

细菌内依赖 TonB 的外膜铁转运体的研究进展

董妍玲 潘学武

(武汉生物工程学院生物技术系, 武汉 430415)

摘要: 铁是细菌所必需的微量营养元素, 但由于易被氧化溶解性低, 生物体的利用率大大降低。细菌在进化过程中形成多种策略来吸收环境中低浓度的铁, 不同类型铁的吸收通过外膜上依赖 TonB 的转运体 (TonB-dependent transporters, TBDTs) 完成, TBDTs 结合不同形式的铁复合物, 通过内膜上的 TonB-ExbB-ExbD 复合物提供能量完成转运, 对其机制的研究一直是微生物基础生命活动研究中的热点问题。近年来新鉴定了一些 TBDTs 的结构, 并对其功能和转运机制有了更深入的研究, 对此进行了综述, 不仅有助于进一步揭示细菌的铁转运机制, 而且有助于寻找新的靶位点以开发新的治疗药物。

关键词: 铁转运 外膜蛋白 依赖 TonB 的转运体 嗜铁素

Progress of TonB-Dependent Transporters for Iron on Outer Membrane in Bacteria

Dong Yanling Pan Xuewu

(Biotechnology Department of Wuhan Bioengineering Institute, Wuhan 430415)

Abstract: Although iron is the necessary nutrient element for bacteria, its availability is greatly reduced by its low solubility. To acquire iron, bacteria have evolved a range of strategies mechanism. Iron absorbing is performed through the TonB-dependent transporters (TBDTs) on outer membrane of bacteria. TBDTs bind and transport ferric chelates coupled with energy providing by a complex of three inner membrane proteins, TonB-ExbB-ExbD. The mechanism has been the hot spot study on based life activities of microorganism. In recent years, structures of some new TBDTs have been identified, and researches has been done on these TBDTs' function and transport mechanism.

Key words: Iron transport Outer membrane proteins TBDTs Siderophore

铁是所有有机体所必需的营养元素之一, 它是细胞内重要蛋白或酶的重要组分, 在氧化代谢、电子传递、RNA 合成及其他细胞代谢中起重要作用。尽管铁是地壳第四大元素, 但因其生理 pH 下的溶解性低而降低了利用率, 在有氧条件下, Fe^{2+} 能被迅速氧化成 Fe^{3+} , 形成不溶的氢氧化物沉淀下来, 导致环境中自由的 Fe^{3+} 浓度小于 $10^{-17} \text{ M}^{[1]}$, 远远低于微生物正常生长所需的铁浓度 (10^{-8} – 10^{-6} mol/L)。

细菌在进化中形成了许多策略来获取铁, 厌氧条件下, 有足够可溶的 Fe^{2+} 可供厌氧菌吸收利用; 在好氧条件下, 细菌和真菌可合成多种低分子量的铁螯合物, 称为嗜铁素 (siderophore); 低铁条件下,

细胞合成嗜铁素并分泌到细胞外, 嗜铁素以高亲和力结合环境中的 Fe^{3+} , Fe^{3+} -嗜铁素复合物随即被相应的转运体转运到细胞内。嗜铁素介导的铁吸收机制是细菌获得 Fe^{3+} 最常见的形式, 此外还存在其他机制: (1) 一些细菌病原体直接识别血红素或含有血红素的蛋白如血红蛋白 (haemoglobin)、血红素结合蛋白 (haemopexin) 及结合珠蛋白 (haptoglobin) 等, 从血红素中获得 Fe^{3+} ^[2]; (2) 分泌 20 kD 的 haemophores, 与自由的血红素或含有血红素的蛋白结合, 通过特定的外膜转运体吸收^[3]; (3) 直接从铁传递蛋白或乳铁传递蛋白中获得 Fe^{3+} ^[4]。

无论何种转运机制, 含有铁的底物都与特定

收稿日期: 2011-06-07

基金项目: 湖北省教育厅科学研究项目 (B20114606), 武汉市教育局科学研究项目 (2010084)

