



## 革兰氏阴性菌脂多糖运输系统的构成及作用机制

莫婷<sup>1,2,3</sup>, 刘马峰<sup>1,2,3\*</sup>, 程安春<sup>1,2,3\*</sup>

<sup>1</sup> 四川农业大学动物医学院, 预防兽医研究所, 四川 成都 611130

<sup>2</sup> 四川农业大学动物医学院, 禽病防治中心, 四川 成都 611130

<sup>3</sup> 动物疫病与人类健康四川省重点实验室, 四川 成都 611130

**摘要:** 革兰氏阴性菌包含有两层组分不同的膜结构——内膜和外膜, 对大多数革兰氏阴性菌而言, 脂多糖(lipopolysaccharides, LPS)是其外膜上最主要的脂质成分, 锚定在外膜小叶(the outer leaflet of the OM)上, 是革兰氏阴性菌固有免疫的重要组成部分。脂多糖运输系统(lipopolysaccharide transport system, Lpt)将胞内装配完整的 LPS 正确装配到外膜, 使得与脂多糖相关的阻渗、有机溶剂耐受性、疏水性抗生素耐受性、膜通透性等功能得以实现。该运输系统的正确作用主要依赖 7 个不同的脂多糖运输蛋白(LptABCDEFG)协同完成, 整个系统贯穿细菌内膜至外膜, 由内膜上 ABC 转运体复合物 LptB2FG、胞质内转运协同蛋白 LptA/C 及被许多学者称作脂多糖运输的“命门”的外膜蛋白复合物 LptDE 共同构成。本文就革兰氏阴性菌脂多糖的具体结构功能进行简介, 进而综述脂多糖运输系统的 7 个蛋白的构成和作用机制, 以期为进一步研究该系统中每个蛋白的功能提供理论基础及参考。

**关键词:** 革兰氏阴性菌, 脂多糖, 运输系统

革兰氏阴性菌的细胞膜是由三部分构成——内膜(又被叫做细胞质膜)、外膜、细胞间质。其中细胞内膜为对称的磷脂双分子层, 主要由一些相关的膜蛋白构成, 且这些内膜蛋白多为疏水的  $\alpha$  螺旋结构; 细胞间质为一层充实着大量肽聚糖成分的结构; 细胞外膜则是由两层高度不对称性的膜组成的革兰氏阴性菌“对外屏障”——其内单层只包含有磷脂成分, 但是外单层主要由脂多糖组成

并包含一些对外环境有抵抗作用的外膜蛋白, 与内膜蛋白不同的是, 这些外膜蛋白多为亲水的  $\beta$  折叠结构<sup>[1-2]</sup>。所有的细胞都是由其细胞膜来与外界的环境隔离开来, 细胞膜的不同结构决定了细胞膜的不同选择能力——能够允许有益分子如营养素等进入细胞, 并有效地阻止有害物质, 例如抗生素的进入<sup>[3]</sup>。正因为革兰氏阴性菌的外膜有内侧面不对称的磷脂成分及外侧面大量的脂多糖分

基金项目: 国家自然科学基金(31572521)

\*通信作者。刘马峰, Tel: +86-835-2885774, E-mail: liumafengra@163.com; 程安春, chenganchun@vip.163.com

收稿日期: 2017-10-23; 修回日期: 2018-03-19; 网络出版日期: 2018-05-29

子,才使得其细胞膜具有独特的难渗透性,有效帮助细菌细胞应对外界有害刺激<sup>[4]</sup>。对于绝大多数革兰氏阴性菌来说,脂多糖(lipopolysaccharide, LPS)都是其外膜的必需组成部分,在细菌细胞每一次进行分裂的时候,每个细胞都要合成和运输数百万的 LPS 分子,LPS 在细胞内合成后,会通过 ATP 水解酶 MsbA 翻转出内膜,再利用 ATP 运输盒子 LptB<sub>2</sub>FG 从内膜输出,以周质内起桥梁作用的 LptAC 运输到外膜,最终通过外膜转运子蛋白复合物 LptDE 选择性地锚定在外膜上<sup>[5]</sup>。至今为止 LPS 的整个运输过程已经能够通过构建模型来进行形象的描述,Lpt (lipopolysaccharide transportation) 系统的各个蛋白结构也得以成功解析,但是 LPS 的运输过程耗能来源、呈递位点、及系统中 7 个蛋白的相互作用都还未研究透彻,尚处于起步阶段,故本文以最常见的革兰氏阴性菌大肠杆菌 (*Escherichia coli*, *E. coli*)、沙门杆菌(*Salmonella*) 等为例,主要综述脂多糖运输(Lpt)系统的各蛋白组成,从而阐明 LPS 的整个运输过程,为后续研究 LPS 运输过程中的盲点奠定基础<sup>[6-8]</sup>。

## 1 脂多糖的结构和功能简介

### 1.1 脂多糖(LPS)的基本组成

LPS 锚定在革兰氏阴性菌的外膜上,保护细菌细胞远离环境中的有害化合物,在过去的很长时间内,对脂多糖运输系统(Lpt 系统)知之甚少,但过去十年的积极研究中,LPS 运输系统的研究已有了极大的突破<sup>[1,9-11]</sup>。LPS 通常包含了 2-3 种结构——Lipid A (帮助脂多糖分子锚定在外膜上),核心寡糖,及一种多聚 O 抗原链(图 1)。O 抗原链通常由 1-6 个糖残基重复单位构成,具有很高的可变性,仅在大肠杆菌中就有 170 多种不

