



灵杆菌合成灵菌红素的转录调控

孙地, 刘聪, 刘伟杰*

江苏师范大学生命科学学院, 江苏 徐州 221116

摘要: 灵菌红素是一种具有多种生物活性的红色素, 具有巨大的经济价值和广阔的应用前景。灵杆菌是灵菌红素的生产菌株, 同时也是研究灵菌红素合成的模式菌株。本文综述了转录水平上调控灵杆菌合成灵菌红素的研究进展, 总结了双(多)组分调控系统、群体感应系统、 σ 因子和转录因子在调控灵杆菌合成灵菌红素过程中发挥的作用, 并对未来的研究方向进行了展望。

关键词: 灵杆菌, 灵菌红素, 转录调控

灵菌红素(prodigiosin, PG)是一种含有三吡咯环结构的红色素(图 1-A)^[1], 具有多种生物活性: 它能够有效抑制多种癌细胞的生长, 而对正常细胞的毒性较弱^[2-3]; 灵菌红素可以有效抑制器官移植引起的排异反应, 还可用于治疗自身免疫疾病^[4-5]; 灵菌红素及其衍生物对疟原虫 *Plasmodium falciparum* 和锥虫 *Trypanosoma cruzi* 具有较强的杀灭效果^[6-7]; 它还具有广谱的杀菌作用, 能够有效杀灭多种病原细菌和真菌^[8-9]; 此外灵菌红素还具有高效的抑藻活性, 能抑制引起赤潮和水华的浮游藻类, 在水体污染的治理上表现出巨大的潜力^[10-11], 因此灵菌红素有较高的经济价值和良好的应用前景。灵菌红素可由多种微生物的次级代谢活动产生, 不同种属的微生物产生的灵菌红素

的结构和生物活性存在较大差异, 而沙雷氏菌属的灵杆菌(*Serratia marcescens*)产生的灵菌红素的生物活性较好, 因此被用作灵菌红素合成和调控机制的模式菌株^[12]。由于从环境中分离获得的野生型灵杆菌菌株的灵菌红素产量较低, 需要对菌株进一步改造以获得灵菌红素高产菌株。现阶段主要通过传统的诱变育种方法来获得灵菌红素高产菌株^[13], 但诱变育种具有突变随机性大、没有高效的筛选模型、工作量大、难以集中多个理想性状等缺点, 因此受到很大的限制。基因工程育种能够定向选育高产菌株, 同时还可以对代谢途径进行改造以获取生物活性更高、毒副作用更小的灵菌红素衍生物, 但基因工程育种需要以了解代谢产物的合成途径和调控网络为前提, 因此需

基金项目: 国家自然科学基金(31800020, 31300054); 江苏省自然科学基金(BK20181009, BK20171163)

*通信作者。Tel: +86-516-83403173; E-mail: leonliu2013@126.com

收稿日期: 2018-11-24; 修回日期: 2019-03-09; 网络出版日期: 2019-07-11

要揭示灵菌红素合成和调控机制，为灵菌红素高产菌株的理性改造提供理论支持。

目前已发现在灵杆菌中，灵菌红素合成过程包括两个阶段，第一阶段是中间产物 2-甲基-3-戊基吡咯(MAP)与 4-甲氧基-2,2'-二吡咯-5-羧甲基乙醛(MBC)的合成；第二阶段是 MAP 和 MBC 缩合成为灵菌红素(图 1-A)，编码参与合成过程的酶的基因(*pig*)转录方向相同，位于同一基因簇内(图 1-B)^[14]。该基因簇启动子区的长度因菌种差异而有所区别，例如在 *Serratia* sp. ATCC39006 菌株中，启动子区长度为 922 bp；而在 *S. marcescens* ATCC274 菌株中，启动子区长度为 488 bp^[15]。由于编码基因位于同一转录单元^[14]，因此转录水平

上的调控可以迅速、经济地调控灵菌红素合成基因的表达。转录调控主要是依靠具有转录调控功能的调控蛋白来实现的，包括双组分调控系统中的响应调控蛋白、群体感应系统中的调控蛋白、 σ 因子和各个家族的转录因子等^[16]，这些转录调控蛋白既可以通过识别特定的 DNA 序列结合到启动子区的方式直接调控灵菌红素合成基因的转录，也可以通过调控其他基因的表达，间接调控灵菌红素合成基因的转录。目前已通过实验确定了十几种调控灵菌红素合成基因转录的调控蛋白，其中 PigQ、RssB、PhoB、EepR、Rap、PigP、HexS、SmaR、SpnR 和 PigT 已被证实能够通过结合位于灵菌红素合成基因簇启动子区的识别序

