

细菌类脂 A 结构与功能研究进展

李颜颜, 史锋, 李焯, 王小元*

(食品科学与技术国家重点实验室, 工业生物技术教育部重点实验室, 江南大学, 无锡 214122)

摘要: 类脂 A 分布在革兰氏阴性细菌的外表层, 它是脂多糖分子的疏水基团。脂多糖, 俗名内毒素, 可以引起致命的脓毒症、内毒素血症和多器官功能障碍综合症等疾病。近年来的研究发现: 脂多糖分子中只有类脂 A 部分具有内毒素的活性。当细菌侵入人体后, 其表面的类脂 A 可以刺激宿主细胞表面的 Toll 样受体-4, 在细胞内引起一连串的反应, 产生一系列的细胞因子。本文根据近年来内毒素领域的国际研究进展, 系统综述了类脂 A 的结构特征、合成途径和致病机理, 并在此基础上分析了内毒素在疫苗开发领域的应用前景。

关键词: 脂多糖; 内毒素; 类脂 A; 疫苗; TLR4

中图分类号: Q54; Q71 **文献标识码:** A **文章编号:** 0001-6209 (2008) 06-0844-06

1892 年, 法国科学家 Pfeiffer 首次提出内毒素的概念^[1]。随后, 人们开始了内毒素化学本质的探索, 到 1965 年证实内毒素是位于革兰氏阴性细菌外表面的一种生物大分子, 并将其命名为脂多糖 (lipopolysaccharide, LPS)。在此基础上, 人们开始研究内毒素的致病机理, 寻找其检测方法。1971 年建立了标准的鲎试剂内毒素检测法。1998 年, 美国科学家 Beutler 证明 *lps* 编码产生的膜蛋白质 Toll 样受体-4 (TLR4) 是 LPS 的受体。1999 年, 美国科学家 Raetz 在 20 多年的研究基础上, 提出了类脂 A 的合成途径^[2,3]。2000 年, 美国 Corixa 公司开发出第一个单磷酸类脂 A (MPL) 疫苗佐剂, 并申请了专利。

LPS 是构成革兰氏阴性细菌外表层的一种生物大分子。它主要由三部分组成: O-抗原、核心多糖和类脂 A。其中, 类脂 A 是 LPS 的疏水基团, 是细菌外膜外层的主要组成部分。O-抗原和核心多糖通过与类脂 A 连接而附着在细菌表面^[2,3]。近些年的研究发现: 只有 LPS 分子的类脂 A 基团才真正具有内毒素的活性^[4]。不同的细菌合成的类脂 A 结构不尽相同^[5]; 不同结构的类脂 A 可在体内产生不同种类的细胞因子, 引起不同的免疫反应, 故类脂 A 的结构是决定细菌致病性的一个重要因素。本文

结合内毒素领域最新研究进展, 着重阐述类脂 A 结构特征、合成途径、致病机理及应用前景。

1 LPS 分子的合成与转运

LPS 分子作为细菌外膜的构成部分, 其合成与转运是细菌得以生存的必要条件。几乎所有的革兰氏阴性菌, 包括致病菌, 都能合成 LPS。LPS 的合成是一个十分复杂的过程, 涉及到几十个基因。

大肠杆菌是革兰氏阴性细菌的代表。大肠杆菌中类脂 A 的合成和转运途径是美国科学家 Raetz 于 2001 年提出的, 故被命名为 Raetz 合成途径^[6]。如图 1 所示, Raetz 合成途径主要发生在细胞质和内膜的内表面, 共有 10 步反应。反应起始底物是水溶性的小分子 UDP-氨基葡萄糖乙酸酐 (UDP-GlcNAc)。前 3 步反应用到的酶 LpxA、LpxC 和 LpxD 为可溶性蛋白质, 其作用结果是在 UDP-氨基葡萄糖分子上加了 2 个脂肪酸链。接下来, LpxH 将该分子上的 UDP 基团分解, 形成 Lipid X 分子。值得一提的是, 目前只有约 30% 的革兰氏阴性菌中存在编码 LpxH 的基因, 因此催化这步反应的新酶及其基因还有待发现。

基金项目: 国家自然科学基金(30770114); 长江学者和创新团队发展计划(IRT0532)

