

双组分系统——细胞识别渗透胁迫信号的感应器*

邱全胜

(北京师范大学生命科学学院, 北京 100875)

摘要 双组分系统是广泛存在于原核和真核细胞中的信号转导系统. 主要由组氨酸蛋白激酶 (HPK) 和响应调节蛋白 (RR) 两个组分组成. 双组分系统信号通路一般包括信号的输入、HPK 自身磷酸化、RR 磷酸化、信号输出等环节. 对双组分系统信号转导机制及其在渗透胁迫信号识别和传导中的作用进行了综述.

关键词 双组分系统, 渗透胁迫, 信号识别, 信号传导

学科分类号 Q51

近年, 随着分子生物学技术的广泛应用, 植物逆境生理的研究已深入到分子水平^[1]. 已经克隆到许多逆境相关基因, 并对这些逆境相关基因的表达产物——逆境诱导蛋白的组成、功能及其在植物抗逆中的作用等进行了深入研究^[1,2]. 目前关于逆境信息在植物细胞中的传递也取得重要进展, 发现 Ca^{2+} 、 IP_3 是逆境信息传递的第二信使, 并且发现细胞信号传递组分 MAPK、MAPKK 等都参与了逆境信息在胞内的传递^[3,4].

然而迄今为止, 人们对植物感受外界环境变化的分子机制还不清楚^[3]. 前期有关植物感受逆境信息的研究大都集中在植物质膜的物理状态方面, 认为质膜脂流动性的改变是植物感受环境变化的原初响应^[5]. 近年研究发现, 在细菌和酵母细胞中存在一种被称为“双组分信号系统” (two-component systems) 的跨膜信号转导系统. 该系统作为渗透感应器 (osmosensor) 将外界环境水分亏缺信号跨膜传递到细胞之内, 调节基因表达, 并引起细胞生理生化过程的改变. 因而认为该系统是细胞识别外界水分亏缺的信号分子, 在细胞感受环境水分变化中起着重要作用^[6~14]. 本文综述了双组分信号系统的组成及其作用机理, 并对该系统在细菌、酵母和高等植物渗透胁迫信号识别和转导中的作用进行了讨论.

1 双组分系统

双组分系统最初是由 Ninf 和 Magasnik (1986 年) 在研究大肠杆菌氮调节蛋白系统 (nitrogen regulatory protein, NR) 时发现的^[6], 该系统调节着大肠杆菌的基因表达. 与此同时, Ausubel 及其同事^[15]发现在细菌中存在许多感应系统 (sensory

system), 其组分与大肠杆菌的 NR 系统的组分具有相似的氨基酸序列. 由此人们认为这些系统与 NR 系统有着相似的信号转导机制. 随后研究表明, 双组分系统是在原核生物中普遍存在的一种信号转导系统. 现已发现, 在大肠杆菌中存在 30 种不同的双组分系统^[6]. 目前在真核生物细胞, 如酵母^[16~19]、哺乳动物^[20]和高等植物^[6]细胞中也发现存在双组分系统.

1.1 双组分系统的基本特征

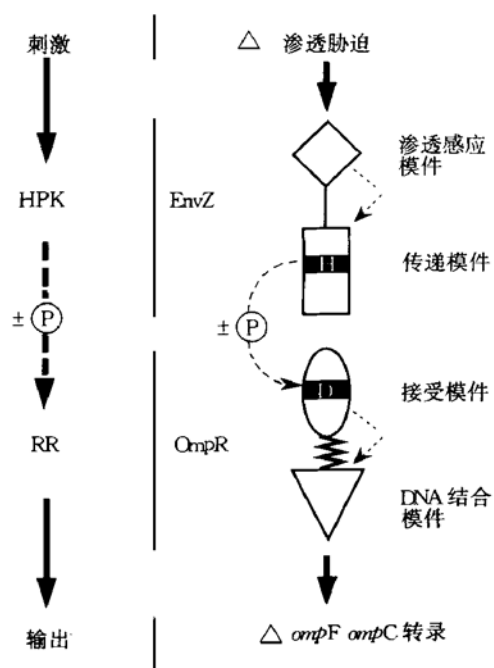
双组分系统由两个基本组分构成. 一个是组氨酸蛋白激酶 (histidine protein kinase, HPK), 另一个是响应调节蛋白 (response regulator protein, RR). HPK 感受到外界环境信号后, 使 RR 磷酸化, 将外界信号传递到胞内. 整个双组分信号通路由信号输入 (input)、HPK 自身磷酸化、RR 磷酸化及输出 (output) 等环节构成^[6~8] (图 1).