作者简介: 董妍玲, 女, 博士, 讲师, 研究方向: 微生物工程; E-mail: shoongyanlihg@163.com

通讯作者: 潘学武, 男, 博士, 讲师, 研究方向: 微生物工程; E-mail: whswz@163.com

的外膜转运体结合完成转运，但外膜转运体不能水解 ATP 来驱动转运，为了获取能量，外膜转运体必须和内膜蛋白复合物相互作用，这些内膜蛋白复合物由 TonB、ExbB 和 ExbD 组成，它们组装成一个由 1 个或 2 个拷贝的 TonB 和多个拷贝的 ExbB 和 ExbD 组成的复合物，并形成 一个多聚体为外膜转运体提供能量。这种依赖 TonB 的外膜转运体 (TonB-dependent transporters, TBDTs) 以不需能量的形式高效结合底物，通过与 TonB 相互作用，从而驱动底物穿过外膜^[5]。TBDTs 除了参与吸收转运铁外，还可参与细菌对 VB12、镍离子螯合物和糖类等物质的吸收^[6]。本文主要综述了近年来对细菌中与铁离子转运相关 TBDTs 的研究进展，包括 TBDTs 的结构和功能、TBDTs 的合成调控等。

1 TBDTs 的功能

细菌对环境 中低浓度铁的 吸收必须通过一套主动运输体系才能完成，其中 TBDTs 以不需能量的形式高效结合含铁的底物，结合底物后 TBDT 构象发生变化，通过 N-末端被称作“TonB 盒”的保守区域与 TonB 相互作用，从中获取能量完成转运。TonB-TBDT 的这种相互作用是细菌吸收这些微量营养物的关键，同时 TonB-TBDT 相互作用的界面还有可能成为新的抗生素作用的靶位点^[7]。典型的转运途径是穿过外膜后，含铁的底物和周质腔结合蛋白结合，通过细胞质膜上的通透酶（通常是 ABC 转运体）进入细胞质。

几乎所有的革兰氏阴性菌都含有 TBDTs，用于吸收铁和维生素 B12、镍、碳源和其他可能的底物，如 *H. pylori* 中 FrpB4 是一种依赖 TonB 的镍离子转

运体；*C. crescentus* 中 MalA 则与麦芽糖吸收相关；*Salmonella typhimurii* 中与 VB12 吸收有关的 BtuB 等。不同细菌含有的 TBDTs 的数量不同，*E. coli* 只合成 7 种 TBDTs；*P. aeruginosa* 含有 34 种 TBDTs；*C. crescentus* 则含有 65 种 TBDTs。目前已经鉴定了其中 12 种 TBDTs 的结构，如表 1 所示。

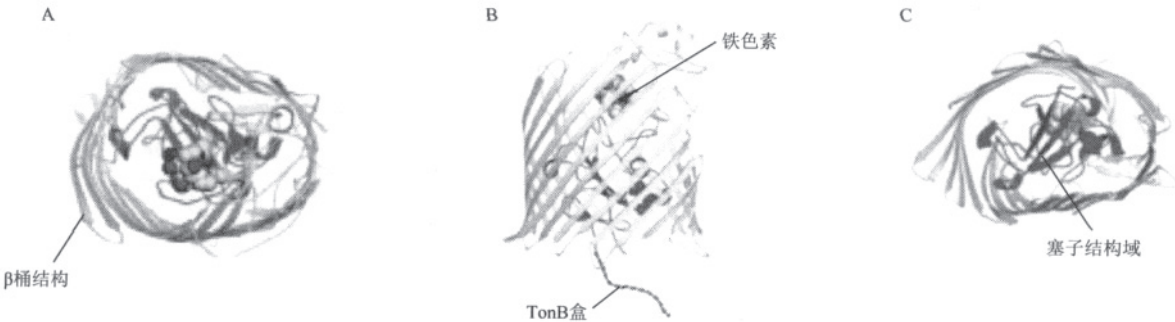
表 1 已知结构的 TBDTs

TBDT 名称	来源	转运底物	参考文献
BtuB	<i>E. coli</i>	Colicin/VB12	[8]
Cir		Colicin	[9]
FepA		enterobactin	[10]
FecA		citrate	[11]
FhuA		ferrichrome	[12]
FptA	<i>P. aeruginosa</i>	Pyochelin	[13]
FpvA		pyoverdine (Pvd)	[14]
FyuA	<i>Y. pestis</i>	Yersiniabactin	[15]
YiuR		未知	[15]
HasR	<i>S. marcescens</i>	haemophore	[16]
ShuA		未知	[17]
FauA	<i>B. pertussis</i>	未知	[18]

