

Dpr 蛋白在寡发酵链球菌抗过氧化氢中的作用

朱宝利¹, 佟卉春¹, 陈伟^{1,2}, 东秀珠^{1*}

(¹ 中国科学院微生物研究所, 北京 100101)

(² 塔里木大学动物科技学院, 塔里木 843300)

摘要 【目的】寡发酵链球菌(*Streptococcus oligofermentans*)是从无龋人的口腔中分离到的一株链球菌,好氧条件下产生,同时也耐受高浓度(4.4 mmol/L)的过氧化氢。本研究探讨 *dpr* 基因对寡发酵链球菌抗过氧化氢的贡献。【方法】克隆和表达寡发酵链球菌 *dpr* 基因,分析 Dpr 蛋白的功能;构建寡发酵链球菌的 *dpr* 基因突变株,比较野生株和突变株对不同浓度过氧化氢的耐受程度;并将寡发酵链球菌 *dpr* 基因克隆到对过氧化氢耐受力低的变形链球菌中,分析其对变形链球菌过氧化氢耐受能力的影响。【结果】与野生株相比,寡发酵链球菌 *dpr* 突变株对过氧化氢十分敏感;同时寡发酵链球菌 *dpr* 基因提高了变形链球菌的过氧化氢耐受力。Dpr 蛋白整合铁离子,但不结合 DNA。【结论】*dpr* 基因在寡发酵链球菌抗过氧化氢胁迫中起重要作用, Dpr 蛋白除了整合铁离子可能还存在其他作用机制。

关键词: 寡发酵链球菌; *dpr* 基因; 抗过氧化氢胁迫

中图分类号: Q935 **文献标识码**: A **文章编号**: 0001-6209(2009)10-1341-06

过氧化氢是强氧化物,对细胞具有很强的伤害作用。但兼性厌氧细菌,如链球菌不能合成有氧代谢所需的多数细胞色素蛋白,同时也不具有过氧化氢酶体系^[1]。但是,它们能在好氧条件下产生过氧化氢并能存活,原因是具有保护细胞免受各种活性氧分子(Reactive oxygen species, ROS),如超氧负离子($\cdot O_2^-$),羟自由基($\cdot OH$)和过氧化氢(H_2O_2)伤害的多种机制,因此链球菌抗氧胁迫机制成为研究的热点。寡发酵链球菌(*Streptococcus oligofermentans*)是本实验室 2003 年从无龋人口腔中分离的一株新的链球菌^[2],前期研究表明,该菌产生比其他链球菌的水平平均高的过氧化氢(4.3 mmol/L)^[3],因而抑制致龋菌—变形链球菌的生长^[4]。因此寡发酵链球菌是研究细菌耐受过氧化氢胁迫机制的好材料。

生理 pH 条件下,微生物细胞内的过氧化氢以分子形式存在,对细胞相对温和。但游离的铁离子

促使 H_2O_2 发生 Fenton 反应($H_2O_2 + Fe^{2+} \rightarrow \cdot OH + OH^- + Fe^{3+}$)^[5]而产生强氧化性的羟自由基,对蛋白、核酸和脂类分子造成严重的伤害。Dps 蛋白(DNA-binding protein from starved cells)首次在处于静止期的大肠杆菌细胞中被鉴定,该蛋白可整合自由的铁离子从而阻止 Fenton 反应的发生,降低 H_2O_2 的危害^[6]。另外 Dps 蛋白还能够进行序列非特异性地结合 DNA,保护其免受活性氧分子的伤害^[7]。*dpr*(Dps like peroxide resistance gene)基因是链球菌中 *dps* 的同源基因,已有报道变形链球菌的 Dpr 蛋白对细胞耐受过氧化氢有作用^[8-9],然而其作用机制还不完全清楚^[10]。我们的前期研究表明寡发酵链球菌对过氧化氢耐受能力远高于变形链球菌,因此本文分析了寡发酵链球菌的 *dpr* 基因在其耐受过氧化氢中的作用,并比较了寡发酵链球菌的 Dpr 蛋白(So-Dpr)与变

