



细菌分裂蛋白及FtsZ抑制剂的研究进展*

黄玄贺¹⁾ 孙 宁^{2,3)**} 钟冬晓¹⁾ 陈翠翠¹⁾ 李 莹¹⁾ 黄永樑⁴⁾ 卢宇靖^{1)**}

(¹⁾ 广东工业大学生物医药学院, 广州 510006;

(²⁾ 香港理工大学化学生物学及药物研发国家重点实验室, 香港理工大学应用生物与化学科技学系, 中国香港;

(³⁾ 广州医科大学附属第五医院, 广州 510700; (⁴⁾ 五邑大学生物科技与大健康学院, 江门 529020)

摘要 近年来, 由于抗生素的滥用, 耐药性细菌广泛出现, 对人体健康的威胁日益严峻. 随着临床用药的选择不断减少, 迫切需要开发新的抗菌药物, 特别是新作用机制的抗菌分子来对抗出现的耐药菌. 细胞分裂温度敏感突变体Z (filamenting temperature-sensitive mutant Z, FtsZ) 作为细菌分裂的必需蛋白质, 是目前研究最热门的作用靶点之一. FtsZ是一种高度保守的蛋白质, 在大多数原核细胞的细胞分裂中发挥着关键作用. 本文回顾了细菌分裂蛋白的结构特点及其生物学功能, 并综述了以FtsZ为靶点的抗菌药物研究的进展.

关键词 耐药菌, 抗菌药物, 分裂蛋白FtsZ, FtsZ抑制剂

中图分类号 Q5, R9

DOI: 10.16476/j.pibb.2020.0055

抗生素是临床上防治细菌感染的重要药物, 为肿瘤治疗、人体器官移植和再造等关键技术提供支持. 虽然抗生素的多样性和使用范围在不断拓展, 但细菌耐药性问题仍然持续存在. 在首次使用青霉素约50年后出现的一些耐药菌, 例如耐甲氧西林金黄色葡萄球菌 (MRSA)、耐多药鲍曼不动杆菌 (MRAB) 和耐多药肺炎链球菌 (MDRSP), 使治疗陷入窘境^[1]. 据估计, 全球每年有70万人死于抗生素耐药性, 一些专家预测, 如果不努力减少耐药性或开发新的抗生素, 到2050年, 这一数字可能会上升到1 000万^[2]. 而近20年来, 社会向后抗生素时代的转变, 世界范围内很少有新的抗菌药物被发现, 使得临床上常用的抗菌药物无法对耐药菌引起的传染性疾病进行有效治疗. 所以加快新型抗菌药物的研发, 设计并筛选具有新化学结构、新作用机制或新作用靶点的抗菌分子是现今研究的热点.

1 细菌分裂与FtsZ蛋白

细胞分裂发生机制是目前科研单位研究新型抗菌药物的重要内容. 细胞分裂是由构成分裂机器的分裂蛋白复合物所驱动的. 在目前已明确有效的靶

点中, 细胞分裂温度敏感突变体Z (filamenting temperature-sensitive mutant Z, FtsZ) 是目前研究最热门的作用靶点之一, 它具有GTP酶活性的原核细胞分裂蛋白, 在细菌分裂中起重要作用. FtsZ是介导细菌分裂的关键蛋白质, 几乎存在于所有的细菌当中, 形态上高度保守、不易变异^[3]. 在大肠杆菌中, FtsZ是第一个被招募到分裂位点的分裂蛋白, 它会聚合形成Z环并且与锚定蛋白ZipA和FtsA一起充当招募下游蛋白的支架, 最终形成一个大的分裂机器^[3]. 当FtsZ活性受到抑制时, 细菌无法完成增殖分裂形成狭长丝状或肿大球状结构, 进而导致细菌死亡^[4-5]. 因此, FtsZ及下游的蛋白质已成为开发抗菌分子的主要目标.

* 国家自然科学基金(81473082, 81703333), 广东省自然科学基金(2017A030313078, 2017A030313071, 2019A1515011799 和 2020A1515011326), 广东省农业生态厅重点项目(2018LM2175)和广州市卫生健康委员会-广州市中医药和中西医结合科技项目(20192A011018)资助.

** 通讯联系人. Tel: 020-31007624

卢宇靖. E-mail: luyj@gdut.edu.cn

孙宁. E-mail: ning.sun@connect.polyu.hk

收稿日期: 2020-03-07, 接受日期: 2020-07-07

1.1 细菌的细胞分裂

细胞分裂是一个由多蛋白参与调控的复杂生物学过程, 主要包括分裂部位的准确识别、Z环的定位、内膜和细胞壁的协调收缩. 这一过程需要复杂的蛋白质网络在空间和时间上协调 FtsZ 的组装和活性, 以确保分裂过程中 DNA 复制、染色体分离和细胞伸长有序进行^[6].

在大肠杆菌中, 分裂机器上含有超过 30 种不同类型的蛋白质. 其中 12 种是必需的, 它们的缺失导致了细长的丝状形态和最终的细胞死亡. 其余的 20 多种蛋白质通常不是保守的, 它们的缺失只会

导致轻微的分裂缺陷^[7]. FtsZ 蛋白首先招募 FtsA、ZipA、ZapA 等前期分裂蛋白, 在细胞中间处组装成不连续环状结构并通过 FtsA 和 ZipA 锚定在膜上^[3]. 这 3 种蛋白质形成原始环结构, 作为构建其余分裂蛋白的支架. 然后以 FtsEX-FtsK-FtsBLQ-FtsW-FtsI-FtsN 的线性顺序募集下游的保守分裂蛋白形成功能性分裂体^[7-8]. FtsZ 聚合物围绕着环结构的动态聚合引导了隔膜的形成, 分裂蛋白协调外膜和内膜的内陷与隔膜的合成, 插入额外的肽聚糖, 最后隔膜收缩完成胞质分裂 (图 1), Z 环在收缩后被分解^[9-10].

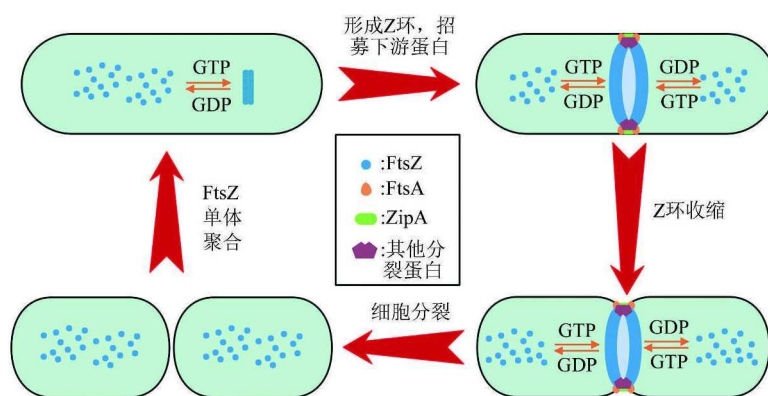


Fig. 1 Bacterial cell division

图1 细菌分裂

1.2 FtsZ蛋白的结构特点和生物学功能

FtsZ 在大多数细菌和古细菌物种中具有 40%~50% 的序列同一性, 其三维结构与其同源物微管蛋白相似, 尽管结构与功能相似, 但其氨基酸序列相同部分少于 20%^[6]. 两种蛋白质在 N 端都含有 GTP 结合结构域, 提供 GTP 酶活性^[11]. 然而, FtsZ 和人微管蛋白的叠加显示两种蛋白质之间存在一个主要的结构差异: FtsZ 含有一个由 H7 核心螺旋链接的区域间裂隙, 其分离 N 端结构域和 C 端结构域, 而该裂隙在微管蛋白中是不存在的^[11].

与微管蛋白不同, FtsZ 原丝是单一肽种的均聚物, 在没有二价金属离子存在的情况下, FtsZ 就能较易结合核苷酸以及聚合物^[12]. 虽然微管蛋白和 FtsZ 都是以催化 GTP 水解产生能量的形式聚合形成细胞骨架细丝用于细胞分裂, 但它们功能仍存在区别. 微管蛋白聚合成的微管将遗传物质传送到分裂细胞的两极, 而 FtsZ 负责在细胞膜的內表面形成 Z 环将细胞分裂成两个子细胞^[13].

FtsZ 是由两个结构域组成的保守结构, 其一是 N 端 GTP 酶区域, 另一个是 C 端 GTP 酶激活区域. N 端 GTP 酶区域的核苷酸结合位点与 C 端 GTP 酶激活区域的 T7 环在连接处结合形成 GTP 酶活性位点通过中心的长螺旋 H7 相链接形成小分子结合口袋 (图 2)^[13-15]. FtsZ 的保守 C 端结构域是介导 FtsZ 与其他调节分裂、组装和拆卸的辅助蛋白相互作用的关键结构, 如 MinC、FtsA、ZipA、EzrA、ClpX、SepF 等^[6].

每一个大肠杆菌细胞中大约有 15 000 个 FtsZ 单体^[16]. 在 GTP 与 Mg^{2+} 的作用下, FtsZ 分子以头对尾方式聚合形成的原丝排列在分裂的细胞中心, 弯曲成捆状形成 Z 环^[17-19]. 当一个 FtsZ 亚基的 T7 环插入另一个 FtsZ 亚基的 GTP 结合结构域时, 会触发 FtsZ 的 GTP 酶活性, 因为 GTP 酶催化位点只在两个相邻的 FtsZ 单体连接时形成^[20] (图 2). GTP 的水解是由于 γ -磷酸的亲核攻击而发生的, 这需要 Mg^{2+} ^[21]. 在 FtsZ 的 GTP 酶活性催化下 GTP 水

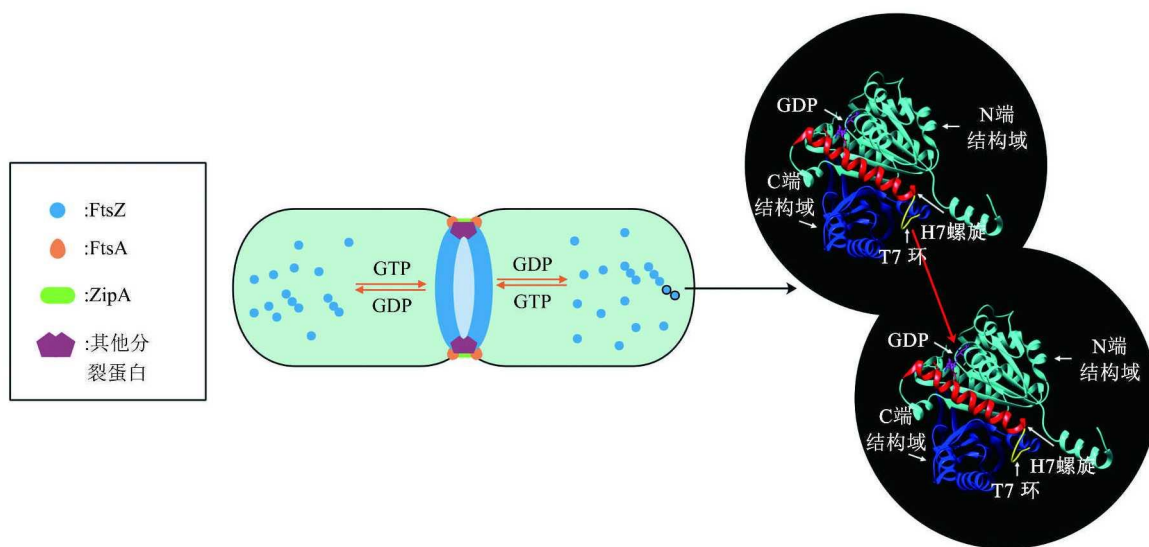


Fig. 2 The structure of FtsZ and FtsZ assembly

图2 FtsZ结构与FtsZ的聚合

解为GDP, 剩余的以GDP为主的FtsZ有利于FtsZ原丝的拆卸^[20]. 大肠杆菌细胞中的光漂白后荧光恢复(FRAP)实验表明, Z环是一个动态结构, 大约30%的FtsZ被聚集到Z环, 而剩余的FtsZ单体在细胞质中漂浮, 与Z环原纤维中的聚合FtsZ分子保持着动态交换, 其中FtsZ单体被添加到细丝的一端, 同时从相对端移除^[21-23]. FtsZ对磷脂膜没有内在亲和力, 需要依赖于FtsA和ZipA与FtsZ的C端结构域直接相互作用, 并将其链接到细胞膜内表面上, 并招募下游蛋白质^[3, 24]. 被招募来的肽聚糖合成酶在FtsZ动态聚合的带动下, 在Z环周围绕圈运动, 这种紧密的耦合会在Z环周围均匀地插入肽聚糖, 使Z环向内形成逐渐收缩, 最终形成了新的细胞壁, 完成细胞分裂^[25-26].

综上所述, 当GTP结合或者FtsZ蛋白的动态交换过程受到抑制时, Z环的正常结构将难以形成, 其完整功能也难以保留, 即使细菌的DNA复制和蛋白质合成等过程均能发生, 杆状细菌在此状态下只能持续生长形成狭长丝状, 而球形菌会形成比原体积大数倍的肥大球状无法进行增殖分裂, 持续的生长使它们对环境的变化十分敏感, 最终裂解死亡^[4-5].

1.3 FtsZ蛋白抑制剂

FtsZ蛋白作为细菌细胞分裂过程中至关重要的蛋白质, 近些年来, 越来越多的研究者针对该靶点进行抗菌分子开发, 在目前已发现的FtsZ蛋白抑

制剂大致分为天然产物类和合成类两大类.

