

细菌毒素-抗毒素系统的研究进展*

王晓蕾 赵龙旋 张俊杰**

(北京师范大学生命科学学院, 教育部细胞增殖及调控生物学重点实验室, 北京 100875)

摘要 毒素-抗毒素系统(toxin-antitoxin system, TA)由两个共表达的基因组成,其中一个基因编码不稳定的抗毒素蛋白(antitoxin),另一个基因编码稳定的毒素蛋白(toxin)。毒素-抗毒素系统最早发现于一些低拷贝的质粒,用来维持低拷贝质粒在菌群中的稳定存在。随后的研究表明,毒素-抗毒素系统广泛存在于细菌,包括一些致病菌的染色体上。在营养缺乏等不良生长条件下,由于基因表达的抑制和蛋白酶的降解作用,不稳定的抗毒素蛋白减少,从而产生游离的毒素蛋白,导致细菌的生长抑制和死亡。毒素-抗毒素系统的生理功能目前还存在争议,有学者认为细菌染色体上的毒素-抗毒素系统可以在不良生长状况下介导细菌的死亡,即细菌程序性细胞死亡(bacterial programmed cell death)。但也有证据显示,毒素-抗毒素系统的功能更偏向于应激状态下的生理调节方面,即只起应激状态下的抑菌作用而不是杀菌作用。对细菌生长调控中毒素-抗毒素系统的作用机理进行综述,并探讨毒素-抗毒素系统研究的理论和应用价值。

关键词 毒素-抗毒素系统, 细菌生长调控, 细菌程序性细胞死亡

学科分类号 Q71

大肠杆菌中的低拷贝质粒上存在一种特殊的毒素-抗毒素基因组合,来确保在细菌分裂后该质粒保留在子代细菌中。这一基因组合通常由两个部分重叠的基因组成,其中一个基因编码不稳定的抗毒素蛋白(antitoxin),另一个基因编码稳定的毒素蛋白(toxin)。两个蛋白质相互作用形成毒素-抗毒素复合物,从而抑制毒素蛋白对细菌的致死作用。当子代细菌中质粒丢失时,不稳定的抗毒素蛋白将迅速被蛋白酶分解,释放出来的毒素蛋白发挥作用,导致没有质粒的子代细菌死亡,这被称为分裂后致死效应(the post-segregation killing effect)。在这种情况下,子代细菌的生存依赖于抗毒素蛋白的合成,因此该基因组合被命名为沉溺模块(addiction module)。已发现的位于质粒上的毒素-抗毒素系统包括:质粒 F 上的 *cedAB*, 质粒 R100 上的 *pemIK*(在质粒 R1 上,又称 *kid-kis*),以及噬菌粒 P1 上的 *phd-doc* 等。随后的研究表明,毒素-抗毒素系统也存在于大肠杆菌的染色体上,包括 *mazEF*(又称 *chpA*), *chpB* 和 *relBE* 等,其中 *mazEF*, *chpB* 都与 *pemIK* 同源,而质粒 P307 上存在与

relBE 同源的基因组合^[1]。现在还难以判断染色体上的毒素-抗毒素系统是否来源于质粒等染色体外的遗传物质。

毒素-抗毒素系统不仅仅存在于大肠杆菌中,而且广泛地存在于其他原核生物。通过生物信息学的手段,在已测序的原核生物中发现了 671 个可能的毒素-抗毒素位点分布于 126 个物种,隶属于 7 个经典的毒素-抗毒素基因家族(表 1)^[2,3]。此外还有一个特殊的 ω - ϵ - ξ 家族,由 3 个基因组成。就同一个毒素-抗毒素基因家族而言,在不同细菌之间毒素蛋白基因比抗毒素蛋白基因更为保守。例如,*MazF* 同源蛋白间的同源性要明显高于 *MazE* 同源蛋白。

* 国家自然科学基金资助项目(30570409, 30770030), 北京市科技新星计划项目(2005B47)和教育部新世纪优秀人才支持计划项目。

** 通讯联系人。

Tel: 010-58802137, E-mail: jjzhang@bnu.edu.cn

收稿日期: 2008-01-14, 接受日期: 2008-03-18

Table 1 The toxin-antitoxin (TA) gene families and their distribution

表 1 毒素-抗毒素基因家族的组成和分布

TA 家族	毒素	毒素作用机理	抗毒素	降解抗毒素的蛋白酶	分布
<i>ccdAB</i>	CcdB	抑制 DNA 促旋酶	CcdA	Lon	革兰氏阴性菌
<i>relBE</i>	RelE	降解 mRNA	RelB	Lon	革兰氏阳 / 阴性, 古细菌
<i>parDE</i>	ParE	抑制 DNA 促旋酶	ParD	未知	革兰氏阳 / 阴性
<i>higBA</i>	HigB	未知	HigA	未知	革兰氏阳 / 阴性
MazEF	MazF/PemK	降解 mRNA	MazE/PemI	ClpXP/Lon	革兰氏阳 / 阴性
<i>phd/doc</i>	Doc	抑制翻译	Phd	ClpAP	革兰氏阳 / 阴性, 古细菌
<i>vapBC/vag</i>	VapC	未知	VapB	未知	革兰氏阳 / 阴性, 古细菌

