

微生物学报 *Acta Microbiologica Sinica*
50(12):1575-1582; 4 December 2010
ISSN 0001-6209; CN 11-1995/Q
<http://journals.im.ac.cn/actamicrocn>

转录因子 SoxR 的结构、调控机制及生理功能

邓名荣, 朱红惠, 郭俊*

(广东省微生物研究所, 广东省菌种保藏与应用重点实验室, 广东省微生物应用新技术公共实验室, 广州 510070)

摘要: 转录因子 SoxR 是典型的汞抗性操纵子调节因子家族的成员, 广泛存在于变形菌门、放线菌门、酸杆菌门等微生物类群中。SoxR 感受胞内氧化还原电势, 通过铁硫簇失去一个电子, 而激活目标基因的表达。SoxR 在大肠杆菌中能应答过氧化物, 负责抗氧化胁迫的全局性调控; 在铜绿假单胞菌中受群体感应终端信号分子绿脓菌素的激活, 参与群体对环境变化的协同应答过程。本文综述了 SoxR 的结构、作用机制和生理功能。近年来关于 SoxR 的研究虽然已取得许多令人瞩目的成果, 但 SoxR 激活的分子机制仍有待确立和验证, 同时也亟待在更多微生物类群中开展相关研究。对这些问题的深入研究, 不仅可以更全面地认识 SoxR, 而且可以对微生物体的整个代谢调控网络有更加深入地了解, 并有可能获得里程碑式的重大发现。

关键词: 转录因子 SoxR; 结构; 调控机制; 生理功能

中图分类号: Q933 **文献标识码:** A **文章编号:** 0001-6209 (2010) 12-1575-08

微生物能够根据环境的变化调节自身的生长状态, 这种对环境的适应性有赖于体内复杂的代谢调控网络。转录因子是微生物代谢调控网络发挥功能的重要执行者, 不同的转录因子能够应答不同的环境因子。1989 年 Walkup 和 Kogoma^[1] 利用甲基紫精 (methyl viologen)、白花丹醌 (plumbagin) 等氧化还原循环剂 (redox cycling agent) 诱导大肠杆菌 (*Escherichia coli*), 发现细胞产生了多达 80 种蛋白, 其中包括了 *oxyR* 调节子 (受 H_2O_2 的特异激活) 的全部蛋白, Greenberg 和 Dimple^[2] 也报道了类似结果, 这说明大肠杆菌还存在其它调控基因参与了抗氧化胁迫 (oxidative stress)。1990 年即定位和克隆了这一调控基因^[3-4], 由于其负责对过氧化物的应答 (Superoxide Response), 因此命名为 *soxR*。

SoxR 在大肠杆菌中负责抗氧化胁迫的全局性调控^[5], 在鼠伤寒沙门氏菌 (*Salmonella*

typhimurium)^[6]、根癌土壤杆菌 (*Agrobacterium tumefaciens*)^[7]、创伤弧菌 (*Vibrio vulnificus*)^[8] 中都参与了抗氧化胁迫的调控。然而这是否是 SoxR 唯一的生理功能? 研究发现 SoxR 被诱导激活后, 能提高细胞对抗生素的普遍抗性^[9-10], 而铜绿假单胞 (*Pseudomonas aeruginosa*) *soxR* 突变株对甲基紫精等的耐受能力并未下降^[11], *soxRS* 调控模式也只在肠细菌中发现^[11-13]。这提示 SoxR 在同一微生物中可能具有多种生理功能, 并且在不同微生物中的功能和作用机制也具有多样性。对 *soxR* 基因的系统进化分析发现, 进化树形成了多个分支, 而来自肠细菌的 *soxR* 单独构成一个分支^[12], 进一步提示, 非肠细菌 SoxR 的生理功能与肠细菌的存在差异。本文主要围绕 SoxR 的结构、作用机制、生理功能等方面展开综述, 以期引起国内同行对 SoxR 的关注, 在更多微生物类群 (如放线菌) 开展研究, 共同探讨 SoxR

基金项目: 科技部国际合作计划专项 (2008DFA31560); 中国科学院知识创新工程重要方向项目 (KSCX2-YW-G-075-11); 广东省科学院科技创新引导项目 (cx200702); 广东省科学院青年基金项目 (qunj20092); 广州市科技计划基础研究项目 (2008J1-C091)

* 通信作者。Tel / Fax: +86-20-87682700; E-mail: guojun@gzb.ac.cn

作者简介: 邓名荣 (1979-), 男, 江西安义人, 助理研究员, 主要从事微生物资源、放线菌次级代谢产物及其调控。E-mail: dengmingrong@tom.com

收稿日期: 2010-05-17; **修回日期:** 2010-06-17

在微生物体中多样化的生理功能。

1 SoxR 的结构

大肠杆菌 SoxR 是一个约 17 kDa 的转录因子, 氨基端含有螺旋-转角-螺旋 (helix-turn-helix, HTH) DNA 结合域 (DNA binding domain), 中部是一个较长的卷曲螺旋二聚化区 (coiled-coil dimerization region), 羧基端为感应域 (sensory domain) (图 1-A), 是典型的汞抗性操纵子调节因子 (MerR) 家族的成员^[14-15]。