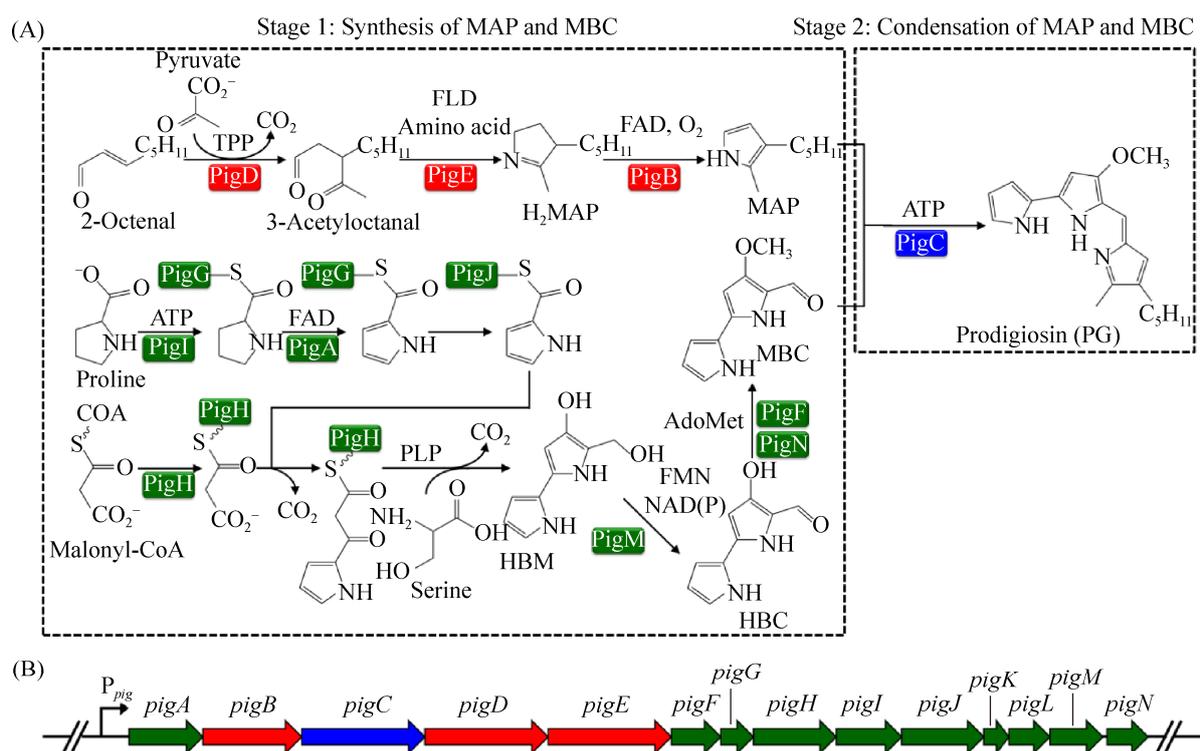


图 1. 灵菌红素合成途径(A)和灵菌红素生物合成基因簇(B)

Figure 1. Synthesis pathway of prodigiosin (A) and prodigiosin biosynthesis gene cluster (B). H₂MAP: dihydro-2-methyl-3-n-amyl-pyrrole; MAP: 2-methyl-3-n-amyl-pyrrole; HBM: 4-hydroxy-2,2'-bipyrrole-5-methanol; HBC: 4-hydroxy-2,2'-bipyrrole-5-carbaldehyde; MBC: 4-methoxy-2,2'-bipyrrole-5-carbaldehyde; AdoMet: S-adenosylmethionine; TPP: thiamine pyrophosphate; PLP: pyridoxal phosphate.

列，直接调控合成基因的转录(详见下文)。因此，这些直接/间接调控因子能够通过不同途径响应胞内外环境的变化，对灵菌红素的合成进行迅速的调控。深入研究这些转录调控蛋白调控灵菌红素合成的机制及其所参与的调控途径对于灵菌红素高产基因工程菌株具有重要的理论指导意义，然而目前尚无对灵菌红素合成过程中转录调控机制进行综述的文章。本文对目前灵杆菌中灵菌红素合成的转录调控进行综述，并对未来的研究方向进行展望，以期促进灵菌红素合成和调控机制的研究和灵菌红素高产基因工程菌株的构建。

1 双(多)组分调控系统(two/multiple component system, TCS)

双组分调控系统是一种常见的信号转导途径，是细菌将环境变化和生理活动变化联系起来

的重要方式，一般由感受外界信号的组氨酸激酶(histidine kinase, HK)和与之共轭的响应调控蛋白(response regulator, RR)组成。当特定信号激活组氨酸激酶时，组氨酸激酶自磷酸化并将磷酸基团传递给响应调控蛋白。许多响应调控蛋白是转录因子，当接收磷酸基团后构象发生改变而被激活，调控靶基因表达，从而使细菌适应环境变化。除了双组分调控系统外，细菌中还含有一些多组分调控系统，一般由 1 个组氨酸激酶与 2 个或以上的响应调控蛋白组成，其调控机制与双组分调控系统相似^[17]。

双(多)组分调控系统是细菌根据环境变化调控生理活动的重要方式，目前已在灵杆菌中发现了 4 个调控灵菌红素合成的双组分调控系统：PhoB/PhoR、RssB/RssA、EepR/EepS 和 PigQ/PigW (图 2)和 1 个多组分调控系统 GvrA/GvrB/GvrC。其中 PhoB/PhoR 和 RssB/RssA 所响应的环境信号

