

## *Proteus mirabilis* 전사 조절 단백질의 DNA 결합 특성

강종백

경원대학교 화학과

### DNA Binding Specificity of *Proteus mirabilis* Transcription Regulator

JongBack Gang

Department of Chemistry, Kyungwon University, Sunnam, Kyunggido 461-701, Republic of Korea

(Received April 8, 2011 / Accepted May 26, 2011)

Amino acid sequence alignment shows that *Proteus mirabilis* transcription regulator (PMTR) has cystein sequence homology at metal binding domain to CueR (copper resistance) protein, which conserves two cysteins (Cys 112 and Cys 120 in PMTR). Gel shift assay revealed that PMTR protein bound to promoter region of *Escherichia coli copA* (copper-translocating P-type ATPase) and *Proteus mirabilis atpase* (putative copper-translocating P-type ATPase) genes except that of *E. coli zntA* (zinc-translocating P-type ATPase) gene. DNase I protection experiment indicated that PMTR protein protected the region over -35 box and close to -10 box. DNase I hypersensitive bases were shown at C and A bases of labeled template strand and at G and C bases of labeled non-template strand of DNA. These hypersensitive bases were appeared in other metalloregulatory proteins of MerR family, which suggests protein-induced DNA bending.

**Keywords:** MerR family, metalloregulatory protein, protein-DNA interaction

철, 아연, 구리, 망간 그리고 코발트 등의 금속이온들은 산화-환원반응, 삼투압 조절, 그리고 효소의 성분을 구성하는 필수적인 요소들이다(17). 그러나 높은 농도의 금속이온들은 DNA, 세포막, 그리고 효소의 작용에 유해하다. 그래서 박테리아는 세포 내·외의 격리(intra- and extracellular sequestration), 배출 펌프(efflux pumps), 효소에 의한 비독성화(enzymatic detoxification), 혹은 환원(reduction) 등의 다양한 저항성(항상성) 시스템을 이용한다(11, 15). 세포 내 중금속 저항성은 중금속 조절(metalloregulatory) 단백질의 중금속 특이적 결합과 이들 복합체에 의한 중금속 저항 시스템 유전자의 발현으로 이루어진다.

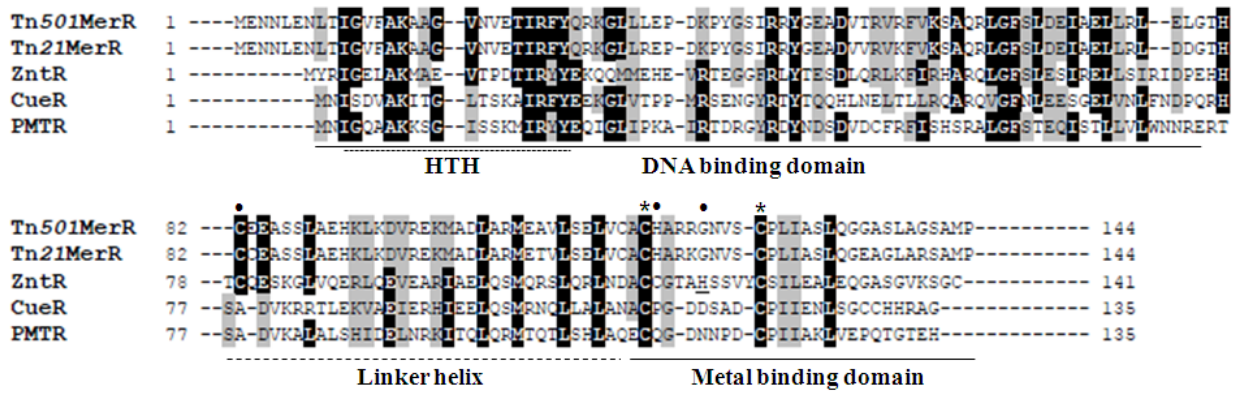
MerR (수은 저항성, mercuric resistance) 패밀리는 널리 연구된 중금속 조절 단백질 패밀리아다. MerR 패밀리에 MerR (수은 저항성)(2, 7), ZntR (아연 저항성)(5, 16), 그리고 CueR (구리 저항성)(5, 14) 등의 단백질이 속한다. MerR 패밀리의 단백질은 아미노 말단의 DNA 결합부위에서 아미노산 서열의 유사성이 높으나, 카르복실 도메인의 중금속 결합부위는 아미노산 서열의 유사성이 낮으며 이는 중금속의 선택적 결합에 관여한다. 그리고 두 도메인을 연결하는 링커(linker helix)로

