

微生物学报 *Acta Microbiologica Sinica*  
54 (4) :367 - 375; 4 April 2014  
ISSN 0001 - 6209; CN 11 - 1995/Q  
<http://journals.im.ac.cn/actamicrocn>  
doi: 10.13343/j.cnki.wsxb.2014.04.002

## 沙门菌对酸压力的应答及其与毒力的关系

任洁<sup>1</sup>, 赵明文<sup>1</sup>, 姚玉峰<sup>2\*</sup>

<sup>1</sup>南京农业大学生命科学院, 江苏 南京 210095

<sup>2</sup>上海交通大学医学院基础医学院病原生物学教研室, 上海 200025

**摘要:**沙门菌 (*Salmonella* spp.) 作为肠道细菌, 必须克服胃中酸性环境, 才能进一步入侵宿主肠道上皮细胞。已有的研究表明, 沙门菌通过进化出多种应答机制, 增强自身在酸性环境下的生存。本文回顾了沙门菌的耐酸特性, 阐述了抵御酸压力时的几种应答机理, 包括胞内 pH 的维持、调控酸激蛋白的时序表达以及细胞膜特性的改变。这些研究对人类了解和控制沙门菌的感染具有重要的指导意义。

**关键词:**沙门菌, 氨基酸脱羧系统, 酸激蛋白

**中图分类号:** Q935      **文献标识码:** A      **文章编号:** 0001-6209 (2014) 04-0367-09

酸作为一种常见、重要的环境因素被沙门菌感知。长期地研究证实, 沙门菌的耐酸机制十分复杂, 受到其生长时期 (对数期和平台期)、温度、环境酸化形式 (无机酸或有机酸) 以及氨基酸 (如精氨酸, 赖氨酸) 等因素的影响<sup>[1-4]</sup>。

沙门菌作为嗜中性细菌, 进化出多种耐酸和抗酸机制, 利于在致死酸环境 (pH 2.5 - 3.0) 中存活。已知的机制包括酸耐受应答 (Acid tolerance response, ATR)、抗酸系统 (Acid resistance, AR) 以及细胞膜成分的改变等。不同系统发挥主导作用与否, 往往取决于多种因素的联合作用。

抵抗酸损伤对于依靠食物传播的病原菌是非常重要的, 因为在它们进入和定植于小肠和结肠之前必须经过胃酸这一强酸环境。酸性环境也经常存在于各种食品中, 包括果汁以及作为食品防腐剂的醋酸、柠檬酸、丙酸等有机酸<sup>[5]</sup>。因此, 沙门菌进化出

感知、应答以及适应酸性环境的机制是必需的。

对沙门菌抗酸机制研究最多的是 ATR。ATR 是指经过弱酸的适应, 细菌在随后的致死酸性条件下存活能力增强的现象。因而, 经过 ATR 的沙门菌能够更好地抵御胃酸, 增加入侵力以及毒力, 导致人或其他宿主感染伤寒的几率升高<sup>[6]</sup>。作为另一种机制, AR 又可以使沙门菌在不经过弱酸的适应, 通过利用氨基酸转运泵将胞内 H<sup>+</sup> 泵出胞外, 从而维持胞内 pH 相对稳定。这两个主要的抵抗酸压力系统共同作用, 为沙门菌入侵并在宿主体内繁殖奠定了基础。因此, 沙门菌的这些抵抗酸环境的机制与其毒力有着千丝万缕的联系。

### 1 pH 自我平衡系统

在外界 pH 变化的情况下, 革兰阴性细菌可以

基金项目: 国家自然科学基金 (31270173); 国家“973 项目”——国家重点基础研究发展计划 (2009CB522605)

\* 通信作者。Tel/Fax: +86-21-64671226; E-mail: yfyao@sjtu.edu.cn

作者简介: 任洁 (1989 - ) 女, 江苏南京人, 硕士研究生, 研究方向为沙门氏菌耐酸机制。E-mail: sshaobo2008@126.com

收稿日期: 2013-07-16; 修回日期: 2013-10-13

通过质子泵将  $H^+$  泵出胞外以利于生存。在很长的一段时间里,研究者普遍认为 AR 机制仅存在于大肠埃希菌和志贺氏菌中,而沙门菌是缺少的。因为将沙门菌直接置于 pH 2.5 的环境中,沙门菌无法存活<sup>[7]</sup>。直到 De Jonge 等<sup>[8]</sup>发现沙门菌可以在 pH 2.5 的基本培养基中长时间存活,才使人们意识到沙门菌也存在 AR 机制。目前,已报道的沙门菌 AR 机制主要涉及两种氨基酸脱羧系统,即赖氨酸脱羧系统和精氨酸脱羧系统,这些系统只在酸诱导时发

挥作用,而在中性 pH 下的功能还未被了解<sup>[9]</sup>。

### 1.1 赖氨酸脱羧系统

赖氨酸脱羧系统由 3 个成分组成: *cadBA* 操纵子的转录调控子 CadC, 赖氨酸脱羧酶 CadA 以及赖氨酸-尸胺逆向转运子 CadB。在酸诱导下,脱羧酶 CadA 催化胞内的赖氨酸形成尸胺 (cadaverine), 消耗一个质子, 随后由逆向转运子 CadB 将尸胺泵出胞外, 并伴随将赖氨酸泵入胞内 (图 1)。

