

# 苏云金芽孢杆菌双组份信号转导系统的 生物信息学分析

张清仪<sup>1</sup> 王阶平<sup>1</sup> 程钢<sup>2</sup> 刘钟慧<sup>1</sup> 范文瑾<sup>1</sup> 何进<sup>1\*</sup>

(1. 华中农业大学 生命科学技术学院农业微生物学国家重点实验室 湖北 武汉 430070)

(2. 中南民族大学 生命科学学院 湖北 武汉 430074)

**摘要:** 苏云金芽孢杆菌(*Bacillus thuringiensis*)能产生杀虫晶体蛋白等多种活性成分,是目前应用最广泛的微生物杀虫剂。本文采用生物信息学方法,系统分析了由本实验室完成全基因组测序的苏云金芽孢杆菌 YBT-1520、CT-43 和 BMB171 3 个菌株的双组分信号转导系统(Two-component signal transduction system, TCS)的分布、结构及功能,并初步构建了部分 TCS 的调控网络关系图。本研究旨在为深入研究苏云金芽孢杆菌的生长、代谢以及毒力因子的表达与调控,全面了解伴孢晶体的形成机制开辟新的研究方向。

**关键词:** 苏云金芽孢杆菌, 双组分信号转导系统, 调控网络, 生物信息学分析

## Bioinformatics analysis of two-component signal transduction systems of *Bacillus thuringiensis*

ZHANG Qing-Yi<sup>1</sup> WANG Jie-Ping<sup>1</sup> CHENG Gang<sup>2</sup> LIU Zhong-Hui<sup>1</sup>  
FAN Wen-Jin<sup>1</sup> HE Jin<sup>1\*</sup>

(1. State Key Laboratory of Agricultural Microbiology, College of Life Science and Technology, Huazhong Agricultural University, Wuhan, Hubei 430070, China)

(2. College of Life Science, South-Central University for Nationalities, Wuhan, Hubei 430074, China)

**Abstract:** *Bacillus thuringiensis* (Bt) strains, which can produce insecticidal crystal proteins, were widely used as biological pesticides. In this paper, we comprehensively analyzed the distributions, structures and putative biological functions of two-component transduction systems (TCS) from the genomes of Bt strains YBT-1520, CT-43 and BMB171, which have been sequenced by our laboratory. And more importantly, we constructed a preliminary TCS regulatory networks. This study should open a novel research direction in Bt for the growth, metabolism, regulator of toxic gene expression, as well as the formation mechanism of parasporal crystals.

基金项目: 国家自然科学基金重点项目(No. 30930004)

\* 通讯作者: Tel/Fax: 86-27-87280670; 邮箱: hejin@mail.hzau.edu.cn

收稿日期: 2011-02-22; 接受日期: 2011-04-28

**Keywords:** *Bacillus thuringiensis*, Two-component signal transduction systems, Regulatory network, Bioinformatics analysis

苏云金芽孢杆菌(*Bacillus thuringiensis*, Bt)是一类广泛存在于土壤、昆虫尸体、贮藏物等基质中的革兰氏阳性细菌,根据鞭毛抗原的差异,可将 Bt 划分为 74 个血清型 87 个亚种。在分类上, Bt 与蜡状芽孢杆菌(*B. cereus*, Bc)和炭疽芽孢杆菌(*B. anthracis*, Ba)等一起归为蜡状芽孢杆菌群(*B. cereus* group)。Bt 区别于 Ba 和 Bc 的主要特征是: Bt 在形成芽孢的同时,在菌体内的一端或两端能形成 1 个、2 个、乃至多个由杀虫晶体蛋白(Insecticidal crystal proteins, ICPs)组成的伴孢晶体<sup>[1]</sup>。从 Bt 中分离得到的 ICPs 基因有 68 大类 530 亚类<sup>[2]</sup>。此外,有些菌株还能产生营养期杀虫蛋白(Vegetative insecticidal protein, Vip)、几丁质酶(Chitinase)以及苏云金素(Thuringiesin)等杀虫毒力成分。Bt 对节肢动物门中 9 个目(包括鳞翅目、双翅目和鞘翅目等昆虫和螨类),线形动物门中的动植物线虫,扁形动物门和原生动物门中的有害种类,某些植物病原菌以及癌细胞等有活性<sup>[3]</sup>。