在现已发现的毒素 - 抗毒素系统, 对 *ccdAB*, *relBE* 和 *mazEF* 这 3 个毒素 - 抗毒素基因家族的研究最为深入, 其中 3 个毒素蛋白 CcdB、RelE 和 MazF 的作用机理各有不同(图 1). 下面我们将对这 3 个毒素 - 抗毒素基因家族详细地逐一进行介绍.

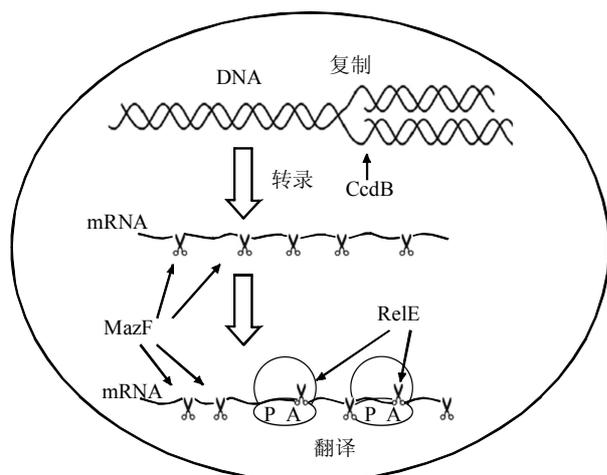


Fig. 1 Molecular mechanisms of the bacterial growth inhibition by toxin proteins of toxin-antitoxin systems

图 1 毒素-抗毒素系统中毒素蛋白抑制细菌生长的分子机理 如图所示毒素蛋白在细菌内的靶位各有不同. CcdB 通过抑制 DNA gyrase 来阻断 DNA 的复制; MazF 通过切割 mRNA 来阻断蛋白质的合成; RelE 进入核糖体 A 位点, 引发 mRNA 的切割, 从而引起细菌的生长抑制.

1 *ccdAB* 毒素-抗毒素系统

ccdAB (coupled cell division, *ccd*) 位于 *E. coli* F 因子上, 通过分裂后致死效应参与维持 F 因子在菌群中的稳定存在. *CcdAB* 毒素 - 抗毒素系统由 *ccdA* 和 *ccdB* 这两个相互重叠、共表达的基因组成, 分别编码抗毒素蛋白 CcdA 和毒素蛋白

CcdB. CcdA 不稳定, 易于被蛋白酶 Lon 降解^[4]. CcdA 通过 C 端 41 个氨基酸的多肽与 CcdB 相互作用, 形成 CcdA-CcdB 复合物, 从而抑制 CcdB 对 *E. coli* 的毒性, CcdA-CcdB 复合物还对 *ccd* 操纵子的转录有负调控作用^[5]. *ccdAB* 系统分布较少, 目前仅发现 5 个位点, 并且都分布在革兰氏阴性菌中^[3].

在没有 CcdA 存在时, CcdB 能够与 DNA 促旋酶的催化亚基 GyrA 的 N 端结构域相互作用形成复合物, 即 GyrA 是 CcdB 在细胞内的靶蛋白^[6]. 人们已经测定了 CcdB 的晶体结构, 并发现 CcdB 以二聚体的形式存在^[7]. 根据已知的 59 ku GyrA N 端片段的结构, CcdB 二聚体可能结合在两个 GyrA N 端形成的中央空洞处, 从而破坏 GyrA 二聚体头部的表面结构. 对 CcdB 作用机理的研究表明, CcdB 的毒性主要表现在两个方面: 首先, CcdB 与 GyrA 亚基的结合直接抑制了 DNA 促旋酶的活性, 其次, CcdB 能够稳定 DNA 促旋酶和 DNA 之间形成的共价键, 从而阻断 RNA 聚合酶的转录作用^[8].

2 *relBE* 毒素-抗毒素系统

1999 年 Gronlund 和 Gerdes^[9]发现 *E. coli* 染色体上的 *relBE* 操纵子具有毒素 - 抗毒素系统的特性. 该操纵子中的 *relB* 和 *relE* 基因分别编码不稳定的抗毒素蛋白 RelB 和毒素蛋白 RelE. 在氨基酸缺乏时, *relBE* 操纵子的转录被迅速地诱导, 但是该诱导作用的发生并不依赖于 *relA* 和 *spoT* 基因(编码 ppGpp 合成酶). 蛋白酶 Lon 可以很快地降解 RelB, RelE 毒性的激活则依赖于蛋白酶 Lon 对 RelB 的降解. *relBE* 的同源基因存在于许多革兰氏阳性和阴性的细菌, 甚至是古生菌的染色体上. 因此, *E. coli* 的 *relBE* 基因及其同源基因组成了一个原核生物中保守的基因家族.

