

微生物学报 *Acta Microbiologica Sinica*  
50(10):1281–1287; 4 October 2010  
ISSN 0001–6209; CN 11–1995/Q  
<http://journals.im.ac.cn/actamicrocn>

## 细菌 ClpX 蛋白酶的结构和功能

王琳, 谢建平\*

(西南大学生命科学学院, 现代生物医药研究所, 重庆 400715)

**摘要:** ClpX 是热休克蛋白 Hsp100 蛋白家族的成员之一, 在生物体中非常保守。Hsp100/ Clp 分子伴侣家族功能主要涉及到细胞对环境的压力耐受、胞内蛋白质的周转、DNA 复制和基因表达等。结核分枝杆菌所导致的结核病仍然是全球人类健康的主要威胁。致病菌中的 ClpX 蛋白酶在基因的表达调控、致病性以及宿主免疫压力耐受中都具有非常重要的功能。本文总结了 ClpX 蛋白酶的结构、底物以及所调控的基因; 分析了结核分枝杆菌 ClpX 蛋白酶的进化特征, 并探讨了结核分枝杆菌 ClpX 蛋白酶可能的生理功能和在致病性中的重要作用。

**关键词:** ClpX 蛋白酶; 表达调控; 致病性; 结核分枝杆菌

**中图分类号:** Q814      **文献标识码:** A      **文章编号:** 0001-6209 (2010) 10-1281-07

蛋白质的降解对于生物体的存活、繁殖和发挥正常功能非常重要。蛋白质降解系统控制着生物体内的生理进程, 调节着细胞对外界环境的适应。蛋白降解是一个精密调控的动态过程。降解底物的选择与生物体内营养物质和外界环境压力的变化密切相关。对致病菌而言, 蛋白降解系统与宿主免疫应答紧密联系。结核分枝杆菌导致的结核病每年死亡两百多万人。结核分枝杆菌是一种严格而成功的胞内致病菌, 在宿主的免疫细胞, 主要是巨噬细胞内存活并复制。蛋白酶一直被认为是致病微生物的重要毒力因子。比较基因组学研究发现结核分枝杆菌主要有 16 大类蛋白酶<sup>[1]</sup>, 其中许多成员都与结核分枝杆菌的致病性和在单核细胞、巨噬细胞中的滞留性相关。

Clp 蛋白酶最初发现于大肠杆菌<sup>[2]</sup>。随后的研究发现 Clp 蛋白酶家族广泛分布于原核生物和真核

生物中(表 1)。Clp 蛋白酶是由多个 Clp 蛋白组成的复合体。根据结构和功能的不同, 大多数 Clp 蛋白可分为两大类: ClpP 蛋白家族和 Hsp100/ Clp 分子伴侣家族。Clp 蛋白酶通常是由这两类蛋白家族的成员组成的。ClpP 蛋白家族成员可组成 Clp 蛋白酶的催化亚基; Hsp100/ Clp 分子伴侣家族成员组成 Clp 蛋白酶的调节亚基。细菌胞内蛋白的水解由 4 种依赖 ATP 的蛋白酶执行, 分别是 ClpXP, HslUV, FtsH 和 Lon 家族。结核分枝杆菌未发现 HslUV 和 Lon 蛋白家族<sup>[3]</sup>, 因此 ClpXP 蛋白酶在结核分枝杆菌中的功能相对更加重要。ClpX 是 ClpXP 丝氨酸蛋白酶的 ATP 酶亚基, 是致病所需的因子<sup>[4-5]</sup>。结核分枝杆菌缺失 ClpA 蛋白, ClpX 是 ClpXP 蛋白行使完整活性所必需的、唯一的 ATP 酶亚基, 这又更进一步证实了 ClpX 蛋白酶的重要性。

**基金项目:** 国家重要传染病科技重大专项资助(2008ZX10003-001, 2008ZX10003-006); 国家自然科学基金——化学小分子与信号传递重大研究计划项目资助(90813019); 中央高校基本科研业务费专项资金(XDJK2009A003)

\* 通信作者。Tel: +86-23-68367108; Fax: +86-23-68252365; E-mail: georgex@swu.edu.cn; jianpingxie@vip.sina.com

**作者简介:** 王琳(1985–), 女, 重庆巴南人, 硕士研究生, 微生物与生化药学。E-mail: sonya85@swu.edu.cn

**收稿日期:** 2010-04-06; **修回日期:** 2010-05-02

表 1 Clp 蛋白家族成员的分布  
Table 1 Distribution of Clp Family

Distribution	I							II	III		
	ClpX	ClpA	ClpY	ClpB	ClpD	ClpC	ClpE	ClpS	ClpP	ClpQ	ClpR
bacterium <i>E. coli</i>	+	+	+	+					+	+	
<i>MTB</i>	+			+		+	+		+		
eukaryote <i>A. thaliana</i>	+			+	+	+		+	+		+
<i>mammalian</i>	+			+					+		

The result is procured by online Blast (<http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>). *E. coli*; *Escherichia coli*; *MTB*; *Mycobacterium tuberculosis*; *A. thaliana*; *Arabidopsis thaliana*.