1.3.1 天然产物类抑制剂

血根碱(Sanguinarine)是从加拿大血根中提取的一种苯并菲啶类生物碱, 已被证明具有抗菌、抗氧化和抗炎等特性, 能强烈诱导革兰氏阳性和革兰氏阴性细菌的丝状化, 并通过抑制胞质分裂来阻止细菌的细胞分裂^[27](图3). Beuria等^[28]利用体积排阻层析法发现血根碱与FtsZ结合的解离常数处于18~30 μmol/L之间, 并发现血根碱能够通过抑制FtsZ的组装从而达到干扰细菌细胞分裂的目的, 在干扰大肠杆菌Z环形成的同时却对其膜结构无影响. Lopus等^[29]研究发现, 用血根碱短暂暴露HeLa细胞可引起微管不可逆解聚, 抑制细胞增殖, 并诱导细胞死亡. 此外, 在微管相关蛋白质存在的情况下, 血根碱与微管蛋白的结合能诱导微管蛋白构象发生变化, 通过干扰微管蛋白的动力学组装抑制细胞的增殖. 所以, 血根碱既可以作为FtsZ抑制剂, 也可影响微管蛋白的组装. Liu等^[30]通过简化血根碱的骨架设计并合成了一系列新型的5-甲基-2-苯基苯乙酸类衍生物1B-1D, 使其抗菌活性显著提高. 其中, 化合物1B对青霉素敏感型金黄色葡萄球菌(ATCC 25923)的杀菌作用最强, 在8 mg/L浓度下作用24 h即可有效地抑制金黄色葡萄球菌生长; 在16 mg/L浓度下作用24 h即可完全杀灭细菌; 在32 mg/L浓度下作用6 h即可迅速杀灭细菌. 细胞形态和FtsZ聚合实验表明, 这些化合

物通过干扰细菌 FtsZ 的功能来抑制细菌的增殖. Liu 等^[31]对血根碱的结构进行简化修改, 设计并合成了一系列 5-甲基蒽衍生物, 其中 6 个化合物 1E-1J 对青霉素敏感型枯草芽孢杆菌 (ATCC 9372) 和青霉素敏感型化脓性链球菌的最小抑菌浓度 MIC

值为 4 g/L, 是血根碱的 2 倍以上. 构效分析结果表明, 烷基侧链位于 2-位的 5-甲基蒽衍生物, 尤其是直链烷基侧链具有较好的靶向抗菌活性. 此外, 微管蛋白聚合测试结果表明这些化合物并没有促进哺乳动物微管蛋白的聚合.

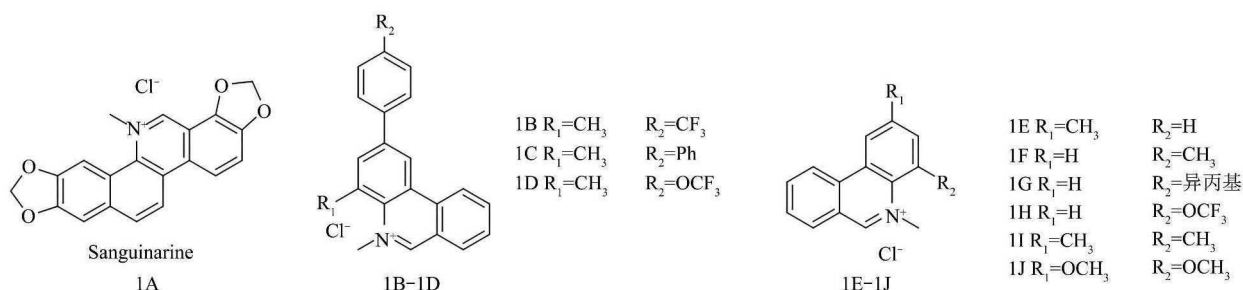


Fig. 3 Structures of Sanguinarine and its derivatives

图3 血根碱及其衍生物结构式

黄连素 (Berberine), 也称小檗碱, 是从小檗属植物中分离提取的一种天然植物生物碱 (图 4). 含有黄连素的植物在中国和美洲土著医学中被用来治疗感染性疾病, 而其硫酸盐、盐酸盐和氯化物也在西方制药医学中被用作抗菌剂^[32]. Domadia 等^[33]研究发现黄连素能够以大肠杆菌 FtsZ 蛋白为靶点, 破坏 FtsZ 原丝稳定性, 并抑制 FtsZ 蛋白的 GTP 酶活性, 通过抑制 Z 环的动力学组装扰乱胞质分裂. FtsZ-黄连素配合物的饱和转移差核磁共振谱图 (STD-NMR) 表明, 黄连素的二甲氧基、异喹啉核和苯并二氧基环与 FtsZ 的相互作用密切相关. 在分子对接模型中, GTP 结合口袋中的疏水残基侧链重排可以促进黄连素与 FtsZ 的结合, 抑制 FtsZ 单体之间的聚合, 从而干扰 FtsZ 的动力学组装. Sun 等^[34]在黄连素的结构基础上引入烷氧基和烷氧基苯等取代基团, 得到衍生物 1L-1P 较母体相

比抗菌活性显著增强, 对 GTP 酶活性和 FtsZ 聚合的抑制活性也有所提高. 其中, 化合物 1M 对耐甲氧西林金黄色葡萄球菌 (ATCC BAA-41) 和耐万古霉素屎肠杆菌 (ATCC 700221) 等革兰氏阳性菌有较强的抑制作用, MIC 值分别是 2 mg/L 和 4 mg/L; 对革兰氏阴性菌大肠杆菌 (ATCC 25922) 和肺炎克雷伯菌 (ATCC BAA-1144) 的 MIC 值分别为 32 mg/L 和 64 mg/L. Sun 等^[34]用绿色荧光 GFP 标记 FtsZ 的大肠杆菌在空白 (a) 及在化合物 1M 最低抑制浓度 (b) 的条件下培养 (图 5), 发现细菌形态明显延长且 GFP 标记的 FtsZ 以离散焦点散布在细长的细胞中, 表明化合物 1M 导致了 FtsZ 蛋白的错误定位, 并使得大肠杆菌无法正常分裂. 这充分说明黄连素衍生物具有成为广谱抗菌活性 FtsZ 抑制剂的潜力.

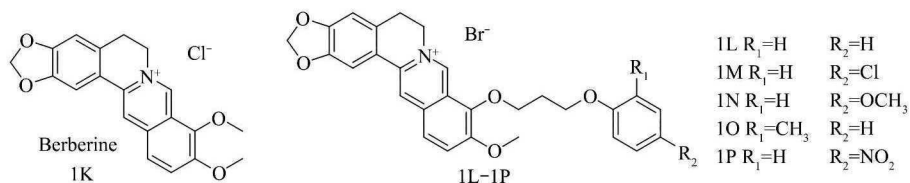


Fig. 4 Structures of Berberine and its derivatives

图4 黄连素及其衍生物的结构式

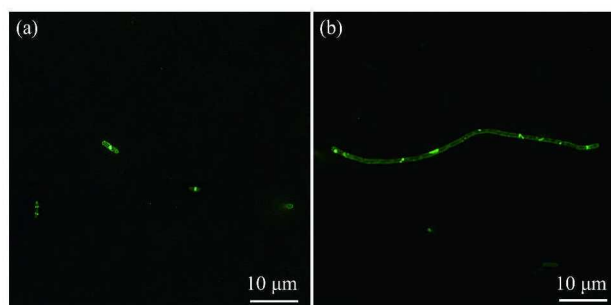


Fig. 5 Effect of compound 1M on the assembly of Z-ring in *Escherichia coli* [34]

图5 化合物1M对大肠杆菌Z环形成的影响 [34]

肉桂醛 (Cinnamaldehyde) 是从肉桂树皮中分离得到的一种有效的芳香化合物, 常用于治疗胃炎、感冒、抗血小板聚集、抗突变和杀菌等药物制剂 (图6)。Domadia 等 [35] 发现肉桂醛能与 FtsZ 结合, 抑制 FtsZ 的聚合, 进而扰乱细胞 Z 环的形成。饱和转移差核磁共振谱图 (STD-NMR) 和分子对接模拟显示, 肉桂醛能够结合在 FtsZ 的 C 端 T7 环处的结构域中, 影响 FtsZ 的构象从而干扰其聚合, 达到抑制细菌细胞分裂导致细菌裂解死亡。Li 等 [36] 在肉桂醛的基础上进行结构优化, 所有新合成的化合物, 特别是含有 2-甲基苯并咪唑基团的肉桂醛衍生物 1R、1S 均表现出优于肉桂醛的抗菌效果, 对青霉素敏感型金黄色葡萄球菌 (ATCC 25923) 菌株均表现出较好的抑菌效果, 其最低抑制浓度 MIC 值可低至 4 mg/L。

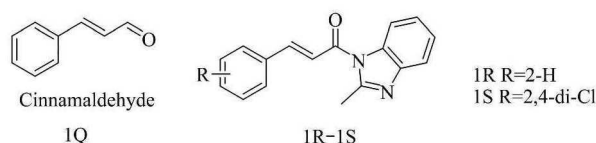


Fig. 6 Structures of Cinnamaldehyde and its derivatives
图6 肉桂醛及其衍生物结构式

姜黄素 (Curcumin) 是从姜黄 (*Curcuma longa*) 中提取的多酚, 因其具有不同的抗炎和抗癌特性, 姜黄很早就被用于治疗各种疾病 (图7)。姜黄素的优异特性归因于它在中性和酸性 pH 条件下具有较强的抗氧化能力, 还能在多个水平上抑制多种细胞信号转导途径, 并对环氧合酶和谷胱甘肽 S-转移酶等细胞酶、免疫调节以及对血管生

成和细胞间黏附产生影响 [37]。姜黄素是由两个邻位甲氧基苯酚与 β -二酮连接而成的共轭对称分子。足够的刚性和丰富的电子结构使其具有发展成新的抑制剂的潜力。Dipti 等 [38] 发现姜黄素可以诱导枯草芽孢杆菌 168 细胞丝状化, 对枯草芽孢杆菌分裂进程产生影响。进一步研究表明, 姜黄素抑制 FtsZ 原丝的组装, 并增强 FtsZ 的 GTP 酶活性。此外, 还发现姜黄素在体外能与 FtsZ 结合, 解离常数为 $(7.3 \pm 1.8) \mu\text{mol/L}$, 并对 FtsZ 的二级结构产生干扰。以上结果揭示, GTP 酶活性的扰动对细菌是致命的, 姜黄素通过抑制 FtsZ 在 Z 环的动力学组装来抑制细菌细胞的增殖。

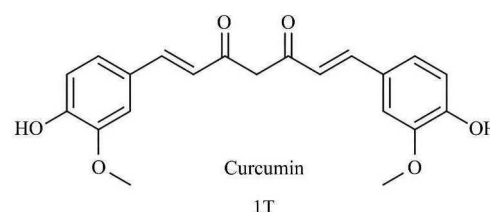


Fig. 7 Structures of Curcumin
图7 姜黄素结构式

桃拓酚 (Totarol) 是一种从罗汉果 (*Podocarpus totara*) 分离提取出来的天然二萜苯酚, 对结合分歧杆菌、枯草芽孢杆菌和金黄色葡萄球菌等革兰氏阳性菌具有优良的抗菌活性 [39] (图8)。此外, 桃拓酚与黄连素的联用可以有效减少金黄色葡萄球菌生物膜的形成, 增加抗菌效果 [40]。Richa 等 [41] 研究发现桃拓酚对枯草芽孢杆菌 168 的增殖有抑制作用, 最低抑菌浓度为 $2 \mu\text{mol/L}$, 虽然对膜结构无明显的扰动作用, 但对枯草芽孢杆菌的丝状化有强烈的诱导作用, 说明桃拓酚对细菌分裂有抑制作用。由于桃拓酚具有抑制结核分枝杆菌增殖的作用, Richa 还研究了桃拓酚对结核分枝杆菌 FtsZ 胞外动力学组装的影响, 发现桃拓酚减少了 FtsZ 原丝的组装, 并有效地抑制了 FtsZ 的 GTP 酶活性。它与 FtsZ 结合的解离常数为 $(11 \pm 2.3) \mu\text{mol/L}$ 。以上结果表明, 桃拓酚通过靶向 FtsZ 抑制细菌增殖, 有可能作为先导化合物开发有效的抗结核药物。Kim 等 [42] 对桃拓酚的结构进行优化, 在环上引入吡啶基团后得到的化合物 1V 抗菌活性显著增强, 对枯草芽孢杆菌的 MIC 浓度低至 $2.5 \mu\text{mol/L}$, 但初步实验表明化合物 1V 并不能靶向 FtsZ 蛋白。

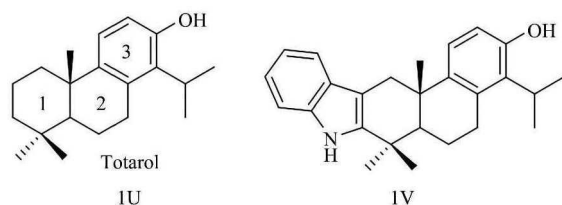


Fig. 8 Structures of Totarol and its derivatives

图8 桃拓酚及其衍生物的结构式

绿毛霉毒素 (Viriditoxin) 是从绿垂曲霉 (*Aspergillus viridinutans*) 发酵液中提取出的活性物质 (图9)。虽然早在1971年绿毛霉毒素就被首次报道, 但其正确结构直到1990年才得以修正^[43]。Wang等^[43]证实绿毛霉毒素的抗菌作用方式是通过抑制FtsZ来实现的。他们采用荧光标记的FtsZ聚合分析方法, 发现绿毛霉毒素能够抑制FtsZ的聚合和GTP酶的水解, 其半抑制浓度 IC_{50} 值分别为8.2 mg/L和7.0 mg/L; 通过观察其对细胞形态学、大分子合成以及DNA损伤反应的影响证实了绿毛霉毒素通过抑制FtsZ蛋白的表达从而发挥抗菌的作用; 而且绿毛霉毒素对革兰氏阳性菌, 包

括耐甲氧西林金黄色葡萄球菌和耐万古霉素肠球菌具有广谱抗菌活性, 而不影响真核细胞的活性。Noh等^[44]发现绿毛霉毒素对水产养殖鱼类的主要病原体海豚链球菌和副乳房链球菌具有优异的抗菌活性, 能诱导细胞形态异常, 对耐土霉素海豚链球菌 (FP 5228) 最小抑制浓度MIC值低至0.21 mg/L, 约是土霉素的效力的100倍。这些结果表明, 绿毛霉毒素可用于控制水产养殖中的链球菌病, 特别是对土霉素耐药链球菌。Marie等^[45]将流式细胞仪和显微镜相结合, 发现绿毛霉毒素、肉桂醛和血根碱可以通过降低枯草芽孢杆菌168跨膜电位或扰乱膜通透性来扰乱包括FtsZ在内的膜相关蛋白质的定位。该结果为膜相关细菌靶标抑制剂的设计和测试提供了一个新的考虑因素, 并为破坏膜的抗生素结构特征提供了更多见解。Rivera-Chávez等^[46]在真菌培养物中鉴定了一种与绿毛霉毒素结构类似的8,8'-联萘并吡喃酮衍生物 (mycopyranone), 发现其可以浓度依赖性的方式抑制耐甲氧西林金黄色葡萄球菌 (MRSA USA300 LAC strain AH1263) 的增殖。分子对接实验表明化合物mycopyranone与绿毛霉毒素在同一口袋中与FtsZ蛋白结合。