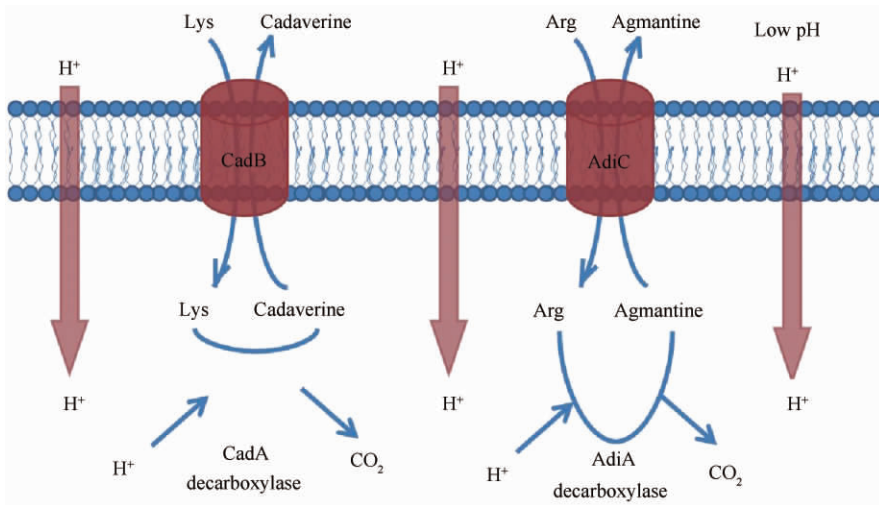


图 1. 沙门菌赖氨酸和精氨酸脱羧系统

Figure 1. Lysine and arginine decarboxylase systems of *Salmonella*.

通过与其它氨基酸脱羧酶比较发现, CadA 不仅能够促进沙门菌在 pH 2.3 环境中存活, 还有利于沙门菌在 pH 4.5 环境中生长<sup>[9]</sup>。作为操纵子的 CadC 定位在膜上, 通常处于无活性状态, 当外界 pH 降低且存在赖氨酸时, 其周质域被蛋白酶水解形成有活性的 CadC, 有活性的 CadC 的 N 端可以和 DNA 结合, 作为转录调控子激活 *cadBA* 操纵子的转录<sup>[10]</sup>。已经通过转座子突变库筛到了一个 CadC 的正调控子 STM4538, 作为磷酸转移酶系统 (phosphotransferase system, PTS) 中的一种通透酶, 它的突变会导致 CadC 蛋白水解发生异常, 无法激活下游基因的转录。进一步的研究证实, 仅低 pH 信号参与 CadC 蛋白水解, 而赖氨酸信号不影响这一过程<sup>[10]</sup>。由此可见, 对于激活 CadC, STM4538 发挥必须而非充分作用<sup>[11]</sup>。

运用蛋白质组学技术已鉴定出 8 种可能的被 CadC 诱导的蛋白和 15 种可能的被 CadC 抑制的蛋白, 其中被诱导的蛋白包括孔蛋白 OmpC 和 OmpF,

被抑制的蛋白涉及糖酵解、能量产生以及压力耐受<sup>[12]</sup>。值得一提的是, 沙门菌的 CadC 与双组份调节系统 OmpR-EnvZ 是相关的, CadC 可以负调控 *ompR* 转录。这表明 CadC 不仅对处于致死酸性条件下细菌的生存是必要的, 而且可能是一个全局性调控子参与酸压力下 OmpR 调控系统<sup>[12]</sup>。

### 1.2 精氨酸脱羧系统

沙门菌中还存在另一套抗酸系统, 即精氨酸脱羧系统。与赖氨酸脱羧系统类似, 精氨酸脱羧系统也是由 3 部分组成的, 即一个转录激活子 AdiY, 一个精氨酸脱羧酶 AdiA, 以及精氨酸-胍基丁胺 (Agmatine) 逆向转运子 AdiC。AdiA 将精氨酸催化成胍基丁胺, 消耗一个质子, 由 AdiC 反向转运胍基丁胺和精氨酸 (图 1, 原创)。

AdiY 是一个 XylS/AraC 样的转录调控因子, 作为 *adi* 基因簇的一部分, 正调控 *adiA*、*adiC*。虽然, 在大肠埃希菌中其它 XylS/AraC 样的转录调控因子如 EnvY 和 AppY 也可以行使此功能<sup>[13]</sup>, 但是在沙

门菌中 *AdiY* 对 *adiA*、*adiC* 的调控是特异的<sup>[3]</sup>。

长期以来,人们认为氧含量会影响上述反应,只有在厌氧条件下才会出现精氨酸依赖的抗酸表型<sup>[3]</sup>。但之后 Alvarez-Ordóñez 证明,在有氧条件下酸诱导的精氨酸脱羧系统也具有活性<sup>[1]</sup>。当培养基中添加精氨酸时,处于平台期的沙门菌可以在 pH 2.2 的基本培养基中生存<sup>[3]</sup>,而 *adiA*、*adiC* 和 *adiY* 突变株却无法存活。更重要的是,如果同时诱导 *adiC* 和 *adiA*,可以弥补 *rpoS*、*phoPQ* 和 *fur* 突变株在 pH 3.0 条件下的存活缺陷<sup>[14]</sup>。可见,精氨酸脱羧系统在沙门菌抵御强酸时确实发挥着重要作用。

## 2 酸激蛋白 (ASPs) 的调控

已知的两个 pH 依赖的 ATR,即对数期 ATR 以

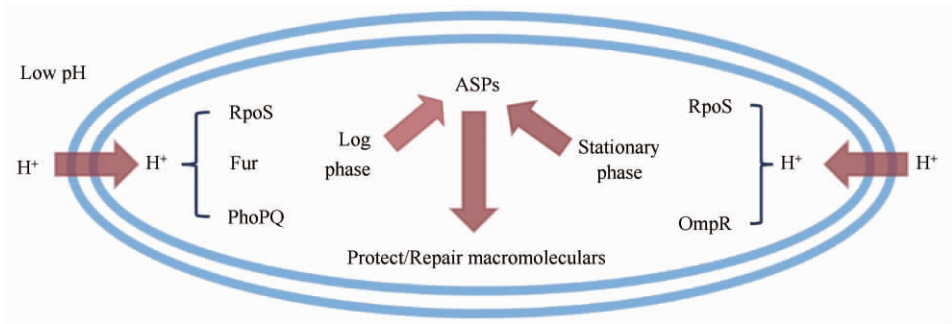


图 2. 沙门菌酸激蛋白合成的调控途径

Figure 2. Regulation of acid shock proteins synthesis in *Salmonella*.