信号传导系统是生物体感应、传导内外信号并在不断变化的环境中得以生存的重要系统。细菌体内信号转导系统主要有 4 类,包括趋化性蛋白受体,抗  $\sigma$ :  $\sigma$  因子, Ser/Thr 蛋白激酶和双组分信号转导系统(Two-component signal transduction system, TCS)<sup>[4]</sup>,其中双组份系统是细菌最重要的信号传导系统。典型的 TCS 由组氨酸激酶(Histidine kinase, HK)和应答调节蛋白(Response regulator, RR)组成<sup>[5]</sup>。HK 通过感应外界的信号刺激从而以磷酸传递的形式调节相应 RR 的活性,激活的 RR 进一步参与多种调控过程<sup>[6]</sup>。TCS 调节细菌细胞的绝大多数生理过程,包括细菌生长、蛋白质合成、趋化性、渗透压、芽孢形成、氮磷等营养元素的代谢,次生代谢产物的生物合成,以及病原菌的毒力、生物膜和群体感应等致病相关过程<sup>[7]</sup>。

目前,关于蜡状芽孢杆菌群的 TCS 研究甚少,且主要集中在致病菌中。本文采用生物信息学的方法,对由本室完成全基因组测序的 Bt 菌株

YBT-1520、CT-43 和 BMB171 的 TCS 进行结构和功能分析,并进一步构建了 Bt 的 TCS 信号转导网络,旨在为深入研究 Bt 的生长、代谢以及毒力因子的表达与调控,全面了解 Bt 伴孢晶体形成的调控过程开辟新的研究方向。

## 1 材料与方法

### 1.1 序列来源

YBT-1520(待公布)、BMB171 (GenBank accession NC\_014171.1)<sup>[8]</sup>和 CT-43 (CP001907.1)<sup>[9]</sup>的全基因组序列均由本室测序完成, *B. cereus* strains ATCC 14579 (NC\_004722.1)、*B. anthracis* strains Ames (AE016879.1)和 *B. subtilis* 168 (NC\_000964)全基因组序列来自 GenBank (www.ncbi.nih.gov/genomes/Bacteria/)。

### 1.2 HKs 和 RRs 预测及结构与功能分析

首先,利用 Pfam 中 HKs 和 RRs 的保守结构域 HATPase\_c (Pfam02518)和 Response\_reg (Pfam00072)在上述本地化的全基因组序列中搜寻可能的 HKs 和 RRs,然后通过 NCBI 的 BLASTp 程序进行手工确认:催化结构域 HATPase\_c 必须位于 HKs 的 C-末端, HATPase\_c 的上游具有二聚化或磷酸化结构域 DHp, RRs 的 N-末端通常具有磷酸受体结构域 REC, Response\_reg 结构域位于 RRs 的 C-末端<sup>[10]</sup>。蛋白跨膜结构域采用 TMHMM Server v. 2.0 (http://www.cbs.dtu.dk/services/TMHMM-2.0/)进行预测。最后参考 Pfam 和 NCBI 的保守结构域分析、序列同源性和文献报道,对各 HKs 和 RRs 的功能进行预测,在此基础上构建 Bt 的 TCS 信号转导网络。

## 2 结果与分析

### 2.1 苏云金芽孢杆菌双组份系统的多样性

利用保守结构域 HATPase\_c (Pfam02518)和 Response\_reg (Pfam00072)对 YBT-1520、CT-43 和 BMB171 3 株菌的 TCS 进行了搜寻,同时与蜡状芽