在体外蛋白质合成系统中加入 RelE, 蛋白质的体外合成被抑制, 若同时加入 RelB, 蛋白质合成将得以恢复^[10]. 进一步的研究表明, 蛋白质合成抑制的原因是当 RelE 存在时, 引发 mRNA 在核糖体 A 位点切割, 切割发生在 A 位点处密码子的第二和第三个核苷酸之间. RelE 只有在核糖体存在的情况下才有 mRNA 切割活性, 加入能够与核糖体 A 位点紧密结合的释放因子 1(RF1)后, RelE 介导的体外 mRNA 切割反应明显降低. 并且这种切割具有遗传密码特异性, 它优先切割终止密码子(UAG > UAA > UGA), 也可以切割 UCG(Ser)和 CAG(Gln)^[11].

Takagi 等^[12]对嗜热古细菌 *Pyrococcus horikochi* OT3 中 RelB 和 RelE 同源蛋白的结构研究表明, RelB-RelE 复合物以 (RelE-RelB)₂ 四聚体的形式存在, 其中 RelE 的空间结构与 EF-G 中结合核糖体 A 位点的 decoding domain 相似. 因此, 他们认为抗毒素 RelB 和 RelE 结合形成 RelB-RelE 复合物可以增大空间体积, 从而阻止 RelE 进入结合核糖体 A 位点发挥 mRNA 切割的作用. 对于 RelE 的作用机理也存在另一种学说. Hayes 和 Sauer^[13]在研究中发现, 当核糖体因终止密码的出现而停顿时, mRNA 会被在核糖体 A 位点切割, 而且这种切割作用并不依赖于 RelE 的存在. 因此, 他们认为, 核糖体自身可能具备某种 mRNA 切割能力, RelE 与核糖体 A 位点的结合可以促进这种 mRNA 切割反应.

3 *mazEF* 毒素-抗毒素系统

mazEF 是在原核染色体发现的第一个毒素-抗毒素系统. 它由两个相互重叠的基因 *mazE* 和 *mazF* 组成. *MazEF* 操纵子位于 *relA* 基因下游. MazF 是稳定的毒素蛋白, 而 MazE 是不稳定的抗毒素蛋白. MazE 在体内易于被 ATP 依赖的丝氨酸蛋白酶 ClpPA 降解^[14]. MazE 和 MazF 共表达, 并且相互作用形成 MazE-MazF 复合物. 对 MazE-MazF 复合物的晶体结构分析表明, 两个 MazF 二聚体分别与从 MazE 二聚体中延伸出的两个 MazE 的 C 端结合在一起, 形成 (MazF)₂-(MazE)₂-(MazF)₂ 的六聚体复合物^[15]. MazE 和 MazE-MazF 复合物都可以与 *mazEF* 基因的启动子结合, 来自我调控 *MazEF* 操纵子的表达^[16]. 在氨基酸严重缺乏时, RelA 蛋白将合成 ppGpp. ppGpp 对 *MazEF* 操纵子的表达具有抑制作用. 此时, 不稳定的抗毒素蛋白 MazE 被

蛋白酶迅速降解, 从而产生游离的毒素蛋白 MazF, 抑制细胞生长. 因此, *mazEF* 系统被认为是一种细菌在不良生长条件下的自发性调节机制^[14].

与 RelE 相似, MazF 阻断体外蛋白质合成系统中蛋白质的合成, 抗毒素蛋白 MazE 的加入可以使蛋白质合成恢复. 进一步的研究中, 发现 MazF 是一个序列特异的核糖核酸内切酶. 无论在体外还是体内, MazF 的切割位点都具有 ACA 这样一个共同的三碱基序列. 此外, MazF 只剪切单链 RNA, RNA-RNA 双链的形成可以保护 RNA 中 MazF 的切点. MazE 可以抑制 MazF 的核酸内切酶活性, 从而保护 mRNA, 恢复蛋白质的合成, 消除 MazF 的毒性^[17].

在结构上, MazF 与 CcdB 家族有很强的相似性, 但是在作用方式上, CcdB 与 DNA 促旋酶发生相互作用, 抑制 DNA 的复制, 而 MazF 家族则通过切割 mRNA 来抑制蛋白质的合成. MazF 与 RelE 间也存在区别, 主要表现在: a. MazF 自身具有核酸内切酶的活性, 对 mRNA 的切割不依赖于核糖体; b. MazF 对 RNA 的切割具有序列特异性, 而不是密码子特异性. 体内 mRNA 上被 MazF 切割的 ACA 序列可以是密码子, 也可以不在阅读框内^[17].