### 2.1 RpoS

沙门菌中存在多种 RNA 聚合酶  $\sigma$  因子,其中  $\sigma^S$  即 RpoS 在回应酸等逆境方面发挥作用<sup>[15]</sup>。RpoS 自身就是一种 ASP<sup>[16]</sup>,在沙门菌的不同生长时期,其应答酸性环境的调控途径是不同的。在对数期,经过酸诱导的 *rpoS* 控制着至少 10 种 ASPs 的生成<sup>[17]</sup>;然而在平台期,不论有无酸信号 *rpoS* 都可正常表达<sup>[2]</sup>,参与平台期的 ATR。

通常,不同生长时期的沙门菌胞内 RpoS 浓度是不同的,对数期低,平台期高。这是因为对数期的 RpoS 降解十分迅速,由蛋白酶 ClpXP 和分子伴侣 MviA 发挥降解功能。但是,如果受到酸信号刺激,这一降解过程会减慢,使胞内 RpoS 浓度增加发挥抗酸作用<sup>[18]</sup>。另一方面,在短链脂肪酸的酸激下,*rpoS* 转录本的翻译水平会上调 10 - 15 倍, DrgA 蛋白参与这一过程<sup>[19]</sup>。由此可见,酸刺激可以通过影

及平台期 ATR。该过程中诱导合成了许多酸激蛋白 (Acid shock proteins, ASPs),从而保护和修复在酸压力下损伤的大分子。同时,作为平台期的菌还具有 pH 不依赖的普通压力应答能力,也可以帮助减小酸对细胞的损伤<sup>[2]</sup>。到目前为止,被鉴定出的 ASPs 涉及细胞调控、分子伴侣、能量代谢、转录、翻译、菌毛合成、细胞外膜的调控以及毒力等<sup>[2]</sup>。可见,在酸刺激下细菌做出全身性反应来保护自己,通过调整各级代谢来回应压力。目前鉴定出来与酸压力相关的调控蛋白,它们处于调控网络较上游的位置,控制着相应一群 ASPs 的合成。其中较清楚的调控包括 RpoS、金属调控子 Fur、双组份信号传导系统 PhoP/Q 以及 OmpR 应答调控子 (图 2),它们分别在沙门菌不同生长时期应答酸信号。

响蛋白质的稳定性以及翻译效率两条途径协同作用,增加对数期胞内 RpoS 浓度。

RpoS 可以直接调控沙门菌毒力岛 1 (*Salmonella* pathogenicity island 1, SPI-1) 上毒力基因的表达<sup>[20]</sup>,因而与感染密切相关。同时,沙门菌在宿主淋巴器官如肝、脾中存活也是必不可少的<sup>[21]</sup>。通过比较有毒株 UK1、SL1344、14028s 和无毒株 LT2,发现有毒株耐酸能力明显强于无毒株,这是因为 LT2 的 *rpoS* 发生了突变<sup>[16]</sup>。酸刺激诱导了 RpoS 增多,RpoS 的存在增加了菌的毒力,可见耐酸与毒力确实密不可分。

随着研究的不断深入,RpoS 依赖的 ASPs 不断被鉴定出来,包括未知功能的 YciE、YajQ、OsmY 和已知功能的 YdC I、SodC II 等多种蛋白<sup>[22]</sup>。其中,YdC I 是保守的 DNA 结合蛋白,在沙门菌感染宿主时很重要,*ydC I* 缺失株对多粘菌素 B、阳离子抗菌

肽等更敏感<sup>[23]</sup>。SodC II, 编码超氧化物歧化酶, 可以保护沙门菌免受宿主超氧化物依赖的防御系统的损伤, 对毒力很重要<sup>[24]</sup>。由此表明, RpoS 作为上游的调控因子, 通过调控各种代谢途径增强沙门菌毒力, 最终达到入侵并在宿主中繁殖的目的。接下来, 鉴定出更多被 RpoS 调控的 ASPs 是未来研究的一项重点, 为更深层次地了解沙门菌耐酸及毒力机制奠定基础。

## 2.2 Fur 蛋白

铁离子摄取调节蛋白 (Ferric uptake regulator, Fur) 与细菌的铁代谢密切相关, 当胞内出现过量的  $Fe^{2+}$  时, 这个 17 kDa 的蛋白就会抑制铁吸收相关基因的表达。同时, Fur 还参与沙门菌对数期 ATR, 通过调控多种 ASPs 的合成, 有效地防止有机酸对细菌的损伤。然而, 在对抗无机酸方面 Fur 的作用很小, 并且该调控途径是不依赖  $Fe^{2+}$  的。因为 Fur 蛋白通过两个不同的结构域来分别感应  $Fe^{2+}$  和  $H^+$  水平<sup>[25]</sup>。处于对数期的 *fur* 突变株在 pH 5.8 环境不会出现 ATR, 并且比野生株对 pH 3.3 更敏感, 这是因为一些 ATR 基因在 *fur* 缺失株中无法被诱导<sup>[26]</sup>。随着基因芯片等高通量技术的完善, 许多经过酸刺激表达上调的 Fur 调控子被鉴定出来, 包括 *gluP*、*ruwC*、*fliP* 以及 *amiE* 等<sup>[27-28]</sup>。虽然 Fur 不是沙门菌唯一的抗酸因子, 但它的存在确实帮助了菌适应酸环境。

Fur 与毒力是相关的, *fur* 突变导致沙门菌毒力下降<sup>[29]</sup>。由 SPI-4 编码的三型分泌系统 (Type three secretion system, T3SS) 是沙门菌入侵宿主肠上皮所必须的。其中 *hilD* 是 SPI-4 一系列基因表达的上游调控基因, 当 Fur 处于与金属离子结合的状态时, 可以结合到 *hilD* 启动子上, 促进 *hilD* 转录<sup>[30]</sup>, 增强下游毒力基因的表达。*HilA* 作为沙门菌 SPI-4 的激活子, 可以直接调控 T3SS 效应物的生成, Fur 通过抑制 *hilA* 的抑制子 H-NS, 间接促进 *hilA* 表达<sup>[31]</sup>。可见, Fur 对 SPI-4 的调控是很关键的。