1 ClpX 蛋白酶的结构

ClpX 热休克蛋白是普遍保守的 Hsp100 蛋白家族的成员之一,该家族在结构上有一定的相似性。*clpX* 基因编码 ClpX 单体蛋白,每个单体都包含 1 个家族特异的 N 端功能域、AAA + 功能域和 1 个 C 端功能域<sup>[6]</sup>。ClpX 蛋白酶单体都为 420 个氨基酸左右,含有以下几个关键结构:1、锌指结构,2、ATP 结合区域(GXXGXGK 基序),3、ClpP 蛋白结合区(RXXXXXXXXGF 基序)。大肠杆菌的锌指结构位于 N 端功能域,形成一个二聚体结构,并与 Zn<sup>2+</sup> 结合,该结构是降解一些 ClpX 底物必需的<sup>[7]</sup>。每六个 ClpX 蛋白单体形成一个六聚体,六聚体中间形成一个中轴孔洞,这个孔洞是将底物转运到 ClpP 肽酶腔中进行水解转运通道。在大肠杆菌的底物转运中存在 3 种不同的孔道环,分别为:“GYVG”,“pore2”,和“RKH”<sup>[8-10]</sup>。

2 ClpX 蛋白的生理功能

大肠杆菌 ClpX 蛋白属于分子伴侣家族 Hsp100/ Clp。Hsp100/Clp 分子伴侣家族功能主要是热压力耐受、底物识别、DNA 复制、控制基因表达等。ClpX 通过底物 C 端和 N 端的特异基序来识别底物,介导底物的降解;通过对细胞分裂中涉及的蛋白的降解调控细胞周期和应激反应。对致病菌而言,ClpX 则是毒力和许多压力应激反应所必需的因子。

2.1 底物识别

ClpX 蛋白是 AAA + (ATPases associated with a variety of cellular activities) 家族的一员。AAA + 分子机器通过水解 ATP 来为细胞进程中蛋白的降解、再造或大分子复合物的活动提供能量。ClpX 蛋白是一种 ATP 酶,其水解 ATP 产生的能量是 ClpXP 蛋白酶复合体的能量来源。ClpX 蛋白既是 ClpXP 蛋

白酶的底物特异性组分,也是分子伴侣。它能和 ClpP 肽酶一起行使蛋白降解功能(图 1-A)<sup>[11]</sup>;ClpX 在 ClpP 缺失的情况下能够通过识别特异的标签将蛋白解折叠(图 1-B)<sup>[12]</sup>。大肠杆菌中,ClpX 蛋白酶能够特异识别含有 5 类基序的底物<sup>[13]</sup>:① 与 *ssrA* 相似的 C 端基序 1 :LAA-COOH;②与 *MuA* 识别序列相似的 C 端基序 2: RRKKAI-COOH;③ N 端基序 1 :polar-T/ $\varphi$ - $\varphi$ -basic- $\varphi$ ( $\varphi$  表示疏水侧链);④ N 端基序 2: NH<sub>2</sub>-Met-basic- $\varphi$ - $\varphi$ - $\varphi$ -X5- $\varphi$ ;⑤ N 端基序 3:  $\varphi$ -X-polar-X-polar-X-basicpolar。其中 *ssrA* 标签是一种类似于泛素的短肽,是一种在原核生物中大范围的保守的序列,*ssrA* 由一种特殊的 tmRNA 编码<sup>[14]</sup>。这种 tmRNA 也存在于结核分枝杆菌中,由此推测结核分枝杆菌也可能会编码 *ssrA* 标签来介导底物蛋白质的降解(tmRNA site: <http://www.indiana.edu/~tmrna/>)。

在大部分的底物识别中 ClpX 蛋白的 N 端功能域都是必需的,然而缺失 N 端功能域的突变株(ClpX- $\Delta$ N)仍然能够和 ClpP 结合然后介导对 *ssrA* 相似的 C 端基序 1 :LAA-COOH 所标记标记的蛋白的有效降解<sup>[6-15]</sup>。由此可以推断对于 C 端基序的底物的识别可能是由 ClpX 蛋白酶的 C 端功能域进行的。ClpX 能够转运完全不同的多肽,包括大的多聚体,小的,带电荷的,或是有疏水性氨基酸的,以及在连续的肽键间添加了甲基基团的非天然的序列<sup>[16]</sup>。然而,ClpX 孔介导各种不同蛋白的转运机制还不清楚。

