

DOI: 10.13376/j.cbls/2018036

文章编号: 1004-0374(2018)03-0285-08

Sigma因子高效调控微生物多功能研究进展

胡莉¹, 谭泽文¹, 郜晨¹, 谭习羽², 谭志远^{1*}

(1 华南农业大学农学院, 广州 510642; 2 华南农业大学资源环境学院, 广州 510642)

摘要: Sigma 因子分为两大类, 分别为 σ^{70} 家族和 σ^{54} 家族。 σ^{70} 家族的基础 sigma 因子, 一般指导基因转录、应激反应、细胞发育以及辅助代谢, 而 σ^{54} 家族参与细菌的氮和碳水化合物代谢、生物膜形成等。近年来研究发现, 宿主体内的 sigma 因子可通过调节基因表达来响应外界环境的改变、细胞发育信号以及指导生物代谢的合成; 并且还发现原核生物有抗-sigma 因子和抗-抗 sigma 因子存在。一些微生物体内的 sigma70 因子能调控其抗生素、激素或某些代谢产物的产生, 指导细胞耐酸、耐高渗或耐高温等胁迫条件, 还能增强微生物的生长能力; sigma54 因子通常也能调节生物体代谢途径及氮源利用, 参与生物固氮调控等。为了揭示 sigma 因子在高效调控生物多功能方面的研究成果, 现对 sigma 因子及相关因子的结构特点、作用机制、生物多功能以及 sigma 因子调控固氮功能等方面进行阐述。

关键词: Sigma 因子; 生物功能; 转录起始; 调控

中图分类号: Q935

文献标志码: A

Advances in the high efficient regulation of microbiological functions by sigma factors

HU Li¹, TAN Ze-Wen¹, GAO Chen¹, TAN Xi-Yu², TAN Zhi-Yuan^{1*}

(1 College of Agriculture, South China Agricultural University, Guangzhou 510642, China;

2 College of Natural Resources and Environment, South China Agricultural University, Guangzhou 510642, China)

Abstract: Sigma factors are divided into two families: σ^{70} and σ^{54} . The family σ^{70} generally guides the gene transcription, stress response, cell development and auxiliary metabolism. The family σ^{54} is involved in bacterial nitrogen and carbohydrate metabolism, biofilm formation. In recent years, the gene expression in response to the environmental changes, the cell development signal, and the synthesis of biological metabolism regulated by the sigma factors in the host have been found. Furthermore, there are anti-sigma and anti-anti sigma factors in prokaryotes. The sigma70 factor in some microbes regulates the production of antibiotics, hormones or metabolites, guides cells to respond to tolerate acid, hypertonic or high temperature stress conditions, and enhances the growth of microorganisms. The sigma54 factor can also regulate biological metabolic pathways and nitrogen source utilization, participate in biological nitrogen fixation regulation and so on. The mechanism, structure, bio-function, related factors of sigma factors and the regulation of nitrogen fixation by sigma factors will be elaborated in this review in order to reveal the research progress of sigma factors in the efficient regulation of bio-function.

Key words: sigma factor; biological function; transcription initiation; regulation

收稿日期: 2017-09-19; 修回日期: 2017-10-26

基金项目: 国家自然科学基金项目(31370052); 广东省科技项目(2014A050503058, 2014A030313459, 2016B020242005); 广东省引进创新科研团队(2013S033)

*通信作者: E-mail: zytan@scau.edu.cn

Sigma 因子 (σ 因子, σ factor) 是 RNA 聚合酶 (RNA polymerase, RNAP) 全酶的固有组分, 能可逆地与 RNAP 核心酶的活性催化位点结合, 从而组成 RNAP 全酶。微生物体内的 sigma 因子可分为两大类, 分别为 σ^{70} 家族和 σ^{54} 家族, 并且各具特征和特有功能。Sigma 因子对转录起始的作用是基于其参与形成 RNAP 后特异性识别并结合启动子共有序列, 从而达到对相关基因的调控; 而未结合 sigma 因子的核心酶无法启动 DNA 合成。当 sigma 因子参与形成全酶后, 活性会立即恢复并促进合成的进行^[1]。

Schnider 等^[2] 将荧光假单胞菌 (*Pseudomonas fluorescens*) 的 RpoD 基因整合到具有强启动子的质粒上, 导入细菌体内后发现其产生的抗生素 Plt 产量提高了 7 倍。此外, 通过敲除荧光假单胞菌 RpoS 基因, 发现其相应代谢产物——吩嗪-1-羧酸产量较野生菌株提高 5 倍左右^[3]。由此可见, 利用强启动子合成基础 sigma 因子能够高效促进生物合成。此外, Oliveira 等^[4] 在研究固氮菌时发现铵抑制 NifA 蛋白活性后, 降低了 sigma54 与 NifA 的结合效率, 从而形成胁迫效应, 说明 sigma 因子对固氮菌的生存能力起到一定的调节作用。生物固氮作为固氮菌特有的生物功能, 其对于工农业生产具有重要的意义, 而 sigma 因子提高固氮菌固氮酶活性的研究还鲜有报道。因此, 本文对 sigma 因子的结构特点、作用机制、相关因子和生物功能进行综述, 并对 sigma 因子提高固氮能力等方面做出展望。

