



细菌中 2-甲基柠檬酸循环研究进展

都萃颖¹ 吴菲¹ 严婉芊¹ 戴余军¹ 王立华² 郑操^{*1}

1 湖北工程学院生命科学技术学院 湖北省植物功能成分利用工程技术研究中心 湖北 孝感 432000

2 湖北工程学院特色果蔬质量安全控制湖北省重点实验室 湖北 孝感 432000

摘要: 2-甲基柠檬酸循环广泛分布于细菌中, 参与丙酸或丙酰-CoA 的分解代谢。我们一直致力于微生物代谢调控方面的研究, 并以苏云金芽胞杆菌为研究对象在 2-甲基柠檬酸循环的代谢调控及生理功能方面取得了新的进展。本文将从 2-甲基柠檬酸循环关键酶基因的组成、关键酶基因的转录调控和该循环参与的生理功能 3 个方面介绍细菌中 2-甲基柠檬酸循环的研究进展。同时, 对该循环研究中存在的相关科学问题和未来的研究重点作简要评述, 并对该循环关键酶作为药物靶标在病原菌感染防治方面的应用进行展望。

关键词: 2-甲基柠檬酸循环, *prp* 操纵子, 转录调控, 生理功能

Research progress in 2-methylcitrate cycle in bacteria

DU Cui-Ying¹ WU Fei¹ YAN Wan-Qian¹ DAI Yu-Jun¹ WANG Li-Hua² ZHENG Cao^{*1}

1 College of Life Science and Technology, Hubei Province Research Center of Engineering Technology for Utilization of Botanical Functional Ingredients, Hubei Engineering University, Xiaogan, Hubei 432000, China

2 Hubei Key Laboratory of Quality Control of Characteristic Fruits and Vegetables, Hubei Engineering University, Xiaogan, Hubei 432000, China

Abstract: The 2-methylcitrate cycle is a widely distributed carbon metabolic pathway playing a crucial role in consuming propionate or propionyl-CoA in bacteria. We have been working on the field of microbial metabolic regulation, and made new progress in the transcriptional mechanism and physiological function of 2-methylcitrate cycle in *Bacillus thuringiensis*. In this paper, current researches on the composition and transcription regulation of the key genes in 2-methylcitrate cycle, and the physiological functions of 2-methylcitrate cycle are reviewed. Meanwhile, the existing scientific problems and future research topics about this cycle are discussed. In addition, the potential application of the key enzymes in 2-methylcitrate cycle as drug targets for prevention and treatment of bacterial infection is also proposed.

Keywords: 2-methylcitrate cycle, *prp* operon, Transcriptional regulation, Physiological function

Foundation items: National Natural Science Foundation of China (31700069, 31900062); Natural Science Foundation of Hubei Province (2019CFB240)

***Corresponding author:** Tel: 86-712-2345490; E-mail: zhengc1314@163.com

Received: 18-01-2020; **Accepted:** 13-03-2020; **Published online:** 30-03-2020

基金项目: 国家自然科学基金(31700069, 31900062); 湖北省自然科学基金(2019CFB240)

***通信作者:** Tel: 0712-2345490; E-mail: zhengc1314@163.com

收稿日期: 2020-01-18; **接受日期:** 2020-03-13; **网络首发日期:** 2020-03-30

脂肪酸氧化是生命体内最为重要的代谢路径之一。奇数碳链脂肪酸经过完全 β -氧化后,除了产生大量乙酰-CoA 外,还会生成一部分丙酰-CoA;此外,丙酰-CoA (propionyl-CoA)也可由支链氨基酸和胆固醇的分解代谢产生^[1]。大量研究表明,丙酰-CoA 的过量积累能够抑制丙酮酸脱氢酶、琥珀酰-CoA 合成酶和柠檬酸裂解酶等多种中心代谢酶的活性,进而影响生物体的生长^[2-5]。为了应对过量丙酰-CoA 带来的不利影响,动物、植物和微生物进化出了多种丙酰-CoA 代谢途径^[6-7],其中 2-甲基柠檬酸循环(2-methylcitrate cycle)是广泛存在于细菌中的一种丙酰-CoA 利用途径^[1]。除了早期发现的这种代谢解毒功能外,2-甲基柠檬酸循环还于近期被揭示具有新型生理功能^[8],然而鲜有研究关注和综述该循环的相关重要信息。鉴于此,本文将从 2-甲基柠檬酸循环的关键酶基因、关键酶基因的转录调控和该循环参与的生理功能 3 个方面系统介绍细菌中 2-甲基柠檬酸循环的研究进展。