DNA 结合域是一个带翼的 HTH (winged-HTH), 包括 $\alpha 1$ - $\alpha 2$ - $\beta 1$ - $\beta 2$ - $\alpha 3$ - $\alpha 4$ (1 - 80 氨基酸残基), $\alpha 1$ 、 $\alpha 2$ 螺旋的轴线几乎垂直, 构成 HTH 的核心, 插入 B-DNA 双螺旋结构的大沟中, $\beta 1$ 、 $\beta 2$ 及其连接序列构成第一翼 W1, $\alpha 3$ 、 $\alpha 4$ 及其连接序列构成第二翼 W2 (图 1-A、B)^[16]。虽然 SoxR 能识别特异的启动子序列, 但晶体学分析结果表明, 其与 DNA 的结合力量主要来自于氨基酸残基上的氨基与 DNA 上的磷酸基团所形成的氢键和分子间的范

德华力。SoxR 的活性形式是二聚体, 两个亚基的二聚螺旋 $\alpha 5$ (81 - 118 氨基酸残基) 形成反向平行的卷曲螺旋, 对二聚体构成稳定作用, 同时使两个亚基的 DNA 结合域 $\alpha 2$ 螺旋可以插入到相邻的 DNA 双螺旋大沟中 (图 1-B)^[16], 这对其调节启动子构象的变化十分重要。感应域, 即铁硫簇结合域 (Fe-S cluster-binding domain) (119 - 154 氨基酸残基), 存在模体序列 "CX₂CXCX₅C", 4 个半胱氨酸可以共价链接一个 [2Fe-2S] 簇^[5]。由 4 个半胱氨酸容纳一个 [2Fe-2S] 簇构成的氧化还原感应器使 SoxR 在 MerR 家族中非常独特。SoxR 与其它含 [2Fe-2S] 簇的蛋白也存在显著不同, 这突出体现在铁硫簇的不对称环境。铁硫簇下部的硫原子 (S1) 与 Gly-123 的氨基形成氢键, 并与 Cys-124、Leu-125 的氨基, Cys-119 的氧原子, Cys-119、Cys-122 的 α 碳原子存在范德华力作用; 而上部的硫原子 (S2) 仅与 Asp-129 的氧原子, Cys-130 和 Pro-131 的羰基碳原子形成范德华接触 (图 1-C)^[16]。这使得铁硫簇的平面与 4 个半胱氨酸残基上硫原子构成的平面并不相互垂直,

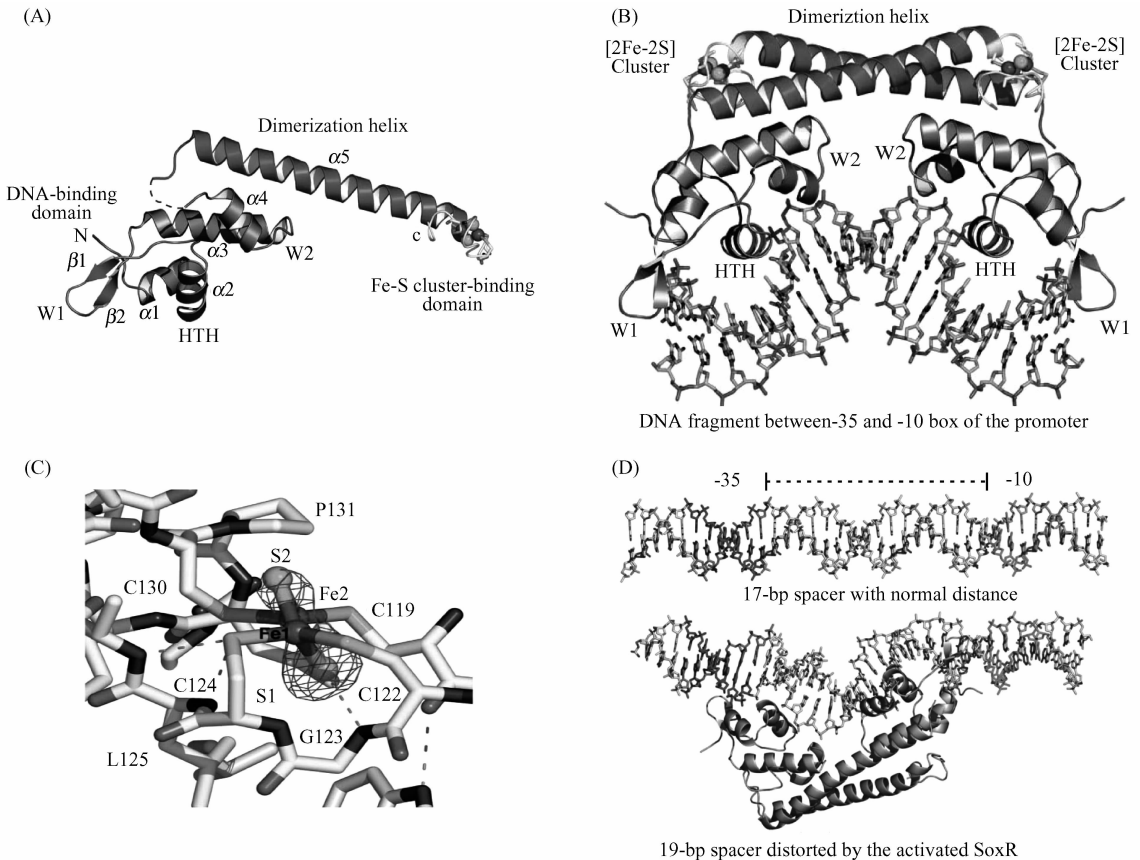


图 1 转录因子 SoxR 及其与启动子区结合的分子结构^[16]

Fig. 1 Structures of the transcription factor SoxR and the SoxR-DNA complex. (A) Ribbon representation of the SoxR monomer; (B) Stereoview of the overall structure of the SoxR-DNA complex. (C) Stereoview of the [2Fe-2S] cluster asymmetric environment in stick representation. (D) Structure of the distorted 19-bp spacer by the activated SoxR dimer.