同的 O 抗原链已被报道<sup>[12-13]</sup>。但 O 抗原链并不存在于所有的革兰氏阴性菌中,其在某些革兰氏阴性菌中是缺乏的,如脑膜炎奈瑟氏菌(*Neisseria meningitidis*)和鲍特菌属(*Bordetella*),这种不存在 O 抗原链的脂多糖有时也被叫做脂寡糖<sup>[14]</sup>。与 O 抗原不同,LPS 的 Lipid A 和核心寡糖是具有 LPS 的革兰氏阴性菌均会存在的结构,绝大多数 Lipid A 是由一个葡萄糖胺二糖构成的,其中大肠杆菌的 Lipid A 在第 1 和 4'位点被磷酸化,在 2 和 2'位点各有一条脂肪酰链,在 3 和 3'位点上各有一条酯链,且在二糖骨干上的 2'和 3'的主酯链上会再次酯化,连上一条次级脂肪酸链,且 Lipid A 的这种结构通常在革兰氏阴性菌中是保守的,只会在各脂肪酸链所在的二糖主骨干的位点上会有所差异<sup>[13,15]</sup>; LPS 的另一固有组分——核心寡糖在结构上分为内外核心寡糖,其中内核心寡糖在同物种间通常是保守的,由 3 个 Kdo (3-deoxy-D-manno-oct-2-ulosonic acid)结构和 3 个 heptose (L-glycero-D-manno-heptose)结构组成<sup>[16]</sup>。

### 1.2 脂多糖的重要功能

一些小分子亲水化合物可经由孔蛋白被动扩散入细胞中,但是一些大分子化合物和疏水分子却会被 LPS 构成的阻渗层挡在细胞外,其原理主要是 LPS 通过内部的负电荷和外部的二价阳离子发生补偿作用,与一些酰基链形成密集填充,从而形成一个疏水性化合物几乎不可渗透的网络结构<sup>[17]</sup>。尽管 LPS 的功能重要,但并不是所有革兰氏阴性菌都必需的外膜组分,这些革兰氏阴性菌会合成一些与 LPS 类似的糖脂类取代物来扮演 LPS 的角色<sup>[18]</sup>。另外也存在有脂多糖和其他糖脂层共同发挥作用的细菌,例如鸭疫里默氏杆菌 (*Riemerella anatipestifer*),会在细菌外膜之外额

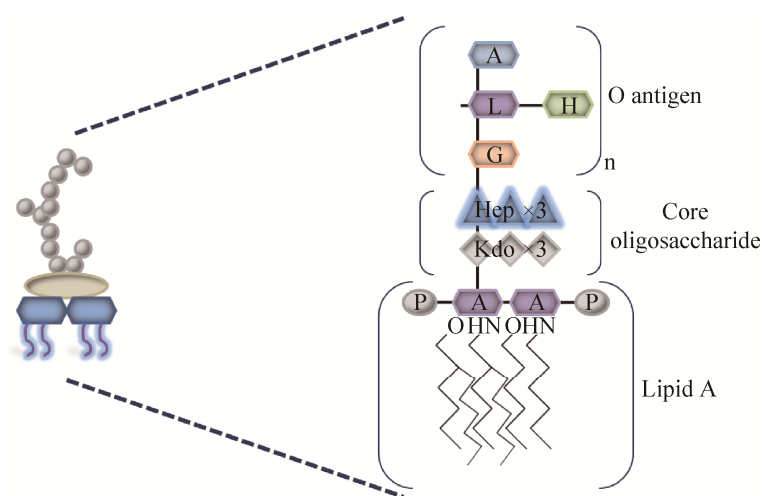


图 1. 大肠杆菌脂多糖结构示意图

Figure 1. Schematic of the structure of *E. coli* LPS. For *E. coli*, LPS is mainly composed of three major domains: Lipid A (help anchor lipopolysaccharide molecules in the outer membrane), core oligosaccharide, and a O antigen chain (not all LPS of Gram negative bacteria have it).

外形成一层很厚的荚膜多糖层，具有与其他革兰氏阴性菌的脂多糖相似的作用。当我们低表达了 Lpt 系统中的基因之后，成功抑制了脂多糖在外膜上的锚定过程，但该菌依旧能存活并对疏水性药物戊二醛和有机溶剂 20% SDS 仍有一定的抵抗作用，但较之野生株，抵抗作用明显减弱，这暗示在一些具有荚膜多糖的革兰氏阴性菌中，LPS 不再作为细菌直接抵御外来入侵的屏障，而由荚膜多糖或其他糖脂类取代物取而代之。

但是一些具有完整结构(含有 O 抗原)的 LPS 会对细菌形成一个更强的保护作用，可保护细菌远离补体系统的致死作用，并免于被巨噬细胞吞噬，形成一个有效地抵御噬菌体、细菌素和杀菌剂的屏障<sup>[19]</sup>。

除此之外，Lipid A 也是细菌的免疫系统中非常重要的信号因子，它能使 LPS 与宿主的 Toll 样受体 4 (TLR4)与脂质结合蛋白 MD2 组成的 TLR4-MD2 异源复合体结合，并激活宿主的炎症