1 2-甲基柠檬酸循环的关键酶基因

早在 20 世纪 70 年代,日本科学家 Tabuchi 等以解脂假丝酵母(*Candida lipolytica*)为实验材料,首次证实丙酰-CoA 可在相关酶的作用下经过 2-甲基柠檬酸循环转化为丙酮酸^[9]。随后,大量实验及生物信息学分析发现,2-甲基柠檬酸循环广泛分布于细菌和真菌中,参与生物体内丙酰-CoA 的代谢^[1,8]。

2-甲基柠檬酸循环与三羧酸循环在反应流程和代谢底物方面极为相似(图 1),其所包含的主要催化反应为:(1) 丙酰-CoA 与草酰乙酸(oxaloacetate)在 2-甲基柠檬酸合成酶(PrpC)的催化作用下缩合生成 2-甲基柠檬酸(2-methylcitrate);(2) 2-甲基柠檬酸再由 2-甲基柠檬酸脱水酶(PrpD)催化生成 2-甲基顺乌头酸(2-methyl-cis-aconitate);(3) 2-甲基顺乌头酸在顺乌头酸酶(Acn)的作用下水合生成 2-甲基异

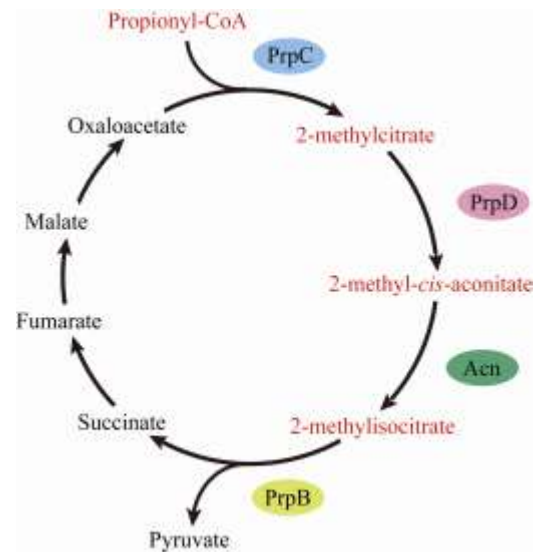


图 1 2-甲基柠檬酸循环反应流程示意图

Figure 1 The schematic diagram of 2-methylcitrate cycle

柠檬酸(2-methylisocitrate);(4) 2-甲基异柠檬酸裂解酶(PrpB)再将 2-甲基异柠檬酸裂解为丙酮酸(pyruvate)和琥珀酸(succinate),二者可直接进入三羧酸循环相关途径被代谢利用。

由于顺乌头酸酶同时也参与三羧酸循环中的相关反应,因此,PrpC、PrpD 和 PrpB 被认为是 2-甲基柠檬酸循环所具有的 3 个特异性酶蛋白,其编码基因(*prpC*、*prpD* 和 *prpB*)在细菌基因组中紧密排列,往往以操纵子形式存在,称为 *prp* 操纵子。在不同种类的细菌中,*prp* 操纵子所包含的基因种类、数量及其排列方式呈现多样化(图 2)。例如,在大肠杆菌(*Escherichia coli*)和肠道沙门氏菌(*Salmonella enterica*)等细菌中,*prp* 操纵子还包含丙酰-CoA 合成酶基因(*prpE*) (图 2),而该基因编码的蛋白产物 PrpE 能够直接将环境中的丙酸转化为丙酰-CoA,随后再通过 2-甲基柠檬酸循环的转化和分解作用为菌体的生长和繁殖提供物质与能量^[1,8]。又如在希瓦氏菌(*Shewanella oneidensis*)等细菌中,*prp* 操纵子特异性地包含 *acnD* 和 *prpF* 两个基因,而它们的存在往往伴随着 *prpD* 基因的缺失(图 2),这一现象暗示 AcnD 和 PrpF 极有可能

