

微生物学报 *Acta Microbiologica Sinica*  
55(11):1378-1384; 4 November 2015  
ISSN 0001-6209; CN 11-1995/Q  
http://journals.im.ac.cn/actamicrocn  
doi: 10.13343/j.cnki.wsxb.20150117

## 细菌脂肪酶基因表达调控的研究进展

查代明<sup>1,2</sup>, 闫云君<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>华中科技大学生命科学与技术学院, 湖北 武汉 430074

<sup>2</sup>九江学院药学与生命科学学院, 江西 九江 332000

**摘要:** 微生物脂肪酶是商品化脂肪酶的主要来源, 广泛应用于食品、饮料、油脂、洗涤剂、饲料、纺织、皮革、新型材料、精细化工、医药、化妆品、造纸、污染治理、生物能源等工业领域。与真菌脂肪酶相比, 细菌脂肪酶催化反应的类型更多、活性更高、稳定性更好, 其中又以假单胞菌属 (*Pseudomonas*) 脂肪酶的性能最为优越。截至目前, 常规育种、培养基和发酵条件优化等策略均不能从根本上解决细菌脂肪酶产量低的问题, 而阐明其基因表达调控的分子机制、筛选主效调控因子、构建同源表达基因工程菌是解决问题的有效办法。本文从直接调控因子、群体感应系统、Gac/Rsm 信号转导系统、调控 Gac/Rsm 信号转导系统的调控因子、其他调控因子等方面, 对细菌脂肪酶基因表达调控的研究进展进行了评述; 结合作者的相关研究结果, 对该领域的研究前景进行了展望, 以期对基因工程菌的构建提供有益参考。

**关键词:** 细菌脂肪酶, 基因表达调控, 双组份系统, 群体感应系统, Gac/Rsm 信号转导系统

**中图分类号:** Q786      **文章编号:** 0001-6209(2015)11-1378-07

脂肪酶 (triacylglycerol acylhydrolases, EC 3.1.1.3) 是一类重要的酯解酶, 属于  $\alpha/\beta$  型水解酶超家族<sup>[1]</sup>。根据氨基酸序列同源性可将酯解酶分为 8 个家族, 其中 I 家族又分为 7 个亚家族, 且大多数脂肪酶属于这一家族<sup>[2-3]</sup>。脂肪酶广泛存在于各种动物、植物和微生物中, 在油水界面上能催化脂肪酸甘油酯水解为甘油和脂肪酸, 而在微水相或非水相中能催化多种化学反应, 如酯化反应、转酯反应、醇解反应、氨解反应等<sup>[4]</sup>。由细菌和真菌产生的脂肪酶具有资源丰富、催化活性多样、遗传操作简单、产量较高、不随季节波动的稳定供应、生产周期短、生产成本低、稳定性好等优点, 因此已成为商品化脂肪酶的主要来源, 并广泛应用于食品、饮料、油脂、洗

涤剂、饲料、纺织、皮革、新型材料、精细化工、医药、化妆品、造纸、环境治理和生物能源等工业领域<sup>[1,3,5-6]</sup>。与真菌脂肪酶相比, 细菌脂肪酶在水相、有机相中催化反应的类型更多、活性更高、稳定性更好, 其中又以假单胞菌属 (*Pseudomonas*) 脂肪酶的性能最为优越<sup>[1-2,7]</sup>。

然而, 细菌脂肪酶 (特别是假单胞菌属脂肪酶) 产量普遍不高, 常规育种、发酵条件优化、异源表达等策略均不能从根本上提高其产量, 其主要原因在于细菌脂肪酶的分泌需要同源分泌系统, 且多数细菌脂肪酶基因均拥有同源折叠酶基因, 必须一同表达, 才能产生折叠正确和功能正常的分泌型脂肪酶; 如果进行异源表达, 则受到表达宿主的分泌系统和