pemIK 是质粒 R100 上的一个毒素-抗毒素系统. *pemI* 和 *pemK* 基因分别与 *mazE* 和 *mazF* 基因同源, 编码抗毒素蛋白 PemI 和毒素蛋白 PemK^[18]. 质粒 R1 上有一个与 *pemIK* 相同的沉溺模块 *kis-kid*, 编码抗毒素蛋白 Kis 和毒素蛋白 Kid^[19]. *pemIK* 和 *kis-kid* 两个系统可以通过分裂后致死效应(the post-segregation killing effect)在菌群中维持质粒 R100 和 R1 的稳定. 长期以来, 毒素蛋白 PemK/Kid 被认为是通过作用于 DnaB 来阻断 DNA 复制, 引起细菌的死亡. 我们的研究表明, 作为 MazF 的同源蛋白, PemK/Kid 也是一个序列特异的核糖核酸内切酶. 与 MazF 类似, PemK/Kid 只作用于单链 RNA, 但是具有不同于 MazF 的序列特异性. PemK/Kid 对 RNA 的切割发生在 UAH(H 是 A, U 或 C), 其中 80%发生在 UAC 序列, 而切点可以在 A 前或者 A 后^[20]. 与 *mazEF* 同源的基因组合, 特别是 *mazF* 同源基因广泛存在于原核生物的基因组中(图 2). MazF 及其同源蛋白组成了一个新的序列特异性的核糖核酸内切酶家族, 通过切割 mRNA 阻断原核生物蛋白质的合成来抑制细菌的生长, 参与细菌的生长调控. 我们将这一新的核糖

核酸内切酶家族命名为 mRNA Interferase^[20].

最新的研究发现, mRNA Interferase 介导的程序性细胞死亡在细菌的发育过程中发挥重要的作用. 营养缺乏时, *Myxococcus xanthu* 发生多细胞发育过程, 80%左右的细菌发生利他性的细胞裂解, 剩余细菌最终形成子实体(fruiting body), 而 *mazF-mx*(*Myxococcus xanthu* 基因组中唯一的一个 *mazF* 同源基因)的缺失则会导致该细胞裂解过程不能完成, 从而使得孢子的形成显著降低. *Myxococcus xanthu* 基因组中没有与 *mazF-mx* 共表达的抗毒素基因, *mazF-mx* 的转录受发育调节因子

MrpC 的调控: 正常条件下, 未磷酸化的 MrpC 与 MazF-mx 结合形成复合物, 而多余的 MrpC 蛋白则被 Pkn14 磷酸化, 磷酸化 MrpC 不再激活 *mazF-mx* 和 *mazF-mx* 基因的表达; 营养缺乏时, MrpC 被蛋白酶水解, MazF-mx 游离出来发挥 RNA 切割活性, 特异性切割 RNA 的 GUUGC 序列, 诱使菌群发生选择性细胞裂解过程^[21]. 这些结果表明, *Myxococcus xanthu* 中存在一条在蛋白激酶调控下的、MrpC 与 MazF-mx 共同参与的程序性细胞死亡途径, 而 MazF-mx 如何选择性地在一部分细胞中发挥作用还有待进一步的研究.

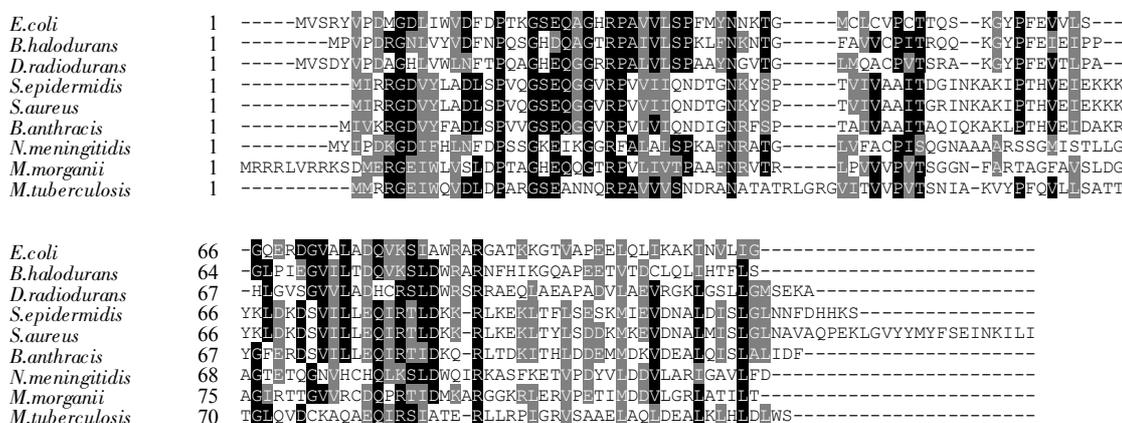


Fig. 2 Alignment of the amino acid sequences of *E. coli* MazF and the MazF homologues in other bacteria

