

细菌的群体行为调控机制-Quorum sensing

陶金莉¹ 迟莉丽² 沈亚领^{1*} 魏东芝^{1*}

(华东理工大学生物化学研究所生物反应器工程国家重点实验室 上海 200237)¹

(山东中医药大学附属医院 济南 250011)²

摘要: 群体效应 (Quorum sensing) 是近来日益受到广泛关注的一种细菌群体行为调控机制, 很多细菌有这种能力, 即分泌一种或多种自诱导剂 (Autoinducer), 细菌通过感应这些自诱导剂来判断菌群密度和周围环境变化, 当菌群数达到一定的阈值 (quorum, 菌落或集落数) 后, 启动相应一系列基因的调节表达, 以调节菌体的群体行为。不同类型的细菌具有不同的群体效应调节系统, 很多细菌分泌同一种诱导剂, 以此调控不同种类细菌间的作用行为。群体效应系统在自诱导剂与受体之间存在专一性, 同时又在调节基因和信号传递系统中体现出多样性和复杂性。由于不少人或植物的病原菌的致病机制等受群体效应的调控, 该机制已成为医学等领域的研究热点。

关键词: 群体效应 (Quorum sensing), 自诱导剂, 信息素

中图分类号: Q93 **文献标识码:** A **文章编号:** 0253-2654 (2004) 04-0106-05

单个细菌能使用胞内的信号系统去感应, 整合并处理外界的信息的能力早已为人们所知, 但细胞从其它细胞感知信息的能力却在这些年才刚刚被认识。近来的研究已证实很多细菌能利用一种细胞间的交流方法调节多种靶基因的表达, 这种交流方法被称为“Quorum sensing”, 即群体效应 (有译作法定数感应或密度感知)^[1], 即单个细胞通过一种胞外低分子量的自诱导剂 (autoinducer, 也称信息素 pheromone) 的富集来感应菌群密度是处于低密度状态还是达到了一个阈值浓度-细菌释放、察觉自诱导剂, 由察觉到的自诱导剂浓度来判断菌群密度, 再根据菌群密度的波动调节基因表达^[2]。细菌的许多行为, 包括: 生物发光、共生现象、生物膜形成、抗生素生产、群体移动性 (Swarming motility)、孢子形成、基因交换以及发病机理等均受到群体效应的调节^[2]。

早在 70 年代, 就有人发现海洋中的一种生物发光细菌-费氏弧菌 (*Vibrio fischeri*) 中存在群体效应。科学家发现居住于某些鱼类光器官中发光的费氏弧菌, 只有当细胞密度达到一定阈值时, 才会发光, 并且这种发光机制受到一种小分子自诱导剂的调节^[1]。许多年来人们认为这种由信息素介导的自诱导现象只在海洋弧菌中存在, 直到最近几年, 又发现了能响应细胞间信号来调控基因表达几种细菌, 如: 胡萝卜软腐欧文氏菌 (*Erwinia carotovora*) 的抗生素生产, 黄色粘球菌 (*Myxococcus xanthus*) 中的子实体的发育, 液化沙雷氏菌 (*Serratia liquefaciens*) 及粘质沙雷氏菌 (*Serratia marcescens*) 的群移性等, 这些行为经过验证确是受细胞间信号的控制^[3,4]。随着细菌细胞间交流研究的快速进展, 人们还发现许多甚至大多数的细菌可能都是靠分泌一种化学分子来进行交流和协调群体行为, 细菌使用的化学信号分子 (即自诱导剂) 有很多种类, 而且一种细菌可使用多种化学信号进行交流。在种内、种间都具备沟通能力对于细菌的生

