

微生物学报 *Acta Microbiologica Sinica*  
54(6):608-615; 4 June 2014  
ISSN 0001-6209; CN 11-1995/Q  
<http://journals.im.ac.cn/actamicrocn>  
doi: 10.13343/j.cnki.wsxb.2014.06.002

## 结核分枝杆菌 ABC 转运蛋白与物质的跨膜转运

徐志弘, 周爱萍, 姚玉峰\*

上海交通大学医学院基础医学院病原生物学教研室, 上海 200025

**摘要:** 结核分枝杆菌作为一种胞内寄生菌, 主要存在于巨噬细胞吞噬体内, 并且通过与宿主细胞竞争摄取营养物质、主动排出有毒物质来维持生存。因此, 参与上述过程的 ABC 转运蛋白在结核分枝杆菌的致病中发挥着举足轻重的作用。已有报道结核分枝杆菌基因组编码了 38 个 ABC 转运蛋白。这类蛋白质有着广泛的底物结合谱, 参与了无机离子、糖类、氨基酸、寡肽、药物等多种物质的跨膜转运。本文将对结核分枝杆菌编码的 ABC 转运蛋白超家族中的不同成员及其底物特异性、转运机制以及与毒力的关系的研究进展进行综述。

**关键词:** 结核分枝杆菌, ABC 转运蛋白, 底物特异性, 转运机制, 致病力

**中图分类号:** Q93      **文章编号:** 0001-6209(2014)06-0608-08

如今, 结核病依旧为感染性疾病致死的第二大病因, 仅次于艾滋病。WHO 2012 年全球结核病报告的统计结果显示, 2011 年全球范围内仍有约 900 万结核病新发病例, 140 万死亡病例。并且发展中国家的疫情尤为严重。我国与印度总计占据了全球总病例数的 40%。此外, 耐药结核分枝杆菌的出现以及艾滋病在世界范围内的传播, 也为结核病的蔓延推波助澜。因此, 了解结核分枝杆菌的生存与致病机理, 并以此开发更有效的治疗药物来控制结核病显得尤为迫切。

作为一种胞内寄生菌, 结核分枝杆菌感染人体后主要存在于巨噬细胞吞噬体内。为求生存, 结核分枝杆菌需要抵抗多种来自宿主细胞的攻击。比如, 巨噬细胞通过产生多种杀菌物质, 如活性氧、活性氮、抗菌肽等<sup>[1]</sup>, 在吞噬体内形成不利于细菌生

长的微环境; 另一方面巨噬细胞与侵入的细菌争夺重要的营养成分, 借此来抑制细菌的生长<sup>[2]</sup>。由此可见, 排出宿主细胞产生的有毒物质、与宿主细胞竞争摄取营养物质对结核分枝杆菌在体内生存及致病具有极其重要的作用。

结核分枝杆菌为革兰阳性杆菌。然而与其他革兰阳性菌不同的是, 结核分枝杆菌细胞壁富含脂质和分枝菌酸, 使之成为了除细胞膜外的又一道通透屏障, 其作用类似于革兰阴性菌的细胞外膜。因此, 各种亲水物质, 无论是营养物质的摄取还是有毒物质的排出都需要跨越细胞壁与细胞膜这两道通透屏障。现已知各种亲水物质能借由孔蛋白形成的含水通道穿越细胞壁<sup>[3]</sup>。但是由于细胞膜的存在, 已通过细胞壁的亲水物质仍无法自由地进入细胞内, 反之亦然。已有研究表明, 结核分枝杆菌能通过多种

**基金项目:** 国家自然科学基金(31070114); 国家“973 项目”——国家重点基础研究发展计划(2009CB522605)

\* 通信作者。Tel/Fax: +86-21-64671226; E-mail: yfyao@sjtu.edu.cn

**作者简介:** 徐志弘(1986-), 男, 上海人, 硕士研究生, 研究方向为 ABC 转运蛋白转运机制。E-mail: xuzhihong2011@sjtu.edu.cn

**收稿日期:** 2013-08-01; **修回日期:** 2014-01-21

转运系统完成物质的跨膜转运,种类繁多的蛋白质家族也陆续得以发现。比如,结核分枝杆菌编码 5 个蛋白质家族参与药物向细胞外的转运从而介导细菌的耐药<sup>[4]</sup>。它们分别为 ABC 转运蛋白超家族 (ATP-binding cassette superfamily)、MFS 超家族 (Major facilitator superfamily)、SMR 家族 (Small multidrug resistance family)、RND 家族 (Resistance-nodulation-cell division family) 以及 MATE 家族 (Multidrug and toxic compounds extrusion family)。其中,ABC 转运蛋白超家族与 MFS 超家族中的其他成员还参与了结核分枝杆菌对各种营养物质的摄取过程<sup>[5]</sup>。此外,结核分枝杆菌还可通过 Sec (General secretion pathway)、Tat (Twin-arginine translocation pathway) 以及 ESX (Early secretory antigenic target 6 system) 等分泌途径主动向细胞外分泌效应蛋白介导细菌的致病<sup>[6]</sup>。在上述转运机制当中,ABC 转运蛋白超家族因其巨大的数量、古老的起源以及广泛的生理功能显示出它在结核分枝杆菌生长与致病过程发挥着举足轻重的作用。因此,本文将对结核分枝杆菌编码的 ABC 转运蛋白超家族中的不同成员及其底物特异性、转运机制以及与毒力的关系的研究进展进行综述。

