

核苷类第二信使与放线菌代谢、发育及环境适应的调控机制研究进展

汤晓惠[#], 梁一凡[#], 李晶琪, 尤迪^{*}, 叶邦策^{*}

华东理工大学, 生物反应器工程全国重点实验室, 上海

汤晓惠, 梁一凡, 李晶琪, 尤迪, 叶邦策. 核苷类第二信使与放线菌代谢、发育及环境适应的调控机制研究进展[J]. 微生物学报, 2026, 66(3): 1045-1061.

TANG Xiaohui, LIANG Yifan, LI Jingqi, YOU Di, YE Bangce. Nucleotide second messengers regulate metabolism, development, and environmental adaptation of actinobacteria: a review[J]. *Acta Microbiologica Sinica*, 2026, 66(3): 1045-1061.

摘要: 放线菌是一类在生态功能和生物技术领域均具有重要地位的革兰氏阳性细菌, 它们不仅驱动自然界的有机质循环, 还是抗生素及其他生物活性天然产物的主要来源。其复杂的生理适应与生命活动受到精密信号转导系统的调控。本文聚焦于2类代表性放线菌: 形态复杂且次级代谢丰富的链霉菌(代表工业生产菌株)以及具备宿主适应性与致病性的分枝杆菌(代表病原类群), 系统综述了核苷类第二信使[包括环二腺嘌呤核苷酸(cyclic diadenosine monophosphate, c-di-AMP)、环二鸟嘌呤核苷酸(cyclic di-guanosine monophosphate, c-di-GMP)、环腺嘌呤核苷酸(adenosine monophosphate, cAMP)及(p)ppGpp]在细胞内的代谢、信号传递及其调控网络。进一步探讨了这些信号分子如何与双组分系统、群体感应及蛋白质酰化修饰等其他调控途径交互作用, 从而整合环境与发育信号, 协调细菌的生长、发育、次级代谢合成及环境适应性, 为理解放线菌信号转导系统的整体性、动态性及其在基础生命科学研究和生物技术、医学等领域的潜在应用提供参考。

关键词: 放线菌; 第二信使; 代谢调控

资助项目: 国家重点研发计划(2024YFA0917100); 国家自然科学基金(32570075); 上海市自然科学基金(25ZR1401089)
This work was supported by the National Key Research and Development Program of China (2024YFA0917100), the National Natural Science Foundation of China (32570075), and the Shanghai Natural Science Foundation (25ZR1401089).

[#]These authors contributed equally to this work.

^{*}Corresponding authors. E-mail: YOU Di, 030111115@mail.ecust.edu.cn; YE Bangce, bceye@ecust.edu.cn

Received: 2025-10-29; Accepted: 2025-12-29; Published online: 2026-01-08

Nucleotide second messengers regulate metabolism, development, and environmental adaptation of actinobacteria: a review

TANG Xiaohui[#], LIANG Yifan[#], LI Jingqi, YOU Di^{*}, YE Bange^{*}

State Key Laboratory of Bioreactor Engineering, East China University of Science and Technology, Shanghai, China

Abstract: Actinobacteria are Gram-positive bacteria of major ecological and biotechnological importance, responsible for organic matter turnover in nature and serving as a primary source of antibiotics and other bioactive natural products. Their complex physiological adaptation and life cycles are regulated by sophisticated signal transduction networks. This review examines the metabolism, signaling, and regulatory networks of nucleotide second messengers including cyclic diadenosine monophosphate (c-di-AMP), cyclic di-guanosine monophosphate (c-di-GMP), adenosine monophosphate (cAMP), and (p)ppGpp in the morphologically complex *Streptomyces* with rich secondary metabolites and pathogenic *Mycobacterium* with host adaptation. We discuss how these second messengers interact with other signaling systems, such as two-component systems, quorum sensing, and protein acylation, to integrate environmental and developmental cues. This coordination regulates the growth, development, secondary metabolite biosynthesis, and environmental adaptation of actinobacteria. By synthesizing current knowledge, this review provides reference for understanding the integrity and dynamics of the signal transduction system of actinobacteria, as well as their potential applications in the basic research of life sciences and in the fields of biotechnology and medicine.

Keywords: actinobacteria; second messengers; metabolic regulation

放线菌(actinobacteria)是一类革兰氏阳性细菌,广泛分布于土壤、水体及动植物体内。它们在自然界有机物分解过程中扮演关键角色,有助于维持生态系统的物质循环与稳定性。同时,该类群也是天然活性产物的主要来源,在医药与工业生物技术领域具有重要价值,能够合成链霉素、红霉素等多种抗生素、抗肿瘤药物以及免疫抑制剂等,展现出广泛的应用前景^[1]。

本文重点关注其中2类代表性类群:一是以链霉菌(*Streptomyces*)为代表的形态分化复杂、抗生素生产能力突出的类群;二是以结核分枝杆菌(*Mycobacterium tuberculosis*)为代表的致病性类群。链霉菌为典型的土壤腐生菌,其生命周期复杂,经历基内菌丝生长、气生菌丝形成

以及孢子分化等多个阶段,并因其强大的次级代谢产物合成能力而被广泛研究^[2]。其中,天蓝色链霉菌(*Streptomyces coelicolor*)是研究形态发育与次级代谢调控的经典模式菌株,常用于揭示营养胁迫应答、发育转换及抗生素生物合成等过程的分子机制^[3]。结核分枝杆菌是结核病的病原体,可在宿主体内长期滞留并实现免疫逃逸^[4];其近缘非致病菌耻垢分枝杆菌(*Mycobacterium smegmatis*)因生长快速、遗传操作简便,常被用作研究结核分枝杆菌生理与致病机制的替代模型^[5]。总体而言,这2类放线菌在响应环境变化、协调生长与代谢过程中均依赖于高度精细且动态调控的信号转导网络。

生物信号转导是细胞内生理与代谢信息传递的核心,依赖环境感知蛋白[如双组分系统

(two-component regulatory system, TCS)、感光蛋白、信号分子[如群体感应(quorum sensing, QS)分子、第二信使、代谢小分子]及下游效应分子(如受体蛋白、核糖开关)的协同作用, 实现对内外环境变化的精准应答, 在这一高度整合的信号网络中核苷类第二信使作为广泛存在的功能信号分子, 与 TCS、QS 等其他信号系统紧密互动、协同调控, 共同参与环境与发育信号的传递与整合, 并在代谢重组、形态发育及环境应激响应等关键生理过程中发挥重要作用^[6-7]。本文将系统阐述环二腺嘌呤核苷酸(cyclic diadenosine monophosphate, c-di-AMP)、环二鸟嘌呤核苷酸(cyclic diguanosine monophosphate, c-di-GMP)、环腺嘌呤核苷酸(adenosine monophosphate, cAMP)及(p)ppGpp 这4种核苷类第二信使(图1)在放线菌中的合成、传递及调控机制, 为理解它们如何与其他信号系统协同调控放线菌复杂生命活动与环境适应提供理论支撑。

1 核苷类第二信使的合成与降解

1.1 c-di-AMP 的合成与降解

c-di-AMP 由 2 分子 ATP 经特异性二腺苷酸环化酶(diadenylate cyclase, DAC)催化缩合生成(图 2A)。目前, 细菌中已鉴定出 4 类 DAC: DisA、CdaA、CdaS 和 CdaM^[8-9]。不同细菌中 DAC 的编码情况存在差异: 多数细菌通常仅编码一种 DAC, 但部分类群如芽孢杆菌(*Bacillus*)与梭菌属(*Clostridium*)中的某些菌株可同时编码 2 种或 3 种同工酶^[9], 反映了其信号合成路径的多样性与潜在的功能分化。在链霉菌和分枝杆菌中同样存在 DisA 型及其他类型的 DAC。以结核分枝杆菌为例, 其 DisA 同源蛋白 Rv3586 负责催化 c-di-AMP 的合成, 该催化过程包含一个独特的 2 步反应机制, 且 DisA 的酶活性受 ATP 变构调节, 提示 c-di-AMP 可能作为胞内能量状态的信号分子, 参与维持代谢稳态^[10]。

细胞内 c-di-AMP 的稳态水平由其合成与降

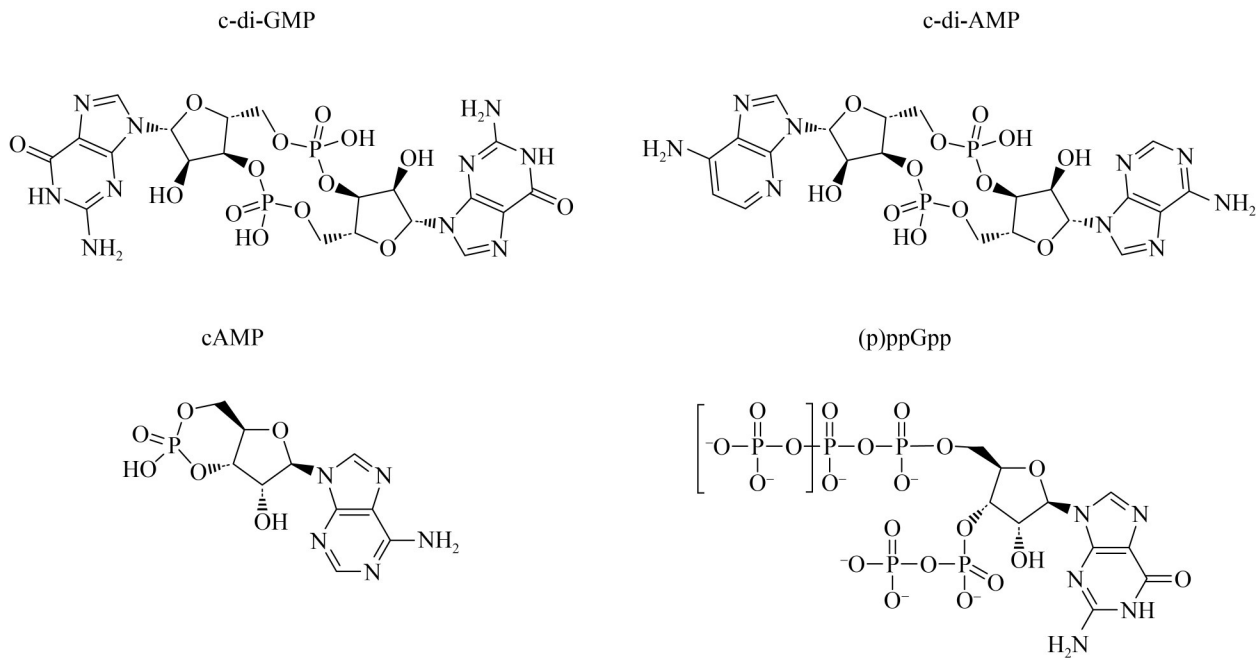


图1 c-di-AMP、c-di-GMP、cAMP和(p)ppGpp分子结构示意图

Figure 1 Schematic structures of c-di-AMP, c-di-GMP, cAMP, and (p)ppGpp.

