



兼性厌氧细菌硫化氢的产生机理及其生理功能

吴根福, 高海春*

浙江大学生命科学学院, 浙江 杭州 310058

摘要: 硫化氢(H_2S)是继一氧化氮(NO)和一氧化碳(CO)后发现的第3种气态信号分子,但其细菌生理学研究才刚刚起步。本文根据作者对奥内达希瓦氏菌的研究,结合新近文献,就细菌的 H_2S 产生机理及其生理功能作了较为全面的阐述。细菌的 H_2S 产生途径主要有2条,一是通过降解半胱氨酸产生,二是通过厌氧呼吸产生。产生的 H_2S 除可为互生性微生物提供能源、供氢体和无机矿质营养外,还具有抑制竞争性微生物的生长,有效占领生态位的作用。 H_2S 在氧化应答中也起着重要的作用,一方面可抑制过氧化氢酶活性,增加过氧化氢对细菌的杀灭效果;另一方面可作为信号分子激活细菌的氧化应答,诱导拮抗系统的表达,保护细胞免受氧化损伤。这两种看似“矛盾”的作用与 H_2S 的处理时间有关:短时间处理以抑制为主,而延长处理时间则以保护为主。细菌 H_2S 产生机理及生理功能的阐明可为硫元素生物地球化学循环规律的揭示和感染性病原细菌的控制提供有益的参考。

关键词: 硫化氢, 信号分子, 半胱氨酸降解, 无机硫呼吸, 氧化还原应答

硫是细菌必需的营养元素,构成氨基酸、维生素、甚至核酸^[1]等活性分子,影响着氧化还原进程。硫既能以-2价的还原态呈现,也能以0价、+4价的中间态或+6价的氧化态呈现,其中还原态的硫与生命的关系最密切。在生命孕育初期,地表处于无氧而硫化状态,原始生命正是利用硫化物为能源,推动了生物进化^[2]。随着蓝细菌及藻类的出现,地表逐渐成氧化态,此后进化出的生命系统多能适应氧化环境,而对包括 H_2S 在内的还原性物质表现得较为敏感^[3]。长期来, H_2S 一直被

认为是好氧生物的毒性气体,近年来却发现其作为气态信号分子在高等生物的生理过程中起着独特的作用^[3-4]。然而,有关 H_2S 的细菌生理学研究还刚刚起步,本文以奥内达希瓦氏菌为重点,综述细菌的 H_2S 产生及其生理作用。

1 细菌的 H_2S 产生及调节

细菌产 H_2S 的现象早已为人所知,但对产生机理的研究则起步不久。兼性厌氧细菌可通过同化硫酸盐,或通过降解半胱氨酸产生 H_2S 。但前

基金项目: 国家自然科学基金(31270097, 41476105); 国家“973项目”(2010CB833803)

*通信作者。Tel: +86-571-88981107; E-mail: haichung@zju.edu.cn

收稿日期: 2016-05-16; 修回日期: 2016-07-31; 网络出版日期: 2016-08-17

者产量少, 且很快被同化成有机含硫化合物, 而后者产量较大, 是 H₂S 的主要产生方式^[5]。不同细菌降解半胱氨酸产 H₂S 的机理不尽相同(表 1), *Bacillus anthracis*, *Pseudomonas aeruginosa* 和 *Staphylococcus aureus* 主要依靠胱硫醚 β-合酶 (cystathionine β-synthase, CBS) 和胱硫醚 γ-裂解酶 (cystathionine γ-lyase, CSE) 产 H₂S, 而 *Escherichia coli* 中没有 CBS 和 CSE, 主要依靠半胱氨酸氨基转移酶 (cysteine aminotransferase, CAT) 和 3-巯基丙酮酸硫转移酶 (3-mercaptopyruvate sulfurtransferase, 3MST) 的协同作用产 H₂S^[5-6]。

硫酸盐还原菌 (sulfate reducing bacteria, SRB) 能利用有机物为碳源和能源, 以亚硫酸盐为最终电子受体进行厌氧呼吸(表 1)。硫酸盐必须经腺苷 5'-磷酸硫酸酐还原酶 (Aps) 还原成亚硫酸后, 才能被异化型亚硫酸盐还原酶 (disimilatory sulfite reductase, Dsr) 还原。Dsr 有 2 个亚基, 组成 α₂β₂ 型结构, 以 siroheme 和 [4Fe-4S] 为辅基。SRB 中底物脱氢后形成的电子经 NADPH、铁氧还蛋白和 DsrAB 等组分最终传递给亚硫酸盐, 产生 H₂S^[7]。

希瓦氏菌 (*Shewanella* sp.) 为一类 γ 变形菌纲的兼性厌氧细菌, 以多样的呼吸能力著称, 是金属还原和燃料电池研究的模式菌^[8-9]。该属细菌拥

