



ABC转运蛋白结构及在植物病原真菌中的功能研究进展*

陈道波^{1,2)} 王教瑜^{2)**} 肖琛闻³⁾ 王艳丽²⁾ 孙国昌^{2)**}

⁽¹⁾ 浙江师范大学化学与生命科学学院, 金华 321004;

⁽²⁾ 省部共建农产品质量安全危害因子与风险防控国家重点实验室, 浙江省农业科学院植物保护与微生物研究所, 杭州 310021;

⁽³⁾ 浙江省农业科学院畜牧兽医研究所, 杭州 310021)

摘要 ABC (ATP-binding cassette) 转运蛋白是最大的膜转运蛋白超家族之一, 其主要功能是利用ATP水解产生的能量将底物进行逆浓度梯度运输. 所有生物体都含有大量ABC蛋白. ABC蛋白位于细胞的不同空间, 如细胞膜、液泡、线粒体和过氧化物酶体. 通常, ABC转运蛋白由跨膜结构域 (TMD) 和核苷酸结合结构域 (NBD) 组成, 分别与底物和ATP结合. NBD执行与ATP结合和水解, 是ABC转运蛋白的动力引擎, TMD识别特异性配体. 大多数ABC转运蛋白最初是通过研究生物体耐药性而被发现的, 包括多效耐药 (PDR) 和多药耐药 (MDR). 本文对ABC转运蛋白的结构及作用机制, 以及植物病原真菌中ABC转运蛋白功能的研究进展进行综述.

关键词 ABC转运蛋白, 耐药性, 跨膜转运机制, 病原真菌
中图分类号 Q7

DOI: 10.16476/j.pibb.2020.0238

生物体中分子的跨膜运输通常由特定的转运蛋白介导. ABC (ATP-binding cassette) 转运蛋白是最大的膜转运蛋白家族之一, 普遍存在于真核生物和原核生物中. ABC转运蛋白结合ATP, 利用能量驱动各种分子的运输, 包括糖、氨基酸、金属离子、肽、蛋白质、疏水化合物及其代谢物穿过质膜、内质网、过氧化物酶体膜和线粒体膜等. 根据功能, ABC转运蛋白可分为内向转运蛋白 (importers) 和外向转运蛋白 (exporters). ABC转运蛋白的核心结构由12个跨膜螺旋组成的跨膜结构域 (TMD) 和二聚核苷酸结合结构域 (NBD) 组成. TMD是跨膜双分子层的转运通道, 包含底物结合位点; NBD是ATP结合和水解的区域. TMD可以由一个多肽的12个跨膜螺旋形成, 也可以由6个跨膜螺旋的同型或异二聚体形成.

早期生化研究结果表明, ABC转运蛋白在细胞对有毒物质的耐受性和抵抗力方面发挥关键作用, 可以将有毒疏水性化合物隔离到特定的细胞器中, 也可以引导它们分泌到胞外^[1]. 底物多样性促使ABC转运蛋白参与众多的生理过程. 在人体中,

ABC转运蛋白对于维持血脑屏障或调节细胞对化疗药物的耐药性起着重要作用^[2-3]. 在植物中, ABC转运蛋白参与维持细胞渗透稳态、毒物的富集及外排、气孔运动以应对各种胁迫, 是种子正常萌发和侧根发育所必需的^[4-5]. 在植物病原真菌中, ABC转运蛋白则参与了对细胞毒性化合物或杀菌剂的抗性, 以促进其在不利生长的环境中生存^[6].

1 ABC转运蛋白的结构

ABC转运蛋白由全转运蛋白或半转运蛋白组成, 全转运蛋白含有2个跨膜结合区 (transmembrane binding domain, TMD) 和2个核苷酸结合区 (nucleotide binding domains, NBD), 而半转运蛋白只含1个跨膜区和1个核苷酸结合

* 国家自然科学基金(31470249), 国家重点研发计划(2016YFD0300707)和浙江省重点研发计划(2019C02010)资助项目.

** 通讯联系人.

王教瑜. Tel: 0571-86907973; E-mail: wangjiaoyu78@sina.com

孙国昌. Tel: 0571-86419108; E-mail: sungc01@sina.com

收稿日期: 2020-08-23, 接受日期: 2020-10-15

区. 高分辨率 NBD 和 TMD 晶体结构已经被确定^[1-3], 其中 NBD 位于细胞质内, TMD 位于细胞双层膜内, NBD 具有亲水性, 而 TMD 具有疏水性. 已经有一些 ABC 转运蛋白完整的晶体结构被解析 (图 1).

性. 已经有一些 ABC 转运蛋白完整的晶体结构被解析 (图 1).

