



细菌趋化信号通路中的磷酸酯酶 CheZ

刘晓琳^{1,2}, 刘卫¹, 解志红^{1*}

¹中国科学院烟台海岸带研究所, 山东 烟台 264003

²中国科学院大学, 北京 100049

摘要: 细菌通过趋化系统获得在复杂环境中的生存优势。趋化性在细菌致病性、病菌定殖、固氮细菌与宿主共生、植物与微生物互作等方面有重要的作用。作为趋化信号适应中不可或缺的调节蛋白,对 CheZ 的深入研究具有重要意义。本文主要对 CheZ 的结构、作用机制、功能调节、蛋白定位以及进化地位等方面的研究现状进行了综述,旨在为其它细菌中趋化系统的研究提供有益参考。

关键词: 趋化系统, 磷酸酯酶, CheZ, 蛋白定位

细菌通过运动回应外界的化学物质刺激,这个过程称为趋化。趋化的运动依靠鞭毛的顺时针和逆时针旋转来实现。鞭毛顺时针旋转使细菌随机改变运动方向,称为翻转;鞭毛逆时针旋转使细菌直线运动,称为泳动。当细菌感应到高排斥物浓度时,细菌通过翻转频率增加改变自身运动方向,不断远离。反之,当细菌感受到高吸引物浓度时,鞭毛顺时针旋转被抑制,逆时针旋转被加强,细菌不断向前运动^[1-2]。细菌的趋化实际上是一种趋利避害的过程^[3-4]。

将外界物质浓度梯度信号转化为细菌自身的行为变化是一个信号转导的过程。大肠杆菌仅含有一套趋化系统^[5],主要是通过趋化双组分调节系

统使得细菌能够感受外界的环境变化,并通过改变自身运动状态获得有利的营养资源或者是有利的生存条件^[6]。组氨酸蛋白激酶 CheA 与跨膜的甲基化受体趋化蛋白 MCP 的胞质部分相连,并且 CheA 的 His48 残基的自磷酸化的频率受到 MCP 受体的胞外连接位点是否被吸引物或排斥物分子占据来调节。当 MCP 的胞外连接位点被排斥物占据时, CheA 激酶自磷酸化的抑制解除^[7]。磷酸化的 CheA 之后将磷酸基团转移到能够自由扩散的调节蛋白 CheY 的 Asp57 残基上。磷酸化的 CheY(CheY-P)与鞭毛马达开关蛋白结合,从而诱发鞭毛进行顺时针的翻转导致细菌的运动方向改变^[8-9](图 1)。

基金项目: 中科院重点部署项目(KZZD-EW-14); 烟台市科技发展计划(2013JH021); 中科院百人计划; 国家自然科学基金(31370108, 31570063); 山东省自主创新及成果转化专项(2014ZZCX07303)

*通信作者。Tel: +86-535-2109183; Fax: +86-535-2109000; E-mail: zhxie@yic.ac.cn

收稿日期: 2016-05-02; 修回日期: 2016-06-24; 网络出版日期: 2016-07-19

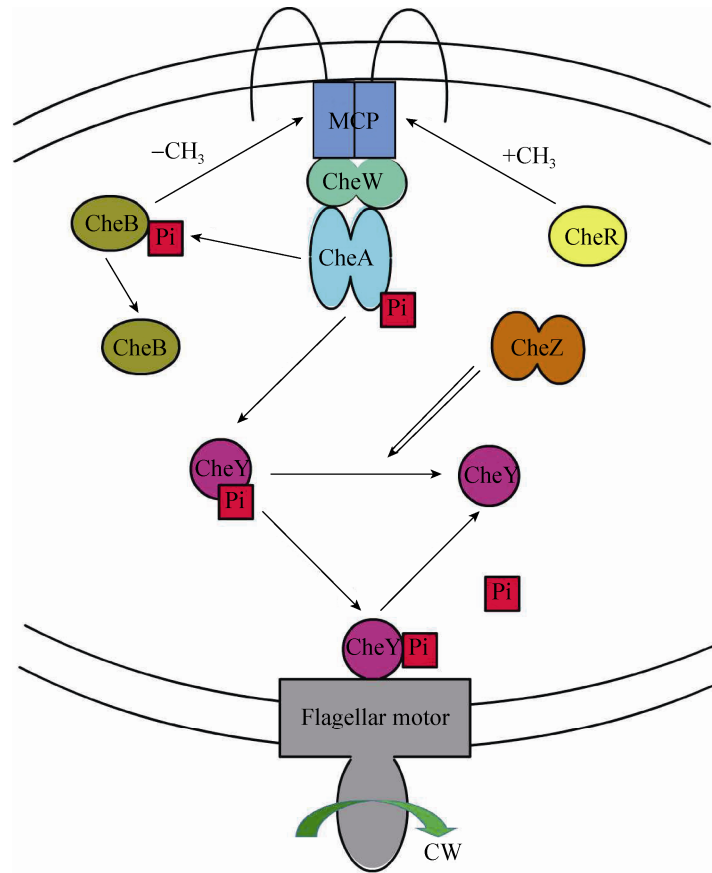


图 1. 大肠杆菌趋化信号通路

Figure 1. The chemotaxis signaling pathway in *Escherichia coli*.