基金项目:国家自然科学基金(30870042);国家 863 项目(2007AA10Z353)

* 通信作者。Tel/Fax: +86-10-64807413; E-mail: dongxz@im.ac.cn

作者简介:朱宝利(1981-)男,河南开封人,硕士研究生,主要从事口腔微生物生态及细菌间相互作用研究。E-mail: baolizhu@gmail.com

收稿日期:2009-04-13;修回日期:2009-07-29

形链球菌 Dpr 蛋白(Sm-Dpr)的作用方式。结果证明寡发酵链球菌 Dpr 是该细菌耐受过氧化氢的主要功能蛋白,但其作用机制还有待于进一步研究。

1 材料和方法

1.1 材料

1.1.1 菌株和质粒:寡发酵链球菌(*S. oligofermentans*)AS 1.3089、大肠杆菌 DH5 α 和 BL21(DE3)为本实验室保存,变形链球菌(*S. mutans*)UA140 及质粒 pFW5-luc 由美国 UCLA 大学 Shi 教授惠赠^[11],质粒 pET15b 由微生物研究所黄力研究员惠赠。链球菌在 BHI(Brain Heart Infusion, Difco, BD)中 37 $^{\circ}$ C 静置培养;大肠杆菌在 LB 中 37 $^{\circ}$ C 摇床培养。

1.1.2 主要试剂和仪器:BHI 培养基购于 BD 公司;各种核酸内切酶和 T₄ 连接酶购于 NEB 公司;咪唑、巯基乙酸和 Ferene-S 购于 Sigma 公司。PCR 扩增引物为上海生工合成,DNA 测序由北京诺赛基因公司完成。蛋白纯化仪器为 Amersham 公司的 ÄKTA FPLC,预装 Ni 柱购于 GE 公司。

1.2 构建寡发酵链球菌 dpr 基因突变株

1.2.1 构建寡发酵链球菌 dpr 基因插入整合质粒 pFW5-luc::dpr:为构建寡发酵链球菌 dpr 基因突变株,根据 *S. mutans* UA159,*S. pyogenes* M1GAS 和 *S. pneumoniae* R6 的 dpr 基因序列,设计一对简并引物,以寡发酵链球菌基因组 DNA 为模板,扩增出 dpr 基因中间部分 300 bp 左右的片段,胶回收后克隆到 pBSmT 载体上。然后将 BamHI 和 XhoI 双酶切回收的 dpr 基因片段连接到 pFW5-luc 上,构建成 dpr 基因插入整合质粒 pFW5-luc::dpr。

1.2.2 转化和筛选寡发酵链球菌 dpr 基因突变株:采用感受态激发肽(Competence Stimulating Peptide, CSP)的方法^[12],用构建好的插入整合质粒 pFW5-luc::dpr 转化寡发酵链球菌。整合质粒 pFW5-luc::dpr 通过单交叉同源重组,插入寡发酵链球菌 dpr 基因中,使之失活。将转化后的寡发酵链球菌涂到含有 800 μ g/mL 壮观霉素的 BHI 琼脂糖平板上,在蜡烛缸中 37 $^{\circ}$ C 培养过夜。阳性克隆即为寡发酵链球菌 dpr 基因突变株 So Δ dpr。

1.3 构建整合有完整寡发酵链球菌 dpr 基因的变形链球菌菌株和寡发酵链球菌 dpr 基因互补菌株

为了分析寡发酵链球菌 dpr 基因的功能,根据 *S. mutans* UA159 基因组序列,设计一对引物扩增到 500 bp 左右的变形链球菌 dpr 基因的启动子区域