## 2.3 PhoP/PhoQ 双组分调节系统

PhoP/PhoQ 是一个与沙门菌多种代谢都相关的双组分调节系统, 调控沙门菌大约 3% 基因的表达<sup>[32]</sup>。该双组分系统主要应答胞外  $Mg^{2+}$  信号。作为 ASP 的膜蛋白 PhoQ, 当感应到环境中低浓度  $Mg^{2+}$ , 就会促进应答调控子 PhoP 磷酸化, 磷酸化的 PhoP 激活下游基因转录。在这一过程中, PhoQ 组

氨酸磷酸转移酶结构域起到了特异性识别并结合 PhoP 的作用<sup>[33]</sup>。PhoP 作为转录激活子, 可以特异性识别并结合到其下游基因启动子的 *phoP box* 序列上<sup>[34]</sup>。然而, 随着研究的不断深入, 研究者发现不是 PhoP 调控的所有启动子都具有典型的 *phoP box* 序列<sup>[35]</sup>。

在对数期, 酸刺激也可以激活 PhoP/Q 双组分调节系统, 表达一些抵抗酸损伤的蛋白<sup>[36]</sup>。研究表明, pH 5.5 的培养环境可以直接激活 PhoQ<sup>[37]</sup>; 酸化含有沙门菌的液泡可以诱导 PhoP 表达<sup>[38]</sup>; 被沙门菌感染的酸化细胞中 PhoP/Q 活性增加<sup>[39]</sup>; 基因组转录分析得到, 大肠埃希菌中 PhoP 激活的很多基因都参与抗酸过程。这些研究结果都说明, 无机酸确实可以激活 PhoP, 通过对数期 ATR 抵御酸损伤。长期以来, 人们认为 PhoP 对无机酸没有感应, 但近期的研究发现长链不饱和脂肪酸 (long-chain polyunsaturated fatty acid, LCUFA) 可以抑制 PhoQ 自身磷酸化, 导致 PhoP/Q 活性下调 (Viarengo, 2013 #894)。由此可见, 当感应不同类型的酸, PhoP/Q 会产生不同的应答机理, 以适应不同环境。

一直以来, 沙门菌 PhoP/Q 双组分调节系统都是研究者极其关注的毒力相关蛋白。PhoP 可以直接激活毒力岛 2 (*Salmonella* pathogenicity island 2, SPI-2) 中 *sseL* 转录而不依赖 SsrB 的调控<sup>[40]</sup>, 也能够直接结合到 *ssrB* 启动子上调控一连串毒力基因的表达<sup>[41]</sup>。*phoP* 和 *phoQ* 的敲除导致毒力下降并且对抗菌肽、过氧化氢等更敏感。在动物模型中, 通过腹腔注射, 相比于野生株 *phoP* 突变株半致死剂量 (half lethal dose,  $LD_{50}$ ) 明显上升, 这可能是因为 PhoP/Q 调控了沙门菌入侵上皮细胞并在吞噬细胞中存活的能力。之后的实验更进一步证实 PhoP/Q 是沙门菌在巨噬细胞内存活和复制必须的<sup>[42-44]</sup>。同时, 通过对感染动物植物的其它病原菌如志贺氏菌、鼠疫菌、发光杆菌、欧文氏菌等研究表明, PhoP 对菌毒力的调控具有物种广泛性。有报道显示 *phoP* 突变株具有成为活疫苗的潜能<sup>[29]</sup>。全基因组转录分析, 处于被感染细胞中的沙门菌感知细胞酸化的信号, 通过激活 PhoP/Q 系统能够有效防止沙门菌在细胞中过度增殖<sup>[39]</sup>, 这一结果为证明沙门菌应答酸信号与毒力有密切关系提供了强有力的证据。

## 2.4 OmpR 蛋白

对于 OmpR/EnvZ 双组分系统研究最多的是它

对胞外渗透压的应答。EnvZ 是结合在膜上的感应蛋白, OmpR 是胞内的应答调控子。当感应到环境渗透压变化后, 位于 EnvZ 第 243 位的组氨酸自身磷酸化, 然后将磷酸基团传递给 OmpR 第 55 位的天冬氨酸, 磷酸化的 OmpR 作为转录因子结合到目标基因启动子上, 促进相关基因转录<sup>[45]</sup>。

*ompR* 突变会影响沙门菌平台期 ATR, 而对数期 ATR 不受影响<sup>[46-47]</sup>。通常, 磷酸化的 OmpR 在其第二个启动子 (Promoter 2, P2) 处进行自调控, 增加胞内 OmpR, 这一转录过程可以被 H-NS 抑制<sup>[46]</sup>。然而, 酸刺激减弱了 H-NS 结合到 P2 的能力, 利于磷酸化的 OmpR 结合到 P2, 促进了 *ompR* 转录, 并且此过程中磷酸化供体是乙酰磷酸而非 EnvZ<sup>[47]</sup>。虽然已经通过染色体免疫沉淀以及转录组等技术分析得到了一些 OmpR 调控蛋白<sup>[48]</sup>, 但这些蛋白的功能以及是否参与 ATR 仍待我们进一步研究。

与毒力的相关性体现在, *ompR* 突变株不能在巨噬细胞内复制, OmpR 可以同时调控沙门菌 SPI-1 和 SPI-2 上基因的表达。OmpR 直接结合到 *ssrA* 启动子上, 激活 SPI-2 上毒力基因的转录, 促进沙门菌在胞内的存活<sup>[49]</sup>。OmpR 还可以通过 HilD 的介导促进 *hilA* 表达, 从而发挥调控 SPI-1 的功能<sup>[50]</sup>。

