

集胞藻 PCC6803 中 S2P 同源蛋白基因 *sll0862* 缺失突变株对热胁迫与氧化胁迫的响应

曾小琳¹, 闻盼盼², 陈谷^{2*}

¹华南理工大学生物科学与工程学院, 广州 510006

²华南理工大学轻工与食品学院, 广州 510640

摘要:原核生物中 S2P 参与应答外界环境刺激, 然而行光合作用的蓝细菌-集胞藻 PCC6803 的 S2P 同源蛋白功能未知。【目的】考察集胞藻 PCC6803 中 S2P 同源蛋白 *sll0862* 是否参与外界环境刺激的应答。【方法】监测在高温和氧化胁迫的条件下 *sll0862* 基因缺失突变株与野生株在生长速率或存活率上的差异, 利用水样调制叶绿素荧光仪 (water-PAM, 脉冲-振幅-调制叶绿素荧光仪) 测量在高温和氧化胁迫的条件下突变株与野生株叶绿素荧光参数的差异, 来考察其光合作用差异。【结果】*sll0862* 突变株与野生株在正常的培养环境中生长速率并无差异, 但是将 *sll0862* 突变株与野生株在 48℃ 加热处理半小时后, *sll0862* 突变株的存活率明显低于野生株。当初始 OD_{730} 值为 0.1 的藻液中添加终浓度为 1 mmol/L 双氧水的时候, *sll0862* 突变株的生长速率比野生株明显低, 而且氧化胁迫条件下突变株与野生株的调制叶绿素荧光有差异。【结论】集胞藻 PCC6803 中 *sll0862* 基因的缺失导致突变体对高温与氧化胁迫响应出现缺陷, 提示有功能的 *sll0862* 参与响应热和氧化胁迫。研究结果为进一步阐述 S2P 同源蛋白 *sll0862* 在集胞藻 PCC6803 中的功能奠定基础。

关键词: 集胞藻 PCC6803, *sll0862*, 氧化胁迫, 热胁迫

中图分类号: Q935 文献标识码: A 文章编号: 0001-6209 (2012)05-0594-08

受控的膜内蛋白水解 (Regulated intramembrane proteolysis, RIP) 是一种通过招募膜整合蛋白酶以切割膜内调控蛋白进而调节跨膜信号转导的保守机制^[1]。在正常条件下细胞内的调控蛋白被束缚于细胞膜上, 而在一些胁迫压力下, 比如高温、高盐、低温以及氧化胁迫等, 膜整合蛋白酶被激活而切割释放特定膜内调控蛋白将胞外信号传递到基因组, 启动一系列的基因表达调控以应对胁迫。从细菌到人类的多种生物都发现这种机制传递跨膜信号以应答外界环境的变化^[2]。S2P (site-2 protease, 位点 2 蛋

白酶) 作为人体内的膜整合蛋白酶能够切割锚定于高尔基体膜上的转录因子 SREBPs 调节胆固醇和脂肪酸的代谢^[3-5]。我们的研究始于光合生物中最先发现的 S2P 同源蛋白 EGY1, 它定位于拟南芥叶绿体, 负责调控叶绿体内囊体膜的发育以及脂肪酸的合成, EGY1 蛋白的表达受到强光和乙烯的诱导^[6-7], 而另一个 S2P 同源蛋白 EGY2 则影响下胚轴的生长^[8]。细菌中 S2P 主要参与响应外界胁迫, 如大肠杆菌 sigma 因子 σE 介导的胁迫响应受 S2P 的级联信号调控。 σE 基因下游共转录的 RseA 是跨

基金项目: 国家自然科学基金项目 (30800609); 华南理工大学中央高校基本科研业务费专项资金资助 (SCUT 2009ZM0006)

* 通信作者。Fax: +86-20-87113849; E-mail: chengu@scut.edu.cn

作者简介: 曾小琳 (1988-), 女, 江西抚州人, 硕士研究生, 研究方向为生物化学与分子生物学。E-mail: xiaolin.97@163.com

收稿日期: 2012-01-06; 修回日期: 2012-02-26

膜的抗 σ 因子, 它紧密地结合 σ E, 限制其与 RNA 聚合酶核心酶结合^[9]。在周质空间错误折叠蛋白的诱导下, RseA 先后被 DegS (S1P) 和 RseP (S2P) 切割, 最终释放 σ E 到核区启动相关基因的转录^[10-14]。类似的机理: S2P 参与调控 σ 因子响应外界信号在越来越多的细菌中被发现。例如革兰氏阴性菌绿脓杆菌 (*Pseudomonas aeruginosa*) 中 S2P-MucP 切割抗 σ 因子 MucA, 释放 σ 因子 AlgU^[15]; 支气管败血波氏杆菌 (*Bordetella bronchiseptica*) 的 S2P-HurP 切割抗 σ 因子 HurR, 释放 σ 因子 HurI^[16]; 革兰氏阳性菌枯草芽孢杆菌 (*Bacillus subtilis*) 的 S2P-RasP 切割抗 σ 因子 RsiW, 释放 σ W^[17-18]。

