



细菌 DeoR 家族转录调控因子的研究进展

刘静^{1#*}, 李龙^{1#}, 王云霞¹, 董胜男¹, 张部昌²

1 安徽农业大学生命科学学院, 安徽 合肥 230036

2 安徽大学物质科学与信息技术研究院, 安徽 合肥 230601

刘静, 李龙, 王云霞, 董胜男, 张部昌. 细菌 DeoR 家族转录调控因子的研究进展. 微生物学报, 2022, 62(3): 906–917.

Liu Jing, Li Long, Wang Yunxia, Dong Shengnan, Zhang Buchang. Progress on the DeoR family transcriptional regulators in bacteria. *Acta Microbiologica Sinica*, 2022, 62(3): 906–917.

摘要: 细菌基因组中存在大量的转录调控家族, 这些转录调控家族在细菌的生长、代谢、外界信号感知与传递等方面发挥着至关重要的作用。DeoR 家族是一类广泛分布于原核生物中的转录调控因子, 主要参与调控细胞中多个生理过程, 包括核苷酸类代谢、糖类代谢、致病菌的毒力以及链霉菌的次级代谢等。DeoR 蛋白 C 末端的配体结合结构域, 通常能够以相关代谢途径的磷酸化中间体作为配体。本文综述了细菌中 DeoR 家族转录调控因子的结构特征、调控功能以及响应的配体分子, 以期为深入研究 DeoR 家族蛋白的分子调控机制提供参考。

关键词: DeoR 家族转录调控因子; 结构特征; 调控功能; 靶序列; 配体

Progress on the DeoR family transcriptional regulators in bacteria

LIU Jing^{1#*}, LI Long^{1#}, WANG Yunxia¹, DONG Shengnan¹, ZHANG Buchang²

1 School of Life Sciences, Anhui Agricultural University, Hefei 230036, Anhui, China

2 Institutes of Physical Science and Information Technology, Anhui University, Hefei 230601, Anhui, China

Abstract: There are a large number of transcriptional regulator families in bacterial genomes, which

基金项目: 国家自然科学基金(31800057); 安徽农业大学引进和稳定人才科研资助项目(yj2018-08)

Supported by the National Natural Science Foundation of China (31800057) and by the Initial Foundation of Scientific Research in Anhui Agricultural University, China (yj2018-08)

[#]Those authors contributed equally to this work.

*Corresponding author. Tel/Fax: +86-551-65786129; E-mail: liujing9261@ahau.edu.cn

Received: 15 June 2021; Revised: 14 September 2021; Published online: 6 December 2021

play a crucial role in the growth, metabolism, and external signal perception and transmission of bacteria. Deoxyribonucleoside operon repressor (DeoR) family, a category of transcriptional regulators ubiquitous in prokaryotes, is mainly involved in the regulation of multiple physiological processes, including nucleotide metabolism, sugar metabolism, pathogenesis, and secondary metabolism. The ligand-binding domain at the C-terminus of DeoR usually responds to phosphorylated intermediate of the corresponding metabolic pathway. This paper reviewed the structural features, regulatory function, and ligands of DeoR family transcriptional regulators in bacteria, aiming to help researchers to decipher the regulatory mechanisms of DeoR proteins.

Keywords: deoxyribonucleoside operon repressor; structural feature; regulatory function; target sequence; ligand

DeoR (deoxyribonucleoside operon repressor) 蛋白家族是一类广泛存在于细菌中的转录调控因子, 大肠杆菌(*Escherichia coli*) DeoR 蛋白作为该家族首个被鉴定的成员, 因具有阻遏 *deo* 操纵子(deoxyribonucleoside operon)转录表达的作用而得名^[1-3]。早期关于 DeoR 蛋白的研究主要集中在大肠杆菌和枯草芽孢杆菌(*Bacillus subtilis*)中, 其功能主要负责调控细胞中核苷酸类代谢和糖类代谢途径^[3-16]。近年来, 其他细菌来源的 DeoR 蛋白也逐渐得到关注, 扩展了该家族蛋白的调控功能和分子机制。例如, 致病菌来源的 DeoR 普遍具有调控毒力的功能^[17-21], 而链霉菌来源的 DeoR 蛋白具有普遍的调控次级代谢的功能^[22-25]。

目前已经鉴定的 DeoR 同源蛋白的数量仍然有限(表 1), 且调控机制缺少深入地解析, 尚有大量未知的 DeoR 家族成员亟待研究。本文综述了 DeoR 家族转录调控因子的结构特征、调控功能以及识别的靶序列和响应的配体分子, 并结合本实验室在糖多孢红霉菌(*Saccharopolyspora erythraea*)中开展的 DeoR 初步研究工作, 以期为深入研究 DeoR 家族蛋白的调控模型和分子机制提供参考。

1 DeoR 蛋白的结构特征

DeoR 蛋白单体通常包含 240-260 个氨基

酸, 主要由 N 末端 DNA 结合结构域和 C 末端配体结合结构域组成^[6,10]。N 端 DNA 结合结构域包含一个保守的螺旋-转角-螺旋(helix-turn-helix, HTH)结构基序, 其中螺旋 2 具有相对保守性, 而螺旋 1 则表现出较大的序列变异性^[6,10]。与大多数调控蛋白类似, DeoR 蛋白是通过结合启动子 DNA 的特定序列来调控靶基因的转录表达, 具有转录抑制和转录激活双向调节作用^[22]。

C 末端结构域主要负责蛋白寡聚化和配体结合, 其配体通常来源于相应代谢途径的磷酸化中间体, 配体的结合能够导致 DeoR 蛋白的空间构象发生转变, 进而影响蛋白与 DNA 的结合活性^[5,30]。除了常见的二聚体形式外, DeoR 蛋白还能够形成四聚体和八聚体等高聚状态而发挥调控作用^[6,10,30]。DeoR 蛋白聚合状态的转换与其结合 DNA 的活性密切相关, 例如大肠杆菌中 DeoR 家族蛋白 UlaR 通过抑制 *ula* 操纵子的表达阻碍 L-抗坏血酸的合成, 而 L-抗坏血酸 6-磷酸作为配体, 能够诱导 UlaR 由结合 DNA 的四聚体构象转换成不结合 DNA 的二聚体构象, 导致 UlaR 与 DNA 的解离^[30]。

目前只有很少的 DeoR 家族蛋白的晶体结构被解析, 枯草芽孢杆菌中 CggR 是 DeoR 家族蛋白中第一个结构信息被解析的成员, CggR-C 端结构域分别实现了与配体果糖-1,6-磷酸(F-1,6-P)、磷酸二羟丙酮、葡萄糖-6-磷酸(G-6-P)

