

## 遗传育种与生物合成

## 野野村放线菌 ATCC 39727 的双组份信号转导系统的生物信息学分析

岳雪<sup>1</sup> 王帅<sup>1</sup> 李大成<sup>2</sup> 王勇健<sup>1</sup> 董惠钧<sup>1,\*</sup>

(1 聊城大学药学院, 聊城 252000; 2 聊城大学生物制药研究院, 聊城 252000)

**摘要:** 双组份信号转导系统是放线菌中重要的全局调控系统之一, 参与细胞形态分化、氮磷代谢、次级代谢产物合成和其他生理代谢过程。本文采用生物信息学方法系统分析了 *Nonomuraea* sp. 中双组份信号转导系统 (two-component signal transduction system, TCS) 的分布、系统分类、结构与功能, 初步构建了部分 TCS 调控网络, 旨在揭示 *Nonomuraea* sp. 中次级代谢产物合成与 TCS 之间的关系, 为提高糖肽类抗生素 A40926 效价和发现新的潜在生物活性物质奠定基础。

**关键词:** 野野村放线菌; 双组份信号转导系统; A40926; 调控网络; 生物信息学

**中图分类号:** Q939.97 **文献标志码:** A

## Bioinformatics analysis of two-component signal transduction systems in *Nonomuraea* sp. ATCC 39727

Yue Xue<sup>1</sup>, Wang Shuai<sup>1</sup>, Li Da-cheng<sup>2</sup>, Wang Yong-jian<sup>1</sup> and Dong Hui-jun<sup>1</sup>

(1 School of Pharmacy, Liaocheng University, Liaocheng 252000; 2 Institute of Biopharmacy, Liaocheng University, Liaocheng 252000)

**Abstract** Two-component signal transduction systems (TCS) are important global regulation systems in actinomycetes and involved in cell differentiation, the metabolism of nitrogen and phosphorus, the biosynthesis of secondary metabolites, and other physiological processes. In this paper, the distribution, classification, structure and function of TCS in *Nonomuraea* sp. were analyzed using bioinformatics. The putative TCS regulatory network was built to reveal the relationship between the biosynthesis of secondary metabolites and TCS.

**Key words** *Nonomuraea* sp.; Two-componentsignal transduction system; A40926; Regulatory network; Bioinformatics

野野村放线菌 (*Nonomuraea* sp. ATCC39727) 可以产生糖肽类抗生素达巴万星前体 A40926, 经酯化、酰胺化、水解和成盐等步骤合成达巴万星。达巴万星主要用于治疗革兰阳性菌引起的皮肤和皮肤组织感染, 抗菌活性优于同类药物万古霉素和替考拉宁<sup>[1]</sup>。野野村放线菌基因组已测序完成, 大小约 11.85Mb, 基因组上分布有 33 个次级代谢生物合成基因簇。糖肽类抗生素达巴万星前体 A40926 的合成基因簇 *dbv* 包含 37 个开发阅读框 (open read frame, ORF), 大小为

71kb, 指导氨基酸前体物先合成七肽骨架, 经环化和后修饰生成 A40926<sup>[2]</sup>。

相对于高等动植物, 微生物有着超强的环境适应能力。微生物这种超强能力的遗传基础是其拥有复杂多样的信号转导系统, 其中最重要的信号转导系统是双组分信号转导系统 (two-component signal transduction system, TCS)。TCS 目前只在细菌、古生菌和植物中有发现, 而在人类和其他哺乳动物体内尚未发现。通常 TCS 系统由组氨酸激酶 (histidine

收稿日期: 2018-04-13

基金项目: 山东省自然科学基金 (No. ZR2015CL001); 山东省抗体制药协同创新中心开放课题 (No. CIC-AD1818)

作者简介: 岳雪, 女, 生于 1995 年, 在读硕士研究生, 主要研究方向为微生物药物合成生物学, E-mail: yuexue\_0126@163.com

\* 通讯作者, E-mail: donghuijun\_747@163.com

kinase, HK) 和应答调节蛋白 (response regulator, RR) 构成。HK 中含有重复序列的 N 端胞外感受域和保守的 C 端胞内传导域 (HisKA), 由 N 端胞外感受域感应外界的特 定环境刺激信号。RR 通常包括一个保守的 N 端接受域和一个多变的 C 端输出域 (REC) 组成, 通过天冬氨酸残基调控细胞内的一系列应答反 应<sup>[3]</sup>。大多数细菌体内都存在数量不等的 TCS, 它们调控细菌的趋化性、感知渗透压、pH、金属离子、形态分化、营养物质代谢以及次级代谢产物的生物合成等诸多生理过程。

放线菌具有复杂的次级代谢产物和网络。与之相对应, 放线菌中也具有丰富多样的 TCS 系统, 两者之间息息相关。本文通过生物信息学方法对 *Nonomuraea* sp. ATCC39727 中 TCS 的分类、保守结构域、进化关系以及功能进行分析, 旨在深入解析 ATCC39727 的生长和代谢相关基因的表达和调控, 为进一步解析 A40926 合成代谢和调控, 构建高产工程菌株提供理论支撑。

## 1 材料与方法

### 1.1 ATCC39727 基因组中双组份信号系统预测和结构功能分析

根据双组份信号系统 HK 和 RR 蛋白保守结构域分析 ATCC39727 基因组中可能存在的双组份系统。本文中 ATCC39727 基因组序列信息来自 NCBI 数据库。ATCC39727 双组份信号系统的鉴定方法: (1) 利用 Pfam 数据库中保守的 HK 和 RR 结构域 HATPase\_c(Pfam00512) 和 Response\_reg(Pfam00072) 对 ATCC39727 基因组进行搜索比对, 分别鉴定基因组中的 HK 和 RR; (2) 用 NCBI 的 Blast P 对得到的