이루어진다. 중금속 결합부위에 중금속의 결합으로 인한 단백질의 구조적인 변화가 링커를 통하여 DNA 결합 부위에 전달되는 방식으로 해당 유전자의 발현을 조절한다. 또한 링커는 단백질의 이중체(dimer) 형성에 필수적이다(3).

Noll 등(12)에 의하면 *pmtR* 유전자를 포함한 DNA 조각이 클로닝 된 재조합 플라스미드(plasmid)로 형질 전환된 *Escherichia coli*에서 12-kDa 단백질이 세포 내 축적되었으며, 두 개의 아연 이온 결합 부위를 보유한 이 단백질로 인해서 세포는 아연 저항성을 보였다. 그러나 MerR 패밀리의 단백질들의 아미노산 서열 분석(Fig. 1)에 의하면 PMTR 단백질은 CueR 단백질과 같이 중금속 결합 부위에 두 개의 시스테인(C112와 C120)만이 존재한다. 반면에 ZntR 단백질은 PMTR에서 언급된 두 개의 시스테인에 추가로 두 개의 시스테인(Cys 79와 Cys 115)과 히스티딘(His 119)이 아연 결합에 참여한다(5, 17). 그래서 PMTR 단백질은 아연과 결합하는 ZntR 단백질과 달리 CueR 단백질과 같은 중금속의 결합이 예상된다.

본 연구는 겔 시프트 법(gel shift assay)을 이용하여 *E. coli*의 *copA* (copper-translocating P-type ATPase gene) (14)와 *zntA* (zinc-translocating P-type ATPase gene) (13) 프로모터 그리고 *Proteus mirabilis* (*P. mirabilis*)의 *atpase* (8) 프로모터(copper-translocating P-type ATPase gene)와 PMTR 단백

\* For correspondence. E-mail: jbgang@kyungwon.ac.kr; Tel: +82-31-750-5409; Fax: +82-31-750-5389



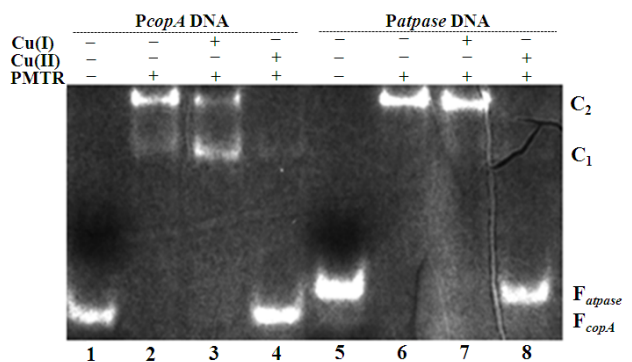
**Fig. 1.** Amino acids sequence alignment of MerR family proteins. HTH means helix-turn-helix for DNA binding motif. Asterisks (\*) denote the conserved cysteines in all proteins listed here. In addition, dot (•) symbols indicate the additional cysteines or histidine required for the binding of metal in MerR or ZntR. Invariant and similar residues are shaded black and grey, respectively.

질 사이의 결합을 관찰하였다. 그리고 DNase I protection 실험으로 *P. mirabilis*의 *atpase* 프로모터에서 PMTR 단백질의 결합부위와 단백질 결합에 따른 DNA 구조적 변화를 관찰하였다.