而是存在大约 20° 的弯曲, S2 和两个铁原子也就完全暴露在溶剂中。这种暴露可能使得 SoxR 与各种氧化还原剂之间能进行快速的电子传递。

2 SoxR 的调控机制

2.1 SoxR 的激活及其感应的信号分子

SoxR 在脱去 [2Fe-2S] 簇后仍保持对其识别序列的高度亲和力, 但并不能激活目标基因^[17]。[2Fe-2S] 簇作为 SoxR 的感应器是其发挥活性必不可少的部分, 通过 [2Fe-2S] 簇一个电子的得失 ([2Fe-2S]⁺ - [2Fe-2S]²⁺) 而使 SoxR 处于失活或激活状态^[17]。SoxR 识别并结合启动子 -35 和 -10 元件之间具有回文或假回文的特征序列, -35 和 -10 元件之间距离为 19 bp, 比 σ^{70} -RNA 聚合酶识别的最优距离长 2 bp^[18]。超长的距离使得两个元件并没有完全处于 DNA 双螺旋结构的同一侧, 在通常情况下, Sigma 因子 σ^{70} 并不能有效启动 RNA 聚合酶对该启动子的转录。当 SoxR 处于激活态时, 二聚体的 SoxR 构象发生变化, 每个 SoxR 单体都通过其与 DNA 的结合位点同向拉动 DNA, DNA 便以两个结合位点的中间为轴点向 SoxR 结合侧内折弯曲, 从而使得 -35 和 -10 元件的空间距离缩短了 1-2 bp, 此时 σ^{70} -RNA 聚合酶从 SoxR 结合的对侧启动转录 (图 1-D)^[16, 18]。

在正常生理条件下, 细胞内的 SoxR 处于还原、失活状态, 只有信号分子存在时, SoxR 的铁硫簇失去一个电子才转变为激活态。SoxR 氧化还原电势约为 -290 mV, SoxR 被认为是通过 NADPH 依赖的酶促反应而处于还原、失活的状态^[19-20] (NADPH/NADP⁺ 氧化还原电势约为 -340 mV)。然而 SoxR 如此低的氧化还原电势, 胞内的许多氧化剂如谷胱甘肽等理论上都可以使其氧化, SoxR 如何保持还原、失活的初始状态? 这一问题困扰研究者多年, 2008 年 Gorodetsky 等研究发现^[21], SoxR 与 DNA 结合后, 其氧化还原电势由原来的 -290 mV 提高到 +200 mV, 氧化还原电势的提高可能是蛋白与 DNA 之间氢键作用的结果。在该电势下, 胞内的氧化剂就不能将其氧化, 从而维持其还原状态。

在大肠杆菌中, 起初人们认为甲基紫精等在胞内产生的 O₂⁻ 是 SoxR 直接感应的信号分子, 通过直接氧化铁硫簇而激活 SoxR^[1-2]。然而研究发现, 在厌氧条件下甲基紫精仍可激活 SoxR, 诱导上调 *sodA* (受 SoxR 调控, 可降低胞内 O₂⁻ 浓度) 的表达^[22]; 在好氧条件下, 过量表达 *sodA*, 细胞却对甲基紫精更

为敏感, 也不能阻止甲基紫精诱导上调葡萄糖-6-磷酸脱氢酶 (Glucose-6-phosphate dehydrogenase, G-6-PD, 受 SoxR 调控, 催化 6-磷酸葡萄糖形成 6-磷酸葡萄糖酸- δ -内酯, 同时生成 NADPH, 为细胞提供还原力)^[23], 这些结果表明 O₂⁻ 并不是 SoxR 直接感应的信号分子, SoxR 似乎是应答 NADPH/NADP⁺ 比值降低或由此所导致的某个后果。还有研究发现, NO 也能上调 SoxR 的目标基因的表达^[24-25], NO 能够取代铁硫簇中的硫原子直接亚硝酰化铁原子, 从而激活 SoxR^[26], 因此 NO 可以视为 SoxR 的一个信号分子。在铜绿假单胞中, 甲基紫精可以激活 SoxR, 而内源的绿脓菌素 (pyocyanin, PYO) 也能够激活 SoxR, 并且在严格厌氧条件下仍具有同样的效率, 表明该激活并不依赖于活性氧的产生^[27]。但 SoxR 是对绿脓菌素的直接应答, 还是对绿脓菌素引起的 NADPH/NADP⁺ 比值变化的应答, 仍不清楚。

最新的研究报道^[28], DNA 损伤也可以激活 SoxR, 鸟嘌呤自由基是其感应的信号分子。DNA 上的鸟嘌呤易受自由基攻击而失去一个电子, 形成鸟嘌呤自由基, 并最终不可逆地生成 8-羟基脱氧鸟嘌呤, 造成 DNA 损伤。鸟嘌呤自由基是基因组氧化胁迫的一个早期信号。SoxR 能提供电子修复鸟嘌呤自由基, 阻止鸟嘌呤损伤, 而使自身激活。SoxR 将电子传递给鸟嘌呤自由基并不需要二者的直接接触, 在 SoxR 结合框上游 80 bp (约 270 Å) 处的鸟嘌呤自由基仍可激活 SoxR, 这种远距离的激活是通过 DNA 介导的电荷传输 (DNA-mediated charge transport) 来实现的。基于这一发现, 他们提出一个新的激活机制: 在氧化胁迫发生时, 胞内活性氧或其它自由基直接或间接促进了 DNA 损伤反应的发生, DNA 双链上形成的电子空洞能在低氧化电势的鸟嘌呤位点之间迁移并迅速达到平衡, SoxR 将一个电子通过 DNA 分子导线传递给最近的鸟嘌呤自由基, 激活自身, 从而启动一系列防御基因的表达。但这一机制是否具有普遍性, 仍有待更多实验的验证。