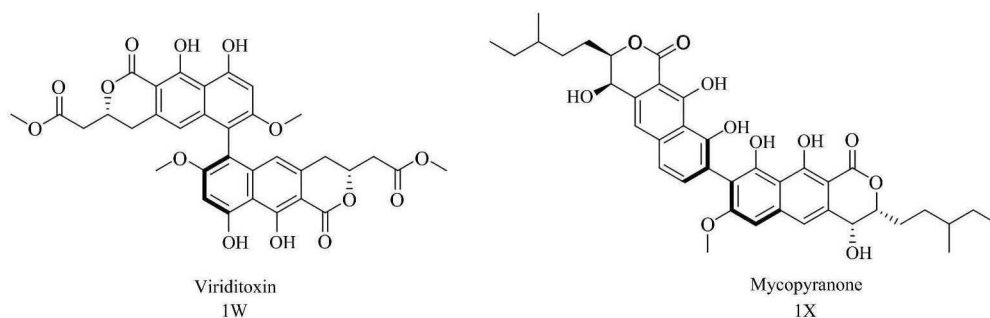


Fig. 9 Structures of Viriditoxin and its structural analog

图9 绿毛霉毒素及其结构类似物的结构式

紫杉烷类 (Taxanes) 是在紫杉树皮中分离得到的天然产物, 能与微管蛋白的 β -亚基结合, 导致形成稳定而无功能的微管束, 从而干扰有丝分裂, 临床上主要应用于结核病和癌症的治疗^[47] (图10)。Huang等^[48]对120个紫杉烷类化合物的筛选, 确定了一些具有显著的抗结核活性紫杉烷类化合物, 对所选化合物进行合理优化后得到的衍生物细胞毒性明显降低; 同时对耐药型结核分枝杆菌 (IMCJ946.K2) 和敏感型结核分枝杆菌 (H37Rv)

菌株的 MIC_{99} 值在1.25~2.5 μ mol/L之间。在MIC浓度下结核分枝杆菌细胞呈丝状并且不断延长, 表明该衍生物能够作用于FtsZ干扰细菌的正常分裂。Singh等^[49]发现紫杉烷SB-RA-2001分别以38 μ mol/L和60 μ mol/L的最小抑制浓度抑制枯草芽孢杆菌168和耻垢分枝杆菌细胞的增殖。在体外, SB-RA-2001以适度的亲和力与FtsZ结合, 促进了FtsZ原丝的组装和捆绑, 并降低了FtsZ的GTP酶活性。计算分析表明, SB-RA-2001在C端结构域和

H7螺旋之间的裂隙区域与FtsZ结合, 其结合位点类似于PC190723. 这些发现共同表明, SB-RA-2001通过靶向FtsZ的组装动力学来抑制细菌增殖,

并且可以进一步用于开发有效的针对FtsZ的抗菌剂.

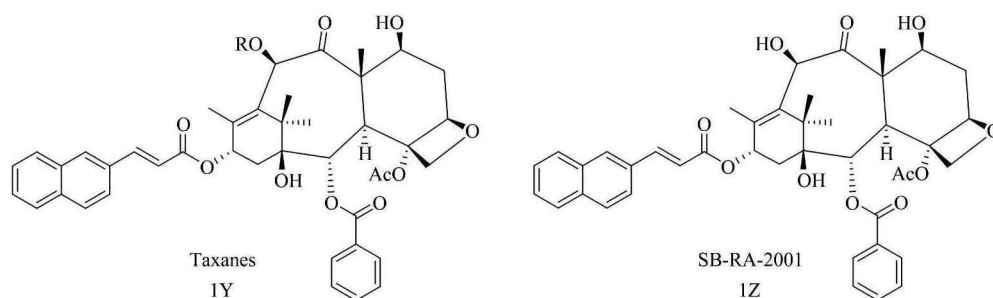


Fig. 10 Structures of Taxanes

图10 紫杉烷的结构式

以上这些天然产物在一定程度上都能作用于FtsZ蛋白并且影响细菌的细胞分裂进程, 但是很多天然产物的作用位点和作用机制尚未清楚, 不过这也对未来FtsZ抑制剂研究和开发提供重要的参考意义.

1.3.2 合成类抑制剂

3-甲氧基苯甲酰胺(3-MBA)是一种已知的ADP-核糖基转移酶抑制剂, 它能靶向枯草芽孢杆菌中的FtsZ蛋白, 诱导细胞丝状化并最终导致细胞裂解死亡^[50](图11). 尽管抑菌活性不佳, 但因其优异的靶向活性而受到药物化学家的广泛关注, 为新型FtsZ抑制剂的开发提供了很好的起点.

Haydon等^[51]在3-MBA的基础上进行化学分析, 首先确定了苯甲酰胺的结构活性, 然后对甲氧基进行修饰, 最后从500个衍生物中筛选出了化合物PC190723. 该化合物是由氟原子取代后的苯甲酰胺与噻唑并吡啶组成, 前后两者通过醚键连接而成. 经过测试, PC190723对枯草芽孢杆菌和包括耐甲氧西林金黄色葡萄球菌在内的多种葡萄球菌均具有优异的抑菌效果, 最低抑制浓度MIC在0.5~1.0 mg/L, 其抗菌效果要比3-MBA高出2 000多倍; PC190723以浓度依赖性方式直接抑制FtsZ的GTP酶活性, 其半抑制浓度 IC_{50} 为55 μ g/L; 在绿色荧光蛋白标记的FtsZ蛋白(GFP-FtsZ)与

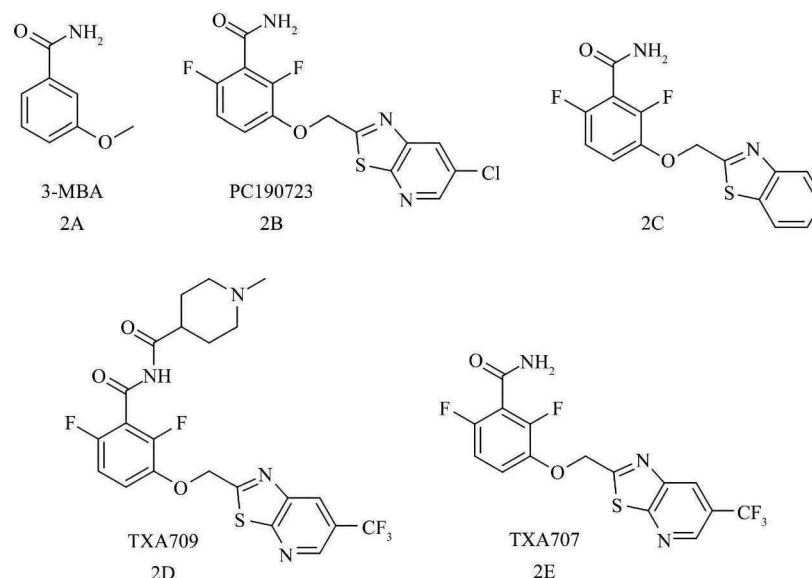


Fig. 11 Structures of 3-MBA, PC190723 and its derivatives

图11 3-MBA、PC190723及其衍生物的结构式

PC190723 的相互作用实验中, 枯草芽孢杆菌形态明显延长且 GFP 标记的 FtsZ 以离散的焦点散布在细长的细胞中, 表明 PC190723 导致了 FtsZ 蛋白的错误定位, 并使得细菌无法正常分裂^[51]. Elsen 等^[52] 提出 PC190723 可以通过稳定 FtsZ 构象来降低 FtsZ 的组装协同性. 根据金黄色葡萄球菌 FtsZ 与 PC190723 复合物的晶体结构显示, FtsZ 在单体状态下通过 H7 螺旋介导从 GTP 结合位点到 C 端结构域的构象变化, 会稳定 FtsZ 原丝. Andreu 等^[53] 发现在枯草芽孢杆菌 FtsZ 可逆组装的条件下, PC190723 降低了 GTP 酶的活性, 并诱导了直束和条带的形成. Andreu 认为 PC190723 对 FtsZ 的作用类似于紫杉醇对真核生物微管蛋白的作用, 紫杉醇和 PC190723 都通过优先结合到组装的蛋白质来稳定聚合物免受拆解.

为了满足 PC190723 在临床使用的要求, 药物的吸收、分布、代谢或排泄仍需有待提高. Haydon 等^[54] 认为用杂环取代 3-烷基氧基取代基, 可以减少分子的 logP、旋转键的数量及与血浆蛋白的结合, 并为 FtsZ 蛋白引入额外的氢键. 得到的杂环衍生物通过抑制细胞分裂显示出强大的抗葡萄球菌活性, 其中连有苯并噁唑基团的化合物 2C 是最有效的, 所以 Haydon 通过对苯并噁唑的进一步修饰, 在苯并噁唑 5 位上取代氯原子、苯基或乙氧基等基团, 将其抗菌活性提高 8~16 倍, 对金黄色葡萄球菌 (ATCC 29213) 的最低抑菌浓度 MIC 低至 0.125 mg/L. 另外, 为了提高 PC190723 的成药性和药代动力学, Kate 等^[55] 设计了新的前药 TXA709 将吡啶环上的氯原子替换为对代谢攻击具有抵抗力

的三氟甲基. 经过体内代谢得到的产物 TXA707 的药代动力学特性得到了显著改善 (半衰期延长 6.5 倍, 口服生物利用度提高 3 倍), 体内抗葡萄球菌功效相对于 PC190723 更优.

马淑涛团队^[56-60] 在 FtsZ 抑制剂的研究和探索中做了大量的工作, 围绕着 3-MBA 的基本骨架对其结构进行优化改造, 合成并筛选了大量 3-MBA 衍生物, 部分衍生物结构如图 12 所示. 初步构效关系表明, 酰胺官能团是抑制细胞分裂的关键. 马淑涛团队在保留酰胺官能团的基础上, 在苯甲酰胺上引入氟原子, 显著增强药物的抑制活性. 在 3-氧上引入适当长的疏水侧链或优先选择的芳香族杂环, 与 FtsZ 疏水口袋配位并增强它们之间的相互作用, 进一步提高靶标活性和抗菌活性. Bi 等^[56] 测得化合物 2F 对枯草芽孢杆菌 (ATCC 9372) 的抑菌活性优异, 最低抑制浓度 MIC 值低至 0.25 mg/L, 对敏感金黄色葡萄球菌 (ATCC 25923) 和耐甲氧西林金黄色葡萄球菌 (ATCC 29213) 均有较好的抑菌活性 (MIC < 10 mg/L), 相比 3-MBA 的抑菌活性显著提高^[56]. 此外, 金黄色葡萄球菌 (ATCC 25923) 和枯草芽孢杆菌 (ATCC 9372) 在空白 (图 13a, c) 及在化合物 2F 浓度为 0.5 mg/L (图 13b, d) 的条件下培养, 并在放大倍数为 400 倍的相差显微镜下进行表型分析显示, 金黄色葡萄球菌的形态明显肿大成球状, 枯草芽孢杆菌的形态明显延长成丝状, 说明细菌的分裂受到了抑制. 这些结果表明, 3-MBA 衍生物在抑菌活性上比 3-MBA 有了显著的提升, 具有成为新型 FtsZ 抑制剂的潜能.

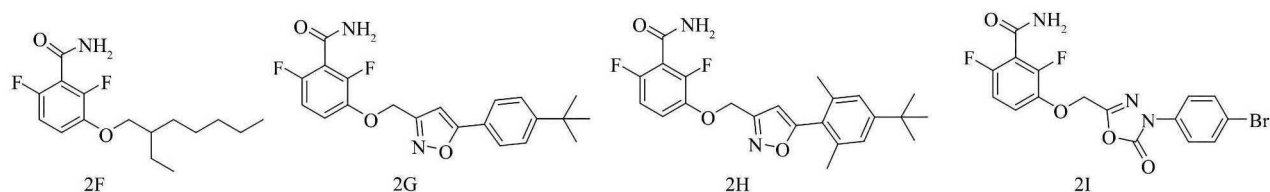


Fig. 12 Some structures of 3-MBA derivatives developed by MA Shu-Tao's group

图12 马淑涛团队部分3-MBA衍生物结构

FtsZ 蛋白在 GTP 作用下聚合成动态的原丝, FtsZ 原丝组装的同时也伴随着 GTP 的水解. Margalit 等^[61] 基于蛋白质化学的高通量筛选方法鉴定出了靶向 FtsZ 蛋白, 并依赖于 GTP 酶活性的 Zantrins 系列化合物 (图 14). 这系列化合物能通

过破坏 FtsZ 原丝的稳定性和通过增加侧向缔合诱导细丝的高稳定性来抑制 FtsZ 的 GTP 酶活性. 研究表明, Zantrins 系列化合物 2J、2K 和 2M 会降低 FtsZ 原丝稳定性, 而 2L 却显著提高 FtsZ 原丝稳定性, 2N 只能微弱提高稳定性. 他们认为 2J、

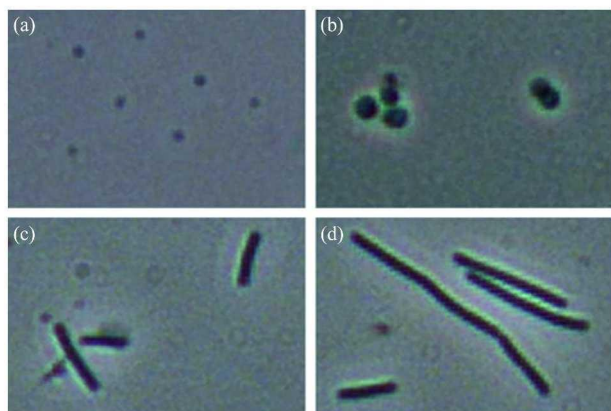


Fig. 13 The inhibition effect of compound 2F in the cell division of *S. aureus* ATCC 25923 (a, b) and *B. subtilis* ATCC9372 (c, d) [56]

图13 化合物2F对金黄色葡萄球菌ATCC 25923 (a, b) 和枯草芽孢杆菌ATCC 9372 (c, d) 的抑制 [56]