* 联系人 Tel: 021-64253156, 021-64252981, E-mail: yalings@online.sh.cn

收稿日期: 2003-10-13, 修回日期: 2004-01-13

存和与生存环境的协调至关重要,细菌将这些化学信号分子作为一种特殊语言用于种内以及与外界的沟通的工具^[1]。革兰氏阴性菌和阳性菌使用不同的交流工具。通常,革兰氏阴性菌以酰化高丝氨酸内酯作为自诱导剂,而革兰氏阳性菌则使用一些改良的寡肽作为沟通用语。

1 革兰氏阴性菌的 LuxI-LuxR 型群体效应

群体效应的研究最早始于费氏弧菌,已证实 25 种以上的革兰氏阴性菌存在群体效应,除了哈氏弧菌 (*V. harveyi*) 和黄色粘球菌,其余细菌中的群体效应都与费氏弧菌中的典型系统-由 LuxI-LuxR 蛋白调控的群体效应系统相似,故称之为 LuxI-LuxR 型的群体效应^[5]。革兰氏阴性菌中存在 LuxI-LuxR 型调节系统,已被详细研究并描述的主要有以下几种(表 1)。

表 1 几种革兰氏阴性菌的群体效应系统

细菌类型	调控蛋白	AHL 类信息素	表现型
费氏弧菌 (<i>Vibrio fischeri</i>)	LuxI-LuxR	OHHL	生物发光
胡萝卜软腐欧文氏菌 (<i>Erwinia carotovora</i>)	Carl-CarR ExpI-ExpR	OHHL OHHL	抗菌素卡巴酚及胞外酶生产
铜绿假单胞菌 (<i>Pseudomonas aeruginosa</i>)	LasI-LasR RhII-RhIR	O ₃ DHL BHL	毒素 A 及弹性蛋白酶产生
根瘤土壤杆菌 (<i>Agrobacterium tumefaciens</i>)	TraR-TraI	OOHL	Ti 质粒转移因子的产生

在该系统中, LuxI 类蛋白催化革兰氏阴性菌特有的一类自诱导剂(酰化高丝氨酸内酯 AHL)的合成,与之同源的 LuxR 类蛋白则负责识别高丝氨酸自诱导剂并进而激活下游的靶基因的转录(图 1)。

酰化高丝氨酸内酯(AHL acyl-homoserine lactone)是革兰氏阴性菌特有的自诱导剂,这是一类水溶性、膜透过性分子,可自由出入细胞内,故胞内胞外浓度一致。AHL 由 LuxI 类蛋白酶催化脂肪酸代谢途径中的酰基-酰基载体蛋白的酰基侧链与 S-腺苷甲硫氨酸(s-adenosylmethionine)中高丝氨酸部分的接合,并进一步内酯化而生成的。AHL 类自诱导剂都是以高丝氨酸为母体,之间的差别只是酰基侧链的有无及侧链的长短不同,这是因为在合成过程中,高丝氨酸结合了不同的酰基-酰基载体蛋白的酰基侧链^[6]。

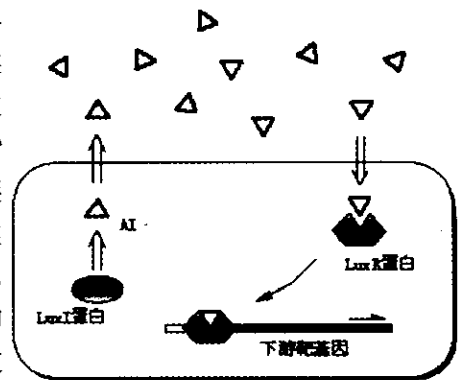


图 1 LuxI-LuxR 型群体效应回路系统

2 革兰氏阳性菌中由寡肽介导的群体效应

与革兰氏阴性菌以高丝氨酸内酯作为信号分子的交流系统不同,革兰氏阳性菌使用的自诱导剂信号分子是一些经过修饰的寡肽,并拥有另外一种相对更复杂的群体效应系统。这些寡肽结构多变,但都较小。

