

- 7 Hassig C A, Tong J K, Fleischer T C, *et al.* A role for histone deacetylase activity in HDAC1-mediated transcription repression. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1998, **95** (7): 3519~ 3524
- 8 Lechner T, Lusser A, Brosch G, *et al.* A comparative study of histone deacetylase of plant, fungal and vertebrate cells. *Biochim Biophys Acta*, 1996, **1296** (2): 181~ 188
- 9 Grozinger C M, Hassig C A, Schreiber S L. Three proteins define a class of human histone deacetylases related to yeast Hda1p. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1999, **96** (9): 4868~ 4673
- 10 Verdel A, Khochbin S. Identification of a new family of higher eukaryotic histone deacetylases. Coordinate expression of differentiation-dependent chromatin modifiers. *J Biol Chem*, 1999, **274** (4): 2440~ 2445
- 11 Emiliani S, Hendzel M J, Nagase T, *et al.* A new family of human histone deacetylases related to *Saccharomyces cerevisiae* HDA1p. *J Biol Chem*, 1999, **274** (17): 11713~ 11720
- 12 Pazin M J, Kadonaga J T. What's up and down with histone deacetylation and transcription? *Cell*, 1997, **89** (3): 325~ 328
- 13 Brehm A, Miska E A, McCance D J, *et al.* Retinoblastoma protein recruits histone deacetylase to repress transcription. *Nature*, 1998, **391** (6667): 597~ 601
- 14 Lin R J, Nagy L, Inoue S, *et al.* Role of the histone deacetylase complex in acute promyelocytic leukaemia. *Nature*, 1998, **391** (6669): 811~ 814
- 15 Nan X, Ng H H, Johnson C A, *et al.* Transcriptional repression by the methyl-CpG-binding protein MeCP2 involves a histone deacetylase complex. *Nature*, 1998, **393** (6683): 386~ 389
- 16 Jones P L, Veenstra G J, Wade P A, *et al.* Methylated DNA and MeCP2 recruit histone deacetylase to repress transcription. *Nat Genet*, 1998, **19** (2): 187~ 191
- 17 Koipally J, Renold A, Kim J, *et al.* Repression by Ikaros and Aiolos is mediated through histone deacetylase complexes. *EMBO J* 1999, **18** (11): 3090~ 3100
- 18 Rundlett S E, Carmen A A, Suka N, *et al.* Transcription by UME6 involves deacetylation of lysine5 of histone H4 by RPD3. *Nature*, 1998, **392** (6678): 831~ 835
- 19 de Rubertis F, Kadosh D, Henchoz S, *et al.* The histone deacetylase RPD3 counteracts genomic silencing in *Drosophila* and yeast. *Nature*, 1996, **384** (6609): 589~ 588
- 20 Olsson T G S, Ekwall K, Allshire R C, *et al.* Genetic characterisation of hda1⁺, a putative fission yeast histone deacetylase gene. *Nucleic Acids Res*, 1998, **26** (13): 3247~ 3254

Histone Deacetylase and It's Relationship with Gene Transcription. CHEN Jian, ZHANG Xiao-Qin, FU Ji-Liang¹⁾ (*Department of Military Hygiene, ¹⁾ Institute of Medical Biotechnology and Molecular Genetics, Second Military Medical University, Shanghai 200433, China*).

Abstract There are two kinds of molecular containing histone deacetylase activity: One is homology with yeast RPD3, and another is not homology with yeast RPD3. These deacetylases have different sources, exist in different complex, and catalyze different histone or other proteins deacetylation; There are close relationship between deacetylases and the regulation of gene transcription, especially repression of gene transcription.

Key words histone deacetylase, gene transcription, histone deacetylation

细菌鞭毛马达——一种卓越的分子机器

邓国宏 徐启旺 刘俊康 丛严广

(第三军医大学生物波研究中心, 重庆 400038)

摘要 鞭毛马达 (flagellar motor) 是一种分子旋转马达, 它在细菌鞭毛的结构与功能中起着中心作用. 鞭毛马达的结构已基本清楚, 主要由 Mot A、Mot B、Fli G、Fli M 和 Fli N 5 种蛋白组成定子 (stator) 和转子 (rotor), 其驱动力来自于跨膜的 H⁺ 或 Na⁺ 流. 目前对鞭毛马达的旋转动力学及旋转力矩产生机制已有初步的了解. 鞭毛马达可作为研究分子旋转马达的理想模型, 对其深入研究将有助于认识生物能量转化利用及细胞运动的机制并具有广泛的生物学意义.

