



革兰氏阴性菌亚铁离子转运系统的组成及作用机制

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

¹ 四川农业大学动物医学院, 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 成都 611130

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: 几乎所有细菌的生长都离不开铁元素。在有氧的环境中, 三价铁离子几乎无法被细菌直接利用。但是在宿主胃肠道中, 铁元素主要以可溶性的亚铁离子形式存在, 它们可通过革兰氏阴性菌外膜直接进入胞周质, 在周质通过亚铁离子转运系统, 将铁离子转运至胞浆供细菌利用。绝大多数阴性菌主要是通过Feo转运系统利用亚铁离子, 大肠杆菌的Feo转运系统由feoA、feoB和feoC 3个基因组成。除Feo转运系统外, 还发现Yfe转运系统、Efe转运系统、Sit转运系统等。本文重点介绍革兰氏阴性菌Feo转运系统的组成及作用机制, 以期为进一步研究细菌亚铁离子的转运机制提供参考。

关键词: 革兰氏阴性菌, 亚铁离子, Feo转运系统

铁元素对于绝大多数细菌来说是必不可少的营养物质^[1]。细菌细胞内的氧化还原反应, 呼吸作用和DNA前体的合成都离不开铁元素^[2-4], 而且铁元素在增强细菌毒力方面也有十分重要的作用^[5]。铁元素在自然界中分布较广, 在地壳里所含的金属元素中, 铁元素的含量占第2位, 仅次于铝元素。铁元素是过渡金属的一种, 其化学性质比较活泼, 在有氧的环境中往往以+3价化合物的形式存在, 而且极不溶于水^[6], 如: $\text{Fe}(\text{OH})_3$ 、

Fe_2O_3 、 Fe_2S_3 等。以这种形式存在的三价铁离子几乎无法被细菌直接利用。在宿主体内, 铁离子主要以血红素、转铁蛋白、乳铁蛋白等形式存在。在长期的进化过程中, 细菌进化出了利用这些物质作为铁源的系统。有些细菌如大肠杆菌、铜绿假单胞杆菌等通过分泌一种三价铁离子高亲和力的化合物—铁载体(siderophore)来螯合并且转运三价铁离子^[7]。有些细菌, 如大肠杆菌、流感嗜血菌、牙龈卟啉单胞菌等编码血红素转运系统

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); 四川省博士后特别资助基金

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

收稿日期: 2015-09-08; 修回日期: 2015-10-24; 网络出版日期: 2015-12-31

来转运血红素作为它的铁离子来源^[8-9]。而亚铁离子只有在低氧和低pH的环境中占主导。在人体或者动物体中，亚铁离子主要分布在胃肠道，在肠道中被转运蛋白转运到肠上皮细胞进入血液。几乎所有的铁元素吸收入血后都被转铁蛋白绑定，运输到靶细胞，这些铁元素用于血红素的合成、形成铁硫簇、存储在铁蛋白中等，以免游离的铁元素通过芬顿反应产生有害的自由基。肠道致病菌如幽门螺旋杆菌、大肠杆菌等可以直接利用胃肠道的亚铁离子^[10]。亚铁离子被认为是细菌利用铁的首选形式，因为它相对于三价铁是可溶的(在pH 7的环境中， Fe^{3+} 溶解 10^{-18} mol/L， Fe^{2+} 溶解0.1 mol/L)，可溶性的亚铁离子通过外膜直接进入胞周质^[6,11-12]，方便细菌对铁的摄取。所以细菌通常在宿主的胃肠道，广泛利用亚铁离子作为主要的铁离子来源。目前对Feo转运系统结构组成和作用机制的研究比较清楚，本文主要就Feo转运系统的作用机制、调控以及亚铁离子转运系统在宿主致病中的作用做一综述。

1 Feo转运系统的结构及各组分的功能

大约80%的革兰氏阴性菌如大肠杆菌、幽门螺旋杆菌、肠道沙门氏菌等通常利用一个独特类型的转运系统—Feo转运系统，专门从外界环境中摄取亚铁离子^[1,6,12-14]。Feo转运系统在大肠杆菌K-12中首次被发现和鉴定，其Feo转运系统由*feoA*、*feoB*和*feoC* 3个基因组成，这3个基因共用一个操纵子，*feoA*基因位于上游，*feoB*基因在*feoA*和*feoC*基因之间，*feoC*基因位于下游，它们分别编码FeoA蛋白、FeoB蛋白和FeoC蛋白^[2,15]。经过研究发现，不同细菌的Feo转运系统组成不一样，目前仅发现变形杆菌属细菌的Feo转运系统由*feoA*、*feoB*和*feoC* 3个基因组成^[6,16]，其它细菌属如芽单胞菌属细菌的Feo转运系统只有*feoA*和*feoB*基因。