有许多有别于肠道模式菌的生理和分子特征, 因而成为环境细菌生理学的研究热点^[10-12]。希瓦氏菌不含 DsrAB 类酶系, 不属于 SRB, 但能在厌氧下利用硫酸盐 (SO₄²⁻)、硫代硫酸盐 (S₂O₃²⁻)、亚硫酸盐 (SO₃²⁻)、连四硫酸盐 (tetrathionate) 或元素硫 (S) 产生 H₂S^[13]。我们在研究中发现, 在 *Shewanella* 模式菌株 *S. oneidensis* 中存在 2 类呼吸产 H₂S 的酶系: SirACD 可利用 SO₃²⁻、SO₄²⁻ 或 S⁰ 产 H₂S, PsrABC 可以 S₂O₃²⁻ 或 S₄O₆²⁻ 为电子受体进行厌氧呼吸^[14]。SirD 和 PsrC 作为醌氧化酶将电子通过 SirC 和 PsrB 分别传递到催化亚单位 SirA 和 PsrA, 将硫代硫酸盐或亚硫酸盐直接还原成 H₂S。利用化学和生物相结合的分析手段, 我们证实 SirD 和 PsrC 之间无交集, 说明这两条途径间没有共同的中间产物^[15]。

希瓦氏菌也可通过降解半胱氨酸产生 H₂S。*S. oneidensis* 中有 3 个酶 MdeA、SO_1095 和 SseA 催化该反应, 其中 MdeA 是关键酶, 该酶与铜绿假单胞菌的 CSE 高度同源, 表达量高, 对 H₂S 产生的贡献率在 70% 左右; SO_1095 也是 CSE 的同源物, 但对产 H₂S 的贡献率仅为 20% 左右; SseA 是 3MST 的同源物, 对产 H₂S 的贡献率不及 10%, 这 3 个酶都受半胱氨酸诱导^[15]。

表 1. 细菌硫化氢的产生途径

Table 1. The pathways of H₂S producing in bacteria

Substrate	Pathway	Key enzyme	Mechanism	Bacterium
SO ₄ ²⁻ /SO ₃ ²⁻	Electron	DsrAB	NADPH → ferredoxins → DsrAB → SO ₃ ²⁻	<i>Desulfovibrio vulgaris</i>
S, SO ₃ ²⁻	Transport	SirACD	NADH → SirD → SirC → SirA → SO ₃ ²⁻	<i>Shewanella oneidensis</i>
S ₂ O ₃ ²⁻ , S ₄ O ₆ ²⁻	Chain	PsrABC	NADH → PsrC → PsrB → PsrA → S ₂ O ₃ ²⁻	<i>Salmonella typhimurium</i>
Cysteine	Metabolic decompose	CBS (EC4.2.1.22)	Cys + Homocysteine → Cystathionine + H ₂ S	<i>Staphylococcus aureus</i>
		CSE (EC4.4.1.1)	Cystine + H ₂ O → Cys + Pyruvic acid + H ₂ S	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
		CAT (EC2.6.1.3)	Cys + Keto-acid → 3-Mercaptopyruvate + Amino acid	<i>Escherichia coli</i>
		3MST (EC2.8.1.2)	3-Mercaptopyruvate + R'SH → RSSR' + H ₂ S	<i>Escherichia coli</i>

CBS: cystathionine β-synthase; CSE: cystathionine γ-lyase; CAT: cysteine aminotransferase; 3MST: 3-mercaptopyruvate sulfurtransferase; Cys: cysteine.

对 H₂S 产生的调控研究中,我们发现至少 2 个全局调控因子调控着希瓦氏菌的 H₂S 产生。Crp, 一种 c-AMP 受体蛋白^[16-17], 作为正调控因子激活厌氧呼吸产 H₂S 途径, 而 Arc, 一种代谢调节子^[18-19], 作为负调控因子阻遏半胱氨酸降解途径中 *mdeA* 的表达^[15]。遗憾的是有关 H₂S 代谢调控的研究在其他细菌中还不曾有过报道, 这些调控是否具有普遍性还未可知, 进一步拓宽研究范围将有助于阐明这些全局调控因子的作用。

2 H₂S 的生理功能

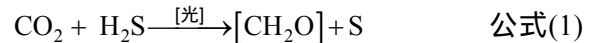
长期以来, 人们一直把 H₂S 当做细菌生理代谢的副产物, 随着动物细胞 H₂S 产生现象的发现及其作为信号分子在生理过程中独特功能的阐明, 对细菌 H₂S 生理功能的研究也逐渐受到重视。研究发现, H₂S 在细菌生长、信号传递和生态位竞争等方面都有重要的作用。