表 1 细菌中 DeoR 蛋白的功能和配体

Table 1 Functions and ligands of DeoR in bacteria

DeoR	Strains	Regulation function	Ligands (or effectors)	References
DeoR	<i>Escherichia coli</i>	Nucleotide catabolism	Deoxyribose-5-phosphate	[1–3]
DeoR	<i>Bacillus subtilis</i>	Nucleotide catabolism	Deoxyribose-5-phosphate, deoxyribose-1-phosphate	[4–6]
FruR	<i>Spiroplasma citri</i>	Fructose utilization	Fructose-1-phosphate	[7]
FruR	<i>Streptococcus gordonii</i>	Fructose transport and metabolism		[8]
CggR	<i>Bacillus subtilis</i>	Glycolysis pathway	Fructose-1,6-bisphosphate, dihydroxyacetone phosphate, glucose-6-phosphate, fructose-6-phosphate	[9–10]
FruR	<i>Lactococcus lactis</i>	Fructose utilization	Fructose-1-phosphate	[11]
SugR	<i>Corynebacterium glutamicum</i>	Sugar transport and utilization, valine production	Fructose-1-phosphate, fructose-1,6-bisphosphate, glucose-6-phosphate	[12–13,26]
RhaR	<i>Bacillus subtilis</i>	L-rhamnose catabolism	L-rhamnulose-1-phosphate	[14]
LacR	<i>Streptococcus pneumoniae</i>	Lactose and galactose utilization		[15]
LacR	<i>Streptococcus mutans</i>	Lactose metabolism	Fructose-1-phosphate, fructose-6-phosphate, galcose-6-phosphate	[16]
IgeR	<i>Salmonella typhi</i>	Virulence and pathogenesis		[17]
IcgR	<i>Shigella flexneri</i>	Virulence and pathogenesis		[18]
SppR	<i>Streptococcus mutans</i>	Carbohydrate metabolism and virulence	Fructose-1-phosphate, fructose-6-phosphate, fructose-1,6-bisphosphate	[19]
SetA	<i>Pseudomonas syringae</i>	Virulence and pathogenesis		[20]
FloR	<i>Serratia</i> sp.	Flotation, virulence and antibiotic production		[21]
SdrA	<i>Streptomyces avermitilis</i>	Antibiotic production and morphogenesis		[22]
DptR2	<i>Streptomyces roseosporus</i>	Daptomycin production		[23]
WysR3	<i>Streptomyces ahngroscopicus</i>	Morphogenesis		[24]
SCO1463	<i>Streptomyces coelicolor</i>	Antibiotic production and morphogenesis, organic acids production/utilization		[25]
SmQnrR	<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	Drug resistance		[27]
GlmR	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Drug resistance		[28]
DeoT	<i>Escherichia coli</i>	Transport of maltose, fatty acid β -oxidation and peptide degradation		[29]
UlaR	<i>Escherichia coli</i>	L-ascorbate utilization	L-ascorbate-6-phosphate	[30]
SucR	<i>Corynebacterium glutamicum</i>	Acetate metabolism		[31]
YcnK	<i>Bacillus subtilis</i>	Copper uptake	Copper-specific chelator	[32]
GlpR	<i>Cupriavidus metallidurans</i>	Metal resistance	Glycerol	[33]
CitI	<i>Enterococcus faecium</i>	Citrate metabolism		[34]

和果糖-6-磷酸(F-1-P)的共价复合形式的晶体结构^[9-10]; 相比较 CggR-C 端结构域的单体形式, 配体分子结合时, 至少能够影响 2 个或 2 个以上的二聚体界面状态而改变 CggR 寡聚体的形成, 不同的配体对 CggR 寡聚体状态的影响程度并不一样^[10]。枯草芽孢杆菌中另一 DeoR 蛋白的 C 端配体结构域单体形式, 以及与其配体脱氧核糖-5-磷酸(dRib-5-P)共价复合形式的晶体结构也获得解析, 分析发现 dRib-5-P 通过 Schiff 碱基与 Lys141 残基直接发生相互作用^[6] (图 1)。

2 DeoR 蛋白的调控功能

根据已经鉴定的 DeoR 蛋白的调控功能表明, DeoR 既可作为局部的特异性调控因子^[11,14], 也可作为全局的多效性调控因子^[21,29]。DeoR 蛋白能够以转录抑制和转录激活 2 种方式, 参与调控细胞内多个生理过程, 主要包括核苷酸类代谢、糖类代谢、病原细菌的致病性和链霉菌的次级代谢等。调控功能的多样性和复杂性暗

示着 DeoR 家族转录调控因子在原核生物调控网络中具有十分重要的地位, 下面将从调控功能和作用机制等角度展开详细介绍。

2.1 DeoR 蛋白调控核苷酸类代谢

核苷酸是合成生物大分子核糖核酸(RNA)及脱氧核糖核酸(DNA)的前体物质, 在细胞内分布广泛, 参与多种代谢过程和生理调节。在大肠杆菌中, *deo* 操纵子 *deoCABD* 负责编码核糖核苷和脱氧核糖核苷的分解代谢酶(*deoC*: 编码脱氧核糖醛缩酶; *deoA*: 编码胸苷磷酸化酶; *deoB*: 编码脱氧核糖变位酶; *deoD*: 编码嘌呤核苷磷酸化酶), 其上游的 DeoR 通过直接结合启动子区 DNA 抑制该操纵子的转录表达, 从而调控细胞内核苷酸的代谢水平^[1-3]。在枯草芽孢杆菌中, DeoR 同样能够直接调控其下游的 *dra-nupC-pdp* 操纵子(*dra*: 编码羟核糖醛酸酶; *nupC*: 编码核苷摄取蛋白质; *pdp*: 编码嘧啶核苷酸去磷酸化酶), 从而影响细胞内脱氧核糖核苷和脱氧核糖的吸收利用^[4-5]。

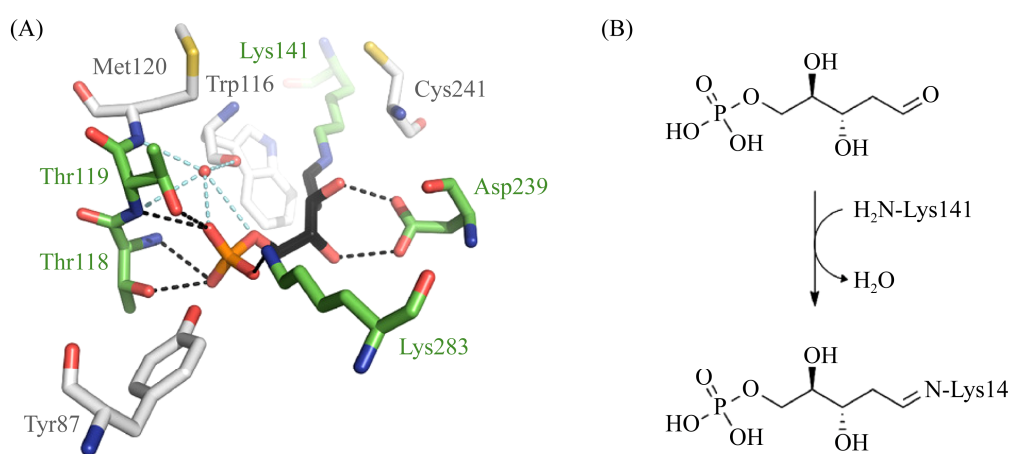


图 1 枯草芽孢杆菌中 DeoR 蛋白 C 端结构域与其配体脱氧核糖-5-磷酸的共价结构^[6]

