

# 肺炎链球菌双组份系统中的组氨酸激酶(YycG)的同源模建与分析

李南<sup>1</sup>, 王非<sup>2</sup>, 胥文春<sup>1</sup>, 王虹<sup>1</sup>, 罗小民<sup>2</sup>, 朱维良<sup>2</sup>, 尹一兵<sup>1</sup>, 张雪梅<sup>1</sup>

1 重庆医科大学 医学检验系临床生物化学教研室, 临床检验诊断学省部共建教育部重点实验室, 重庆 400016

2 中国科学院上海药物研究所, 上海 201203

**摘要:** 对肺炎链球菌双组份系统中的组氨酸激酶 YycG 进行同源模建, 并分析其与底物 ADP 的相互作用, 为寻找特异性的激酶抑制剂提供了理论依据。采用同源模建的方法构建 YycG 蛋白的三维结构, 并用 ProCheck、Profile\_3D 软件对此结构模型的合理性进行验证; 用 Autodock4.0 软件将结构模型与 ADP 进行自动对接, 分析二者之间的相互作用。序列比对结果显示肺炎链球菌 YycG 蛋白与 *Thermotoga maritima* X-ray 晶体结构序列的同一性达 33%; YycG 模建后的结构与模板能很好的叠合; 在活性口袋处的保守的氨基酸残基 Asn145、Asn149、Lys152 以及口袋内部的疏水残基在结合、水解底物 ADP 的过程中发挥重要作用。组氨酸激酶 YycG 的模建合理, 该结构模型可作为设计抗菌药的研究起点。

**关键词:** 肺炎链球菌, 双组份系统, 组氨酸激酶, 同源模建, 分子对接

## Histidine kinase (YycG) protein of *Streptococcus pneumoniae*: Homology modeling and analysis

Nan Li<sup>1</sup>, Fei Wang<sup>2</sup>, Wenchun Xu<sup>1</sup>, Hong Wang<sup>1</sup>, Xiaomin Luo<sup>2</sup>, Weiliang Zhu<sup>2</sup>, Yibing Yin<sup>1</sup>, and Xuemei Zhang<sup>1</sup>

1 Key Laboratory of Laboratory Medical Diagnostics, Ministry of Education, Chongqing University of Medical Science, Chongqing 400016, China

2 Design Centre, State Key Laboratory of Drug Research, Shanghai Institute of Material Medical, Graduate School of Chinese Academy of Sciences, Shanghai 201203, China

**Abstract:** To construct a three-dimensional (3D) model of histidine kinase (HK) YycG protein in *Streptococcus pneumoniae* and to investigate the interaction between YycG and its substrate ADP for the purpose of providing a theoretical basis for YycG selective inhibitor discovery, we constructed a 3D model of YycG protein by homology modeling, and assessed the reliability of the model using ProCheck and Profile\_3D software. Besides, the active-site cavity of YycG and the residues key for substrate interaction were analyzed by Autodock4.0. Sequence alignment indicated that the YycG of *S. pneumoniae* was homologous to that of *Thermotoga maritima*. The constructed 3D model of YycG adopted a similar folding pattern to the template and the two matched well. The conservative amino acids in the substrate-binding pocket, such as Asn145, Asn149 and Lys152, as well as the hydrophobic residues at the bottom of the pocket played important role in binding and hydrolyzing substrate ADP. We have successfully constructed a reliable model of YycG protein. The model can be used as a starting point for designing antibacterial drugs.

**Received:** September 16, 2008; **Accepted:** December 24, 2008

**Supported by:** the National Natural Science Foundation of China (No. 30671868), the National Natural Science Foundation of Chongqing (No. 2007BB5283).

**Corresponding author:** Xuemei Zhang. Tel: +86-23-68485216; Fax: +86-23-68485216; E-mail: apoe@163.com

国家自然科学基金项目(No. 30671868), 重庆市自然科学基金项目(No. 2007BB5283)资助。

**Keywords:** *Streptococcus pneumoniae*, two-component system, histidine kinase, homology modeling, molecular docking

双组份系统(Two-component system, TCS)是细菌感受外界环境变化、调控毒力表达和生存必需的主要信号传导系统之一。在不同细菌中,该系统的结构非常类似,都由组氨酸激酶和反应调节子组成。其中,组氨酸激酶是一个自身具有激酶、磷酸转移酶和磷酸酶活性的多功能酶,是原核生物中此调节转导系统通路中的核心蛋白<sup>[1]</sup>。其作用机制为外界信号作用于组氨酸激酶的膜外配体结合域,组氨酸发生自身磷酸化,并将磷酸基团转移到反应调节子上,而产生一系列的调控反应<sup>[2]</sup>。迄今为止,在哺乳动物(包括人类)中未发现类似的调控系统<sup>[3]</sup>,这使得组氨酸激酶可能成为新型抗生素研发的潜在靶标<sup>[4]</sup>。