革兰氏阳性菌中的群体效应系统包括一个专一性的自诱导肽转运系统和一个调节信号转导系统，该信号转导系统又由一个固定在膜上的受体——组氨酸蛋白激酶和一个胞内响应调节子组成，所有的革兰氏阳性菌群体效应系统均至少包含其中一个组分，其基因表达的调控机制如图（图2）所示。

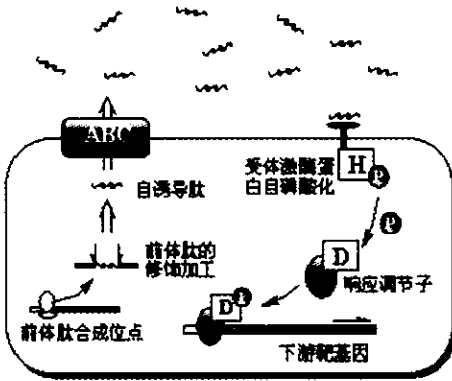


图2 革兰氏阳性菌中寡肽介导的群体效应^[5]

在革兰氏阳性菌的核糖体中首先合成一些自诱导肽的前体肽段并准备向外运输，在向外运输的过程中，这些前体肽段可能经过一次或多次特殊的转录后修饰与加工，形成有活性的、稳定的自诱导寡肽，并通过一种结合 ATP 的转运复合物分泌到胞外。当自诱导肽随细胞生长，在胞外积累到一定浓度后，便激活特定的受体激酶蛋白，受体激酶蛋白识别相对应的寡肽分子，并在保留的组氨酸残基（H）处自磷酸化，而磷酸基团则被运输到同源的响应调节子蛋白，该蛋白在保留的天冬氨酸（D）残基处被磷酸化。磷酸化后的响应调节子结合到特定的目标启动子，从而调节那些

受群体效应控制的目标基因的表达，如细菌素产生的基因等。而在这些目标基因中，通常还包括了自诱导肽的结构基因、两组分调节系统的基因和 ABC 转运系统的基因，甚至还包括一些涉及修饰自诱导肽的基因，从而在一定的动态范围内形成自诱导作用^[7]。

表2 几种由寡肽介导的群体效应系统

细菌类型	调控系统	寡肽类型	表现型
肺炎链球菌 (<i>Streptococcus pneumoniae</i>)	com-system	ComD-ComE	能力维持
枯草芽孢杆菌 (<i>Bacillus subtilis</i>)	com-system	ComP-ComA	能力维持、孢子形成
金黄色葡萄球菌 (<i>Staphylococcus aureus</i>)	agr-system	AgrC-AgrA	毒素生成
粪肠球菌 (<i>Enterococcus faecalis</i>)	fsr-system	FsrA-FsrB	病毒因子

3 杂合型的群体效应

另外一种特殊的群体效应系统则兼具了上述两种群体效应系统的部分特征，是一种杂合型的群体效应回路。这是在哈氏弧菌调节生物发光的过程中被发现的^[8]。杂合型回路中与革兰氏阴性菌相似的是其信号分子的产生系统。哈氏弧菌的信号系统产生两种小分子的自诱导剂，自诱导剂 1 (AI-1, autoinducer-1) N-(3-oxohexanoyl)-L-homoserine lactone (OHHL) 是一种高丝氨酸内酯的结构类似物，而自诱导剂 2 (AI-2, autoinducer-2) 是一种新近鉴定的呋喃硼酸二酯，与以前鉴定的自诱导剂没有任何类似之处^[9]。杂合型群体效应回路具有两条平行的感应途径，两条途径均是独立的将信息传递到 LuxO 感应调节子。该感应调节子首先响应由 AI-1 提供的信号，然后响应 AI-2 的

信号。已经清楚,合成自诱导剂 AI-1 和 AI-2 分别需要 *luxM* 基因和 *luxS* 基因的参与,且 LuxS 蛋白在酶参与的 AI-2 前体转化过程中起着关键的作用^[9]。