关键词 鞭毛马达, 质子运动力, 分子旋转马达

学科分类号 Q935

许多细菌都有鞭毛 (flagellum), 数量从 1~2 根到上百根不等. 每根鞭毛受基底部的鞭毛马达 (flagellar motor) 驱动而旋转, 对细菌胞体产生推力. 鞭毛马达在细菌鞭毛的结构与功能中起着中心作用. 和一般的马达酶蛋白不同, 鞭毛马达的旋转不依赖 ATP 为能量, 其驱动力来自跨膜的 H^+ (在有些情况下是 Na^+) 电化学势能, H^+ (或 Na^+) 的跨膜流动引起鞭毛旋转^[1,2]. 鞭毛马达是一个非常奇妙的分子机器, 其转速可高达 100 000 r/min, 使细菌每秒前进数百微米; 它既可顺时针 (clockwise, CW) 旋转, 也可逆时针 (counterclockwise, CCW) 旋转^[3]. 本文就近年来细菌鞭毛马达的研究进展作一简要介绍, 着重于鞭毛马达的结构与功能、旋转动力学 (力矩、转速、负载、质子力等参数之间的关系) 以及电化学势能-机械旋转之间的耦合机制等方面的内容.

1 鞭毛马达的结构与功能

在鞭毛结构中, 参与旋转力矩产生的部分称为鞭毛马达. 各种遗传学、生物化学和形态学分析表明, 在大肠杆菌或伤寒沙门氏菌的鞭毛组装和运行所需的 50 余种蛋白质中, 只有 5 种蛋白质与鞭毛的力矩产生密切相关, 即 FliG、FliM、FliN、Mot A 和 Mot B, 它们共同组成鞭毛马达. 鞭毛装置的大致结构可用一个简图来表示^[4].

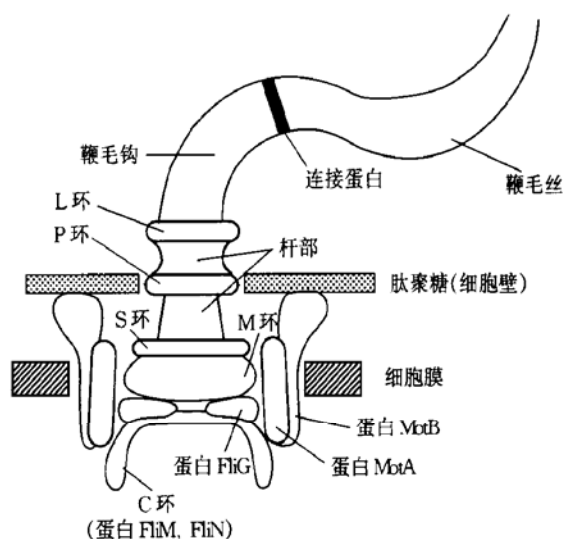


图 1 鞭毛马达结构示意图

Mot A 和 Mot B 是跨膜蛋白, 二者共同组成质子通道. Mot A/Mot B 复合体构成马达中的非旋转部分, 即定子 (stator). 基因间的抑制分析和超微结构研究表明, FliG、FliM 和 FliN 在鞭毛基底部

形成一个功能复合体, 称为切换复合体 (switching complex)^[5], 又叫 C 环 (C ring). 现在已经知道, 切换复合体有三个功能: a. 确定鞭毛的旋转方向 (CW/CCW 切换); b. 参与鞭毛组装; c. 参与马达的力矩产生. 因此, 切换复合体 (也许还有 M 环) 构成了马达的转子 (rotor), 与 M 环周围的膜 Mot A/Mot B 复合体 (定子) 一起, 形成鞭毛马达 (motor).

2 鞭毛马达的生物能学 (bioenergetics)

不像其他机械酶, 如细胞中的肌球蛋白 (myosin)、动蛋白 (kinesin)、力蛋白 (dynein)、DNA 解旋酶 (DNA helicase) 等, 鞭毛马达没有 ATP 酶活性; 细菌在其细胞 ATP 贮备完全丧失的情况下仍能活跃地游动^[6]. 鞭毛马达是一个把跨膜离子梯度贮存电化学势能转化为旋转运动机械能的装置. 生物学家们确认, 细菌鞭毛是由质子运动 (proton-motive force, PMF) 或 Na^+ 运动 (sodium-motive force) 驱动的.

