

微生物学报 *Acta Microbiologica Sinica*
55 (5) :529 - 536; 4 May 2015
ISSN 0001 - 6209; CN 11 - 1995/Q
<http://journals.im.ac.cn/actamicrocn>
doi: 10.13343/j.cnki.wsxb.20140530

部分革兰氏阴性菌 TonB 蛋白的结构特点及作用机制

廖何斌^{1,2,3}, 刘马峰^{1,2,3*}, 程安春^{1,2,3*}

¹四川农业大学预防兽医研究所, 四川 成都 611130

²四川农业大学动物医学院禽病防治中心, 四川 雅安 625014

³四川农业大学, 动物疫病与人类健康四川省重点实验室, 四川 成都 611130

摘要:在革兰氏阴性菌内, TonB 系统对环境中的重要营养物质的摄取至关重要。TonB 系统由锚定在内膜的 ExbB-ExbD 和周质蛋白 TonB 组成, 它为 TonB 依赖性外膜受体 (TBDTs) 提供能量, 使其转运营养物质。TonB 系统普遍参与了铁、血红素、维生素 B₁₂、碳水化合物及多种过渡金属元素等多种重要物质的转运过程。TonB 蛋白的功能与其特殊的结构密切相关, 它的结构包括起固定作用的氨基端结构域、柔韧可变的脯氨酸富集的中间结构域和与 TonB 依赖性受体相互作用的羧基端结构域。虽然 TonB 蛋白结构特点较为清晰, 但其精确作用机制尚未被完全揭示。本文综述了革兰氏阴性菌 TonB 依赖性的营养物质摄取、TonB 蛋白的结构特点、作用机制模型及表达调控, 以期为进一步研究 TonB 蛋白功能提供理论基础和参考。

关键词:革兰氏阴性菌, TonB, TonB 依赖性受体 (TBDTs), 铁离子, 血红素, 维生素 B₁₂

中图分类号: Q935 **文章编号:** 0001-6209 (2015) 05-0529-08

致病菌入侵宿主时, 需要从宿主体内摄取多种必需的营养物质才能生存^[1]。在宿主体内, 这些物质往往被“隔离”起来, 以防止病原菌利用, 这种宿主对致病菌的营养限制又叫“营养免疫”^[2]。为适应宿主体内营养限制性的环境, 致病菌能够利用 TonB 系统特异性的转运宿主体内的一些必需营养物质^[3], 如: 铁离子、血红素^[4]、维生素 B₁₂^[5]、碳水化合物^[6]、镍离子^[7]、铜离子^[8]和锌离子^[9]等。生物信息学分析表明, 超过三分之二的革兰氏阴性菌都具有 TonB 系统^[10]。鉴于 TonB 系统在多种营养物质摄取过程中发挥重要作用, 研究 TonB 系统对研究致病菌的部分致病机理, 开发非抗生素类的靶

向药物, 预防和治疗细菌性疾病具有重要意义。

1 TonB 系统参与多种物质的转运

1.1 TonB 系统参与铁离子的转运

对于包括致病菌的几乎所有的生命而言, 铁离子是必需的营养元素。研究表明, 铁离子构成了氧化还原酶等重要的生物酶的催化中心; 促进了电子传递、抗氧化反应、核酸的合成等多种生命活动^[11]。致病菌在宿主体内必须获取铁源才能生长繁殖和致病。在宿主体内, 铁源主要包括血红素结合蛋白和铁离子结合蛋白。

基金项目:国家自然科学基金(31302131); 高等学校博士学科点专项科研基金(20135103120006); 中国博士后基金(2014M552378)

* 通信作者。Tel: +86-835-2885836; Fax: +86-835-2885774; E-mail: liumafengra@163.com (刘马峰), chenganchun@vip.163.com (程安春)

作者简介:廖何斌(1991-), 男, 四川金堂人, 硕士研究生, 从事鸭疫里默氏杆菌 TonB 系统的功能研究。E-mail: lhb11000@163.com

收稿日期: 2014-11-07; **修回日期:** 2015-01-04

1.1.1 铁离子转运: 致病菌不能直接利用宿主体内的铁结合蛋白中的铁离子, 所以致病菌通过分泌一种小分子的高亲和力的铁螯合化合物 Siderophores 去获取铁源^[12]。Siderophores 在胞浆中由多种不同的生物酶进行合成, 通过特定的外排系统排出胞外。胞外的 Siderophores 能螯合宿主体内铁结合蛋白中的铁离子, 包括转铁蛋白和乳铁蛋白等。这些载铁 Siderophores 在胞外被特异性的 TBBDTs 识别, 质膜蛋白复合物 ExbB-ExbD 转化质膜质子动力势能并经 TonB 蛋白跨过膜周质空间将能量传递给外膜 Siderophore 受体, 使载铁 Siderophore 进入周质。进入周质的载铁 Siderophore 由特异的 ABC 转运体介导通过内膜进入胞浆^[11,13] (图 1)。在 Siderophore 从外膜受体移向内膜 ABC 转运体过程中, 往往还需要周质结合蛋白 (PBP) 的辅助, 如肠菌素需要 FepB^[14], 霉菌素需要 FhuD^[15] 等。已发现的 Siderophore 种类有数百种, 一种细菌可能有多种 TonB 依赖性 Siderophore 受体, 如大肠杆菌的 FepA 和 Cir 等^[16]。