2.2 SoxR 的调控模式

到目前为止发现, SoxR 对基因的调控存在两种类型, 一种是间接调控, 与另一个调控基因 *soxS* 组成 *soxRS* 调节子^[14-15], 存在于大肠杆菌和鼠伤寒沙门氏菌等肠细菌中; 另一种是直接调控, 直接激活目标基因, 目前研究过的铜绿假单胞^[11]、恶臭假单胞菌 (*P. putida*)^[13]、根瘤土壤杆菌^[7]、创伤弧菌^[8] 等均属于该类型。

soxS 编码一个阿拉伯糖操纵子 AraC 家族的转

录调控因子,在肠细菌中 SoxR 特异地激活 *soxS* 的表达,SoxR 再进一步激活下游一系列参与抗氧化胁迫基因的表达,构成 *soxRS* 调节子^[14-15]。*soxR* 与 *soxS* 头对头邻接排列,在大肠杆菌中两者间隔85 bp 非编码序列,SoxR 识别并结合在 *soxS* 基因启动子 -35 与 -10 元件之间,这一结合位点又恰好是 *soxR* 自身启动子的 -10 元件的下游序列,结合后会阻止 *soxR* 的转录。因此,在大肠杆菌中 SoxR 对自身基因的转录是负调控的(图 1)^[29]。

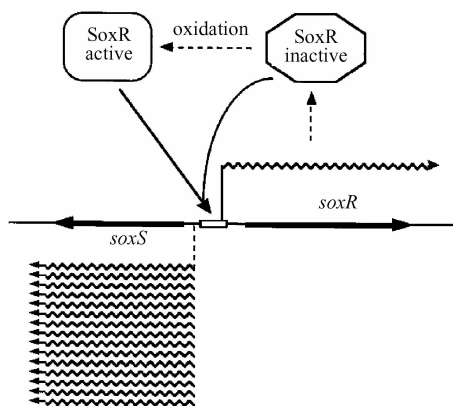


图 2 大肠杆菌中 SoxR 的调控模型^[29]

Fig. 2 A model for SoxR-mediated activation and repression from a single site in *Escherichia coli*.

最初人们认为 *soxRS* 调节子是 SoxR 的普遍调控模式,然而在铜绿假单胞菌中并没有发现 *soxS* 同源基因的存在,与 *soxR* 头对头邻接排列的是一个可能的单加氧酶基因(但也受 SoxR 的调控)^[11, 30]。在恶臭假单胞菌(*P. putida*)^[13]、根癌土壤杆菌^[7]、创伤弧菌^[8]等菌中,也未发现 *soxS* 同源基因的存在,SoxR 直接调控结构基因的表达。在根癌土壤杆菌中,SoxR 对自身基因也存在自我调节,处于激活态时上调自身的表达,与大肠杆菌 SoxR 对自身的负调控刚好相反^[7]。这似乎与其调控模式相适应:大肠杆菌 SoxR 仅需对 *soxS* 单个基因进行调控,无需大量 SoxR 的存在;而根癌土壤杆菌 SoxR 直接对多个目标基因同时进行调控,需要更多的 SoxR 蛋白质分子。值得注意的是,最近国内郭书巧^[31]分离到一株高抗百草枯(即甲基紫精)的硝化还原假单胞菌(*P. nitroreducens*),该菌同时存在 *soxR*、*soxS*,不仅两基因相对位置与大肠杆菌的相同,而且 *soxS* 与大肠杆菌的同源率更达 100%,这意味着刚形成的“*soxRS* 调节子仅存在于肠细菌”的观点要被打破。

3 SoxR 的生理功能

3.1 抗氧化胁迫

抗氧化胁迫是 SoxR 的被最早发现的生理功能,

大肠杆菌^[1-2]、鼠伤寒沙门氏菌^[6]、根癌土壤杆菌^[7]、创伤弧菌^[8]等微生物的 *soxR* 突变株对氧化胁迫的耐受能力均显著降低。在大肠杆菌中, *soxRS* 调节子至少包括 *sodA* (锰超氧化物歧化酶), *zuf* (G-6-PD), *fldA* *fldB* (两种黄素氧还蛋白), *fpr* (NADPH-铁氧还蛋白还原酶), *fur* (参与铁代谢的一个调节因子), *nfo* (核酸内切酶 IV), *acrAB* (外排泵), *micF* (不翻译的小 RNA)等^[5]。抗氧化胁迫需要这些基因的共同作用,包括清除氧化剂(*sodA*)、DNA 修复(*nfo*)、氧化态金属辅基的重新还原(*fldA* *fldB* *fpr*)、补充 NADPH(*zuf*)、降低细胞的通透性(*micF*)、外排有毒物质(*acrAB*)等。

3.2 抗生素抗性

很早就发现甲基紫精诱导后的大肠杆菌,对许多抗生素的抗性表现出一定程度的增强^[3, 14]。这种抗性的普遍增强,被认为与 SoxR 激活 *micF* 的转录有关。*micF* 是反义 RNA,与孔蛋白基因 *ompF* 同源性极高,与 *ompF* 的 mRNA 发生转录后基因沉默,而使孔蛋白 OmpF 合成减少,细胞通透性降低^[10]。在鼠伤寒沙门氏菌中, *soxRS* 组成型表达的突变株对喹啉酮(quinolones)类抗生素的抗性也显著提高^[9],具体机制尚不明确。