2.1 作为能源, 为共栖细菌提供能量

有些化能自养细菌可利用 H₂S 氧化过程中产生的能量来固定 CO₂, 实现细菌的生长与繁殖, 这些细菌通常被称为无色硫细菌, 可将 H₂S 氧化成硫酸盐, 并释放 8 个电子, 电子通过呼吸链最终转递给 O₂, 产生 ATP。但有些硫细菌, 如 *Beggiatoa* sp. 常将 H₂S 氧化成 S⁰, 作为能源性贮存物储存于体内, 以供不时之需^[20]。硫细菌还能与动物共生, 如红树林中的一些硫细菌常生活在软体动物 *Lucina petinata* 的鳃部, 利用动物血红蛋白传递来的 H₂S 作为能源来固定 CO₂, 合成己糖, 供自己及动物利用。海底热液口附近也生活着一些硫细菌, 与大型管状蠕虫 *Riftia pachyptila* 共生, 利用蠕虫血红蛋白携带的 H₂S 和 O₂, 将 H₂S 氧化, 产生的能量用来合成有机物, 供蠕虫代谢^[21]。

2.2 作为供氢体, 为共栖细菌提供还原力

海洋中广泛分布着一群非放氧型光合细菌, 能以 H₂S 为供氢体, 利用光能固定 CO₂, 合成细胞物质(公式 1)。根据所含光合色素的不同, 可把这群细菌分为紫硫细菌和绿硫细菌两类, 其中紫硫细菌(如 *Chromatium* sp.)的叶绿素吸收峰在 870 nm 左右, 常将还原后的颗粒硫贮存于胞内; 绿硫细菌(如 *Chlorobium* sp.)的叶绿素吸收峰在 840 nm 左右, 常将还原后的颗粒硫贮存于胞外。但最终这两类细菌都会将 S⁰ 进一步氧化为硫酸盐, 以产生额外的还原力来固定 CO₂^[20]。



2.3 作为电子穿梭载体, 有利铁等元素的吸收

铁和硫不仅是细胞的重要组成元素, 也是生物地球化学循环的主要研究对象, 在厌氧水体中, Fe 常以不溶性铁矿石, 如 Fe(OH)₃ 和 α-FeOOH 的形式存在, 很难被生物利用。硫酸盐还原菌(SRB)能将氧化态硫还原成 H₂S, 生成的 H₂S 与铁矿石进行氧化还原反应, 从而使铁溶解, 以利生物吸收^[22-23]。

异化型金属还原细菌, 如希瓦氏菌、脱硫单胞菌、地杆菌等, 虽能通过厌氧呼吸将不溶性 Fe^{III} 还原成可溶性 Fe^{II}, 但微生物的这种呼吸作用高度依赖于环境 pH。Flynn 等以奥内达希瓦氏菌为模式菌, 探究碱性环境中 Fe 与 S 的相互作用, 发现希瓦氏菌能酶促还原 S, 却不能还原 α-FeOOH, 但硫还原后形成的 H₂S 能通过非生物方式将 α-FeOOH 还原, 用于细胞色素等含铁细胞组分的合成(图 1)^[24]。

2.4 抑制其他敏感生物的生长, 在竞争中处于有利地位

不同微生物对 H₂S 的敏感性不同, Mirzoyan 等对海洋细菌的 H₂S 耐受性进行过测定, 发现

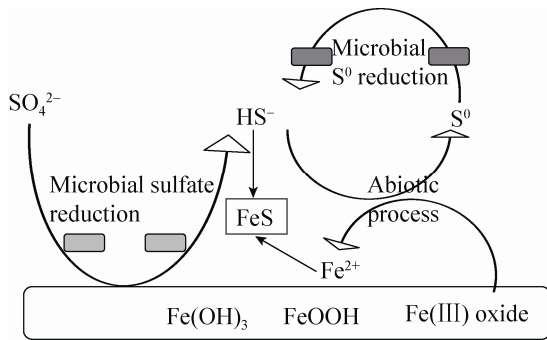


图 1. 碱性条件下硫介导的铁(III)还原示意图(根据文献[24]改编)

Figure 1. Illustration of S mediated Fe^{III} reduction under alkaline conditions (rearranged based on the reference [24]).