解系统共同维持(图 2A)。c-di-AMP 可被磷酸二酯酶(phosphodiesterase, PDE)水解, 首先生成线性分子磷酸腺苷二磷酸(pApA), 随后 pApA 被进一步降解为 2 分子 AMP^[10-11]。目前的研究已鉴定出 3 类参与 c-di-AMP 降解的 PDE, 分别为 GdpP、Pde2 和 PgpH^[8-9], 且这些酶在不同细菌类群中的分布具有显著差异。其中, GdpP 是研究最为广泛的一类, 其催化中心为 DHH/DHHA1 结构域(DHH 代表特征性氨基酸序列 Asp-His-His)^[12-13], 在多种细菌中负责催化 c-di-AMP 的水解。

1.2 c-di-GMP 的合成与降解

与 c-di-AMP 类似, c-di-GMP 在细胞内的代谢也依赖于其合成酶与降解酶的动态平衡, 但

参与 c-di-GMP 代谢的酶家族规模更大, 结构和调控机制也更为多样, 这与它在调控生物被膜形成、运动性及毒力等多种生命过程中所承担的复杂信号整合功能相匹配。c-di-GMP 的合成由含有 GGDEF 结构域的二鸟苷酸环化酶(diguanylate cyclase, DGC)催化, 该酶以 2 分子 GTP 为底物, 通过环化反应生成 c-di-GMP (图 2B), GGDEF 结构域在进化上高度保守, 是 DGC 行使催化功能的核心结构域^[14]。c-di-GMP 的降解则主要依赖 2 类 PDE: 一类含有 EAL (Glu-Ala-Leu)结构域^[15-16], 另一类含有 HD-GYP (His-Asp/Gly-Tyr-Pro)结构域^[17], 二者均可水解 c-di-GMP, 最终生成 GMP。大多数细菌基因组编码的 c-di-GMP 代谢酶均含有 GGDEF、EAL

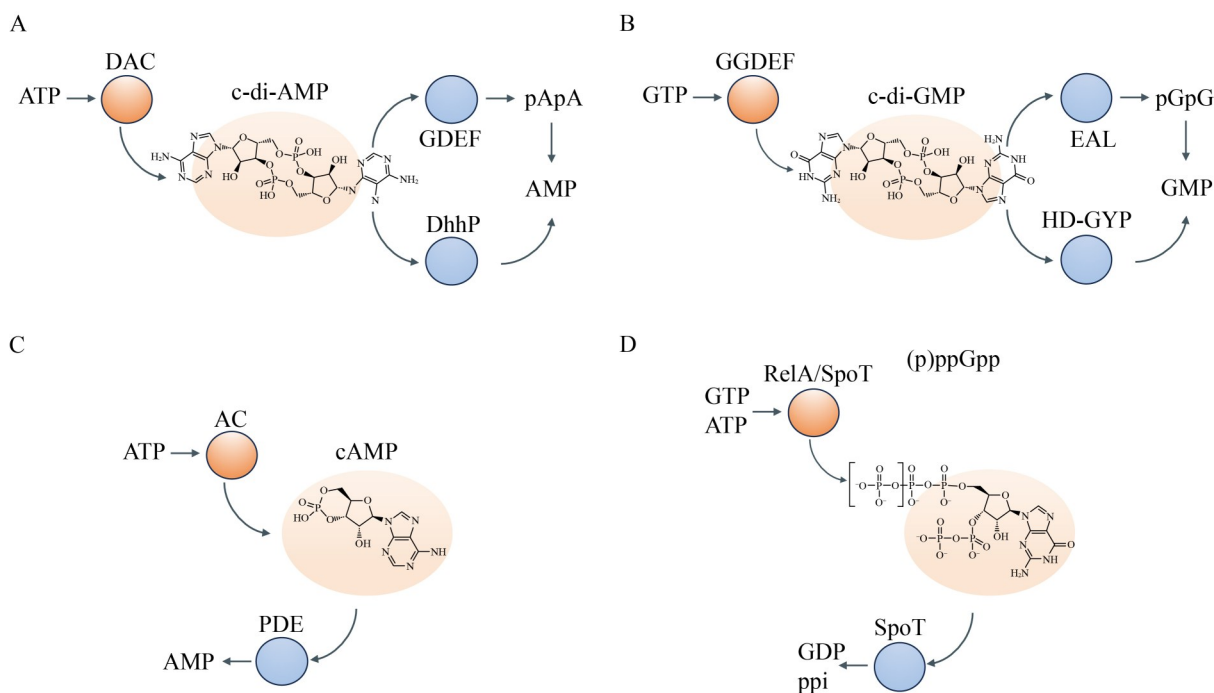


图2 c-di-AMP (A)、c-di-GMP (B)、cAMP (C)和(p)ppGpp (D)合成与降解途径示意图。A–D分别展示对应信号分子的合成和降解过程, 其中, 橘色圆形代表合成途径的催化酶, 蓝色圆形代表降解途径的催化酶。

Figure 2 Pathways of synthesis and degradation for c-di-AMP (A), c-di-GMP (B), cAMP (C), and (p)ppGpp (D). A–D depict the synthesis and degradation processes of their corresponding signaling molecules, with orange circles representing the catalytic enzymes for the synthesis pathways and blue circles for the degradation pathways.

或 HD-GYP 结构域。这些结构域在信号转导中的广泛分布与功能保守性凸显了 c-di-GMP 通路在细菌适应环境过程中的重要作用。

值得注意的是,不同细菌中 c-di-GMP 代谢酶的编码数量存在显著差异。例如,沙门氏菌 (*Salmonella*) 和铜绿假单胞菌 (*Pseudomonas aeruginosa*) 基因组分别编码 19 个和 44 个含有 GGDEF/EAL/HD-GYP 结构域的蛋白质,构成多层次、动态的 c-di-GMP 合成与水解系统^[18]。这种代谢酶的多样性使细菌能够应对不同环境精确调节 c-di-GMP 水平,从而协调包括群体行为、细胞周期和宿主互作在内的多种生理过程,体现了细菌信号网络在进化中形成的系统复杂性与功能适应性。

1.3 cAMP 的合成与降解

cAMP 是最早发现于动物细胞的环核苷酸类第二信使,广泛存在于各类生物中并具有多样的生理功能。细胞内 cAMP 的合成与降解分别由腺苷酸环化酶(adenylyl cyclase, AC)和 PDE 催化完成:AC 负责催化 ATP 环化生成 cAMP,而 PDE 则催化其水解降解(图 2C)。cAMP 合成过程受到细胞内能量状态(如 ATP/AMP 比值)、碳源可利用性及氧化还原平衡等多层次生理信号的精密调控,因此 cAMP 也被视为反映细胞代谢状态的信号分子^[19-21]。在进化过程中腺苷酸环化酶分化形成六大类别,其中第 III 类分布最为广泛、多样性最为显著,广泛存在于从细菌到动物的各类生物中^[22]。结核分枝杆菌在这方面表现尤为显著:其基因组编码的 III 类腺苷酸环化酶家族规模庞大,成员多达 17 个。这些酶在序列和结构上高度分化,能够感知并整合多种环境信号(如 pH、CO₂ 及营养胁迫),表明 cAMP 信号系统在其环境适应与致病过程中具有结构复杂性与关键功能^[23]。此外,cAMP 受体蛋白(cAMP receptor protein, CRP)同样被证实为结核分枝杆菌毒力所必需^[23],该机制与霍乱弧菌 (*Vibrio cholerae*) 通过 CRP 感知宿主环境并调

控毒力基因表达,以及百日咳鲍特氏菌 (*Bordetella pertussis*) 通过腺苷酸环化酶毒素直接干扰宿主细胞 cAMP 通路^[24-25]的致病机理虽有所不同,但均凸显了 cAMP 在病原菌与宿主互动中的重要地位。

结核分枝杆菌中目前仅有环核苷酸磷酸二酯酶 Rv0805 被证实具有催化 cAMP 的降解的功能^[23,26]。值得注意的是,该酶对经典的细菌第二信使 3',5'-cAMP 降解活性很低,却对 2',3'-cAMP 表现出高效水解能力,催化效率约为前者的 150 倍,进一步的结构与功能分析表明,活性中心 His98 残基对其高效降解 2',3'-cAMP 至关重要,该位点突变可导致酶活性丧失^[26]。这一独特的底物偏好性提示,结核分枝杆菌的 cAMP 代谢可能采用了与常见细菌模型不同的调控模式,如“信号重定向”或代谢旁路,这反映了其信号网络为适应宿主体内环境而演化的特殊策略。

在放线菌特别是结核分枝杆菌等致病菌中,cAMP 代谢展现出显著的多样性和系统复杂性。与 c-di-AMP、c-di-GMP 等其他环二核苷酸相比,cAMP 代谢网络具有更强的物种特异性与调控可塑性。这一特性很可能源自其在宿主与病原体长期共进化过程中形成的适应性策略,也进一步印证了 cAMP 在放线菌致病机制与环境适应中发挥关键作用^[27]。

1.4 (p)ppGpp 的合成与降解

当细菌面临碳源、氨基酸匮乏等营养胁迫时,细胞内会迅速积累鸟苷四磷酸(ppGpp)与鸟苷五磷酸(pppGpp),二者统称为(p)ppGpp,从而触发全局性的应激响应^[28]。该信号分子通过重编代谢通路、抑制核糖体合成与细胞分裂等高耗能过程,同步激活逆境适应相关基因的表达,使细菌能够在营养受限的环境中维持生存,这种由(p)ppGpp 介导的全局性调控反应通常被称为“警报素反应”^[28]。(p)ppGpp 的合成主要依赖 2 类酶系统(图 2D):一类为单功能合成酶(如