孢杆菌群的 *B. cereus* strains ATCC 14579, *B. anthracis* strains Ames 的 TCS 进行比较, 并以 *B. subtilis* 168 菌株作为参考。结果表明, 在 YBT-1520、CT-43 和 BMB171 中, HKs 和 RRs 分别超过 50 个和 40 个, 其中成对的 TCS (HK-RR)在 35-40 对之间, 孤儿 HKs 和 RRs 分别为 15-16 和 6-8 个, 杂合结构的 TCS (Hybrid)为 2-3 个(表 1)。Bt 的 TCS 数目与 Ba 和 Bc 菌差距不大, 但明显多于 Bs 菌株。

表 1 <i>Bacillus cereus</i> group 和 <i>Bacillus subtilis</i> 中双组分的数目				
Table 1 The number of TCS in <i>Bacillus cereus</i> group and <i>Bacillus subtilis</i> genomes				
菌株 Strains	HK-RR	Hybrid	Orphans HK	Orphans RR
<i>B. subtilis</i> 168	29	0	6	6
<i>B. cereus</i> ATCC 14579	37	2	14	7
<i>B. anthracis</i> strains Ames	36	1	10	10
<i>B. thuringiensis</i> YBT-1520	35	3	15	8
<i>B. thuringiensis</i> CT-43	40	2	15	6
<i>B. thuringiensis</i> BMB171	36	2	16	8

**2.2 苏云金芽孢杆菌 HKs 的结构域组成及其分类**

搜寻出 Bt 的 HKs 后, 我们进一步用 TMHMM Server v. 2.0, Pfam、SMART 和 NCBI 等数据库进行结构域的分析(图 1)。典型的 HK 通常具有 HATPase\_c 和 HisKA/DHp 结构域。HATPase\_c 结构域位于胞内, 包含 4 个保守的 N、D、F 和 G-Box<sup>[11-12]</sup>, 是组氨酸激酶的催化结构域, 主要负责把 ATP 的磷酸基团转移到组氨酸上。HisKA/DHp 是磷酸受体结构域, 该区域含有一个保守组氨酸位点的 H-box, 能够自身磷酸化。

大多数 HKs 的 N-末端具有接受信号的信号输入结构域(Input), 如跨膜区, GAF、HAMP、PAS 等结构域。HAMP 结构域主要存在于与 ATP 结合的蛋白质中, 例如组氨酸激酶、甲基转移酶、热休克蛋白等, 推测该结构域的主要功能是将胞外的信号传递给胞内激酶<sup>[13]</sup>。PAS 结构域主要参与氧化还原反应, 可结合多种亚铁血红素、黄素和嘌呤类, 可感应光、氧及氧化还原电位等<sup>[14-15]</sup>。GAF 结构域是小分子结合位点, 主要结合环化的核苷酸, 如 cGMP、cAMP 等<sup>[16]</sup>。