将 CheY-P 去磷酸化才可以使趋化系统恢复初始状态，从而使细菌重新获得回应外界刺激的能力^[10]。为了快速的适应外界环境，趋化系统中的 CheY-P 能够进行自我去磷酸化，半寿期只有不足 1 min，但对于快速变化的外界环境而言还是太慢了^[11]，因此需要其它的磷酸酯酶蛋白调节 CheY-P 的浓度快速下降^[12]。CheZ 是大肠杆菌趋化通路中唯一起磷酸酯酶作用的蛋白，是最早发现的趋化通路磷酸酯酶，并且被广泛和深入研究。

目前实验中验证的 CheZ 蛋白主要存在于 β -和 γ -变形菌中^[12]，在 α 和 ϵ -变形菌中也有发现，另外在 δ 变形菌中也可能存在 CheZ 蛋白。CheZ 在趋化过程当中起着重要的调节作用，无论 CheZ

磷酸酯酶酶活过高或过低，都会导致细菌的趋化能力受损^[13]。本文综述了 CheZ 蛋白的结构、功能及调控机制等。

1 CheZ 蛋白的结构

以大肠杆菌为例，CheZ 蛋白是由总长为 214 个氨基酸残基组成的二聚体。四螺旋束结构是 CheZ 蛋白的主体部分^[14]。每个单体的 N 端残基 1–34 构成螺旋结构，并直接与四螺旋束相连^[15]。35–168 氨基酸残基形成一个两亲性的螺旋，在残基 100–104 处构成一个发夹回环，并且 CheZ 是以“头对头”的方式组装为一个长形的四螺旋束^[14]。

二聚体内的作用面是相当稳定的,因为在四螺旋束内有许多链间和链内相互作用,包括在疏水作用面上有 33 对残基和 26 个氢键。而在 C 端,残基 199-214 构成极端螺旋结构^[14],C 端螺旋通过一个由 32 个残基组成的高度灵活的连接器拴在四螺旋束上^[15]。

早期通过肠杆菌中 CheZ 序列比对发现,CheZ 蛋白具有 3 个高度保守的区域,分别是:残基 50-62,138-148 和 202-214 三部分^[16]。残基 50-62 位于 N 端部分。该部分区域的氨基酸替换突变多为功能获得性突变^[6,17-18],点替换其中氨基酸,如 Asp50、Arg54 等,磷酸酯酶活性提高。一般认为,N 端的折叠对 CheZ 的活性区域有阻碍作用。残基 138-148 区域为 CheZ 的催化活性部位。经过序列比对,发现在 5 个变形菌纲中 CheZ 的 N 端部分保守性较低,而活性中心的 Gln147 (甚至-DXXXQ-基序)是保守的(图 2)。有研究发现该区域内氨基酸突变可能是通过影响 CheZ 寡聚化,从而导致磷酸

酯酶活性降低^[19]。残基 202-214 位于 C 端部分,是与 CheY-P 结合的主要部位^[16]。CheZ 的 C 端部分具有高度的机动性。就像是伸于 CheZ 外侧高度动态的机械臂,可能起提高与 CheY-P 碰撞几率,以增强 CheZ 与 CheY-P 之间相互作用的功能^[20]。此外,在残基 95-98 处有一段保守基序 D(D/E)WF,是 CheZ 与 CheAs 相互作用的部位,但该基序仅在肠杆菌中较为保守^[21-22](图 2)。

2 CheZ 蛋白的作用机制

在大肠杆菌中,趋化系统中的磷酸酯酶 CheZ 促进 CheY-P 去磷酸化。1 个 CheZ 二聚体有 2 个催化活性位点,可以与 2 个 CheY-P 相互作用。每 1 个 CheY-P 先后通过 2 个不同的相互作用面与 CheZ 结合。这 2 个作用面分别是 CheZ_C和 CheZ_{core}^[14]。CheZ_C是 CheZ 的 C 端短肽,而 CheZ_{core}是 CheZ 的催化活性部位。首先,CheY-P 与 CheZ 的 1 个 C 端结合。在无 CheY-P 时,CheZ 的 C 端高度灵