RelA), 主要以 ATP 为磷酸供体, 催化 GDP 或 GTP 生成(p)ppGpp; 另一类为兼具合成与水解活性的双功能酶(如 SpoT 或 RSH 家族成员), 不仅能够催化(p)ppGpp 合成, 也能催化其水解为 GDP/GTP 与焦磷酸^[29]。在应对不同营养状态时, 这 2 类酶协同维持(p)ppGpp 合成与降解的动态平衡, 从而确保细菌能在营养胁迫与恢复生长之间实现快速、灵活的生理状态转换^[29]。

2 第二信使的信号转导途径和调控机制

2.1 c-di-AMP: 协调放线菌代谢、应激与发育

c-di-AMP 在大多数细菌中是一种必需的信号分子, 参与调控代谢稳态并协调环境适应过程。在耻垢分枝杆菌中, c-di-AMP 能特异性结合并激活 TetR 家族转录因子 DarR, 增强其与靶 DNA 的结合能力, 从而强化对下游基因的转录抑制; 该研究还鉴定出多个受 DarR 直接调控的靶基因, 包括参与脂肪酸转运与活化的酰基辅酶 A 连接酶编码基因以及一个冷休克蛋白基因, 进而在分子水平上将 c-di-AMP 信号与中心代谢和应激响应直接关联; 表型分析进一步显示, DarR 缺失会导致细胞明显伸长及脂肪酸组成改变, 证实 c-di-AMP-DarR 通路在维持细胞形态完整性和代谢平衡中起关键作用; 此外, 生物信息学分析发现, DarR 的同源蛋白广泛存在于红城红球菌(*Rhodococcus erythropolis*)、变化棒杆菌(*Corynebacterium variabile*)等多种放线菌中, 且其识别的 DNA 结合基序高度保守^[30]。这表明由 DarR 介导的 c-di-AMP 信号传导机制(图 3)可能在放线菌中普遍存在且功能保守。

在红霉素生产菌红色糖多孢菌(*Saccharopolyspora erythraea*)中 GntR 家族调控因子 DasR 是一种新型 c-di-AMP 受体蛋白, 并且对 c-di-AMP 合成发挥直接转录调节作用^[31]。c-di-AMP 可变构激活 DasR 与其靶基因的结合

能力, 当细胞内 c-di-AMP 水平较高时能够触发对初级 *N*-乙酰氨基葡萄糖(*N*-acetylglucosamine, GlcNAc)代谢和 DasR 介导的次级代谢的连续响应^[31]。此外, 高水平的 c-di-AMP 能够屏蔽 GlcNAc 对孢子发育和抗生素合成的不利影响, 显著增强孢子分化以及红霉素的合成能力^[31]。由于 c-di-AMP 合成酶 DisA 也是 DasR 的调控靶标, 其转录水平受到 DasR 的负调控, 当细胞内 c-di-AMP 水平过高时还可通过 DasR 介导的反馈调控回路维持 c-di-AMP 的内稳态以避免 c-di-AMP 过度累积^[31]; 进一步研究及进化分析显示, 这种由 c-di-AMP 变构调节 DasR 主导的互作模式在放线菌中尤其是链霉菌中高度保守, 从而表明通过调节该细胞内的 c-di-AMP 水平控制放线菌生长发育和抗生素生产, 以及应对环境胁迫可能具有广泛意义^[31]。此外, 由营养胁迫引起的乙酰磷酸(acetyl phosphate, AcP)累积可通过调控 DasR 和 DisA 的乙酰化修饰影响胞内 c-di-AMP 稳态^[32]。AcP 诱导的乙酰化通过破坏蛋白质多聚体结构发挥作用: DisA 关键位点 K66 的乙酰化抑制其八聚体形成及 c-di-AMP 合成酶活性; 而 DasR 的 K78 位点乙酰化则削弱其转录抑制功能, 从而解除对 *disA* 基因的抑制, 促进 c-di-AMP 合成^[32]。通过定点突变模拟乙酰化/非乙酰化状态构建的过表达菌株证实, 阻断乙酰化信号有利于孢子发育^[32-33]。结合关键修饰位点的进化分析显示, DisA 和 DasR 的关键乙酰化位点在放线菌(尤其是链霉菌)中高度保守, 提示通过调控该位点的乙酰化水平以控制 c-di-AMP 稳态, 可作为协调放线菌形态发育与次级代谢的一种潜在新策略^[33-36]。

2.2 c-di-GMP: 协调放线菌形态分化与次级代谢

c-di-GMP 是细菌中广泛分布的一种功能性第二信使, 主要通过结合多种受体蛋白实现对细胞生理与行为的精确调控。放线菌中

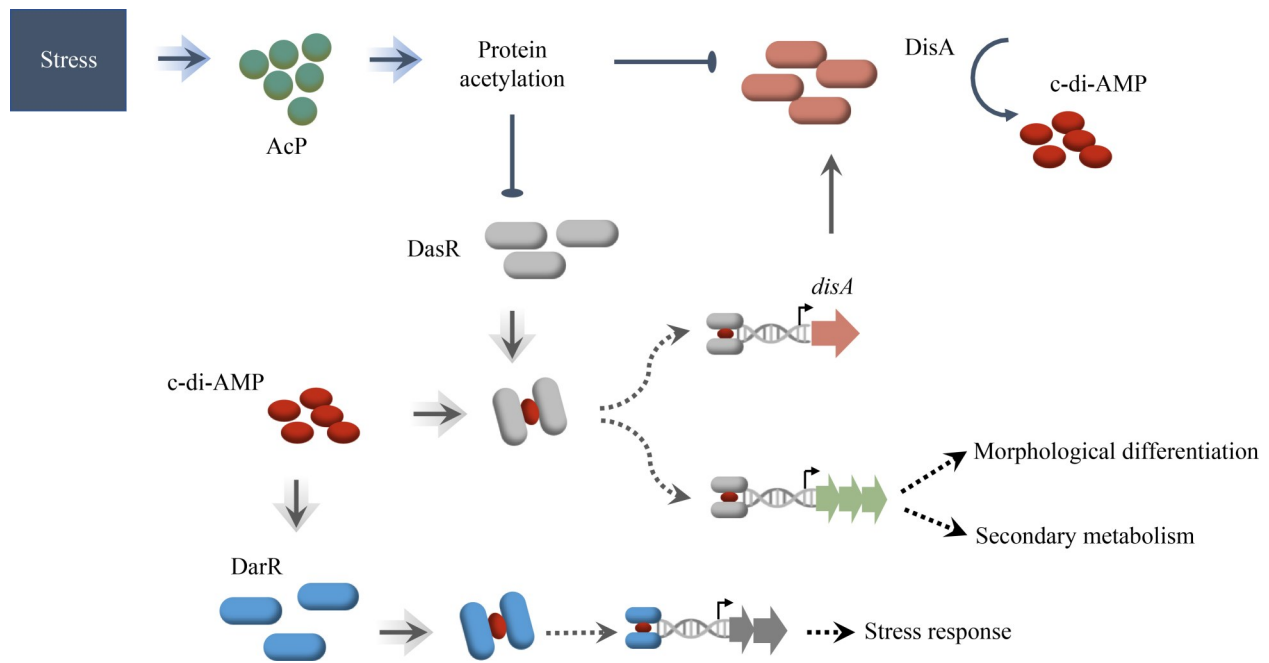


图3 c-di-AMP信号转导途径与调控机制示意图。 c-di-AMP通过结合转录因子DarR和DasR等受体蛋白，调控脂肪酸转运、GlcNAc代谢、次级代谢及应激响应相关基因的表达。在营养胁迫条件下，乙酰磷酸(AcP)依赖的蛋白质乙酰化作用可抑制c-di-AMP合成酶DisA及其受体DasR的活性，从而影响胞内c-di-AMP的合成与稳态。

Figure 3 c-di-AMP signaling and regulatory network. c-di-AMP binds to receptor proteins such as DarR and DasR to regulate the expression of genes involved in fatty acid transport, GlcNAc metabolism, secondary metabolism, and stress responses. In addition, nutrient stress induces acetyl phosphate (AcP)-dependent protein acetylation, which inhibits both the c-di-AMP synthase DisA and the receptor DasR, thereby perturbing intracellular c-di-AMP synthesis and homeostasis.

c-di-GMP 信号网络呈现出独特而有序的调控架构，其核心依赖于 3 个高度保守的关键蛋白：转录因子 BldD、阶段特异性 σ 因子 WhiG 和抗 σ 因子 RsiG。

在链霉菌等放线菌中，c-di-GMP 的核心功能是协调形态分化与次级代谢过程(图 4)。细胞内 c-di-GMP 水平由含 GGDEF 结构域的二鸟苷酸环化酶(负责合成)与含 EAL 或 HD-GYP 结构域的磷酸二酯酶(负责降解)的协同作用实现动态平衡。c-di-GMP 的动态平衡直接调控发育进程的转换：高浓度 c-di-GMP 抑制发育，使菌体停留在营养生长阶段；而低浓度 c-di-GMP 则促进气生菌丝形成与孢子分化^[37]。该过程主要由转

录因子 BldD 介导，4 个 c-di-GMP 分子与一个 BldD 二聚体结合，形成具有 DNA 结合活性的六聚体复合物 BldD₂-(c-di-GMP)₄；该复合物能够抑制孢子形成关键基因(如 *whiG*、*bldN* 等)的转录，同时激活多种抗生素生物合成基因簇(例如红霉素合成 *ery* 基因簇)，从而在分子层面协同阻滞形态发育并激活次级代谢^[37-38]。

除 BldD 途径外，c-di-GMP 还通过其他机制精细调控放线菌的发育过程。例如，c-di-GMP 可与 σ 因子 WhiG 及其抗 σ 因子 RsiG 结合形成复合物；当胞内 c-di-GMP 水平降低时，复合物解离并释放 WhiG，从而激活孢子形成相关基因的表达^[39]。另外，c-di-GMP 还能通