Figure 1 Structure of the effector-binding domain of DeoR from *Bacillus subtilis* in covalent complex with its effector deoxyribose-5-phosphate (dRib-5-P)^[6]. A: the dR5P Schiff base adduct is shown as sticks with carbon atoms in black. The C-DeoR residues in direct hydrogen bonds or a covalent bond (Lys141) with the effector are shown as sticks with green carbon atoms. Direct hydrogen bonds are indicated by black dotted lines; water-mediated hydrogen bonds are indicated by blue dotted lines. B: scheme of the formation of the covalent adduct of dR5P on Lys141.

2.2 DeoR 蛋白调控糖类代谢

糖代谢在细胞内很多生化过程中都扮演了重要的角色,包括蔗糖、葡萄糖、果糖和半乳糖在内的多种糖类代谢受诸多调控因子的共同调节,这对宿主细胞感知外界环境变化和维持正常生命活动等具有重要意义。

柑桔螺旋体(*Spiroplasma citri*)中果糖操纵子(fructose operon)包括 3 个基因: *fruR* (编码 DeoR 家族同源蛋白)、*fruA* (编码果糖磷酸转移酶系统)和 *fruK* (编码 1-磷酸果糖激酶),果糖的存在会大幅度提升果糖操纵子的转录水平。然而果糖对果糖操纵子的激活受控于 FruR 的调控作用,当 *fruR* 不表达时,果糖则无法激活果糖操纵子的转录,导致果糖的发酵水平显著降低^[7]。来源于格氏链球菌(*Streptococcus gordonii*)和乳酸乳球菌(*Lactococcus lactis*)的 FruR 蛋白同样能够直接调控果糖操纵子的转录,然而与柑桔螺旋体不同的是, FruR 对操纵子的调控模式为转录抑制,而非转录激活^[8,11]。格氏链球菌中 *fruRKI* 位于同一个操纵子, *fruR* 基因失活后导致 *fruRKI* 启动子-*lacZ* 融合表达的 β -半乳糖苷酶活性显著提高^[8]; 乳酸乳球菌中 *fruRCA* 位于同一个操纵子, *fruR* 基因失活后同样导致 *fruRCA* 启动子驱动的报告基因 *luxAB* 的表达大大增强^[11]。磷酸烯醇式丙酮酸-糖磷酸转移酶系统(phosphoenolpyruvate-dependent phosphotransferase system, PTS)在葡萄糖转运和磷酸化过程中起重要作用,是糖代谢基因表达调控的核心^[35]。谷氨酸棒状杆菌(*Corynebacterium glutamicum*)果糖-PTS 基因簇包括 *sugR-cg2116*、*ptsI*、*cg2118-fruK-ptsF* 和 *ptsH*,其中 *sugR* 和 *cg2118* 都预测编码 DeoR 家族同源蛋白, SugR 能够通过直接结合簇中的基因间隔区 DNA 而调控果糖-PTS 基因簇的表达^[12] (图 2); 另外, *pstG* 和 *pstS* 分别编码 PTS

系统中葡萄糖特异酶 II 和蔗糖特异酶 II, SugR 通过直接调控 *ptsG* 和 *pstS* 基因的表达,影响细胞内葡萄糖和蔗糖的摄取吸收^[13] (图 2)。枯草芽孢杆菌中另一 DeoR 家族基因 *rhaR* 位于 *rhaEWRBMA* 操纵子中,其中 *rhaEW*、*rhaB*、*rhaM* 和 *rhaA* 负责编码 L-鼠李糖代谢的相关酶^[14]。研究表明, RhaR 能够特异性结合 *rhaEW* 上游的启动子 DNA, 并且体内 LacZ 融合表达实验证实, *rhaR* 的缺失能够引起 *rhaEW* 启动子的表达活性,说明 RhaR 对 *rhaEWRBMA* 操纵子的表达具有转录抑制的作用^[14]。肺炎链球菌(*Streptococcus pneumoniae*)中具有 2 个乳糖操纵子: *lac operon I* (*lacABCD*)和 *lac operon II* (*lacTFEG*), 其中 *lac operon I* 编码塔格糖(tagatose)磷酸化途径的相关酶类^[15]。研究表明,当不存在乳糖或半乳糖时, DeoR 家族蛋白 LacR 能够抑制 *lac operon I* 的转录表达^[15]。来源于变形链球菌(*S. mutans*)中的 LacR 除了通过直接结合 *lacA* 的启动子 DNA 而调控乳糖代谢外,还参与调控变形链球菌中葡萄糖-PTS 的活性和葡萄糖激酶的表达,具有更加广泛的调控作用^[16]。

2.3 DeoR 蛋白调控致病菌毒力

伤寒沙门氏菌(*Salmonella typhi*)是一种人类特有的病原体,其致病因子 CdtB 作为细胞致死性扩张毒素的活性亚基,能够引起 DNA 损伤,从而导致细胞周期的停滞和中毒细胞的扩增^[36]。研究表明, DeoR 家族蛋白 IgeR 能够直接结合 *cdtB* 基因启动子,抑制 *cdtB* 在胞内的正常表达^[17]。福氏志贺菌(*Shigella flexneri*)是一种能引起人和动物腹泻的致病菌,通过入侵和破坏结肠粘膜诱导强大的炎症反应^[37]。研究表明, DeoR 家族基因 *icgR* 能够作为胞内生长调控因子(growth regulator),当福氏志贺菌入侵人结肠上皮细胞 HCT-8 时, *icgR* 的表达量显著下