2 TBDTs 的结构

2.1 TBDTs 的保守结构

研究（图 1）表明，12 种 TBDTs 结构很相似，都含有两个保守结构域：一个塞子样的结构域和一个由 22 股 β 链组成的桶形结构域，其中 β 桶包围着塞子结构。一些 TBDTs 还具有长的 N-末端延长区，在转录调控中起作用。通过塞子结构面向细胞外的残基和 β 桶在外膜上的残基及细胞外的环形成了底物的结合位点，与 TonB 相互作用的 TonB 盒一般位于塞子结构域突出到周质腔的 N-末端结构中，在一些 TBDTs 中，TonB 盒也可能折叠到塞子结构域中或者分布比较散乱。



A. 结合底物的 FhuA 复合物的俯视图，示 22 股 β 链组成的桶形结构域；B. 结合底物的 FhuA 复合物的结构侧面图，示 FhuA 结合的底物（铁色素）及塞子结构域 N-末端的 TonB 盒；C. 结合底物的 FhuA 复合物的结构底部图，示塞子结构域

图 1 TBDT 蛋白 FhuA 结构示意图^[15]

通过对 12 种 TBDTs 进行基于结构的序列排列,发现它们存在 TEE, PGV, IRC 盒, LIDG 盒, RP 盒和 H β 4 等保守基序,而且都定位于塞子结构域。大部分 β 桶序列也极度保守,许多 β 折叠都有一个或多个标志性完全保守地残基,通过它可预测其他 TBDTs 或者其他 β 折叠蛋白家族的结构,细胞外的环区并未发现有保守残基^[15]。同种嗜铁素或大肠杆菌素的配体结合位点也都是特定的,如 FhuA 利用芳香族残基结合铁红素^[19],而 FecA 的结合口袋含有几个精氨酸残基以结合负电荷的柠檬酸亚铁^[20],两种亚铁血红素转运体通过位于塞子中保守的组氨酸残基与嗜铁素结合^[21]。

2.2 TBDTs与含铁的底物结合时结构的变化

当 TBDT 与嗜铁素复合物结合时会产生构象的变化,对 FecA, ShuA 和 FyuA 来说^[17,20],当 Fe³⁺-嗜铁素结合时,TBDT 位于细胞外的环区产生构象变化,将结合的底物隔离,同时传递信号到 TonB-ExbB-ExbD 复合物,随后 TBDT 的 TonB 盒和 TonB 的 C-末端接触。对 BtuB-TonB 和 FhuA-TonB 复合物结构的研究表明,TonB 盒呈现含 3 个 β 折叠的一个 α - β 折叠结构,与 TonB 的 β 折叠相对应,两者通过很小的界面结合,塞子结构域仍然位于 β 桶内,需要 TonB-ExbB-ExbD 复合物提供能量才能产生可见的变化。一旦嗜铁素复合物与 TBDT 结合,塞子结构域构象发生变化,从而在塞子结构和 β 桶内壁产生一个孔道使转运得以发生,但是塞子结构域构象变化的程度和它是否离开 β 桶仍是个值得探讨的课题。

2.3 TBDTs与无铁的底物结合时结构的变化

TBDTs 亚类中一些成员(TBDT_N)具有大约 70 个残基的 N-末端延伸,这个结构域参与信号传递,从而激活嗜铁素编码基因的转录和转运体编码基因的转录。这个亚类包括前述 12 种 TBDTs 中的 FecA、FpvA 和 HasR,还包括一些未知结构信息的天 TBDTs,如 *P. aeruginosa* 中 FiuA (ferrioxamine 转运体)^[22],*P. putida* 中的 PupA 和 PupB (假单胞菌素 BN7 和 BN8 的转运体)^[23],*B. bronchiseptica* 中的 BfrZ (嗜铁素转运体)^[24]。对这一家族成员的分析表明,与其他 TBDTs 不同的是,他们不但可以结合有铁的底物(如 Fe³⁺-嗜铁素或 holo-haemophore),还可以相似的亲

和力结合无铁的底物(嗜铁素或 apo-haemophore)。而目前为止,还未见有 FhuA 或 FepA 能结合无铁嗜铁素的报道,与 TBDT_N 不同的是,这两种 TBDTs 只能吸收转运 Fe³⁺-嗜铁素复合物,而且没有转录调控的功能。