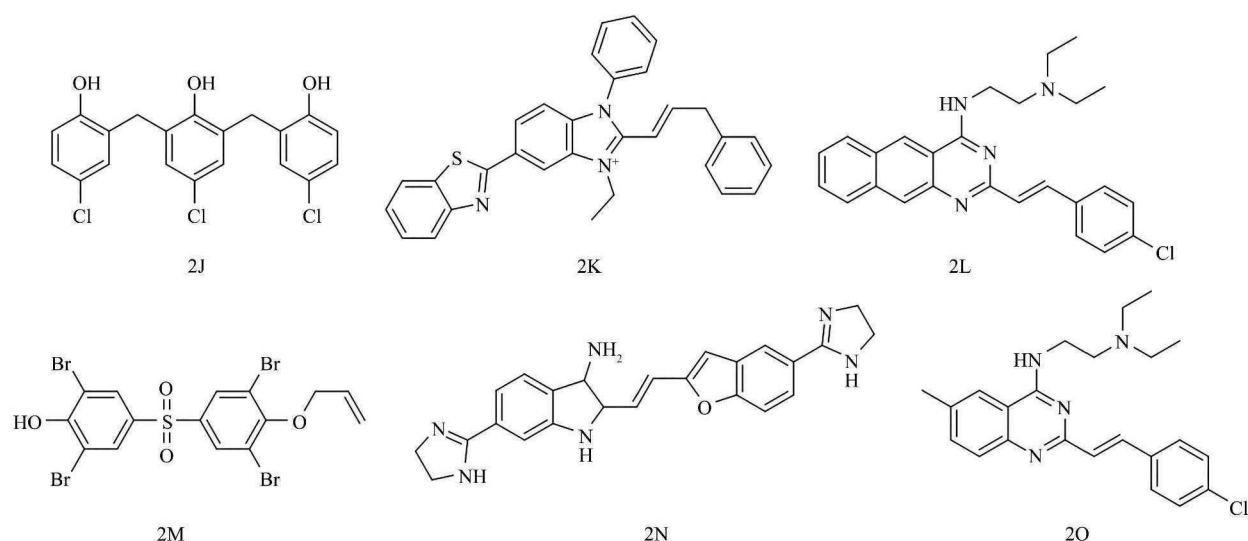


Fig. 14 Structures of Zantrins

图14 Zantrins系列的结构式

OTBA 是 Beuria 等^[63] 筛选得到的一种罗丹宁类衍生物, 能促进枯草芽孢杆菌和大肠杆菌 FtsZ 蛋白聚合和稳定性, 从而抑制了细菌的胞质分裂 (图 15). OTBA 对枯草芽孢杆菌 168 的 MIC 低至 2 $\mu\text{mol/L}$, 而对哺乳动物细胞的增殖影响很小. Beuria 认为 OTBA 可能通过稳定 FtsZ 原丝来抑制 Z 环的形成, 其作用机制类似于紫杉醇, 紫杉醇可以促进微管蛋白的组装和稳定微管, 通过扰乱有丝分裂纺锤体组装来抑制哺乳动物细胞的增殖. 这些结果表明, 通过调节 Z 环的动态组装来调控细菌分裂, 可以作为开发新型抗菌药物提供思路. Singh

2K 和 2M 的作用机理可能是结合在 FtsZ 亚基之间的口袋, 抑制 FtsZ 的 T7 环与相邻 FtsZ T1-T6 环的相互作用, 从而阻止了 FtsZ 单体间的聚合. 2L 和 2N 则可能通过作用于 T3 环来抑制 FtsZ 解聚或者简单地交联 FtsZ 原丝, 通过增加侧向缔合诱导细丝的高稳定性. 虽然 2J~2N 既没有足够的抗菌活性和特异性, 不能被认为是有效的抗生素, 但是可以作为抗生素开发的先导, 通过系统的化学修饰来优化抑制剂的效力和特异性^[61]. Nepomuceno 等^[62] 经过对 2L 进行结构优化得到了化合物 2O. 他们认为苯并噻唑啉可以用较小的噻唑啉取代, 只要在噻唑啉 6 号位上保留较小的取代基. 其次, 较小但呈正电性的氨基侧链能为化合物提供较好的活性而 4-氯苯乙烯基团仍然是保持抑菌活性所必需的.

等^[64] 筛选 151 个罗丹宁衍生物对枯草芽孢杆菌 168 的抗菌活性, 有 8 个化合物在 2 $\mu\text{mol/L}$ 时对细菌增殖有强烈的抑制作用. 随后 Singh 等利用枯草芽孢杆菌的伸长率作二次筛选, 筛选出能显著增加细菌长度代表性化合物 CCR-11. 与 OTBA 不同, CCR-11 通过抑制 FtsZ 蛋白的聚合和 GTP 酶活性抑制细菌增殖, 但不影响枯草杆菌细胞的类核分离或膜完整性. CCR-11 与 Bs-FtsZ 的对接研究表明, CCR-11 在 T7 环附近的一个空腔中与 FtsZ 结合, 通过卤素-氧相互作用、氢键和疏水作用对其结合具有重要作用.

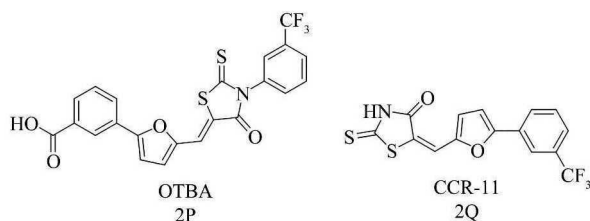


Fig. 15 Structures of rhodanine derivative

图15 罗丹宁衍生物的结构式

为了找到取代FtsZ中GTP调节因子的小分子, Ruiz-Ayila等^[65]通过对接枯草芽孢杆菌168 FtsZ的GTP结合位点筛选了400多万种化合物(图16). 筛选出来的化合物包括UCM05、UCM44和UCM53, 它们抑制细菌生长的MIC值分别为100、25和13 $\mu\text{mol/L}$. 然而, 这些化合物对大肠杆

菌等革兰氏阴性细菌效果并不佳. 他们通过光散射、聚合物沉降和负染电镜等方法研究发现, UCM05及其简化类似物UCM44能与枯草芽孢杆菌FtsZ单体特异性结合, 并扰乱其正常组装. 从而认为UCM05和UCM44的酚基和萘骨架可能取代磷酸酯和GTP的碱基之间的相互作用. 它们是FtsZ组装的界面修饰剂, 而不是竞争蛋白质-蛋白质相互作用的抑制剂. 这会导致细菌FtsZ细丝功能受到抑制, 诱导不同的管状聚合物组装. 此外, 含有氯元素的UCM53对临床分离的耐药金黄色葡萄球菌和粪肠球菌的增殖具有良好的抑制效果. 因此, 他们认为这些化合物虽然能与GTP的相互作用并诱导FtsZ组装, 但却影响了FtsZ细丝的正确组装, 从而可能通过与一小部分FtsZ结合来抑制细菌分裂, 这为基于FtsZ的抗菌药物开发开辟了一条新的途径^[65].

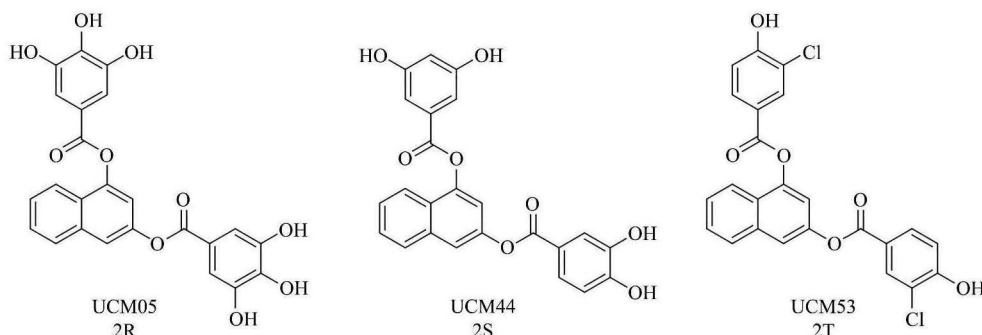


Fig. 16 Structures of UCM series compound

图16 UCM系列的结构式

喹啉类化合物长期以来一直用于抗击疟疾, 最早的喹啉抗疟疾药物是从金鸡纳树中提取的生物碱(图17). 从20世纪以来, 以喹啉为母体的合成类药物, 如氯喹、奎宁和甲氟喹, 是治疗疟疾的主要化疗药物^[66]. 在合成类FtsZ抑制剂中, 喹啉类抑

制剂出现较晚, Andries等^[67]在研究抗结核药物的过程中发现以二芳基喹啉衍生物R207910对药物敏感和耐药的结核分枝杆菌都有很强的抑制作用, 最低抑制浓度MIC值低至0.06 mg/L. 但R207910的作用靶点和作用机制却与其他抗结核药物不同, 对喹诺酮类药物靶标的结核分枝杆菌DNA旋转酶没有抑制作用. Mathew等^[68]通过高通量筛选的方式发现喹啉和喹唑啉衍生物可作用于支原体微管蛋白同源物FtsZ, 并且喹啉衍生物2V对结核分枝杆菌中提取的FtsZ有较好的活性, 这为研究以喹啉为母体的FtsZ抑制剂奠定了基础. Margalit等^[61]报道了含有苯并喹唑啉结构的化合物2L, 可以通过增加侧向缔合诱导细丝的高稳定性来抑制FtsZ的GTP酶活性. 为了改善喹啉类化合物的抗菌活性, 确定

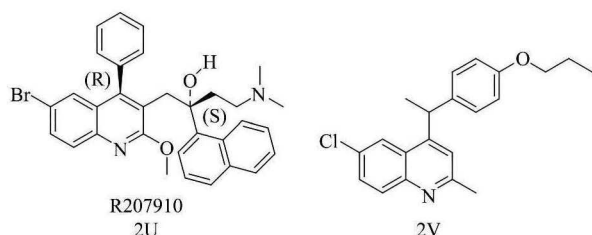


Fig. 17 Structures of quinoline derivative

图17 喹啉衍生物的结构式

其抗菌活性与取代官能团的关系, Kim 等^[69]设计了10种不同的苯乙炔基喹啉衍生物, 分别含有不同的季铵盐类电子受体、电子供体和反阴离子. 在10个苯乙炔基喹啉类化合物中, 有6个化合物对革兰氏阳性菌有杀菌作用, 最低抑菌浓度 MIC 为 2.4~37.5 mg/L. 所以我们认为当喹啉衍生物具有较强吸电子能力基团时能对细菌表现出较强的抑菌效果, 而喹啉季铵盐自身带有很强的正电荷, 具有开发新型喹啉季铵盐类抗菌剂的潜力.

近些年来, 我们团队在喹啉类 FtsZ 抑制剂的研究和探索中做了大量的工作 (图 18). 其中, 发现以喹啉为母体的噻唑橙衍生物和芳香乙炔喹啉衍生物既可以作为 G-四链体荧光探针^[70-72], 又可作为一种新型的 FtsZ 抑制剂^[73-76]. 该类衍生物对一系列的菌株包括耐甲氧西林金黄色葡萄球菌和耐万

古霉素大肠杆菌都有较好的生物活性, 而且能够抑制 FtsZ 的 GTP 酶活性和扰乱 Z 环的形成. 我们通过分子模拟研究进一步确定 FtsZ 蛋白与化合物 2W 的潜在结合位点 (图 19), 表明 2W 可能与由 H7 螺旋、T7 环和四链 β -折叠构成的疏水性窄裂隙结合. 2W 与 FtsZ 蛋白 Gln192 残基之间存在氨基- π 堆积作用, 与 Gly196 残基之间存在 σ - π 相互作用. 另外, 喹啉上带正电荷与 Asp199 之间存在静电相互作用. 在 2W 的哌啶基和 Leu200/Val203 之间发现两个碳氢键. 此外, 在这个结合口袋里内含有大量的氨基酸 (如 Gly205、Val310、Ile311 等) 可以与 2W 形成范德华力^[74]. 这些结果表明, 喹啉类衍生物能与 FtsZ 蛋白很好地相互作用并抑制细菌的分裂, 具有成为新型 FtsZ 抑制剂的潜能.

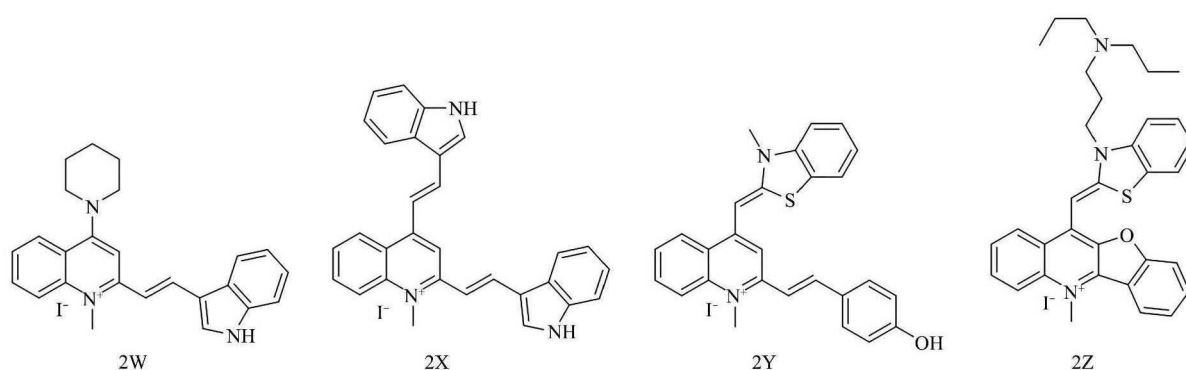


Fig. 18 Structures of quinoline derivatives developed by our group

图18 本团队部分喹啉衍生物的结构式

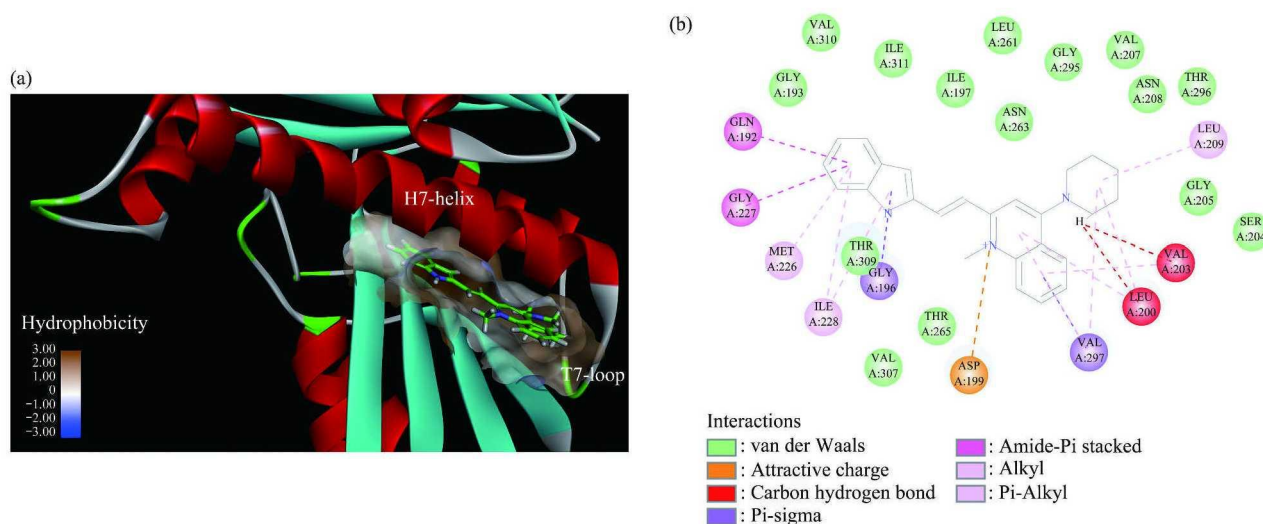


Fig. 19 Predicted binding mode of 2W in FtsZ

图19 分子模拟2W在FtsZ中的结合模式^[74]

2 细胞分裂蛋白的其他成员

在大肠杆菌的分裂机器的组装过程中, FtsZ对磷脂膜没有内在亲和力, FtsZ蛋白首先招募FtsA、ZipA和ZapA等前期分裂蛋白, 在细胞中间处组装成不连续的环状结构并通过FtsA和ZipA锚定在细胞膜上^[3]. 这3种蛋白质形成原始环结构, 其用作构建其余分裂蛋白的支架. 然后以FtsEX-FtsK-FtsBLQ-FtsW-FtsI-FtsN的线性顺序募集下游的保守分裂蛋白形成功能性分裂体^[7-8] (图20).