而该回路中和革兰氏阳性菌相似的是其信号接受系统,哈氏弧菌也使用了一种类似于革兰氏阳性菌的两组分的信号分子识别回路,通过此回路,信号分子被一种同源的感应激酶接收: LuxN 蛋白识别 AI-1,而 LuxP 蛋白主要识别 AI-2。经过一系列的分子内和分子间的磷酸基团传递将磷酸传递到中间化合物 LuxU 磷酸转移酶蛋白^[8],^[11]。然后,信号分子被传递到响应调节子 LuxO 蛋白,磷酸化的 LuxO 蛋白和 σ^4 形成交互作用,诱导了一种阻遏物的生成,该阻遏物抑制了下游靶基因-*lux* 操纵子的表达;一旦 LuxO 蛋白去磷酸化,失去活性, LuxR 蛋白就与 *lux* 操纵子的启动子结合进而激活 *lux* 操纵子的转录。图 3 可简明的说明这一调控过程^[10];

除了调节光的产生外, LuxO 蛋白和 σ^4 还调节含铁细胞的产生和哈氏弧菌的菌落形态,说明在哈氏弧菌中,这种杂合型的群体效应可以调节种群中的多种生化过程^[9]。

4 种间 (inter-species) 的群体效应

前文已提及,哈氏弧菌的信号系统能产生两种小分子的自诱导剂, AI-1 (AHLs 类) 和 AI-2 (呋喃硼酸二酯)^[9],哈氏弧菌通过这两种自诱导剂来感应菌群密度,利用 AI-1 进行种内交流, AI-2 进行种间的沟通^[5]。不仅是哈氏弧菌, Bonnie 等人还发现很多革兰氏阴性菌及阳性菌都分泌自诱导剂 AI-2,从而拥有在种间进行交流的语言能力。在迄今为止所研究的能产生 AI-2 的菌株中, AI-2 的生物合成途径及合成过程中的中间体都是一样的,且都需要 LuxS 蛋白的参与^[11]。由此他们推测 AI-2 可能是一种通用的信号分子并由其介导不同细菌间的细胞交流^[1];近来有人证实 AI-2 介导的种间交流在混杂菌种生物膜的形成中是必不可少的一步,并有望用于牙病的治疗^[11]。尽管许多细菌中 AI-2 的控制基因已被鉴别,但迄今只在 3 种细菌:哈氏弧菌、*V. cholerae* 和 *S. typhimurium* 中明确了完整的 AI-2 识别和信号传递机制。在自然环境下,同时拥有种内和种间语言能力能增强细菌在其赖以聚居的多种群集落中的生存能力和与其它菌株的交互作用。

5 Quorum sensing 的复杂性、多样性和专一性

群体效应系统最显著的复杂性是在于其信号产生、信号检测、信号传递和信号响应机制的多样性。如同属的哈氏弧菌和费氏弧菌,均利用群体效应来调节相同的任务(如生物发光),但它们各自利用了不同的信号分子和不同的信号响应机制来达到这一目标。而群体效应正是因为一方面存在为数众多、结构多样的自诱导剂,另一方面单个细菌使用了多重的信号分子,两者结合从而形成了复杂的多层次信号传递重叠,将群体效应和许多重要的细胞过程联系到了一起^[12]。

群体效应中涉及的调节基因在种间甚至菌株之间还表现出了高度的基因多态性。受体组氨酸蛋白激酶的 N 端及其连接部位、自诱导肽以及肽段加工基因都具有极高的

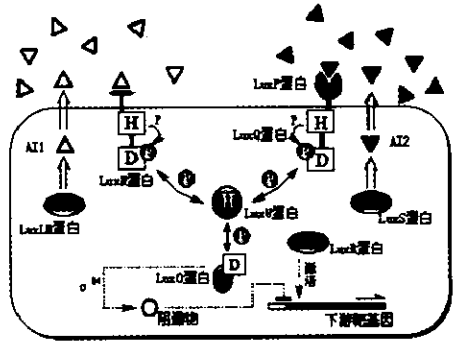


图 3 哈氏弧菌中的杂合型的群体效应回路^[5]