1.1.1 HPK^[6~8]: HPK 是一跨膜蛋白, 通常有 1~2 个跨膜片段. 在发生作用时, HPK 以二聚体形式存在, 并发生自身磷酸化作用. HPK 都有一个能够感受外界信号的输入模件 (module), 并与蛋白激酶催化模件相连接. 这一结构特点使得 HPK 很敏锐地感受外界环境变化. 然而, 目前有关与 HPK 直接作用的配体的研究报道极少, 加之在有的双组分系统中其原初受体分子不是由 HPK 而是由其他蛋白质充当, 因此有关 HPK 对信号的感受以及 HPK 的催化活力等问题还很不清楚.

* 国家重点基础研究发展规划项目 (G1999011705) 和教育部分学技术重点项目 (99133) 资助.

Tel: (010) 62205381, E-mail: qiuqs@bnu.edu.cn

收稿日期: 1999-10-14, 修回日期: 2000-03-03

图1 双组分信号转导系统^[6]

此外, 几乎每个 HPK 分子都有一个由 250 个氨基酸组成的传递模块 (transmitter module), 该模块是自催化磷酸化的作用部位, 磷酸化位点一般是 His. 同源性分析表明, 两个不同 HPK 分子的传递模块之间的同源性为 20% ~ 25%. 在大多数 HPK 分子中, 都有 5 个由 5 ~ 10 个氨基酸组成的保守区域. 研究还发现有些 HPK 还具有磷酸酶活性, 即 HPK 可以催化 RR 去磷酸化过程. 但是这一去磷酸化似乎不同于一般意义上的可逆磷酸化过程.

HPK 在催化反应方面有两个不同于其他蛋白激酶的特点: 一个是 HPK 不是直接将 P_i 从 ATP 转移到底物 (RR), 而是先进行自身磷酸化, 然后再从 HPK- P_i 中将 P_i 转移至 RR; 另一个是 HPK 的自身磷酸化位点是 His 残基, RR 磷酸化位点是 Asp 残基, 两者构成 His-Asp 接力 (His-Asp relay).

关于 HPK 的调节机制方面, 发现 HPK 的输入模块调节 (抑制) 着 HPK 的激酶活力. 实验显示, 缺失输入模块的 HPK 分子其激酶活力显著增大. 人们同样推测, 输入模块可能也调节着 HPK 的磷酸酶活力.

1.1.2 RR^[6-8]: 目前已发现约 400 多个 RR, 这些 RR 具有两大主要特点: a. RR 都有一个被称为接受模块 (receiver module) 的结构域, 结构域大

约由 110 个氨基酸组成, 是 Asp 磷酸化位点; b. 大多数 RR 都是双结构域蛋白, 一个是接受模块, 另一个是具有某种输出或效应器活力的结构域, 被称为输出结构域 (output domain). 在大多数情况下, RR 是转录因子, 输出结构域作为 DNA 模块与 DNA 结合; 接受模块则通过 Asp 磷酸化调节着它的活力, 指导着它是结合 DNA 靶序列, 还是与转录机器的其他组分相结合. 然而需要指出的是, 尽管大多数 RR 是作为转录因子起作用的, 但还有许多 RR 与转录无关. 例如, 大肠杆菌 CheB 的作用是使化学趋向性受体蛋白 (chemotaxis receptor proteins) 去甲基化, CheB 接受模块的磷酸化则促进该过程的进行. 又例如, 大肠杆菌 SprE 中, 其输出结构域则调节着蛋白酶的活力. 由此可见, RR 具有多种功能. 同源分析表明, 两个 RR 之间具有 20% ~ 30% 的相似性; 然而结构分析表明, 所有的 RR 具有相似的三维结构. 目前, 已采用 X 射线晶体衍射和 NMR 方法研究了 CheY 和 NarL 的空间结构, 发现 RR 的接受模块具有相同的 $\alpha\beta$ 蛋白结构; 其磷酸化位点位于连接着两个 β 折叠的环中, 这两个 β 折叠 (片层) 则构成接受模块的核心. 另一个令人感兴趣的发现是, 接受模块的三维结构与小 GTP 结合蛋白 Ras 的结构相似. 由于 Ras 调节着 MAPK 信号转导通路, 于是有关 RR 与 MAPK 通路的关系, 引起人们极大兴趣.