作为叶绿体先祖的蓝细菌也有编码 S2P 同源蛋白的基因, 但功能迄今未见报道。集胞藻 6803 中有 4 个编码 S2P 同源蛋白的基因: *sll0862*、*slr0643*、*sll0528*、*slr1821*, 本实验室检测到体外重组表达的 *sll0862*、*slr0643* 蛋白具有金属蛋白酶活性^[19]。为了研究其体内功能, 我们构建了 *sll0862*、*slr0643* 的缺失突变株, 在正常培养条件下 *sll0862* 突变体与野生株的生长速率等多种指标无明显差异^[20], 提示 *sll0862* 蛋白可能在胁迫环境下行使其特定的作用; 故本文在已经构建的 *sll0862* 缺失突变株的基础上, 系统研究突变株与野生株在热胁迫与氧化胁迫下的生理指标, 寻找 *sll0862* 可能参与的胁迫响应及其功能。

1 材料和方法

1.1 材料

1.1.1 主要材料: 集胞藻 PCC6803 野生株购自 ATCC, *sll0862* 缺失突变株由本实验室构建^[20]。

1.1.2 主要仪器: 紫外分光光度计 UV2300 (上海天美科学仪器有限公司), water-PAM (德国泽泉科技有限公司), PCR 仪器 Icycle (美国 BIO-RAD 公司)。

1.2 培养方法

集胞藻 PCC6803 使用 BG11 培养基, 培养条件为温度 30°C, 30 $\mu\text{E}/\text{m}^2 \cdot \text{s}$ 连续光照和转速为 130 r/min 的摇瓶^[21]。采用固体培养基时, 需添加 0.3% 的硫代硫酸钠、8 mmol/L 的 TES (PH 为 8.2) 和 1.5% 的琼脂。*sll0862* 缺失突变体在液体和固体培

养液中培养时添加 50 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的卡那霉素或者 25 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的氯霉素。

1.3 测定生长曲线

初始接种 OD_{730} 值为 0.1 的藻液, 每天取 1 次样, 用 UV2300 型分光光度计测定 OD_{730} 值, 绘制生长曲线。氧化胁迫的条件下, 在初始 OD_{730} 值为 0.1 的藻液中添加终浓度为 1 mmol/L 的双氧水, 培养条件为温度 30°C, 30 $\mu\text{E}/\text{m}^2 \cdot \text{s}$ 连续光照和转速为 130 r/min 的摇瓶; 高温胁迫培养条件为温度 40°C, 30 $\mu\text{E}/\text{m}^2 \cdot \text{s}$ 连续光照和转速为 130 r/min 的摇瓶, 每天取 1 次样测定 OD_{730} 值, 绘制生长曲线。

1.4 热击后存活率的测量

用 eppendorf 管各取初始 OD_{730} 值为 0.1 的藻液 1 mL^[22], 在 48°C 下加热 30 min 或 45 min 后, 取 10 μL 点样于固体培养基上, 等藻液完全被固体培养基吸收后, 放置在培养箱中培养 7 天后观察藻的生长情况。

1.5 叶绿素荧光参数的测量

叶绿素荧光参数用脉冲调制荧光仪 WATER-PAM 进行测定, 测量前集胞藻 PCC6803 进行暗处理 5 min, 实际光量子产量 (yield) 和相对电子传递速率 (ETR) 可直接从荧光仪上读出, 其中测量光强为 0.01 $\mu\text{E}/\text{m}^2 \cdot \text{s}$, 饱和脉冲为 4000 $\mu\text{E}/\text{m}^2 \cdot \text{s}$ 。yield = $(F_m' - F_t) / F_m'$ = $\Delta F / F_m$, (其中 F_m' 代表光适应的样品打开饱和脉冲时得到的最大荧光产量, F_t 代表任一给定时间测量得到的荧光产量, 它反映了样品的还原状态和能态)。ETR = Yield \times PAR \times 0.5 \times 0.841 (ETR 的计算公式基于如下假设: (1) Yield 代表全部光合量子产量; (2) PAR 代表入射到样品的光合有效辐射强度, 单位为 $\mu\text{mol}/\text{m}^2 \cdot \text{s}$ 传递一个电子需要吸收 2 个光子, 因为光合电子传递需要 2 个光系统的参与 (系数 0.5); (3) 假定入射光强有 84% 被藻吸收 (系数 0.841)。

2 结果

2.1 野生株与突变株在正常生理条件下的生长曲线的测量与比较

PCR 验证突变体基因的敲除情况, 如图 1-A 所示: wild type 所指示的条带为野生株 *0862* 的 PCR 扩增产物, Δ *sll0862*-kam 所指示的条带为突变株 PCR 的扩增产物, 突变株的基因组里面没有野生株