Marinobacter sp. 只能忍受 0.6 mmol/L H₂S, *Pseudomonas stutzeri* 和 *Vibrio* sp. 在 1.2 mmol/L H₂S 下能缓慢生长, 而 *Bacillus* sp. 在 1.2 mmol/L H₂S 浓度下仍生长得很好^[25]。他们认为 H₂S 的产生和积累除获得能量需求外, 可能与细菌间生态位的竞争有关。H₂S 抑菌的机理有 3 种。

2.4.1 还原二硫键, 破坏蛋白质高级结构: 蛋白质的功能有赖于其立体结构, 许多蛋白质通过二硫键将亚基内相距较远的基团, 或将不同亚基共价相连, 形成高级结构。H₂S 可将蛋白质中的二硫键还原, 使立体构象破坏, 功能丧失^[26]。

Francoleon 认为生物体内最丰富的含硫化合物是谷胱甘肽, 不但组成酶的活性中心, 还参与细胞的氧化防御, 在稳态调节中起着重要的作用。当 H₂S 进入细胞后, 首先与氧化性的谷胱甘肽(GSSG)反应, 生成的 GSSH 再去攻击蛋白质, 使二硫键断裂。他们通过实验证实了这一猜想, GSSH 确实可使木瓜蛋白酶的二硫键解离, 使酶活性丧失^[27]。

2.4.2 与辅基结合, 使金属酶失活: 虽然 H₂S 可与蛋白质上的辅基金属离子直接反应, 影响蛋白的功能, 但一般认为其最主要的靶标是铁血红素^[21]。

细菌细胞中富含铁血红素蛋白, 如类血红蛋白、细胞色素、细胞色素氧化酶和过氧化氢酶等。由于不同蛋白其血红素周围的氨基酸残基组成不同, 对 H₂S 的敏感性也有差异。若血红素周围分布的是非极性氨基酸或是氢键供体氨基酸, H₂S 将血红素的 Fe^{III}-OH₂ 可逆地转化成 Fe^{III}-SH₂, 而不涉及铁的还原, 如枯草杆菌中的类血红蛋白分子, 蛋白远端包围血红素的是色氨酸, 它与硫之间可通过氢键形成相对稳定的结构, 不引起血红素的还原^[28]。若血红素附近有氢键受体基团, 则生成的 Fe^{III}-SH₂ 可被第二个 H₂S 分子还原成 Fe^{II}, 并释放 HS-SH; 若 Fe^{II} 周围还有组氨酸残基, 则硫可共价结合到血红素的吡咯环上, 形成硫-血红素。过氧化氢酶、乳过氧化物酶和细胞色素 c 的血红素附近通常就有这样的组氨酸残基, 因而可形成硫-血红素, 使蛋白活性受到影响^[29]。

2.4.3 刺激 ROS 产生, 并抑制过氧化氢酶活性, 使 DNA 受损: H₂S 与 ROS(Reactive oxygen species) 关系的研究多集中在动物细胞上, 在微生物上的研究起步较晚。Hoffman 通过质粒 DNA 劈开试验分析了 H₂S 对 DNA 完整性的影响, 发现微摩尔浓度的 H₂S 就可引起 DNA 的断裂。他们认为 H₂S 的自氧化产生的超氧化物和羟自由基通过金属介导的 Fenton 反应引起 DNA 损伤, 因为这种质粒开环效应可被羟自由基捕捉物和过渡金属螯合剂抑制, 添加过氧化氢酶(CAT)也可减轻 DNA 的损伤, 但添加超氧化物歧化酶(SOD)并无效果, 说明是羟自由基引发的氧化损伤^[30]。在对希瓦氏菌的研究中, 我们发现尽管 H₂S 单独使用影响有限, 但与 H₂O₂ 协同作用具有强烈的杀菌效应, 可引起细菌染色体 DNA 断裂或损伤, 说明这种协同效应与 ROS 的产生有关^[32]。进一步研究发现, CAT 的专性抑制剂 NaN₃ 也有相似的作用, 说明 H₂S 是

通过抑制 CAT 活性,降低细胞的 H_2O_2 去除能力而发挥作用的^[31]。

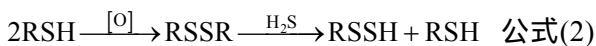
该抑制机制在真菌中也存在。Fu 等发现 H_2S 的短时间处理可使霉菌胞内活性氧(ROS)增加,并抑制 SOD 和 CAT 的活性,从而杀死 *Aspergillus niger* 和 *Penicillium italicum* 等真菌细胞^[32]。

2.5 作为信号分子,保护细胞免受氧化损伤

H_2S 可作为信号分子引发自由基应答,提高细菌对抗生素的抗性。Shatalin 等发现,将 *B. anthracis*、*P. aeruginosa*、*S. aureus* 和 *E. coli* 的 H_2S 产生酶基因敲除后,或用 DL-胱丙基甘氨酸、氨氧乙酸、天冬氨酸将 CSE、CBS 和 MST 的活性抑制后,这些细菌对抗生素会变得高度敏感。如果通过外源添加或内源过表达来提高 H_2S 浓度,就可降低这种敏感性^[6]。 H_2S 介导的细胞保护作用的主要机理分为以下几个方面。

2.5.1 直接中和过氧化氢:由于 H_2S 是一种还原性物质,能与 H_2O_2 直接反应,将 H_2O_2 还原成 H_2O ,同时自己被氧化成 HS-SH。