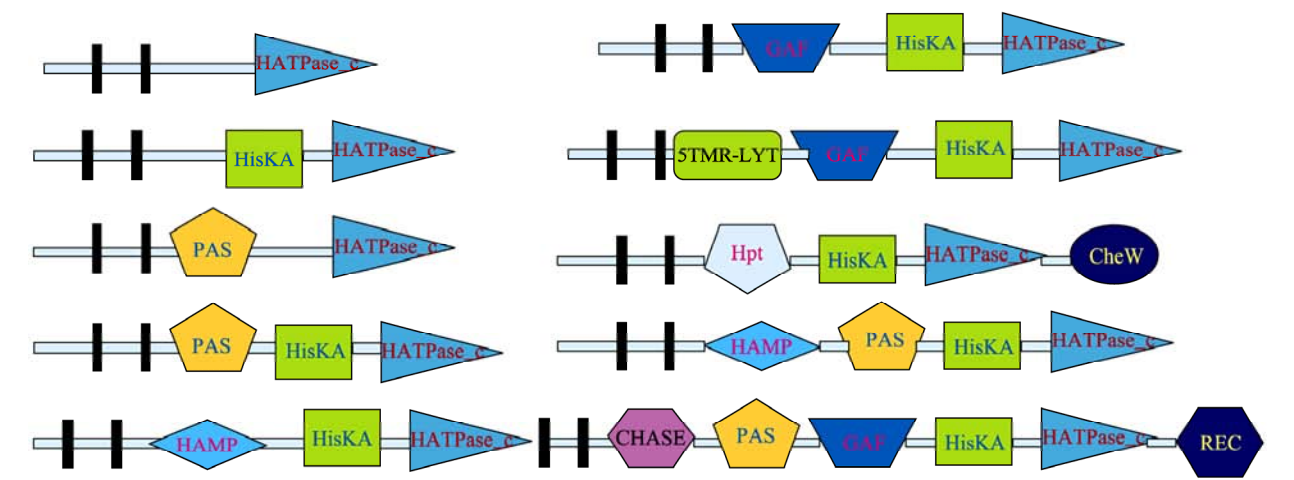


图 1 *Bacillus thuringiensis* 中组氨酸激酶的主要结构域

Fig. 1 Main domains of histidine kinases of *Bacillus thuringiensis*

Note: Black vertical bars represent putative transmembrane helices (from 0-10), other domains are indicated by different labeled symbols.

依据其感应的信号来源不同, HKs 分为 3 类: 胞外信号感应 HK, 膜信号感应 HK, 胞内信号感应 HK。在 3 株 Bt 菌中, 以感应胞外信号的组氨酸激酶最多, 如 YBT-1520 和 BMB171 均有 28 个。这类 HKs 主要由 2 个 N-末端跨膜区及其他信号输入结构域来感受胞外信号, 可感知溶液和胞外营养条件, 例如: 可感受亚硝酸盐类物质的 NarX, 柠檬酸盐的 CitA, 以及应对磷酸饥饿的 PhoR 等。膜信号感应的 HKs 在结构上具有自己的特点, 该类 HKs 一般由 2–20 个跨膜区段组成, 其感应的信号也主要来自膜表面和膜内, 例如电化学梯度、渗透压、离子强度等, 大部分与群体感应信号相关的 TCS 属于该类 HKs。在我们测序的 3 株菌中, 膜信号感应的 HKs 有 13–15 个。3 株菌中胞内信号感应的 HKs 在 12–14 个之间, 可感知胞内的溶质、细胞周期信号蛋白以及可扩散的小分子, 如 H<sub>2</sub>、O<sub>2</sub> 等。

2.3 苏云金芽孢杆菌 RRs 的结构域组成及其分类

RRs 在 N-末端具有一个保守的磷酸受体结构域 (REC), 含有一个保守的天冬氨酸残基(Asp, D), 为接受磷酸化的位点<sup>[17]</sup>。大多数 RRs 的 C-末端含有输出结构域(Output), 该结构域一般具有保守的结合 DNA 的 HTH 基序, 因此, 多数 RRs 充当转录因子调节相关基因转录, 少数是通过蛋白相互作用而介导调节功能<sup>[4]</sup>。根据 RRs 输出区域的差异, 我们测序的 3 株菌中的 RRs 可分为 NarL、SpoA、RsbU、CheV、RsbU、LytR、OmpR、YcbB、CheY、unclassified 等亚家族, Bt 菌的 RRs 主要是 OmpR 亚家族, 均占总 RRs 的 60% 以上(表 2)。OmpR 亚家族是目前已知的存在数目最多的一类应答调节蛋白, 含有一个翼状螺旋-转角-螺旋的 DNA 结合基序。

表 2 应答调节蛋白的亚家族分类及其结构域应答调节蛋白				
Table 2 The subfamilies and domains of response regulators of <i>Bacillus thuringiensis</i>				
亚家族 Subfamilies	YBT-1520	CT-43	BMB171	Domain
CheV	1	1	1	1 CheW, 1 REC
CheY	2	0	2	1 REC
LytTR	2	2	2	1 REC, 1 LytTR
NarL	5	6	6	1REC, HTH_LUXR
OmpR	25	29	27	1REC, Trans_reg_C
Spo0A	1	1	1	1 REC, 1 Spo0A_C
RsbU	1	1	1	1 REC, 1 SpoIIE

