

微生物学报 *Acta Microbiologica Sinica*  
54 (3) :269 - 275; 4 March 2014  
ISSN 0001 - 6209; CN 11 - 1995/Q  
http://journals.im.ac.cn/actamicrocn  
doi: 10.13343/j.cnki.wsxb.2014.03.003

## 革兰氏阴性菌的 Cpx 双组分调控系统

徐乐, 周晓辉\*, 何晓亮

河北科技大学生物科学与工程学院, 河北 石家庄 050018

**摘要:** 细菌主要通过单组分、双组分、三组分调控系统来适应外界环境变化以保证自身的正常生长和繁殖。Cpx 系统是革兰氏阴性菌中普遍存在的双组分调控系统之一, 作为双组分调控系统的重要一元, 它由细胞膜组氨酸蛋白激酶 CpxA、细胞质响应调节蛋白 CpxR 以及细胞周质空间辅助调节蛋白 CpxP 构成。本文着重介绍了 Cpx 系统各组分的结构特征, 并结合前人的文献和我们近期的研究成果, 综述了 Cpx 系统信号整合的最新研究进展, 提出了尚待解决的问题及进一步的研究方向, 为科研人员对 Cpx 双组分调控系统的研究提供一定的帮助。

**关键词:** 革兰氏阴性菌, Cpx 双组分调控系统, 细胞膜组氨酸蛋白激酶 CpxA, 细胞质响应调节蛋白 CpxR, 细胞周质空间辅助调节蛋白 CpxP

**中图分类号:** Q933      **文献标识码:** A      **文章编号:** 0001-6209 (2014) 03-0269-07

生物的基本特征之一是对环境的适应性, 这是生物能够保证自身存活和繁殖的必要条件, 作为原核生物的细菌也不例外<sup>[1]</sup>。外界环境瞬息万变, 并且许多变化对细菌不利<sup>[2]</sup>, 因此为适应环境变化, 菌体进化出了极其多样的信号转导方式, 也称调控系统。按照组分的数目及调控过程的复杂程度, 可以将其分为三大类: 单组分调控系统 (one-component regulatory systems, OCRS)、双组分调控系统 (two-component regulatory systems, TCRS) 以及三组分调控系统 (three-component regulatory systems, ThCRS)<sup>[3]</sup>。

单组分调控系统 (OCRS) 是一种最古老的信号传递方式, 也是种类最多的, 当然从复杂程度上来说, 它是最为简单的。在 145 个原核生物基因组中

发现了约 17000 个 OCRS<sup>[4]</sup>。单组分调控系统的实质是单一的调控蛋白, 这类蛋白包括信号输入结构域和信号输出结构域, 但是缺少磷酸基团转移结构域<sup>[5]</sup>。此类蛋白在接收信号时, 主要通过与小分子结合被激活, 然后借助 DNA 结合结构域 (HTH) 结合到特定靶基因, 从而将信号输出以调节细菌的生命活动。

双组分调控系统 (TCRS) 是由单组分调控系统演化而来, 一般由两个基本组分构成, 一个是位于细胞内膜上的组氨酸蛋白激酶 (histidine kinase, HK) 和位于细胞质的响应调节蛋白 (response regulator, RR)<sup>[6]</sup>。双组分调控系统将单组分调控蛋白的信号输入与输出结构域分开, 使其分别位于两个蛋白上, 在此基础上, 组氨酸激酶信号受体增加了组氨酸激

**基金项目:** 国家自然科学基金 (31270077, 31100044); 河北省自然科学基金 (C2012208019); 教育部留学回国人员科研启动基金 (472013-1792); 河北省“百人计划”资助项目 (E2012100005); 河北省人社厅留学回国人员重点资助项目 (2011-02)

\* 通信作者。Tel/Fax: +86-311-81668487; E-mail: zhouxh2003@aliyun.com

**作者简介:** 徐乐 (1989 -), 男, 河北黄骅人, 硕士研究生, 主要从事 Cpx 信号转导机制的研究。E-mail: hebxule@163.com

**收稿日期:** 2013-06-21; **修回日期:** 2013-10-12

酶结构域,而响应调节蛋白增加了与激酶相互作用的受体结构域<sup>[7]</sup>。与单组分调控系统相比,双组分调控系统输入与输出结构的分开扩大了细胞对信号感知的范围,同时磷酸基团转移结构域的增加使两个组分仍然紧密相连同时便于发挥信号的级联放大和反馈抑制作用<sup>[5]</sup>。双组分调控系统在细菌的各类信号调控系统中处于中心地位,在对细菌的生命活动调节中发挥重要作用。其中,Cpx (conjugative pilus expression) 调控系统是革兰氏阴性菌中普遍存在的一种非常重要的双组分调控系统。