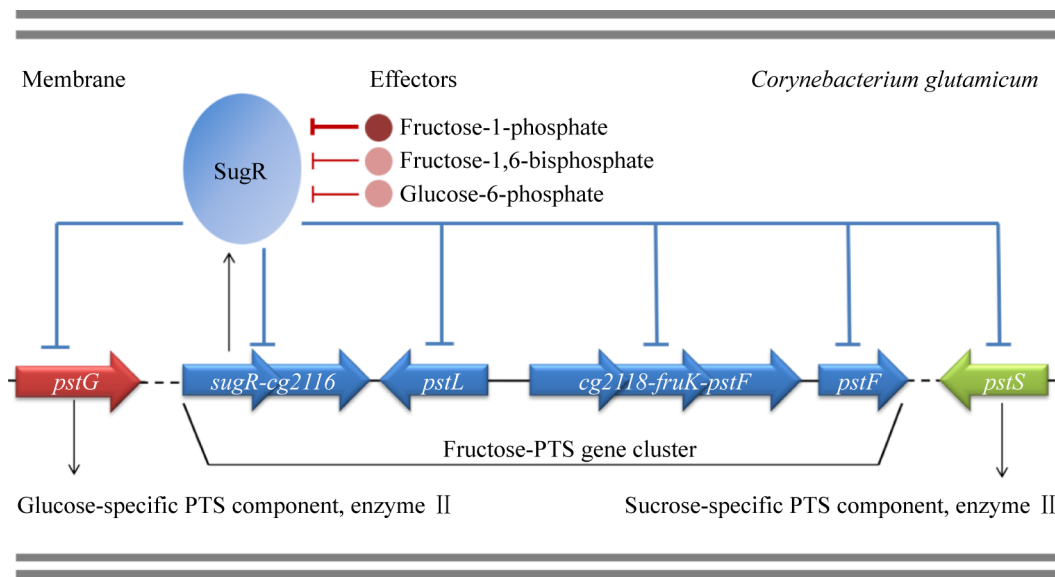


图 2 谷氨酸棒状杆菌中 DeoR 家族蛋白 SugR 的调控模式

Figure 2 Regulatory mode of DeoR family protein SugR in *Corynebacterium glutamicum*.

降约 5.5 倍; *icgR* 的缺失引起上皮细胞内复制水平的提升, 作为福氏志贺菌毒力的代表性标志, 说明 *icgR* 具有参与调控志贺氏菌致病性的重要作用^[18]。变形链球菌属于口腔天然菌群中占比最大的链球菌属, 是龋病的主要致病菌^[19]。变形链球菌中另一 DeoR 同源基因 *sppR* 位于 *sppRA* 操纵子中, *sppA* 编码一种卤代酸脱卤酶(haloacid dehalogenase, HAD)超家族的水解酶^[38]。研究表明, *SppR* 能够通过直接结合 *sppRA* 操纵子的启动子 DNA 而抑制操纵子的转录表达; 细胞内果糖-1-磷酸积累时, 会导致出现糖磷胁迫(sugar-phosphate stress), 而 *sppA* 的组成型表达或 *sppR* 的缺失, 能够极大地缓解果糖诱导的糖磷胁迫, 逆转果糖对变形链球菌生物被膜形成的作用, 从而参与调控菌株的毒力行为^[19]。丁香假单胞菌(*Pseudomonas syringae*)是一种重要的植物致病菌, III型分泌系统(type III secretion system, T3SS)对其毒力具有至关重要的作用^[39]。研究表明, T3SS 中相关基因的正常表达需要果糖和蔗糖等糖类作为诱导剂, DeoR

家族基因 *setA* 缺失导致培养基中果糖等对 T3SS 的诱导表达作用显著下降, 说明 *SetA* 对果糖等糖类诱导 T3SS 表达具有正调控作用^[20]; 丁香假单胞菌感染拟南芥过程中, *setA* 的缺失导致 T3SS 中相关基因的表达显著下降, 且拟南芥叶片褪绿症状明显下降, 说明 *SetA* 具有调控 T3SS 的表达而影响丁香假单胞菌致病性的作用^[20]。沙雷氏菌(*Serratia* sp.) S39006 是一种植物和动物的条件致病菌, 通过产生植物细胞壁降解酶, 如纤维素酶和果胶酶来腐烂马铃薯块茎, 亦可杀死秀丽隐杆线虫(*Caenorhabditis elegans*)^[40]。研究表明, DeoR 家族基因 *floR* 的缺失, 导致半数秀丽隐杆线虫的致死时间从 3 d 延长至 5 d, 说明 *FloR* 对于沙雷氏菌的毒力具有正调控作用^[21]。

2.4 DeoR 蛋白调控链霉菌次级代谢

链霉菌能够产生众多具有生物活性的次级代谢产物, 具有重要的研究与应用价值, 例如抗生素在控制感染、免疫调节和治疗癌症等方面发挥了重要作用。调控因子对次级代谢产物

的调控途径和方式是复杂多样的,主要有 2 种水平的转录调控,分别为途径特异水平和全局水平(或多效水平)。目前关于 DeoR 家族转录调控因子调控链霉菌次级代谢以及形态分化的研究并不多。

SdrA (SAV3339)是阿维链霉菌(*Streptomyces avermitilis*)中已经鉴定的能够同时调控菌株形态分化和抗生素合成的 DeoR 家族蛋白^[22]。研究发现,阿维链霉菌中 *sdrA* 缺失后,菌株产孢量相比野生型下降 58%;而 *sdrA* 缺失导致阿维菌素(ivermectin)产量降低的同时,却提高了另外 2 种次级代谢产物寡霉素(oligomycin)和菲律宾霉素(filipin)的产量,说明阿维链霉菌中 SdrA 具有多效性的调控能力,且既可发挥正调控作用,也可发挥负调控作用^[22]。玫瑰孢链霉菌(*Streptomyces roseosporus*)中 DeoR 同源蛋白基因 *dptR2* 位于达托霉素(daptomycin)生物合成基因簇的相近位置,研究发现 *dptR2* 缺失后,菌株失去合成达托霉素的能力^[23]。然而 DptR2 并不作为达托霉素生物合成基因簇(*dpt* gene cluster)的途径特异性转录因子(也称为簇内调控因子, cluster pathway-specific regulator),研究表明 *dptR2* 的缺失不影响 *dpt* gene cluster 的正常表达,DptR2 蛋白也不结合 *dpt* gene cluster 的启动子 DNA^[23]。不同于 SdrA 和 DptR2,来源于不吸水链霉菌(*Streptomyces ahygroscopicus*)的 DeoR 同源蛋白 WysR3,只调控菌株形态分化,却不影响次级代谢产物武夷霉素(wuyiencin)的产量^[24]。研究发现, *wysR3* 基因缺失突变株能够在 60 h 时达到最大生物量,优先于野生菌株约 12 h,这对于工业应用中减少生产时间和成本具有重要的应用价值^[24]。根据生物信息学分析显示,天蓝色链霉菌(*Streptomyces coelicolor*) *SCO1463* 编码一个在整个链霉菌属中高度同源

的 DeoR 蛋白^[25] (图 3)。研究表明, *SCO1463* 缺失后,菌株形态分化和菌体生长显著下降,次级代谢物放线紫红素(actinorhodin)和十一烷基菌红素(undecylprodigiosin)产量明显下降,而初级代谢物丙酸和琥珀酸等有机酸的合成量显著上升,说明天蓝色链霉菌中 DeoR 蛋白同样具有多效性的调控能力^[25]。