**基金项目:** 深圳市创新基金 (JCYJ20120831111657864); 国家“863 计划” (2011AA02A204)

\* 通信作者。Tel/Fax: +86-27-87792213; E-mail: yanyunjun@hust.edu.cn

**作者简介:** 查代明 (1985-), 男, 江西九江人, 讲师, 博士, 主要从事微生物脂肪酶资源及基因表达调控研究。E-mail: dmzha2015@126.com

**收稿日期:** 2015-03-18; **修回日期:** 2015-04-24

折叠酶限制,多表达为包涵体,需经复杂、繁琐的复性步骤,才能得到折叠不佳和酶活力不高的酶蛋白;如果通过同源表达,问题变得相对简单,但细菌脂肪酶基因一般均受到严格的表达调控,机制和途径复杂,至今仍不十分明晰<sup>[5,8]</sup>。本课题组对细菌脂肪酶基因的表达也进行了一些探索,比如,通过 T7 启动子结合同源表达的洋葱伯克霍尔德菌 (*Burholderia cepacia*) G63 脂肪酶基因工程菌,其水解酶活力仅能提高 10 倍左右,为 200 U/mL;荧光假单胞菌 (*P. fluorescens*) 26-2 脂肪酶基因在大肠杆菌 (*Escherichia coli*) 和毕赤酵母 (*Pichia pastoris*) 中异源表达,酶活力仅能提高 1-5 倍;对其它假单胞菌属脂肪酶基因工程菌的研究,也均不能有效提高表达活力。这些工作提示,细菌脂肪酶基因的高效表达最好选择同源表达策略,并从基因表达调控的分子机制入手,全面阐明细菌脂肪酶基因表达调控的分子网络,筛选出主效调控因子,再运用基因操作技术,有针对性地敲除或下调负调控因子、过表达正调控因子,构建高效同源表达细菌脂肪酶的“细胞工厂”,满足我国油脂加工、洗涤、造纸、制革、生物材料、生物能源、精细化工、手性药物合成等行业对细菌脂肪酶的迫切需求。

但是综观文献,目前人们对细菌脂肪酶基因表达调控的分子机制了解十分有限,研究工作仍处在初期探索阶段,未见有较为全面、系统的研究报道,尚缺乏支撑构建高效基因工程菌的理论基础和技术指导。至今,尽管人们已克隆了大量的细菌脂肪酶基因,但涉及其表达调控机制的研究工作报道较少,信息十分零散。从目前的知识来看,细菌脂肪酶基因的表达主要受到双组份系统 (two-component system)、群体感应系统 (quorum sensing system)、Gac/Rsm 信号转导系统 (Gac/Rsm signal transduction system) 等的调控。

## 1 直接调控因子

一些研究表明,细菌脂肪酶基因的转录受到双组份系统 NtrB/C 蛋白超家族的直接调控。NtrB 蛋白超家族是一类感应蛋白激酶 (sensor kinase),能感应胞外未知信号分子;而 NtrC 蛋白超家族是一类反应调控因子 (response regulator),能与上游激活序列 (upstream activating sequence, UAS) 结合,从而激活

基因转录。NtrB 受信号分子刺激后发生自磷酸化,激活的 NtrB 随即磷酸化 NtrC, NtrC 被激活后行使转录激活因子功能<sup>[9]</sup>。到目前为止,铜绿假单胞菌 (*P. aeruginosa*) 的 CbrA/B 和产碱假单胞菌 (*P. alcaligenes*) 的 LipQ/R 被证实直接激活脂肪酶基因的转录,其中, *lipQ/R* 的过表达使脂肪酶产量增加 3 倍<sup>[5,8,10-11]</sup>。但是, NtrC 蛋白超家族需要  $\sigma^{54}$  的协助才能激活基因转录,  $\sigma^{54}$  缺陷型菌株基本不产脂肪酶<sup>[11]</sup>。在铜绿假单胞菌中,脂肪酶操纵子 *lipA/lipH* 包含 2 个启动子  $P_1$  和  $P_2$ ,前者启动脂肪酶基因转录需要  $\sigma^{54}$ ,而后者的生理功能至今尚不清楚,有待进一步确认<sup>[5,8]</sup>。

此外,醋酸钙不动杆菌 (*Acinetobacter calcoaceticus*) 脂肪酶基因 *lipA* 的表达受到 LipA 水解产物脂肪酸的强烈抑制,提示在 *lipA* 的表达调控网络中还可能存在一个(些)未知调控蛋白,该(类)蛋白结合脂肪酶水解产物脂肪酸后会抑制 *lipA* 的表达<sup>[8]</sup>。本课题组对防御假单胞菌 (*P. protegens*) 脂肪酶基因 *lipA* 的表达调控进行了初步研究,结果表明 RsmA 通过未知途径抑制 *lipA* 的转录<sup>[12]</sup>。作为 RNA 结合蛋白, RsmA 不可能在转录水平直接抑制 *lipA* 的表达,暗示在 *lipA* 的表达调控网络中存在受 RsmA 调控的转录因子。这些结果显示,细菌脂肪酶基因的转录还可能受到其他调控因子的直接调控,仍有待进一步研究。