2.5.2 短暂消耗胞内自由半胱氨酸:体内过多的半胱氨酸是引起自由基反应的原因之一。半胱氨酸和 H_2S 都是还原性物质,一般情况下并不起反应,但在氧化压力下,形成的胱氨酸能与 H_2S 反应^[29],从而使胞内的自由半胱氨酸减少(公式 2)。



2.5.3 激活主要的抗氧化酶:Shatalin 等发现用联吡啶螯合铁,或用硫脲清除羟自由基后,吉他霉素、氨苄青霉素和萘啶酸等抗生素的细胞毒性就显著降低,而 H_2S 也有同样的功效,说明 H_2S 作为信号分子,激活了细菌的抗氧化应答。他们还发现野生型 *E. coli* 中 H_2O_2 的降解速率是 H_2S 产生酶缺失菌株的 1.5 倍以上,且细胞的 SOD 活力与

H_2S 产生酶的表达水平成正比,若将 *E. coli* 的 *katE* 和 *sodA* 敲除, H_2S 只能在最初的几分钟内保护这些突变株免受 H_2O_2 杀死,进一步说明 H_2S 对细胞的保护作用与 SOD 和 CAT 的活性有关^[6]。

2.5.4 消耗 Fe^{2+} , 抑制 Fenton 反应:从理论上说, H_2S 能与胞内的自由铁反应,形成不溶性的 FeS 或 Fe_2S_3 , 减少 Fenton 反应,从而对细胞起到保护作用^[6]。我们在研究中发现, H_2S 进入细胞与自由铁结合后, Fenton 反应确实会有抑制,但细胞缺铁后会促使运铁蛋白的表达,加快铁运输,随着胞内铁的升高, Fenton 反应反而会有所加剧,自由基的增多激活了细胞的抗氧化应答(激活 OxyR),从而使 CAT 大量合成^[31]。激活过程大约需要 20 min,所以, H_2S 处理 20 min 后再用 H_2O_2 处理,表现的是保护细胞免受氧化压力的作用。

2.6 与类金属共代谢,影响砷的迁移性和毒性

砷是自然界最毒的元素之一,能以多种形式存在,就毒性而言, $CH_3-As^{III} > As^{III} > As^V > CH_3-As^V$; 就迁移性而言, $CH_3-As^{III} > CH_3-As^V > As^{III} > As^V$ 。在自然环境下,砷总是与铁共存,因此,任何诱导 H_2S 产生的变化总会促发砷-铁氧化物的还原性溶解(图 2)^[33-34]。

厌氧海底中分布着许多含砷铁矿。细菌产生的 H_2S 使海底沉积物中的不溶性 Fe^{III} 转变成可溶性的 Fe^{II} , 同时使固定在铁矿中的 As^V 释放。 H_2S 还能将 As^V 还原成 As^{III} , 从而增加砷的毒性。Newman 等^[35]认为这种还原并不是单纯的化学过程,因为单用硫化物处理后砷的还原要比雌黄脱硫肠状菌(*Desulfotomaculum auripigmentum*)慢得多,而用硫代硫酸盐和亚硫酸盐处理 As^V 几乎不被还原,说明该过程涉及微生物的代谢作用。

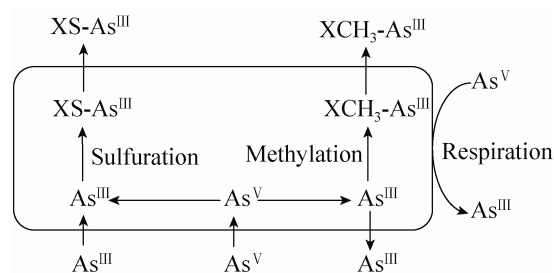


图 2. 微生物和砷化合物的相互作用示意图(方框表示微生物细胞界限, 据文献[33]改编)

Figure 2. Overview of the interaction between microorganism and arsenic compounds (the frame represents a microbial cell boundary, the figure is rearranged based on the reference [33]).

