



PstS 和 PstB 调控无机磷酸盐转运和介导细菌耐药的机制

张鹏[#], 王龙[#], 谢明杰^{*}

辽宁师范大学生命科学学院, 辽宁省生物技术与分子药物研发重点实验室, 辽宁 大连 116081

摘要: 无机磷酸盐(Pi)在菌体遗传、能量代谢及细胞内的信号传导等生物过程中发挥重要的作用。在细菌中, 主要由磷酸盐特殊转运系统(Pst)和磷酸盐转运系统(Pit)来完成对 Pi 的吸收和利用。其中, Pst 是在低磷胁迫下转运 Pi 的关键系统。近年来的研究表明, Pst 系统除在调控 Pi 的代谢和平衡中发挥重要作用外, 还介导细菌耐药、产毒和侵袭等。Pst 系统是 ABC 转运蛋白家族的一种, 一般由 PstS、PstC、PstA、PstB 和 PhoU 5 个蛋白组成。其中, PstS 和 PstB 蛋白是该系统中的关键蛋白。本文重点对 PstS 和 PstB 调控 Pi 转运和介导细菌耐药的分子机制进行综述, 旨在为深入研究该系统与细菌耐药的关系, 以及研发以 PstS 和 PstB 为靶点的新药提供参考。

关键词: 磷酸盐特殊转运系统, PstS 蛋白, PstB 蛋白, 耐药机制

磷的吸收和利用在生物体遗传、能量代谢、细胞膜的完整性和细胞内信号传递等生物过程中发挥着重要的作用。在长期的进化过程中, 生物体形成了复杂的磷酸盐系统来调控磷元素的代谢和平衡^[1-2]。在细菌中, 主要由磷酸盐特殊转运系统(phosphate specific transport, Pst)和磷酸盐转运系统(Pi transport, Pit)来完成对无机磷酸盐(inorganic phosphates, Pi)的吸收和利用, 其中 Pst 系统是 Pi 吸收转运的关键系统^[3]。该系统是细菌在低 Pi 环境下, 以高亲和力结合 Pi, 并将其转运至细胞质内的磷酸盐转运系统。它是 ABC 转运蛋

白家族的一种, 具有 ABC 转运家族蛋白的典型特征。包含 3 个结构域, 分别是底物结合结构域、跨膜结构域和 ATP 结合结构域。在 *E. coli* 等大部分细菌中, Pst 系统一般由 PstS、PstC、PstA、PstB 和 PhoU 5 个蛋白组成。其中, PstS 为外周结合蛋白, 该蛋白与 Pi 具有极高的亲和性, 负责感知和结合周质空间的 Pi; PstC 和 PstA 为整合膜蛋白, 其功能是在细胞膜上构成转运 Pi 的跨膜通道; PstB 为 ATP 结合蛋白, 位于胞质侧, 是 ATP 的结合位点, 其功能是水解 ATP, 释放能量, 为 Pi 的转运提供动力。PhoU 是位于细胞质内的调控蛋

基金项目: 辽宁省教育厅科学研究一般项目(L201683675); 辽宁省自然科学基金(201602462)

[#]并列第一作者。

^{*}通信作者。Tel: +86-411-85827188; E-mail: xmj1222@sina.com

收稿日期: 2018-09-28; 修回日期: 2018-12-15; 网络出版日期: 2019-03-11

白, 在 Pi 转运过程中发挥负调控作用。有研究显示, 该蛋白也参与 Pi 的运输过程^[4-5]。但在少部分细菌的 Pst 系统中尚未发现有 PhoU 蛋白^[6]。近年来的研究结果显示, Pst 系统除参与细菌的 Pi 转运外, 在介导细菌耐药、产毒和侵袭等方面也发挥着重要的调节作用^[7]。如, AVI Neznansky 等的研究结果显示, 当将 *pstS* 基因敲除后, 可显著降低生物被膜(biofilm, BF)的形成能力或通过降低 *hilA* 等侵袭基因的表达量, 来减轻致病菌对宿主细胞的感染^[8-9]。Chakraborti 等的研究结果显示, PstB 蛋白表达量的增加, 能显著增强结核分枝杆菌 (*M. tuberculosis*)对氟喹诺酮的抗性。与对照组相比, 该菌对药物的最低抑菌浓度从 0.5 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 提高到了 64 $\mu\text{g}/\text{mL}$ ^[10]。鉴于 PstS 和 PstB 在 Pst 系统中的重要作用, 本文对这两种蛋白的结构及其在调控 Pi 转运和介导细菌耐药的分子机制进行综述, 旨在为深入研究 Pst 系统与细菌耐药的关系, 以及研发以 PstS 和 PstB 为靶点的新药提供参考。

