



## 铁摄取调节蛋白Fur功能和作用模式的研究进展\*

于欣冉 李颖杰\*\* 陈冠军 王禄山

(山东大学微生物技术研究院, 青岛 266237)

**摘要** 铁是大多数生物必需的微量元素, 在健康和疾病, 尤其是宿主-病原菌互作过程中发挥着至关重要的作用. 细菌胞内铁离子浓度的高低不仅是调节自身高亲和铁运输系统表达的信号, 更是病原菌产生毒素和其他必要毒力因子的关键调控因素. 而另一方面, 超负荷的铁也会导致致命的细胞毒性. 因此, 生物体内铁稳态的维持受到严格控制, 其中以铁摄取调节蛋白 (ferric uptake regulator, Fur) 的作用最为显著, 其调控网络涵盖了细菌生命活动的各个方面. 本综述将基于Fur的生物学功能, 围绕其家族分类、结构特点和差异、调控网络和调控机制等方面进行总结和分析, 以为Fur和铁稳态调节等研究提供参考.

**关键词** 铁摄取调节蛋白Fur, FUR超家族, Fur结构, 调节网络, 作用模式

**中图分类号** Q5, Q93

**DOI:** 10.16476/j.pibb.2020.0316

铁作为大多数生物生存的必需元素, 在细胞代谢、运动、DNA的合成修复及致病性等诸多方面发挥重要作用<sup>[1]</sup>. 自然界中游离的铁往往以 $\text{Fe}^{3+}$ 形式存在, 很难被微生物吸收利用. 为获取生存所必需的铁, 细菌进化出多种不同的铁运输系统, 如铁载体运输系统<sup>[2]</sup>、血红素运输系统<sup>[3]</sup>、二价铁运输系统<sup>[4]</sup>和游离三价铁运输系统<sup>[2]</sup>等. 另一方面, 体内过量的 $\text{Fe}^{2+}$ 又具有生物毒性, 会导致DNA损伤、增加细菌突变率, 甚至导致细胞死亡<sup>[5-6]</sup>. 所以, 如何在争夺有限铁资源的同时又不造成自身体内铁的过量富集, 是微生物面临的一大难题. 为此, 细菌演变出一系列铁代谢调控系统, 其中以铁摄取调节蛋白 (ferric uptake regulator, Fur) 的作用最为关键<sup>[7]</sup>, 其调节网络涵盖了细菌生存乃至致病等各个环节. 本综述将围绕FUR超家族的种类、Fur蛋白的结构、Fur调控网络和作用机制等方面进行阐述, 以为细菌铁稳态调节的相关研究提供参考.

## 1 FUR超家族

FUR超家族是一类由多种金属离子参与的调节蛋白, 既包括Fur, 也包括其他不同金属离子的摄取调节蛋白. 迄今Pfam数据库已收集了来源于

6 285个物种的70种FUR超家族蛋白的16 262条序列 (<https://pfam.xfam.org/family/Fur#tabview=tab7>). 根据感应金属离子种类的不同, 可将FUR超家族分为Fur、锰摄取调节蛋白 (manganese uptake regulator, Mur)、锌摄取调节蛋白 (zinc uptake regulator, Zur) 和镍摄取调节蛋白 (nickel uptake regulator, Nur) 等. 此外, FUR超家族还包括氧化应激调节蛋白 (peroxide response regulator, PerR) 和铁应激调节蛋白 (iron response regulator, Irr)<sup>[8]</sup>. 其中, PerR主要存在于革兰氏阳性细菌中<sup>[9]</sup>, 而Irr仅在 $\alpha$ 变形菌门 ( $\alpha$ -Proteobacteria) 中发现, 可调节铁稳态和氧化还原反应等<sup>[10]</sup>.

FUR超家族多为金属离子依赖的抑制性调控模式, 但各调控因子对不同金属离子的特异性感应及亲和力存在明显差异<sup>[11-12]</sup> (表1). 其中以Fur的研究最为深入, 其不但调节模式多变, 且与其他FUR超家族成员存在直接或间接联系. Zur、Mur和Nur虽然与Fur的“高铁抑制”模式相似, 即在铁

\* 山东大学基本科研业务费专项资金和青岛市应用基础研究计划 (青年专项, 18-2-2-60-jch) 资助项目.

\*\* 通讯联系人.

Tel: 0532-58631569, E-mail: yingjie.li@sdu.edu.cn

收稿日期: 2020-08-31, 接受日期: 2020-11-06

离子充足条件下,抑制靶标基因的表达,但其功能各不相同.Zur 主要用于调节细菌的氧化应激反应<sup>[13]</sup>、Zn<sup>2+</sup>稳态以及毒力等<sup>[14]</sup>.Mur 则主要参与Mn<sup>2+</sup>稳态的调控及氧化应激等<sup>[15]</sup>.值得注意的是,Mur 蛋白缺乏与Zn<sup>2+</sup>结合位点,这也是其与Fur的主要区别之一<sup>[16]</sup>.Nur 是Fur的同源蛋白质,不但

参与细菌胞内Ni<sup>2+</sup>稳态调控,如Ni<sup>2+</sup>的摄取及外排等<sup>[17]</sup>,还与多种酶及功能蛋白的形成息息相关<sup>[18]</sup>.与其他FUR超家族成员不同,Nur在环境中仅能被Ni<sup>2+</sup>激活,参与Ni<sup>2+</sup>稳态及氧化应激的调节<sup>[12, 19]</sup>.

Table 1 Comparison of FUR superfamily proteins  
表1 FUR超家族蛋白比较

| FUR超家族成员           | 主要功能                     | 作用形式                                                         | 调控方式           | 细菌内调金属离子                             | 体外激活金属离子                                                               |
|--------------------|--------------------------|--------------------------------------------------------------|----------------|--------------------------------------|------------------------------------------------------------------------|
| Fur                | 铁稳态调节、毒力因子表达、TCA循环和氧化应激等 | <i>apo</i> -Fur<br><i>holo</i> -Fur                          | 激活/抑制<br>激活/抑制 | Fe <sup>2+</sup> /Mn <sup>2+</sup>   | Fe <sup>2+</sup> /Mn <sup>2+</sup> /Zn <sup>2+</sup>                   |
| Zur                | 锌稳态调节、毒力因子表达和氧化应激        | Zur-Zn <sup>2+</sup>                                         | 抑制             | Zn <sup>2+</sup>                     | Zn <sup>2+</sup> /Fe <sup>2+</sup> /Co <sup>2+</sup>                   |
| Mur                | 锰稳态调节和氧化应激               | Mur-Mn <sup>2+</sup>                                         | 抑制             | Mn <sup>2+</sup> /Zn <sup>2+</sup>   | Fe <sup>2+</sup> /Mn <sup>2+</sup> /Co <sup>2+</sup> /Zn <sup>2+</sup> |
| Nur                | 镍稳态调节                    | Nur-Ni <sup>2+</sup>                                         | 抑制             | Ni <sup>2+</sup> /Zn <sup>2+</sup>   | Ni <sup>2+</sup>                                                       |
| Irr                | Heme代谢和氧化应激              | Irr-Heme (Fe <sup>3+</sup> )<br>Irr-Heme (Fe <sup>2+</sup> ) | 激活/抑制          | Fe <sup>2+</sup><br>Fe <sup>3+</sup> | Fe <sup>2+</sup> /Mn <sup>2+</sup>                                     |
| PerR <sup>1)</sup> | 氧化应激                     | PerR-Mn <sup>2+</sup><br>PerR-Fe <sup>2+</sup>               | 激活/抑制          | Fe <sup>2+</sup> /Mn <sup>2+</sup>   | Fe <sup>2+</sup> /Mn <sup>2+</sup>                                     |

1) PerR多存在于革兰氏阳性细菌.

相较于上述FUR超家族成员,PerR和Irr的调节机制稍显不同.在枯草芽孢杆菌(*Bacillus subtilis*)中,PerR可通过芬顿反应和哈兹韦伯反应氧化Fe<sup>2+</sup>或Mn<sup>2+</sup>结合位点的组氨酸,引起PerR构象变化,使金属配体释放,进而调节氧化应激过程多种酶的表达,降低羟基自由基引起的毒害作用,以抵抗宿主防御病原菌入侵形成的不利环境<sup>[20]</sup>.Irr主要在氧化反应过程发挥调节作用.有研究发现,Irr能够调控过氧化氢酶表达,使其在铁匮乏条件下的表达受到抑制<sup>[11]</sup>.值得注意的是,Irr具有铁血红素(Fe<sup>3+</sup>-heme)及亚铁血红素(Fe<sup>2+</sup>-heme)两个结合位点,且Irr仅在低铁条件下发挥激活或抑制作用<sup>[10, 21]</sup>.铁匮乏时,Irr能够特异性结合DNA,正向调控血红素酶合成;铁充足时,Fe<sup>3+</sup>-heme及Fe<sup>2+</sup>-heme与Irr形成复合体,并和亚铁螯合酶HemH结合,启动Irr的解聚,降低Irr与DNA的亲合力<sup>[10-11]</sup>.

2 Fur结构特点

FUR超家族成员往往以多聚体的形式表现其活性,其最小功能单位为同源二聚体形式.有些FUR成员,如Fur,也会以稳定的四聚体形式发挥功能,这种现象在土拉热弗朗西斯菌(*Francisella tularensis*)及铜绿假单胞菌(*Pseudomonas*

*aeruginosa*)等<sup>[22]</sup>中均有发现.每个FUR单体由3个结构域组成,包括N端螺旋-翼-螺旋组成的DNA结合结构域(DNA binding domain)、C端由β折叠和α螺旋组成的金属离子结合结构域,由于该结构域在结构上以二聚化形式结合DNA,因此也称之为DD结构域(dimerization domain)以及连接DBD与DD的柔性铰链区<sup>[19, 23]</sup>(图1a).单就金属离子结合结构域而言,不同细菌来源的FUR超家族成员,其金属离子结合位点的数量会有所差异.以Fur为例,其存在2~3个金属离子结合位点:第一个金属离子结合位点,也称为“结构”金属离子结合位点(S1),可被Fe<sup>2+</sup>和Zn<sup>2+</sup>等金属离子结合,起稳定Fur蛋白结构的功能;第二个位点为“感应调控”金属离子结合位点(S2),可特异性结合Fe<sup>2+</sup>,用于Fur的激活;第三个金属离子结合位点,其功能尚不明确,这里称之为“未知功能”位点(S3)<sup>[11]</sup>(图1b, c).不同细菌来源的Fur,其金属离子结合位点的数量和功能、氨基酸种类以及在蛋白质中位置等均有所差异<sup>[24]</sup>.如格瑞菲斯瓦尔德磁螺菌(*Magnetospirillum gryphiswaldense*)<sup>[25]</sup>和霍乱弧菌(*Vibrio cholerae*)<sup>[26]</sup>的Fur仅含有S1和S2位点,而幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*)<sup>[24]</sup>则包含S1、S2和S3三个金属离子结合位点.相较于FUR超家族的其他成员,Fur的研究最为详尽,

因此本文将以Fur作为重点,对其结构、下游调控网络和调控模式进行进一步的总结和分析。

## 2.1 apo-Fur结构

Fur是由两个Fur单体依靠DD区相互作用形成不对称的同源二聚体,apo-Fur主要指“感应调控”金属离子结合位点S2无金属离子存在时的Fur结构.迄今仅有两个apo-Fur结构被解析,分别是空肠弯曲杆菌(*Campylobacter jejuni*)的apo-CjFurZn<sup>2+</sup><sup>[27]</sup>和格瑞菲斯瓦尔德磁螺菌的apo-MgFur<sup>[25]</sup>(图1).结构分析显示,两者均呈现V型结构,但金属离子结合位点存在明显差异.其中,apo-MgFur是目前已知唯一的S1和S2位点均无金属离子结合的apo-Fur结构<sup>[25]</sup>(图1a).相较

于其他Fur结构,空肠弯曲杆菌的apo-CjFurZn<sup>2+</sup>结构变化较大,其独特之处在于:a.铰链区处于一个伸长紧绷的状态,导致apo-CjFurZn<sup>2+</sup>DBD区的 $\alpha 1$ 螺旋及 $\beta 1$ 、 $\beta 2$ 折叠位置与其他apo-Fur相比旋转了180°(图1c),该铰链区结构对于维持DBD结构域走向至关重要,是空肠弯曲杆菌apo-Fur可以发挥调控功能的主要原因;b.虽然apo-CjFurZn<sup>2+</sup>具有与其他细菌holo-Fur相似的调节机制(详细内容见下文holo-Fur结构),但其S2位点并没有结合任何金属离子,这也是作者将其归为apo-Fur结构的原因<sup>[27]</sup>(图1b,c).此外,2018年Sarvan等<sup>[28]</sup>的研究进一步表明,S3位点与金属离子Zn<sup>2+</sup>结合后,会引起apo-CjFurZn<sup>2+</sup>的构象发生变化(图1d).

