

细菌肽转运蛋白的研究进展

张伟欣 李春阳 陈秀兰*

(山东大学 微生物技术国家重点实验室 山东 济南 250100)

摘要: 细菌的肽转运蛋白包括 3 种, 寡肽转运蛋白(Oligopeptide permease, Opp)、二肽转运蛋白(Dipeptide permease, Dpp)和二/三肽转运蛋白(Di- and tripeptide permease, Dtp)。Opp 和 Dpp 属于 ABC 型超家族(ATP-binding cassette superfamily)转运蛋白, 利用 ATP 水解产生的能量实现底物转运。对 Opp 和 Dpp 研究最多的是胞外肽结合蛋白 OppA 和 DppA, 它们起着最初识别与结合底物的重要作用。Dtp 属于主要协助转运蛋白超家族(Major facilitator superfamily, MFS), 与质子进行底物共转运。细菌肽转运蛋白的晶体结构解析结合大量的生化数据分析, 使得人们对其转运机制有了深入的了解。本文对这三种肽转运蛋白的研究进展分别进行综述。

关键词: 肽转运蛋白, 胞外肽结合蛋白, ABC 型转运蛋白, 主要协助转运蛋白

Advances in bacterial peptide transporters

ZHANG Wei-Xin LI Chun-Yang CHEN Xiu-Lan*

(State Key Laboratory of Microbial Technology, Shandong University, Jinan, Shandong 250100, China)

Abstract: Peptides are transported into cells by peptide transporters, which are grouped into three types of oligopeptide transporters (Opp), dipeptide transporters (Dpp) and di- and tripeptide transporters (Dtp) in bacteria. Opp and Dpp belong to ABC-type superfamily and utilize the energy from ATP hydrolysis to promote peptide translocation. The most well-studied peptide binding subunits in Opp and Dpp are extracellular peptide-binding proteins OppA and DppA respectively, which recognize and bind substrates. Dtp are proton-driven symporters, belonging to major facilitator superfamily (MFS) superfamily. The elucidation of crystal structures combined with biochemical investigations of bacterial peptide transporters offers us a better understanding of their transport mechanism. This review summarizes the advances in the three types of bacterial peptide transporters.

Keywords: Peptide transporters, Extracellular peptide-binding protein, ABC-type transporters, Major facilitator superfamily transporters

细菌细胞膜上的肽转运蛋白在细菌的生长中发挥着重要作用, 它们不仅能够转运小肽进入细胞提供营养, 并且还参与了许多重要的细胞活动, 如

信号转导、趋化性等。细菌的肽转运蛋白包括 3 种, 寡肽转运蛋白(Oligopeptide permease, Opp)、二肽转运蛋白(Dipeptide permease, Dpp)和二/三肽

基金项目: 国家自然科学基金项目(No. 41276149, 31300059)

*通讯作者: Tel: 86-31-88365013; 邮箱: cxl0423@sdu.edu.cn

收稿日期: 2013-11-18; 接受日期: 2013-12-23; 优先数字出版日期(www.cnki.net): 2014-01-08

转运蛋白(Di- and tripeptide permease, Dtp)。Opp 和 Dpp 属于初级主动转运蛋白(Primary active transporters)中的 ABC 型超家族(ATP-binding cassette superfamily),利用 ATP 水解产生的能量实现底物转运;Dtp 属于次级转运蛋白(Secondary transporters)中的主要协助转运蛋白超家族(Major facilitator superfamily, MFS),底物与质子进行共转运。本文对这三种肽转运蛋白的研究进展及底物转运机制分别进行综述。

1 寡肽转运蛋白(Opp)

细菌的寡肽转运蛋白 Opp 属于 ABC 型超家族成员,底物转运与 ATP 的水解偶联。Opp 由 5 个亚基组成,分别是 OppA、OppB、OppC、OppD 和 OppF,如图 1A 所示。OppA 蛋白起着最初识别和结合底物的重要作用;OppB 和 OppC 是 2 个同源跨膜蛋白,共同组成一个底物进入细胞的“通道”,OppD 和 OppF 是 2 个胞内 ATP 酶,水解 ATP。多数情况下,编码 5 个蛋白亚基的 5 个基因位于一个操纵子 *opp* 上(图 1B)。也有一些例外的情况,如乳杆菌含有两套寡肽转运系统,分别是 Opp 和 Opt^[1]。Opt 系统含有 2 个胞外结合蛋白 OptA 和 OptS,编码 OptA 的基因位于 *optABCD* 操纵子上,而编码 OptS 的基因是独立转录的^[2]。致病性细菌伯氏疏螺旋体(*Borrelia burgdorferi*)的 Opp 含有 5

个 OppA 蛋白,分别命名为 OppA1、OppA2、OppA3、OppA4 和 OppA5,编码前 3 个结合蛋白的基因位于 *opp* 操纵子上,编码后两者的基因位于两个不同的质粒上^[3-4]。这些独立于 *opp* 操纵子的基因产物与操纵子内相应的基因产物可能发挥着不同的功能。

