

鸭疫里默氏杆菌铁离子代谢机制研究进展

杨宇豪^{1,2,3}, 程安春^{1,2,3}, 刘马峰^{*1,2,3}

1 四川农业大学动物医学院禽病防治中心, 四川 成都 611130

2 四川农业大学动物医学院预防兽医研究所, 四川 成都 611130

3 动物疫病与人类健康四川省重点实验室, 四川 成都 611130

杨宇豪, 程安春, 刘马峰. 鸭疫里默氏杆菌铁离子代谢机制研究进展[J]. 微生物学通报, 2022, 49(12): 5359-5366

Yang Yuhao, Cheng Anchun, Liu Mafeng. Research advances on the iron metabolism of *Riemerella anatipestifer*[J]. Microbiology China, 2022, 49(12): 5359-5366

摘要: 铁离子是大多数细菌生存所必需的一种营养物质, 但过多的铁离子会通过芬顿反应产生的活性氧对细菌造成损伤。因此, 细菌通过摄取、调控、螯合、外排等机制维持体内铁离子的稳态。鸭疫里默氏杆菌(*Riemerella anatipestifer*)是一种最新被归类于威克斯菌科里氏杆菌属的革兰氏阴性菌。该菌主要感染禽类, 参与该菌的铁离子代谢基因具有特别之处。本文对鸭疫里默氏杆菌铁离子代谢机制研究进展进行了系统总结和阐述, 包括该菌的 TonB 系统、TonB 依赖性受体、Fur 蛋白及 Dps 蛋白等在铁离子转运、调控、螯合中的功能, 以及以上蛋白在鸭疫里默氏杆菌致病中的作用, 以期更全面地理解鸭疫里默氏杆菌铁代谢机制, 并为进一步深入研究该菌铁离子代谢提供理论依据和参考。

关键词: 鸭疫里默氏杆菌; 铁代谢; 调控

基金项目: 国家自然科学基金(32172851); 四川省科技计划应用基础研究项目(2020YJ0344)

Supported by: National Natural Science Foundation of China (32172851); Applied and Fundamental Research Project of Science and Technology Program in Sichuan Province (2020YJ0344)

*Corresponding author: E-mail: 14049@sicau.edu.cn

Received: 2022-07-04; Accepted: 2022-08-06; Published online: 2022-09-08

Research advances on the iron metabolism of *Riemerella anatipestifer*

YANG Yuhao^{1,2,3}, CHENG Anchun^{1,2,3}, LIU Mafeng^{*1,2,3}

1 Avian Disease Research Center, College of Veterinary Medicine, Sichuan Agricultural University, Chengdu 611130, Sichuan, China

2 Institute of Preventive Veterinary Medicine, College of Veterinary Medicine, Sichuan Agricultural University, Chengdu 611130, Sichuan, China

3 Key Laboratory of Animal Disease and Human Health of Sichuan Province, Chengdu 611130, Sichuan, China

Abstract: Iron is an essential nutrient for the survival of most bacteria. However, excessive iron will cause damage to bacteria through the reactive oxygen species produced by Fenton reaction. Bacteria usually maintain the iron homeostasis via a variety of mechanisms including uptake, regulation, chelation, and efflux. *Riemerella anatipestifer* is a Gram-negative bacterium newly categorized into *Riemerella*, a genus of *Weeksellaceae*. Because *R. anatipestifer* mainly infects poultry, the genes involved in the iron metabolism of this bacterium have unique characteristics. In this review, the research progress of iron metabolism in this bacterium was systematically summarized and elaborated. It includes that the roles of TonB system, TonB-dependent receptors, and Fur and Dps proteins in the import, regulation, and chelation of iron, as well as in the pathogenesis of *R. anatipestifer*. It will provide valuable information for fully understanding the mechanisms of iron homeostasis and for further research of the iron metabolism of *R. anatipestifer*.