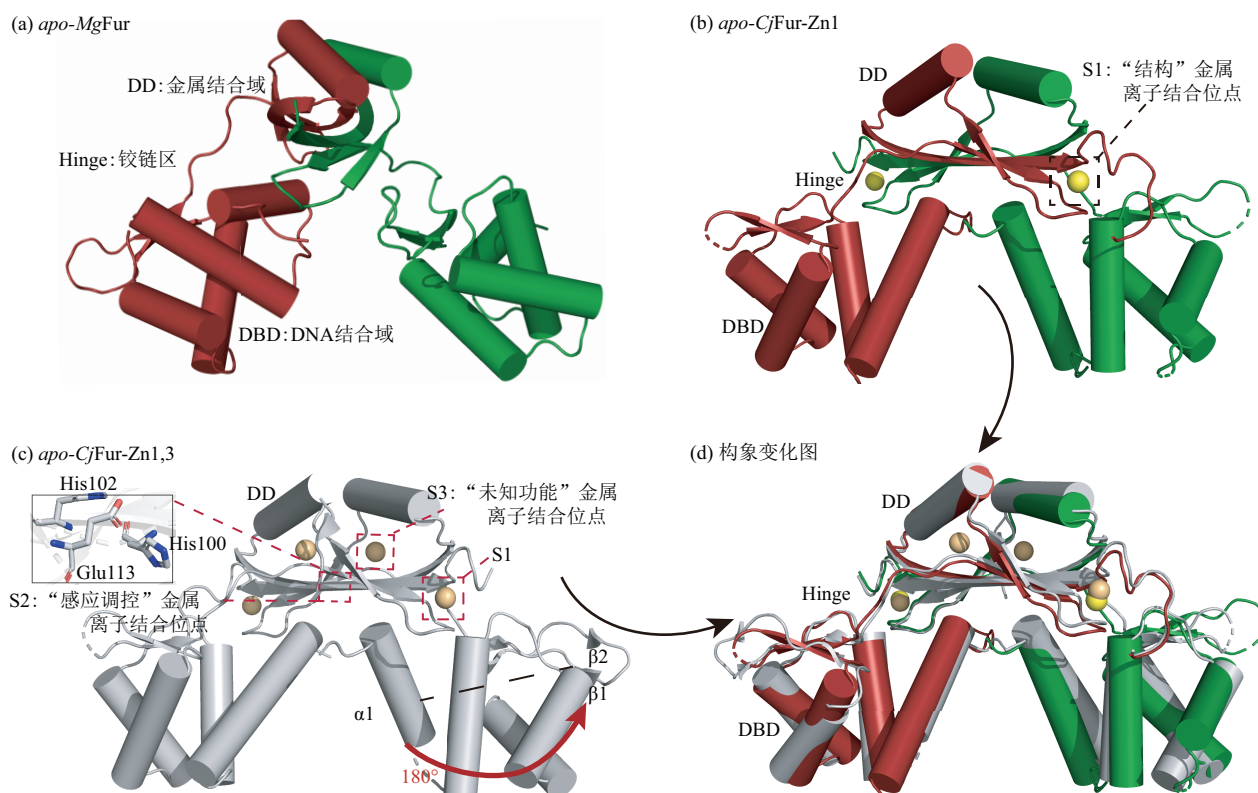


Fig. 1 The structure of apo-Fur

图1 apo-Fur结构

(a) Fur结构域组成,以格瑞菲斯瓦尔德磁螺菌无配体apo-MgFur(PDB: 4RAY)为例. Fur单体分别以红色和绿色表示<sup>[25]</sup>. (b) apo-Fur主要指“感应调控”金属离子结合位点S2无金属离子存在时的Fur结构,而S1和S3位点可能结合金属离子.空肠弯曲杆菌S1位点结合Zn<sup>2+</sup>的apo-CjFur-Zn1结构(PDB: 6D57)<sup>[28]</sup>, Zn<sup>2+</sup>以金黄色球体表示. (c) 空肠弯曲杆菌S1和S3位点结合Zn<sup>2+</sup>的apo-CjFur-Zn1, 3结构(PDB: 4ETS), Zn<sup>2+</sup>以米黄色球体表示,其中S2“感应调控”位点推测主要由His100、His102和Glu113组成<sup>[27]</sup>. (d) S3“未知功能”金属离子结合位点与Zn<sup>2+</sup>的结合,导致空肠弯曲杆菌的构象发生变化<sup>[28]</sup>.

## 2.2 holo-Fur结构

holo-Fur结构是指apo-Fur的“感应调控”位

点被金属离子激活的Fur结构(图2).在holo-Fur中,金属离子与“感应调控”位点的结合对Fur的

调控功能至关重要. 在格瑞菲斯瓦尔德磁螺菌 *holo-Fur* 中, “感应调控”金属结合位点的关键氨基酸突变导致 *Fur* 与 DNA 结合能力完全丧失, 而其他位点的突变仅降低与 DNA 的亲合力<sup>[25]</sup>. 与该发现相似的是, 在枯草芽孢杆菌的 *PerR* 中, 只有“感应调控”位点及“未知功能”位点均有金属离子结合时才会显著提高 *PerR* 与 DNA 的亲合力<sup>[29]</sup>. 幽门螺杆菌的 *holo-Fur* 具有 N 端扩展及 C 端螺旋的特殊结构, 推测其可能在“感应调控”位点金属离子缺失时仍然保持 *Fur* 的 V 型结构, 使 *Fur* 依然具有结合 DNA 的能力<sup>[24]</sup> (图 2c, d). 此外, 在 *holo-Fur* 中, 金属离子与“结构”位点的结合是引发 *Fur* 构象改变的重要原因<sup>[1, 19, 24]</sup>. 利用金属  $\text{Bi}^{3+}$  处理幽门螺杆菌 *Fur* 后,  $\text{Bi}^{3+}$  会代替  $\text{Zn}^{2+}$  占据“结构”金属离子结

合位点 S1, 使 *Fur* 空间结构发生变化, 导致 *Fur* 与 DNA 结合能力丧失<sup>[30]</sup>. 在格瑞菲斯瓦尔德磁螺菌中,  $\text{Mn}^{2+}$  结合会引起 *Fur* 两边铰链区对称度增加, DBD 区两亚基的距离缩小, 最终同靶标 DNA 结合<sup>[25]</sup> (图 2a). 在霍乱弧菌中, 其 *holo-Fur* 结构与铜绿假单胞菌 *holo-Fur* 结构取向完全相反, 导致 DBD 亚基与 DNA 结合的 H4 螺旋之间的距离缩小<sup>[26]</sup> (图 2b), 同时, *holo-VcFurZn<sup>2+</sup>* 位于 S1 “结构”金属离子结合位点的配位氨基酸与 *FUR* 超家族其他成员 (如 *PerR* 等) 不同, 并没有保守的半胱氨酸口袋结构<sup>[26]</sup> (图 2b). 值得注意的是, *apo-Fur* 结构的对称性相对较低, 但金属配体结合后的 *holo-Fur*, 由于构象变化使得其对称性增强, 能够更稳定地结合靶标 DNA.

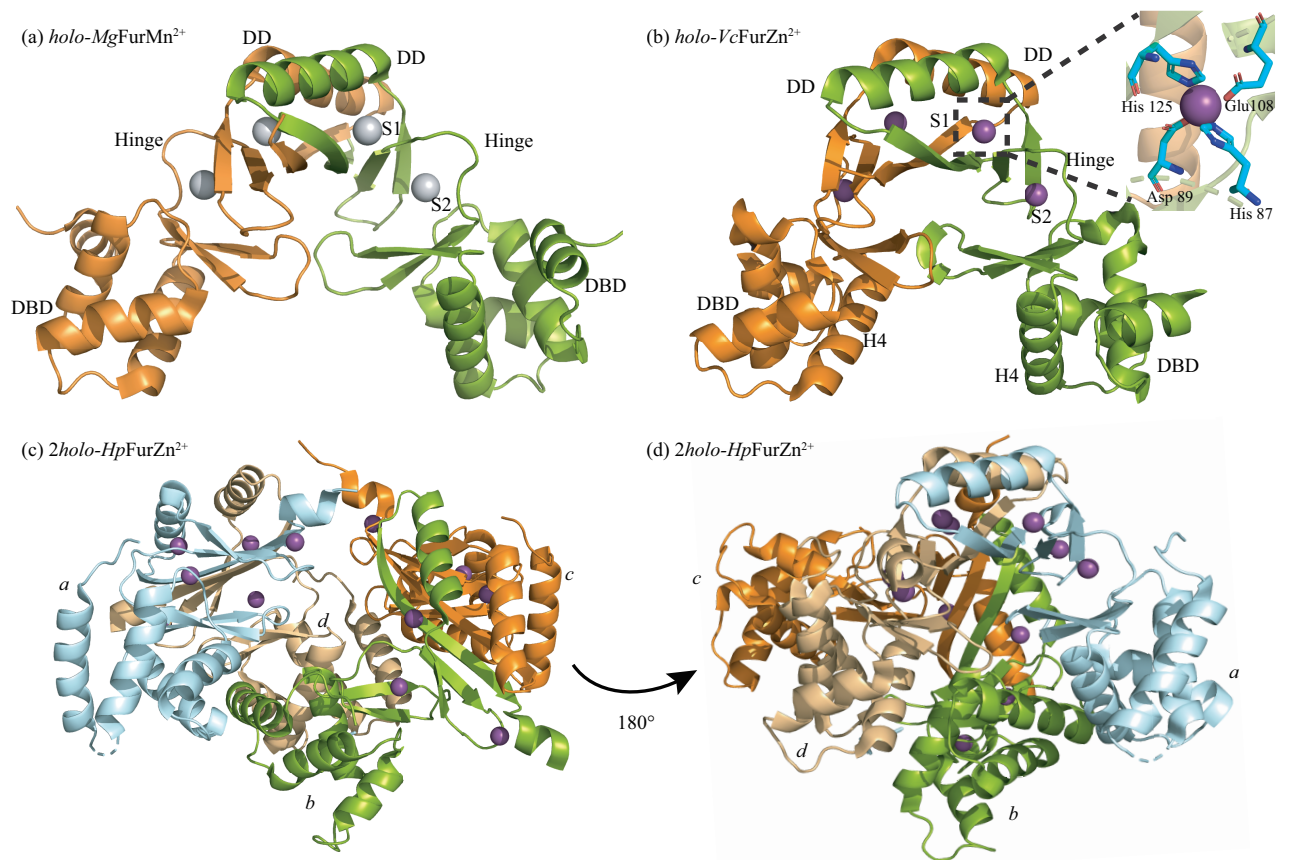


Fig. 2 The structures of three *holo-Fur*  
图2 三种*holo-Fur*的结构

(a) 瑞菲斯瓦尔德磁螺菌 *holo-MgFurMn<sup>2+</sup>* 结构, 包括  $\text{Mn}^{2+}$  结合“感应调控”位点 S2 及“结构”金属离子结合位点 S1 (PDB: 4RAZ)<sup>[25]</sup>. (b) 霍乱弧菌 *holo-VcFurZn<sup>2+</sup>* 结构, 包括  $\text{Zn}^{2+}$  结合“感应调控”位点 S2 及“结构”位点 S1 (PDB: 2W57)<sup>[26]</sup>. (c) 幽门螺杆菌四聚体 *holo-Fur* 结构 *2holo-HpFurZn<sup>2+</sup>*, 3 个金属离子结合位点 (S1、S2 和 S3) 均结合  $\text{Zn}^{2+}$  (PDB: 2XIG)<sup>[24]</sup>. (d) 将 (c) 图逆时针旋转 180°, a/d 和 b/c 分别构成一个 V 字形的 *Fur* 结构. *Fur* 单体 a、b、c 和 d 分别以蓝色、绿色、橘黄色和米黄色表示,  $\text{Mn}^{2+}$  和  $\text{Zn}^{2+}$  分别用灰色和紫色球体表示.

### 2.3 Fur-DNA复合体结构

目前, 获得解析的Fur-DNA复合物结构较少, 仅格瑞菲斯瓦尔德磁螺菌Fur与*feoAB1*启动子区DNA结合的复合体 $holo-MgFur-feoAB1$ 、其与铜绿假单胞菌Fur box序列形成的 $2holo-MgFur-PaFurBox$ <sup>[25]</sup>和大肠杆菌(*Escherichia coli*)来源的 $2holo-EcZur-DNA$ <sup>[31]</sup>具有Fur-DNA复合体结构(图3)。研究发现, Fur与DNA的识别主要依赖其与DNA大沟碱基的直接接触和小沟可被赖氨酸识别的静电作用力<sup>[31]</sup>。如格瑞菲斯瓦尔德磁螺菌Fur的Tyr56和Arg57分别通过与大沟碱基的疏水和氢键作用与DNA结合, 而Lys15主要通过DNA双螺旋的小沟形状识别并结合DNA<sup>[25]</sup>(图3a)。值得注意的是, 当 $holo-MgFur$ 与自身来源的靶标基因

*feoAB1*的结合位点DNA(非保守Fur box)相互作用时, 解析的最小功能单位为二聚体, 而当其与铜绿假单胞菌来源的Fur box序列作用时, 复合体呈现四聚体形式(图3a, b)。与该发现相似的是, 幽门螺杆菌<sup>[24]</sup>及土拉热弗朗西斯菌<sup>[32]</sup>来源的Fur异源表达后, 均出现四聚体, 甚至是八聚体形式。此外, 大肠杆菌的Zur也发现四聚体Zur-DNA复合体形式, 两个二聚体间通过一对不对称盐桥连接<sup>[31]</sup>(图3c)。因此, 虽然体外结构生物学研究表明, 二聚体的Fur即可发挥正常的调节功能, 但仍然无法确定在生物体内Fur的最小功能单位, 以及在体内是否需要二聚、四聚甚至八聚等多个形式来实现对不同基因的差异调控。

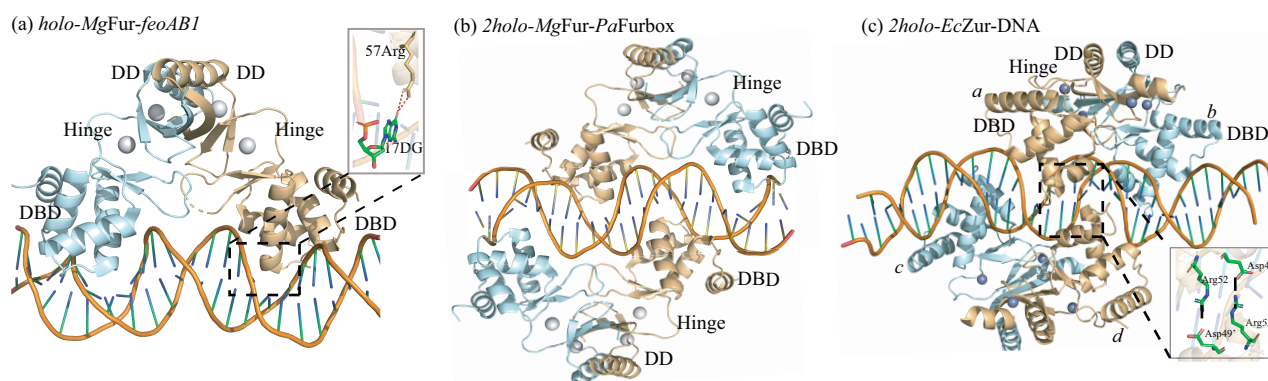


Fig. 3 The structures of Fur-DNA complex

图3 Fur-DNA复合体结构

(a) 格瑞菲斯瓦尔德磁螺菌二聚体Fur同*feoAB1*基因Fur box的复合体结构 $holo-MgFur-feoAB1$  (PDB: 4RB2)<sup>[25]</sup>, 17DG表示DNA的17号碱基鸟嘌呤; 氢键用红色虚线表示。(b) 格瑞菲斯瓦尔德磁螺菌四聚体Fur同铜绿假单胞菌Fur box结合的复合体 $2holo-MgFur-PaFurbox$  (PDB: 4RB1)<sup>[25]</sup>。(c) 大肠杆菌四聚体Zur同DNA结合的复合体 $2holo-EcZur-DNA$  (PDB: 4MTE)<sup>[31]</sup>。