大多数细菌细胞被肽聚糖 (PG) 层环绕, 肽

聚糖层不仅塑造了细菌的形状, 保护细菌不被渗透裂解, 还能充当其他细胞成分的锚点 (革兰氏阴性菌的外膜)^[77]. 肽聚糖层是由短肽交联线性聚糖链构成的连续聚合物. 它不断地被聚合酶和降解酶重塑, 以满足细菌生长或分裂的需求. 分裂机器的一个关键作用就是协调细胞外膜, 内膜以及细胞壁的内陷, 同时确保其完整性不受损害. 隔膜肽聚糖 (sPG) 必须准确地在细胞分裂位点处的合成, 并最终通过降解酶降解形成新的两极^[78]. 以上这些过程需要很多分裂蛋白的相互协调, 接下来我们对其他重要的分裂蛋白的功能进行介绍.

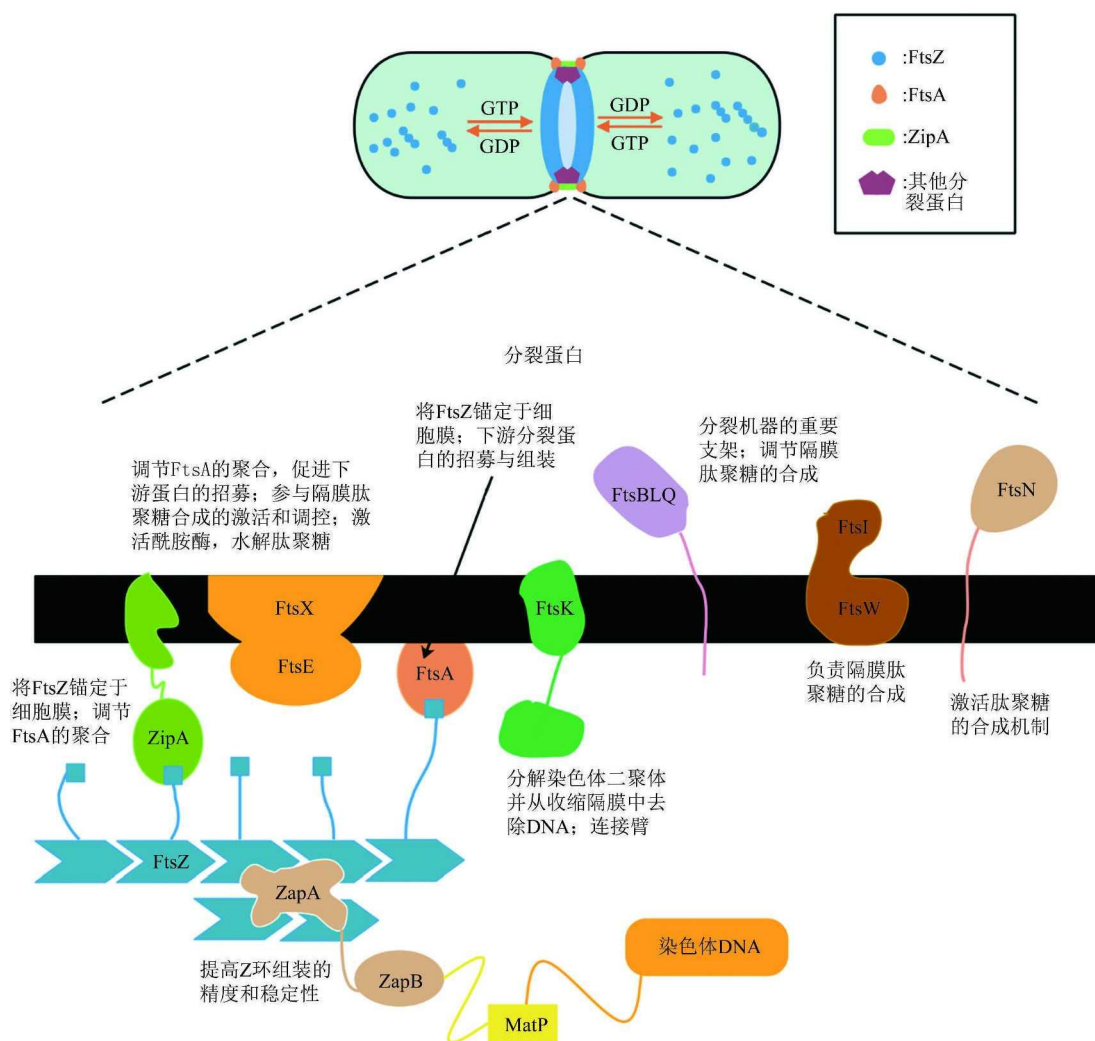


Fig. 20 The composition and functions of bacterial cell division proteins

图20 分裂蛋白的组成及功能

2.1 FtsA

FtsA和ZipA都是大肠杆菌中必不可少的分裂

蛋白, 它们通过与FtsZ的相互作用被招募到分裂位点, 并将FtsZ聚合物锚定在膜上^[79]. 但FtsA比

ZipA更保守,它存在于大多数细菌中,这表明它在Z环的形成中可能比FtsA具有更重要的作用。

FtsA包含典型的肌动蛋白折叠,是肌动蛋白/Hsc70/己糖激酶超家族的成员,与肌动蛋白在结构上同源,但一个主要区别是FtsA使用高度保守的C端膜靶向序列(MTS)直接与磷脂结合,而肌动蛋白需要辅助蛋白与膜结合^[24, 80]。FtsA可以重塑细胞膜和Z环以促进收缩^[24]。在大肠杆菌中,FtsA直接与内膜的细胞质小叶相互作用,并将C端插入磷脂双层。Conti等^[24]认为磷脂与FtsA结合或者直接修饰FtsA的构象以促进FtsA更紧密地与核苷酸结合,或者可以将FtsA集中在囊泡表面,增加有效浓度。FtsA与磷脂的相互作用不仅增强了FtsA对ATP的亲和力,还促进了ATP的快速水解。这一过程促进磷脂膜的重组,并将FtsZ募集到膜上,指导在早期收缩过程中Z环处的细胞壁重塑。

FtsA蛋白的构象会影响Z环的形成和细菌分裂的过程。从体内遗传学研究中获得的几份报告表明,FtsA与其他分裂蛋白之间的相互作用,包括ZipA、FtsN和FtsEX,可能会阻止FtsA自身聚合并促进单体生成^[81-83]。基于这个发现,Pichoff等^[81]认为FtsA在体内存在两种状态。聚合的FtsA无法招募下游蛋白质,FtsA聚合物必须在Z环处转化为单体,才能募集其他分裂蛋白。因此,FtsA相互作用的蛋白质可能具有抑制其聚合的功能,从而调节ATP结合和释放的循环以及膜重组的循环^[24]。FtsA与其他分裂蛋白的相互作用后文会详细描述。

FtsA近些年也是抗菌研究的热门靶点。最近研究发现,FtsA蛋白所衍生的残基多肽抗菌肽会与负电荷脂质囊泡优先结合,对革兰氏阴性菌的抑制具有选择性。Saikia等^[84]认为源自FtsA的肽一旦进入细菌细胞,可能会干扰天然FtsA蛋白的生理功能,从而抑制细菌生长。

2.2 ZipA

ZipA是由3个结构域组成的双位膜蛋白,分别是N端跨膜结构域、大球状C端结构域、富含脯氨酸和谷氨酰胺的中心结构域^[85]。分裂开始时,ZipA通过其C端与FtsZ的C端结构域直接相互作用被募集在Z环处参与组装,并能促进FtsZ蛋白组装成束,并稳定Z环的结构^[83]。ZipA与FtsZ的相互作用显示出作为开发靶点的潜力,尽管已经开发出了ZipA-FtsZ相互作用的小分子抑制剂,但它们与靶点的结合相对较弱,难以达到人们对于可行药

物的预期要求。这种方法最终被放弃,可能是由于药物口袋(ZipA内)太浅而无法用于药物靶向^[11]。

ZipA和FtsA功能相似,FtsZ聚合物在FtsA和ZipA缺失的情况下,无法锚定在细胞膜上。大肠杆菌细胞中FtsA或ZipA的丢失允许FtsZ环仍然形成,但阻止了细胞分裂的进一步进行^[86],这表明了分裂体处于锁定状态。

有一个悬而未决的问题是,为什么大肠杆菌需要双FtsZ膜锚定来组装完成分离的分裂体? Vega等^[79]使用细胞内交联实验证明FtsA和ZipA确实是直接相互作用的,他们认为FtsA的H7螺旋是与ZipA相互作用所需的关键界面。这种相互作用进一步说明,FtsZ的膜系带FtsA与ZipA可能相互调节彼此的活动。Krupka等^[87]发现大肠杆菌FtsA形成的脂质结合小分子拮抗FtsZ原丝之间的横向相互作用,并推断FtsA的低聚状态可能影响FtsZ的高阶结构和分裂功能。FtsA的突变体在形成低聚体方面存在缺陷,可以绕过对ZipA的需要,维持Z环的初始组装,这表明ZipA可能正常地发挥破坏FtsA低聚体的功能^[81, 83],改变FtsA的寡聚状态以暴露结构域1C,即下游分裂蛋白的结合位点。FtsA最初组装到新生的Z环中作为多聚体,其中FtsA的结构域1C被FtsA-FtsA相互作用所遮挡。然而,ZipA和FtsA竞争与FtsZ上的相同位点结合,因此将ZipA掺入Z环取代了一些FtsA,从而暴露了一些下游蛋白质的结合位点^[8]。

ZipA在枯草芽孢杆菌等革兰氏阳性菌中是不存在的,取而代之的是Z环负调控因子EzrA和Z环的锚定蛋白SepF。SepF与EzrA、FtsA竞争与FtsZ结合,FtsZ与额外的SepF结合可以减轻细胞分裂缺陷^[88]。SepF最开始是在肺炎链球菌和细长聚球藻中被发现其作用于细胞分裂,而且几乎在所有革兰氏阳性菌和蓝藻中高度保守,它的失活会导致严重的细胞分裂缺陷^[88]。SepF与FtsA在功能上存在一定的重叠,它们都能将Z环锚定在细胞膜上^[89]。这解释了为什么在枯草芽孢杆菌中同时删除FtsA和EzrA时能够不影响细菌的生长,以及为什么缺乏FtsA的细菌含有SepF同源物^[89]。在包括棒状杆菌的放线菌中,由于缺乏FtsA,SepF可能是这些细菌中唯一的Z环的膜锚定蛋白^[90]。在枯草芽孢杆菌的体外实验中,SepF既能促进FtsZ的组装,又降低FtsZ组装的临界浓度,同时抑制FtsZ的GTP酶活性^[91]。电镜分析表明,SepF可以组装

成直径约 50 nm 的规则蛋白环. SepF 蛋白环在新生的隔膜前缘的顶部形成弧形, 并将 FtsZ 原丝捆绑成长管结构, 从而将 FtsZ 聚合物附着在细胞膜上, 并帮助它们平行于分裂平面排列^[89]. 同时研究也指出, SepF 的过量生产会影响细胞晚期分裂蛋白的组装, 表明 SepF 也可能在下游蛋白质的招募中发挥作用^[88].

2.3 ZapA-D

在大肠杆菌中 FtsA 和 ZipA 将 FtsZ 聚合物锚定在细胞膜上, FtsZ 聚合物在细胞中间动态组装, 并最终组装成 Z 环. Zap 族蛋白 (ZapA-D) 被认为能够在不牺牲细胞分裂机械性能的情况下提高 Z 环的精度和稳定性. 其中 ZapA、ZapC 和 ZapD 通过交联 FtsZ 聚合物促进 Z 环的形成^[19]. 重要的是, 所有这 3 种基因的缺失都会导致细胞丝状化增加和存活率降低. ZapA 平行排列 FtsZ 原丝, 使原丝拉直和稳定, 从而增加了大规模纤维网络的空间有序性和时空持久性^[92-93]. 此外, ZapA 与 ZapB 在将 Z 环连接到染色体末端区域中也具有独特的作用. 其中, ZapA 以四聚体的形式与 FtsZ 原丝交联, 这意味着一个 ZapA 可以与四个 FtsZ 相结合. MatP 蛋白将染色体末端区域组织成一个大的结构域. ZapA 通过 ZapB 与染色体末端区域的 MatP 相连. 这一结构在维持 Z 环几何结构、确保隔膜完整方面起着重要作用, 而且它可能在细菌中非常普遍^[19]. 与此一致的是, ZapA 在细菌中非常保守. 在没有 ZapA 或 ZapB 的情况下, FtsZ 原丝往往无法形成 Z 环, 而是形成松散的螺旋结构. ZapC 或 ZapD 的丢失进一步加剧了这一缺陷^[19]. 总而言之, 在没有 Zap 族蛋白质的情况下, Z 环组装和稳定性都会受到影响, 这表明 Zap 族蛋白的交联对于在胞内形成 Z 环并确保 Z 环不会解旋至关重要.

2.4 FtsEX

FtsEX 是 ABC 超家族中 VII 类家族的成员^[94]. 这个家族的成员不是典型的转运蛋白, 而是将细胞质中的 ATP 水解与跨膜构象变化结合在一起, 以执行周质中的机械工作. FtsX 是内膜成分, FtsE 是 ATP 酶. FtsE 和 FtsX 的招募是相互依赖的, FtsEX 复合体是通过 FtsE 与 FtsZ 的保守 C 端结构域相互作用而招募的. 此外, FtsX 的 N 端不是 FtsEX 定位到 Z 环所必需的, 而是其细胞分裂功能所必需的, FtsX 与 FtsA 相互作用, 促进 FtsA 招募晚期细胞分裂蛋白的能力^[95].