Sm-dpr-p,将完整的寡发酵链球菌 dpr 结构基因连接到 Sm dpr-p 下游,之后将其连接到 pFW5-luc 上,构建质粒 pFW5-Sm dpr-p-So dpr。用与 1.2.2 相同的方法转化变形链球菌,获得阳性克隆 Sm-So dpr,该菌株基因组中除了一个完整的变形链球菌 dpr 基因,还整合了变形链球菌 dpr 基因启动子和完整的寡发酵链球菌 dpr 融合的基因。同时,构建一株含两个拷贝的变形链球菌 dpr 基因的变形链球菌菌株,*S. m-Sm dpr*,作为 Sm-So dpr 的对照菌株。

用相同的方法,克隆寡发酵链球菌 dpr 基因和其启动子序列,连接到带有卡那霉素抗性基因的 pFW5 质粒上,构建成寡发酵链球菌 dpr 基因互补质粒 pFW5-kan-dpr^c。将该质粒转化寡发酵链球菌 dpr 基因突变株,在壮观霉素和卡那霉素双抗平板上,筛选阳性克隆,记作 *S. o dpr^c*。

1.4 测定链球菌各菌株的过氧化氢耐受能力

为了比较寡发酵链球菌和变形链球菌各种突变菌株对过氧化氢的敏感性,采用参考文献^[13]的方法并稍加修改,分析各菌株经过不同浓度过氧化氢处理后的存活率。菌株过夜培养,调整其 OD₆₀₀ 到 1.0,然后 1:40 稀释到新鲜 BHI 液体培养基中,37 $^{\circ}$ C 静置培养 5 h。取 200 μ L 菌液到无菌 EP 管中,加入过氧化氢,终浓度分别为 0,1.0,2.5 和 4.4 mmol/L。在蜡烛缸中 37 $^{\circ}$ C 培养 1 h,然后将处理后的菌液梯度稀释 10⁴ - 10⁷ 倍,涂 BHI 平板,进行菌落计数。以不加 H₂O₂ 处理的菌液为对照,计算经不同浓度 H₂O₂ 处理后的各菌株的存活率。

1.5 Dpr 蛋白的异源表达和纯化

为了在体外研究 Dpr 蛋白的性质,通过 PCR 扩增获得完整的寡发酵链球菌和变形链球菌 dpr 基因,经 BamHI 和 NdeI 双酶切回收 dpr 基因,连接到 pET15b 上,构建表达质粒 pET-So dpr 和 pET-Sm dpr,测序验证基因序列的正确性。分别将质粒 pET-So dpr 和 pET-Sm dpr 转化到表达菌株 BL21(DE3)中。将过夜培养的含有 pET-So dpr 和 pET-Sm dpr 质粒的 BL21 菌株 1:100 稀释新鲜的 LB 中,培养 3 h 后再 1:50 稀释到 500 mL 新鲜 LB 中,当 OD₆₀₀ 到 0.6 左右时,加入 1.0 mmol/L IPTG 37 $^{\circ}$ C 诱导 3~4 h。离心收集菌体,用 Binding buffer(0.5 mol/L NaCl,30 mmol/L 咪唑,20 mmol/L PBS,pH 7.4)洗 2 次后,重悬到 40 mL Binding Buffer 中,超声破碎细胞,无细胞抽液过滤后经 Ni 柱纯化蛋白。纯化的蛋白通过 SDS-PAGE 和肽质谱进一步鉴定。

1.6 Dpr 蛋白结合铁离子实验

为了检测 Dpr 蛋白是否结合铁离子,纯化后的 Dpr 蛋白经过 Native-PAGE 之后,用铁离子特异性的 Ferene-S 法进行染色^[14]。其操作如下:Native-PAGE 完成后,把胶放到新鲜配制的染色液(0.75 mmol/L Ferene-S,15 mmol/L 巯基乙酸,2%(V/V)乙酸)中染色 2 h 左右,然后放到 2% 的乙酸中脱色 30 min 左右,去除背景。