1 PstS 和 PstB 蛋白结构

1.1 PstS 蛋白结构

PstS 蛋白是由 332 个氨基酸残基组成的多肽链, 由 *pstS* 基因编码, 相对分子质量为 35.1 kDa, 等电点为 8.99, 其功能主要是结合周质空间的 Pi。该蛋白包括 2 个相似的球状结构域和一个磷酸盐结合位点。其中, 2 个球状结构域是 PstS 蛋白的基本骨架, 共由 12 个 α 螺旋和 11 个 β 折叠组成, 中间以双铰链连接。磷酸盐结合位点是 PstS 蛋白的活性中心, 位于 2 个球状结构域中间。该结合位点由 10 个氨基酸组成, 与球状结构域中的 1,2,6- α 螺旋的 N 末端相连, 可通过氢键和疏水作用与非溶剂化的 Pi 结合^[11]。

不同菌株的 PstS 蛋白的结构大致相同, 其不同之处主要是 PstS 蛋白 N 端环状结构的有无。已有的研究结果显示, G^+ 一般含有该环状结构, 而 G^- 一般缺失。但有研究表明, 绿脓假单胞菌 (*Pseudomonas aeruginosa*, PA) PstS 蛋白的 N 端含有该环状结构, 且该结构在 BF 的形成起着至关重要的作用。当将 *DelN* 基因敲除后, 其 BF 的生物量降低了 62%。但该环状结构的有无对 PstS 结合 Pi 没有影响^[8]。

1.2 PstB 蛋白结构

PstB 蛋白是由 2 个相同的核苷酸结合域 (nucleotide binding domain, NBD) 组成的二聚体, 由 *pstB* 基因编码(图 1)。该蛋白由 400 个氨基酸残基长多肽链组成, 相对分子质量为 30 kDa, 等电点为 6.5^[12]。PstB 作为 Pst 系统的能量中心, 其功能的发挥与 NBD 对 ATP 的结合和水解密切相关。每个 NBD 包括 RecA-like 亚结构域和螺旋亚结构域。RecA-like 亚结构域是 ATP 的结合核心, 主要是结合并稳定 ATP 分子, 以及参与 ATP 的水解。包括序列都十分保守的 Walker A 和 Walker B 两个模体以及 A 和 H 两个环(loop)区。其中, Walker A 模体含有一个保守的赖氨酸, 该模体可通过赖氨酸的酰胺基及侧链的氨基与 ATP 的 α 、 β 、 γ 磷酸基团之间的静电作用来结合 ATP; Walker B 模体含有一个保守的天冬氨酸, 该模体通过天冬氨酸来定位镁离子, 并且在镁离子的介导下通过氢键结合 ATP。A 环包含一个高度保守的芳香族残基(通常是酪氨酸), 其功能主要是稳定 Walker A 和 Walker B 两个模体对 ATP 的结合。H 环包含一个保守的组氨酸, 其功能主要是将催化 ATP 水解所需要的氨基酸残基、水分子和镁离子连接起来, 形成一个催化活性中心。 α -螺旋亚结构域是 ABC 转运蛋白特有的特征性模体, 其功能与 ATP 水解