## 1 ABC 转运蛋白超家族

各种生物的细胞膜上存在着的一类与物质转运相关的蛋白质。它们有着广泛的底物结合谱,比如无机离子、糖类、氨基酸、寡肽、药物等,在营养的摄取、有毒物质的排出等细胞生命活动中具有不可替代的作用。这类蛋白质通过结合、水解 ATP 提供物质转运所需的能量,因此称为 ABC 转运蛋白 (ATP-binding cassette transporter)<sup>[7]</sup>。ABC 转运蛋白通常包含 2 个疏水跨膜结构域 (Transmembrane domain, TMD) 与 2 个亲水核苷酸结合结构域 (Nucleotide-binding domain, NBD)。每个 TMD 由 4-8 个 (通常为 6 个)  $\alpha$  螺旋构成底物转运的通道。其氨基酸序列缺乏保守性,但含有某些特征性序列,比如 EAA 环。NBD 结合并水解 ATP 用以提供转运所需的能量。其氨基酸序列高度保守,并含有诸如 Walker A、Walker B 等特征性序列。TMD 和 NBD 可以由不同的蛋白亚单位组成,也可以融合蛋白的形式出现<sup>[8]</sup>。

根据底物转运方向的不同可以将 ABC 转运蛋白超家族分为两类:内向转运系统与外向转运系统。两者在结构与功能上均有所区别。内向转运系统除了含有保守的 TMD 与 NBD 核心序列之外尚包含一个独特且重要的底物结合蛋白 (Substrate-binding protein, SBP)。该蛋白既可被分泌至细胞外,也可锚定于细胞表面。底物结合蛋白决定底物特异性,与之结合后进而通过细胞膜上的转运蛋白组分完成物质的跨膜转运<sup>[9]</sup>。内向转运系统的底物往往为各种细菌生长所需的营养物质,比如糖类、磷酸盐、无机离子等。相比于内向转运系统,外向转运系统的结构则更简单,它不含单独存在的底物结合蛋白。具有 TMD 与 NBD 的同源或异源二聚体即可构成有功能的转运系统<sup>[9]</sup>。已发现的底物则主要为各种抗菌药物。除此之外,ABC 转运蛋白尚可包含其他附属结构域,如调节、催化结构域等<sup>[9]</sup>。通过对各结构域特征性氨基酸序列进行比对分析,有研究者发现结核分枝杆菌基因组共编码了 38 个 ABC 转运蛋白,分属于九个亚类,与结核分枝杆菌的毒力密切相关<sup>[8]</sup>。本文列举了一些已报道的重要 ABC 转运蛋白,具体见图 1。

## 2 物质的内向转运

### 2.1 无机离子的摄取

结核分枝杆菌在宿主环境中的存活,例如巨噬细胞内的生存,取决于其摄取重要营养物质的能力。其中,铁作为多种氧化还原酶的辅酶,在细菌的生长代谢过程中起着尤为重要的作用。研究表明缺乏铁摄取来源的结核分枝杆菌在体外和巨噬细胞内的生长均受到影响,抵抗氧化应激的能力也有所减弱<sup>[10]</sup>。由此可见,铁的摄取与结核分枝杆菌的存活和毒力密切相关。截至目前人们已在结核分枝杆菌中发现了 2 条由 ABC 转运蛋白介导的摄铁通路,分别摄取宿主体内的非血红素铁以及血红素铁。

对于前者,结核分枝杆菌通过分泌具有高亲和力的铁载体 (Siderophore),称为分枝菌素 (Mycobactin),同环境中或宿主体内的转铁蛋白、乳铁蛋白等铁结合蛋白竞争结合铁,进而通过细胞膜上相关的 ABC 转运蛋白来完成摄取<sup>[11]</sup>。现已鉴定出 3 个蛋白参与了上述转运过程。其中,IrtB 与 Rv2895c 协同将含铁的分枝菌素向胞内转运来完成