的拷贝,由此可见,嵌入卡那霉素抗性基因使野生株的 *sll0862* 完全被敲除。同理验证氯霉素替换敲除 *sll0862* 基因的突变株 $\Delta sll0862$ -Cam (图 1-B)。在 30°C $30\mu\text{E}/\text{m}^2\cdot\text{s}$ 连续光照的正常培养条件下,两株 *sll0862* 缺失突变株与野生株生长曲线基本重合(图 2),说明此时 *sll0862* 基因的敲除不影响集胞藻 PCC6803 正常优化条件下的生长。

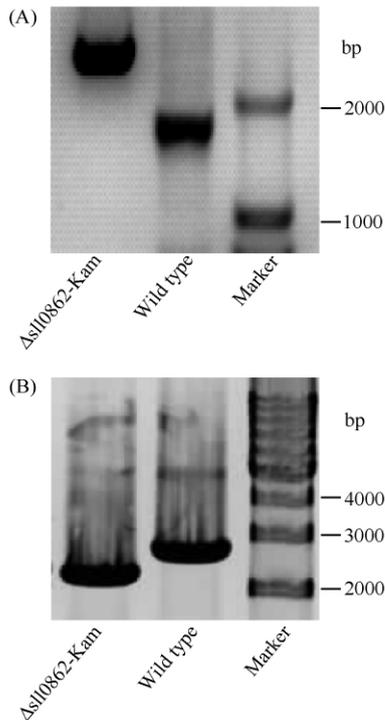


图 1 突变株基因的 PCR 鉴定结果

Fig. 1 PCR identification of mutants. A: Identification results of $\Delta sll0862$ -kam mutant. Primers used were 0862F (CCGGAATTCATG CCCACTACCCTAG) and 0862R (CCCAAGCTTTTACCGCCAAT GCCT); B: Identification results of $\Delta sll0862$ -Cam mutant. Primers used were *sll0862*le-L (CCGGAATTCATCGCATTACCCAGTTG GAC) and *sll0862*re-R (CCCAAGCTTTTACTCCGTAATACTGAG GAAA).

2.2 热胁迫条件下野生株与突变株的比较

2.2.1 野生株与突变株在热胁迫条件下生长情况的比较:集胞藻 PCC6803 的最适生长温度为 30°C 左右,当温度大于 40°C 的时候,它的生长会受到抑制^[23]。本实验中,我们采用 40°C $30\mu\text{E}/\text{m}^2\cdot\text{s}$ 连续光照和 $130\text{ r}/\text{min}$ 摇瓶进行培养,生长曲线如图 3 所示。从中我们可以看出在热胁迫处理的前 3 天,虽然 $\Delta sll0862$ -kam 突变株与野生株的生长速率都比在正常条件下低,但是它们之间并没有显著差异;在热胁迫处理的第三天之后,野生株的生长速率达到一

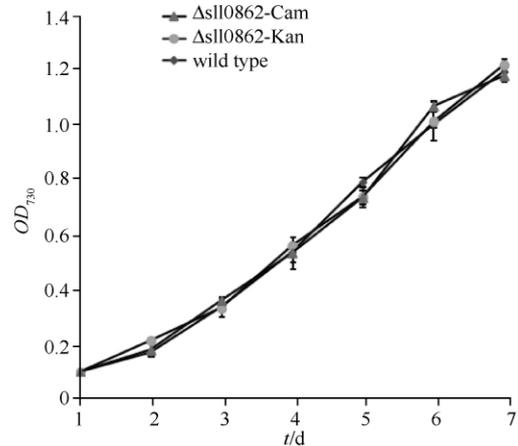


图 2 野生株与突变株的生长曲线

Fig. 2 The autotrophic growth curves of wild type, $\Delta sll0862$ -kam and $\Delta sll0862$ -Cam mutants under normal condition.

个平台期,而 $\Delta sll0862$ -kam 突变株的生长速率迅速下降且明显低于野生株,而且培养基里面出现黄褐色的沉淀,但是野生型的培养基没有,很可能是突变株不能耐受高温出现没有生命活力藻的凝聚体。由此可见, *sll0862* 蛋白的缺失使得 $\Delta sll0862$ -kam 突变株对热胁迫的响应有缺陷。

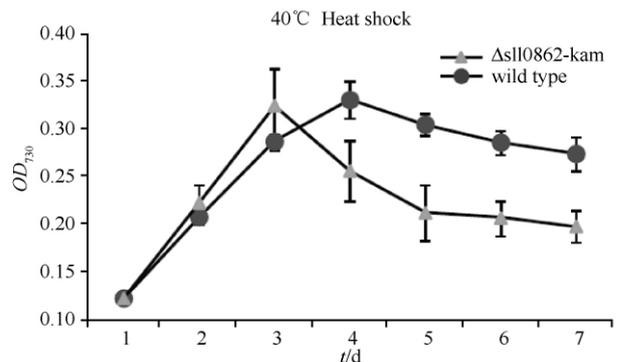


图 3 高温胁迫条件下野生株与突变体的生长曲线

Fig. 3 The growth curves of wild type and $\Delta sll0862$ -kam mutant at 40°C .