1.7 凝胶阻滞实验

为了检测 Dpr 是否能够结合 DNA,将纯化好的 Dpr 蛋白分别与质粒 pUC19 和 *dpr* 基因在 10 mmol/L Tris-HCl(pH7.8)缓冲液中混合,30℃温育 30 min 后在琼脂糖凝胶上进行电泳,EB 染色后观察条带迁移情况。用古菌的染色体蛋白 Cren7 做阳性对照^[15]。

2 结果

2.1 寡发酵链球菌 *dpr* 基因突变株对过氧化氢敏感,而 *dpr* 基因提高变形链球菌的过氧化氢耐受力

为了检测 Dpr 蛋白在寡发酵链球菌耐过氧化氢中的作用,将 *dpr* 基因突变株用不同浓度的过氧化氢处理 1 h 后,检测其存活率。结果显示(图 1),寡发酵链球菌野生株在经 4.4 mmol/L H₂O₂ 处理 1 h 后,仍有 90% 左右的存活率,这解释了该菌能产高浓度的过氧化氢但对生长影响不大的原因。变形链球菌野生株用 4.4 mmol/L H₂O₂ 处理后,存活率不足 10%。寡发酵链球菌的 *dpr* 突变株用 1.0 mmol/L H₂O₂ 处理后,存活率降至 30% 左右,用 2.5 mmol/L H₂O₂ 处理后,存活率已不足 5%,而寡发酵链球菌

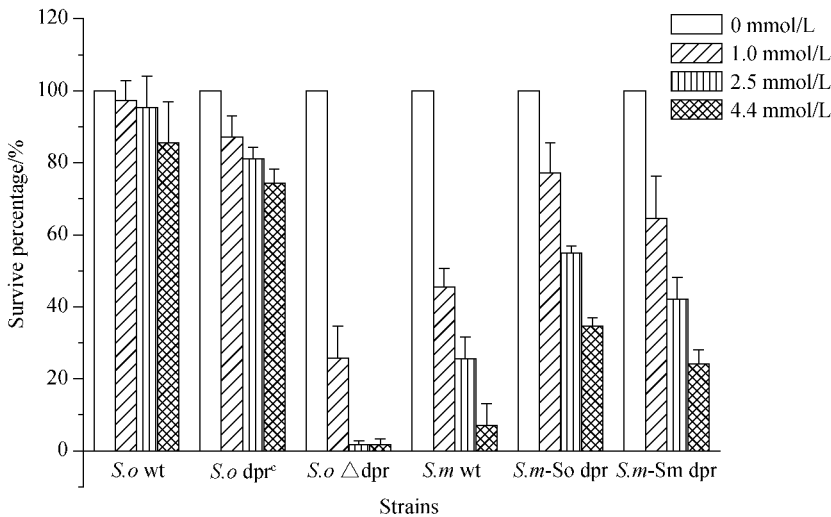


图 1 寡发酵链球菌和变形链球菌各菌株经不同浓度过氧化氢处理后的存活率

Fig.1 Survive percentage of *S. oligofermentans* wild type (*S. o wt*), *S. oligofermentans* *dpr* gene complement strain (*S. o dpr^c*), *S. oligofermentans* Δ *dpr* (*S. o Δdpr*), *S. mutans* wild type (*S. m wt*), *S. mutans*-*S. o dpr* (*S. m- So dpr*) and *S. mutans*-*S. m dpr* (*S. m- Sm dpr*). The survive percentage was determined by the averages of triplicate results \pm standard deviations.