3.3 致病性

虽然甲基紫精能够诱导激活恶臭假单胞和铜绿假单胞的 SoxR,但二者的 *soxR* 突变株对甲基紫精的耐受能力均没有显著下降^[11, 13],提示 *soxR* 在假单胞菌抗氧化胁迫中至少不是一个关键的调控基因。然而铜绿假单胞 *soxR* 突变株在小鼠烧伤感染模型(burned wound mouse model)中表现出宿主系统感染延迟,在体外对小鼠活化巨噬细胞的杀伤作用也更为敏感,提示 SoxR 在烧伤感染中具有重要的作用^[32]。在小鼠肺内感染模型(mouse pulmonary infection model)中,接种与铜绿假单胞野生株致死剂量相同的 *soxR* 突变株,并没有引起任何小鼠的死亡^[11],进一步说明 SoxR 在铜绿假单胞致病过程中起着重要作用。这种作用可能是通过影响铜绿假单胞群体感应信号传递来实现的。

3.4 群体感应

铜绿假单胞是一个条件致病菌,能产生大量的胞外毒力因子,如鼠李糖脂(rhamnolipids)、外毒素、凝集素以及多种蛋白酶等,这些毒力因子受群体感应(quorum sensing, QS)系统的调控^[33]。到目前为止,发现铜绿假单胞菌中存在 4 套完整的群体感应系统,即 *las* 系统^[34]、*rhl* 系统^[35]、PQS 系统^[36]和

PYO 系统^[27], 感应的信号分子分别是 3-氧-月桂酰高丝氨酸内酯 (3-oxo-dodecanoyl-homoserine lactone, 3O-C₁₂-HSL)、丁酰高丝氨酸内酯 (butanoyl homoserine lactone, C₄-HSL)、2-庚基-3-羟基-4-喹啉

酮 (2-heptyl-3-hydroxyl-4-quinolone, PQS) 和绿脓菌素。这 4 种 QS 系统间具有层级和时序性关系, 依次出现在指数生长的早、中、晚期以及静止阶段早期 (图 3)^[27]。

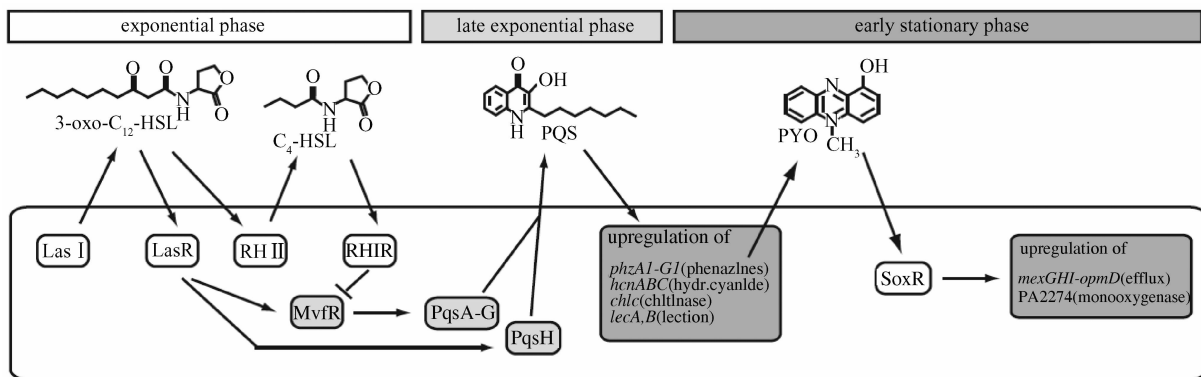


图 3 铜绿假单胞菌群体感应系统模型^[27]

Fig. 3 Model of the QS network in *Pseudomonas aeruginosa*.

转录组分析发现,铜绿假单胞 SoxR 仅调节 3 个转录单元共 6 个基因的表达^[11], 其中 PA2274 与 *soxR* 头对头邻接, 编码一个可能的单加氧酶; PA3718 编码具有 11 个跨膜片段的内膜蛋白, 可能是一个 MSF (Multiple Facilitator Superfamily) 外排泵; PA4205 ~ PA4208 组成 *mexGHI-opmD* 操纵子共转录, 编码 RND (Resistance-Nodulation-cell Division) 多药外排泵。MexGHI-OpmD 是新近发现的一个多药外排泵^[37], *mexGHI-opmD* 相关突变株对抗生素的抗性并未减弱, 但受群体感应调控的许多毒力因子, 如弹性蛋白酶 (elastase)、鼠李糖脂、绿脓菌素、荧光嗜铁素 (pyoverdine) 等的产量均显著降低^[37], 细胞群集运动 (swarming motility) 大幅减弱, QS 信号分子合成也受阻或产量降低^[38], 提示该外排泵在抗生素外排中并不承担主要作用, 而是参与了群体感应。绿脓菌素作为铜绿假单胞菌 QS 终端信号分子, 能影响 41 个基因的表达, 受 SoxR 调控的 6 个基因均能被 PYO 上调。研究表明, 内源的 PYO 能够激活 SoxR, PYO 上调 *mexGHI-opmD* 的表达是通过 SoxR 介导的^[27], 这就证实 SoxR 作为一个调控因子直接参与了群体感应 (图 3)。

3.5 其它生理功能

生物信息学分析结果表明^[12], *soxR* 基因广泛存在于超过 65 个属的微生物基因组中多种微生物中, 分布在变形菌门 (α 、 β 、 δ 、 γ 纲), 放线菌门, 酸杆菌门等类群, 提示 SoxR 是可能承担着普遍而重要的功能。在非肠细菌微生物中, SoxR 调控的目标基因大致可以分为 5 类: 转运蛋白、氧化酶、脱氢酶、乙酰基