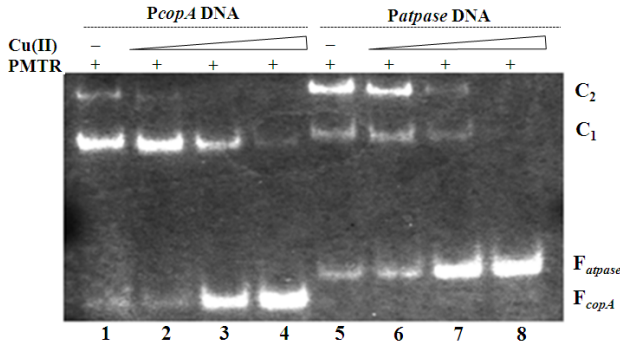
*pmtR* 유전자는 *P. mirabilis* 유전체 일부가 포함된 PROT1 플라스미드(12)로부터 PCR 증폭과 벡터와 동일한 제한효소에 의한 절단으로 발현벡터 pET15b (Novagen)에 클로닝하였다 (8). 이렇게 구축된 재조합 벡터에서 생성되는 PMTR 단백질은 6개의 히스티딘 태그(tag)와 짧은 펩티드가 추가로 붙는다. 37°C에서 배양액의 흡광도가 0.5-0.6에 도달된 후, PMTR 단백질은 isopropyl β-D-thiogalactopyranoside (IPTG)를 부가하여 25°C에서 4시간 동안 유도되었다. 단백질 분리는 Ni-NTA 아가로스(agarose) 수지(Qiagen)와 이미다졸(imidazole) 농도 기울기를 이용하여 단백질을 분리하였다. 순수하게 분리된 PMTR 단백질은 15% SDS-PAGE (sodium dodecylsulfate-polyacrylamide gel electrophoresis)에 의하여 확인하였으며, 95% 이상의 순도를 갖는다(자료 미제시). 단백질의 농도는 계산에 의한 몰 흡광계수 값(6)과 BSA 단백질을 이용한 Lowry 방법으로 결정된 농도를 비교하여 결정되었다.

*CopA*, *zntA*, 그리고 *P. mirabilis*의 *atpase* 올리고디옥시뉴클레오티드 (oligodeoxynucleotide, 바이오니아)의 염기 서열은 Fig. 6의 프로모터 양끝에 약간의 염기들이 추가되었다(각 올리고뉴클레오티드의 5' 끝에 형광 물질인 fluorescein 부착, 바이오니아): 5'-CTTGACCTTCCCCTTGCTGGAAGGTTTT AACCTT-3' (*E. coli copA*), 5'-TAAAACTTGACTCTGGAG TCGACTCCAGAGTGTATCCTTCGG-3' (*E. coli zntA*), 5'-ATAATCCTTGACCTTCCCCTAATGGTAAAGCTTAAGC TTTGT-3' (*P. mirabilis atpase*). 위의 각 가닥과 상보적인 가닥을 동일한 몰수로 취하여 10 mM sodium cacodylate (pH 6.5) 용액에서 80°C에서 10분 동안 중탕한 후 서서히 실온으로 냉각시킴으로써, 겔 시프트 법에 필요한 duplex DNA를 준비하였다.

겔 시프트 법 실험에서 0.1 μM duplex DNA와 PMTR 단백질 그리고 중금속 이온이 포함된 결합 용액[20 mM Tris; pH 7.5, 50 mM NaCl, 10 μg/ml poly d(IC)]에서 20분간 실온(~15°C)에서 중탕하였다. 이렇게 준비된 반응 용액을 TAE 완충용액(Tris-Acetate EDTA)에서 12% 폴리아크릴아미드 겔에 전기영동하였다. 전기영동이 끝난 겔은 건조하여 470 nm 들뜬(excitation) 파장과 535 nm 방출(emission)파장에서 코닥 이미지 스캐너(Kodak image scanner)로 자료를 얻었다. 겔 시프트 법(Fig. 2)에서 PMTR 단백질은 중금속이 없거나 낮은 농도(10 μM)에서 *E. coli copA*와 *P. mirabilis atpase* 프로모터에 복합체를 잘 형성하지만 중금속 농도가 100 μM에서 PMTR 단백질의 결합력이 급격히 감소하였다. 여기서 중금속 농도에 따른 PMTR 단백질과 프로모터 사이의 결합 의존성을