近期,笔者实验室发现糖多孢红霉菌中 *SACE_4164* 预测编码一个 DeoR 家族蛋白, *SACE_4164* 是糖多孢红霉菌中与 *SCO1463* 同源性最高的成员,且进化树分析显示二者亲缘性较近(图 4)。研究发现,糖多孢红霉菌中 *SACE_4164* 缺失后,次级代谢物红霉素 A 的产量显著下降,说明 *SACE_4164* 对红霉素 A 的合成产量具有正调控作用,然而其具体的分子调控机制有待进一步阐明。

2.5 DeoR 蛋白其他调控功能

除上述调控功能外,DeoR 家族蛋白还可参与调控一些其他的生理过程,简述如下:嗜麦芽窄食单胞菌(*Stenotrophomonas maltophilia*) SmQnrR 能够调控菌株对喹诺酮和四环素的耐药性^[27];铜绿假单胞菌(*Pseudomonas aeruginosa*) GlmR 调控菌株对氨基糖苷类、内酰胺类和氟喹诺酮类等多种抗生素的敏感性^[28];大肠杆菌 DeoT 参与调控麦芽糖转运、脂肪酸氧化和多肽降解等^[29],UlaR 调控 L-抗坏血酸的转化利用^[30];谷氨酸棒状杆菌 SugR 调控 L-缬氨酸产量^[26], SucR 调控琥珀酰辅酶 A 合成酶的转录表达而影响乙酸代谢^[31];枯草芽孢杆菌 YcnK 调控胞内铜的消耗吸收^[32];耐金属贫铜菌(*Cupriavidus metallidurans*) GlpR 调控菌株对有毒锌浓度的适应性^[33];屎肠球菌(*Enterococcus faecium*) Cit I 调控柠檬酸代谢^[34]。

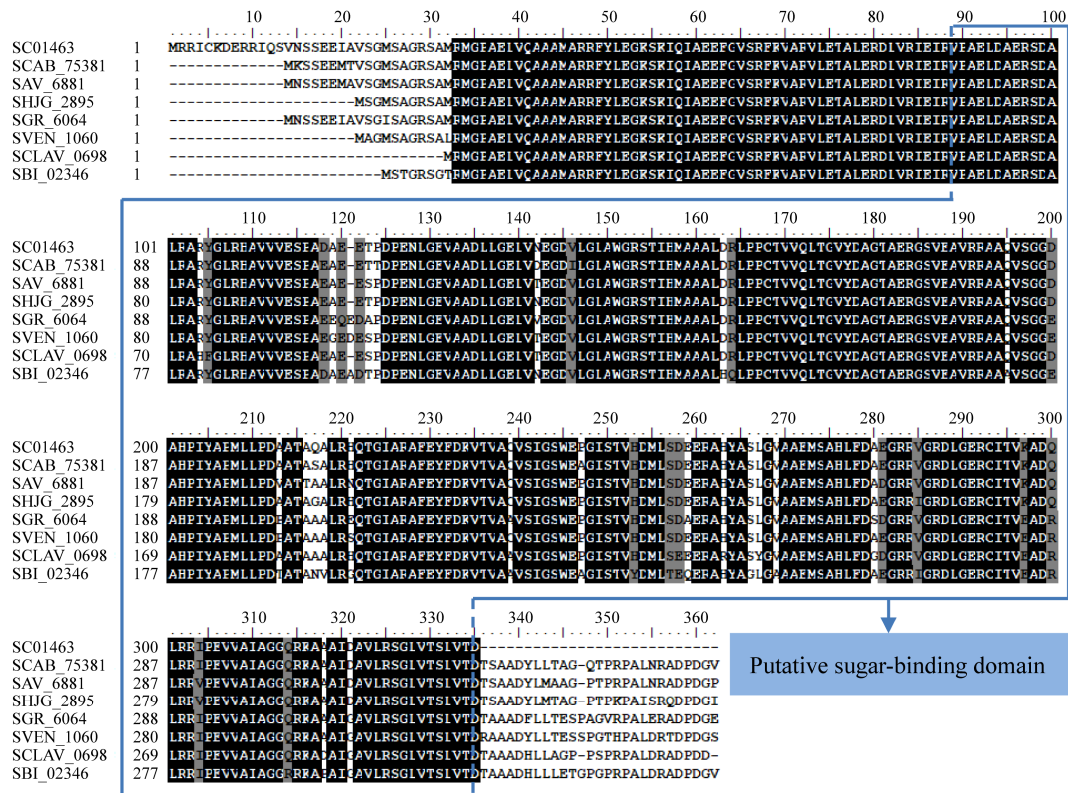


图 3 链霉菌中 SCO1463 同源蛋白的氨基酸序列比对

Figure 3 Amino acid sequence alignment of SCO1463 homologous proteins in *Streptomyces* sp. SCAB_75381 (*Streptomyces scabiei*); SAV_6881 (*Streptomyces avermitilis*); SHJG_2895 (*Streptomyces hygroscopicus*); SGR_6064 (*Streptomyces griseus*); SVEN_1060 (*Streptomyces venezuelae*); SCLAV_0698 (*Streptomyces clavuligerus*); SBI_02346 (*Streptomyces bingchenggensis*). Predicted amino acid sequences were analysed for conserved domains using the conserved domains database from NCBI (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/cdd/>).

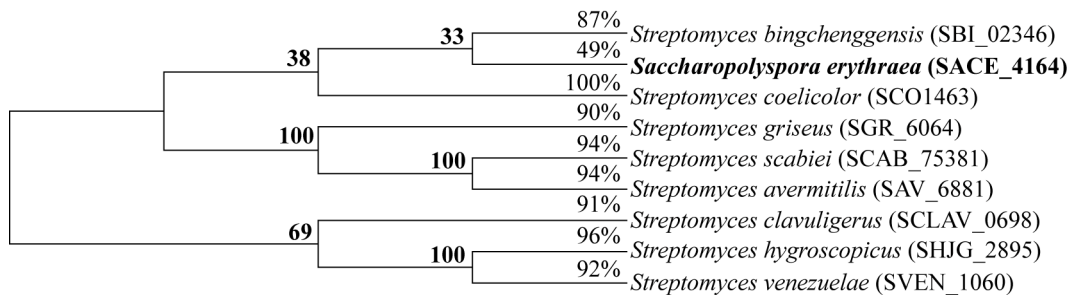


图 4 SCO1463 同源蛋白的邻接距离进化树分析

Figure 4 Neighbor-joining (NJ) distance tree analysis of SCO1463 and its homologs. The numbers in bold represent the bootstrap values of the nodes in tree. Percentages represent the identities between SCO1463 and its homologs. SCO1463 (GenBank accession No. CAB76885.1); SCAB_75381 (GenBank accession No. CBG74517.1); SAV_6881 (GenBank accession No. BAC74592.1); SHJG_2895 (GenBank accession No. AEY88169.1); SGR_6064 (GenBank accession No. BAG22893.1); SVEN_1060 (GenBank accession No. CCA54347.1); SCLAV_0698 (GenBank accession No. EFG05774.1); SBI_02346 (GenBank accession No. ADI05467.1); SACE_4164 (GenBank accession No. CAM03433.1).