## 2 群体感应系统

诸多研究表明,细菌脂肪酶基因的表达具有细胞密度依赖性,即群体感应 (quorum sensing, QS)。QS 是细菌利用自身分泌自诱导剂 (autoinducer) 作为信号分子进行交流的一个过程。QS 系统参与调控诸多生物学功能,包括多种酶、抗生素的合成,毒性因子产生,胞外多糖合成,生物膜、孢子的形成等。到目前为止, QS 系统激活脂肪酶基因表达的分子机制只在铜绿假单胞菌中得到阐释,其对 *lipA* 的转录激活是通过 CbrA/B 介导的<sup>[5,8,13-15]</sup>。

在细菌 QS 系统中,细菌通过产生一些可扩散的小分子物质(自诱导剂)来感应群体密度。大部分革兰氏阳性菌以小肽为 QS 信号分子,而革兰氏阴性菌则以各类小分子物质为 QS 信号分子,其中最具有代表性的小分子物质是酰基高丝氨酸内酯 (acyl-

homoserine lactones, acyl-HSL)。大多数革兰氏阴性菌均以 acyl-HSL 为 QS 信号分子,这类信号分子由 LuxI 型信号合成酶产生,并随着群体密度的增加而逐渐积累,当浓度达到某一阈值时,就会结合到 LuxR 型受体上,使后者行使转录激活因子功能<sup>[16-17]</sup>。

acyl-HSL 介导的细菌 QS 系统被认为是经典 QS 系统,其中以铜绿假单胞菌的 QS 系统最具代表性,它拥有两个 acyl-HSL 信号系统,分别是 Las、Rhl 系统。Las 系统包括合成 3-氧十二酰-L-高丝氨酸内酯 [N-(3-oxo-dodecanoyl)-homoserine lactone, 3-oxo-C12-HSL] 的信号合成酶 LasI 和信号受体 LasR,后者结合 3-oxo-C12-HSL 后会激活某些靶基因转录,并且这种激活需要 3-oxo-C12-HSL 依赖的 LasR 多聚化。Rhl 系统是第 2 个 QS 系统,包括合成 N-丁酰-L-同型丝氨酸内酯 (N-butanoyl-homoserine lactone, C4-HSL) 的信号合成酶 RhlI 和信号受体 RhlR,后者结合 C4-HSL 后能诱导某些基因转录。虽然 RhlR 的转录激活活性需要 C4-HSL,但它的二聚化则不需要 C4-HSL。LasR 和 RhlR 也能诱导各自的同源信号合成酶基因转录,形成一个正反馈回路,这一过程也被称为自我诱导,能够引起信号分子快速增加和扩散。这两个 QS 系统间形成级联关系,即 Las 系统激活 Rhl 系统,也就是说 LasR-3-oxo-C12-HSL 激活 *rhlI/R* 转录<sup>[15-18]</sup>。

### 3 Gac/Rsm 信号转导系统

双组份系统 GacS/A 被证明在细菌脂肪酶基因表达调控中发挥着重要作用,*gacS* 或 *gacA* 或 *gacS/A* 缺失会抑制脂肪酶基因表达<sup>[5, 8, 12, 15, 19-20]</sup>。在铜绿假单胞菌 PAO1 中,*gacA* 的缺失使脂肪酶产量减少 3 倍,而 *gacA* 的过表达则能使脂肪酶产量增加 1.4 倍<sup>[19]</sup>。该系统在革兰氏阴性菌中高度保守,由膜结合感应蛋白激酶 GacS 和反应调控因子 GacA 组成;GacS 包含 HAMP 功能域 (histidine kinase, adenylyl cyclase, methyl-accepting protein, and phosphatase)、HisKA 功能域 (histidine kinase)、HATPase-c 功能域 (ATPase)、REC 功能域 (response regulator) 和 Hpt 功能域 (phosphotransfer),其中 HAMP 功能域负责 GacS-GacS 相互作用、HisKA/HATPase-c/REC 功能域负责 GacS-GacA 相互作用<sup>[21]</sup>。

GacS 感应未知信号分子发生自磷酸化,与 GacA 相互作用将磷酸基团转移给后者,磷酸化 GacA 行使转录激活因子功能,启动 CsrB 家族小调控 RNAs (small regulatory RNAs, sRNAs) 基因转录<sup>[22-23]</sup>。GacA 在铜绿假单胞菌中只直接调控 *rsmY*、*rsmZ* 转录<sup>[24]</sup>,而在丁香假单胞菌 (*P. syringae*) 中还直接调控其他基因转录<sup>[25]</sup>。CsrB 家族 sRNAs 富含 GGA 基序并形成多个茎环结构,能特异性与 CsrA/RsmA 家族蛋白结合,缓解后者对靶基因的翻译抑制<sup>[22-23, 26]</sup>。CsrA/RsmA 家族是一类 RNA 结合蛋白,能与靶 mRNA 5' 非翻译区 (untranslated region, UTR) 上的多个特异基序 (经常是 GGA 或 ANGGA) 结合,由于其中一个特异基序靠近或覆盖 SD (Shine-Dalgarno) 序列,从而阻止 30S 核糖体亚基被招募到核糖体结合位点 (ribosome-binding site, RBS),最终抑制靶 mRNA 翻译<sup>[22]</sup>。