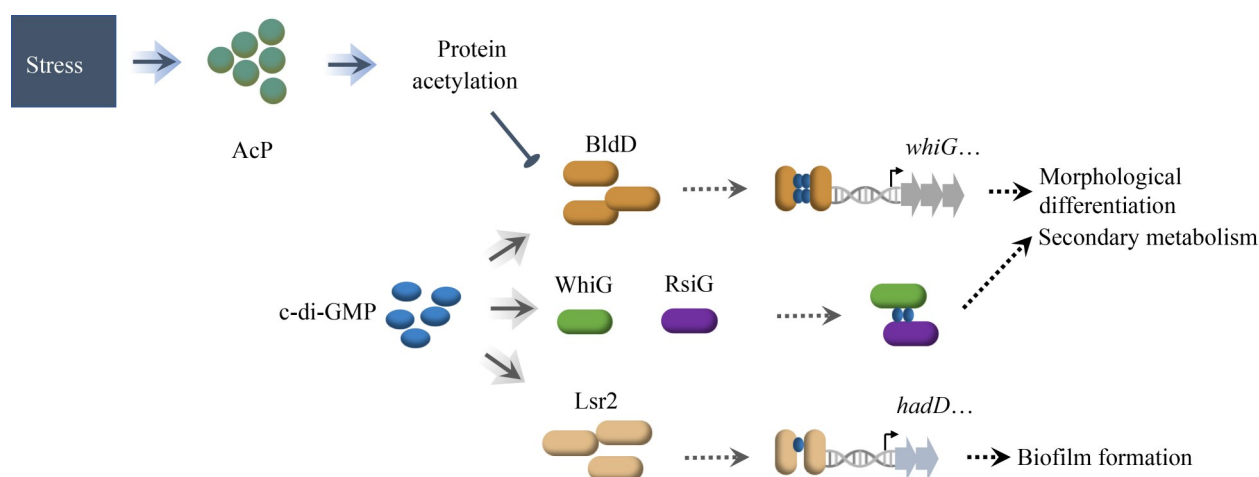


图4 c-di-GMP信号转导途径与调控机制示意图。 c-di-GMP通过结合转录调节因子BldD，并与WhiG、RsiG形成复合物，调控形态分化与次级代谢相关基因的表达。营养胁迫诱导的乙酰磷酸(AcP)依赖型蛋白乙酰化可阻断c-di-GMP与BldD的信号传导，从而在环境胁迫下协调细菌的形态分化与次级代谢过程。此外，在分枝杆菌中c-di-GMP与Lsr2结合，通过调控相关基因的转录影响生物膜的形成。

Figure 4 c-di-GMP signaling and regulatory network. c-di-GMP regulates genes governing morphological differentiation and secondary metabolism by binding to the transcriptional regulator BldD and forming a complex with WhiG and RsiG. Under nutrient stress, acetyl phosphate (AcP)-dependent protein acetylation disrupts c-di-GMP – BldD signaling, thereby coordinating developmental and metabolic adaptation. In mycobacteria, c-di-GMP modulates biofilm formation through its interaction with the nucleoid-associated protein Lsr2.

过激活糖原脱支酶 GlgX 促进糖原降解，为孢子成熟提供必要的碳源^[40]。

c-di-GMP 调控网络还能够整合环境信号。例如，在氮源限制条件下，细胞会通过积累乙酰磷酸诱导 BldD 关键残基 Lys11 发生乙酰化修饰，破坏 BldD₂-(c-di-GMP)₄ 复合物稳定性，最终导致孢子分化提前且抗生素合成受阻^[41]。这种 c-di-GMP 信号与蛋白质乙酰化修饰之间的交叉互作，不仅揭示了细菌在翻译后水平精细调控第二信使通路的分子机制，也反映了其在协调发育可塑性与代谢适应性方面的重要作用。值得一提的是，c-di-GMP-BldD 调控轴在达托霉素、阿维菌素和红霉素等多种抗生素的生物合成中功能保守，因此被视为通过代谢工程策略系统优化放线菌工业性状的潜在靶点^[42-43]。

分枝杆菌的 c-di-GMP 调控网络在功能导向上与链霉菌存在明显区别。在分枝杆菌中，

c-di-GMP 的主要功能是增强细菌黏附、促进生物膜形成并诱导褶皱状菌落形态。该过程依赖于类核相关蛋白 Lsr2 以高亲和力结合 c-di-GMP，进而上调 *hadD* 基因的表达，促进酮基分枝菌酸的合成，最终驱动生物膜的形成^[44]。

2.3 cAMP: 协调分枝杆菌环境适应性与致病性

结核分枝杆菌编码 10 余种腺苷酸环化酶，其数量显著多于大多数微生物，为其广泛的环境感知能力提供了结构基础。在信号感知与传递层面，cAMP 系统的组分展现出高度特异的功能分工：转录因子 CRPMt (由 *Rv3676* 编码)可直接结合 cAMP，调控毒力与代谢相关基因^[45-46]；巨噬细胞响应因子 Cmr (由 *Rv1675c* 编码)也参与 cAMP 依赖的基因表达调控^[47]；而 *Rv0998* 是目前已知唯一具有 cAMP 依赖性乙酰转移酶活性的蛋白，它通过乙酰化修饰参与应激响应，其

独特的结构域融合模式在微生物中较为罕见^[48]。在 cAMP 稳态维持方面结核分枝杆菌有一套独特的调控机制：磷酸二酯酶 Rv0805 不仅对 2',3'-cAMP 表现出高度特异的水解活性，还具备独立于酶活的细胞膜通透性调控功能，这种双功能特性在放线菌中较为罕见^[49-50]。与此同时，通用应激蛋白 Rv1636 可作为“分子海绵”结合 cAMP，形成一种缓冲系统以稳定细胞内 cAMP 水平^[51]。

在胁迫条件下，cAMP 是驱动细菌进入休眠状态并调控复苏过程的关键信号(图 5)。例如，在耻垢分枝杆菌中环境胁迫可诱导存储的三酰甘油水解，产生的游离脂肪酸可激活特定腺苷酸环化酶(如 Rv2212)，进而升高胞内 cAMP 水平^[52]。cAMP 随后激活转录调控因子 CRP，启动代谢重编程，并调控包括复苏因子 *rpfA* 在内的靶基因，从而增强细菌对酸性、氧化及缺氧等多种胁迫的耐受性，并显著提高感染小鼠肺组织中的细菌载量^[52]。在宿主免疫互作层面，

结核分枝杆菌可通过腺苷酸环化酶 Rv0386 将细菌源性 cAMP 递送至宿主巨噬细胞胞质，激活宿主 PKA-CREB (protein kinase A-cAMP response element binding protein signaling pathway)信号通路；该信号一方面促进 α 肿瘤坏死因子(tumor necrosis factor- α , TNF- α)产生，加剧免疫病理，另一方面可能抑制吞噬体与溶酶体融合，从而增强细菌在宿主胞内的存活能力，形成一种关键的免疫逃逸策略^[53]。

维持精确的 cAMP 水平对结核分枝杆菌的毒力至关重要。研究表明，降低胞内 cAMP 水平会显著削弱细菌在巨噬细胞内的存活能力及小鼠感染模型中的肺载菌量^[21]。除整体浓度外，cAMP 的空间分布与局部动态也具有重要的生理意义。例如，局部 cAMP 的及时降解对代谢稳态十分关键：缺失负责降解 cAMP 的 Rv0805 蛋白会导致胞外 cAMP 异常积累，干扰丙酸解毒与碳源利用过程，最终抑制细菌生长；该表型可通过外源补充维生素 B₁₂ 或引入特定补偿突变

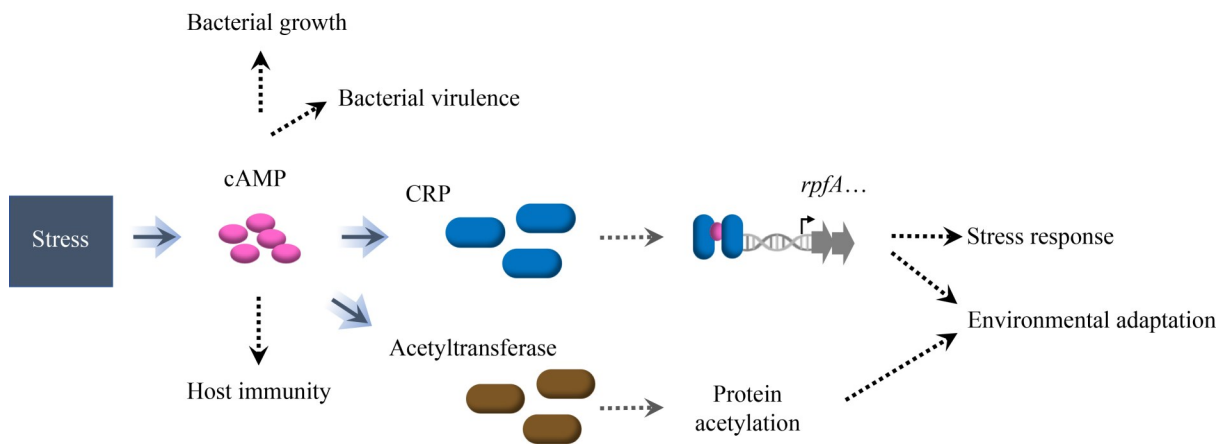


图5 cAMP信号转导途径与调控机制示意图。在营养匮乏等环境胁迫条件下，胞内cAMP水平升高，进而与CRP及乙酰转移酶等受体蛋白结合，通过转录调控和蛋白质翻译后修饰双重机制调控环境胁迫响应、宿主免疫互作及细菌毒力相关基因的表达与功能，影响分枝杆菌的环境适应性和致病性。

Figure 5 cAMP signaling and regulatory network. Under nutrient deprivation and other environmental stresses, accumulation of cAMP binds to receptor proteins such as the cAMP receptor protein (CRP) and acetyltransferases. Through transcriptional control and posttranslational modification, cAMP thereby coordinates the expression and activity of genes involved in stress adaptation, host-immune interactions, and bacterial virulence, ultimately shaping mycobacterial fitness, and pathogenicity.