下面以变形杆菌属的大肠杆菌为例，了解Feo转运系统的结构及各组分的功能。

1.1 FeoA的结构及功能

*feoA*基因编码一个位于细胞质中的小的可溶性球状蛋白。序列分析表明，不同细菌的FeoA蛋白由75到85个数量不等的氨基酸残基组成，其中第26位的亮氨酸残基、30位和34位的甘氨酸残基、44位和48位的脯氨酸残基、59位的精氨酸残基在不同细菌中的保守性较高。大肠杆菌的FeoA蛋白由75个氨基酸残基组成，其分子量大小为8.4 kDa，它具有较高的等电点(pI=9.4)，在中性环境中，FeoA蛋白带正电，所以在这种环境中，它可能与带负电的蛋白相互作用^[16]。Lau等使用核磁共振的方法得出大肠杆菌FeoA蛋白由5个 β 转角和2个 α 螺旋组成，其中5个 β 转角形成1个 β 桶，不同细菌中的 β 桶结构比较保守。第1个 α 螺旋紧跟在第1个 β 转角后，在 β 桶上方形成盖子结构；第2个 α 螺旋处于第4和第5个 β 转角之间。FeoA蛋白具有可溶的SH3 (Src homology 3)域，它与真核生物的SH3域结构十分相似^[17]，所以Lau等猜测FeoA蛋白的SH3域与真核生物的SH3域具有相似的功能——调解蛋白质与蛋白质之间的相互作用^[2]。超过80%的细菌*feoA*和*feoB*基因是共转录^[6,16]，且FeoB蛋白在中性环境中带负电，所以FeoA蛋白和FeoB蛋白之间可能有密切的关系。

1.2 FeoB的结构及功能

FeoB蛋白是最重要的亚铁离子转运蛋白。大肠杆菌的FeoB蛋白由773个氨基酸残基组成，其分子量大小为84.5 kDa，它的等电点为5.8。FeoB蛋白由2个主要结构域组成：一个N端亲水性的胞质域和C端跨膜多面体域(图1)。其N端胞质域包括一个G蛋白域和一个GDI(鸟嘌呤核苷酸分解抑制剂)域；C端跨膜多面体域是由2个镶嵌在细胞内膜中的“门”结构组成，2个“门”结构之间形成一个转运亚铁离子的孔隙^[16]。其中G蛋白由G1、G2、G3和

G4 4个区域和具有调控G蛋白与传递信息功能的SwitchI和SwitchII组成。G蛋白与核苷酸的亲和力比较弱,且具有很弱的GTPase活性,能够缓慢水解GTP和快速释放GDP^[18]。GDI域由5个 α 螺旋组成,是一个内部调节器,能够调节G蛋白水解GTP的速率^[13,18]。不同物种的跨膜多面体域由数量不等的 α 螺旋组成,大肠杆菌FeoB蛋白的跨膜多面体域由8个 α 螺旋组成,前4个 α 螺旋形成一个“门”结构,后4个 α 螺旋形成第2个“门”结构(图1),在第2个门中有一个保守的核心区域,此区域具有组氨酸残基、蛋氨酸残基、谷氨酸残基和半胱氨酸残基,能够与铁形成配位体,有利于亚铁离子的转运^[2]。此外,位于细胞内膜上的FtsH蛋白酶,能够水解FeoB蛋白,防止过多的亚铁离子被转运至细胞内。

1.3 FeoC的结构及功能

FeoC蛋白也是处于细胞质中的小蛋白,它只存在于变形杆菌属的细菌中^[19]。不同细菌FeoC蛋白的氨基酸序列中第75位和76位的色氨酸残基保守性很高。大肠杆菌的FeoC蛋白由78个氨基酸残

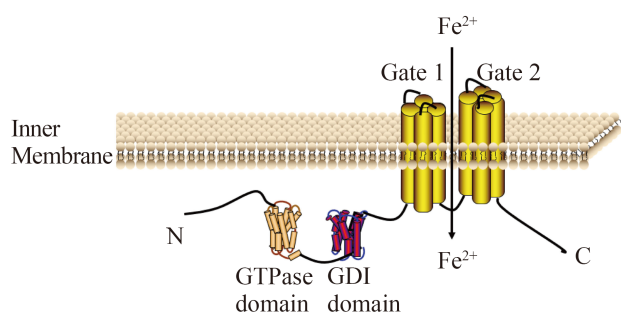


图 1. 大肠杆菌FeoB蛋白的结构示意图

Figure 1. Schematic of the structure of *Escherichia coli* FeoB protein. The *E. coli* FeoB protein is composed of a hydrophilic N-terminal domain and a C-terminal transmembrane domain. The N-terminal has a cytoplasmic GTPase domain and a GDI domain; the C-terminal transmembrane domain contains two homologous ‘Gate’ motifs which embedded in inner membrane, the two ‘Gate’ motifs may form the pore for ferrous transport.