Keywords: *Riemerella anatipestifer*; iron metabolism; regulation

铁是几乎所有微生物所必需的一种重要微量元素, 在生物体内有着许多重要的作用, 作为许多酶类的辅基参与呼吸、基因调节、DNA前体合成及抗氧化应激等^[1]。铁在自然界中主要以不溶性化合物的形式存在, 在酸性缺氧的条件下, 如人胃肠道内以二价游离铁的形式存在, 而在哺乳动物体内大多数以血红素的形式存在于血红蛋白、肌红蛋白等血红素结合蛋白中, 其他少数以与蛋白结合的形式存在, 如转铁蛋白、乳铁蛋白^[2]。因此, 细菌通常编码可以从血红素、转铁蛋白、乳铁蛋白等获取铁源的转运系统。然而, 细菌体内过多的铁会通过芬顿反应($\text{Fe}^{2+} + \text{H}_2\text{O}_2 \rightarrow \text{Fe}^{3+} + \text{OH}\cdot$)产生的活性氧损害生物大分子, 如DNA、蛋白质等^[3]。因此, 细菌体内的铁离子含量会通过调控因子来严格控

制。另外, 细菌也会通过编码铁离子结合蛋白如DNA-binding protein from starved cells (Dps), 或通过铁外排泵的方式来减轻游离铁离子引起的芬顿反应^[4]。

鸭疫里默氏杆菌(*Riemerella anatipestifer*, RA)是最新被归类于威克斯菌科(*Weeksellaceae*)里氏杆菌属(*Riemerella*)的革兰氏阴性杆菌^[5], 主要感染鸭、鹅、火鸡等禽类, 对哺乳动物不易感。目前, 鉴定的鸭疫里默氏杆菌至少包含21个血清型, 而且血清型之间无交叉保护作用^[6]。另外, 该菌的临床分离株具有多重耐药的特点^[7], 因此很难通过现有疫苗或药物的方式在短时间内达到根除效果, 目前仍然是威胁我国养鸭业健康发展的主要细菌性病原。细菌铁离子代谢系统已经被用于新型抗生素药物设

计的靶点来研究^[8-10], 而且与细菌的毒力、耐药等息息相关^[11]。

鸭疫里默氏杆菌编码铁离子转运系统、血红素转运系统、铁离子利用调节系统和铁离子螯合系统等, 这些系统相互协调在铁离子稳态中发挥着重要作用^[12]。本文将对参与该菌铁离子稳态的 TonB 系统、TonB 依赖性受体、铁代谢调节因子 Fur 及铁离子结合蛋白 Dps 的功能和作用机制进行了系统阐述, 以期为更深入地研究该菌的铁离子代谢机制提供参考。

1 鸭疫里默氏杆菌 TonB 系统

1.1 革兰氏阴性菌 TonB 系统

在革兰氏阴性菌中, 对大肠杆菌(*Escherichia coli*) TonB 系统的研究较为详细。以大肠杆菌为例, 其 TonB 系统由 TonB、ExbB 和 ExbD 3 个质膜蛋白质组成^[13]。TonB 系统位于质膜, 其中 TonB 蛋白的 N 端在质膜与 ExbB、ExbD 蛋白相联系, C 端跨膜与 TonB 依赖性受体相互作用; ExbB 与 ExbD 由相同的操纵子编码, 其利用质子动力向 TonB 蛋白赋能, 从而将能量传递给 TonB 依赖性受体而参与物质的转运^[14-15]。TonB 系统在革兰氏阴性菌中的数量不等, 如大肠杆菌中有一套 TonB 系统, 鸭疫里默氏杆菌中有 3 套 TonB 系统^[16-17]。TonB 系统都具有 1 个或多个 TonB 依赖性受体与之对应, 这些受体分别转运特定的一个或多个底物^[18-19]。例如, 大肠杆菌中的 1 个 TonB 系统与 8 个 TonB 依赖性受体相互作用, 分别转运不同的营养物质^[20]。

1.2 鸭疫里默氏杆菌 TonB 系统

基因组测序及分析表明, 鸭疫里默氏杆菌编码 3 套独立的 TonB 系统, 分别为 ExbB1-ExbD1-TonB1、ExbB2-ExbD21-ExbD22-TonB2 和单独存在的 TonB3 (TonB family protein, TbfA)^[12]。蛋白同源性分析表明 TonB1 与 TonB2