反应信号通路<sup>[20-21]</sup>。也正因为 LPS 在炎症反应中作为一种有效的激活剂而存在，所以也被称为内毒素<sup>[22]</sup>。

故脂多糖至少具有构成细菌阻渗层、药物耐受性、作为信号因子(固有免疫中的作用)等几个重要功能，且构成脂多糖分子的 3 个部分——Lipid A、核心寡糖、O 抗原链分别发挥了不同的作用，并最终实现脂多糖的多个功能。

## 2 脂多糖运输(Lpt)系统的蛋白组成与结构

### 2.1 外膜上蛋白复合物 LptD/E

现有研究表明，在存在脂多糖的革兰氏阴性菌中，外膜蛋白 LptD 会和脂蛋白 LptE 在外膜上形成一个稳定的蛋白复合体，该复合体是至今报道的最大的一对桶状单体复合物<sup>[23]</sup>。对 LptD/E 的首次报道是在鼠伤寒沙门氏菌中，在之后大肠杆

菌、铜绿假单胞杆菌(*Pseudomonas aeruginosa*)中也相继发现了该化合物,现已报道的 LptD 和 LptE 单体蛋白的结构有所不同,但是所有的 LptD/E 蛋白复合物均有相似的结构<sup>[1,24-26]</sup>。

其中 LptD 是一个锚定在革兰氏阴性菌外膜上一个典型的  $\beta$  桶状蛋白,其结构已在之前的文章中详细描述<sup>[27]</sup>。LptE 在 LptD/E 复合物中作为 LptD 桶状蛋白的“塞子”发挥作用,是同时包含了  $\beta$  折叠和  $\alpha$  螺旋两种蛋白结构的一种脂蛋白(由 3 个  $\alpha$  螺旋和 5 个  $\beta$  折叠构成),LptE 的 C 端结构域的  $\alpha 3$  与  $\alpha 2$  形成一个  $120^\circ$  的夹角从而与  $\beta 4$  和  $\beta 5$  形成连接<sup>[28]</sup>。在大肠杆菌中,LptE 蛋白的最大直径处约为  $36 \text{ \AA}$  ( $1 \text{ \AA}=10^{-1} \text{ nm}$ ),最小处为  $30 \text{ \AA}$ ,在大肠杆菌中 LptE 为一个  $20 \text{ kDa}$  左右的小分子蛋白<sup>[25,29]</sup>。

就 LptD/E 蛋白复合物而言,LptE 的整个核心部分( $\beta 1-4$  及  $\alpha 1-2$ )几乎完全插入 LptD 的 C 端桶状域中,但其脂质修饰的 N-末端区域很可能紧贴 LptD 的“桶壁”并直接与外膜接触<sup>[30]</sup>。

## 2.2 胞质内转运协同蛋白 LptA/C

LptA/C 作为 Lpt 系统的周质 LPS 转运蛋白复合物,是连接 LptB<sub>2</sub>CFG 复合物与 LptD/E 易位子的关键蛋白质,LptA 的 N 端与 LptC 的 C 端相连,以完成相互作用<sup>[31]</sup>。现有研究表明这两个周质运输蛋白在序列上不具有同源性,但在蛋白结构上却具有高度相似性,并呈现出一种独特的  $\beta$ -卷心蛋糕式构象( $\beta$ -jellyroll architecture),并由此 2 个蛋白结构进一步研究发现,整个 Lpt 系统存在于周质的蛋白或蛋白部分结构域都存在这样的  $\beta$ -卷心蛋糕式构象<sup>[6,32-33]</sup>。

其中 LptA 蛋白包含了 185 个氨基酸残基(其中 27 个残基构成其信号肽部分),现有研究明确

报道的 LptA 蛋白结构共有 2 种,分别在大肠杆菌和铜绿单胞菌中得以成功解析,就其蛋白大小而言与 LptD 的 N 端基本相同,为  $23 \text{ kDa}$  左右的小分子蛋白<sup>[34-36]</sup>。其中对大肠杆菌 LptA 结构的解析,是 LPS 运输蛋白中第一个成功解析的结构<sup>[34]</sup>。在该报道中,明确指出 LptA 包含 16 个反向平行的  $\beta$  折叠,形成上文提到的独特的  $\beta$ -jellyroll 结构,且这个结构的核心部分是疏水性的,并与 LPS 存在 UV 依赖型的交联作用。

LptC 的绝大部分蛋白结构存在于细胞间质中(residues 26–191),但是由于其存在有跨膜区域(residues 7–25),所以很多研究习惯称其为内膜蛋白。其在发挥运输功能时,会与 LptB<sub>2</sub>FG 转运子按 2:1:1:1 的比例结合形成 LptB<sub>2</sub>CFG 复合物<sup>[37]</sup>。在结构上,与 LptA 具有同样的  $\beta$ -jellyroll 结构,也同样是由 16 个反向平行的  $\beta$  折叠构成,当然在同一菌株中也与它的 LptA 具有近似的蛋白分子量——在大肠杆菌中约为  $18 \text{ kDa}$ <sup>[33]</sup>。在 Lpt 途径中,LptC 主要通过其疏水端结构域起到绑定 LPS 的作用,并利用周围环境中的 ATP 完成向 LptA 的单向 LPS 呈递<sup>[38]</sup>。

## 2.3 内膜上 ABC 运输蛋白 LptB<sub>2</sub>FG

Lpt 系统中位于内膜上起脂多糖抽出作用的 LptB<sub>2</sub>FG 复合物,是一个  $134 \text{ kDa}$  的大分子 LPS ABC 转运体,每一个拷贝包含有 1 个 LptF、1 个 LptG 和 2 个 LptB 蛋白。现对肺炎克雷伯菌和绿脓假单胞菌的 LptB<sub>2</sub>FG 晶体结构已成功解析<sup>[28,39]</sup>。