基组成,其分子量大小为8.6 kDa,它的等电点为7.7,在中性环境中,FeoC蛋白带较少的正电^[16]。FeoC蛋白由3个 α 螺旋、2个反向平行的 β 转角和1个“winged”螺旋组成^[19],此“winged”螺旋大约由20个氨基酸残基组成,含有4个半胱氨酸残基的(CX4CXXCX5-8C)保守区域,其中半胱氨酸残基保守区域是一个Fe-S簇结合位点,在高氧或低氧的环境中,Fe-S簇结合位点与[4Fe-4S]解离或结合^[11,16]。在细胞质中存在水解FeoC蛋白的Lon蛋白酶,它可以水解没有绑定[4Fe-4S]的FeoC蛋白,但是当FeoC蛋白与[4Fe-4S]结合后,将不受Lon蛋白酶的影响^[11]。

2 Feo转运系统的作用机制

细胞外的亚铁离子通过外膜进入胞周质,在低氧的环境中,亚铁离子与FeoB蛋白的跨膜保守区域形成稳定的配合物。Kim等通过细菌双杂交实验表明,在细菌细胞内,FeoA蛋白的SH3域绑定到FeoB蛋白的G蛋白域上,2个蛋白相互作用^[6,20-22],激活G蛋白水解GTP生成GDP和Pi并释放能量^[18]。此过程引起FeoB蛋白的SwitchI和SwitchII的构象发生改变,SwitchII通过构象改变把信息传递给GDI域^[13,18,23],一方面GDI域解除其对鸟嘌呤核苷酸分解的抑制性,增强G蛋白水解GTP的能力,释放更多的能量供亚铁离子的转运;另一方面GDI域将信息传递给FeoB蛋白的跨膜多面体域,跨膜多面体域接受信号后利用G蛋白水解GTP释放的能量,将亚铁离子从2个“门”之间的孔隙转运到细胞内^[24-25]。与此同时,FeoC蛋白与[4Fe-4S]簇绑定在一起,避免FeoC蛋白被细胞质中的Lon蛋白酶水解。此外,Kim等过细菌双杂交实验表明,FeoC蛋白能够绑定到FeoB蛋白的N端区域,防止位于细胞内膜上的FtsH蛋白酶水解FeoB蛋白,保持FeoB蛋白的稳定性,有助于FeoB蛋白转运亚铁离子^[11-12]。当在氧气充足的环

境中, [4Fe-4S]被氧化为[3Fe-4S], 无法绑定到FeoC蛋白, 随后FeoC蛋白迅速地被Lon蛋白酶水解^[26], 绑定到FeoB蛋白N端区域的FeoC蛋白急剧减少, 与FeoC蛋白解离的FeoB蛋白被FtsH蛋白酶水解^[27-28], FeoB蛋白的含量也急剧减少, 亚铁离子的转运量减少。

3 Feo转运系统的调节机制

虽然铁元素对细菌来说十分重要, 但是过多的铁元素对细菌有一定的毒性。当细胞内铁元素含量过多, 通过芬顿反应会产生大量的剧毒羟基自由基^[29-30], 特别是在氧气充足的条件下, 更加有助于芬顿反应, 产生更多的羟基自由基, 这些羟基自由基对机体的损伤主要有: 使脂质过氧化而破坏生物膜; 与蛋白质氨基酸残基或者巯基反应, 导致蛋白质功能或酶活性丧失; 破坏核酸结构, 导致变异的出现与蓄积。因此细胞内铁元素的浓度必须被精细的调控。经过研究发现Fnr和Fur是稳定细胞内铁元素水平的主要的调节机制^[29], 防止有毒害作用的羟基自由基的形成。

3.1 Fur调节Feo转运系统的机制

Fur是亚铁离子依赖性转录阻遏蛋白, 在有亚铁离子作为其辅助因子的条件下, Fur以二聚体形式与相应基因启动子区结合, 阻遏基因的转录。Feo转运系统的转录也受到Fur的调控, Fur作为亚铁离子的感受器抑制Feo转运系统的转录^[15,31]。当细菌细胞内亚铁离子浓度比较高时, 亚铁离子会与Fur结合形成Fur-Fe²⁺复合物, 此复合物绑定到位于*feoA*基因启动子上游的Fur box (AGAAACCA TTCTCATTATC)^[15], 从而抑制Feo转运系统的转录, 减少Feo转运蛋白形成, 降低细胞内亚铁离子水平^[31-33]。当细菌细胞内亚铁离子浓度比较低时, Fur-Fe²⁺复合物中的亚铁离子会与Fur解离, 使Fur离开Fur box, 解除其对Feo转运系统转录的抑制(图2)。