图2 *E. coli* MazF 及其他细菌中 MazF 同源蛋白的氨基酸序列比较

4 致病菌中的毒素-抗毒素系统

最近的研究表明, 毒素 - 抗毒素系统存在于许多致病菌的染色体上. 炭疽杆菌(*Bacillus anthracis*)中发现的第一个染色体上的沉溺模块与 *pemIK* 同源^[22]. 肺炎链球菌(*Streptococcus pneumoniae*)染色体上的 PezAT 系统中, 毒素蛋白 PezT 与 ω - ϵ - ξ 系统中的 ξ 毒素蛋白同源, PezT 的毒性依赖于一个保守的磷酸基转移酶活性位点和 ATP/GTP 结合位点^[23]. 霍乱弧菌(*Vibrio cholerae*)仅 2 号染色体的超级整合子(superintegron)就存在 13 个可能的毒素 - 抗毒素, 其中已经鉴定出的一个毒素 - 抗毒素系统 *higBA* 与绝大多数毒素 - 抗毒素系统不同, 在 *higBA* 系统中编码毒素的基因位于抗毒素基因的上游^[24]. VapBC 是非分型流感嗜血杆菌(*Nontypeable Haemophilus influenzae*, *NTHi*)染色体上的毒素 - 抗毒素系统, 其中的毒素蛋白 VapC 被证实具有核糖

核酸内切酶的活性^[25]. YefM-YefB 毒素 - 抗毒素系统在金黄色葡萄球菌(*Staphylococcus aureus*)、肺炎链球菌(*Streptococcus pneumoniae*)和结核分枝杆菌(*Mycobacterium tuberculosis*)等致病菌中广泛存在^[26]. 抗万古霉素肠球菌 VRE (*Vancomycin-resistant enterococci*)对大多数种类的抗生素都具有抗性, 感染后治疗十分困难. 近期研究表明, 在 75 种 VRE 分离菌群中无一例外地发现了 *mazEF* 系统, 并且能够在肠球菌中发挥一定的功能, 因此, 药物扰乱 *mazEF* 成为了治疗这种抗菌群的新思路^[27].

对结核分枝杆菌的基因组进行分析, 发现结核分枝杆菌 H37Rv 菌株染色体上有 38 个毒素 - 抗毒素系统, CDC1551 菌株染色体上有 36 个毒素 - 抗毒素系统^[9]. 序列同源性分析表明, 结核杆菌基因组中至少有 7 个基因编码 MazF 的同源蛋白, 其中 4 个(Rv2801c, Rv1991c, Rv0659c 和 Rv1102c)在大肠杆菌中诱导表达时均对细菌生长有抑制作用.

Rv2801c 和 Rv1102c 经鉴定被认为是序列特异的 mRNA Interferase, Rv2801c 能够特异性识别 UAC 序列, 在 U 和 A 之间完成切割, 而 Rv1102c 则对 U 富集区比较敏感^[28]. 最近, Carroll 等^[29]报道 Rv1991c 与其上游相邻的一个开放读框构成毒素-抗毒素系统. 这些 mRNA Interferase 及其构成的毒素-抗毒素系统, 可能在结核分枝杆菌滞留状态的形成中发挥重要的作用, 但其具体机制有待进一步的研究.

5 毒素-抗毒素系统的功能

前面我们已经提到, 细菌中低拷贝质粒上的毒素-抗毒素系统通过分裂后致死效应 (the post-segregation killing effect) 来维持低拷贝质粒在菌群中的稳定存在. 而对于细菌染色体上的毒素-抗毒素系统的生理功能, 科学界当前存在不同的观点.

Engelberg-Kulka 等提出 TA 系统能够介导细菌的程序性细胞死亡 (bacterial programmed cell death). 他们的研究表明, 在不良条件下, 毒素 MazF 释放并降解 mRNA, 到达一个不可逆的临界点时, 细菌就会启动由 MazF 介导的不可逆的死亡程序, 此时即使有抗毒素表达也无法挽救, 在实验上表现为细菌形成菌落的数量大大降低. 但是, 我们很难理解单细胞生物如何从细胞自杀中获得好处. 该理论的支持者们认为, 部分细胞的死亡释放或保存了营养物质, 以使得其他的细胞存活下来, 也就是所说的“利他自杀”. 基于这一理论, 这种细胞的自杀机制只有在一个细胞高密度状态才会启动. 他们进一步的研究也在努力证明这一点. 近期的研究结果首先确定了 MazF 介导细菌的细胞死亡过程的确存在密度依赖机制, 并且认为在这个过程中需要一种密度感应分子, 被称为 EDF (extracellular death factor). 结构分析表明, EDF 是一个线性五肽 Asn-Asn-Trp-Asn-Asn, 这 5 个氨基酸对 EDF 的活性均具有重要的作用^[30].