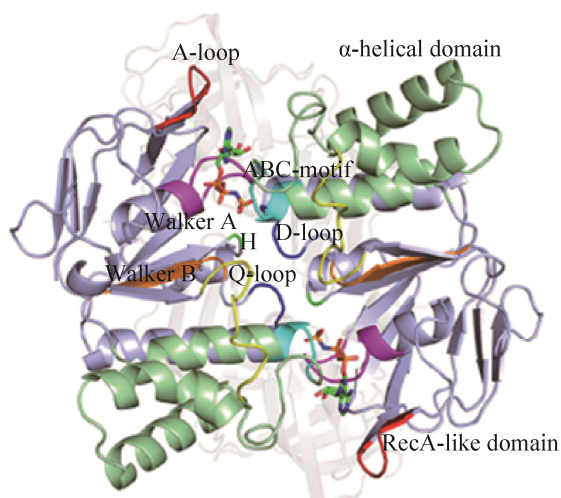


图 1. PstB 蛋白结构示意图

Figure 1. The structural representation of PstB protein. Prasinous: α -helical domain; dusty blue: RecA-like domain; red: A-loop; rosy: Walker A; orange: Walker B; blue: D-loop; green: H-loop; light blue: ABC motif; yellow: Q-loop.

偶联底物跨膜转运有关, 主要是将 ATP 水解释放的能量传递到跨膜结构域(transmembrane domain, TMD)^[13]。该结构域含有 ABC Signature 模体, 位于 α -螺旋的 N 端, 其功能主要是使该段螺旋的偶极矩接近 ATP 的 γ -磷酸基团, 影响 ATP 的结合和水解^[14]。Schmees 等的研究结果显示, 当 ABC Signature 模体发生突变后, 与对照组相比, 突变体菌株水解 ATP 的活性下降了 70%^[15]。

两个 NBD 间由 Q-环和 D-环连接。其中 Q 环由非常保守的 8 个氨基酸组成, 在 Q 环的 N 端含有 1 个谷氨酸, 与 ATP 的 γ 磷酸相结合。Q 环可与 Walker A、Walker B 和 H 环形成一个腔隙, ATP 分子位于其中。D 环由 6 个保守的氨基酸组成, D 环和 ABC Signature 模体形成的腔隙与另一个 NBD 中的 Walker A、Walker B、H 环和 Q 环形成的腔隙, 组成一个“ATP 三明治”结构, 以增强 ATP 自由能的释放, 促进底物的转运^[16]。

2 PstS 调控磷转运和介导细菌耐药的机制

2.1 PstS 调控 Pi 转运的机制

大量研究表明, 细菌的信号转导通路都是利用磷酸转移的机制进行传导, 这样的信号转导系统称为双组分调控系统。大肠杆菌的双组分调控系统由磷酸盐敏感受体激酶(histidine kinase, PhoR)和转录激活应答元件(response regulator, PhoB)两部分组成, 该系统可通过感知环境中磷离子水平的变化来调控下游基因的表达, 进而促进或抑制 Pi 的吸收^[17-18]。其中, PhoR 是负责检测胞外环境 Pi 浓度的感应原件, 由细胞外结构域、跨膜结构域以及细胞质结构域组成, 其末端的氨基酸与细胞膜相连。PhoB 是摄取 Pi 的应答原件, 一般位于细胞质内, 其 C 端含有与 DNA 结合的保守结构域。*pstS* 基因是 Pho Regulon 的下游基因, 其编码的 PstS 蛋白是 Pi 的高亲和受体, 主要负责外界 Pi 的摄取, 是 Pst 系统中 Pi 转运的第一步, 参与对外界 Pi 浓度的感知以及对 PhoR 活性的调控。当外界的 Pi 浓度较高时, Pst 系统中的 PstSCAB 可通过 PhoU 与 PhoR 形成复合物, 阻止 PhoR 组氨酸激酶的自磷酸化, 使其不能将磷酸化基团转移给 PhoB, 并通过抑制 Pho Regulon 相关基因(*pstS* 和 *pstB* 等)的表达, 阻碍细菌对 Pi 的摄取^[19]。杨雪等的研究结果表明, 当溶磷菌 *wjl* (*phosphorus solubilizing bacteria*)处于高浓度的 Pi 环境时, PstS 蛋白的表达量大幅降低, 与 Pi 的结合率降低, 与低浓度的 Pi 环境相比, 降低了 88.2%^[6]。当外界 Pi 浓度较低时, PstSCAB 和 PhoU 复合物与 PhoR 蛋白分离, PhoR 自身的组氨酸磷酸化, 并将产生的磷酸化基团转移到 PhoB 上。磷