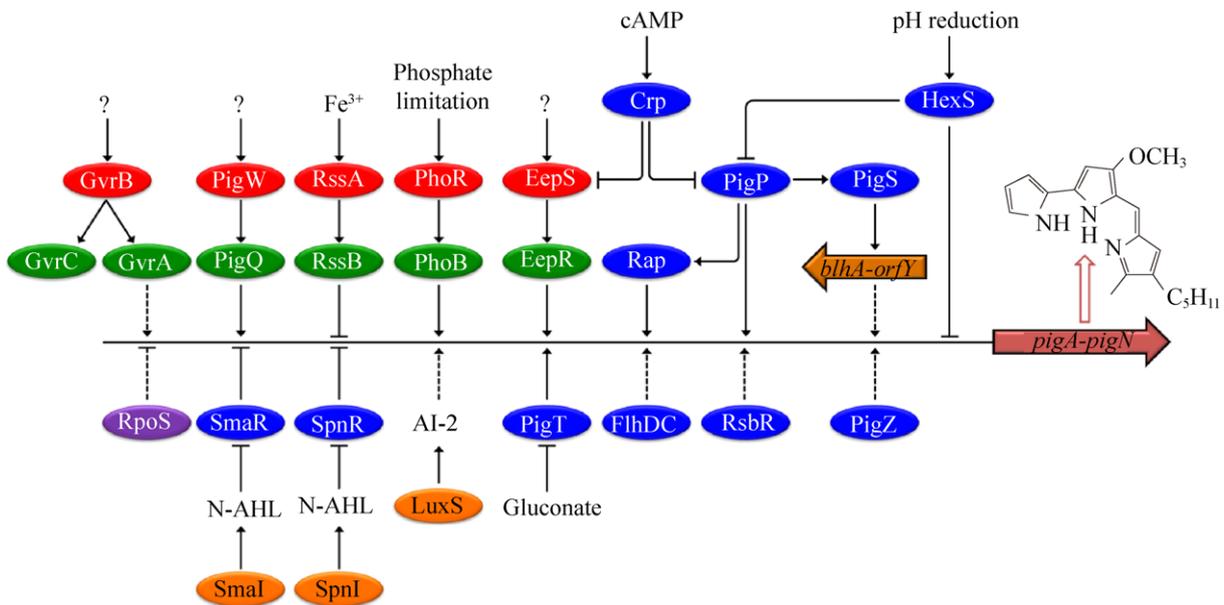


图 2. 灵菌红素合成的转录调控

Figure 2. Transcriptional regulation of prodigiosin synthesis. Arrows: positive regulation; flat ends: negative regulation; solid lines: direct regulation; dashed lines: indirect regulation; thick solid arrows: genes; thick hollow arrows: production of prodigiosin.

和它们调控灵菌红素合成的途径已被阐明：在 PhoB/PhoR 系统中，组氨酸激酶 PhoR 能够响应磷酸盐饥饿信号，并将共轭的调控蛋白 PhoB 磷酸化，PhoB 为转录因子，被激活后它直接促进灵菌红素合成基因簇(*pig*)的转录，从而提高灵菌红素的产量^[18]。此外，PhoB 还可以通过调控其他转录因子和群体感应系统的转录，间接促进灵菌红素的合成^[18]。RssB/RssA 系统能够响应环境中 Fe^{3+} 离子浓度并调控灵菌红素合成：当环境中 Fe^{3+} 离子浓度较高时，RssB/RssA 双组分调控系统中的组氨酸激酶 RssA 能够响应 Fe^{3+} 信号，将 RssB 激活^[19]，转录因子 RssB 随后结合到灵菌红素合成基因簇的启动子区，从而直接抑制其转录，负调控灵菌红素的合成^[20]。EepR/EepS 和 PigQ/PigW 响应的信号尚未被发现，这两个双组分调控系统中的响应调控蛋白 EepR 和 PigQ 在被相应的组氨酸激酶 EepS 和 PigW 激活后，通过直接激活灵菌红素合成基因转录的方式正调控灵菌红素的合成^[20-22]。在多组分调控系统 GvrA/GvrB/GvrC 中，组氨酸激酶 GvrB 能够将响应调控蛋白 GvrA 和 GvrC 磷酸化，其中 GvrA 带有 DNA 结合结构域，是转录调控蛋白。该系统最早被发现和细菌中气泡形成相关，最近发现将 *gvrA* 或 *gvrB* 基因过表达可以提高灵菌红素产量，表明该系统正调控灵菌红素的合成^[23]。

除以上双(多)组分调控系统外，灵杆菌基因组还编码了大量的双组分调控系统。例如，对已完成全基因组测序的 *S. marcescens* Db11 菌株进行分析，发现了 26 个编码组氨酸激酶的基因和 20 个编码响应调控蛋白的基因，除少数已阐明功能的双组分调控系统外，大多数双组分调控系统的功能和响应的信号尚不明确。深入研究灵杆菌的双

组分调控系统的功能，将有助于进一步揭示这些双组分调控系统在调控灵菌红素合成过程中发挥的作用。

2 群体感应系统(quorum sensing, QS)

除了双组分调控系统以外，微生物还可以通过其他调控系统响应环境变化并调节自身代谢，群体感应系统能够通过感受细菌群体密度从而调控自身基因表达或代谢变化。在细菌生长过程中，一些信号分子被合成并分泌到细胞外，因此细菌可以通过感受周围环境中的信号分子浓度来感知细胞密度情况，并在信号分子浓度超过阈值时通过改变相关基因的表达水平来调控包括次级代谢、形态分化、生物发光、生物被膜、毒力和致病性等生理活动。

