

• 综 述 •

# 结核杆菌壁脂蛋白调控巨噬细胞信号通路研究进展\*

白冰<sup>1</sup>, 梁宏洁<sup>1</sup>, 苏敏<sup>2</sup>, 刘旻雁<sup>1</sup>, 陈晋<sup>3Δ</sup>

(1. 广西医科大学检验系, 广西南宁 530021; 2. 重庆医科大学, 重庆 400016;

3. 同济大学附属上海市肺科医院检验科, 上海 200433)

**关键词:** 结核分枝杆菌; 脂蛋白; 信号通路**DOI:** 10.3969/j.issn.1673-4130.2015.19.037**文献标识码:** A**文章编号:** 1673-4130(2015)19-2861-03

结核病是一种威胁人类公共卫生安全的传染性疾病,据 2010 年世界卫生组织(WHO)统计,2002~2009 年,全球平均每年有 200 万人左右死于结核病<sup>[1]</sup>。结核分枝杆菌(MTB)是引起结核病的病原菌,MTB 感染人体后主要被巨噬细胞吞噬、清除或者通过凋亡机制被杀灭,那些未被清除的 MTB 可以长期潜伏在巨噬细胞内导致潜伏感染<sup>[2]</sup>。MTB 菌体成分是其主要的致病物质,通过其与宿主免疫系统的相互作用,最终导致 MTB 的清除、潜伏或者发病;其中 MTB 细胞壁脂蛋白可通过巨噬细胞膜上的多种结合蛋白参与调节巨噬细胞的多种信号通路,从而诱发对细胞凋亡的双向调节,这在结核病发病过程中起着重要的作用。本文将 MTB 壁脂蛋白在国内外的研究进展作一综述。

## 1 MTB 壁脂蛋白的合成、分类、定位及糖基化

脂蛋白是指脂质的非极性部分与蛋白质部分以疏水性作用而结合在一起的脂质-蛋白质复合物。细菌脂蛋白是指功能上多种多样的细菌蛋白。其特点是:氨基酸 N 端有脂肪修饰,并且此脂质部分有利于蛋白质锚定到细胞表面上。其中 MTB 脂蛋白包括细胞内的脂蛋白(如细胞内的结核菌素可与蜡质 D 结合,引起迟发型变态反应)、细胞膜定位脂蛋白和锚定于细胞壁上的脂蛋白。以下主要介绍 MTB 壁脂蛋白的合成、分类、定位以及糖基化。

1998 年公布的 MTB H37Rv 全基因组测序在当时 MTB 研究中具有跨时代的意义。2002 年 Camus 等<sup>[3]</sup>对近几年各国学者关于 MTB 各种基因结构及功能的研究成果进行整合,重新诠释 MTB 基因组和更新功能类别划分,为结核研究者提供了更准确的基因组信息。在其功能分类更新中,基因数目改变最为明显的是原来划分为编码未知蛋白类和保守的假想蛋白类的一部分基因被分入了细胞壁及其相关蛋白类,这类蛋白质包括了所有预测的膜蛋白、分泌性蛋白和跨膜蛋白等,由 1998 年公布的 516 个增加到 708 个,且这些更新很多都是基于 2002 年以前 MTB 毒力及其相关基因的文献报道。2004 年 Sutcliffe 等<sup>[4]</sup>对 MTB 壁脂蛋白的文献报道进行了整合,预测 MTB 脂蛋白有 99 个,约占蛋白组中预测蛋白的 2.5%,其行使不同的功能(包括细胞分裂、毒力以及其他功能)。这些报道对 MTB 壁脂蛋白的研究有很重要的指导意义。

**1.1 MTB 壁脂蛋白的生物合成途径** 细菌通过翻译后的脂质修饰定位特异蛋白质到细菌的细胞膜上,以合成膜定位脂蛋白。在 MTB 中,蛋白向细胞膜中的定位使脂质的修饰有很重要的作用。脂蛋白的生物合成依赖特殊的 II 型信号肽序列。

信号肽指导预处理脂蛋白通过细胞膜的关键过程是:二酰甘油单位通过硫醚键添加到半胱氨酸残基;半胱氨酸残基通过预处理脂蛋白二酰甘油转移酶(Lgt)作用后使其脂化,进而信号肽在切割位点被预处理信号蛋白酶 II(Lsp)切割下来,就变成了成熟脂蛋白的 N 端;根据以上生物合成过程,MTB 基因组中的 Lgt(Rv1614)和 Lsp(Rv1539)基因被鉴定后,显示这两种酶在脂蛋白锚定中起重要作用<sup>[5-8]</sup>。