在铜绿假单胞菌中,CsrA/RsmA 家族成员为 RsmA,特异性结合到 *lasI*、*rhlI* mRNAs 5'UTR 上从而导致它们的翻译抑制,最终导致 *lipA* 表达的抑制<sup>[8, 15]</sup>。然而,RsmA 还通过另一未知途径促进 *lipA* 表达,*rsmA* 的缺失使脂肪酶产量减少 1.9 倍,而 *rsmZ* 的过表达则使脂肪酶产量减少 7 倍;这种促进作用可能是间接的,即通过抑制 *lipA* 表达抑制因子来实现,具体抑制因子还有待进一步鉴定<sup>[27]</sup>。在缺乏经典 QS 系统的防御假单胞菌中,CsrA/RsmA 家族成员为 RsmA 和 RsmE。本课题组的研究显示,它们调控脂肪酶基因表达的途径有所不同,RsmA 主要通过抑制 *rsmE* 翻译激活 *lipA* 翻译、其次通过未知途径抑制 *lipA* 转录,RsmE 通过结合到 *lipA* mRNA SD 序列直接抑制 *lipA* 翻译<sup>[12]</sup>。

综上所述,在铜绿假单胞菌中,Gac/Rsm 信号转导系统对 *lipA* 表达的调控具有双重性,主要通过 Gac/Rsm/QS/Cbr/LipA 途径促进 *lipA* 表达,其次通过 Gac/Rsm/? /LipA 途径抑制 *lipA* 表达 (图 1)。本课题组的研究表明,Gac/Rsm 信号转导系统在防御假单胞菌中通过其他途径调控 *lipA* 表达,主要通过 Gac/RsmE/LipA 途径直接激活 *lipA* 翻译,其次通过 Gac/RsmA/? /LipA 途径间接激活 *lipA* 转录<sup>[12]</sup>。Gac/Rsm 信号转导系统在防御假单胞菌中采取不同的调控途径激活 *lipA* 表达,可能是由于 RsmE 直接结合到 *lipA* mRNA SD 序列上、防御假单胞菌缺乏经典 QS 系统等原因。

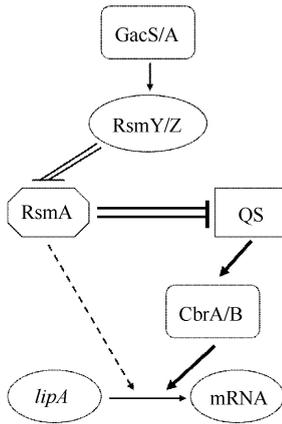


图1. 铜绿假单胞菌中 Gac/Rsm 信号转导系统对脂肪酶基因表达的调控

Figure 1. Regulation of lipase gene expression by the Gac/Rsm signal transduction system in *P. aeruginosa*. arrow, positive effect; bar, negative effect; double line, physical interaction.

## 4 调控 Gac/Rsm 信号转导系统的调控因子

Gac/Rsm 信号转导系统在革兰氏阴性菌中高度保守,由 GacS/A、CsrA 家族(RsmY/Z 或 RsmX/Y/Z)和 CsrA/RsmA 家族(RsmA 或 RsmA/E)组成,每个组份都受到多个调控因子的精细调控以适应复杂多变的生境(图2),这些调控因子通过调控 Gac/Rsm 信号转导系统,最终达到调控脂肪酶基因表达的目的。

膜结合感应蛋白激酶 RetS 与 GacS 相互作用形成异二聚体,阻止后者将磷酸基团转移至 GacA,抑制 GacA 的转录活性<sup>[24,28]</sup>;SuhB 与 RetS 的功能类似,通过未知途径抑制 *gacA* 转录<sup>[29]</sup>。此外,蛋白酶 Lon 通过影响 GacA 稳定性负调控后者的转录活性<sup>[30]</sup>。膜结合感应蛋白激酶 LadS 的功能与 RetS 相反,与 GacS 形成异二聚体促进 GacA 磷酸化,激活 GacA 的转录活性<sup>[21]</sup>;膜结合感应蛋白激酶 PA1611 也具有类似功能,与 RetS 形成异二聚体阻止后者抑制 GacS 的磷酸基团转移功能,促进 GacA 的转录活性<sup>[31]</sup>。

