

## 蓝藻中氮同化及其调控的研究进展

常雅军, 刘晓静, 姚东瑞\*

江苏省·中科院植物研究所(中山植物园), 南京210014

**摘要:** 蓝藻是地球上规模最大、最重要的微生物之一, 具有光合作用特性, 在水体和陆地环境中分布广泛, 其氮同化对地球氮循环至关重要。自然界中常见的含氮化合物如硝酸盐、亚硝酸盐和铵盐可被大多数蓝藻同化利用。一些蓝藻也可将大气 $N_2$ 、尿素、氰酸酯、精氨酸和谷氨酰胺等作为氮源来利用。然而, 为确保氮同化过程的有序进行, 蓝藻对含氮化合物的同化利用在基因或蛋白水平上受到了相应的调控。文章概述了蓝藻对自然界中3种主要的化合态氮源(硝酸盐、亚硝酸盐和铵盐)的同化及其调控机制和研究进展, 旨在为光合作用生物有机体在氮代谢方面的研究提供参考依据。

**关键词:** 蓝藻; 氮吸收; 氮同化; 氮调控

## Nitrogen Assimilation and Nitrogen Control in Cyanobacteria

CHANG Ya-Jun, LIU Xiao-Jing, YAO Dong-Rui\*

*Institute of Botany, Jiangsu Province and Chinese Academy of Sciences, Nanjing 210014, China*

**Abstract:** Cyanobacteria are one of the largest and most important groups of bacteria on earth. They are characterized by the ability to perform oxygenic photosynthesis and found in both aquatic and terrestrial environments. Nitrogen assimilation in cyanobacteria plays a key role for the nitrogen cycle on earth. Most cyanobacteria can use nitrate, nitrite and ammonium as nitrogen source and some strains of cyanobacteria are able to utilize urea, cyanate or some amino acids. However, all kinds of nitrogen sources need to be uptaken to the cells of cyanobacteria before assimilation by specific nitrogen transporter, and are finally incorporated into carbon skeleton of 2-oxoglutarate after enzymes reduction. Transporters and enzymes involved in nitrogen assimilation are regulated in gene or protein expression level to ensure orderly processes of the nitrogen assimilation in the cells. In this review, we summarized latest research progresses in cyanobacteria for the assimilation of nitrate, nitrite and ammonium and its regulation, so as to provide valuable information for further study on the nitrogen metabolism in other photosynthesis organisms.

**Key words:** cyanobacteria; nitrogen uptake; nitrogen assimilation; nitrogen regulation

蓝藻(cyanobacteria)是地球上规模最大、最重要的微生物之一, 也是具有光合作用特性的低等植物。蓝藻在生物化学及分子生物学上具有叶绿体的起源之称, 由于其与叶绿体的相似性, 以及在遗传操作上的简便性, 渐渐成为研究由光合作用驱动的物质及能量代谢的最佳材料之一。近年来, 随着分子生物学和细胞生物学的发展, 人们已经认识到光合作用不仅仅是局限于植物叶绿体的反应, 而是基于细胞内部器官间、组织间、细胞间相互作用的一系列复杂反应。光合作用也并非单指碳的同化, 还涉及氮、磷、硫等一系列无机离子的同化。这些无机离子的同化与光合作用的启动相互依赖, 尤其是氮素的同化是确保光合作用蛋白合成所必需的。因此, 植物体的氮素同化作用与光合作用一样的古老, 在植物的物质和能量

代谢中具有不可替代的地位。

一般而言, 大多数蓝藻可同化铵盐、硝酸盐和亚硝酸盐等常见的化合态氮源, 也有一些蓝藻可将大气 $N_2$ 、尿素、氰酸盐、精氨酸和谷氨酰胺作为氮源利用(Flores和Herrero 1994; Miller和Espie 1994; Harano等1997; Collier等1999)。然而, 蓝藻对任何氮源的同化利用都需要其细胞膜上存在特异的转运蛋白, 通过转运蛋白将环境中相应的含氮化合物运转至细胞内, 再由细胞内特定的氧化

收稿 2015-04-07 修定 2015-05-08

资助 江苏省水产三新项目(Y2014-40)、国家海洋公益项目子课题(201505023-23)、江苏省中国科学院植物研究所基金(YT201402)。

\* 通讯作者(E-mail: shuishengzu@126.com; Tel: 025-84347087)。

还原酶将其转换为铵。如图1所示,硝酸盐和亚硝酸盐由特定的转运蛋白(nitrate transporter, NRT)运输至细胞内,然后由细胞内的硝酸还原酶(nitrate reductase, NR)和亚硝酸还原酶(nitrite reductase, NIR)相继作用转化为铵(Omata 1991; Omata等1989, 1993; Rodríguez等1992; Luque等1994b);大气中的氮( $N_2$ )由固氮酶作用转化为铵(Flores和Herrero 1994);尿素由主动运输蛋白(urea transporter, URT)运输至细胞内,并通过 $Ni^{2+}$ -依赖的脲酶降解为铵和 $CO_2$  (Flores和Herrero 1994; Collier等1999; Valladares等2002);氰酸盐由ABC-型主动运输蛋白(cyanate transporter, CYT)运输至细胞内,再由胞内的氰酸酶降解为铵和 $CO_2$  (Espie等2007;

Maeda和Omata 2009);精氨酸可由鸟氨酸循环和精氨酸酶共同作用分两路将其分解代谢(Flores和Herrero 1994; Quintero等2000)。在蓝藻细胞内,无论是从外界环境中直接吸取的铵,还是由细胞内其他含氮化合物还原或降解产生的铵,最终经由谷氨酰胺合成酶(glutamine synthetase, GS)和谷氨酸合成酶(glutamate synthase, GOGAT)的作用结合到碳骨架2-酮戊二酸(2-oxoglutarate, 2-OG)上合成有机物(图1) (Muro-Pasto等2005)。也就是说,蓝藻的氮同化代谢过程最终经GS-GOGAT循环与光合碳代谢相联系,来源于三羧酸循环(tricarboxylic acid cycle, TCA)的2-OG不仅是蓝藻氮素同化代谢的碳骨架,也是碳、氮同化代谢的一个连接枢纽。