1.1.2 血红素转运: 宿主体内能由 Siderophore 介导被致病菌获取的铁源不到宿主总铁源的 1%, 而宿主 80% 以上的铁源都储存在血红素中^[17], 所以对于大部分致病菌, 血红素可以做为一种主要的铁源。在革兰氏阴性菌中, 血红素转运系统主要有直接的血红素转运系统和血红素载体 Hemophore 介导的血红素转运系统。

直接的血红素转运系统是由细菌表面的外膜血红素受体直接识别血红素或血红素结合蛋白, 在 ExbB-ExbD-TonB 系统提供能量的情况下将血红素转运至周质, 再通过特异的 ABC 转运体转运至胞浆 (图 1)。小肠结肠耶尔森菌的 *hemR-hemSTUV* 系统、鼠疫耶尔森菌的 *hmuRSTUV* 系统、痢疾志贺菌的 *shuASTUV* 系统和绿脓杆菌的 *phuRSTUVW* 系统属于直接血红素转运系统^[18]。

Hemophore 介导的血红素转运系统中, 细菌合成并分泌一种特殊的 Hemophore 蛋白到胞外辅助血红素转运。粘质沙雷菌的 HasA 型 Hemophore 能高亲和力的螯合血红素结合蛋白中的血红素分子, 并被细菌特异的 TBBDTs 识别, 将血红素传递到胞内^[19]。流感嗜血杆菌的 HxuA 型 Hemophore 能结合血红素结合蛋白 Hemopexin, 使血红素游离出来, 增加外膜血红素受体结合血红素的几率^[20]。在胞

内, 血红素被细菌的血红素降解蛋白降解并释放铁离子供细菌利用。

1.2 TonB 系统参与维生素 B₁₂ 的转运

维生素 B₁₂ 参与多种生物酶的组成, 所以维生素 B₁₂ 对大部分细菌而言是重要的微量营养物质^[21]。大肠杆菌的 TonB 依赖性受体 BtuB 识别并结合环境中的维生素 B₁₂, TonB 系统转化质膜质子动力势能为 BtuB 提供能量, 使后者构型发生变化, 释放维生素 B₁₂ 进入周质。周质的维生素 B₁₂ 被周质结合蛋白 BtuF 结合并传递到质膜的 ABC 转运体: BtuCD。最后, BtuCD 水解 ATP, 释放能量将维生素 B₁₂ 摄入胞浆^[22] (图 1)。

1.3 TonB 系统参与其它物质的转运

镍、铜和锌等过渡金属元素可作为多种生物酶类的辅因子参与到生命活动中, 是大多数细菌的重要营养元素^[23]。脑膜炎奈瑟氏菌的外膜受体 CbpA 能在 TonB 系统的作用下摄取钙网蛋白作为锌离子来源; 假单胞菌的 TonB 依赖性受体 NosA 和 OprC 参与了铜离子的摄取; 幽门螺杆菌的 TonB 依赖性受体 FrpB4 参与了镍离子的转运等^[22]。

TonB 系统还参与碳水化合物的跨膜转运。月柄杆菌的 TonB 依赖性受体 MalA 麦芽糖糊精的摄取; 黄单胞菌的 TonB 依赖性受体 SuxA 参与了蔗糖的摄取; 希瓦氏菌的 TonB 依赖性受体 ChiPII 参与了寡糖的摄取^[22] 等。

1.4 TonB 系统的功能特异性与互补性

大肠杆菌仅有一套 TonB 系统, 同时负责血红素、铁离子和维生素 B₁₂ 等物质的转运。但超过四分之一的革兰氏阴性菌具有两套或更多的 TonB 系统^[10]。在这些细菌中, 每个 TonB 系统可以负责不同物质的转运还是特异性的参与某种物质的转运? 此问题未被深入研究。在鸭疫里默氏杆菌我们发现了 3 套独立的 TonB 系统, 蛋白序列分析表明它们之间的同源性低于 35%, 提示它们可能分别特异性的负责某种物质的转运。通过试验验证, TonB2 主要负责铁离子和血红素的转运, 而 TonB1 仅负责血红素的转运且效率较低, TonB3 功能未知 (未发表)。这种 TonB 系统特异性的负责某种物质转运的机制尚不清楚, 我们推测可能与其相互作用的 TBBDTs 有关。多个 TonB 系统负责同种物质的转运可能与其生活环境有关, 如在环境适应时, 主要由一种 TonB 发挥作用。而在不利的环境条件下, 由另一种 TonB