2.2.2 野生株与突变株在 48°C 的条件下加热后存活率的比较:我们测定 $\Delta sll0862$ -kam 突变株与野生株在 48°C 热击 30 min 或 45 min 之后,在固体培养基上培养 7 天后的存活率(图 4)。图中 30°C 为野生株(下)与 $\Delta sll0862$ -kam 突变株(上)未经热击的对照, 48°C 为它们被热击 30 min 或 45 min 之后在固体培养基上培养 7 天后的情况。结果表明,未经热击的样本生长情况一致;而 48°C 热击之后, $\Delta sll0862$ -kam 突变株的存活率明显比野生株低,热击 45 min

的存活率低于 30 min 的。提示 *sll0862* 基因的缺失导致 $\Delta sll0862$ -kam 突变体对热胁迫的响应异常或有缺陷。

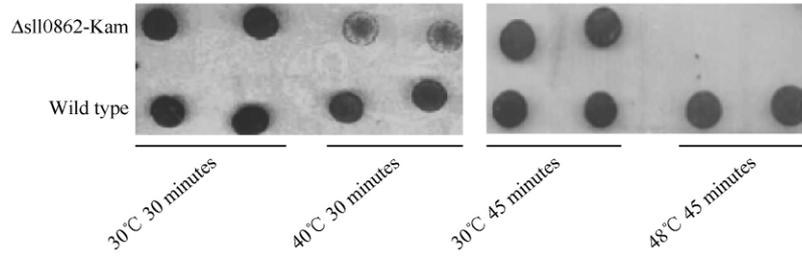


图 4 野生株和 $\Delta sll0862$ -kam 突变株在热胁迫后的存活情况

Fig. 4 The survival rate of wild type and $\Delta sll0862$ -kam under high temperature. After thermal shock for 30 minutes or 45 minutes at 48°C, cells were cultured in the solid medium for 7 days and the cells grown at 30°C serve as control.

2.2.3 热胁迫条件下野生株与突变株的叶绿素荧光: 我们首先比较了野生株与突变株在各种热胁迫条件下的实际光量子产量 (yield 值), 来表征其光合作用能力, 或光合反应中心 II 的活性。把野生株与 *sll0862* 基因缺失突变株放置在 44°C、46°C、48°C、50°C 分别热击 30 min 后测量各自的 yield 值, 结果如图 5-A 所示。野生株与突变株在热击后的差异并不显著。接着我们测量了野生株与突变株在 48°C 30 min 热击后移至 30°C 培养 90 min 内的实际光量子产量 (图 5-B)。实验结果表明了 48°C 热胁迫 30 min 然后放置到 30°C 的培养环境后, 野生株与突变株的 yield 值都有上升, 但是两者之间的差异在渐渐的变大。所以野生株与突变株在热胁迫后的存活率的差异很可能是表现在加热后的两者之间的恢复能力上。后续的实验将追踪 90 min 后的 yield 值变化。

2.3 氧化胁迫条件下野生株与突变株的比较

2.3.1 野生株与突变株在氧化胁迫条件下的生长曲线 在藻的 OD_{730} 值为 0.1 时直接往胁迫组培养基中添加双氧水至终浓度为 1 mmol/L, 生长曲线测量结果表明: *sll0862* 基因缺失突变株不能生长, 而野生株的生长基本上不受抑制 (图 6)。据此推测 *sll0862* 基因很可能是集胞藻 PCC6803 在氧化胁迫条件下维持生长所必须的基因, 可能参与了氧化胁迫的响应过程。

2.3.2 野生株与突变株在氧化胁迫条件下的实际光量子产量 (yield) 和 ETR: 叶绿素荧光参数 Yield 值 (实际光量子产量) 和 ETR (相对光合电子传递速率) 反映了植物的实际光合效率, 是衡量植物光合

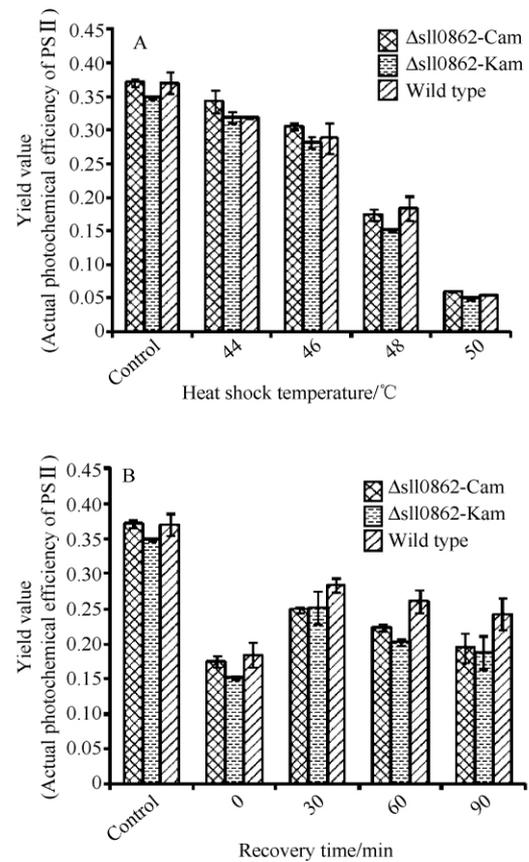


图 5 野生株与 $\Delta sll0862$ -kam 和 $\Delta sll0862$ -Cam 突变株分别在热胁迫条件下与在热胁迫后恢复的情况下 yield 的测量结果