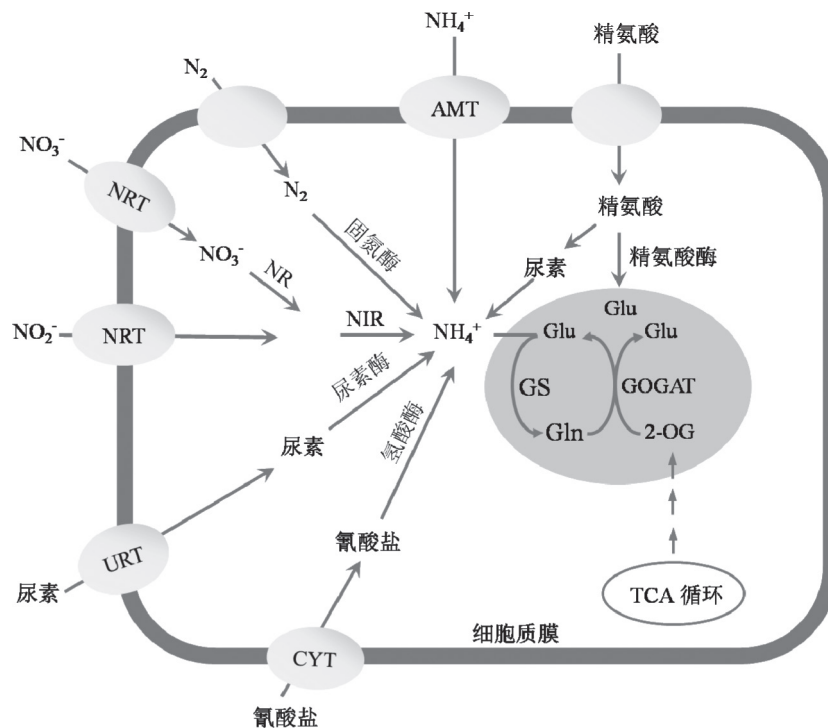


图1 蓝藻中氮同化的主要路径

Fig.1 Main nitrogen assimilation pathways in cyanobacteria

NRT: 硝酸盐/亚硝酸盐转运蛋白; URT: 尿素转运蛋白; CYT: 氰酸盐转运蛋白; AMT: 铵态氮转运蛋白; NR: 硝酸还原酶; NIR: 亚硝酸还原酶; Glu: 谷氨酸; Gln: 谷氨酰胺; GS: 谷氨酰胺合成酶; GOGAT: 谷氨酸合成酶; 2-OG: 2-酮戊二酸; TCA循环: 三羧酸循环。

然而,蓝藻为了维持其胞内的碳、氮平衡和氨基酸累积的动态平衡,胞内氮素转化为铵离子以及铵离子与2-OG的结合过程在基因或蛋白水平上均受到相应的调控,为了更好地理解蓝藻氮同化及其调控过程的分子生物学机制,本文概述了蓝藻对自然界中3种常见的化合态氮源(硝酸盐、

亚硝酸盐和铵盐)的同化及其调控机制和研究进展,这对进一步认识光合作用有机体对氮元素的综合利用机制有重要的生理生态意义。

## 1 蓝藻中硝酸盐的同化及调控

### 1.1 硝酸盐转运蛋白的类型

在自然环境中,硝酸盐通常以相对较低的丰

度(以 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 为单位)存在, 所以能同化硝酸盐的生物体其细胞膜上都具有相应的主动运输蛋白。迄今为止, 在蓝藻中发现了两种类型的硝酸盐主动运输蛋白: 一种是属于原核型的主动运输蛋白, 即ABC型NRT, 它包含NrtA、NrtB、NrtC和NrtD四个组件蛋白(Omata等1993; Omata 1995); 另一种是属于MFS家族的转运蛋白, 即由*nrtP*基因编码的MFS型NRT (Sakamoto等1999; Wang等2000; Aichi等2006; Lochab等2014), 它类似于真核生物的NRT2 (Forde 2000)。ABC型NRT和MFS型NRT均属于硝酸盐和亚硝酸盐双特异性转运蛋白, ABC型NRT对硝酸盐和亚硝酸盐的亲合力均较高, 其 $K_m$ 值为 $1\ \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$  (Maeda和Omata 1997), 而MFS型NRT对硝酸盐的亲合力( $K_m=1\ \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ )远比亚硝酸盐的高( $K_m=15\ \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ ) (Aichi等2006)。

具有硝酸盐同化能力的蓝藻, 除*Nostoc punctiforme* ATCC29133外, 其余淡水蓝藻都携带ABC型NRT (Ohashi等2011), 而对海水蓝藻而言, 大多数携带MFS型NRT (Scanlan等2009), 说明蓝藻中不同类型硝酸盐转运蛋白的分配与其生长的环境有极大的关系。此外, 在同一蓝藻菌株中发现了ABC型NRT和MFS型NRT共存的现象, 如淡水藻*Arthrospira polantensis* NIES39, *A. polantensis* PCC7345, *Cyanothece* sp. strains PCC7424、PCC8801和PCC8802 (Ohashi等2011; Lochab等2014), 虽然对其存在的机理尚不清楚, 但两者的共存必将提高蓝藻对外界环境变化的适应能力。