*通讯作者: Tel: +86-510-85329329; Fax: +86-510-85329236; E-mail: xiaoyuanwang@hotmail.com

作者简介: 李颜颜(1984-), 女, 河北保定人, 硕士研究生, 研究方向为病原微生物学。E-mail: liyanyan1123@163.com

收稿日期: 2007-12-06; 修回日期: 2008-02-28

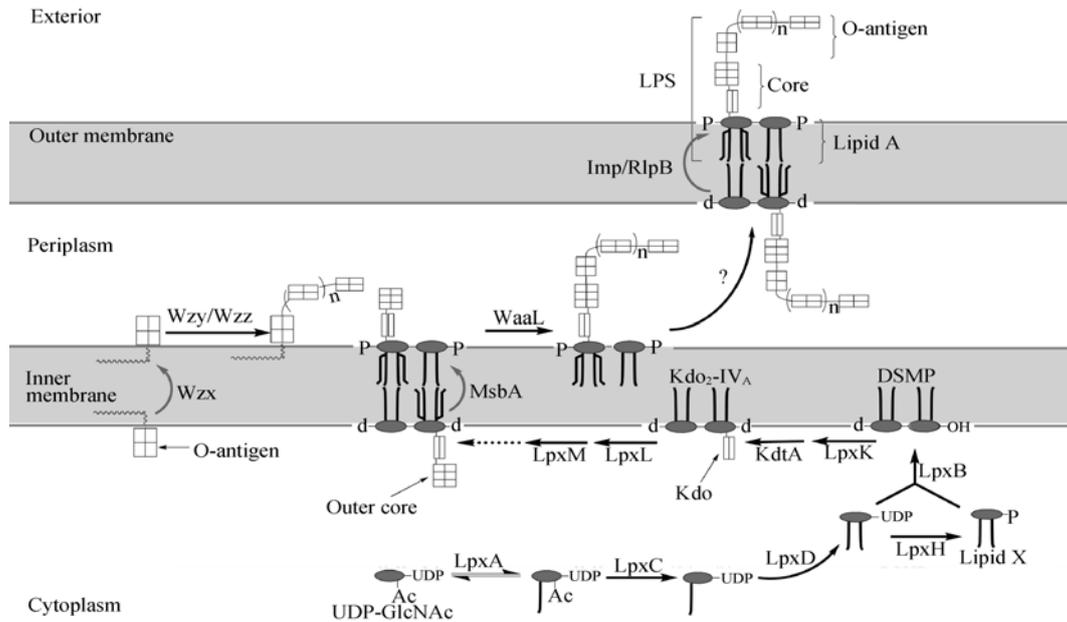


图 1 大肠杆菌中 LPS 的合成与转运

Fig. 1 The biosynthesis and transportation of LPS in *E. coli*. The core-lipid A is synthesized in the cytoplasm and localized on the inner surface of inner membranes. The O-antigen is also synthesized in the cytoplasm, connecting to a polyprenol that is localized in inner membranes. After synthesized, core-lipid A and O-antigen are flipped to the outer surface of inner membranes by MsbA and Wzx, respectively. On the outer surface of inner membranes, the O-antigen is polymerized by Wzy and Wzz, and then transferred to the core-lipid A by WaaL. The resulting LPS is transported to the inner surface of outer membranes by unknown enzymes, and then assembled to the outer surface of outer membranes by Imp and RlpB.

膜外周蛋白 LpxB 将 Lipid X 及其前体聚合, 形成一个由 2 个氨基葡萄糖和 4 个脂肪酸链构成的兼性分子 DSMP。DSMP 位于内膜的内侧, 成为膜蛋白 LpxK、KdtA、LpxL 和 LpxM 的底物。磷酸激酶 LpxK 在 DSMP 上加了一个磷酸; KdtA 在 DSMP 上加了 2 个 Kdo 基团; LpxL 和 LpxM 分别在 DSMP 上加了 1 个脂肪酸链。至此, LPS 的疏水基团-类脂 A 合成完毕, 形成 Kdo₂-类脂 A 分子。随后, 核心多糖在相关酶的催化下连到 Kdo₂-类脂 A 上, 形成核心多糖-类脂 A (图 1)。然后, 转运蛋白 MsbA^[12,13] 将核心多糖-类脂 A 从内膜的内侧转运到内膜的外侧。与此同时, O-抗原也在内膜的内侧合成到细菌萜醇上, 并通过转运蛋白 Wzx 翻转到内膜的外侧^[14]。