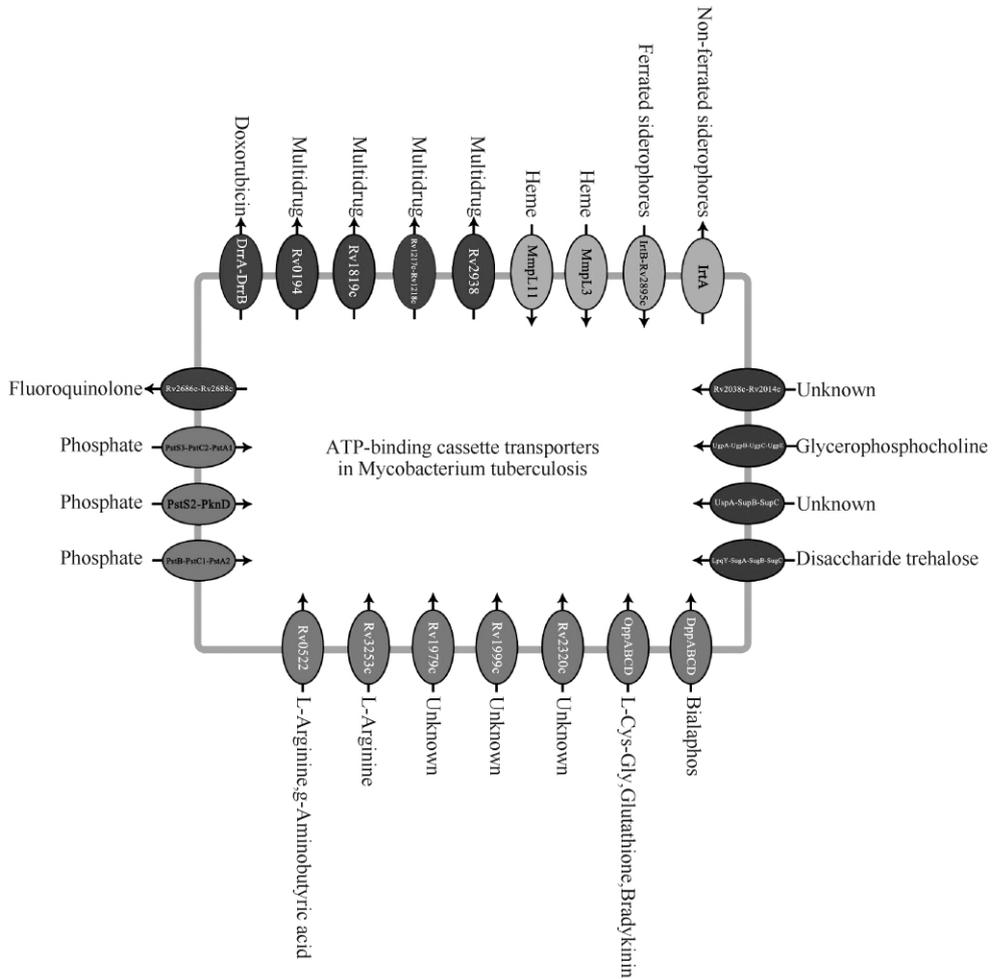


图 1. 已报道的结核分枝杆菌 ABC 转运蛋白根据底物特异性进行的分类

Figure 1. Classification of reported ATP-binding cassette transporters in *Mycobacterium tuberculosis* by substrate specificity.

摄取,同时 IrtA 则负责将不含铁的分枝菌素向胞外转运以维持摄取<sup>[12]</sup>。这一发现加深了人们对分枝菌素参与的摄铁途径的认识,同时还发现了其中重要的底物结合蛋白,即分枝菌素的分泌也可由 ABC 转运蛋白介导。而后者也是自上述摄铁途径发现以来始终悬而未决的疑问。结合近期报道的另 2 个分枝菌素分泌途径<sup>[13]</sup>,显示出分枝菌素分泌机制的多样性与重要性,也提示了分枝菌素介导的摄铁途径对结核分枝杆菌的生存具有重大意义,这无疑将为抗结核药物靶点的探寻提供有力的理论依据。

曾有研究显示分枝菌素合成通路受阻的卡介苗突变株依旧能在重症联合免疫缺陷小鼠 (Severe combined immunodeficiency disease, SCID) 体内缓慢生长,这提示了结核分枝杆菌可能拥有其他摄铁途径<sup>[14]</sup>。最近即有研究证实了上述推测。结果表明

结核分枝杆菌能够利用血红素作为摄铁来源<sup>[15]</sup>,与之相关的基因簇也已鉴定<sup>[16]</sup>。与前述摄铁途径类似,结核分枝杆菌利用分泌至胞外的底物结合蛋白 Rv0203 捕获宿主体内游离的或与血红蛋白结合的血红素,然后通过细胞膜上的转运蛋白 Rv0202c/MmpL11 和 Rv0206c/MmpL3 完成血红素的跨膜转运<sup>[17]</sup>。此外,胞内血红素降解酶 MhuD 的发现也为该摄取途径的存在提供了有力的证据<sup>[18]</sup>。

## 2.2 含氮物质的摄取

许多细菌能把氨基酸作为氮源参与能量代谢及生物合成。结核分枝杆菌基因组中即预测出 5 个基因与氨基酸转运相关<sup>[19]</sup>。而目前人们仅对其中之一有了初步的认识。氨基酸序列比对的结果显示 rv0522 与枯草芽孢杆菌的 L-精氨酸转运蛋白 rocE、 $\gamma$ -氨基丁酸转运蛋白 gabP 以及大肠杆菌的 gabP 均

有不同程度的同源性。同位素示踪也证实 Rv0522 参与了卡介苗对 L-精氨酸与  $\gamma$ -氨基丁酸 ( $\gamma$ -Aminobutyric acid, GABA) 两者的摄取。然而值得注意的是, 经过碳源、氮源同时饥饿处理的 *rv0522* 敲除株显示出了比野生株更强的摄取 L-精氨酸的能力, 这一现象提示卡介苗可能拥有其他摄取途径, 并且能在特定条件下得到激活<sup>[20]</sup>, 而这是否与另一个枯草芽孢杆菌 *rocE* 的同源基因 *rv2320c* 有关则可以通过检测 *rv0522* 和 *rv2320c* 双敲除株对 L-精氨酸的摄取来得到验证。除此之外, 不同摄取途径之间的调节机制也是亟待解决的疑问。