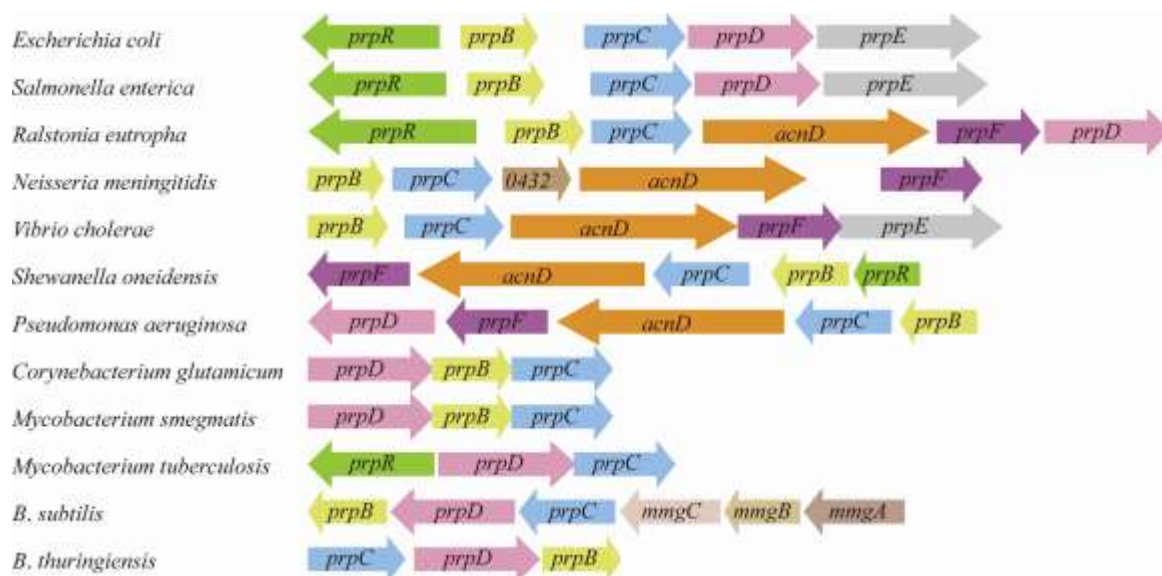


图2 *prp* 操纵子在不同种类细菌中的排列方式

Figure 2 The arrangement of *prp* operon in several representative bacteria

协同行使并取代 PrpD 的生理功能^[10]。随后的研究证实, AcnD 具有将 2-甲基柠檬酸脱水形成 4-甲基顺乌头酸的脱水酶的活性;而 PrpF 是一种异构酶,能继续以 4-甲基顺乌头酸为底物异构生成 2-甲基顺乌头酸^[11-12]。由此可见, AcnD 与 PrpF 的联合存在的确能够取代 PrpD 在 2-甲基柠檬酸循环中的催化作用,且缺一不可。在枯草芽胞杆菌(*Bacillus subtilis*)中, *prpC*、*prpD* 和 *prpB* 三个基因与脂肪酸降解相关的 3 个基因毗邻并处于同一操纵子中(图 2)。由于该操纵子的转录依赖于 SigE,而 SigE 只在芽胞形成早期的母细胞中开始转录,因此人们将该操纵子取名为 *mmg* (mother cell metabolic genes)^[13-14]。另外,结核分枝杆菌(*Mycobacterium tuberculosis*)染色体不编码 PrpB 蛋白(图 2),其行使的裂解功能在生理条件下由乙醛酸循环关键酶——异柠檬酸裂解酶取代完成^[3,5]。