尽管 TBDT_N 能结合无铁的嗜铁素,但只有 Fe³⁺-嗜铁素复合物能被转运,未结合铁的嗜铁素不能被吸收进入细胞。结构和生化数据表明,对 FecA 和 FpvA 来说,含铁和无铁的嗜铁素结合在同一个结合口袋,通过比较 FecA 在两种不同状态下的晶体结构表明,尽管无铁和含铁的嗜铁素占据的位点相同,但是与 TBDT_N 相互作用的方式不同。与无铁的底物柠檬酸(citrate)结合后,FecA_{Cit} 中两个柠檬酸分子采取直角方向以避免不利的静电排斥,而 FecA_{FeCit} 中铁-柠檬酸则采取平行方向,后者允许两个柠檬酸盐分子的羧基基团与铁离子相互作用。柠檬酸盐方向的改变导致 FecA 与无铁的柠檬酸和铁-柠檬酸相互作用方式不同,这为 FecA 提供了区分无铁和含铁嗜铁素的方法。分析 FecA_{Cit} 和 FecA_{FeCit} 的结构表明,一旦与铁-柠檬酸结合,FecA 位于细胞外的环、塞子结构域和 TonB 盒基序会产生很大的构象变化,细胞外的环 L7 和 L8 向底物移动平均 7 Å 和 8 Å,铁-柠檬酸陷入结合口袋内部以方便转运;而无铁的柠檬酸与 FecA 结合后,并没有被结合口袋封闭,仍游离于细胞外基质中^[11,25],FpvA 与 Pvd 和 Fe-Pvd 的结合特点与 FecA 类似^[26,27]。

2.4 TBDT_N转运含铁的底物

因为 TBDT_N 家族成员有结合无铁底物的能力,它们转运含铁底物的机制与 FhuA 和 FepA 不同。缺铁条件下,FepA 和 FhuA 含有空的结合位点,细胞外相应的 Fe-嗜铁素直接与空的口袋结合,然后通过 TonB-ExbB-ExbD 提供能量进行转运;相反,TBDT_N 在缺铁条件下与相应无铁的底物结合,随后含铁的底物会替换无铁的嗜铁素,或 TBDT_N 从环境中提取铁以形成含铁的复合物。

FecA 在缺铁条件下与有铁底物的结合包含两个步骤,FecA 首先与无铁的柠檬酸结合形成无效的 FecA_{Cit},随后铁-柠檬酸与 FecA 结合,形成转运竞争状态的 FecA_{FeCit},TonB 随即与 FecA_{FeCit} 相互

作用并激活后者,从而将含铁的嗜铁素转运到周质腔,但目前仅根据 FecA 的结构无法揭示 FecA_{Cit} 和 FecA_{FeCit} 两种不同的结合状态进行转变的机制^[11,28]。

对 FpvA 的研究表明,虽然 Fe-Pvd 或无铁的 Pvd 都以相似的亲和力与 FpvA 结合,但无铁的 Pvd 在 FpvA 上正确定位的动力学速率要比 Fe-Pvd 低很多,这意味着即使细胞外培养基中无铁的 Pvd 浓度比 Fe-Pvd 高,仍有可能形成一定数量的 FpvA-Fe-Pvd 复合物,从而激活 FpvA 转运体对其进行转运。铁被细胞吸收后,无铁的 Pvd 又重新循环到细胞表面,再次与 FpvA 结合,如果细胞仍处于铁饥饿状态, TonB 复合物能激活无铁的 FpvA-Pvd 复合物解体,重新开始新一轮的铁吸收,这个过程被称为“转运体底物置换机制”^[26,27]。

HasR 对含铁底物转运的机制与 FpvA 不同,并未发生含(holo-)或不含(apo-)血红素的 haemophore 进行置换的现象。一旦 apo-haemophore 与 HasR 结合后,未与 HasR 结合的 holo-haemophore 会将血红素交给 apo-haemophore-HasR 复合物。这种被称为“铁离子配体的交换机制”包含了两种 haemophore 形式的相互作用,可能是由于已与 HasR 结合的 apo-haemophore 对血红素具有更高的亲和力。与嗜铁素不同的是 haemophore 并不与血红素一起转运,而是仍然与转运体细胞外的位点结合,即一旦形成 holo-haemophore 转运体复合物后,血红素从 holo-haemophore 上转移到转运体,并被 TonB-ExbB-ExbD 激活进行转运^[29,30]。

3 TBDTs 合成的调控机制

3.1 TBDTs 编码基因的构成

大肠杆菌(*E.coli*)中7个TBDTs的编码基因分散于染色体中,其中btuB、fhuE和cirA转录为单顺反子,而fecA和fhuA是操纵子fecABCDE和fhuACDB的第一个基因,两个操纵子下游的基因编码将嗜铁素转运穿过细胞质膜的ABC转运体,fepA的下游基因是entD,它与肠菌素嗜铁素的合成有关,fiu后是基因ybiX和ybiL,目前还不清楚它们是否形成操纵子结构。所有这些基因的调控均在转录和转录后水平进行,并且在不需要TBDTs的时候限制它的合成,以防止噬菌体利用一些外膜蛋白侵入细胞。