## 1.2 硝酸盐的同化及其调控

蓝藻对硝酸盐的同化主要包括环境中的硝酸盐被蓝藻细胞膜上的NRT吸收至细胞内, 接着胞内的硝酸盐被NR和NIR相继作用还原为铵离子 (Omata 1991; Omata等1993; Rodríguez等1992; Luque等1994b), 最后铵离子经GS和GOGAT作用结合到2-OG上(Muro-Pasto等2005)。

目前, 有关硝酸盐同化过程的调控研究主要围绕淡水蓝藻而展开。首先, 编码硝酸盐转运蛋白及其还原酶的基因在表达水平受到不同氮源的调控。淡水蓝藻所携带的ABC型NRT由*nrtA*、*nrtB*、*nrtC*和*nrtD*四个基因编码, 这些基因与编码NR的基因*nirA*和NIR的基因*narB*通常以操纵子*nirA-nrtABCD-narB*的形式存在(Andriessse等1990;

Luque等1993; Suzuki等1993)。因此, 这些基因的表达调控具有一致性, 即当此类蓝藻生长在亚硝酸盐的环境中, 这些基因的表达均被促进(Kikuchi等1996; Aichi等2001); 而当其生长在铵离子或谷氨酰胺的环境中时, 这些基因的表达均被抑制(Krouk等2010)。其次, 蓝藻硝酸盐的同化受到NtcA的调控。NtcA是属于细菌家族的转录因子, 其结构与分解代谢基因的活化蛋白CAP相似, 能识别和结合到所调节基因的启动子上来激活基因的转录, 它所标识的序列为GTAN8TAC (位于启动子-10盒子上游的22个碱基处) (Luque等1994a; Herero等2001; Vázquez-Bermúdez等2002a)。再者, Aichi等发现, 转录调节因子NtcB也可促进与蓝藻硝酸同化有关的基因的转录(Aichi和Omata 1997; Aichi等2001)。与NtcA一样, NtcB可与所调节基因的启动子相结合, 但其识别的位点保守性较低, 序列为: ATGC-N7-GCAT-N7-ATGC-N7-GCAT-N15-GTA-N8-TAC-N22/23-TAN3T (Ohashi等2011)。因组成硝酸盐同化的操纵子基因(*nirA-nrtABCD-narB*)的启动子上都存在GTAN8TAC和ATGC-N7-GCAT-N7-ATGC-N7-GCAT-N15-GTA-N8-TAC-N22/23-TAN3T序列, 因而这些基因的转录均可被NtcA和NtcB激活或调节(Ohashi等2011)。此外, 因2-OG可促进NtcA与它的调控基因启动子的结合(Tanigawa等2002; Vázquez-Bermúdez等2002b; Valladares等2008), 而信号转导蛋白 $P_{II}$ 是处于氮胁迫环境下蓝藻的NtcA结合氮同化相关基因所必需的(Paz-Yepes等2003; Aldehni等2003), 因此硝酸盐的同化在基因水平上受到2-OG和 $P_{II}$ 的间接调控(van den Heuvel等2004; Forchhammer和Tandeau de Marsac 1994)。最后, 当蓝藻*Synechococcus elongatus* PCC 7942生长在铵离子的条件下时, 细胞内ABC型NRT和NR的活性均被抑制, 而当细胞内的 $P_{II}$ 被敲除时, 这种阻止效应完全消失(Lee等1998; Kobayashi等2005; Takatani和Omata 2006)。由此可见, 蓝藻硝酸盐的同化在蛋白水平上也受到 $P_{II}$ 的调控。

## 2 蓝藻中亚硝酸盐的同化及其调控

### 2.1 亚硝酸盐转运蛋白的类型

在蓝藻细胞中, 亚硝酸盐既可是硝酸盐同化的中间产物, 也可被添加在培养基中作为良好的氮源被利用。由于亚硝酸盐呈弱酸性( $pK_a=3.15$ ),



这使得它从细胞外进入细胞内的方式通常有两种:一种是主动运输,另一种是以亚硝酸盐的质子化形式( $\text{HNO}_2$ )被动扩散。由于 $\text{HNO}_2$ 的被动扩散速率随着基质中pH的升高和亚硝酸盐浓度的降低而降低,所以通过被动扩散进入蓝藻细胞的亚硝酸盐对细胞中亚硝酸盐的净吸收的贡献可忽略不计(Flores等1987; Maeda等1998)。

迄今为止,在蓝藻中发现了3种可主动运输亚硝酸盐的转运蛋白,即ABC型NRT、MFS型NRT和ABC型CYT。如前所述,ABC型NRT和MFS型NRT均属于硝酸盐和亚硝酸盐的双特异转运蛋白,而ABC型CYT是基因*cynABD*编码的氰酸盐/亚硝酸盐的双特异转运蛋白(Espie等2007; Maeda和Omata 2009)。与MFS型NRT一样,ABC型CYT对氰酸盐的亲合力( $K_m=0.025 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ )远大于其对亚硝酸盐的亲合力( $K_m=20 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ )。因此,ABC型CYT对亚硝酸盐的运输会受到氰酸盐的竞争抑制。此外,在一些海洋蓝藻中,还发现了专门运输亚硝酸盐的特异转运蛋白FocA (Scanlan等2009)。

如前所述,可运输亚硝酸盐的ABC型NRT和MFS型NRT分别出现在淡水蓝藻中和海洋蓝藻中。就ABC型CYT而言, Maeda和Omata (2009)通过对33个蓝藻基因组进行对比发现,仅有6种携带ABC型CYT的编码基因*cynABD*,其中包括淡水藻*S. elongatus* strains PCC7942和PCC6301,海洋藻*Synechococcus* sp. strains PCC7002、WH8102、*P. marinus* strain MED4和*Acaryochloris marina*。然而,在这6种蓝藻基因组的5种中,编码ABC型CYT的基因*cynABD*与编码氰酸酶的基因*cynS*以操纵子*cynABDS*的形式存在,说明ABC型CYT在蓝藻中主要负责氰酸盐的运输,而对亚硝酸盐的运输贡献有待于进一步的验证。除此之外, Ohashi等(2011)在10种海洋聚球藻的基因组中发现了编码亚硝酸盐特异性转运蛋白的基因*focA*,其中*Synechococcus* sp. PCC7002、CC9605、CC9902、CC9311、WH7803和RCC307中同时存在编码MFS型NRT的基因*nrtP*和特异转运蛋白的基因*focA*。这可能是由于蓝藻中MFS型NRT对亚硝酸盐的利用会受到硝酸盐的抑制引起(Aichi等2006)。从环境进化的角度分析, MFS型NRT和FocA在海洋聚球藻中的共存对亚硝酸盐的利用具有重要的生理生态意义。