2.2 调控基因的表达

在枯草芽孢杆菌中,ClpX 能够间接影响  $\sigma^A$  从 RNA 聚合酶(RNAP)核心的移位,影响 RNA 聚合酶全酶形成;直接刺激芽孢形成时的  $\sigma^H$  依赖的转录<sup>[17]</sup>。ClpX 还涉及到枯草芽孢杆菌的细胞质功能替换  $\sigma$  因子  $\sigma^E$  的蛋白质水解过程<sup>[18]</sup>。这些都说明 ClpX 中对于  $\sigma$  因子介导的细胞应激反应具有调控作用。ClpX 是原核生物细胞骨架蛋白 FtsZ 蛋白的调控子,ClpX 在 ATP 依赖的方式下阻止 FstZ 的聚

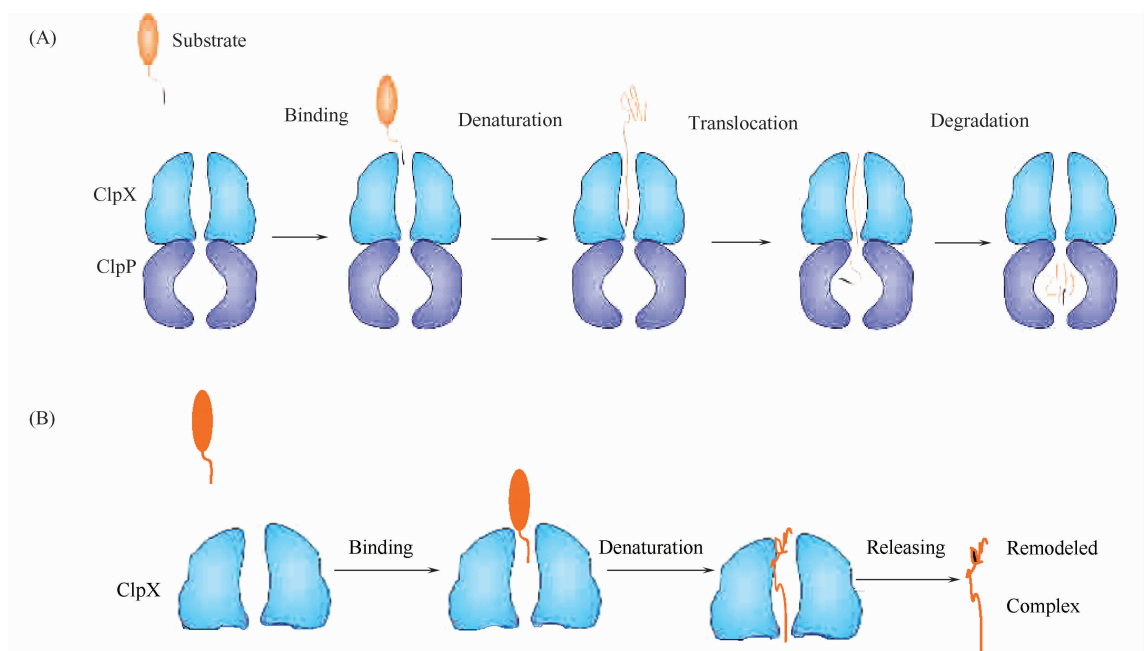


图1 ClpXP 蛋白水解进程示意图

Fig. 1 Process of degradation. A. Substrates for ClpXP degradation are bound by ClpX via peptide recognition tags, unfolded, and translocated into ClpP for degradation<sup>[8]</sup>. B. When absence of ClpP, ClpX recognizes substrates by binding to peptide signals that are generally exposed at either the amino- or carboxy-terminal end of an otherwise native protein, then Remodeled them.

合,在此过程中 ClpX 蛋白质的 N 端起了关键作用。在大肠杆菌中过表达 ClpX 或 ClpX 的 N 端功能域会阻止细胞的正常分裂,使细胞呈丝状;还会导致 FtsZ 的异常定位<sup>[19]</sup>。结核分枝杆菌中同样存在细胞骨架蛋白 FtsZ (NP\_216666),与大肠杆菌的相似率高达 51%。将结核分枝杆菌的 FtsZ 抑制后,clpX (Rv2457c) 和 clpP (Rv2461c) 的表达均下调<sup>[20]</sup>。在 *Oenococcus oeni* 中,clpX 转录物在指数生长早期含量丰富,在稳定期逐渐减少到不能被检出<sup>[21]</sup>。ClpXP 蛋白在指数生长期内会降解静止期的  $\sigma$  因子。由此推断出结核分枝杆菌的 ClpX 蛋白可能参与 FtsZ 的装配和静止期  $\sigma$  因子的降解,控制结核分枝杆菌细胞的分裂和细胞周期的调控。在大肠杆菌中,ClpXP 蛋白酶还是 MqsR 毒性所必需的,通过调节 MqsR 毒性调控 CspD 毒素<sup>[22]</sup>。