HK/RR 序列进行在线比对。

双组份信号系统的确认标准: (1)HATPase 结构域应该位于 HK 蛋白的 C 端; (2)HisKA 位于 HATPase 结构域的前面, HATPase\_c 的上游具有二聚化或磷酸化结构域 DHp; (3)RR 的 N 端含有磷酸受体, Response\_reg 结构域位于 RRs 的 C- 末端。最后, 参照 Williams 和 Whitworth 的方法<sup>[4]</sup>对成对的 TCS(HK-RR 对)、融合 HK 和孤儿 HK/RR 进行鉴定。如果 HK 和 RR 位于同一操纵子上, 则该 HK 和 RR 成功配对为成对 TCS; 如果 HisKA 和 REC 结构域同时出现在一个蛋白上, 那么该蛋白定义为融合 HK; 如果 HK/RR 在同一操纵子上找不到对应的 RR/HK, 则该 HK/RR 定义为孤儿 HK/RR。

### 1.2 双组份信号进化树和调控网络构建

分别将 ATCC39727 基因组中所有 HK 和 RR 蛋白序列导入 Mega 6.0 软件中, 首先进行 Clustal W 同源比对, 然后选用 NJ 法构建进化树, 并进行 Bootstrap 验证, 重复次数设置为 1000。

利用 Pfam、SMART 和 BLASTp 进行保守结构域分析, 并用 UniprotKB 数据库进行辅助验证, 结合文献报道, 预测 TCS 各组分的功能, 并在此基础上构建 ATCC39727 TCS 信号转导网络。

## 2 结果与分析

### 2.1 ATCC39727 基因组中 TCS 分布

与其他微生物相比, 放线菌具有复杂的形态分化和丰富的次级代谢网络。与之相对应, 放线菌也含有丰富的 TCS 系统, 与大肠埃希菌和枯草芽孢杆菌平均 25 个成对 TCS 相比, 天蓝色链霉菌和野野村放线菌则分别含有 67 对和 60 对 TCS(表 1)。进一

表 1 几种模式微生物 TCS 系统比较  
Tab. 1 Comparison of TCSs from different model microorganisms

模式微生物	基因组大小 /Mb	TCS 类型 / 数量				HK 功能域		RR 功能域	
		HK-RR	孤儿 HK	孤儿 RR	融合 TCS	特异	共有	特异	共有
<i>Streptomyces coelicolor</i> A3(2)	8.67	67	32	19	2	CHASE3/NIT/PspC	HAMP/HisKA/ HATPase_c/ PAS/GAF		HTH_LUXR/ Response_reg/ Trans_reg_C/REC
<i>Escherichia coli</i> ATCC8739	4.74	25	5	9	4	MASE1/PBPb/Hpt /CheW/MCPsignal		CitT/GerE/1 AAA/PP2C_ SIG/CheB_ methylest/ LytTR/GerE	
<i>Bacillus subtilis</i> XF-1	4.06	25	7	10	1	Cache_1/ PAC		CitT/HTH_ AraC/LytTR/ YcbB/ CheW/ Spo0A_C ANTAR	
<i>Nonomuraea</i> sp. ATCC39727	11.85	60	52	39	2				

步对比发现，野野村放线菌 TCS 系统中的 HK 和 RR 蛋白更加保守，几乎没有特异性结构域。通过搜索比对和分析发现，ATCC39727 基因组中含有丰富的 TCS 基因，共有 213 个相关编码基因。进一步分析其中 112 个基因编码 HK 蛋白，包含 60 个 TCS HK-RR 和 52 个孤儿 HK，99 个基因编码 TCS RR 蛋白，包含 60 个 HK-RR 和 39 个孤儿 RR，另外还有 2 个融合 HK(表 2)。尽管在细菌基因组中 TCS 基因所占比例不大(通常低于 5%)，但在调控微生物生理生化代谢中发挥重要作用。

2.2 ATCC39727 基因组 HKs 蛋白分类

从 ATCC39727 基因组中搜索到所有可能的 HK 蛋白后，用 Pfam、SMART 和 NCBI 进行蛋白结构域分析。TCS 的 HK 蛋白通常为跨膜蛋白，包含胞外信号感应域(sensing domain)、胞内信号传递域(transmitter domain)和 ATP 酶域(ATPase domain)<sup>[5]</sup>。根据结构域的组成情况，ATCC39727 中 112 个 HK 蛋白分为 14 组，其中 65 个 HK 蛋白含有多个重复序列和 HATPase\_c 结构域，35 个 HK 蛋白含有 HAMP、HisKA 和 HATPase\_c3 个结构域，其余 12 个 HK 蛋白含有各异的结构域组合，感应结构域主要有 HAMP、GAF 和 PAS(图 1)。HATPase\_c 结构

表 2 *Nonomuraea* sp. ATCC39727 基因组中双组份系统  
Tab. 2 Two-component signal transduction systems in *Nonomuraea* sp. ATCC39727

序号	TCS 类型 /Protein ID			
	TCS(HK-RR)	孤儿 HK	孤儿 RR	融合 TCS
1	SBO90545.1/SBO90544.1	SBO90656.1	SBO90659.1	SBO91396.1
2	SBO90549.1/SBO90548.1	SBO90660.1	SBO91498.1	SBO98167.1
3	SBO90631.1/SBO90630.1	SBO90712.1	SBO91536.1	
4	SBO90691.1/SBO90690.1	SBO90794.1	SBO91600.1	
5	SBO90990.1/SBO90991.1	SBO90803.1	SBO91954.1	
6	SBO91237.1/SBO91238.1	SBO91076.1	SBO92132.1	
7	SBO91272.1/SBO91271.1	SBO91208.1	SBO92380.1	
8	SBO91317.1/SBO91318.1	SBO91233.1	SBO92460.1	
9	SBO91497.1/SBO91498.1	SBO91266.1	SBO92584.1	
10	SBO91760.1/SBO91759.1	SBO91773.1	SBO92652.1	
11	SBO91817.1/SBO91818.1	SBO92353.1	SBO92687.1	
12	SBO92164.1/SBO92165.1	SBO92668.1	SBO93387.1	
13	SBO92456.1/SBO92455.1	SBO93125.1	SBO93867.1	
14	SBO92566.1/SBO92565.1	SBO93386.1	SBO93920.1	
15	SBO92576.1/SBO92575.1	SBO93454.1	SBO94094.1	
16	SBO92706.1/SBO92707.1	SBO94477.1	SBO94285.1	
17	SBO92866.1/SBO92867.1	SBO94520.1	SBO94325.1	
18	SBO92959.1/SBO92958.1	SBO94526.1	SBO94463.1	
19	SBO93147.1/SBO93146.1	SBO95038.1	SBO94713.1	
20	SBO93370.1/SBO93371.1	SBO95041.1	SBO95019.1	
21	SBO93525.1/SBO93526.1	SBO95085.1	SBO95102.1	
22	SBO93608.1/SBO93607.1	SBO95186.1	SBO95263.1	
23	SBO93778.1/SBO93777.1	SBO95273.1	SBO95737.1	
24	SBO94963.1/SBO94962.1	SBO95603.1	SBO95850.1	
25	SBO94979.1/SBO94978.1	SBO95604.1	SBO96049.1	
26	SBO95274.1/SBO95275.1	SBO96556.1	SBO96082.1	
27	SBO95376.1/SBO95377.1	SBO96854.1	SBO96655.1	
28	SBO95455.1/SBO95456.1	SBO96872.1	SBO97030.1	
29	SBO95519.1/SBO95520.1	SBO97257.1	SBO97880.1	
30	SBO95567.1/SBO95566.1	SBO97434.1	SBO98591.1	
31	SBO95589.1/SBO95588.1	SBO97678.1	SBO99409.1	