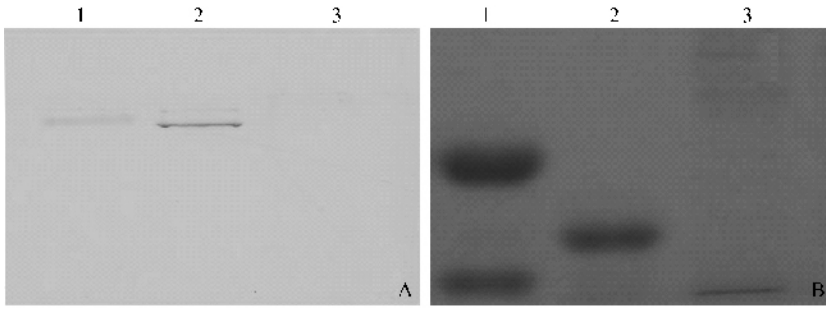
dpr 基因互补菌株用不同浓度过氧化氢处理后,存活率都在 80% 左右,这说明 *dpr* 基因在寡发酵链球菌耐受过氧化氢中起着重要作用。在不同浓度过氧化氢处理的情况下,*Sm-So dpr* 存活率都比 *Sm-Sm dpr* 菌株高 10% 左右。该结果提示,寡发酵链球菌 Dpr 蛋白比变形链球菌 Dpr 蛋白对细菌耐受 H₂O₂ 起更大的作用。

2.2 寡发酵链球菌 Dpr 蛋白螯合铁离子,但低于变形链球菌 Dpr 蛋白的螯合率

为探讨寡发酵链球菌 Dpr 蛋白的作用机制,将重组表达纯化的 Dpr 蛋白在非变性聚丙烯酰胺凝胶电泳后,用 Ferene-S 法染色。结果显示寡发酵链球

菌和变形链球菌 Dpr 蛋白均结合铁离子,而变形链球菌 Dpr 蛋白结合的铁离子更多(图 2-A)。2 种细菌 Dpr 蛋白结合铁离子的定量测定也显示,寡发酵链球菌的 Dpr 蛋白结合铁离子的浓度(7.01 μ g/mg 蛋白),低于变形链球菌 Dpr 蛋白(30.04 μ g/mg 蛋白)。

异源表达的寡发酵链球菌 Dpr 蛋白在 SDS-PAGE 上显示的分子量约为 24 kDa 和 19 kDa 两条带(图 2-B),而其理论值应为 20 kDa 左右。肽质谱分析结果显示两条带均是寡发酵链球菌 Dpr 蛋白(未显示数据)。由于重组表达的 Dpr 蛋白在 His-tag 标签和 N 端之间具有凝血素(Thrombin)识别位点,通



2 异源表达的 Dpr 蛋白。A: Native-PAGE 上的铁离子染色; B: 纯化后的 Dpr 蛋白的 SDS-PAGE 电泳

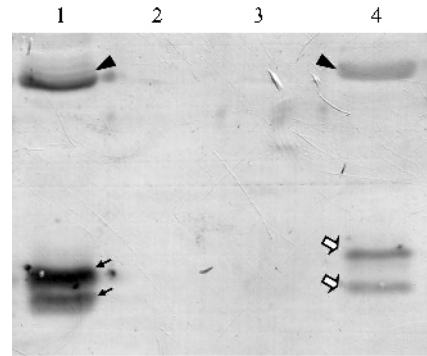
Fig.2 Heterogeneously expressed Dpr proteins. A: Ferene-S stain of Dpr on Native-PAGE. Lane1, *S. o* Dpr; lane2, *S. m* Dpr; lane3, BSA as control. B: SDS-PAGE. Lane1, *S. o* Dpr; lane2, *S. m* Dpr; lane3, Protein mass marker.

过凝血酶消化证明 19 kDa 的 Dpr 蛋白不带 His-tag, 表明是不完整的 Dpr 蛋白。其结合铁离子的功能有待证明。

2.3 Dpr 蛋白在寡发酵链球菌细胞中以大小不同的两种形式存在

为了了解寡发酵链球菌 Dpr 蛋白在细胞内的状态, 我们制备了 Dpr 的抗体。对寡发酵链球菌全细胞蛋白 Western blot 分析, 显示其在细胞内也呈两条带形式(图 3, 实体箭头)。而且寡发酵链球菌 *dpr* 基因在变形链球菌 *S. m*-*S. o* *dpr* 菌株中也呈大小不同的两条带(图 3, 空心箭头)。