酸化的 PhoB 与 Pho box (由 2 个保守的 7-bp 核苷酸重复单元和 1 个不保守的 4-bp 核苷酸单元组成) 的 DNA 特定序列结合后, 可募集 RNA 聚合酶, 并通过与 RNA 聚合酶 δ^{70} 亚基发生相互作用, 来调控磷酸盐调节单元(Pho Regulon)中至少 31 个基因的转录, 如, 编码高亲和力的转运复合物 (pstSCAB-phoU) 以促进细菌对 Pi 的摄取^[20](图 2)。Neznasky 等的研究结果显示, PA 的 *pstS* 基因敲除后, 其对磷的结合能力很弱或不能与磷结合, 使菌株一直处于 Pi 饥饿的状态。其中, 在 1 μm Pi 的条件下, *pstS* 基因敲除株与 Pi 的结合率较野生型菌株相比下降了约 90%^[8]。Luz 等表明, 肺炎链球菌(*Streptococcus pneumoniae*) *pstS* 基因的缺失也会大幅度减少该菌对 Pi 的摄取。与对照菌株相比, *pstS* 基因缺失菌株对 Pi 的摄取能力下降了约 45%^[21]。丙酮丁醇梭菌(*Clostridium acetobutylicum*) *pstS* 基因的表达量增加后可促进菌体对 Pi 的吸收^[22]。

2.2 PstS 介导细菌耐药的机制

已有的研究结果表明, 细菌的主动外排系统和 BF 的形成是导致细菌产生多重耐药的主要原因。目前认为, PstS 主要是通过影响细菌生物被膜的形成来介导细菌耐药。Neznansky 等的实验结果显示, 当将 PA 菌株的 *pstS* 基因敲除后, 该菌

株形成 BF 的能力显著降低。与野生型菌株相比, *pstS* 基因敲除株形成 BF 的量减少了 74%^[8]。May 等的生物膜微滴定结果显示, 奇异变形杆菌 HI4320 (*Proteus mirabilis* HI4320) 的 *pstS* 基因发生突变后, *pstS* 基因突变株产生的菌落数较野生型菌株相比减少了约 87%, 形成 BF 的量由野生型菌株的 1.21 $\mu\text{m}^3/\mu\text{m}^2$ 降低至 0.04 $\mu\text{m}^3/\mu\text{m}^2$, 厚度由 25 μm 降低至 5.63 μm ^[7]。上述研究结果表明, PstS 能通过促进 BF 的形成来介导细菌耐药。

关于 PstS 影响 BF 形成的分子机制, 一种观点认为, PstS 可通过感知外界 Pi 浓度的变化, 作为一种信号来调控 PhoB/R 双组分系统, 进而影响 BF 的形成。Monds 等的研究表明, 在低 Pi 浓度情况下, 铜绿 Pfo-1 的 PstSCAB 和 PhoU 形成的复合物与 PhoR 蛋白分离, 通过激活 PhoB/R 双组分调控系统, 可降低 c-di-GMP 的水平^[23]。LapA 蛋白是 BF 形成初期的重要粘附蛋白, 其主要作用为介导细菌和物质表面之间的接触、粘附。该蛋白受 c-di-GMP 水平调控, 当 c-di-GMP 的水平降低时, LapA 蛋白表达量减少, 从而影响 BF 的形成^[24-25]。但在外界 Pi 浓度较高时, PhoB/R 双组分系统被抑制, c-di-GMP 水平提高, LapA 蛋白表达量增加, 可促进 BF 的形成。另一种观点认为, PstS 是作为粘附素的组成成分之一, 通过增加或减少其表达

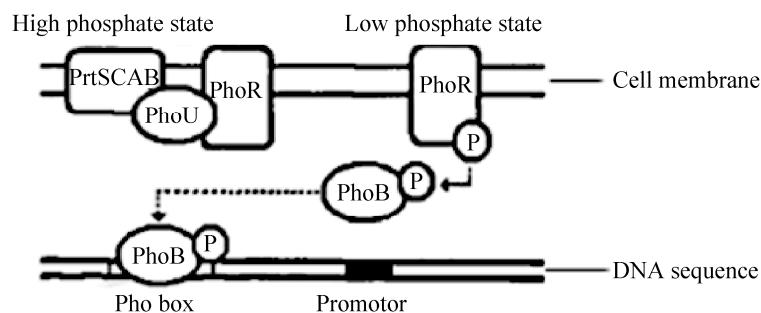


图 2. 大肠杆菌 PhoR/PhoB 双组分系统调节模式

Figure 2. Two-component system regulation mode of *E. coli* PhoR/PhoB.