在大肠杆菌中, FtsEX 在细胞分裂中有 3 个重

要的作用. 首先, 在招募到 Z 环之后, FtsEX 作用于 FtsA 以促进下游蛋白质的招募, 这一步骤不需要 ATP. FtsA 的寡聚体是不能用于募集下游蛋白质的. 当 Z 环上存在足够多的 FtsA 单体时, FtsA 才能募集剩余的 Fts 蛋白和 PBP1b. 一旦 FtsEX 复合物组装到 Z 环上, FtsX 便能与 FtsA 相互作用, 促进 FtsA 活性单体的形成从而开始其他蛋白质的募集^[95-97].

其次, FtsEX 还参与隔膜肽聚糖 (sPG) 合成的激活和调控. 在 FtsN 到达 Z 环之前, FtsBLQ 将 FtsWI 保持在非激活状态. 当 FtsN 到达 Z 环时, FtsN 与细胞质中的 FtsA 相互作用, 导致 FtsEX 水解 ATP 并解除 FtsBLQ 对 FtsWI 的抑制, 启动 sPG 的合成^[95].

FtsEX 水解 ATP 也同时激活了酰胺酶来裂解新合成的 sPG, 促进细胞收缩. 在大肠杆菌中, sPG 合成的开始导致许多额外的蛋白质被募集到隔膜. 其中一些蛋白质与 sPG 重塑或外膜内陷有关, 如酰胺酶 (AmiA、AmiB 和 AmiC). 酰胺酶是一种 PG 水解酶, 它可以切断连接茎肽和糖链的连接. 这 3 个酰胺酶的全部缺失会使细菌形态延长, 导致分裂失败^[98]. 然而酰胺酶在细菌中是被自动抑制的, 它们的活性需要两个激活蛋白的刺激, 分别是与内膜相关的 EnvC 和锚定在外膜中的脂蛋白 NlpD, 其中 EnvC 专门激活 AmiA 和 AmiB, 而 NlpD 专门激活 AmiC^[99-100]. FtsEX 的 ATP 酶活性参与调节 EnvC 来控制酰胺酶的活性. FtsX 中的大周质环与 EnvC 相互作用以调节酰胺酶 AmiA 和 AmiB. FtsEX 水解 ATP 可能会诱导 EnvC 发生构象变化, 从而克服酰胺酶的自抑制作用^[95, 97]. 因此, FtsEX 的 ATP 酶活性将 PG 合成与隔膜处的 PG 水解结合在一起.

2.5 FtsK

FtsK 是一种 DNA 转位酶, 其主要作用是分解染色体二聚体并在胞质分裂完成之前将 DNA 移出分裂位点. 作为一种多功能的多域蛋白质, FtsK 的 N 端结构域 (FtsK_N) 是细胞分裂所必需的, 它将 FtsK 定位于细胞隔膜并参与分裂机器的组装. 而其 C 端结构域 (FtsK_C) 是 FtsK 和其他分裂体蛋白建立重要相互作用所必需的, 而且 FtsK_C 还负责清除分裂位点的 DNA 及参与染色体分离易位运动^[101-102].

Berezuk 等^[103]发现, FtsA 突变体能在大肠杆菌分裂期间绕过对 FtsK 的需要, 而且在体外检测到 FtsA 与 FtsK_N 的直接相互作用. 鉴于 FtsK 与 FtsA

的直接相互作用及其在各种条件下能相对容易地被绕过, FtsK 可能在细菌延长及分离过程中起调节作用, 从而提高了分裂的效率. 有研究指出, 除 FtsN 外的大多数第二阶段分裂体蛋白都形成了一个大的蛋白质复合物, 该复合物定位于以 FtsK 为连接物的 Z 环上^[104-105]. Alison 等^[106]使用特定位点的体内紫外线交联来检测 FtsK_N 的周质环, 发现了 FtsK_N 能与外膜脂蛋白 RlpA 直接相互作用. FtsK_N 和 RlpA 的相互作用可能在细胞收缩期间, 协调细胞内膜、肽聚糖和细胞外膜的结合, 为 FtsK 作为分裂过程中细胞包膜重塑的潜在调节剂提供了进一步的证据. Alison 等还检测到几种参与生长和分裂的蛋白质 (例如, FtsN、DamX 和 PBP1a 等), 这些蛋白质可能是 FtsK 新型潜在的相互作用体. 但由于对这些蛋白质在分裂过程中的功能了解有限, 目前还难以解释这些蛋白质的相互作用在细胞分裂中的作用. 实际上, 这些蛋白质中的许多蛋白质很可能会协同工作, 使细菌准确地通过其生长周期^[106].

2.6 FtsBLQ

FtsQ、FtsL 和 FtsB 都是双定位膜蛋白, 形成的复合物充当下游分裂体蛋白招募的支架^[8]. 在分裂机器组装过程中, FtsK 招募 FtsBLQ 复合物, 然后招募 FtsW-FtsI (PBP3), 但双杂交分析表明 FtsBLQ 也与许多其他细胞分裂蛋白相互作用^[107-108]. 基于这些观察和缺乏明确催化功能的证据, FtsBLQ 一直被认为是协调分裂体内大量瞬时相互作用的分子连接体^[109-110].

最近的证据表明, FtsBLQ 在隔膜肽聚糖合成的起始过程中起着调节作用^[110-112]. 来自 Boes 等^[111]的数据证明了 FtsBLQ 与肽聚糖合成酶 PBP1b 和亚复合物 FtsW-FtsI (PBP3) 直接相互作用. FtsBLQ 能直接抑制这些隔膜肽聚糖合成中的关键酶, 直到适当的时间分裂. Liu 等^[112]认为 FtsA 和 FtsBLQ 都需要在活化 (on) 状态下启动间隔 PG 合成和随后的细胞收缩. 他们提出一种模型, FtsA 和 FtsBLQ 会保持分裂体复合物处于非活化 (off) 状态, FtsA-off 状态可通过直接或间接交互帮助稳定 FtsBLQ-off 状态. 直到 FtsN 到达, 与细胞质中的 FtsA 相互作用将复合物切换到活化 (on) 状态, 并通过 FtsN 解除对周质中的 FtsBLQ 的抑制.

总的来说, FtsBLQ 不仅是分裂机器的重要支架, 更在隔膜肽聚糖的合成过程中起重要的调节作用. 在 FtsN 到来之前, FtsBLQ 抑制着 FtsWI、PBP1b 等肽聚糖关键酶的活性. 当 FtsN 完成组装

后, FtsA 与 FtsBLQ 被激活, FtsBLQ 对合成酶的抑制也随之被解除, 启动间隔肽聚糖的合成.

鉴于 FtsBLQ 蛋白复合物的中心结构只在原核生物中保守以及调节作用, 有人认为 FtsBLQ 将会成为抗生素开发的一个有吸引力的靶标. 尽管由于相对容易产生耐药性, 抑制蛋白质相互作用通常不是抗菌策略的首选, 但鉴于 FtsBLQ 的众多相互作用, 多个蛋白质伙伴将不得不适应耐药性的发展^[110].

2.7 FtsWI

FtsW 属于 SEDS (Shape, Elongation, Division and Sporulation) 家族蛋白, 也是所有有壁细菌细胞分裂机制中不可缺少的组成部分^[113]. FtsW 最近在体外被鉴定为一种新的单功能肽聚糖糖基转移酶 (PGTase)^[114]. FtsW 及其同源的单功能转肽酶 (TPase), 即青霉素结合蛋白 FtsI (也称 PBP3), 构成间隔肽聚糖合成所必需的双功能间隔肽聚糖合成酶^[77].

在 FtsWI 亚复合物合成隔膜肽聚糖的过程中, 肽聚糖合成酶 PBP1b 通过与 FtsWI 相互协调, 促进了隔膜肽聚糖的合成. PBP1b 同时具有糖基转移酶活性和转肽酶活性, 虽然不是必需的分裂蛋白, 但也被招募至分裂机器处, 协助 FtsWI 合成隔膜肽聚糖^[115-117]. 此过程受到 FtsA、FtsBLQ 和 FtsN 等蛋白质的调控, 在此不再赘述.

青霉素结合蛋白 (PBPs) 最初被确定为青霉素等 β -内酰胺类抗生素的靶标. 这些肽聚糖合成酶有 3 种类型: 双功能 GTase-TPases (aPBPs)、单功能 TPase (bPBPs) 和单功能 GTases. 大肠杆菌有 3 个双功能合成酶 (PBP1A、PBP1B 和 PBP1C), 1 个 GTase (MGTA) 和 2 个 TPase (PBP2 和 FtsI)^[118]. 最近研究发现, FtsW 需要二价阳离子和 bPBP 的存在才能发挥活性. 同源 bPBP 的跨膜螺旋与 FtsW 相互作用, 在不同的细菌中形成稳定的 FtsW-bPBP 复合物, 并具有生长和分裂所需的肽聚糖聚合酶活性. FtsW-bPBP 复合物和 aPBPs 之间的分工在不同细胞中各有不同. 不管它们的相对作用如何, FtsW-bPBP 复合物和 aPBPs 对于肽聚糖的正确组装显然是至关重要的^[115, 117]. 因此, 对它们活性和调节的进一步研究将为未来的抗生素开发铺平道路.

2.8 FtsN

在大肠杆菌中, 必需的分裂蛋白以一条基本线性的依赖途径被招募到隔环, 因此任何一种蛋白质

的耗尽都会阻止下游蛋白质的招募。FtsN是最后一个定位于分裂位点的必需蛋白质,被认为是细胞收缩的触发因素^[119]。FtsN是一种双位膜蛋白,具有一个小的细胞质结构域,一个单一的跨膜螺旋和一个相对较大的周质结构域。周质结构域可进一步细分为3个区域:具有三个短螺旋的膜近端区域,长度约为120个氨基酸的富含谷氨酰胺的连接区,以及与PG结合的C端Spor结构域^[120]。

FtsN的主要作用是激活肽聚糖的合成机制。FtsN的细胞质结构域可以与FtsA的1C结构域相结合,其相互作用将FtsA切换到活化(on)状态,从而解除FtsBLQ对FtsWI等肽聚糖合成酶的抑制,激活肽聚糖的合成机制。FtsA与FtsN相互作用的能力受ZipA蛋白调控^[116]。在Lutkenhaus的模型中,ZipA的作用是改变FtsA的低聚状态,以暴露结构域1C,即前面提到的下游分裂蛋白的结合位点。FtsA最初组装成新生的Z环,作为一个多聚体,其中FtsA的结构域1C被FtsA-FtsA相互作用所遮挡。然而,ZipA和FtsA竞争与FtsZ上的同一位点的结合会将ZipA掺入Z环,并置换一些FtsA,从而暴露出一些FtsN结合位点^[81, 120]。

3 结 语

当前使用的抗生素导致的细菌耐药性,特别是多重耐药性,是对人类健康的巨大威胁。临床上使用的绝大多数抗菌药物靶向细胞壁的生物合成,核酸合成和蛋白质合成。因此,迫切需要开发克服这种耐药性并对细菌存活至关重要的新型药物靶标。理想的靶标应对细菌生长或活性至关重要,在系统发育的不同物种中具有高度的保守性,显示出最小的真核同源性。最关键的是,药物靶标应具有低耐药性发展倾向,以解决当前的抗菌素耐药性问题^[11]。细胞分裂是细菌繁殖的必不可少的基本过程。大量研究表明FtsZ蛋白几乎在所有的细菌物种中都表现出高度的保守性,并在GTP作用下最早参与细菌细胞分裂,是细菌生长的关键酶。FtsZ和人微管蛋白之间存在一个主要的结构差异:FtsZ含有一个由H7核心螺旋链接的区域间裂隙,其分离N端结构域和C端结构域,而该裂缝在微管蛋白中是不存在的^[11]。对这一关键结构差异的识别为设计结合该区域的小分子提供了可能性,为开发广谱FtsZ抑制剂创造了机会。

以FtsZ蛋白作为抗菌药物研究新靶点的构效关系研究已经取得一定进展,大量研究揭示了FtsZ

的结构与生理功能,强调了FtsZ作为药物靶点的发展过程和目前作为药物设计,特别是抗耐药菌药物设计靶点的重要地位,并认为这是一个切实可行的、具有应用前景的新靶点。天然产物一直是药物发现的丰富资源,鉴于被鉴定为FtsZ抑制剂的血根碱^[28]、黄连素^[33]和肉桂醛^[35],其结构优化后产生的一系列化合物^[30-31, 34, 36]的最低抑制浓度MIC值达到微克每毫升水平。更重要的是,大多数天然化合物具有广谱抗菌活性,为开发具有广谱FtsZ抗菌剂提供了途径。近些年开发的许多合成类FtsZ抑制剂具有作为进一步临床前研究候选物的潜力,PC190723无疑是最具代表性的化合物之一。苯甲酰胺衍生物PC190723对枯草芽孢杆菌和包括耐甲氧西林金黄色葡萄球菌在内的多种葡萄球菌均具有优异的抑菌效果,最低抑制浓度MIC在0.5~1.0 mg/L,其抗菌效果要比3-MBA高出2 000多倍^[51]。尽管PC190723具有很高的效力,但该化合物的药理特性却很差。因此,研究人员开发了具有改善溶解度的TX707,并且还研究了PC190723和TX707的前药^[55]。这些苯甲酰胺衍生物正在接受进一步评估,并且很可能在不久的将来作为第一种针对葡萄球菌感染的FtsZ抑制剂投放市场。近几年,我们团队开发的芳香乙烯类衍生物对包括敏感和耐药金黄色葡萄球菌等一系列菌株都有较好的生物活性,而且能够抑制FtsZ的GTP酶活性和扰乱Z环的形成,具有开发成新型FtsZ抑制剂的潜能^[73-76]。与PC190723相似,这些芳香乙烯类衍生物对其他革兰氏阳性和革兰氏阴性菌的活性较弱。因此,广谱抗菌剂的开发可能需要新一轮先导化合物的发现。

细胞分裂过程还涉及一系列细胞分裂蛋白家族,例如FtsA、FtsBLQ等,在细菌分裂蛋白的招募及肽聚糖的合成过程中发挥重要作用。关于FtsA的抑制剂目前并不多,但鉴于FtsA在细胞分裂过程中发挥的不可或缺的作用,FtsA可能也是一个有潜力药物靶点。最近,基于抗菌肽的FtsA抑制剂已经表现出对包括耐甲氧西林金黄色葡萄球菌在内的各种细菌的良好活性^[84]。这无疑是一个新趋势,未来肯定会开发其他基于肽的FtsZ或FtsA抑制剂。ZipA与FtsZ的相互作用也显示出作为开发靶点的潜力,尽管已经开发出了ZipA-FtsZ相互作用的小分子抑制剂,但它们与靶点的结合相对较弱,难以达到人们对于可行药物的预期要求。这种方法最终被放弃,可能是由于药物口袋(ZipA内)太浅而

无法用于药物靶向^[11]. Fts家族的其他成员, 也在细菌分裂过程中发挥重要作用, 在不久的将来可能也会被作为药物靶点进行研究. 这也是我们撰写这篇综述的原因, 阐明家族成员之间的相互作用关系和作用模式, 特别是FtsZ蛋白的角色和功能, 对此类药物的设计和开发具有重要指导意义.