**1.2 MTB 壁脂蛋白的功能分类** MTB 壁脂蛋白可行使多种多样的功能,按照其功能分类,可分为:参与信号传导及其相关功能的脂蛋白,ATP 结合盒转运体(ABC)运输系统中的半枝莲多糖(SBPs),参与细胞壁代谢、降解过程的酶类及其他酶类,参与黏附和细胞侵袭的脂蛋白和未知功能的脂蛋白。其中参与信号传导及其相关功能的脂蛋白包括 Rv1009(RpfB)、Rv1270c(LprA)、Rv1368(LprF)、Rv1411c(LprG)、Rv1690(LprJ)、Rv1911c、Rv2403c、Rv2945、Rv3576<sup>[4]</sup>。后续研究显示,原属于未知功能脂蛋白类的 Rv3763(19 kDa 抗原)与信号传导及其相关功能有关<sup>[9-12]</sup>。

**1.3 MTB 壁脂蛋白的定位及糖基化** MTB 的细胞壁含有一种主要由分枝菌酸组成的特殊脂质层,其为脂蛋白提供了锚定位点<sup>[5]</sup>。根据免疫金标记技术试验证明该脂蛋白是暴露在细胞表面的。尽管糖基化的作用还不清楚,但有证据证明许多 MTB 壁脂蛋白是存在糖基化的现象的,糖基化作用可能是维持细胞膜蛋白之间的相互联系或者防止蛋白被水解性切割<sup>[5]</sup>。

## 2 MTB 壁脂蛋白影响巨噬细胞的几种方式

MTB 感染人体后主要进入巨噬细胞内,那些未被清除的 MTB 可以长期潜伏在巨噬细胞内导致潜伏感染。宿主巨噬细胞感染 MTB 后,形成吞噬小体,通过氧依赖杀伤作用杀灭吞入的 MTB,在吞噬作用激活下,发生呼吸爆发,产生活性氧中间体和活性氮中间体,其强的氧化作用和细胞毒作用可杀伤 MTB,从而发挥抗结核免疫作用,抑制 MTB 在体内的扩散,增强机体的免疫杀伤能力<sup>[6]</sup>。MTB 不产生内、外毒素,其致病与其菌体成分及机体对菌体成分产生的免疫作用密切相关,其中 MTB 细胞壁脂蛋白被认为是一种很重要的致病物质。MTB 壁脂蛋白主要通过巨噬细胞上的 Toll 样受体(TLRs)形成信号,诱导巨噬细胞凋亡<sup>[13-25]</sup>。

**2.1 MTB 可诱导巨噬细胞凋亡** 细胞凋亡是指为维持内环境稳定,由死亡信号诱发的细胞自主死亡过程,它涉及一系列基因的激活、表达以及调控等的作用<sup>[7]</sup>。MTB 进入机体之后,巨噬细胞可通过自身凋亡杀死巨噬细胞内的 MTB,阻止 MTB

\* 基金项目:国家自然科学基金资助项目(81371775)。 作者简介:白冰,男,硕士研究生在读,主要从事临床微生物检验研究。 Δ 通讯作者,E-mail:chenjindor@126.com。

在体内的播散,并能激活邻近未感染的巨噬细胞,增强机体对 MTB 的杀伤能力;这一过程既可防止细胞内成分的释放,又可抑制其在宿主内的进一步生长和繁殖<sup>[6]</sup>。MTB 感染对宿主巨噬细胞凋亡调控作用的研究表明,MTB 与巨噬细胞的相互作用包括两方面。一方面,MTB 本身菌体成分可以诱导巨噬细胞凋亡,后者会消除 MTB 赖以生存的环境,抑制其在体内进一步生长和繁殖,促使巨噬细胞产生抗结核的免疫保护机制;另一方面,MTB 的一些毒力因子通过抑制或降低巨噬细胞凋亡,借以逃避巨噬细胞的免疫杀伤机制。已有的研究表明,凋亡率与菌株毒力强弱相关,毒力弱的 MTB 感染早期巨噬细胞升高更明显<sup>[8]</sup>。