除氨基酸外, 肽类物质也是结核分枝杆菌摄取的重要营养物质之一。人们已在其基因组中预测出 2 个基因簇 *dpp* (*rv3666c-rv3663c*) 与 *opp* (*rv1283c-rv1280c*), 所编码的蛋白质与其他种类细菌的二肽、寡肽转运蛋白同源<sup>[19]</sup>。已有研究结果使人们对上述 2 个转运蛋白的底物选择性有了一定的认识。首先, Opp 转运蛋白的底物谱较为广泛。研究表明 *opp* 敲除株不仅对毒性谷胱甘肽 ( $\gamma$ -Glutamyl-L-cysteinyglycine, GSH) 的耐受能力增强, 并且还能抵抗 L-Cys-Gly 的毒性作用, 这提示其与二肽、三肽转运的相关性<sup>[21]</sup>。此外, 另有报道其底物结合蛋白 OppA 与谷胱甘肽、缓激肽均有较高的亲和力也显示出 Opp 转运蛋白在一定程度上对底物的氨基酸序列长度缺乏选择性<sup>[22]</sup>。但是 *opp* 敲除株对同为三肽的双丙氨酸依旧敏感则提示该转运蛋白可能对底物结构的选择具有特异性<sup>[23]</sup>。与 Opp 转运蛋白相反的是, 已有的研究显示 Dpp 转运蛋白对底物的选择则比较专一。Flores-Valdez 等人发现 *dpp* 敲除株能够抵抗双丙氨酸的毒性<sup>[23]</sup>, 提示其更类似于三肽转运蛋白, 而非预测的二肽转运蛋白。但是鉴于相关报道数量上的欠缺, 仍需要更多的研究以探索和明确 Dpp 转运蛋白的底物选择性。

### 2.3 磷酸盐的摄取

磷酸盐作为细菌摄取磷的来源, 是其生存、生长不可或缺的物质。它不仅参与了关键的能量代谢, 也为核苷酸、磷脂的合成提供原料, 并且在其他许多代谢途径中亦发挥着重要的作用。然而, 巨噬细胞吞噬体内是一个磷酸盐匮乏的环境。因此, 利用各种机制对抗这一不利的生存环境, 对于结核分枝杆菌在免疫细胞内的存活及其在宿主体内的持续感染至关重要。目前为止, 已在结核分枝杆菌中发现了

3 个相邻的可能编码磷酸盐转运蛋白的基因簇。这些蛋白的氨基酸序列与大肠杆菌 Pst 系统中的相应蛋白同源<sup>[24-26]</sup>。有研究表明结核分枝杆菌的 PstS1 与大肠杆菌的 PstS 拥有近似的磷酸盐结合能力<sup>[27-28]</sup>。最近, Braibant 等人又发现 PstS1 与 PstS2 仅在环境中磷酸盐浓度较低时发挥作用, 而在高浓度的磷酸盐环境中则不影响细菌对磷酸盐的摄取<sup>[29]</sup>。然而, 通过检测磷酸盐饥饿条件下结核分枝杆菌表达谱的变化, Rifat 等人却发现在已知的 3 个编码磷酸盐转运蛋白的基因簇中, 只有基因簇 *pstS3-pstC2-pstA1* 的表达出现了显著地上调, 并且其表达水平的变化受到了双组分调节系统 SenX3-RegX3 的调控<sup>[30]</sup>。由此可见, 结核分枝杆菌 3 个磷酸盐摄取系统在体内受到了严密的调控。上述结果的差异也表明在低磷酸盐环境与无磷酸盐环境中其调控机制存在差异。

### 2.4 糖类的摄取

已有多方面的证据表明结核分枝杆菌在感染过程中能以宿主细胞的脂肪酸作为碳与能量的来源<sup>[31]</sup>。另外, 也有研究显示糖异生作用不仅是结核分枝杆菌利用脂肪酸所必须, 而且对于细菌在巨噬细胞内的存活以及小鼠体内的急慢性感染中均发挥着无可替代的作用<sup>[32]</sup>。上述现象提示在宿主体内生存的结核分枝杆菌所能摄取的糖类物质十分有限。因此, 与缺乏底物存在的情况相符的是, 结核分枝杆菌基因组中编码的 38 个 ABC 转运蛋白中仅有 4 个被预测为糖类物质的转运蛋白<sup>[8]</sup>。其中 *lpgY-sugBC* 以及 *uspABC* 基因簇在结核分枝杆菌和耻垢分枝杆菌中高度保守。加之另 2 个 *ugpABCE*、*rv2038c-rv2041c* 基因簇, 结核分枝杆菌所拥有的 4 个与糖类转运相关的 ABC 转运蛋白均与分枝杆菌属以外的蛋白缺乏同源性<sup>[5]</sup>。虽然这给人们研究其底物与功能带来了一定的困难, 但依旧有部分转运蛋白的功能得到了阐明。