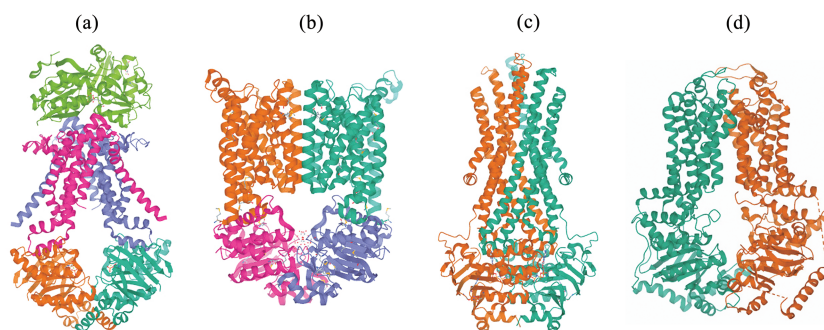


Fig. 1 The crystal structures of full ABC transporters^[6-7]

图1 ABC转运蛋白的晶体结构^[6-7]

(a) 古生球菌的钼酸盐/钨酸盐转运蛋白ModBC^[6]; (b) 大肠杆菌的维生素B12转运蛋白BtuCD^[4]; (c) 金黄色葡萄球菌中的ABC转运蛋白Sav1866^[8-9]; (d) 人ABCG5/G8^[7].

NBD 是 ABC 转运蛋白的运动区域, 由类似 RecA 的子域和螺旋子域组成. NBD 包含几个保守基序, 参与 ATP 的结合和水解, 并促进转运蛋白的组装^[1, 10]. 不同的 ABC 转运蛋白成员间, 其 NBD 相对保守, 序列同源性通常为 30%~40%^[11]. 这些保守结构域在 ABC 转运蛋白中的排列顺序也相对保守, 因此 NBD 也具有保守的晶体结构. 在单个 NBD 或全转运蛋白结合状态下, 两个 ATP 分子夹在 NBD-NBD 界面处. 这种排列方式显示出了 ATP 结合和水解协同作用的结构基础^[12-13], 这与基于序列分析的早期预测和许多生化研究结果相一致^[14-18]. 处于 ATP 结合状态的单个 NBD 结构与 Sav1866 (金黄色葡萄球菌中的 ABC 转运蛋白) 的 NBD 结构高度一致, 表明存在严格的几何约束. 相

比之下, 全转运蛋白或二聚体 NBD 的无核苷酸状态表现出很大差异, 表明在此状态下不存在严格的几何约束. 在没有 TMD 的情况下, 大多数分离出的 NBD 是单体结构. 在非水解条件下添加 ATP 会导致这些单体 NBD 形成二聚体.

与 NBD 不同, TMD 在主要序列、长度、结构和跨膜 (TM) 螺旋数方面差异较大. ABC 外向转运蛋白保守核心为 12 个 TM 螺旋, 而 ABC 内向转运蛋白则具有 10~20 个 TM 螺旋. Sav1866 的 TMD 延伸到膜边界外, 并向细胞质中突出约 25 Å. 人类多药抗性 ABC 外向转运蛋白 Mdr1 中相邻的 TM 螺旋与 Sav1866 中螺旋排列相一致^[19], 表明 Sav1866 可能是所有 ABC 外向转运蛋白核心结构的良好模型 (图 2). 实际上, ABC 跨膜结构域的多肽折叠

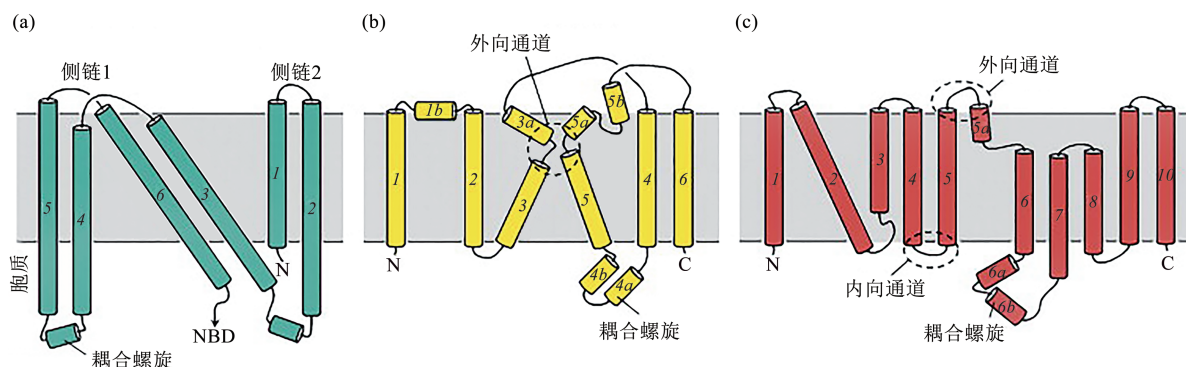


Fig. 2 Topological schemes of the TMD^[6]

图2 TMDs的拓扑结构^[6]

(a) 金黄色葡萄球菌的Sav1866; (b) 古生球菌的钼酸盐/钨酸盐转运蛋白ModBC; (c) 大肠杆菌的维生素B12转运蛋白BtuCD.

在结构上是不均一的, 目前有3种类型: 分别为TypeI内向转运蛋白、TypeII内向转运蛋白和ABC外向转运蛋白.

TypeI内向转运蛋白跨膜结构域最初发现于运输钼酸盐的ModB跨膜区上, 随后又在麦芽糖转运蛋白MalF和MalG以及甲硫氨酸转运蛋白MetI的跨膜区上被发现. MetI由5个TM螺旋构成, 在ModB、MalF、MalG上分别为6、8、6个TM螺旋. TypeII内向转运蛋白最早发现于BtuC和来自于流感嗜血杆菌同源转运体HI1471, 完整结构包括10或20个TM螺旋. ABC外向转运蛋白, 最初被发现于Sav1866外排蛋白, 随后又在同源体MsbA(大肠杆菌中的ABC转运蛋白)上被发现, 完整结构包括6或12个TM螺旋^[19].