3.2 Fur对铁离子吸收相关TBDTs转录的调控

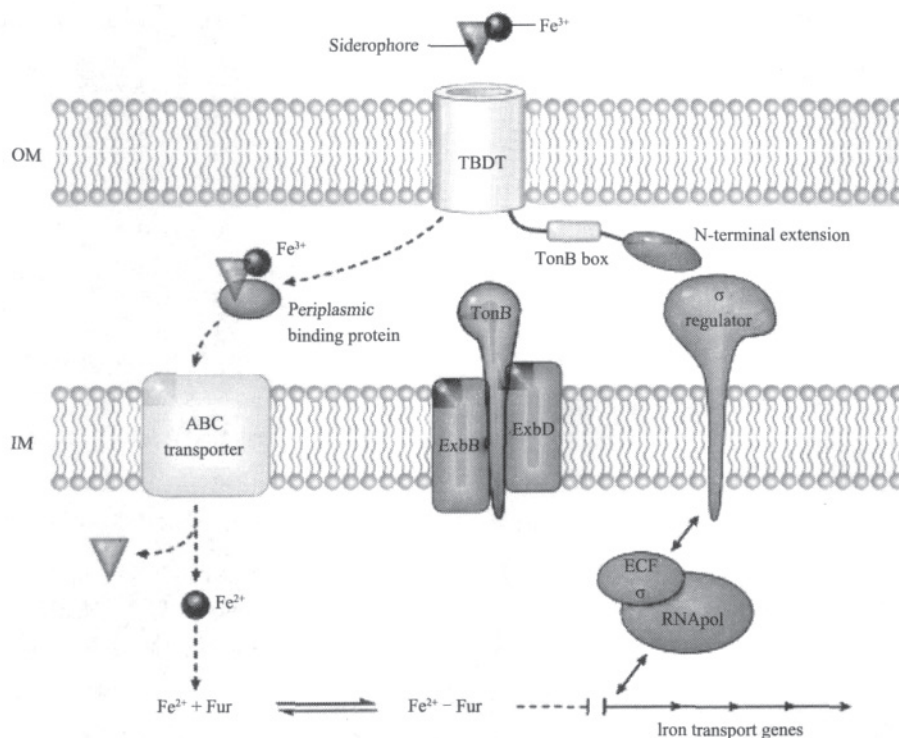
尽管铁对有机体非常重要,但过多铁离子的积累也可能产生活性氧毒性,因此必须严格控制细胞内铁离子的水平。*E.coli*中,铁离子吸收调控因子(ferric uptake regulator, Fur)在这个过程中起关键作用,它可调控与维持细胞内铁离子动态平衡相关基因的表达。Fur是一种阻遏蛋白,根据细胞内铁的含量调控铁吸收基因和嗜铁素的生物合成,它以Fe²⁺作为辅阻遏物,以二聚体形式与相应基因的启动子区结合,用DNA足迹法分析多个启动子序列表明,Fur和Fe²⁺结合的序列高度保守,称为Fur盒,保守序列为GATAATGATAATCATTATC,在其他细菌铁调控基因的启动子区也发现了类似的序列^[31,32]。

在有铁离子存在的条件下,Fur与Fe²⁺结合形成阻遏物,与Fur盒处的DNA序列结合,从而抑制许多基因的表达;在低铁条件下,Fe²⁺与Fur蛋白分离,释放了操纵序列,使参与铁吸收的基因得以转录(图2)。所有与铁转运相关的TBDTs都受Fur的调控,因此当细胞内铁离子到达一定水平时其表达就受限制。Fur盒不但存在于启动子区,还存在于fhuE和fiu基因的上游,Fur也直接抑制tonB基因的转录,并且通过与exbB上游结合,从而抑制exbB-exbD的转录。

3.3 ECF σ 因子对转录的调控

除了Fur介导的阻遏机制外,TBDTs的转录调控还存在通过信号传导进行的诱导机制(图2),这个信号机制包括3个组分:一个与相应的含铁底物结合的TBDT,一个内膜调控蛋白(或称抗 σ 因子)和一个细胞质中的ECF(extracytoplasmic function, ECF) σ 因子。含铁的底物与其相应转运体相互作用引发转运体构象变化,通过依赖TonB的能量驱动而传递到内膜调控因子,内膜调控因子随即调控特定ECF σ 因子的活性, σ 因子与RNA聚合酶核心酶结合形成全酶,起始铁转运操纵子的转录^[33,34]。