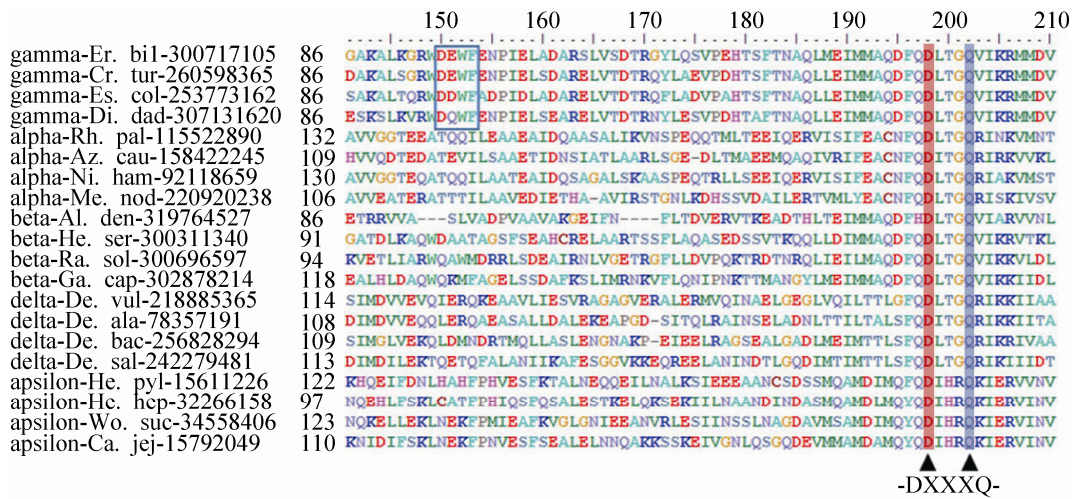


图 2. 变形菌门 CheZ 序列比对图(序列数据来源于 NCBI 数据库,细菌名称后缀为 GI 号)

Figure 2. Sequence alignment of phosphatase CheZ from proteobacteria. Conserved amino acid residues are highlighted by grey colors. The conserved motif of activity is marked at the bottom of the figure. The amino acid residues that may interact with CheA in gamma-proteobacteria are framed.

活移动,起到类似于机械臂的作用^[20]。CheZ_C具有高度运动性,这一特点有效地增加了其与CheY-P作用的半径^[20],能够有效增加其与CheY-P碰撞的几率。所以CheY-P与CheZ_C具有相当高的亲和力($K_d=26\ \mu\text{mol/L}$)^[23],当CheY-P存在时,二者可以快速结合^[24]。随后,CheY-P与CheZ活性位点处结合。CheY-P与CheZ_C的结合一方面使CheY-P接近CheZ_{core}四螺旋束部分,另一方面提高了活性位点附近的CheY-P浓度^[17]。两方面的影响都增加了四螺旋束与CheY活性位点作用的可能^[20]。但是,第1个CheY-P与第1个CheZ活性位点结合,会导致与之相对的位于CheZ四螺旋束对面的第2个活性位点的构象改变,使得第2个CheY-P与CheZ活性位点结合的限速作用解除,所以第2个CheY-P与CheZ活性位点的作用变得高效^[15]。而CheZ蛋白与CheY-P之间的协同效应正是由活性位点的这种特性所决定的^[15]。

CheZ活性位点处具体的反应机制在大肠杆菌CheZ-CheY-BeF₃-Mg²⁺共结晶体中得到阐明^[17]。CheZ的活性位点催化保守基序中,位于催化表面的Asp143和Gln147插进CheY的活性位点中。Asp143与CheY活性位点处的Lys109形成盐桥,且Gln147定向至BeF₃-基团。Gln147的酰胺氮处于合适的位置能够与1个水分子形成氢键,且水分子能够在线攻击磷原子^[17]。CheZ的作用是提供了一个额外的功能基团促进在CheY中已有的自我去磷酸化反应机制。通过定位在在线攻击中起作用的水分子以合适构象,使CheY-P的去磷酸化更加有效^[14]。这种作用使得CheZ将CheY-P的自我去磷酸化的速率提高了100倍^[24]。此外,CheZ依赖的CheY-P去磷酸化作用还必须要有一价镁离子的存在。

3 CheZ活性的调节

CheZ的活性调节方式主要有2种。第1种是CheZ的活性受到CheY-P浓度的调节。CheZ与CheY-P之间的作用呈现明显的正协同效应^[24]。当CheY-P的浓度低时,CheZ的活性受到抑制,从而使细胞内的CheY-P积累到一定量的水平^[15]。反之,当细胞内CheY-P浓度很高时,CheZ的磷酸酯酶活性也达到较高水平,使细胞内CheY-P的浓度很快降下来,从而使细菌获得重新对外界信号做出反应的能力,但CheZ磷酸酯酶活性的变化滞后于CheY-P浓度的变化^[22]。CheZ的活化与去活化都存在迟滞,延迟时间虽然短但是使细菌能够有时间将胞外的刺激有效地转变为胞内的CheY-P浓度变化。

第2种是CheZ的活性受到组氨酸激酶CheA_S的调节。cheA基因通过基因内串联翻译起始位点编码2种多肽:CheA_L和CheA_S^[25]。CheA_L不能与CheZ相互作用;CheA_S的P1域缺失97个氨基酸残基,其不能使CheY磷酸化,但可与CheZ结合并促进CheZ磷酸酯酶活性^[26]。CheA_S通过对CheZ寡聚体发起亲核攻击使CheZ从胞质结合到受体复合簇上^[27]。CheZ主要以氨基酸残基95-98之间的基序[D(D/E)WF]与CheA_S的F98相互作用^[21]。从结构上看,CheA_S是与CheZ的螺旋发夹末端处结合^[28]。CheA_S与CheZ的结合使CheZ的磷酸酯酶活性提高2-3倍。CheA_S促进CheZ酶活力上升的原因主要是CheA_S与CheZ的螺旋发夹末端连接引起CheZ结构变化,并通过四螺旋束将变化传递到CheZ的活性中心,解除了四螺旋束对活性中心的抑制,从而提高CheZ的磷酸酯酶活性^[15]。对CheZ调节的方式也可能是通过CheA_L/CheA_S之间的比例变化来进行调节^[29]。研究发现,CheA_S约