目前从 2-甲基柠檬酸循环关键酶基因在不同种类细菌中存在的变化形式可以看出, *prpC* 基因最为保守,而 *prpD* 和 *prpB* 基因由于均可被同功基因取代而表现得不保守,暗示这两基因在不同种类细菌中可能具有特异的起源方式。同时,鉴于

prp 基因组成形式的多样性,我们推测细菌中还可能存在着其他排列方式新颖的 *prp* 操纵子。

2 2-甲基柠檬酸循环关键酶基因的转录调控

基因表达调控能够使机体内的相关基因在时间与空间上有序表达,以保证生物体机能有条不紊地运转。目前已发现多种转录因子能够直接结合于 *prp* 操纵子的启动子区域,并以特异的方式调控操纵子内基因的转录。其中,转录因子 PrpR 是一种最为常见的 *prp* 操纵子转录调控蛋白,对 *prp* 基因的表达起着激活作用^[15-18]。在大肠杆菌、结核分枝杆菌和肠道沙门氏菌等多种细菌中, *prpR* 基因往往与 *prp* 操纵子相邻,它们具有相反的转录方向,且共同构成 *prp* 基因簇(图 2)。肠道沙门氏菌 PrpR 蛋白一般由 N 端的信号感知结构域, C 端的 DNA 结合结构域和中区的催化结构域三部分组成^[15]。有研究表明,肠道沙门氏菌和谷氨酸棒杆菌(*Corynebacterium glutamicum*) PrpR 蛋白在激活 *prp* 操纵子的转录时必须依赖于小分子代谢物 2-甲基柠檬酸的存在^[19-20],但 2-甲基柠檬酸是如何介

导 PrpR 蛋白发挥转录激活功能的具体机制至今仍不清楚。此外,在结核分枝杆菌中,除了 PrpR 蛋白的正向调控外,氮源调节蛋白 GlnR 还能同时对 *prp* 操纵子的转录进行负调控^[21]。

芽胞杆菌是一类重要的环境微生物,其生活周期一般分为营养期和芽胞形成期。已有研究发现,不同种类芽胞杆菌的 *prp* 操纵子都表现为只在芽胞形成期开始转录,但转录所受的调控方式往往存在较为明显的差异。例如,在枯草芽胞杆菌中,*prpC*、*prpD*和*prpB*三个基因所在的*mmg*操纵子不仅受到芽胞形成早期母细胞中特异 σ 因子 SigE 的激活调控,使该操纵子只能在芽胞形成早期的母细胞中起始转录,还同时受到碳分解代谢阻遏蛋白 CcpA 的转录负调控作用^[13];而在苏云金芽胞杆菌(*B. thuringiensis*)中,我们的近期研究发现,*prp* 操纵子的转录也在芽胞形成期起始,但却不受任何芽胞形成特异 σ 因子(SigH、SigF、SigE、SigG 和 SigK)的调控,而是同时受到来自两个全局性转录因子 CcpA、AbrB 的负调控,以及来自 CcpC 蛋白的正调控^[8,22]。通过生物信息学分析发现,芽胞杆菌也普遍编码 PrpR 蛋白,但其是否也能真实地发挥 *prp* 操纵子的转录正调控作用却一直未见相关报道。

由此可见,在不同种类的细菌中,*prp* 操纵子的转录调控方式具有种属特异性,而这种调控方式的多样性暗示在研究其他种类细菌中 2-甲基柠檬酸循环的调控模式时,不能仅进行同源基因搜寻此类的验证性工作,而是应该从全局出发迎接新的发现。

3 2-甲基柠檬酸循环参与的生理功能

2-甲基柠檬酸循环参与的生理功能主要体现在两方面:(1)当 2-甲基柠檬酸循环在生物体内运转正常时,用来行使丙酸或丙酰-CoA 的分解代谢功能,为生物体的生长和繁殖提供物质和能量^[8,17,23-25];(2)当 2-甲基柠檬酸循环功能受

阻,例如循环内关键酶基因发生突变或缺失时,往往会造成某些中间代谢产物(比如 2-甲基柠檬酸和 2-甲基异柠檬酸)的累积,这些中间代谢产物具有细胞毒性,会进而影响细胞的正常生理代谢^[2,22,26-29]。