在双组分调控系统的基础上,三组分调控系统(ThCRS)增加了一个独立的非组氨酸激酶形式的受体。这个信号受体在感知外界信号时会激活相应的组氨酸激酶,之后的调控机制与双组分调控系统的调控机制类似<sup>[8]</sup>。这类新受体的出现,使细菌可以对外界多种信号进行有效整合<sup>[9]</sup>。显然,三组分调控系统在对环境的敏感性和适应性方面更具优势。

## 1 Cpx 双组分调控系统简介

1980年,McEwen和Silverman发现大肠杆菌中的*cpxA* (conjugative pilus expression) 基因的突变体减少了F-质粒接合菌毛的表达<sup>[10]</sup>。几年之后,通过序列分析发现了双组分调控系统的组氨酸蛋白激酶CpxA,并且发现了*cpxA*基因上游的基因*cpxR*,*cpxR*基因编码感知CpxA蛋白同源的响应调节蛋白CpxR<sup>[11]</sup>,从此,对Cpx系统的研究日益深入。Cpx系统的主要功能是感受细胞膜压力变化,有选择的激活下游基因转录,实现对细菌生命活动的精细调节。

CpxR的靶基因主要有可编码热激蛋白酶的基因*degP*<sup>[12]</sup>,肽脯氨酰异构酶的基因*ppiA*<sup>[11]</sup>和*ppiD*<sup>[13]</sup>,二硫化物氧化还原酶的基因*dsbA*<sup>[12]</sup>,以及编码磷脂酰甘油合成过程中关键酶的基因*pgsA*<sup>[14]</sup>和编码磷脂酰乙醇胺合成过程中关键酶的基因*pssA*<sup>[15]</sup>等。除了对细胞压力做出响应外,Cpx系统也涉及细胞的接合<sup>[16]</sup>,侵入宿主细胞<sup>[17]</sup>以及生物膜的形成<sup>[18-19]</sup>等过程。

细胞膜周围环境及成分的各种变化<sup>[15]</sup>都有可能激活Cpx系统,如升高的pH<sup>[20]</sup>,错误折叠的蛋白<sup>[21]</sup>,盐离子浓度的改变<sup>[21]</sup>等,而Cpx系统在消除这些因素的过程中,会对菌体产生不同的影响。如Hirakawa等人发现Cpx系统可以通过调节药物外排

系统基因*acrD*来对细菌的抗药能力产生间接影响<sup>[22]</sup>,Cosma等发现*cpxA*基因的突变体可以抑制LacB-LacZ-PhoA分泌蛋白的毒性<sup>[23]</sup>。

Cpx双组分调控系统和其它双组分调控系统或调控因子具有一定的交叉调控。比如,Cpx系统和 $\sigma^E$ 因子的激活会增加内膜蛋白MzrA的表达量,继而导致MzrA-EnvZ的相互作用增强,从而激活EnvZ/OmpR系统;反之MzrA的表达量相对较弱,EnvZ/OmpR系统活性降低<sup>[24]</sup>。此外,有研究表明可能是Cpx系统作用于*degP*基因启动子与 $\sigma^E$ 因子一起激活DegP的表达,但是Cpx系统对DegP表达的激活需要依赖于 $\sigma^E$ 因子发挥作用<sup>[25]</sup>。本文主要介绍的是Cpx系统的组成及其在信号整合中对Cpx系统正负调节起关键作用的辅助蛋白NlpE和CpxP。

## 2 Cpx 双组分调控系统组成

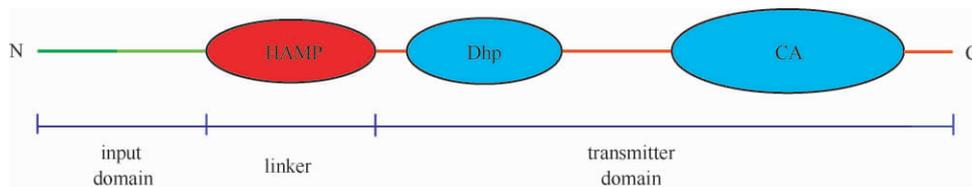
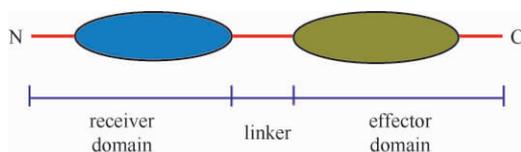
Cpx系统包括位于细胞内膜的组氨酸蛋白激酶CpxA,位于细胞质的响应调节蛋白CpxR,以及位于细胞周质的辅助调节蛋白CpxP。