的一致性约为 10.00%, TonB1 与 TonB3 一致性约为 10.65%, TonB2 与 TonB3 的一致性约为 34.71%^[17], 提示它们各自的功能可能具有特异性。其他革兰氏阴性菌 TonB 序列中“YP”基序与 TonB 依赖性受体的 TonB-box (与 TonB 蛋白相互作用的区域)有密切联系, “SSG”基序则是被认为与外膜受体识别有关, 2 种基序均高度保守^[21], 但 Liao 等在分析了鸭疫里默氏杆菌 ATCC 11845 中 3 个 TonB 蛋白, 均没有保守的“YP”和“SSG”基序^[17], 提示鸭疫里默氏杆菌 TonB 系统与其他部分革兰氏阴性菌 TonB 系统存在不同的作用位点。

为了探讨鸭疫里默氏杆菌中 3 套 TonB 系统的功能, Liao 等分别构建了 *tonB1*、*tonB2* 及 *tonB1tonB2* 基因的缺失株, 检测了单缺和双缺后对血红素和铁离子利用的影响, 结果表明, 在血红素作为必需生长因子的条件下, 与亲本株相比, *tonB1* 缺失株生长缓慢, *tonB2* 缺失株生长更慢, *tonB1*、*tonB2* 双缺失株生长受损更严重, 说明 TonB1 和 TonB2 均参与了血红素的利用过程且 TonB2 更重要; 在血清作为唯一铁源的培养基中, 亲本株和 *tonB1* 缺失株生长良好, 而 *tonB2* 缺失株和 *tonB1tonB2* 双缺失株则不能生长, 说明 TonB2 还参与了铁离子的转运^[17]。此结果在随后的研究中被进一步证明, Zhang 等为判断缺失 *tonB2* 是否影响鸭疫里默氏杆菌对铁离子的利用, 检测了亲本株和 *tonB2* 缺失株对链黑霉素的敏感性(链黑霉素是一种依赖胞内铁离子发挥作用的抗生素, 胞内铁离子浓度越高对链黑霉素越敏感), 结果表明, 与亲本株相比, *tonB2* 缺失株对链黑霉素的敏感性降低, 表明 *tonB2* 缺失株中的铁离子浓度低于亲本株, 缺失 *tonB2* 影响了鸭疫里默氏杆菌对铁的转运效率^[22]。Miao 等同样构建了鸭疫里默氏杆菌 CH-3 株的 *tonB1*、*tonB2* 的缺失株, 在铁限制性

培养基中, *tonB1* 缺失株与 *tonB2* 缺失株生长慢于亲本株且 *tonB2* 缺失株慢于 *tonB1* 缺失株^[23]。此结果同样说明, TonB1 及 TonB2 参与了铁离子的转运且 TonB2 转运效率更高。随后, Liu 等构建了 TonB3 (TbfA) 的低表达株和过表达株, 血红素利用实验表明 TonB3 并未参与血红素的利用^[24]。

在大肠杆菌中, TonB 系统的表达受铁离子调控, 当铁离子浓度较低时, *tonB* 基因的表达上调^[25]。然而, 在鸭疫里默氏杆菌中 3 个 *tonB* 基因均不受铁离子的调控, 且在 *tonB1* 缺失株中, *tonB2* 和 *tonB3* 的表达并未改变, 同理, 在 *tonB2* 缺失株中, *tonB1* 和 *tonB3* 的表达也未改变^[22]。此结果说明, 3 个 TonB 系统之间并不存在相互代偿的作用。

2 鸭疫里默氏杆菌 TonB 依赖性受体

TonB 依赖性受体位于革兰氏阴性菌外膜, 参与细菌摄取利用各种营养物质^[26]。TonB 依赖性受体在结构上高度相似, 它们都由 22 条 β 桶状结构和位于 N 端的球状塞子结构域构成^[27]。其 N 端塞子结构域具有一段保守的 TonB-box 序列与 TonB 蛋白发生相互作用, 但不同外膜受体中的这些 TonB-box 序列不尽相同; 在 TonB 受体不发挥功能时, TonB-box 位于塞子结构域上, 当 TonB 受体结合了底物之后, TonB-box 就会与 TonB 蛋白的 C 端结构域相互作用并引起塞子结构域改变, 从而使底物运输至周质^[28]。