RNA 结合蛋白 Hfq 特异性与 RsmY 结合,有助于 RsmY 的稳定从而抑制 RsmA 的调控功能<sup>[32]</sup>。HptB 对 CsrB 家族的调控也具有特异性,其通过未

知途径特异性抑制 *rsmY* 转录<sup>[33]</sup>。对于 RsmZ 的特异性调控,Psra 和 IHF 直接激活 *rsmZ* 转录<sup>[22,26]</sup>,MvaT 和 MvaU 直接抑制 *rsmZ* 转录<sup>[24]</sup>,双组份系统 BfiS/R 除了通过直接激活 *cafA* (RNase G) 表达从而特异性降解 RsmZ 外,还通过另一未知途径抑制 *rsmY*、*rsmZ* 转录<sup>[34]</sup>。此外,双组份系统 AlgZ/R 间接激活 *rsmY*、*rsmZ* 转录<sup>[35]</sup>。

对于 CsrA/RsmA 家族的基因表达调控,GidA (glucose-inhibited division protein A) 和 TrmE (tRNA modification GTPase) 被发现以未知机制正调控 *rsmA*、*rsmE* 表达<sup>[36]</sup>。

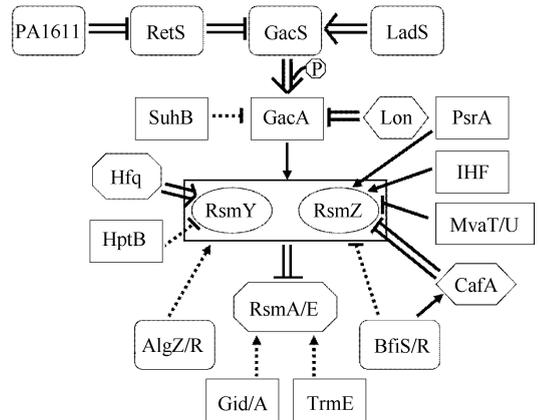


图2. 调控 Gac/Rsm 信号转导系统的调控因子

Figure 2. Regulation of the Gac/Rsm signal transduction system by other regulators. Solid line, direct regulation; dotted line, indirect regulation; double line, physical interaction; arrow, positive effect; bar, negative effect.

## 5 其他调控因子

在铜绿假单胞菌中,QS 系统除了受到 Gac/Rsm 信号转导系统调控外,还受到其它调控因子的调控,它们或是通过影响信号受体的活性或表达,或是通过影响信号分子的产生来调控 QS 系统(图3)<sup>[14-15,18,37]</sup>,从而最终达到调控 *lipA* 表达的目的。此外,铜绿假单胞菌脂肪酶 LipA 的产生还受到精氨酸代谢调控因子 ArgR 的调控,*argR* 缺失显著性增加 LipA 产量达 2.3 倍之多,精氨酸的加入进一步促进这一效应,表达量增加 9 倍,具体机制有待进一步研究<sup>[38]</sup>。在荧光假单胞菌中,双组份系统 EnvZ/OmpR 抑制 *lipA* 表达,其中 *envZ* 的缺失能使脂肪酶产量增加 2-4 倍,但其调控机制亦尚不明晰<sup>[39]</sup>。

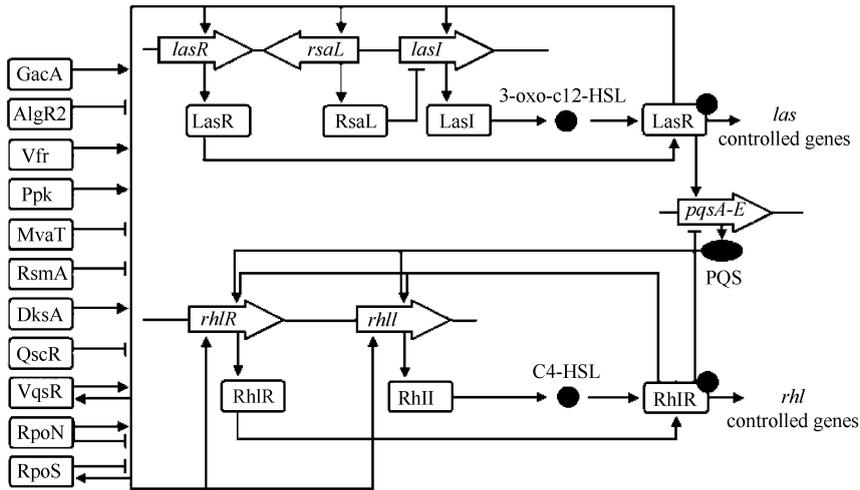


图 3. 铜绿假单胞菌中 Las 和 Rhl QS 系统的调控<sup>[37]</sup>

Figure 3. Regulation of the Las and Rhl QS systems in *P. aeruginosa*<sup>[37]</sup>. Arrow, positive effect; bar, negative effect.