Northern blot 分析显示金黄色葡萄球菌 (*Staphylococcus aureus*) clpX 基因是以 1.3kb 的单顺反子的形式转录,同时还存在大小为 3.4kb 的共转录产物,根据大小来分析是和上游编码触发因子的 *tig* 基因和下游编码 GTP 结合蛋白的基因共转录<sup>[23]</sup>。与金黄色葡萄球菌一样,结核分枝杆菌基因组中的 *clpX* 基因上游也存在一个编码促发因子的 *tig* (Rv2462c) 基因,但是在 *clpX* 基因的下游并未发现编码 GTP 结合蛋白的基因,因此结核分枝杆菌的 *clpX* 的转录形式还有待进一步研究。

### 2.3 环境压力抵抗和致病性

大肠杆菌中 DNA 损伤反应基因的正调控蛋白 LexA 是 ClpXP 蛋白酶的底物,ClpXP 蛋白酶对 LexA-DNA-结合片段的降解对于细胞在 DNA 损伤后的存活很重要<sup>[24]</sup>。结核分枝杆菌中 Rv2720 编码 LexA 蛋白,参与 DNA 损伤后的修复<sup>[25]</sup>。在大肠杆菌、枯草芽孢杆菌和乳酸乳球菌中,应激条件诱导 Clp 蛋白复合物的增加<sup>[26-28]</sup>。ClpX 蛋白质还具有分子伴侣蛋白的特性,它能够保护大分子蛋白免于热诱导的聚集,分解聚集的大分子蛋白聚集体<sup>[29]</sup>。在枯草芽孢杆菌中当 ClpP 或是 ClpX 缺失时,突变株的表型与野生型完全不同,缺失会使饥饿或是压力环境下的细胞生长遭到剧烈的破坏。将两个突变株的双向凝胶电泳与野生型相比较许多蛋白发生改变,其中 GroEL, PpiB, PykA, SucD, YhfP, YqkF, YugJ, YvyD 等蛋白质的表达量增加<sup>[30]</sup>。在结核分枝杆菌中,GroEL (Rv0440) 分子伴侣蛋白,促进错误折叠蛋白的重构;Rv0009 编码与 PpiB 类似的 PpiA (iron-regulated peptidyl-prolyl cis-trans isomerase A, 铁调控的肽酰-脯氨酸-顺反式异构酶 A) 蛋白;Rv1617 编码 PykA,丙酮酸激酶;Rv0952 编码 SucD,琥珀酰 CoA 合成酶  $\alpha$  亚基;Rv3141 编码与 YhfP 同源的蛋白 NADPH 醌氧化还原酶<sup>[25]</sup>。从 ClpX 对基因表达的调控来看,它通过控制细胞全局性因子  $\sigma$

因子的降解调控细胞应激反应,例如  $\sigma^A$ ,  $\sigma^W$ ,  $\sigma^H$  等。在结核分枝杆菌中发现 13 种  $\sigma$  因子<sup>[3]</sup>。结核分枝杆菌的  $\sigma^H$  负责氧化胁迫和热休克应答,突变株对于热休克,各种氧化压力均较野生株敏感<sup>[31]</sup>。因此结核分枝杆菌的 ClpX 蛋白可能也是通过对  $\sigma$  因子的调控来增强自身应激反应和毒性。

对部分致病菌而言,蛋白水解复合物 Clp 是毒力和在压力环境下生存所必需<sup>[32-34]</sup>。ClpX 对于金黄色葡萄球菌 (*Staphylococcus aureus*) 在压力环境下的生长非常重要,ClpX 蛋白能够帮助细菌抵抗宿主巨噬细胞所产生氧化压力,ClpX 突变菌株在小鼠体内的毒力剧烈减弱<sup>[23]</sup>。ClpX 对金黄色葡萄球菌毒力的贡献是通过改变细胞蛋白的分泌能力从而控制主要的毒力因子的活性<sup>[35]</sup>。在肺炎链球菌 R6 中,ClpX 在所有温度下都是必需的,缺失 ClpX 的细胞会迅速死亡<sup>[36]</sup>。在主要院内致病菌表皮葡萄球菌中,ClpP 蛋白酶对于生物膜形成和毒力都具有重要功能。*clpP* 突变株的体外生物膜形成减少,在大鼠模型中与生物膜相关的感染毒力也降低。ClpP 的肽酶 a 功能决定了它在生物膜形成中的作用。*clpP* 影响细菌在植入器具表面的最初的附着,生物膜形成的第一步<sup>[23-37]</sup>。麻疯病和肺结核患者体内发现了其病原物的 ClpC 蛋白特异的抗体<sup>[38]</sup>。