### 2.1 CpxA

在Cpx双组分信号转导系统中,CpxA尤为重要,其功能是作为感受激酶(sensor kinase)<sup>[21]</sup>,序列对比(sequence alignment)表明CpxA属于第一类感受激酶<sup>[26]</sup>。CpxA镶嵌在细胞内膜上,通过一个连接区(HAMP linker)将位于细胞周质的输入域(input domain)和位于细胞质的转移域(transmitter domain)相连。转移域包括二聚化和组氨酸磷酸基团转移域(dimerization and histidine phosphotransfer, Dhp domain)和催化域(catalytic domain, CA domain)<sup>[27]</sup>,如图1所示。输入域感知外界变化,转移域作为激酶核心(kinase core),同时具有激酶和磷酸酶的活性<sup>[28]</sup>。大肠杆菌转移域中自磷酸化位点是His151。HAMP区将信号从输入域传递到转移域激酶核心。

### 2.2 CpxR

CpxR位于细胞质,属于OmpR/PhoB亚族的转录调节子<sup>[29-30]</sup>,由N末端接收域(N-terminal receiver domain)和C末端效应域(C-terminal effector domain)构成,二者通过一个柔性连接区域(flexible linker region)相连,如图2所示。在N末端接收域中,Asp51为磷酸化位点,C末端效应域作为目标基因的转录调节子调节细胞生命活动<sup>[27]</sup>。

图 1. CpxA 的结构图<sup>[21]</sup>Figure 1. The structure of CpxA<sup>[21]</sup>.图 2. CpxR 的结构图<sup>[21]</sup>Figure 2. The structure of CpxR<sup>[21]</sup>.

### 2.3 CpxP

Cpx 系统的第 3 个组分是辅助调节蛋白 CpxP<sup>[27]</sup>。CpxP 蛋白呈现二聚体结构,该二聚体通过两个互相缠绕成“左手”状<sup>[31]</sup>的单体构成。每个单体由两个高度保守的 LTxxQ 重复构型得以稳固,单体间通过四对盐桥和两对双氢键得到加强成为二聚体从而发挥其作用。基于其空间结构和生物化学的分析,CpxP 对于 Cpx 系统的抑制作用来源于 CpxP 二聚体的凹面带正电荷区域和 CpxA 的带负电区域之间的相互作用<sup>[32]</sup>。CpxP 二聚体像一个“盾牌”一样保护 CpxA 感受域不与一些诱导信号接触,从而使感受激酶处于“关”的状态。此外,CpxP 的空间结构也为 CpxP 如何感受到盐离子<sup>[32]</sup>、pH<sup>[31]</sup>、以及错误折叠的菌毛亚基<sup>[32]</sup>提供了一些解释。

## 3 Cpx 双组分调控系统信号整合

双组分调控系统的信号感知并不单单由 HK 输

入域来完成。事实上,许多双组分调控系统利用 HK、RR 以及辅助调节蛋白的各个结构域来整合信号<sup>[33]</sup>。就 Cpx 系统而言,各种信号最终通过其双组分 CpxA 与 CpxR 来影响 Cpx 系统的调控,此外,本文介绍两个研究比较深入的辅助调节蛋白 NlpE (new lipoprotein E) 和 CpxP,这两个蛋白分别对 Cpx 系统起着正负调控的作用。

### 3.1 CpxA 的作用

组氨酸激酶 CpxA 是一个重要的信号整合点。NlpE 对 Cpx 系统的诱导<sup>[34]</sup>以及 CpxP 对 Cpx 系统的抑制<sup>[35]</sup>都是首先作用于 CpxA 位于周质区域的部分而发挥诱导或抑制作用。CpxA 或许可感知到一些错误折叠的细胞膜蛋白,但其本质目前还不清楚,也许依赖于 CpxA 的信号整合可能涉及到一些目前未知的辅助调节蛋白<sup>[36]</sup>。