3 鞭毛马达的旋转动力学 (dynamics)

鞭毛马达的旋转动力学已得到充分的研究, 包括马达的转速、力矩、PMF 和旋转依赖的 H^+ 流等. 如果把马达看作一个电机, 则 PMF 与 H^+ 流的乘积等于输入功率, 马达力矩与旋转速率的乘积等于输出功率. 对马达的动力学特性的充分了解, 十分有助于正确地理解马达力矩产生的能量耦合机制.

在经典的鞭毛马达动力学研究中, 一般采用拴系细胞 (tethered cells) 的方法^[7]. 用鞭毛抗体将细菌细胞通过它们的鞭毛拴系 (tethering) 到玻片上, 这样, 鞭毛被固着而胞体旋转, 通过观察胞体的旋转来了解单个鞭毛马达的旋转特性. 这种情况下, 马达处于高负载状态, 通常转速较慢 (一般小于 10 Hz); 马达力矩与外部液体的粘滞力相平衡, 力矩可通过测定转速、细胞大小以及液体的粘度而估计出. 在被拴系细胞中, 马达力矩与转速、温度、同位素溶剂效应等无关, 只随 PMF 或 H^+ 流的变化而变化.

拴系细胞技术中马达以非常慢的速度工作, 由于是胞体而不是鞭毛丝旋转, 使马达处于一种不自然的高负载状态. Lowe^[8] 以及 Kudo 等^[3] 测量旋转的鞭毛对光散射的频率直接估计自由游泳细菌的鞭毛丝的转速; 这种情况下马达处于低负载状态, 通

常转速很快 (100~ 300 Hz) 而力矩很小; 此时马达效率降低, 降至 5% 左右, 即输出功率远远小于输入功率, 并存在强烈的温度依赖性和较大的同位素溶剂效应。

不管是被拴系细胞还是游泳细胞, 与鞭毛旋转相耦合的跨膜 H^+ 流与马达转速的比率不随转速、PMF、温度或同位素的变化而变化, 而是保持恒定, 约为 $(1\ 240 \pm 240) H^+$ 每转。

近年来, 人们将电旋转 (electrorotation) 技术应用于大肠杆菌细胞, 外加力矩使其受迫旋转, 对马达的动力学特性又有了新的了解^[9]。将大肠杆菌细胞拴系并让其在系列不同场强的高频旋转电场中旋转, 比较最初和最终速度及对应的外加力矩, 产生相对力矩。在受迫反向旋转中, 马达力矩在速度接近零时急剧增加, 平均峰值为拖延力矩 (stall torque) 的 2.2 倍。在受迫正向旋转时, 马达力矩基本保持恒定, 直至达到零负载速度的 60%, 然后力矩随转速增加而线性降低, 越过零达到最小值, 平均约为拖延力矩的 -1.7 倍。零负载速度随温度升高而增大 (11℃ 时为 90 Hz, 16℃ 时为 140 Hz, 23℃ 时为 290 Hz)。游泳细胞的力矩在高转速时对温度的依赖性比被拴系细胞在低转速时对温度的依赖性急剧得多。

鞭毛马达旋转有三种独立的运行模式, 即 CCW、CW 和停顿。当细菌受外界物理、化学因素及胞内未知因素的作用时, 产生反应, 马达由 CCW (或 CW) 旋转经历停顿状态, 反向, 切换为 CW (或 CCW) 旋转, 导致细胞运动方向和速度发生改变。鞭毛马达的 CW/CCW 切换在细菌动力和趋化性中起着至关重要的作用。引起马达切换的因素很多, 大致分为三类: a. 化学因素, 包括趋化反应、胞内代谢物水平、胞内 pH 等; b. 物理因素, 包括温度、外力、PMF 等; c. 随机或自发因素。

4 鞭毛马达的力矩产生机制

在鞭毛马达的研究中, 人们最感兴趣的莫过于离子流动如何引起马达旋转。为此, 人们提出了许多模型来解释鞭毛马达力矩产生的机制, 各自的模型都在一定程度上与实验结果相符合并能预见一些结果。这些模型按照离子流动与机械旋转之间耦合的程度可分为紧密耦合型 (tightly coupled) 和松散耦合型 (loosely coupled); 按照力矩产生元件 (转子和定子) 之间的相互作用可分为接触型和非