首先, Kalscheuer 等人发现 LpqY-SugABC 参与了海藻双糖向细胞内的转运, 后者是结核分枝杆菌合成分枝菌酸过程中向细胞外释放的副产物。这意味着该转运蛋白在体内作为海藻双糖的回收系统而起作用, 并非参与营养物质的摄取。这一系统有助于结核分枝杆菌充分利用巨噬细胞内有限的营养物质来源维持细胞壁的合成。干扰此系统能够显著延长急性感染 SCID 小鼠的存活时间, 证明它与结核

分枝杆菌的毒力有关<sup>[33]</sup>。另一个转运蛋白 UgpABCE 的底物最近也得以发现。其中,底物结合蛋白 UgpB 的晶体结构由 Jiang 等人进行了解析。在与大肠杆菌 UgpB 的结构比较时他们发现,大肠杆菌 UgpB 中与底物结合密切相关的 169 位的色氨酸在结核分枝杆菌中替换成了 205 位的亮氨酸。底物结合活性的检测结果也印证了上述结构上的差异,结核分枝杆菌 UgpB 能与甘油磷酸胆碱 (Glycerophosphocholine, GPC) 特异地结合,而不是大肠杆菌 UgpB 的底物 3-磷酸甘油 (*sn*-Glycerol-3-phosphate, G3P)<sup>[34]</sup>。此外,有报道 UgpB 被鉴定为结核分枝杆菌重要的疫苗候选<sup>[35]</sup>,那么 Jiang 等人的工作无疑将因有助于新型疫苗和治疗药物的开发而意义重大。

### 3 物质的外向转运

除了竞争摄取有限的营养成分,主动地排出胞内积聚的有毒物质也是结核分枝杆菌在宿主体内重要的生存策略。比如,感染激活的巨噬细胞吞噬体内存在锌、铜等重金属离子的富集<sup>[36]</sup>,而结核分枝杆菌基因组中也预测出了 12 个可能的重金属离子外排系统<sup>[19]</sup>。然而已有研究结果显示,结核分枝杆菌中与重金属离子外排相关的转运系统并非归类于 ABC 转运蛋白超家族,而属于另一类转运蛋白家族。该家族成员以底物转运与自身磷酸化相偶联为特征,其拓扑结构与转运机制均有别于 ABC 转运蛋白,称为 P 型 ATP 酶 (P-type ATPase)。它们在体内参与了诸如解毒、维持渗透压等多种重要的生理过程<sup>[37]</sup>。而 ABC 转运蛋白是否同样参与上述过程则有待研究的证实。

尽管重金属离子外排与 ABC 转运蛋白之间尚无定论,但是其与结核分枝杆菌多重耐药的关系已得到确认<sup>[38]</sup>。通过氨基酸序列比对,人们发现结核分枝杆菌基因组编码了至少 10 个可能与药物外排有关的 ABC 转运蛋白<sup>[8]</sup>。其中,部分蛋白的功能已得到不同程度地阐明。例如,人们在结核分枝杆菌基因组中发现了与波赛链霉菌同源的阿霉素抗性相关操纵子 *drr*<sup>[19]</sup>。干扰该操纵子的结核分枝杆菌在小鼠肺内的生长受到了明显的抑制,提示其与毒力有关<sup>[39]</sup>。体内外实验的结果也证实 DrrAB 共同组成了一个阿霉素外向转运蛋白,其 ATP 结合能力受

到阿霉素或柔毛霉素的正调控,并且针对不同种类的抗菌药物表现出了广泛的结合特异性<sup>[40]</sup>。此外,另一个得到确认的是 Rv0194。Danilchanka 等人在卡介苗转座子插入突变库中筛选出基因 *bcg0231* 所编码的蛋白质与细菌的氨基西林、链霉素、氯霉素抗性密切相关,而该基因在结核分枝杆菌中的同源基因即为 *rv0194*。在耻垢分枝杆菌中表达 Rv0194 也能增加细菌对多种抗菌药物的耐受能力<sup>[38]</sup>。除此之外,近年来有越来越多的 ABC 转运蛋白被人们发现与结核分枝杆菌的耐药性有关<sup>[41-42]</sup>。

虽然药物外排系统的陆续发现为人们解决结核分枝杆菌多重耐药问题提供了有力的理论依据,但是已知的药物外排系统均具有底物谱广泛的特点,这无疑会成为治疗的一大难点。同时这方面的研究仍存在诸多不足也为攻克这一难题带来不小的困难。比如,多数药物外排系统的发现仍停留于生物信息学的预测,尚未得到实验的验证,结论的可靠性值得商榷。这一点在我们实验室对 *rv1271c* 和 *rv1273c* 的研究上得到了很好的印证。已有文献报道通过氨基酸序列比对的方法将 *rv1271c* 和 *rv1273c* 这一异源二聚体归类于药物外排相关的 ABC 转运蛋白<sup>[8]</sup>。而我们的实验结果则提示它是内向转运系统,可能与营养物质的摄取有关(未发表的数据)。此外,对转运机制的研究不够深入。无论是 DrrAB 亦或是 Rv0194,都未能深入到具体转运机制层面的研究,而仅仅证明其与耐药的相关性是远远不够的。若能对其底物结合的关键位点、转运蛋白的结构、转运的酶学特征等进行详尽的描述将会对药物设计开发工作产生不可忽视的指导意义。