或甲基转移酶以及 L-PSP 型核糖核酸内切酶。值得注意的是, 在放线菌这类此前没有研究过的类群中, SoxR 目标基因的编码产物主要是上述的前三类蛋白, 而这些蛋白在小分子的生物合成、修饰和转运中发挥重要作用, 提示 SoxR 在放线菌中可能与次级代谢产物存在密切关系。

天蓝色链霉菌 (*Streptomyces coelicolor*) A3 (2) 野生株的 SoxR 目标基因的表达水平要比不产放线菌红素 (actinorhodin) 和十一烷基灵菌红素 (undecylprodigiosin) 的突变株的提高了 250 - 6000 倍^[12], 提示 SoxR 能够应答这些抗生素。粤蓝链霉菌 (*S. vietnamensis*) 是我们近年报道的链霉菌新种^[39], 能够产生榴菌素 (granaticin) (结果未发表), 对其生物合成基因簇的克隆测序发现, *gra-orf20* 编码一个 SoxR 蛋白, 同时, 簇内存在 2 个可能的 SoxR 结合框, 分别位于 *gra-orf15* 和 *gra-orf19* 的启动子区 (结果未发表)。 *gra-orf15* 编码膜转运蛋白, 可能负责榴菌素的转运和自身抗性的建立; *gra-orf19* 功能未知, 但与 *gra-orf20* 共转录, 功能上可能与 *gra-orf20* 紧密相关。到目前为止, 所有已知的 *soxR* 均位于基因组独立的座位上, 而在粤蓝链霉菌中, *soxR* 却意外地位于次级代谢产物生物合成基因簇内, 作为榴菌素的生物合成基因之一。那么 *gra-orf20* 的编码产物 SoxR 蛋白在榴菌素生物合成中究竟起何作用? 除榴菌素生物合成以外, 是否还参与了将信号向下游传导的过程? 对该 SoxR 开展研究, 不仅可能进一步深化我们对转录因子 SoxR 生理功能本身的认识, 而且也可能为探讨榴菌素等次级代谢产物

在产生菌中所起的真实作用提供线索。目前我们已构建相关突变株,相关分析正在进行中。

4 展望

早期有关大肠杆菌 SoxR 参与抗氧化胁迫及其调控机制的研究形成了人们对 SoxR 经典的认识^[5],近年来在 SoxR 的晶体结构^[16]、激活的分子机制^[21, 28]、调控模型^[11, 13]、多样化的生理功能^[12, 27]等方面取得的成果,不仅使人们对 SoxR 本身有了更深入的了解,而且通过对 SoxR 的信号分子的研究,甚至颠覆了一些传统的观念。生物毒素绿脓菌素通常被认为是铜绿假单胞菌用于对付其它生物体的化学武器,然而研究发现绿脓菌素是 SoxR 的内源信号分子,并由此确定了绿脓菌素是铜绿假单胞菌群体感应的终端信号分子^[27]。该研究不仅发现了铜绿假单胞菌的第 4 套 QS 系统,更大的意义在于它动摇了我们赋予“次级代谢产物”的传统含义。微生物产生的包括抗生素在内的“次级代谢产物”,可能并不像通常认为的那样是废物或化学武器,而是产生菌用于协调自身菌群生长的一种信号分子。然而,这一观点虽已在铜绿假单胞中得到证实^[12, 27],但仍有待于来自更多微生物类群的实验证据的支持,特别是来自次级代谢产物丰富的微生物类群的证据。

有关 SoxR 的研究虽然已取得许多令人瞩目的成果,但我们认为至少仍有以下两个方面的问题有待解决:(1) SoxR 激活的分子机制的验证。一方面,鸟嘌呤自由基修复介导的激活机制是基于对大肠杆菌 SoxR 体外的研究结果^[28]而提出的,然而 DNA 是否能够作为分子导线仍存在争议^[40],因此,这一激活机制仍需大量的体内、体外实验数据的支持;另一方面,发现能够激活 SoxR 的小分子日益增多,如绿脓菌素^[27]、放线菌红素^[12]等,这些小分子是否都是 SoxR 直接的信号分子?它们是否都是通过鸟嘌呤自由基修复介导激活 SoxR? 这些问题都有待于进一步研究。(2) 亟待让更多微生物类群中开展相关研究。到目前为止,仅有 7 个物种的 SoxR 被研究报道,其中深入研究的仅有大肠杆菌和铜绿假单胞,不同类群的 SoxR 可能承担着不同的生理功能,对更多微生物类群开展相关研究,能够导致新的发现,并有助于解决上述的第一个问题。相信,随着今后对这两方面问题的深入研究,我们不仅可以更加全面地认识 SoxR,而且可以对微生物体整个代谢调控网络有更加深入地了解,并有可能获得里程碑式的重大发现。