关于 RR 调节机制方面也发现 RR 分子的接受模块调节其输出模块 (抑制). 研究还发现 HPK 自磷酸化水平或磷酸酶水平调节着 RR 的磷酸化速率.

1.2 双组分系统的多样性

由上述双组分系统的分析可以看出, 其整个信号转导过程, 即信号输入、转导、输出, 只有两个组分 (HPK 和 RR) 来完成, 是一典型的、最简单的双组分信号系统. 随着双组分系统的广泛研究, 尤其是在真菌和高等植物中的研究, 发现双组分系统远非只有两个组分, 并且无论是信号的输入、还是转导或输出过程, 都比原核的双组分系统复杂得多. 因而, 双组分系统呈现出多样化的特点^[18, 19]. 双组分系统的多样性表现在以下几个方面: a. 信号识别 (输入) 的多样性. 信号的识别和感受是由其他分子, 如细胞表面受体或运输蛋白来完成, 由它们再将信号传递到 HPK 分子, 例如大肠杆菌化学趋向性信号系统中, 其信号识别、感受分子是一种膜受体, 而在大肠杆菌的磷酸系统中, 信号输入

则是由运输蛋白承担的^[6,7]。b. 信号转导的多样性。有如下几个特点: (1) 多种 HPK 调节一个 RR; (2) 一个 HPK 调节多种 RR; (3) 多步骤磷酸转移过程; (4) 融合型 HPK。融合型 HPK 含有一个接受模件, 在这样的体系中, HPK 自磷酸化后, 首先将其 P_i 传递到其自身分子的接受模件, 再由自身接受模件最终传递到 RR 分子。也有报道表明, 融合型 HPK 可以不通过 RR 分子, 可以直接行使效应器的功能^[6,7]。c. 信号输出的多样性。表现在两个方面^[6,7]。一方面是输出功能的多样性, 输出模件不仅作为转录调节因子调节着基因的表达, 还可以作为蛋白质活力调节因子来起作用。另一方面是输出过程的复杂化和输出组分的多样化。在真核细胞中输出的功能不是由 RR 完成, 而是将信号继续传递至其下游组分完成。RR 仅仅是整个信号级联放大系统之中的一个上游组分。目前发现, 在真核细胞中 MAPK 级联放大系统作为 HPK-RR 双组分系统的下游组分参与信号转导。此外, 还发现 cAMP 系统, 细胞骨架参与了下游信号转导。

2 双组分系统在渗透信号传递过程中的作用

2.1 细菌 (原核细胞)

大肠杆菌的 EnvZ-OmpR 系统是研究比较清楚的一个双组分系统 (图 1), 该系统在感受渗透胁迫信号、调节细胞渗透势等方面起着重要的作用。EnvZ-OmpR 双组分系统是通过调节 ompF 和 ompC

的基因表达影响到二者在外膜上数量的多寡, 最终影响到跨膜物质运输, 而调控着细胞对渗透胁迫的响应过程^[9~14]。

OmpF 和 OmpC 是大肠杆菌细胞外膜上两个主要孔道蛋白, 亲水性物质可以通过它们进入细胞。OmpF 和 OmpC 具有相似的氨基酸序列, 其结构基因的核苷酸序列也极为相似。OmpF 的孔道直径较大, 而 OmpC 的孔道直径较小。它们对环境渗透势的大小极为敏感, 渗透势的改变能够影响二者在外膜上数量的多寡。在低渗透势条件下, 外膜中有较多的 OmpF; 相反, 在高渗透势条件下, 外膜中则有较多的 OmpC。OmpF 和 OmpC 基因的表达是由 EnvZ-OmpR 双组分系统调控的。EnvZ 是渗透感应器, 属于 HPK, 在感受到外界渗透势变化后, 可以进行自身磷酸化, 然后将其高能 His- P_i 基团传递到作为 RR 的 OmpR 上, 磷酸化位点是接受模件的 Asp 残基。随后, 磷酸化了的 OmpR 与 OmpF 和 OmpC 的上游序列结合, 调节这两个基因的表达。