Fig. 5 The yield value of wild type, $\Delta sll0862$ -kam and $\Delta sll0862$ -Cam after heat shock and the recovery. A: No significant difference of yield value between wild type and mutants was observed after heat shock. B: The yield value of wild type, $\Delta sll0862$ -kam and $\Delta sll0862$ -Cam mutant in 90 minutes after heat shock. Cells were heat shocked at 48°C for 30min and then placed back to 30°C for the next 90 minutes.

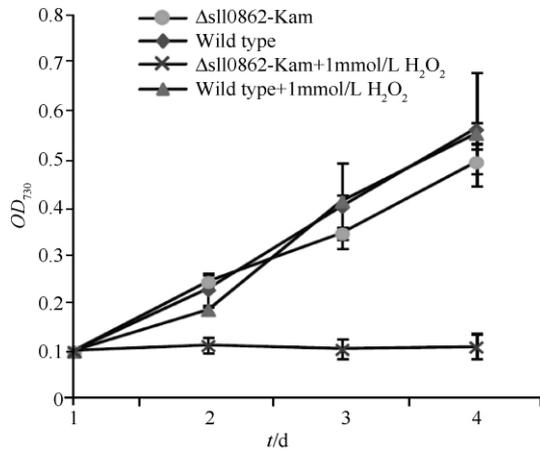


图6 野生株和突变株在氧化胁迫下的生长曲线

Fig.6 The growth curve of wild type and mutants under oxidative stress. In the medium containing 1mM/L H_2O_2 , the growth of wild type is not affected, while $\Delta sll0862$ -kam almost stop growing.

作用有效度的指标。双氧水对集胞藻 PCC6803 造成的影响非常快速,因此我们首先测量双氧水处理藻 OD_{730} 为 0.8 时间为 15 min 时的叶绿素荧光参数。以 3 mmol/L 作为浓度梯度,观察到随着双氧水浓度的升高,突变株的 yield 值和 ETR 值迅速下降,而野生株下降缓慢,在双氧水浓度为 9 mmol/L 以上时,突变体与野生株差异显著(图 7-A,图 7-B)。据此推断,突变体的氧化胁迫响应出现异常或缺陷。接着我们测量比较野生株与突变株添加 1.2 mmol/L 双氧水处理后,60 min 内实际光量子产量(yield)和 ETR 的变化过程。结果显示随着时间的增加,野生株的 Yield 值和 ETR 值有上升的趋势,虽然统计学上不显著;而 $\Delta sll0862$ -kam 和 $\Delta sll0862$ -Cam 突变株维持在显著低于野生株的水平(图 8-A 和 8-B)。

3 讨论

集胞藻 PCC6803 中 S2P 同源蛋白 sll0862 含有典型的 S2P 保守基序:HEXXH 和 NPDG,它在一个集胞藻的膜蛋白组学研究中检测到^[24],证实它是个有转录翻译表达的蛋白。我们通过系统地研究 *sll0862* 基因缺失突变株与野生株在各种胁迫下表型的差异,找到 sll0862 参与热胁迫与氧化胁迫的线索。

实验结果表明 *sll0862* 基因缺失突变株在

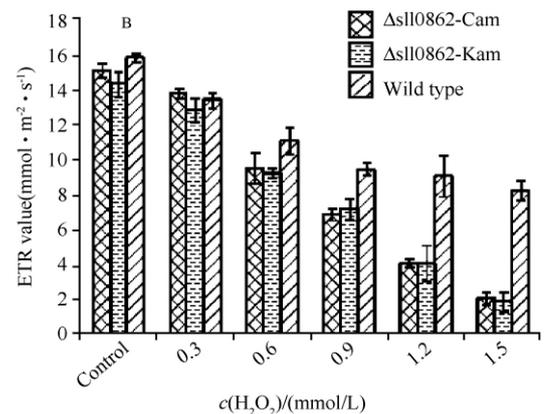
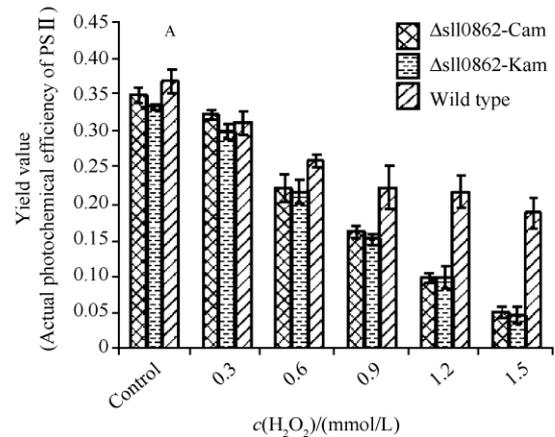