3.2 Fnr调节Feo转运系统的机制

氧的传感器Fnr在缺氧环境中, 作为转录的激活因子, 激活某些基因的转录, Feo转运系统的转录也受到Fnr的调控^[34]。Fnr是具有Fe-S簇活性的转录因子, 当环境中氧气含量比较低时, Fe-S簇以[4Fe-4S]的形式存在, [4Fe-4S]与Fnr形成二聚体, 此二聚体绑定到Fur box上游的Fnr box(AA CCTTGAGCCACATCAACATT)上^[15], 激活Feo转运系统的转录过程, 增加Feo转运蛋白形成, 提高细胞内亚铁离子水平^[34]。[4Fe-4S]对Fnr的稳定性至关重要, 在高氧的环境中, Fnr与[4Fe-4S]分离, 随后离开Fnr box绑定位点, 被细胞质中的ClpXP蛋白酶水解, Feo转运系统的转录过程受到抑制^[35](图2)。

3.3 RstA/RstB双组分信号转导系统调节Feo转运系统的机制

除了Fur和Fnr调节机制外, 某些细菌如大肠杆菌、肠道沙门氏菌等还有RstA/RstB双组分信号转导系统, 用于调控Feo转运系统的基因表达^[29]。RstB蛋白处于细菌的细胞内膜上, 其有一部分存在于细胞质中, 当外界环境中亚铁离子浓度比较高时, 亚铁离子作为一种信号因子激活RstB蛋白, 使RstB处于细胞质中的部分与RstA蛋白相互作用, 导致RstA蛋白磷酸化^[36]。接着被磷酸化的RstA蛋白直接绑定到*feoA*的启动子上, 激活Feo转运系统的操纵子编码亚铁离子的转运蛋白^[29], 亚铁离子转运量会增加, 细胞内亚铁离子浓度增高, 过多的亚铁离子与Fur蛋白形成Fur-Fe²⁺复合物, 此复合物绑定到Fur box上, 反过来抑制Feo基因的表达^[31,37]。

4 其它亚铁离子转运机制

虽然说大多数革兰氏阴性菌主要以Feo转运系统去摄取亚铁离子, 但是细菌也有其它转运亚铁离子的机制, 如Yfe转运系统、Efe转运系统等^[38]。有利于细菌在不同的环境中摄取足够的铁, 以保

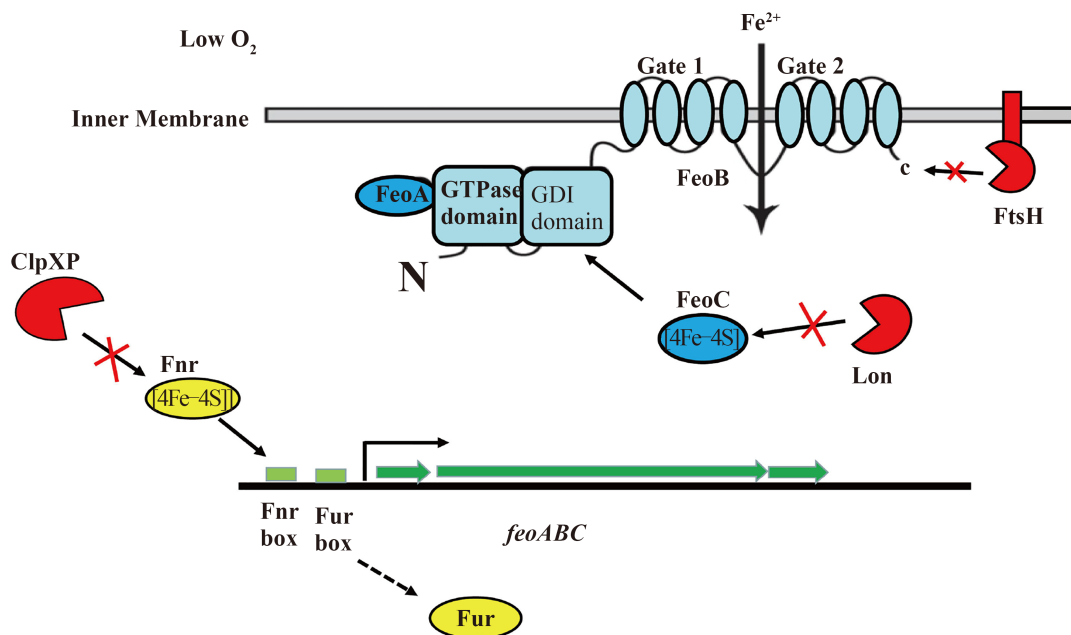


图 2. 大肠杆菌Feo转运系统的作用机制示意图^[11]

Figure 2. Schematic of the mechanism of *Escherichia coli* Feo transport system^[11]. In hypoxic environment, Fnr protein unites with [4Fe-4S] to form dimer, which prevent ClpXP protein degrade Fnr protein, then Fnr protein bounds to Fnr box. At the same time, Fur protein was released from Fur box and activate the *feo* promoter. FeoA protein unites with GTPase domain of FeoB protein; FeoC protein bounds to [4Fe-4S] to prevent Lon protease degrade FeoC protein, then FeoC protein bound N-terminal domain of FeoB to prevent FtsH protease degrade FeoB protein. FeoA protein and FeoC protein help FeoB protein to transport ferrous.