参 考 文 献

- [1] Prestinaci F, Pezzotti P, Pantosti A. Antimicrobial resistance: a global multifaceted phenomenon. *Pathogens and Global Health*, 2015, **109**(7): 309-318
- [2] Willyard C. The drug-resistant bacteria that pose the greatest health threats. *Nature News*, 2017, **543**(7643): 15
- [3] Haeusser D P, Margolin W. Splitsville: structural and functional insights into the dynamic bacterial Z ring. *Nature Reviews Microbiology*, 2016, **14**(5): 305
- [4] Eswara P J, Brzozowski R S, Viola M G, *et al.* An essential *Staphylococcus aureus* cell division protein directly regulates FtsZ dynamics. *Elife*, 2018, **7**: e38856
- [5] Tsang M J, Bernhardt T G. Guiding divisome assembly and controlling its activity. *Current Opinion in Microbiology*, 2015, **24**: 60-65
- [6] Hurley K A, Santos T M A, Nepomuceno G M, *et al.* Targeting the bacterial division protein FtsZ. *Journal of Medicinal Chemistry*, 2016, **59**(15): 6975-6998
- [7] Blaauwen T, Hamoen L W, Levin P A. The divisome at 25: the road ahead. *Curr Opin Microbiol*, 2017, **36**: 85-94
- [8] Du S, Lutkenhaus J. Assembly and activation of the *Escherichia coli* divisome. *Molecular Microbiology*, 2017, **105**(2): 177-187
- [9] Yang X, Lyu Z, Miguel A, *et al.* GTPase activity-coupled treadmilling of the bacterial tubulin FtsZ organizes septal cell wall synthesis. *Science*, 2017, **355**(6326): 744-747
- [10] Bisson-Filho A W, Hsu Y P, Squyres G R, *et al.* Treadmilling by FtsZ filaments drives peptidoglycan synthesis and bacterial cell division. *Science*, 2017, **355**(6326): 739-743
- [11] Kusuma K D, Payne M, Ung A T, *et al.* FtsZ as an antibacterial target: status and guidelines for progressing this avenue. *ACS Infectious Diseases*, 2019, **5**(8): 1279-1294
- [12] Hale C A, Rhee A C, De Boer P A J. ZipA-induced bundling of FtsZ polymers mediated by an interaction between C-terminal domains. *Journal of Bacteriology*, 2000, **182**(18): 5153-5166
- [13] Haranahalli K, Tong S, Ojima I. Recent advances in the discovery and development of antibacterial agents targeting the cell-division protein FtsZ. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 2016, **24**(24): 6354-6369
- [14] Schumacher M A, Ohashi T, Corbin L, *et al.* High-resolution crystal structures of *Escherichia coli* FtsZ bound to GDP and GTP. *Acta Crystallogr F Struct Biol Commun*, 2020, **76**(2): 94-102
- [15] Yoshizawa T, Fujita J, Terakado H, *et al.* Crystal structures of the cell-division protein FtsZ from *Klebsiella pneumoniae* and *Escherichia coli*. *Acta Crystallogr F Struct Biol Commun*, 2020, **76**(2): 86-93
- [16] Lu C, Stricker J, Erickson H P. FtsZ from *Escherichia coli*, *Azotobacter vinelandii*, and *Thermotoga maritima*—quantitation, GTP hydrolysis, and assembly. *Cell Motil Cytoskeleton*, 1998, **40**(1): 71-86
- [17] Kumar P, Yadav A, Fishov I, *et al.* Z-ring structure and constriction dynamics in *E. coli*. *Frontiers in Microbiology*, 2017, **8**: 1670
- [18] Guan F, Yu J, Yu J, *et al.* Lateral interactions between protofilaments of the bacterial tubulin homolog FtsZ are essential for cell division. *Elife*, 2018, **7**: e35578
- [19] Du S, Lutkenhaus J. At the heart of bacterial cytokinesis: the Z ring. *Trends in Microbiology*, 2019, **27**(9): 781-791
- [20] Sass P, Brötz-Oesterhelt H. Bacterial cell division as a target for new antibiotics. *Current Opinion in Microbiology*, 2013, **16**(5): 522-530
- [21] Michie K A, Löwe J. Dynamic filaments of the bacterial cytoskeleton. *Annu. Rev. Biochem.* 2006, **75**: 467-492
- [22] Bisson-Filho A W, Hsu Y P, Squyres G R, *et al.* Treadmilling by FtsZ filaments drives peptidoglycan synthesis and bacterial cell division. *Science*, 2017, **355**(6326): 739-743
- [23] Stricker J, Maddox P, Salmon E D, *et al.* Rapid assembly dynamics of the *Escherichia coli* FtsZ-ring demonstrated by fluorescence recovery after photobleaching. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2002, **99**(5): 3171-3175
- [24] Conti J, Viola M G, Camberg J L. FtsA reshapes membrane architecture and remodels the Z - ring in *Escherichia coli*. *Molecular Microbiology*, 2018, **107**(4): 558-576
- [25] Lariviere P J, Mahone C R, Santiago-Collazo G, *et al.* An essential regulator of bacterial division links FtsZ to cell wall synthase activation. *Current Biology*, 2019, **29**(9): 1460-1470. e4
- [26] Monteiro J M, Pereira A R, Reichmann N T, *et al.* Peptidoglycan synthesis drives an FtsZ-treadmilling-independent step of cytokinesis. *Nature*, 2018, **554**(7693): 528-532
- [27] Fu C, Guan G, Wang H. The anticancer effect of sanguinarine: a review. *Current Pharmaceutical Design*, 2018, **24**(24): 2760-2764
- [28] Beuria T K, Santra M K, Panda D. Sanguinarine blocks cytokinesis in bacteria by inhibiting FtsZ assembly and bundling. *Biochemistry*, 2005, **44**(50): 16584-16593
- [29] Lopus M, Panda D. The benzophenanthridine alkaloid sanguinarine perturbs microtubule assembly dynamics through tubulin binding: a possible mechanism for its antiproliferative activity. *The FEBS Journal*, 2006, **273**(10): 2139-2150
- [30] Liu J, Ma R, Bi F, *et al.* Novel 5-methyl-2-phenylphenanthridium derivatives as FtsZ-targeting antibacterial agents from structural simplification of natural product sanguinarine. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 2018, **28**(10): 1825-1831
- [31] Liu F, Venter H, Bi F, *et al.* Synthesis and antibacterial activity of 5-methylphenanthridium derivatives as FtsZ inhibitors. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 2017, **27**(15): 3399-3402
- [32] Li T, Wang P, Guo W, *et al.* Natural berberine-based chinese herb medicine assembled nanostructures with modified antibacterial application. *ACS Nano*, 2019, **13**(6): 6770-6781

- [33] Domadia P N, Bhunia A, Sivaraman J, *et al.* Berberine targets assembly of *Escherichia coli* cell division protein FtsZ. *Biochemistry*, 2008, **47**(10): 3225-3234
- [34] Sun N, Chan F Y, Lu Y J, *et al.* Rational design of berberine-based FtsZ inhibitors with broad-spectrum antibacterial activity. *Plos One*, 2014, **9**(5): e97514
- [35] Domadia P, Swarup S, Bhunia A, *et al.* Inhibition of bacterial cell division protein FtsZ by cinnamaldehyde. *Biochemical Pharmacology*, 2007, **74**(6): 831-840
- [36] Li X, Sheng J, Huang G, *et al.* Design, synthesis and antibacterial activity of cinnamaldehyde derivatives as inhibitors of the bacterial cell division protein FtsZ. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 2015, **97**: 32-41
- [37] Kotha R R, Luthria D L. Curcumin: biological, pharmaceutical, nutraceutical, and analytical aspects. *Molecules*, 2019, **24**(16): 2930
- [38] Rai D, Singh J K, Roy N, *et al.* Curcumin inhibits FtsZ assembly: an attractive mechanism for its antibacterial activity. *Biochemical Journal*, 2008, **410**(1): 147-155
- [39] Shi C, Che M, Zhang X, *et al.* Antibacterial activity and mode of action of totarol against *Staphylococcus aureus* in carrot juice. *Journal of Food Science and Technology*, 2018, **55**(3): 924-934
- [40] Guo N, Zhao X, Li W, *et al.* The synergy of berberine chloride and totarol against *Staphylococcus aureus* grown in planktonic and biofilm cultures. *Journal of Medical Microbiology*, 2015, **64**(8): 891-900
- [41] Jaiswal R, Beuria T K, Mohan R, *et al.* Totarol inhibits bacterial cytokinesis by perturbing the assembly dynamics of FtsZ. *Biochemistry*, 2007, **46**(14): 4211-4220
- [42] Kim M B, O'Brien T E, Moore J T, *et al.* The synthesis and antimicrobial activity of heterocyclic derivatives of totarol. *ACS Medicinal Chemistry Letters*, 2012, **3**(10): 818-822
- [43] Wang J, Galgocsi A, Kodali S, *et al.* Discovery of a small molecule that inhibits cell division by blocking FtsZ, a novel therapeutic target of antibiotics. *Journal of Biological Chemistry*, 2003, **278**(45): 44424-44428
- [44] Noh T H, Sen L, Hong J, *et al.* Antibacterial activities of viriditoxin congeners and synthetic analogues against fish pathogens. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 2017, **27**(22): 4970-4974
- [45] Foss M H, Eun Y J, Grove C I, *et al.* Inhibitors of bacterial tubulin target bacterial membranes *in vivo*. *Medchemcomm*, 2013, **4**(1): 112-119
- [46] Rivera-Chávez J, Caesar L K, Garcia-Salazar J J, *et al.* Mycopyranone: A 8, 8'-binaphthopyranone with potent anti-MRSA activity from the fungus *Phialemoniopsis* sp. *Tetrahedron Letters*, 2019, **60**(8): 594-597
- [47] Crown J, O'Leary M. The taxanes: an update. *The Lancet*, 2000, **355**(9210): 1176-1178
- [48] Huang Q, Kirikae F, Kirikae T, *et al.* Targeting FtsZ for antituberculosis drug discovery: noncytotoxic taxanes as novel antituberculosis agents. *Journal of Medicinal Chemistry*, 2006, **49**(2): 463-466
- [49] Singh D, Bhattacharya A, Rai A, *et al.* SB-RA-2001 inhibits bacterial proliferation by targeting FtsZ assembly. *Biochemistry*, 2014, **53**(18): 2979-2992
- [50] Ohashi Y, Chijiwa Y, Suzuki K, *et al.* The lethal effect of a benzamide derivative, 3-methoxybenzamide, can be suppressed by mutations within a cell division gene, *ftsZ*, in *Bacillus subtilis*. *Journal of Bacteriology*, 1999, **181**(4): 1348-1351
- [51] Haydon D J, Stokes N R, Ure R, *et al.* An inhibitor of FtsZ with potent and selective anti-staphylococcal activity. *Science*, 2008, **321**(5896): 1673-1675
- [52] Elsen N L, Lu J, Parthasarathy G, *et al.* Mechanism of action of the cell-division inhibitor PC190723: modulation of FtsZ assembly cooperativity. *Journal of the American Chemical Society*, 2012, **134**(30): 12342-12345
- [53] Andreu J M, Schaffner-Barbero C, Huecas S, *et al.* The antibacterial cell division inhibitor PC190723 is an FtsZ polymer-stabilizing agent that induces filament assembly and condensation. *Journal of Biological Chemistry*, 2010, **285**(19): 14239-14246
- [54] Haydon D J, Bennett J M, Brown D, *et al.* Creating an antibacterial with *in vivo* efficacy: synthesis and characterization of potent inhibitors of the bacterial cell division protein FtsZ with improved pharmaceutical properties. *Journal of Medicinal Chemistry*, 2010, **53**(10): 3927-3936
- [55] Kaul M, Mark L, Zhang Y, *et al.* TXA709, an FtsZ-targeting benzamide prodrug with improved pharmacokinetics and enhanced *in vivo* efficacy against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 2015, **59**(8): 4845-4855
- [56] Bi F, Guo L, Wang Y, *et al.* Design, synthesis and biological activity evaluation of novel 2, 6-difluorobenzamide derivatives through FtsZ inhibition. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 2017, **27**(4): 958-962
- [57] Bi F, Song D, Zhang N, *et al.* Design, synthesis and structure-based optimization of novel isoxazole-containing benzamide derivatives as FtsZ modulators. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 2018, **159**: 90-103
- [58] Bi F, Song D, Qin Y, *et al.* Discovery of 1, 3, 4-oxadiazol-2-one-containing benzamide derivatives targeting FtsZ as highly potent agents of killing a variety of MDR bacteria strains. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 2019, **27**(14): 3179-3193
- [59] Qiang S, Wang C, Venter H, *et al.* Synthesis and biological evaluation of novel FtsZ - targeted 3 - arylalkoxy - 2, 6 - difluorobenzamides as potential antimicrobial agents. *Chemical Biology & Drug Design*, 2016, **87**(2): 257-264
- [60] Ma S, Cong C, Meng X, *et al.* Synthesis and on-target antibacterial activity of novel 3-elongated arylalkoxybenzamide derivatives as inhibitors of the bacterial cell division protein FtsZ. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 2013, **23**(14): 4076-4079
- [61] Margalit D N, Romberg L, Mets R B, *et al.* Targeting cell division: small-molecule inhibitors of FtsZ GTPase perturb cytokinetic ring assembly and induce bacterial lethality. *Proc Natl Acad Sci USA*,