2 真核生物ABC转运蛋白的分类和功能

在真核生物中, ABC转运蛋白除位于质膜以外, 在细胞器膜上也有分布. 线粒体和叶绿体膜上的ABC转运蛋白, ATP水解发生在基质一侧. 位于其他细胞器上的大部分ABC转运蛋白, ATP水解

均发生在胞质侧. 发生ATP水解的一侧通常被称作顺式面, 另一侧则被称作反式面^[8]. 根据底物运输的方向, ABC转运蛋白可分为内向转运蛋白和外向转运蛋白两种. 内向转运蛋白将底物从反式面运往顺式面, 外向转运蛋白将底物从顺式面通过膜运向反式面, 或在生物膜的内膜和外膜之间进行转运^[8]. 内向转运蛋白又可依据其结构上和生物学机理上的差别分为两种类型: importerI和importerII. 真核生物中, 除极少数特例外都是外向转运蛋白. Dean等^[20]根据系统发育分析将真核生物ABC转运蛋白分为7个亚家族(ABCA~G). 目前已知的真核ABC转运蛋白通常是4个结构域组成, 这4个结构域以TMD1-NBD1-TMD2-NBD2或者NBD1-TMD1-NBD2-TMD2的顺序排列, 形成全ABC转运蛋白(图3). 但也有例外, 哺乳动物肽转运蛋白TAP1-TAP2、裂殖酵母(*Schizosaccharomyces pombe*)重金属耐受因子1(HMT1)和果蝇色素转运蛋白(White、Brown和Scarlet)由一个TMD与一个NBD构成, 称为半ABC转运蛋白(图3). 此外, ABCE和ABCF亚家族的ABC蛋白仅含有NBD结构, 未发现具有转运功能^[21].

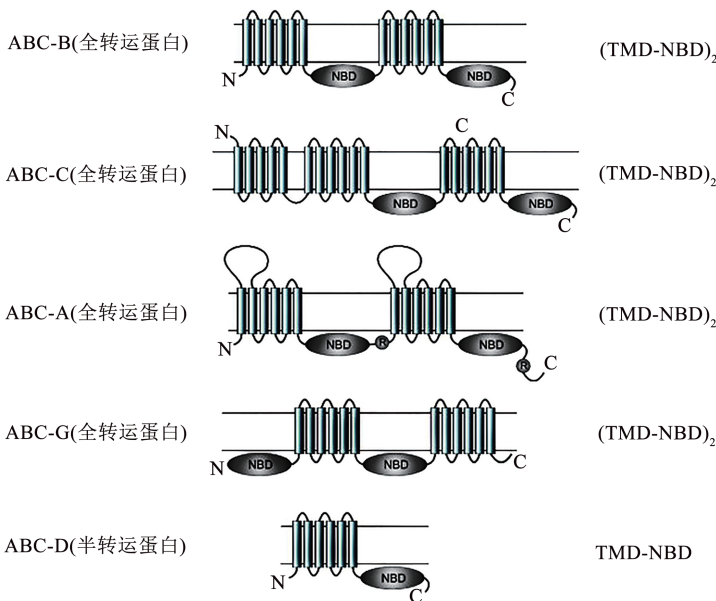


Fig. 3 Predicted topology and domain organization of different subfamilies of fungal ABC proteins^[22]
图3 真菌ABC转运蛋白不同亚族预测拓扑和区域组织结构^[22]

2.1 ABCB和ABCC家族

2019年, Ford等^[23]构建了一种ABC转运蛋白的拓扑结构, 广泛适用于ABCB和ABCC亚家

族^[24-34], 在该结构中, 每个TMD有6个长α螺旋. ABC转运蛋白由载体蛋白运输通道向内进入核苷结合部位, 这种构象允许转运蛋白交替进入膜的内

侧与外侧,这一跨膜转运机制与Jardetzky^[35]多年前提出的一致。

ABCB家族是最大的ABC蛋白家族,普遍存在于真菌和细菌中,可分为全ABCB、定位于线粒体的半ABCB和参与多肽转运的ABCB三个不同的亚型。ABCB广泛分布在各种真菌中,是目前被研究最多的ABC蛋白家族之一,具有多种不同的功能。ABCB蛋白最初因其参与多药抗性而被发现,参与多药抗性的ABCB在所有生物体都相对保守^[36-37]。在植物中,ABCB转运蛋白介导镉、铅和铝等重金属离子的转运,提高植物重金属耐性,直接参与植物体内生长素的运输,从而调控植物高度,它还可能将苹果酸从质体转运到保卫细胞中调节气孔的开合^[38]。

目前发现的ABCC亚家族都是全ABC蛋白结构,它们中的大多数有一个N端疏水跨膜区域的延伸,被称为多药抗性蛋白(MRP)或者囊性纤维化传导调节因子(CFTR)^[39]。这类蛋白质运输的底物一般是药物与有机阴离子,其主要参与离子转运、有毒物质分泌和信号传导。除了酿酒酵母,真菌中关于ABCC亚家族蛋白的研究尚不多见。