得到恢复^[54]。更重要的是，cAMP 通过维持细胞壁完整性与能量稳态直接调控细菌的抗生素耐受性。在耻垢分枝杆菌中降低 cAMP 水平会导致肽聚糖合成异常与膜电位下降，并显著增强对乙胺丁醇、万古霉素等细胞壁靶向抗生素的敏感性^[55]。在结核分枝杆菌中低 cAMP 水平同样会削弱其对利福平、异烟肼等多种抗生素的内在抵抗能力。正因其在毒力、代谢及耐药性中的核心作用，靶向该通路组分的小分子化合物已在动物模型中展现出良好的治疗效果。例如，可特异性激活环化酶的小分子化合物 V-58 可显著降低肺载菌量并实现无复发治愈，显示该通路作为抗毒力治疗靶点的潜力^[19-20,56]。

cAMP 主要在葡萄糖受限条件下合成，并在碳分解代谢物抑制中发挥重要作用^[57-58]。cAMP 通过激活其受体蛋白 CRP 实现对碳源利用的精细调控：CRP 能够响应葡萄糖水平并抑制非必需分解代谢途径。在链霉菌中，碳分解代谢物抑制是碳代谢调控的关键机制，可确保细菌在

优先碳源存在时抑制其他碳源的利用^[59]。当环境中葡萄糖浓度较低时，cAMP-CRP 复合物可激活如乳糖操纵子等基因，促使细菌利用替代碳源维持生长^[60]。CRP 以同源二聚体形式存在，并与 2 个 cAMP 分子形成 CRP-(cAMP)₂ 复合物，进而激活下游靶基因转录^[61]。在碳源胁迫条件下，该复合物可正调控 YtfK 的表达；YtfK 通过与 SpoT 蛋白相互作用促进(p)ppGpp 的积累，从而帮助细菌在葡萄糖饥饿环境中存活^[62]。

2.4 (p)ppGpp: 协调放线菌胁迫应答与代谢重编程

(p)ppGpp 是放线菌中重要的胁迫响应与全局调控信号分子，它通过重塑细菌的转录程序精密协调其生长、代谢与发育进程^[63](图 6)。这一过程主要依赖于 RNA 聚合酶的辅助因子 DksA 的协同作用，即(p)ppGpp 与 DksA 形成功能复合物，共同结合 RNA 聚合酶，特异性抑制核糖体 RNA 及核糖体蛋白基因的转录，同时激活氨基酸合成等应激响应基因的表达，从而实现

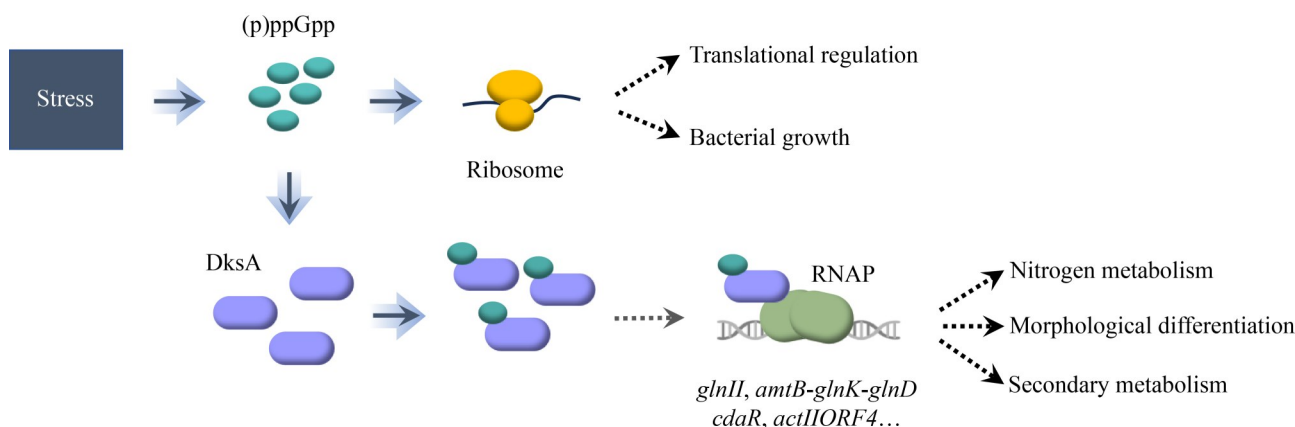


图6 (p)ppGpp信号转导途径与调控机制示意图。 (p)ppGpp与RNA聚合酶辅助因子DksA协同作用，通过结合RNA聚合酶(RNAP)形成调控复合物，特异性抑制核糖体生物合成及氮同化相关基因的转录，同时激活次级代谢与形态分化相关基因的表达。该转录重编程引导胞内资源重新分配，从而协调放线菌的生长、胁迫应答、形态分化及次级代谢过程。

Figure 6 (p)ppGpp signaling and regulatory network. (p)ppGpp cooperates with DksA to bind RNA polymerase (RNAP), repressing ribosomal and nitrogen-assimilation genes while activating those for secondary metabolism and morphological differentiation. This transcriptional shift reallocates cellular resources to coordinate growth, stress responses, development, and secondary metabolism in actinobacteria.

对蛋白质组资源分配的全局重编程^[64-65]。在淀粉酶产色链霉菌(*Streptomyces diastatochromogenes*) 1628 中(p)ppGpp 的积累导致中心代谢、氨基酸合成与转运相关基因广泛上调, 同时强烈抑制核糖体蛋白与翻译相关基因的表达, 进而实现资源从高速生长向生存维持与特定代谢途径的精确再分配^[66]。

(p)ppGpp 对次级代谢的调控具有明确的靶向性。在天蓝色链霉菌中高浓度(p)ppGpp 能显著抑制碳代谢、氧化磷酸化、细胞壁合成、ATP 合成及脂肪酸合成等初级代谢相关基因的转录, 同时特异性激活多种抗生素合成基因簇的表达^[67]。除已知的放线紫红素(actinorhodin, ACT) 生物合成基因簇外, 钙依赖性抗生素(calcium-dependent antibiotic, CDA) 的合成基因簇也受(p)ppGpp 正调控, 这一调控通过同时上调途径特异性调控因子 *cdaR* 与 *actII-ORF4* 的转录水平实现^[67-68]。进一步研究表明, (p)ppGpp 能增强 RNA 聚合酶与 *cdaR* 和 *actII-ORF4* 启动子区域的结合能力; 而 RNA 聚合酶 β 亚基的特定突变能够在不依赖(p)ppGpp 的情况下恢复上述调控因子的转录水平^[69-71]。

(p)ppGpp 的调控作用贯穿转录、翻译及代谢酶活性 3 个层面, 形成一个多维度的协同调控网络。在转录层面, 除了与辅助因子 DksA 协同调节 RNA 聚合酶活性外, (p)ppGpp 还可通过影响 σ 因子的竞争性结合、活性或稳定性间接调控基因表达, 或通过增强转录调控蛋白[如图莱里弗朗西丝氏菌(*Francisella tularensis*) 中的 PigR]与 RNAP 复合体(如 RNAP-MglA-SspA) 的相互作用实现精细调控^[72-73]。在翻译层面, (p)ppGpp 可与 GTP 竞争结合翻译起始因子 IF2 (initiation factor 2), 抑制翻译起始复合物的形成, 同时还能抑制延伸因子 EF-Tu (elongation factor Tu) 与 EF-G (elongation factor G) 的活性, 从而阻碍肽链延伸过程^[74-75]。在代谢酶调控层面, (p)ppGpp 可直接抑制外切聚磷酸酶, 导致

多聚磷酸盐(PolyP)在细胞内积累。积累的 PolyP 可与核糖体蛋白结合, 随后被 Lon 蛋白酶水解, 释放氨基酸以缓解营养匮乏压力^[76]。

(p)ppGpp 与其他核苷类第二信使之间存在多层次交互对话, 包括信号转导交叉、变构调节及靶点竞争等机制^[77]。例如, (p)ppGpp 可对 c-di-GMP 产生分子拮抗, 通过竞争同一结合位点实现调控信号的交互整合^[78]。(p)ppGpp 与其他第二信使的互作也可发生于代谢酶调控层面。在单核增生李斯特氏菌(*Listeria monocytogenes*)^[79]或链球菌(*Streptococcus*)^[80]中, c-di-AMP 结合蛋白 CbpB 通过不同的分子界面分别调节(p)ppGpp 合成酶/水解酶 Rel 或介导与(p)ppGpp 水解酶的相互作用以维持 2 种警报分子的动态平衡。在枯草芽孢杆菌(*Bacillus subtilis*)中 c-di-AMP 的受体蛋白 DarB 能够直接结合并激活(p)ppGpp 合成酶 Rel, 将细胞膜完整性信号(由 c-di-AMP 感知)与经典的营养胁迫应答[由(p)ppGpp 执行]相偶联^[81]。

在放线菌应对氮源限制时(p)ppGpp 也发挥重要的调控作用, 驱动细菌由营养生长阶段向次级代谢与形态分化阶段有序转换。在天蓝色链霉菌中(p)ppGpp 的适时积累是关闭营养菌丝生长、启动气生菌丝分化及大量抗生素生物合成等次级代谢途径的必需开关。与(p)ppGpp 合成缺陷菌株相比, 仅维持低水平(p)ppGpp 合成的菌株中多个核心氮同化基因(包括谷氨酰胺合成酶基因 *glnII* 及 *amtB-glnK-glnD* 操纵子)的转录均受到显著抑制^[67]。这表明低浓度的(p)ppGpp 也能够作为代谢“刹车”, 有效触发代谢模式转换。由此可推断, 放线菌在氮源充足时维持较低的(p)ppGpp 水平以支持氮代谢与细菌持续生长, 当感知氮源匮乏时细菌首先通过双组分系统完成对胞外信号的初级感知与跨膜转导^[82]。这一信号随后激活双功能酶 Rel/SpoT 的合成活性, 促进(p)ppGpp 迅速在胞内积累。高水平的(p)ppGpp 进而与转录辅助因子 DksA

协同作用，共同调控 RNA 聚合酶的活性，抑制氮同化等生长相关代谢，并激活孢子分化等发育程序，精准引导细菌完成从营养生长到孢子发育的复杂生命周期转换^[67,83]。