在 Opp 系统中,研究最多并且最深入的是寡肽结合蛋白 OppA,在细菌、古菌和支原体中都有报道^[5-7]。在革兰氏阳性细菌中,OppA 通过蛋白 N 端半胱氨酸的脂修饰锚定于细胞膜上;在革兰氏阴性细菌中,OppA 则游离于细胞周质空间。在这两种情况中,OppA 蛋白的自由运动都相对地受到限制。革兰氏阴性细菌的 OppA 蛋白最早是从渗透休克方法(Osmotic shock)提取的细胞周质空间总蛋白中纯化得到^[8-9]。OppA 属于胞外结合蛋白(Extracellular binding protein)第五大家族,这个家族的蛋白是分子量最大的胞外结合蛋白,含有 493–543 个氨基酸^[10]。目前对大肠杆菌、沙门氏菌和乳杆菌的 OppA 蛋白的结构及功能已经有了很多研究报道。下面就 OppA 的底物特异性、底物结合机制和功能展开叙述。

1.1 OppA 的底物特异性

OppA 是一个结合蛋白,底物是由两个到几十个 L-型氨基酸组成的寡肽。不同来源 OppA 的寡

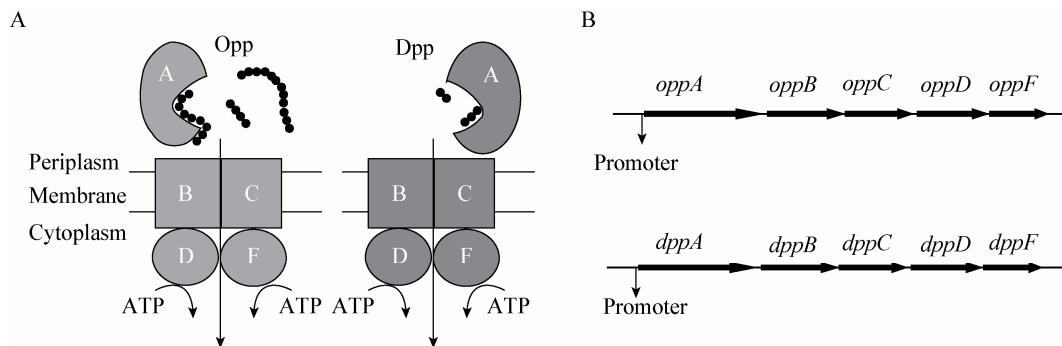


图 1 Opp 和 Dpp 的结构组成(A)及操纵子(B)示意图

Figure 1 Schematic model of Opp and Dpp (A) and organization of the *opp* and *dpp* operons (B)

肽底物的氨基酸组成数目不尽相同,大肠杆菌和沙门氏菌的 OppA 均能够结合 2–5 个氨基酸组成的寡肽^[11–13],乳杆菌的 OppA 能够结合 4–35 个氨基酸组成的寡肽^[14]。OppA 的底物特异性很宽泛,即对寡肽底物的氨基酸序列并无要求。但是 OppA 对不同侧链组成的寡肽表现出不同的偏好性,即具有不同的底物亲和力^[13–15]。大肠杆菌的 OppA 对含有碱性氨基酸的小肽底物具有偏好性^[12]。乳杆菌的 OppA 对富含脯氨酸、并且含有异亮氨酸的寡肽具有一定的偏好性,有利于菌株从富含脯氨酸的牛奶酪蛋白中摄取营养和弥补自身不能合成异亮氨酸的缺陷^[14]。除了同位素标记底物的竞争实验和蛋白质结晶技术,等温滴定量热技术(ITC)和荧光滴定技术也是测定结合蛋白 OppA 对底物亲和力的有效方法^[12,15–16]。

1.2 OppA 的结构及底物结合机制

目前对不同来源的、结合与不结合底物状态的 OppA 的晶体结构已有较多的研究报道^[11,14–15,17–18]。OppA 蛋白由 3 个结构域组成,如图 2 所示。结构域 I 和结构域 III 之间有一个狭缝(Cleft),由铰链区(Hinge)连接,底物结合位点位于此狭缝处。当结合底物时,结构域 III 向结构域 I 弯曲,构象发生很大变化,这种机制被称为“捕蝇草陷阱”(Venus's flytrap)^[19]。对乳杆菌的 OppA 位于 domain III、参与底物结合的氨基酸进行定点突变,结果所有突变体的转运动力学参数都发生了改变,大部分突变体对底物的亲和力显著下降^[20]。结构域 II 并不直接参与底物结合时的构象改变^[11]。如前所述,第五家族的胞外结合蛋白分子量最大,就是由于结构域 II 的存在引起的。在其它家族的结合蛋白中,如麦芽糖结合蛋白,只存在结构域 I 和结构域 III 的同源结构域^[19]。在有的研究中,OppA 的结构域 I 和 II 一起被命名为结构域 I,结构域 III 被命名为结构域 II^[14]。