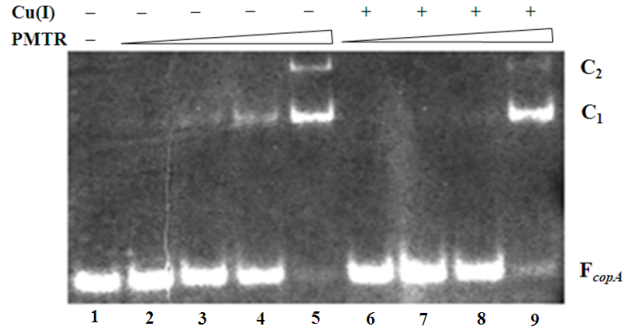
**Fig. 2.** Gel shift assay of *E. coli copA* and *P. mirabilis atpase*. 0.1 μM DNA and 1.2 μM PMTR were used in each reaction.  $F_{copA}$  and  $F_{atpase}$  denote free duplex DNA of *E. coli copA* and *P. mirabilis atpase*, respectively.  $C_1$  and  $C_2$  indicate PMTR:DNA complexes. Lanes 1 and 5 contain no PMTR and metal. Lanes 2 and 6 contain PMTR only. Lanes 3 and 7 contain PMTR with 10 μM Cu(I). Lanes 4 and 8 have PMTR with 100 μM Cu(II). Cu(I) stock solution was freshly prepared in 0.1 M HCl and 4% NaCl in a glove box under  $N_2$  atmosphere.



**Fig. 3.** Gel shift assay of *E. coli copA* and *P. mirabilis atpase* with various concentration of Cu(II). 0.1 μM DNA and 0.6 μM PMTR were used in each reaction. *F<sub>copA</sub>* and *F<sub>atpase</sub>* denote free duplex DNA of *E. coli copA* and *P. mirabilis atpase*, respectively. *C<sub>1</sub>* and *C<sub>2</sub>* indicate PMTR:DNA complexes. Lanes 1 and 5 have PMTR with no metal. Lanes 2 and 6 include PMTR with 10 μM Cu(II). Lanes 3 and 7 have PMTR with 20 μM Cu(II). Lanes 4 and 8 retain PMTR with 50 μM Cu(II).

관찰하기 위하여 Fig. 3과 Fig. 4의 실험을 수행하였다. 이 실험들은 PMTR 단백질의 결합력이 중금속 Cu(I) 혹은 Cu(II)의 농도가 증가함에 따라 억제되는 경향을 보여준다. 존재하는 PMTR 단백질의 농도에 따라서 중금속에 대한 영향이 다르게 나타나지만, 0.6 μM PMTR 농도와 50 μM 이상의 중금속 농도에서 PMTR:DNA 복합체가 관찰되지 않았다(Fig. 3의 lane 4와 8), 1.2 μM PMTR을 사용한 경우는 100 μM Cu(II)에서 PMTR:DNA 복합체가 거의 관찰되지 않았다(Fig. 2의 lane 4와 8). 이와 동일한 실험 결과(14)가 CueR 단백질에도 관찰되었으며, CueR 단백질만 존재할 때 보다 Cu(II)와 Cu(I) 이온이 존재할 때 DNA 결합에 필요한 단백질의 농도가 증가함을 보였다. 이런 PMTR 단백질의 DNA 결합력이 높은 중금속 농도에서 중금속과의 결합으로 인한 단백질의 구조적인 변화 가능성을 CD (circular dichroism) 스펙트럼으로 관찰하였다(미발표 자료). CD 스펙트럼에 의하면 100 μM 중금속이 존재할 때 먼 UV 파장 범위(far UV region)에서 PMTR 단백질의 알파 나선이 59.8%(단백질만 존재)에서 62.9%(단백질과 중금속)로 크게 변화하지 않았다. 그러므로 이 실험에서 사용된 단백질과 중금속의 농도비율에서 차이가 있기는 하지만, 중금속에 의한 단백질의 급격한 구조적인 변화는 없는 것으로 여겨진다. 그리고 아연 이온은 PMTR 단백질이 DNA에 결합할 때 억제하는 경향을 보이지 않았다(미발표 자료). 이것은 아마도 아연 이온이 PMTR 단백질에 결합하지 않거나 혹은 구리 이온이 단백질에 결합하는 것과 다른 형태로 아연 이온이 결합할지도 모른다.