### 3 结核分枝杆菌的 ClpX 蛋白酶

结核分枝杆菌基因组编码 6 个 Clp 蛋白酶家族成员, ClpB (Rv0384), ClpC (Rv3596), ClpX (Rv2457c), ClpX' (Rv2667c), ClpP2 (Rv2460c), ClpP1 (Rv2461c)<sup>[3]</sup>。从序列分析上来看 ClpX' 蛋白与 ClpC (Rv3596c) 具有更多的相似性。*clpX* 和 *clpP* 位于同一个操纵子;与一个热诱导的 mRNA 和 *clpP* 启动子附近的基因共转录<sup>[26]</sup>。对大肠杆菌 (*Escherichia coli* BL21 (DE3))、枯草芽孢杆菌 (*Bacillus subtilis* subsp. *subtilis* str. 168)、表皮葡萄球菌 (*Staphylococcus epidermidis* RP62A)、肺炎链球菌 (*Streptococcus pneumoniae* R6)、麻风分枝杆菌 (*Mycobacterium leprae* TN)、耻垢分枝杆菌 (*Mycobacterium smegmatis* str. MC2155) 和结核分枝杆菌 (*Mycobacterium tuberculosis* H37Rv) 的 ClpX 蛋白氨基酸序列进行比对 (结果未列出),结果显示 ClpX 蛋白的氨基酸序列高度保守,已经证实的 3 个功能域和基本结构基序都保守存在于结核分枝杆菌的 ClpX 蛋白酶中。由此可以看出,结核分枝杆菌的

ClpX 蛋白与这些细菌的 ClpX 蛋白在功能和结构上都具有相似性。

向 SWISS-MODEL 数据库提交结核分枝杆菌 ClpX 蛋白氨基酸序列,服务器自动搜索与之最为匹配的蛋白质晶体结构为幽门螺旋杆菌 (*Helicobacter pylori*) ClpX 蛋白,相似率为 44.11%。结核分枝杆菌和幽门螺旋杆菌的晶体结构如图 2。幽门螺旋杆菌 ClpX 蛋白的晶体结构显示这些亚基在这个晶体中没有形成六聚体,而是组装成为螺旋的片状结构<sup>[39-40]</sup>。六聚体的每个亚基都从 N 端延伸出一个三肽 (XGF) 与 ClpP 七聚体的疏水性氨基酸相连接<sup>[39]</sup>。

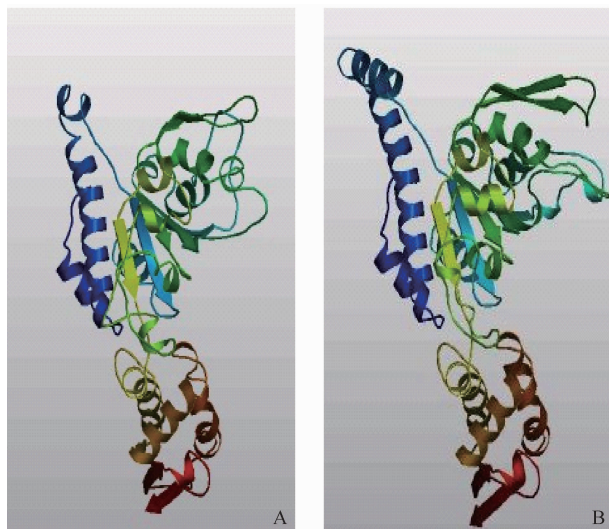


图 2 结核分枝杆菌和幽门螺旋杆菌晶体结构

Fig. 2 Three-dimensional structure of ClpX. A: Three-dimensional structure of *Mycobacterium tuberculosis* H37Rv ClpX through homology-modelling. The structure is obtained by SWISSMODEL server. (<http://swissmodel.expasy.org/>). B: Three-dimensional structure of *Helicobacter pylori* ClpX. The structure is accessible in the Protein Databank (PDB ID: 1um8).