**2.2 Toll 样受体信号通路介导的细胞凋亡** MTB 可通过 TLRs 等模式识别受体(PRR)介导的内吞作用进入巨噬细胞。此过程的理论依据是模式识别理论,即将针对主要靶分子信号天然免疫称作病原相关的分子模式(PAMP),其是普遍存在于病原体细胞表面的分子标志。TLRs 是 PRR 的一类,其与天然免疫密切相关。TLRs 广泛存在于单核细胞、巨噬细胞、树突状细胞等,其通过识别不同病原体的 PAMP 在抗感染天然免疫中发挥重要作用。TLRs 有两条重要的信号转导通路。一条是髓样分化因子 88(MyD88)依赖的信号通路。MyD88 的 C 端有 Toll/白介素(IL)-1 受体(TIR)结构域,其可与 TLRs 胞内区的 TIR 结合,TLRs 与 MyD88 的结合后,招募 IRAKs 家族,包括 IRAK1、IRAK2、IRAK4 和 IRAK-M。磷酸化的 IRAK4 与 MyD88 分子分离,进而与 TRAF6(TRAFs 家族成员)发生相互作用;TRAK1 与 TAB1、2、3 结合活化两条下游途径,其中包括了 IKK 复合体和 MAPK 家族<sup>[9]</sup>。IKK 复合体由具有催化作用的 IKK-d、IxB、IKK-p 和 IKK-y/NEMO 亚基组成,它可以催化 IκB 蛋白磷酸化,这种磷酸化可引起 IκBs 的降解以及 NF-κB 的激活是不可或缺的;MAPKs 磷酸化后激活转录因子 AP-1,AP-1 是来源于 Jun、Fos、ATF 和 Maf 等分子的一段富含亮氨酸的二聚体,而 c-Jun 基因在 TLRs 激活活性细胞因子的信号转导通路中起到重要作用<sup>[9]</sup>。另一条是 MyD88 非依赖途径;转录因子干扰素调节因子 3(IRF3)经脂多糖(LPS)的刺激后活化,其可诱导 IFN-13 表达,IFN-13 再依次激活 Stat1,进而导致几个 IFN 诱导的基因的表达<sup>[9]</sup>。

**2.3 Caspase 酶途径** 内源性蛋白酶的激活在 MTB 感染后诱导巨噬细胞的凋亡中起重要的作用。其中最重要的一种蛋白激酶-Caspase 酶系,作为凋亡特异性蛋白酶,Caspase 是细胞凋亡的中枢效应器,它的活化在凋亡过程中起关键作用。caspase 属于丝氨酸/半胱氨酸家族,在细胞凋亡过程中的各个阶段都起着重要的作用<sup>[6,10]</sup>。在活细胞中,caspase 以无活性的前体形式存在,仅在蛋白水解后才被活化。大多 caspase 被活化后,可以促进其他 caspase 家族成员的活化,并最终导致蛋白水解作用的级联放大效应;此效应的主要作用可能是参与 IL-1β 的成熟,启动凋亡<sup>[6]</sup>。MTB 感染过程中,巨噬细胞会产生大量的 TNF-α 和 IL-1β,成熟的 IL-1β 又可以增强 caspase-1 的活性,巨噬细胞凋亡依赖于 caspase-1 的介导。

**2.4 其他途径** (1)JAK2/STAT1 途径,研究表明 MTB 可以激活 JAK2/STAT1-α 信号转导途径,从而诱导巨噬细胞发生凋亡<sup>[6]</sup>;(2)TNF-α 途径,研究表明 MTB 感染巨噬细胞后能明显诱导 TNF 基因的转录,TNF-α 可以激活与凋亡有关的基因表达<sup>[11]</sup>;(3)Bcl-2 途径,研究表明 Bcl-2 并不是抑制细胞程序性死亡的某个环节,而是改变细胞的凋亡阈值,Bcl-2 家族可以

影响线粒体的结构和功能,促进细胞凋亡<sup>[6]</sup>。线粒体在凋亡中起重要的作用,其可以释放 caspase-3 参与细胞凋亡,但这一机制可以被 Bcl-2 家族分子阻断。研究发现,Ca<sup>2+</sup> 可以对线粒体内的变化进行调控,以决定巨噬细胞的命运,是发生凋亡还是坏死<sup>[12]</sup>。与坏死不同的是,宿主细胞的主动凋亡可以抑制 MTB 的生长。