鸭疫里默氏杆菌至少编码 31 个 TonB 依赖性受体, 而这些大多数受体的功能尚不明确。第一个被鉴定的鸭疫里默氏杆菌 TonB 依赖性受体为 TonB-dependent receptor 1 (TbdR1), Lu 等通过在血红素作为唯一铁源培养基中的生长曲线证明了 TbdR1 参与了血红素的利用^[29], 然

而其具体机制未被揭示。随后, Liu 等研究了 RA CH-1 株 TonB 依赖性受体 B739_1208 和 B739_1343 在铁利用过程中的作用, 结果表明, 在铁限制性培养基中, 与亲本株相比, 缺失株出现明显的生长障碍, 说明 TonB 依赖性受体 B739_1208 和 B739_1343 参与了铁离子转运^[30-31], 其具体机制也未被揭示。由于大多数鸭疫里默氏杆菌 TonB 依赖性的受体与已知功能的 TonB 依赖性的受体同源性很低, 无法通过序列比对的方式来推测其功能。因此, Liu 等测定并比对了富铁和限铁条件下鸭疫里默氏杆菌 CH-1 株的转录组, 结果发现, 多个编码 TonB 依赖性受体的基因在铁离子限制性培养基表达上调, 其中包括 1 个 TonB 依赖性的受体基因 B739_1416 和 1 个假定脂蛋白基因 B739_1417^[32]。B739_1416 和 B739_1417 位于同一操纵子, 为了鉴定 B739_1416 和 B739_1417 是否参与铁或血红素转运, Liu 等分别构建了 B739_1416 和 B739_1417 缺失株, 并检测了缺失株对血红素利用的影响; 结果表明, B739_1416 和 B739_1417 均参与了血红素的转运过程; 进一步研究表明, B739_1417 编码 1 种外膜的血红素结合蛋白, 其结合血红素的关键氨基酸位点为 Y144、Y177 和 H149; B739_1416 编码 1 个 TonB 依赖性的血红素受体且依赖 TonB2 复合物而发挥作用; B739_1417 需要借助 B739_1416 而发挥转运血红素的功能, 鉴于 B739_1416 和 B739_1417 在血红素转运中的功能, 分别将其命名为 RhuR (*R. anatipestifer* hemin uptake receptor) 和 RhuA (*R. anatipestifer* hemin uptake protein A)^[33]。

3 鸭疫里默氏杆菌铁摄取调节子 (Fur) 参与了铁转运的调节

Fur 是细菌铁代谢过程中最为重要的调节

因子, 其以 Fe^{2+} 为辅助因子, 通过与 Fe^{2+} 结合形成 Fur-Fe^{2+} 二聚体来调节铁代谢。当胞内铁离子浓度升高时, Fur-Fe^{2+} 二聚体与铁转运相关基因的启动子区域结合, 抑制其表达, 从而减少铁离子的摄入; 当胞内铁离子浓度降低时, Fur 主要以单体的形式存在, 并从铁转运相关基因的启动子区域解离, 促进其表达, 从而增加铁离子的摄入^[34]。 Fur 广泛存在于各种细菌, 蛋白大小多数为 15–17 kDa 且序列具有高度同源性和相似性, 由 N 端的 DNA 结合结构域及 C 端的二聚化结构域组成^[35]。

鸭疫里默氏杆菌 Fur 蛋白与大肠杆菌 Fur 蛋白序列具有 25% 的一致性, 鸭疫里默氏杆菌 Fur 缺失后导致其对链黑霉素的敏感性增加, 说明胞内的铁离子浓度升高; 同样是因为铁离子浓度升高所致, Fur 缺失后导致对 H_2O_2 刺激的氧化应激反应的敏感性增加, 并且胞内的 ROS 含量增加^[36]。转录组测序与分析表明, Fur 缺失后导致大量铁转运相关的基因表达上调^[37]。进一步研究表明, Fur 可以结合其调节基因的启动子区域序列(5'-GATAATGATAATCATTATC-3'), 此序列被称为鸭疫里默氏杆菌的 Fur box 序列^[36-37]。