参考文献

- [1] Walkup LK, Kogoma T. *Escherichia coli* proteins inducible by oxidative stress mediated by the superoxide radical. *Journal of Bacteriology*, 1989, 171:1476-1484.
- [2] Greenberg JT, Demple B. A global response induced in *Escherichia coli* by redox-cycling agents overlaps with that induced by peroxide stress. *Journal of Bacteriology*, 1989, 171:3933-3939.
- [3] Greenberg JT, Monach P, Chou JH, Josephy PD, Demple B. Positive control of a global antioxidant defense regulon activated by superoxide-generating agents in *Escherichia coli*. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 1990, 87(16):6181-6185.
- [4] Tsaneva IR, Weiss B. *soxR*, a locus governing a superoxide response regulon in *Escherichia coli* K-12. *Journal of Bacteriology*, 1990, 172(8):4197-4205.
- [5] Pomposiello PJ, Demple B. Redox-operated genetic switches: the SoxR and OxyR transcription factors. *Trends in Biotechnology*, 2001, 19(3):109-114.
- [6] Fang F, Vazquez-Torres A, Xu Y. The transcriptional regulator SoxS is required for resistance of *Salmonella typhimurium* to paraquat but not for virulence in mice. *Infection and Immunity*, 1997, 65(12):5371-5375.
- [7] Eiamphungporn W, Charoenlap N, Vattanaviboon P, Mongkolsuk S. *Agrobacterium tumefaciens soxR* is involved in superoxide stress protection and also directly regulates superoxide-inducible expression of itself and a target gene. *Journal of Bacteriology*, 2006, 188(24):8669-8673.
- [8] Kim JS, Sung MH, Kho DH, Lee JK. Induction of manganese-containing superoxide dismutase is required for acid tolerance in *Vibrio vulnificus*. *Journal of Bacteriology*, 2005, 187(17):5984-5995.
- [9] Koutsolioutsou A, Martins EA, White DG, Levy SB, Demple B. A *soxRS*-constitutive mutation contributing to antibiotic resistance in a clinical isolate of *Salmonella enterica* (serovar Typhimurium). *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 2001, 45(1):38-43.
- [10] Chou JH, Greenberg JT, Demple B. Posttranscriptional repression of *Escherichia coli* OmpF protein in response to redox stress - positive control of the micf antisense RNA by the *soxRS* locus. *Journal of Bacteriology*, 1993, 175(4):1026-1031.
- [11] Palma M, Zurita J, Ferreras JA, Worgall S, Larone DH, Shi L, Campagne F, Quadri LEN. *Pseudomonas aeruginosa SoxR* does not conform to the archetypal paradigm for SoxR-dependent regulation of the bacterial oxidative stress adaptive response. *Infection and Immunity*, 2005, 73(5):2958-2966.

- [12] Dietrich LEP, Teal TK, Price-Whelan A, Newman DK. Redox-active antibiotics control gene expression and community behavior in divergent bacteria. *Science*, 2008, 321(5893):1203-1206.
- [13] Park W, Pena-Llopis S, Lee Y, Demple B. Regulation of superoxide stress in *Pseudomonas putida* KT2440 is different from the SoxR paradigm in *Escherichia coli*. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 2006, 341(1):51-56.
- [14] Amabilecuevas CF, Demple B. Molecular characterization of the *soxRS* genes of *Escherichia coli* - two genes control a superoxide stress regulon. *Nucleic Acids Research*, 1991, 19(16):4479-4484.
- [15] Wu J, Weiss B. Two divergently transcribed genes, *soxR* and *soxS*, control a superoxide response regulon of *Escherichia coli*. *Journal of Bacteriology*, 1991, 173(9):2864-2871.
- [16] Watanabe S, Kita A, Kobayashi K, Miki K. Crystal structure of the [2Fe-2S] oxidative-stress sensor SoxR bound to DNA. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2008, 105(11):4121-4126.
- [17] Hidalgo E, Demple B. An iron-sulfur center essential for transcriptional activation by the redox-sensing SoxR protein. *Embo Journal*, 1994, 13(1):138-146.
- [18] Hidalgo E, Demple B. Spacing of promoter elements regulates the basal expression of the *soxS* gene and converts SoxR from a transcriptional activator into a repressor. *Embo Journal*, 1997, 16(5):1056-1065.
- [19] Liochev SI, Fridovich I. Fumarase-C, the stable Fumarase of *Escherichia coli*, is controlled by the *soxRS* regulon. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 1992, 89(13):5892-5896.
- [20] Ding HG, Hidalgo E, Demple B. The redox state of the [2Fe-2S] clusters in SoxR protein regulates its activity as a transcription factor. *Journal of Biological Chemistry*, 1996, 271(52):33173-33175.
- [21] Gorodetsky AA, Dietrich LEP, Lee PE, Demple B, Newman DK, Barton JK. DNA binding shifts the redox potential of the transcription factor SoxR. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2008, 105(10):3684-3689.
- [22] Tardat B, Touati D. Two global regulators repress the anaerobic expression of Mnsod in *Escherichia coli* - Fur (ferric uptake regulation) and Arc (aerobic respiration control). *Molecular Microbiology*, 1991, 5(2):455-465.
- [23] Liochev SI, Fridovich I. Effects of overproduction of superoxide dismutases in *Escherichia coli* on inhibition of growth and on induction of glucose-6-phosphate-dehydrogenase by paraquat. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 1992, 294(1):138-143.
- [24] Nunoshiba T, Derojaswalker T, Wishnok JS, Tannenbaum SR, Demple B. Activation by nitric-oxide of an oxidative-stress response that defends *Escherichia coli* against activated macrophages. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 1993, 90(21):9993-9997.
- [25] Nunoshiba T, Derojaswalker T, Tannenbaum SR, Demple B. Roles of nitric-oxide in inducible resistance of *Escherichia coli* to activated murine macrophages. *Infection and Immunity*, 1995, 63(3):794-798.
- [26] Ding HG, Demple B. Direct nitric oxide signal transduction via nitrosylation of iron-sulfur centers in the SoxR transcription activator. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2000, 97(10):5146-5150.
- [27] Dietrich LEP, Price-Whelan A, Petersen A, Whiteley M, Newman DK. The phenazine pyocyanin is a terminal signalling factor in the quorum sensing network of *Pseudomonas aeruginosa*. *Molecular Microbiology*, 2006, 61(5):1308-1321.
- [28] Lee PE, Demple B, Barton JK. DNA-mediated redox signaling for transcriptional activation of SoxR. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2009, 106(32):13164-13168.
- [29] Hidalgo E, Leautaud V, Demple B. The redox-regulated SoxR protein acts from a single DNA site as a repressor and an allosteric activator. *Embo Journal*, 1998, 17(9):2629-2636.
- [30] Kobayashi K, Tagawa S. Activation of SoxR-dependent transcription in *Pseudomonas aeruginosa*. *Journal of Biochemistry*, 2004, 136(5):607-615.
- [31] 郭书巧, 徐鹏, 张保龙, 倪万潮. 硝化还原假单胞菌 SPQ03 PnSoxRS 调控子的克隆和功能初步分析. *江苏农业学报 (Jiangsu Journal of Agricultural Sciences)*, 2009, 25(3):524-528
- [32] Ha UW, Jin SG. Expression of the *soxR* gene of *Pseudomonas aeruginosa* is inducible during infection of burn wounds in mice and is required to cause efficient bacteremia. *Infection and Immunity*, 1999, 67(10):5324-5331.
- [33] Smith RS, Iglewski BH. *P. aeruginosa* quorum-sensing systems and virulence. *Current Opinion in Microbiology*, 2003, 6(1):56-60.