2.2 ABCG和ABCA家族

ABCG家族的结构研究从通过X射线衍射晶体分析法确定了ABCG5/G8胆固醇输出蛋白的高分辨率结构开始^[7],后来通过单粒子冷冻电子显微镜(cryo-EM)确定了同型二聚体ABCG2的结构^[40]。ABCG5/G8的结构与以ModBC^[41]、MalFGK₂^[42]和MetNI^[43]为代表的细菌内向转运蛋白结构相类似。尽管大小和形状总体相似,但ABCG5/G8和ABCG2中6个跨膜 α 螺旋分布与ModBC有很大不同。ModBC中含有保守EAA基序的NBD接触螺旋位于跨膜螺旋4和5之间,而在ABCG2中,执行此作用的接触螺旋位于跨膜螺旋2和3之间。反向拓扑结构是ABCG亚家族蛋白的最大特征,即核酸排列在跨膜结构域前面。ABCG亚家族蛋白中包含了全ABC蛋白和半ABC蛋白。全ABCG转运蛋白与多效抗药性(PDR)表型相关,因此也叫做PDR转运子。ABCG亚家族蛋白在真菌中的成员一般也是与药的抗性相关^[44]。

在ABCA亚家族中,除了冬虫夏草(*Ophiocordyceps sinensis*)的ABC结构,目前存在的全部是全ABC蛋白结构。事实上,ABCA亚家族的半ABC蛋白已经在所有动物和真菌中完全丢失。人类基因组中发现12个ABCA蛋白的编码基因,

在斑马鱼中找到7个^[36]。目前对ABCA亚家族蛋白了解不多,被研究最多的是人类中参与脂质转运和代谢的ABCA^[37],最新研究揭示了ABCA1参与脂质运输的清晰的晶体结构和转运模式^[45]。人类ABCA1可将外周组织中多余的胆固醇运回肝脏,经胆汁排泄出体外,具有保护血管的功能。海胆的SuABCA与人ABCA3相似,主要在精液中表达,可与麦胚凝集素结合,二者结合后可以抑制精子成熟,显示其可能参与精子成熟时胆固醇的脱落^[36]。ABCA家族的特征还在于每个TMD具有6个跨膜跨度。ABCA1每个TMD中的跨膜螺旋折叠和拓扑与ABCG2非常相似,但与ABCG2相比,TMD位于NBD之前,这是ABC转运蛋白的典型特征。

2.3 ABCD家族

到目前为止,关于真核转运蛋白ABCD亚家族的结构信息较少。该组蛋白质位于过氧化物酶体区室,可能主要参与脂肪酸代谢有关的底物运输^[46]。蛋白质序列分析表明它们是同源二聚体或异源二聚体,而同源建模表明它们与ABCB和C亚家族成员的整体结构相类似^[47]。

ABCD亚家族蛋白可分为两个群组,分别为Group-I和Group-II,在大多数真菌中均有发现^[22]。在人类、真菌和原生生物中,ABCD亚家族定位于过氧化物酶体膜,且都是半ABC蛋白结构。ABCD家族在过氧化物酶体的长链脂肪酸转运过程中发挥着特异性功能,也被称为过氧化物酶体转运蛋白(ALDP)。真菌中过氧化物酶体转运子的研究还不多见。酿酒酵母有两个ALDP蛋白,Pxa1和Pxa2,它们参与长链脂肪酸的运输,其敲除突变体不能在以脂肪酸或油酸盐为唯一碳源的培养基上生长^[48]。

3 ABC转运蛋白在植物病原真菌中的作用

病原真菌寄生于动植物体表或体内,侵染动植物组织,引起人类、家畜和昆虫患病或引发植物病害。人类真菌病原体白色念珠菌(*Candida albicans*)、新隐球菌(*Cryptococcus neoformans*)和烟曲霉(*Aspergillus fumigatus*)的ABC转运蛋白的功能已有报道,其中部分ABC转运蛋白影响病原真菌致病力^[49-51]。近年来,植物病原真菌中,如稻瘟病菌(*Magnaporthe oryzae*)、灰葡萄孢菌(*Botrytis cinerea*)和禾谷镰刀菌(*Fusarium graminearum*),ABC转运蛋白的分布、分类和在真菌耐药性和致病性方面的作用不断得到关注^[52-58]。