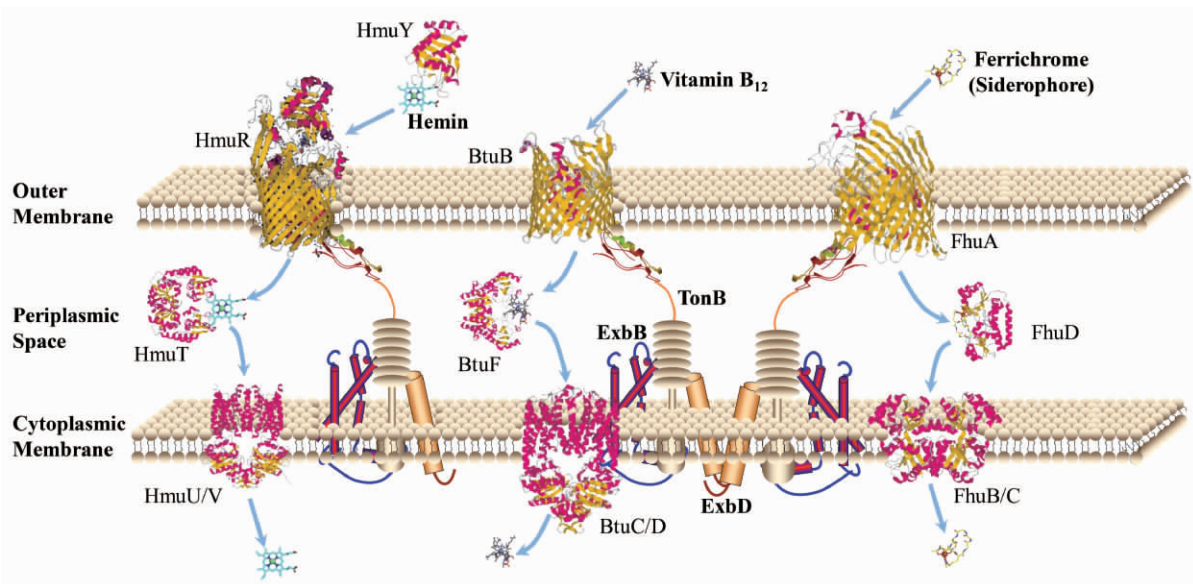


图 1. TonB 依赖性的铁离子、血红素和维生素 B₁₂ 的摄取过程模型^[22]。TonB 依赖性的 TonB 转运过程涉及到 TonB 依赖性受体 (HmuR, BtuB, FhuA), 周质结合蛋白 (HmuT, BtuF, FhuD), 质膜 ABC 转运体 (HmuU/V, BtuC/D, FhuB/C) 和 ExbB-ExbD-TonB 复合物。营养物质血红素, Vitamin B₁₂ 和 Siderophore 分别被外膜受体 HmuR, BtuB, FhuA 识别, TonB 系统提供能量使其通过外膜受体桶状结构进入周质。进入周质后分别被周质结合蛋白 HmuT, BtuF 和 FhuD 结合并转移至质膜的 ABC 转运体 HmuU/V, BtuC/D 和 FhuB/C。ABC 转运体水解 ATP 释放能量使营养物质进入胞浆。

Figure 1. Model of the TonB-dependent uptake of iron, vitamin B₁₂ and hemin^[22].

或共同发挥作用。综上, 多套 TonB 系统之间即有特异性又有功能互补。

2 TonB 蛋白的结构特点

TBDTs 具有相似的空间结构, 其羧基端是一个跨膜的桶状结构, 为特异性底物提供通道 (图 1); 氨基端形成一个塞子结构, 在桶状结构中阻碍底物通过^[16]。研究表明, TBDTs 的氨基端塞子结构上的一段保守的 TonB-box 序列能与 TonB 蛋白的羧基端结构域相互作用并使塞子结构发生结构变化, 打开通道使底物进入周质^[24]。所以, TonB 蛋白能发挥功能是依赖于其特殊的蛋白高级结构的。TonB 蛋白的结构包括起固定作用的氨基端结构域、柔韧可变的脯氨酸富集的中间结构域和与 TBDTs 相互作用的羧基端结构域。

2.1 氨基端结构域

TonB 蛋白的氨基端结构域是一个 α 螺旋的二级结构, 主要有以下三个作用^[25]。第一, 氨基端序列包含一段疏水序列, 使 TonB 蛋白能在质膜上更好的移动。第二, 将 TonB 蛋白绑定于质