## 6 展望

细菌脂肪酶,特别是假单胞菌属脂肪酶,在诸多生物技术应用中均发挥着重要作用,其规模化生产是诸多工业行业的迫切需求。然而,常规育种、发酵条件优化、异源表达等策略均不能大量生产细菌脂肪酶,一直是工业化应用的主要瓶颈,这主要是由于细菌脂肪酶基因的表达受到复杂调控网络的精细调控。目前的研究尚不能绘出调控细菌脂肪酶基因表达的精细调控网络,只获得了一些局部线索。未来可通过多组学(基因组、转录组、蛋白质组)手段,深入研究并阐明细菌脂肪酶基因表达调控的分子机理,筛选出细菌脂肪酶基因表达的主效调控因子,再利用基因操作技术,有针对性地构建高效表达脂肪酶的基因工程菌,以满足食品、饮料、油脂、洗涤剂、饲料、纺织、皮革、新型材料、精细化工、医药、化妆品、造纸、环境治理、生物能源等工业领域对细菌脂肪酶的巨大及迫切需求。

## 参考文献

[ 1 ] Gupta R, Gupta N, Rathi P. Bacterial lipases: an overview of production, purification and biochemical properties. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 2004, 64(6): 763-781.

[ 2 ] Arpigny JL, Jaeger KE. Bacterial lipolytic enzymes: classification and properties. *Biochemical Journal*, 1999, 343(1): 177-183.

[ 3 ] Jaeger KE, Eggert T. Lipases for biotechnology. *Current Opinion in Biotechnology*, 2002, 13(4): 390-397.

[ 4 ] Angkawidjaja C, Kanaya S. Family I.3 lipase: bacterial lipases secreted by the type I secretion system. *Cellular and Molecular Life Sciences*, 2006, 63(23): 2804-2817.

[ 5 ] Jaeger KE, Dijkstra BW, Reetz MT. Bacterial biocatalysts: molecular biology, three-dimensional structures, and biotechnological applications of lipases. *Annual Review of Microbiology*, 1999, 53: 315-351.

[ 6 ] Hasan F, Shah AA, Hameed A. Industrial applications of microbial lipases. *Enzyme and Microbial Technology*, 2006, 39(2): 235-251.

[ 7 ] Reetz MT, Jaeger KE. Overexpression, immobilization and biotechnological application of *Pseudomonas* lipases. *Chemistry and Physics of Lipids*, 1998, 93(1/2): 3-14.

[ 8 ] Rosenau F, Jaeger KE. Bacterial lipases from *Pseudomonas*: regulation of gene expression and mechanisms of secretion. *Biochimie*, 2000, 82(11): 1023-1032.

[ 9 ] Nishijyo T, Haas D, Itoh Y. The CbrA-CbrB two-component regulatory system controls the utilization of multiple carbon and nitrogen sources in *Pseudomonas aeruginosa*. *Molecular Microbiology*, 2001, 40(4): 917-931.

[ 10 ] Krzeslak J, Gerritse G, van Merkerk R, Cool RH, Quax WJ. Lipase expression in *Pseudomonas alcaligenes* is under the control of a two-component regulatory system. *Applied and Environmental Microbiology*, 2008, 74(5): 1402-1411.

[ 11 ] Krzeslak J, Papaioannou E, van Merkerk R, Paal KA, Bischoff R, Cool RH, Quax WJ. Lipase A gene transcription in *Pseudomonas alcaligenes* is under control of RNA polymerase  $\sigma_{54}$  and response regulator LipR. *FEMS Microbiology Letters*, 2012, 329(2): 146-153.