### 4 结语

结核分枝杆菌在宿主体内环境中的生存始终面临着各种营养物质的匮乏以及有害物质积聚的局面。而细胞膜在有效地隔离细胞外的有害物质、保护自身免受危害的同时,也成为了细菌摄取营养物质、排出有毒物质的障碍。因此,结核分枝杆菌内膜上的 ABC 转运蛋白介导的物质跨膜转运对其生存与致病尤为重要。利用此类转运蛋白,结核分枝杆菌能同宿主竞争摄取铁离子、磷酸盐以抵抗营养物质匮乏的生存环境;还参与了自身细胞壁代谢副产物的回收;亦能够主动地排出多种抗菌药物来介导

细菌的耐药。虽然人们已经认识到 ABC 转运蛋白在结核分枝杆菌中发挥着重要的生理功能,同时也影响其致病力的强弱。比如在介导结核分枝杆菌耐药中具有重要的意义与地位,它们也许能成为新的药物靶点,那么深入探究其转运机制最终将会给结核病的治疗带来重大的突破。因此,更全面地鉴定与探究结核分枝杆菌 ABC 转运蛋白家族的新成员将不仅有助于加深人们对这一古老致病菌的认识,而且有助于人类攻克这一危害多年的顽疾。

## 参考文献

- [1] Plüddemann A, Mukhopadhyay S, Gordon S. Innate immunity to intracellular pathogens: macrophage receptors and responses to microbial entry. *Immunological Reviews*, 2011, 240 (1) : 11-24.
- [2] Rodriguez GM, Smith I. Identification of an ABC transporter required for iron acquisition and virulence in *Mycobacterium tuberculosis*. *Journal of Bacteriology*, 2006, 188 (2) : 424-430.
- [3] Nikaido H. Molecular basis of bacterial outer membrane permeability revisited. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 2003, 67 (4) : 593-656.
- [4] Rossi ED, Afnsa JA, Riccardi G. Role of mycobacterial efflux transporters in drug resistance: an unresolved question. *FEMS Microbiology Reviews*, 2006, 30 (1) : 36-52.
- [5] Titgemeyer F, Amon J, Parche S, Mahfoud M, Bail J, Schlicht M, Rehm N, Hillmann D, Stephan J, Walter B, Burkovski A, Niederweis M. A genomic view of sugar transport in *Mycobacterium smegmatis* and *Mycobacterium tuberculosis*. *Journal of Bacteriology*, 2007, 189 (16) : 5903-5915.
- [6] Feltcher ME, Sullivan JT, Braunstein M. Protein export systems of *Mycobacterium tuberculosis*: novel targets for drug development? *Future Microbiology*, 2010, 5 (10) : 1581-1597.
- [7] Higgins CF. ABC transporters: from microorganisms to man. *Annual Review of Cell Biology*, 1992, 8 (1) : 67-113.
- [8] Braibant M, Gilot P, Content J. The ATP binding cassette (ABC) transport systems of *Mycobacterium tuberculosis*. *FEMS Microbiology Reviews*, 2000, 24 (4) : 449-467.
- [9] Biemans-Oldehinkel E, Doeven MK, Poolman B. ABC transporter architecture and regulatory roles of accessory domains. *FEBS Letters*, 2006, 580 (4) : 1023-1035.
- [10] Cronjé L, Edmondson N, Eisenach KD, Bornman L. Iron and iron chelating agents modulate *Mycobacterium tuberculosis* growth and monocyte-macrophage viability and effector functions. *FEMS Immunology and Medical Microbiology*, 2005, 45 (2) : 103-112.
- [11] Miethke M, Marahiel MA. Siderophore-based iron acquisition and pathogen control. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 2007, 71 (3) : 413-451.
- [12] Farhana A, Kumar S, Rathore SS, Ghosh PC, Ehtesham NZ, Tyagi AK, Hasnain SE. Mechanistic insights into a novel exporter-importer system of *Mycobacterium tuberculosis* unravel its role in trafficking of iron. *PLoS One*, 2008, 3 (5) : e2087.
- [13] Wells RM, Jones CM, Xi Z, Speer A, Danilchanka O, Doornbos KS, Sun P, Wu F, Tian C, Niederweis M. Discovery of a siderophore export system essential for virulence of *Mycobacterium tuberculosis*. *PLoS Pathogens*, 2013, 9 (1) : e1003120.
- [14] Tullius MV, Harth G, Masleša-Galić S, Dillon BJ, Horwitz MA. A replication-limited recombinant *Mycobacterium bovis* BCG vaccine against tuberculosis designed for human immunodeficiency virus-positive persons is safer and more efficacious than BCG. *Infection and Immunity*, 2008, 76 (11) : 5200-5214.
- [15] Jones CM, Niederweis M. *Mycobacterium tuberculosis* can utilize heme as an iron source. *Journal of Bacteriology*, 2011, 193 (7) : 1767-1770.
- [16] Tullius MV, Harmston CA, Owens CP, Chim N, Morse RP, McMath LM, Iniguez A, Kimmey JM, Sawaya MR, Whitelegge JP, Horwitz MA, Goulding CW. Discovery and characterization of a unique mycobacterial heme acquisition system. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 2011, 108 (12) : 5051-5056.
- [17] Owens CP, Chim N, Graves AB, Harmston CA, Iniguez A, Contreras H, Liptak MD, Goulding CW. The *Mycobacterium tuberculosis* secreted protein Rv0203 transfers heme to membrane proteins MmpL3 and MmpL11. *The Journal of Biological Chemistry*, 2013, 288 (30) : 21714-21728.
- [18] Nambu S, Matsui T, Goulding CW, Takahashi S, Ikeda-Saito M. A new way to degrade heme: the *Mycobacterium tuberculosis* enzyme MhuD catalyzes heme degradation without generating CO. *The Journal of Biological Chemistry*, 2013, 288 (14) : 10101-10109.
- [19] Cole ST, Brosch R, Parkhill J, Garnier T, Churcher C,