膜上。第三, 同 ExbB-ExbD 复合物相互作用, 并以一种未知的机制转化质膜质子势能, 该过程与氨基端结构域的跨膜区中的保守的基序“SXXXH”密切相关^[26]。氨基端结构域通常由 30 - 50 个氨基酸残基组成, 但为了提高 TonB 蛋白的稳定性, 也有部分 TonB 蛋白的氨基端序列延伸得更长^[27], 形成 4 个跨膜区域, 更有利于 TonB 蛋白固定于质膜^[10]。

2.2 中间结构域

TonB 蛋白的中间结构域又称周质连接结构域, 是氨基酸序列中段脯氨酸富集区域组成的柔韧可变的非折叠结构域, 其氨基酸残基数量也是高度可变的, 往往在 22 - 283 个氨基酸残基之间^[10]。脯氨酸富集区的一端是多个连续的脯氨酸-赖氨酸残基, 后面接着大量的脯氨酸和谷氨酸残基。中间结构域对 TonB 蛋白的功能是非必需的, 它可能仅提供一个柔韧可变的间隔区域, 使 TonB 蛋白能跨过周质与 TBDTs 接触。

2.3 羧基端结构域

TonB 蛋白的羧基端结构域在 TonB 蛋白和

TBDTs 相互作用过程中起着必需的作用。大部分 TonB 蛋白的羧基端结构域由 3 个 β 折叠和 2 个 α 螺旋组成,只有极少数羧基端结构域由一个 β 折叠和一个双亲性的 α 螺旋组成^[10]。大肠杆菌的 TonB 蛋白羧基端结构域核磁共振结构具有第 4 个 β 折叠,该结构与相邻的 TonB 蛋白羧基端结构域通过氢键形成二聚体^[28]。大肠杆菌的 TonB 蛋白二聚体与外膜受体 FhuA 相互作用介导 Siderophore 的摄取^[29]。大部分 TonB 蛋白羧基端结构域不具有第四个 β 折叠结构,不能形成二聚体结构^[10],所以 TonB 蛋白二聚体结构对其功能的发挥可能并不是必需的;亦或是不同类型的 TonB 蛋白的作用机制不尽相同。

在大部分 TonB 蛋白的羧基端结构域都含有高度保守的“YP”基序,该基序能与 TBDTs 氨基端的 TonB-box 相互接触。例如:“YP”基序的酪氨酸能与维生素 B₁₂ 的 TonB 依赖性受体 BtuB^[30],高铁色素受体 FhuA^[31] 等的 TonB-box 紧密接触。除了“YP”基序,大部分 TonB 蛋白的羧基端结构域的第二 β 折叠和第二 α 螺旋之间的环形结构还形成一个保守的基序“SSG”,该基序并不能与 TBDTs 直接接触,可能在与受体识别过程中起作用^[10]。

2.4 TonB-box 反应

TBDTs 的氨基端塞子结构上有一段高度保守的氨基酸残基被称为 TonB-box^[16]。TonB-box 能与 TonB 的羧基端结构域发生相互作用。定点二硫键试验表明,当维生素 B₁₂ 存在情况下,大肠杆菌 TonB 蛋白的 160 位氨基酸残基附近与 BtuB 的 TonB-box 之间相互靠拢并形成异源二聚结构^[32];化学位移扰动试验表明,大肠杆菌的 FhuA, FepA 和 BtuB 蛋白的 TonB-box 区域能结合 TonB 蛋白的羧基端结构域的同区域^[24]。

虽然不同细菌 TonB 蛋白的序列具有差异性,但总体上都由 3 个相对独立的结构域组成,即氨基端结构域,中间结构域和羧基端结构域。TonB 蛋白的这种结构组织特点,与它的作用机制相关。因为, TonB 蛋白既要在质膜与 ExbB-ExbD 相互作用,又要跨过周质与外膜受体相互作用。

3 TonB 系统作用机制模型

尽管部分 TonB 蛋白的羧基端结构域和 TBDTs

的晶体结构已经得到解析,并且两者之间发生相互作用也被证实,但 TonB 蛋白如何与 TBDTs 发生相互作用以及如何介导营养物质的转运依未被揭示。关于 TonB 系统的作用机制共有四种假设的模型,分别为螺旋模型、穿梭模型、牵引模型和 PBP 辅助模型^[28]。

3.1 螺旋模型

在这种作用模型中,ExbB-ExbD 转换质膜的质子梯度势能使 TonB 蛋白二聚体产生螺旋的运动,进而使与 TonB 蛋白相互作用的 TBDTs 的 N 端塞子结构发生构象改变或者发生位移,桶状通道打开,营养物质通过桶状结构进入周质^[28]。二聚 TonB 蛋白与 FhuA/BtuB 相互作用支持这一假设^[29-30]。但是质膜的 ExbB-ExbD 复合物是否存在稳定的区域固定螺旋运动的 TonB 还尚不清楚。大部分 TonB 蛋白不能形成二聚体结构^[10]的特点进一步否定该模型。