在*E.coli*的Fec系统中,fecABCDE的表达被相应的嗜铁素(ferric dicitrate)诱导,其中TBDT是FecA,抗 σ 因子是FecR, σ 因子是FecI。研究表明,FecA N端79个残基延长部分和FecR的周质腔结构域相互作用,FecR细胞膜结构域和FecI相互作



TBDT 识别细胞外的 Fe^{3+} -嗜铁素复合物, 并通过 TonB 盒与 TonB 相互作用, 借助位于内膜上 TonB-ExbB-ExbD 复合物提供能量, 将 Fe^{3+} -嗜铁素转运通过外膜, 通过周质腔结合蛋白和一个 ABC 转运体将 Fe^{3+} -嗜铁素转运穿过内膜, 一旦 Fe^{3+} -嗜铁素进入细胞质, Fe^{3+} 被还原为 Fe^{2+} , 与酶结合或储存起来, 多余的 Fe^{2+} 与阻遏蛋白 Fur 结合形成复合物, 并与靶基因的启动子区 (P_{fur}) 结合从而抑制嗜铁素转运基因的转录。一些 TBDTs, 如 *E. coli* 中的 FecA, 还可被 σ /抗- σ 因子系统调控, 除了运输含铁的底物外, FecA 还调控 fecABCDE 转运基因的转录, 这个体系包括 3 种组分: FecA 的 N 端延伸区, 内膜上的 σ 调控蛋白和细胞质内的 σ 因子, 同样需要 TonB-ExbB-ExbD 提供能量。RNAPol, RNA 聚合酶; OM, 外膜; IM, 内膜

图 2 嗜铁素的转运和调控系统示意图 [15]

用。这些相互作用在没有嗜铁素的时候也存在, 表明 FecA、FecR 和 FecI 在体内的相互作用并没有激活 fecABCDE 转录, 而铁-柠檬酸与 FecA 的结合可能改变了这种相互作用的性质或力量, 从而引起信号传递 [33]。

在 *P. aeruginosa* 中, 铁-Pvd 与其转运体 FpvA 结合而产生信号, 通过抗 σ 因子 FpvR 传递给两个 ECF σ 因子——FpvI 和 PvdS, 这是第一次发现抗 σ 因子 FpvR 直接调控 2 个不同的 ECF σ 因子的活性, 其中 FpvI 与 RNA 聚合酶结合, 起始 fpvA 的转录, PvdS 则起始 Pvd 基因的转录。通过这个系统, 嗜铁素 (Pvd) 与其转运相关的基因均被诱导转录 [35]。

3.4 其他转录调控

Fur 和 FecI 可能并不是影响 TBDTs 转录唯一的调控因子, 通过基因组学和 RT-PCR 方法表明, fecA、fepA、cirA 和 fiu 在转录调控因子 Crp 缺乏的

突变株中表达上调, 这表明 TBDTs 的合成可能还与细胞内碳源的含量有关, 但这种影响是直接的还是间接的仍需进一步的试验证明 [36]。另外, 调控因子 PdhR 可能是影响 fecA 表达的一种潜在的调控因子, 它能直接与 fecA 启动子结合, 从而抑制 fecA 的转录, 而 PdhR 的调控作用与细胞内丙酮酸盐浓度有关。没有丙酮酸盐时, PdhR 与 fecA 启动子区结合抑制靶基因的表达, 当丙酮酸盐足够多时, PdhR 不再与 fecA 结合, 抑制作用被解除, 因此丙酮酸盐也可导致 fecA 的表达增强 [37]。

4 展望

为了获取环境中微量的铁, 细菌细胞通过 TonB 提供能量, 驱动外膜上相应的 TBDTs 对含铁的底物进行转运, 明确这种能量由细胞质膜传递到外膜的机制不但可以深入理解微生物的基础生命活动, 还具有实际的应用价值, 如 TonB-TBDT 相互作用的界

面有可能成为新的抗生素作用的靶位点。因此, 铁的运输机制为了解化学治剂有效地干扰细菌正常繁殖提供了依据, 而铁运输突变型的研究可能为生产同源或异源抗体提供减毒的菌株。