研究表明,无论是在宿主体外培养还是在宿主体内感染的过程中,具有 2-甲基柠檬酸循环的细菌都能够利用以奇数脂肪酸、胆固醇等能够产生丙酰-CoA 的底物为碳源,一旦循环受阻,细菌则无法进行正常的生长和繁殖。例如,当苏云金芽胞杆菌中的 2-甲基柠檬酸循环被阻断时,其在含有丙酸培养基中的生长受到明显抑制^[8];在耻垢分枝杆菌(*M. smegmatis*)中,缺失 *prpB* 使得该菌既不能在丙酸培养基中生长,也不能在丙酸和葡萄糖的混合培养基中生长^[24];在结核分枝杆菌中,*prpC* 和 *prpD* 基因的同时缺失使其不能在含有丙酸的培养基或小鼠骨髓巨噬细胞中繁殖^[4];在深绿木霉菌(*Trichoderma atroviride*)中,*prpB* 的缺失能够显著降低其在拟南芥根内的繁殖能力^[30];在成人鼻咽部寄生的病原菌——脑膜炎奈瑟氏菌(*N. meningitides*)中,2-甲基柠檬酸循环帮助该菌利用寄生部位存在的丙酸营养物质,进而促进该病原菌的生长和繁殖^[25];在马尔尼菲篮状菌(*Talaromyces marneffeii*)中,使 2-甲基柠檬酸循环受阻可以显著削弱该菌对小鼠巨噬细胞的杀伤作用^[31]。

早期,研究人员在关注丙酸血症患者所产生的临床症状时就提出,2-甲基柠檬酸是一种小分子有毒物质^[32]。后续研究发现,2-甲基柠檬酸可以通过显著抑制人体三羧酸循环等重要代谢途径相关酶,例如柠檬酸合成酶、顺乌头酸酶、异柠檬酸脱氢酶的活性,而使机体代谢发生紊乱^[33]。随后,人们在一些细菌中也证实了 2-甲基柠檬酸的这一毒性机理。例如,在肠道沙门氏菌中,*prpD* 基因的缺失导致该菌在含有丙酸培养基中的生长受到明显抑制^[34]。接下来的研究表明,积累的 2-

甲基柠檬酸显著地抑制了糖异生途径中的关键酶——果糖-1,6-二磷酸酶的活性,而直接导致了细菌的生长受阻^[28]。这一结果拓展了 2-甲基柠檬酸抑制酶活的靶标范围,为全面揭示其细胞毒性机理提供了重要的理论基础。Beach 等研究表明 (2S,3R)-2-甲基异柠檬酸能特异性地抑制哺乳动物 NADP 依赖型的异柠檬酸脱氢酶活性,而对 NAD 依赖型异柠檬酸脱氢酶不起作用^[26]。在细菌中,关于小分子 2-甲基异柠檬酸的毒性作用鲜有报道,但考虑到其与 2-甲基柠檬酸分子结构的高度类似性,我们推测 2-甲基异柠檬酸可能具备与 2-甲基柠檬酸相似的毒性作用和机理。

从目前已有的研究报道不难看出,2-甲基柠檬酸循环对于细胞进行正常生理代谢活动而言犹如一把双刃剑。一方面,该循环可将丙酸或丙酰-CoA 转化利用,为细菌的生长和繁殖提供物质与能量;另一方面,该循环也可能积累产生有毒的中间代谢物,抑制细菌生长。这些都是人们对于 2-甲基柠檬酸循环所参与细胞生理功能的传统认识。除此之外,该循环是否还具有其他未知且重要的生理功能?我们最新的一项研究表明,在苏云金芽胞杆菌中,该循环能够通过中间代谢物 2-甲基柠檬酸的积累使芽胞形成显著延迟^[8,22],该成果首次将 2-甲基柠檬酸循环与芽胞形成这一兼具理论与应用指导意义的细胞发育过程相偶联,不仅证明了该循环在维持细胞正常生命活动中的重要性,也拓宽了人们对其生理功能的全面认识。进一步地,我们认为小分子结构类似物 2-甲基异柠檬酸也具有潜在的芽胞形成抑制能力^[8]。芽胞是一种抗逆性极强的生命体形式,同时对于诸如蜡状芽胞杆菌群等一些重要的环境微生物来说也是一类关键的致病因子^[35-36]。因此,在自然环境中,一旦 2-甲基柠檬酸循环受阻,例如外界环境因素致使 *prpD* 基因发生突变,2-甲基柠檬酸便会积累,抗逆性芽胞无法正常形成,这样的突变个体就更加容易从种群中被清除^[8],从而使整个种