量, 来影响 BF 的形成, 与 PstS 和 Pi 的结合与转运无关。Yarden 等发现, PA 的耐药株可分泌大量的 PstS 蛋白, 在 BF 形成的粘附阶段发挥重要作用。当将 *pstS* 基因被敲除后, 因不能合成大量的粘附素, 使 BF 的形成受到抑制。当将 PA14 菌株中的 *pstS* 基因过表达后, 其所产生的粘附素的量约是对照组菌株的 5 倍, 能促进 BF 的形成^[26-27]。本实验室利用 iTRAQ 技术检测了染料木素对 MRSA41577 蛋白表达的影响, 实验结果显示, 染料木素作用 MRSA41577 菌株 16 h 后, 与对照组相比, PstS 蛋白的表达量下降了约 0.51 倍。也有学者认为, PstS 对 BF 形成的影响是上述两种分子机制的组合^[8]。

3 PstB 调控 Pi 转运和介导细菌耐药的机制

3.1 PstB 调控 Pi 转运的机制

PstB 蛋白是位于胞内的 ATP 结合蛋白, 其实质上是一个 ATP 酶, 在磷的转运过程中, 其主要作用是结合并水解 ATP, 通过能量变化来促进或抑制 Pst 系统对 Pi 的摄取和转运。PstB 蛋白具有保守的核苷酸结合位点, 由 *pstB* 基因编码, 也受双组分系统的调控。当 *pstB* 基因发生突变后, 其水解 ATP 的能力下降, 整个系统转运磷的能力也显著降低。Cox 等的研究表明, PstB 蛋白模体上的两个关键氨基酸残基(Gly-48 和 Lys-49)是 Pi 转运所必需的。当对 PstB 的两个关键氨基酸残基进行定点诱变后(Gly-48→Ile、Lys-49→Gln), 突变株对 Pi 的摄取率与野生型菌株相比下降了约 96%^[28]。肺炎链球菌的 *pstB* 基因发生突变后, 在不同的 Pi 浓度下, 均可降低其对 Pi 的摄取。其中, 在 Pi 的浓度为 30 mmol/L 时, *pstB* 基因突变株与

对照组相比, 对磷的摄取率减少了约 70%^[29]。Sarin 等的研究结果显示, 将结核分枝杆菌 D188K 的 *pstB* 基因突变后, 该突变株几乎不表现任何 ATP 酶的活性。其中, 在 0.5 mmol/L ATP 的条件下, *pstB* 基因突变株水解 ATP 的活性较野生型菌株相比下降了约 88%^[30]。

3.2 PstB 介导耐药的机制

关于 PstB 介导细菌耐药的作用机制, 目前认为主要作为能量源介导细菌耐药。即 PstB 与 PstS、PstA、PstC 形成一个 ATP 结合盒转运子, 通过水解 ATP 作为能量源将 PstS 识别的底物泵出胞外, 使胞内的药物浓度降低, 导致细菌耐药^[31]。PstB 蛋白的表达受 *pstB* 基因调控, 当 *pstB* 的表达量增加时, 细菌的耐药性增强, 反之, 耐药性减弱。王前等的研究结果显示, 高耐氧氟沙星的结核分枝杆菌的 *pstB* 基因转录水平比对照组高 16 倍^[32]。在耐氟喹诺酮的耻垢分枝杆菌(*Mycobacterium smegmatis*)中, 其 *pstB* 基因转录水平也比野生型菌株高。当将耻垢分枝杆菌的 *pstB* 基因敲除后, 与野生型菌株相比, *pstB* 基因敲除株对氟喹诺酮类药物的敏感性增加了 2 倍以上^[10]。本实验室的研究结果显示, 当染料木素作用 MRSA41577 菌株 16 h 后, *pstB* 基因的表达量与对照组相比, 下降了约 51%, MRSA 对氟喹诺酮类药物的敏感性显著增强。但也有学者推测, PstB 蛋白介导细菌耐药的原因, 与 PstB 的过表达可以向菌体内转运更多的 Pi, 为细菌提供好的营养有关^[32]。