序列多样性。群体效应的多样性和专一性已经在金黄色葡萄球菌的 *agr* 系统、枯草芽孢杆菌的感受态系统等中进行了较深入的研究,在这些系统中,每种自诱导肽的诱导活性都对其同源的受体表现出了较高的专一性,显示出独特的表型特征。然而,在另外一些情况中,信号分子不仅能被同种的同类细胞识别,而且能够被同种或相关种的不同菌株识别。这种种间和种内的交流既可以被抑制,也可以被诱导^[7]。

某些自诱导肽还具备双重功能,既可作为信号分子,又具有抗菌活性。研究最广泛的是由乳酸乳球菌产生的乳链菌肽(lantibiotic nisin),它同时也作为信号分子诱导自身的生物合成,枯草芽孢杆菌产的枯草菌素也具有同样的功能^[13]。

6 展望

铜绿假单胞菌(*Pseudomonas aeruginosa*)是肺囊肿性纤维化病人患慢性或致命性感染的最为常见的病原,并会感染烧烫伤或癌症接受化疗的病患^[14]。铜绿假单胞菌生物膜的形成受到群体效应的调控,这种生物膜对包裹其中的铜绿假单胞菌起到一定的保护作用(避免了暴露于人体免疫反应中,减少了与抗菌药物的直接接触),使得感染持久而且难以治愈。在感染早期通过基因手段切除了铜绿假单胞菌中的信息素合成酶后发现感染症状明显减轻了。因此,自诱导剂的生物合成酶及自诱导剂感应部位为新的抗菌药物的开发提供了有潜力的靶点^[15]。有研究者认为群体效应有可能用于其控制的一些代谢产物如卡巴酚的产量的提高。

参考文献

- [1] Miller M B, Bassler B L. *Annu Rev Microbiol*, 2001, **55**: 165 ~ 199 .
- [2] Fuqua W C, Winans S C, Greenberg E P. *J Bacteriol*, 1994, **176**: 269 ~ 275.
- [3] Fuqua C, Winans S C, Greenberg E P. *Annu Rev Microbiol*, 1996, **50**: 727 ~ 751.
- [4] Eber L, Molin S, Givskov M. *J Bacteriol*, 1999, **181**: 1703 ~ 1712.
- [5] Schauder S, Bassler B L. *Genes & Development*, 2001, **15**: 1468 ~ 1480.
- [6] Zavilgelsky G B, Manukhov I V. *Molecular Biology*, 2001, **35** (2): 224 ~ 232.
- [7] Sturme M H J, Kleerebezem M, Nakayama J. *Antonie van Leeuwenhoek*, 2002, **81**: 233 ~ 243.
- [8] Freeman J A, Bassler B L. *J Bacteriol*, 1999, **181**: 899 ~ 906.
- [9] DeLisa M P, Bentley W E. *Microb Cell Fact.*, 2002, **1** (1): 5 ~ 9.
- [10] Lilley B N, Bassler B L. *Mol Microbiol*, 2000, **36**: 940 ~ 954.
- [11] McNab R, Ford S K, Barbieri B, *et al.* *J Bacteriol*, 2003, **185**: 274 ~ 278.
- [12] Parsek M R, Greenberg E P. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2000, **97**: 8789 ~ 8793.
- [13] Kleerebezem M, Quadri L E N. *Peptides*, 2001, **22**: 1579 ~ 1596.
- [14] Singh P K, Schaefer A L, Parsek M R, *et al.* *Nature*, 2000, **407**: 762 ~ 764.
- [15] Dong Y H, Wang L H, Xu J L, *et al.* *Nature*, 2001, **411**: 813 ~ 817.