OppA 结合底物的机制是,底物结合腔的氨基酸残基与寡肽底物的氨基酸主链之间有较强的氢键作用。底物氨基酸侧链都被包容在一个大“口

袋”(Pocket)里。这个“口袋”能够容纳多种氨基酸侧链,是 OppA 对寡肽底物的氨基酸组成无选择特异性的结构基础。在 OppA 与底物的结合中,水分子扮演了灵活的“适配者”(Adaptor)角色,既与蛋白和底物间建立了必需的氢键,又保护了带电荷的底物^[15]。乳杆菌的 OppA 与沙门氏菌和枯草芽孢杆菌的 OppA 的晶体结构之间的比较分析显示,后两者 OppA 的底物结合腔中两段环状区(Loop)的相应结构位于乳杆菌 OppA 的蛋白表面,导致乳杆菌 OppA 的底物结合腔明显扩大,进而能够结合高达 35 个氨基酸组成的寡肽^[14]。

OppA 结合底物后,如何与其它亚基协同作用,将底物转运进胞内,还未有详尽报道,但被认为是与其它 ABC 型超家族转运蛋白如麦芽糖转运蛋白的机制是一致的^[21]。胞外结合蛋白结合底物后,引起两个膜蛋白亚基、两个胞内 ATP 酶亚基构象发生改变并行使功能,ATP 水解提供能量的同时,底物被转运进胞内。值得注意的是,Opp 系统比麦芽糖转运系统复杂很多,5 个亚基由 5 个基因编码,而麦芽糖转运系统中两个膜亚基、两个 ATP 酶亚基都分别是同一条基因编码的产物,Opp 系统的详尽转运机制还有待进一步研究。

1.3 OppA 的功能

除了结合寡肽向细胞提供氨基酸营养外,某些

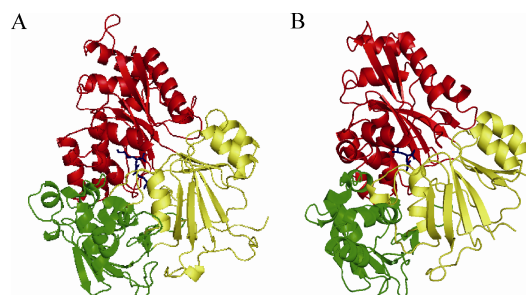


图 2 大肠杆菌的 OppA (A)和 DppA (B)结合底物状态的晶体结构

Figure 2 Three-dimensional structures of OppA (A) and DppA (B) with ligands from *E. coli*

Note: PDB codes are 1RKM (A) and 1DPP (B) respectively. Domain I, domain II and domain III are indicated in yellow, green and red, respectively. The ligands Lys-Lys bound by OppA and Gly-Leu bound by DppA are both indicated in blue.

OppA 还在其它细胞活动中发挥作用, 如信号转导、胞壁肽代谢循环、以及作为分子伴侣协助周质空间蛋白折叠等^[7]。在信号转导方面, OppA 有两种可能的作用方式: 其一是结合非特异性的寡肽信号分子, 转运进入胞内, 通过改变胞内的氨基酸浓度来激活相应的转录调控因子, 作用于下游的细胞代谢活动^[22]; 其二是结合由细菌分泌到胞外的特异性寡肽信号分子, 将信号传递进入胞内, 作用于靶基因的表达, 调控细胞代谢活动如孢子形成、接合、致病性等^[23-25]。前文提到乳杆菌的寡肽转运系统 Opt 含有两个结合蛋白 OptA 和 OptS, 研究表明 OptA 在乳杆菌的营养摄取中发挥作用, 而 OptS 则与结合寡肽信号分子有关, 并且调控主要的寡肽转运系统 *opp* 操纵子的基因表达^[2]。大肠杆菌的 Opp 至少含有两个周质空间结合蛋白 OppA 和 MppA, 独立于 *opp* 操纵子的 MppA 在结合胞壁肽中发挥着重要作用^[26]。此外, 大肠杆菌的 OppA 以及部分周质空间蛋白具有类似分子伴侣的功能, 能够帮助蛋白质折叠, 保护压力胁迫下的周质空间环境^[27]。

2 二肽转运蛋白(Dipeptide permease, Dpp)

细菌的二肽转运蛋白 Dpp 与寡肽转运蛋白 Opp 非常相似, 也属于 ABC 型超家族成员, 由 5 个亚基组成, 分别为 DppA、DppB、DppC、DppD 和 DppF, 各亚基执行功能与 Opp 相同。编码 5 个亚基的 5 个基因通常也位于一个操纵子 *dpp* 上, 如图 1 所示。

在 Dpp 中, 研究最多的同样是与 OppA 非常相似的胞外结合蛋白 DppA。DppA 也属于胞外结合蛋白第五大家族。目前对 DppA 的研究主要集中在大肠杆菌和乳杆菌上。下面同样就 DppA 的底物特异性、底物结合机制和功能展开叙述。