组氨酸激酶 YycG 属于 Pho 亚家族,其最初是在枯草杆菌中被鉴定的<sup>[5]</sup>。肺炎链球菌中的 YycF/YycG 也被命名为 MicAB<sup>[6]</sup>或 VicR/K<sup>[7]</sup>,是目前肺炎链球菌中已发现的 13 对 TCS 之一。该系统具有高保守性和低 G+C 含量的特点,不仅影响肺炎链球菌的存活,而且还参与了细菌毒力、感受态的形成,以及维持菌体膜的完整性等<sup>[8]</sup>。因此,以组氨酸激酶 YycG 作为靶点有望筛选到有效的抗菌新药。目前,已有针对枯草杆菌及表皮葡萄球菌的组氨酸激酶 YycG 进行建模和虚拟筛选出一些有效的抑制剂的报道<sup>[9,10]</sup>,而对肺炎链球菌的相关研究国内外仍未见报道。因此本研究拟通过肺炎链球菌的组氨酸激酶 YycG 为研究对象进行同源建模,以期发现特异性的激酶抑制剂提供理论指导。

## 1 材料与方法

### 1.1 序列来源和设备

本研究中 YycG 全长序列数据(GenBank Accession No. NP\_345692.1)从基因数据库(<http://www.ncbi.nlm.nih.gov>)中获取。同源建模选用的模板为蛋白质数据库(Brookheaven Protein Databank, PDB)中获取的 *Thermotoga maritima* 的 X 晶体衍射结构(PDB 编号: 2c2a)。本研究所有计算工作均在中国科学院上海药物研究所 SGI3800 计算机工作站上完成,使用的软件包主要包括 Insight II (Accelry 公司,美国)、Sybyl6.8(TRIPOS 公司,美

国)、Gromacs 和 Autodock4.0 等。

### 1.2 方法

#### 1.2.1 序列联配

采用 InsightII 中 Align123 模块联配 YycG 与 2c2a 的序列,确定序列的一致性和相似性。计算时设置打分矩阵为 Blosum62 和默认的插入罚分和空位罚分值。联配的结果再根据 2 个序列的配对序列比对(Pairwise sequence alignment)、多序列比对(Multiple sequence alignment)结果及已知的保守氨基酸位置进行微调,原则是:使得保守氨基酸一一对应,尽量使得空白和插入部分在序列的 $\beta$ 转角和无规则卷曲区域。一般的两序列联配算法考虑到全长序列的匹配和打分,没有考虑到序列的二级结构信息和保守氨基酸信息,故两序列匹配的结果需要根据序列结构知识予以手工微调。

#### 1.2.2 建立模型

根据 1.2.1 序列联配结果用 InsightII 中的 Modeler 模块构建蛋白的结构模型,共进行 10 次 Modeler 计算。在建模过程中采用中等优化水平,从产生的 10 个目标蛋白模型中选择同率密度函数(Probability density function, PDF)打分和能量打分最高的结构,进一步作能量优化和结构修正,最后得到建模结果。接着用 ProCheck 验证立体化学性质的合理性,用 Profile\_3D 对建模结构中氨基酸序列的相容性进行初步评价打分。主要以 ProCheck 结果为主,参考建模结构与模板结构的 RMSD 大小和 Profile\_3D 的结果,从候选模型中选取评价最高的结构作为最终的模型,并对该结构进行进一步能量优化及分子动力学模拟。

#### 1.2.3 模建蛋白溶剂化模型的构建和能量优化

首先对模拟体系进行分子力学平衡优化,采用 Gromacs 软件,用共轭梯度法先固定重原子优化体系 500 步,然后固定 Ca 再优化体系 500 步,最后全原子优化 500 步。其次进行分子动力学优化,利用 Gromacs 软件,先往体系中加水,构建一个长方体的盒子,包含水相和蛋白质;然后采用逐步升温,最终将体系的温度升到 300 K,在此温度下蛋白质振动 20 000 步,每一步 0.002 ps,共 40 ps,每 0.5 ps 收集一个构象。最终选取达到平衡处的构象做为后

续工作的模型。

### 1.3 蛋白结构的叠合

将得到的结构模型与 2c2a 的 C $\alpha$ 原子叠合点进行叠合, 观察 YycG 蛋白活性腔骨架及关键残基位置的变化。

### 1.4 ADP 与 YycG 分子对接

YycG 结构模型和小分子的晶体结构分别在 AutoDockTools1.4.5(ADT)中进行预处理, YycG 和 ADP 都添加极性氢, 加 Gasteiger 电荷, 由 ADT 处理后存为 pdbqt 格式文件。然后依据与模板蛋白 2c2a 的活性结合位点结构相同的位点为口袋, 口袋周围选取几个残基, 然后以这些残基的中心为格点盒子的中心, 产生一个格点间距 0.375 Å, x、y、z 三个方向各为 60 个格点的立方体盒子。Autodock 程序以 autogrid4 产生 grid 文件, 该文件中包括探针原子在各个网格点与受体的相互作用能。最后 Autodock 运用 Lamarckian 遗传算法, 将局部能量搜索与遗传算法相结合, 以半经验函数作为能量打分函数, 对 ADP 构象和位置进行全局搜索, 对 ADP 与模建结构进行独立的 10 次对接实验。再对对接结果进行成簇分析, 最后依据最低对接能来选取对接结合模式进行相互作用分析。