4 展望

PstS 和 PstB 蛋白除参与细菌 Pi 的吸收和转运外, 在介导细菌耐药方面也发挥着重要作用。以

往的研究主要集中在 PstS 和 PstB 蛋白调控 Pi 吸收和转运方面的作用机制, 对其介导细菌耐药的研究相对较少。细菌耐药性是目前临床医学面临的严峻问题, 其中, BF 的形成和主动外排系统是导致细菌耐药的主要原因^[33]。近年来的研究表明, PstS 介导细菌耐药主要是通过调控 PhoB/R 双组分系统, 降低 c-di-GMP 的水平, 影响细菌 BF 的形成; PstB 则是通过水解 ATP 所释放的能量, 将药物泵出胞外来介导细菌耐药。由此推测, PstS 和 PstB 蛋白可能是与细菌耐药相关蛋白。

新药开发的首要任务是寻找和确定分子药靶, 目前, 以多药耐药基因为代表的 ABC 转运体已成为筛选新药的靶点之一^[34]。Pst 系统是 ABC 转运蛋白家族的一种, 具有 ABC 转运家族蛋白的典型特征, 因此, 以 PstS 和 PstB 为靶点可作为逆转细菌耐药的途径之一。但目前关于 PstS 和 PstB 介导细菌耐药的具体作用机制尚不明确, 二者在调控 Pi 的转运和介导细菌耐药之间的交互作用及机制也不十分清楚, 这些都有待于进一步深入的研究。此外, 由于 ATP 是细胞内绝大多数生命活动的直接能源物质, 而 PstB 是一种 ATP 酶, 如果以其为药物的作用靶点, 是否会影响机体的能量代谢也是需要考虑的问题。

参考文献

- [1] Tischler AD, Leistikow RL, Ramakrishnan P, Voskuil MI, McKinney JD. *Mycobacterium tuberculosis* phosphate uptake system component PstA2 is not required for gene regulation or virulence. *PLoS One*, 2016, 11(8): e0161467.
- [2] Hudek L, Premachandra D, Webster WAJ, Bräu L. Role of phosphate transport system component PstB1 in phosphate internalization by *Nostoc punctiforme*. *Applied and Environmental Microbiology*, 2016, 82(21): 6344–6356.
- [3] Brokaw AM, Eide BJ, Muradian M, Boster JM, Tischler AD. *Mycobacterium smegmatis* PhoU proteins have overlapping functions in phosphate signaling and are essential. *Frontiers in Microbiology*, 2017, 8: 2523.
- [4] Kortstee GJJ, Appeldoorn KJ, Bonting CFC, van Niel EWJ, van Veen HW. Biology of polyphosphate-accumulating bacteria involved in enhanced biological phosphorus removal. *FEMS Microbiology Reviews*, 1994, 15(2/3): 137–153.
- [5] Yuan ZC, Zaheer R, Finan TM. Regulation and properties of PstSCAB, a high-affinity, high-velocity phosphate transport system of *Sinorhizobium meliloti*. *Journal of Bacteriology*, 2006, 188(3): 1089–1102.
- [6] Yang X, Yue ST, Wu ZH, Fu L, Yu RJ, Yang MY. Identification of the Pst system of phosphate solubilizing bacteria *Pseudomonas* sp. wj1 and functional analysis of *pstS* gene. *Journal of China Agricultural University*, 2018, 23(6): 40–48. (in Chinese)
杨雪, 岳胜天, 武志海, 付丽, 于人杰, 杨美英. 溶磷菌 *Pseudomonas* sp. wj1 的 Pst 系统鉴定及 *pstS* 基因功能分析. *中国农业大学学报*, 2018, 23(6): 40–48.
- [7] O'May GA, Jacobsen SM, Longwell M, Stoodley P, Mobley HLT, Shirtliff ME. The high-affinity phosphate transporter Pst in *Proteus mirabilis* HI4320 and its importance in biofilm formation. *Microbiology*, 2009, 155: 1523–1535.
- [8] Neznansky A, Blus-Kadosh I, Yerushalmi G, Banin E, Opatowsky Y. The *Pseudomonas aeruginosa* phosphate transport protein PstS plays a phosphate-independent role in biofilm formation. *The FASEB Journal*, 2014, 28(12): 5223–5233.
- [9] Lucas RL, Lostroh CP, DiRusso CC, Spector MP, Wanner BL, Lee CA. Multiple factors independently regulate *hila* and invasion gene expression in *Salmonella enterica* serovar typhimurium. *Journal of bacteriology*, 2000, 182(7): 1872–1882.
- [10] Bhatt K, Banerjee SK, Chakraborti PK. Evidence that phosphate specific transporter is amplified in a fluoroquinolone resistant *Mycobacterium smegmatis*. *European Journal of Biochemistry*, 2000, 267(13): 4028–4032.
- [11] Vyas NK, Vyas MN, Quiocho FA. Crystal structure of *M. tuberculosis* ABC phosphate transport receptor: specificity and charge compensation dominated by ion-dipole interactions. *Structure*, 2003, 11(7): 765–774.
- [12] Chan FY, Torriani A. PstB protein of the phosphate-specific