蛋白酶对于结核分枝杆菌的致病性和对巨噬细胞中的胁迫耐受有着至关重要的作用,研究表明 ClpX 蛋白与许多致病性微生物的致病性相关。本实验室对结核分枝杆菌的 ClpX 蛋白研究中发现在大肠杆菌中过量表达结核分枝杆菌的 ClpX 能够延长宿主菌的对数生长期,增加宿主对外界氧化压力的抵抗。这说明结核分枝杆菌的 ClpX 蛋白有可能以某种尚待揭示的方式参与细胞的氧化胁迫应答。目前关于结核分枝杆菌 ClpX 蛋白的相关研究还是一个空白。深入研究结核分枝杆菌的 *clpX* 基因的功能,构建 ClpX 蛋白的相互作用及其调控网络,弄清 Clp 蛋白酶家族在结核菌致病中的作用,将加深

对结核分枝杆菌致病机理的了解,并有助于研发防治结核病的新措施。

## 参考文献

- [ 1 ] Ribeiro-Guimaraes ML, Pessolani MC. Comparative genomics of mycobacterial proteases. *Microbial pathogenesis*, 2007, 43(5-6): 173-178.
- [ 2 ] Gottesman S, Clark WP, Maurizi MR. The ATP-dependent Clp protease of Escherichia coli. Sequence of clpA and identification of a Clp-specific substrate. *Journal of biological chemistry*, 1990, 265(14): 7886-7893.
- [ 3 ] Cole ST, Brosch R, Parkhill J, Garnier T, Churcher C, Harris D, Gordon SV, Eiglmeier K, Gas S, Barry CE, Tekai F, Badcock K, Basham D, Brown D, Chillingworth T, Connor R, Davies R, Devlin K, Feltwell T, Gentles S, Hamlin N, Holroyd S, Hornsby T, Jagels K, Krogh A, McLean J, Moule S, Murphy L, Oliver K, Osborne J, Quail MA, Rajandream MA, Rogers J, Rutter S, Seeger K, Skelton J, Squares R, Squares S, Sulston JE, Taylor K, Whitehead S, Barrell BG. Deciphering the biology of Mycobacterium tuberculosis from the complete genome sequence. *Nature*, 1998, 393(6685): 537-544.
- [ 4 ] Knipfer N, Seth A, Roudiak SG, Shrader TE. Species variation in ATP-dependent protein degradation: protease profiles differ between mycobacteria and protease functions differ between Mycobacterium smegmatis and Escherichia coli. *Gene*, 1999, 231(1-2): 95-104.
- [ 5 ] Butler SM, Festa RA, Pearce MJ, Darwin KH. Self-compartmentalized bacterial proteases and pathogenesis. *Molecular Microbiology*, 2006, 60(3): 553-562.
- [ 6 ] Singh SK, Rozycki J, Ortega J, Ishikawa T, Lo J, Steven AC, Maurizi MR. Functional domains of the ClpA and ClpX molecular chaperones identified by limited proteolysis and deletion analysis. *Journal of biological chemistry*, 2001, 276(31): 29420-29429.
- [ 7 ] Banecki B, Wawrzynow A, Puzewicz J, Georgopoulos C, Zylicz M. Structure-function analysis of the zinc-binding region of the ClpX molecular chaperone *Journal of biological chemistry*, 2001, 276(22): 18843-18848.
- [ 8 ] Siddiqui SM, Sauer RT, Baker TA. Role of the processing pore of the ClpX AAA + ATPase in the recognition and engagement of specific protein substrates. *Genes & development*, 2004, 18(4): 369-374.
- [ 9 ] Farrell CM, Baker TA, Sauer RT. Altered specificity of a AAA + protease. *Molecular Cell*, 2007, 25(1): 161-166.
- [ 10 ] Martin A, Baker TA, Sauer RT. Diverse pore loops of the AAA + ClpX machine mediate unassisted and adaptor-dependent recognition of ssrA-tagged substrates. *Molecular Cell*, 2008, 29(4): 441-450.
- [ 11 ] Levchenko I, Smith CK, Walsh NP, Sauer RT, Baker TA. PDZ-like domains mediate binding specificity in the Clp/Hsp100 family of chaperones and protease regulatory subunits. *Cell*, 1997, 91(7): 939-947.
- [ 12 ] Kim YI, Burton RE, Burton BM, Sauer RT, Baker TA. Dynamics of substrate denaturation and translocation by the ClpXP degradation machine. *Molecular Cell*, 2000, 5(4): 639-648.
- [ 13 ] Flynn JM, Neher SB, Kim YI, Sauer RT, Baker TA. Proteomic discovery of cellular substrates of the ClpXP protease reveals five classes of ClpX-recognition signals. *Molecular Cell*, 2003, 11(3): 671-683.
- [ 14 ] Park EY, Song HK. A degradation signal recognition in prokaryotes. *Journal of Synchrotron Radiation*, 2008, 15(Pt 3): 246-249.
- [ 15 ] Wojtyra UA, Thibault G, Tuite A, Houry WA. The N-terminal zinc binding domain of ClpX is a dimerization domain that modulates the chaperone function. *Journal of biological chemistry*, 2003, 278(49): 48981-48990.
- [ 16 ] Barkow SR, Levchenko I, Baker TA, Sauer RT. Polypeptide translocation by the AAA + ClpXP protease machine. *Chemistry & biology*, 2009, 16(6): 605-612.
- [ 17 ] Liu J, Zuber P. The ClpX protein of Bacillus subtilis indirectly influences RNA polymerase holoenzyme composition and directly stimulates sigma-dependent transcription. *Molecular Microbiology*, 2000, 37(4): 885-897.
- [ 18 ] Zellmeier S, Schumann W, Wiegert T. Involvement of Clp protease activity in modulating the Bacillus subtilis sigma stress response. *Molecular Microbiology*, 2006, 61(6): 1569-1582.
- [ 19 ] Sugimoto S, Yamanaka K, Nishikori S, Miyagi A, Ando T, Ogura T, AAA + chaperone ClpX regulates dynamics of prokaryotic cytoskeletal protein FtsZ. *Journal of biological chemistry*, 2009, 285(9): 6648-6657.
- [ 20 ] Slayden RA, Knudson DL, Belisle JT. Identification of cell cycle regulators in Mycobacterium tuberculosis by inhibition of septum formation and global transcriptional analysis. *Microbiology*, 2006, 152(Pt 6): 1789-1797.
- [ 21 ] Jobin MP, Garmyn D, Davies C, Guzzo J, The Oenococcus oeni clpX homologue is a heat shock gene preferentially expressed in exponential growth phase. *Journal of Bacteriology*, 1999, 181(21): 6634-6641.
- [ 22 ] Kim Y, Wang X, Zhang XS, Grigoriu S, Page R, Peti W, Wood TK. Escherichia coli toxin/antitoxin pair