4 鸭疫里默氏杆菌 Dps 参与了铁解毒

当细菌胞内铁离子浓度升高时, 除抑制铁转运相关基因的表达外, 细菌还可以诱导表达铁结合蛋白, 如 Dps 来整合过多的铁离子, 从而减少芬顿反应的发生^[38]。在大肠杆菌中, Dps 形成一个铁蛋白相似(*ferritin-like*)的球状多聚体结构, 具有结合铁离子和 DNA 的双重功能^[39]。大肠杆菌 Dps 在抵抗氧化应激、酸应激、饥饿应激等多种应激反应中发挥重要的作用^[40]。

Tian 等构建了鸭疫里默氏杆菌 CH-1 dps 基因缺失株及回补株, 并鉴定了在抵抗铁毒性中

的作用; 结果表明, 与亲本株相比, dps 缺失株在稳定期对 H_2O_2 的敏感性增强, 而在对数生长期, 与亲本株相比, 对 H_2O_2 的敏感性未改变, 说明 Dps 主要在稳定期发挥作用; 同样, 鸭疫里默氏杆菌 dps 的表达在稳定期升高, 而且受 H_2O_2 刺激的氧化应激反应调控^[41]。为进一步揭示鸭疫里默氏杆菌 Dps 抗氧化应激反应的机制, Tian 等实验表明, 重组的鸭疫里默氏杆菌 Dps 在体外具有结合 DNA 的能力, 而且能够保护 H_2O_2 对 DNA 引起的损伤^[41]。

5 鸭疫里默氏杆菌铁代谢相关基因参与致病

从宿主中获取铁源是细菌致病的一个重要条件。在感染期间宿主会进一步限制体内游离铁离子的浓度, 这种机制被称为“营养免疫”^[42]。因此, 细菌铁转运系统受损理论上就会导致对宿主的感染力降低。

在鸭疫里默氏杆菌中, TonB 系统、 TonB 依赖性的受体(B739_1208、B739_1314、TbdR1)、 Fur 和 Dps 等缺失后, 均降低了该菌对雏鸭的致病力或定殖力^[29-31,36,41], 其中, 减毒较明显的 B739_1343 和 Fur 缺失株的减毒效率均达到了 10^4 以上, B739_1343 缺失株作为减毒疫苗免疫雏鸭, 对亲本株的保护效率达 83% 以上^[30]。

6 展望

虽然目前对部分革兰氏阴性菌的铁代谢机制相对清楚, 但鸭疫里默氏杆菌铁代谢相关的机制仍不完全清楚。例如, 鸭疫里默氏杆菌是否编码铁外排基因, 鸭疫里默氏杆菌 3 个 TonB 系统与 31 个 TonB 依赖性的受体对应关系是什么, 鸭疫里默氏杆菌的铁离子代谢是否与其多重耐药具有相关性, 以及鸭疫里默氏杆菌的铁

离子代谢与氧化应激又有怎样的联系等问题需要进一步解决。以上问题的解决有助于我们了解该菌从宿主中获取铁等营养物质的作用及调控机制, 从一个新的角度设计新型抗菌药物或减毒疫苗, 为鸭疫里默氏杆菌的有效防控提供借鉴。