2.2 酵母

甘油是酵母细胞的重要渗透调节物质, 酵母通常通过调节甘油的生物合成过程进行着渗透调节作用。研究发现甘油合成的关键酶, 甘油-3-磷酸合成酶的基因 gpd1 可以被高渗透势诱导表达, 并且发现, Sln1-Ypd1-Ssk1 双组分系统参与了酵母细胞对渗透胁迫信息的感受、传递过程, 调节着甘油的生物合成^[7,16~19] (图 2)。

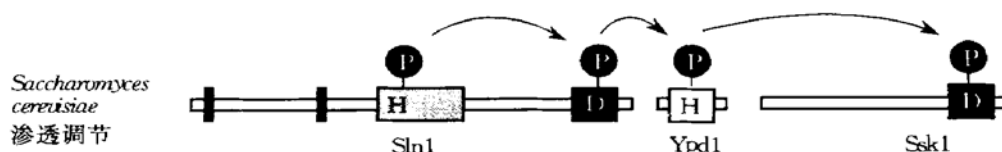


图 2 酵母 (*Saccharomyces cerevisiae*) 双组分系统 Sln1-Ypd1-Ssk1 磷酸接力^[7]

■: 跨膜片段; [H]: 组氨酸激酶结构域; [D]: 接受结构域; [H]: 组氨酸磷酸化位点; [P]: 无机磷。

Sln1-Ypd1-Ssk1 系统中在 Sln1-Ypd1-Ssk1 之间进行着多级磷酸化接力过程。在该系统中 Sln1 类似于细菌中的 EnvZ, 具有渗透感受器的作用。在感受渗透胁迫后, Sln1 首先使其 His576 磷酸化, 与 EnvZ 不同的是该系统不是继续磷酸化第二个组分 Ypd1, 而是再一次使其自身的 Asp1144 磷酸化, 之后才磷酸化 Ypd1 (His65)、最后磷酸化 Ssk1 (Asp554), 磷酸化的 Ssk1 接着启动下游信号系统组分——MAPK 级联放大系统, 即连续激活 Ssk2/

Ssk22 (MAPKKK)、Phs2 (MAPKK) 和 Hog1 (MAPK), 最后 Hog1 进入细胞核, 使转录因子磷酸化, 从而诱导 gpd1 基因的表达^[7]。

2.3 高等植物

研究表明, 在高等植物中也存在双组分系统^[3,6,7]。例如已发现了与乙烯信号转导有关的 ETR, 与细胞分裂素信号转导相关的 CKII 以及与植物光敏色素有关的 Cph1 等^[3,6,7]。然而, 对高等植物中与渗透胁迫信号相关的双组分系统报道很

少。只有 Urao 等发现拟南芥的 ATHK1 (SLN1 同源蛋白) 能够与酵母 Sln1 突变体互补, 并且有渗透感应器的作用, 表明高等植物中可能也存在与酵母细胞相似的渗透感应机制^[3]。然而, 目前尚未见到有关植物细胞中存在与渗透信号识别和转导相关的双组分系统的直接报道。有关工作正在深入研究之中。

综上所述, 细菌和酵母细胞中能够识别和传递渗透胁迫信号的双组分系统的发现, 为研究高等植物逆境信息感受、识别以及传递的分子基础提供了新的研究方向, 促使人们在高等植物细胞中寻找类似的渗透感应系统。这些工作的不断深入必将极大地促进关于植物感受环境变化分子机制和植物抗逆分子机制的研究。