全细胞蛋白的 Western blot 结果还显示, 寡发酵链球菌 *dpr* 基因的表达, 似乎与分子量为 45 kDa 左右的蛋白(图 3 实体三角所示)高表达相关, 而且 *So*-*dpr* 基因在变形链球菌中表达时也导致了分子量同样大小蛋白的高表达。这暗示寡发酵链球菌的 Dpr 蛋白除结合铁离子外, 可能还有其他作用机制。

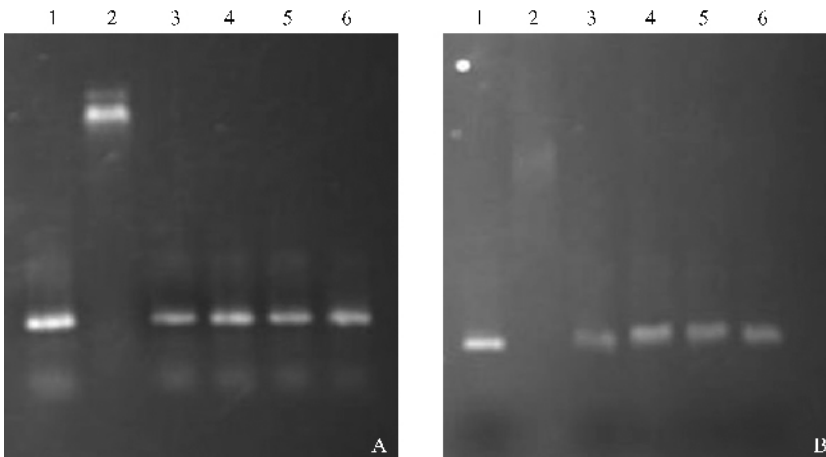


3 Western blot 检测寡发酵链球菌 Dpr 蛋白在细胞内的存在状态

Fig.3 Western Blot of the whole cell protein with *S. o* Dpr antibody. Lane 1: *S. oligofermentans* wild type; lane 2: *S. oligofermentans* Δ *dpr*; lane 3: *S. mutans* wild type; lane 4: *S. m*-*S. o* *dpr*.

2.4 寡发酵链球菌 Dpr 和变形链球菌 Dpr 蛋白均不结合 DNA

凝胶阻滞实验结果(图 4)显示, 寡发酵链球菌 Dpr 蛋白和变形链球菌 Dpr 蛋白既不能结合质粒



4 凝胶阻滞实验分析 Dpr 蛋白能否结合 DNA

Fig.4 Gel shift assay of Dpr protein. A: pUC19 DNA; B: *S. oligofermentans* genome DNA fragment. Lane1, no Dpr addition; lane2, Cren7 as positive control; lane3-5, adding *S. oligofermentans* Dpr protein at 1, 2 and 3 μ g, respectively; lane6, 3 μ g Dpr of *S. mutans* added.

DNA,也不能结合寡发酵链球菌基因组 DNA 片段。该结果表明寡发酵链球菌 Dpr 蛋白和变形链球菌 Dpr 蛋白都不具有非特异性 DNA 结合功能。这说明 Dpr 蛋白不是通过结合 DNA 发挥其保护作用。

3 讨论

寡发酵链球菌是我们实验室从健康人口腔中分离的一株链球菌,到目前为止,未发现它和龋齿的发生有相关性。我们的前期研究还发现,寡发酵链球菌能利用乳酸盐产生大量过氧化氢,特异地抑制致龋菌——变形链球菌的生长,因此在维持口腔生态平衡中可能起重要作用。寡发酵链球菌产生高浓度的过氧化氢,也必然有耐受高浓度过氧化氢胁迫的相应机制。本文的结果表明,寡发酵链球菌耐受过氧化氢的能力比变形链球菌高,并证明 *dpr* 基因在寡发酵链球菌抗过氧化氢中起重要作用。