值得注意的是，天蓝色链霉菌中(p)ppGpp对初级代谢的抑制模式与枯草芽孢杆菌、谷氨酸棒杆菌(*Corynebacterium glutamicum*)存在显著差异，体现了(p)ppGpp调控网络的属间特异性^[84-85]。此外，(p)ppGpp水平过高或过低导致的非最适平衡，都会扰乱细胞正常生长，(p)ppGpp浓度过高会过度抑制核糖体合成，浓度过低则削弱代谢蛋白表达能力，二者均会扰乱蛋白质组的资源平衡最终影响细菌的生长^[86]。

3 研究挑战与展望

本文系统梳理了 c-di-AMP、c-di-GMP、cAMP 和(p)ppGpp 四类代表性第二信使分子在工业放线菌和致病性放线菌中的调控网络。已有研究表明，这些信号分子通过特定的受体蛋白(如 DarR、BldD 等)共同构成了一个精密且相互关联的调控系统(表 1)，在时间和空间维度上协调放线菌的代谢流向、形态发育和胁迫响应。在链霉菌中这一系统与蛋白质翻译后修饰系统

的互作主导了次级代谢产物(尤其是抗生素)合成与形态分化的偶联；在分枝杆菌中则主要影响病原菌的宿主内适应性与致病过程。这些机制发现不仅揭示了细菌复杂生命活动的底层逻辑，也证实了第二信使系统的进化保守性与功能多样性。

尽管当前研究已取得了显著进展，但我们对放线菌第二信使系统的理解仍存在诸多空白。目前，该领域的认知体系主要建立在少数模式菌株(如天蓝色链霉菌和结核分枝杆菌)的研究基础上，而对放线菌门其他具有独特生理与代谢特征的物种仍缺乏系统认识。未来研究可拓展至更丰富的放线菌类群，有望揭示新的信号调控机制及功能特异的受体蛋白。其次，第二信使系统并非独立运作，它们之间存在复杂的交叉对话与信号整合。例如，(p)ppGpp与 c-di-AMP 如何协同应对环境胁迫？c-di-GMP与 cAMP 通路在宿主感染过程中是否存在交互作用？这些复杂的信号网络互作关系仍是当前研究的黑箱。系统解析这一“信号交互网络”将是完整揭示放线菌生理状态全局调控的关键。

在技术层面，新兴技术有望为这一领域带来关键突破。例如，冷冻电镜技术能够解析第

表1 核苷类第二信使、受体与功能

Table 1 Nucleotide second messengers, receptors, and functions

No.	Nucleotide second messenger	Receptor	Organism	Function	References
1	c-di-AMP	DarR, DasR	<i>M. smegmatis</i> , <i>S. erythraea</i>	DNA binding and transcriptional regulation	[30-31]
2	c-di-GMP	BldD, WhiG, RsiG, Lsr2	<i>Streptomyces venezuelae</i> , <i>S. coelicolor</i> , <i>M. tuberculosis</i>	Regulation of morphological differentiation, secondary metabolism, and biofilm formation	[37-38,44]
3	cAMP	CRP	<i>M. tuberculosis</i>	Regulation of bacterial environmental adaptability and pathogenicity	[45-47]
4	(p)ppGpp	DksA	<i>Streptomyces diastatochromogenes</i> 1628	Global regulation of resource allocation and bacterial growth	[66]

二信使与其受体复合物的高分辨率结构, 阐明其分子作用机制; 规律成簇的间隔短回文重复序列系统 (clustered regularly interspaced short palindromic repeats, CRISPR) 介导的基因组编辑技术可高效构建多基因缺失菌株, 从而分析冗余或并行的信号通路功能; 单细胞测序技术则能揭示群体背景下被平均化信号所掩盖的细胞异质性, 从而追踪第二信使的动态变化如何驱动单细胞的命运决定, 如孢子分化或抗生素合成的启动。

最后, 将基础研究的发现转化为实际应用是未来面临的核心挑战与机遇。在工业生物技术领域, 对第二信使系统进行定向工程改造, 例如精确调控(p)ppGpp的水平以解除生长与产物合成的负偶联, 有望提升工业放线菌的抗生素产量。在医学领域, 针对病原性分枝杆菌(如结核分枝杆菌)特有的第二信使合成酶或受体开发新型小分子抑制剂, 将为应对日益严峻的耐药性问题提供了极具潜力的抗感染新策略。综上所述, 放线菌第二信使系统的研究已从单一分子功能解析逐步转向网络互作机制的系统性揭示, 该领域的持续深入, 不仅将进一步深化对微生物生命调控规律的理解, 也为应对工业生产和人类健康领域的实际挑战提供新的助力。

作者贡献声明

汤晓惠: 撰写论文, 收集资料; 梁一凡: 撰写论文, 图片编辑, 文章润色与修回; 李晶琪: 撰写论文, 收集资料, 图片编辑; 尤迪: 对论文撰写提供了思路及指导, 并对论文修改提供指导和建议; 叶邦策: 为论文撰写提供了思路及指导, 审阅论文。

作者利益冲突公开声明

作者声明不存在任何可能会影响本文所报告工作的已知经济利益或个人关系。

参考文献

- [1] JOSE PA, MAHARSHI A, JHA B. Actinobacteria in natural products research: progress and prospects[J]. Microbiological Research, 2021, 246: 126708.
- [2] CHATER KF, BIRÓ S, LEE KJ, PALMER T, SCHREMPF H. The complex extracellular biology of *Streptomyces*[J]. FEMS Microbiology Reviews, 2010, 34(2): 171-198.
- [3] NIESELT K, BATTKE F, HERBIG A, BRUHEIM P, WENTZEL A, JAKOBSEN ØM, SLETTA H, ALAM MT, MERLO ME, MOORE J, OMARA WA, MORRISSEY ER, JUAREZ-HERMOSILLO MA, RODRÍGUEZ-GARCÍA A, NENTWICH M, THOMAS L, IQBAL M, LEGAIE R, GAZE WH, CHALLIS GL, et al. The dynamic architecture of the metabolic switch in *Streptomyces coelicolor*[J]. BMC Genomics, 2010, 11(1): 10.
- [4] KOCH A, MIZRAHI V. Mycobacterium tuberculosis[J]. Trends in Microbiology, 2018, 26(6): 555-556.
- [5] JOSEPH ANTONY SUNDARSINGH T, RANJITHA J, RAJAN A, SHANKAR V. Features of the biochemistry of *Mycobacterium smegmatis*, as a possible model for *Mycobacterium tuberculosis*[J]. Journal of Infection and Public Health, 2020, 13(9): 1255-1264.
- [6] XU LH, VENKATARAMANI P, DING YC, LIU Y, DENG YY, YONG GL, XIN LY, YE RJ, ZHANG LH, YANG L, LIANG ZX. A cyclic di-GMP-binding adaptor protein interacts with histidine kinase to regulate two-component signaling[J]. Journal of Biological Chemistry, 2016, 291(31): 16112-16123.
- [7] CRUZ-BAUTISTA R, RUÍZ-VILLAFÁN B, ROMERO-RODRÍGUEZ A, RODRÍGUEZ-SANOJA R, SÁNCHEZ S. Trends in the two-component system's role in the synthesis of antibiotics by *Streptomyces*[J]. Applied Microbiology and Biotechnology, 2023, 107(15): 4727-4743.
- [8] HENGGE R, GRÜNDLING A, JENAL U, RYAN R, YILDIZ F. Bacterial signal transduction by cyclic di-GMP and other nucleotide second messengers[J]. Journal of Bacteriology, 2016, 198(1): 15-26.
- [9] CORRIGAN RM, GRÜNDLING A. Cyclic di-AMP: another second messenger enters the fray[J]. Nature Reviews Microbiology, 2013, 11(8): 513-524.
- [10] MANIKANDAN K, SABAREESH V, SINGH N, SAIGAL K, MECHOLD U, SINHA KM. Two-step synthesis and hydrolysis of cyclic di-AMP in *Mycobacterium tuberculosis*[J]. PLoS One, 2014, 9(1): e86096.
- [11] BAI YL, YANG J, EISELE LE, UNDERWOOD AJ, KOESTLER BJ, WATERS CM, METZGER DW, BAI GC. Two DHH subfamily 1 proteins in *Streptococcus pneumoniae* possess cyclic di-AMP phosphodiesterase activity and affect bacterial growth and virulence[J]. Journal of Bacteriology, 2013, 195(22): 5123-5132.
- [12] HUYNH TN, LUO SK, PENSINGER D, SAUER JD,