在这个 ABC 转运体中,最先解析的结构是 NBD 结构域(nucleotide-binding domains)——LptB 蛋白,由 Wang 等于 2014 年在大肠杆菌中成功解析,研究指出该 LptB 的晶体结构属于空间群 C2221,其晶胞大小为  $a=85.16 \text{ \AA}$ ,  $b=125.76 \text{ \AA}$ ,  $c=89.61 \text{ \AA}$ ,

且  $\alpha=\beta=\gamma=90^\circ$ 。在蛋白结构上, LptB 蛋白包含了 10 个  $\alpha$  螺旋和 10 个  $\beta$  折叠结构, 形成了 2 个不同的结构域——RecA 样结构域和  $\alpha$  螺旋结构域<sup>[40]</sup>。在这 2 个结构域的中间形成一个疏水性凹槽, 是其与这个 ABC 转运体的 TMD 结构域 (transmembrane domain)——LptF 和 LptG 的结合位点。

LptF 和 LptG 作为这个 ABC 转运体的跨膜区, 与大多数内膜蛋白一样, 是典型的  $\alpha$  螺旋结构蛋白, 各有 6 个  $\alpha$  螺旋结构, 此两蛋白形成 1 个异二聚体, 同样形成 1 个凹槽, 与 LptB 形成的同二聚体的“V”型凹槽对接相连, 共同构成一个完整的 ABC 转运体。据 Dong 等报道, 在肺炎克雷伯菌中, 整个 LptB<sub>2</sub>FG 转运体约宽 86 Å, 长约 128 Å<sup>[39]</sup>。

### 3 脂多糖的运输过程

脂多糖正常运输并正确装配至外膜, 需要依赖 Lpt 系统的 7 个运输蛋白——LptABCDEFG 共同完成, Lpt 系统的细胞内膜上蛋白复合物共同形成 ABC 转运体复合物 (ATP-binding cassette transporter Complex), 接收由 MsbA 翻转酶翻转出内膜的完整脂多糖结构。LPS 翻转出内膜后, 首先被呈递给这个 ABC 转运体的 NBDs (nucleotide binding domains, 核苷酸结合区)——LptB, 该蛋白在结构上呈完全折叠构型, 具有 NBDs 蛋白典型的“L”构型, 而且包含高度保守的 Q-loop (Q 回路), 用于提供  $Mg^{2+}$  和 ABC 转运蛋白特殊的结合基序, 并利用该回路在其暴露的结合面形成一个凹槽<sup>[41]</sup>。使其能与其所在的 ABC 转运体复合物中由 LptF、LptG 构成的跨膜区 TMDs (transmembrane domains) 构建一个针对 LPS 的信号传导通路, 并

将 LPS 运输至周质转运蛋白 LptA/C, LptC-LptA 构成类桥梁结构, 将自身表面与 LPS 的 LipidA 部分进行暂时的结合, 由于 LipidA 本身携带有大量的负电荷, 会对邻近的分子间产生静电排斥力, 使得 LPS 能沿 LptA-LptC 顺利地进行单向移动, 接着 LPS 会通过 LptA 与 LptD 间的水溶性周质结构, 被运输至 Lpt 系统位于外膜的  $\beta$  桶装蛋白 LptD 的 N 端, 这时 LPS 会从 LptD 的  $\beta 1-\beta 26$  间约 16 Å 宽的脂多糖出口横插入 LptD 的内部, 在 LptD 的 C 端桶状蛋白结构中, 由 LptD 的分子伴侣 LptE 进行方向调整, 使其垂直于外膜, 沿着 LptD 的  $\beta 1-\beta 26$  的方向, 在外膜带正电的  $Mg^{2+}$  的帮助下完成在 LptD 蛋白中的侧向移动过程, 最终成功装配到外膜上, 下文将进一步对 LPS 的输出过程进行详述<sup>[8,42-43]</sup>。

#### 3.1 脂多糖的生物合成及内膜抽出过程

对 LPS 的生物合成的研究在近 20 年来已有了极大的进展, 主要由 Christian Raetz 团队进行了大量集中报道, 对其合成位置和机制也因此得以明确<sup>[12-13]</sup>。研究表明, LPS 的 lipid A 核心寡糖是在细菌内膜的胞质面上合成, O 抗原部分则是独立于 lipid A 和核心寡糖单独进行合成, 然后再在内膜的外表面结扎在 lipid A-core 上<sup>[44]</sup>。Georgopoulos 等在一次基因筛选的过程中, 发现 MsbA 是其热敏等位基因——*htrB* 的多拷贝抑制剂<sup>[45]</sup>。基于这个结果, Georgopoulos 等明确了 MsbA 是属于 ABC 蛋白家族, 且就其功能而言, MsbA 是一个转运蛋白, 通过接收 ATP 水解产生的能量, 来实现将 LPS 从内膜的胞质面到周质面的翻转功能。要正确地发挥功能, MsbA 必须先形成一个二聚体 (每个单体都拥有 NBD 和 TMD 两种结构), 然后在通过“闭合”和“开放”两种状态转换