- MqsR/MqsA regulate toxin CspD. *Environmental microbiology*, 2010, 12(5): 1105-1121
- [23] Frees D, Qazi SN, Hill PJ, Ingmer H. Alternative roles of ClpX and ClpP in *Staphylococcus aureus* stress tolerance and virulence. *Molecular Microbiology*, 2003, 48(6): 1565-1578.
- [24] Neher SB, Flynn JM, Sauer RT, Baker TA. Latent ClpX-recognition signals ensure LexA destruction after DNA damage. *Genes & development*, 2003, 17(9): 1084-1089.
- [25] Camus JC, Pryor MJ, Medigue C, Cole ST. Re-annotation of the genome sequence of *Mycobacterium tuberculosis* H37Rv. *Microbiology*, 2002, 148(Pt 10): 2967-2973.
- [26] Gottesman S, Clark WP, de Crecy-Lagard V, Maurizi MR. ClpX, an alternative subunit for the ATP-dependent Clp protease of *Escherichia coli*. Sequence and in vivo activities. *Journal of biological chemistry*, 1993, 268(30): 22618-22626.
- [27] Gerth U, Wipat A, Harwood CR, Carter N, Emmerson PT, Hecker M. Sequence and transcriptional analysis of *clpX*, a class-III heat-shock gene of *Bacillus subtilis*. *Gene*, 1996, 181(1-2): 77-83.
- [28] Frees D, Ingmer H. ClpP participates in the degradation of misfolded protein in *Lactococcus lactis*. *Molecular Microbiology*, 1999, 31(1): 79-87.
- [29] Wawrzynow A, Wojtkowiak D, Marszalek J, Banecki B, Jonsen M, Graves B, Georgopoulos C, Zylicz M. The ClpX heat-shock protein of *Escherichia coli*, the ATP-dependent substrate specificity component of the ClpP-ClpX protease, is a novel molecular chaperone. *The EMBO Journal*, 1995, 14(9): 1867-1877.
- [30] Gerth U, Kruger E, Derre I, Msadek T, Hecker M. Stress induction of the *Bacillus subtilis* *clpP* gene encoding a homologue of the proteolytic component of the Clp protease and the involvement of ClpP and ClpX in stress tolerance. *Molecular Microbiology*, 1998, 28(4): 787-802.
- [31] Kaushal D, Schroeder BG, Tyagi S, Yoshimatsu T, Scott C, Ko C, Carpenter L, Mehrotra J, Manabe YC, Fleischmann RD, Bishai WR. Reduced immunopathology and mortality despite tissue persistence in a *Mycobacterium tuberculosis* mutant lacking alternative sigma factor, SigH. *The National Academy of Sciences of the United States of America*, 2002, 99(12): 8330-8335.
- [32] Gaillot O, Pellegrini E, Bregenholt S, Nair S, Berche P. The ClpP serine protease is essential for the intracellular parasitism and virulence of *Listeria monocytogenes*. *Molecular Microbiology*, 2000, 35(6): 1286-1294.
- [33] Thomsen LE, Olsen JE, Foster JW, Ingmer H. ClpP is involved in the stress response and degradation of misfolded proteins in *Salmonella enterica* serovar Typhimurium. *Microbiology*, 2002, 148(Pt 9): 2727-2733.
- [34] Qiu D, Eisinger VM, Head NE, Pier GB, Yu HD. ClpXP proteases positively regulate alginate overexpression and mucoid conversion in *Pseudomonas aeruginosa*. *Microbiology*, 2008, 154(Pt 7): 2119-2130.
- [35] Frees D, Sorensen K, Ingmer H. Global virulence regulation in *Staphylococcus aureus*: pinpointing the roles of ClpP and ClpX in the *sar/agr* regulatory network. *Infection and immunity*, 2005, 73(12): 8100-8108.
- [36] Robertson GT, Ng WL, Gilmour R, Winkler ME. Essentiality of *clpX*, but not *clpP*, *clpL*, *clpC*, or *clpE*, in *Streptococcus pneumoniae* R6. *Journal of Bacteriology*, 2003, 185(9): 2961-2966.
- [37] Wang C, Li M, Dong D, Wang J, Ren J, Otto M, Gao Q. Role of ClpP in biofilm formation and virulence of *Staphylococcus epidermidis*. *Microbes and infection*, 2007, 9(11): 1376-1383.
- [38] Kar NP, Sikriwal D, Rath P, Choudhary RK, Batra JK. *Mycobacterium tuberculosis* ClpC1: characterization and role of the N-terminal domain in its function. *The FEBS Journal*, 2008, 275(24): 6149-6158.
- [39] Kim DY, Kim KK. Crystal structure of ClpX molecular chaperone from *Helicobacter pylori*. *Journal of biological chemistry*, 2003, 278(50): 50664-50670.
- [40] Kim DY, Wu CA, Kim DR, Ha SC, Han YH, Kim KK. Purification, crystallization and preliminary X-ray studies of ClpX from *Helicobacter pylori*. *Acta crystallographica section D biological crystallography*, 2003, 59(Pt 9): 1642-1644.