- 2004, **101**(32): 11821-11826
- [62] Nepomuceno G M, Chan K M, Huynh V, *et al.* Synthesis and evaluation of quinazolines as inhibitors of the bacterial cell division protein FtsZ. *ACS Medicinal Chemistry Letters*, 2015, **6**(3): 308-312
- [63] Beuria T K, Singh P, Surolia A, *et al.* Promoting assembly and bundling of FtsZ as a strategy to inhibit bacterial cell division: a new approach for developing novel antibacterial drugs. *Biochemical Journal*, 2009, **423**(1): 61-69
- [64] Singh P, Jindal B, Surolia A, *et al.* A rhodanine derivative CCR-11 inhibits bacterial proliferation by inhibiting the assembly and GTPase activity of FtsZ. *Biochemistry*, 2012, **51**(27): 5434-5442
- [65] Ruiz-Avila L B, Huecas S, Artola M, *et al.* Synthetic inhibitors of bacterial cell division targeting the GTP-binding site of FtsZ. *ACS Chemical Biology*, 2013, **8**(9): 2072-2083
- [66] Foley M, Tilley L. Quinoline antimalarials: mechanisms of action and resistance and prospects for new agents. *Pharmacology & Therapeutics*, 1998, **79**(1): 55-87
- [67] Andries K, Verhasselt P, Guillemont J, *et al.* A diarylquinoline drug active on the ATP synthase of *Mycobacterium tuberculosis*. *Science*, 2005, **307**(5707): 223-227
- [68] Mathew B, Ross L, Reynolds R C. A novel quinoline derivative that inhibits mycobacterial FtsZ. *Tuberculosis*, 2013, **93**(4): 398-400
- [69] Kim E, Lee S H, Lee S J, *et al.* New antibacterial-core structures based on styryl quinolinium. *Food Science and Biotechnology*, 2017, **26**(2): 521-529
- [70] Lu Y J, Deng Q, Hu D P, *et al.* A molecular fluorescent dye for specific staining and imaging of RNA in live cells: a novel ligand integration from classical thiazole orange and styryl compounds. *Chemical Communications*, 2015, **51**(83): 15241-15244
- [71] Wang C, Lu Y J, Cai S Y, *et al.* Advancing small ligands targeting RNA for better binding affinity and specificity: a study of structural influence through molecular design approach. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 2018, **262**: 386-394
- [72] Long W, Lu Y J, Zhang K, *et al.* Boosting the turn-on fluorescent signaling ability of thiazole orange dyes: the effectiveness of structural modification site and its unusual interaction behavior with nucleic acids. *Dyes and Pigments*, 2018, **159**: 449-456
- [73] Sun N, Lu Y J, Chan F Y, *et al.* A thiazole orange derivative targeting the bacterial protein FtsZ shows potent antibacterial activity. *Frontiers in Microbiology*, 2017, **8**: 855
- [74] Cai S, Yuan W, Li Y, *et al.* Antibacterial activity of indolyl-quinolinium derivatives and study their mode of action. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 2019, **27**(7): 1274-1282
- [75] Sun N, Li M, Cai S, *et al.* Antibacterial evaluation and mode of action study of BIMQ, a novel bacterial cell division inhibitor. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 2019, **514**(4): 1224-1230
- [76] Zheng Y Y, Du R L, Cai S Y, *et al.* Study of benzofuroquinolinium derivatives as a new class of potent antibacterial agent and the mode of inhibition targeting FtsZ. *Frontiers in Microbiology*, 2018, **9**: 1937
- [77] Egan A J F, Biboy J, van't Veer I, *et al.* Activities and regulation of peptidoglycan synthases. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, 2015, **370**(1679): 20150031
- [78] Egan A J F. Bacterial outer membrane constriction. *Molecular Microbiology*, 2018, **107**(6): 676-687
- [79] Vega D E, Margolin W. Direct interaction between the two Z ring membrane anchors FtsA and ZipA. *Journal of Bacteriology*, 2019, **201**(4): e00579-18
- [80] Pichoff S, Lutkenhaus J. Tethering the Z ring to the membrane through a conserved membrane targeting sequence in FtsA. *Molecular Microbiology*, 2005, **55**(6): 1722-1734
- [81] Pichoff S, Shen B, Sullivan B, *et al.* FtsA mutants impaired for self-interaction bypass ZipA suggesting a model in which FtsA's self-interaction competes with its ability to recruit downstream division proteins. *Molecular Microbiology*, 2012, **83**(1): 151-167
- [82] Du S, Pichoff S, Lutkenhaus J. FtsEX acts on FtsA to regulate divisome assembly and activity. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2016, **113**(34): E5052-E5061
- [83] Chen Y, Huang H, Osawa M, *et al.* ZipA and FtsA* stabilize FtsZ-GDP minoring structures. *Scientific Reports*, 2017, **7**(1): 1-9
- [84] Saikia K, Chaudhary N. Antimicrobial peptides from C-terminal amphipathic region of *E. coli* FtsA. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Biomembranes*, 2018, **1860**(12): 2506-2514
- [85] Ortiz C, Natale P, Cueto L, *et al.* The keepers of the ring: regulators of FtsZ assembly. *FEMS Microbiology Reviews*, 2016, **40**(1): 57-67
- [86] Schoenemann K M, Vega D E, Margolin W. Peptide linkers within the essential FtsZ membrane tethers ZipA and FtsA are nonessential for cell division. *Journal of Bacteriology*, 2020, **202**(6): e00720-19
- [87] Krupka M, Rowlett V W, Morado D, *et al.* *Escherichia coli* FtsA forms lipid-bound minirings that antagonize lateral interactions between FtsZ protofilaments. *Nature Communications*, 2017, **8**: 15957
- [88] Gao Y, Wenzel M, Jonker M J, *et al.* Free SepF interferes with recruitment of late cell division proteins. *Scientific Reports*, 2017, **7**(1): 1-18
- [89] Duman R, Ishikawa S, Celik I, *et al.* Structural and genetic analyses reveal the protein SepF as a new membrane anchor for the Z ring. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2013, **110**(48): E4601-E4610
- [90] Folador E L, Gomide A C P, Goes-Neto A, *et al.* Cell Division in genus *Corynebacterium*: protein-protein interaction and molecular docking of SepF and FtsZ in the understanding of cytokinesis in pathogenic species. *Anais da Academia Brasileira de Ciências*, 2018, **90**(2): 2179-2188
- [91] Singh J K, Makde R D, Kumar V, *et al.* SepF increases the assembly and bundling of FtsZ polymers and stabilizes FtsZ protofilaments by binding along its length. *Journal of Biological Chemistry*, 2008, **283**(45): 31116-31124
- [92] Caldas P, López-Pelegrín M, Pearce D J G, *et al.* Cooperative ordering of treadmill filaments in cytoskeletal networks of FtsZ

- and its crosslinker ZapA. *Nature Communications*, 2019, **10**(1): 5744
- [93] Roseboom W, Nazir M G, Meiresonne N Y, *et al.* Mapping the contact sites of the *Escherichia coli* division-initiating proteins FtsZ and ZapA by BAMG cross-linking and site-directed mutagenesis. *International Journal of Molecular Sciences*, 2018, **19**(10): 2928
- [94] Greene N P, Kaplan E, Crow A, *et al.* Antibiotic resistance mediated by the MacB ABC transporter family: a structural and functional perspective. *Frontiers in Microbiology*, 2018, **9**: 950
- [95] Du S, Henke W, Pichoff S, *et al.* How FtsEX localizes to the Z ring and interacts with FtsA to regulate cell division. *Molecular Microbiology*, 2019, **112**(3): 881-895
- [96] Du S, Pichoff S, Lutkenhaus J. FtsEX acts on FtsA to regulate divisome assembly and activity. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2016, **113**(34): E5052-E5061
- [97] Pichoff S, Du S, Lutkenhaus J. Roles of FtsEX in cell division. *Research in Microbiology*, 2019, **170**(8): 374-380
- [98] Yang D C, Tan K, Joachimiak A, *et al.* A conformational switch controls cell wall-remodelling enzymes required for bacterial cell division. *Molecular Microbiology*, 2012, **85**(4): 768-781
- [99] Tsang M J, Yakhnina A A, Bernhardt T G. NlpD links cell wall remodeling and outer membrane invagination during cytokinesis in *Escherichia coli*. *Plos Genetics*, 2017, **13**(7): e1006888
- [100] Peters N T, Dinh T, Bernhardt T G. A fail-safe mechanism in the septal ring assembly pathway generated by the sequential recruitment of cell separation amidases and their activators. *Journal of Bacteriology*, 2011, **193**(18): 4973-4983
- [101] Veiga H, G. Pinho M. *Staphylococcus aureus* requires at least one FtsK/SpoIIIE protein for correct chromosome segregation. *Molecular Microbiology*, 2017, **103**(3): 504-517
- [102] May P F J, Zawadzki P, Sherratt D J, *et al.* Assembly, translocation, and activation of XerCD-dif recombination by FtsK translocase analyzed in real-time by FRET and two-color tethered fluorophore motion. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2015, **112**(37): E5133-E5141
- [103] Berezuk A M, Roach E J, Seidel L, *et al.* FtsA G50E mutant suppresses the essential requirement for FtsK during bacterial cell division in *Escherichia coli*. *Canadian Journal of Microbiology*, 2020, **66**(4): 313-327
- [104] Goehring N W, Gueiros-Filho F, Beckwith J. Premature targeting of a cell division protein to midcell allows dissection of divisome assembly in *Escherichia coli*. *Genes & Development*, 2005, **19**(1): 127-137
- [105] Du S, Lutkenhaus J. Assembly and activation of the *Escherichia coli* divisome. *Molecular Microbiology*, 2017, **105**(2): 177-187
- [106] Berezuk A M, Glavota S, Roach E J, *et al.* Outer membrane lipoprotein RlpA is a novel periplasmic interaction partner of the cell division protein FtsK in *Escherichia coli*. *Scientific Reports*, 2018, **8**(1): 1-14
- [107] D'Ulisse V, Fagioli M, Ghelardini P, *et al.* Three functional subdomains of the *Escherichia coli* FtsQ protein are involved in its interaction with the other division proteins. *Microbiology*, 2007, **153**(1): 124-138
- [108] Karimova G, Dautin N, Ladant D. Interaction network among *Escherichia coli* membrane proteins involved in cell division as revealed by bacterial two-hybrid analysis. *Journal of Bacteriology*, 2005, **187**(7): 2233-2243
- [109] Vicente M, Rico A I. The order of the ring: assembly of *Escherichia coli* cell division components. *Molecular Microbiology*, 2006, **61**(1): 5-8
- [110] Den Blaauwen T, Luirink J. Checks and balances in bacterial cell division. *MBio*, 2019, **10**(1): e00149-19
- [111] Boes A, Olatunji S, Breukink E, *et al.* Regulation of the peptidoglycan polymerase activity of PBP1b by antagonist actions of the core divisome proteins FtsBLQ and FtsN. *MBio*, 2019, **10**(1): e01912-18
- [112] Liu B, Persons L, Lee L, *et al.* Roles for both FtsA and the FtsBLQ subcomplex in FtsN-stimulated cell constriction in *Escherichia coli*. *Molecular Microbiology*, 2015, **95**(6): 945-970
- [113] Welsh M A, Schaefer K, Taguchi A, *et al.* Direction of chain growth and substrate preferences of shape, elongation, division, and sporulation-family peptidoglycan glycosyltransferases. *Journal of the American Chemical Society*, 2019, **141**(33): 12994-12997
- [114] Cho H, Wivagg C N, Kapoor M, *et al.* Bacterial cell wall biogenesis is mediated by SEDS and PBP polymerase families functioning semi-autonomously. *Nature Microbiology*, 2016, **1**: 16172
- [115] Taguchi A, Welsh M A, Marmont L S, *et al.* FtsW is a peptidoglycan polymerase that is functional only in complex with its cognate penicillin-binding protein. *Nature Microbiology*, 2019, **4**(4): 587-594
- [116] Pazos M, Peters K, Casanova M, *et al.* Z-ring membrane anchors associate with cell wall synthases to initiate bacterial cell division. *Nature Communications*, 2018, **9**(1): 5090
- [117] Rohs P D A, Buss J, Sim S I, *et al.* A central role for PBP2 in the activation of peptidoglycan polymerization by the bacterial cell elongation machinery. *Plos Genetics*, 2018, **14**(10): e1007726
- [118] Typas A, Banzhaf M, Gross C A, *et al.* From the regulation of peptidoglycan synthesis to bacterial growth and morphology. *Nature Reviews Microbiology*, 2012, **10**(2): 123-136
- [119] Meehan B M, Landeta C, Boyd D, *et al.* The essential cell division protein FtsN contains a critical disulfide bond in a non-essential domain. *Molecular Microbiology*, 2017, **103**(3): 413-422
- [120] Weiss D S. Last but not least: new insights into how FtsN triggers constriction during *Escherichia coli* cell division. *Molecular Microbiology*, 2015, **95**(6): 903-909

A Review on Bacterial Cell-division Protein and Recent Progress of FtsZ Inhibitors Development*

HUANG Xuan-He¹⁾, SUN Ning^{2,3)**}, ZHONG Dong-Xiao¹⁾, CHEN Cui-Cui¹⁾, LI Ying¹⁾,
WONG Wing-Leung⁴⁾, LU Yu-Jing^{1)**}

¹⁾School of Biomedical and Pharmaceutical Sciences, Guangdong University of Technology, Guangzhou 510006, China;

²⁾State Key Laboratory of Chemical Biology and Drug Discovery, Department of Applied Biology Chemical Technology,

The Hong Kong Polytechnic University, Hong Kong, China;

³⁾The Fifth Affiliated Hospital of Guangzhou Medical University, Guangzhou 510700, China;

⁴⁾School of Biotechnology and Health Sciences, Wuyi University, Jiangmen 529020, China)

Abstract In recent years, the abuse of antibiotics has caused the emergence of drug-resistant bacteria, which is now widely spread around the world. It is currently a critical issue that seriously threatens to human health due to the lack of effective clinical drugs to treat the multidrug-resistant bacterial infections. With such a serious shortage of drugs and means for clinical treatment against multidrug-resistant bacterial infections, it is urgently needed to develop new antibacterial drugs, especially those molecules possessing new mechanisms of action to combat the drug-resistant bacteria. Filamenting temperature-sensitive mutant Z (FtsZ) is an essential protein for bacterial division and has been one of the most popular targets for new drug discovery. FtsZ is a highly conserved protein and it plays a key role in cell division in most prokaryotic cells. In this article, we reviewed the structural characteristics and biological functions of bacterial cell division proteins and the recent research progress on antibacterial drugs development targeting FtsZ.

Key words drug resistance bacteria, antibacterial agents, cell division protein FtsZ, FtsZ inhibitors

DOI: 10.16476/j.pibb.2020.0055

* This work was supported by grants from The National Nature Science Foundation of China (81473082, 81703333), Nature Science Foundation of Guangdong Province, China (2017A030313078, 2017A030313071, 2019A1515011799 and 2020A1515011326). The authors are also grateful to the support received from Department of Agriculture and Rural Affairs of Guangdong Province, China (2018LM2175) and Science and Technology Program of Guangzhou Municipal Health Commission (20192A011018).

** Corresponding author.

Tel: 86-20-31007624

LU Yu-Jing. E-mail: luyj@gdut.edu.cn

SUN Ning. E-mail: ning.sun@connect.polyu.hk

Received: March 7, 2020 Accepted: July 7, 2020