占细胞内 CheA 总量的三分之一^[30]。CheA_L 既可以形成 CheA_L/CheA_L 同源二聚体, 也可以形成 CheA_L/CheA_S 异源二聚体^[31-32]。此外, 也可能存在通过 CheA_S 氧化还原的变化调节 CheZ 的机制。CheA_S 的 P1 域上的 Cys 存在氧化态和还原态, 而氧化态的 CheA_S 则不能与 CheZ 相互作用^[33]。

4 CheZ 的细胞内亚定位及其意义

在大肠杆菌中, CheZ 是趋化系统中的附属胞质蛋白, 既有多数以游离的状态散布于细胞质中, 也有部分与受体复合簇结合定位于细胞极端^[34-35]。在不同条件下, 结合到膜受体复合簇上的 CheZ 蛋白只占 CheZ 蛋白总量的一小部分^[36], 不会随着吸引物的增加而变化^[37]。CheZ 主要通过 CheA_S 作用结合到受体复合簇上^[21]。

CheZ 定位于细胞极端的受体复合簇具有多重意义。(1) 这种定位可以防止细菌胞内形成 CheY-P 浓度梯度影响有效趋化^[38-40]。当通过基因敲除缺失 CheZ 时, 细菌会在胞内形成一定的 CheY-P 浓度梯度。以受体复合簇处的 CheY-P 浓度最高, 随着与受体复合簇距离的增加而下降^[37], 导致细菌不能有效趋化^[41-42]。只有当 CheZ 存在时, 胞内 CheY-P 浓度较为均一。这时细菌所有的鞭毛复合体获得一样的信号, 以同样的方向进行旋转, 从而有效趋向吸引物。这对于像大肠杆菌这种具有周质鞭毛的细菌尤为重要^[39]。(2) CheZ 定位于受体复合簇, 能够增加对外界信号的敏感度^[37]。尽管 CheZ 在对外界的信号获取过程中不起作用^[43], 但是 CheZ 在趋化通路信号放大过程中起着重要作用。通过替换突变构建 CheZ 定位能力缺失菌株进行实验, 发现能够正常定位于受体复合簇的 CheZ 可以使细菌更加敏捷地对外界

刺激做出回应^[37,44]。并且, 即便将趋化适应蛋白 CheB/CheR 敲除后, 细菌通过 CheA/CheZ 共定位依然能够对外界刺激敏锐地做出反应^[37]。(3) 显著提高 CheZ 蛋白的酶促活性。CheZ 亚细胞定位于极端, 与受体复合簇结合, 一方面增加了 CheZ 与 CheY-P 相互作用的几率^[37], 另一方面与 CheA 的作用提高了 CheZ 的催化活性。CheA 与 CheZ 的结合导致 CheZ 的 N 端构象变化, 并通过四螺旋束将这一变化传递到活性中心, 从而提高了 CheZ 的催化活性。两方面的作用使极端的磷酸酯酶活性显著提高。(4) 促进了 CheA 与 CheY 之间的磷酸转移反应。在没有外界物质刺激时, 仍然有部分 CheZ 定位在受体复合簇上。这种定位促进 CheA 与 CheY 之间的磷酸转移反应^[37]。研究发现, CheZ 与 CheY-P 之间的相互作用分布在整个细胞中, 并且总的磷酸转移速率处于稳定状态。而在受体复合簇处的 CheZ 催化活性提高, 趋化信号的传导速度加快, 从而提高了 CheA 与 CheY 之间的磷酸转移速率^[37]。推测这对细菌受到外界吸引物刺激时, 快速提高胞内 CheY-P 浓度有一定意义。(5) 使反应限定在一定区域, 提高反应效率。在大肠杆菌等细菌中, CheZ 与 CheY-P 的反应虽然没有被细胞器单独分隔开, 但是可以通过蛋白定位于细胞膜的特定部位, 从而在一定程度上实现类似于真核细胞器分隔反应的作用^[38]。

大肠杆菌 CheZ 蛋白依赖于 CheA(s)和趋化受体蛋白进行定位^[21,34]。而在幽门螺旋杆菌中, CheZ 蛋白的定位既不依赖 CheA 也不依靠鞭毛马达蛋白, 而是依赖于只在 ϵ -变形菌中才存在的 ChePep 蛋白, CheZ 蛋白在 ChePep 的协助下定位于极端^[39]。