## 2 结果

### 2.1 序列联配及同源模建结果

肺炎链球菌组氨酸激酶 YycG 蛋白的 ATPase\_c 激酶功能域的序列与 PDB 数据库中的蛋白序列比对发现, 其序列与 PDB 编号为 2c2a 的 *Thermotoga maritima* X 晶体衍射结构(分辨率 1.9 Å, R 因子 0.247)具有 33%的一致序列, 57%相似性(图 1), 表示 *Thermotoga maritima* 晶体结构适合做肺炎链球菌 YycG 蛋白 ATPase\_c 激酶功能域的同源模建的模板。

模建得到的结构用 Procheck(图 2)和 Profile-3D(图 3)进行评价。从拉氏图(Ramachandran)中可见模建结构蛋白的主链结构合理: 主链二面角 $\phi$ 、 $\psi$ 落于中心区域和“可接受区域”的残基占 97.3%, 绝大多数 $\phi$ - $\psi$ 角均在正常范围内, 落在不允许区域内的几个残基均远离结合位点。从 Profile-3D(图 3)中可见在 ATPase\_c 激酶结合功能域处 Compatibility Score 值均大于 0, 说明得到的模建结构和模板相容性较好。

### 2.2 YycG 结构模型及其活性腔的结构特征

#### 2.2.1 YycG 三维结构总体特征

如图 4 所示, 肺炎链球菌 YycG 的模建结构可以

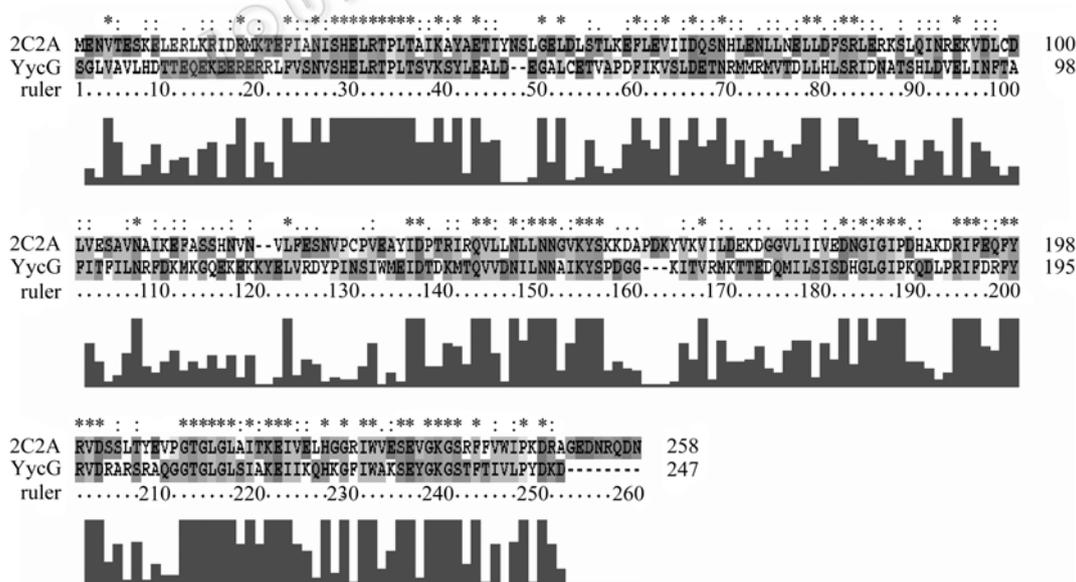


图 1 2c2a 及肺炎链球菌 YycG 的序列比对

Fig. 1 Alignment result of the catalytic regions of 2c2a and YycG of *S. pneumoniae*.