## 3 受Fur调控的代谢途径

Fur作为细菌维持胞内铁稳态的关键调控因子, 具有复杂的调控网络, 且靶标基因功能多样<sup>[33]</sup>。如在空肠弯曲杆菌中, Butcher等<sup>[27]</sup>通过对Fur作用靶点的全基因组测定发现, 仅有大约1/3基因的结合位点与铁代谢相关, 而其余2/3的靶标基因则参与其他生物途径, 这进一步表明了Fur调节的复杂性和全局性。根据Fur调控基因的生物学功能, 可将Fur调节的靶标基因分为4类: 铁代谢途径、氧化应激途径、三羧酸循环及毒力因子(图4)。

### 3.1 Fur对铁代谢途径的调控作用

早在20世纪80年代, 科学家即发现Fur在铁代谢中的重要作用, 主要包括铁载体的合成<sup>[34-36]</sup>、铁储存酶<sup>[19]</sup>及铁外排相关酶的合成等<sup>[37-38]</sup>(图4)。其中, 铁载体作为细菌, 如大肠杆菌<sup>[39]</sup>和霍乱弧菌<sup>[40]</sup>获取胞外 $Fe^{3+}$ 的重要手段之一, 其合成相关基因的表达均受到Fur的调节。此外, 其他铁运输途径, 如血红素运输及二价铁运输途径等也受到Fur的精确调控<sup>[2]</sup>。在铁存储方面, Fur主要在铁充足条件下激活储铁蛋白的表达, 将胞内过量的铁进行储存, 从而避免过量的游离铁对细菌产生毒害作用<sup>[41-42]</sup>。除铁摄入和存贮外, Fur调控还涉及铁离子的外排过程, 如P1B-type ATPase外排途径。该

途径主要通过ATP水解提供能量, 将金属离子及脂质等外排至胞外<sup>[43]</sup>. 在枯草芽孢杆菌中, Fur通过抑制PerR蛋白的活性, 间接激活P1B4-type ATPase型二价铁外排蛋白*pfeT*的表达<sup>[44-45]</sup>. 在单核李斯特氏菌 (*Listeria monocytogenes*) 中, Fur介导的

P1B4-type ATPase 二价铁外排蛋白*frvA*, 是维持细胞铁稳态主要外排途径之一<sup>[38, 46]</sup>. 此外, 近期在大肠杆菌中的研究表明, Fur也可通过可逆性结合2Fe-2S簇, 感应并调控细胞内游离Fe<sup>2+</sup>的浓度<sup>[47]</sup>.

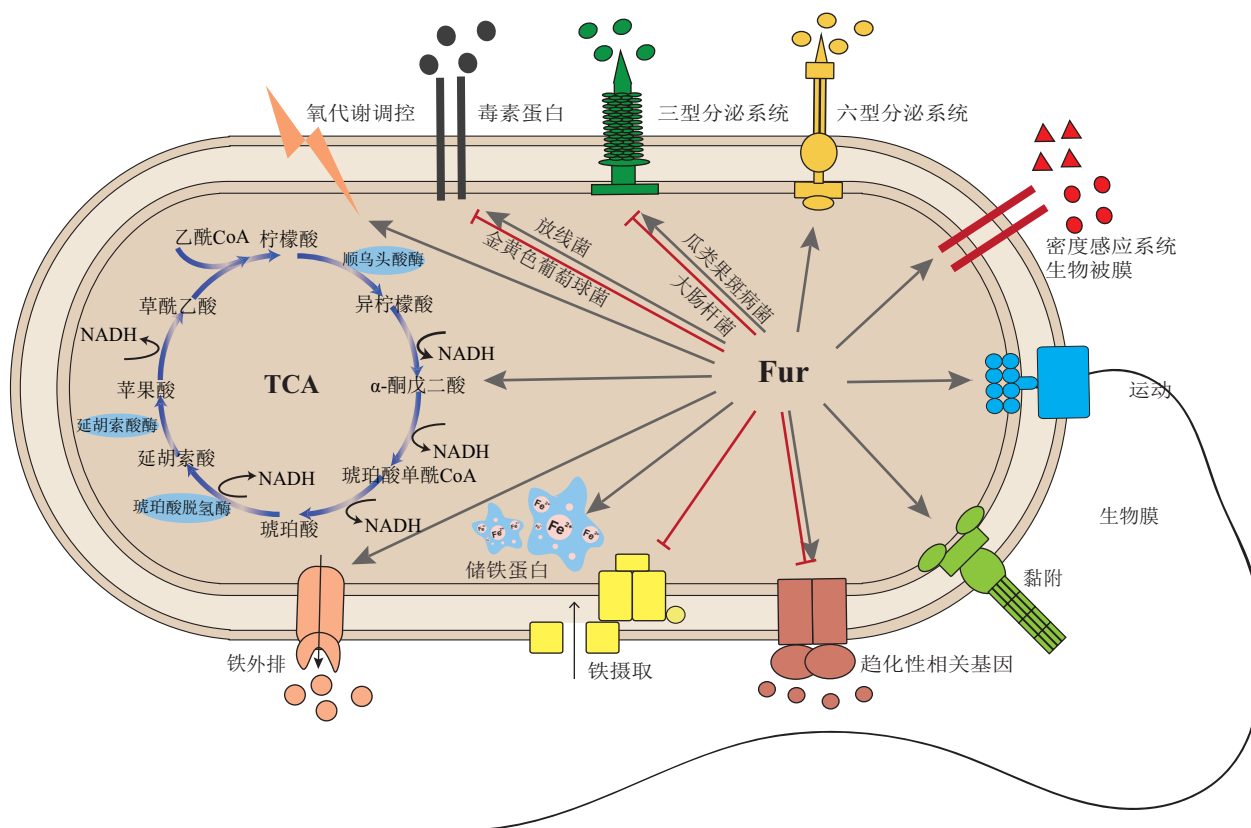


Fig. 4 Regulatory network of Fur

图4 Fur调控网络示意图

Fur在高铁环境下对不同生物途径的调控网络示意图. 黑色箭头表示Fur高铁激活; 红色短线表示高铁抑制. TCA循环过程受Fur调控的酶以蓝色椭圆表示.

### 3.2 Fur对氧化应激相关基因的调控作用

Fur参与氧化应激的方式可分为直接和间接两种. 在枯草芽孢杆菌<sup>[48]</sup>及大肠杆菌<sup>[33]</sup>中, Fur通过介导铁隔离蛋白Dps的表达对细胞内铁浓度进行调控, 以避免铁的过度积累, 降低氧化应激反应<sup>[33]</sup>. 在鱼腥蓝细菌PCC 7120 (*Anabaena sp.* PCC 7120)中, Fur甚至能够通过其靶标DNA的结合来保护其免受DNA酶I的裂解和羟基自由基的损害<sup>[49]</sup>. 此外, Fur与血红素的间接作用对氧化应激也具有重要作用. 血红素作为细菌体内氧化信号的感应者之一, 可与Fur结合形成Fur-heme复合物, 进而阻止Fe<sup>2+</sup>或Mn<sup>2+</sup>与Fur的结合, 达到调控

氧化代谢过程的目的<sup>[11]</sup>. 除了参与血红素的间接调控作用, Fur还能够通过抑制sRNA (small RNA) RyhB间接调控超氧化物歧化酶基因的表达. 在此过程中, Fur通过抑制ryhB的转录来激活超氧化物歧化酶基因*sodB*的表达<sup>[50]</sup>. 如在金黄色葡萄球菌 (*Staphylococcus aureus*) 中, *fur*的缺失会导致超氧化物歧化酶和血红素过氧化氢酶含量及活性的降低<sup>[51]</sup>, 并通过激活烷基过氧化氢还原酶基因*ahpC*<sup>[52]</sup>及过氧化氢酶*kata*的表达, 与PerR共同完成氧化应激过程<sup>[53-54]</sup>. 值得注意的是, 金黄色葡萄球菌*kata*基因上并不存在Fur box, Fur对*kata*的激活作用是由Fur间接调控的, 但具体调控模式目

前仍然未知<sup>[51, 55]</sup>。

### 3.3 Fur参与三羧酸循环 (tricarboxylic acid cycle, TCA循环)

除了上述功能外, Fur还参与了三羧酸循环的调控<sup>[56]</sup>。在鲍曼不动杆菌 (*Acinetobacter baumannii*) 中, Fur的缺失会导致TCA循环过程产生的NAD<sup>+</sup>/NADH比值增加, 造成胞内氧消耗减少, 同时通过电子传递链形成超氧分子。此外, 过氧化氢酶及超氧化物歧化酶活性的降低会积累大量H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, 其与超氧分子反应形成羟基自由基, 进而对细胞造成损伤<sup>[57]</sup>。TCA循环作为生物体能量来源及营养物质代谢的关键途径, 当fur缺失后会导致糖类、脂质和蛋白质无法正常代谢<sup>[56]</sup>, 抑制细菌的产能过程, ADP/ATP的比值上升<sup>[57]</sup>。在大肠杆菌中, Fur可通过sRNA RyhB间接激活顺乌头酸、琥珀酸脱氢酶及延胡索酸等关键酶的表达以保证TCA循环顺利且快速地运行<sup>[58]</sup>。

### 3.4 Fur参与细菌毒力因子的调节

Fur在细菌致病过程中也发挥着重要的作用, 如调控用于病原菌入侵或依附于宿主表面的趋化性运动、辅助细菌定殖的生物膜和密度感应系统、降解宿主体内黏液和红细胞的金属蛋白酶和溶血素、有效攫取宿主体内铁资源的铁运输系统, 以及破坏宿主细胞及其体内微生物菌群的三型分泌系统 (type III secretion system, T3SS) 和六型分泌系统 (type VI secretion system, T6SS) 等各个方面<sup>[33]</sup> (图4)。因此, 较于铁运输系统和氧化应激途径等, Fur对毒力因子的调控模式更为多样和复杂。如在志贺氏菌 (*Shigella*) 中, Fur不但可以通过激活VirF而间接激活有助细菌运动的icsA基因, 还能够调节影响毒力因子IcsA活性的外膜蛋白酶基因icsP<sup>[59]</sup>。在霍乱弧菌中, Fur激活霍乱毒素 (cholera toxin, CT) 合成基因ctxAB和定植必需的毒素协同菌毛 (toxin coregulated pilus, TCP) 基因tcpA<sup>[60]</sup>。在鼠疫耶尔森菌 (*Yersinia pestis*) 中, Fur直接抑制生物被膜合成基因hmsT, 导致毒性减弱甚至丧失<sup>[61]</sup>。在肺炎链球菌 (*Streptococcus pneumoniae*) 中, Fur参与细菌生物被膜合成及定植的荚膜多糖合成<sup>[62]</sup>。Fur对密度感应系统同样具有调节作用, 在创伤弧菌 (*Vibrio vulnificus*) 中, Fur通过控制密度感应系统的转录, 从而参与毒性调节<sup>[63]</sup>。在铜绿假单胞菌中, Fur可以抑制sigma因子pvdS的表达, 从而激活铁载体pyoverdinin的生物合成及铁摄取基因的表达<sup>[33]</sup>。六型分泌系统作

为细菌重要的毒力因子之一, 也受到Fur的调控。在鼠伤寒沙门氏菌 (*Salmonella enterica* serovar Typhimurium)<sup>[64]</sup> 和铜绿假单胞菌<sup>[65]</sup> 中, Fur能够调控编码AAA+ (ATPases associated with various cellular activities) ATP酶的clpV等关键T6SS基因的转录; 在肠聚型大肠杆菌 (enteroaggregative *Escherichia coli*, EAEC) 中, 由于sciI T6SS-1基因簇上Fur box与DNA腺嘌呤甲基化酶 (Dam) 位点重合, 因此在铁匮乏时, Dam与sciI Fur box结合, 激活sciI的转录, 而铁充足时, Fur的结合则会抑制sciI T6SS-1基因簇的表达<sup>[66]</sup>。除了T6SS, T3SS的表达也受到Fur的调节, 在瓜类果斑病菌 (*Acidovorax citrulli*) 的Δfur缺失突变株中, 编码T3SS ATP酶基因hrcN和T3SS外膜环蛋白基因hrcC表达量显著下调<sup>[67]</sup>。

## 4 Fur调控靶标基因的作用模式

Fur蛋白作用机制主要包括holo-Fur的“高铁抑制”和“高铁激活”、apo-Fur的“低铁激活”和“低铁抑制”、以及Fur蛋白的自调节模式<sup>[68-69]</sup> (图5, 表2)。

### 4.1 holo-Fur高铁抑制模式

holo-Fur的高铁抑制模式表现为, 当细菌体内铁离子浓度超出或达到稳定状态时, Fur与Fe<sup>2+</sup>结合作为抑制子, 结合于靶标基因的启动子区, 通过阻止RNA聚合酶与靶标基因结合, 抑制靶标基因的转录。该调控模式的典型代表为铁载体运输系统的调控过程<sup>[70]</sup>。以大肠杆菌、霍乱弧菌及枯草芽孢杆菌的铁载体合成途径为例, 当铁离子充足时, Fur通过“感应调控”金属离子结合位点S2感应胞内的Fe<sup>2+</sup>浓度, 并与Fe<sup>2+</sup>结合形成holo-Fur, holo-Fur特异性识别铁载体合成的靶标基因启动子区Fur box, 阻止RNA聚合酶与DNA结合, 从而抑制铁载体的合成, 当铁匮乏时, Fe<sup>2+</sup>从holo-Fur解离, 铁载体合成基因开始转录<sup>[70-71]</sup>。这种调节模式通常被称为典型抑制模式 (图5a), 也是目前了解最为清晰的Fur调节模式。值得注意的是, 在铜绿假单胞菌中, 虽然两种铁载体pyoverdine和pyochelin的合成都受到Fur的调控, 但低铁条件下, 一般只有pyochelin合成并发挥铁运输功能, 而pyoverdine只有在铁离子严重匮乏时才会高效生成<sup>[72]</sup>。该过程中, Fur差异性调控两种铁载体合成的作用机制尚不明确。此外, 二价铁运输系统FeoABC和游离三价铁运输系统Fpb等铁离子摄取途径的表达也会受

到 *holo-Fur* 抑制模式的调控。如在淋病奈瑟球菌 (*Neisseria gonorrhoeae*)<sup>[73]</sup> 和幽门螺杆菌<sup>[74]</sup> 中, 当铁匮乏时, Fur 会以 *apo-Fur* 状态存在, 不能与靶标基因 *feoABC* 和 *fbp* 启动子区的 Fur box 结合, *feoABC* 和 *fbp* 基因可以进行转录, 用于铁离子的运输, 相反, 当铁充足时, Fur 会以 *holo-Fur* 形式结合于 *feoABC* 和 *fbp* 的 Fur box 区域, 抑制基因转录,

阻止铁离子的摄入. 除铁代谢相关基因外, 其他一些代谢途径基因的调控也表现为 *holo-Fur* 高铁抑制模式 (表2). 如霍乱弧菌的溶血素合成基因 *hly* [75] 和外膜蛋白合成相关基因 *irgA* [76], 以及链霉菌 (*Streptomyces coelicolor*) 的过氧化氢酶基因 *catC* 等 [77] 的表达均受到 *holo-Fur* 的抑制.