来完成 LPS 的翻转过程, 然后顺利地将 LPS 呈递给 Lpt 系统<sup>[46]</sup>。

LPS 经翻转酶 MsbA 翻转至内膜的细胞周质面后, 首先接触 Lpt 系统的 LptB 蛋白, 研究结果暗示 LptB 很可能在前期是作为 ATP 酶而发挥作用——使 ATP 水解而为 LPS 的运输供能, 在水解过程中, LptB 会形成变体与同一个 ABC 转运体中的 LptFG 相互作用(图 2)。研究人员也通过其结构的改变, 发现了 LptB 是通过 ATP 水解耦联的手段从内膜组分中提取 LPS, 再交付给 LptFG, 最终进入 Lpt 系统的细胞间质过程, 但 LptFG 参与的运输过程和与间质直接相互作用的同系统蛋白 LptC 间的作用机制还尚不明确<sup>[41,47]</sup>。

如果没有 LptB<sub>2</sub>FG 蛋白复合物, LPS 将会累积到细菌内膜的外侧面小叶(leaflet)上, 故 LPS 运

输的第一步就是完成糖脂类的抽取过程, 这需要经由 Lpt 系统在内膜上的复合物提供能量和运输渠道。

### 3.2 脂多糖的胞质运输及外膜装配过程

首先 LPS 经过膜内的一系列生化作用进行合成, 然后由细胞内膜上的 ABC 转运体 MabA 将已完成翻转、合成好的 LPS 呈递给另一个 ABC 复合转运体 LptB<sub>2</sub>FG, 这个复合物将 LPS 从内膜胞质面排出至内膜的细胞间质面, 进而通过 LptC–LptA 的类桥梁结构, 并将各自的表面与脂多糖的 Lipid A 一端接触, 由于其本身携带有大量的负电荷, 与邻近的分子间具有静电排斥力, 所以其能沿 LptA–LptC 顺利地进行单向移动, 但据报道, 在少部分革兰氏阴性菌中, Lpt 运输系统缺少周质脂多糖运输蛋白 LptC, 会直接将内膜抽出

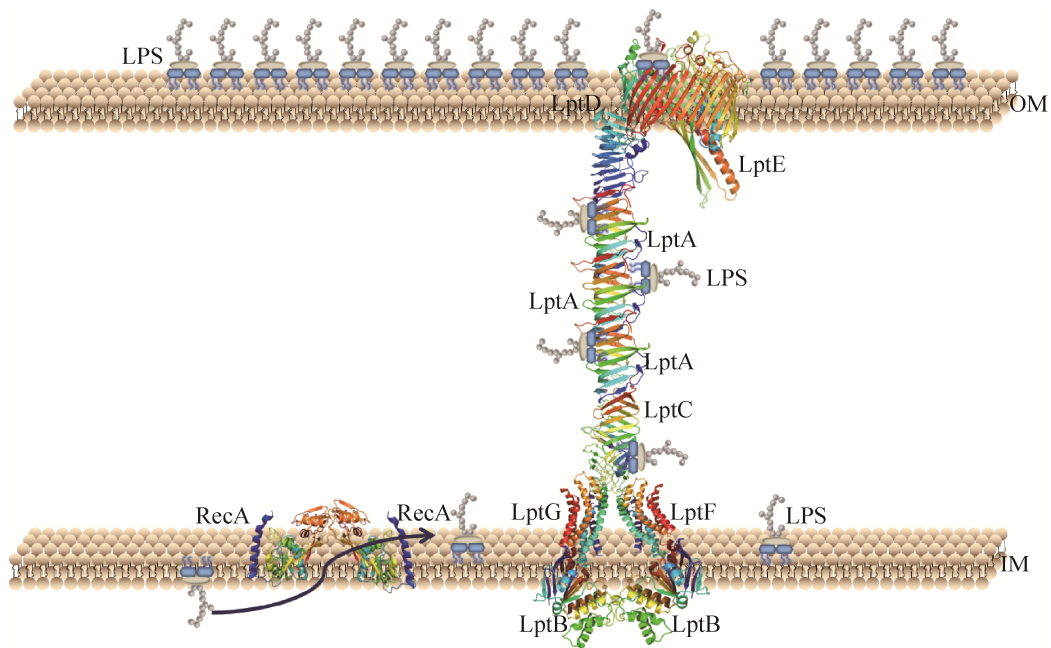


图 2. 脂多糖运输系统(Lpt 系统)

Figure 2. Schematic of Lpt (Lipopolysaccharide transportation) system. After flipping across the IM by the ABC transporter MsbA, LPS is extracted from the IM and transported across the periplasm to the OM at the expense of ATP hydrolysis by the Lpt protein machine (LptA–G).