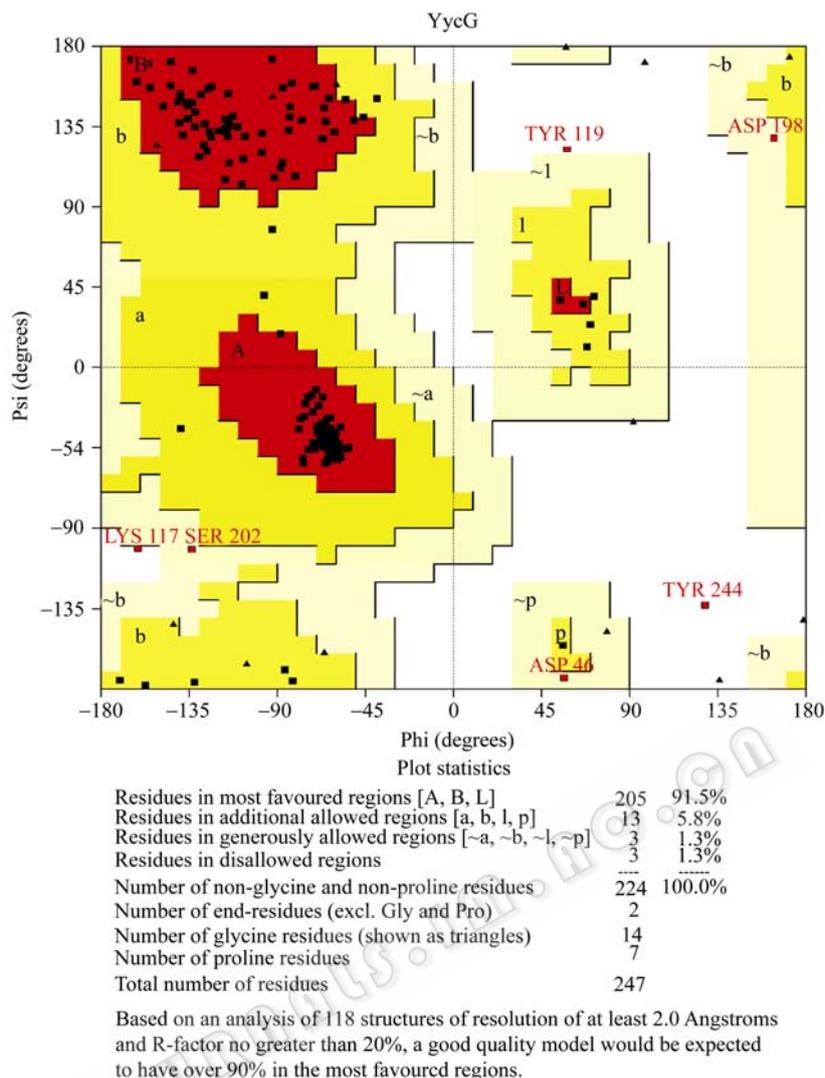


图 2 肺炎链球菌组氨酸激酶 YycG 模建结构的拉氏图  
Fig. 2 Ramachandran plot of the modeled structure *S. pneumoniae* of histidine kinase YycG.

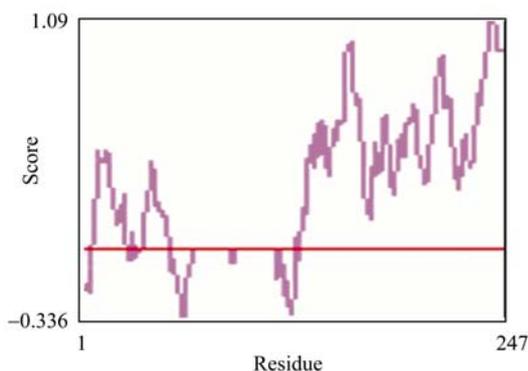


图 3 肺炎链球菌组氨酸激酶 YycG 模建结构的 Profile\_3D 图  
Fig. 3 Profile\_3D score of the modeled structure of *S. pneumoniae* of histidine kinase YycG.

很好地和 *Thermotoga maritima* 的 X 晶体衍射结构进

行叠合, 两者主链原子叠合的 RMSD 有大约 1.4 Å。肺炎链球菌组氨酸磷酸 YycG 模建结构与 2c2a 的晶体结构具有相似的拓扑结构特征, 由组氨酸磷酸转移功能域(Histidine phosphotransfer, HP)和 ATP 催化结合功能域(Catalytic and ATP-binding domain, CA) 2 个功能域组成。HP 由 2 个 α 螺旋组成, 二聚体形成 4 个螺旋束, 其中的组氨酸磷酸受体在螺旋处伸向溶剂处。ATP 激酶结合功能域是 1 个双层的 α/β 三明治的结构, 其由 5 个 β 折叠和 4 个 α 螺旋组成。HATPcase\_c 的 ATP 结合的活性口袋可以分为 2 个不同的亚口袋, 两者由一个峡谷状通道相连。

2.2.2 YycG 活性腔的重要位点和残基

肺炎链球菌 YycG HATPase\_c 的模建结构的表

面特征如图 5A 所示,可以看到组氨酸激酶催化区模型的结构和疏水表面特征。ADP 结合口袋有内、外两腔:较小的内腔口袋相对疏水,由 Tyr153、Leu180、Gly181、Ile182、Ile190 以及 Phe238 残基组成,ADP 分子的腺苷头部很可能作用在这个部位。从图 5B 上可以看出覆盖在结合口袋上的 loop 是一个亲水区域,所以口袋的外腔是亲水部分,较大的外腔由 Phe194、Arg196、Gln205、Leu210、Gly211 及 Leu212 组成。内、外腔的这些残基在已知组氨酸激酶序列中都是非常保守的。其中,活性口袋中部通道两侧有几个重要氨基酸 Asn145、Asn149、Lys152,它们起到固定底物的作用(图 6)。有研究表明,这几个可以形成氢键的氨基酸在肺炎链球菌 YycG 和 *Thermotoga maritima* 的 2c2a 中都存在,说明这些氨基酸都是非常保守的<sup>[11]</sup>。