在周质空间中, 聚合酶 Wzy 和 Wzz 催化 O-抗原聚合, 然后连接酶 WaaL 将 O-抗原重复单元连接到核心多糖上, 组装成完整的 LPS^[15]。LPS 如何从细菌的内膜外侧转运到外膜内侧? 这个问题目前还不十分清楚, 周质空间的 LptA、内膜内侧的 LptB 和内膜中的 YrbK 等蛋白质可能在这里共同作用^[16]。LPS 从外膜的内侧转运到外膜的外侧是由外膜中的 Imp 和 RlpB 组成的蛋白复合体来完成的^[17]。在细胞内研究 LPS 跨膜转运时, 影响因素较多, 所以上述

LPS 转运蛋白还需要通过细胞外试验进一步研究证实。

在 LPS 的合成和转运过程中, 各种酶的疏水亲水特性与其所催化的底物的结构相吻合。反应开始时, 底物是水溶性的 UDP-GlcNAc, 所以前 3 步反应用到的酶 LpxA、LpxC 和 LpxD 均为水溶性蛋白。随着反应的进行, 底物分子中的脂肪酸链越来越多, 逐渐变成兼性分子 DSMP。所以后续步骤的反应主要在膜上进行, 催化这些反应的酶 LpxK、KdtA、LpxL 和 LpxM 等也均为膜蛋白。参与类脂 A 合成的酶专一性都很强。比如, LpxA 和 LpxD 虽然都能催化酰基化反应, 却不能互换使用。参与类脂 A 合成的各种酶的反应顺序也很严格。比如, 酰基化酶 LpxL 和 LpxM 必须等 KdtA 加完两个 Kdo 形成底物 Kdo₂-IV_A 之后, 才能分别将第 5 和第 6 个脂肪酸链加上去。

由于类脂 A 是细菌细胞外膜的主要组成部分, 类脂 A 的合成决定着细菌的存亡, 所以类脂 A 合成过程中所涉及到的酶就成为研究抗菌素的靶点。目前, 前 3 步反应中用到的 LpxA、LpxC 和 LpxD 等几个可溶性蛋白已经被提纯, 其结构已经被分析^[7-9]。以这些蛋白质的结构为基础, 寻找抗菌素的工作已经展开^[10,11]。

2 类脂 A 结构的多样性

与 O-抗原和核心多糖相比, LPS 中类脂 A 的结构是比较保守的。最近研究发现: 在不同种类的细菌中, 类脂 A 的结构在细节上会有所不同; 细菌类脂 A 的结构与其传染能力密切相关。类脂 A 分子的结构多样性主要表现在两个方面: 电荷变化和形状变化。

2.1 类脂 A 分子所带电荷的变化

革兰氏阴性细菌的表面分布着约百万个类脂 A 分子, 所以类脂 A 的电负性决定着整个细菌细胞表面的带电状况。大多数细菌的类脂 A 分子含有两个磷酸基团, 如大肠杆菌的类脂 A (图 2-A)。由于磷酸基团带负电, 导致细菌外表面带有大量的负电荷。针对细菌的这一特点, 人体免疫系统可以产生大量带正电的抗菌肽, 结合在入侵细菌的表面, 通过破坏细胞膜来消灭细菌。为躲避免疫系统的进攻, 细菌可以通过改进其类脂 A 的结构, 调整其表面的负电荷数目。调整方式主要有两种: 一是减少类脂 A 分子中的磷酸基团数目, 二是增加中性或带正电的基团来削弱类脂 A 的负电性。

有的细菌通过减少类脂 A 分子中磷酸基团的数目来减少其表面的负电荷。例如, 豆科根瘤菌 (*R. etli*) 合成的类脂 A 不含磷酸基团 (图 2-D), 弗朗西斯菌 (*F. tularensis*) (图 2-B) 和幽门螺杆菌 (*H. pylori*) 合成的类脂 A 只含有一个磷酸基团^[18,19]。也许正是因