近年来, 随着人类活动的加剧, 原本固定于土壤或沉积物中的 As 被释放迁移, 导致地表水中 As 的大量积累, 严重威胁人类健康。细菌产生的 H_2S 能将地表水中的 As^V 还原成 As^{III} , 后者可与硫离子结合成硫代砷酸盐或硫化砷, 与 FeS 形成共沉淀, 从而降低地表水中的可溶性砷含量, 阻滞砷的迁移, 因此可被用来进行砷污染水体的生物修复^[36-37]。

3 H_2S 生理机能的统一

H_2S 既有杀菌功能, 又有保护细胞免受氧化压力的作用, 从表面上看两者似乎是矛盾的。实际上, 这种矛盾经常出现在研究报道中, 如 Caro 等认为 H_2S 是炎症刺激因子^[38] 而 Kabil 等认为 H_2S 是抗炎因子^[39]。我们最近的研究发现, H_2S 确实有这种双面功能, 具体由作用时间决定。首先 H_2S 能抑制过氧化氢酶的活性, 如果 H_2S 处理后马上加 H_2O_2 , 则对细胞显示出协同抑制作用。但 H_2S 还有与铁结合的能力, 随着胞内自由铁的减少, 细胞运铁蛋白活化, 铁的运入激活了 OxyR 调节子, 导致 *katB*(编码 CAT)和 *dps*(编码铁储藏蛋白)大量表达。由于基因的转录和蛋白的翻译需要一

定时间, 所以, H_2S 处理后 20 min 再加 H_2O_2 , 一方面 H_2S 被细菌逐渐代谢, 另一方面抗氧化酶得以表达, 表现出的是抗氧化作用^[31]。

细胞内源产生的 H_2S 却没有这种保护作用。因 H_2S 的内源产生是连续而稳定的, 不能触发细胞应答。Shatalin 等也发现硫化氢产生酶的保护作用只在好氧生长下才有效, 对厌氧培养下的细菌基本无效, 说明厌氧下逐渐积累的 H_2S 使细菌适应低氧化压力环境, 而不触发抗氧化酶的表达^[6]。

H_2S 的这种双面特性具有重要的生理意义。对大多数细菌来说, 好氧环境下只产生很少的 H_2S , 却能表达大量的 CAT 来应对氧化压力; 而厌氧环境下则会产生大量 H_2S , CAT 的表达受到阻遏。人体体液中含有大约 $60 \mu\text{mol/L}$ H_2S , 如果病原微生物从好氧环境侵入人体, 体液中的 H_2S 就可破坏细菌的过氧化氢酶, 使细菌容易被体内的氧化压力杀死, 但如果细菌能挺过这一关, 进入细菌细胞内的 H_2S 会激活 OxyR, 表达出大量 CAT, 此时, 再要杀死细菌就变得非常困难。所以, 对细菌感染性疾病来说, 感染初期的用药十分关键, 一旦细菌在某一病灶定殖, 要全部杀死它们就需要大量用药。

4 展望

细菌 H_2S 产生机理及生理功能的阐明不仅可为硫元素生物地球化学循环规律的揭示提供依据, 有利于自然环境的保护和污染生态系统的修复, 而且可为好氧性微生物的控制提供有益的参考, 有利于病原细菌和腐败菌的防治。鉴于硫化氢与一氧化氮具有相似的生理学功能, 腹腔注射硫化氢溶液可有效预防实验动物的高血压、胃肠道溃疡等多种疾病^[3], 还有望开发出硫化氢产生酶