3.2 穿梭模型

TonB 蛋白既能通过 TBDTs 与外膜接触,又能锚定于质膜,还能脱离质膜游离于周质中^[33]。在穿梭模型中,ExbB-ExbD 转化质膜的质子梯度势能使 TonB 蛋白由非能量状态变为能量状态,并脱离质膜,穿过周质与 TBDTs 的 TonB-box 区域相互作用。最后, TonB 释放能量使 TBDTs 的氨基端塞子结构发生构象变化,营养物质通过桶状结构进入周质^[33-34]。TonB 蛋白的非能量状态和能量状态的结构如何区分? TonB 蛋白如何回到质膜上与 ExbB-ExbD 相互作用? 这些均需要实验去证实^[28]。

3.3 牵引模型

在牵引模型中, TonB 蛋白绑定于质膜上,跨过质膜与 TBDTs 相互作用。TonB 系统给 TBDTs 的氨基端塞子结构一个牵引力,使塞子的 4 个 β 折叠部分打开,营养物质便通过桶状结构进入周质^[35-36]。

3.4 PBP 辅助模型

在 TonB 依赖性的物质转运过程中大多需要 PBP 的参与(图 1)。在 PBP 辅助模型中, TonB 作为支持物,使周质绑定蛋白 PBP 与相应的 TBDTs 接触,同时发生 TonB-TonB-box 反应,营养物质通过外膜受体与 PBP 绑定。随后, TonB 蛋白转运 PBP 到质膜上的 ABC 转运体完成营养物质的转运。该模

型虽然解释了所有参与到转运过程的蛋白的功能,但是并未强调能量的产生和利用^[28]。

上述四种 TonB 系统的作用机制均不完美,可能因为相关的理论依据不够充分。研究 TonB 系统作用机制不仅要从 TonB 蛋白的高级结构入手,更多的需要从蛋白相互作用方面进行研究。弄清楚 TonB 蛋白如何与 ExbB-ExbD 和 TBDTs 相互作用及相互作用后的结构变化等才能更好地解释 TonB 系统的作用机制。

4 TonB 蛋白的表达调控

包括 TonB 在内的与多数铁源转运相关蛋白的转录及表达受铁转运调节蛋白 Fur 的调控^[39]。在细胞内铁离子浓度较高时, Fur 蛋白利用 Fe^{2+} 作为辅因子,高亲和力的绑定于 *tonB* 基因或 *exbB* 基因上游启动子区域的 Fur-box 序列,阻碍 RNA 聚合酶结合启动子区域,抑制 *tonB* 或 *exbB-exbD-tonB* 的转录;当细胞内铁离子浓度降低时, Fur 蛋白释放 Fe^{2+} 并离开 Fur-box 序列, RNA 聚合酶结合启动子区域并启动基因的转录^[39]。研究表明,参与创伤弧菌转运 Siderophore 的 TonB1 和 TonB2 系统在铁限制环境中表达升高^[40];鲍氏不动杆菌中与铁源转运至关重要的 *tonB3* 基因具有 Fur-box 序列, *tonB3* 在铁限制环境中转录水平升高 4.5 倍^[41]。

创伤弧菌的 TonB3^[40] 和鲍氏不动杆菌的 TonB1 及 TonB2 在铁限制性环境中转录水平无明显变化^[41]。这表明部分 TonB 可能受 Fur 之外的其它方式的调控。Alice AF (2012) 发现创伤弧菌 *tonB3* 基因启动子的 RNA 聚合酶结合区域附近能被全局调控子亮氨酸响应蛋白 Lrp 和环腺苷酸受体蛋白 CRP 结合并发生转录调节作用^[42]。受全局调控子的调控使 TonB 系统更加稳定地能适应不同环境。在其它的细菌中, TonB 系统也可能具有这种调节机制。

我们在研究鸭疫里默氏杆菌 3 个 *tonB* 基因时发现,虽然 3 个 *tonB* 基因的转录均不受外界环境中血红素的调控,但是 TonB2 在血红素环境中的表达量有明显变化(未发表)。这就说明, TonB2 蛋白受转录后的调节。总之, TonB 蛋白的表达在

不同的细菌受不同因素的调节,而且调节机制也不尽相同。

5 问题和展望

文献报道的 TBDTs 将近 100 种^[28],生物信息学分析在 347 个物种中发现了 4600 余种假定的 TBDTs^[43]。这表明,除了已发现由 TonB 系统介导转运的营养物质外, TonB 系统可能参与更多更重要的物质的转运^[22],发现这些潜在的物质应该作为未来研究的方向之一。虽然对 TonB 系统作用机制的研究已有多多年,提出的作用机制假设主要有 4 种,但都不能完美的解释 TonB 系统的作用过程。弄清楚 TonB 的作用机制有助于进一步了解营养物质的转运过程及细菌的致病机理,这也是未来的研究方向之一。对革兰氏阴性菌 TonB 系统的研究,有助于进一步了解致病菌逃避宿主营养免疫的机制,为预防和治疗细菌性疾病提供理论依据和参考。