### 3 膜成分及膜流动性的修饰

细胞膜是病原菌在环境压力下的第一道防御屏障。细菌通过改变其膜成分来应答环境压力, 使膜流动性与其生命活动相协调。其中, 膜上的脂肪酸 (Fatty acids, FA) 在膜流动性上发挥着重要作用, 通过膜流动性变化以适应各种环境压力<sup>[51-52]</sup>。

将沙门菌暴露于酸性 pH 时, 膜中的不饱和脂肪酸与饱和脂肪酸的比值以及十八烯酸的浓度都会明显下降, 但是环状脂肪酸的含量却会由于十八烯酸甲酯相对浓度的增加而上升<sup>[51]</sup>。膜上脂肪酸成分的这一改变导致细胞膜流动性减弱, 而膜流动性的减弱又常被认为 would 提高细菌在压力条件下的存活能力。具体来说, 经过酸适应的沙门菌, 细胞膜中不饱和脂肪酸会转变为环丙烷脂肪酸 (Cyclopropane fatty acids, CFA)<sup>[53]</sup>, 在 *cfa* 缺失株中, 细胞对低 pH 敏感, 回补这个基因, 这种敏感性又会降低<sup>[54]</sup>。由此可见, 膜中 CFA 对沙门菌在致死酸环境下存活发挥重要作用。在平台期, 被诱导的 RpoS 通过促进

CFA 合成酶的生成, 调控十八烯酸甲酯浓度。同时, 处于对数期的细菌, 温和的酸性 pH 也会导致 CFA 增加, 这意味着 CFA 在 RpoS 依赖的对数期 ATR 中也发挥作用<sup>[54]</sup>。

虽然 CFA 对于膜的影响意义还未完全知晓, 但相关假说已经提出, 即膜脂肪酸中环状环丙烷的出现提高了膜的稳定性, 限制了酰基链整体的移动, 最终减弱了膜的流动性<sup>[55]</sup>。另一种观点认为, 对于一定程度的氧化, CFA 的化学性质没有不饱和脂肪酸活跃<sup>[53]</sup>, 这样 CFA 量的增加就可以有效减少细胞的氧化损伤, 帮助细菌度过致死酸环境。还有一些研究者则认为, 膜脂肪酸的环化可能是控制胞外环境中有害分子渗透进胞内的一条途径<sup>[56]</sup>。

### 4 交叉保护

在一种压力下可以产生抵抗其它压力的能力, 称为交叉保护。经过酸适应的细菌, 可以增强抵抗其它逆境的能力。例如, 经过有机酸的适应, 沙门菌在 HCl 中存活能力增强<sup>[57]</sup>; 暴露于醋酸沙门菌可以在一定程度上抵抗高渗透对其损伤<sup>[58]</sup>; 酸适应的沙门菌能够有效抵御低温<sup>[4]</sup>。反之, 经过其它压力的适应并不能明显增强菌的酸耐受, 这表明沙门菌将酸信号认为是一种常规的压力指示, 而将热、高盐 and H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 等压力信号认为是特异的。

利用交叉保护这一特性, 沙门菌在经过胃酸刺激后, 提高了对肠道内其它环境压力的抵抗力<sup>[59]</sup>。研究证实, 这是由于交叉保护增强了细菌细胞表面的疏水性, 诱导了特异性外膜蛋白, 促进了胞内 pH 相对稳定<sup>[59]</sup>。

研究不同压力之间的交叉保护, 一个主要的应用价值是食品保藏, 通过在食品中营造多重不利于细菌生存的逆境, 作为食品防腐剂投入市场。然而, 沙门菌经常会在遭遇防腐剂多重压力的同时感应有机酸, 这样一来可能会诱导交叉保护, 保护细胞免受其他防腐因子如高盐等损伤, 使防腐剂失效, 食物中毒等现象增加<sup>[58]</sup>。因此, 全面地了解沙门菌的耐酸机制对提高食品安全具有指导意义。

### 5 展望

沙门菌必须适应各种环境压力才能入侵并在宿

主体内存活。因此,它们进化出多种适应性便于回应各种压力信号。其中研究最多的是沙门菌在 ATR 中的应答,它可以帮助细菌度过极酸环境。在过去的二十多年里,研究者们潜心地研究沙门菌 ATR 的机制,已经发现影响 ATR 的多种因素以及不同的分子机理。然而,不同的研究小组采用不同的实验条件对 ATR 和 AR 进行定义,使大家全面清晰地理解细菌适应性应答变得更加困难。AR 和 ATR 形成重叠的调控网络是相当复杂的,但是对于这些机制的研究可以提供我们更多的信息去了解逆境环境下细菌的生理机能。细菌进化出的各种调控系统协调发挥功能,在逆境条件下完成成千上万个生理代谢,包括转录应答等,最终达到自身最大的存活。

由于细菌基因组尚有三分之一以上的基因功能未知,很可能还有其它一些基因参与了细菌对酸信号的应答。利用高通量 RNA 测序技术及蛋白质组学等研究技术,我们实验室鉴定并研究了一些新的酸应答和调控系统,它们参与沙门菌抵御酸环境,提高了沙门菌在宿主体内的生存能力(未发表的数据)。

沙门菌耐酸机制与其毒力有着千丝万缕的联系,目前国内外很多实验室已经鉴定出许多靶基因,这些基因可能作为新型的抗菌治疗靶点或者为发展减毒疫苗提供依据,例如 *Salmonella* Enteritidis 的 *phoP* 和 *fliC* 双敲株有可能作为禽类疫苗<sup>[60]</sup>;SPI-2 和 *fur* 双突变株可能作为减活疫苗被进一步开发<sup>[61]</sup>。由于现代技术的进步,相信在接下来的几十年里,人们将在沙门菌感染控制方面有更进一步的发现和突破。