CpxA 同时具有对自身的激酶活性,对 CpxR 的磷酸激酶活性以及对 CpxR-P 的磷酸酶活性。当 CpxA 感受到信号时,通过自磷酸化使一个保守的组氨酸残基 His151 带上磷酸基团,然后将磷酸基团转移至位于细胞质的响应调节蛋白 CpxR 的 Asp51 残基上,使 CpxR 活化,磷酸化的 CpxR 作为转录调控因子结合靶基因启动子的特异序列,激活转录。如图 3 所示。当 Cpx 对信号的响应结束时,CpxA 的去磷酸化功能会把磷酸化的 CpxR (CpxR-P) 的磷酸基团水解下来,使 Cpx 信号系统复位。

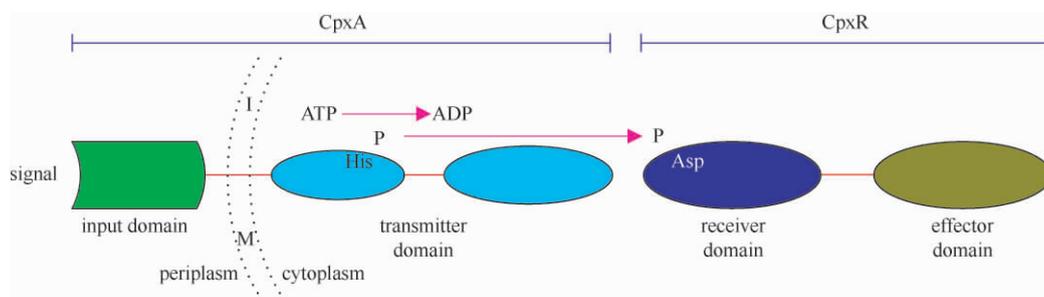


图 3. Cpx 系统的组氨酸激酶活性示意图

Figure 3. The activity of histidine kinase in Cpx.

因此 CpxR 的磷酸化程度取决于 CpxA 的磷酸激酶和磷酸酶的活性比<sup>[15]</sup>值,这一特点使 CpxA 能够根据外界信号的强弱和持续时间,将 CpxR 的活化程度控制在适度的范围。

### 3.2 CpxR 的作用

有些信号可以直接通过 CpxR 进入 Cpx 系统<sup>[36]</sup>。当细胞处于碳源过量的环境中,如存在大量葡萄糖、丙酮酸盐时,CpxR 可不通过 CpxA 而直接被激活。这种激活可能是通过 Pta-AckA 途径实现,因为此途径可以通过乙酰辅酶 A 产生乙酰磷酸基团<sup>[37]</sup>,而乙酰磷酸基团可以使 CpxR 在某些特殊的生长条件下磷酸化<sup>[12,34]</sup>。此外,Pta-AckA 途径的一些其它间接产物也会影响依赖于 CpxR 的 *cpxP* 基因的转录<sup>[37]</sup>,此影响是通过使 RNA 聚合酶  $\alpha$ -亚基上 K298 乙酰化来实现的<sup>[38]</sup>。尽管不依赖于 CpxA 的 CpxR 的活化机制还不明确,但是可以确定的是 CpxR 确实可以独立的感受一些和生长以及中央代谢相关的信号从而活化调控相关基因的表达<sup>[36]</sup>。

### 3.3 CpxP 的作用

CpxP 作为 Cpx 系统的调节子,当其过量表达时会抑制 Cpx 系统的激活。尽管缺乏直接的证据,但是人们认为这种 CpxP 和 CpxA 的相互作用是通过蛋白与蛋白之间的直接相互作用实现的。为了支持这种假说,Raivio 等人观察到当细胞质区域的 CpxA 发生突变时,CpxP 的抑制作用会消失<sup>[35]</sup>。此外,在离体的 CpxA-CpxR 体系中加入 CpxP 会减少 CpxA 的自磷酸化<sup>[39]</sup>。最近的 CpxP 蛋白结构学研究预测了 CpxP 与 CpxA 的直接相互作用位点,基因原位替换体内外试验进一步证实了这些结合位点<sup>[28]</sup>。

在有细胞膜压力存在的条件下,CpxP 的抑制功能不会发挥作用<sup>[40]</sup>,因为 CpxP 的凸面疏水裂缝会通过错误折叠的蛋白相结合而离开 CpxA<sup>[32,41]</sup>。离开 CpxA 后,CpxP 与错误折叠蛋白形成的复合体会被 DegP 蛋白酶识别为作用底物而将错误折叠的蛋白降解,同时释放出 CpxP<sup>[41-42]</sup>。此降解作用是 Cpx 系统中较为重要的一步,因为在 *degP* 突变体中,Cpx 系统不能被完全激活<sup>[42]</sup>。