障自身生理活动的需求。下面就简单地介绍一下Yfe转运系统的机制。

某些革兰氏阴性菌如大肠杆菌、肠道沙门氏菌等还具有转运亚铁离子和锰离子的转运系统—Yfe转运系统，它是Sit转运体系的一部分^[38]。Yfe转运系统由1个处于胞周质的绑定性蛋白(YfeA)、1个ATPase (YfeB)、2个镶嵌在内膜上的透性酶(YfeC和YfeD)和1个内膜上的未知功能的蛋白(YfeE)组成，此转运系统主要参与亚铁离子的转运过程。Yfe转运系统有2个操纵子：*yfeABCD*和*yfeE*，分别编码YfeA、YfeB、YfeC、YfeD蛋白和YfeE蛋白^[39-40]。当亚铁离子进入到胞周质时，YfeA蛋白就会与亚铁离子结合形成复合物，此复合物到达内膜上的透性酶YfeC和YfeD，在YfeB蛋

白分解ATP供能的条件下，YfeA蛋白释放亚铁离子，随后透性酶YfeC和YfeD将亚铁离子转运到细胞内。胞周质中的锌离子也能与YfeA蛋白结合，但是透性酶YfeC和YfeD却无法转运锌离子，所以锌离子可以竞争性的结合YfeA蛋白，从而抑制亚铁离子的转运^[41-42]。在*yfeABCD*基因上游有Fur绑定位点，在细胞内亚铁离子或者锰离子浓度较高时，Fur就会结合到此绑定位点，抑制Yfe转运系统的转录，减少其对亚铁离子和锰离子的摄取^[38]。

5 亚铁离子转运系统影响细菌的生长和致病力

5.1 亚铁离子转运系统影响细菌的生长

如上所述，铁元素对于绝大多数细菌来说是

必不可少的营养物质，在细菌亚铁离子转运系统受到损伤或缺失后，细菌的生理状态将会发生改变。以汉赛巴尔通体和霍乱弧菌的研究举例说明。汉赛巴尔通体是一种人兽共患传染病，跳蚤可以成为汉赛巴尔通体的带菌者，通过跳蚤叮咬动物传播疾病。Liu等干扰了汉赛巴尔通体转运二价铁离子的*sitAB*基因后，发现干扰株的生长速度比亲本株的生长速度减慢了约50%。进一步与H₂O₂作用表明，干扰株的存活率明显降低。Liu等推测可能是汉赛巴尔通体*SitAB*蛋白表达量大大减少，使其摄取亚铁离子的能力减弱，继而影响细菌体内过氧化物酶的活性，导致细菌抵抗氧化应激的能力下降^[10,43]。霍乱弧菌是引起人类一种烈性肠道传染病的病原体，主要表现为剧烈的呕吐、腹泻、失水，死亡率甚高。Wyckoff等在37 °C培养箱中用LB琼脂板培养缺失了*feo*基因的霍乱弧菌O395菌株和霍乱弧菌O395菌亲本株24 h，发现缺失株的菌落比亲本株的菌落小很多^[44]。因此亚铁离子转运系统影响细菌的生长。

5.2 亚铁离子转运系统影响细菌的致病力

铁元素对增强致病菌的致病性也是至关重要的，在缺失了细菌亚铁离子转运系统后，细菌致病性会大大降低。鼠疫耶尔森菌是鼠疫的病原菌，它能引起人兽共患烈性传染病。跳蚤可以成为鼠疫耶尔森菌的带菌者，它在跳蚤的胃肠道大量增殖，通过跳蚤叮咬动物传播疾病。Fetherston等通过实验表明，缺失了*yfeAB*基因的鼠疫耶尔森菌毒力降低了10倍，缺失了*feo*和*yfe*基因的鼠疫耶尔森菌毒力降低了90倍^[45]。幽门螺旋杆菌是一种微量需氧的革兰氏阴性菌，它感染人或动物，在胃中定殖，引起胃炎、胃溃疡或胃癌等。Velayudhan等用缺失了*feoB*基因的幽门螺旋杆菌4187E菌株感染小鼠，2周和4周后在感染小鼠胃粘膜中均未发现幽门螺旋杆菌4187E菌株的定殖^[46]。鼠伤寒沙门氏菌是定殖在动物胃肠道引起急性胃肠炎的致病

菌，Tsolis等用缺失了*feoB*基因的鼠伤寒沙门氏菌口服感染小鼠，发现其定殖在小鼠肠道的能力大大减弱^[47]。Liu等用干扰了*sitAB*基因的汉赛巴尔通体感染跳蚤，发现其在跳蚤体内的定殖能力减弱，影响其进一步的传播^[43]。Mourad等用鸟类致病性大肠杆菌O78菌亲本株(该菌引起火鸡肝周炎和心包炎)和缺失了*SitABCD*基因的大肠杆菌O78菌株感染火鸡，分别解剖被感染火鸡的肺和肝，通过检测发现缺失株定殖在火鸡肺和肝的能力大大降低^[48]。因此亚铁离子转运系统影响细菌的致病力。