- transport system of *Escherichia coli* is an ATPase. *Journal of Bacteriology*, 1996, 178(13): 3974–3977.
- [13] ter Beek J, Guskov A, Slotboom DJ. Structural diversity of ABC transporters. *Journal of General Physiology*, 2014, 143(4): 419–435.
- [14] Higgins CF, Linton KJ. The ATP switch model for ABC transporters. *Nature Structural & Molecular Biology*, 2004, 11(10): 918–926.
- [15] Schmees G, Stein A, Hunke S, Landmesser H, Schneider E. Functional consequences of mutations in the conserved ‘signature sequence’ of the ATP-binding-cassette protein Malk. *European Journal of Biochemistry*, 1999, 266(2): 420–430.
- [16] Jones PM, George AM. The ABC transporter structure and mechanism: perspectives on recent research. *Cellular and Molecular Life Sciences*, 2004, 61(6): 682–699.
- [17] Zschiedrich CP, Keidel V, Szurmant H. Molecular mechanisms of two-component signal transduction. *Journal of Molecular Biology*, 2016, 428(19): 3752–3775.
- [18] Pontes MH, Groisman EA. Protein synthesis controls phosphate homeostasis. *Genes & Development*, 2018, 32(1): 79–92.
- [19] Monds RD, Newell PD, Schwartzman JA, O’Toole GA. Conservation of the Pho regulon in *Pseudomonas fluorescens* Pf0-1. *Applied and Environmental Microbiology*, 2006, 72(3): 1910–1924.
- [20] Wightman B, Ha I, Ruvkun G. Posttranscriptional regulation of the heterochronic gene *lin-14* by *lin-4* mediates temporal pattern formation in *C. elegans*. *Cell*, 1993, 75(5): 855–862.
- [21] Luz DE, Nepomuceno RSL, Spira B, Ferreira RCC. The Pst system of *Streptococcus mutans* is important for phosphate transport and adhesion to abiotic surfaces. *Molecular Oral Microbiology*, 2012, 27(3): 172–181.
- [22] Fischer RJ, Oehmcke S, Meyer U, Mix M, Schwarz K, Fiedler T, Bahl H. Transcription of the *pst* operon of *Clostridium acetobutylicum* is dependent on phosphate concentration and pH. *Journal of Bacteriology*, 2006, 188(15): 5469–5478.
- [23] Monds RD, Newell PD, Gross RH, O’Toole GA. Phosphate-dependent modulation of c-di-GMP levels regulates *Pseudomonas fluorescens* Pf0-1 biofilm formation by controlling secretion of the adhesin LapA. *Molecular Microbiology*, 2007, 63(3): 656–679.
- [24] Sprecher KS, Hug I, Nesper J, Potthoff E, Mahi MA, Sangermani M, Kaever V, Schwede T, Vorholt J, Jenal U. Cohesive properties of the *Caulobacter crescentus* holdfast adhesin are regulated by a novel c-di-GMP effector protein. *mBio*, 2017, 8(2): e00294–17.
- [25] Valentini M, Filloux A. Biofilms and cyclic di-GMP (c-di-GMP) signaling: lessons from *Pseudomonas aeruginosa* and other bacteria. *Journal of Biological Chemistry*, 2016, 291(24): 12547–12555.
- [26] Neznansky A, Opatowsky Y. Expression, purification and crystallization of the phosphate-binding PstS protein from *Pseudomonas aeruginosa*. *Acta Crystallographica. Section F, Structural Biology Communications*, 2014, 70: 906–910.
- [27] Shah M, Zaborin A, Alverdy JC, Scott K, Zaborina O. Localization of DING proteins on PstS-containing outer-surface appendages of *Pseudomonas aeruginosa*. *FEMS Microbiology Letters*, 2014, 352(1): 54–61.
- [28] Cox GB, Webb D, Rosenberg H. Specific amino acid residues in both the PstB and PstC proteins are required for phosphate transport by the *Escherichia coli* Pst system. *Journal of Bacteriology*, 1989, 171(3): 1531–1534.
- [29] Novak R, Cauwels A, Charpentier E, Tuomanen E. Identification of a *Streptococcus pneumoniae* gene locus encoding proteins of an ABC phosphate transporter and a two-component regulatory system. *Journal of Bacteriology*, 1999, 181(4): 1126–1133.
- [30] Sarin J, Aggarwal S, Chaba R, Varshney GC, Chakraborti PK. B-subunit of phosphate-specific transporter from *Mycobacterium tuberculosis* is a thermostable ATPase. *Journal of Biological Chemistry*, 2001, 276(48): 44590–44597.
- [31] Surin BP, Rosenberg H, Cox GB. Phosphate-specific transport system of *Escherichia coli*: nucleotide sequence and gene-polypeptide relationships. *Journal of Bacteriology*, 1985, 161(1): 189–198.
- [32] Wang Q, Song YY, Chi JY, Wang YF, Zhao YL. Study on the mechanism of drug resistance in mono ofloxacin-resistant *Mycobacterium tuberculosis*. *Chinese Journal of Antituberculosis*, 2014, 36(5): 350–355. (in Chinese)
王前, 宋媛媛, 池俊英, 王玉峰, 赵雁林. 单耐氧氟沙星的结核分枝杆菌耐药机制研究. 中国防痨杂志, 2014, 36(5): 350–355.
- [33] Li XZ, Plésiat P, Nikaido H. The challenge of efflux-mediated antibiotic resistance in Gram-negative