续表 2

序号	TCS 类型 /Protein ID			
	TCS(HK-RR)	孤儿 HK	孤儿 RR	融合 TCS
32	SBO95735.1/SBO95736.1	SBO97792.1	SBO99410.1	
33	SBO95788.1/SBO95789.1	SBO97858.1	SBO99413.1	
34	SBO95929.1/SBO95928.1	SBO97899.1	SBO99719.1	
35	SBO96020.1/SBO96021.1	SBO98305.1	SBO99991.1	
36	SBO96085.1/SBO96084.1	SBO98330.1	SBP00214.1	
37	SBO96681.1/SBO96680.1	SBO98426.1	SBP00475.1	
38	SBO96772.1/SBO96771.1	SBO98679.1	SBP00843.1	
39	SBO96818.1/SBO96817.1	SBO98735.1	SBP01334.1	
40	SBO96829.1/SBO96828.1	SBO99172.1		
41	SBO96874.1/SBO96873.1	SBO99173.1		
42	SBO96895.1/SBO96896.1	SBO99275.1		
43	SBO97511.1/SBO97510.1	SBO99415.1		
44	SBO97656.1/SBO97657.1	SBO99588.1		
45	SBO98031.1/SBO98032.1	SBO99756.1		
46	SBO98512.1/SBO98511.1	SBO99945.1		
47	SBO98630.1/SBO98629.1	SBP00220.1		
48	SBO98862.1/SBO98863.1	SBP00499.1		
49	SBO99122.1/SBO99121.1	SBP00644.1		
50	SBO99211.1/SBO99212.1	SBP00832.1		
51	SBO99403.1/SBO99404.1	SBP00895.1		
52	SBO99572.1/SBO99571.1	SBP00940.1		
53	SBP00052.1/SBP00053.1			
54	SBP00060.1/SBP00061.1			
55	SBP00067.1/SBP00068.1			
56	SBP00262.1/SBP00261.1			
57	SBP00418.1/SBP00417.1			
58	SBP00551.1/SBP00552.1			
59	SBP01281.1/SBP01282.1			
60	SBP01335.1/SBP01336.1			

域是胞内负责将 ATP 的磷酸基团转移到组氨酸上的催化结构域，HisKA 则是接受磷酸的受体结构域，HAMP 结构域是受体组氨酸激酶和甲基接受蛋白的细胞质螺旋连接结构域，PAS 结构域与感应外界氧、氧化还原电位和光的变化有关，GAF 结构域主要对环核苷酸结合发挥作用，例如 cGMP 和 cAMP 等。

根据结构域功能可将 HK 蛋白分为胞质感应 HK、胞外感应 HK 和膜感应 HK。含有 PAS 和 GAF 结构域的 HK 为胞质感应 HK，含有跨膜和 HAMP 结构域的 HK 为胞外感应 HK，仅含有跨膜结构域和 HATPase\_c 的为膜感应 HK。从图 1 可以看出，ATCC39727 中的 HK 蛋白绝大多数是胞外感应和膜感应类型。

为了解 ATCC39727 基因组中 TCS 基因的相互关

系，分别对 ATCC39727 菌株中所有的 HK 和 RR 蛋白序列进行比对和进化分析，发现行使不同功能的 HK 蛋白之间的序列保守性弱，呈现多样性，而 RR 蛋白的保守性则要强一些。另外从 HK-RR 来比较，同源相近的 HKs 对应的 RRs 并不同源，反映了 TCS 进化的多样性 (图 2)。

2.3 ATCC39727 基因组 RRs 蛋白分类

与 HK 相比，RR 在长度和组成上都相对保守，它由 N 端含有 Asp 残基的高度保守的信号接受域 (receiver domain) 以及 C 端的效应结构域 (effector domain) 两部分组成。根据结构域的差异，ATCC39727 中的 RR 蛋白可以分为 6 类 (图 3)。其中含有 REC 和 HTH\_LUXR 结构域的 RR 蛋白最多，共有 57 个；其次有 24 个 RR 蛋白含有 REC 和 Trans reg\_c 结构域；RR