6 问题和展望

目前，对细菌亚铁离子转运机制的研究还不够深入，大多数研究仅仅停留在革兰氏阴性菌中的少数菌种，不同细菌亚铁离子转运机制也存在着差异，而且对革兰氏阳性菌亚铁离子转运机制的研究更少。在已知的研究中，对细菌亚铁离子转运系统各组分的结构和功能了解并不透彻，还有许多需要攻克的难题，如：在Feo转运系统中，为什么FeoC蛋白质仅在变形杆菌属细菌中发现？在没有FeoC蛋白的Feo转运系统中，细菌是如何防止FeoB蛋白被FtsH蛋白酶水解，通过哪些途径促进或抑制亚铁离子的转运？FeoB蛋白是怎样将亚铁离子转运到细胞质中的？革兰氏阳性菌的亚铁离子转运系统的组成和作用机制是怎样的？这些问题需要通过进一步实验去解答。目前阻断细菌三价铁离子转运的药物如Trojan horse、白霉素等已经被研发并运用^[10]，但是阻断细菌亚铁离子转运的药物还未见报道，所以深入透彻的研究细菌亚铁离子的转运机制，有助于研发抑制其摄取亚铁离子能力的药物，从而在滥用抗生素的当下，更有效的抗菌抑菌，防止疾病传播和减少经济损失。

参考文献

- [1] Weaver EA, Wyckoff EE, Mey AR, Morrison R, Payne SM. FeoA and FeoC are essential components of the *Vibrio cholerae* ferrous iron uptake system, and FeoC interacts with FeoB. *Journal of Bacteriology*, 2013, 195(21): 4826–4835.
- [2] Lau CK, Ishida H, Liu ZH, Vogel HJ. Solution structure of *Escherichia coli* FeoA and its potential role in bacterial ferrous iron transport. *Journal of Bacteriology*, 2013, 195(1): 46–55.
- [3] Braun V, Hantke K. Recent insights into iron import by bacteria. *Current Opinion in Chemical Biology*, 2011, 15(2): 328–334.
- [4] Chu BC, Garcia-Herrero A, Johanson TH, Krewulak KD, Lau CK, Peacock RS, Slavinskaya Z, Vogel HJ. Siderophore uptake in bacteria and the battle for iron with the host; a bird's eye view. *Biometals*, 2010, 23(4): 601–611.
- [5] Bullen JJ, Rogers HJ, Spalding PB, Ward CG. Iron and infection: the heart of the matter. *FEMS Immunology & Medical Microbiology*, 2005, 43(3): 325–330.
- [6] Kim H, Lee H, Shin D. The FeoA protein is necessary for the FeoB transporter to import ferrous iron[J]. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 2012, 423(4): 733–738.
- [7] 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.
- [8] Olczak T, Siudeja K, Olczak M. Purification and initial characterization of a novel *Porphyromonas gingivalis* HmuY protein expressed in *Escherichia coli* and insect cells. *Protein Expression and Purification*, 2006, 49(2): 299–306.
- [9] Cheng XJ, Liu MF, Cheng AC. Structural and functional properties of the heme acquisition system in gram-negative bacteria. *Chinese Journal of Biochemistry and Molecular Biology*, 2014, 30(9): 848–855. (in Chinese)
程兴军, 刘马峰, 程安春. 革兰氏阴性菌血红素转运系统结构及功能特点. *中国生物化学与分子生物学报*, 2014, 30(9): 848–855.
- [10] Cassat JE, Skaar EP. Iron in infection and immunity. *Cell Host & Microbe*, 2013, 13(5): 509–519.
- [11] Kim H, Lee H, Shin D. Lon-mediated proteolysis of the FeoC protein prevents *Salmonella enterica* from accumulating the Fe (II) transporter FeoB under high-oxygen conditions. *Journal of Bacteriology*, 2015, 197(1): 92–98.
- [12] Kim H, Lee H, Shin D. The FeoC protein leads to high cellular levels of the Fe (II) transporter FeoB by preventing FtsH protease regulation of FeoB in *Salmonella enterica*. *Journal of Bacteriology*, 2013, 195(15): 3364–3370.
- [13] Petermann N, Hansen G, Schmidt CL, Hilgenfeld R. Structure of the GTPase and GDI domains of FeoB, the ferrous iron transporter of *Legionella pneumophila*. *FEBS Letters*, 2010, 584(4): 733–738.
- [14] Seyedmohammad S, Born D, Venter H. Expression, purification and functional reconstitution of FeoB, the ferrous iron transporter from *Pseudomonas aeruginosa*. *Protein Expression and Purification*, 2014, 101: 138–145.
- [15] Kammler M, Schön C, Hantke K. Characterization of the ferrous iron uptake system of *Escherichia coli*. *Journal of Bacteriology*, 1993, 175(19): 6212–6219.
- [16] Cartron ML, Maddocks S, Gillingham P, Craven CJ, Andrews SC. Feo-transport of ferrous iron into bacteria. *Biometals*, 2006, 19(2): 143–157.
- [17] Li SSC. Specificity and versatility of SH3 and other proline-recognition domains: structural basis and implications for cellular signal transduction. *Biochemical Journal*, 2005, 390(Pt 3): 641–653.
- [18] Eng E, Jalilian AR, Spasov KA, Unger VM. Characterization of a novel prokaryotic GDP dissociation inhibitor domain from the G protein coupled membrane protein FeoB. *Journal of Molecular Biology*, 2008, 375(4): 1086–1097.
- [19] Hung KW, Juan TH, Hsu YL, Huang TH. NMR structure note: the ferrous iron transport protein C (FeoC) from *Klebsiella pneumoniae*. *Journal of Biomolecular NMR*, 2012, 53(2): 161–165.
- [20] Booker GW, Gout I, Downing AK, Driscoll PC, Boyd J, Waterfield MD, Campbell ID. Solution structure and ligand-binding site of the SH3 domain of the p85 α subunit of phosphatidylinositol 3-kinase. *Cell*, 1993, 73(4): 813–822.
- [21] Gout I, Dhand R, Hiles ID, Fry MJ, Panayotou G, Das P, Truong O, Totty NF, Hsuan J, Booker GW. The GTPase dynamin binds to and is activated by a subset of SH3 domains. *Cell*, 1993, 75(1): 25–36.
- [22] Scaife RM, Margolis RL. The role of the PH domain and SH3 binding domains in dynamin function. *Cellular Signalling*, 1997, 9(6): 395–401.
- [23] Vetter IR, Wittinghofer A. The guanine nucleotide-binding switch in three dimensions. *Science*, 2001, 294(5545): 1299–1304.
- [24] Moser C, Mol O, Goody RS, Sinning I. The signal recognition

