694
- [56] Patel J, Yin HB, Bauman G, Mowery J. Inhibition of *Escherichia coli* O157:H7 and *Salmonella enterica* virulence factors by benzyl isothiocyanate[J]. *Food Microbiology*, 2020, 86: 103303
- [57] Lin ZW, Cai X, Chen ML, Ye LN, Wu Y, Wang XF, Lv Z, Shang YP, Qu D. Virulence and stress responses of *Shigella flexneri* regulated by PhoP/PhoQ[J]. *Frontiers in Microbiology*, 2017, 8: 2689
- [58] Breland EJ, Eberly AR, Hadjifrangiskou M. An overview of two-component signal transduction systems implicated in



- extra-intestinal pathogenic *E. coli* infections[J]. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, 2017, 7: 162
- [59] Tran TK, Han QQ, Shi YX, Guo L. A comparative proteomic analysis of *Salmonella typhimurium* under the regulation of the RstA/RstB and PhoP/PhoQ systems[J]. *Biochimica et Biophysica Acta: BBA - Proteins and Proteomics*, 2016, 1864(12): 1686-1695
- [60] Gao QQ, Su SY, Li X, Wang H, Liu JB, Gao S. Transcriptional analysis of RstA/RstB in avian pathogenic *Escherichia coli* identifies its role in the regulation of hdeD-mediated virulence and survival in chicken macrophages[J]. *Veterinary Microbiology*, 2020, 241: 108555
- [61] Armalytė J, Šeputienė V, Melefors Ö, Sužiedėlienė E. An *Escherichia coli* asr mutant has decreased fitness during colonization in a mouse model[J]. *Research in Microbiology*, 2008, 159(6): 486-493
- [62] Volz K. Structural conservation in the CheY superfamily[J]. *Biochemistry*, 1993, 32(44): 11741-11753
- [63] Chakraborty S, Kenney LJ. A new role of OmpR in acid and osmotic stress in *Salmonella* and *E. coli*[J]. *Frontiers in Microbiology*, 2018, 9: 2656
- [64] Liu YX, Rose J, Huang SJ, Hu YB, Wu Q, Wang D, Li CG, Liu ML, Zhou P, Jiang L. A pH-gated conformational switch regulates the phosphatase activity of bifunctional HisKA-family histidine kinases[J]. *Nature Communications*, 2017, 8(1): 2104
- [65] Banda MM, Zavala-Alvarado C, Pérez-Morales D, Bustamante VH. SlyA and HilD counteract H-NS-mediated repression on the *ssrAB* virulence operon of *Salmonella enterica* serovar typhimurium and thus promote its activation by OmpR[J]. *Journal of Bacteriology*, 2019, 201(8): e00530-e00518
- [66] Ruiz C, McMurphy LM, Levy SB. Role of the multidrug resistance regulator MarA in global regulation of the *hdeAB* acid resistance operon in *Escherichia coli*[J]. *Journal of Bacteriology*, 2008, 190(4): 1290-1297
- [67] Eguchi Y, Utsumi R. Alkali metals in addition to acidic pH activate the EvgS histidine kinase sensor in *Escherichia coli*[J]. *Journal of Bacteriology*, 2014, 196(17): 3140-3149
- [68] Ogasawara H, Hasegawa A, Kanda EM, Miki T, Yamamoto K, Ishihama A. Genomic SELEX search for target promoters under the control of the PhoQP-RstBA signal relay cascade[J]. *Journal of Bacteriology*, 2007, 189(13): 4791-4799
- [69] Yao Y, Fan LF, Shi YX, Odsbu I, Morigen. A spatial control for correct timing of gene expression during the *Escherichia coli* cell cycle[J]. *Genes*, 2016, 8(1): 1