接触型。

许多模型大致是上述 4 种类型的组合。到目前为止, 尚无足够的证据判断哪一种模型是正确的。由于 FliG 位于胞浆并直接参与力矩产生, 因而力矩产生位点更可能是在马达的胞浆面而不是脂质双层内。因此, 许多认为力矩产生位点位于胞膜内的模型可被排除。另外, 人们注意到, 鞭毛马达比 myosin 或 kinesin 快得多。鞭毛马达的频率可达 1 700 Hz, 而 kinesin 或 dynein 的频率的数量级为 100 Hz^[10]; 鞭毛马达的转速变化急剧, 可在 1 ms 内从高速 CCW 旋转到停止, 逆转方向, 然后高速 CW 旋转^[3]。因此, 不涉及变构性改变或蛋白质间紧密结合解离循环的机制, 比如基于 MotA 和 FliG 之间或定子-转子之间的静电作用模型^[11], 似乎更适合于快速旋转的鞭毛马达。

5 Na^+ 驱动的鞭毛马达

细菌的鞭毛马达大多数是 H^+ 驱动的马达, 但是, 也有一些细菌 (如嗜碱杆菌、弧菌等) 的鞭毛马达受 Na^+ 驱动。和 H^+ 马达相比, Na^+ 驱动的鞭毛马达具有一些独特的特性。在溶藻弧菌 (*Vibrio alginolyticus*) 中, K^+ , 甚至 Li^+ , 都可以取代 Na^+ 而驱动鞭毛旋转。通过激光暗视野显微镜观察到 Na^+ 马达转得非常快, 比 H^+ 马达快得多; 在室温及 50 mmol/L 的 NaCl 中溶藻弧菌的端鞭毛转速为 600 r/s, 在 35℃ 及 300 mmol/L NaCl 中转速升至约 1 700 r/s^[12]。

Na^+ 鞭毛马达或许与 H^+ 鞭毛马达有着相似的结构和功能, 但也有些有趣的差异。对 H^+ / Na^+ 鞭毛马达的结构以及 H^+ / Na^+ 流-力矩产生的耦合机制进行对比和研究将大大有助于认识细菌鞭毛马达的本质。

6 存在问题及展望

对细菌鞭毛马达的研究具有广泛的生物学意义。鞭毛马达是细菌趋化系统的效应器。Mot B 的 C 端和许多已知序列的脂蛋白和外膜蛋白的肽聚糖作用区域有同源性并在进化史的早期便相互关联^[13]; Mot A 与许多膜通道蛋白有相似之处。许多膜转运蛋白、外膜蛋白消耗 PMF 进行主动或被动转运^[14], 其 H^+ 流动-活性转运之间的耦合过程与鞭毛马达类似。细菌鞭毛马达是生物界中最早发现的分子旋转马达, 但并不是唯一的分子旋转马达。最近, 多项实验证实 F_0F_1 ATP 合成酶 (F_0 -

F₁ATP synthase) 也是一个分子旋转马达。另外, 在肌动蛋白-肌球蛋白 (actin-myosin) 或动 (力) 蛋白-微管 (kinesin [dynein] -microtubule) 系统中, 也有证据表明 ATP 水解引起肌动蛋白丝或微管的旋转^[15], 提示肌肉细胞的收缩和非肌细胞的胞内运动依赖于分子马达的旋转运动。此外, 所有的离子泵、呼吸链上的转氢酶 (transhydrogenase)、DNA 解旋酶 (DNA helicase) 等可能都与鞭毛马达和 ATP 合成酶有着相同的能量转换机制^[16, 17]。

有的鞭毛马达利用 Na⁺ (或 K⁺, Li⁺) 作为能量来源, 对 Na⁺ 鞭毛马达的研究使人们对 Na⁺ 生物能学有了新的认识。真核细胞中存在大量的 H⁺、Na⁺、K⁺ 以及 Ca²⁺ 泵或通道, 它们在膜转运 (symport, antiport)、膜兴奋性以及信号转导中发挥广泛的作用。似乎所有利用跨膜离子梯度或 ATP 水解而产生运动的过程都和旋转有关^[15, 16]。因此, 所有生物的能量转化利用和细胞运动的机制都可用分子旋转马达统一起来。和其他分子旋转马达相比, 鞭毛马达体积大, 易人工操作。对细菌鞭毛马达这一奇妙的分子机器的研究, 最终将有助于认识生物的能量转化和细胞运动这类生命基本问题。