3 DeoR 蛋白的靶序列和配体

3.1 DeoR 蛋白结合的靶序列

与大多数转录调控因子的调控机理类似, DeoR 蛋白是通过识别启动子 DNA 中具有保守性的特定序列来调控靶基因的转录表达, 因而解析调控蛋白作用 DNA 的精确结合序列对于全面地认知调控蛋白的分子机制模型具有重要的意义。DNase I 能够独立地切割 DNA 两条链的磷酸骨架, 不能切割到有蛋白质结合区域的 DNA 序列, 利用这一原理发展而来的 DNase I 足迹法(DNase I footprinting assay), 成为一种测定结合蛋白在 DNA 上准确结合位点的技术, 可以精确到单碱基水平, 目前广泛应用于解析转录调控因子结合 DNA 的精确保守位点^[41]。

经 DNase I 足迹法分析, 大肠杆菌中 DeoR 识别的保守结合序列为一段 16 bp 回文序列(5'-TGTTAGAATTCTAACA-3'), 具有典型的发卡结构特征^[3]; 枯草芽孢杆菌中 DeoR 结合的是一段 43 bp 的 DNA 序列(5'-AACTTGTATACAT TTAACCATTA ACTTTAAAACAAGTTA-3'), 兼具回文和重复序列的特征^[5]; 谷氨酸棒状杆菌中 SucR 的保守结合位点为 *sucCD* 基因的起始密码子上游-155 至-146 的 DNA 序列(5'-ACTCTAGGGG-3'), 该序列位于预测的启动子-35 区和-10 区之间^[31]; 枯草芽孢杆菌中 YncK 的保守结合位点为一段 16 bp 的直接重复序列(5'-CACATTTTCACATTTT-3'), 该序列位于预测的 *yncK* 基因启动子区-65 至-50 的位置^[32]; 玫瑰孢链霉菌中 DptR2 能够直接结合自身基因的起始密码子上游两段 DNA 序列: -183 至-223 的区域(包含 5'-ATCGATCAGGATCGAT-3')和 -10 至-46 的区域(包含 5'-AACGACACAGTT CGAT-3'), 这两段序列中都包含具有显著反向互补特征的 DNA 序列^[23]; 枯草芽孢杆菌中

RhaR 直接作用的序列也包含两段: 转录起始位点上游-57 至-15 的位置(5'-CAAAAATAAAC AAAAACGATTC AAAAACCAAACAGAAATCA T-3')和转录起始位点上游-5 至编码序列 20 的位置(5'-ATATAATGAAAACGGATACAAATAA AAGGG-3'), 这 2 段序列都具有直接重复的特征^[14]; 变形链球菌中 LacR 的保守结合序列为一段富含 AT 的 DNA 序列(5'-ATAATACCAAAA ATGTTTAAAAAATAAACAAAATGTGTTGA TTTTAA-3'), 该序列位于 *lacA* 基因起始密码子上游-78 至-127 区域^[16];

除 DNase I 足迹法外, 也可通过已经解析的同源蛋白的保守结合序列进行比对分析, 再结合位点突变验证等方法而鉴定目的蛋白的保守结合序列, 例如, 乳酸乳球菌中 FruR 结合的保守序列为 4 个相邻的 10 bp 直接重复序列(5'-TGAWWGWT-3')^[11]; 谷氨酸棒状杆菌中 SugR 能够识别两段 21 bp 序列: motif A (5'-ACAAACAAACACATATCAACA-3')和 motif B (5'-ACAATCGGAACCAAAACAACA-3'), motif A 和 motif B 在 5'-端和 3'-端具有高度的保守性^[12]。

3.2 DeoR 蛋白响应的配体

DeoR 蛋白 C 末端区域除了负责蛋白寡聚化以外, 还是蛋白结合配体分子的结构域。大量研究表明, DeoR 家族的配体通常是其调控的相关代谢途径的磷酸化中间体, 这些配体分子与 C 端结构域的关键氨基酸相互作用, 从而介导蛋白的空间状态发生转换或改变蛋白与 DNA 的结合活性, 在调控相关代谢途径中发挥“分子开关”的作用。

大肠杆菌和枯草芽孢杆菌中 DeoR 调控相关核苷酸代谢时, 能够响应 dRib-5-P 作为配体, dRib-5-P 能够解离 DeoR 蛋白与靶点 DNA 的结合, 诱导相应操纵子的表达, 而枯草芽孢杆菌 DeoR 对脱氧核糖-1-磷酸(dRib-1-P)也有较微弱

的响应能力^[1,5]。柑桔螺旋体和乳酸乳球菌中 FruR 都能够调控果糖操纵子的表达, 经体内实验证实果糖-1-磷酸(F-1-P)为 FruR 的配体分子, 而非 F-1,6-P^[7,11]。谷氨酸棒状杆菌中 SugR 调控果糖-PTS 基因簇的表达时, 除响应亲和力最高的配体 F-1-P, 还能够响应 F-1,6-P 和 G-6-P^[12]。变形链球菌中 SppR 对配体 F-1-P 和果糖-6-磷酸(F-6-P)的响应能力较强, 对 F-1,6-P 的响应能力较弱^[19]; 而变形链球菌中另一 DeoR 蛋白 LacR 除了响应 F-1-P 和 F-6-P 外, 还能够响应乳糖-6-磷酸(Gal-6-P)作为配体^[16]。枯草芽孢杆菌中 RhaR 调控 L-鼠李糖代谢时, 能够响应其代谢中间体 L-鼠李糖-1-磷酸(L-rhamnulose-1-phosphate)作为配体, 抑制 RhaR 与靶点 DNA 的结合活性^[14]。大肠杆菌中 UlaR 的配体分子为 L-抗坏血酸-6-磷酸(L-ascorbate-6-P), 添加 L-ascorbate-6-P 能够促使 UlaR 蛋白由结合 DNA 的四聚体状态转换成不结合 DNA 的二聚体状态, 并鉴定 UlaR 与配体 L-ascorbate-6-P 发生作用的关键氨基酸为 Asp206 和 Lys209^[30]。

亦有少量 DeoR 蛋白响应的配体为非磷酸化分子。枯草芽孢杆菌中 YcnK 调控胞内铜的消耗吸收时, 能够响应铜离子螯合剂作为配体, 例如 CuCl₂ 的添加能够促进 YcnK 与靶点 DNA 的结合活性^[32]。而耐金属贫铜菌以甘油分子作为配体, 介导 GlpR 调控菌株对锌和镉耐受性^[33]。