在灵杆菌中，灵菌红素的合成同样受到群体感应系统的调控。目前已在灵杆菌中发现了两套影响灵菌红素合成的群体感应系统，分别为以 N-乙酰-高丝氨酸内酯(N-acyl-homoserine-lactone, AHL)作为信号分子的 LuxI/LuxR 系统和以喹啉酮二酯类物质(autoinducer-2, AI-2)作为信号分子的 LuxS 系统。灵杆菌中的 LuxI/LuxR 系统包括 SmaI/SmaR 和 SpnI/SpnR，其中 SmaI/SmaR 系统广泛存在于灵杆菌中^[24]，而编码 SpnI/SpnR 系统的基因则位于 *S. marcescens* SS-1 菌株的 TnTIR 转座子上^[25]。SmaI 和 SpnI 属于 LuxI 家族，负责合成 AHL 类信号分子，SmaR 和 SpnR 属于 LuxR 家族转录因子，是 AHL 受体蛋白，通过抑制灵菌红素合成基因簇转录的方式负调控灵菌红素合成。当细胞密度较小时，AHL 浓度较低，不足以解除 SmaR 和 SpnR 的转录抑制作用，此时菌体处于生

长状态, 不合成灵菌红素; 当细胞密度变大时, AHL 浓度达到阈值并使 SmaR 和 SpnR 的构象发生改变, 解除对灵菌红素合成基因的转录抑制, 启动灵菌红素的合成过程(图 2)^[24-25]。LuxS 系统已在 *S. marcescens* ATCC274 和 *S. marcescens* JG 等菌株中被发现, 该系统中负责合成信号分子的是 LuxS 蛋白, 缺失 *luxS* 基因会导致灵菌红素产量下降, 表明 AI-2 类信号分子能够促进灵菌红素的合成(图 2)^[26]。由于群体感应信号分子对灵菌红素的生成有促进作用, 因此可以在发酵过程中添加信号分子或发酵提取物, 以缩短发酵周期, 提高灵菌红素产量。

研究发现, 不同群体感应信号分子对灵菌红素合成的影响不同。例如, 在 *Serratia* sp. ATCC39006 和 *S. marcescens* ATCC274 菌株中均含有 SmaI/SmaR 和 LuxS, 但在 *Serratia* sp. ATCC39006 中缺失 *smaI* 或 *smaR* 基因会导致灵菌红素产量下降, 缺失 *luxS* 则不会对灵菌红素的合成产生影响; 在 *S. marcescens* ATCC274 中破坏任一系统均会导致灵菌红素不再产生^[26]。这表明不同灵杆菌菌株中的群体感应系统参与的生理活动存在差别, 因此有必要对群体感应系统的作用进行进一步研究, 以深入揭示其在灵杆菌生命活动和灵菌红素合成过程中的作用。

3 σ 因子

细菌的 RNA 聚合酶由两个 α 、 β 、 β' 、 ω 和 σ 共 6 个亚基组成, 其中 σ 因子负责识别靶基因启动子区序列和打开 DNA 双链, 起始转录过程。因此 σ 在调控基因转录水平和细菌生理活动的过程中发挥了重要作用^[27]。根据结构特点、作用方式和同源性上的差异可将细菌 σ 因子分为 σ^{70} 家族和

σ^{54} 家族, 其中 σ^{70} 家族包含了绝大多数的 σ 因子, 根据其功能差异、包含结构域情况、同源性和对细菌生长的必要性等差异分为 1 型 σ 因子(又称持家 σ 因子, housekeeping σ factor)、2 型 σ 因子、3 型 σ 因子(又称选择性 σ 因子, alternative σ factor) 和 4 型 σ 因子(胞外功能型 σ 因子, extracytoplasmic function σ factor)。细菌基因组中编码 σ 因子的基因数量与细菌生理活动的复杂程度及其所处的生存环境相关。一般来说, 细菌生理活动越复杂, 生存环境越多变, 其基因组编码的 σ 因子种类和数量越多^[27]。

灵杆菌基因组也编码了很多 σ 因子。例如, *S. marcescens* WW4 基因组编码了 8 个 σ^{70} 家族 σ 因子, 包括 1 个 1 型 σ 因子、1 个 2 型 σ 因子、1 个 3 型 σ 因子和 5 个 4 型 σ 因子, 以及 1 个 σ^{54} 家族 σ 因子。目前已发现将 2 型 σ 因子 RpoS 缺失后, 灵菌红素的产量上升, 表明 RpoS 能够负调控灵菌红素的合成(图 2)^[28]。然而其他 σ 因子对灵菌红素合成的影响尚不明确。灵菌红素的合成前体是脯氨酸、丝氨酸与 2-辛烯醛等初级代谢产物, 同时其合成过程与多种环境因素如温度、碳源、氮源、通气量、细胞密度和培养基中添加的金属离子密切相关, 这表明灵菌红素的合成受到菌体初级代谢的影响^[29]。而 σ 因子能够调控参与初级代谢、次级代谢和其他生理活动的相关基因, 在细菌中扮演了连接不同生理活动的桥梁的作用^[30], 因此深入研究 σ 因子在灵菌红素合成过程中的功能, 对进一步了解灵菌红素的合成具有重要的意义。

4 转录因子 (transcriptional regulator)

转录因子通过结合 DNA 来激活或抑制靶基

因的转录,其中转录激活因子往往通过增强 RNA 聚合酶与启动子区的结合或加速转录复合体中 DNA 双链打开的方式促进转录;转录抑制因子则通过与转录激活因子竞争结合位点、阻碍 RNA 聚合酶结合基因启动子区或阻碍转录延伸等方式抑制转录^[31]。转录因子可根据其结构特点、序列保守性和功能分为不同家族,灵杆菌基因组编码有大量不同家族的转录因子,例如, *S. marcescens* WW4 基因组预测编码属于 38 个家族的 346 个转录因子, *S. marcescens* FGI94 基因组预测编码属于 34 个家族的 286 个转录因子。这些转录因子调控了灵杆菌的不同生理活动,目前已发现一些转录因子可以响应外界环境和胞内环境的变化,直接或间接地调控灵菌红素的合成。