2.1 DppA 的底物特异性

DppA 的底物是由 L-型氨基酸组成的二肽和三肽, 对二肽有高亲和力。同 OppA 相像, DppA 对底物的氨基酸组成并无特殊要求。Smith 等将大

肠杆菌的天然 DppA 纯化出来, 并采用同位素标记底物的竞争性实验研究其底物特异性。结果表明, 大肠杆菌的 DppA 对三肽和由 D-型氨基酸组成的二肽亲和力较弱, 对不同氨基酸组成的二肽亲和力也不尽相同^[28]。乳杆菌的 DppA 对 L-型氨基酸组成、并且 N 端 α -氨基无修饰的二肽和三肽均具有高亲和力, 对含有甲硫氨酸或精氨酸的二肽、以及含有亮氨酸或缬氨酸的疏水性三肽具有偏好性^[29]。大肠杆菌的 DppA 还能够结合亚铁血红素离子, 分别与 DppBCDF 协同作用, 都能实现亚铁血红素离子向胞内的转运^[30]。

2.2 DppA 的结构及底物结合机制

早在 1995 年, 对大肠杆菌来源、结合底物和不结合底物状态的 DppA 的晶体结构已有报道^[31-32]。DppA 的结构同 OppA 非常相似, 由 3 个结构域组成, 底物结合位点位于结构域 I 和结构域 III 之间的狭缝处(图 2)。DppA 的底物结合机制也与 OppA 相似, 即“Venus's flytrap”机制。对与底物 Gly-Leu 二肽共结晶的大肠杆菌 DppA 的结构分析表明, DppA 与底物的结合是通过与底物氨基酸主链间的相互作用实现的, 包括与肽键上的羧基氧原子和肽基氮原子之间的氢键作用, 以及与带电荷末端的氢键和盐键作用。大肠杆菌 DppA 的晶体结构与沙门氏菌、乳杆菌 OppA 的晶体结构的比较分析表明, DppA 的底物结合腔比 OppA 小, 可以用来解释 DppA 偏好结合二肽和少部分三肽, 而不能结合更长的寡肽^[14,31]。DppA 与底物的化学计量数(Stoichiometry) 是 1, 即一分子 DppA 结合一分子底物^[28-29]。

Dpp 复合物的转运机制目前尚无报道, 推测可能与 Opp 相似, 还需要深入的研究。

2.3 DppA 的功能

除了结合并转运二肽提供营养外, DppA 还在趋化性和作为分子伴侣协助蛋白折叠等方面发挥作用^[33-36]。大肠杆菌的 DppA 在二肽趋化性中发挥着主要化学感受器的作用。DppA 的缺失造成大肠杆菌对二肽的趋化性消失, 这种二肽趋化性取决于

DppA 的存在, Dpp 系统的二肽活性是否存在对其没有影响^[36]。DppA 的这种功能对于肽类抗生素的理性设计具有重要的意义。

在笔者对所在课题组自主分离的深海适冷菌 *Pseudoalteromonas* sp. SM9913 的研究中发现, 菌株 SM9913 的 DppA 蛋白具有结构稳定性低与柔性高的特征, 在 15 °C 对二肽底物的亲和力最高, 这对保证菌株在深海常年低温环境中的营养摄取具有重要的意义^[37]。进一步的结构域置换实验表明, 构成底物结合狭缝的结构域 III 和结构域 I 对整个结构的低稳定性和低温下的高底物亲和力贡献很大, 是 DppA 蛋白在适冷中的优化热点。目前对菌株 SM9913 DppA 的适冷性机制及底物偏好性机制正在研究中。笔者也曾尝试纯化由五个亚基组成的 Dpp 复合体, 在大肠杆菌中对操纵子 *dpp* 进行异源表达, 虽然对复合体的异源表达成功, 但由于亚基之间的作用力较弱, 未能将整个复合体成功纯化。将复合体的亚基分开表达纯化, 在人工膜中组装成复合体或许是一种解决的方法。

3 细菌二/三肽转运蛋白(Dtp)

Dtp 与 Opp 和 Dpp 不同, 由一个基因编码, 属于主要协助转运蛋白超家族(MFS)。Dtp 的同源蛋白在真核生物中普遍存在, 哺乳动物中的同源蛋白 PET1 和 PET2 已有广泛而深入的研究^[38]。由于底物的转运需要质子, 所以这类蛋白被称为质子依赖的寡肽转运蛋白(Proton-dependent oligopeptide transporter, POT)。这个家族成员的蛋白序列一致性较低, 但均含有高度保守的“PTR 序列”(Peptide transporter motifs)^[38-39], 对这些保守序列的点突变会导致转运活性丧失^[40-41]。

Dtp 与哺乳动物的 PET1 和 PET2 的序列一致性较低, 但三维结构极为相似, 均是由 12-14 个跨膜螺旋组成的膜蛋白。相对于 Opp 和 Dpp, 对细菌 Dtp 的研究较少。在大肠杆菌的基因组上, 有四条编码 Dtp 蛋白的基因, 蛋白产物分别命名为 DtpA (又名 YdgR、TppB)、DtpB (YihP)、DtpC (YjdL)