近年来对细菌铁离子吸收机制的研究有了较大的进展, 已经鉴定了 12 种 TBDTs 的结构, 并分析了它们的保守结构及与底物结合时构象的变化; 通过生化和遗传学方法了解到 TBDTs 种类的不同及结合的含铁底物不同, 则转运的机制不同, 如 FecA 和 FpvA; 另外, TBDTs 的合成主要受 Fur 和 ECF σ 因子的调控, 同时可能还存在其他调控机制等。随着研究的不断深入, 仍然有许多问题需要解决, 如当与底物结合时, 信号如何从 TBDTs 传递到 TonB 从而导致 TBDTs 与 TonB 相互作用, TBDTs 在转运前和转运后构象如何变化, TBDTs 在不同条件下的表达如何被调控, ECF σ 因子调控 TBDTs 表达的分子机制是什么。相信这些问题的解决会不断促进对细菌铁离子吸收机制的深入了解, 为其实际应用提供理论依据。

参考文献

- [1] Ferguson AD, Ratledge C, Dover LG. Iron metabolism in pathogenic bacteria. *Annu Rev Microbiol*, 2000, 54: 881-941.
- [2] Ratledge C, Dover LG. Iron metabolism in pathogenic bacteria. *Annu Rev Microbiol*, 2000, 54:881-941.
- [4] Schryvers AB, Stojiljkovic I. Iron acquisition systems in the pathogenic *Neisseria*. *Mol Microbiol*, 1999, 32:1117-1123.
- [3] Wandersman C, Stojiljkovic I. Bacterial heme sources: the role of heme, hemoprotein receptors and hemophores. *Curr Opin Microbiol*, 2000, 3: 215-220.
- [5] Ferguson AD, Deisenhofer J. Metal import through microbial membranes. *Cell*, 2004, 116:15-24.
- [6] Schauer K, Rodionov DA, de Reuse H. New substrates for TonB-dependent transport: Do we only see the 'tip of the iceberg'? *Trends Biochem Sci*, 2008, 33:330-338.
- [7] Postle K. TonB system, *in vivo* assays and characterization. *Methods Enzymol*, 2007, 422:245-269.
- [8] Shultis DD, Purdy MD, Banchs CN, et al. Outer membrane active transport: structure of the BtuB: TonB complex. *Science*, 2006, 312:1396-1399.
- [9] Buchanan SK, Lukacik P, Grizot S, et al. Structure of colicin I receptor bound to the R-domain of colicin Ia: implications for protein import. *EMBO J*, 2007, 26:2594-2604.
- [10] Buchanan SK, Smith BS, Venkatramani L, et al. Crystal structure of the outer membrane active transporter FepA from *Escherichia coli*. *Nat Struct Biol*, 1999, 6:56-63.
- [11] Yue WW, Grizot S, Buchanan SK. Structural evidence for iron-free citrate and ferric citrate binding to the TonB-dependent outer membrane transporter FecA. *J Mol Biol*, 2003, 332:353-368.
- [12] Pawelek PD, Croteau N, Ng-Thow-Hing C, et al. Structure of TonB in complex with FhuA, *E coli* outer membrane receptor. *Science*, 2006, 312:1399-1402.
- [13] Cobessi D, Celia H, Pattus F. Crystal structure at high resolution of ferric-pyochelin and its membrane receptor FptA from *Pseudomonas aeruginosa*. *J Mol Biol*, 2005, 352:893-904.
- [14] Greenwald J, Nader M, Celia H, et al. FpvA bound to noncognate pyoverdines: molecular basis of siderophore recognition by an iron transporter. *Mol Microbiol*, 2009, 72:1246-1259.
- [15] Nicholas N, Maude G, Travis JB, et al. TonB-dependent transporters: Regulation, structure, and function. *Annu Rev Microbiol*, 2010, 64:43-60.
- [16] Krieg S, Huche F, Diederichs K, et al. Heme uptake across the outer membrane as revealed by crystal structures of the receptor-hemophore complex. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2009, 106:1045-1050.
- [17] Cobessi D, Meksem A, Brillet K. Structure of the heme/hemoglobin outer membrane receptor ShuA from *Shigella dysenteriae*: heme binding by an induced fit mechanism. *Proteins*, 2010, 78:286-294.
- [18] Brillet K, Meksem A, Lauber E, et al. Use of an in-house approach to study the three-dimensional structures of various outer membrane proteins: structure of the alcaligin outer membrane transporter FauA from *Bordetella pertussis*. *Acta Crystallogr*, 2009, 65:326-331.
- [19] Locher KP, Rees B, Koebnik R, et al. Transmembrane signaling across the ligand-gated FhuA receptor: Crystal structures of free and ferrichrome-bound states reveal allosteric changes. *Cell*, 1998, 95:771-778.
- [20] Ferguson AD, Chakraborty R, Smith BS, et al. Structural basis of gating by the outer membrane transporter FecA. *Science*, 2002, 295:1715-1719.
- [21] Cobessi D, Meksem A, Brillet K. Structure of the heme/hemoglobin