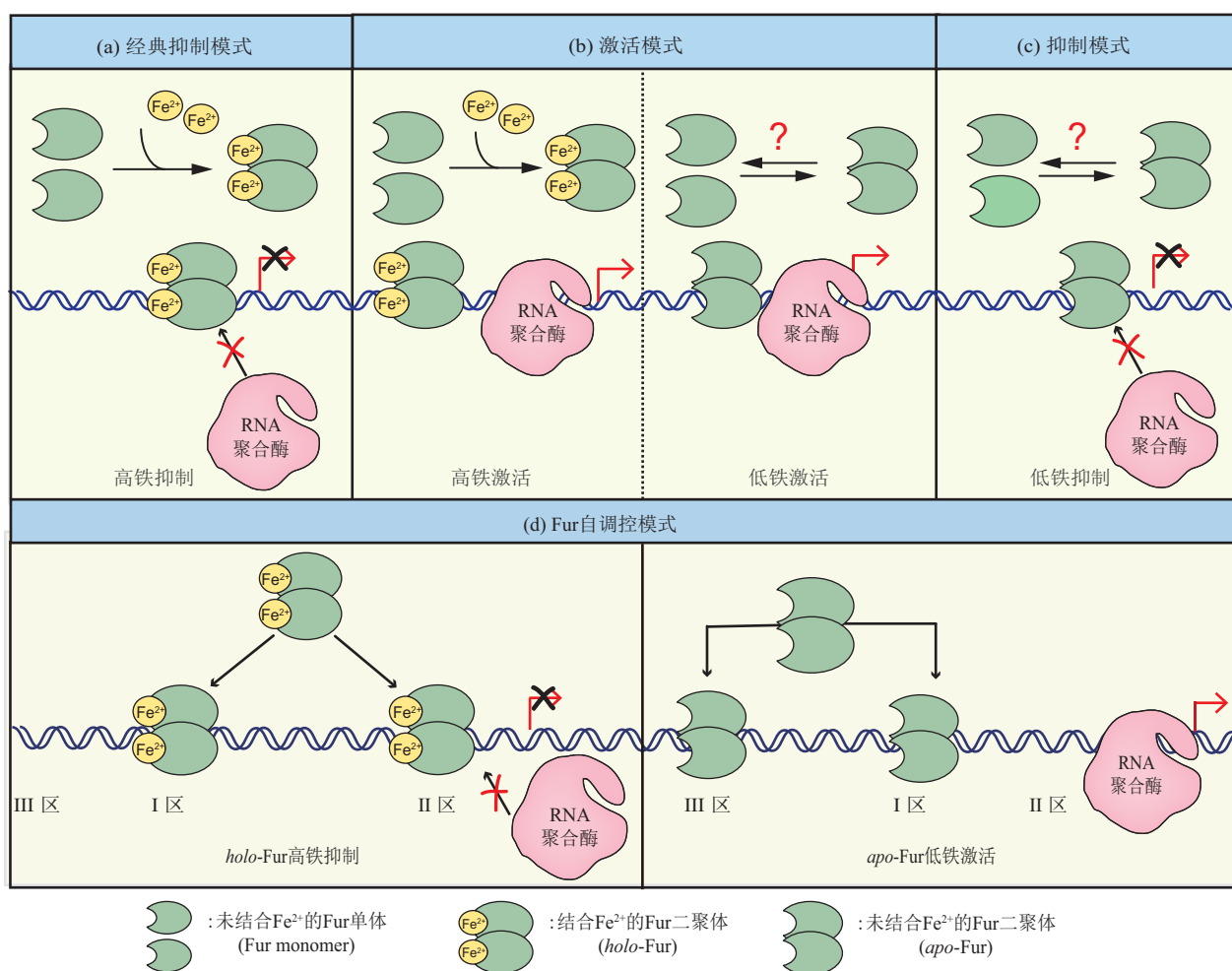


**Fig. 5** Different regulation modes of Fur<sup>[68, 70]</sup>

图5 不同Fur调控模式示意图(修改自文献[68, 70])

## 4.2 *holo*-Fur高铁激活模式

根据作用方式不同, Fur 的高铁激活方式可分为 3 类: a. sRNA 依赖的激活模式, 这种调节方式在细菌中普遍存在, 且不同细菌的 sRNA 种类会有所差异. 如在大肠杆菌中, 与 Fur 直接作用的 sRNA 主要为 RyhB, 而在铜绿假单胞菌和枯草芽孢杆菌中, 分别为 sRNA PrrF 和 FsrA 参与 Fur 的调节<sup>[78]</sup>. 该作用模式表现为: 铁匮乏状态下, sRNA 与靶标

基因的 mRNA 结合，并在伴侣蛋白及核糖核酸酶作用下将靶基因 mRNA 及 sRNA 共同降解；铁充足条件下，sRNA 的转录被 *holo-Fur* 抑制（此时为 *holo-Fur* 高铁抑制模式），使得靶基因被 *holo-Fur* 间接激活<sup>[70]</sup>。以大肠杆菌为例，*holo-Fur* 通过直接抑制 *ryhB* 的转录，间接激活过氧化氢酶基因 *sodB*<sup>[79]</sup>、顺乌头酸酶和延胡索酸酶基因 *acnA* 和 *fumA* 等<sup>[78]</sup>（表 2）。b. RNA 聚合酶招募机制

(图5b), 该模式表现为, 在铁充足时, *holo-Fur*与靶标基因启动子上游区域结合, 发出“信号”招募RNA聚合酶与启动子结合, 从而激活靶标基因的表达<sup>[70]</sup>. 如在鼠伤寒沙门氏菌中, 当铁离子充足时, *holo-Fur*结合在毒力因子*hilD*启动子上游近200 bp的Fur box区域, 招募RNA聚合酶, 启动*hilD*的转录<sup>[80]</sup>. 在幽门螺杆菌中, 体外转录分析表明一氧化氮还原酶基因*norB*, 也是以同样的方式被激活<sup>[81]</sup>. c. 反抑制子机制, 即在铁充足时, *holo-Fur*结合于DNA上的Fur box区域, 解除抑制蛋白的抑制作用. 如在大肠杆菌中, 抑制子H-NS能够与铁储存基因*ftnA*的Fur box结合, 占据RNA聚合酶结合位点, 最终表现为FtnA的铁离子储存功能受限, 但在铁充足时, *holo-Fur*通过与启动子前的Fur box区结合, 导致H-NS从启动子区移除, 从而使*ftnA*得以正常转录翻译<sup>[82]</sup> (表2).

### 4.3 *apo-Fur* 低铁作用模式

在低铁环境下, Fur无法与金属配体, 如 $\text{Fe}^{2+}$ ,

形成复合物, 即以*apo-Fur*形式存在. *apo-Fur*也可结合到靶标基因Fur box上, 阻止或招募RNA聚合酶与启动子结合, 进而发挥抑制或激活作用<sup>[68]</sup> (图5b, c). 在幽门螺杆菌中, *sodB*的调控即依赖于*apo-Fur*的低铁激活模式<sup>[83]</sup>, 这与大肠杆菌中*sodB*的调节模式截然不同. 在鼠伤寒沙门氏菌中, *apo-Fur*与铁调节蛋白基因*iro-28*启动子区域结合, 激活*iro-28*基因的表达<sup>[84]</sup>. *apo-Fur*同样也存在抑制作用模式. 与激活模式相反, *apo-Fur*与靶标DNA结合后, 通过阻止RNA聚合酶与启动子结合来抑制靶标基因的转录. 如幽门螺杆菌的储铁基因*pfr*和鞭毛蛋白基因*flaB*, 均表现为*apo-Fur*抑制模式<sup>[68]</sup>. 在空肠弯曲杆菌中, Fur对延胡索酸酶基因*Cj1364*的调控, 也可能为*apo-Fur*抑制模式<sup>[68]</sup>. 相较于*holo-Fur*的功能, 对于*apo-Fur*的了解相对较少, 其调控原理有待于进一步的研究和解析.

Table 2 Fur regulated genes and their transcriptional patterns

表2 受Fur调节的靶标基因和作用模式

| Fur作用模式            | 受Fur调节的途径        | 靶标基因             | 靶标基因的功能                                    | 来源微生物                                                          |
|--------------------|------------------|------------------|--------------------------------------------|----------------------------------------------------------------|
| <i>holo-Fur</i> 抑制 | 铁代谢途径<br>铁载体运输系统 | <i>dhbACEBF</i>  | 铁载体bacillibactin合成蛋白                       | 枯草芽孢杆菌 [46, 85-86]                                             |
|                    |                  | <i>iucA</i>      | 铁载体aerobactin合成蛋白                          | 鼠疫耶尔森菌 [87]                                                    |
|                    |                  | <i>pub</i>       | 铁载体putrebactin合成蛋白                         | 希瓦氏菌( <i>Shewanella oneidensis</i> ) <sup>[88]</sup>           |
|                    |                  | <i>vvsAB</i>     | 铁载体vulnibactin合成蛋白                         | 创伤弧菌 [63]                                                      |
|                    |                  | <i>fatDCBA</i>   | 铁载体anguibactin- $\text{Fe}^{3+}$ 复合物运输蛋白   | 鳃弧菌( <i>Vibrio anguillarum</i> ) <sup>[89]</sup>               |
|                    |                  | <i>fbpNOPQ</i>   | 铁载体petrobactin- $\text{Fe}^{3+}$ 复合物运输蛋白   | 枯草芽孢杆菌 [46]                                                    |
|                    |                  | <i>fepB/fepA</i> | 铁载体enterbactin- $\text{Fe}^{3+}$ 复合物运输蛋白   | 鼠疫耶尔森菌 [87] / 灿烂弧菌( <i>Vibrio splendidus</i> ) <sup>[90]</sup> |
|                    |                  | <i>feuABC</i>    | 铁载体bacillibactin- $\text{Fe}^{3+}$ 复合物运输蛋白 | 枯草芽孢杆菌 [46]                                                    |
|                    |                  | <i>fhuD</i>      | ferrichrome运输蛋白                            | 鼠疫耶尔森菌 [87] / 枯草芽孢杆菌 [91] / 金黄色葡萄球菌 [54]                       |
|                    |                  | <i>frp</i>       | 铁载体复合物运输蛋白                                 | 幽门螺杆菌 [74, 92]                                                 |
|                    |                  | <i>iutA</i>      | 铁载体aerobactin- $\text{Fe}^{3+}$ 复合物运输蛋白    | 灿烂弧菌 [90]                                                      |
|                    |                  | <i>putA</i>      | 铁载体putrebactin- $\text{Fe}^{3+}$ 复合物运输蛋白   | 希瓦氏菌 [88]                                                      |
|                    |                  | <i>sirABC</i>    | 铁载体streptonigrin- $\text{Fe}^{3+}$ 复合物运输蛋白 | 金黄色葡萄球菌 [54, 93]                                               |
|                    |                  | <i>sstABCD</i>   | catechol类铁载体复合物运输蛋白                        | 金黄色葡萄球菌 [54, 94-95]                                            |
|                    |                  | <i>vuuA</i>      | 铁载体vulnibactin- $\text{Fe}^{3+}$ 运输蛋白      | 创伤弧菌 [96-97]                                                   |