- [70] Bordi C, Théraulaz L, Méjean V, Jourlin-Castelli C. Anticipating an alkaline stress through the Tor phosphorelay system in *Escherichia coli*[J]. *Molecular Microbiology*, 2003, 48(1): 211-223
- [71] Zhao SY, Zhang KN, Jiang SZ, Liu ZJ, Wang ZH, Wang YW, Liu B. Resonance assignments of sigma factor S binding protein Crl from *Escherichia coli*[J]. *Biomolecular NMR Assignments*, 2019, 13(1): 223-226
- [72] Qiao JX, Fan LF, Yao Y. The molecular mechanism of sensing and adapting to acid and base stress in *E. coli*[J]. *Chinese Journal of Biochemistry and Molecular Biology*, 2018, 34(1): 25-31 (in Chinese)  
乔佳鑫, 范丽菲, 姚远. 大肠杆菌抗酸碱环境的分子机制[J]. *中国生物化学与分子生物学报*, 2018, 34(1): 25-31
- [73] Yao Y, Qiao JX, Li J, Li H, Morigen. The effects of TorR protein on initiation of DNA replication in *Escherichia coli*[J]. *Hereditas*, 2015, 37(3): 302-308 (in Chinese)  
姚远, 乔佳鑫, 李静, 李慧, 莫日根. 大肠杆菌 TorS/TorR 二组分体应答蛋白 TorR 对 DNA 复制起始的影响[J]. *遗传*, 2015, 37(3): 302-308
- [74] Miyake Y, Yamamoto K. Epistatic effect of regulators to the adaptive growth of *Escherichia coli*[J]. *Scientific Reports*, 2020, 10(1): 3661
- [75] Weatherspoon-Griffin N, Zhao G, Kong W, Kong Y, Morigen, Andrews-Polymenis H, McClelland M, Shi YX. The CpxR/CpxA two-component system up-regulates two tat-dependent peptidoglycan amidases to confer bacterial resistance to antimicrobial peptide[J]. *Journal of Biological Chemistry*, 2011, 286(7): 5529-5539
- [76] Huang H, Sun YW, Yuan L, Pan YS, Gao YL, Ma CH, Hu GZ. Regulation of the two-component regulator CpxR on aminoglycosides and  $\beta$ -lactams resistance in *Salmonella enterica* serovar typhimurium[J]. *Frontiers in Microbiology*, 2016, 7: 604
- [77] Hung DL, Raivio TL, Jones CH, Silhavy TJ, Hultgren SJ. Cpx signaling pathway monitors biogenesis and affects assembly and expression of P pili[J]. *The EMBO Journal*, 2001, 20(7): 1508-1518
- [78] Guest RL, Court EA, Waldon JL, Schock KA, Raivio TL. Impaired efflux of the siderophore enterobactin induces envelope stress in *Escherichia coli*[J]. *Frontiers in Microbiology*, 2019, 10: 2776
- [79] Carlsson KE, Liu JF, Edqvist PJ, Francis MS. Influence of the cpx extracytoplasmic-stress-responsive pathway on *Yersinia* sp.-eukaryotic cell contact[J]. *Infection and Immunity*, 2007, 75(9): 4386-4399
- [80] Zhang SJ, Fang XL, Tang Q, Ge J, Wang YH, Zhang X. CpxR negatively regulates the production of xenocoumarin 1, a dihydroisocoumarin derivative produced by *Xenorhabdus nematophila*[J]. *MicrobiologyOpen*, 2019, 8(2): e00674
- [81] Spinola SM, Fortney KR, Baker B, Janowicz DM, Zwickl B, Katz BP, Blick RJ, Munson RS. Activation of the CpxRA system by deletion of *cpxA* impairs the ability of *Haemophilus ducreyi* to infect humans[J]. *Infection and Immunity*, 2010, 78(9): 3898-3904
- [82] Zhou XH, Keller R, Volkmer R, Krauss N, Scheerer P, Hunke S. Structural basis for two-component system inhibition and pilus sensing by the auxiliary CpxP protein[J]. *Journal of Biological Chemistry*, 2011, 286(11): 9805-9814