后的脂多糖直接呈递给 LptA, 再通过 LptA 与 LptD 间氨基端相似的水溶性周质结构, 完成脂多糖从 LptA 到 LptD 运输过程, 但 Lpt 系统的细胞间质内运输机制到目前为止还尚不清楚<sup>[6-8,32]</sup>。当 LPS 接触到 LptD 的 N 端结构后便会从 LptD 蛋白的  $\beta 1$ - $\beta 26$  间约 16 Å 宽的脂多糖出口进入 LptD 的内部, 并在输出至 LptD 的 C 端结构时经 LptE 进行方向的调整, 使其垂直于外膜, 并沿着 LptD 的  $\beta 1$ - $\beta 26$  进行侧向移动, 然后由外膜上带正电的  $Mg^{2+}$  帮助 LPS 完成在 LptD 蛋白中的侧向移动过程, 最终成功装配到外膜上(图 2)<sup>[43]</sup>。

## 4 展望

迄今为止, 文献报道的革兰氏阴性菌的脂多糖运输途径只有一条——Lpt 运输系统, 现代科学已经可以很好地构建模式图对脂多糖的运输过程进行诠释, 并且明确该通路倚赖 ATP 水解产生的能量作为脂多糖单向运输的主要动力来源。总结至今的研究资料表明脂多糖是由 Lipid A、核心寡糖及一种多聚 O 抗原链共同构成的外膜重要结构, 其参与了细菌固有免疫、疏水性药物的耐受等多种功能。而 Lpt 运输系统共由 7 个运输蛋白组成, 由 ATP 水解供能, 对 LPS 正确运输装配到外膜上的过程是缺一不可的, 我们综述了整个 Lpt 系统的组分后发现, 对这 7 个——3 对蛋白复合物的晶体结构已成功解析, 对各蛋白之间的相互作用机制也基本明确, 但对内膜上 ABC 转运体的 TMDs 区 LptFG 与间质运输蛋白 LptC 的现有研究仅能说明其依赖 ATP 水解供能来完成运输过程, 其他相互作用机制(如如何完成 LPS 的方向旋转等)还尚不明确, 这将是后续急需研究的方向, 若能明确各相邻组分间的相互作用, 可帮助更深入地

对 Lpt 系统的各组分进行一些靶向性的实验和研究。弄清楚 LPS 运输系统各组分间的相互作用机制, 也有助于更清晰地阐述 LPS 的正确装配和发挥作用的过程, 对后续研究细菌的固有免疫、对特定药物的耐受作用等至关重要, 也是未来的重要研究方向之一。

## 参考文献

- [1] Qiao S, Luo QS, Zhao Y, Zhang XC, Huang YH. Structural basis for lipopolysaccharide insertion in the bacterial outer membrane. *Nature*, 2014, 511(7507): 108–111.
- [2] Fairman JW, Noinaj N, Buchanan SK. The structural biology of  $\beta$ -barrel membrane proteins: a summary of recent reports. *Current Opinion in Structural Biology*, 2011, 21(4): 523–531.
- [3] Simpson BW, May JM, Sherman DJ, Kahne D, Ruiz N. Lipopolysaccharide transport to the cell surface: biosynthesis and extraction from the inner membrane. *Philosophical Transactions of the Royal Society of B: Biological Sciences*, 2015, 370(1679): 20150029.
- [4] Bos MP, Tommassen J. Biogenesis of the Gram-negative bacterial outer membrane. *Current Opinion in Microbiology*, 2004, 7(6): 610–616.
- [5] May JM, Sherman DJ, Simpson BW, Ruiz N, Kahne D. Lipopolysaccharide transport to the cell surface: periplasmic transport and assembly into the outer membrane. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, 2015, 370(1679): 20150027.
- [6] Laguri C, Sperandio P, Pounot K, Ayala I, Silipo A, Bougault CM, Molinaro A, Polissi A, Simorre JP. Interaction of lipopolysaccharides at intermolecular sites of the periplasmic Lpt transport assembly. *Scientific Reports*, 2017, 7: 9715.
- [7] Dong HH, Tang XD, Zhang ZY, Dong CJ. Structural insight into lipopolysaccharide transport from the Gram-negative bacterial inner membrane to the outer membrane. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular and Cell Biology of Lipids*, 2017, 1862(11): 1461–1467.
- [8] Sperandio P, Martorana AM, Polissi A. The lipopolysaccharide transport (Lpt) machinery: a nonconventional transporter for lipopolysaccharide assembly at the outer membrane of Gram-negative bacteria. *Journal of*