### 2.3 底物 ADP 与模建结构的对接

采用分子柔性对接软件 Autodock4.0 评价模建的合理性以及预测肺炎链球菌组氨酸激酶 YycG 与底物 ADP 对接情况。该软件能够自动将底物对接到受体的活性中心或结合部位,并利用遗传算法寻找合适的结合构象,使得配体与受体的形状和相互作

用的匹配效果达到最佳稳定状态,形成合理的复合物结构。

经 Autodock4.0 分子对接后得到了 10 个对接构象,并根据 RMSD 值对这些构象进行聚类分析。选取能量最低的 2 个类的代表性构象,然后分析这 2 个构象和 YycG 活性腔内重要残基的相互作用情况。选择与重要残基相互作用较好的构象为最终的对接构象。底物 ADP 与肺炎链球菌组氨酸激酶

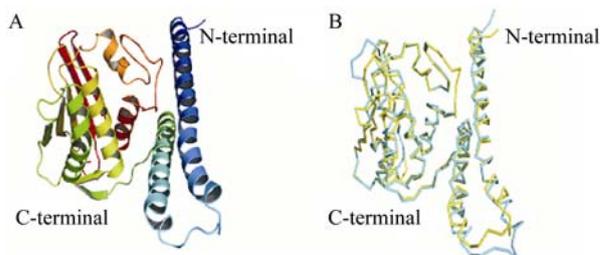


图 4 模建的肺炎链球菌 YycG HATPase\_c 功能域结构示意图

Fig. 4 The modeled structure of the YycG HATPase\_c domain of *S.pneumoniae*. (A) The solid ribbon representation of the structure model of the YycG HATPase\_c domain. (B) Structure superposition of the modeled structure of YycG HATPase\_c domain of *S. pneumoniae* (blue) with the X-ray diffraction structure of the homologous domain of *Thermotoga maritima* in *Escherichia coli* (yellow).

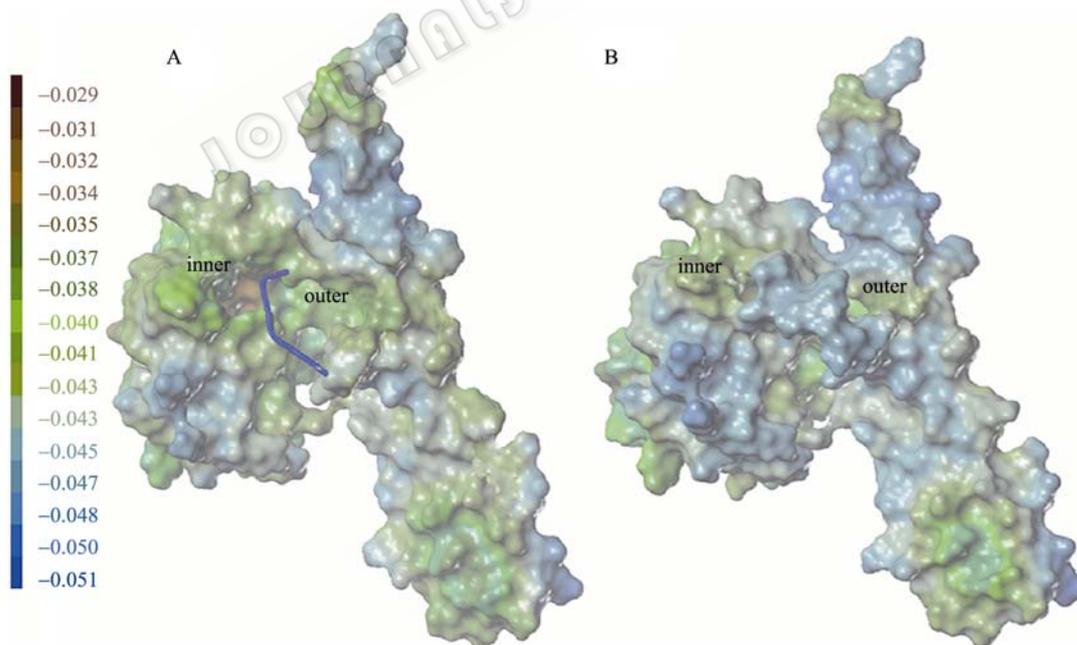


图 5 组氨酸激酶催化区模型的结构和疏水表面特征

Fig. 5 The shape and surface features of YycG HATPase\_c domain in *S. pneumoniae*. (A) The left scale denoted the hydrophobicity that the upper showed more hydrophobic and more hydrophilic in reverse. The ATP-binding pocket was divided into “inner” and “outer” parts. The loop covered on the pocket was showed as tube for the sake of clearly shows of hydrophobic inner part. (B) Intact surface structure of YycG protein. The outer part of pocket was hydrophilic because of the hydrophilic loop structure.