为具有由带负电荷较少的类脂 A 构成的表面结构, 这些细菌才能躲避免疫系统的进攻, 在动植物体内生存。通过构建并筛选弗朗西斯菌的基因组文库, 我们发现了两个编码类脂 A 磷酸酶的基因 *lpxE* 和 *lpxF*^[20-22]。LpxE 选择性地去除类脂 A 在 1 位上的磷酸; 而 LpxF 选择性地去除类脂 A 在 4 位上的磷酸。类似的基因也存在于豆科根瘤菌和幽门螺杆菌中。当用分子生物学手段将弗朗西斯菌的 *lpxF* 敲除后, 弗朗西斯菌不再感染小鼠^[23]。这充分说明类脂 A 分子的磷酸基团与细菌的感染能力密切相关。

有的细菌能通过增加带正电的基团来中和其类脂 A 分子上的负电荷。比如, 弗朗西斯菌合成的类脂 A 在 1 位磷酸基团上连有一个半乳糖胺 (图 2-B), 这个基团是通过 ArnT 的同源基因加上去的^[19]。ArnT 是一个氨基阿拉伯糖转移酶, 它是在沙门氏菌 (*S. typhimurium*) 中发现的^[24]。当在体外生长时, 沙门氏菌合成的类脂 A 与大肠杆菌合成的类脂 A 结构相同 (图 2-A)。但当被免疫细胞如巨噬细胞吞噬后, 沙门氏菌会迅速改进其表面的类脂 A 分子的结构, 比如在 4 位上的磷酸基团上加氨基阿拉伯糖 (图 2-C)。为添加这个氨基阿拉伯糖, 沙门氏菌专门进化出一个操纵子。这个操纵子包含约十个基因, 其中大多数的基因的功能已经被搞清楚^[25]。这些氨基糖的增加可能是细菌通过削弱其表面负电荷来躲避免疫系统识别的一种手段。

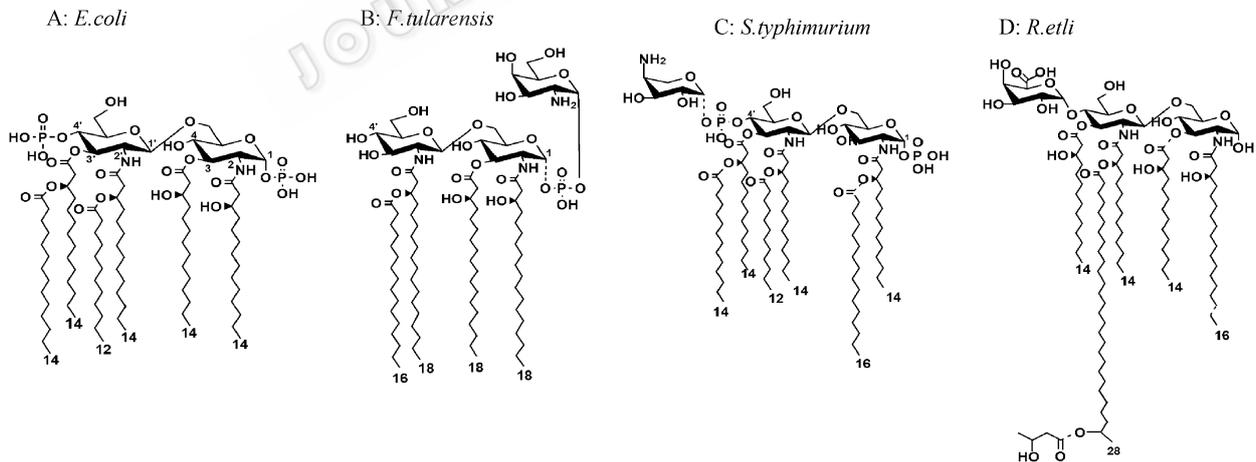


图 2 不同细菌中类脂 A 结构的多样性

Fig. 2 Variability of the structure of lipid A in different bacteria. The most conserved part of lipid A is its backbone, disaccharide of glucosamine. The groups connecting to the backbone of lipid A could be different from one bacterium to another. In *E. coli* lipid A there are two phosphates and six fatty acid chains connecting to the backbone (A); in the lipid A of *F. tularensis* there are only one phosphate and four fatty acid chains (B); in the lipid A of *R. etli* there is even no phosphate (D). The position and length of the fatty acid chains also vary in the lipid A from different bacteria. In the lipid A of *S. typhimurium* there is an additional second fatty acid chain at 2-position (C); in the lipid A of *R. etli* there is a very long fatty acid chain at the 2'-position (D). Additional sugars were also found connecting to the backbone of lipid A in *F. tularensis* (B), *S. typhimurium* (C) and *R. etli* (D). The carbon position of the backbone and the carbon number of fatty acid chains in lipid A were labeled.