2.4 苏云金芽孢杆菌 TCS 的功能预测

目前, 大部分 TCS 的功能还不是很明确, 仅有部分 TCS 的功能得到阐明。而芽孢杆菌中 TCS 的功能研究主要集中在枯草芽孢杆菌和少数病原菌, Bt 菌 TCS 尚没有功能报道。我们主要根据序列同源性分析并参考已有文献报道的蜡状芽孢杆菌群、枯草芽孢杆菌以及其他微生物中的 TCS 功能, 预测 Bt 菌的 TCS 功能。同时, 还利用 Bioedit 软件对 YBT-1520、CT-43、BMB171 3 株菌中的 TCS 同源基因在氨基酸水平上进行比较。表 3 是 3 株 Bt 菌的双组份功能预测结果。每对 HK/RR 对应的数字是相应基因在基因组的编号, 同一行的 TCS 均是同源基因, 其氨基酸的相似性>90%; 序列比对的结果以 3 株菌中氨基酸水平 id% (Identities)最小的为基准。

从分析的结果来看, Bt 菌有多对 TCS 与已知生物学功能的 TCS 相似, 主要涉及细胞壁合成(如 YycGF)、抗生素抗性(如 VanSR、YvcQP)、外界压

表 3 YBT-1520、CT-43、BMB171 3 株菌中的 TCS 同源比较和功能预测					
Table 3 The homology comparison and function prediction of TCS of YBT-1520, CT-43 and BMB171 strains					
TCS No.	YBT-1520 HK/RR	CT43 HK/RR	BMB171 HK/RR	序列比对 id%HK/id%RR	功能预测 Function prediction
01	302/301	248/247	245/247	VanSR, 38/50, Ef	万古霉素抗性
02	315/316		254/255	YcbML, 33/46, Bs	细菌素合成
03		480/481	479/480	YufLM, 31/42, B1	苹果酸利用
04	558/557	494/493	493/492		未知
05		498/499	759/760*	DctSR, 34/49, Bs	四碳二羧酸运输

续表 3

TCS No.	YBT-1520 HK/RR	CT43 HK/RR	BMB171 HK/RR	序列比对 id%HK/id%RR	功能预测 Function prediction
06	573/574	506/507	507/508		未知
07		571/572	570/571		未知
08	951/952	879/880	818/819	CitST, 48/60, Bs	柠檬酸调控
09	1 180/1 182	1 053/1 054	984/985	YvrGH, 38/57, Bs	细胞被膜维持
10	1 431/1 430	1 232/1 230	1 145/1 144		未知
11	1 570/1 572	1 368/1 369	1 274/1 275	LiaSR, 40/60, Sp	细胞壁压力
12	1 610/1 609	1 405/1 404	1 311/1 310	ResDE, 55/80, Bl	氧化还原
13	1 766/1 765		1 476/1 475	CheAY, 44/68, Bs	趋化应激
14	1 873/1 872	1 668/1 667	1 599/1 598		未知
15	1 884/1 885	1 677/1 678	1 609/1 610		未知
16		1 733/1 732		VanSR, 40/51, Bc	万古霉素抗性
17	2 020/2 019	1 911/1 910	1 743/1 742		未知
18	2 035/2 034	1 929/1 928	1 760/1 759		未知
19	2 339/2 340	2 180/2 181	1 993/1 994	YdfHI, 25/36, Bl	细胞壁压力抗性
20		2 422/2 423	2 827/2 826	GlnKL, 58/62, Bl	谷氨酸盐运输
21	2 531/2 534	2 483/2 484	2 257/2 258		未知
22	2 587/2 584	2 528/2 527	2 301/2 300	YxdJK, 42/55, Ba	抗菌肽
23		2 707/2 706			未知
24	2 643/2 644	2 856/2 857	2 567/2 568		未知
25		3 045/3 046			未知
26		3 149/3 148			未知
27		3 158/3 159			未知
28	3 089/3 091	3 186/3 187	2 912/2 913		未知
29	4 495/4 496	4 453/4 454	4 101/4 102	YvcQP, 36/60, Bs	抗生素应激
30	4 585/4 586	4 557/4 558	4 182/4 183	YcbML, 51/66, Bs	细菌素合成
31	4 636/4 637	4 607/4 608	4 231/4 232	PhoPR, 52/75, Bl	磷酸酶活性
32	4 724/4 723	4 692/4 691	4 308/4 307		未知
33	4 867/4 868	4 838/4 839	4 445/4 446		未知
34	4 888/4 887	4 859/4 858	4 475/4 474	YxdJK, 42/56, Bc	抗菌肽
35	4 905/4 906	4 874/4 875	4 488/4 489	VanSRM, 70/78, Ef	肽类抗菌素
36	5 139/5 138	5 903/5 902	4 643/4 642	VanSRB, 31/40, Ef;	肽类抗菌素
37		5 173/5 174		ComPA, 30/46, Bs	群体感应
38	5 391/5 392	5 294/5 295	4 855/4 856	CssSR, 27/37, Bs	分泌压力
39	5 489/5 488	5 393/5 392	4 949/4 948	DesKR, 39/60, Bl	冷应激
40	5 549/5 550	5 452/5 451	5 006/5 005	YhcZY, 52/60, Bs;	细胞壁压力
41	5 578/5 579	5 483/5 482	5 036/5 035	LytST, 60/63, Bs;	自溶素合成
42	5 606/5 607	5 506/5 507	5 065/5 066	YycGF, 56/80, Bs;	细胞壁合成