PigT 是响应胞内葡萄糖酸(gluconate)含量的 GntR 家族转录因子,当胞内葡萄糖酸含量较低时, PigT 结合在灵菌红素合成基因簇启动子区并促进其转录;当胞内葡萄糖酸含量上升时, PigT 与葡萄糖酸结合并从 DNA 上解离下来,从而解除对灵菌红素合成的促进作用(图 2)^[32]。环境 pH 值可以通过 LysR 家族转录因子 HexS (PigU)调控灵菌红素的合成:在酸性条件下, HexS 结合到灵菌红素合成基因簇启动子区,抑制靶基因的转录,从而负调控灵菌红素的合成(图 2)^[33-34]。此外,灵菌红素合成还受到胞内第二信使 cAMP 含量的调控,细菌中的 cAMP 受体蛋白 Crp (cAMP receptor protein)在胞内 cAMP 含量较高时,与 cAMP 结合并发生构象变化,与编码促进灵菌红素合成的 EepR/EepS 双组分调控系统中的响应调控蛋白的 *eepR* 基因启动子区结合,抑制 *eepR* 转录,从而间接负调控灵菌红素的合成(图 2)^[21,34]。cAMP-CRP 在大肠杆菌中调控碳代谢,灵菌红素的合成受到 cAMP

含量调控可能说明其合成与碳代谢相偶联^[21]。

一些调控其他生理活动的转录因子也可以调控灵菌红素合成,这再次说明在灵杆菌中,尽管灵菌红素属于次级代谢产物,但是与多种生理活动相偶联。*flhDC* 操纵子编码调控鞭毛形成的核心转录因子;同时,将其过表达会导致灵菌红素产量上升,表明该操纵子能够正调控灵菌红素合成(图 2)^[35]。ArsR 家族转录抑制因子 PigS 能够负调控 *blhA-orfY* 操纵子的转录,而 BlhA 和 OrfY 参与细菌中硫元素的还原过程;同时,这 2 个蛋白对灵菌红素的合成具有抑制作用,因此 PigS 可以通过抑制 *blhA-orfY* 操纵子的转录而正调控灵菌红素的合成(图 2)^[36]。LacI 家族转录因子 RsbR 促进细菌中气泡的形成;同时,将其缺失会导致灵菌红素不再合成,因此 RsbR 能够正调控灵杆菌中气泡结构的形成和灵菌红素的合成(图 2)^[37]。Rap (regulation of antibiotic and pigment)是 MarR 家族转录因子,它通过结合到启动子区的方式直接激活灵菌红素和碳青霉烯(carbapenem)的转录,促进这两种次级代谢产物的合成(图 2)^[38]。TetR 家族转录因子 PigZ 能够直接激活碳青霉烯的转录,同时间接地激活灵菌红素合成基因的转录,表明该转录因子通过不同的调控途径同时调控这两种抗生素的合成(图 2)^[39]。除以上直接或间接调控灵菌红素合成的转录因子外,转录因子 PigP 既可以直接激活灵菌红素合成基因簇的转录,也可以通过促进双组分调控系统 PigQ/PigW 和转录因子 PigS、Rap 的方式间接正调控灵菌红素的合成。因此 PigP 对灵菌红素合成的调控是多层次的^[22,36]。此外, PigP 的表达还受到 Crp 和 HexS 的抑制(图 2)^[34]。由此可见,灵杆菌中的转录因子在调控灵菌红素合成的同时,彼此之间还存在着复杂的调控关系,

深入发掘新的转录因子, 揭示不同转录因子之间的相互调控关系, 有助于进一步阐明灵菌红素调控网络, 为通过基因工程手段改造灵杆菌, 理性提高灵菌红素产量奠定理论基础。

5 展望

目前, 灵菌红素的合成途径已被阐明, 但调控灵菌红素合成的机制的研究还有待于进一步深入, 在本文中, 我们综述了目前发现的在转录水平上调控灵菌红素合成的研究进展。各种转录调控蛋白响应胞外/胞内信号, 对灵菌红素合成基因的转录进行直接或间接调控, 从而在不同层次上精细调控灵菌红素的合成, 使其快速适应环境的变化和细胞生理活动状态的改变。不难发现, 灵菌红素的合成受到多种调控系统严密调控的本质是灵菌红素的合成受到胞内胞外的众多信号以及灵杆菌生理活动的影响, 是灵杆菌复杂代谢网络的重要环节。深入研究各种信号和其他生理活动影响灵菌红素合成的机制, 对进一步阐明调控灵菌红素合成的机制具有重要意义。不断挖掘在转录水平上调控灵菌红素合成的机制, 寻找影响灵菌红素产量的转录调控基因, 并利用基因工程手段对其进行针对性改造, 将有助于提高灵菌红素产量。此外, 许多转录调控蛋白除调控灵菌红素合成外, 还能够调控灵杆菌的其他生理活动, 例如, PhoB/PhoR 双组分调控系统能够调控灵杆菌中磷代谢过程^[18], RpoS 在细菌进入稳定期以及在热激等胁迫条件下发挥了重要的调控作用^[27]。研究这些多效调控因子的功能、调控模式, 并对其进行改造, 有助于将灵菌红素产量与灵杆菌的生长状况等因素相关联, 理性改造灵菌红素高产菌株, 使其更适用于实际生产应用。