和 DtpD (YbgH), 它们之间的蛋白序列一致性很有限(小于 30%)。Weitz 等^[42]对 DtpA 进行了重组表达和性质研究, 发现 DtpA 与哺乳动物 PETP1 的底物识别模式很像, 能够转运二肽、三肽及类似物如抗生素 β -lactam。当有质子载体抑制剂 CCCP 存在时, DtpA 的肽转运功能被破坏, 表明其与质子共转运的机制。采用透射电镜技术研究发现 DtpA 以“皇冠”状单体形式存在。Ernst 等^[43]采用荧光标记底物竞争实验发现 DtpC 对二肽底物的选择性明显高于三肽。大肠杆菌的 4 个 Dtp 转运蛋白是否在细菌不同生长条件下, 在营养底物转运和其他方面如信号底物感应等发挥不同的作用, 有待研究。

到目前为止, 有 4 个细菌来源的 Dtp 晶体结构被报道, 分别是 *Shewanella oneidensis* 的 PepT_{So} 和 PepT_{So2} 、*Streptococcus thermophilus* 的 PepT_{st} 和 *Geobacillus kaustophilus* 的 GkPOT ^[44-47], 如图 3 所示。上述晶体结构均显示 Dtp 含有 14 个跨膜螺旋, 比真核中的同源蛋白多两个螺旋, 采用 MFS 折叠方式^[48], 即分为 N 和 C 两个结构域, 分别含有 6 个跨膜螺旋, 这两个结构域呈现出非常相似的拓扑结构, 以一种假二次轴对称的方式存在。底物的结合位点位于蛋白中心形成的空腔中, 质子结合位点位于这个腔的朝向膜外侧方向的区域^[46]。Dtp 的转运机制被认为与 MFS 家族相似, 即结合膜外侧底物的蛋白发生构象变化, 进而向膜内侧开口, 底物释放, 完成转运。这个过程不涉及底物结合位点的变化, 而是依靠转运蛋白的构象变化。采用晶体结构解析以及生化、计算机模拟手段对 *Geobacillus kaustophilus* 的 GkPOT 的研究分析表明, 在小肽底物与质子的共转运中, 底物结合位点处保守的 Glu310 被质子化, 底物结合在 Glu310 和 Arg43 上; Glu310 去质子化, 与 Arg43 之间形成盐键, 进而引发构象改变, 向胞内释放底物^[47]。但是上述假设只解释了质子与底物共转运过程中向胞内释放底物的机制, 而结合细胞膜外侧底物与构象变化之间的机制仍需要进一步研究。

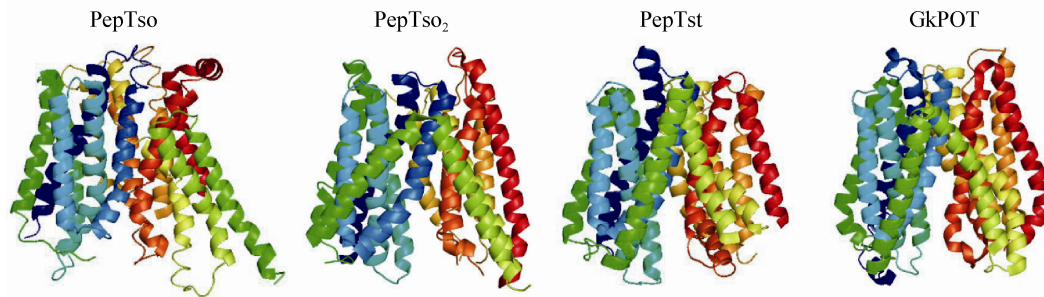


图3 已知细菌 Dtp 同源蛋白的晶体结构

Figure 3 Three-dimensional structures of bacterial Dtp homologues

Note: From left to right, PDB codes are 2XUT, 4LEP, 4APS and 4IKV.

笔者对本课题组深海适冷模式菌株 SM9913 的基因组序列进行分析时发现, 菌株 SM9913 含有一个 Dtp 同源蛋白, 通过对表达载体、表达菌株以及去污剂的筛选, 已经将其在大肠杆菌中成功地进行了异源表达和纯化, 其功能和结构特点目前正在研究中。

4 小结与展望

细菌的肽转运蛋白对细菌的营养生长非常重要, 尤其是对某些氨基酸缺陷菌株。另一方面, 细菌的肽转运蛋白也在信号转导方面发挥着重要作用, 增强了细胞与外界环境的信息交流。笔者认为, 肽转运蛋白在信号转导方面, 对信号分子的感应与转运的关系, 是一个值得深入研究的方向。对细菌肽转运蛋白的底物特异性和识别机制的研究对理性设计肽类抗生素具有重要的指导意义。Dtp 的同源蛋白在高等生物中广泛存在, 对细菌 Dtp 的研究能够丰富 MFS 家族蛋白转运机制的理解, 并为人类疾病治疗提供更多的药物靶点。