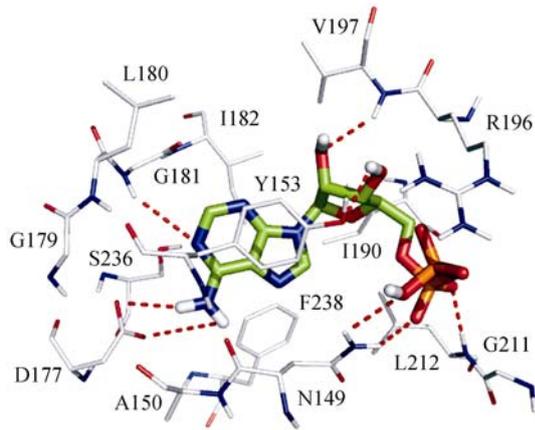


图6 ADP 对接到 YycG 活性口袋中

Fig. 6 The model of ADP docked into the ATP-binding pocket of the YycG HATPase\_c domain in *S. pneumoniae*. The ADP was represented as stick and ball, and some important amino acids around it were shown as stick.

YycG 对接后由 Autodock4.0 计算得到的结合自由能为  $-10.0 \text{ kcal/mol}^{[12]}$ 。计算公式为:

$$\Delta G = (V_{\text{bound}}^{\text{L-L}} - V_{\text{unbound}}^{\text{L-L}}) + (V_{\text{bound}}^{\text{P-P}} - V_{\text{unbound}}^{\text{P-P}}) + (V_{\text{bound}}^{\text{P-L}} - V_{\text{unbound}}^{\text{P-L}} + \Delta S_{\text{conf}}) \quad (1)$$

公式(1)中, L(ligand)指配体, P(Protein)指受体, P-L 指的是配体和受体蛋白复合物, V 是指成对的原子相互

作用的评价。Bound 是指结合状态, unbound 是指未结合状态。结合自由能等于 4 个部分: 配体结合前后的分子内能变化( $V_{\text{bound}}^{\text{L-L}} - V_{\text{unbound}}^{\text{L-L}}$ ), 受体蛋白结合前后的内能变化( $V_{\text{bound}}^{\text{P-P}} - V_{\text{unbound}}^{\text{P-P}}$ ), 配体和受体结合前后的分子间能量变化( $V_{\text{bound}}^{\text{P-L}} - V_{\text{unbound}}^{\text{P-L}}$ ), 以及结合以后构象熵(conformational entropy)的减少( $\Delta S_{\text{conf}}$ )(这一项由可旋转键数目决定)。

$$V = W_{\text{vdw}} \sum_{ij} \left( \frac{A_{ij}}{r_{ij}^{12}} - \frac{B_{ij}}{r_{ij}^6} \right) + W_{\text{hbound}} \sum_{ij} E(t) \left( \frac{C_{ij}}{r_{ij}^{12}} - \frac{D_{ij}}{r_{ij}^{10}} \right) + W_{\text{elec}} \sum_{ij} \frac{q_i q_j}{\epsilon(r_{ij}) r_{ij}} + W_{\text{sol}} \sum_{ij} (S_i V_j + S_j V_i) e^{(-r_{ij}^2 / 2\sigma^2)} \quad (2)$$

公式(2)中  $W_{\text{vdw}}$ 、 $W_{\text{hbound}}$ 、 $W_{\text{elec}}$ 、 $W_{\text{sol}}$  分别是指小分子配体与蛋白受体范德华相互作用、氢键相互作用、静电相互作用和去溶剂化作用权重系数,  $r$  指原子对距离。第 1 项中 A、B 是取自 Amber 力场的范德华排斥和吸引参数。第 2 项中 C 是指 O-H 和 N-H 在 1.9 时 5 kcal/mol 的最大势阱深; D 指 S-H 在 2.5 时 1 kcal/mol 的势阱深; E(t) 指出氢键相互作用与角度  $t$  有关。第 3 项中  $q$  是原子电荷。第 4 项中 S 是原子溶剂化参数, V 是原子体积, 距离权重因子  $\sigma$  为 3.5。