| 续表2     |                |                                      |                         |                                                                                                                                       |                                   |
|---------|----------------|--------------------------------------|-------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------|
| Fur作用模式 | 受Fur调节的途径      | 靶标基因                                 | 靶标基因的功能                 | 来源微生物                                                                                                                                 |                                   |
|         | 其他铁运输系统        | <i>yfeA/yfuA/yiuABC</i>              | 铁载体enterobactin合成和运输蛋白  | 鼠疫耶尔森菌 [87, 98-99]                                                                                                                    |                                   |
|         |                | <i>ceuE</i>                          | ABC型运输蛋白                | 幽门螺杆菌 [74, 92]                                                                                                                        |                                   |
|         |                | <i>efeUOB</i>                        | 铁运输系统                   | 枯草芽孢杆菌 [46]                                                                                                                           |                                   |
|         |                | <i>feo</i>                           | Fe <sup>2+</sup> 运输系统   | 喜温嗜酸硫杆菌( <i>Acidithiobacillus caldus</i> ) <sup>[100]</sup> /幽门螺杆菌 [74] /鼠疫耶尔森菌 [87]                                                  |                                   |
|         |                | <i>fecABC</i>                        | 柠檬酸铁运输系统                | 幽门螺杆菌 [74, 92] /枯草芽孢杆菌 [46]                                                                                                           |                                   |
|         |                | <i>fbpA</i>                          | 游离Fe <sup>3+</sup> 运输系统 | 奈瑟球菌 [73, 101]                                                                                                                        |                                   |
|         |                | <i>hgbA/hupA</i>                     | 血红素运输系统                 | 杜克雷嗜血杆菌( <i>Haemophilus ducreyi</i> ) <sup>[102]</sup> /创伤弧菌 [96-97]                                                                  |                                   |
|         | TonB供能系统       | <i>hmp</i>                           | 黄素血红蛋白运输蛋白              | 大肠杆菌 <sup>[103]</sup> /鼠伤寒沙门氏菌 [68, 104]                                                                                              |                                   |
|         |                | <i>tonB</i>                          | TonB系统                  | 鼠疫耶尔森菌 [87]                                                                                                                           |                                   |
|         |                | <i>exbB</i><br><i>exbB/exbD/tonB</i> |                         | 幽门螺杆菌 [74, 92]<br>空肠弯曲杆菌 <sup>[105]</sup> /鼠疫耶尔森菌 <sup>[106]</sup>                                                                    |                                   |
|         | 铁存储蛋白          | <i>bfr</i>                           | 铁存储蛋白                   | 鼠疫耶尔森菌 [87, 106]                                                                                                                      |                                   |
|         |                | <i>fri</i>                           | 储铁蛋白类蛋白                 | 单核李斯特菌 [107-108]                                                                                                                      |                                   |
|         | 调节蛋白           | <i>tbpA/B</i>                        | 转铁蛋白及乳铁蛋白受体             | 淋病奈瑟球菌 [101, 109-110]                                                                                                                 |                                   |
|         |                | <i>fur</i>                           | 铁摄取调节蛋白                 | 幽门螺杆菌 [68, 111] /淋病奈瑟球菌 <sup>[112]</sup> /链霉菌 [77]                                                                                    |                                   |
|         |                | <i>irr</i>                           | 铁应激调节蛋白                 | 慢生型大豆根瘤菌( <i>Bradyrhizobium japonicum</i> ) <sup>[113]</sup>                                                                          |                                   |
|         |                | <i>pvds</i>                          | pyoverdin合成基因激活蛋白       | 铜绿假单胞菌 [114-115]                                                                                                                      |                                   |
|         |                | <i>pchR</i>                          | pyochelin合成基因激活蛋白       | 铜绿假单胞菌 [114-115]                                                                                                                      |                                   |
| 氧化应激    | <i>ysuF</i>    | Fe <sup>3+</sup> 还原酶                 | 鼠疫耶尔森菌 [87, 98-99]      |                                                                                                                                       |                                   |
|         | 过氧化氢酶          | <i>katG</i>                          | 过氧化氢酶                   | 结核分枝杆菌( <i>Mycobacterium tuberculosis</i> ) <sup>[116]</sup> /耻垢分枝杆菌( <i>Mycobacterium smegmatis</i> ) <sup>[117]</sup> /空肠弯曲杆菌 [105] |                                   |
|         |                | <i>catC</i>                          | 过氧化氢酶                   | 链霉菌 [77]                                                                                                                              |                                   |
|         | 其他氧化应激酶类       | <i>sodA</i>                          | 超氧化物歧化酶                 | 大肠杆菌 [118-119] /铜绿假单胞菌 [120]                                                                                                          |                                   |
|         |                | <i>ahpC</i>                          | 烷基过氧化氢还原酶               | 空肠弯曲杆菌 [105]                                                                                                                          |                                   |
|         | 毒力因子           | 运动系统                                 | <i>iha</i>              | IrgA同源黏附素                                                                                                                             | 大肠杆菌 [121-122]                    |
|         |                |                                      | <i>toxA</i>             | 胞外毒素                                                                                                                                  | 铜绿假单胞菌 [115]                      |
|         |                | 胞外毒素                                 | <i>rtxAI</i>            | RTX毒素蛋白合成                                                                                                                             | 创伤弧菌 <sup>[123]</sup>             |
|         |                |                                      | <i>sltAB</i>            | 志贺类毒素合成基因                                                                                                                             | 鼠伤寒沙门氏菌 [80, 124-125] /大肠杆菌 [115] |
|         |                |                                      | 溶血素                     | <i>hly</i>                                                                                                                            | 溶血素                               |
| 分泌系统    |                | <i>clpV</i>                          | T6SS AAA+ ATP酶          | 鼠伤寒沙门氏菌 <sup>[64]</sup> /铜绿假单胞菌 [126]                                                                                                 |                                   |
|         |                | <i>hilD</i>                          | T3SS相关AraC家族调节蛋白        | 鼠伤寒沙门氏菌 [80, 125]                                                                                                                     |                                   |
| 生物被膜    | <i>hmsT</i>    | 生物被膜合成蛋白                             | 鼠疫耶尔森菌 [61]             |                                                                                                                                       |                                   |
|         | <i>hmsHFRS</i> | 生物被膜脂多糖合成蛋白                          |                         |                                                                                                                                       |                                   |

续表2

| Fur作用模式    | 受Fur调节的途径 | 靶标基因                  | 靶标基因的功能           | 来源微生物                                                                                       |
|------------|-----------|-----------------------|-------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------|
| holo-Fur激活 | 密度感应      | <i>vvpE</i>           | 弹性蛋白酶合成基因         | 创伤弧菌 <sup>[63]</sup>                                                                        |
|            |           | <i>smcR</i>           | 密度感应调节蛋白          |                                                                                             |
|            |           | <i>luxR</i>           | 密度感应调节蛋白          | 哈维氏弧菌( <i>Vibrio harveyi</i> ) <sup>[127]</sup>                                             |
|            |           | <i>LuxCDABE</i>       | 发光物质合成蛋白          |                                                                                             |
|            |           | 其他毒力因子                | <i>rfrA/B</i>     | 鼠伤寒沙门氏菌 <sup>[80, 124-125]</sup>                                                            |
|            |           |                       | <i>irgA</i>       | 霍乱弧菌 <sup>[75-76]</sup>                                                                     |
|            |           |                       | <i>cafI</i>       | 鼠疫耶尔森菌 <sup>[106]</sup>                                                                     |
|            |           |                       | <i>slyA</i>       | 鼠疫耶尔森菌 <sup>[106]</sup>                                                                     |
|            |           |                       | <i>ure</i>        | 鼠疫耶尔森菌 <sup>[106]</sup>                                                                     |
|            |           |                       |                   |                                                                                             |
|            |           |                       |                   |                                                                                             |
|            | 铁代谢途径     | 铁存储                   | <i>bfr</i>        | 大肠杆菌 (RyhB介导) <sup>[79]</sup> /                                                             |
|            |           |                       | <i>ftnA</i>       | 铜绿假单胞菌 <sup>[128]</sup>                                                                     |
|            |           |                       |                   | 鼠疫耶尔森菌 <sup>[87, 106]</sup> / 大肠杆菌 (H-NS介导) <sup>[129-130]</sup>                            |
|            |           | Fe <sup>2+</sup> 外排蛋白 | <i>pfeT</i>       | 枯草芽孢杆菌 (PerR介导) <sup>[44, 131]</sup>                                                        |
|            |           | 其它铁代谢途径               | <i>nifS</i>       | 幽门螺杆菌 <sup>[132]</sup>                                                                      |
|            |           |                       | <i>yvfW</i>       | 枯草芽孢杆菌 <sup>[44, 131]</sup>                                                                 |
|            |           |                       | <i>fur</i> (RyhB) | 大肠杆菌 <sup>[130]</sup>                                                                       |
|            | 氧化应激      | 超氧化物歧化酶               | <i>sodB</i>       | 鼠伤寒沙门氏菌 (RfrA/B介导) <sup>[125]</sup>                                                         |
|            |           |                       |                   | 铜绿假单胞菌 (PrrF介导) <sup>[128]</sup>                                                            |
|            |           |                       |                   | 大肠杆菌 (RyhB介导) <sup>[79]</sup>                                                               |
|            |           |                       |                   | 鼠疫耶尔森菌 <sup>[106]</sup>                                                                     |
|            |           | 过氧化氢酶                 | <i>katA</i>       | 铜绿假单胞菌 (PrrF介导) <sup>[128]</sup>                                                            |
|            |           |                       |                   | 鼠疫耶尔森菌 <sup>[106]</sup>                                                                     |
|            | TCA循环相关   | TCA循环                 | <i>acnA</i>       | 伯克霍尔德氏菌( <i>Burkholderia cenocepacia</i> ) (BrrF介导) <sup>[133]</sup>                        |
|            |           |                       |                   | 大肠杆菌 (RyhB介导) <sup>[78-79, 134]</sup>                                                       |
|            |           |                       | <i>sdh</i>        | 伯克霍尔德氏菌 (BrrF介导) <sup>[133]</sup>                                                           |
|            |           |                       |                   | 铜绿假单胞菌 (BrrF介导) <sup>[128]</sup>                                                            |
|            |           |                       |                   | 大肠杆菌 (RyhB介导) <sup>[78-79, 134]</sup>                                                       |
|            |           |                       |                   | 枯草芽孢杆菌 (FsrA介导) <sup>[131, 135]</sup>                                                       |
|            |           |                       | <i>fumA</i>       | 伯克霍尔德氏菌 (BrrF介导) <sup>[133]</sup>                                                           |
|            |           |                       |                   | 大肠杆菌 (RyhB介导) <sup>[78-79, 134]</sup>                                                       |
|            | 其他新陈代谢酶类  | 其他新陈代谢酶类              | <i>nou</i>        | 伯克霍尔德氏菌 (BrrF介导) <sup>[133]</sup> / 脑膜炎奈瑟菌( <i>Neisseria meningitides</i> ) <sup>[81]</sup> |
|            |           |                       |                   |                                                                                             |
|            |           |                       | <i>antABC</i>     | 铜绿假单胞菌 (BrrF介导) <sup>[128]</sup>                                                            |
|            |           |                       | <i>fdnH</i>       | 铜绿假单胞菌 (BrrF介导) <sup>[128]</sup>                                                            |
|            |           |                       | <i>gltAB</i>      | 枯草芽孢杆菌 (FsrA介导) <sup>[131, 135]</sup>                                                       |
|            |           |                       |                   |                                                                                             |
|            |           |                       | <i>leuCD</i>      | 枯草芽孢杆菌 (FsrA介导) <sup>[131, 135]</sup>                                                       |
|            |           |                       |                   |                                                                                             |
|            |           |                       | <i>napFDABC</i>   | 鼠疫耶尔森菌 <sup>[87, 106]</sup>                                                                 |
|            |           |                       | <i>norB</i>       | 脑膜炎奈瑟菌 <sup>[81]</sup>                                                                      |
| 毒力因子       | 运动系统      | <i>flhF</i>           | 鞭毛蛋白              | 幽门螺杆菌 <sup>[41]</sup>                                                                       |

续表2

| Fur作用模式   | 受Fur调节的途径      |       | 靶标基因               | 靶标基因的功能     | 来源微生物                                       |
|-----------|----------------|-------|--------------------|-------------|---------------------------------------------|
| apo-Fur抑制 | 分泌系统           |       | <i>hrcN</i>        | T3SS ATP酶合成 | 瓜类果斑病菌 [67]                                 |
|           |                |       | <i>hrcC</i>        | T3SS外膜环蛋白   |                                             |
|           | 其他             |       | <i>icsP</i>        | 外膜蛋白酶       | 志贺氏菌 [136]                                  |
|           |                |       | <i>ompU</i>        | 外膜蛋白U       | 溶藻弧菌( <i>Vibrio alginolyticus</i> ) [137]   |
|           |                |       | <i>aniA</i>        | 外膜蛋白        | 脑膜炎奈瑟菌 [68]                                 |
|           |                |       | <i>pfr</i>         | 铁储存蛋白       | 幽门螺杆菌 [138]                                 |
|           | 铁代谢途径          | 氧化应激  | <i>sodB</i>        | 超氧化物歧化酶     | 幽门螺杆菌 [83]                                  |
|           |                | TCA循环 | <i>Cj1364</i>      | 延胡索酸酶       | 空肠弯曲杆菌 [68]                                 |
|           | 毒力因子           | 运动性   | <i>flaB</i>        | 鞭毛蛋白        | 幽门螺杆菌 [41]                                  |
|           | apo-Fur激活      | 铁代谢途径 | 调控因子               | <i>fur</i>  | 幽门螺杆菌 [68, 111] /创伤弧菌 [139]                 |
| 不依赖铁      | Fur抑制          | 毒力因子  | <i>iro-28</i>      | 铁调节蛋白       | 鼠伤寒沙门氏菌 [84]                                |
|           |                |       | <i>kata</i>        | 过氧化氢酶       | 鼠疫耶尔森菌 [87]                                 |
|           | Fur激活 (调控模式未知) | 铁代谢途径 | <i>clpP</i>        | ATP依赖型蛋白酶   | 幽门螺杆菌 [41]                                  |
|           |                |       | <i>hasA</i>        | 胞外血红素结合蛋白   | 胡萝卜软腐果胶杆菌                                   |
|           | 氧化应激           | 过氧化氢酶 | <i>aed-0004132</i> | 铁氧还原蛋白      | ( <i>Pectobacterium carotovorum</i> ) [140] |
|           |                |       | <i>kata</i>        | 过氧化氢酶       | 金黄色葡萄球菌 [54]                                |
|           |                |       | <i>sodC</i>        | 超氧化物歧化酶     | 胡萝卜软腐果胶杆菌 [140]                             |
|           |                |       | <i>sodB</i>        | 超氧化物歧化酶     | 淋病奈瑟球菌 [112]                                |
|           | 毒力因子           | 运动系统  | <i>tcpA/tcpP</i>   | 菌毛合成蛋白      | 霍乱弧菌 [60, 141-143]                          |
|           |                |       | <i>flaA</i>        | 鞭毛蛋白A       | 幽门螺杆菌 [41]                                  |
|           |                |       | <i>toxT</i>        | 毒力调节因子      | 霍乱弧菌 [60, 141-143]                          |
|           |                | 胞外毒素  | <i>ctxAB</i>       | 霍乱毒素合成      |                                             |

4.4 Fur自调控

除了对非己基因调控外, Fur还存在自调控作用, 这一现象在幽门螺杆菌有着较为深入的研究. Carpenter等 [68] 在幽门螺杆菌中发现, *fur* 基因上存在3个Fur box区, Fur对3个Fur box区域亲和性的差异导致其不同Fur box区调控机制不同(图5d). 根据Fur亲和力由高到低可分为I区(-66至-34)、II区(-13至+19)和III区(-104至-87). *holo*-Fur主要与I区和II区结合, 发挥“高铁抑制”的调节机制, 而*apo*-Fur则与I区或III区结合, 通过招募更多的RNA聚合酶, 发挥“低铁激活”的作用 [68].