- [34] Passador L, Cook J, Gambello M, Rust L, Iglewski B. Expression of *Pseudomonas aeruginosa* virulence genes requires cell-to-cell communication. *Science*, 1993, 260 (5111):1127-1130.
- [35] Pearson JP, Passador L, Iglewski BH, Greenberg EP. A second N-acylhomoserine lactone signal produced by *Pseudomonas aeruginosa*. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 1995, 92(5):1490-1494.
- [36] Pesci EC, Milbank JBJ, Pearson JP, McKnight S, Kende AS, Greenberg EP, Iglewski BH. Quinolone signaling in the cell-to-cell communication system of *Pseudomonas aeruginosa*. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 1999, 96(20):11229-11234.
- [37] Aendekerk S, Ghysels B, Cornelis P, Baysse C. Characterization of a new efflux pump, MexGHI-OpmD, from *Pseudomonas aeruginosa* that confers resistance to vanadium. *Microbiology*, 2002, 148(8):2371-2381.
- [38] Aendekerk S, Diggle SP, Song Z, Hoiby N, Cornelis P, Williams P, Camara M. The MexGHI-OpmD multidrug efflux pump controls growth, antibiotic susceptibility and virulence in *Pseudomonas aeruginosa* via 4-quinolone-dependent cell-to-cell communication. *Microbiology*, 2005, 151(4):1113-1125.
- [39] Zhu HH, Guo J, Yao Q, Yang SZ, Deng MR, Phuong LTB, Hanh VT, Ryan MJ. *Streptomyces vietnamensis* sp. nov., a streptomycete with violet blue diffusible pigment isolated from soil in Vietnam. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 2007, 57(8):1770-1774.
- [40] Taniguchi M, Kawai T. DNA electronics. *Physica E: Low-Dimensional Systems and Nanostructures*, 2006, 33(1):1-12.

Structure, mechanism and roles of the transcription factor SoxR in bacteria—A review

Mingrong Deng, Honghui Zhu, Jun Guo*

(Guangdong Provincial Key Laboratory of Microbial Culture Collection and Application, Guangdong Open Laboratory of Applied Microbiology, Guangdong Institute of Microbiology, Guangzhou 510070, China)

Abstract: The transcription factor SoxR is a typical member of the family of mercury resistance operon regulator (MerR), extensively distributed across several bacterial phyla, such as Proteobacteria, Actinobacteria and Acidobacteria. SoxR, which is initially regarded as a cellular redox sensor, is activated by reversible one-electron oxidation of the [2Fe-2S] cluster and then enhances the expression of its target genes. SoxR responds to the oxidative stress mediated by superoxides in *Escherichia coli* in a global manner, whereas it coordinates the bacterial community growth adapted to the environment in *Pseudomonas aeruginosa* by sensing pyocyanin, which is a terminal signaling factor in the quorum sensing network. In this review, we focused on the structure, mechanism and roles of the transcription factor SoxR. Although compelling achievements have been made in recent years, some aspects still remain to be unraveled. A widely accepted mechanism of activation of SoxR has not yet been established or validated. And there is much and urgent call for intensive studies from more taxonomic groups rather than *E. coli* and *P. aeruginosa*. With more and more work done on these aspects, one can not only understand SoxR more comprehensively, but also gain deeper insights into the bacterial complex regulation networks, and even achieve milestones in this field.

Keywords: transcription factor SoxR; molecular structure; regulation mechanism; physiological role

(本文责编:王晋芳)

Supported by the International Science and Technology Cooperation Programs of China (2008DFA31560), by the Chinese Academy of Sciences for Key Topics in Innovation Engineering (KSCX2-YW-G-075-11), by the Science and Technology Innovation Programs of Guangdong Academy of Sciences (cx200702), by the Foundation for Young Scientists of Guangdong Academy of Sciences (qjj20092) and by the Guangzhou Municipal Programs for Science and Technology Development (2008J1-C091)

* Corresponding author. Tel / Fax: +86-20-87682700; E-mail: guojun@gzb.ac.cn

Received: 17 May 2010/Revised: 17 June 2010