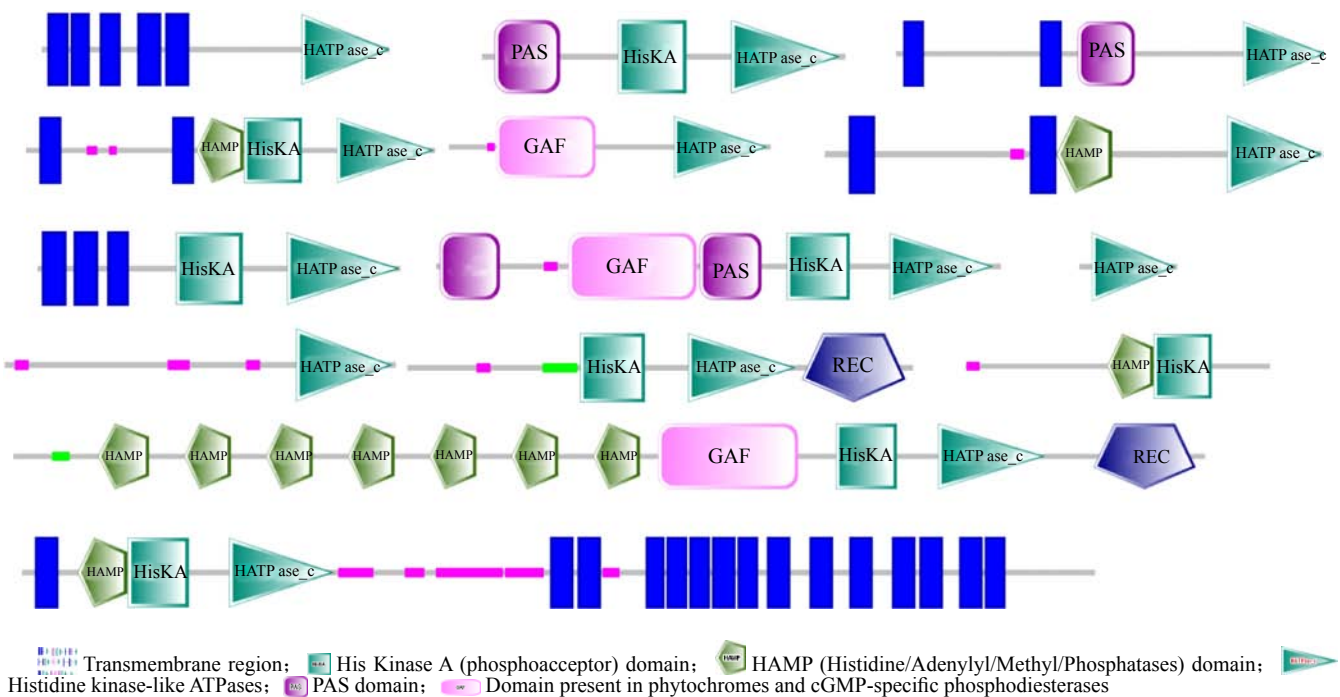


图 1 TCS HKs 蛋白结构域类型  
Fig. 1 Conserved domain composition of TCS HK proteins

蛋白中最多的结构域是 REC 结构域 (趋化蛋白 CheY 同源的受体结构域), ANTAR 结构域是 RNA 结合输出域, HTH\_LUXR 结构域起到结合 DNA 和转录激活的作用。

2.4 ATCC39727 TCS 功能预测

根据 ATCC39727 基因组中 HKs 和 RRs 蛋白的保守结构域和相对位置, 发现了 60 对不同的 TCS。根据 Blast P 结果注释和相关文献, 对 60 对 TCS 的功能进行了预测和分析 (表 3)。结果表明, ATCC39727 中的 TCS 同其他微生物中的功能类似, 主要包括细胞壁和细胞膜的合成和调节, 例如 VraS/VraR (调节肽聚糖合成)、LiaS/LiaR (与细胞壁压力和抗菌肽调节相关)、MtrA/MtrB (调节渗透压)、DesR/DesK (调节细胞膜流动性); 调节细胞形态分化, 例如 BaeS/BaeR (调节 DNA 起始复制)、ArlS/ArlR (调控接合和自溶)、DevR/DevS (启动细胞休眠)、DegS/DegU (调控生物膜形成)、PrrB/PrrA (调控细胞早期增殖)、YdfH/YdfI (参与细胞分化); 参与营养元素代谢, 例如 NarS/NarL (参与硝酸盐代谢)、PhoP/PhoR (参与磷代谢)、NreB/NreC (参与硝酸盐异化和亚硝酸盐代谢)、NarX/NarP (调节氮代谢); 调节重金属离子平衡和抗性, 例如 CzcS/CzcR (调节 Zn 代谢)、CopS/CopR (与铜抗性基因有关)、CutS/CutR (调节铜代谢)、IrlR/IrlS (与重金属抗性有

关)、PcoS/PcoR (活化铜抗性基因)、TcrY/TcrX (与铁缺乏有关); 与细胞抗性和毒力相关, 例如 YvfT/YvfU (与细菌毒力有关); 调节细胞呼吸和途径代谢, 例如 ResD/ResE (调控有氧和无氧呼吸)、MprB/MprA (全局调控子)、UhpC/UhpB (调控己糖磷酸化)。

2.5 ATCC39727 中 TCS 调控网络

通过对 ATCC39727 基因组中的 TCS 进行功能预测, 并结合相关文献, 构建了 ATCC39727 中部分 TCS 调控网络。TCS 调控网络的显著特征是相互交叉, 呈现“一对多或多对一”的级联反应 (图 4)。例如在缺氧情况下, ResD 诱导 YclJK 双组份表达, 进一步 YclJK 正调控 YsfCD 表达, 后者又同时被 DesSU 负调控。又例如在磷酸盐缺乏时, PhoR/PhoP 系统激活, 诱导另一组磷代谢相关的双组份系统 PhoA/PhoB, 同时会抑制氮代谢相关蛋白 GlnA 的表达, 而 GlnA 会通过 TnRA 蛋白与 DegS/DegU 相互作用。在 ATCC39727 中存在多个与金属离子代谢相关的 TCS。CopS/CopR 在环境中铜离子的压力下激活, 进而诱导结构基因 *copABCD* 表达, *copABCD* 的表达会进一步激活 PcoS/PcoR, Pco 相关蛋白的表达外排铜离子、抵抗铜离子的毒害。类似的, 锌离子的存在会激活 CzcS/CzcR, 进而诱导 *czcC* 基因的表达。CopS/CopR 和 CzcS/CzcR 两个双组份系统都会抑制 *oprD* 基因 (细胞膜孔道蛋白) 的表达。