PMTR 단백질은 *atpase*와 *copA* 프로모터에 결합하지만(Figs. 2-4), 그러나 PMTR 농도의 증가 및 아연의 존재와 상관없이 PMTR 단백질과 *zntA* 프로모터 사이에 복합체 형성이 거의 관찰되지 않았다(자료 미제시). 그리고 Fig. 6에서 -35와 -10 사이의 프로모터 염기서열(3)을 비교하면, *E. coli zntA*와

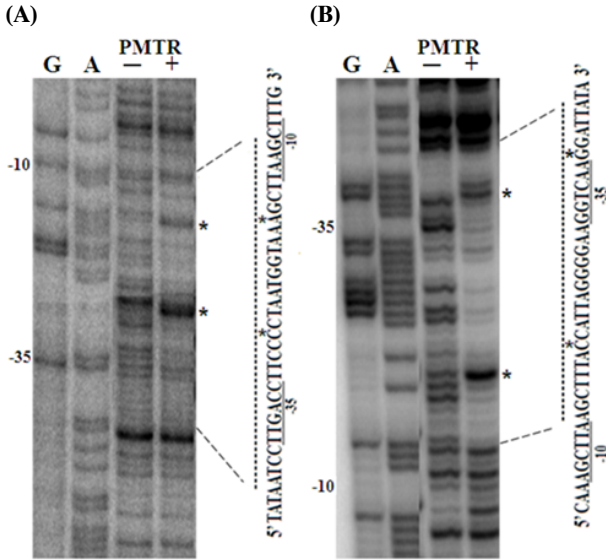


**Fig. 4.** Gel shift assay of *E. coli copA* with Cu(I). 0.1 μM DNA was used in each reaction. *F<sub>copA</sub>* denotes free duplex DNA of *E. coli copA*. *C<sub>1</sub>* and *C<sub>2</sub>* indicate PMTR:DNA complexes. Lane 1 has *copA* DNA only. Lanes 2 through 5 contain 0.06, 0.12, 0.24, 0.6 μM PMTR, respectively. Lanes 2 through 9 include the same concentration of PMTR as lanes 2 through 5 with 10 μM Cu(I).

*P. mirabilis atpase* 사이는 45% 그리고 *E. coli copA*와 *P. mirabilis atpase* 사이는 74%의 염기서열이 일치하였다. 또한 *zntA*, *copA*, 그리고 *atpase* 프로모터에서 역반복 염기서열(inverted repeat sequences)은 -ACTCTGGAGTC-, -ACCTTC-, 그리고 -ACCTT- 이다(3). 이 반복 염기서열 중에서 *P. mirabilis atpase* 반복염기가 *zntA*보다 *copA* 염기서열과 상당히 유사성을 보인다. 이런 이유로 왜 PMTR 단백질이 *zntA* 프로모터 대신에 *copA*와 *atpase* 프로모터와 복합체를 잘 형성하는지 알 수 있다.