REFERENCES

- [1] Nairz M, Schroll A, Sonnweber T, Weiss G. The struggle for iron - a metal at the host-pathogen interface[J]. Cellular Microbiology, 2010, 12(12): 1691-1702
- [2] 李岭, 刘马峰, 程安春. 革兰氏阴性菌血红素载体蛋白 Hemophore 的结构及作用机制[J]. 微生物学通报, 2015, 42(7): 1358-1365
Li L, Liu MF, Cheng AC. Structural and functional reveal of the hemophore in Gram-negative bacteria[J]. Microbiology China, 2015, 42(7): 1358-1365 (in Chinese)
- [3] Bradley JM, Svistunenko DA, Wilson MT, Hemmings AM, Moore GR, Le Brun NE. Bacterial iron detoxification at the molecular level[J]. The Journal of Biological Chemistry, 2020, 295(51): 17602-17623
- [4] Brown JB, Lee MA, Smith AT. Ins and outs: recent advancements in membrane protein-mediated prokaryotic ferrous iron transport[J]. Biochemistry, 2021, 60(44): 3277-3291
- [5] Oren A, Garrity GM. List of new names and new combinations previously effectively, but not validly, published[J]. International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology, 2020, 70(1): 1-5
- [6] 程安春, 汪铭书, 陈孝跃, 朱德康, 黄城, 刘菲, 周毅, 郭宇飞, 刘兆宇, 方鹏飞. 我国鸭疫里默氏杆菌血清型调查及新血清型的发现和病原特性[J]. 中国兽医学报, 2003, 23(4): 320-323
Cheng AC, Wang MS, Chen XY, Zhu DK, Huang C, Liu F, Zhou Y, Guo YF, Liu ZY, Fang PF. Epidemiology and new serotypes of *Riemerella anatipestifer* isolated from ducks in China and studies on their pathogenic characteristics[J]. Chinese Journal of Veterinary, 2003, 23(4): 320-323 (in Chinese)
- [7] 刘马峰, 田琇, 程安春. 鸭疫里默氏杆菌毒力及耐药机制研究进展[J]. 微生物学报, 2019, 59(7): 1222-1231
Liu MF, Tian X, Cheng AC. Research advances in the virulence and antibiotics resistance mechanism of *Riemerella anatipestifer*[J]. Acta Microbiologica Sinica, 2019, 59(7): 1222-1231 (in Chinese)
- [8] Gonciarz RL, Collisson EA, Renslo AR. Ferrous iron-dependent pharmacology[J]. Trends in Pharmacological Sciences, 2021, 42(1): 7-18
- [9] Klebba PE, Newton SMC, Six DA, Kumar A, Yang TH, Nairn BL, Munger C, Chakravorty S. Iron acquisition systems of gram-negative bacterial pathogens define TonB-dependent pathways to novel antibiotics[J]. Chemical Reviews, 2021, 121(9): 5193-5239
- [10] Shin M, Jin Y, Park J, Mun D, Kim SR, Payne SM, Kim KH, Kim Y. Characterization of an antibacterial agent targeting ferrous iron transport protein FeoB against *Staphylococcus aureus* and Gram-positive bacteria[J]. ACS Chemical Biology, 2021, 16(1): 136-149
- [11] Ezraty B, Barras F. The 'liaisons dangereuses' between iron and antibiotics[J]. FEMS Microbiology Reviews, 2016, 40(3): 418-435
- [12] Wang XJ, Liu WB, Zhu DK, Yang LF, Liu MF, Yin SJ, Wang MS, Jia RY, Chen S, Sun KF, et al. Comparative genomics of *Riemerella anatipestifer* reveals genetic diversity[J]. BMC Genomics, 2014, 15(1): 479
- [13] Celia H, Botos I, Ni XD, Fox T, De Val N, Lloubes R, Jiang JS, Buchanan SK. Cryo-EM structure of the bacterial Ton motor sub complex ExbB-ExbD provides information on structure and stoichiometry[J]. Communications Biology, 2019, 2: 358
- [14] Sverzhinsky A, Chung JW, Deme JC, Fabre L, Levey KT, Plesa M, Carter DM, Lypaczewski P, Coulton JW. Membrane protein complex ExbB4-ExbD1-TonB1 from *Escherichia coli* demonstrates conformational plasticity[J]. Journal of Bacteriology, 2015, 197(11): 1873-1885
- [15] 岳慧贤, 程安春, 刘马峰. 革兰氏阴性菌 TonB-ExbB-ExbD 复合物的功能、作用机制、分布及进化[J]. 中国生物化学与分子生物学报, 2019, 35(2): 146-155
Yue HX, Cheng AC, Liu MF. Functions, mechanisms, distributions and evolution of the TonB-ExbB-ExbD complex of Gram-negative bacteria[J]. Chinese Journal of Biochemistry and Molecular Biology, 2019, 35(2): 146-155 (in Chinese)
- [16] 廖何斌, 刘马峰, 程安春. 部分革兰氏阴性菌 TonB 蛋白的结构特点及作用机制[J]. 微生物学报, 2015, 55(5): 529-536
Liao HB, Liu MF, Cheng AC. Structural features and