Note: Species name abbreviations: Bl: *B. licheniformis*; Bs: *B. subtilis*; Ef: *Enterococcus faecalis*; Sp: *Streptococcus pyogenes*; Bc: *B. cereus*; Ba: *B. anthracis*. id%HK/id%RR represents HK identities/ RR identities. Column 2–4 contains the codes referring to the number of HKs and RRs in three strains of *B. thuringiensis*, respectively. There is no homolog between CT-43 498/499 and BMB171 759/760.



一方面, 1 个 HK 可以使多个 RRs 发生磷酸化, 1 个 RR 也可被多个 HKs 磷酸化。例如, 仅从芽孢杆菌对缺氧信号的响应就可以看出 TCS 调控网络的复杂性: 在缺氧条件下, ResD 诱导 YclJK 双组份的表达<sup>[19]</sup>; YsfCD (与乙醇酸氧化酶有关) 被 YcbML、YclJK 正调控, 同时被 DegSU, GlnKL 负调控<sup>[20]</sup>; DegSU 受到 DegS 的自调控, 而 DegS 又被 ComPA 正调控<sup>[21-22]</sup>。另一方面, 同一生理活动可以被多对 TCS 调控, 而 1 对 TCS 又可以调控多种生理活动。例如, 细菌的三羧酸循环就同时被 DctSR、YufLM 和 CitST 等 TCS 调控, DctSR 激活四碳二羧酸盐(延胡索酸盐, 琥珀酸盐)转运载体的编码基因 *dctP* 的表达<sup>[23]</sup>; YufLM 调控苹果酸的转运载体 MaeN 的表达<sup>[24]</sup>; CitST 调控 CitM (柠檬酸的转运蛋白) 的表达<sup>[25-26]</sup>。在低温时, DesKR 可调控多个基因的表达, 如正调控 *des* 操纵子(脂肪酸去饱和酶)和 YvfUT 双组分。在芽孢杆菌由对数生长期向稳定期转变的过程中, 一系列的芽孢激酶(HKs, Bt 菌的芽孢激酶数目超过 10 个)通过磷酸接力传递而使 Spo0A(RR)磷酸化, 磷酸化的 Spo0A 可调控多达 500 个基因的表达, 其直接调控的基因就达到 120 个<sup>[27]</sup>。

### 3 讨论

Bt 是目前世界上产量最大、应用最广, 能与化学农药竞争的微生物杀虫剂。同时, Bt 菌又是重要的转基因作物的供体基因库, 其主要的活性物质——杀虫晶体蛋白的基因已在 110 多种植物中表达。正因为如此, 人们已从全球范围内的多种多样的环境中筛选到了数以万计的具有不同杀虫活性的 Bt 菌株。