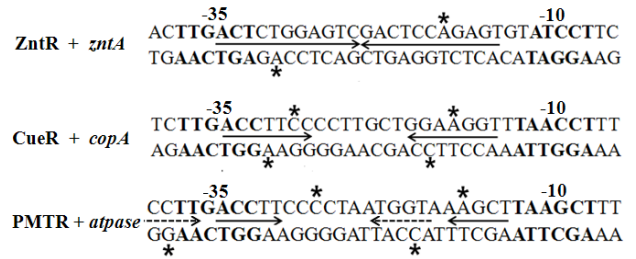
또한 Figs. 2-4에서 낮은 PMTR 농도에서 *C<sub>1</sub>* 복합체 만이 관찰되지만 높은 단백질 농도에서 *C<sub>1</sub>* 복합체와 *C<sub>2</sub>* 복합체가 관찰되었다. 이것은 PMTR:DNA (*C<sub>1</sub>* 복합체) 복합체에 또 하나의 PMTR 단백질이 추가로 결합되었다는 것을 의미한다. 그러나 높은 단백질 농도에서 어떻게 *C<sub>2</sub>* 복합체가 형성되었는지는 명확하지 않다. 예로서 SmtB (cyanobacterial metallothionein repressor) 단백질은 역반복 염기서열의 반쪽 부위에 단백질이 약하게 먼저 결합하고, 다음에 나머지 반쪽 부위에 다른 SmtB 이중체 결합으로 다중 단백질(multi-protein) 복합체를 형성하는 것으로 보고 되었다(9). 또한, CzrA (zinc sensing protein) 단백질도 마찬가지로 다중 단백질 복합체를 형성하는 것으로 확인되었다(4). *C<sub>2</sub>* 복합체를 형성하는 또 다른 가능성은 Fig. 6의 *P. mirabilis atpase* 프로모터에서 -35부근과 중간 부근에 유사한 역반복 염기서열인 -ACCT-가 반복하여 위치하고 있다. 그래서 두 개의 역반복 염기서열 중에서 선호하는 부위에 첫 PMTR 단백질이 결합한 이후에, 두 번째 PMTR 단백질이 이미 결합된 단백질:DNA 복합체에 결합하여 *C<sub>2</sub>* 복합체가 형성되는지 등의 추가적인 확인이 필요하다.

단백질 결합 부위와 단백질 결합에 따른 DNA의 구조 변화를 관찰하기 위하여 DNase I protection 실험을 수행하였다. 먼저 증폭에 필요한 한 가닥의 프라이머를  $\gamma$ -<sup>32</sup>P ATP가 존재하는 상태에서 폴리뉴클레오티드 키나제(polynucleotide kinase)를 처리한 이후에 PROT1 플라스미드(12)로부터 *atpase* 프로



**Fig. 5.** DNase I protection with labeled template (A) and non-template (B) strands. Reaction condition was mentioned in the content. 0.6  $\mu$ M PMTR was used in reaction. Dot lines (----) shown above DNA sequences indicate the protected region by PMTR protein. G and A sequencing reactions were conducted by Maxam and Gilbert sequencing methods. + and - symbols denote either in the presence or absence of PMTR, respectively.

모터를 PCR로 증폭하였다. DNase I 실험의 반응 조건은 겔 시프트 법과 동일한 조건을 사용하였다. 전기영동이 끝난 겔은 건조하여 포스포 이미징 스캐너(phosphoimager scanner, Kodak)를 사용하여 자료를 얻었다. 그리고 DNA 염기 서열 결정 반응은 Maxam과 Gilbert 방법(10)을 사용하였다. Fig. 6에서 보듯이, PMTR 단백질의 결합으로 -35 부위에서 -10 부위 부근까지 DNase I에 보호되었으며, 과민성 염기는 주형가닥(template strand, Fig. 5A)에서 C (-35 부근)과 A (-10 부근) 염기들과 비주형 가닥(non-template strand, Fig. 5B)에서 G (-35 부근)과 C (-10 부근) 염기들이다. Figure 6에서 ZntR 단백질과 *zntA* 사이의 과민성 염기들은 주형가닥에서 A (-10 부근)와 비주형 가닥에서 A (-35 부근) 염기이지만, CueR 단백질과 *copA* 사이는 주형가닥에서 C (-35 부근)과 A (-10 부근) 염기들이며 비주형 가닥에서 A (-35 부근)와 C (-10 부근) 염기들이다. 이런 DNase I 과민성 염기들의 유형에서 PMTR 단백질은 ZntR 단백질보다 CueR 단백질에 가까운 과민성 염기 유형을 보이지만, -35 부근의 G염기에서 다르다. 아마도 -35 부근에서 PMTR 단백질이 CueR 단백질과 다른 결합 특성을 나타내는 것으로 여겨진다. CAP:DNA 복합체에서 보았듯이, 이런 과민성 염기들이 갖는 DNA 구조적 의미는 단백질에 의한 DNA bending이다(1). 특히 중금속 단백질에 의해서 조절되는 유전자들은 -35와 -10 사이의 염기들의 간격이 *lactose* 프로모터(17 bp) 보다 긴 18-20 bp 간격으로 RNA polymerase와 -35와 -10 프로모터 지역의 염기들과 효과적인 상호작용을