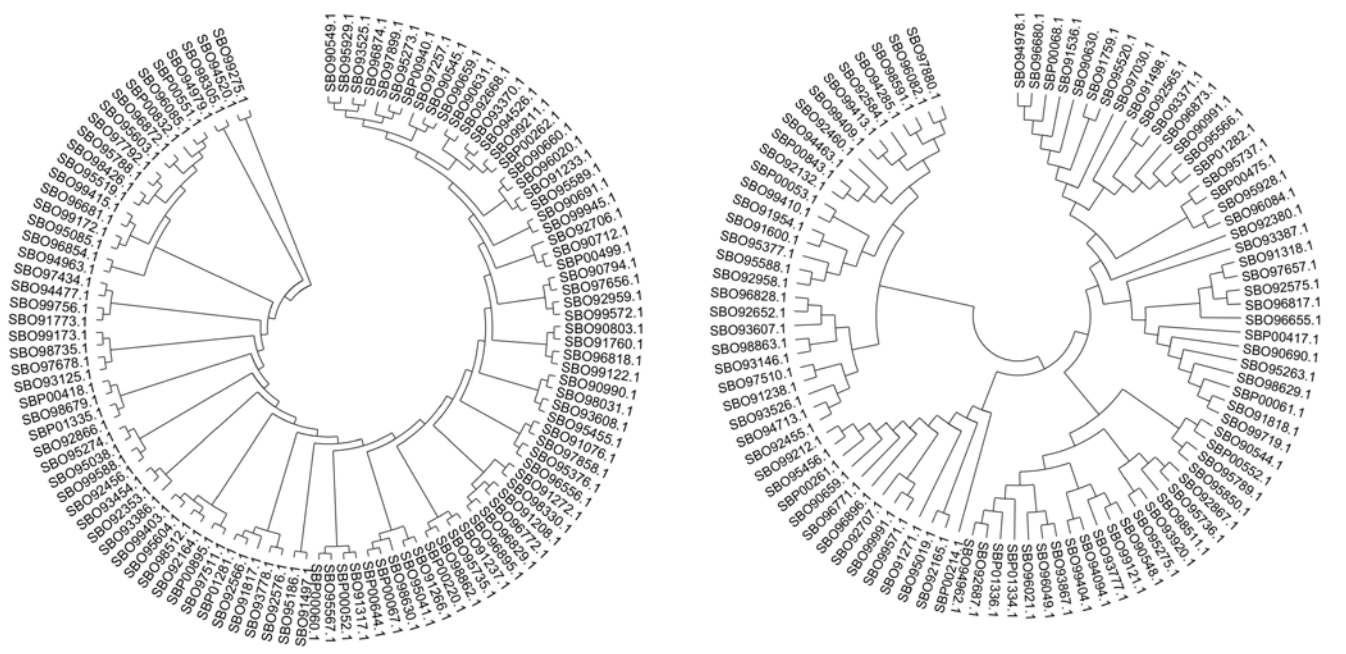


图2 TCS HKs 和 RRs 蛋白进化分析  
Fig. 2 Phylogenetic trees of HK and RR proteins

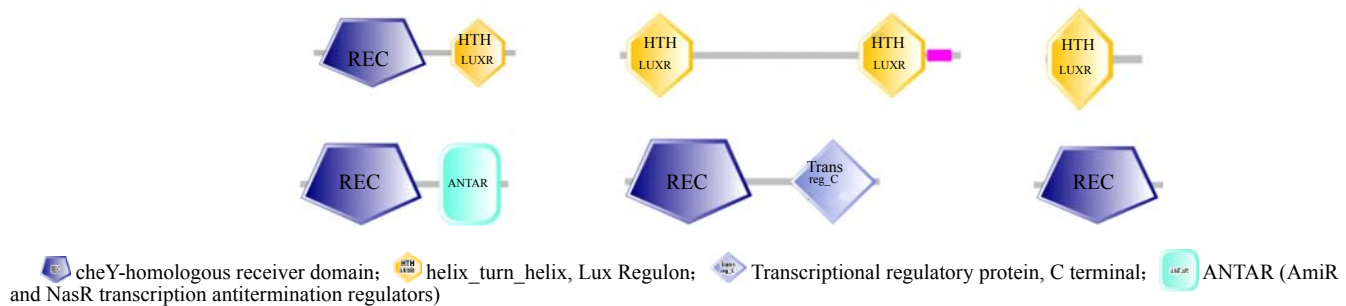


图3 TCS RRs 蛋白结构域类型  
Fig. 3 Conserved domain composition of TCSRR proteins

### 3 讨论

糖肽抗生素是一类重要的抗生素，是临床上治疗耐甲氧西林金黄色葡萄球菌等“顽劣菌株”的最后一道防线。目前糖肽抗生素已经发展到第二代，都是直接来源于微生物的天然产物或衍生物。以A40926为前体的达巴万星是第二代糖肽抗生素中活性最强的，其半衰期长达174h，临床上一周仅给药1次。野野村放线菌是A40926生产菌株，其全基因组已测序完成，基因组大小11.85Mb，基因组上分布有丰富多样的TCS双组份系统，共有213个相关HK和RR编码基因。ATCC39727中的只有极少数TCS系统得到实验验证，其中途径特异性调控基因 $dbv22$ (HK)和 $dbv6$ (RR)是一对TCS系统，但Grasso等<sup>[33]</sup>证实 $dbv6$ 并不影响A40926的表达。尽管TCS系统中典型的HK蛋白含有4个保守结构域，但ATCC39727的HK蛋白的保守结构域有14种组合类

型，其中最保守的结构域是HATPase，每一种组合类型都有该结构域，这种组合多样的特征可能是由于其为了更好的适应复杂的环境变化而发生的进化。本文通过生物信息学分析初步构建了部分TCS系统的调控网络。在此基础上，本文将在下一步工作中重点研究ATCC39727中双组份对A40926次级代谢途径的影响。

### 参考文献

- [1] Srdjan J, Marina F, Flavia M. *et al.* Factors influencing cell fatty acid composition and A40926 antibiotic complex production in *Nonomuraea* sp. ATCC39727[J]. *J Ind Microbiol Biotechnol*, 2008, 35(10): 1131-1138.
- [2] Sosio M, Stinchi S, Beltrametti F, *et al.* The gene cluster for the biosynthesis of the glycopeptide antibiotic A40926 by *Nonomuraea* species[J]. *Chem Biol*, 2003, 10(6): 541-549.
- [3] Jung K, Fried L, Behr S, *et al.* Histidine kinases and