[ 12 ] Zha DM, Xu L, Zhang HJ, Yan YJ. The two-component

- GacS-GacA system activates *lipA* translation by RsmE but not RsmA in *Pseudomonas protegens* Pf-5. *Applied and Environmental Microbiology*, 2014, 80(21): 6627-6637.
- [13] Duan K, Surette MG. Environmental regulation of *Pseudomonas aeruginosa* PAO1 Las and Rhl quorum-sensing systems. *Journal of Bacteriology*, 2007, 189(13): 4827-4836.
- [14] Boyer M, Wisniewski-Dyé F. Cell-cell signalling in bacteria: not simply a matter of quorum. *FEMS Microbiology Ecology*, 2009, 70(1): 1-19.
- [15] Williams P, Cámara M. Quorum sensing and environmental adaptation in *Pseudomonas aeruginosa*: a tale of regulatory networks and multifunctional signal molecules. *Current Opinion in Microbiology*, 2009, 12(2): 182-191.
- [16] Parsek MR, Greenberg EP. Acyl-homoserine lactone quorum sensing in gram-negative bacteria: a signaling mechanism involved in associations with higher organisms. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2000, 97(16): 8789-8793.
- [17] Fuqua C, Greenberg EP. Listening in on bacteria: acyl-homoserine lactone signalling. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, 2002, 3(9): 685-695.
- [18] Schuster M, Greenberg EP. A network of networks: quorum-sensing gene regulation in *Pseudomonas aeruginosa*. *International Journal of Medical Microbiology*, 2006, 296(2/3): 73-81.
- [19] Reimmann, C, Beyeler M, Latifi A, Winteler H, Foglino M, Lazdunski A, Haas D. The global activator GacA of *Pseudomonas aeruginosa* PAO positively controls the production of the autoinducer *N*-butyryl-homoserine lactone and the formation of the virulence factors pyocyanin, cyanide, and lipase. *Molecular Microbiology*, 1997, 24(2): 309-319.
- [20] Lalaouna D, Fochesato S, Sanchez L, Schmitt-Kopplin P, Haas D, Heulin T, Achouak W. Phenotypic switching in *Pseudomonas brassicacearum* involves GacS- and GacA-dependent Rsm small RNAs. *Applied and Environmental Microbiology*, 2012, 78(6): 1658-1665.
- [21] Workentine ML, Chang LM, Ceri H, Turner RJ. The GacS-GacA two-component regulatory system of *Pseudomonas fluorescens*: a bacterial two-hybrid analysis. *FEMS Microbiology Letters*, 2009, 292(1): 50-56.
- [22] Sonnleitner E, Haas D. Small RNAs as regulators of primary and secondary metabolism in *Pseudomonas* species. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 2011, 91(1): 63-79.
- [23] Marzi S, Romby P. RNA mimicry, a decoy for regulatory proteins. *Molecular Microbiology*, 2012, 83(1): 1-6.
- [24] Brencic A, Mcfarland KA, Memanus HR, Castang S, Mogno I, Dove SL, Lory S. The GacS/GacA signal transduction system of *Pseudomonas aeruginosa* acts exclusively through its control over the transcription of the RsmY and RsmZ regulatory small RNAs. *Molecular Microbiology*, 2009, 73(3): 434-445.
- [25] Cha JY, Lee DG, Lee JS, Oh JI, Baik HS. GacA directly regulates expression of several virulence genes in *Pseudomonas syringae* pv. *tabaci* 11528. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 2012, 417(2): 665-672.
- [26] Humair B, Wackwitz B, Haas D. GacA-controlled activation of promoters for small RNA genes in *Pseudomonas fluorescens*. *Applied and Environmental Microbiology*, 2010, 76(5): 1497-1506.
- [27] Heurlier K, Williams F, Heeb S, Dormond C, Pessi G, Singer D, Cámara M, Williams P, Haas D. Positive control of swarming, rhamnolipid synthesis, and lipase production by the posttranscriptional RsmA/RsmZ system in *Pseudomonas aeruginosa* PAO1. *Journal of Bacteriology*, 2004, 186(10): 2936-2945.
- [28] 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.
- [29] Li KW, Xu C, Jin YX, Sun ZY, Liu C, Shi J, Chen GK, Chen RH, Jin SG, Wu WH. SuhB is a regulator of multiple virulence genes and essential for pathogenesis of *Pseudomonas aeruginosa*. *mBio*, 2013, 4(6): e00419-13.
- [30] Takeuchi K, Tsuchiya W, Noda N, Suzuki R, Yamazaki T, Haas D. Lon protease negatively affects GacA protein stability and expression of the Gac/Rsm signal transduction pathway in *Pseudomonas protegens*. *Environmental Microbiology*, 2014, 16(8): 2538-2549.
- [31] Kong WN, Chen L, Zhao JQ, Shen T, Surette MG, Shen LX, Duan KM. Hybrid sensor kinase PA1611 in *Pseudomonas aeruginosa* regulates transitions between acute and chronic infection through direct interaction with RetS. *Molecular Microbiology*, 2013, 88(4): 784-797.
- [32] Sonnleitner E, Schuster M, Sorger-Domenigg T, Greenberg EP, Bläsi U. Hfq-dependent alterations of the transcriptome profile and effects on quorum sensing in *Pseudomonas aeruginosa*. *Molecular Microbiology*, 2006, 59(5): 1542-1558.
- [33] Bordi C, Lamy MC, Ventre I, Termine E, Hachani A, Fillet S, Roche B, Bleves S, Méjean V, Lazdunski A, Filloux A. Regulatory RNAs and the HptB/RetS