参考文献

- [1] Lamarque M, Charbonnel P, Aubel D, et al. A multifunction ABC transporter (Opt) contributes to diversity of peptide uptake specificity within the genus *Lactococcus*[J]. *Journal of Bacteriology*, 2004, 186(19): 6492-6500.
- [2] Lamarque M, Aubel D, Piard JC, et al. The peptide transport system Opt is involved in both nutrition and environmental sensing during growth of *Lactococcus lactis* in milk[J]. *Microbiology*, 2011, 157(6): 612-619.
- [3] Medrano MS, Ding Y, Wang XG, et al. Regulators of expression of the oligopeptide permease A proteins of *Borrelia burgdorferi*[J]. *Journal of Bacteriology*, 2007,

189(7): 2653-2659.

- [4] Wang XG, Kidder JM, Scagliotti JP, et al. Analysis of differences in the functional properties of the substrate binding proteins of the *Borrelia burgdorferi* oligopeptide permease (Opp) operon[J]. *Journal of Bacteriology*, 2004, 186(1): 51-60.
- [5] Palmieri G, Casbarra A, Fiume I, et al. Identification of the first archaeal oligopeptide-binding protein from the hyperthermophile *Aeropyrum pernix*[J]. *Extremophiles*, 2006, 10(5): 393-402.
- [6] Henrich B, Hopfe M, Kitzrow A, et al. The adherence-associated lipoprotein P100, encoded by an *opp* operon structure, functions as the oligopeptide-binding domain OppA of a putative oligopeptide transport system in *Mycoplasma hominis*[J]. *Journal of Bacteriology*, 1999, 181(16): 4873-4878.
- [7] Monnet V. Bacterial oligopeptide-binding proteins[J]. *Cellular and Molecular Life Sciences: CMLS*, 2003, 60(10): 2100-2114.
- [8] Guyer CA, Morgan DG, Osheroff N, et al. Purification and characterization of a periplasmic oligopeptide binding protein from *Escherichia coli*[J]. *The Journal of Biological Chemistry*, 1985, 260(19): 10812-10818.
- [9] Higgins CF, Hardie MM. Periplasmic protein associated with the oligopeptide permeases of *Salmonella typhimurium* and *Escherichia coli*[J]. *Journal of Bacteriology*, 1983, 155(3): 1434-1438.
- [10] Tam R, Saier MH Jr. Structural, functional, and evolutionary relationships among extracellular solute-binding receptors of bacteria[J]. *Microbiological Reviews*, 1993, 57(2): 320-346.
- [11] Sleigh SH, Tame JR, Dodson EJ, et al. Peptide binding in OppA, the crystal structures of the periplasmic oligopeptide binding protein in the unliganded form and in complex with lysyllysine[J]. *Biochemistry*, 1997, 36(32): 9747-9758.
- [12] Klepsch MM, Kovermann M, Low C, et al. *Escherichia coli* peptide binding protein OppA has a preference for positively charged peptides[J]. *Journal of Molecular Biology*, 2011, 414(1): 75-85.
- [13] Guyer CA, Morgan DG, Staros JV. Binding specificity of the periplasmic oligopeptide-binding protein from *Escherichia coli*[J]. *Journal of Bacteriology*, 1986, 168(2): 775-779.