但是,寡发酵链球菌 *dpr* 基因导入变形链球菌后,并没有使其对过氧化氢的耐受力达到寡发酵链球菌的水平,原因可能是寡发酵链球菌 *dpr* 基因整合在变形链球菌 *dpr* 基因启动子下,表达量比在寡发酵链球菌野生株中低(见图 3)所导致。

对寡发酵链球菌 Dpr 蛋白序列分析发现,它具有 Dps 家族的 7 个与 DNA 结合相关的保守氨基酸残基(H^{50} , G^{55} , F^{58} , H^{62} , E^{81} , R^{82} , D^{144}),因此寡发酵链球菌 Dpr 蛋白也属于 Dps 家族成员^[8],但我们的实验结果表明,寡发酵链球菌和变形链球菌 Dpr 蛋白均不能结合 DNA。寡发酵链球菌 Dpr 蛋白具有铁蛋白中与铁离子结合相关的 5 个保守的氨基酸残基(H^{31} , H^{43} , D^{47} , D^{58} , E^{62})^[16],因此属于细菌铁蛋白家族。在链球菌过氧化氢耐受机制中,控制游离的铁离子浓度很关键。目前研究认为 Dpr 蛋白通过螯合游离的二价铁离子,并将其氧化为不溶的三价铁离子保存起来,因此螯合铁离子的能力可反映 Dpr 蛋白的功能。然而,寡发酵链球菌 Dpr 蛋白比变形链球菌 Dpr 蛋白结合铁离子能力弱,前者每分子 Dpr 蛋白螯合 2.6 个铁离子,而每分子的变形链球菌 Dpr 蛋白可螯合 11.5 个铁离子。根据寡发酵链球菌对过氧化氢强的耐受能力,和 Dpr 蛋白在抗过氧化氢中的贡献,暗示 Dpr 蛋白除螯合铁离子外可能还有其他作用机制。最新研究发现大肠杆菌 Dps 与 DnaA 蛋白有相互作用,从而调节细菌对活性氧分子造成的 DNA 损伤突变的修复^[17]。因此 Dpr 蛋白的作用机制尚有待于进一步研究。

参考文献

- [1] Thomas EL, Pera KA. Oxygen metabolism of *Streptococcus mutans*: uptake of oxygen and release of superoxide and hydrogen peroxide. *Journal of Bacteriology*, 1983, 154: 1236 - 1244.
- [2] Tong H, Gao X, Dong X. *Streptococcus oligofermentans* sp. nov., a novel oral isolate from caries-free humans. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 2003, 53: 1101 - 1104.
- [3] Garcia-Mendoza A, Liebana J, Castillo, et al. Evaluation of the capacity of oral streptococci to produce hydrogen peroxide. *Journal of Medical Microbiology*, 1993, 39: 434 - 439.
- [4] Tong H, Chen W, Merritt J, et al. *Streptococcus oligofermentans* inhibits *Streptococcus mutans* through conversion of lactic acid into inhibitory H_2O_2 : a possible counteroffensive strategy for interspecies competition. *Molecular Microbiology*, 2007, 63: 872 - 880.
- [5] Stadtman ER, Berlett BS. Fenton chemistry. Amino acid oxidation. *The Journal of Biological Chemistry*, 1991, 266: 17201 - 17211.
- [6] Ishikawa T, Mizunoe Y, Kawabata, et al. The iron-binding protein Dps confers hydrogen peroxide stress resistance to *Campylobacter jejuni*. *Journal of Bacteriology*, 2003, 185: 1010 - 1017.
- [7] Almiron M, Link AJ, Furlong D, et al. A novel DNA-binding protein with regulatory and protective roles in starved *Escherichia coli*. *Genes & Development*, 1992, 6: 2646 - 2654.
- [8] Yamamoto Y, Higuchi M, Poole LB, et al. Role of the *dpr* product in oxygen tolerance in *Streptococcus mutans*. *Journal of Bacteriology*, 2000, 182: 3740 - 3747.
- [9] Yamamoto Y, Poole LB, Hantgan RR, et al. An iron-binding protein, Dpr, from *Streptococcus mutans* prevents iron-dependent hydroxyl radical formation in vitro. *Journal of Bacteriology*, 2002, 184: 2931 - 2939.
- [10] Tsou CC, Chiang-Ni C, Lin YS, et al. An iron-binding protein, Dpr, decreases hydrogen peroxide stress and protects *Streptococcus pyogenes* against multiple stresses. *Infection and Immunity*, 2008, 76: 4038 - 4045.
- [11] Podbielski A, Spellerberg B, Woischnik M, et al. Novel series of plasmid vectors for gene inactivation and expression analysis in group A streptococci (GAS). *Gene*, 1996, 177: 137 - 147.