## 2.2 亚硝酸盐的同化及其调控

蓝藻细胞内亚硝酸盐的来源主要有两种,一种来源于硝酸盐同化的中间产物,另一种是直接来自外界环境中摄取。因亚硝酸盐具有很强的毒性,其在蓝藻细胞内的积累往往会造成蓝藻的死亡,所以蓝藻必须保持亚硝酸盐在其细胞内的代谢平衡以确保它的正常生长。

首先,蓝藻中MFS型NRT或ABC型CYT对亚硝酸盐的转运分别受到基质底物硝酸盐或氰酸盐的抑制(Maeda和Omata 1997, 2009)。其次, NR和NIR的活性必须保持相对的平衡,研究发现铵态氮的出现会阻止蓝藻NR的活性,而 $P_{II}$ 的参与是这种阻止效应所必需的,说明蓝藻 $P_{II}$ 对NR的活性具有调控功能(Lee等1998; Kobayashi等2005)。再者, Suzuki等(1995)揭示,蓝藻*S. elongatus* PCC7942中NirB的缺失会导致NIR的活性降低50%,而*nirB*基因在蓝藻*S. elongatus*和*Anabaena* sp. strain PCC 7120中均存在(Frias和Flores 2010),说明蓝藻中NirB蛋白是保证NIR发挥最大活性所必需的。此外,蓝藻细胞自身也有很强的防卫机制,当胞内亚硝酸盐浓度达到一定的水平时,细胞会将部分亚硝酸盐直接渗透到胞外以免受其毒害(Suzuki等1995; Kloft和Forchhammer 2005; Kobayashi等2005; Frias和Flores 2010)。还有,由于编码ABC型CYT的基因*cynABD*、编码ABC型NRT的基因*nrtABCD*以及编码NIR的基因*nirA*都可被NtcA所激活,也可被NtcB所调节(Paz-Yepes等2003; Aldehni等2003),因而蓝藻亚硝酸盐的同化在基因水平上也受到NtcA和NtcB的调控。

如前所述,蓝藻中ABC型NRT在蛋白水平上受到 $P_{II}$ 的调控,而亚硝酸盐又是ABC型NRT的底物之一,因此它对亚硝酸盐的转运同样受到 $P_{II}$ 的调控。最近, Chang等(2013)研究发现,铵态氮也会对蓝藻ABC型CYT的活性起抑制作用,而 $P_{II}$ 蛋白的缺失会使这种抑制效应极大地缓解(达到50%),说明蓝藻中ABC型CYT对亚硝酸盐的转运在蛋白水平上不仅受到 $P_{II}$ 的调控,还受到其他未知因素的影响或控制。

## 3 蓝藻中铵盐的同化及其调控

### 3.1 铵态氮转运蛋白(ammonium transporter, AMT)

铵是氮元素最具还原态的无机态存在形式,

在高浓度和碱性条件下, 很大一部分铵以氨气的形式存在, 而氨气可以通过生物膜来扩散(Rigano等1987)。然而, 在自然水体环境中, 自由铵离子通常以较低的浓度存在, 蓝藻细胞膜上均存在主动运输蛋白AMT (<http://www.kazusa.or.jp/cyanobase/>)与此环境相适应。Montesinos等(1998)在蓝藻*Synechocystis* sp. PCC6803中发现了可编码AMT的3个同源基因: *amt1*、*amt2*和*amt3*, 但在构建*amt*突变体发现, 由*amt1*编码的AMT负责95%甲基铵的运输, 因蓝藻细胞中甲基铵的运输系统就是铵离子的运输体系(Rai等1984; Boussiba等1984; Muro-Pastor等2005), 因而铵离子转运蛋白多指由*amt1*编码的AMT蛋白。

在蓝藻中, 铵离子即可通过谷氨酸脱氢酶(glutamate dehydrogenase, GDH)与碳骨架结合, 也可通过GS和GOGAT的相继作用与碳骨架结合。然而, 利用同位素标记研究发现, GS-GOGAT循环是蓝藻细胞中铵离子结合到碳骨架的主要途径(Wolk等1976; Meeks等1978)。这一结论也印证了先前的研究, 即在蓝藻细胞的培养基中添加GS的活性抑制剂MSX (L-methionine-DL-sulphoximine), 发现铵的同化过程被MSX有效地抑制(Stewart和Rowell 1975)。所以, 蓝藻铵同化过程就是将胞内铵离子通过GS-GOGAT路径结合到2-OG上合成相应有机物的过程。

### 3.2 铵同化的调控

对于蓝藻而言, 除了最具还原态的铵态氮外, 其他化合态氮都需被还原为铵后才可与2-OG结合, 这一过程需要细胞消耗一定的能量。因此, 铵是蓝藻细胞最嗜好的氮源, 当铵离子可被细胞利用时, 其他含氮化合物的同化会被阻止。然而, 为了维持细胞内的碳、氮平衡和氨基酸累积的动态平衡, 蓝藻对铵盐的同化利用在基因和蛋白水平上也受到相应的调控。