2.2 类脂 A 分子形状的变化

除了改变其所带的负电荷之外,有些细菌还能改变其类脂 A 分子的脂肪酸链的数目和长度,导致类脂 A 分子的整体形状改变。类脂 A 分子的形状可能与 TLR4 的识别能力有关。比如,当沙门氏菌被巨噬细胞吞噬后,会迅速调整其类脂 A 分子上的脂肪酸链(图 2-C)。一方面通过 PagL 将 3 位上的羟基脂肪酸链去除;另一方面通过 PagP 在 2 位上添加一个含 16 个碳的脂肪酸链^[26]。PagP 对供体的选择性很高,它由八条 β -折叠链形成一个 β -折叠筒,这个筒的深度正好能容纳 16 个碳原子的脂肪酸链,多一个或少一个碳原子的脂肪酸链被选择的几率很小。像 LPS 类脂 A 一样, PagL 和 PagP 均位于细菌外膜的外层。这种近距离的安排为快速改造类脂 A 的结构提供了方便。

类脂 A 中脂肪酸链数目的变化也与细菌的感染能力有关。比如,鼠疫杆菌(*Yersinia pestis*)主要是通过跳蚤的叮咬而感染的。在跳蚤体内(21~27)生长的鼠疫杆菌合成含有 6 个脂肪酸链的类脂 A,而在人体内(37)生长的鼠疫杆菌却合成含有 4 个脂肪酸链的类脂 A。带 6 个脂肪酸链的类脂 A 能够通过 TLR4 激活人体的免疫系统,而带 4 个脂肪酸链的类脂 A 却不能^[27]。所以,人体内生长的鼠疫杆菌因为其独特的类脂 A 分子结构而逃避了免疫系统的进攻,导致人体疾病,甚至死亡。

在不同的革兰氏阴性菌中,类脂 A 上连接的脂肪酸链的长度也有所不同(图 2)。比如,大肠杆菌类脂 A 上连接的脂肪酸链多为 12~14 个碳原子,而弗朗西斯菌类脂 A 上连接的脂肪酸链多为 16~18 个碳原子。更有甚者,多数根瘤菌的类脂 A 上含有一个 28 个碳原子的超长脂肪酸链,虽然连接这个超长脂肪酸链的酰基转移酶 LpxXL 已经被发现^[28],但目前还不知道这个超长脂肪酸链的功能。

3 类脂 A 引发的信号传导机制

微生物的致病机理一直是人类试图攻克的难题之一,赋予微生物毒性的内毒素尤其如此。前些年的研究表明,内毒素可以诱发一些细胞因子如 TNF- α 的产生,从而引起炎症,但诱发途径不明。1998 年,TLR4 的发现为我们揭示出了内毒素引发的信号转导途径^[29]。

许多免疫细胞的表面存在着类脂 A 的受体 TLR4。当细菌侵入人体后,会释放其表面的类脂 A。

这些类脂 A 首先与 LPS 结合蛋白(LBP)相结合。LBP 将类脂 A 运送到免疫细胞的膜表面,与膜表面的蛋白质 CD14 相结合。随后 CD14 将类脂 A 转运至 TLR4-MD2 蛋白复合体。MD2 是一种特殊的外分泌蛋白,能帮助 TLR4 识别类脂 A。CD14、TLR4 和 MD2 三种蛋白质的不同组合决定了 TLR4 对不同结构类脂 A 的识别能力,其中跨膜蛋白 TLR4 起关键作用^[30~31]。当类脂 A 与 TLR4 膜外基团结合时,其膜内基团发生构象变化,将信号传到免疫细胞内部。在细胞内部,激活 MyD88, IRAK4、IRAK4 和 TRAF6 等信号分子,通过一连串的生物化学反应,使 I κ B 激酶复合体 IKK 磷酸化, I κ B 降解,最终活化转录因子 NF- κ B。NF- κ B 可以穿过核膜,结合在染色体上的特定区域,使某些隐性基因得以表达,产生各种多样的细胞因子^[32]。有的细胞因子可以刺激免疫系统,消灭细菌;有的细胞因子却引起炎症,导致严重的疾病,甚至死亡。细胞因子的种类主要决定于类脂 A 的分子结构。也就是说,细菌的传染能力与 TLR4 对类脂 A 的识别能力有关。