图7 野生株与 $\Delta sll0862$ -kam 和 $\Delta sll0862$ -Cam 突变株在氧化胁迫下 yield 和 ETR 的测量结果

Fig.7 The yield and ETR value of wild type, $\Delta sll0862$ -kam and $\Delta sll0862$ -Cam after oxidative stress. With the increase of concentration of hydrogen peroxide, the yield and ETR value of $\Delta sll0862$ -kam and $\Delta sll0862$ -Cam reduced rapidly, while the wild type decreased slowly.

48℃ 短期热击(30 或 45min)后的存活率要比野生株低很多;而在 40℃ 的持续热培养条件下,突变株比野生株更早一天出现生长速率下降的趋势,提示 *sll0862* 缺失突变体对热胁迫的响应出现异常或缺陷。在双氧水的氧化胁迫实验中,*sll0862* 缺失突变株的生长速率与光合效率均明显低于野生株,提示 *sll0862* 缺失突变体对氧化胁迫的响应出现异常或缺陷。 OD_{730} 值为 0.1 的 *sll0862* 缺失突变体放置在 1 mmol/L 双氧水中培养基中培养时基本不能生长;但用 1.5 mmol/L 双氧水处理 OD_{730} 为 0.8 的藻液,water-PAM 却能够检测到光合量子产量,这个可能与藻液的密度及生长时期有关,密度越高耐受双氧水的浓度也越高^[25]。基因敲除与胁

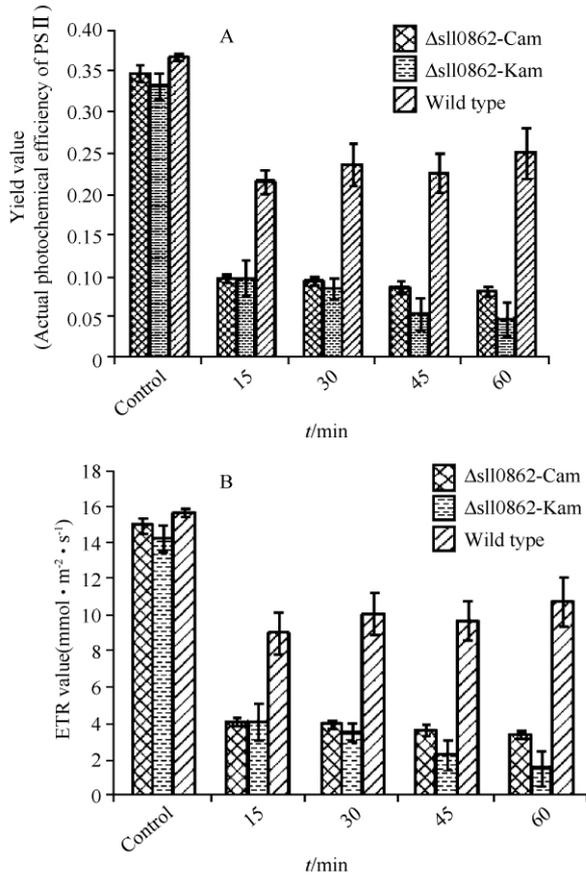


图 8 野生株与 $\Delta sl10862\text{-kam}$ 和 $\Delta sl10862\text{-Cam}$ 突变株在氧化胁迫 60 min 内 Yield 和 ETR 值的变化情况

Fig. 8 The yield value (A) and ETR (B) value of wild type, $\Delta sl10862\text{-kam}$ and $\Delta sl10862\text{-Cam}$ under the oxidative stress contained with 1.2 mmol/LH₂O₂ in the medium within 60 minutes.

胁迫响应异常的关系,可能是被敲除的基因直接参与胁迫响应,它的缺少导致一系列胁迫响应的基因表达调控异常;也可能是被敲除基因间接参与胁迫响应,它所导致的生理生化缺陷,如膜通透性变化、还原能力变化等在正常培养条件下不会有明显后果,但胁迫条件下间接造成损伤。我们正在考察 *sl10862* 的转录和翻译是否在热击和氧化胁迫下有所变化,以图进一步解释本文观察到的胁迫表型异常。关于响应双氧水氧化胁迫的分子机制研究比较多,比如在大肠杆菌里 SoxRS, OxyR 与双氧水的信号通路已经比较清楚,在蓝藻内的信号通路与氧化胁迫调控相关的主要有 PerR、Hik16、Hik33、Hik34 和 Hik41 等^[26]。本文所报道的 *sl10862* 蛋白可能与氧化胁迫的信号通路调控相关,具体机制有待进一步的研究。