- [12] Tong H , Zhu B , Chen W , et al. Establishing a genetic system for ecological studies of *Streptococcus oligofermentans*. *FEMS Microbiology Letters* , 2006 , 264 : 213 – 219.
- [13] Brenot A , King KY , Caparon MG. The PerR regulon in peroxide resistance and virulence of *Streptococcus pyogenes*. *Molecular Microbiology* , 2005 , 55 : 221 – 234.
- [14] Chung MC. A specific iron stain for iron-binding proteins in polyacrylamide gels : application to transferrin and lactoferrin. *Analytical Biochemistry* , 1985 , 148 : 498 – 502.
- [15] Guo L , Feng Y , Zhang Z , et al. BioZchemical and structural characterization of Cren7 , a novel chromatin protein conserved among Crenarchaea. *Nucleic Acids Research* , 2008 , 36 : 1129 – 1137.
- [16] Ilari A , Stefanini S , Chiancone E , et al. The dodecameric ferritin from *Listeria innocua* contains a novel intersubunit iron-binding site. *Nature Structural Biology* , 2000 , 7 : 38 – 43.
- [17] Chodavarapu S , Gomez R , Vicente M , et al. *Escherichia coli* Dps interacts with DnaA protein to impede initiation : a model of adaptive mutation. *Molecular Microbiology* , 2008 , 67 : 1331 – 1346.

Role of Dpr in hydrogen peroxide tolerance of *Streptococcus oligofermentans*

Baoli Zhu¹ , Huichun Tong¹ , Wei Chen^{1,2} , Xiuzhu Dong^{1*}

(¹Institute of Microbiology , Chinese Academy of Sciences , Beijing 100101 ,China)

(²College of Zoological Technology , Talimu University , Talimu 843300 ,China)

Abstract [Objective] *Streptococcus oligofermentans* was a newly characterized streptococcal species , which we isolated from dental plaques of carious-free humans. Our previous work indicated that in aerobic environments , it produced , as well as survived high concentration of hydrogen peroxide (4.4 mmol/L). This study analyzed the function of *dpr* gene in hydrogen peroxide tolerance of *Streptococcus oligofermentans*. [**Methods**] Cloned and expressed the *dpr* gene , and characterized Dpr protein. We constructed the *dpr* mutant strain of *S. oligofermentans* and detected its susceptibility to hydrogen peroxide. Furthermore , *S. oligofermentans dpr* gene was cloned into *S. mutans* , and its susceptibility to hydrogen peroxide was tested. [**Results**] *S. oligofermentans dpr* mutant strain was much more susceptible to hydrogen peroxide than the wild type , and introduction of its *dpr* gene into *S. mutans* could enhance the later 's hydrogen peroxide tolerant ability. Dpr proteins could bind irons , but not to DNA. [**Conclusion**] *dpr* gene of *S. oligofermentans* has significant role in hydrogen peroxide tolerance of the host strain , while Dpr protein may have other oxidant-damage protective mechanisms except for iron-binding.

Keywords : *Streptococcus oligofermentans* , Dps like peroxide resistance gene , hydrogen peroxide tolerance

(本文责编 : 张晓丽)