表 3 ATCC39727 中 TCS 功能预测  
Tab. 3 Function prediction of TCSs in ATCC39727

TCS No.	HK/RR ID	功能预测
1	SBO90631.1/SBO90630.1	可能同 DegS/DegU, 控制降解酶的合成, 生物膜形成以及群体运动 <sup>[6]</sup>
2	SBO96020.1/SBO96021.1	可能同 DegS/DegU, 控制降解酶的合成, 生物膜形成以及群体运动 <sup>[6]</sup>
3	SBO98512.1/SBO98511.1	可能同 DesR/DesK, 与酰酯去饱和酶合成有关, 调节细胞膜流动性 <sup>[6]</sup>
4	SBO98630.1/SBO98629.1	可能同 DegS/DegU, 控制降解酶合成, 参与生物膜形成 <sup>[6]</sup>
5	SBO95788.1/SBO95789.1	可能同 VraS/VraR, 感应细胞壁肽聚糖损伤, 提高细胞抗性 <sup>[7]</sup>
6	SBO95929.1/SBO95928.1	可能同 VraS/VraR, 感应细胞壁肽聚糖损伤, 提高细胞抗性 <sup>[7]</sup>
7	SBO90691.1/SBO90690.1	可能同 VraS/VraR, 感应细胞壁肽聚糖损伤, 提高细胞抗性 <sup>[7]</sup>
8	SBO93370.1/SBO93371.1	可能同 VraS/VraR, 感应细胞壁肽聚糖损伤, 提高细胞抗性 <sup>[7]</sup>
9	SBO95274.1/SBO95275.1	可能同 NreB/NreC, 调控与氧相关的硝酸盐异化 / 亚硝酸盐还原 <sup>[7]</sup>
10	SBO91237.1/SBO91238.1	可能同 CzcS/CzcR, 调节细胞重金属离子和碳青霉烯类抗生素抗性 <sup>[8]</sup>
11	SBO91272.1/SBO91271.1	可能同 ResD/ResE, 调控核糖核酸酶基因表达 <sup>[9]</sup>
12	SBO91760.1/SBO91759.1	可能同 LiaS/LiaR, 与干扰细胞膜 II 型脂合成循环的抗生素活化有关 <sup>[10]</sup>
13	SBP00551.1/SBP00552.1	可能同 LiaS/LiaR, 与干扰细胞膜 II 型脂合成循环的抗生素活化有关 <sup>[10]</sup>
14	SBO91817.1/SBO91818.1	可能同 DesR/DesK, 与酰酯去饱和酶合成有关, 调节细胞膜流动性 <sup>[11]</sup>
15	SBO95519.1/SBO95520.1	可能同 DesR/DesK, 与酰酯去饱和酶合成有关, 调节细胞膜流动性 <sup>[11]</sup>
16	SBO92164.1/SBO92165.1	可能同 NreB/NreA, 调控与氧相关的硝酸盐异化 / 亚硝酸盐还原 <sup>[12]</sup>
17	SBO92456.1/SBO92455.1	MtrA/MtrB, 与渗透压有关, 调节细胞壁代谢 <sup>[13]</sup>
18	SBO92576.1/SBO92575.1	可能同 BacS/BacR, 与 DNA 起始复制有关, 调控伴侣蛋白表达 <sup>[14]</sup>
19	SBO92706.1/SBO92707.1	可能同 CopS/CopR, 铜抗性基因 <sup>[15]</sup>
20	SBO92866.1/SBO92867.1	可能同 NarS/NarL, 参与硝酸盐代谢 <sup>[16]</sup>
21	SBO95735.1/SBO95736.1	可能同 NarS/NarL, 参与硝酸盐代谢 <sup>[16]</sup>
22	SBO93147.1/SBO93146.1	可能同 TcrY/TcrX, 与铁缺乏或依赖有关 <sup>[17]</sup>
23	SBP01335.1/SBP01336.1	TcrY/TcrX, 与铁缺乏或依赖有关 <sup>[17]</sup>
24	SBO95376.1/SBO95377.1	可能同 TcrY/TcrX, 与铁缺乏或依赖有关 <sup>[17]</sup>
25	SBO93525.1/SBO93526.1	可能同 ArlS/ArlR, 参与接合、自溶、多重抗药性 <sup>[18]</sup>
26	SBO93608.1/SBO93607.1	可能同 CutS/CutR, 参与调节铜代谢 <sup>[19]</sup>
27	SBO95455.1/SBO95456.1	可能同 CutS/CutR, 参与调节铜代谢 <sup>[19]</sup>
28	SBO96772.1/SBO96771.1	可能同 CutS/CutR, 参与调节铜代谢 <sup>[19]</sup>
29	SBO96895.1/SBO96896.1	可能同 CutS/CutR, 参与调节铜代谢 <sup>[19]</sup>
30	SBP00262.1/SBP00261.1	可能同 CutS/CutR, 参与调节铜代谢 <sup>[19]</sup>
31	SBO99211.1/SBO99212.1	可能同 CutS/CutR, 调节铜代谢 <sup>[19]</sup>
32	SBO94963.1/SBO94962.1	可能同 PhoP/PhoR, 调节磷代谢 <sup>[20]</sup>
33	SBO96085.1/SBO96084.1	可能同 DevR/DevS, 启动细胞休眠 <sup>[21]</sup>
34	SBO96681.1/SBO96680.1	可能同 NarX/NarP, 调节氮代谢 <sup>[22]</sup>
35	SBO96829.1/SBO96828.1	可能同 IrlR/IrlS, 调节重金属抗性 <sup>[23]</sup>
36	SBO97511.1/SBO97510.1	可能同 PcoS/PcoR, 参与活化铜离子抗性基因 <sup>[24]</sup>
37	SBO97656.1/SBO97657.1	可能同 UhpC/UhpB, 控制己糖磷酸化转运子的表达 <sup>[25]</sup>
38	SBO98862.1/SBO98863.1	可能同 MprB/MprA, 参与多个抗性和代谢途径的调控 <sup>[26]</sup>
39	SBO99122.1/SBO99121.1	可能同 MctS/MctR, 参与通透酶表达 <sup>[27]</sup>
40	SBO99403.1/SBO99404.1	可能同 phoR/phoP, 与镁离子和钙离子代谢有关 <sup>[28]</sup>
41	SBO99572.1/SBO99571.1	可能同 PrrB/PrrA, 参与早期细胞增殖, 是细胞存活的必要双组份 <sup>[29]</sup>
42	SBP00052.1/SBP00053.1	YvfT/YvfU, 与细菌毒力有关 <sup>[30]</sup>
43	SBO90545.1/SBO90544.1	可能同 YhcY/YhcZ, 与细胞生长有关, 参与葡萄糖和碳源代谢 <sup>[31]</sup>
44	SBO91497.1/SBO91498.1	可能同 YhcY/YhcZ, 与细胞生长有关, 参与葡萄糖和碳源代谢 <sup>[31]</sup>
45	SBO95589.1/SBO95588.1	可能同 YhcY/YhcZ, 与细胞生长有关, 参与葡萄糖和碳源代谢 <sup>[31]</sup>