signalling pathways fine-tune *Pseudomonas aeruginosa* pathogenesis. *Molecular Microbiology*, 2010, 76 (6): 1427-1443.

- [34] Petrova OE, Sauer K. The novel two-component regulatory system BfiSR regulates biofilm development by controlling the small RNA *rsmZ* through CafA. *Journal of Bacteriology*, 2010, 192(20): 5275-5288.
- [35] Intile PJ, Diaz MR, Urbanowski ML, Wolfgang MC, Yahr TL. The AlgZR two-component system recalibrates the RsmAYZ posttranscriptional regulatory system to inhibit expression of the *Pseudomonas aeruginosa* type III secretion system. *Journal of Bacteriology*, 2014, 196 (2): 357-366.
- [36] Zhang W, Zhao Z, Zhang B, Wu XG, Ren ZG, Zhang LQ. Posttranscriptional regulation of 2, 4-

diacetylphloroglucinol production by GidA and TrmE in *Pseudomonas fluorescens* 2P24. *Applied and Environmental Microbiology*, 2014, 80(13): 3972-3981.

- [37] Juhas M, Eberl L, Tümmler B. Quorum Sensing: the power of cooperation in the world of *Pseudomonas*. *Environmental Microbiology*, 2005, 7(4): 459-471.
- [38] Yang Z, Lu CD. Functional genomics enables identification of genes of the arginine transaminase pathway in *Pseudomonas aeruginosa*. *Journal of Bacteriology*, 2007, 189(11): 3945-3953.
- [39] McCarthy CN, Woods RG, Beacham IR. Regulation of the *aprX-lipA* operon of *Pseudomonas fluorescens* B52: differential regulation of the proximal and distal genes, encoding protease and lipase, by *ompR-envZ*. *FEMS Microbiology Letters*, 2004, 241(2): 243-248.

## Progress in expression regulation of bacterial lipase genes - A review

Daiming Zha<sup>1,2</sup>, Yunjun Yan<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup> College of Life Science and Technology, Huazhong University of Science and Technology, Wuhan 430074, Hubei Province, China

<sup>2</sup> School of Pharmacy and Life Sciences, Jiujiang University, Jiujiang 332000, Jiangxi Province, China

**Abstract:** Microbial lipases are major sources of commercial ones, which have been extensively used in a wide variety of industrial fields, such as foods, beverages, lipids, detergents, feeds, textiles, leathers, advanced materials, fine chemicals, medicines, cosmetics, papermaking, pollution treatment, and bioenergy. Compared with fungal lipases, bacterial lipases have more types of reactions and exhibit higher activity and better stability in aqueous or organic phases. Amongst bacterial lipases, the most excellent ones are those originating from the genus *Pseudomonas*. So far, the conventional strategies, such as traditional breeding, optimization of medium and fermentation conditions, cannot fundamentally solve the problem of low production of bacterial lipases. Construction of genetically engineered strains to efficiently overexpress their own lipases is an effective solution. But it must base on clarifying molecular regulation mechanism of lipase gene expression and further finding out key regulators. In this article, we reviewed the progress in expression regulation of bacterial lipase genes from the aspects of direct regulators, quorum sensing system, Gac/Rsm signal transduction system, regulators controlling the Gac/Rsm system, and other regulators. To provide a useful reference for the construction of genetically engineered strains, we also discussed a research prospect in this field based on our ongoing research.

**Keywords:** bacterial lipase, gene expression regulation, two-component system, quorum sensing system, Gac/Rsm signal transduction system

(本文责编:李磊,王晋芳)

Supported by the Innovation Foundation of Shenzhen Government (JCYJ20120831111657864) and by the National High Technology Research and Development Program of China (2011AA02A204)

\* Corresponding author. Tel/Fax: +86-27-87792213; E-mail: yanyunjun@hust.edu.cn

Received: 18 March 2015/Revised: 24 April 2015