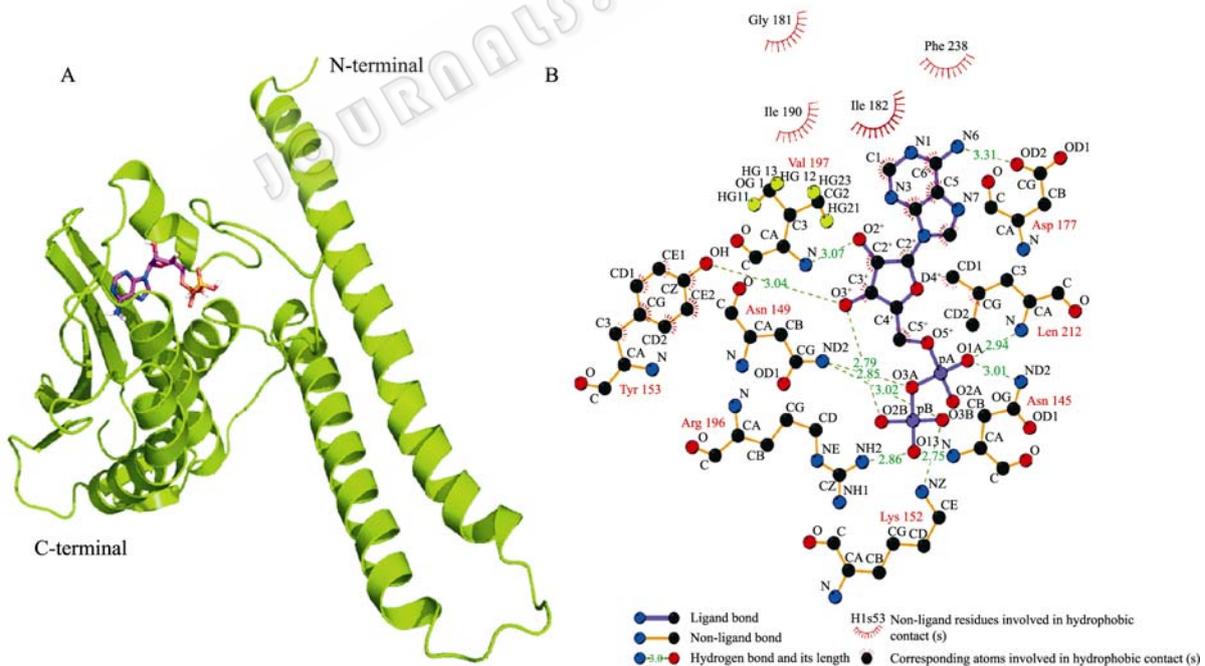


图7 底物 ADP 与肺炎链球菌组氨酸激酶 YycG HATPase\_c 功能域复合物结构(A)和用 ligplot 程序画出的 ADP 与口袋残基相互作用的结构图(B)

Fig. 7 Complex of the substrate ADP and the HATPase\_c domain of YycG protein in *S. pneumoniae* (A), and two-dimensional representation for interaction model of ADP with HATPase\_c domain of YycG drawn by ligplot(B).

肺炎链球菌组氨酸激酶 YycG 蛋白活性位点处残基与底物 ADP 的相互作用如图 7 所示。用 ligplot 程序画出的 ADP 与口袋残基相互作用的结构图中<sup>[13]</sup>,肺炎链球菌组氨酸激酶 YycG 与底物 ADP 间主要是通过疏水键和氢键等非极性键相互作用,底物 ADP 与模建结构活性口袋处可形成多个氢键,它们分别是 Asp177、Asn145、Asn149、Lys152、Tyr153 和 Arg196。这些氢键,特别是磷酸基团处与 YycG 可形成的氢键网络,对促进和稳定底物 ADP 结合到活性中心起到了重要的作用。

### 3 讨论

肺炎链球菌组氨酸激酶 YycG 蛋白通过结构数据库(<http://www.smart.embl.de/smart>)预测有 PAS、PAC、HisKA、HATPase\_c 四个功能域。本研究针对该激酶蛋白中的 ATP 结合功能域进行模建,一是由于其激酶的活性由细菌细胞质内 ATP 结合激酶功能域来完成;其次,在序列比对中发现,肺炎链球菌 YycG 序列同其他组氨酸激酶序列一样,都含有 N、G1、F、G2 四个保守的功能模序(Motif);此外,在蛋白质结构数据库搜索中能够找到同源性较高、功能相近而且分辨率较低的蛋白质晶体结构。这都为本研究中能采用同源模建的方法构建肺炎链球菌 YycG 蛋白的结构模型提供了理论基础和有利条件。目前,对蛋白质三维结构的预测方法主要有 3 种:从头预测(*Ab initio*)、穿针引线法(Threading)和同源性(Homology)建模。其中,同源模建是一个比较成熟并得到了广泛应用的方法,并且已有一些成功利用同源模建的方法构建蛋白并筛选得到感兴趣的化合物的报道<sup>[14]</sup>。在本研究中以具有 1.9 Å 分辨率的 *Thermotoga maritima* 的 X 晶体衍射结构为模板,采用同源模建的方法首次模建了肺炎链球菌组氨酸激酶 YycG 蛋白的三维结构,并使用 ProCheck、Profile\_3D 验证了其合理性。同源模建的结果以模板结构为依据,与模板有很大的结构相似性,因此选择同源性较好,功能相近的模板十分重要;但是由于关键位点氨基酸的组成不同,模建的结构和模板之间还是有一定的功能性的差别。这对于还未解析出可靠的晶体结构的蛋白质功能研究和基于结构的药物设计都大有裨益。通过同源模建可以更多地了