Bt 菌株的多样性就决定了 Bt 菌 TCS 的多样性。Bt 菌的 TCS 调控网络是极其复杂的(图 2), 这提示 TCS 在 Bt 菌生理活动的调控过程中发挥着至关重要的功能。在本室自主分离并完成全基因组测序的 YBT-1520、CT-43 和 BMB171 3 个菌株中, 与 TCS 有关的基因数目均多达 100 个左右(表 1)。从表 1、表 2 和表 3 可以看出, 在 3 株 Bt 菌中, 尽管大多数

TCS 是类似的, 但也存在一定的差异, 有许多是菌株特异的。例如, 1733/1732、3045/3046、3149/3148、3158/3159 和 5173/5174 这几对 TCS 只存在于 CT-43 菌株, 而 YcbML 存在于 YBT-1520 和 BMB171 菌株, CT-43 菌株则缺失(表 3)。这些结果为 TCS 是通过水平基因转移(Horizontal gene transfer, HGT)的方式在不同菌株乃至不同菌种间进行传播提供了很好的证据。已有文献报道 CheAY 主要调控细菌的趋化运动<sup>[28]</sup>, 而缺失这对 TCS 的 CT-43 菌株不产鞭毛, 因此, CT-43 菌株无鞭毛的表型是否与缺失该对 TCS 直接相关已引起我们的兴趣, 有关的验证工作正在进行中。

通过生物信息学方法并结合相关文献信息, 我们初步构建了 Bt 菌的 TCS 调控网络, 为后续精细 TCS 调控网络的绘制和实验方案的设计提供了重要的理论依据和指导。本室正在开展大规模的全部 TCS 之间的蛋白质相互作用和调控关系研究, 并从转录水平揭示在不同信号刺激的条件下各 TCS 的响应情况与规律, 着重探讨 TCS 在 Bt 菌的杀虫晶体蛋白高效表达和伴孢晶体形成过程中的调控机制。

### 参考文献

- [1] 蔡启良, 刘子铎, 孙明, 等. 苏云金芽孢杆菌营养期杀虫蛋白 Vip 与 Cry 蛋白的协同作用[J]. 微生物学通报, 2003, 30(5): 64-72.
- [2] van Frankenhuyzen K. Insecticidal activity of *Bacillus thuringiensis* crystal proteins[J]. J Invertebr Pathol, 2009, 101(1): 1-16.
- [3] Schnepf E, Crickmore N, Van Rie J, et al. *Bacillus thuringiensis* and its pesticidal crystal proteins[J]. Microbiol Mol Biol Rev, 1998, 62(3): 775-806.
- [4] Mascher T, Helmann JD, Uden G. Stimulus perception in bacterial signal-transducing histidine kinases[J]. Microbiol Mol Biol Rev, 2006, 70(4): 910-938.
- [5] West AH, Stock AM. Histidine kinases and response regulator proteins in two-component signaling systems[J]. Trends Biochem Sci, 2001, 26(6): 369-376.
- [6] Gao R, Stock AM. Biological insights from structures of two-component proteins[J]. Annu Rev Microbiol, 2009, 63: 133-154.
- [7] Laub MT, Goulian M. Specificity in two-component signal transduction pathways[J]. Annu Rev Genet, 2007, 41:

- 121–145.
- [8] He J, Shao XH, Zheng HJ, et al. Complete genome sequence of *Bacillus thuringiensis* mutant strain BMB171[J]. J Bacteriol, 2010, 192(15): 4074–4075.
- [9] He J, Wang JP, Yin W, et al. The complete genome sequence of *Bacillus thuringiensis* subsp. *chinensis* strain CT-43[J]. J Bacteriol, 2011, 193(13): 3407–3408.
- [10] de Been M, Francke C, Moezelaar R, et al. Comparative analysis of two-component signal transduction systems of *Bacillus cereus*, *Bacillus thuringiensis* and *Bacillus anthracis*[J]. Microbiology, 2006, 152(10): 3035–3048.
- [11] Grebe TW, Stock JB. The histidine protein kinase superfamily[J]. Adv Microb Physiol, 1999, 41: 139–227.
- [12] Wolanin PM, Thomason PA, Stock JB. Histidine protein kinases: key signal transducers outside the animal kingdom[J]. Genome Biol, 2002, 3(10): 3013.1–3013.8.
- [13] Williams SB, Stewart V. Functional similarities among two-component sensors and methyl-accepting chemotaxis proteins suggest a role for linker region amphipathic helices in transmembrane signal transduction[J]. Mol Microbiol, 1999, 33(6): 1093–1102.
- [14] Taylor BL, Zhulin IB. PAS domains: internal sensors of oxygen, redox potential, and light[J]. Microbiol Mol Biol Rev, 1999, 63(2): 479–506.
- [15] Zhulin IB, Taylor BL, Dixon R. PAS domain S-boxes in archaea, bacteria and sensors for oxygen and redox[J]. Trends Biochem Sci, 1997, 22(9): 331–333.
- [16] Aravind L, Ponting CP. The GAF domain: an evolutionary link between diverse phototransducing proteins[J]. Trends Biochem Sci, 1997, 22(12): 458–459.
- [17] Pao GM, Saier MH. Response regulators of bacterial signal transduction systems: selective domain shuffling during evolution[J]. J Mol Evol, 1995, 40(2): 136–154.
- [18] Martin JF, Liras P. Engineering of regulatory cascades and networks controlling antibiotic biosynthesis in *Streptomyces*[J]. Curr Opin Microbiol, 2010, 13(3): 263–273.
- [19] Härtig E, Geng H, Hartmann A, et al. *Bacillus subtilis* ResD induces expression of the potential regulatory genes *yclJK* upon oxygen limitation[J]. J Bacteriol, 2004, 186(19): 6477–6484.
- [20] Ogura M, Tanaka T. Recent progress in *Bacillus subtilis* two-component regulation[J]. Front Biosci, 2002, 7: 1815–1824.
- [21] Hamze K, Julkowska D, Autret S, et al. Identification of genes required for different stages of dendritic swarming in *Bacillus subtilis*, with a novel role for *phrC*[J]. Microbiology, 2009, 155(2): 398–412.
- [22] Ohsawa T, Tsukahara K, Ogura M. *Bacillus subtilis* response regulator DegU is a direct activator of *pgsB* transcription involved in  $\gamma$ -poly-glutamic acid synthesis[J]. Biosci Biotechnol Biochem, 2009, 73(9): 2096–2102.
- [23] Asai K, Baik SH, Kasahara Y, et al. Regulation of the transport system for C4-dicarboxylic acids in *Bacillus subtilis*[J]. Microbiology, 2000, 146(2): 263–271.
- [24] Tanaka K, Kobayashi K, Ogasawara N. The *Bacillus subtilis* YufLM two-component system regulates the expression of the malate transporters MaeN (YufR) and YfIS, and is essential for utilization of malate in minimal medium[J]. Microbiology, 2003, 149(9): 2317–2329.
- [25] Yamamoto H, Murata M, Sekiguchi J. The CitST two-component system regulates the expression of the Mg-citrate transporter in *Bacillus subtilis*[J]. Mol Microbiol, 2000, 37(4): 898–912.
- [26] Repizo GD, Blancato V, Sender PD, et al. Catabolite repression of the *citST* two-component system in *Bacillus subtilis*[J]. FEMS Microbiol Lett, 2006, 260(2): 224–231.
- [27] de Hoon MJL, Eichenberger P, Vitkup D. Hierarchical evolution of the bacterial sporulation network[J]. Curr Biol, 2010, 20(17): R735–R745.
- [28] Webre DJ, Wolanin PM, Stock JB. Bacterial chemotaxis[J]. Curr Biol, 2003, 13: R47–R49.