制剂或微生态制剂(如将硫化氢产生酶基因克隆到乳酸菌中),用于相关疾病的预防。

参考文献

- [1] Chen S, Wang LR, Deng ZX. Twenty years hunting for sulfur in DNA. *Protein & Cell*, 2010, 1(1): 14–21.
- [2] Anbar AD, Knoll AH. Proterozoic ocean chemistry and evolution: a bioinorganic bridge? *Science*, 2002, 297(5584): 1137–1142.
- [3] Wang R. Physiological implications of hydrogen sulfide: a whiff exploration that blossomed. *Physiological Reviews*, 2012, 92(2): 791–896.
- [4] Ono K, Akaike T, Sawa T, Kumagai Y, Wink DA, Tantillo DJ, Hobbs AJ, Nagy P, Xian M, Lin J, Fukuto JM. Redox chemistry and chemical biology of H₂S, hydropersulfides, and derived species: implications of their possible biological activity and utility. *Free Radical Biology and Medicine*, 2014, 77: 82–94.
- [5] Luhachack L, Nudler E. Bacterial gasotransmitters: an innate defense against antibiotics. *Current Opinion in Microbiology*, 2014, 21: 13–17.
- [6] Shatalin K, Shatalina E, Mironov A, Nudler E. H₂S: a universal defense against antibiotics in bacteria. *Science*, 2011, 334(6058): 986–990.
- [7] Bradley AS, Leavitt WD, Johnston DT. Revisiting the dissimilatory sulfate reduction pathway. *Geobiology*, 2011, 9(5): 446–457.
- [8] Fredrickson JK, Romine MF, Beliaev AS, Auchtung JM, Driscoll ME, Gardner TS, Nealson KH, Osterman AL, Pinchuk G, Reed JL, Rodionov DA, Rodrigues JLM, Saffarini DA, Serres MH, Spormann AM, Zhulin IB, Tiedje JM. Towards environmental systems biology of *Shewanella*. *Nature Reviews Microbiology*, 2008, 6(8): 592–603.
- [9] Fu HH, Yuan J, Gao HC. Microbial oxidative stress response: novel insights from environmental facultative anaerobic bacteria. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 2015, 584: 28–35.
- [10] Fu HH, Jin M, Wan F, Gao HC. *Shewanella oneidensis* cytochrome *c* maturation component CcmI is essential for heme attachment at the non-canonical motif of nitrite reductase NrfA. *Molecular Microbiology*, 2015, 95(3): 410–425.
- [11] Gao T, Shi MM, Ju LL, Gao HC. Investigation into FlhFG reveals distinct features of FlhF in regulating flagellum polarity in *Shewanella oneidensis*. *Molecular Microbiology*, 2015, 98(3): 571–585.
- [12] Shi MM, Gao T, Ju LL, Yao YL, Gao HC. Effects of FlrBC on flagellar biosynthesis of *Shewanella oneidensis*. *Molecular Microbiology*, 2014, 93(6): 1269–1283.
- [13] Myers CR, Nealson KH. Bacterial manganese reduction and growth with manganese oxide as the sole electron acceptor. *Science*, 1988, 240(4857): 1319–1321.
- [14] Shirodkar S, Reed S, Romine M, Saffarini D. The octahaem SirA catalyses dissimilatory sulfite reduction in *Shewanella oneidensis* MR-1. *Environmental Microbiology*, 2011, 13(1): 108–115.
- [15] Wu G, Li N, Mao Y, Zhou G, Gao H. Endogenous generation of hydrogen sulfide and its regulation in *Shewanella oneidensis*. *Frontiers in Microbiology*, 2015, 6: 374.
- [16] Zhou GQ, Yin JH, Chen HJ, Hua YJ, Sun LL, Gao HC. Combined effect of loss of the *caa3* oxidase and Crp regulation drives *Shewanella* to thrive in redox-stratified environments. *The ISME Journal*, 2013, 7(9): 1752–1763.
- [17] You CH, Okano H, Hui S, Zhang ZG, Kim MS, Gunderson CW, Wang YP, Lenz P, Yan DL, Hwa T. Coordination of bacterial proteome with metabolism by cyclic AMP signalling. *Nature*, 2013, 500(7462): 301–306.
- [18] Gao HC, Wang XH, Yang ZK, Palzkill T, Zhou JZ. Probing regulon of ArcA in *Shewanella oneidensis* MR-1 by integrated genomic analyses. *BMC Genomics*, 2008, 9: 42.
- [19] Wan F, Mao YT, Dong YY, Ju LL, Wu GF, Gao HC. Impaired cell envelope resulting from *arcA* mutation largely accounts for enhanced sensitivity to hydrogen peroxide in *Shewanella oneidensis*. *Scientific Reports*, 2015, 5: 10228.
- [20] Madigan MT, Martinko JM, Bender KS, Buckley DH, Stahl DA, Brock T. Brock Biology of Microorganisms (14th ed.). Tokyo: Pearson, 2015.
- [21] Pietri R, Lewis A, León RG, Casabona G, Kiger L, Yeh SR, Fernandez-Alberti S, Marden MC, Cadilla CL, López-Garriga J. Factors controlling the reactivity of hydrogen sulfide with heme proteins. *Biochemistry*, 2009, 48(22): 4881–4894.