在发现 TLR4 之后,人们又相继发现了 10 个左右的 Toll 样受体(TLR)^[33]。TLR 广泛存在于昆虫、脊椎动物和植物中,它们选择性地识别微生物体内的一些特异性分子,通过信号传导来激活免疫系统,以便来消灭入侵的微生物。比如,TLR2 专门识别肽聚糖,TLR4 专门识别 LPS。所有 TLR 都是跨膜蛋白,并在膜内外均有基团。虽然不同 TLR 在膜外的基团结构各异(由于要结合不同的配体),但其膜内的基团结构却基本相同。

4 类脂 A 的应用前景

细菌类脂 A 一旦侵入人体,可引发多种疾病。临床常见的革兰氏阴性菌导致的疾病如感染性休克、败血症、多器官功能性衰竭等都与类脂 A 密切相关。所以,早期的细菌内毒素研究主要集中于治疗由内毒素引起的疾病。随着生物科学技术的发展,人们对内毒素的了解越来越深,搞清了内毒素的本质是 LPS 的类脂 A。现在,类脂 A 在细菌内的合成途径和转运机制已基本清楚。近年来研究发现:不同的细菌可以合成不同结构的类脂 A;类脂 A 的结构与致病菌的感染能力密切相关。在充分了解类脂 A 分子结构的基础上,我们可以通过分子生物学的手段来改造类脂 A,开发细菌疫苗和疫苗佐剂,为人类造福。

传统的疫苗生产周期长,杂质多,毒副作用较大,因而现代疫苗的开发更注重纯度。比如,基因工程疫苗就是将抗原高效表达并提纯。这种疫苗虽然纯度高,毒副作用小,生产周期短,但其疗效较差。疗效差的原因主要是不能充分刺激免疫系统。所以,基因工程疫苗必须与佐剂混合使用。但是,市场上现有的几种疫苗佐剂都没有刺激免疫系统的功能。类脂 A 是众所周知的免疫系统的刺激物,但不同结构的类脂 A 刺激免疫系统的能力是不一样的。所以,几年前人们开始以类脂 A 为靶点研究开发新型疫苗佐剂。通过筛选试验,人们发现 MPL 毒性较低,但却可以有效地刺激免疫系统。将 MPL 注入小鼠体内,能对小鼠起到预防性保护的作用^[34]。目前 MPL 已经被 Corixa 公司开发成一种新型的疫苗佐剂。

在对类脂 A 的结构与致病机理了解的基础上,我们也可以有效地改进传统疫苗。如果传统疫苗来自于革兰氏阴性细菌,我们可以改进其类脂 A 的结构,使其成为内含的佐剂。比如,将沙门氏菌内合成各种外毒素的基因敲除,将其类脂 A 改造成 MPL 的结构,再高效表达有关抗原,就可以开发口服疫苗。如果传统疫苗来自于非革兰氏阴性细菌,我们可以通过基因工程在这种微生物内合成能起佐剂作用的类脂 A。

目前,虽然对类脂 A 的分子结构、合成途径和信号转导机制等方面的研究取得了一定的进展,但是仍有许多问题有待进一步解决。通过基因工程来构建不同结构的类脂 A,对类脂 A 与细菌致病能力间的关系作深入细致的研究,将会为消灭病菌和开发疫苗提供坚实的理论基础。