续表 3

TCS No.	HK/RR ID	功能预测
46	SBP00067.1/SBP00068.1	可能同 YhcY/YhcZ, 与细胞生长有关, 参与葡萄糖和碳源代谢 <sup>[31]</sup>
47	SBP00418.1/SBP00417.1	YdfH/YdfI, 属于耐药 - 结瘤 - 细胞分化 (RND) 超家族 <sup>[32]</sup>
48	SBO90549.1/SBO90548.1	可能同 YxjM/YxjL, 功能未知
49	SBO90990.1/SBO90991.1	可能同 YxjM/YxjL, 功能未知
50	SBO91317.1/SBO91318.1	可能同 YxjM/YxjL, 功能未知
51	SBO92566.1/SBO92565.1	可能同 YxjM/YxjL, 功能未知
52	SBO92959.1/SBO92958.1	可能同 YxjM/YxjL, 功能未知
53	SBO93778.1/SBO93777.1	可能同 YxjM/YxjL, 功能未知
54	SBO94979.1/SBO94978.1	可能同 YxjM/YxjL, 功能未知
55	SBO95567.1/SBO95566.1	可能同 YxjM/YxjL, 功能未知
56	SBO96818.1/SBO96817.1	可能同 YxjM/YxjL, 功能未知
57	SBO96874.1/SBO96873.1	可能同 YxjM/YxjL, 功能未知
58	SBO98031.1/SBO98032.1	可能同 YfjJ/YfjK, 功能未知
59	SBP00060.1/SBP00061.1	可能同 YxjM/YxjL, 功能未知
60	SBP01281.1/SBP01282.1	可能同 YxjM/YxjL, 功能未知

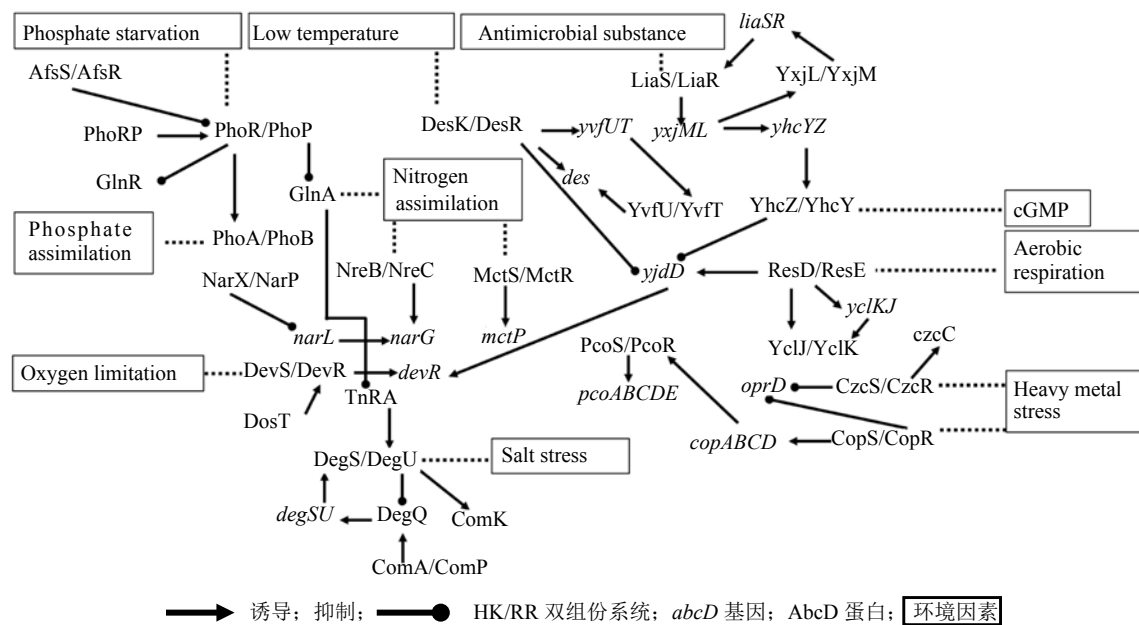


图 4 ATCC39727 中 TCS 调控网络  
Fig. 4 TCS regulation network in ATCC39727

response regulators in networks[J]. *Curr Opin Microbiol*, 2012, 15(2): 118-124.

[4] Williams R H, Whitworth D E. The genetic organization of prokaryotic two-component system signaling pathways[J]. *BMC Genomics*, 2010, 11(1): 720-720.

[5] Bhate M P, Molnar K S, Gouliau M, et al. Signal transduction in histidine kinases: Insights from new structures[J]. *Structure*, 2015, 23(6): 981-994.

[6] Dartois V, Debarbouille M, Kunst F, et al. Characterization of a novel member of the DegS-DegU regulon affected by salt stress in *Bacillus subtilis*[J]. *J Bacteriol*, 1998, 180(7): 1855-1861.

[7] Belcheva A, Golemikotra D. A close-up view of the VraSR two-component system. A mediator of *Staphylococcus aureus* response to cell wall damage[J]. *J Biol Chem*, 2008, 283(18): 12354-12364.