- Biological Chemistry*, 2017, 292(44): 17981–17990.
- [9] Erridge C, Bennett-Guerrero E, Poxton IR. Structure and function of lipopolysaccharides. *Microbes and Infection*, 2002, 4(8): 837–851.
- [10] Ricci DP, Silhavy TJ. The Bam machine: A molecular cooper. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Biomembranes*, 2012, 1818(4): 1067–1084.
- [11] Selkrig J, Leyton DL, Webb CT, Lithgow T. Assembly of  $\beta$ -barrel proteins into bacterial outer membranes. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular Cell Research*, 2014, 1843(8): 1542–1550.
- [12] Whitfield C, Trent MS. Biosynthesis and export of bacterial lipopolysaccharides. *Annual Review of Biochemistry*, 2014, 83: 99–128.
- [13] Raetz CRH, Whitfield C. Lipopolysaccharide endotoxins. *Annual Review of Biochemistry*, 2002, 71: 635–700.
- [14] Liu B, Knirel YA, Feng L, Perepelov AV, Senchenkova SN, Reeves PR, Wang L. Structural diversity in *Salmonella* O antigens and its genetic basis. *FEMS Microbiology Reviews*, 2014, 38(1): 56–89.
- [15] Silipo A, Molinaro A. Lipid a structure//Knirel Y, Valvano M. Bacterial Lipopolysaccharides. Vienna: Springer, 2011: 1–20.
- [16] Li H, Yang TD, Liao TT, Debowski AW, Nilsson HO, Haslam SM, Dell A, Stubbs KA, Marshall BJ, Benghezal M. Insights from the redefinition of *Helicobacter pylori* lipopolysaccharide O-antigen and core-oligosaccharide domains. *Microbial Cell*, 2017, 4(5): 175–178.
- [17] Ruiz N, Kahne D, Silhavy TJ. Transport of lipopolysaccharide across the cell envelope: the long road of discovery. *Nature Reviews Microbiology*, 2009, 7(9): 677–683.
- [18] Schröder NWJ, Eckert J, Stübs G, Schumann RR. Immune responses induced by spirochetal outer membrane lipoproteins and glycolipids. *Immunobiology*, 2008, 213(3/4): 329–340.
- [19] Murray GL, Attridge SR, Morona R. Altering the length of the lipopolysaccharide O antigen has an impact on the interaction of *Salmonella enterica* serovar typhimurium with macrophages and complement. *Journal of Bacteriology*, 2006, 188(7): 2735–2739.
- [20] Bryant CE, Spring DR, Gangloff M, Gay NJ. The molecular basis of the host response to lipopolysaccharide. *Nature Reviews Microbiology*, 2010, 8(1): 8–14.
- [21] Meseguer V, Alpizar YA, Luis E, Tajada S, Denlinger B, Fajardo O, Manenschijn JA, Fernández-Peña C, Talavera A, Kichko T, Navia B, Sánchez A, Señarís R, Reeh P, Pérez-García MT, López-López JR, Voets T, Belmonte C, Talavera K, Viana F. TRPA1 channels mediate acute neurogenic inflammation and pain produced by bacterial endotoxins. *Nature Communications*, 2014, 5: 3125.
- [22] Arbour NC, Lorenz E, Schutte BC, Zabner J, Kline JN, Jones M, Frees K, Watt JL, Schwartz DA. TLR4 mutations are associated with endotoxin hyporesponsiveness in humans. *Nature Genetics*, 2000, 25(2): 187–191.
- [23] Chng SS, Ruiz N, Chimalakonda G, Silhavy TJ, Kahne D. Characterization of the two-protein complex in *Escherichia coli* responsible for lipopolysaccharide assembly at the outer membrane. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2010, 107(12): 5363–5368.
- [24] Dong HH, Xiang QJ, Gu YH, Wang ZS, Paterson NG, Stansfeld PJ, He C, Zhang YZ, Wang WJ, Dong CL. Structural basis for outer membrane lipopolysaccharide insertion. *Nature*, 2014, 511(7507): 52–56.
- [25] Botos I, Majdalani N, Mayclin SJ, McCarthy JG, Lundquist K, Wojtowicz D, Barnard TJ, Gumbart JC, Buchanan SK. Structural and functional characterization of the LPS transporter LptDE from gram-negative pathogens. *Structure*, 2016, 24(6): 965–976.
- [26] Malojić G, Andres D, Grabowicz M, George AH, Ruiz N, Silhavy TJ, Kahne D. LptE binds to and alters the physical state of LPS to catalyze its assembly at the cell surface. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2014, 111(26): 9467–9472.
- [27] Mo T, Liu MF, Cheng AC. Structure and function of LptD in some Gram-negative bacteria. *Microbiology China*, 2017, 44(1): 217–224. (in Chinese)  
莫婷, 刘马峰, 程安春. 部分革兰氏阴性菌脂多糖运输蛋白 LptD 的结构及功能研究进展. *微生物学报*, 2017, 44(1): 217–224.
- [28] Moehle K, Kocherla H, Bacsá B, Jurt S, Zerbe K, Robinson JA, Zerbe O. Solution structure and dynamics of LptE from *Pseudomonas aeruginosa*. *Biochemistry*, 2016, 55(21): 2936–2943.
- [29] Chimalakonda G, Ruiz N, Chng SS, Garner RA, Kahne D, Silhavy TJ. Lipoprotein LptE is required for the assembly of LptD by the  $\beta$ -barrel assembly machine in the outer