参考文献

- [1] Kehl-Fie TE, Skaar EP. Nutritional immunity beyond iron: a role for manganese and zinc. *Current Opinion in Chemical Biology*, 2010, 14 (2) : 218-224.
- [2] Hood MI, Skaar EP. Nutritional immunity: transition metals at the pathogen-host interface. *Nature Reviews Microbiology*, 2012, 10 (8) : 525-537.
- [3] Sverzhinsky A, Fabre L, Cottreau AL, Biot-Pelletier DM, Khalil S, Bostina M, Rouiller I, Coulton JW. Coordinated rearrangements between cytoplasmic and periplasmic domains of the membrane protein complex ExbB-ExbD of *Escherichia coli*. *Structure*, 2014, 22 (5) : 791-797.
- [4] Runyen-Janecky LJ. Role and regulation of heme iron acquisition in gram-negative pathogens. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, 2013, 3: 55.
- [5] Bradbeer C. The proton motive force drives the outer membrane transport of cobalamin in *Escherichia coli*. *Journal of Bacteriology*, 1993, 175 (10) : 3146-3150.
- [6] Neugebauer H, Herrmann C, Kammer W, Schwarz G, Nordheim A, Braun V. ExbBD-dependent transport of maltodextrins through the novel MalA protein across the outer membrane of *Caulobacter crescentus*. *Journal of*

- Bacteriology, 2005, 187 (24) : 8300-8311.
- [7] Schauer K GB, Carrière M, Labigne A, de Reuse H. Novel nickel transport mechanism across the bacterial outer membrane energized by the TonB/ExbB/ExbD machinery. *Molecular Microbiology*, 2007, 63 (4) : 1054-1068.
- [8] Samanovic MI, Ding C, Thiele DJ, Darwin KH. Copper in microbial pathogenesis: meddling with the metal. *Cell Host & Microbe*, 2012, 11 (2) : 106-115.
- [9] Stork M, Grijpstra J, Bos MP, Manas Torres C, Devos N, Poolman JT, Chazin WJ, Tommassen J. Zinc piracy as a mechanism of *Neisseria meningitidis* for evasion of nutritional immunity. *PLoS Pathogens*, 2013, 9 (10) : e1003733.
- [10] Chu BC, Peacock RS, Vogel HJ. Bioinformatic analysis of the TonB protein family. *Biometals : an International Journal on the Role of Metal Ions in Biology, Biochemistry, and Medicine*, 2007, 20 (3-4) : 467-483.
- [11] Nairz M, Schroll A, Sonnweber T, Weiss G. The struggle for iron - a metal at the host-pathogen interface. *Cellular Microbiology*, 2010, 12 (12) : 1691-1702.
- [12] Wandersman C, Delepelaire P. Bacterial iron sources: from siderophores to hemophores. *Annual Review of Microbiology*, 2004, 58 : 611-647.
- [13] Schalk IJ, Guillon L. Fate of ferrisiderophores after import across bacterial outer membranes: different iron release strategies are observed in the cytoplasm or periplasm depending on the siderophore pathways. *Amino Acids*, 2013, 44 (5) : 1267-1277.
- [14] Chu BC, Otten R, Krewulak KD, Mulder FA, Vogel HJ. The solution structure, binding properties, and dynamics of the bacterial siderophore-binding protein FepB. *The Journal of Biological Chemistry*, 2014, 289 (42) : 29219-29234.
- [15] Carter DM, Miousse IR, Gagnon JN, Martinez E, Clements A, Lee J, Hancock MA, Gagnon H, Pawelek PD, Coulton JW. Interactions between TonB from *Escherichia coli* and the periplasmic protein FhuD. *The Journal of Biological Chemistry*, 2006, 281 (46) : 35413-35424.
- [16] Noinaj N, Guillier M, Barnard TJ, Buchanan SK. TonB-dependent transporters: regulation, structure, and function. *Annual Review of Microbiology*, 2010, 64 : 43-60.
- [17] Tullius MV, Harmston CA, Owens CP, Chim N, Morse RP, McMath LM, Iniguez A, Kimmey JM, Sawaya MR, Whitelegge JP, Horwitz MA, Goulding CW. Discovery and characterization of a unique *mycobacterial* heme acquisition system. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2011, 108 (12) : 5051-5056.
- [18] Tong Y, Guo M. Bacterial heme-transport proteins and their heme-coordination modes. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 2009, 481 (1) : 1-15.
- [19] Izadi-Pruneyre N, Huche F, Lukat-Rodgers GS, Lecroisey A, Gilli R, Rodgers KR, Wandersman C, Delepelaire P. The heme transfer from the soluble HasA hemophore to its membrane-bound receptor HasR is driven by protein-protein interaction from a high to a lower affinity binding site. *The Journal of Biological Chemistry*, 2006, 281 (35) : 25541-25550.
- [20] Fournier C, Smith A, Delepelaire P. Haem release from haemopexin by HxuA allows *Haemophilus influenzae* to escape host nutritional immunity. *Molecular Microbiology*, 2011, 80 (1) : 133-148.
- [21] Croft MT, Lawrence AD, Raux-Deery E, Warren MJ, Smith AG. Algae acquire vitamin B12 through a symbiotic relationship with bacteria. *Nature*, 2005, 438 (7064) : 90-93.
- [22] Schauer K, Rodionov DA, de Reuse H. New substrates for TonB-dependent transport: do we only see the 'tip of the iceberg'? *Trends in Biochemical Sciences*, 2008, 33 (7) : 330-338.
- [23] Porcheron G, Garenaux A, Proulx J, Sabri M, Dozois CM. Iron, copper, zinc, and manganese transport and regulation in pathogenic Enterobacteria: correlations between strains, site of infection and the relative importance of the different metal transport systems for virulence. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, 2013, 3 : 90.
- [24] Sean Peacock R, Weljie AM, Peter Howard S, Price FD, Vogel HJ. The solution structure of the C-terminal domain of TonB and interaction studies with TonB box peptides. *Journal of Molecular Biology*, 2005, 345 (5) : 1185-1197.
- [25] Karlsson M, Hannavy K, Higgins CF. A sequencespecific function for the N-terminal signal-like sequence of the TonB protein. *Molecular Microbiology*, 1993, 8 (2) : 379-