群维系正常的生存、传播和致病能力。

4 问题和展望

与细胞中枢碳代谢途径三羧酸循环相比,2-甲基柠檬酸循环并没有引起足够的科学关注。但实际上二者是紧密偶联的两条碳代谢途径,主要体现在 4 个方面:(1) 它们所介导的反应流程和代谢底物极为相似;(2) 2-甲基柠檬酸循环的裂解产物可作为反应底物直接掺入三羧酸循环;(3) 2-甲基柠檬酸循环的中间代谢物往往对三羧酸循环中某些酶的催化活力起到调节作用;(4) 分布于两条循环中的关键酶基因表达可由相同的转录调控蛋白(如 CcpC)激活^[8]。由此可见,二者之间具有紧密的内在联系,可在今后的研究工作中进一步挖掘。

截至目前,虽然人们已经揭示了多种 2-甲基柠檬酸循环关键酶基因的表达调控模式,但是依然有可能存在新的调控因子甚至生理功能。同时,在已有的研究结果中也蕴含着许多值得关注和研究的关键科学问题。例如:作为昆虫和线虫病原菌的苏云金芽胞杆菌,其体内 CcpC 蛋白正调控 *prp* 操纵子转录的生物学意义是什么?区别于蛋白类芽胞形成调控因子,小分子代谢物 2-甲基柠檬酸调控芽胞形成的具体分子机制是什么?它与蛋白类因子所介导的调控事件的上下游关系又是怎样?

在细菌所栖息的土壤或宿主体内等自然生态环境条件中,丙酸和脂肪酸含量较为丰富^[4,8,24-25,31],这暗示 2-甲基柠檬酸循环可能是细菌用于生产物质与能量进而保证生存与繁殖的重要循环途径。另外,围绕该循环可产生有毒中间代谢物这一特点,可将病原菌中特定的 2-甲基柠檬酸循环关键酶作为药物筛选的靶标^[1,31],用于感染防治和疾病治疗。

REFERENCES

- [1] Dolan SK, Wijaya A, Geddis SM, et al. Loving the poison: the methylcitrate cycle and bacterial pathogenesis[J]. Microbiology, 2018, 164(3): 251-259