稻瘟病菌能引起水稻生产中最为严重的病害——稻瘟病, 严重威胁世界粮食生产安全. 稻瘟病菌基因组中含有 50 个 ABC 转运蛋白, 目前其中 7 个 (ABC1~7) 的功能已被报道. *ABC1* 基因编码的蛋白质与酵母 ABC 转运蛋白 Pdr5 和 Cdr1 相似. 与 *PDR5* 一样, *ABC1* 的转录水平在代谢毒性反应中显著升高. 但与酵母 *PDR5* 和 *CDR1* 不同的是, *ABC1* 的缺失不会导致突变体对代谢毒物或抗真菌化合物的敏感性增加. 然而, *ABC1* 基因的插入突变和基因缺失都可导致稻瘟病菌对水稻或大麦表皮侵染能力显著下降^[52], 表明 *ABC1* 可能不在 MDR 中发挥作用, 而在致病性中发挥某种特殊作用. *ABC4* 基因也是稻瘟病菌致病性所必需, 它帮助病菌应对侵染过程中的有毒环境. *ABC4* 基因也与多药抗性相关, *ABC4* 缺失突变体对咪康唑、放线菌酮、白藜芦醇敏感, 但对抑制叶酸合成的抗代谢药物-氨甲叶酸的敏感性却没有变化^[53]. 此外, 稻瘟病菌的多药抗性还需要 *ABC2*^[54] 和 *ABC3*^[55]. *ABC2* 和 *ABC1* 蛋白是具有 [NBF-TMD₆]₂ 构型的 PDR 型转运蛋白. *ABC2* 突变体对联苯双唑醇、腈菌唑、戊唑醇、喜树碱和放线菌酮敏感. 研究发现, *ABC3* 基因也与致病性相关, 其参与侵染早期形态发生. *ABC3* 突变体能够穿透寄主植物的细胞壁, 但不能使其致病, 推测 *ABC3* 基因参与克服附着胞内的细胞毒性和氧化应激, 以及侵入后生长过程中对某些拮抗物质的防御. 对 *ABC5*、*ABC6* 和 *ABC7* 的研究表明, 这些基因可能分别参与病菌的毒力、非生物胁迫耐受性和分生孢子形成^[56]. *ABC5* 基因参与植物毒性代谢产物的外排, 其突变体能够形成成熟的附着胞并成功地穿透水稻叶鞘组织, 但致病性显著降低. *ABC6* 对抵御饥饿、渗透压等非生物胁迫至关重要, 其突变体在基本培养基和含山梨醇、KCl、NaCl 的培养基上生长速度都明显降低.

灰葡萄孢菌是一种世界性分布的植物病原菌, 能侵染多种双子叶植物, 引发 200 多种经济作物和观赏植物感染灰霉病. 灰葡萄孢菌中已克隆了 14 个 ABC 转运蛋白, 并已证实其中 BcatrB、BcatrD 和 BcatrK 3 个蛋白质与多药抗性有关. BcatrB 突变株对白藜芦醇和苯基吡咯类杀菌剂咯菌腈的敏感性增加; BcatrD 突变株对恶唑唑极具敏感性; BcatrK 敲除突变株对多氧菌素、有机磷类和异稻瘟净类杀菌剂的敏感性增强^[57]. Stefanato 等^[58] 发现, 在灰葡萄孢菌侵染拟南芥过程中, BcatrB 可诱导拟南芥

分泌亚麻芥素, 从而帮助侵染. Atm1 是一种真核生物中保守的线粒体内膜 ABC 转运蛋白, 主要通过向细胞质转运 Fe/S 簇参与维持细胞的正常生命活动. 崔亚忠等^[59] 研究发现, 灰葡萄孢菌 Atm1 参与分生孢子萌发及对寄主植物的侵染.

小麦赤霉病在小麦的各个生育阶段都能产生危害, 引起穗腐、茎腐、苗腐、秆腐, 给全世界小麦的安全生产造成极大威胁. 小麦赤霉病主要由禾谷镰刀菌 (*F. graminearum*) 引起. 王芝慧等^[60] 通过生物信息学分析发现禾谷镰刀菌基因组中有 62 个 ABC 蛋白. 基因功能分析发现, *FgATM1* 敲除突变体对高铁表现极度敏感, *FgArb1* 突变体对小麦的致病性完全丧失.

4 展 望

近年来, 关于 ABC 转运蛋白结构和机制的研究不断深入, 不断刷新我们对 ABC 转运蛋白结构和功能的理解. 目前已有的 ABC 转运蛋白的晶体结构信息为研究其转运机理提供了重要的基础, 然而, ABC 蛋白的作用机制, 仍有待于进一步探究.

与哺乳动物相比, 真菌中克隆和研究的 ABC 基因相对较少, 尤其是在植物病原菌中. 根据蛋白质序列, Kovalchuk 和 Driessen^[22] 把稻瘟病菌中的 50 个 ABC 转运蛋白分为 9 个亚科. 目前只有 7 个蛋白质的功能得到研究, 这些 ABC 蛋白有的是稻瘟病菌致病性所必需, 有的参与多药抗性, 有些 ABC 基因虽不参与致病性, 但在侵染早期阶段参与克服附着胞内的细胞毒性和氧化应激, 并对侵入后遇到的某些拮抗物质进行防御. 这些 ABC 基因功能的多重性和特异性提示, 有必要对其余 ABC 基因进行生物学功能分析.

ABC 转运蛋白在药物吸收、分布、代谢中起着重要作用. 近年来, 已经建立了多种体外、原位/离体和体内方法用于研究 ABC 转运蛋白的功能和药物-转运蛋白的相互作用. 体内模型包括转运蛋白基因敲除模型、自然突变体动物模型和人源化动物模型. 此外, 运用单分子荧光共振能量转移技术 (smFRET) 能够实时监测 ABC 转运蛋白在底物转运过程中的构象变化. 抗癌药物的研究也发现, 某些化合物对 ABC 转运蛋白结构和作用机制的研究有重要帮助, 而 ABC 转运蛋白的研究也将有助于临床抗癌药物的筛选和研究. 同时, 这些新技术的应用和新发现也必然会加快植物、动物、真菌等不同物种中 ABC 蛋白的研究进展.