- 388.
- [26] Larsen RA, Postle K. Conserved residues Ser (16) and His (20) and their relative positioning are essential for TonB activity, cross-linking of TonB with ExbB, and the ability of TonB to respond to proton motive force. *The Journal of Biological Chemistry*, 2001, 276 (11) : 8111–8117.
- [27] Zhao Q, Poole K. Mutational analysis of the TonB1 energy coupler of *Pseudomonas aeruginosa*. *Journal of Bacteriology*, 2002, 184 (6) : 1503–1513.
- [28] Krewulak KD, Vogel HJ. TonB or not TonB: is that the question? *Biochemistry and Cell Biology (Biochimie et Biologie Cellulaire)*, 2011, 89 (2) : 87–97.
- [29] Khursigara CM, De Crescenzo G, Pawelek PD, Coulton JW. Deletion of the proline-rich region of TonB disrupts formation of a 2 : 1 complex with FhuA, an outer membrane receptor of *Escherichia coli*. *Protein Science : a Publication of the Protein Society*, 2005, 14 (5) : 1266–1273.
- [30] Shultis DD, Purdy MD, Banchs CN, Wiener MC. Outer membrane active transport: structure of the BtuB: TonB complex. *Science*, 2006, 312 (5778) : 1396–1399.
- [31] Pawelek PD, Croteau N, Ng-Thow-Hing C, Khursigara CM, Moiseeva N, Allaire M, Coulton JW. Structure of TonB in complex with FhuA, *E. coli* outer membrane receptor. *Science*, 2006, 312 (5778) : 1399–1402.
- [32] Cadieux N, Bradbeer C, Kadner RJ. Sequence changes in the ton box region of BtuB affect its transport activities and interaction with TonB protein. *Journal of Bacteriology*, 2000, 182 (21) : 5954–5961.
- [33] Larsen RA, Letain TE, Postle K. In vivo evidence of TonB shuttling between the cytoplasmic and outer membrane in *Escherichia coli*. *Molecular Microbiology*, 2003, 49 (1) : 211–218.
- [34] Letain TE, Postle K. TonB protein appears to transduce energy by shuttling between the cytoplasmic membrane and the outer membrane in *Escherichia coli*. *Molecular Microbiology*, 1997, 24 (2) : 271–283.
- [35] Gumbart J, Wiener MC, Tajkhorshid E. Mechanics of force propagation in TonB-dependent outer membrane transport. *Biophysical Journal*, 2007, 93 (2) : 496–504.
- [36] Ma L, Kaserer W, Annamalai R, Scott DC, Jin B, Jiang X, Xiao Q, Maymani H, Massis LM, Ferreira LC, Newton SM, Klebba PE. Evidence of ball-and-chain transport of ferric enterobactin through FepA. *The Journal of Biological Chemistry*, 2007, 282 (1) : 397–406.
- [37] Thompson JM, Jones HA, Perry RD. Molecular characterization of the hemin uptake locus (hmu) from *Yersinia pestis* and analysis of hmu mutants for hemin and hemoprotein utilization. *Infection and Immunity*, 1999, 67 (8) : 3879–3892.
- [38] Korkhov VM, Mireku SA, Locher KP. Structure of AMP-PNP-bound vitamin B12 transporter BtuCD-F. *Nature*, 2012, 490 (7420) : 367–372.
- [39] Lee HJ, Bang SH, Lee KH, Park SJ. Positive regulation of *fur* gene expression via direct interaction of *fur* in a pathogenic bacterium, *Vibrio vulnificus*. *Journal of Bacteriology*, 2007, 189 (7) : 2629–2636.
- [40] Alice AF, Naka H, Crosa JH. Global gene expression as a function of the iron status of the bacterial cell: influence of differentially expressed genes in the virulence of the human pathogen *Vibrio vulnificus*. *Infection and Immunity*, 2008, 76 (9) : 4019–4037.
- [41] Zimble DL, Arivett BA, Beckett AC, Menke SM, Actis LA. Functional features of TonB energy transduction systems of *Acinetobacter baumannii*. *Infection and Immunity*, 2013, 81 (9) : 3382–3394.
- [42] Alice AF, Crosa JH. The TonB3 system in the human pathogen *Vibrio vulnificus* is under the control of the global regulators Lrp and cyclic AMP receptor protein. *Journal of Bacteriology*, 2012, 194 (8) : 1897–1911.
- [43] Mirus O, Strauss S, Nicolaisen K, von Haeseler A, Schleiff E. TonB-dependent transporters and their occurrence in cyanobacteria. *BMC Biology*, 2009, 7: 68.