- TONG L, WOODWARD JJ. An HD-domain phosphodiesterase mediates cooperative hydrolysis of c-di-AMP to affect bacterial growth and virulence[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2015, 112(7): E747-E756.
- [13] RAO F, SEE RY, ZHANG DW, TOH DC, JI Q, LIANG ZX. YybT is a signaling protein that contains a cyclic dinucleotide phosphodiesterase domain and a GGDEF domain with ATPase activity[J]. *The Journal of Biological Chemistry*, 2010, 285(1): 473-482.
- [14] YANG CY, CHIN KH, CHUAH ML, LIANG ZX, WANG AHJ, CHOU SH. The structure and inhibition of a GGDEF diguanylate cyclase complexed with (c-di-GMP)₂ at the active site[J]. *Acta Crystallographica Section D*, 2011, 67(12): 997-1008.
- [15] SCHMIDT AJ, RYJENKOV DA, GOMELSKY M. The ubiquitous protein domain EAL is a cyclic diguanylate-specific phosphodiesterase: enzymatically active and inactive EAL domains[J]. *Journal of Bacteriology*, 2005, 187(14): 4774-4781.
- [16] CHRISTEN M, CHRISTEN B, FOLCHER M, SCHAUERTE A, JENAL U. Identification and characterization of a cyclic di-GMP-specific phosphodiesterase and its allosteric control by GTP[J]. *Journal of Biological Chemistry*, 2005, 280(35): 30829-30837.
- [17] GALPERIN MY, CHOU SH. Sequence conservation, domain architectures, and phylogenetic distribution of the HD-GYP type c-di-GMP phosphodiesterases[J]. *Journal of Bacteriology*, 2022, 204(4): e00561-21.
- [18] SIMM R, MORR M, KADER A, NIMTZ M, RÖMLING U. GGDEF and EAL domains inversely regulate cyclic di-GMP levels and transition from sessility to motility[J]. *Molecular Microbiology*, 2004, 53(4): 1123-1134.
- [19] MOHAREER K, MEDIKONDA J, VADANKULA GR, BANERJEE S. Mycobacterial control of host mitochondria: bioenergetic and metabolic changes shaping cell fate and infection outcome[J]. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, 2020, 10: 457.
- [20] SHARMA T, TYAGI S, PAL R, KUNDU J, GUPTA SK, BARIK V, NAIN VK, PANDEY M, DWIVEDI P, PANDA BN, KUMAR Y, NANDA RK, CHATTERJEE S, PANDEY AK. Phosphoglucomutase A-mediated metabolic adaptation is essential for antibiotic and disease persistence in *Mycobacterium tuberculosis*[J]. *mSystems*, 2025, 10(7): e00420-25.
- [21] KHAN H, PAUL P, GOAR H, BAMNIYA B, BAID N, SARKAR D. *Mycobacterium tuberculosis* PhoP integrates stress response to intracellular survival by regulating cAMP level[J]. *eLife*, 2024, 13: RP92136.
- [22] KAMENETSKY M, MIDDELHAUFE S, BANK EM, LEVIN LR, BUCK J, STEEGBORN C. Molecular details of cAMP generation in mammalian cells: a tale of two systems[J]. *Journal of Molecular Biology*, 2006, 362(4): 623-639.
- [23] SHENOY AR, VISWESWARIAH SS. New messages from old messengers: cAMP and mycobacteria[J]. *Trends in Microbiology*, 2006, 14(12): 543-550.
- [24] CHENAL A, LADANT D. Bioengineering of *Bordetella pertussis* adenylate cyclase toxin for antigen-delivery and immunotherapy[J]. *Toxins*, 2018, 10(7): 302.
- [25] MANNEH-ROUSSEL J, HAYCOCKS JRJ, MAGÁN A, PEREZ-SOTO N, VOELZ K, CAMILLI A, KRACHLER AM, GRAINGER DC. cAMP receptor protein controls *Vibrio cholerae* gene expression in response to host colonization[J]. *mBio*, 2018, 9(4): e00966-e00918.
- [26] BAI GC, KNAPP GS, McDONOUGH KA. Cyclic AMP signalling in mycobacteria: redirecting the conversation with a common currency[J]. *Cellular Microbiology*, 2011, 13(3): 349-358.
- [27] KNAPP GS, McDONOUGH KA. Cyclic AMP signaling in mycobacteria[J]. *Microbiology Spectrum*, 2014, 2(2): MGM2-0011-2013.
- [28] POTRYKUS K, CASHEL M. (p)ppGpp: still magical [J]. *Annual Review of Microbiology*, 2008, 62: 35-51.
- [29] SINHA SK, NEETHU RS, DEVARAKONDA Y, RATHI A, REGATTI PR, BATRA S, SYAL K. Tale of twin bifunctional second messenger (p)ppGpp synthetases and their function in mycobacteria[J]. *ACS Omega*, 2023, 8(36): 32258-32270.
- [30] ZHANG L, LI WH, HE ZG. DarR, a TetR-like transcriptional factor, is a cyclic di-AMP-responsive repressor in *Mycobacterium smegmatis*[J]. *The Journal of Biological Chemistry*, 2013, 288(5): 3085-3096.
- [31] YOU D, ZHAO LC, FU Y, PENG ZY, CHEN ZQ, YE BC. Allosteric regulation by c-di-AMP modulates a complete N-acetylglucosamine signaling cascade in *Saccharopolyspora erythraea*[J]. *Nature Communications*, 2024, 15(1): 3825.
- [32] FU Y, ZHAO LC, SHEN JL, ZHOU SY, YIN BC, YE BC, YOU D. A network of acetyl phosphate-dependent modification modulates c-di-AMP homeostasis in actinobacteria[J]. *mBio*, 2024, 15(8): e01411-e01424.
- [33] PENG ZY, FU Y, ZHAO LC, DONG YQ, CHEN ZQ, YOU D, YE BC. Protein acylation links metabolism and the control of signal transduction, transcription regulation, growth, and pathogenicity in actinobacteria[J]. *Molecular Microbiology*, 2023, 119(2): 151-160.
- [34] FAHMI T, PORT GC, CHO KH. c-di-AMP: an essential molecule in the signaling pathways that regulate the viability and virulence of Gram-positive bacteria[J]. *Genes*, 2017, 8(8): 197.
- [35] RIGALI S, NOTHAFT H, NOENS EE, SCHLICHT M, COLSON S, MÜLLER M, JORIS B, KOERTEN HK, HOPWOOD DA, TITGEMEYER F, VAN WEZEL GP. The sugar phosphotransferase system of *Streptomyces coelicolor* is regulated by the GntR-family regulator DasR and links N-acetylglucosamine metabolism to the control of development[J]. *Molecular Microbiology*, 2006, 61(5): 1237-1251.
- [36] SUREKA K, CHOI PH, PRECIT M, DELINCE M,

- PENSINGER DA, HUYNH TN, JURADO AR, GOO YA, SADILEK M, IAVARONE AT, SAUER JD, TONG L, WOODWARD JJ. The cyclic dinucleotide c-di-AMP is an allosteric regulator of metabolic enzyme function[J]. *Cell*, 2014, 158(6): 1389-1401.
- [37] TSCHOWRI N, SCHUMACHER MA, SCHLIMPERT S, CHINNAM NB, FINDLAY KC, BRENNAN RG, BUTTNER MJ. Tetrameric c-di-GMP mediates effective transcription factor dimerization to control *Streptomyces* development[J]. *Cell*, 2014, 158(5): 1136-1147.
- [38] den HENGST CD, TRAN NT, BIBB MJ, CHANDRA G, LESKIW BK, BUTTNER MJ. Genes essential for morphological development and antibiotic production in *Streptomyces coelicolor* are targets of BldD during vegetative growth[J]. *Molecular Microbiology*, 2010, 78(2): 361-379.
- [39] GALLAGHER KA, SCHUMACHER MA, BUSH MJ, BIBB MJ, CHANDRA G, HOLMES NA, ZENG WJ, HENDERSON M, ZHANG HS, FINDLAY KC, BRENNAN RG, BUTTNER MJ. c-di-GMP arms an anti- σ to control progression of multicellular differentiation in *Streptomyces*[J]. *Molecular Cell*, 2020, 77(3): 586-599.e6.
- [40] SCHUMACHER MA, WÖRMANN ME, HENDERSON M, SALINAS R, LATOSCHA A, AL-BASSAM MM, SINGH KS, BARCLAY E, GUNKA K, TSCHOWRI N. Allosteric regulation of glycogen breakdown by the second messenger cyclic di-GMP[J]. *Nature Communications*, 2022, 13: 5834.
- [41] FU Y, DONG YQ, SHEN JL, YIN BC, YE BC, YOU D. A meet-up of acetyl phosphate and c-di-GMP modulates BldD activity for development and antibiotic production[J]. *Nucleic Acids Research*, 2023, 51(13): 6870-6882.
- [42] CHNG C, LUM AM, VROOM JA, KAO CM. A key developmental regulator controls the synthesis of the antibiotic erythromycin in *Saccharopolyspora erythraea*[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2008, 105(32): 11346-11351.
- [43] YAN H, LU XR, SUN D, ZHUANG S, CHEN Q, CHEN Z, LI JL, WEN Y. BldD, a master developmental repressor, activates antibiotic production in two *Streptomyces* species[J]. *Molecular Microbiology*, 2020, 113(1): 123-142.
- [44] LING XC, LIU X, WANG K, GUO MH, OU YZ, LI DT, XIANG YL, ZHENG JC, HU LH, ZHANG HY, LI WH. Lsr2 acts as a cyclic di-GMP receptor that promotes ketomycolic acid synthesis and biofilm formation in mycobacteria[J]. *Nature Communications*, 2024, 15: 695.
- [45] BAI GC, McCUE LA, McDONOUGH KA. Characterization of *Mycobacterium tuberculosis* Rv3676 (CRPmt), a cyclic AMP receptor protein-like DNA binding protein[J]. *Journal of Bacteriology*, 2005, 187(22): 7795-7804.
- [46] RICKMAN L, SCOTT C, HUNT DM, HUTCHINSON T, MENÉNDEZ MC, WHALAN R, HINDS J, COLSTON MJ, GREEN J, BUXTON RS. A member of the cAMP receptor protein family of transcription regulators in *Mycobacterium tuberculosis* is required for virulence in mice and controls transcription of the *rpfA* gene coding for a resuscitation promoting factor[J]. *Molecular Microbiology*, 2005, 56(5): 1274-1286.
- [47] GAZDIK MA, BAI GC, WU Y, McDONOUGH KA. Rv1675c (cmr) regulates intramacrophage and cyclic AMP-induced gene expression in *Mycobacterium tuberculosis*-complex mycobacteria[J]. *Molecular Microbiology*, 2009, 71(2): 434-448.
- [48] NAMBI S, BASU N, VISWESWARIAH SS. cAMP-regulated protein lysine acetylases in mycobacteria[J]. *Journal of Biological Chemistry*, 2010, 285(32): 24313-24323.
- [49] KEPPEPITOLA N, SHUMAN S. A phosphate-binding histidine of binuclear metallophosphodiesterase enzymes is a determinant of 2',3'-cyclic nucleotide phosphodiesterase activity[J]. *Journal of Biological Chemistry*, 2008, 283(45): 30942-30949.
- [50] PODOBNIK M, TYAGI R, MATANGE N, DERMOL U, GUPTA AK, MATTOO R, SESHADRI K, VISWESWARIAH SS. A mycobacterial cyclic AMP phosphodiesterase that moonlights as a modifier of cell wall permeability[J]. *Journal of Biological Chemistry*, 2009, 284(47): 32846-32857.
- [51] BANERJEE A, CHAKRABORTY M, SHARMA S, CHATURVEDI R, BOSE A, BISWAS P, SINGH A, VISWESWARIAH SS. Cyclic AMP binding to a universal stress protein in *Mycobacterium tuberculosis* is essential for viability[J]. *Journal of Biological Chemistry*, 2024, 300(5): 107287.
- [52] SHLEEVA MO, DEMINA GR, KAPRELYANTS AS. Biochemistry of reactivation of dormant mycobacteria[J]. *Biochemistry (Moscow)*, 2025, 90(1): S193-S213.
- [53] AGARWAL N, LAMICHHANE G, GUPTA R, NOLAN S, BISHAI WR. Cyclic AMP intoxication of macrophages by a *Mycobacterium tuberculosis* adenylate cyclase[J]. *Nature*, 2009, 460(7251): 98-102.
- [54] McDOWELL JR, BAI GC, LASEK-NESELQUIST E, EISELE LE, WU Y, HURTEAU G, JOHNSON R, BAI YL, CHEN Y, CHAN J, McDONOUGH KA. Mycobacterial phosphodiesterase Rv0805 is a virulence determinant and its cyclic nucleotide hydrolytic activity is required for propionate detoxification[J]. *Molecular Microbiology*, 2023, 119(4): 401-422.
- [55] THOMSON M, LIU Y, NUNTA K, CHEYNE A, FERNANDES N, WILLIAMS R, GARZA-GARCIA A, LARROUY-MAUMUS G. Expression of a novel mycobacterial phosphodiesterase successfully lowers cAMP levels resulting in reduced tolerance to cell wall-targeting antimicrobials[J]. *The Journal of Biological Chemistry*, 2022, 298(8): 102151.
- [56] WILBURN KM, MONTAGUE CR, QIN B, WOODS AK, LOVE MS, McNAMARA CW, SCHULTZ PG, SOUTHARD TL, HUANG L, PETRASSI HM,