参 考 文 献

- [1] Davidson A L, Chen J. ATP-binding cassette transporters in bacteria. *Annu Rev Biochem*, 2004, **73**: 241-268
- [2] Jones P M, George A M. The ABC transporter structure and mechanism: perspectives on recent research. *Cell Mol Life Sci*, **61**(6): 682-699
- [3] Quioco F A, Ledvina P S. Atomic structure and specificity of bacterial periplasmic receptors for active transport and chemotaxis: variation of common themes. *Mol Microbiol*, 1996, **20**(1): 17-25
- [4] Locher K P, Lee A T, Rees D C. The *E. coli* BtuCD structure: a framework for ABC transporter architecture and mechanism. *Science*, 2002, **296**(5570): 1091-1098
- [5] Pinkett H W, Lee A T, Lum P, *et al.* An inward-facing conformation of a putative metal-chelate-type ABC transporter. *Science*, 2007, **315**(5810): 373-377
- [6] Hollenstein K, Frei D C, Locher K P. Structure of an ABC transporter in complex with its binding protein. *Nature*, 2007, **446**(7132): 213-216
- [7] Lee J Y, Kinch L N, Borek D M, *et al.* Crystal structure of the human sterol transporter ABCG5/ABCG8. *Nature*, 2016, **533**(7604): 561-564
- [8] Dawson R J, Locher K P. Structure of a bacterial multidrug ABC transporter. *Nature*, 2006, **443**(7108): 180-185
- [9] Dawson R J, Locher K P. Structure of the multidrug ABC transporter Sav1866 from *Staphylococcus aureus* in complex with AMP-PNP. *FEBS Lett*, 2007, **581**(5): 935-938
- [10] Schneider E, Hunke S. ATP-binding-cassette (ABC) transport systems: functional and structural aspects of the ATP-hydrolyzing subunits/domains. *FEMS Microbiol Rev*, 1998, **22**(1): 1-20
- [11] 金宏滨, 刘东辉, 左开井, 等. 植物ABC转运蛋白与次生代谢产物的跨膜转运. *中国农业科技导报*, **2007**(3): 32-37
Jin H B, Liu D H, Zuo K J, *et al.* *Chin J Agric Science Technol*, **2007**(3): 32-37
- [12] Davidson A L, Laghaeian S S, Mannering D E. The maltose transport system of *Escherichia coli* displays positive cooperativity in ATP hydrolysis. *J Biol Chem*, 1996, **271**(9): 4858-4863
- [13] Senior A E, Bhagat S. P-glycoprotein shows strong catalytic cooperativity between the two nucleotide sites. *Biochemistry*, 1998, **37**(3): 831-836
- [14] Jones P M, George A M. Subunit interactions in ABC transporters: towards a functional architecture. *FEMS Microbiol Lett*, 1999, **179**(2): 187-202
- [15] Hrycyna C A, Ramachandra M, Ambudkar S V, *et al.* Mechanism of action of human P-glycoprotein ATPase activity photochemical cleavage during a catalytic transition state using orthovanadate reveals cross-talk between the two ATP sites. *J Biol Chem*, 1998, **273**(27): 16631-16634
- [16] Chen J, Sharma S, Quioco F A, *et al.* Trapping the transition state of an ATP-binding cassette transporter: evidence for a concerted mechanism of maltose transport. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2001, **98**(4): 1525-1530
- [17] Mannering D E, Sharma S, Davidson A L. Demonstration of conformational changes associated with activation of the maltose transport complex. *J Biol Chem*, 2001, **276**(15): 12362-12368
- [18] Vergani P, Lockless S W, Nairn A C, *et al.* CFTR channel opening by ATP-driven tight dimerization of its nucleotide-binding domains. *Nature*, 2005, **433**(7028): 876-880
- [19] Stenham D R, Campbell J D, Sansom M S, *et al.* An atomic detail model for the human ATP binding cassette transporter P-glycoprotein derived from disulphide cross-linking and homology modeling. *FASEB J*, 2003, **7**(15): 2287-2289
- [20] Dean M, Hamon Y, Chimini G. The human ATP-binding cassette (ABC) transporter superfamily. *J Lipid Res*, 200, **42**(7): 1007-1017
- [21] Kerr I D. Sequence analysis of twin ATP binding cassette proteins involved in translational control, antibiotic resistance, and ribonuclease L inhibition. *Biochem Biophys Res Commun*, 2004, **315**(1): 166-173
- [22] Kovalchuk A, Driessen A J. Phylogenetic analysis of fungal ABC transporters. *BMC Genomics*, 2010, **11**: 177
- [23] Ford R C, Beis K. Learning the ABCs one at a time: structure and mechanism of ABC transporters. *Biochem Soc Trans*, 2019, **47**(1): 23-36
- [24] Kim Y, Chen J. Molecular structure of human P-glycoprotein in the ATP-bound outward-facing conformation. *Science*, 2018, **359**(6378): 915-919
- [25] Oldham M L, Hite R K, Steffen A M, *et al.* A mechanism of viral immune evasion revealed by cryo-EM analysis of the TAP transporter. *Nature*, 2016, **529**(7587): 537-540
- [26] Oldham M L, Grigorieff N, Chen J. Structure of the transporter associated with antigen processing trapped by herpes simplex virus. *Elife*, 2016, **5**: e21829
- [27] Blees A, Janulien D, Hofmann T, *et al.* Structure of the human MHC-I peptide-loading complex. *Nature*, 2017, **551**(7681): 525-528
- [28] Johnson Z L, Chen J. Structural basis of substrate recognition by the multidrug resistance protein MRP1. *Cell*, 2017, **168**(6): 1075-1085
- [29] Johnson Z L, Chen J. ATP binding enables substrate release from multidrug resistance protein 1. *Cell*, 2018, **172**(1-2): 81-89
- [30] Zhang Z, Chen J. Atomic structure of the cystic fibrosis transmembrane conductance regulator. *Cell*, 2016, **167**(6): 1586-1597
- [31] Zhang Z, Liu F, Chen J. Conformational changes of CFTR upon phosphorylation and ATP binding. *Cell*, 2017, **170**(3): 483-491
- [32] Li N, Wu J X, Ding D, *et al.* Structure of a pancreatic ATP-sensitive potassium channel. *Cell*, 2017, **168**(1-2): 101-110
- [33] Wu J X, Ding D, Wang M, *et al.* Ligand binding and conformational changes of SUR1 subunit in pancreatic ATP-sensitive potassium channels. *Protein Cell*, 2018, **9**(6): 553-567
- [34] Lee K P K, Chen J, MacKinnon R. Molecular structure of human KATP in complex with ATP and ADP. *Elife*, 2017, **6**: e32481