- outer membrane receptor ShuA from *Shigella dysenteriae*: heme binding by an induced fit mechanism. *Proteins*, 2010, 78:286-294.
- [22] Hannauer M, Barda Y, Mislin GL, et al. The ferrichrome uptake pathway in *Pseudomonas aeruginosa* involves an iron release mechanism with acylation of the siderophore and recycling of the modified desferrichrome. *J Bacteriol*, 2010, 192 (5) :1212-1220.
- [23] Zhou G, Velasquez LS, Geiser DL, et al. Differential regulation of transferrin 1 and 2 in *Aedes aegypti*. *Insect Biochem Mol Biol*, 2009, 39 (3) :234-244.
- [24] Pradel E, Locht C. Expression of the putative siderophore receptor gene bfrZ is controlled by the extracytoplasmic-function sigma factor BupI in *Bordetella bronchiseptica*. *J Bacteriol*, 2009, 183 (9) :2910-2917.
- [25] Marshall B, Stintzi A, Gilmour C, et al. Citrate-mediated iron uptake in *Pseudomonas aeruginosa*: involvement of the citrate-inducible FecA receptor and the FeoB ferrous iron transporter. *Microbiology*, 2009, 155 (Pt 1) :305-315.
- [26] Voulhoux R, Filloux A, Schalk IJ. Pyoverdine-mediated iron uptake in *Pseudomonas aeruginosa*: the Tat system is required for PvdN but not for FpvA transport. *J Bacteriol*, 2006, 188 (9) :3317-3323.
- [27] Nader M, Journet L, Meksem A, et al. Mechanism of ferripyoverdine uptake by *Pseudomonas aeruginosa* outer membrane transporter FpvA: no diffusion channel formed at any time during ferric siderophore uptake. *Biochemistry*, 2011, 50 (13) :2530-2540.
- [28] Sen TZ, Kloster M, Jernigan RL, et al. Predicting the complex structure and functional motions of the outer membrane transporter and signal transducer FecA. *Biophys J*, 2008, 94 (7) :2482-2491.
- [29] Létoffé S, Delepelaire P, Wandersman C. Free and hemophore-bound heme acquisitions through the outer membrane receptor HasR have different requirements for the TonB-ExbB-ExbD complex. *J Bacteriol*, 2004, 186 (13) :4067-4074.
- [30] Benevides-Matos N, Biville F. The Hem and Has haem uptake systems in *Serratia marcescens*. *Microbiology*, 2010, 156 (Pt 6) :1749-1757.
- [31] 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, 26:5471-5477.
- [32] Chen Z, Lewis KA, Shultzaberger RK, et al. Discovery of Fur binding site clusters in *Escherichia coli* by information theory models. *Nucleic Acids Res*, 2007, 35:6762-6777.
- [33] Ochs M, Veitinger S, Kim I, et al. Regulation of citrate-dependent iron transport of *Escherichia coli*: fecR is required for transcription activation by FecI. *Mol Microbiol*, 1995, 15:119-132.
- [34] Staron A, Sofia HJ, Dietrich S, et al. The third pillar of bacterial signal transduction: classification of the extracytoplasmic function (ECF) sigma factor protein family. *Mol Microbiol*, 2009, 74:557-581.
- [35] Imperi F, Tiburzi F, Visca P. Molecular basis of pyoverdine siderophore recycling in *Pseudomonas aeruginosa*. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2009, 106 (48) :20440-20445.
- [36] Zhang Z, Gosset G, Barabote R, et al. Functional interactions between the carbon and iron utilization regulators, Crp and Fur, in *Escherichia coli*. *J Bacteriol*, 2005, 187:980-990.
- [37] Ogasawara H, Ishida Y, Yamada K, et al. PdhR (pyruvate dehydrogenase complex regulator) controls the respiratory electron transport system in *Escherichia coli*. *J Bacteriol*, 2007, 189:5534-5541.

(责任编辑 狄艳红)