**Fig. 6.** DNase I hypersensitive bases by ZntR, CueR, and PMTR proteins. Arrows indicate inverted repeat sequences. Dotted arrows show the possible inverted repeated sequences. Base sequences of -35 and -10 boxes are indicated with bold letters. Asterisks (\*) indicate DNase I hypersensitive sites. DNase I hypersensitive data by ZntR and CueR were obtained from Ref. 16 and 13, respectively.

이루지 못한다. 그래서 ZntR 단백질을 포함한 MerR 패밀리 단백질에 의한 DNA의 구조적인 변화인 DNA 뒤틀림(DNA distortion) 등이 수반된다(13).

앞에서 언급되었듯이, *pmtR* 유전자를 포함한 재조합 플라즈미드로 형질 전환된 대장균에서 PMTR 단백질이 어떤 작용을 통하여 아연 이온 저항성을 증가시켰는지 지금은 설명할 수 없다. 하지만 이를 설명하기 위하여, 우선 구리 이온 뿐만 아니라 아연 이온의 단백질 결합을 확인하기 위하여 1-5 mM DTT (dithiothreitol) 조건에서 하나의 subunit에 결합하는 이온 수를 ICP (Inductively Coupled Plasma) mass spectrometer로 확인 중이다. 이 결과를 토대로 세포 내외 조건에서 구축된 재조합 유전자를 이용한 전사실험(transcription assay)을 통하여 중금속에 의한 유전자의 전사과정 조절을 관찰한다. 이런 일련의 실험으로 충분하지 모르지만 상당부분 지금의 의문이 설명될 것으로 기대된다.

### 적요

*Proteus mirabilis* 전사 조절(*Proteus mirabilis* transcription regulator) 단백질의 중금속 결합 부위에 대한 아미노산 서열 분석에서 PMTR 단백질은 ZntR (아연 저항성) 단백질이 아닌 CueR (구리 저항성) 단백질과 동일한 환경이다. 그리고 겔 시프트 법(gel shift assay) 실험에 의하면 PMTR 단백질은 *Escherichia coli*의 *zntA* (zinc-translocating P-type ATPase gene) 프로모터에 결합하지 않고 *copA* (copper-translocating P-type ATPase gene) 프로모터와 *Proteus mirabilis*에서 *atpase* (copper-translocating P-type ATPase gene) 프로모터에 결합하였다. DNase I protection 실험에서 PMTR 단백질 결합부위와 DNase I 민감성 염기들이 관찰되었다. *P. mirabilis atpase* 프로모터에서 민감성 염기로 주형가닥(template strand)에서 C와 A 그리고 비주형가닥(non-template strand)에서 G와 C 염기들이다. 이런 민감성 염기들은 다른 MerR 패밀리 단백질에서 또한 관찰되었으며, 이것은 단백질에 의한 DNA

bending을 의미한다.

### 감사의 말

이 논문은 2011년도 경원대학교 교내연구비 지원에 의한 결과로 이에 감사를 드립니다(KWU-2011-R149). 특히, *pmtR* cloned vector의 제공과 실험에 도움을 준 Richard G. Brennan 박사(University of Texas, MD Anderson Cancer Center at Houston), Svetlana Lutsenko 박사, James Lunblad 박사 그리고 Joy L. Huffman 박사(Oregon Health and Sciences University, Portland)께 감사 드립니다. 또한 CD 스펙트럼 자료를 공유한 고정호에게도 감사를 전한다.