4 结语与展望

从调控范围的宽泛性来看, 在细菌复杂而庞大的调控网络中, DeoR 家族是非常重要的成员, 在核苷酸类代谢、糖类代谢、致病菌毒力以及链霉菌次级代谢中都发挥着不可或缺的调控作用。DeoR 家族蛋白的这种功能多样性, 不仅有利于在理论上全面深刻地认知细菌完整的分子调控网络, 而且有利于挖掘开发相关 DeoR

调控元件应用于实际的生产和生活。例如, DeoR 能够响应某些磷酸化糖类作为配体, 利用这一特性, 可以通过调控元件改造开发出高通量的生物传感器系统, 用于高效检测样品中特定糖类的含量。

目前细菌中 DeoR 家族的研究已经取得一定的进展, 但是相对于其他研究较为成熟的转录因子家族, 如 TetR、MarR 和 LuxR 等, 其调控功能和机制的研究还不够深入, 宿主菌的范围亦有待拓展。例如链霉菌来源的 DeoR 蛋白已经明确具有调控抗生素合成产量和菌株形态分化的重要功能, 然而具体的调控机制有待深入的研究: 除了 DptR2, 其他 DeoR 蛋白能否直接控制抗生素合成和形态分化相关基因的转录; DeoR 是否通过协调响应某些抗生素合成所需的糖类衍生物最终控制抗生素的生物合成; DeoR 能否与其他调控系统形成相互依赖、逐级调节的调控网络等等; 又如目前只有枯草芽孢杆菌中 2 个 DeoR 蛋白的结构信息得到解析, 并不足以清晰地认知 DeoR 蛋白结构与功能的关系, 对于全面阐明 DeoR 的空间构象特征以及与 DNA 和配体相互作用的具体分子模型是远远不够的。除此之外, 仍有很多问题需要进一步研究。

参考文献

- [1] Valentin-Hansen P, Svenningsen BA, Munch-Petersen A, Hammer-Jespersen K. Regulation of the Deo operon in *Escherichia coli*. *Molecular and General Genetics*, 1978, 159(2): 191–202.
- [2] Singer JT, Barbier CS, Short SA. Identification of the *Escherichia coli* deoR and cytR gene products. *Journal of Bacteriology*, 1985, 163(3): 1095–1100.
- [3] Mortensen L, Dandaneil G, Hammer K. Purification and characterization of the DeoR repressor of *Escherichia coli*. *The EMBO Journal*, 1989, 8(1): 325–331.
- [4] Saxild HH, Andersen LN, Hammer K. *Dra-nupC-pdp* operon of *Bacillus subtilis*: nucleotide sequence, induction by deoxyribonucleosides, and transcriptional

- regulation by the *deoR*-encoded DeoR repressor protein. *Journal of Bacteriology*, 1996, 178(2): 424–434.
- [5] Zeng X, Saxild HH, Switzer RL. Purification and characterization of the DeoR repressor of *Bacillus subtilis*. *Journal of Bacteriology*, 2000, 182(7): 1916–1922.
- [6] Škerlová J, Fábry M, Hubálek M, Otwinowski Z, Řezáčová P. Structure of the effector-binding domain of deoxyribonucleoside regulator DeoR from *Bacillus subtilis*. *The FEBS Journal*, 2014, 281(18): 4280–4292.
- [7] Gaurivaud P, Laigret F, Garnier M, Bové JM. Characterization of FruR as a putative activator of the fructose operon of *Spiroplasma citri*. *FEMS Microbiology Letters*, 2001, 198(1): 73–78.
- [8] Loo CY, Mitrakul K, Voss IB, Hughes CV, Ganeshkumar N. Involvement of an inducible fructose phosphotransferase operon in *Streptococcus gordonii* biofilm formation. *Journal of Bacteriology*, 2003, 185(21): 6241–6254.
- [9] Doan T, Aymerich S. Regulation of the central glycolytic genes in *Bacillus subtilis*: binding of the repressor CggR to its single DNA target sequence is modulated by fructose-1,6-bisphosphate. *Molecular Microbiology*, 2003, 47(6): 1709–1721.
- [10] Řezáčová P, Kožíšek M, Moy SF, Siegllová I, Joachimiak A, Machius M, Otwinowski Z. Crystal structures of the effector-binding domain of repressor central glycolytic gene regulator from *Bacillus subtilis* reveal ligand-induced structural changes upon binding of several glycolytic intermediates. *Molecular Microbiology*, 2008, 69(4): 895–910.
- [11] Barrière C, Veiga-Da-cunha M, Pons N, Guédon E, Van Hijum SAFT, Kok J, Kuipers OP, Ehrlich DS, Renault P. Fructose utilization in *Lactococcus lactis* as a model for low-GC Gram-positive bacteria: its regulator, signal, and DNA-binding site. *Journal of Bacteriology*, 2005, 187(11): 3752–3761.
- [12] Gaigalat L, Schlüter JP, Hartmann M, Mormann S, Tauch A, Pühler A, Kalinowski J. The DeoR-type transcriptional regulator SugR acts as a repressor for genes encoding the phosphoenolpyruvate: sugar phosphotransferase system (PTS) in *Corynebacterium glutamicum*. *BMC Molecular Biology*, 2007, 8: 104.
- [13] Engels V, Wendisch VF. The DeoR-type regulator SugR represses expression of *ptsG* in *Corynebacterium glutamicum*. *Journal of Bacteriology*, 2007, 189(8): 2955–2966.
- [14] Hirooka K, Kodoi Y, Satomura T, Fujita Y. Regulation of the *rhaEWRBMA* operon involved in L-rhamnose catabolism through two transcriptional factors, RhaR and CcpA, in *Bacillus subtilis*. *Journal of Bacteriology*, 2015, 198(5): 830–845.
- [15] Afzal M, Shafeeq S, Kuipers OP. LacR is a repressor of *lacABCD* and LacT is an activator of *lacTFEG*, constituting the *lac* gene cluster in *Streptococcus pneumoniae*. *Applied and Environmental Microbiology*, 2014, 80(17): 5349–5358.
- [16] Zeng L, Burne RA. Molecular mechanisms controlling fructose-specific memory and catabolite repression in lactose metabolism by *Streptococcus mutans*. *Molecular Microbiology*, 2021, 115(1): 70–83.
- [17] Haghjoo E, Galán JE. Identification of a transcriptional regulator that controls intracellular gene expression in *Salmonella Typhi*. *Molecular Microbiology*, 2007, 64(6): 1549–1561.
- [18] Morris CR, Grassel CL, Redman JC, Sahl JW, Barry EM, Rasko DA. Characterization of intracellular growth regulator IcgR by utilizing transcriptomics to identify mediators of pathogenesis in *Shigella flexneri*. *Infection and Immunity*, 2013, 81(9): 3068–3076.
- [19] Zeng L, Burne RA. Essential roles of the SPPRA fructose-phosphate phosphohydrolase operon in carbohydrate metabolism and virulence expression by *Streptococcus mutans*. *Journal of Bacteriology*, 2018, 201(2): e00586-18.
- [20] Turner SE, Pang YY, O'Malley MR, Weisberg AJ, Fraser VN, Yan Q, Chang JH, Anderson JC. A DeoR-type transcription regulator is required for sugar-induced expression of type III secretion-encoding genes in *Pseudomonas syringae* pv. *tomato* DC3000. *Molecular Plant-Microbe Interactions*, 2020, 33(3): 509–518.
- [21] Quintero-Yanes A, Lee CM, Monson R, Salmond G. The FloR master regulator controls flotation, virulence and antibiotic production in *Serratia* sp. ATCC 39006. *Environmental Microbiology*, 2020, 22(7): 2921–2938.
- [22] Ulanova D, Kitani S, Fukusaki E, Nihira T. SdrA, a new DeoR family regulator involved in *Streptomyces avermitilis* morphological development and antibiotic production. *Applied and Environmental Microbiology*, 2013, 79(24): 7916–7921.
- [23] Wang F, Ren NN, Luo S, Chen XX, Mao XM, Li YQ. DptR2, a DeoR-type auto-regulator, is required for daptomycin production in *Streptomyces roseosporus*. *Gene*, 2014, 544(2): 208–215.
- [24] Ge BB, Liu Y, Liu BH, Zhao WJ, Zhang KC. Characterization of novel DeoR-family member from