- [35] Jardetzky O. Simple allosteric model for membrane pumps. *Nature*, 1966, **211**(5052): 969-970
- [36] 马云芳, 梁国鲁, 裴得胜, 等. ABC转运蛋白研究的新进展. *生物技术通报*, **2008**(5): 35-41
Ma Y F, Liang G L, Pei D S, *et al.* *Chin J Biotechnol Bulletin*, **2008**(5): 35-41
- [37] Beers M F, Mulugeta S. The biology of the ABCA3 lipid transporter in lung health and disease. *Cell Tissue Res*, 2017, **367**(3): 481-493
- [38] 王暄, 陈海霞. 植物 ABCB 转运蛋白研究进展. *生物技术通报*, 2020, **36**(6): 223-229
Wang X, Chen H X. *Biotechnol Bulletin*, 2020, **36**(6): 223-229
- [39] Paumi C M, Chuk M, Snider J, Stagljar I, Michaelis S. ABC transporters in *Saccharomyces cerevisiae* and their interactors: new technology advances the biology of the ABCC (MRP) subfamily. *Microbiol Mol Biol Rev*, 2009, **73**(4): 577-593
- [40] Taylor N M I, Manolaridis I, Jackson S M, *et al.* Structure of the human multidrug transporter ABCG2. *Nature*, 2017, **546**(7659): 504-509
- [41] Hollenstein K, Frei D C, Locher K P. Structure of an ABC transporter in complex with its binding protein. *Nature*, 2007, **446**(7132): 213-216
- [42] Oldham M L, Khare D, Quijcho F A, *et al.* Crystal structure of a catalytic intermediate of the maltose transporter. *Nature*, 2007, **450**(7169): 515-521
- [43] Kadaba N S, Kaiser J T, Johnson E, *et al.* The high-affinity *E. coli* methionine ABC transporter: structure and allosteric regulation. *Science*, 2008, **321**(5886): 250-253
- [44] Coleman J J, Mylonakis E. Efflux in fungi: la pièce de résistance. *Plos Pathog*, 2009, **5**(6): e1000486
- [45] Qian H, Zhao X, Cao P, Lei J, Yan N, Gong X. Structure of the human lipid exporter ABCA1. *Cell*, 2017, **169**(7): 1228-1239
- [46] Morita M, Imanaka T. Peroxisomal ABC transporters: structure, function and role in disease. *Biochim Biophys Acta*, 2012, **1822**(9): 1387-1396
- [47] Andreoletti P, Raas Q, Gondcaille C, *et al.* Predictive structure and topology of peroxisomal ATP-binding cassette (ABC) transporters. *Int J Mol Sci*, 2017, **18**(7): 1593
- [48] van Roermund C W, Ijlst L, Majczak W, *et al.* Peroxisomal fatty acid uptake mechanism in *Saccharomyces cerevisiae*. *J Biol Chem*, 2012, **287**(24): 20144-20153
- [49] Wolferger H, Mamnun Y M, Kuchler K. Fungal ABC proteins: pleiotropic drug resistance, stress response and cellular detoxification. *Res Microbiol*, 2001, **52**(3-4): 375-389
- [50] Slaven J W, Anderson M J, Sanglard D, *et al.* Increased expression of a novel *Aspergillus fumigatus* ABC transporter gene, *atrF*, in the presence of itraconazole in an itraconazole resistant clinical isolate. *Fungal Genet Biol*, 2002, **36**(3): 199-206
- [51] Sanguinetti M, Posteraro B, La Sorda M, *et al.* Role of AFR1, an ABC transporter-encoding gene, in the *in vivo* response to fluconazole and virulence of *Cryptococcus neoformans*. *Infect Immun*, 2006, **4**(2): 1352-1359
- [52] Urban M, Bhargava T, Hamer J E. An ATP-driven efflux pump is a novel pathogenicity factor in rice blast disease. *EMBO J*, 1999, **18**(3): 512-521
- [53] Gupta A, Chattoo B B. Functional analysis of a novel ABC transporter ABC4 from *Magnaporthe grisea*. *FEMS Microbiol Lett*, 2008, **78**(1): 22-28
- [54] Lee Y J, Yamamoto K, Hamamoto H, *et al.* A novel ABC transporter gene ABC2 involved in multidrug susceptibility but not pathogenicity in rice blast fungus, *Magnaporthe grisea*. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 2005, **81**: 13-23
- [55] Sun C B, Suresh A, Deng Y Z, *et al.* A multidrug resistance transporter in *Magnaporthe* is required for host penetration and for survival during oxidative stress. *Plant Cell*, 2006, **8**(12): 3686-3705
- [56] Kim Y, Park S Y, Kim D, *et al.* Genome-scale analysis of ABC transporter genes and characterization of the ABCC type transporter genes in *Magnaporthe oryzae*. *Genomics*, 2013, **101**(6): 354-361
- [57] 楼天灵. 小麦赤霉病菌(*Fusarium graminearum*)ABC转运蛋白(ABCT)基因功能分析[D]. 浙江: 浙江大学, 2010
Lou T L. Functional Analysis of ATP-Binding Cassette Transporter (ABCT) Genes in *Fusarium graminearum*[D]. Zhejiang: Zhejiang University, 2010
- [58] Stefanato F L, Abou-Mansour E, Buchala A, *et al.* The ABC transporter BcatrB from *Botrytis cinerea* exports camalexin and is a virulence factor on *Arabidopsis thaliana*. *Plant J*, 2009, **58**(3): 499-510
- [59] 崔亚忠, 陶岚, 孙晨浩, 等. ABC转运蛋白BcAtm1参与灰葡萄孢分生孢子萌发及对寄主植物的侵染. *植物病理学报*, 2016, **46**(5): 614-623
Cui Y Z, Tao L, Sun C H, *et al.* *Acta Phytopathologica Sinica*, 2016, **46**(5): 614-623
- [60] 王芝慧. 禾谷镰刀菌ABC蛋白调控铁动态平衡和致病机制的研究[D]. 浙江: 浙江大学, 2019
Wang Z H. Regulatory Mechanism of ABC Proteins in Iron Homeostasis and Pathogenesis of *Fusarium graminearum*[D]. Zhejiang: Zhejiang University, 2019