- [14] Berntsson RP, Doeve MK, Fusetti F, et al. The structural basis for peptide selection by the transport receptor OppA[J]. The EMBO Journal, 2009, 28(9): 1332-1340.
- [15] Sleight SH, Seavers PR, Wilkinson AJ, et al. Crystallographic and calorimetric analysis of peptide binding to OppA protein[J]. Journal of Molecular Biology, 1999, 291(2): 393-415.
- [16] Lanfermeijer FC, Picon A, Konings WN, et al. Kinetics and consequences of binding of nona- and dodecapeptides to the oligopeptide binding protein (OppA) of *Lactococcus lactis*[J]. Biochemistry, 1999, 38(44): 14440-14450.
- [17] Levnikov VM, Blagova EV, Brannigan JA, et al. The structure of the oligopeptide-binding protein, AppA, from *Bacillus subtilis* in complex with a nonapeptide[J]. Journal of Molecular Biology, 2005, 345(4): 879-892.
- [18] Davies TG, Hubbard RE, Tame JR. Relating structure to thermodynamics: the crystal structures and binding affinity of eight OppA-peptide complexes[J]. Protein Science, 1999, 8(7): 1432-1444.
- [19] Mao B, Pear MR, McCammon JA, et al. Hinge-bending in L-arabinose-binding protein. The "Venus's-flytrap" model[J]. The Journal of Biological Chemistry, 1982, 257(3): 1131-1133.
- [20] Picon A, Kunji ER, Lanfermeijer FC, et al. Specificity mutants of the binding protein of the oligopeptide transport system of *Lactococcus lactis*[J]. Journal of Bacteriology, 2000, 182(6): 1600-1608.
- [21] Oldham ML, Chen J. Crystal structure of the maltose transporter in a pretranslocation intermediate state[J]. Science, 2011, 332(6034): 1202-1205.
- [22] Claverys JP, Grossiord B, Alloing G. Is the Ami-AliA/B oligopeptide permease of *Streptococcus pneumoniae* involved in sensing environmental conditions[J]. Research in Microbiology, 2000, 151(6): 457-463.
- [23] Leonard BA, Podbielski A, Hedberg PJ, et al. *Enterococcus faecalis* pheromone binding protein, PrgZ, recruits a chromosomal oligopeptide permease system to import sex pheromone cCF10 for induction of conjugation[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 1996, 93(1): 260-264.
- [24] Slamti L, Lereclus D. A cell-cell signaling peptide activates the PlcR virulence regulon in bacteria of the *Bacillus cereus* group[J]. The EMBO Journal, 2002, 21(17): 4550-4559.
- [25] Perego M. A peptide export-import control circuit modulating bacterial development regulates protein phosphatases of the phosphorelay[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 1997, 94(16): 8612-8617.
- [26] Park JT, Raychaudhuri D, Li H, et al. MppA, a periplasmic binding protein essential for import of the bacterial cell wall peptide L-alanyl-gamma-D-glutamyl-meso-diaminopimelate[J]. Journal of Bacteriology, 1998, 180(5): 1215-1223.
- [27] Richarme G, Caldas TD. Chaperone properties of the bacterial periplasmic substrate-binding proteins[J]. The Journal of Biological Chemistry, 1997, 272(25): 15607-15612.
- [28] Smith MW, Tyreman DR, Payne GM, et al. Substrate specificity of the periplasmic dipeptide-binding protein from *Escherichia coli*: experimental basis for the design of peptide prodrugs[J]. Microbiology, 1999, 145(10): 2891-2901.
- [29] Sanz Y, Lanfermeijer FC, Konings WN, et al. Kinetics and structural requirements for the binding protein of the Di-tripeptide transport system of *Lactococcus lactis*[J]. Biochemistry, 2000, 39(16): 4855-4862.
- [30] Letoffe S, Delepelaire P, Wandersman C. The housekeeping dipeptide permease is the *Escherichia coli* heme transporter and functions with two optional peptide binding proteins[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 2006, 103(34): 12891-12896.
- [31] Dunten P, Mowbray SL. Crystal structure of the dipeptide binding protein from *Escherichia coli* involved in active transport and chemotaxis[J]. Protein Science, 1995, 4(11): 2327-2334.
- [32] Nickitenko AV, Trakhanov S, Quirocho FA. 2 A resolution structure of DppA, a periplasmic dipeptide transport/chemosensory receptor[J]. Biochemistry, 1995, 34(51): 16585-16595.
- [33] Matsuzaki M, Kiso Y, Yamamoto I, et al. Isolation of a periplasmic molecular chaperone-like protein of *Rhodobacter sphaeroides* f. sp. denitrificans that is homologous to the dipeptide transport protein DppA of *Escherichia coli*[J]. Journal of Bacteriology, 1998, 180(10): 2718-2722.
- [34] Matsuzaki M, Kiso Y, Yamamoto I, et al. Gene disruption analysis of DppA isolated as a periplasmic molecular chaperone-like protein for folding of dimethyl sulfoxide reductase in *Rhodobacter sphaeroides* f. sp. denitrificans[J]. FEMS Microbiology Letters, 2000, 193(2): 223-229.
- [35] Abouhamad WN, Manson M, Gibson MM, et al. Peptide transport and chemotaxis in *Escherichia coli* and *Salmonella typhimurium*: characterization of the dipeptide permease (Dpp) and the dipeptide-binding protein[J]. Molecular Microbiology, 1991, 5(5): 1035-1047.
- [36] Manson MD, Blank V, Brade G, et al. Peptide chemotaxis in *E. coli* involves the Tap signal transducer and the dipeptide permease[J]. Nature, 1986, 321(6067): 253-256.
- [37] Zhang WX, Xie BB, Chen XL, et al. Domains III and I-2 α , at the entrance of the binding cleft, play an important role in cold adaptation of the periplasmic dipeptide-binding protein (DppA) from the deep-sea psychrophilic bacterium *Pseudoalteromonas* sp. strain SM9913[J]. Applied and Environmental Microbiology, 2010, 76(13): 4354-4361.
- [38] Daniel H, Spanier B, Kottra G, et al. From bacteria to man: archaic proton-dependent peptide transporters at work[J]. Physiology, 2006, 21: 93-102.
- [39] Paulsen IT, Skurray RA. The POT family of transport proteins[J]. Trends in Biochemical Sciences, 1994, 19(10): 404.
- [40] Hauser M, Kauffman S, Naider F, et al. Substrate preference is altered by mutations in the fifth transmembrane domain of Ptr2p, the di/tri-peptide transporter of *Saccharomyces cerevisiae*[J]. Molecular Membrane Biology, 2005, 22(3): 215-227.
- [41] Yeung AK, Basu SK, Wu SK, et al. Molecular identification of a role for tyrosine 167 in the function of the human intestinal proton-coupled dipeptide transporter (hPepT1)[J]. Biochemical and Biophysical Research Communications, 1998, 250(1): 103-107.