### 3 几种 MTB 壁脂蛋白与巨噬细胞相互作用的分子机制

近几年文献报道,发现几种与 MTB 的毒力相关的脂蛋白,这些脂蛋白主要通过影响巨噬细胞凋亡,从而干扰巨噬细胞的免疫反应。例如:与野生型 MTB 相比,敲除 LprG-Rv1411c 操纵子的 MTB 的毒力明显减弱,提示这些脂蛋白在干扰宿主免疫反应中起着重要的作用<sup>[13-25]</sup>。下面介绍几种 MTB 壁脂蛋白与巨噬细胞相互作用的分子机制。

**3.1 PstS-1** Sanchez 等<sup>[13]</sup>发现这种  $38 \times 10^3$  的脂蛋白可以诱导巨噬细胞的 caspase 依赖性细胞凋亡(包括了肿瘤坏死因子-TNF-α、乙型跨膜糖蛋白-FasL、肿瘤坏死因子受体-TNFR1、TNFR2、自杀相关因子-Fas 等细胞凋亡受体的上调),同时 PstS-1 也可通过 TLRs 介导巨噬细胞凋亡。它同时也参与磷酸盐的运输。在进一步研究中,Lim 等<sup>[14]</sup>发现,MAPK 信号诱导促炎症细胞因子(如单核细胞趋化蛋白-MCP-1、TNF-α 和 IL-6 等)的分泌,PstS-1 诱导的 MCP-1 与 MCP-1 诱导蛋白的诱导有关,此过程又可增加内质网应激的产生。其研究证实,PstS-1 通过 TLR-MAPK 依赖性的信号通路刺激单核细胞趋化蛋白诱导蛋白(MCPIP)的表达,并可最终导致内质网应激诱导的凋亡的发生。Esparza 等<sup>[15]</sup>发现,作为一种甘露糖糖基化的脂蛋白,PstS-1 是一种黏附素,可结合巨噬细胞甘露糖受体并且促进巨噬细胞的吞噬作用。

**3.2 LpqH** Noss 等<sup>[16]</sup>用 Triton X-114 从 MTB 裂解物中提取 19 KDa 脂蛋白,然后用凝胶电泳,并用抗体鉴定为 19 KDa 脂蛋白。19KDa 脂蛋白介导对巨噬细胞 MHC II 类分子表达及其抗原处理的抑制是针对可溶性抗原和 85B 抗原的,且此过程是依赖 TLR2 的。MHC II 类分子通过共刺激分子 CD40 与蛋白络氨酸激酶 Btk 相互作用后,Btk 再与连接分子 MyD88 和 TRIF 作用,最终促进信号 TLR 的信号传导。尽管 19KDa 脂蛋白在感染早期可启动杀菌及固有免疫,但上述过程可阻止 MTB 的抗原提呈和对 T 细胞的识别。这种机制可使得细胞内 MTB 逃避免疫监控以及维持慢性感染。在进一步研究中,Sánchez 等<sup>[17]</sup>发现,LpqH 通过上调死亡受体和配体来启动 TLR2 的激活,随后 caspase8 和 caspase3 激活,使得死亡信号得以传导。在此过程中,线粒体因子参与线粒体膜电位的丧失、细胞色素 C 的释放和 caspase9 的激活。同时通过免疫印迹显示,AIF(线粒体凋亡诱导因子)在经 LpqH 处理巨噬细胞的细胞核和细胞质中有作用,而此过程是非 caspase 依赖性的通路。

**3.3 LprG** Gehring 等<sup>[18]</sup>发现巨噬细胞与 LprG 的持续作用(>16 h)可导致 MHC II 抗原加工的明显抑制,且这种抑制是 TLR-2 依赖性的。表明 LprG 在巨噬细胞中可利用 TLR-2 信号抑制 MHC II 抗原处理,MHC II 抗原处理的抑制可使得 MTB 逃避 CD4<sup>+</sup> T 细胞的识别。进一步研究中,Drage 等<sup>[19]</sup>发现 LprG 有结合糖脂的功能,此现象有助于 TLR-2 识别 MTB 的三酰基糖脂,从而影响 MTB 细胞壁的中糖脂的组装和运输。