- Harris D, Gordon S, Eiglmeier K, Gas S, Barry CE, Tekaia F, Badcock K, Basham D, Brown D, Chillingworth T, Connor R, Davies R, Devlin K, Feltwell T, Gentles, Hamlin N, Holroyd S, Hornsby T, Jagels K, Krogh A, McLean J, Moule S, Murphy L, Oliver K, Osborne J, Quail M, Rajandream M, Rogers J, Rutter S, Seeger K, Skelton J, Squares R, Squares S, Sulston J, Taylor K, Whitehead S, Barrell B. Deciphering the biology of *Mycobacterium tuberculosis* from the complete genome sequence. *Nature*, 1998, 393 (6685) : 537-544.
- [20] Seth A, Connell ND. Amino acid transport and metabolism in mycobacteria: cloning, interruption, and characterization of an L-arginine/ $\gamma$ -aminobutyric acid permease in *Mycobacterium bovis* BCG. *Journal of Bacteriology*, 2000, 182 (4) : 919-927.
- [21] Green RM, Seth A, Connell ND. A peptide permease mutant of *Mycobacterium bovis* BCG resistant to the toxic peptides glutathione and S-nitrosoglutathione. *Infection and Immunity*, 2000, 68 (2) : 429-436.
- [22] Dasgupta A, Sureka K, Mitra D, Saha B, Sanyal S, Das AK, Chakrabarti P, Jackson M, Gicquel B, Kundu M, Basu J. An oligopeptide transporter of *Mycobacterium tuberculosis* regulates cytokine release and apoptosis of infected macrophages. *PLoS One*, 2010, 5 (8) : e12225.
- [23] Flores-Valdez M, Morris R, Laval F, Daffe M, Schoolnik G. *Mycobacterium tuberculosis* modulates its cell surface via an oligopeptide permease (Opp) transport system. *The Journal of the Federation of American Societies for Experimental Biology*, 2009, 23 (12) : 4091-4104.
- [24] Braibant M, Lefevre P, de Wit L, Ooms J, Peirs P, Huygen K, Wattiez R, Content J. Identification of a second *Mycobacterium tuberculosis* gene cluster encoding proteins of an ABC phosphate transporter. *FEBS Letters*, 1996, 394 (2) : 206-212.
- [25] Braibant M, Lefevre P, de Wit L, Peirs P, Ooms J, Huygen K, Andersen Å, Content J. A *Mycobacterium tuberculosis* gene cluster encoding proteins of a phosphate transporter homologous to the *Escherichia coli* Pst system. *Gene*, 1996, 176 (1) : 171-176.
- [26] Lefevre P, Braibant M, de Wit L, Kalai M, Røeper D, Grötzinger J, Delville JP, Peirs P, Ooms J, Huygen K, Content J. Three different putative phosphate transport receptors are encoded by the *Mycobacterium tuberculosis* genome and are present at the surface of *Mycobacterium bovis* BCG. *Journal of Bacteriology*, 1997, 179 (9) : 2900-2906.
- [27] Chang Z, Choudhary A, Lathigra R, Quiocho F. The immunodominant 38-kDa lipoprotein antigen of *Mycobacterium tuberculosis* is a phosphate-binding protein. *Journal of Biological Chemistry*, 1994, 269 (3) : 1956-1958.
- [28] Vyas NK, Vyas MN, Quiocho F. Crystal structure of *M. tuberculosis* ABC phosphate transport receptor: specificity and charge compensation dominated by ion-dipole interactions. *Structure*, 2003, 11 (7) : 765-774.
- [29] Peirs P, Lefevre P, Boarbi S, Wang XM, Denis O, Braibant M, Pethe K, Locht C, Huygen K, Content J. *Mycobacterium tuberculosis* with disruption in genes encoding the phosphate binding proteins PstS1 and PstS2 is deficient in phosphate uptake and demonstrates reduced in vivo virulence. *Infection and Immunity*, 2005, 73 (3) : 1898-1902.
- [30] Rifat D, Bishai W, Karakousis P. Phosphate depletion: a novel trigger for *Mycobacterium tuberculosis* persistence. *Journal of Infectious Diseases*, 2009, 200 (7) : 1126-1135.
- [31] Eisenreich W, Dandekar T, Heesemann J, Goebel W. Carbon metabolism of intracellular bacterial pathogens and possible links to virulence. *Nature Reviews Microbiology*, 2010, 8 (6) : 401-412.
- [32] Marrero J, Rhee KY, Schnappinger D, Pethe K, Ehrt S. Gluconeogenic carbon flow of tricarboxylic acid cycle intermediates is critical for *Mycobacterium tuberculosis* to establish and maintain infection. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 2010, 107 (21) : 9819-9824.
- [33] Kalscheuer R, Weinrick B, Veeraraghavan U, Besra G, Jacobs Jr W. Trehalose-recycling ABC transporter LpqY-SugA-SugB-SugC is essential for virulence of *Mycobacterium tuberculosis*. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 2010, 107 (50) : 21761-21766.
- [34] Jiang D, Zhang Q, Zheng Q, Zhou H, Jin J, Zhou W, Bartlam M, Rao Z. Structural analysis of *Mycobacterium tuberculosis* ATP-binding cassette transporter subunit UgpB reveals specificity for glycerophosphocholine. *FEBS Journal*, 2013, 281 (1) : 331-341.
- [35] Zvi A, Ariel N, Fulkerson J, Sadoff J, Shafferman A. Whole genome identification of *Mycobacterium tuberculosis* vaccine candidates by comprehensive data mining and bioinformatic analyses. *BMC Medical Genomics*, 2008, 1 : 18.
- [36] Wagner D, Maser J, Lai B, Cai Z, Barry CE, zu Bentrup