- functional mechanism of TonB in some Gram-negative bacteria—a review[J]. *Acta Microbiologica Sinica*, 2015, 55(5): 529-536 (in Chinese)
- [17] Liao HB, Cheng XJ, Zhu DK, Wang MS, Jia RY, Chen S, Chen XY, Biville F, Liu MF, Cheng AC. TonB energy transduction systems of *Riemerella anatipestifer* are required for iron and hemin utilization[J]. *PLoS One*, 2015, 10(5): e0127506
- [18] Schauer K, Rodionov DA, de Reuse H. New substrates for TonB-dependent transport: do we only see the ‘tip of the iceberg’? [J]. *Trends in Biochemical Sciences*, 2008, 33(7): 330-338
- [19] Gresock MG, Kastead KA, Postle K. From homodimer to heterodimer and back: elucidating the TonB energy transduction cycle[J]. *Journal of Bacteriology*, 2015, 197(21): 3433-3445
- [20] Lohmiller S, Hantke K, Patzer SI, Braun V. TonB-dependent maltose transport by *Caulobacter crescentus*[J]. *Microbiology: Reading, England*, 2008, 154(Pt 6): 1748-1754
- [21] Chu BCH, Peacock RS, Vogel HJ. Bioinformatic analysis of the TonB protein family[J]. *Biometals: an International Journal on the Role of Metal Ions in Biology, Biochemistry, and Medicine*, 2007, 20(3/4): 467-483
- [22] Zhang L, Huang L, Huang M, Wang MY, Zhu DK, Wang MS, Jia RY, Chen S, Zhao XX, Yang Q, et al. Effect of nutritional determinants and TonB on the natural transformation of *Riemerella anatipestifer*[J]. *Frontiers in Microbiology*, 2021, 12: 644868
- [23] Miao S, Xing LL, Qi JJ, Yu H, Jiang P, Sun BQ, Cui JS, Ou CC, Hu QH. Roles of the TonB1 and TonB2 proteins in haemin iron acquisition and virulence in *Riemerella anatipestifer*[J]. *Microbiology*, 2015, 161(8): 1592-1599
- [24] Liu MF, Wang MY, Zhu DK, Wang MS, Jia RY, Chen S, Sun KF, Yang Q, Wu Y, Chen XY, et al. Investigation of TbfA in *Riemerella anatipestifer* using plasmid-based methods for gene over-expression and knockdown[J]. *Scientific Reports*, 2016, 6: 37159
- [25] Postle K. Aerobic regulation of the *Escherichia coli tonB* gene by changes in iron availability and the *fur* locus[J]. *Journal of Bacteriology*, 1990, 172(5): 2287-2293
- [26] Samantarai D, Lakshman Sagar A, Gudla R, Siddavattam D. TonB-dependent transporters in sphingomonads: unraveling their distribution and function in environmental adaptation[J]. *Microorganisms*, 2020, 8(3): 359
- [27] 王娅玲, 程安春, 刘马峰. 革兰氏阴性菌 TonB 依赖性受体的功能与结构研究进展[J]. *中国生物工程杂志*, 2022, 42(4): 93-101
- Wang YL, Cheng AC, Liu MF. A review on structure and functions of TonB-dependent receptors in gram-negative bacteria[J]. *China Biotechnology*, 2022, 42(4): 93-101 (in Chinese)
- [28] Hickman SJ, Cooper REM, Bellucci L, Paci E, Brockwell DJ. Gating of TonB-dependent transporters by substrate-specific forced remodelling[J]. *Nature Communications*, 2017, 8: 14804
- [29] Lu FY, Miao S, Tu J, Ni XT, Xing LL, Yu H, Pan L, Hu QH. The role of TonB-dependent receptor TbdR1 in *Riemerella anatipestifer* in iron acquisition and virulence[J]. *Veterinary Microbiology*, 2013, 167(3/4): 713-718
- [30] Liu MF, Huang M, Shui Y, Biville F, Zhu DK, Wang MS, Jia RY, Chen S, Sun KF, Zhao XX, et al. Roles of B739_1343 in iron acquisition and pathogenesis in *Riemerella anatipestifer* CH-1 and evaluation of the RA-CH-1ΔB739_1343 mutant as an attenuated vaccine[J]. *PLoS One*, 2018, 13(5): e0197310
- [31] Wang MY, Zhang PY, Zhu DK, Wang MS, Jia RY, Chen S, Sun KF, Yang Q, Wu Y, Chen XY, et al. Identification of the ferric iron utilization gene B739_1208 and its role in the virulence of *R. anatipestifer* CH-1[J]. *Veterinary Microbiology*, 2017, 201: 162-169
- [32] Liu MF, Huang M, Zhu DK, Wang MS, Jia RY, Chen S, Sun KF, Yang Q, Wu Y, Biville F, et al. Identifying the genes responsible for iron-limited condition in *Riemerella anatipestifer* CH-1 through RNA-seq-based analysis[J]. *BioMed Research International*, 2017, 2017: 8682057
- [33] Liu MF, Liu SQ, Huang M, Wang YL, Wang MY, Tian X, Li L, Yang ZS, Wang MS, Zhu DK, et al. An exposed outer membrane hemin-binding protein facilitates hemin transport by a TonB-dependent receptor in *Riemerella anatipestifer*[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2021, 87(15): e0036721
- [34] Sevilla E, Bes MT, Peleato ML, Fillat MF. Fur-like proteins: beyond the ferric uptake regulator (Fur) paralog[J]. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 2021, 701: 108770
- [35] 刘珈均, 程安春, 刘马峰. 铁摄取调节子在细菌铁离