**3.4 LprA** Pecora 等<sup>[20]</sup>纯化了酰基的 his 标签的 LprA 和无酰基化的 LprA。其中酰基化的 LprA 可激动人类和小鼠的

TLR2,并可诱导 TNF- $\alpha$ 、IL-10、和 IL-12 的表达。巨噬细胞与 LprA 的持续作用(24 h)可抑制 IFN- $\alpha$  诱导的 MHC II 抗原的加工和提呈,导致 MHC II 的表达减低(但不可诱导巨噬细胞的凋亡),最终可导致 MTB 对免疫的逃避作用。此外,Marino 等<sup>[21]</sup>发现,经 LprA 处理后的小鼠巨噬细胞可刺激 notch1(跨膜受体蛋白)和 socs3(细胞因子信号)的转录。

**3.5 RpfB** Kim 等<sup>[22]</sup>发现,在 MTB 感染的小鼠脾脏内,RpfB 可诱导 CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup>、CD44 记忆 T 细胞增多,CD62L 记忆 T 细胞减少。经 RpfB 作用的树突状细胞可有效地极化原始 CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup> T 细胞产生 IFN- $\gamma$  和 IL-2。同时 RpfB 可通过 MyD88 依赖的 TLR4 信号通路激活树突状细胞。以上结果显示 RpfB 可通过 TLR4 诱导 THP-1 细胞免疫作用,以调节固有免疫和激活适应性免疫反应。同时,Squeglia 等<sup>[23]</sup>利用晶体学和分子动力学对 RpfB 进行了分析,有助于对 Rpf 家族不同成员结构的分析。

**3.6 其他可能作用的脂蛋白** (1)Kim 等<sup>[24]</sup>发现 LprF 可把二酰基糖脂从细胞膜运输到细胞壁,这种现象可能与 MTB 的发病机制有关。(2)Steyn 等<sup>[25]</sup>发现,酵母双杂交实验证明,两个膜脂蛋白 LprJ、LprF 和结核菌的 KdpD 相互作用。这一现象显示 LprJ、LprF 与 KdpD 传感可调节 Kdp 的表达;其他可能作用的脂蛋白如 LppC、LppN 等作用机制尚值得去深入研究。

#### 4 小结与展望

综上所述,MTB 壁脂蛋白对巨噬细胞信号通路具有调控作用,并因此对巨噬细胞的凋亡或 MTB 的免疫逃避起重要作用。更加深入地阐明这种调控机制和发掘潜在的蛋白,对 MTB 的检测和疫苗的设计可提供更多的理论依据。作为一种抵抗 MTB 激活的疫苗,卡介苗没能发挥很好的作用。因此,潜在相关蛋白的发掘有助于 MTB 疫苗的研发。随着对 MTB 壁脂蛋白结构、成分及功能等方面的深入研究,其在新型疫苗的研制中具有非常广阔的前景,并可作为结核病预防的重要途径之一。

#### 参考文献

[1] WHO. Multidrug and extensively drug-resistant TB (M/XDR-TB): 2010 global report on surveillance and response[J]. WHO/HTM/TB, 2010(3): 1-58.

[2] 史会连,孙东平,陈澍,等. 结核杆菌毒力的研究进展[J]. 中华微生物学和免疫学杂志, 2012, 32(4): 378-380.

[3] Camus JC, Pryor MJ, Médigue C, et al. Re-annotation of the genome sequence of *Mycobacterium tuberculosis* H37Rv[J]. Microbiology, 2002, 148(10): 2967-2973.

[4] Sutcliffe IC, Harrington DJ. Lipoproteins of *Mycobacterium tuberculosis*: an abundant and functionally diverse class of cell envelope components[J]. FEMS Microbiol Rev, 2004, 28(5): 645-659.

[5] Kovacs-Simon A, Titball RW, Michell SL. Lipoproteins of bacterial pathogens[J]. Infect Immun, 2011, 79(2): 548-561.

[6] 刘云霞,张万江. 结核分枝杆菌与巨噬细胞相互作用的研究进展[J]. 中国细胞生物学学报, 2012, 34(6): 617-622.

[7] 贾炜. Bcl-2 家族研究进展[J]. 当代医学, 2012, 18(3): 26-28.

[8] 姚楠,董江涛,徐芳,等. 流式细胞术检测不同毒力结核分枝杆菌感染巨噬[J]. 中国病原生物学杂志, 2012, 7(2): 81-84.