## 参考文献

- [1] Alvarez-Ordóñez A, Fernández A, Bernardo A, López M. Arginine and lysine decarboxylases and the acid tolerance response of *Salmonella* Typhimurium. *International Journal of Food Microbiology*, 2010, 136 (3) : 278-282.
- [2] Audia JP, Webb CC, Foster JW. Breaking through the acid barrier: an orchestrated response to proton stress by enteric bacteria. *International Journal of Medical Microbiology*, 2001, 291 (2) : 97-106.
- [3] Kieboom J, Abee T. Arginine-dependent acid resistance in *Salmonella enterica* serovar Typhimurium. *Journal of Bacteriology*, 2006, 188 (15) : 5650-5653.
- [4] Xu H, Lee HY, Ahn J. Cross-protective effect of acid-adapted *Salmonella enterica* on resistance to lethal acid and cold stress conditions. *Letters in Applied Microbiology*, 2008, 47 (4) : 290-297.
- [5] Alvarez-Ordóñez A, Fernández A, Bernardo A, López M. Acid tolerance in *Salmonella* Typhimurium induced by culturing in the presence of organic acids at different growth temperatures. *Food Microbiology*, 2010, 27 (1) : 44-49.
- [6] Riesenber-Wilmes MR, Bearson B, Foster JW, Curtis R. Role of the acid tolerance response in virulence of *Salmonella* Typhimurium. *Infection and Immunity*, 1996, 64 (4) : 1085-1092.
- [7] Hyung Suk Bai SB, Dunbar S, Foster JW. The acid tolerance response of *Salmonella* Typhimurium provides protection against organic acids. *Microbiology*, 1996, 142 : 3195-3200.
- [8] de Jonge R, Ritmeester WS, van Leusden FM. Adaptive responses of *Salmonella enterica* serovar Typhimurium DT104 and other *S. Typhimurium* strains and *Escherichia coli* O157 to low pH environments. *Journal of Applied Microbiology*, 2003, 94 (4) : 625-632.
- [9] Viala JP, Meresse S, Pocachard B, Guilhon AA, Aussel L, Barras F. Sensing and adaptation to low pH mediated by inducible amino acid decarboxylases in *Salmonella*. *PLoS One*, 2011, 6 (7) : e22397.
- [10] Lee YH, Kim JH, Bang IS, Park YK. The membrane-bound transcriptional regulator CadC is activated by proteolytic cleavage in response to acid stress. *Journal of Bacteriology*, 2008, 190 (14) : 5120-5126.
- [11] Lee YH, Kim S, Kim JH, Bang IS, Lee IS, Bang SH, Park YK. A phosphotransferase system permease is a novel component of CadC signaling in *Salmonella enterica*. *FEMS Microbiology Letters*, 2013, 338 (1) : 54-61.
- [12] Lee YH, Kim BH, Kim JH, Yoon WS, Bang SH, Park YK. CadC has a global translational effect during acid adaptation in *Salmonella enterica* serovar Typhimurium. *Journal of Bacteriology*, 2007, 189 (6) : 2417-2425.
- [13] Stim-Herndon KP, Flores TM, Bennett GN. Molecular characterization of *adiY*, a regulatory gene which affects expression of the biodegradative acid-induced arginine decarboxylase gene (*adiA*) of *Escherichia coli*. *Microbiology*, 1996, 142 ( Pt 5) : 1311-1320.
- [14] Brennenman KE, Willingham C, Kong W, Curtiss R, Roland KL. Low-pH rescue of acid-sensitive *Salmonella enterica* serovar typhi strains by a rhamnose-regulated arginine decarboxylase system. *Journal of Bacteriology*,