参考文献

- [1] Brown MS, Ye J, Rawson RB, Goldstein JL. Regulated intramembrane proteolysis: a control mechanism conserved from bacteria to humans. *Cell* 2000, 100:391-398.
- [2] Chen G, Zhang X. New insights into S2P signaling cascades: Regulation, variation, and conservation. *Protein Science* 2010, 19:2015-2030.
- [3] Sakai J, Duncan EA, Rawson RB, Hua X, Brown MS, Goldstein JL. Sterol-regulated release of SREBP-2 from cell membranes requires two sequential cleavages, one within a transmembrane segment. *Cell*, 1996, 85: 1037-1046.
- [4] Brown MS, Goldstein JL. The SREBP pathway: Regulation of cholesterol metabolism by proteolysis of a membrane-bound transcription factor. *Cell*, 1997, 89:331-340.
- [5] Wang X, Sato R, Brown MS, Hua X, Goldstein JL. SREBP-1, a membrane-bound transcription factor released by sterol-regulated proteolysis. *Cell*, 1994, 77: 53-62.
- [6] Chen G, Bi YR, Li N. EGY1 encodes a membrane-associated and ATP-independent metalloprotease that is required for chloroplast development. *Plant Journal*, 2005, 41:364-375.
- [7] Guo D, Gao X, Li H, Zhang T, Chen G, Huang P, An L, Li N. EGY1 plays a role in regulation of endodermal plastid size and number that are involved in ethylene-dependent gravitropism of light-grown Arabidopsis hypocotyls. *Plant Molecular Biology* 2008, 66:345-360.
- [8] Chen G, Law K, Ho P, Zhang X, Li N. EGY2, a chloroplast membrane metalloprotease, plays a role in hypocotyl elongation in Arabidopsis. *Molecular Biology Report* 2012, 39:2147-2155.
- [9] Campbell EA, Tupy JL, Gruber TM, Wang S, Sharp M M, Gross CA, Darst SA. Crystal structure of Escherichia coli sigma(E) with the cytoplasmic domain of its anti-sigma RseA. *Molecular Cell* 2003, 11(4):1067-1078.
- [10] Erickson JW, Gross C, A. Identification of the sigma E subunit of Escherichia coli RNA polymerase: a second alternate sigma factor involved in high-temperature gene expression. *Genes & Development*, 1989, 3(9): 1462-1471.

- [11] Mecsas J , Rouviere PE , Erickson JW , Donohue TJ , Gross CA. The Activity of Sigma (E) , an Escherichia-Coli Heat-Inducible Sigma-Factor , Is Modulated by Expression of Outer-Membrane Proteins. *Genes & Development* , 1993 ,7(12B) :2618-2628.
- [12] Alba BM , Leeds JA , Onufryk C , Lu CZ , Gross CA. DegS and YaeL participate sequentially in the cleavage of RseA to activate the sigma (E)-dependent extracytoplasmic stress response. *Genes & Development* , 2002 ,16(16) :2156-2168.
- [13] Dartigalongue C , Loferer H , Raina S. EcfE , a new essential inner membrane protease: its role in the regulation of heat shock response in Escherichia coli. *EMBO Journal* , 2001 ,20(21) :5908-5918.
- [14] Kanehara K , Ito K , Akiyama Y. YaeL (EcfE) activates the sigma(E) pathway of stress response through a site-2 cleavage of anti-sigma (E) , RseA. *Genes & Development* , 2002 ,16(16) : 2147-2155.
- [15] Qiu DR , Eisinger VM , Rowen DW , Yu HWD. Regulated proteolysis controls mucoid conversion in *Pseudomonas aeruginosa*. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* , 2007 ,104(19) :8107-8112.
- [16] King-Lyons ND , Smith KF , Connell TD. Expression of hurP , a gene encoding a prospective site 2 protease , is essential for heme-dependent induction of bhuR in *Bordetella bronchiseptica*. *Journal of Bacteriology* 2007 , 189(17) :6266-6275.
- [17] Bramkamp M , Weston L , Daniel RA , Errington J. Regulated intramembrane proteolysis of FtsL protein and the control of cell division in *Bacillus subtilis*. *Molecular Microbiology* 2006 ,62(2) :580-591.
- [18] Schobel S , Zellmeier S , Schumann W , Wiegert T. The *Bacillus subtilis* sigma (W) anti-sigma factor RsiW is degraded by intramembrane proteolysis through YluC. *Molecular Microbiology* 2004 ,52(4) :1091-1105.
- [19] 秦春燕 , 张旭 , 陈谷. 集胞藻 PCC6803 中 S2P 同源蛋白 slr0643 及 slr0862 金属蛋白活性的体外鉴定. 微生物学报 (*Acta Microbiologica Sinica*) , 2012 ,52(1) :130-135.
- [20] 钟罗宝 , 陈谷 , 任丹丹. 集胞藻 PCC6803 EGY 同源基因破坏突变体的构建及表型分析. 微生物学报 (*Acta Microbiologica Sinica*) 2009 ,49:1470-1476.
- [21] Williams J. Construction of specific mutations in photosystem II photosynthetic reaction center by genetic engineering methods in *Synechocystis* 6803. *Methods in Enzymology* , 1988 ,167:766-778.
- [22] Tuominen I , Pollari M , Von Wobeser EA , Tyystjarvi E , Ibelings BW , Matthijs HCP , Tyystjarvi T. Sigma factor SigC is required for heat acclimation of the cyanobacterium *Synechocystis* sp strain PCC 6803. *FEBS Letters* 2008 ,582:346-350.
- [23] Inoue N , Taira Y , Emi T , Yamane Y , Kashino Y , Koike H , Satoh K. Acclimation to the growth temperature and the high-temperature effects on photosystem II and plasma membranes in a mesophilic cyanobacterium , *Synechocystis* sp. PCC6803. *Plant and Cell Physiology* 2001 ,42:1140-1148.
- [24] Kwon J , Oh J , Park C , Cho K , Kim SI , Kim S , Lee S , Bhak J , Norling B , Choi JS. Systematic cyanobacterial membrane proteome analysis by combining acid hydrolysis and digestive enzymes with nano-liquid chromatography-Fourier transform mass spectrometry. *Journal of Chromatography A* 2010 ,1217:285-293.
- [25] Tichy , M. and W. Vermaas. In vivo role of catalase-peroxidase in *synechocystis* sp. strain PCC 6803. *Journal of bacteriology* , 1999 ,181(6) :1875-1882.
- [26] Latifi A , Ruiz M , Zhang CC. Oxidative stress in cyanobacteria. *FEMS Microbiol Reviews* , 2009 ,33:258-278.