- particle receptor of *Escherichia coli* (FtsY) has a nucleotide exchange factor built into the GTPase domain. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 1997, 94(21): 11339–11344.
- [25] Jagath JR, Rodnina MV, Lentzen G, Wintermeyer W. Interaction of guanine nucleotides with the signal recognition particle from *Escherichia coli*. *Biochemistry*, 1998, 37(44): 15408–15413.
- [26] Hsueh KL, Yu LK, Chen YH, Cheng YH, Hsieh YC, Ke SC, Hung KW, Chen CJ, Huang TH. FeoC from *Klebsiella pneumoniae* contains a [4Fe-4S] cluster. *Journal of Bacteriology*, 2013, 195(20): 4726–4734.
- [27] Ito K, Akiyama Y. Cellular functions, mechanism of action, and regulation of FtsH protease. *Annual Review of Microbiology*, 2005, 59(1): 211–231.
- [28] Tomoyasu T, Yuki T, Morimura S, Mori H, Yamanaka K, Niki H, Hiraga S, Ogura T. The *Escherichia coli* FtsH protein is a prokaryotic member of a protein family of putative ATPases involved in membrane functions, cell cycle control, and gene expression. *Journal of Bacteriology*, 1993, 175(5): 1344–1351.
- [29] Jeon J, Kim H, Yun J, Ryu S, Groismam EA, Shin D. RstA-promoted expression of the ferrous iron transporter FeoB under iron-replete conditions enhances Fur activity in *Salmonella enterica*. *Journal of Bacteriology*, 2008, 190(22): 7326–7334.
- [30] Rajasekaran MB, Nilapwar S, Andrews SC, Watson KA. EfeO-cupredoxins: major new members of the cupredoxin superfamily with roles in bacterial iron transport. *Biometals*, 2010, 23(1): 1–17.
- [31] Escolar L, Pérez-Martín J, de Lorenzo V. Opening the iron box: transcriptional metalloregulation by the Fur protein. *Journal of Bacteriology*, 1999, 181(20): 6223–6229.
- [32] Bagg A, Neilands JB. Ferric uptake regulation protein acts as a repressor, employing iron (II) as a cofactor to bind the operator of an iron transport operon in *Escherichia coli*. *Biochemistry*, 1987, 26(17): 5471–5477.
- [33] Hantke K. Cloning of the repressor protein gene of iron-regulated systems in *Escherichia coli* K12. *Molecular and General Genetics MGG*, 1984, 197(2): 337–341.
- [34] Bauer CE, Elsen S, Bird TH. Mechanisms for redox control of gene expression. *Annual Review of Microbiology*, 1999, 53(1): 495–523.
- [35] Mettert EL, Kiley PJ. ClpXP-dependent proteolysis of FNR upon loss of its O₂-sensing [4Fe-4S] cluster. *Journal of Molecular Biology*, 2005, 354(2): 220–232.
- [36] Yamamoto K, Hirao K, Oshima T, Aiba H, Utsumi R, Ishihama A. Functional characterization *in vitro* of all two-component signal transduction systems from *Escherichia coli*. *The Journal of Biological Chemistry*, 2005, 280(2): 1448–1456.
- [37] Hantke K. Regulation of ferric iron transport in *Escherichia coli* K12: isolation of a constitutive mutant. *Molecular and General Genetics MGG*, 1981, 182(2): 288–292.
- [38] Perry RD, Bobrov AG, Kirillina O, Rhodes ER, Actis LA, Fetherston JD. *Yersinia pestis* transition metal divalent cation transporters//de Almeida AMP, Leal NC. *Advances in Yersinia Research: Advances in Experimental Medicine and Biology*. New York: Springer, 2012, 954: 267–279.
- [39] Bearden SW, Staggs TM, Perry RD. An ABC transporter system of *Yersinia pestis* allows utilization of chelated iron by *Escherichia coli* SAB11. *Journal of Bacteriology*, 1998, 180(5): 1135–1147.
- [40] Tottey S, Waldron KJ, Firbank SJ, Reale B, Bessant C, Sato K, Cheek TR, Gray J, Banfield MJ, Dennison C, Robinson NJ. Protein-folding location can regulate manganese-binding versus copper- or zinc-binding. *Nature*, 2008, 455(7216): 1138–1142.
- [41] Bearden SW, Perry RD. The Yfe system of *Yersinia pestis* transports iron and manganese and is required for full virulence of plague. *Molecular Microbiology*, 1999, 32(2): 403–414.
- [42] Desrosiers DC, Bearden SW, Mier I Jr, Abney J, Paulley JT, Fetherston JD, Salazar JC, Radolf JD, Perry RD. Znu is the predominant zinc importer in *Yersinia pestis* during *in vitro* growth but is not essential for virulence. *Infection and Immunity*, 2010, 78(12): 5163–5177.
- [43] Liu MF, Bouhsira E, Boulouis HJ, Biville F. The *Bartonella henselae* SitABCD transporter is required for confronting oxidative stress during cell and flea invasion. *Research in Microbiology*, 2013, 164(8): 827–837.
- [44] Wyckoff EE, Mey AR, Leimbach A, Fisher CF, Payne SM. Characterization of ferric and ferrous iron transport systems in *Vibrio cholerae*. *Journal of Bacteriology*, 2006, 188(18): 6515–6523.
- [45] Fetherston JD, Mier IJ, Truszczynska H, Perry RD. The Yfe and Feo transporters are involved in microaerobic growth and virulence of *Yersinia pestis* in bubonic plague. *Infection and Immunity*, 2012, 80(11): 3880–3891.
- [46] Velayudhan J, Hughes NJ, McColm AA, Bagshaw J, Clayton CL, Andrews SC, Kelly DJ. Iron acquisition and virulence in