CpxP 的主要功能并不是俘获 Cpx 系统中已知的膜压力,而是负责微调 Cpx 系统的活性。这种微调作用是通过阻止 CpxA 被不恰当的诱导,以及一旦压力解除迅速时使 Cpx 系统关闭来实现<sup>[35]</sup>。或者 CpxP 能够感知一些现在我们未曾发现的信号。

有趣的是,CpxP 和位于细胞周质的结合金属的蛋白 CnrX 和 ZraP 有结构相似性并且在 CpxP 的结晶体中发现了锌离子<sup>[31]</sup>。同时,CpxP 的结晶体也与位于细胞周质的 Spy 蛋白具有系列相似性,并且此种蛋白受到 Cpx 系统的正调节<sup>[43-44]</sup>。Spy 作为不依赖 ATP 的分子伴侣,所以,从序列相似性上去考虑,CpxP 除了具有信号传递作用外还具有适当的分子伴侣活性<sup>[32,44]</sup>。

CpxP 会抑制毒性膜蛋白的表达,包括错误折叠的菌毛亚基<sup>[41,45]</sup>。比如当 CpxP 表达量相对较小时,P 菌毛表达量增大,但 P 菌毛的正确折叠需要菌毛伴侣 PapD 的参与,在没有或缺乏 PapD 时,P 菌毛亚基会错误折叠<sup>[46]</sup>。此时,其错误折叠的菌毛亚基会激活 Cpx 系统,Cpx 系统借助 DegP 蛋白酶来降解错误折叠的 PapE 和 PapG,进而抑制 P 菌毛的合成<sup>[32,47]</sup>。

### 3.4 NlpE 的作用

Otto 和 Silhavy 阐明在细胞黏附到疏水表面时会激活 Cpx 系统,该过程 NlpE 发挥着重要作用<sup>[19]</sup>。这表明 NlpE 可能作为辅助调节蛋白在 Cpx 系统中发挥着向 CpxA 传递信号的作用。有证据表明 NlpE 除了感受表面黏附的作用外,也会感受一些其它的信号,比如 NlpE 有能力去感受一些细胞膜组成物质的变化,包括脂类、脂多糖、肽多糖等。

目前,对于 NlpE 激活 Cpx 的机制有如下两种解释:一种解释认为 NlpE 的 N 端不稳定,在细胞表面黏附时可以展开,使其 C 端和内膜直接接触;另一种解释认为当周质蛋白折叠机制超负荷运行时,NlpE 可能会不正确的折叠,从而没有被 Lol 转运机制运走以至于 NlpE 错误的到达内膜,从而激活 Cpx 系统。对 NlpE 可溶性区域结构分析得知 NlpE 构型的变化可以导致其与 CpxA 的直接相互作用<sup>[48]</sup>。

## 4 总结和展望

在细菌中,双组分信号转导系统是最常见的,因此研究双组分信号转导系统对于我们了解细菌的适应性是非常重要的。Cpx 双组分信号转导系统可感受环境变化并对 pH 值、错误折叠蛋白等信号做出响应,该响应过程主要是通过 Cpx 系统的双组分蛋白 CpxA 和 CpxR 来实现的,辅助调节蛋白 NlpE 和 CpxP 完善了此系统的功能。CpxR 可直接感受生长

和代谢信号,但多数信号,如错误折叠蛋白等直接作用于 CpxA,使其自体磷酸化并激活 CpxR 生成 CpxR-P,从而调控相关基因的表达,进而调节细菌的生命活动。CpxR 对各种靶基因的调控序列具有不同的亲和性<sup>[35]</sup>,CpxA,CpxR 和 CpxP 相互调控,将 CpxR-P 控制在不同的水平,根据 CpxR-P 信号的强弱,CpxR 可以有选择地激活下游基因的转录,从而实现了对细菌生命活动的精细调节。