5 CheZ 蛋白在进化中的意义

CheZ 存在于 α 、 β 、 γ 、 δ 和 ϵ -变形菌纲中 (图 3)。将不同变形菌纲中的 CheZ 蛋白进行多序列比对, 结果显示从进化角度上 CheZ 分为 4 类, 其中 γ 和 β -变形菌的 CheZ 亲缘关系更近。但是从 CheZ 的结构域特点上看, 可以将 CheZ 大致分为 3 类: 第 1 类是以大肠杆菌为代表的存在于 β 和 γ -变形菌中经典的 CheZ。这类 CheZ 蛋白能够与 2 个 CheY-P 进行作用^[17], 同时也能够与 CheA 进行作用。第 2 类存在于 α 和 δ -变形菌中, 尽管它们位于不同的进化支中, 但是其 CheZ 在结构域上非常相似。它们的 CheZ 完全缺乏 CheA 结合区, 暗示这类 CheZ 蛋白不能与 CheA 进行结合, 但是目前还没有实验证实。第 3 类 CheZ 分布于 ϵ -变形菌

中。这类 CheZ 具有延长的 CheA 连接区, 但与 β/γ -变形菌中的 CheZ 的 CheA 连接区没有序列相似性。尽管如此, 仍说明 ϵ -变形菌中的 CheZ 能够和 CheA 相互作用。虽然在不同的变形菌纲中 CheZ 有很大差异, 但是它们都具有保守的磷酸酯酶催化活性中心, 且系统发育显示, 这些 CheZ 具有共同的祖先^[45]。

在具有趋化系统的细菌中, 只有 20% 左右含有 CheZ^[46]。虽然含有 CheZ 的细菌在总量上并非多数, 但是其分布广泛, 几乎在各个细菌门类中都有存在。此外, *cheZ* 在基因组中的位置多变, 不仅在保守 *che* 簇中的位置不固定, 而且还时常单独脱离于 *che* 簇之外。再者, CheZ 蛋白的结构多变, 仅在变形菌门中便可大致分为 3 类。CheZ 的这些特点显示了其在进化研究中所具有的独特优势。

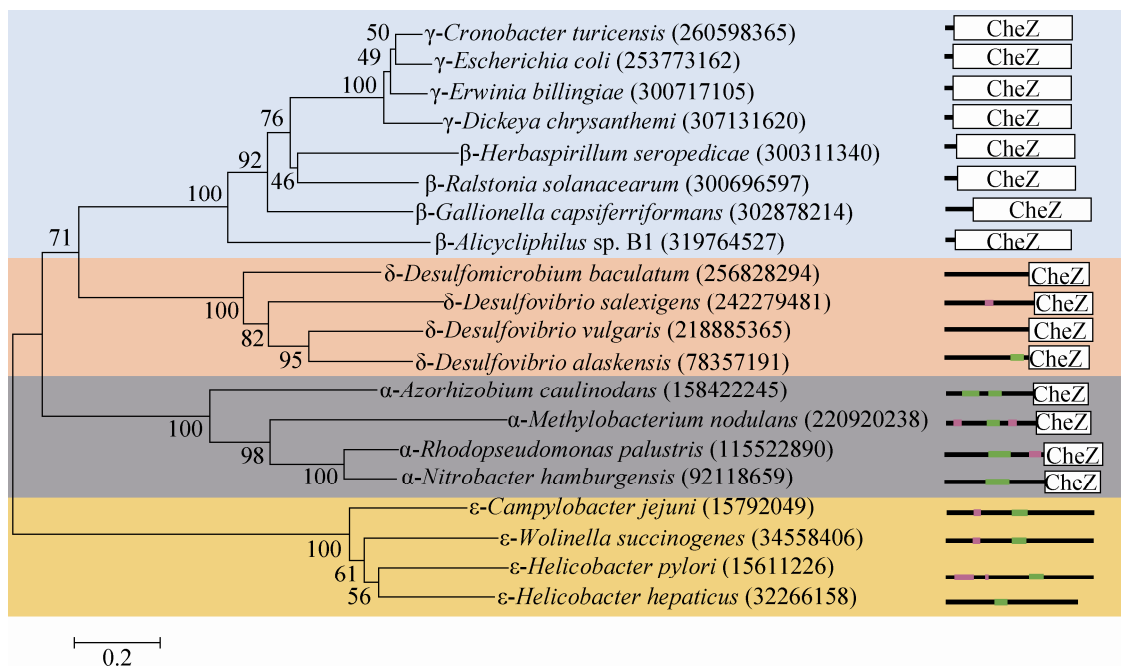


图 3. 变形菌门 CheZ 序列进化树

Figure 3. Neighbour-joining phylogenetic tree (left) based on CheZ protein sequences. The domain architectures of CheZ are listed on the right, data from Pfam. Bootstrap analyses made with 1000 cycle are shown at the branch points. Scale bar indicates 0.2 changes/site.