- Helicobacter pylori*: a major role for FeoB, a high-affinity ferrous iron transporter. *Molecular Microbiology*, 2000, 37(2): 274–286.
- [47] Tsolis RM, Bäumlér AJ, Heffron F, Stojiljkovic I. Contribution of TonB- and Feo-mediated iron uptake to growth of *Salmonella typhimurium* in the mouse. *Infection and Immunity*, 1996, 64(11): 4549–4556.
- [48] Sabri M, Caza M, Proulx J, Lymberopoulos MH, Brée A, Moulin-Schouleur M, Curtiss III R, Dozois CM. Contribution of the SitABCD, MntH, and FeoB metal transporters to the virulence of avian pathogenic *Escherichia coli* O78 strain χ 7122. *Infection and Immunity*, 2008, 76(2): 601–611.

Component and functional mechanism of the ferrous iron acquisition system in gram-negative bacteria - A review

Yan Feng^{1,2,3}, Mafeng Liu^{1,2,3*}, Anchun Cheng^{1,2,3*}

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

² Avian Disease Research Center, College of Veterinary Medicine, Sichuan Agricultural University, Chengdu 611130, Sichuan Province, China

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

Abstract: Nearly all bacteria require iron for growth and survival. In aerobic environment, ferric iron almost cannot be utilized directly by bacteria. But ferrous iron is mainly existing in the host gastrointestinal. Soluble ferrous iron [Fe(II)] is imported directly via membrane transporters into periplasmic, then ferrous iron is imported via ferrous iron transport systems into cytoplasm. Most of gram-negative bacteria uptake ferrous iron by Feo system. The Feo transport system in *Escherichia coli* consists of the *feoA*, *feoB*, and *feoC* genes. In addition to the Feo transport system, the Yfe transport system and the Efe transport system and the Sit transport system are involved in the transport of ferrous iron. In this review, we described the component and functional mechanism of Feo system in gram-negative bacteria, to provide reference for studying other bacteria ferrous iron transport mechanism.

Keywords: gram-negative bacteria, ferrous iron, Feo transport system

(本文责编: 李磊)

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

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

Received: 8 September 2015; Revised: 24 October 2015; Published online: 31 December 2015