[8] Perron K, Caille O, Rossier C, et al. CzcR-CzcS, a Two-component system involved in heavy metal and carbapenem resistance in *Pseudomonas aeruginosa*[J]. *J Biol Chem*, 2004, 279(10): 8761-8768.



- [9] Nakano M N, Zuber P, Glaser P, *et al.* Two-component regulatory proteins ResD-ResE are required for transcriptional activation of *fir* upon oxygen limitation in *Bacillus subtilis*[J]. *J Bacteriol*, 1996, 178(13): 3796-3802.
- [10] Mascher T, Zimmer S L, Smith T A, *et al.* Antibiotic-inducible promoter regulated by the cell envelope stress-sensing two-component system LiaRS of *Bacillus subtilis*[J]. *Antimicrob Agents Chemother*, 2004, 48(8): 2888-2896.
- [11] Albanesi D, Mansilla M C, De Mendoza D, *et al.* The membrane fluidity sensor DesK of *Bacillus subtilis* controls the signal decay of its cognate response regulator[J]. *J Bacteriol*, 2004, 186(9): 2655-2663.
- [12] Nilkens S, Kochsingenstreu M, Niemann V, *et al.* Nitrate/oxygen co-sensing by an NreA/NreB sensor complex of *Staphylococcus carnosus*[J]. *Mol Microbiol*, 2014, 91(2): 381-393.
- [13] Moker N, Reihlen P, Kramer R, *et al.* Osmosensing properties of the histidine protein kinase MtrB from *Corynebacterium glutamicum*[J]. *J Biol Chem*, 2007, 282(38): 27666-27677.
- [14] Yao Y, Wunier W, Morigen M, *et al.* Absence of the BaeR protein leads to the early initiation of DNA replication in *Escherichia coli*[J]. *Genet Mol Res*, 2015, 14(4): 16888-16895.
- [15] Schelder S, Zaade D, Litsanov B, *et al.* The two-component signal transduction system CopRS of *Corynebacterium glutamicum* is required for adaptation to copper-excess stress[J]. *PLoS One*, 2011, 6(7): 1-13.
- [16] Malhotra V, Agrawal R, Duncan T R, *et al.* Mycobacterium tuberculosis response regulators, DevR and NarL, interact *in vivo* and co-regulate gene expression during aerobic nitrate metabolism[J]. *J Biol Chem*, 2015, 290(13): 8294-8309.
- [17] Monolekha B, Amit K D. Inverted repeats in the promoter as an autoregulatory sequence for TcrX in *Mycobacterium tuberculosis*[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2011, 415(1): 17-23.
- [18] Wu Y, Wang J, Xu T, *et al.* The two-component signal transduction system ArlRS regulates *Staphylococcus epidermidis* biofilm formation in an *ica*-dependent manner[J]. *PLoS One*, 2012, 7(7): 1-13.
- [19] Chang H M, Chen M Y, Shieh Y T, *et al.* The cutRS signal transduction system of *Streptomyces lividans* represses the biosynthesis of the polyketide antibiotic actinorhodin[J]. *Mol Microbiol*, 1996, 21(5): 1075-1085.
- [20] Solalanda A, Moura R S, Martin J F, *et al.* The two-component PhoR-PhoP system controls both primary metabolism and secondary metabolite biosynthesis in *Streptomyces lividans*[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2003, 100(10): 6133-6138.
- [21] Saini D K, Malhotra V, Dey D, *et al.* DevR-DevS is a bona fide two-component system of *Mycobacterium tuberculosis* that is hypoxia-responsive in the absence of the DNA-binding domain of DevR[J]. *Microbiol*, 2004, 150(4): 865-875.
- [22] Rabin R S, Stewart V. Dual response regulators (NarL and NarP) interact with dual sensors (NarX and NarQ) to control nitrate- and nitrite-regulated gene expression in *Escherichia coli* K-12[J]. *J Bacteriol*, 1993, 175(11): 3259-3268.
- [23] Fournier B, Hooper D C. A new two-component regulatory system involved in adhesion, autolysis, and extracellular proteolytic activity of *Staphylococcus aureus*[J]. *J Bacteriol*, 2000, 182(14): 3955-3964.
- [24] Munson G P, Lam D L, Outten F W, *et al.* Identification of a copper-responsive two-component system on the chromosome of *Escherichia coli* K-12[J]. *J Bacteriol*, 2000, 182(20): 5864-5871.
- [25] Schwoppe C, Winkler H H, Neuhaus H E, *et al.* Connection of transport and sensing by UhpC, the sensor for external glucose-6-phosphate in *Escherichia coli*[J]. *FEBS J*, 2003, 270(7): 1450-1457.
- [26] Bretl D J, Bigley T M, Terhune S S, *et al.* The MprB extracytoplasmic domain negatively regulates activation of the *Mycobacterium tuberculosis* MprAB two-component system[J]. *J Bacteriol*, 2014, 196(2): 391-406.
- [27] Hosie A H, Allaway D, Poole P S. A monocarboxylate permease of *Rhizobium leguminosarum* is the first member of a new subfamily of transporters[J]. *J Bacteriol*, 2002, 184(19): 5436-5448.
- [28] Solalanda A, Moura R S, Martin J F, *et al.* The two-component PhoR-PhoP system controls both primary metabolism and secondary metabolite biosynthesis in *Streptomyces lividans*[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2003, 100(10): 6133-6138.
- [29] Ewann F, Jackson M, Pethe K, *et al.* Transient requirement of the PrrA-PrrB two-component system for early intracellular multiplication of *Mycobacterium tuberculosis*[J]. *Infect Immun*, 2002, 70(5): 2256-2263.
- [30] Brillard J, Susanna K A, Michaud C, *et al.* The YvfTU two-component system is involved in *plcR* expression in *Bacillus cereus*[J]. *BMC Microbiol*, 2008, 8(1): 183-183.
- [31] Jia D, Gao L T, Peng T, *et al.* The functions of *yhcZ* gene during *Bacillus thuringiensis* growth[J]. *Yi Chuan*, 2018, 40(5): 415-424.
- [32] Masakuni S, Junichi S. The *Bacillus subtilis* YdfHI two-component system regulates the transcription of *ydfJ*, a member of the RND superfamily[J]. *Microbiology*, 2005,