- membrane of *Escherichia coli*. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2011, 108(6): 2492–2497.
- [30] Gu YH, Stansfeld PJ, Zeng Y, Dong HH, Wang WJ, Dong CJ. Lipopolysaccharide is inserted into the outer membrane through an intramembrane hole, a lumen gate, and the lateral opening of LptD. *Structure*, 2015, 23(3): 496–504.
- [31] Freinkman E, Okuda S, Ruiz N, Kahne D. Regulated assembly of the transenvelope protein complex required for lipopolysaccharide export. *Biochemistry*, 2012, 51(24): 4800–4806.
- [32] Sperandio P, Villa R, Martorana AM, Šamalikova M, Grandori R, Dehò G, Polissi A. New insights into the lpt machinery for lipopolysaccharide transport to the cell surface: LptA-LptC interaction and lptA stability as sensors of a properly assembled transenvelope complex. *Journal of Bacteriology*, 2011, 193(5): 1042–1053.
- [33] Tran AX, Dong CJ, Whitfield C. Structure and functional analysis of LptC, a conserved membrane protein involved in the lipopolysaccharide export pathway in *Escherichia coli*. *Journal of Biological Chemistry*, 2010, 285(43): 33529–33539.
- [34] Suits MDL, Sperandio P, Dehò G, Polissi A, Jia ZC. Novel structure of the conserved gram-negative lipopolysaccharide transport protein A and mutagenesis analysis. *Journal of Molecular Biology*, 2008, 380(3): 476–488.
- [35] Bollati M, Villa R, Gourlay LJ, Benedet M, Dehò G, Polissi A, Barbiroli A, Martorana AM, Sperandio P, Bolognesi M, Nardini M. Crystal structure of LptH, the periplasmic component of the lipopolysaccharide transport machinery from *Pseudomonas aeruginosa*. *FEBS Journal*, 2015, 282(10): 1980–1997.
- [36] Tran AX, Trent MS, Whitfield C. The LptA protein of *Escherichia coli* is a periplasmic lipid A-binding protein involved in the lipopolysaccharide export pathway. *Journal of Biological Chemistry*, 2008, 283(29): 20342–20349.
- [37] Narita SI, Tokuda H. Biochemical characterization of an ABC transporter LptBFGC complex required for the outer membrane sorting of lipopolysaccharides. *FEBS Letters*, 2009, 583(13): 2160–2164.
- [38] Sestito SE, Sperandio P, Santambrogio C, Ciaramelli C, Calabrese V, Rovati GE, Zambelloni L, Grandori R, Polissi A, Peri F. Functional characterization of *E. coli* LptC: interaction with LPS and a synthetic ligand. *Chembiochem*, 2014, 15(5): 734–742.
- [39] Dong HH, Zhang ZY, Tang XD, Paterson NG, Dong CJ. Structural and functional insights into the lipopolysaccharide ABC transporter LptB<sub>2</sub>FG. *Nature Communications*, 2017, 8(1): 222.
- [40] Wang ZS, Xiang QJ, Zhu XF, Dong HH, He C, Wang HY, Zhang YZ, Wang WJ, Dong CJ. Structural and functional studies of conserved nucleotide-binding protein LptB in lipopolysaccharide transport. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 2014, 452(3): 443–449.
- [41] Sherman DJ, Lazarus MB, Murphy L, Liu L, Walker S, Ruiz N, Kahne D. Decoupling catalytic activity from biological function of the ATPase that powers lipopolysaccharide transport. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2014, 111(13): 4982–4987.
- [42] Schwalm J, Mahoney TF, Soltes GR, Silhavy TJ. Role for skp in LptD assembly in *Escherichia coli*. *Journal of Bacteriology*, 2013, 195(16): 3734–3742.
- [43] Putker F, Bos MP, Tommassen J. Transport of lipopolysaccharide to the Gram-negative bacterial cell surface. *FEMS Microbiology Reviews*, 2015, 39(6): 985–1002.
- [44] Rocchetta HL, Burrows LL, Lam JS. Genetics of O-antigen biosynthesis in *Pseudomonas aeruginosa*. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 1999, 63(3): 523–553.
- [45] Clementz T, Zhou ZM, Raetz CRH. Function of the *Escherichia coli* msbB gene, a multicopy suppressor of htrB knockouts, in the acylation of lipid A: acylation by MsbB follows laurate incorporation by HtrB. *Journal of Biological Chemistry*, 1997, 272(16): 10353–10360.
- [46] Doerrler WT, Gibbons HS, Raetz CRH. MsbA-dependent translocation of lipids across the inner membrane of *Escherichia coli*. *Journal of Biological Chemistry*, 2004, 279(43): 45102–45109.
- [47] Ruiz N, Gronenberg LS, Kahne D, Silhavy TJ. Identification of two inner-membrane proteins required for the transport of lipopolysaccharide to the outer membrane of *Escherichia coli*. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2008, 105(14): 5537–5542.

# Component and functions of lipopolysaccharide transport system in Gram-negative bacteria

Ting Mo<sup>1,2,3</sup>, Mafeng Liu<sup>1,2,3\*</sup>, Anchun Cheng<sup>1,2,3\*</sup>

<sup>1</sup> Institute of Preventive Veterinary Medicine, College of Veterinary Medicine, Sichuan Agricultural University, Chengdu 611130, Sichuan Province, China

<sup>2</sup> Avian Disease Research Center, College of Veterinary Medicine, Sichuan Agricultural University, Chengdu 611130, Sichuan Province, China

<sup>3</sup> Key Laboratory of Animal Disease and Human Health of Sichuan Province, Chengdu 611130, Sichuan Province, China

**Abstract:** Gram negative bacteria contain two layers of membranes: Inner membrane and Outer membrane. Lipopolysaccharides of most Gram-negative bacteria are the most important component of membrane lipid and anchored in the outer leaflet of the outer membrane, which play a role in inherent immune of Gram-negative bacteria. Lipopolysaccharide transport system assembles lipopolysaccharides into the outer membrane to achieve a variety of functions, including lipopolysaccharide associated barrier, organic solvent tolerance, hydrophobic antibiotic resistance, membrane permeability and other functions. The transport system mainly depends on 7 different lipopolysaccharides transport proteins (LptABCDEFG), which are composed of the ATP-binding cassette transporter complex LptB2FG, periplasm protein LptA/C, and "vital gate" outer membrane protein complex LptDE together. This paper describes the structure and functions of lipopolysaccharide transport system in Gram-negative bacteria, to provide information to further study the function of each protein in this system.

**Keywords:** Gram-negative bacteria, lipopolysaccharide, transport system

(本文责编: 李磊)

---

Supported by the National Natural Science Foundation of China (31572521)

\*Corresponding authors. Mafeng Liu, Tel: +86-835-2885774, E-mail: liumafengra@163.com; Anchun Cheng, chenganchun@vip.163.com

Received: 23 October 2017; Revised: 19 March 2018; Published online: 29 May 2018