Gerdes 等^[2]则认为 TA 系统的作用是介导一种应对不良环境的调节机制. 在营养缺乏尤其是氨基酸缺乏的情况下, 毒素蛋白使已合成的 mRNA 迅速降解, 降低了蛋白质的合成速率, 这有利于节约能量和营养. 其次清除已产生的 mRNA 使核糖体的蛋白质合成过程重新调整, 以适应新的环境, 不翻译那些不再有用的信息. 这一假说得到很多实验和系统发生学证据的支持. 例如, TA 系统广泛分布于自由生活的物种中, 但在严格的胞内寄生物种

中却极少分布. 这可以解释为胞内寄生的物种长期生存于稳定的营养丰富的环境中, 因此无法从 TA 系统中受益, 在进化过程中逐渐丢失这些基因.

最近, Melderen 等^[31]发现大型的 SI (superintegron) 结构中存在许多 TA 位点. 染色体编码的 TA 系统被认为能够稳定大型的 SI 结构, 从而限制大规模基因丢失. 此外, 有研究认为, 毒素-抗毒素系统是噬菌体感染的一种防范机制, 即噬菌体的感染可以干扰宿主菌的转录和翻译, 激活毒素-抗毒素系统, 毒素-抗毒素系统则反过来抑制噬菌体的生成, 避免噬菌体感染的扩散^[32].

6 毒素-抗毒素系统的应用价值

作为一个新的序列特异性核糖核酸内切酶家族, MazF 蛋白家族, 即 mRNA interferase 的成员所具备的一些特性决定了它们可以被应用于生物技术领域, 来研发出新的生物技术方法. 以 MazF 为例, MazF 通过切割 mRNA 来抑制细菌中蛋白质的合成, 对 tRNA 和核糖体的功能则没有显著的影响, 而且 MazF 对 mRNA 的切割具有 ACA 序列特异性. 通过人工合成编码目的蛋白的不含 ACA 序列的基因, 利用 MazF 来清除 *E. coli* 中细菌蛋白的表达, 而不含 ACA 序列的目的基因可以诱导表达 96 h, 从而构建了目的蛋白的单一表达系统^[33, 34]. 利用不同毒素蛋白的切割特异性序列的差异, 可以将其应用范围不断进行扩展. 这一系统的进一步完善将为基因工程和蛋白质的结构和功能研究提供新的手段和思路.

de la Cueva-Mendez 等^[35]发现, *kis-kid* 抗毒素-毒素系统不仅在细菌的程序性细胞死亡中发挥作用, 而且在真核细胞中同样有效. 毒素蛋白 Kid 的诱导表达能够引起真核细胞的凋亡, 抗毒素蛋白 Kis 则抑制这种细胞凋亡的发生. Shimazu 等^[36]对 *mazEF* 系统的研究也发现了类似的现象, 并阐明了一条新的凋亡通路: *mazF* 抑制蛋白质合成, 激活了 BH3-only 亚家族中的 NBK/BIK 蛋白, NBK/BIK 蛋白通过与抗凋亡蛋白 MCL-1 和 BCL-XL 相拮抗来激活 BAK, 从而诱发凋亡. NBK/BIK 或 BAK 缺失的细胞可以耐受 MazF 诱导的凋亡, 抗毒素 MazE 的表达则能够完全抑制 MazF 诱导的凋亡. 因此, 抗毒素-毒素系统中的毒素蛋白可以被用来清除目的细胞, 同时抗毒素蛋白则可以保护其他细胞, 这就使得毒素蛋白引起的细胞凋亡具有选择性. 这种选择性细胞杀伤系统已

经被运用于科研工作^[37], 同时, 其潜在的价值也具有很好的应用前景, 如果将这一具有选择性的可调控系统应用于基因治疗, 则有可能选择性地清除如肿瘤细胞或感染病毒的细胞等, 具体应用有待进一步开发.

在结核分枝杆菌、金黄色葡萄球菌和炭疽芽孢杆菌等致病菌中, 均存在与 *E. coli mazF* 同源的“自杀基因”. 氨基酸序列的同源性分析表明, 这些基因的产物都属于 mRNA interferase 家族. 这些基因中, 有些与其上游相邻的基因组成毒素 - 抗毒素系统, 有些则没有发现与之相邻的抗毒素基因. 因此, 它们的表达调控可能与 *E. coli* 有所不同. 在将来的研究工作中, 对致病菌中毒素 - 抗毒素系统的基础理论研究有待进一步深入和完善. 由于细菌的抗药性日益严重, 阐明致病菌中毒素 - 抗毒素系统的作用机理和生理功能, 同时利用细菌内源的自杀基因产物的性质, 将有助于研发防控致病菌的新策略.