此外, 在灵菌红素合成调控和合成途径的研究中尚有一些重要问题未得到解答。例如: (1) 灵杆菌基因组编码了大量的转录因子、双组分调控系统和 σ 因子, 而这些调控蛋白中的大部分尚未被研究, 它们在灵菌红素合成中的作用有待于揭示。(2) 某些灵杆菌菌株中含有两套或更多的群体感应系统, 这些群体感应系统之间是否存在相互影响? 它们是否在促进灵菌红素合成的过程中存在协同/拮抗作用? (3) 温度对灵菌红素合成基因的转录有重大影响, 是影响灵菌红素合成的决定性因素, 然而响应温度调控的转录调控蛋白尚未被发现^[40]。(4) 灵杆菌中第二信使 c-di-GMP 的含量变化会导致灵菌红素合成基因的转录水平和灵菌红素产量大幅变化, 表明 c-di-GMP 可以在转录水平上调控灵菌红素的合成^[41]。一般第二信使需要通过具有转录调控功能的受体蛋白来影响靶基因的转录, 但在灵杆菌中, 调控灵菌红素基因转录的 c-di-GMP 受体蛋白还未被发现。(5) 不同灵杆菌菌株中, 灵菌红素合成基因簇的结构及基因簇中各基因功能相对保守, 但也有一定差异。例如在 *S. marcescens* ATCC274 菌株中, 灵菌红素合成基因簇两侧有调控胞内铜离子浓度的 *cueR* 和 *copA* 基因, 而在 *Serratia* sp. 39006 菌株中, 灵菌红素合成基因簇两侧编码有未知功能的 *orfY* 和 *orfZ* 基因, *pigN* 下游有不直接参与灵菌红素合成的 *pigO* 基因^[14-15,29]。对这些基因簇的差异进行系统分析, 将有助于通过基因工程改造灵菌红素合成基因簇, 促进灵菌红素产量提升。(6) 在其他一些合成灵菌红素及其衍生物的菌株, 如合成十一烷基灵菌红素(undecylprodigiosin)的天蓝色链霉菌(*Streptomyces coelicolor*)中含有编码途径特异性调控因子的基因 *redD* 和 *redZ*, 破坏这些基因后

灵菌红素合成基因的转录受阻，而胞内的多效调控因子和全局调控因子可以通过调控这些基因的表达来对十一烷基灵菌红素的合成进行级联调控^[14–15,42]，但在灵杆菌中尚未发现这些途径特异性调控因子的存在。因此这些途径特异性调控基因对不同种属微生物中灵菌红素的合成存在什么生理意义？对这些问题的深入研究有助于进一步阐明灵菌红素合成调控网络，并为通过基因工程技术构建高产菌株奠定理论基础，促进人们对灵菌红素的应用。

参 考 文 献

- [1] Hu DX, Withall DM, Challis GL, Thomson RJ. Structure, chemical synthesis, and biosynthesis of prodiginine natural products. *Chemical Reviews*, 2016, 116(14): 7818–7853.
- [2] Darshan N, Manonmani HK. Prodigiosin and its potential applications. *Journal of Food Science and Technology*, 2015, 52(9): 5393–5407.
- [3] Liu Y, Zhou H, Ma X, Lin C, Lu L, Liu D, Ma D, Gao X, Qian XY. Prodigiosin inhibits proliferation, migration, and invasion of nasopharyngeal cancer cells. *Cellular Physiology and Biochemistry*, 2018, 48(4): 1556–1562.
- [4] Pandey R, Chander R, Sainis KB. Prodigiosins: a novel family of immunosuppressants with anti-cancer activity. *Indian Journal of Biochemistry & Biophysics*, 2007, 44(5): 295–302.
- [5] Han SB, Park SH, Jeon YJ, Kim YK, Kim HM, Yang KH. Prodigiosin blocks T cell activation by inhibiting interleukin-2R α expression and delays progression of autoimmune diabetes and collagen-induced arthritis. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 2001, 299(2): 415–425.
- [6] Papireddy K, Smilkstein M, Kelly JX, Salem SM, Alhamadsheh M, Haynes SW, Challis GL, Reynolds KA. Antimalarial activity of natural and synthetic prodiginines. *Journal of Medicinal Chemistry*, 2011, 54(15): 5296–5306.
- [7] Genes C, Baquero E, Echeverri F, Maya JD, Triana O. Mitochondrial dysfunction in *Trypanosoma cruzi*: the role of *Serratia marcescens* prodigiosin in the alternative treatment of Chagas disease. *Parasites & Vectors*, 2011, 4: 66.
- [8] Stankovic N, Senerovic L, Ilic-Tomic T, Vasiljevic B, Nikodinovic-Runic J. Properties and applications of undecylprodigiosin and other bacterial prodigiosins. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 2014, 98(9): 3841–3858.
- [9] Arivizhivendhan KV, Mahesh M, Boopathy R, Swarnalatha S, Regina Mary R, Sekaran G. Antioxidant and antimicrobial activity of bioactive prodigiosin produces from *Serratia marcescens* using agricultural waste as a substrate. *Journal of Food Science and Technology*, 2018, 55(7): 2661–2670.
- [10] Kim D, Kim JF, Yim JH, Kwon SK, Lee CH, Lee HK. Red to red - the marine bacterium *Hahella chejuensis* and its product prodigiosin for mitigation of harmful algal blooms. *Journal of Microbiology and Biotechnology*, 2008, 18(10): 1621–1629.
- [11] Zhang HJ, Wang H, Zheng W, Yao ZY, Peng Y, Zhang S, Hu Z, Tao Z, Zheng TL. Toxic effects of prodigiosin secreted by *Hahella* sp. KA22 on harmful alga *Phaeocystis globosa*. *Frontiers in Microbiology*, 2017, 8: 999.
- [12] Hejazi A, Falkiner FR. *Serratia marcescens*. *Journal of Medical Microbiology*, 1997, 46(11): 903–912.
- [13] Elkenawy NM, Yassin AS, Elhifnawy HN, Amin MA. Optimization of prodigiosin production by *Serratia marcescens* using crude glycerol and enhancing production using gamma radiation. *Biotechnology Reports*, 2017, 14: 47–53.
- [14] Williamson NR, Fineran PC, Leeper FJ, Salmond GPC. The biosynthesis and regulation of bacterial prodiginines. *Nature Reviews Microbiology*, 2006, 4(12): 887–899.
- [15] Harris AKP, Williamson NR, Slater H, Cox A, Abbasi S, Foulds I, Simonsen HT, Leeper FJ, Salmond GPC. The *Serratia* gene cluster encoding biosynthesis of the red antibiotic, prodigiosin, shows species- and strain-dependent genome context variation. *Microbiology*, 2004, 150(11): 3547–3560.
- [16] Daniel-Ivad M, Pimentel-Elardo S, Nodwell JR. Control of specialized metabolism by signaling and transcriptional regulation: opportunities for new platforms for drug discovery? *Annual Review of Microbiology*, 2018, 72: 25–48.
- [17] Jacob-Dubuisson F, Mechaly A, Betton JM, Antoine R. Structural insights into the signalling mechanisms of two-component systems. *Nature Reviews Microbiology*, 2018, 16(10): 585–593.
- [18] Gristwood T, Fineran PC, Everson L, Williamson NR, Salmond GP. The PhoBR two-component system regulates antibiotic biosynthesis in *Serratia* in response to phosphate. *BMC Microbiology*, 2009, 9: 112.
- [19] Lin CS, Tsai YH, Chang CJ, Tseng SF, Wu TR, Lu CC, Wu