6 挑战与展望

趋化性在细菌致病性、病菌定殖^[47]、固氮细菌与宿主共生^[48]、植物与微生物互作^[49]等方面有重要的作用。而作为趋化信号适应中不可或缺的调节蛋白,对 CheZ 的深入研究具有重要的意义。当前随着共晶结构分析、微流体化学梯度和大规模并行自动跟踪研究等各种手段的飞速发展,更多关于磷酸酯酶的报道不断涌出,极大地拓宽我们对信号转导系统的理解和认识,也使我们理解与认识细菌的行为本质更近了一步。但是目前还有很多问题亟待解决。在细菌中, CheA_L 和 CheA_S 往往以相对稳定的比例存在^[30],但是 CheZ 与 CheA_S 和 CheA_L 三者之间的调节关系尚不清楚。另外, CheA_S 的氧化态与还原态之间的调节对 CheZ 乃至整个趋化系统的作用也鲜有报道。我们课题组在对 α -变形菌纲中的茎瘤固氮根瘤菌 (*Azorhizobium caulinodans* ORS571) 的基因组进行分析时,发现其基因组编码多个 CheY, 其中一个 CheY 与 CheZ 基因反向相邻,且一同位于趋化基因簇之外^[48]。苜蓿根瘤菌 (*Sinorhizobium meliloti*) 利用多个 CheY 来实现 CheY-P 的去磷酸化,茎瘤固氮根瘤菌中多个 CheY 与 CheZ 之间存在何种关系,又是如何协调?在 α -变形菌中, CheZ 定位情况如何,没有与 CheA 作用位点的 CheZ 是如何进行定位?是否类似 ϵ -变形菌需要借助其他偶联蛋白的协助进行定位?另外,根据 CheZ 结构域分析可知 α 、 δ 、 ϵ -变形菌的 N 端相对与 γ 、 β -变形菌普遍较长,延长的 N 端区有何作用,是否参与了细胞内其它反应或生命活动?CheY 不仅存在磷酸化调节,也存在乙酰化调节,乙酰化的 CheY 可以提高鞭毛的旋转频率^[50],这与 CheZ 的基因敲除或酶促活力下降时的细菌趋化表型类似,说明细

菌可能通过乙酰化调节 CheY 与 CheZ 之间的相互作用。这些问题都有待更多的科研工作去揭示。总之,对细菌趋化通路中磷酸酯酶的深入研究,将有助于揭示细菌对环境的适应机制及其与宿主的互作机理。

参考文献

- [1] Alexandre G. Chemotaxis control of transient cell aggregation. *Journal of Bacteriology*, 2015, 197(20): 3230–3237.
- [2] Mukherjee T, Kumar D, Burriss N, Xie ZH, Alexandre G. *Azospirillum brasilense* chemotaxis depends on two signaling pathways regulating distinct motility parameters. *Journal of Bacteriology*, 2016, 198(12): 1764–1772.
- [3] Mohari B, Licata NA, Kysela DT, Merritt PM, Mukhopadhyay S, Brun YV, Setayeshgar S, Fuqua C. Novel pseudotaxis mechanisms improve migration of straight-swimming bacterial mutants through a porous environment. *mBio*, 2015, 6(2): e00005.
- [4] Parkinson JS, Hazelbauer GL, Falke JJ. Signaling and sensory adaptation in *Escherichia coli* chemoreceptors: 2015 update. *Trends in Microbiology*, 2015, 23(5): 257–266.
- [5] He K, Bauer CE. Chemosensory signaling systems that control bacterial survival. *Trends in Microbiology*, 2014, 22(7): 389–398.
- [6] Boesch KC, Silversmith RE, Bourret RB. Isolation and characterization of nonchemotactic CheZ mutants of *Escherichia coli*. *Journal of Bacteriology*, 2000, 182(12): 3544–3552.
- [7] Pedetta A, Parkinson JS, Studdert CA. Signalling-dependent interactions between the kinase-coupling protein CheW and chemoreceptors in living cells. *Molecular Microbiology*, 2014, 93(6): 1144–1155.
- [8] Larsen SH, Reader RW, Kort EN, Tso WW, Adler J. Change in direction of flagellar rotation is the basis of the chemotactic response in *Escherichia coli*. *Nature*, 1974, 249(5452): 74–77.
- [9] Silversmith RE, Guanga GP, Betts L, Chu C, Zhao R, Bourret RB. CheZ-mediated dephosphorylation of the *Escherichia coli* chemotaxis response regulator CheY: role for CheY glutamate 89. *Journal of Bacteriology*, 2003, 185(5): 1495–1502.
- [10] Bi SY, Lai LH. Bacterial chemoreceptors and chemoeffectors. *Cellular and Molecular Life Sciences*, 2015, 72(4): 691–708.
- [11] Segall JE, Manson MD, Berg HC. Signal processing times in bacterial chemotaxis. *Nature*, 1982, 296(5860): 855–857.
- [12] Szurmant H, Ordal GW. Diversity in chemotaxis mechanisms among the bacteria and archaea. *Microbiology and Molecular*