- the *Streptomyces ahygroscopicus* strain CK-15 that acts as a repressor of morphological development. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 2016, 100(20): 8819–8828.
- [25] Jeon JM, Choi TR, Lee BR, Seo JH, Song HS, Jung HR, Yang SY, Park JY, Kim EJ, Kim BG, Yang YH. Decreased growth and antibiotic production in streptomyces coelicolor A3(2) by deletion of a highly conserved DeoR family regulator, SCO1463. *Biotechnology and Bioprocess Engineering*, 2019, 24(4): 613–621.
- [26] Blombach B, Arndt A, Auchter M, Eikmanns BJ. L-valine production during growth of pyruvate dehydrogenase complex-deficient *Corynebacterium glutamicum* in the presence of ethanol or by inactivation of the transcriptional regulator SugR. *Applied and Environmental Microbiology*, 2009, 75(4): 1197–1200.
- [27] Chang YC, Tsai MJ, Huang YW, Chung TC, Yang TC. SmQnrR, a DeoR-type transcriptional regulator, negatively regulates the expression of Smqnr and SmtcrA in *Stenotrophomonas maltophilia*. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 2011, 66(5): 1024–1028.
- [28] Ramos-Aires J, Plésiat P, Kocjancic-Curty L, Köhler T. Selection of an antibiotic-hypersusceptible mutant of *Pseudomonas aeruginosa*: identification of the GlmR transcriptional regulator. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 2004, 48(3): 843–851.
- [29] Elgrably-Weiss M, Schlosser-Silverman E, Rosenshine I, Altuvia S. DeoT, a DeoR-type transcriptional regulator of multiple target genes. *FEMS Microbiology Letters*, 2006, 254(1): 141–148.
- [30] Garces F, Fernández FJ, Gómez AM, Pérez-Luque R, Campos E, Prohens R, Aguilar J, Baldomà L, Coll M, Badía J, Vega MC. Quaternary structural transitions in the DeoR-type repressor UlaR control transcriptional readout from the L-ascorbate utilization regulon in *Escherichia coli*. *Biochemistry*, 2008, 47(44): 11424–11433.
- [31] Cho HY, Lee SG, Hyeon JE, Han SO. Identification and characterization of a transcriptional regulator, SucR, that influences *sucCD* transcription in *Corynebacterium glutamicum*. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 2010, 401(2): 300–305.
- [32] Hirooka K, Edahiro T, Kimura K, Fujita Y. Direct and indirect regulation of the *ycnKJI* operon involved in copper uptake through two transcriptional repressors, YcnK and CsoR, in *Bacillus subtilis*. *Journal of Bacteriology*, 2012, 194(20): 5675–5687.
- [33] Van Houdt R, Vandecraen J, Leys N, Monsieurs P, Aertsen A. Adaptation of *Cupriavidus metallidurans* CH34 to toxic zinc concentrations involves an uncharacterized ABC-type transporter. *Microorganisms*, 2021, 9(2): 309.
- [34] Martino GP, Quintana IM, Espariz M, Blancato VS, Magni C. Aroma compounds generation in citrate metabolism of *Enterococcus faecium*: genetic characterization of type I citrate gene cluster. *International Journal of Food Microbiology*, 2016, 218: 27–37.
- [35] Deutscher J, Francke C, Postma PW. How phosphotransferase system-related protein phosphorylation regulates carbohydrate metabolism in bacteria. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 2006, 70(4): 939–1031.
- [36] House D, Bishop A, Parry C, Dougan G, Wain J. Typhoid fever: pathogenesis and disease. *Current Opinion in Infectious Diseases*, 2001, 14(5): 573–578.
- [37] Philpott DJ, Edgeworth JD, Sansonetti PJ. The pathogenesis of *Shigella flexneri* infection: lessons from *in vitro* and *in vivo* studies. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London Series B, Biological Sciences*, 2000, 355(1397): 575–586.
- [38] Kuznetsova E, Proudfoot M, Gonzalez CF, Brown G, Omelchenko MV, Borozan I, Carmel L, Wolf YI, Mori H, Savchenko AV, Arrowsmith CH, Koonin EV, Edwards AM, Yakunin AF. Genome-wide analysis of substrate specificities of the *Escherichia coli* haloacid dehalogenase-like phosphatase family. *The Journal of Biological Chemistry*, 2006, 281(47): 36149–36161.
- [39] Grant SR, Fisher EJ, Chang JH, Mole BM, Dangl JL. Subterfuge and manipulation: type III effector proteins of phytopathogenic bacteria. *Annual Review of Microbiology*, 2006, 60: 425–449.
- [40] Ramsay JP, Williamson NR, Spring DR, Salmond GPC. A quorum-sensing molecule acts as a morphogen controlling gas vesicle organelle biogenesis and adaptive flotation in an enterobacterium. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2011, 108(36): 14932–14937.
- [41] Rippe RA, Brenner DA, Tugores A. Techniques to measure nucleic acid-protein binding and specificity: nuclear extract preparations, DNase I footprinting, and mobility shift assays. *Nuclease Methods and Protocols. New Jersey: Humana Press*, 2001, 160: 459–479.

(本文责编 李磊)