- TS, Lu JJ, Horng JT, Martel J, Ojcius DM, Lai HC, Young JD. An iron detection system determines bacterial swarming initiation and biofilm formation. *Scientific Reports*, 2016, 6: 36747.
- [20] Horng YT, Chang KC, Liu YN, Lai HC, Soo PC. The RssB/RssA two-component system regulates biosynthesis of the tripyrrole antibiotic, prodigiosin, in *Serratia marcescens*. *International Journal of Medical Microbiology*, 2010, 300(5): 304–312.
- [21] Stella NA, Lahr RM, Brothers KM, Kalivoda EJ, Hunt KM, Kwak DH, Liu XY, Shanks RMQ. *Serratia marcescens* cyclic AMP receptor protein controls transcription of EepR, a novel regulator of antimicrobial secondary metabolites. *Journal of Bacteriology*, 2015, 197(15): 2468–2478.
- [22] Fineran PC, Slater H, Everson L, Hughes K, Salmond GPC. Biosynthesis of tripyrrole and β -lactam secondary metabolites in *Serratia*: integration of quorum sensing with multiple new regulatory components in the control of prodigiosin and carbapenem antibiotic production. *Molecular Microbiology*, 2005, 56(6): 1495–1517.
- [23] Monson RE, Tashiro Y, Salmond GPC. Overproduction of individual gas vesicle proteins perturbs flotation, antibiotic production and cell division in the enterobacterium *Serratia* sp. ATCC 39006. *Microbiology*, 2016, 162(9): 1595–1607.
- [24] Thomson NR, Crow MA, McGowan SJ, Cox A, Salmond GPC. Biosynthesis of carbapenem antibiotic and prodigiosin pigment in *Serratia* is under quorum sensing control. *Molecular Microbiology*, 2000, 36(3): 539–556.
- [25] Tao YL, Morohoshi T, Kato N, Ikeda T, Zhuang HS. The function of SpnR and the inhibitory effects by halogenated furanone on quorum sensing in *Serratia marcescens* AS-1. *Acta Microbiologica Sinica*, 2008, 48(3): 391–397.
- [26] Coulthurst SJ, Kurz CL, Salmond GPC. *luxS* mutants of *Serratia* defective in autoinducer-2-dependent ‘quorum sensing’ show strain-dependent impacts on virulence and production of carbapenem and prodigiosin. *Microbiology*, 2004, 150(6): 1901–1910.
- [27] Paget MS. Bacterial sigma factors and anti-sigma factors: structure, function and distribution. *Biomolecules*, 2015, 5(3): 1245–1265.
- [28] Wilf NM, Salmond GPC. The stationary phase sigma factor, RpoS, regulates the production of a carbapenem antibiotic, a bioactive prodigiosin and virulence in the enterobacterial pathogen *Serratia* sp. ATCC 39006. *Microbiology*, 2012, 158(3): 648–658.
- [29] You ZY, Wang YJ, Sun SQ, Liu XX. Progress in microbial production of prodigiosin. *Chinese Journal of Biotechnology*, 2016, 32(10): 1332–1347. (in Chinese)
尤忠毓, 王玉洁, 孙诗清, 刘晓侠. 微生物发酵法生产灵菌红素研究进展. *生物工程学报*, 2016, 32(10): 1332–1347.
- [30] Sun D, Liu C, Zhu JR, Liu WJ. Connecting metabolic pathways: sigma factors in *Streptomyces* spp.. *Frontiers in Microbiology*, 2017, 8: 2546.
- [31] Browning DF, Busby SJW. Local and global regulation of transcription initiation in bacteria. *Nature Reviews Microbiology*, 2016, 14(10): 638–650.
- [32] Fineran PC, Everson L, Slater H, Salmond GPC. A GntR family transcriptional regulator (PigT) controls gluconate-mediated repression and defines a new, independent pathway for regulation of the tripyrrole antibiotic, prodigiosin, in *Serratia*. *Microbiology*, 2005, 151(12): 3833–3845.
- [33] Stella NA, Fender JE, Lahr RM, Kalivoda EJ, Shanks RMQ. The LysR transcription factor, HexS, is required for glucose inhibition of prodigiosin production by *Serratia marcescens*. *Advances in Microbiology*, 2012, 2(4): 511–517.
- [34] Shanks RMQ, Lahr RM, Stella NA, Arena KE, Brothers KM, Kwak DH, Liu XY, Kalivoda EJ. A *Serratia marcescens* PigP homolog controls prodigiosin biosynthesis, swarming motility and hemolysis and is regulated by cAMP-CRP and HexS. *PLoS One*, 2013, 8(3): e57634.
- [35] Hampton HG, McNeil MB, Paterson TJ, Ney B, Williamson NR, Easingwood RA, Bostina M, Salmond GPC, Fineran PC. CRISPR-Cas gene-editing reveals RsmA and RsmC act through FlhDC to repress the SdhE flavinylation factor and control motility and prodigiosin production in *Serratia*. *Microbiology*, 2016, 162(6): 1047–1058.
- [36] Gristwood T, McNeil MB, Clulow JS, Salmond GPC, Fineran PC. PigS and PigP regulate prodigiosin biosynthesis in *Serratia* via differential control of divergent operons, which include predicted transporters of sulfur-containing molecules. *Journal of Bacteriology*, 2011, 193(5): 1076–1085.
- [37] Lee CM, Monson RE, Adams RM, Salmond GPC. The LacI-family transcription Factor, RbsR, is a pleiotropic regulator of motility, virulence, siderophore and antibiotic production, gas vesicle morphogenesis and flotation in *Serratia*. *Frontiers in Microbiology*, 2017, 8: 1678.
- [38] Thomson NR, Cox A, Bycroft BW, Stewart GSAB, Williams P, Salmond GPC. The *rap* and *hor* proteins of *Erwinia*, *Serratia* and *Yersinia*: a novel subgroup in a growing superfamily of proteins regulating diverse physiological