Research Progress in Structure of ABC Transporters and Their Function in Pathogenic Fungi*

CHEN Dao-Bo^{1,2}, WANG Jiao-Yu^{2**}, XIAO Chen-Wen³, WANG Yan-Li², SUN Guo-Chang^{2)**}

⁽¹⁾College of Chemistry and Life Sciences, Zhejiang Normal University, Jinhua 321004, China;

⁽²⁾State Key Laboratory for Managing Biotic and Chemical Threats to The Quality and Safety of Agro-products, Institute of Plant Protection and Microbiology, Zhejiang Academy of Agricultural Sciences, Hangzhou 310021, China;

⁽³⁾Institute of Animal Husbandry and Veterinary Science, Zhejiang Academy of Agricultural Sciences, Hangzhou 310021, China)

Abstract ABC(ATP-binding cassette) transporters are members of the largest superfamily of membrane transporters which modulate the transmembrane of various substrates against a chemical gradient via the energy by ATP hydrolysis. All organisms harbor numerous ABC proteins in different cellular compartments such as the plasma membrane, vacuoles, mitochondria and peroxisomes. Typically, ABC transporters are consisted of transmembrane domains(TMDs) and nucleotide-binding domains(NBDs) to bind their substrates and ATP respectively. NBDs, as the power engine of the ABC transporters, mediate the ATP binding and hydrolysis, while TMDs determine what ligands can be recognized. The ABC proteins, in most cases, were initially discovered during the investigation on resistance to a multitude of drugs, including PDR(pleiotropic drug resistance) and MDR (multidrug resistance). In the present article, we reviewed the research advances of the structure and transmembrane transport mechanism of ABC transporters and their roles in plant pathogenic fungi.

Key words ABC transporter, drug resistance, transmembrane transport mechanism, pathogenic fungi

DOI: 10.16476/j.pibb.2020.0238

* This work was supported by grants from The National Natural Science Foundation of China(31470249), National Key Research and Development Program of China(2016YFD0300707) and Key Research and Development Program of Zhejiang Province(2019C02010).

** Corresponding author.

WANG Jiao-Yu. Tel: 86-571-86907973; E-mail: wangjiaoyu78@sina.com

SUN Guo-Chang. Tel: 86-571-86419108; E-mail: sungc01@sina.com

Received: August 23, 2020 Accepted: October 15, 2020