- Biology Reviews*, 2004, 68(2): 301–319.
- [13] Scharf B, Schmitt R. Sensory transduction to the flagellar motor of *Sinorhizobium meliloti*. *Journal of Molecular Microbiology and Biotechnology*, 2002, 4(3): 183–186.
- [14] Zhao R, Collins EJ, Bourret RB, Silversmith RE. Structure and catalytic mechanism of the *E. coli* chemotaxis phosphatase CheZ. *Nature Structural Biology*, 2002, 9(8): 570–575.
- [15] Silversmith RE. Auxiliary phosphatases in two-component signal transduction. *Current Opinion in Microbiology*, 2010, 13(2): 177–183.
- [16] Blat Y, Eisenbach M. Conserved C-terminus of the phosphatase CheZ is a binding domain for the chemotactic response regulator CheY. *Biochemistry*, 1996, 35(18): 5679–5683.
- [17] Freeman AM, Mole BM, Silversmith RE, Bourret RB. Action at a distance: amino acid substitutions that affect binding of the phosphorylated CheY response regulator and catalysis of dephosphorylation can be far from the CheZ phosphatase active site. *Journal of Bacteriology*, 2011, 193(18): 4709–4718.
- [18] Sanna MG, Simon MI. *In vivo* and *in vitro* characterization of *Escherichia coli* protein CheZ gain- and loss-of-function mutants. *Journal of Bacteriology*, 1996, 178(21): 6275–6280.
- [19] Blat Y, Eisenbach M. Mutants with defective phosphatase activity show no phosphorylation-dependent oligomerization of CheZ. The phosphatase of bacterial chemotaxis. *The Journal of Biological Chemistry*, 1996, 271(2): 1232–1236.
- [20] Silversmith RE. High mobility of carboxyl-terminal region of bacterial chemotaxis phosphatase CheZ is diminished upon binding divalent cation or CheY-P substrate. *Biochemistry*, 2005, 44(21): 7768–7776.
- [21] Cantwell BJ, Draheim RR, Weart RB, Nguyen C, Stewart RC, Manson MD. CheZ phosphatase localizes to chemoreceptor patches via CheA-short. *Journal of Bacteriology*, 2003, 185(7): 2354–2361.
- [22] Blat Y, Gillespie B, Bren A, Dahlquist FW, Eisenbach M. Regulation of phosphatase activity in bacterial chemotaxis. *Journal of Molecular Biology*, 1998, 284(4): 1191–1199.
- [23] McEvoy MM, Bren A, Eisenbach M, Dahlquist FW. Identification of the binding interfaces on CheY for two of its targets the phosphatase CheZ and the flagellar switch protein fliM. *Journal of Molecular Biology*, 1999, 289(5): 1423–1433.
- [24] Silversmith RE, Levin MD, Schilling E, Bourret RB. Kinetic characterization of catalysis by the chemotaxis phosphatase CheZ. Modulation of activity by the phosphorylated CheY substrate. *The Journal of Biological Chemistry*, 2008, 283(2): 756–765.
- [25] Kofoed EC, Parkinson JS. Tandem translation starts in the cheA locus of *Escherichia coli*. *Journal of Bacteriology*, 1991, 173(6): 2116–2119.
- [26] Baker MD, Wolanin PM, Stock JB. Signal transduction in bacterial chemotaxis. *BioEssays*, 2006, 28(1): 9–22.
- [27] Lipkow K. Changing cellular location of CheZ predicted by molecular simulations. *PLoS Computational Biology*, 2006, 2(4): e39.
- [28] O'Connor C, Matsumura P. The accessibility of cys-120 in CheA_S is important for the binding of CheZ and enhancement of CheZ phosphatase activity. *Biochemistry*, 2004, 43(22): 6909–6916.
- [29] Eisenbach M. Control of bacterial chemotaxis. *Molecular Microbiology*, 1996, 20(5): 903–910.
- [30] Li MS, Hazelbauer GL. Cellular stoichiometry of the components of the chemotaxis signaling complex. *Journal of Bacteriology*, 2004, 186(12): 3687–3694.
- [31] Surette MG, Levit M, Liu Y, Lukat G, Ninfa EG, Ninfa A, Stock JB. Dimerization is required for the activity of the protein histidine kinase CheA that mediates signal transduction in bacterial chemotaxis. *The Journal of Biological Chemistry*, 1996, 271(2): 939–945.
- [32] Wang H, Matsumura P. Phosphorylating and dephosphorylating protein complexes in bacterial chemotaxis. *Journal of Bacteriology*, 1997, 179(1): 287–289.
- [33] Wang H, Matsumura P. Characterization of the CheA_S/CheZ complex: a specific interaction resulting in enhanced dephosphorylating activity on CheY-phosphate. *Molecular Microbiology*, 1996, 19(4): 695–703.
- [34] Sourjik V, Berg HC. Localization of components of the chemotaxis machinery of *Escherichia coli* using fluorescent protein fusions. *Molecular Microbiology*, 2000, 37(4): 740–751.
- [35] Bitbol AF, Wingreen NS. Fundamental constraints on the abundances of chemotaxis proteins. *Biophysical Journal*, 2015, 108(5): 1293–1305.
- [36] van Albada SB, ten Wolde PR. Differential affinity and catalytic activity of CheZ in *E. coli* chemotaxis. *PLoS Computational Biology*, 2009, 5(5): e1000378.
- [37] Vaknin A, Berg HC. Single-cell FRET imaging of phosphatase activity in the *Escherichia coli* chemotaxis system. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2004, 101(49): 17072–17077.
- [38] Maddock JR, Shapiro L. Polar location of the chemoreceptor complex in the *Escherichia coli* cell. *Science*, 1993, 259(5102): 1717–1723.
- [39] Lertsethtakarn P, Howitt MR, Castellon J, Amieva MR, Ottemann KM. *Helicobacter pylori* CheZ_{HP} and ChePep form a novel chemotaxis-regulatory complex distinct from the core chemotaxis signaling proteins and the flagellar motor. *Molecular Microbiology*, 2015, 97(6): 1063–1078.
- [40] Lipkow K, Andrews SS, Bray D. Simulated diffusion of phosphorylated CheY through the cytoplasm of *Escherichia coli*. *Journal of Bacteriology*, 2005, 187(1): 45–53.
- [41] Cluzel P, Surette M, Leibler S. An ultrasensitive bacterial motor revealed by monitoring signaling proteins in single