参 考 文 献

- Engelberg-Kulka H, Glaser G. Addiction modules and programmed cell death and antideath in bacterial cultures. *Annu Rev Microbiol*, 1999, **53**: 43~70
- Pandey D P, Gerdes K. Toxin-antitoxin loci are highly abundant in free-living but lost from host-associated prokaryotes. *Nucleic Acids Res*, 2005, **33**(3): 966~976
- Gerdes K, Christensen S K, Lobner-Olesen A, *et al.* Prokaryotic toxin-antitoxin stress response loci. *Nat Rev Microbiol*, 2005, **3**(5): 371~382
- Van Melderen L, Thi M H, Lecchi P, *et al.* ATP-dependent degradation of CcdA by Lon protease. Effects of secondary structure and heterologous subunit interactions. *J Biol Chem*, 1996, **271**(44): 27730~27738
- Bernard P, Couturier M. The 41 carboxy-terminal residues of the miniF plasmid CcdA protein are sufficient to antagonize the killer activity of the CcdB protein. *Mol Gen Genet*, 1991, **226**(1~2): 297~304
- Kampranis S C, Howells A J, Maxwell A. The interaction of DNA gyrase with the bacterial toxin CcdB: evidence for the existence of two gyrase-CcdB complexes. *J Mol Biol*, 1999, **293**(3): 733~744
- Loris R, Dao-Thi M H, Bahassi E M, *et al.* Crystal structure of CcdB, a topoisomerase poison from *E. coli*. *J Mol Biol*, 1999, **285**(4): 1667~1677
- Critchlow S E, O'Dea M H, Howells A J, *et al.* The interaction of the F plasmid killer protein, CcdB, with DNA gyrase: induction of DNA cleavage and blocking of transcription. *J Mol Biol*, 1997, **273**(4): 826~839
- Gronlund H, Gerdes K. Toxin-antitoxin systems homologous with relBE of *Escherichia coli* plasmid P307 are ubiquitous in prokaryotes. *J Mol Biol*, 1999, **285**(4): 1401~1415
- Christensen S K, Mikkelsen M, Pedersen K, *et al.* RelE, a global inhibitor of translation, is activated during nutritional stress. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2001, **98**(25): 14328~14333
- Pedersen K, Zavialov A V, Pavlov M Y, *et al.* The bacterial toxin RelE displays codon-specific cleavage of mRNAs in the ribosomal A site. *Cell*, 2003, **112**(1): 131~140
- Takagi H, Kakuta Y, Okada T, *et al.* Crystal structure of archaeal toxin-antitoxin RelE-RelB complex with implications for toxin activity and antitoxin effects. *Nat Struct Mol Biol*, 2005, **12**(4): 327~331
- Hayes C S, Sauer R T. Cleavage of the A site mRNA codon during ribosome pausing provides a mechanism for translational quality control. *Mol Cell*, 2003, **12**(4): 903~911
- Aizenman E, Engelberg-Kulka H, Glaser G. An *Escherichia coli* chromosomal "addiction module" regulated by guanosine [corrected] 3', 5'-bispyrophosphate: a model for programmed bacterial cell death. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1996, **93**(12): 6059~6063
- Kamada K, Hanaoka F, Burley S K. Crystal structure of the MazE/MazF complex: molecular bases of antidote-toxin recognition. *Mol Cell*, 2003, **11**(4): 875~884
- Zhang J, Zhang Y, Inouye M. Characterization of the interactions within the mazEF addiction module of *Escherichia coli*. *J Biol Chem*, 2003, **278**(34): 32300~32306
- Zhang Y, Zhang J, Hoeflich K P, *et al.* MazF cleaves cellular mRNAs specifically at ACA to block protein synthesis in *Escherichia coli*. *Mol Cell*, 2003, **12**(4): 913~923
- Tsuchimoto S, Nishimura Y, Ohtsubo E. The stable maintenance system pem of plasmid R100: degradation of PemI protein may allow PemK protein to inhibit cell growth. *J Bacteriol*, 1992, **174**(13): 4205~4211
- Ruiz-Echevarria M J, Berzal-Herranz A, Gerdes K, *et al.* The kis and kid genes of the parD maintenance system of plasmid R1 form an operon that is autoregulated at the level of transcription by the co-ordinated action of the Kis and Kid proteins. *Mol Microbiol*, 1991, **5**(11): 2685~2693
- Zhang J, Zhang Y, Zhu L, *et al.* Interference of mRNA function by sequence-specific endoribonuclease PemK. *J Biol Chem*, 2004, **279**(20): 20678~20684
- Nariya H, Inouye M. MazF, an mRNA interferase, mediated programmed cell death during multicellular *Myxococcus* development. *Cell*, 2008, **132**(1): 55~66
- Agarwal S, Bhatnagar R. Identification and characterization of a novel toxin-antitoxin module from *Bacillus anthracis*. *FEBS Lett*, 2007, **581**(9): 1727~1734
- Khoo S K, Loll B, Chan W T, *et al.* Molecular and structural characterization of the PezAT chromosomal toxin-antitoxin system of the human pathogen *Streptococcus pneumoniae*. *J Biol Chem*, 2007, **282**(27): 19606~19618
- Budde P P, Davis B M, Yuan J, *et al.* Characterization of a higBA toxin-antitoxin locus in *Vibrio cholerae*. *J Bacteriol*, 2007, **189**(2): 491~500