首先, 编码AMT的基因*amt1*上存在可被NtcA识别的GTAN8TAC序列, 它的表达受到NtcA的调控(Montesinos等1998; Vázquez-Bermúdez等2002c)。其次, 蓝藻中催化铵离子和谷氨酸进行反应的GS的编码基因也受到NtcA调控(Herrero等2001)。因为在蓝藻中, 编码GSI和GSIII的基因*glnA*和*glnN*的启动子上均存在可被NtcA识别的GTAN8TAC序列(Stacey等1977; Reyes和Florencio

1994; Florencio和Reyes 2002; Herrero等2001)。此外, 通过提供2-OG而促进氮同化的异柠檬酸脱氢酶(isocitrate dehydrogenase, IDH)的编码基因*icd*也受到NtcA的调控(Muro-Pastor等1996)。由此可见, NtcA可通过协调GS-GOGAT路径和控制碳骨架的供应来调控铵离子的同化过程。不仅如此, 在蓝藻*Synechocystis* sp. PCC6803中, NtcA还可控制IF7和IF17的表达(Muro-Pastor等2005), 而这两个蛋白可通过直接的相互作用来抑制GS的活性(García-Domínguez等1999), 所以NtcA通过调节GS的活性在蛋白水平上调控铵离子的同化。另外, 由于 $P_{II}$ 是NtcA发挥作用所必需的, 而编码AMT的基因*amt1*属于NtcA的调控基因, 因此,  $P_{II}$ 在与铵同化有关的调控中也发挥着至关重要的作用。

### 4 展望

蓝藻是地球上最早的光合放氧生物, 它的氮同化对地球氮循环具有至关重要的作用。硝酸盐、亚硝酸盐和铵盐可被大多数蓝藻所同化利用, 大量研究已表明, 蓝藻对这些氮源的同化只有在基因或蛋白水平上受到相应的调控才能确保氮同化的有序进行。实际上, 蓝藻氮同化的调控过程与其胞内合成有机物的氮、碳水平紧密相关, 且2-OG的浓度会对细胞内的氮水平做出快速的响应(Muro-Pastor和Flores 2001)。在氮不足条件下, 2-OG会快速积累, 造成细胞内2-OG浓度升高, 而高浓度的2-OG分子不仅可与 $P_{II}$ 结合, 也可与转录调节因子NtcA结合。一方面, 2-OG与 $P_{II}$ 蛋白的结合会阻止 $P_{II}$ 与其他蛋白之间的相互作用; 另一方面, 2-OG与转录调节因子NtcA的结合可促进NtcA与其氮同化相关基因启动子的结合, 从而促进这些基因的转录和表达。这些基因包括编码ABC型NRT的基因*nrtABCD*、编码NR和NIR的基因*nirA*和*narB*、编码ABC型CYT的基因*cynABD*、编码氰酸还原酶的基因*cynS*、编码NirB的基因*nirB*、编码AMT的基因*amt1*、编码GS的基因*glnA*或*glnN*、编码 $P_{II}$ 的基因*glnB*以及编码NtcA的基因*ntcA* (图2)。在氮充足的条件下, 蓝藻体内的2-OG的浓度会迅速降低, 造成胞内可与 $P_{II}$ 蛋白相结合的2-OG分子不足, 使得过剩的游离态 $P_{II}$ 可与其他氮同化相关的蛋白相互作用, 从而阻止这些蛋白(如ABC型NRT、NR及ABC型CYT)的活性。总的来说, 目前揭示的蓝藻中调控氮同化的因素有NtcA对氮同化

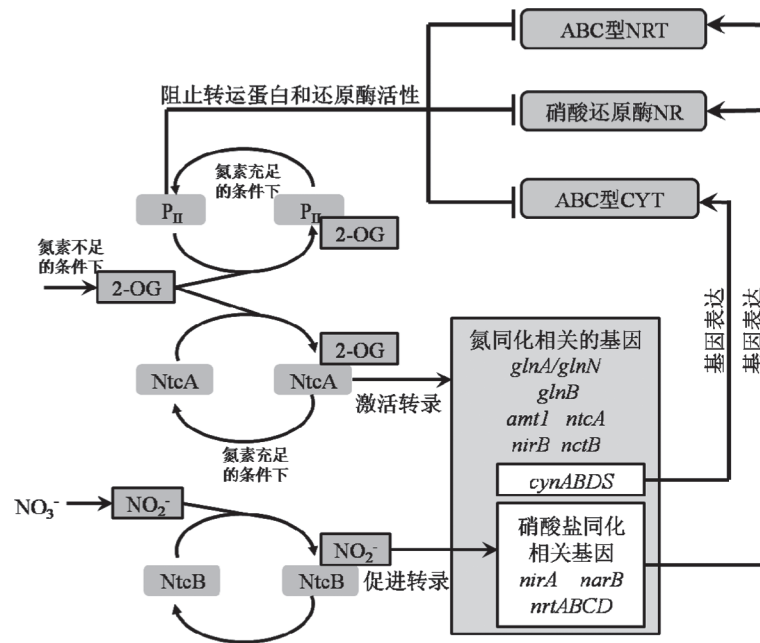


图2 蓝藻中氮同化的主要调控过程

Fig.2 Main regulation of nitrogen assimilation in cyanobacteria

相关基因在转录表达水平的直接调控; 2-OG对氮同化相关的基因在转录表达水平上的间接调控;  $P_{II}$ 对氮同化相关基因在转录水平上的间接调控, 以及对氮同化相关蛋白在表达水平上的调控; PipX通过介导蓝藻氮素代谢平衡调节蛋白 $P_{II}$ 和全局氮代谢调控因子NtcA参与氮素同化的间接调控过程 (Espinosa等2006, 2007); 此外, 还涉及亚硝酸根离子和NtcB在转录水平上对与硝酸盐同化的特定路径的调控。