解肺炎链球菌组氨酸激酶 YycG 蛋白结构和功能之间的关系,以进一步帮助研究者发现新的药物先导化合物和改进药物先导化合物的设计。

在利用 Sybyl6.8 软件和模板结构信息得到模建结构的活性口袋后,选取天然底物 ADP 与肺炎链球菌组氨酸激酶 YycG 蛋白的模建结构用 Autodock4.0 软件进行分子对接研究。在分子对接时, Autodock 采用遗传算法搜索低能结合构象。软件对接以打分为依据,所以单纯的选取低能构象未必是最佳构象。利用文献分析得到的关键残基信息对低能构象进行挑选,首先选取对接构象聚类后的能量最低的 2 个聚类的代表性构象,然后挑选与关键残基作用较好的构象为最终结合构象。同样的方法也可以用来验证模板的结构合理性<sup>[15]</sup>。天然底物与合理构建的蛋白结构之间的结合一般要优于不合理的蛋白结构。在没有已知抑制剂和蛋白结合复合物晶体结构之前,用天然底物进行对接也可以更为接近真实情况地反应活性口袋处残基间的相互作用,由于不同的组氨酸激酶活性位点的关键残基的组成和构象会有所不同,这对以后据此结构筛选具有一定的结合特异性<sup>[11]</sup>的化合物提供了结构依据。在虚拟筛选后,本实验挑选购买化合物应该优先选择具有类似天然底物结合构象的化合物,这样就可以大大提高生物实验的成功率。

通过以上研究为进一步研究该蛋白的结构与功能关系提供了理论依据,同时为设计新型肺炎链球菌组氨酸激酶 YycG 抑制剂,寻找有针对性的抗菌药奠定了更坚实的基础。本研究得到的同源模建结果对于虚拟筛选抗菌抑制剂具有一定的指导意义。但同源模建是一种获得蛋白质理论模型的方法,选择模板的依据仅仅是序列之间的同源性,而在生物领域中却存在序列相似而结构不同或者序列、结构相似而功能不同的蛋白质,因此同源模建模型仍然不能完全地模拟目标蛋白的真实结构,该模建结果还需进一步通过实验方法验证。

### REFERENCES

- [1] Marina A, Waldburger CD, Hendrickson WA. Structure of the entire cytoplasmic portion of a sensor histidine-kinase protein. *EMBO J*, 2005, **24**(24): 4247-4259.

- [2] Stephenso K, Hoch JA. Virulence and antibiotic resistance associated two-component signal transduction systems of Gram-positive pathogenic bacteria as targets for antimicrobial therapy. *Pharmacol Therapeut*, 2002, **93**(2): 293–305.
- [3] Novak R, Henriques B, Charpentier E, *et al.* Emergence of vancomycin tolerance in *Streptococcus pneumoniae*. *Nature*, 1999, **399**(6736): 590–593.
- [4] West AH, Stock AM. Histidine kinases and response regulator proteins in two-component signaling system. *Trends Biochem Sci*, 2001, **6**(26): 369–376.
- [5] Fabret C, Hoch JA. A two-component signal transduction system essential for growth *subtilis*: implications for anti-infective therapy. *J Bacteriol*, 1998, **180**(23): 6375–6383.
- [6] Echenique JR, Trombe MC. Competence repression under oxygen limitation through the two-component MicAB signal transducing system in *Streptococcus pneumoniae*. *J Bacteriol*, 2001, **183**(15): 4599–4608.
- [7] Wangner C, De SA, Schonfeld HJ, *et al.* Genetic analysis and functional characterization of the *Streptococcus pneumoniae* *vic* operon. *Infect Immun*, 2002, **70**(11): 6121–6128.
- [8] Mohedano ML, Overweg K, Fuente ADL, *et al.* Evidence that the essential response regulator YycF in *Streptococcus pneumoniae* modulates expression of fatty acid biosynthesis genes and alters membrane composition. *J Bacteriol*, 2005, **187**(7): 2357–2367.
- [9] Andries K, Verhasselt P, Guillemont J, *et al.* A diarylquinoline drug active on the ATP synthase of *Mycobacterium tuberculosis*. *Science*, 2005, **307**(5707): 223–227.
- [10] Qin ZQ, Zhang J, Xu B, *et al.* Structure-based discovery of inhibitors of the YycG histidine kinase: new chemical leads to combat *Staphylococcus epidermidis* infections. *BMC Microbiol*, 2006, **6**(96): 1471–1480.
- [11] Bilwes AM, Quezada CM, Croal LR, *et al.* Nucleotide binding by the histidine kinase cheA. *Nat Struct Mol Biol*, 2001, **8**(44): 353–360.
- [12] Huey R, Morris GM, Olson AJ, *et al.* A semiempirical free energy force field with charge-based desolvation. *J Comb Chem*, 2006, **28**(6): 1145–1152.
- [13] Wallace AC, Laskowski RA, Thornton JM. LIGPLOT: A program to generate schematic diagrams of protein-ligand interactions. *Prot Eng*, 1995, **8**(2): 127–134.
- [14] Marina A, Waldburger CD, Hendrickson WA. Structure of the entire cytoplasmic portion of a sensor histidine-kinase protein. *EMBO J*, 2005, **24**(24): 4247–4259.
- [15] Gui CS, Zhu WL, Chen G, *et al.* Understanding the regulation mechanisms of PAF receptor by agonists and antagonists: Molecular modeling and molecular dynamics simulation studies. *Proteins*, 2007, **67**(1): 41–52.