此外,虽然对于 Cpx 系统的研究获得了许多突破性的进展,但 CpxA 感知信号分子的本质是什么?是否存在额外的辅助调节蛋白将信号传递给 CpxA? NlpE 如何与 CpxA 直接相互作用? CpxP 是否确定具有分子伴侣性质,若有,其作用机制是什么?不依赖于 CpxA 的 CpxR 的活化机制有哪些,这些机制又是如何发挥作用的?以及 CpxR 如何调控相关基因的表达,即具体的蛋白基因相互作用、结合位点是什么?这些都是研究中要面对的巨大的挑战,也是目前该领域研究的热点。虽然诸多问题亟待解决,但目前我们已经获得了大肠杆菌 CpxP 的晶体结构<sup>[32]</sup>,因此 Cpx 双组分系统的研究可借鉴所获得 CpxP 结晶的方法来进一步获得 CpxA 和 CpxR 的晶体结构,从而为研究 Cpx 系统蛋白的相互作用以及蛋白对基因的调控提供结构学基础,同时通过最新的生物学技术及膜蛋白研究方法,可以更深入地阐明其信号转导机制。

## 参考文献

- [1] Conrad M. Cross-scale information processing in evolution, development and intelligence. *Biosystems*, 1996, 38 (2) : 97-109.
- [2] 林向民, 彭宣究. 大肠埃希氏菌 K12 外膜蛋白耐药蛋白质组及其调节新机制的研究. 中山大学的博士学位论文, 2009.
- [3] 王妍妍, 莫照兰. Cpx 双组分调控系统在鳗弧菌应对环境压力和致病性中的作用. 中国科学院海洋研究所的硕士学位论文, 2011.
- [4] Ulrich LE, Koonin EV, Zhulin IB. One-component systems dominate signal transduction in prokaryotes. *Trends Microbiology*, 2005, 13 (2) : 52-56.
- [5] Galperin MY. A census of membrane-bound and intracellular signal transduction proteins in bacteria: bacterial IQ, extroverts and introverts. *BMC Microbiology*, 2005, 5 (1) : 35.
- [6] 杨君宁, 彭宣究. 大肠埃希氏菌 TolC 与 OmpF、OmpC 及其双调节系统相互关系的研究. 中山大学的博士学位论文, 2010.
- [7] Grigoroudis AI, Panagiotidis CA, Lioliou EE. Molecular modeling and functional analysis of the AtoS-AtoC two-component signal transduction system of *Escherichia coli*. *Biochimica et Biophysica Acta*, 2007, 1770 (8) : 1248-1258.
- [8] Lucana DOD, Groves MR. The three-component signaling system HbpS-SenS-SenR as an example of a redox sensing pathway in bacteria. *Amino Acids*, 2009, 37 (3) : 479-486.
- [9] Goodman AL, Merighi M, Hyodo M, Ventre I, Filloux A, Lory S. Direct interaction between sensor kinase proteins mediates acute and chronic disease phenotypes in a bacterial pathogen. *Genes & Development*, 2009, 23 (2) : 249-259.
- [10] McEwen J, Silverman P. Chromosomal mutations of *Escherichia coli* that alter expression of conjugative plasmid functions. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 1980, 77 (1) : 513-517.
- [11] Dong J, Iuchi S, Kwan HS, Lu Z, Lin ECC. The deduced amino-acid sequence of the cloned cpxR gene suggests the protein is the cognate regulator for the membrane sensor, CpxA, in a two-component signal transduction system of *Escherichia coli*. *Gene*, 1993, 136 (1) : 227-230.
- [12] Pogliano J, Lynch AS, Belin D, Lin EC, Beckwith J. Regulation of *Escherichia coli* cell envelope proteins involved in protein folding and degradation by the Cpx twocomponent system. *Genes & Development*, 1997, 11 (9) : 1169-1182.
- [13] Dartigalongue C, Raina S. A new heat-shock gene, ppiD, encodes a peptidyl-prolyl isomerase required for folding of outer membrane proteins in *Escherichia coli*. *EMBO Journal*, 1998, 17 (14) : 3968-3980.
- [14] Itou A, Matsumoto K, Hara H. Activation of the Cpx phosphorelay signal transduction system in acidic phospholipid-deficient pgsA mutant cells of *Escherichia coli*. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 2012, 421 (2) : 296-300.
- [15] Danese PN, Silhavy TJ. CpxP, a stress-combative member of the Cpx regulon. *Journal of Bacteriology*, 1998, 180 (4) : 831-839.
- [16] Silverman PM. Host cell-plasmid interactions in the expression of DNA donor activity by F + strains of