近年来, 尽管有关蓝藻氮同化及调控方面的研究已取得很大进展, 但诸多问题仍有待于进一步解决: (1)虽已发现 $P_{II}$ 对ABC型NRT和NR在翻译后水平上具有调控功能, 但其调控的分子生物学机理还有待于阐明。(2)ABC型CYT的活性除了受到 $P_{II}$ 蛋白在翻译后水平上的调控之外, 还受到其他未知因素的影响或控制, 这些未知因素有待于进一步的研究。(3)蓝藻基因组序列的对比研究已表明ABC型CYT在蓝藻中主要负责氰酸盐的运输, 那么, 它对亚硝酸盐的吸收作用和其生理意义还有待于进一步验证和发掘。(4)目前氮同化及调控方面的研究多集中在淡水蓝藻, 而自然界中海洋藻的分布更为广泛, 因而今后开展对海洋藻氮同化过程的研究不仅对阐明蓝藻中氮同化机理至关

重要, 也对地球氮循环方面的研究具有重要意义。(5)最近, Espinosa等(2014)从遗传学和转录组学的角度发现, PipX蛋白是蓝藻生命活动的全局调节子, 它在蓝藻氮同化方面的功能还需要进一步挖掘。

### 参考文献

- Aichi M, Omata T (1997). Involvement of NtcB, a LysR family transcription factor in nitrite activation of the nitrate assimilation operon in the cyanobacterium *Synechococcus* sp. strain PCC 7942. *J Bacteriol*, 179: 4671~4675
- Aichi M, Takatani N, Omata T (2001). Role of NtcB in activation of the nitrate assimilation genes in the cyanobacterium *Synechocystis* sp. strain PCC 6803. *J Bacteriol*, 183: 5840~5847
- Aichi M, Yoshihara S, Yamashita M, Maeda S, Nagai K, Omata T (2006). Characterization of the nitrate-nitrite transporter of the major facilitator superfamily (the *nrtP* gene product) from the cyanobacterium *Nostoc punctiforme* strain ATCC 29133. *Biosci Biotechnol Biochem*, 70: 2682~2689
- Aldehni MF, Sauer J, Spielhauer C, Schmid R, Forchhammer K (2003). Signal transduction protein  $P_{II}$  is required for NtcA-regulated gene expression during nitrogen deprivation in the cyanobacterium *Synechococcus elongatus* strain PCC 7942. *J Bacteriol*, 185: 2582~2591
- Andriess X, Bakker H, Weisbeek P (1990). Analysis of nitrate reduction genes in cyanobacteria. In: Ullrich WR, Rigano C, Fuggi A, Aparicio PJ (eds). *Inorganic Nitrogen in Plants and Microorganisms*. Berlin, Germany: Springer-Verlag, 303~307