- KH, Russell DG, Bermudez LE. Elemental analysis of *Mycobacterium avium*- $\rightarrow$ , *Mycobacterium tuberculosis*- $\rightarrow$ , and *Mycobacterium smegmatis*-containing phagosomes indicates pathogen-induced microenvironments within the host cell's endosomal system. *The Journal of Immunology*, 2005, 174 (3) : 1491-1500.
- [37] Nagata T, Iizumi S, Satoh K, Kikuchi S. Comparative molecular biological analysis of membrane transport genes in organisms. *Plant Molecular Biology*, 2008, 66 (6) : 565-585.
- [38] Danilchanka O, Mailaender C, Niederweis M. Identification of a novel multidrug efflux pump of *Mycobacterium tuberculosis*. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 2008, 52 (7) : 2503-2511.
- [39] Camacho L, Ensergueix D, Perez E, Gicquel B, Guilhot C. Identification of a virulence gene cluster of *Mycobacterium tuberculosis* by signature-tagged transposon mutagenesis. *Molecular Microbiology*, 2002, 34 (2) : 257-267.
- [40] Choudhuri BS, Bhakta S, Barik R, Basu J, Kundu M, Chakrabati P. Overexpression and functional characterization of an ABC (ATP-binding cassette) transporter encoded by the genes *drmA* and *drMB* of *Mycobacterium tuberculosis*. *Journal of Bacteriology*, 2002, 367 (1) : 279-285.
- [41] Calgin MK, Sahin F, Turegun B, Gerceker D, Atasever M, Koksall D, Karasartova D, Kiyani M. Expression analysis of efflux pump genes among drug-susceptible and multidrug-resistant *Mycobacterium tuberculosis* clinical isolates and reference strains. *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease*, 2013, 76 (2) : 125-254.
- [42] Wang K, Pei H, Huang B, Zhu X, Zhang J, Zhou B, Zhu L, Zhang Y, Zhou FF. The expression of ABC efflux pump, Rv1217c-Rv1218c, and its association with multidrug resistance of *Mycobacterium tuberculosis* in China. *Current Microbiology*, 2013, 66 (3) : 222-226.

## ATP-binding cassette transporters and transmembrane transport in *Mycobacterium tuberculosis* – A review

Zhihong Xu, Aiping Zhou, Yufeng Yao\*

Department of Medical Microbiology and Parasitology, School of Medicine, Shanghai Jiao Tong University, Shanghai 200025, China

**Abstract:** *Mycobacterium tuberculosis*, an intracellular bacterium, mainly lives in the phagosome of the macrophage. It utilizes competitive uptake of nutrients as well as active efflux of noxious compounds to maintain its survival. Thus, the ATP-binding cassette transporters involved in either process mentioned above are essential for its pathogenicity. There are 38 ATP-binding cassette transporters identified in the genome of *M. tuberculosis*. This sort of proteins facilitate the transport of various substrates ranging from ions, sugars, amino acids, oligopeptides and drugs. In this review, we summarized the substrate specificity and transport mechanism of these transporters and their relationship with virulence in *M. tuberculosis*.

**Keywords:** *Mycobacterium tuberculosis*, ATP-binding cassette transporters, substrate specificity, transport mechanism, pathogenicity

(本文责编:王晋芳)

Supported by the National Natural Science Foundation of China (31070114) and by the Key Project of China National Programs for Fundamental Research and Development (2009CB522605)

\* Corresponding author. Tel/Fax: +86-21-64671226; E-mail: yfyao@sjtu.edu.cn

Received: 1 August 2013/ Revised: 21 January 2014