### 참고문헌

1. Ansari, A.Z., J.E. Bradner, and T.V. O'Halloran. 1995. DNA-bend modulation in a repressor-to-activator switching mechanism. *Nature* 374, 371-375.
2. Barkay, T., S.M. Miller, A.O. Summer. 2003. Bacterial mercury resistance from atoms to ecosystems *FEMS Microbiol. Rev.* 27, 355-384.
3. Brown, N.L., J.V. Stoyanov, S.P. Kidd, and J.L. Hobman. 2003. The MerR family of transcriptional regulators. *FEMS Microbiol. Rev.* 27, 145-163.
4. Busenlehner, L.S., T.C. Weng, J.E. Penner-Hahn, and D.P. Giedroc. 2002. Elucidation of primary ( $\alpha$ 3N) and vestigial ( $\alpha$ 5) heavy metal binding sites in *Staphylococcus aureus* pI258 CadC: evolutionary implications for metal ion selectivity of ArsR/SmtB metal sensor proteins. *J. Mol. Biol.* 319, 685-701.
5. Changela, A., K. Chen, Y. Xue, J. Holschen, C.E. Outten, T.V. O'Halloran, and A. Mondragon. 2003. Molecular basis of metal ion selectivity and zeptomolar sensitivity by CueR. *Science* 301, 1383-1387.
6. Gill, S.C. and P.H. von Hippel. 1989. Calculation of protein extinction coefficients from amino acid sequence data. *Anal. Biochem.* 182, 319-326.
7. Hobman, J.L. 2007. MerR family transcription activators: similar design, different specificities. *Mol. Microbiol.* 63, 1275-1278.
8. Huffman, J.L. 2001. DNA and metal specificity of MerR family member PMTR, *Proteus mirabilis* transcription regulator. Ph. D. thesis. Oregon Health and Sciences University.
9. Kar, S.R., J. Lebowitz, S. Blume, K.B. Taylor, and L.M. Hall. 2001. SmtB-DNA and protein-protein interactions in the formation of the cyanobacterial metallothionein repression complex:  $Zn^{2+}$  does not dissociate the protein-DNA complex *in vitro*. *Biochemistry* 40, 13378-13389.
10. Maxam, A. and W. Gilbert. 1977. A new method for sequencing DNA. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 74. 560-564.
11. Nies, D.H. 1999. Microbial heavy-metal resistance. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 51, 730-750.
12. Noll, M., K. Petrukhin, and S. Lutchenko. 1998. Identification of a novel transcription regulator from *Proteus mirabilis*, PMTR, revealed a possible role of YJAI protein in balancing zinc in *E. coli*. *J. Biol. Chem.* 273, 21393-21401.
13. Outten, C.E., F.W. Outten, and T.V. O'Halloran. 1999. DNA distortion mechanism for transcriptional activation by ZntR. *J. Biol. Chem.* 275, 31024-31029.
14. Outten, F.W., C.E. Outten, J. Hale, and T.V. O'Halloran. 2000. Transcription activation of an *Escherichia coli* copper efflux regulon by the chromosomal MerR homologue, CueR. *J. Biol. Chem.* 275, 31024-31029.
15. Permina, E.A., A.E. Kazakov, O.V. Kalininia, and M.S. Gelfand. 2006. Comparative genomics of regulation of heavy metal resistance in Eubacteria. *BMC Microbiol.* 6, 1-11.
16. Singh, V.K., A. Xiong, T.R. Usgaard, S. Chakrabarti, R. Deora, T.K. Misra, and R.K. Jayaswal. 1999. ZntR is an autoregulatory protein and negatively regulates the chromosomal zinc resistance operon *znt* of *Staphylococcus aureus*. *Mol. Microbiol.* 33, 200-207.
17. Zhen, M., F.E. Jacobsen, and D.P. Giedroc. 2009. Coordination chemistry of bacterial metal transport and sensing. *Chem. Rev.* 109, 4644-4681.