- Escherichia coli* K-12. *Bioessays*, 1985, 2 (6) : 254-259.
- [17] Leclerc GJ, Tartera C, Metcalf ES. Environmental regulation of *Salmonella typhi* invasion-defective mutants. *Infection and Immunity*, 1998, 66 (2) : 682-691.
- [18] Dorel C, Vidal O, Prigent-Combaret C, Vallet I, Lejeune P. Involvement of the Cpx signal transduction pathway of *E. coli* in biofilm formation. *FEMS Microbiology Letters*, 1999, 178 (1) :169-175.
- [19] Otto K, Silhavy TJ. Surface sensing and adhesion of *Escherichia coli* controlled by the Cpx-signaling pathway. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 2002, 99 (4) : 2287-2292.
- [20] Nakayama S, Watanabe H. Involvement of cpxA, a sensor of a two-component regulatory system, in the pH dependent regulation of expression of *Shigella sonnei* virF gene. *Journal of Bacteriology*, 1995, 177 (17) : 5062-5069.
- [21] Sabine H, Rebecca K, Volker S. Signal integration by the Cpx-envelope stress system. *FEMS Microbiology Letters*, 2012, 326 (1) : 12-22.
- [22] Hirakawa H, Nishino K, Hirata T, Yamaguchi A. Comprehensive studies of drug resistance mediated by overexpression of response regulators of two-component signal transduction systems in *Escherichia coli*. *Journal of Bacteriology*, 2003, 185 (6) : 1851-1856
- [23] Cosma CL, Danese PN, Carlson JH, Silhavy TJ, Snyder WB. Mutational activation of the Cpx signal transduction pathway of *Escherichia coli* suppresses the toxicity conferred by certain envelope-associated stresses. *Molecular Microbiology*, 1995, 18 (3) : 491-505.
- [24] Gerken H, Misra R. MzrA-EnvZ interactions in the periplasm influence the EnvZ/OmpR two-component regulon. *Journal of Bacteriology*, 2010, 192 (23) : 6271-6278.
- [25] Danese PN, Snyder WB, Cosma CL, Davis LJ, Silhavy TJ. The Cpx two-component signal transduction pathway of *Escherichia coli* regulates transcription of the gene specifying the stress-inducible periplasmic protease, DegP. *Genes & Development*, 1995, 9 (4) : 387-398.
- [26] Dutta R, Qin L, Inouye M. Histidine kinases: diversity of domain organization. *Molecular Microbiology*, 1999, 34 (4) : 633-640.
- [27] MacRitchie DM, Buelow DR, Price NL, Raivio TL. Two-component signaling and gram negative envelope stress response systems. *Advances in Experimental Medicine and Biology*, 2008, 631 : 80-110.
- [28] Yamamoto K, Ishihama A. Characterization of copper-inducible promoters regulated by CpxA/CpxR in *Escherichia coli*. *Bioscience Biotechnology and Biochemistry*, 2006, 70 (7) : 1688-1695.
- [29] Dong JM, Iuchi S, Kwan HS, Lu Z, Lin ECC. The deduced amino-acid sequence of the cloned cpxR gene suggests the protein is the cognate regulator for the membrane sensor, CpxA, in a two-component signal transduction system of *Escherichia coli*. *Gene*, 1993, 136 (1) : 227-230.
- [30] Kenney LJ. Structure/function relationships in OmpR and other winged-helix transcription factors. *Current Opinion in Microbiology*, 2002, 5 (2) : 135-141.
- [31] Thede GL, Arthur DC, Edwards RA, Buelow DR, Wong JL, Raivio TL, Glover JNM. Structure of the periplasmic stress response protein CpxP. *Journal of Bacteriology*, 2011, 193 (9) :2149-2157.
- [32] Zhou X, Keller R, Volkmer R, Krauss N, Scheerer P, Hunke S. Structural basis for two-component system inhibition and pilus sensing by the auxiliary CpxP protein. *Journal of Biochemistry*, 2011, 286 (11) : 9805-9814.
- [33] Buelow DR, Raivio TL. Three (and more) component regulatory systems-auxiliary regulators of bacterial histidine kinases. *Molecular Microbiology*, 2010, 75 (3) : 547-566.
- [34] Raivio TL, Silhavy TJ. Transduction of envelope stress in *Escherichia coli* by the Cpx two-component system. *Journal of Biochemistry*, 1997, 179 (24) : 7724-7733.
- [35] Raivio TL, Popkin DL, Silhavy TJ. The Cpx envelope stress response is controlled by amplification and feedback inhibition. *Journal of Bacteriology*, 1999, 181 (17) : 5263-5272.
- [36] Stefanie L, Raivio TL. Just scratching the surface: an expanding view of the Cpx envelope stress response. *FEMS Microbiology Letters*, 2011, 326 (1) : 12-22.
- [37] Wolfe AJ, Parikh N, Lima BP, Zemaitaitis. Signal integration by the two-component signal transduction response regulator CpxR. *Journal of Bacteriology*, 2008, 190 (7) : 2314-2322.
- [38] Lima BP, Antelmann H, Gronau K, Chi BK, Becher D, Wolfe AJ. Involvement of protein acetylation in glucose-induced transcription of a stress-responsive promoter. *Molecular Microbiology*, 2011, 81 (5) : 1190-1204.
- [39] Fleischer R, Heermann R, Jung K, Hunke S. Purification, reconstitution, and characterization of the CpxRAP envelope stress system of *Escherichia coli*.