- 子代谢中的调节及其机制[J]. 中国生物化学与分子生物学报, 2018, 34(6): 595-603
- Liu JJ, Cheng AC, Liu MF. Regulation and mechanisms of the ferric uptake regulator (Fur) in the bacterial iron metabolism[J]. Chinese Journal of Biochemistry and Molecular Biology, 2018, 34(6): 595-603 (in Chinese)
- [36] Huang M, Liu MF, Liu JJ, Zhu DK, Tang QY, Jia RY, Chen S, Zhao XX, Yang Q, Wu Y, et al. Functional characterization of Fur in iron metabolism, oxidative stress resistance and virulence of *Riemerella anatipestifer*[J]. Veterinary Research, 2021, 52(1): 48
- [37] Guo YQ, Hu D, Guo J, Li XW, Guo JY, Wang XL, Xiao YC, Jin H, Liu M, Li ZL, et al. The role of the regulator fur in gene regulation and virulence of *Riemerella anatipestifer* assessed using an unmarked gene deletion system[J]. Frontiers in Cellular and Infection Microbiology, 2017, 7: 382
- [38] Chesnokov Y, Mozhaev A, Kamyshinsky R, Gordienko A, Dadinova L. Structural insights into iron ions accumulation in Dps nanocage[J]. International Journal of Molecular Sciences, 2022, 23(10): 5313
- [39] Karas VO, Westerlaken I, Meyer AS. The DNA-binding protein from starved cells (Dps) utilizes dual functions to defend cells against multiple stresses[J]. Journal of Bacteriology, 2015, 197(19): 3206-3215
- [40] Chiancone E, Ceci P. The multifaceted capacity of Dps proteins to combat bacterial stress conditions: detoxification of iron and hydrogen peroxide and DNA binding[J]. Biochimica et Biophysica Acta, 2010, 1800(8): 798-805
- [41] Tian X, Huang L, Wang MS, Biville F, Zhu DK, Jia RY, Chen S, Zhao XX, Yang Q, Wu Y, et al. The functional identification of Dps in oxidative stress resistance and virulence of *Riemerella anatipestifer* CH-1 using a new unmarked gene deletion strategy[J]. Veterinary Microbiology, 2020, 247: 108730
- [42] Nairz M, Weiss G. Iron in infection and immunity[J]. Molecular Aspects of Medicine, 2020, 75: 100864