此外, Fur对不同细菌各毒力因子的调控方式存在很大差异. 即使是同一毒力因子, 在不同细菌中Fur对其调控方式也不尽相同(表2). 如入侵宿主的趋化性运动系统, 在创伤弧菌 [144] 和幽门螺杆菌 [145] 中, 其相关基因的转录被Fur“高铁激活”, 而在大肠杆菌中则被Fur“高铁抑制” [146], 这都导致人们至今仍无法得知Fur完整的调控网络和作用机制. 2017年, 在大肠杆菌和铜绿假单胞菌中的一些新发现进一步证实了Fur调控机制的复杂性和未知性. 如在大肠杆菌中, 研究者发现Fur对铁运输

基因的抑制效果在厌氧条件下会增强, 这是由于游离Fe<sup>2+</sup>运输系统Feo转录水平在厌氧条件下会增加, 引起胞内Fe<sup>2+</sup>浓度比好氧环境高, 据此作者推测, 厌氧条件下, *apo*-Fur可以与Fe<sup>2+</sup>结合形成更多具有活性的*holo*-Fur, 导致抑制作用加强 [147]. 在铜绿假单胞菌中, 由于无法获得Δ*fur*突变株, 作者通过在*fur*基因前插入阿拉伯糖启动子的方法来获得Δ*fur*条件突变株, 即当培养基中无阿拉伯糖时, Fur蛋白不能够表达 [148]. 研究发现, Δ*fur*条件突变株在铁充裕条件下难以形成克隆, 而铁载体自身虽然对细菌生长没有任何毒性, 但其合成基因的缺失会部分回补细菌的生长. 所以, 作者推测导致铜绿假单胞菌Δ*fur*无法获得的原因是铁载体合成基因自身而非铁载体, 但两者之间的关系尚不明确 [148].

5 前沿和展望

分子生物学和组学技术的不断发展使得人们对Fur的认识也日益清晰, 其中以其对高亲和力铁运输系统的调控机制了解得最为详尽. 然而, 随着越来越多不同种细菌, 尤其是病原菌的Fur功能被报

道, Fur多样化的调控网络这一现象也越发明显, 但其调控靶标基因的分子机制仍然存在许多未解之谜.

### 5.1 Fur识别的DNA序列是什么?

虽然Fur box被认为是预测基因是否受Fur调控的重要标准之一, 但课题组前期对海洋鱼类常见条件致病菌鳃弧菌进行转录组分析发现, 许多Fur调控的下游基因都没有保守的Fur box (占调控基因的1/3, 课题组待发表数据). 但体外电泳迁移率实验 (electrophoretic mobility shift assay, EMSA) 证实, Fur确实可以与这些非保守的DNA序列结合. 那么, 在细菌体内Fur真正识别的DNA序列到底是什么? 是否具有保守性? 如2014年在大肠杆菌中已证实, 当Fur激活和抑制靶标基因时, 其结合的DNA序列是不同的<sup>[149]</sup>. 2015年, 格瑞菲斯瓦尔德磁螺菌中更是获得了Fur与*feoAB1*启动子区DNA (非保守Fur box序列) 结合的复合物晶体结构<sup>[25]</sup>. 这些都暗示着, Fur作为一个全局性的铁摄取调控因子, 其结合的DNA序列远比我们目前得到的Fur box更为多变, 因此深入揭示Fur结合DNA序列的特性将有助于人们进一步了解Fur调节靶标基因的作用原理.

### 5.2 Fur如何精准控制不同靶标基因的转录强度?

根据文献报道和课题组前期工作均发现, Fur对不同基因的调控强度存在明显差异. 以课题组研究的鳃弧菌为例, 虽然不同铁运输途径 (如铁载体鳃弧菌素运输途径、血红素运输途径以及游离二价铁和三价铁运输途径等) 均受到Fur的直接调控, 但低铁条件下铁载体鳃弧菌素合成相关基因的表达最高可以达到高铁条件的200多倍, 而二价铁运输系统Feo和三价铁运输系统Fbp低铁条件的表达量仅为高铁条件的2~3倍 (课题组待发表数据), 这就暗示着Fur对于不同基因的调控强度是不同的, 但其作用原理目前并没有相关的解释. 我们推测, 导致其对不同基因转录强度出现差异的原因可能在于, 细菌体内Fur发挥功能的功能单位有所不同, 即对于不同靶标基因, Fur可能存在二聚体、四聚体甚至八聚体等形式. 与这个推测相一致的是, 课题组在纯化Fur的过程中发现, Fur的聚合形式是可变的, 其与NaCl的浓度息息相关 (课题组未发表数据). 此外, 也有相关文献发现, Fur确实存在除二聚体外的其他形式, 如上文提到的格瑞菲斯瓦尔德磁螺菌*holo-MgFur*与*feoAB1*启动子区DNA结合时, 解析的最小功能单位为二聚体, 而当其与

铜绿假单胞菌来源的Fur box结合时, 复合体结构呈现四聚体形式<sup>[25]</sup> (图3a, b), 这同样暗示着Fur可能会通过调节Fur单体的数量来精准控制靶标基因的转录强度. 另一方面, 靶标基因启动子区Fur结合位点的差异也可能是引起转录强度差异的原因之一. 此外, Fur调节强度还可能受其他因素的影响, 如上文提到的, 在厌氧条件下大肠杆菌二价铁运输基因*feo*表达量增加, 进而引起胞内 $\text{Fe}^{2+}$ 浓度提高, 使Fur二聚体合成量增加<sup>[147]</sup>. 最新的研究发现, 在铁匮乏条件下, 大肠杆菌鞭毛表达抑制因子YdiV的表达量会明显增加, 并促使脯氨酸顺/反异构酶SlyD催化Fur蛋白DNA结合结构域中第18位的脯氨酸异构化, 进而导致Fur丧失与DNA结合的能力<sup>[150]</sup>. 该调控机制颠覆了人们对原有Fur调控机制的认知, 即Fur对下游靶标基因的调节并不依赖于其与 $\text{Fe}^{2+}$ 的结合, 进而可以保证细菌在真正缺铁之前Fur即可与DNA解离, 提高铁运输基因的表达, 从而有效增加铁的吸收.

此外, 虽然发现Fur与许多病原菌的毒性相关, *fur*基因的缺失会导致细菌致病性降低, 但由于宿主体内环境复杂且监测相对困难, Fur在宿主-病原菌互作中是如何发挥作用, 以及在宿主体内对不同毒力因子的调控是否具有时序性等问题仍然没有解决. 同时, 虽然不同来源 $\Delta fur$ 突变株的研究均表明*fur*似乎并不是细菌生长的必需基因, 但在许多细菌, 如常见病原菌的铜绿假单胞菌中<sup>[148]</sup>, *fur*基因的敲除仍然不可实现, 但*fur*基因条件缺失后却并没有对铜绿假单胞菌造成致命的威胁, 这也使我们产生一个疑问, Fur蛋白在某个 (些) 细菌中难以缺失的原因是什么, 其是否存在其他一些未知而关键的功能尚未发现. 课题组前期经过大量的尝试, 发现铁载体合成相关基因的表达会严重阻碍*fur*基因的缺失 (课题组待发表数据), 该现象在铜绿假单胞菌中同样存在<sup>[148]</sup>, 但作用原理尚不明确. 另外, Fur作为细菌相对保守的环境感应调控因子, 能够控制诸多毒力因子的表达, 未来我们可以尝试针对病原菌Fur的特殊位点来设计相关的药物, 通过抑制病原菌的生长进而实现疾病的治疗.

## 参 考 文 献

- [1] Pinochet-Barros A, Helmann J D. Redox sensing by  $\text{Fe}^{2+}$  in bacterial Fur family metalloregulators. *Antioxid Redox Signal*, 2018, **29**(18):1858-1871
- [2] Wyckoff E E, Mey A R, Leimbach A, et al. Characterization of ferric and ferrous iron transport systems in *Vibrio cholerae*. *J*

- Bacteriol, 2006, **188**(18):6515-6523
- [3] Schwiesow L, Mettert E, Wei Y, *et al.* Control of *hmu* heme uptake genes in *Yersinia pseudotuberculosis* in response to iron sources. Front Cell Infect Microbiol, 2018, **8**:47
- [4] Lau C K, Krewulak K D, Vogel H J. Bacterial ferrous iron transport: the Feo system. FEMS Microbiol Rev, 2016, **40**(2): 273-298
- [5] Andrews S C, Robinson A K, Rodríguez-Quinones F. Bacterial iron homeostasis. FEMS Microbiol Rev, 2003, **27**(2-3):215-237
- [6] Payne S M, Mey A R, Wyckoff E E. *Vibrio* iron transport: evolutionary adaptation to life in multiple environments. Microbiol Mol Biol Rev, 2016, **80**(1):69-90
- [7] Palmer L D, Skaar E P. Transition metals and virulence in bacteria. Annu Rev Genet, 2016, **50**:67-91
- [8] Lee H N, Ji C J, Lee H H, *et al.* Roles of three FurA paralogs in the regulation of genes pertaining to peroxide defense in *Mycobacterium smegmatis* mc<sup>2</sup> 155. Mol Microbiol, 2018, **108**(6): 661-682
- [9] Kim M, Hwang S, Ryu S, *et al.* Regulation of *perR* expression by iron and PerR in *Campylobacter jejuni*. J Bacteriol, 2011, **193**(22): 6171-6178
- [10] Rudolph G, Hennecke H, Fischer H M. Beyond the Fur paradigm: iron-controlled gene expression in rhizobia. FEMS Microbiol Rev, 2006, **30**(4):631-648
- [11] Fillat M F. The FUR (ferric uptake regulator) superfamily: diversity and versatility of key transcriptional regulators. Arch Biochem Biophys, 2014, **546**:41-52
- [12] Lee J W, Helmann J D. Functional specialization within the Fur family of metalloregulators. Biometals, 2007, **20**(3-4):485-499
- [13] Petzer S I, Hantke K. The ZnuABC high-affinity zinc uptake system and its regulator Zur in *Escherichia coli*. Mol Microbiol, 1998, **28**(6):1199-1210
- [14] Gabl A, Helmann J D. Identification of a zinc-specific metalloregulatory protein, Zur, controlling zinc transport operons in *Bacillus subtilis*. J Bacteriol, 1998, **180**(22):5815-5821
- [15] Menscher E A, Caswell C C, Anderson E S, *et al.* Mur regulates the gene encoding the manganese transporter MntH in *Brucella abortus* 2308. J Bacteriol, 2012, **194**(3):561-566
- [16] Bellini P, Hemmings A M. *In vitro* characterization of a bacterial manganese uptake regulator of the Fur superfamily. Biochemistry, 2006, **45**(8):2686-2698
- [17] Kim H M, Ahn B E, Lee J H, *et al.* Regulation of a nickel-cobalt efflux system and nickel homeostasis in a soil actinobacterium *Streptomyces coelicolor*. Metallomics, 2015, **7**(4):702-709
- [18] Mulrooney S B, Hausinger R P. Nickel uptake and utilization by microorganisms. FEMS Microbiol Rev, 2003, **27**(2-3):239-261
- [19] Sarvan S, Butcher J, Stintzi A, *et al.* Variation on a theme: investigating the structural repertoires used by ferric uptake regulators to control gene expression. Biometals, 2018, **31**(5): 681-704
- [20] Dubbs J M, Mongkolsuk S. Peroxide-sensing transcriptional regulators in bacteria. J Bacteriol, 2012, **194**(20):5495-5503
- [21] Chandrangsu P, Rensing C, Helmann J D. Metal homeostasis and resistance in bacteria. Nat Rev Microbiol, 2017, **15**(6):338-350
- [22] Nader S, Perard J, Carpentier P, *et al.* New insights into the tetrameric family of the Fur metalloregulators. Biometals, 2019, **32**(3):501-519
- [23] Baksh K A, Zamble D B. Allosteric control of metal-responsive transcriptional regulators in bacteria. J Biol Chem, 2020, **295**(6): 1673-1684
- [24] Dian C, Vitale S, Leonard G A, *et al.* The structure of the *Helicobacter pylori* ferric uptake regulator Fur reveals three functional metal binding sites. Mol Microbiol, 2011, **79**(5): 1260-1275
- [25] Deng Z, Wang Q, Liu Z, *et al.* Mechanistic insights into metal ion activation and operator recognition by the ferric uptake regulator. Nat Commun, 2015, **6**:7642
- [26] Sheikh M A, Taylor G L. Crystal structure of the *Vibrio cholerae* ferric uptake regulator (Fur) reveals insights into metal coordination. Mol Microbiol, 2009, **72**(5):1208-1220
- [27] Butcher J, Sarvan S, Brunzelle J S, *et al.* Structure and regulon of *Campylobacter jejuni* ferric uptake regulator Fur define *apo*-Fur regulation. Proc Natl Acad Sci USA, 2012, **109**(25):10047-10052
- [28] Sarvan S, Charif F, Askoura M, *et al.* Functional insights into the interplay between DNA interaction and metal coordination in ferric uptake regulators. Sci Rep, 2018, **8**(1):7140
- [29] Ma Z, Faulkner M J, Helmann J D. Origins of specificity and cross-talk in metal ion sensing by *Bacillus subtilis* Fur. Mol Microbiol, 2012, **86**(5):1144-1155
- [30] He X, Liao X, Li H, *et al.* Bismuth-induced inactivation of ferric uptake regulator from *Helicobacter pylori*. Inorg Chem, 2017, **56**(24):15041-15048
- [31] Gilston B A, Wang S, Marcus M D, *et al.* Structural and mechanistic basis of zinc regulation across the *E. coli* Zur regulon. Plos Biol, 2014, **12**(11):e1001987
- [32] Perard J, Nader S, Levert M, *et al.* Structural and functional studies of the metalloregulator Fur identify a promoter-binding mechanism and its role in *Francisella tularensis* virulence. Commun Biol, 2018, **1**:93
- [33] Porcheron G, Dozois C M. Interplay between iron homeostasis and virulence: Fur and RyhB as major regulators of bacterial pathogenicity. Vet Microbiol, 2015, **179**(1-2):2-14
- [34] Bagg A, Neilands J B, Ernst J F, Bennett R L, Rothfield L I. Molecular mechanism of regulation of siderophore-mediated Iron assimilation. Microbiol Rev, 1987, **51**(4):509-518
- [35] Jf E, Rl B, Li R. Constitutive expression of the iron-enterochelin and ferrichrome uptake systems in a mutant strain of *Salmonella typhimurium*. J Bacteriol, 1978, **135**(3):928-934
- [36] Li Y, M Q. Iron acquisition strategies of *Vibrio anguillarum*. Front Cell Infect Microbiol, 2017, **7**:342
- [37] Frawley E R, Fang F C. The ins and outs of bacterial iron metabolism. Mol Microbiol, 2014, **93**(4):609-616
- [38] Pi H, Helmann J D. Ferrous iron efflux systems in bacteria. Metallomics, 2017, **9**(7):840-851