- Journal of Biochemistry*, 2007, 282 (12) : 8583-8593.
- [40] DiGiuseppe PA, Silhavy TJ. Signal detection and target gene induction by the CpxRA two-component system. *Journal of Bacteriology*, 2003, 185 (8) : 2432-2440.
- [41] Isaac DD, Pinkner JS, Hultgren SJ, Silhavy TJ. The extracytoplasmic adaptor protein CpxP is degraded with substrate by DegP. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 2005, 102 (49) : 17775-17779.
- [42] Buelow DR, Raivio TL. Cpx signal transduction is influenced by a conserved N-terminal domain in the novel inhibitor CpxP and the periplasmic protease DegP. *Journal of Bacteriology*, 2005, 187 (19) : 6622-6630.
- [43] Kwon E, Kim DY, Gross CA, Gross JD, Kim KK. The crystal structure *Escherichia coli* Spy. *Protein Science*, 2010, 19 (11) : 2252-2259.
- [44] Quan S, Koldewey P, Tapley T, Kirsch N, Ruane KM, Pfizenmaier J, Shi R, Hofmann S, Foit L, Ren G., Jakob U, Xu Z, Cygler M, Bardwell JC. Genetic selection designed to stabilize proteins uncovers a chaperone called Spy. *Nature Structural & Molecular Biology*, 2011, 18 (3) : 262-269.
- [45] Zhou X, Keller R, Volkmer R, Krauss N, Scheerer P, Hunke S. Structural basis for two-component system inhibition and pilus sensing by the auxiliary CpxP protein. *Journal of Biological Chemistry*, 2011, 286 (11) : 9805-9814.
- [46] Sauer FG., Pinkner JS, Waksman G., Hultgren SJ, Neves D, Dessen A. Microbiology: Sensing stability. *Nature Chemical Biology*, 2012, 8 (8) : 543-551.
- [47] Jones CH, Danese PN, Pinkner JS, Silhavy TJ, Hultgren ST. The chaperone-assisted membrane release and folding pathway is sensed by two signal transduction systems. *The EMBO Journal*, 1997, 16 (21) : 6394-6406.
- [48] Hirano Y, Hossain MM, Takeda K, Tokuda H, Miki K. Structural studies of the Cpx pathway activator NlpE on the outer membrane of *Escherichia coli*. *Structure*, 2007, 15 (8) : 963-976.

## Cpx two-component regulatory system in Gram-negative bacteria—A review

Le Xu, Xiaohui Zhou<sup>\*</sup>, Xiaoliang He

School of Bioscience and Bioengineering, Hebei University of Science and Technology, Shijiazhuang 050018, Hebei Province, China

**Abstract:** Bacteria predominantly adapt to environmental changes to ensure their growth and proliferation through one-component, two-component and three-component regulatory systems. Conjugative pilus expression (Cpx) system is one of the two-component regulatory systems in gram-negative bacteria. It is composed of the membrane-anchored sensor kinase CpxA, the cytosolic responding regulator CpxR and the accessory protein CpxP in the periplasm. In this review, the components of the Cpx system and their structural characteristics were introduced and the latest research on Cpx signal integration was summarized. Further attempts to better understand the mechanisms were also proposed.

**Keywords:** gram-negative bacteria, Cpx two-component regulatory systems, CpxA, CpxR, CpxP

(本文责编:王晋芳)

Supported by the National Natural Science Foundation of China (31270077, 31100044), by the National Natural Science Foundation of Hebei Province (C2012208019), by the "100 Talent Program" of Hebei Province (E2012100005) and by the Key Research Foundation of Hebei Human Resource Department for Returned Scholars (2011-02)

<sup>\*</sup> Corresponding author. Tel/Fax: +86-311-81668487; E-mail: zhouxh2003@alicyun.com

Received: 21 June 2013/Revised: 12 October 2013