- Boussiba S, Dilling W, Gibson J (1984). Methylammonium transport in *Anacystis nidulans* R-2. *J Bacteriol*, 160: 204~210
- Chang Y, Takatani N, Aichi M, Maeda S, Omata T (2013). Evaluation of the effects of P<sub>II</sub>-deficiency and the toxicity of PipX on growth characteristics of the P<sub>II</sub>-less mutant of the cyanobacterium *Synechococcus elongatus*. *Plant Cell Physiol*, 54: 1504~1514
- Collier JL, Brahmsha B, Palenik B (1999). The marine cyanobacterium *Synechococcus* sp. WH7805 requires urease (urea amidohydrolase, EC 3.5.1.5) to utilize urea as a nitrogen source: molecular-genetic and biochemical analysis of the enzyme. *Microbiology*, 145: 447~459
- Espie GS, Jalali F, Tong T, Zacal NJ, So AK (2007). Involvement of the *cynABDS* operon and the CO<sub>2</sub>-concentrating mechanism in the light-dependent transport and metabolism of cyanate by cyanobacteria. *J Bacteriol*, 189: 1013~1024
- Espinosa J, Forchhammer K, Burillo S, Contreras A (2006). Interaction network in cyanobacterial nitrogen regulation: PipX, a protein that interacts in a 2-oxoglutarate dependent manner with P<sub>II</sub> and NtcA. *Mol Microbiol*, 61: 457~469
- Espinosa J, Forchhammer K, Contreras A (2007). Role of the *Synechococcus* PCC 7942 nitrogen regulator protein PipX in NtcA-controlled processes. *Microbiology*, 153: 711~718
- Espinosa J, Rodríguez-Mateos F, Salinas P, Lanza VF, Dixon R, Fernando de la C, Contreras A (2014). PipX, the coactivator of NtcA, is a global regulator in cyanobacteria. *Proc Natl Acad Sci USA*, 10: 2423~2430
- Florencio FJ, Reyes JC (2002). Regulation of ammonium assimilation in cyanobacteria. In: Foyer CH, Noctor G (eds). *Photosynthetic Nitrogen Assimilation and Associated Carbon and Respiratory Metabolism*. Dordrecht, The Netherlands: Kluwer Academic Publishers, 93~113
- Flores E, Herrero A (1994). Assimilatory nitrogen metabolism and its regulation. In: Bryant DA (ed). *The Molecular Biology of Cyanobacteria*. Dordrecht, The Netherlands: Kluwer Academic Publishers, 87~51
- Flores E, Herrero A, Guerrero MG (1987). Nitrite uptake and its regulation in the cyanobacterium *Anacystis nidulans*. *Biochim Biophys Acta*, 896: 103~108
- Forchhammer K, Tandeau de Marsac N (1994). The P<sub>II</sub> protein in the cyanobacterium *Synechococcus* sp. strain PCC 7942 is modified by serine phosphorylation and signals the cellular N-status. *J Bacteriol*, 176: 84~91
- Forde BG (2000). Nitrate transporters in plants: structure, function and regulation. *Biochim Biophys Acta*, 1465: 219~235
- Frias JE, Flores E (2010). Negative regulation of expression of the nitrate assimilation *nirA* operon in the heterocyst-forming cyanobacterium *Anabaena* sp. strain PCC 7120. *J Bacteriol*, 192: 2769~2778
- García-Domínguez M, Reyes JC, Florencio FJ (1999). Glutamine synthetase inactivation by protein-protein interaction. *Proc Natl Acad Sci USA*, 96: 7161~7166
- Harano Y, Suzuki I, Maeda SI, Kaneko T, Tabata S, Omata T (1997). Identification and nitrogen regulation of the cyanase gene from the cyanobacteria *Synechocystis* sp. strain PCC 6803 and *Synechococcus* sp. strain PCC 7942. *J Bacteriol*, 179: 5744~5750
- Herrero A, Muro-Pastor AM, Flores E (2001). Nitrogen control in cyanobacteria. *J Bacteriol*, 183: 411~425
- Kikuchi H, Aichi M, Suzuki I, Omata T (1996). Positive regulation by nitrite of the nitrate assimilation operon in the cyanobacteria *Synechococcus* sp. strain PCC 7942 and *Plectonema boryanum*. *J Bacteriol*, 178: 5822~5825
- Kloft N, Forchhammer K (2005). Signal transduction protein P<sub>II</sub> phosphatase PphA is required for light-dependent control of nitrate utilization in *Synechocystis* sp. strain PCC 6803. *J Bacteriol*, 187: 6683~6690
- Kobayashi M, Takatani N, Tanigawa M, Omata T (2005). Posttranslational regulation of nitrate assimilation in the cyanobacterium *Synechocystis* sp. strain PCC 6803. *J Bacteriol*, 187: 498~506
- Krouk G, Crawford NM, Coruzzi GM, Tsay YF (2010). Nitrate signaling: adaptation to fluctuating environments. *Curr Opin Plant Biol*, 13: 266~273
- Lee HM, Flores E, Herrero A, Houmard J, Tandeau de Marsac N (1998). A role for the signal transduction protein P<sub>II</sub> in the control of nitrate/nitrite uptake in a cyanobacterium. *FEBS Lett*, 427: 291~295
- Lochab S, Kumar PA, Raghuram N (2014). Molecular characterization of nitrate uptake and assimilatory pathway in *Arthrospira platensis* reveals nitrate induction and differential regulation. *Arch Microbiol*, 196: 385~394
- Luque I, Flores E, Herrero A (1993). Nitrite reductase gene from *Synechococcus* sp. PCC 7942: homology between cyanobacterial and higherplant nitrite reductases. *Plant Mol Biol*, 21: 1201~1205
- Luque I, Flores E, Herrero A (1994a). Molecular mechanism for the operation of nitrogen control in cyanobacteria. *EMBO J*, 13: 2862~2869
- Luque I, Flores E, Herrero A (1994b). Nitrate and nitrite transport in the cyanobacterium *Synechococcus* sp. PCC7942 are mediated by the same permease. *Biochim Biophys Acta*, 1184: 296~298
- Maeda S, Okamura M, Kobayashi M, Omata T (1998). Nitrite-specific active transport system of the cyanobacterium *Synechococcus* sp. strain PCC 7942. *J Bacteriol*, 180: 6761~6763
- Maeda S, Omata T (1997). Substrate-binding lipoprotein of the cyanobacterium *Synechococcus* sp. strain PCC 7942 involved in the transport of nitrate and nitrite. *J Biol Chem*, 272: 3036~3041
- Maeda S, Omata T (2009). Nitrite transport activity of the ABC-type cyanate transporter of the cyanobacterium *Synechococcus elongatus*. *J Bacteriol*, 191: 3265~3272
- Meeks JC, Wolk CP, Lockau W, Schilling N, Shaffer PW, Chien WS (1978). Pathways of assimilation of [<sup>13</sup>N]N<sub>2</sub> and <sup>15</sup>NH<sub>4</sub><sup>+</sup> by cyanobacteria with and without heterocysts. *J Bacteriol*, 134: 125~130
- Miller AG, Espie GS (1994). Photosynthetic metabolism of cyanate by the cyanobacterium *Synechococcus* UTEX 625. *Arch Microbiol*, 162: 151~157
- Montesinos ML, Muro-Pastor AM, Herrero A, Flores E (1998). Ammonium/methylammonium permeases of a cyanobacterium. Identification and analysis of three nitrogenregulated *amt* genes