参 考 文 献

- Manson M D, Tedesco P, Berg H C, *et al.* A protonmotive force drives bacterial flagella. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1977, **74** (7): 3060~ 3064
- Imae Y, Atsumi T. Na⁺-driven bacterial flagellar motors. *J Bioenerg Biomembr*, 1989, **21** (6): 705~ 716
- Kudo S, Magariyama Y, Aizawa S. Abrupt changes in flagellar rotation observed by laser dark-field microscopy. *Nature*, 1990, **346** (6285): 677~ 680
- Lloyd S A, Blair D F. Charged residues of the rotor protein FliG essential for torque generation in the flagellar motor of *Escherichia coli*. *J Mol Biol*, 1997, **266** (4): 733~ 744
- Khan I H, Rease T S, Khan S. The cytoplasmic component of the bacterial flagellar motor. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1992, **89** (13): 5959~ 5960
- Margolin Y, Barak R, Eisenbach M. Arsenate arrests flagellar rotation in cytoplasm-free envelopes of bacteria. *J Bacteriol*, 1994, **176** (17): 5547~ 5549
- Silverman M, Simon M. Flagellar rotation and the mechanism of bacterial motility. *Nature*, 1974, **249** (5452): 73~ 74
- lowe G, Meister M, Berg H C. Rapid rotation of flagellar bundles in swimming bacteria. *Nature*, 1987, **325** (6105): 637~ 640
- Berg H C, Turner L. Torque generated by the flagellar motor of *Escherichia coli*. *Biophys J*, 1993, **65** (5): 2201~ 2216
- DeRosier D J. The turn of the screw: the bacterial flagellar motor. *Cell*, 1998, **93** (4): 73~ 74
- Zhou J D, Lloyd S A, Blair D F. Electrostatic interactions between rotor and stator in the bacterial flagellar motor. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1998, **95** (11): 6436~ 6441
- Muramoto K, Kawagishi I, Kudo S, *et al.* High speed rotation and speed stability of the sodium-driven flagellar motor in *Vibrio alginolyticus*. *J Mol Biol*, 1995, **215** (1): 50~ 58
- Nguyen C C, Saier M H. Structural and phylogenetic analysis of the MotA and MotB families of bacterial flagellar motor proteins. *Res Microbiol*, 1996, **147** (5): 317~ 332
- Nikaido H. Multidrug efflux pumps of Gram-negative bacteria. *J Bacteriol*, 1996, **178** (20): 5853~ 5859
- Oplatka A. Are rotors at the heart of all biological motors? *Biochem Biophys Res Comm*, 1998, **246** (2): 301~ 306
- Hatefi Y, Yamaguchi M. Nicotinamide nucleotide transhydrogenase: a model for utilization of substrate binding energy for proton translocation. *FASEB J*, 1996, **10** (4): 444~ 452
- Doering C, Ermentrout B, Oster G. Rotary DNA motors. *Biophys J*, 1995, **69** (6): 2256~ 2267

Bacterial Flagellar Motor: A Splendid Molecular Motor. DENG Guo-Hong, XU Qi-Wang, LIU Jun-Kang, CONG Yan-Guang (*Biowave Research Center, Third Military Medical University, Chongqing 400038, China*).

Abstract Flagellar motor is a molecular rotary motor, it plays central role on the structures and functions of bacterial flagella. The structure of flagellar motor was clarified on the whole, its stator and rotor were composed of five proteins: Mot A, Mot B, FliG, FliM and FliN. The driving force comes from transmembrane H⁺ or Na⁺ flux. At present its rotary dynamics and torque-generating mechanisms were understood preliminarily. As a perfect research model for molecular rotary motor, the further study of flagellar motor would be very helpful for realizing the mechanisms of bioenergetic conversion and cell motility, thus its study is of widespread importance for biology.

Key words flagellar motor, proton-motive force, molecular rotary motor

本刊主页开通

《生物化学与生物物理进展》的交互式主页已在近期开通。该主页除提供本刊及主办单位的最新消息和相关内容外, 还将通过与有关网站的链结浏览期刊的全文。另外, 由本刊编辑部设计、建立的稿件管理数据库也将与此主页链接, 作者可通过我刊主页实时查询稿件的审处情况。主页网址为: <http://www.pibb.ac.cn>, 欢迎访问。

《生物化学与生物物理进展》编辑部