# Bacterial ClpX protease structure and function – A review

Lin Wang, Jianping Xie\*

(Institute of Modern Biopharmaceuticals, School of Life Sciences, Southwest University, Chongqing 400715, China)

**Abstract:** ClpX is a member of Hsp100 (heat-shock protein) family which is conserved among organisms. Hsp100/ Clp implicates in stress resistance, intracellular protein turn-over, DNA replication and regulation of gene expression. Tuberculosis remains one of the major threats to human health. In pathogens, ClpX protease plays an important role in the gene expression regulation, pathogenesis, and resistance of immune stress. The structure, substrates and target genes of ClpX are summarized in this study. The biological function of *M. tuberculosis* ClpX, such as gene expression regulation, pathogenesis, intracellular survival and persistence, evolution and structural feature, substrates is the focus of this summary.

**Keywords:** ClpX; gene expression regulation; pathogenesis; *Mycobacterium tuberculosis*

( 本文责编:王晋芳)

Supported by the National key infectious disease project ( 2008ZX10003-006, 2008ZX10003-001 ), the National Natural Science Foundation ( 90813019 ) and the Fundamental Research Funds for the Central Universities( XDK2009A003 )

\* Corresponding author. Tel: +86-23-68367108; Fax: +86-23-68252365; E-mail: georgex@swu.edu.cn; jianpingxie@vip.sina.com

Received: 6 April 2010/ Revised: 2 May 2010

## 1953 年创刊以来所有文章全文上网

从 2008 年 1 月开始《微生物学报》的所有文章开始全文上网了。欢迎广大读者登陆本刊主页 (<http://journals.im.ac.cn/actamicrocn>) 浏览、查询、免费下载全文! 由于《微生物学报》历史久远, 为方便读者查阅, 将刊期变化作以下统计。

《微生物学报》刊、期统计表

2010 年 10 月统计

时间	刊期	卷号	期号
1953 – 1956	半年刊	1 – 4	1 – 2
1957 – 1958	季刊	5 – 6	1 – 4
1959	季刊	7	1 – 2
1959 – 1962	停刊 3 年		
1962	季刊	8	3 – 4
1963 – 1965	季刊	9 – 11	1 – 4
1966	季刊	12	1 – 2
1966 – 1972	停刊 6 年半		
1973 – 1988	季刊	13 – 28	1 – 4
1989 – 2007	双月刊	29 – 47	1 – 6
2008	月刊	48	1 – 12
2009	月刊	49	1 – 12
2010	月刊	50	10