参 考 文 献

- [1] Beutler B, Rietschel ET. Innate immune sensing and its roots: the story of endotoxin. *Nat Rev Immunol*, 2003, 3(2): 169–176.
- [2] Raetz CRH, Reynolds CM, Trent MS, et al. Lipid A Modification Systems in Gram-Negative Bacteria. *Annu Rev Biochem*, 2007, 76: 295–329.
- [3] Raetz CRH, Whitfield C. Lipopolysaccharide endotoxins. *Annu Rev Biochem*, 2002, 71: 635–700.
- [4] Galanos C, Lüderitz O, Rietschel ET, et al. Synthetic and natural *Escherichia coli* free lipid A express identical endotoxic activities. *Eur J Biochem*, 1985, 148(1): 1–5.
- [5] Caroff M, Karibian D. Structure of bacterial lipopolysaccharides. *Carbohydr Res*, 2003, 338(23): 2431–2447.
- [6] Doerrler WT. Lipid trafficking to the outer membrane of Gram-negative bacteria. *Mol Microbiol*, 2006, 60(3): 542–552.
- [7] Williams AH, Raetz CRH. Structural basis for the acyl chain selectivity and mechanism of UDP-N-acetylglucosamine acyltransferase. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2007, 104(34): 13543–13550.
- [8] Coggins BE, Li X, McClerren AL, et al. Structure of the LpxC deacetylase with a bound substrate-analog inhibitor. *Nat Struct Biol*, 2003, 10(8): 645–651.
- [9] Buetow L, Smith TK, Dawson A, et al. Structure and reactivity of LpxD, the N-acyltransferase of lipid A biosynthesis. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2007, 104(11): 4321–4326.
- [10] Williams AH, Immormino RM, Gewirth DT, et al. Structure of UDP-N-acetylglucosamine acyltransferase with a bound antibacterial pentadecapeptide. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2006, 103(29): 10877–10882.
- [11] Barb AW, McClerren AL, Snehelatha K, et al. Inhibition of lipid A biosynthesis as the primary mechanism of CHIR-090 antibiotic activity in *Escherichia coli*. *Biochemistry*, 2007, 46(12): 3793–3802.
- [12] Doerrler WT, Gibbons HS, Raetz CRH. MsbA-dependent translocation of lipids across the inner membrane of *Escherichia coli*. *J Biol Chem*, 2004, 279(43): 45102–45109.
- [13] Doerrler WT, Raetz CRH. ATPase activity of the MsbA lipid flippase of *Escherichia coli*. *J Biol Chem*, 2002, 277(39): 36697–36705.
- [14] Alaimo C, Catrein I, Morf L, et al. Two distinct but interchangeable mechanisms for flipping of lipid-linked oligosaccharides. *EMBO J*, 2006, 25(5): 967–976.
- [15] Abeyrathne PD, Daniels C, Poon KK, et al. Functional characterization of WaaL, a ligase associated with linking O-antigen polysaccharide to the core of *Pseudomonas aeruginosa* lipopolysaccharide. *J Bacteriol*, 2005, 187(9): 3002–3012.
- [16] Sperandeo P, Cescutti R, Villa R, et al. Characterization of lptA and lptB, two essential genes implicated in lipopolysaccharide transport to the outer membrane of *Escherichia coli*. *J Bacteriol*, 2007, 189(1): 244–253.
- [17] Bos MP, Tefsen B, Geurtsen J, et al. Identification of an outer membrane protein required for the transport of lipopolysaccharide to the bacterial cell surface. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2004, 101(25): 9417–9422.
- [18] Que NL, Ribeiro AA, Raetz CRH. Two-dimensional NMR spectroscopy and structures of six lipid A species from *Rhizobium etli* CE3. Detection of an acyloxyacyl residue in each component and origin of the aminogluconate moiety. *J Biol Chem*, 2000, 275(36): 28017–28027.
- [19] Wang X, Ribeiro AA, Guan Z, et al. Structure and Biosynthesis