- 2013, 195 (13) : 3062-3072.
- [15] Hengge-Aronis R. Signal transduction and regulatory mechanisms involved in control of the sigma (S) (RpoS) subunit of RNA polymerase. *Microbiology and Molecular Biology Reviews* 2002, 66 (3) : 373-395, table of contents.
- [16] Lee IS, Lin J, Hall HK, Bearson B, Foster JW. The stationary-phase sigma factor sigma S (RpoS) is required for a sustained acid tolerance response in virulent *Salmonella* Typhimurium. *Molecular Microbiology*, 1995, 17 (1) : 155-167.
- [17] Tu X, Latifi T, Bougdour A, Gottesman S, Groisman EA. The PhoP/PhoQ two-component system stabilizes the alternative sigma factor RpoS in *Salmonella enterica*. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2006, 103 (36) : 13503-13508.
- [18] Schweder T, Lee KH, Lomovskaya O, Matin A. Regulation of *Escherichia coli* starvation sigma factor (sigma s) by ClpXP protease. *Journal of Bacteriology*, 1996, 178 (2) : 470-476.
- [19] Webb C, Moreno M, Wilmes-Riesenberg M, Curtiss R, Foster JW. Effects of DksA and ClpP protease on sigma S production and virulence in *Salmonella* Typhimurium. *Molecular Microbiology*, 1999, 34 (1) : 112-123.
- [20] Knudsen GM, Olsen JE, Aabo S, Barrow P, Rychlik I, Thomsen LE. ClpP deletion causes attenuation of *Salmonella* Typhimurium virulence through mis-regulation of RpoS and indirect control of CsrA and the SPI genes. *Microbiology*, 2013, 159 (Pt 7) : 1497-1509.
- [21] Coynault C, Robbe-Saule V, Norel F. Virulence and vaccine potential of *Salmonella* typhimurium mutants deficient in the expression of the RpoS (sigma S) regulon. *Molecular Microbiology*, 1996, 22 (1) : 149-160.
- [22] Ibanez-Ruiz M, Robbe-Saule V, Hermant D, Labrude S, Norel F. Identification of RpoS (sigma (S))-regulated genes in *Salmonella enterica* serovar typhimurium. *Journal of Bacteriology*, 2000, 182 (20) : 5749-5756.
- [23] Jennings ME, Quick LN, Soni A, Davis RR, Crosby K, Ott CM, Nickerson CA, Wilson JW. Characterization of the *Salmonella enterica* serovar Typhimurium ydcI gene, which encodes a conserved DNA binding protein required for full acid stress resistance. *Journal of Bacteriology*, 2011, 193 (9) : 2208-2217.
- [24] Sly LM, Guiney DG, Reiner NE. *Salmonella enterica* serovar Typhimurium periplasmic superoxide dismutases SodCI and SodCII are required for protection against the phagocyte oxidative burst. *Infection and Immunity*, 2002, 70 (9) : 5312-5315.
- [25] Hall HK, Foster JW. The role of fur in the acid tolerance response of *Salmonella* typhimurium is physiologically and genetically separable from its role in iron acquisition. *Journal of Bacteriology*, 1996, 178 (19) : 5683-5691.
- [26] Foster JW. *Salmonella* acid shock proteins are required for the adaptive acid tolerance response. *Journal of Bacteriology*, 1991, 173 (21) : 6896-6902.
- [27] Gancz H, Censini S, Merrell DS. Iron and pH homeostasis intersect at the level of Fur regulation in the gastric pathogen *Helicobacter pylori*. *Infection and Immunity*, 2006, 74 (1) : 602-614.
- [28] Troxell B, Fink RC, Porwollik S, McClelland M, Hassan HM. The Fur regulon in anaerobically grown *Salmonella enterica* sv. Typhimurium: identification of new Fur targets. *BMC Microbiol*, 2011, 11 : 236.
- [29] Karasova D, Sebkova A, Vrbas V, Havlickova H, Sisak F, Rychlik I. Comparative analysis of *Salmonella enterica* serovar Enteritidis mutants with a vaccine potential. *Vaccine*, 2009, 27 (38) : 5265-5270.
- [30] Teixido L, Carrasco B, Alonso JC, Barbe J, Campoy S. Fur activates the expression of *Salmonella enterica* pathogenicity island 1 by directly interacting with the hilD operator in vivo and in vitro. *PLoS One*, 2011, 6 (5) : e19711.
- [31] Troxell B, Sikes ML, Fink RC, Vazquez-Torres A, Jones-Carson J, Hassan HM. Fur negatively regulates hns and is required for the expression of HilA and virulence in *Salmonella enterica* serovar Typhimurium. *Journal of Bacteriology*, 2011, 193 (2) : 497-505.
- [32] Charles RC, Harris JB, Chase MR, Lebrun LM, Sheikh A, LaRocque RC, Logvinenko T, Rollins SM, Tarique A, Hohmann EL, Rosenberg I, Krastins B, Sarracino DA, Qadri F, Calderwood SB, Ryan ET. Comparative proteomic analysis of the PhoP regulon in *Salmonella enterica* serovar Typhi versus Typhimurium. *PLoS One*, 2009, 4 (9) : e6994.
- [33] Castelli ME, Cauherff A, Amongero M, Soncini FC, Vescovi EG. The H box-harboring domain is key to the function of the *Salmonella enterica* PhoQ Mg<sup>2+</sup>-sensor in the recognition of its partner PhoP. *Journal of Biological Chemistry*, 2003, 278 (26) : 23579-23585.
- [34] Kato A, Tanabe H, Utsumi R. Molecular characterization of the PhoP-PhoQ two-component system in *Escherichia*



- coli K-12: identification of extracellular Mg<sup>2+</sup> + -responsive promoters. *Journal of Bacteriology*, 1999, 181 (17) : 5516-5520.
- [35] Minagawa S, Ogasawara H, Kato A, Yamamoto K, Eguchi Y, Oshima T, Mori H, Ishihama A, Utsumi R. Identification and molecular characterization of the Mg<sup>2+</sup> + stimulon of *Escherichia coli*. *Journal of Bacteriology*, 2003, 185 (13) : 3696-3702.
- [36] Bearson BL, Wilson L, Foster JW. A low pH-inducible, PhoPQ-dependent acid tolerance response protects *Salmonella typhimurium* against inorganic acid stress. *Journal of Bacteriology*, 1998, 180 (9) : 2409-2417.
- [37] Prost LR, Daley ME, Le Sage V, Bader MW, Le Moual H, Klevit RE, Miller SI. Activation of the bacterial sensor kinase PhoQ by acidic pH. *Molecular Cell*, 2007, 26 (2) : 165-174.
- [38] Martin-Orozco N, Touret N, Zaharik ML, Park E, Kopelman R, Miller S, Finlay BB, Gros P, Grinstein S. Visualization of vacuolar acidification-induced transcription of genes of pathogens inside macrophages. *Molecular Biology of the Cell*, 2006, 17 (1) : 498-510.
- [39] Nunez-Hernandez C, Tierrez A, Ortega AD, Pucciarelli MG, Godoy M, Eisman B, Casadesus J, Garcia-del Portillo F. Genome expression analysis of nonproliferating intracellular *Salmonella enterica* serovar Typhimurium unravels an acid pH-dependent PhoP-PhoQ response essential for dormancy. *Infection and Immunity*, 2013, 81 (1) : 154-165.
- [40] Gal-Mor O, Elhadad D, Deng W, Rahav G, Finlay BB. The *Salmonella enterica* PhoP directly activates the horizontally acquired SPI-2 gene *sseL* and is functionally different from a *S. bongori* ortholog. *PLoS One*, 2011, 6 (5) : e20024.
- [41] Bijlsma JJ, Groisman EA. The PhoP/PhoQ system controls the intramacrophage type three secretion system of *Salmonella enterica*. *Molecular Microbiology*, 2005, 57 (1) : 85-96.
- [42] Cordero-Alba M, Bernal-Bayard J, Ramos-Morales F. SrfJ, a *Salmonella* type III secretion system effector regulated by PhoP, RcsB and IolR. *Journal of Bacteriology*, 2012, 194 (16) : 4226-4236.
- [43] Ellermeier JR, Slauch JM. Adaptation to the host environment: regulation of the SPII type III secretion system in *Salmonella enterica* serovar Typhimurium. *Current Opinion in Microbiology*, 2007, 10 (1) : 24-29.
- [44] Thompson JA, Liu M, Helaine S, Holden DW. Contribution of the PhoP/Q regulon to survival and replication of *Salmonella enterica* serovar Typhimurium in macrophages. *Microbiology*, 2011, 157 (Pt 7) : 2084-2093.
- [45] Forst SA, Roberts DL. Signal transduction by the EnvZ-OmpR phosphotransfer system in bacteria. *Research in Microbiology*, 1994, 145 (5-6) : 363-373.
- [46] Bang IS, Audia JP, Park YK, Foster JW. Autoinduction of the ompR response regulator by acid shock and control of the *Salmonella enterica* acid tolerance response. *Molecular Microbiology*, 2002, 44 (5) : 1235-1250.
- [47] Bang IS, Kim BH, Foster JW, Park YK. OmpR regulates the stationary-phase acid tolerance response of *Salmonella enterica* serovar typhimurium. *Journal of Bacteriology*, 2000, 182 (8) : 2245-2252.
- [48] Perkins TT, Davies MR, Klemm EJ, Rowley G, Wileman T, James K, Keane T, Maskell D, Hinton JC, Dougan G, Kingsley RA. ChIP-seq and transcriptome analysis of the OmpR regulon of *Salmonella enterica* serovars typhi and typhimurium reveals accessory genes implicated in host colonization. *Molecular Microbiology*, 2013, 87 (3) : 526-538.
- [49] Fass E, Groisman EA. Control of *Salmonella* pathogenicity island-2 gene expression. *Current Opinion in Microbiology*, 2009, 12 (2) : 199-204.
- [50] Ellermeier CD, Ellermeier JR, Slauch JM. HilD, HilC and RtsA constitute a feed forward loop that controls expression of the SPII type three secretion system regulator hilA in *Salmonella enterica* serovar typhimurium. *Molecular Microbiology*, 2005, 57 (3) : 691-705.
- [51] Alvarez-Ordóñez A, Fernandez A, Lopez M, Arenas R, Bernardo A. Modifications in membrane fatty acid composition of *Salmonella typhimurium* in response to growth conditions and their effect on heat resistance. *International Journal of Food Microbiology*, 2008, 123 (3) : 212-219.
- [52] Alvarez-Ordóñez A, Halisch J, Prieto M. Changes in fourier transform infrared spectra of *Salmonella enterica* serovars typhimurium and enteritidis after adaptation to stressful growth conditions. *International Journal of Food Microbiology*, 2010, 142 (1-2) : 97-105.
- [53] Grogan DW, Cronan JE, Jr. Cyclopropane ring formation in membrane lipids of bacteria. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 1997, 61 (4) : 429-441.
- [54] Kim BH, Kim S, Kim HG, Lee J, Lee IS, Park YK. The formation of cyclopropane fatty acids in *Salmonella*