- in *Synechocystis* sp. PCC 6803. J Biol Chem, 273: 31463~31470
- Muro-Pastor AM, Flores E (2001). Nitrogen control in cyanobacteria. J Bacteriol, 183: 411~425
- Muro-Pastor MI, Reyes JC, Florencio FJ (1996). The NADP<sup>+</sup>-isocitrate dehydrogenase gene (*icd*) is nitrogen regulated in cyanobacteria. J Bacteriol, 178: 4070~4076
- Muro-Pastor MI, Reyes JC, Florencio FJ (2005). Ammonium assimilation in cyanobacteria. Photosynth Res, 83: 135~150
- Ohashi Y, Shi W, Takatani N, Aichi M, Maeda S-I, Watanabe S, Yoshikawa H, Omata T (2011). Regulation of nitrate assimilation in cyanobacteria. J Exp Bot, 62: 1411~1424
- Omata T (1991). Cloning and characterization of the *nrtA* gene that encodes a 45-kDa protein involved in nitrate transport in the cyanobacterium *Synechococcus* PCC 7942. Plant Cell Physiol, 32: 151~157
- Omata T (1995). Structure, function and regulation of the nitrate transport system of the cyanobacterium *Synechococcus* sp. PCC 7942. Plant Cell Physiol, 36: 207~213
- Omata T, Andriessse X, Hirano A (1993). Identification and characterization of a gene cluster involved in nitrate transport in the cyanobacterium *Synechococcus* sp. PCC 7942. Mol Gen Genet, 236: 193~202
- Omata T, Ohmori M, Arai N, Ogawa T (1989). Genetically engineered mutant of the cyanobacterium *Synechococcus* PCC 7942 defective in nitrate transport. Proc Natl Acad Sci USA, 86: 6612~6616
- Paz-Yepes J, Flores E, Herrero A (2003). Transcriptional effects of the signal transduction protein P(II) (*glnB* gene product) on NtcA-dependent genes in *Synechococcus* sp. PCC 7942. FEBS Lett, 543: 42~46
- Quintero MJ, Muro-Pastor AM, Herrero A, Flores E (2000). Arginine catabolism in the cyanobacterium *Synechocystis* sp. strain PCC 6803 involves the urea cycle and arginase pathway. J Bacteriol, 182: 1008~1015
- Rai AN, Rowell P, Stewart WDP (1984). Evidence for an ammonium transport system in free-living and symbiotic cyanobacteria. Arch Microbiol, 137: 241~246
- Reyes JC, Florencio FJ (1994). A new type of glutamine synthetase in cyanobacteria: the protein encoded by the *glnN* gene supports nitrogen assimilation in *Synechocystis* sp. strain PCC 6803. J Bacteriol, 176: 1260~1267
- Rigano VDM, Vona V, Manzo L, Rigano C (1987). NH<sub>4</sub><sup>+</sup> uptake by the unicellular alga cyanidium caldarium. New Phytol, 107: 507~512
- Rodríguez R, Lara C, Guerrero MG (1992). Nitrate transport in the cyanobacterium *Anacystis nidulans* R2. Kinetic and energetic aspects. J Biochem, 282: 639~643
- Sakamoto T, Inoue-Sakamoto K, Bryant DA (1999). A novel nitrate/nitrite permease in the marine cyanobacterium *Synechococcus* sp. strain PCC 7002. J Bacteriol, 181: 7363~7372
- Scanlan DJ, Ostrowski M, Mazard S, Dufresne A, Garczarek L, Hess WR, Post AF, Hagemann M, Paulsen I, Partensky F (2009). Ecological genomics of marine picocyanobacteria. Microbiol Mol Biol Rev, 73: 249~299
- Stacey G, Tabita FR, Van Baalen C (1977). Nitrogen and ammonia assimilation in the cyanobacteria: purification of glutamine synthetase from *Anabaena* sp. strain CA. J Bacteriol, 132: 596~603
- Stewart WD, Rowell P (1975). Effects of L-methionine-DL-sulfoximine on the assimilation of newly fixed NH<sub>3</sub>, acetylene reduction and heterocyst production in *Anabaena cylindrica*. Biochem Biophys Res Commun, 65: 846~856
- Suzuki I, Horie N, Sugiyama T, Omata T (1995). Identification and characterization of two nitrogen-regulated genes of the cyanobacterium *Synechococcus* sp. strain PCC7942 required for maximum efficiency of nitrogen assimilation. J Bacteriol, 177: 290~296
- Suzuki I, Sugiyama T, Omata T (1993). Primary structure and transcriptional regulation of the gene for nitrite reductase from the cyanobacterium *Synechococcus* PCC 7942. Plant Cell Physiol, 34: 1311~1320
- Takatani N, Omata T (2006). Effects of PII deficiency on expression of the genes involved in ammonium utilization in the cyanobacterium *Synechocystis* sp. strain PCC 6803. Plant Cell Physiol, 47: 679~688
- Tanigawa R, Shirokane M, Maeda S-I, Omata T, Tanaka K, Takahashi H (2002). Transcriptional activation of NtcA-dependent promoters of *Synechococcus* sp. PCC 7942 by 2-oxoglutarate *in vitro*. Proc Natl Acad Sci USA, 99: 4251~4255
- Valladares A, Flores E, Herrero A (2008). Transcription activation by NtcA and 2-oxoglutarate of three genes involved in heterocyst differentiation in the cyanobacterium *Anabaena* sp. strain PCC 7120. J Bacteriol, 190: 6126~6133
- Valladares A, Montesinos ML, Herrero A, Flores E (2002). An ABC-type high-affinity urea permease identified in cyanobacteria. Mol Microbiol, 43: 703~715
- van den Heuvel RHH, Curti B, Vanoni MA, Mattevi A (2004). Glutamate synthase: a fascinating pathway from L-glutamine to L-glutamate. Cell Mol Life Sci, 61: 669~681
- Vázquez-Bermúdez MF, Flores E, Herrero A (2002a). Analysis of binding sites for the nitrogen-control transcription factor NtcA in the promoters of *Synechococcus* nitrogen-regulated genes. Biochim Biophys Acta, 1578: 95~98
- Vázquez-Bermúdez MF, Herrero A, Flores E (2002b). 2-Oxoglutarate increases the binding affinity of the NtcA (nitrogen control) transcription factor for the *Synechococcus glnA* promoter. FEBS Lett, 512: 71~74
- Vázquez-Bermúdez MF, Paz-Yepes J, Herrero A, Flores E (2002c). The NtcA-activated *amt1* gene encodes a permease required for uptake of low concentrations of ammonium in the cyanobacterium *Synechococcus* sp. PCC 7942. Microbiology, 148: 861~869
- Wang Q, Li H, Post AF (2000). Nitrate assimilation genes of the marine diazotrophic, filamentous cyanobacterium *Trichodesmium* sp. strain WH9601. J Bacteriol, 182: 1764~1767
- Wolk CP, Thomas J, Shaffer PW, Austin SM, Galonsky A (1976). Pathway of nitrogen metabolism after fixation of <sup>15</sup>N-labeled nitrogen gas by the cyanobacterium, *Anabaena cylindrica*. J Biol Chem, 251: 5027~5034