- [39] Garenaux A, Caza M, Dozois C M. The Ins and outs of siderophore mediated iron uptake by extra-intestinal pathogenic *Escherichia coli*. Vet Microbiol, 2011, **153**(1-2):89-98
- [40] Wyckoff E E, Allred B E, Raymond K N, *et al.* Catechol siderophore transport by *Vibrio cholerae*. J Bacteriol, 2015, **197**(17):2840-2849
- [41] Lee H W, Choe Y H, Kim D K, *et al.* Proteomic analysis of a ferric uptake regulator mutant of *Helicobacter pylori*: regulation of *Helicobacter pylori* gene expression by ferric uptake regulator and iron. Proteomics, 2004, **4**(7):2014-2027
- [42] Bereswill S, Greiner S, van Vliet A H, *et al.* Regulation of ferritin-mediated cytoplasmic iron storage by the ferric uptake regulator homolog (Fur) of *Helicobacter pylori*. J Bacteriol, 2000, **182**(21):5948-5953
- [43] Smith A T, Smith K P, Rosenzweig A C. Diversity of the metal-transporting P1B-type ATPases. J Biol Inorg Chem, 2014, **19**(6):947-960
- [44] Pinochet Barros A, Helmann J D. *Bacillus subtilis* Fur is a transcriptional activator for the PerR-repressed *pfeT* gene, encoding an iron efflux pump. J Bacteriol, 2020, **202**(8):e00697-00619
- [45] Guan G, Pinochet-Barros A, Gaballa A, *et al.* PfeT, a P1B4 -type ATPase, effluxes ferrous iron and protects *Bacillus subtilis* against iron intoxication. Mol Microbiol, 2015, **98**(4):787-803
- [46] Pi H, Helmann J D. Sequential induction of Fur-regulated genes in response to iron limitation in *Bacillus subtilis*. Proc Natl Acad Sci USA, 2017, **114**(48):12785-12790
- [47] Fontenot C R, Tasnim H, Valdes K A, *et al.* Ferric uptake regulator (Fur) reversibly binds a [2Fe-2S] cluster to sense intracellular iron homeostasis in *Escherichia coli*. J Biol Chem, 2020, **295**(46):15454-15463
- [48] Moore C M, Helmann J D. Metal ion homeostasis in *Bacillus subtilis*. Curr Opin Microbiol, 2005, **8**(2):188-195
- [49] Lopez-Gomollon S, Sevilla E, Bes M T, *et al.* New insights into the role of Fur proteins: FurB (AII2473) from *Anabaena* protects DNA and increases cell survival under oxidative stress. Biochem J, 2009, **418**(1):201-207
- [50] Dubrac S, Touati D. Fur positive regulation of iron superoxide dismutase in *Escherichia coli*: functional analysis of the *sodB* promoter. J Bacteriol, 2000, **182**(13):3802-3808
- [51] Cosgrove K, Coutts G, Jonsson I M, *et al.* Catalase (KatA) and alkyl hydroperoxide reductase (AhpC) have compensatory roles in peroxide stress resistance and are required for survival, persistence, and nasal colonization in *Staphylococcus aureus*. J Bacteriol, 2007, **189**(3):1025-1035
- [52] Hussain R M, Abdullah N F, Amom Z. Killing of *Staphylococcus aureus* by allylpyrocatechol is potentiated by induction of intracellular oxidative stress and inhibition of catalase activity. J Integr Med, 2016, **14**(6):456-464
- [53] Cooper B, Islam N, Xu Y, *et al.* Quantitative proteomic analysis of *Staphylococcus aureus* treated with punicalagin, a natural antibiotic from pomegranate that disrupts iron homeostasis and Induces SOS. Proteomics, 2018, **18**(9):e1700461
- [54] Horsburgh M J, Ingham E, Foster S J. In *Staphylococcus aureus*, Fur is an interactive regulator with PerR, contributes to virulence, and is necessary for oxidative stress resistance through positive regulation of catalase and iron homeostasis. J Bacteriol, 2001, **183**(2):468-475
- [55] Price E E, Boyd J M. Genetic regulation of metal ion homeostasis in *Staphylococcus aureus*. Trends Microbiol, 2020, **28**(10):821-831
- [56] Akram M. Citric acid cycle and role of its intermediates in metabolism. Cell Biochem Biophys, 2014, **68**(3):475-478
- [57] Ajiboye T O, Skiebe E, Willharm G. Contributions of ferric uptake regulator Fur to the sensitivity and oxidative response of *Acinetobacter baumannii* to antibiotics. Microb Pathog, 2018, **119**:35-41
- [58] Masse E, Vanderpool C K, Gottesman S. Effect of RyhB small RNA on global iron use in *Escherichia coli*. J Bacteriol, 2005, **187**(20):6962-6971
- [59] Wing H J, Yan A W, Goldman S R, *et al.* Regulation of IcsP, the outer membrane protease of the *Shigella* actin tail assembly protein IcsA, by virulence plasmid regulators VirF and VirB. J Bacteriol, 2004, **186**(3):699-705
- [60] Gao H, Zhang J, Lou J, *et al.* Direct binding and regulation by Fur and HapR of the intermediate regulator and virulence factor genes within the ToxR virulence regulon in *Vibrio cholerae*. Front Microbiol, 2020, **11**:709
- [61] Sun F, Gao H, Zhang Y, *et al.* Fur is a repressor of biofilm formation in *Yersinia pestis*. Plos One, 2012, **7**(12):e52392
- [62] Huang S H, Wang C K, Peng H L, *et al.* Role of the small RNA RyhB in the Fur regulon in mediating the capsular polysaccharide biosynthesis and iron acquisition systems in *Klebsiella pneumoniae*. BMC Microbiol, 2012, **12**:148
- [63] Kim I H, Wen Y, Son J S, *et al.* The Fur-iron complex modulates expression of the quorum-sensing master regulator, SmcR, to control expression of virulence factors in *Vibrio vulnificus*. Infect Immun, 2013, **81**(8):2888-2898
- [64] Wang S, Yang D, Wu X, *et al.* The ferric uptake regulator represses type VI secretion system function by binding directly to the *clpV* promoter in *Salmonella enterica* serovar Typhimurium. Infect Immun, 2019, **87**(10):e00562-00519
- [65] Zoued A, Brunet Y R, Durand E, *et al.* Architecture and assembly of the type VI secretion system. Biochim Biophys Acta, 2014, **1843**(8):1664-1673
- [66] Brunet Y R, Bernard C S, Cascales E. Fur-Dam regulatory interplay at an Internal promoter of the enteroaggregative *Escherichia coli* type VI secretion *scil* gene cluster. J Bacteriol, 2020, **202**(10):e00075-00020
- [67] Liu J, Tian Y, Zhao Y, *et al.* Ferric uptake regulator (FurA) is required for *Acidovorax citrulli* virulence on watermelon. Phytopathology, 2019, **109**(12):1997-2008
- [68] Carpenter B M, Whitmire J M, Merrell D S. This is not your mother's repressor: the complex role of Fur in pathogenesis. Infect

- Immun, 2009, **77**(7):2590-2601
- [69] Yu C, Genco C A. Fur-mediated global regulatory circuits in pathogenic *Neisseria* species. *J Bacteriol*, 2012, **194**(23): 6372-6381
- [70] Troxell B H H. Transcriptional regulation by ferric uptake regulator (Fur) in pathogenic bacteria. *Front Cell Infect Microbiol*, 2013, **3**:59
- [71] Di Lorenzo M, Stork M. Plasmid-encoded iron uptake systems. *Microbiol Spectr*, 2014, **2**(6): 26104436 (DOI: 10.1128/microbiolspec.PLAS-0030-2014)
- [72] Dumas Z, Ross-Gillespie A, Kummerli R. Switching between apparently redundant iron-uptake mechanisms benefits bacteria in changeable environments. *Proc Biol Sci*, 2013, **280**(1764): 20131055
- [73] Desai P J, Angerer A, Genco C A. Analysis of Fur binding to operator sequences within the *Neisseria gonorrhoeae* *fbpA* promoter. *J Bacteriol*, 1996, **178**(16):5020-5023
- [74] van Vliet A H M, Stoof J, Vlasblom R, *et al.* The role of the ferric uptake regulator (Fur) in regulation of *Helicobacter pylori* iron uptake. *Helicobacter*, 2002, **7**(4):237-244
- [75] Stoeber J A, Payhe S M. Iron-regulated hemolysin production and utilization of heme and hemoglobin by *Vibrio cholerae*. *Infect Immun*, 1988, **56**(11): 2891-2895
- [76] Mey A R, Wyckoff E E, Oglesby A G, *et al.* Identification of the *Vibrio cholerae* enterobactin receptors VctA and IrgA: IrgA is not required for virulence. *Infect Immun*, 2002, **70**(7):3419-3426
- [77] Hahn J S, Oh S Y, Roe J H. Regulation of the *furA* and *catC* operon, encoding a ferric uptake regulator homologue and catalase-peroxidase, respectively, in *Streptomyces coelicolor* A3(2). *J Bacteriol*, 2000, **182**(13):3767-3774
- [78] Hoe C H, Raabe C A, Rozhdetsvensky T S, *et al.* Bacterial sRNAs: regulation in stress. *Int J Med Microbiol*, 2013, **303**(5):217-229
- [79] Massé E G S. A small RNA regulates the expression of genes involved in iron metabolism in *Escherichia coli*. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2002, **99**(7):4620-4625
- [80] Teixeira L, Carrasco B, Alonso J C, *et al.* Fur activates the expression of *Salmonella enterica* pathogenicity island 1 by directly interacting with the *hilD* operator *in vivo* and *in vitro*. *Plos One*, 2011, **6**(5):e19711
- [81] Delany I, Rappuoli R, Scarlato V. Fur functions as an activator and as a repressor of putative virulence genes in *Neisseria meningitidis*. *Mol Microbiol*, 2004, **52**(4):1081-1090
- [82] Nandal A, Huggins C C, Woodhall M R, *et al.* Induction of the ferritin gene (*ftnA*) of *Escherichia coli* by Fe<sup>2+</sup>-Fur is mediated by reversal of H-NS silencing and is RyhB independent. *Mol Microbiol*, 2010, **75**(3):637-657
- [83] Ernst F D, Homuth G, Stoof J, *et al.* Iron-responsive regulation of the *Helicobacter pylori* iron-cofactored superoxide dismutase SodB is mediated by Fur. *J Bacteriol*, 2005, **187**(11):3687-3692
- [84] Hall H K, Foster J W. The role of Fur in the acid tolerance response of *Salmonella typhimurium* is physiologically and genetically separable from its role in iron acquisition. *J Bacteriol*, 1996, **178**(19):5683-5691
- [85] Bsat N, Helmann J D. Interaction of *Bacillus subtilis* Fur (Ferric Uptake Repressor) with the *dhb* operator *in vitro* and *in vivo*. *J Bacteriol*, 1999, **181**(14):4299-4307
- [86] Bsat N, Herbig A, Casillas-Martinez L, *et al.* *Bacillus subtilis* contains multiple Fur homologues: identification of the iron uptake (Fur) and peroxide regulon (PerR) repressors. *Mol Microbiol*, 1998, **29**(1):189-198
- [87] Gao H, Zhou D, Li Y, *et al.* The iron-responsive Fur regulon in *Yersinia pestis*. *Journal of Bacteriology*, 2008, **190**(8):3063-3075
- [88] Liu L, Li S, Wang S, *et al.* Complex iron uptake by the putrebactin-mediated and Feo systems in *Shewanella oneidensis*. *Appl Environ Microbiol*, 2018, **84**(20): e01752-18
- [89] Stork M, Loreno M, Welch T J, *et al.* Transcription termination within the iron transport-biosynthesis operon of *Vibrio anguillarum* requires an antisense RNA. *J Bacteriol*, 2007, **189**(9): 3479-3488
- [90] Song T, Liu H, Lv T, *et al.* Characteristics of the iron uptake-related process of a pathogenic *Vibrio splendidus* strain associated with massive mortalities of the sea cucumber *Apostichopus japonicus*. *J Invertebr Pathol*, 2018, **155**:25-31
- [91] Schneider R, Hantke K. Iron-hydroxamate uptake systems in *Bacillus subtilis*: identification of a lipoprotein as part of a binding protein-dependent transport system. *Mol Microbiol*, 1993, **8**(1): 111-121
- [92] Delany I, Ieva R, Soragni A, *et al.* *In vitro* analysis of protein-operator interactions of the NikR and Fur metal-responsive regulators of coregulated genes in *Helicobacter pylori*. *J Bacteriol*, 2005, **187**(22):7703-7715
- [93] Dale S F, Sebulsky M T, Heinrichs D E. Involvement of SirABC in iron-siderophore import in *Staphylococcus aureus*. *J Bacteriol*, 2004, **186**(24):8356-8362
- [94] Morrissey J A, Cockayne A, Hill P J, *et al.* Molecular cloning and analysis of a putative siderophore ABC transporter from *Staphylococcus aureus*. *Infect Immun*, 2000, **68**(11):6281-6288
- [95] Beasley F C, Marolda C L, Cheung J, *et al.* *Staphylococcus aureus* transporters Hts, Sir, and Sst capture iron liberated from human transferrin by Staphyloferrin A, Staphyloferrin B, and catecholamine stress hormones, respectively, and contribute to virulence. *Infect Immun*, 2011, **79**(6):2345-2355
- [96] Litwin C M, Byrne B L. Cloning and characterization of an outer membrane protein of *Vibrio vulnificus* required for heme utilization: regulation of expression and determination of the gene sequence. *Infect Immun*, 1998, **66**(7):3134-3141
- [97] Webster A C, Litwin C M. Cloning and characterization of *vuuA*, a gene encoding the *Vibrio vulnificus* ferric vulnibactin receptor. *Infect Immun*, 2000, **68**(2):526-534
- [98] Kirillina O, Bobrov A G, Fetherston J D, *et al.* Hierarchy of iron uptake systems: Yfu and Yiu are functional in *Yersinia pestis*. *Infect Immun*, 2006, **74**(11):6171-6178
- [99] Radka C D, Chen D, Delucas L J, *et al.* The crystal structure of the *Yersinia pestis* iron chaperone YiuA reveals a basic triad binding