参 考 文 献

- Ingram J, Bartels D. The molecular basis of dehydration tolerance in plants. *Annu Rev Plant Physiol*, 1996, **47**: 377~ 403
- Close T J. Dehydrins: Emergence of a biochemical role of a family of plant dehydration proteins. *Physiol Plant*, 1996, **97** (4): 795 ~ 803
- Shinozaki K, Yamaguchi-Shinozaki K. Gene expression and signal transduction in water stress response. *Plant Physiol*, 1997, **115** (2): 327~ 334
- Mizoguchi T, Ichimura K, Shinozaki K. Environmental stress response in plants: The role of mitogen-activated protein kinase. *TIBTECH*, 1997, **15** (1): 15~ 19
- Vigh L, Los D A, Horvath L, et al. The primary signal in the biological perception of temperature: Pd-catalyzed hydrogenation of membrane lipids stimulated the expression of the desA gene in *Synechocystis* PCC6803. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1993, **90** (19): 9090~ 9094
- Chang C, Stewart R C. The two component system: Regulation of diverse signaling pathways in prokaryotes and eukaryotes. *Plant Physiol*, 1998, **117** (3): 723~ 731
- Wurgler-Murphy S M, Saito H. Two-component signal transducers and MAPK cascades. *TIBS*, 1997, **22** (1): 172~ 176
- Appleby J L, Parkinson J S, Bourret R B. Signal transduction via the multi-step phosphorelay: Not necessarily a road less traveled. *Cell*, 1996, **86** (6): 845~ 848
- Bourret R B, Borkovich K A, Simon M L. Signal transduction pathways involving protein phosphorylation in prokaryotes. *Annu Rev Biochem*, 1991, **60**: 401~ 441
- Parkinson J S, Kofoid E C. Communication molecules in bacterial signaling proteins. *Annu Rev Genet*, 1992, **26**: 71~ 112
- Forst S, Inouye M. Environmentally regulated gene expression for membrane proteins in *Escherichia coli*. *Annu Rev Cell Biol*, 1988, **4**: 21~ 42
- Stock J B, Stock A M, Mottonen J M. Signal transduction in bacteria. *Nature*, 1990, **344** (6265): 395~ 400
- Stock J B, Nirifa A J, Stock A M. Protein phosphorylation and regulation of adaptive response in bacteria. *Microbiol Rev*, 1989, **53** (4): 450~ 490
- Mizuno T, Mizushima S. Signal transduction and gene regulation through the phosphorylation of two regulatory components: The molecular basis for the osmotic regulation of the porin genes. *Mol Microbiol*, 1990, **4** (6): 1077~ 1082
- Nixon B T, Ronson C W, Ausubel F M. Two-component regulatory systems responsive to environmental stimuli share strongly conserved domains with the nitrogen assimilation regulatory gene ntrB and ntrC. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1986, **83** (2): 7850~ 7854
- Maeda T, Takekawa M, Saito H. Activation of yeast PBS2 MAPKKs or by binding of an SH3-containing osmosensor. *Science*, 1995, **269** (5223): 554~ 558
- Maeda T, Wurgler-Murphy S M, Saito H. A two-component system that regulates an osmosensing MAP kinase cascade in yeast. *Nature*, 1994, **369** (6477): 242~ 245
- Ota I M, Varshavsky A. A yeast protein similar to bacterial two-component regulators. *Science*, 1993, **262** (5133): 566~ 569
- Posas F, Wurgler-Murphy S M, Maeda T, et al. Yeast HOG1 MAP kinase cascade is regulated by a multistep phosphorelay mechanism in the SLN1-YPD1-SSK1 "two-component" osmosensor. *Cell*, 1996, **86** (6): 865~ 875
- Galcheva-Gargova Z, Derjard B, Wu I-H, et al. An osmosensing signal transduction pathway in mammalian cells. *Science*, 1994, **265** (5173): 806~ 808

Two-component System: A Sensor for the Perception of Osmotic Signal in Cells. QIU Quan-Sheng (College of Life Sciences, Beijing Normal University, Beijing 100875, China).

Abstract The two-component system is a signal transduction pathway in both of the prokaryotes and eukaryotes. Since there are only two components, histidine protein kinase (HPK) and response-regulation protein (RR), in the signal transduction pathway in prokaryotes, therefore, it is named the two-component system. However, further research, especially with the extensive identification of this system in eukaryotes, established that this system is composed of more than two components besides HPK and RR, showing diversity in its composition and signaling pathway. Usually, the two-component system is divided into several processes such as signal input, HPK auto-phosphorylation, RR phosphorylation, and signal output. The mechanism for the signal transduction of the two-component system and its role in the perception and transduction of osmotic stress are reviewed.

Key words two-component system, osmotic stress, signal perception, transduction