- processes in bacterial pathogens. *Molecular Microbiology*, 1997, 26(3): 531–544.
- [39] Gristwood T, Fineran PC, Everson L, Salmond GPC. PigZ, a TetR/AcrR family repressor, modulates secondary metabolism via the expression of a putative four-component resistance-nodulation-cell-division efflux pump, ZrpADBC, in *Serratia* sp. ATCC 39006. *Molecular Microbiology*, 2008, 69(2): 418–435.
- [40] Xu H, Xu MJ, Yang TW, Rao ZM. Effect of temperature on prodigiosin synthesis in *Serratia marcescens*. *Acta Microbiologica Sinica*, 2014, 54(5): 517–524. (in Chinese)
- 徐虹, 徐美娟, 杨套伟, 饶志明. 温度对粘质沙雷氏菌合成灵菌红素的影响. *微生物学报*, 2014, 54(5): 517–524.
- [41] Fineran PC, Williamson NR, Lilley KS, Salmond GPC. Virulence and prodigiosin antibiotic biosynthesis in *Serratia* are regulated pleiotropically by the GGDEF/EAL domain protein, PigX. *Journal of Bacteriology*, 2007, 189(21): 7653–7662.
- [42] Liu G, Chater KF, Chandra G, Niu GQ, Tan HR. Molecular regulation of antibiotic biosynthesis in *Streptomyces*. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 2013, 77(1): 112–143.

Research progress in transcriptional regulation of prodigiosin biosynthesis in *Serratia marcescens*

Di Sun, Cong Liu, Weijie Liu*

School of Life Sciences, Jiangsu Normal University, Xuzhou 221116, Jiangsu Province, China

Abstract: Prodigiosin is a red pigment with multiple biological activities, and of great economic value with promising application. *Serratia marcescens* is a major producer of prodigiosin, and the model organism for prodigiosin biosynthesis research. This paper reviews recent progresses in transcriptional regulation of prodigiosin synthesis in *S. marcescens*, illustrating the function of two/multiple component system, quorum sensing system, σ factor and transcriptional regulator in modulating prodigiosin biosynthesis. Moreover, further research focuses are discussed.

Keywords: *Serratia marcescens*, prodigiosin, transcriptional regulation

(本文责编: 李磊)

Supported by The National Natural Science Foundation of China (31800020, 31300054) and by the Natural Science Foundation of Jiangsu Province (BK20181009, BK20171163)

*Corresponding author. Tel: +86-516-83403173; E-mail: leonliu2013@126.com

Received: 24 November 2018; Revised: 9 March 2019; Published online: 11 July 2019