- [42] Weitz D, Harder D, Casagrande F, et al. Functional and structural characterization of a prokaryotic peptide transporter with features similar to mammalian PEPT1[J]. The Journal of Biological Chemistry, 2007, 282(5): 2832-2839.
- [43] Ernst HA, Pham A, Hald H, et al. Ligand binding analyses of the putative peptide transporter YjdL from *E. coli* display a significant selectivity towards dipeptides[J]. Biochemical and Biophysical Research Communications, 2009, 389(1): 112-116.
- [44] Guettou F, Quistgaard EM, Tresaugues L, et al. Structural insights into substrate recognition in proton-dependent oligopeptide transporters[J]. EMBO Reports, 2013, 14(9): 804-810.
- [45] Solcan N, Kwok J, Fowler PW, et al. Alternating access mechanism in the POT family of oligopeptide transporters[J]. The EMBO Journal, 2012, 31(16): 3411-3421.
- [46] Newstead S, Drew D, Cameron AD, et al. Crystal structure of a prokaryotic homologue of the mammalian oligopeptide-proton symporters, PepT1 and PepT2[J]. The EMBO Journal, 2011, 30(2): 417-426.
- [47] Doki S, Kato HE, Solcan N, et al. Structural basis for dynamic mechanism of proton-coupled symport by the peptide transporter POT[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 2013, 110(28): 11343-11348.
- [48] Reddy VS, Shlykov MA, Castillo R, et al. The major facilitator superfamily (MFS) revisited[J]. The FEBS Journal, 2012, 279(11): 2022-2035.

征 稿 简 则

1 刊物简介与栏目设置

《微生物学通报》是由中国科学院微生物研究所和中国微生物学会主办的,以微生物学应用基础研究及技术创新与应用为主的综合性学术期刊。刊登内容包括:工业微生物学、海洋微生物学、环境微生物学、基础微生物学、农业微生物学、食品微生物学、兽医微生物学、药物微生物学、医学微生物学、病毒学、酶工程、发酵工程、代谢工程等领域的最新研究成果,产业化新技术和新进展,以及微生物学教学研究和改革等。设置的栏目有:研究报告、专论与综述、生物实验室、高校教改纵横、名课讲堂、教学与科研成果展示、显微世界、专题专栏、专家论坛、书讯、会讯等。

2 投稿方式

投稿时请登陆我刊主页 <http://journals.im.ac.cn/wwxtbcn>, 点击作者投稿区,第一次投稿请先注册,获得用户名和密码,然后依照提示提交稿件,详见主页“投稿须知”。

作者必须在网站投.doc 格式的电子稿,凡不符合(投稿须知)要求的文稿,本部恕不受理。

3 写作要求

来稿要求论点明确,数据可靠,简明通顺,重点突出。

3.1 图表

文中的图表须清晰简明,文字叙述应避免与图表重复。所有小图的宽度应小于 8 cm (占半栏),大图的宽度应小于 17 cm (通栏)。

3.2 参考文献及脚注

参考文献按文内引用的先后顺序排序编码,未公开发表的资料请勿引用。我刊的参考文献需要注明著者(文献作者不超过 3 人时全部列出,多于 3 人时列出前 3 人,后加“等”或“et al.”,作者姓前、名后,名字之间用逗号隔开)、文献名、刊名、年卷期及页码。国外期刊名必须写完整,不用缩写,不用斜体。参考文献数量不限。

参考文献格式举例:

期刊:[1] 刘杰,成子强,史宣玲. SARS 冠状病毒 *nsp14* 基因的克隆和表达[J]. 微生物学通报, 2007, 34(2): 1-3.

[2] Kajiura H, Mori K, Tobimatsu T, et al. Characterization and mechanism of action of a reactivating factor for adenosylcobalamin-dependent glycerol dehydratase[J]. Journal of Biological Chemistry, 2001, 276(39): 36514-36519.

图书:[3] 钱存柔,黄仪秀. 微生物实验教程[M]. 北京:北京大学出版社, 2000: 4.

[4] 董志扬,张树政,方宣钧,等. 海藻的生物合成及抗逆机理//华珞等. 核农学进展[M]. 北京:中国农业出版社, 1996: 115-120.

脚注(正文首页下方):

基金项目: 基金项目(No.)

*通讯作者: Tel: ; Fax: ; E-mail:

收稿日期: 2014-00-00; 接受日期: 2014-00-00; 优先数字出版日期(www.cnki.net): 2014-00-00

(下转 p.1923)