- [2] Brock M, Fischer R, Linder D, et al. Methylcitrate synthase from *Aspergillus nidulans*: implications for propionate as an antifungal agent[J]. *Molecular Microbiology*, 2000, 35(5): 961-973
- [3] Gould TA, van de Langemheen H, Munoz-Elias EJ, et al. Dual role of isocitrate lyase 1 in the glyoxylate and methylcitrate cycles in *Mycobacterium tuberculosis*[J]. *Molecular Microbiology*, 2006, 61(4): 940-947
- [4] Munoz-Elias EJ, Upton AM, Cherian J, et al. Role of the methylcitrate cycle in *Mycobacterium tuberculosis* metabolism, intracellular growth, and virulence[J]. *Molecular Microbiology*, 2006, 60(5): 1109-1122
- [5] Eoh H, Rhee KY. Methylcitrate cycle defines the bactericidal essentiality of isocitrate lyase for survival of *Mycobacterium tuberculosis* on fatty acids[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2014, 111(13): 4976-4981
- [6] Savvi S, Warner DF, Kana BD, et al. Functional characterization of a vitamin B12-dependent methylmalonyl pathway in *Mycobacterium tuberculosis*: implications for propionate metabolism during growth on fatty acids[J]. *Journal of Bacteriology*, 2008, 190(11): 3886-3895
- [7] Halarikar PP, Blomquist GJ. Comparative aspects of propionate metabolism[J]. *Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Comparative Biochemistry*, 1989, 92(2): 227-231
- [8] Zheng C, Yu ZQ, Du CY, et al. 2-Methylcitrate cycle: a well-regulated controller of *Bacillus* sporulation[J]. *Environmental Microbiology*, 2020, 22(3): 1125-1140
- [9] Tabuchi T, Uchiyama H. Methylcitrate condensing and methylisocitrate cleaving enzymes; evidence for the pathway of oxidation of propionyl-CoA to pyruvate via C₇-tricarboxylic acids[J]. *Agricultural and Biological Chemistry*, 1975, 39(10): 2035-2042
- [10] Grimek TL, Escalante-Semerena JC. The *acnD* genes of *Shewanella oneidensis* and *Vibrio cholerae* encode a new Fe/S-dependent 2-methylcitrate dehydratase enzyme that requires *PrpF* function *in vivo*[J]. *Journal of Bacteriology*, 2004, 186(2): 454-462
- [11] Garvey GS, Rocco CJ, Escalante-Semerena JC, et al. The three-dimensional crystal structure of the *PrpF* protein of *Shewanella oneidensis* complexed with *trans*-aconitate: insights into its biological function[J]. *Protein Science*, 2007, 16(7): 1274-1284
- [12] Rocco CJ, Wetterhorn KM, Garvey GS, et al. The *PrpF* protein of *Shewanella oneidensis* MR-1 catalyzes the isomerization of 2-methyl-*cis*-aconitate during the catabolism of propionate via the *AcnD*-dependent 2-methylcitric acid cycle[J]. *PLoS One*, 2017, 12(11): e0188130
- [13] Bryan EM, Beall BW, Moran CP Jr. A sigma E dependent operon subject to catabolite repression during sporulation in *Bacillus subtilis*[J]. *Journal of Bacteriology*, 1996, 178(16): 4778-4786
- [14] Reddick JJ, Sirkisoon S, Dahal RA, et al. First biochemical characterization of a methylcitric acid cycle from *Bacillus subtilis* strain 168[J]. *Biochemistry*, 2017, 56(42): 5698-5711
- [15] Palacios S, Escalante-Semerena JC. *prpR*, *ntaA*, and *ihf* functions are required for expression of the *prpBCDE* operon, encoding enzymes that catabolize propionate in *Salmonella enterica* serovar typhimurium LT2[J]. *Journal of Bacteriology*, 2000, 182(4): 905-910
- [16] Masiewicz P, Brzostek A, Wolański M, et al. A novel role of the *PrpR* as a transcription factor involved in the regulation of methylcitrate pathway in *Mycobacterium tuberculosis*[J]. *PLoS One*, 2012, 7(8): e43651
- [17] Plassmeier J, Persicke M, Pühler A, et al. Molecular characterization of *PrpR*, the transcriptional activator of propionate catabolism in *Corynebacterium glutamicum*[J]. *Journal of Bacteriology*, 2012, 159(1/2): 1-11
- [18] Masiewicz P, Wolański M, Brzostek A, et al. Propionate represses the *dnaA* gene via the methylcitrate pathway-regulating transcription factor, *PrpR*, in *Mycobacterium tuberculosis*[J]. *Antonie Van Leeuwenhoek*, 2014, 105(5): 951-959
- [19] Palacios S, Escalante-Semerena JC. 2-Methylcitrate-dependent activation of the propionate catabolic operon (*prpBCDE*) of *Salmonella enterica* by the *PrpR* protein[J]. *Microbiology*, 2004, 150(11): 3877-3887
- [20] Plassmeier JK, Busche T, Molck S, et al. A propionate-inducible expression system based on the *Corynebacterium glutamicum prpD2* promoter and *PrpR* activator and its application for the redirection of amino acid biosynthesis pathways[J]. *Journal of Biotechnology*, 2013, 163(2): 225-232
- [21] Liu WB, Liu XX, Shen MJ, et al. The nitrogen regulator *GlnR* directly controls transcription of the *prpDBC* operon involved in methylcitrate cycle in *Mycobacterium smegmatis*[J]. *Journal of Bacteriology*, 2019, 201(8): e00099-19
- [22] Zheng C. Studies on the c-di-AMP associated proteins and the key enzymes of 2-methylcitrate cycle in *Bacillus thuringiensis*[D]. Wuhan: Doctoral Dissertation of Huazhong Agricultural University, 2015 (in Chinese)
郑操. 苏云金芽胞杆菌第二信使 c-di-AMP 信号途径相关蛋白和 2-甲基柠檬酸循环关键酶的功能研究[D]. 武汉: 华中农业大学博士学位论文, 2015
- [23] Serafini A, Tan L, Horswell S, et al. *Mycobacterium tuberculosis* requires glyoxylate shunt and reverse methylcitrate cycle for lactate and pyruvate metabolism[J]. *Molecular Microbiology*, 2019, 112(4): 1284-1307
- [24] Upton AM, McKinney JD. Role of the methylcitrate cycle in propionate metabolism and detoxification in *Mycobacterium smegmatis*[J]. *Microbiology*, 2007, 153(12): 3973-3982
- [25] Catenazzi MCE, Jones H, Wallace I, et al. A large genomic