- [22] Enning D, Garrelfs J. Corrosion of iron by sulfate-reducing bacteria: new views of an old problem. *Applied and Environmental Microbiology*, 2014, 80(4): 1226–1236.
- [23] Lohmayer R, Kappler A, Lösekann-Behrens T, Planer-Friedrich B. Sulfur species as redox partners and electron shuttles for ferrihydrite reduction by *Sulfurospirillum deleyianum*. *Applied and Environmental Microbiology*, 2014, 80(10): 3141–3149.
- [24] Flynn TM, O'Loughlin EJ, Mishra B, DiChristina TJ, Kemner KM. Sulfur-mediated electron shuttling during bacterial iron reduction. *Science*, 2014, 344(6187): 1039–1042.
- [25] Mirzoyan N, Schreier HJ. Effect of sulfide on growth of marine bacteria. *Archives of Microbiology*, 2014, 196(4): 279–287.
- [26] Nagy P. Kinetics and mechanisms of thiol-disulfide exchange covering direct substitution and thiol oxidation-mediated pathways. *Antioxidants & Redox Signaling*, 2013, 18(13): 1623–1641.
- [27] Francoleon NE, Carrington SJ, Fukuto JM. The reaction of H₂S with oxidized thiols: generation of persulfides and implications to H₂S biology. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 2011, 516(2): 146–153.
- [28] Nicoletti FP, Comandini A, Bonamore A, Boechi L, Boubeta FM, Feis A, Smulevich G, Boffi A. Sulfide binding properties of truncated hemoglobins. *Biochemistry*, 2010, 49(10): 2269–2278.
- [29] Ríos-González BB, Román-Morales EM, Pietri R, López-Garriga J. Hydrogen sulfide activation in hemeproteins: the sulfheme scenario. *Journal of Inorganic Biochemistry*, 2014, 133: 78–86.
- [30] Hoffman M, Rajapakse A, Shen XL, Gates KS. Generation of DNA-damaging reactive oxygen species via the autoxidation of hydrogen sulfide under physiologically relevant conditions: chemistry relevant to both the genotoxic and cell signaling properties of H₂S. *Chemical Research in Toxicology*, 2012, 25(8): 1609–1615.
- [31] Wu GF, Wan F, Fu HH, Li N, Gao HC. A matter of timing: contrasting effects of hydrogen sulfide on oxidative stress response in *Shewanella oneidensis*. *Journal of Bacteriology*, 2015, 197(22): 3563–3572.
- [32] Fu LH, Hu KD, Hu LY, Li YH, Hu LB, Yan H, Liu YS, Zhang H. An antifungal role of hydrogen sulfide on the postharvest pathogens *Aspergillus niger* and *Penicillium italicum*. *PLoS One*, 2014, 9(8): e104206.
- [33] Huang JH. Impact of microorganisms on arsenic biogeochemistry: a review. *Water, Air, & Soil Pollution*, 2014, 225: 1848.
- [34] Lindsay MBJ, Moncur MC, Bain JG, Jambor JL, Ptacek CJ, Blowes DW. Geochemical and mineralogical aspects of sulfide mine tailings. *Applied Geochemistry*, 2015, 57: 157–177.
- [35] Newman DK, Beveridge TJ, Morel F. Precipitation of arsenic trisulfide by *Desulfotomaculum auripigmentum*. *Applied and Environmental Microbiology*, 1997, 63(5): 2022–2028.
- [36] Fendorf S, Michael HA, van Geen A. Spatial and temporal variations of groundwater arsenic in South and Southeast Asia. *Science*, 2010, 328(5982): 1123–1127.
- [37] Burton ED, Johnston SG, Planer-Friedrich B. Coupling of arsenic mobility to sulfur transformations during microbial sulfate reduction in the presence and absence of humic acid. *Chemical Geology*, 2013, 343: 12–24.
- [38] Caro AA, Thompson S, Tackett J. Increased oxidative stress and cytotoxicity by hydrogen sulfide in HepG2 cells overexpressing cytochrome P450 2E1. *Cell Biology and Toxicology*, 2011, 27(6): 439–453.
- [39] Kabil O, Motl N, Banerjee R. H₂S and its role in redox signaling. *Biochimica et Biophysica Acta*, 2014, 1844(8): 1355–1366.

Endogenous production and physiological functions of hydrogen sulfide in facultative anaerobic bacteria

Genfu Wu, Haichun Gao*

College of Life Sciences, Zhejiang University, Hangzhou 310058, Zhejiang Province, China

Abstract: H₂S is the third gaseous signaling molecule next to nitric oxide and carbon monoxide, but studies on its physiological functions in bacteria are just emerging. In this paper, we review recent findings regarding endogenous production and physiological functions of H₂S in facultative anaerobic bacteria, partly based on our own research on *Shewanella oneidensis*. There are two principal H₂S producing pathways in *S. oneidensis*: one is through cysteine degradation, and the other is *via* inorganic sulfur respiration. Endogenous H₂S could either benefit mutual growing bacteria by supplying energy and inorganic, or inhibit competing bacteria. Our review attaches particular importance to the role of H₂S in bacterial oxidative stress response. On one hand, H₂S is able to directly inhibit heme-containing catalase, enhancing killing by H₂O₂. On the other hand, H₂S could activate oxidative response as a signaling molecule, leading to cell protection from the oxidative stress due to elevated expression of H₂O₂ scavenging and repairing systems. Intriguingly, the dominance of either role is determined by H₂S-treating time, that is, inhibition is the immediate response whereas activation of oxidative stress response needs extended treatment. The elucidation of endogenous production and its physiological function of H₂S in facultative anaerobic bacteria would improve understanding of biogeochemical sulfur recycling, and facilitate control of infectious bacterial pathogens.

Keywords: H₂S, signaling molecule, cysteine decompose, inorganic sulfur respiration, redox response

(本文责编: 张晓丽)

Supported by the National Natural Science Foundation of China (31270097, 41476105) and by the National Basic Research Program of China (2010CB833803)

*Corresponding author. Tel: +86-571-88981107; E-mail: haichung@zju.edu.cn

Received: 16 May 2016; Revised: 31 July 2016; Published online: 17 August 2016