- 25 Daines D A, Wu M H, Yuan S Y. VapC-1 of nontypeable *Nontypeable Haemophilus influenzae* is a ribonuclease. *J Bacteriol*, 2007, **189**(14): 5041~5048
- 26 Cherny I, Gazit E. The YefM antitoxin defines a family of natively unfolded proteins: implications as a novel antibacterial target. *J Biol Chem*, 2004, **279**(9): 8252~8261
- 27 Moritz E M, Hergenrother P J. Toxin-antitoxin systems are ubiquitous and plasmid-encoded in *vancomycin-resistant enterococci*. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2007, **104**(1): 311~316
- 28 Zhu L, Zhang Y, The J S, *et al.* Characterization of mRNA interferases from *Mycobacterium tuberculosis*. *J Biol Chem*, 2006, **281**(27): 18638~18643
- 29 Carroll P, Brown A C, Hartridge A R, *et al.* Expression of *Mycobacterium tuberculosis* Rv1991c using an arabinose-inducible promoter demonstrates its role as a toxin. *FEMS Microbiol Lett*, 2007, **274**(1): 73~82
- 30 Kolodkin-Gal I, Hazan R, Gaathon A, *et al.* A linear pentapeptide is a quorum-sensing factor required for mazEF-mediated cell death in *Escherichia coli*. *Science*, 2007, **318**(5850): 652~655
- 31 Szekeres S, Dauti M, Wilde C, *et al.* Chromosomal toxin-antitoxin loci can diminish large-scale genome reductions in the absence of selection. *Mol Microbiol*, 2007, **63**(6): 1588~1605
- 32 Hazan R, Engelberg-Kulka H. *Escherichia coli* mazEF-mediated cell death as a defense mechanism that inhibits the spread of phage P1. *Mol Genet Genomics*, 2004, **272**(2): 227~234
- 33 Suzuki M, Mao L, Inouye M. Single protein production (SPP) system in *Escherichia coli*. *Nat Protoc*, 2007, **2**(7): 1802~1810
- 34 Suzuki M, Zhang J, Liu M, *et al.* Single protein production in living cells facilitated by an mRNA interferase. *Mol Cell*, 2005, **18**(2): 253~261
- 35 de la Cueva-Mendez G, Mills A D, Clay-Farrace L, *et al.* Regulatable killing of eukaryotic cells by the prokaryotic proteins Kid and Kis. *Embo J*, 2003, **22**(2): 246~251
- 36 Shimazu T, Degenhardt K, Nur E Kamal A, *et al.* NBK/BIK antagonizes MCL-1 and BCL-XL and activates BAK-mediated apoptosis in response to protein synthesis inhibition. *Genes Dev*, 2007, **21**(8): 929~941
- 37 Slanchev K, Stebler J, de la Cueva-Mendez G, *et al.* Development without germ cells: the role of the germ line in zebrafish sex differentiation. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2005, **102**(11): 4074~4079

Progress in The Study of Bacterial Toxin-antitoxin System*

WANG Xiao-Lei, ZHAO Long-Xuan, ZHANG Jun-Jie**

(The Key Laboratory for Cell Proliferation and Regulation Biology of Ministry of Education, Institute of Cell Biology, College of Life Sciences, Beijing Normal University, Beijing 100875, China)

Abstract The toxin-antitoxin (TA) system consists of a pair of co-expressed genes. The upstream gene encodes an unstable antitoxin protein, and the downstream gene encodes a stable toxin. The toxin-antitoxin system was originally found on the low-copy plasmid to maintenance the plasmid stability. Recently the TA loci have been widely identified on the chromosomes of bacteria, including the some pathogens. The TA systems play an important role in the bacterial growth control or the bacterial programmed cell death under starvation and other stress conditions. The toxin in different TA system has different cellular targets. CcdB toxin in the *ccdAB* system interacts with the catalytic GyrA subunit of gyrase to inhibit the DNA replication. RelE toxin in the *relBE* system assists the RNA cleavage at the ribosome A site with a high coden specificity. PemK toxin in the *pemIK* system and MazF toxin in the *mazEF* system are identified as endoribonucleases, which cleave the cellular mRNA in a sequence-specific manner to interfere with mRNA function and inhibit the protein synthesis. This review summarizes the mechanism of the toxin in TA system and evaluates the applications of TA system in the future.

Key words toxin-antitoxin system, bacterial growth control, bacterial programmed cell death

*This work was supported by grants from The National Nature Science Foundation of China (30570409, 30770030), The Beijing NOVA Program (2005B47) and The New Century Supporting Programs for The Distinguished Scholar of The Ministry of Education, China.

**Corresponding author.

Tel: 86-10-58802137, E-mail: jjzhang@bnu.edu.cn

Received: January 14, 2008 Accepted: March 18, 2008