[9] 聂惠蓉,李裕红,刘迎春. TLRs 信号转导通路及负调控分子研究进展[J]. 海峡科学, 2012, 6(6): 77-80.

[10] Siegel RM. Caspases at the crossroads of immune-cell life and death[J]. Nat Rev Immunol, 2006, 6(4): 308-317.

[11] 何宗林,杜先智. 活菌 H37Ra 与灭活菌 H37Rv 感染小鼠腹腔巨噬细胞的实验研究[J]. 中国免疫学杂志, 2011, 27(8): 675-680.

[12] Rasola A, Bernardi P. Mitochondrial permeability transition in Ca<sup>2+</sup>-dependent apoptosis and necrosis[J]. Cell Calcium, 2011, 50(3): 222-233.

[13] Sanchez A, Espinosa P, Esparza MA, et al. *Mycobacterium tuberculosis* 38-kDa lipoprotein is apoptogenic for human monocyte-derived macrophages[J]. Scand J Immunol, 2009, 69(1): 20-28.

[14] Lim YJ, Choi JA, Lee JH, et al. *Mycobacterium tuberculosis* 38-kDa antigen induces endoplasmic reticulum stress-mediated apoptosis via toll-like receptor 2/4[J]. Apoptosis, 2015, 20(3): 358-370.

[15] Esparza M, Palomares B, García T, et al. PstS-1, the 38-kDa *Mycobacterium tuberculosis* glycoprotein, is an adhesin, which binds the macrophage mannose receptor and promotes phagocytosis[J]. Scand J Immunol, 2015, 81(1): 46-55.

[16] Noss EH, Pai RK, Sellati TJ, et al. Toll-like receptor 2-dependent inhibition of macrophage class II MHC expression and antigen processing by 19-kDa lipoprotein of *Mycobacterium tuberculosis* [J]. J Immunol, 2001, 167(2): 910-918.

[17] Sánchez A, Espinosa P, García T, et al. The 19 kDa *Mycobacterium tuberculosis* lipoprotein (LpqH) induces macrophage apoptosis through extrinsic and intrinsic pathways; a role for the mitochondrial apoptosis-inducing factor[J]. Clin Dev Immunol, 2012, 10(10): 950503.

[18] Gehring AJ, Dobos KM, Belisle JT, et al. *Mycobacterium tuberculosis* LprG (Rv1411c): a novel TLR-2 ligand that inhibits human macrophage class II MHC antigen processing [J]. J Immunol, 2004, 173(4): 2660-2668.

[19] Drage MG, Tsai HC, Pecora ND, et al. *Mycobacterium tuberculosis* lipoprotein LprG (Rv1411c) binds triacylated glycolipid agonists of Toll-like receptor 2[J]. Nat Struct Mol Biol, 2010, 17(9): 1088-1095.

[20] Pecora ND, Gehring AJ, Canaday DH, et al. *Mycobacterium tuberculosis* LprA is a lipoprotein agonist of TLR2 that regulates innate immunity and APC function[J]. J Immunol, 2006, 177(1): 422-429.

[21] Marino ME, Tornez-Benitez C, Elvira Bonifaz-Pena V, et al. *Mycobacterium tuberculosis* TLR2 agonists LprA, LM and ManLAM induce notch1 and socs3 transcription[J]. African journal of microbiology research, 2011, 5(15): 2168-2172.

[22] Kim JS, Kim WS, Choi HG, et al. *Mycobacterium tuberculosis* RpfB drives Th1-type T cell immunity via a TLR4-dependent activation of dendritic cells[J]. J Leukoc Biol, 2013, 94(4): 733-749.

[23] Squeglia F, Romano M, Ruggiero A, et al. Carbohydrate recognition by RpfB from *Mycobacterium tuberculosis* unveiled by crystallographic and molecular dynamics analyses [J]. Biophys J, 2013, 104(11): 2530-2539.

[24] Kim JS, Jiao L, Oh JI, et al. Crystal structure and functional implications of LprF from *Mycobacterium tuberculosis* and *M. bovis* [J]. Acta Crystallogr D Biol Crystallogr, 2014, 70(10): 2619-2630.

[25] Steyn AJ, Joseph J, Bloom BR. Interaction of the sensor module of *Mycobacterium tuberculosis* H37Rv KdpD with members of the Lpr family[J]. Mol Microbiol, 2003, 47(4): 1075-1089.