enterica serovar Typhimurium. *Microbiology*, 2005, 151 (Pt 1): 209-218.

- [55] Erick J, Dufourc ICPS, Harold C, Jarrell. The role of cyclopropane moieties in the lipid properties of biological membranes deuterium NMR struct. *Biochemistry* 1984, 23: 2300-2309.
- [56] Chang YY, Cronan JE, Jr. Membrane cyclopropane fatty acid content is a major factor in acid resistance of *Escherichia coli*. *Molecular Microbiology*, 1999, 33 (2): 249-259.
- [57] Greenacre EJ, Brocklehurst TF, Waspe CR, Wilson DR, Wilson PD. *Salmonella enterica* serovar Typhimurium and *Listeria monocytogenes* acid tolerance response induced by organic acids at 20 degrees C: optimization and modeling. *Applied and Environmental Microbiology*, 2003, 69 (7): 3945-3951.
- [58] Greenacre EJ, Brocklehurst TF. The acetic acid tolerance response induces cross-protection to salt stress in *Salmonella typhimurium*. *International Journal of Food Microbiology*, 2006, 112 (1): 62-65.
- [59] Leyer GJ, Johnson EA. Acid adaptation induces cross-protection against environmental stresses in *Salmonella typhimurium*. *Applied and Environmental Microbiology*, 1993, 59 (6): 1842-1847.
- [60] Methner U, Barrow PA, Berndt A, Rychlik I. *Salmonella Enteritidis* with double deletion in *phoP*/*fliC*—a potential live *Salmonella* vaccine candidate with novel characteristics for use in chickens. *Vaccine*, 2011, 29 (17): 3248-3253.
- [61] Vishwakarma V, Pati NB, Chandel HS, Sahoo SS, Saha B, Suar M. Evaluation of *Salmonella enterica* serovar Typhimurium TTSS-2 deficient *fur* mutant as safe live-attenuated vaccine candidate for immunocompromised mice. *PLoS One*, 2012, 7 (12): e52043.

## Acid stress response of *Salmonella* and its relationship with virulence—A review

Jie Ren<sup>1</sup>, Mingwen Zhao<sup>1</sup>, Yufeng Yao<sup>2\*</sup>

<sup>1</sup>Nanjing Agricultural University School of Life Science, Nanjing 210095, Jiangsu Province, China

<sup>2</sup>Department of Medical Microbiology and Parasitology, Shanghai Jiao Tong University School of Medicine, Shanghai 200025, China

**Abstract:** As successful enteric bacteria, *Salmonella* spp. has to overcome the extreme acid condition in the stomach before invading into host intestinal epithelial cells. *Salmonella* spp. has evolved an adaptation to its replicative niche in the acidic environment. This review summarizes acid resistant characteristics of *Salmonella*, and introduces several mechanisms to acid resistance, including keeping internal pH homeostatic, synthesizing acid shock protein through several regulatory pathways and altering membrane character. The achievements will be significant for understanding and controlling *Salmonella* infections in the future.

**Keywords:** *Salmonella*, amino acid decarboxylation system, acid shock proteins

(本文责编:王晋芳)

Supported by the National Natural Science Foundation of China (31270173) and by the Key Project of China National Programs for Fundamental Research and Development (2009CB522605)

\* Corresponding author. Tel/Fax: +86-21-64671226; E-mail: yfyao@sjtu.edu.cn

Received: 16 July 2013/ Revised: 13 October 2013