- cells. *Science*, 2000, 287(5458): 1652–1655.
- [42] Turner L, Ryu WS, Berg HC. Real-time imaging of fluorescent flagellar filaments. *Journal of Bacteriology*, 2000, 182(10): 2793–2801.
- [43] Kim C, Jackson M, Lux R, Khan S. Determinants of chemotactic signal amplification in *Escherichia coli*. *Journal of Molecular Biology*, 2001, 307(1): 119–135.
- [44] Neumann S, Løvdok L, Bentele K, Meisig J, Ullner E, Paldy FS, Sourjik V, Kollmann M. Exponential signaling gain at the receptor level enhances signal-to-noise ratio in bacterial chemotaxis. *PLoS One*, 2014, 9(4): e87815.
- [45] Wuichet K, Alexander RP, Zhulin IB. Comparative genomic and protein sequence analyses of a complex system controlling bacterial chemotaxis. *Methods in Enzymology*, 2007, 422: 3–31.
- [46] Hamer R, Chen PY, Armitage JP, Reinert G, Deane CM. Deciphering chemotaxis pathways using cross species comparisons. *BMC Systems Biology*, 2010, 4(1): 3.
- [47] Goon S, Ewing CP, Lorenzo M, Pattarini D, Majam G, Guerry P. A σ^{28} -regulated nonflagella gene contributes to virulence of *Campylobacter jejuni* 81-176. *Infection and Immunity*, 2006, 74(1): 769–772.
- [48] Jiang N, Liu W, Li Y, Wu HL, Zhang ZH, Alexandre G, Elmerich C, Xie ZH. A chemotaxis receptor modulates nodulation during the *Azorhizobium caulinodans*-*Sesbania rostrata* symbiosis. *Applied and Environmental Microbiology*, 2016, 82(11): 3174–3184.
- [49] Scharf BE, Hynes MF, Alexandre GM. Chemotaxis signaling systems in model beneficial plant-bacteria associations. *Plant Molecular Biology*, 2016, 90(6): 549–559.
- [50] Fraiberg M, Afanjar O, Cassidy CK, Gabashvili A, Schulten K, Levin Y, Eisenbach M. CheY's acetylation sites responsible for generating clockwise flagellar rotation in *Escherichia coli*. *Molecular Microbiology*, 2015, 95(2): 231–244.

Advances in phosphatase CheZ of bacterial chemotaxis signaling pathway

Xiaolin Liu^{1,2}, Wei Liu¹, Zhihong Xie^{1*}

¹Yantai Institute of Coastal Zone Research, Chinese Academy of Sciences, Yantai 264003, Shandong Province, China

²University of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049, China

Abstract: Bacteria get a survival advantages in the complex environment through the chemotaxis system. Chemotaxis plays an important role in colonization and pathogenicity of bacteria, the legume–rhizobia symbiosis, and plant-microbe interactions. Phosphatase CheZ is an indispensable regulatory protein in the process of chemotactic signal adaptation. This review focused on the structure, mechanism of action, functional regulation, protein targeting and the status of the evolutionary of CheZ. This work can benefit the study of other bacterial chemotaxis systems.

Keywords: chemotaxis system, phosphatase, CheZ, protein targeting

(本文责编: 李磊)

Supported by the Key Research Program of the Chinese Academy of Sciences (KZZD-EW-14), by the Yantai Science and Technology Project (2013JH021), by the One Hundred-Talent Plan of Chinese Academy of Sciences, by the National Natural Science Foundation of China (31370108, 31570063), and by the Shandong Independent Innovation and Achievement Transformation Program (2014ZZCX07303)

*Corresponding author. Tel: +86-535-2109183; Fax: +86-535-2109000; E-mail: zhxie@yic.ac.cn

Received: 2 May 2016; Revised: 24 June 2016; Published online: 19 July 2016