Stress response of *Synechocystis sll0862* mutant to heat shock and oxidative stress

Xiaolin Zeng¹, Panpan Wen², Gu Chen^{2*}

¹School of Bioscience & Bioengineering, South China University of Technology, Guangzhou 510006, China

²College of Light Industry and Food Sciences, South China University of Technology, Guangzhou 510640 China

Abstract: [Objective] To explore whether the S2P homolog, *sll0862* in cyanobacterium *Synechocystis* sp. PCC 6803 is involved in stress response. [Methods] We compared the growth curve of *sll0862* mutant and the wild type under high temperature or oxidative stress. We detected chlorophyll fluorescence under heat shock or oxidative stress by water-PAM (pulse amplitude modulated fluorometry). [Results] Under normal condition of autotrophic growth, the growth curve of *sll0862* mutant was similar with that of the wild type. However, after heat treatment at 48°C for 30 minutes, the survival rate of *sll0862* mutant was lower than that of the wild type. *The sll0862 mutant hardly survived when incubated in 1 mmol/L H₂O₂, whereas the wild type is not affected. Meanwhile, different chlorophyll fluorescence under stress between the wild type and the mutant was observed using water-PAM.* [Conclusion] These results indicate that the S2P homology *sll0862* plays an important role in response to heat shock and oxidative stress in cyanobacterium *Synechocystis* sp. PCC 6803, which provides foundation for further research of the *sll0862* function and mechanism.

Keywords: *Synechocystis* sp. PCC 6803, *sll0862*, oxidative stress, heat shock

(本文责编: 张晓丽)

Supported by National Natural Science Foundation of China (30800609) and by the Fundamental Research Funds for the Central Universities (SCUT 2009ZM0006)

* Corresponding author. Fax: +86-20-87113849; E-mail: chengu@scut.edu.cn

Received: 6 January 2012/Revised: 26 February 2012

《微生物学报》投稿方式

2012年3月修订

从2006年起,本刊采用“稿件远程处理系统”,全面实行网上投稿、网上审稿、网上查询等方式进行工作。欢迎广大作者通过登陆本刊网站进行投稿和查询。

- (1) 远程投稿:请先登陆本刊网站 <http://journals.im.ac.cn/actamicrocn>, 点击“作者投稿”。如果您是第一次通过“远程”给本刊投稿,请先进行“注册”,注册成功后再进行投稿。如果曾在本刊网站投过稿,则可直接投稿。如果忘了用户名和密码,请联系本刊编辑部找回登录口令。
- (2) 收稿回执:编辑部看到远程投稿后,当日或者次日给作者发“收稿回执”,通知作者投稿成功。
- (3) 编辑部内审:编辑看到远程投稿后,还要对稿件进行内审。内审会有2个结果,直退或受理,请接到“受理通知”的作者再补交其它材料(纸样介绍信和稿件、受理费)。
- (4) 介绍信:为了保护知识产权,请作者提供“研究内容所属单位”出具的介绍信(请到本刊网页的“下载专区”中下载“介绍信”模板),要求责任作者(即通信作者)亲笔签名,并盖有公章。
- (5) 受理费:150元(2011年3月由原来的100元调为150元)。