Structural features and functional mechanism of TonB in some Gram-negative bacteria—A review

Hebin Liao^{1,2,3}, Mafeng Liu^{1,2,3*}, Anchun Cheng^{1,2,3*}

¹Institute of Preventive Veterinary Medicine, College of Veterinary Medicine, Sichuan Agriculture University, Chengdu 611130, Sichuan Province, China

²Avian Disease Reserch Center, College of Veterinary Medicine, Sichuan Agriculture University, Ya'an 625014, Sichuan Province, China

³Key Laboratory of Animal Disease and Human Health of Sichuan Province, Chengdu 611130, Sichuan Province, China

Abstract: TonB systems of gram-negative bacteria play an important role in transportation of nutriment from outside environments. TonB systems consist of plasma membrane proteins ExbB-ExbD and periplasmic protein TonB, which provide the energy to TonB-dependent receptors to transport substrates. These substrates include iron, hemin, vitamin B₁₂, carbohydrate and some transition metal elements. The energy supporting function of TonB relies on its special structure which contains N-terminal domain for fixation, flexible periplasmic linker Pro-rich domain and C-terminal domain for contacting receptors. The precise mechanism of TonB system is not fully understood though its structural was studied a lot. To provide insights into direction for further research of TonB, we reviewed the TonB-dependent substrates uptake, structural features, functional mechanism and expression regulation of TonB.

Keywords: Gram-negative bacteria, TonB, TonB-dependent receptors, Iron ion, Hemin, Vitamin B₁₂

(本文责编:张晓丽)

Supported by the National Natural Science Foundation of China (31302131), by the Research Fund for the Doctoral Program of Higher Education of China (20135103120006) and by the China Postdoctoral Science Foundation (2014M552378)

* Corresponding author. Tel: +86-835-2885836; Fax: +86-835-2885774; E-mail: liumafengra@163.com (Mafeng Liu); E-mail: chenganchun@vip.163.com (Anchun Cheng)

Received: 7 November 2014 / Revised: 4 January 2015

1953 年创刊以来所有文章全文上网

从 2008 年 1 月开始《微生物学报》的所有文章开始全文上网了。欢迎广大读者登陆本刊主页 (<http://journals.im.ac.cn/actamicrocn>) 浏览、查询、免费下载全文! 由于《微生物学报》历史久远, 为方便读者查阅, 将刊期变化作以下统计。

《微生物学报》刊、卷、期统计表

2015 年 5 月统计

时间	刊期	卷号	期号
1953 - 1956	半年刊	1 - 4	1 - 2
1957 - 1958	季刊	5 - 6	1 - 4
1959	季刊	7	1 - 2
1959 - 1962	停刊 3 年		
1962	季刊	8	3 - 4
1963 - 1965	季刊	9 - 11	1 - 4
1966	季刊	12	1 - 2
1966 - 1972	停刊 6 年半		
1973 - 1988	季刊	13 - 28	1 - 4
1989 - 2007	双月刊	29 - 47	1 - 6
2008 - 2014	月刊	48 - 54	1 - 12
2015	月刊	55	1 - 5