- island allows *Neisseria meningitidis* to utilize propionic acid, with implications for colonization of the human nasopharynx[J]. *Molecular Microbiology*, 2014, 93(2): 346-355
- [26] Beach RL, Aogaichi T, Plaut GW. Identification of D-threo- α -methylisocitrate as stereochemically specific substrate for bovine heart aconitase and inhibitor of TPN-linked isocitrate dehydrogenase[J]. *The Journal of Biological Chemistry*, 1977, 252(8): 2702-2709
- [27] Maerker C, Rohde M, Brakhage AA, et al. Methylcitrate synthase from *Aspergillus fumigatus*. Propionyl-CoA affects polyketide synthesis, growth and morphology of conidia[J]. *The FEBS Journal*, 2005, 272(14): 3615-3630
- [28] Rocco CJ, Escalante-Semerena JC. In *Salmonella enterica*, 2-methylcitrate blocks gluconeogenesis[J]. *Journal of Bacteriology*, 2010, 192(3): 771-778
- [29] Zhang YQ, Keller NP. Blockage of methylcitrate cycle inhibits polyketide production in *Aspergillus nidulans*[J]. *Molecular Microbiology*, 2004, 52(2): 541-550
- [30] Dubey MK, Broberg A, Jensen DF, et al. Role of the methylcitrate cycle in growth, antagonism and induction of systemic defence responses in the fungal biocontrol agent *Trichoderma atroviride*[J]. *Microbiology*, 2013, 159(12): 2492-2500
- [31] Feng J, He LY, Xiao X, et al. Methylcitrate cycle gene *MCD* is essential for the virulence of *Talaromyces marneffei*[J]. *Medical Mycology*, 2020, 58(3): 351-361
- [32] Ando T, Rasmussen K, Nyhan WL, et al. 3-Hydroxypropionate: significance of β -oxidation of propionate in patients with propionic acidemia and methylmalonic acidemia[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 1972, 69(10): 2807-2811
- [33] Cheema-Dhadli S, Leznoff CC, Halperin ML. Effect of 2-methylcitrate on citrate metabolism: implications for the management of patients with propionic acidemia and methylmalonic aciduria[J]. *Pediatric Research*, 1975, 9(12): 905-908
- [34] Horswill AR, Dudding AR, Escalante-Semerena JC. Studies of propionate toxicity in *Salmonella enterica* identify 2-methylcitrate as a potent inhibitor of cell growth[J]. *The Journal of Biological Chemistry*, 2001, 276(22): 19094-19101
- [35] Jensen GB, Hansen BM, Eilenberg J, et al. The hidden lifestyles of *Bacillus cereus* and relatives[J]. *Environmental Microbiology*, 2003, 5(8): 631-640
- [36] Peng DH, Lin J, Huang Q, et al. A novel metalloproteinase virulence factor is involved in *Bacillus thuringiensis* pathogenesis in nematodes and insects[J]. *Environmental Microbiology*, 2016, 18(3): 846-862