- of Free Lipid A Molecules That Replace Lipopolysaccharide in *Francisella tularensis* subsp. *novicida*. *Biochemistry*, 2006, 45(48): 14427–14440.
- [20] Wang X, McGrath SC, Cotter RJ, *et al.* Expression Cloning and Periplasmic Orientation of the *Francisella novicida* Lipid A 4'-Phosphatase LpxF. *J Biol Chem*, 2006, 281(14): 9321–9330.
- [21] Wang X, Karbarz MJ, McGrath SC, *et al.* MsbA Transporter-dependent Lipid A 1-Dephosphorylation on the Periplasmic Surface of the Inner Membrane. *J Biol Chem*, 2004, 279(47): 49470–49478.
- [22] Tran AX, Karbarz MJ, Wang X, *et al.* Periplasmic cleavage and modification of the 1-phosphate group of *Helicobacter pylori* lipid A. *J Biol Chem*, 2004, 279(53): 55780–55791.
- [23] Wang X, Ribeiro AA, Guan Z, *et al.* Attenuated Virulence of a *Francisella* Mutant Lacking the Lipid A 4'-Phosphatase. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2007, 104(10): 4136–4141.
- [24] Trent MS, Ribeiro AA, Lin S, *et al.* An inner membrane enzyme in *Salmonella* and *Escherichia coli* that transfers 4-amino-4-deoxy-L-arabinose to lipid A: induction on polymyxin-resistant mutants and role of a novel lipid-linked donor. *J Biol Chem*, 2001, 276(46): 43122–43131.
- [25] Breazeale SD, Ribeiro AA, McClerren AL, *et al.* A formyltransferase required for polymyxin resistance in *Escherichia coli* and the modification of lipid A with 4-Amino-4-deoxy-L-arabinose. Identification and function of UDP-4-deoxy-4-formamido-L-arabinose. *J Biol Chem*, 2005, 280(14): 14154–14167.
- [26] Ahn VE, Lo EI, Engel CK, *et al.* A hydrocarbon ruler measures palmitate in the enzymatic acylation of endotoxin. *EMBO J*, 2004, 23(15): 2931–2941.
- [27] Montminy SW, Khan N, McGrath S, *et al.* Virulence factors of *Yersinia pestis* are overcome by a strong lipopolysaccharide response. *Nat Immunol*, 2006, 7(10): 1017–1019.
- [28] Basu SS, Karbarz MJ, Raetz CRH. Expression cloning and characterization of the C28 acyltransferase of lipid A biosynthesis in *Rhizobium leguminosarum*. *J Biol Chem*, 2002, 277(32): 28959–28971.
- [29] Poltorak A, He X, Smirnova I, *et al.* Defective LPS signaling in C3H/HeJ and C57BL/10ScCr mice: mutations in Tlr4 gene. *Science*, 1998, 282(5396): 2085–2088.
- [30] Akira S, Uematsu S, Takeuchi O. Pathogen Recognition and Innate Immunity. *Cell*, 2006, 124(4): 783–801.
- [31] Triantafilou M, Triantafilou K. Lipopolysaccharide recognition: CD14, TLRs and the LPS activation cluster. *Trends Immunol*. 2002, 23(6): 301–304.
- [32] Zhang FX, Kirschning CJ, Mancinelli R, *et al.* Bacterial lipopolysaccharide activates nuclear factor-Kappa B through interleukin-1 signaling mediators in cultured human dermal endothelial cells and mononuclear phagocytes. *J Biol Chem*, 1999, 274(12): 7611–7614.
- [33] Carpenter S, O'Neill LA. How important are Toll-like receptors for antimicrobial responses. *Cell Microbiol*, 2007, 9(8): 1891–1901.
- [34] Persing DH, Coler RN, Lacy MJ, *et al.* Taking toll: lipid A mimetics as adjuvants and immunomodulators. *Trends Microbiol*, 2002, 10s: S32–37.

Structure and function of lipopolyaccharide lipid A in bacteria—A review

Yanyan Li, Feng Shi, Ye Li, Xiaoyuan Wang*

(State Key Laboratory of Food Science and Technology, Key Laboratory of Industrial Biotechnology of the Ministry of Education, Jiangnan University, Wuxi, 214122)

Abstract: Lipid A, the hydrophobic group of lipopolysaccharide, covers the surface of most Gram-negative bacteria. Lipopolysaccharide, known as endotoxin, can cause fatal disease like sepsis syndrome. Recent studies have shown that it is only the lipid A part of lipopolysaccharide that has the function of endotoxin. After entering the human body, lipid A on the surface of bacteria can stimulate the Toll-like-receptor 4 on the surface of host cells, cause a series of reaction, and produce different cytokines. Here we have discussed the structure, biosynthesis and pathogenesis of lipid A. The application of lipid A in vaccine development was proposed.

Keywords: lipopolysaccharide; endotoxin; lipid A; vaccine; TLR4

Supported by the National Natural Science Foundation of China (30770114) and the Program for Changjiang Scholars and Innovative Research Team in University (IRT0532).

*Corresponding author. Tel: +86-510-85329329; Fax: +86-510-85329236; E-mail: xiaoyuanwang@hotmail.com

Received: 6 December 2007/ Revised: 28 February 2008