- VanderVEN BC. Pharmacological and genetic activation of cAMP synthesis disrupts cholesterol utilization in *Mycobacterium tuberculosis*[J]. *PLoS Pathogens*, 2022, 18(2): e1009862.
- [57] EMMER M, DECROMBRUGGHE B, PASTAN I, PERLMAN R. Cyclic AMP receptor protein of *E. coli*: its role in the synthesis of inducible enzymes[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 1970, 66(2): 480-487.
- [58] ZUBAY G, SCHWARTZ D, BECKWITH J. Mechanism of activation of catabolite-sensitive genes: a positive control system[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 1970, 66(1): 104-110.
- [59] BRÜCKNER R, TITGEMEYER F. Carbon catabolite repression in bacteria: choice of the carbon source and autoregulatory limitation of sugar utilization[J]. *FEMS Microbiology Letters*, 2002, 209(2): 141-148.
- [60] KOLB A, BUSBY S, BUC H, GARGES S, ADHYA S. Transcriptional regulation by cAMP and its receptor protein[J]. *Annual Review of Biochemistry*, 1993, 62: 749-795.
- [61] PASSNER JM, STEITZ TA. The structure of a CAP-DNA complex having two cAMP molecules bound to each monomer[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 1997, 94(7): 2843-2847.
- [62] MEYER L, GERMAIN E, MAISONNEUVE E. Regulation of ytfK by cAMP-CRP contributes to SpoT-dependent accumulation of (p)ppGpp in response to carbon starvation YtfK responds to glucose exhaustion[J]. *Frontiers in Microbiology*, 2021, 12: 775164.
- [63] LATOSCHA A, WÖRMANN ME, TSCHOWRI N. Nucleotide second messengers in *Streptomyces*[J]. *Microbiology*, 2019, 165(11): 1153-1165.
- [64] PAUL BJ, BARKER MM, ROSS W, SCHNEIDER DA, WEBB C, FOSTER JW, GOURSE RL. DksA a critical component of the transcription initiation machinery that potentiates the regulation of rRNA promoters by ppGpp and the initiating NTP[J]. *Cell*, 2004, 118(3): 311-322.
- [65] PAUL BJ, BERKMEN MB, GOURSE RL. DksA potentiates direct activation of amino acid promoters by ppGpp[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2005, 102(22): 7823-7828.
- [66] SONG Y, ZHANG XL, ZHANG ZX, SHENTU X, YU XP. Physiology and transcriptional analysis of ppGpp-related regulatory effects in *Streptomyces diastatochromogenes* 1628[J]. *Microbiology Spectrum*, 2023, 11(1): e01200-22.
- [67] HESKETH A, CHEN WJ, RYDING J, CHANG S, BIBB M. The global role of ppGpp synthesis in morphological differentiation and antibiotic production in *Streptomyces coelicolor* A3(2)[J]. *Genome Biology*, 2007, 8(8): R161.
- [68] HESKETH A, SUN J, BIBB M. Induction of ppGpp synthesis in *Streptomyces coelicolor* A3(2) grown under conditions of nutritional sufficiency elicits actII-ORF4 transcription and actinorhodin biosynthesis[J]. *Molecular Microbiology*, 2001, 39(1): 136-144.
- [69] HU HF, ZHANG Q, OCHI K. Activation of antibiotic biosynthesis by specified mutations in the *rpoB* gene (encoding the RNA polymerase beta subunit) of *Streptomyces lividans*[J]. *Journal of Bacteriology*, 2002, 184(14): 3984-3991.
- [70] XU J, TOZAWA Y, LAI C, HAYASHI H, OCHI K. A rifampicin resistance mutation in the *rpoB* gene confers ppGpp-independent antibiotic production in *Streptomyces coelicolor* A3(2)[J]. *Molecular Genetics and Genomics*, 2002, 268(2): 179-189.
- [71] LAI CX, XU J, TOZAWA Y, OKAMOTO-HOSOYA Y, YAO XS, OCHI K. Genetic and physiological characterization of *rpoB* mutations that activate antibiotic production in *Streptomyces lividans*[J]. *Microbiology*, 2002, 148(Pt 11): 3365-3373.
- [72] COSTANZO A, NICOLOFF H, BARCHINGER SE, BANTA AB, GOURSE RL, ADES SE. ppGpp and DksA likely regulate the activity of the extracytoplasmic stress factor σE in *Escherichia coli* by both direct and indirect mechanisms[J]. *Molecular Microbiology*, 2008, 67(3): 619-632.
- [73] CHARITY JC, BLALOCK LT, COSTANTE-HAMM MM, KASPER DL, DOVE SL. Small molecule control of virulence gene expression in *Francisella tularensis*[J]. *PLoS Pathogens*, 2009, 5(10): e1000641.
- [74] MILON P, TISCHENKO E, TOMSIC J, CASERTA E, FOLKERS G, La TEANA A, RODNINA MV, PON CL, BOELEN R, GUALERZI CO. The nucleotide-binding site of bacterial translation initiation factor 2 (IF2) as a metabolic sensor[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2006, 103(38): 13962-13967.
- [75] SRIVATSAN A, WANG JD. Control of bacterial transcription, translation and replication by (p)ppGpp[J]. *Current Opinion in Microbiology*, 2008, 11(2): 100-105.
- [76] KURODA A, MURPHY H, CASHEL M, KORNBERG A. Guanosine Tetra- and pentaphosphate promote accumulation of inorganic polyphosphate in *Escherichia coli*[J]. *Journal of Biological Chemistry*, 1997, 272(34): 21240-21243.
- [77] FUNG DK, TRINQUIER AE, WANG JD. Crosstalk between (p)ppGpp and other nucleotide second messengers[J]. *Current Opinion in Microbiology*, 2023, 76: 102398.
- [78] AHMAD S, GORDON IJ, TSANG KK, ALEXEI AG, SYCHANTHA D, COLAUTTI J, TRILESKEY SL, KIM Y, WANG BY, WHITNEY JC. Identification of a broadly conserved family of enzymes that hydrolyze (p)ppApp[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2023, 120(14): e2213771120.
- [79] PETERSON BN, YOUNG MKM, LUO SK, WANG J,

- WHITELEY AT, WOODWARD JJ, TONG L, WANG JD, PORTNOY DA. (p)ppGpp and c-di-AMP homeostasis is controlled by CbpB in *Listeria monocytogenes*[J]. *mBio*, 2020, 11(4): e01625-20.
- [80] COVALEDA-CORTÉS G, MECHALY A, BRISSAC T, BAEHRE H, DEVAUX L, ENGLAND P, RAYNAL B, HOOS S, GOMINET M, FIRON A, TRIEU-CUOT P, KAMINSKI PA. The c-di-AMP-binding protein CbpB modulates the level of ppGpp alarmone in *Streptococcus agalactiae*[J]. *The FEBS Journal*, 2023, 290(11): 2968-2992.
- [81] KRÜGER L, HERZBERG C, WICKE D, BÄHRE H, HEIDEMANN JL, DICKMANN A, SCHMITT K, FICNER R, STÜLKE J. A meet-up of two second messengers: the c-di-AMP receptor DarB controls (p)ppGpp synthesis in *Bacillus subtilis*[J]. *Nature Communications*, 2021, 12: 1210.
- [82] HAYDEL SE, MALHOTRA V, CORNELISON GL, CLARK-CURTISS JE. The prrAB two-component system is essential for *Mycobacterium tuberculosis* viability and is induced under nitrogen-limiting conditions[J]. *Journal of Bacteriology*, 2012, 194(2): 354-361.
- [83] SIVAPRAGASAM S, GROVE A. The link between purine metabolism and production of antibiotics in *Streptomyces*[J]. *Antibiotics*, 2019, 8(2): 76.
- [84] EYMANN C, HOMUTH G, SCHARF C, HECKER M. *Bacillus subtilis* functional genomics: global characterization of the stringent response by proteome and transcriptome analysis[J]. *Journal of Bacteriology*, 2002, 184(9): 2500-2520.
- [85] BROCKMANN-GRETZA O, KALINOWSKI J. Global gene expression during stringent response in *Corynebacterium glutamicum* in presence and absence of the rel gene encoding (p)ppGpp synthase[J]. *BMC Genomics*, 2006, 7(1): 230.
- [86] ZHU ML, DAI XF. Growth suppression by altered (p)ppGpp levels results from non-optimal resource allocation in *Escherichia coli*[J]. *Nucleic Acids Research*, 2019, 47(9): 4684-4693.