bacteria. *Clinical Microbiology Reviews*, 2015, 28(2): 337–418.

[34] Mahmood HY, Jamshidi S, Mark J, Rahman KM. Current

advances in developing inhibitors of bacterial multidrug efflux pumps. *Current Medicinal Chemistry*, 2016, 23(10): 1062–1081.

Regulating inorganic phosphate transport and mediating bacterial resistance by PstS and PstB

Peng Zhang[#], Long Wang[#], Mingjie Xie^{*}

Key Laboratory of Biotechnology and Drug Discovery of Liaoning Province, College of Life Sciences, Liaoning Normal University, Dalian 116081, Liaoning Province, China

Abstract: Inorganic phosphate (Pi) plays an important role in the biological processes such as bacterial heredity, energy metabolism and intracellular signaling. Two major bacterial Pi import systems exist in bacteria, Pst and Pit. The Pst system is highly efficient at transporting Pi, particularly in cells growing under low-Pi concentrations. In recent years, studies have found that in addition to regulating metabolism and balance of Pi, Pst system also mediates drug resistance, toxicity and invasion of bacteria. The Pst system is a member of the ABC transporter family, generally consists of five distinct proteins of PstS, PstC, PstA, PstB and PhoU. Among them, PstS and PstB are key proteins in the Pst system. This article reviews the molecular mechanisms of Pi transport and bacterial resistance of PstS and PstB, and the relationship between Pst system and bacterial resistance as well as PstS/PstB-targeted development to manufacture new drug.

Keywords: phosphate special transport system, PstS protein, PstB protein, resistance mechanism

(本文责编: 李磊)

Supported by the Liaoning Provincial Department of Education General Scientific Research Project (L201683675) and by the Liaoning Natural Science Foundation Project (201602462)

[#]These authors contributed equally to this work.

^{*}Corresponding author. Tel: +86-411-85827188; E-mail: xmj1222@sina.com

Received: 28 September 2018; Revised: 15 December 2018; Published online: 11 March 2019