- motif for the chelated metal. *Acta Crystallogr D Struct Biol*, 2017, **73**(11):921-939
- [100] Chen X K, Li X Y, Ha Y F, *et al.* Ferric uptake regulator provides a new strategy for acidophile adaptation to acidic ecosystems. *Appl Environ Microbiol*, 2020, **86**(11): e00268-20
- [101] Agarwal S, King C A, Klein E K, *et al.* The *gonococcal* Fur-regulated *tbpA* and *tbpB* genes are expressed during natural mucosal *gonococcal* infection. *Infect Immun*, 2005, **73**(7): 4281-4287
- [102] Carson S D, Thomas C E, Elkins C. Cloning and sequencing of a *Haemophilus ducreyi* fur homolog. *Gene*, 1996, **176**(1-2):125-129
- [103] D'autreaux B, Touati D, Bersch B, *et al.* Direct inhibition by nitric oxide of the transcriptional ferric uptake regulation protein via nitrosylation of the iron. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2002, **99**(26): 16619-16624
- [104] Crawford M J, Goldberg D E. Regulation of the *Salmonella typhimurium* flavohemoglobin gene. *J Biol Chem* 1998, **273**(51): 34028-34032
- [105] Holmes K, Mulholland F, Pearson B M, *et al.* *Campylobacter jejuni* gene expression in response to iron limitation and the role of Fur. *Microbiology* 2005, **151**(Pt 1):243-257
- [106] Zhou D, Qin L, Han Y, *et al.* Global analysis of iron assimilation and fur regulation in *Yersinia pestis*. *FEMS Microbiol Lett*, 2006, **258**(1):9-17
- [107] Fiorini F, Stefanini S, Valenti P, *et al.* Transcription of the *Listeria monocytogenes* *fri* gene is growth-phase dependent and is repressed directly by Fur, the ferric uptake regulator. *Gene*, 2008, **410**(1):113-121
- [108] Newton S M, Klebba P E, Raynaud C, *et al.* The *svpA-srtB* locus of *Listeria monocytogenes*: Fur-mediated iron regulation and effect on virulence. *Mol Microbiol*, 2005, **55**(3):927-940
- [109] Cornelissen C N, Anderson J E, Boulton I C, *et al.* Antigenic and sequence diversity in gonococcal transferrin-binding protein A. *Infect Immun*, 2000, **68**(8):4725-4735
- [110] Cornelissen C N, Anderson J E, Sparling P F. Characterization of the diversity and the transferrin-binding domain of *gonococcal* transferrin-binding protein 2. *Infect Immun*, 1997, **65**(2):822-828
- [111] Delany I, Spohn G, Rappuoli R, *et al.* An anti-repression Fur operator upstream of the promoter is required for iron-mediated transcriptional autoregulation in *Helicobacter pylori*. *Mol Microbiol*, 2003, **50**(4):1329-1338
- [112] Sebastian S, Agarwal S, Murphy J R, *et al.* The *gonococcal* Fur regulon: identification of additional genes involved in major catabolic, recombination, and secretory pathways. *J Bacteriol*, 2002, **184**(14):3965-3974
- [113] Friedman Y E, O'brian M R. A novel DNA-binding site for the ferric uptake regulator (Fur) protein from *Bradyrhizobium japonicum*. *J Biol Chem*, 2003, **278**(40):38395-38401
- [114] Ochsner U A, Vasil A I, Vasil M L. Role of the ferric uptake regulator of *Pseudomonas aeruginosa* in the regulation of siderophores and exotoxin A expression: purification and activity on iron-regulated promoters. *J Bacteriol*, 1995, **177**(24): 7194-7201
- [115] Li W, Lyte M, Freestone P P, *et al.* Norepinephrine represses the expression of *tox A* and the siderophore genes in *Pseudomonas aeruginosa*. *FEMS Microbiol Lett*, 2009, **299**(1):100-109
- [116] Pym A S, Domenech P, Honoré N, *et al.* Regulation of catalase-peroxidase (KatG) expression, isoniazid sensitivity and virulence by FurA of *Mycobacterium tuberculosis*. *Mol Microbiol*, 2001, **40**(4):879-889
- [117] Zahrt T C, Song J, Siple J, *et al.* Mycobacterial FurA is a negative regulator of catalase-peroxidase gene *katG*. *Mol Microbiol*, 2001, **39**(5):1174-1185
- [118] Compan I, Touati D. Interaction of six global transcription regulators in expression of manganese superoxide dismutase in *Escherichia coli* K-12. *J Bacteriol*, 1993, **175**(6):1687-1696
- [119] Fee J A. Regulation of sod genes in *Escherichia coli*: relevance to superoxide dismutase function. *Mol Microbiol*, 1991, **5**(11): 2599-2610
- [120] Hassett D J, Howell M L, Ochsner U A, *et al.* An operon containing *fumC* and *sodA* encoding fumarase C and manganese superoxide dismutase is controlled by the ferric uptake regulator in *Pseudomonas aeruginosa*: fur mutants produce elevated alginate levels. *J Bacteriol*, 1997, **179**(5):1452-1459
- [121] Calderwood S B, Mekalanos J J. Iron regulation of Shiga-like toxin expression in *Escherichia coli* is mediated by the fur locus. *J Bacteriol*, 1987, **169**(10):4759-4764
- [122] Rashid R A, Tarr P I, Moseley S L. Expression of the *Escherichia coli* IrgA homolog adhesin is regulated by the ferric uptake regulation protein. *Microb Pathog*, 2006, **41**(6):207-217
- [123] Kwak J S, Jeong H G, Satchell K J F. *Vibrio vulnificus* *rtxA1* gene recombination generates toxin variants with altered potency during intestinal infection. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2011, **108**(4): 1645-1650
- [124] Ikeda J S, Janakiraman A, Kehres D G, *et al.* Transcriptional regulation of *sitABCD* of *Salmonella enterica* serovar *Typhimurium* by MntR and Fur. *J Bacteriol*, 2005, **187**(3):912-922
- [125] Ellermeier J R, Slauch J M. Fur regulates expression of the *Salmonella* pathogenicity island 1 type III secretion system through HilD. *J Bacteriol*, 2008, **190**(2):476-486
- [126] Sana T G, Hachani A, Bucior I, *et al.* The second type VI secretion system of *Pseudomonas aeruginosa* strain PAO1 is regulated by quorum sensing and Fur and modulates internalization in epithelial cells. *J Biol Chem*, 2012, **287**(32):27095-27105
- [127] Ball A S, van Kessel J C. The master quorum-sensing regulators LuxR/HapR directly interact with the alpha subunit of RNA polymerase to drive transcription activation in *Vibrio harveyi* and *Vibrio cholerae*. *Mol Microbiol*, 2019, **111**(5):1317-1334
- [128] Wilderman P J, Sowa N A, Fitzgerald D J, *et al.* Identification of tandem duplicate regulatory small RNAs in *Pseudomonas aeruginosa* involved in iron homeostasis. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2004, **101**(26):9792-9797
- [129] Nandal A, Huggins C C, Woodhall M R, *et al.* Induction of the ferritin gene (*fina*) of *Escherichia coli* by Fe<sup>(2+)</sup>-Fur is mediated by

- reversal of H-NS silencing and is RyhB independent. *Mol Microbiol*, 2010, **75**(3):637-657
- [130] Vecerek B, Moll I, Blasi U. Control of Fur synthesis by the non-coding RNA RyhB and iron-responsive decoding. *EMBO J*, 2007, **26**(4):965-975
- [131] Gaballa A, Antelmann H, Aguilar C, *et al.* The *Bacillus subtilis* iron-sparing response is mediated by a Fur-regulated small RNA and three small, basic proteins. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2008, **105**(33):11927-11932
- [132] Alamuri P, Mehta N, Burk A, *et al.* Regulation of the *Helicobacter pylori* Fe-S cluster synthesis protein NifS by iron, oxidative stress conditions, and Fur. *J Bacteriol*, 2006, **188**(14):5325-5330
- [133] Sass A M, Coenye T. Low iron-induced small RNA BrrF regulates central metabolism and oxidative stress responses in *Burkholderia cenocepacia*. *Plos One*, 2020, **15**(7):e0236405
- [134] Braun V. Iron uptake by *Escherichia coli*. *Front Biosci*, 2003, **8**:s1409-1421
- [135] Smaldone G T, Revelles O, Gaballa A, *et al.* A global investigation of the *Bacillus subtilis* iron-sparing response identifies major changes in metabolism. *J Bacteriol*, 2012, **194**(10):2594-2605
- [136] Africa L A, Murphy E R, Egan N R, *et al.* The iron-responsive Fur/RyhB regulatory cascade modulates the *Shigella* outer membrane protease IcsP. *Infect Immun*, 2011, **79**(11):4543-4549
- [137] Lv T, Dai F, Zhuang Q, *et al.* Outer membrane protein OmpU is related to iron balance in *Vibrio alginolyticus*. *Microbiol Res*, 2020, **230**:126350
- [138] Delany I S G, Rappuoli R, Scarlato V. The Fur repressor controls transcription of iron-activated and -repressed genes in *Helicobacter pylori*. *Mol Microbiol*, 2001, **42**(5):1297-1309
- [139] Lee H J, Bang S H, Lee K H, *et al.* Positive regulation of *fur* gene expression via direct interaction of Fur in a pathogenic bacterium, *Vibrio vulnificus*. *J Bacteriol*, 2007, **189**(7):2629-2636
- [140] Tanui C K, Shyntum D Y, Priem S L, *et al.* Influence of the ferric uptake regulator (Fur) protein on pathogenicity in *Pectobacterium carotovorum* subsp. *brasiliense*. *Plos One*, 2017, **12**(5):e0177647
- [141] Iredell J R, Manning P A. Biotype-specific *tcpA* genes in *Vibrio cholerae*. *FEMS Microbiol Lett*, 1994, **121**(1):47-54
- [142] Krishnan H H, Ghosh A, Paul K, *et al.* Effect of anaerobiosis on expression of virulence factors in *Vibrio cholerae*. *Infect Immun*, 2004, **72**(7):3961-3967
- [143] Marashi S M A, Rajabnia R, Fooladi A A I, *et al.* Determination of *ctxAB* expression in *Vibrio cholerae* classical and El Tor strains using real-time PCR. *Int J Mol Cell Med*, 2013, **2**(1):9-13
- [144] Pajuelo D, Hernandez-Cabanyero C, Sanjuan E, *et al.* Iron and Fur in the life cycle of the zoonotic pathogen *Vibrio vulnificus*. *Environ Microbiol*, 2016, **18**(11):4005-4022
- [145] Lee A Y, Kao C Y, Wang Y K, *et al.* Inactivation of ferric uptake regulator (Fur) attenuates *Helicobacter pylori* J99 motility by disturbing the flagellar motor switch and autoinducer-2 production. *Helicobacter*, 2017, **22**(4):10
- [146] Kurabayashi K, Agata T, Asano H, *et al.* Fur represses adhesion to, invasion of, and intracellular bacterial community formation within bladder epithelial cells and motility in uropathogenic *Escherichia coli*. *Infect Immun*, 2016, **84**(11):3220-3231
- [147] Beauchene N A, Mettert E L, Moore L J, *et al.* O<sub>2</sub> availability impacts iron homeostasis in *Escherichia coli*. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2017, **114**(46):12261-12266
- [148] Pasqua M, Visaggio D, Sciuto A L, *et al.* Ferric uptake regulator Fur is conditionally essential in *Pseudomonas aeruginosa*. *J Bacteriol*, 2017, **199**(22):e00472-00417
- [149] Seo S W, Kim D, Latif H, *et al.* Deciphering Fur transcriptional regulatory network highlights its complex role beyond iron metabolism in *Escherichia coli*. *Nat Commun*, 2014, **5**:4910
- [150] Zhang F, Li B, Dong H, *et al.* YdiV regulates *Escherichia coli* ferric uptake by manipulating the DNA-binding ability of Fur in a SlyD-dependent manner. *Nucleic Acids Res*, 2020, **48**(17):9571-9588

## Function and Regulatory Modes of The Ferric Uptake Regulator Fur\*

YU Xin-Ran, LI Ying-Jie\*\*, CHEN Guan-Jun, WANG Lu-Shan

(State Key Laboratory of Microbial Technology, Shandong University, Qingdao 266237, China)

**Abstract** Iron is an essential trace element for most organisms and plays a key role in health and disease, particularly in host-pathogen interactions. In bacteria, the intracellular iron concentration serves as a critical signal in not only controlling the expression of iron transport systems with high affinity, but also regulating the production of toxin and other important virulence factors. However, the overload of iron can lead to lethal cytotoxicity. Therefore, iron homeostasis is strictly regulated in most organisms, of which the iron binding global regulator, Fur (ferric uptake regulator) plays a pivotal role in the regulation of intracellular iron concentration. This review summarized the progress in the study of four aspects of Fur, including the composition of FUR superfamily, the structures of the Fur proteins and their difference, the regulation network of Fur, as well as its regulatory mechanism, thereby to provide insights for further research of Fur and iron homeostasis.

**Key words** ferric uptake regulator Fur, FUR superfamily, Fur structure, regulation network, regulatory mode

**DOI:** 10.16476/j.pibb.2020.0316

---

\* This work was supported by grants from The Fundamental Research Funds of Shandong University and Qingdao Basic Applied Research Project (Youth Project, 18-2-2-60-jch).

\*\* Corresponding author.

Tel: 86-532-58631569, E-mail: yingjie.li@sdu.edu.cn

Received: August 31, 2020 Accepted: November 6, 2020