1 Sigma因子的分类及其结构特征

1.1 Sigma因子的分类

微生物体内的 sigma 因子是一个大家族, 通过该因子的序列分析鉴定, 可将其分为两大类, 它们分别是 sigma70 因子和 sigma54 因子, 又称为 σ^{70} 家族和 σ^{54} 家族。

大多数 sigma 因子属于 σ^{70} 家族, 依其基因结构与功能, 可将该家族分成四个系统发生组^[5]。第一个系统发生组是由主要 sigma 因子组成的基础 sigma 因子^[6], 主要是负责生物体内大部分基因的转录, 又被称为全局调控因子, 例如大肠杆菌 (*Escherichia coli*) 的 RpoD^[7]。相关研究证明, 所有的原核生物都只有一个基础 sigma 因子^[8], 由 RpoD 基因编码^[9]。第二种 sigma 蛋白对于细菌细胞生长是不必要的, 称为非必需 sigma 因子^[10], 它与主要 sigma 因子的 DNA 结合区氨基酸序列具有高度相似性, 可能识别相似的启动子序列^[8], 如沙

门氏菌属 (*Salmonella* sp.) 的 RpoS^[11]。第三类为选择性 sigma 因子, 可进一步分成多个功能相关蛋白簇, 从而能选择性地调控基因转录, 响应一些特殊的环境压力, 如高温、高渗、重金属离子等。例如枯草芽孢杆菌 (*Bacillus subtilis*) 的 SigI^[12]。最后一组 sigma 因子为高度发散的胞外功能 sigma 因子 (ECF sigma factor), 其数量种类最多, 约占家族的 60%。大多数成员响应来自胞质外环境的信号^[6], 如枯草芽孢杆菌的 SigW 响应高温信号^[13] 以及假单胞菌属 (*Pseudomonas*.) 的 AlgU 应对干燥和渗透压的信号刺激^[14]。

另外一类少数 sigma 因子与大多数的 sigma 因子差异甚大, 它们属于 σ^{54} 家族^[15]。其与 σ^{70} 的结构差异在于与核心酶的结合位点不同。该家族许多成员在细胞的许多代谢过程中起着重要的作用, 如参与细菌的氮代谢、碳水化合物代谢、生物膜形成以及运动性等^[16]。Sigma54 因子又称为 sigma N 因子, 由 Garcia 等^[17] 在 *Salmonella typhimurium* 中发现, 之后 Helmann 等学者确定其为 RpoN 基因产物。

两类 Sigma 因子家族成员分类及其主要功能具体见表 1。

1.2 Sigma因子的结构及其特征

每一类 sigma 因子的结构各具特征。在 σ^{70} 家族中, 基于其序列同源性, 可将其划分为 4 个区域, 每个区域执行着不一样的任务和功能^[5]。 σ^{54} 家族序列和对基因的调控机理与 σ^{70} 家族差异甚大。据了解, 未结合核心酶的 sigma54 因子也可特异识别 DNA 上的启动子^[25]。下面将具体介绍这两大家族的相关结构与特点。Sigma70 家族成员的序列比对显示, 可将其进一步区分为亚结构域的 4 个保守区域 (图 1)。其中, 区域 1 的大部分只在基础 sigma 因子和非必需 sigma 因子中保守, 该区域可能在抗 σ 因子的 DNA 结合活性中起作用^[26]。区域 2 是最保守的区域, 且可进一步分为 5 个子区域。区域 2.1 对与核心 RNAP 亚基的相互作用有重要影响, 区域 2.2 提供一个带正电的残基, 进而促进与模板链的相互作用; 区域 2.3 涉及 DNA 熔解。亚区域 2.4 则与 DNA 结合紧密相关, 它涉及识别 -10 启动子元件, 即位于转录起始点上游约 10 个核苷酸的区域^[27], 其突变会改变与 -10 启动子元件的特异相互作用^[28]。区域 2.5 参与大肠杆菌启动子中位于 -14 和 -15 位的核苷酸接触^[29], 而枯草芽孢杆菌中为 -16 启动子共有序列^[30]。区域 3 和区域 4 均被分成 2 个子区域。亚区域 3.1 包含螺旋-转角-螺旋 DNA 结合基序,

较不保守的区域 3.2 可能参与结合 RNAP 核心酶^[31]。区域 4.1 在转录起始期间结合某些转录激活子, 亚区域 4.2 的突变影响 RNAP 全酶识别距离转录起始点约 335 个核苷酸的启动子元件, 因此其同样识别启动子序列^[32]。

$\sigma 70$ 家族在功能上不同区域的线性分割揭示了主要 σ 因子具有 3 个灵活连接的紧密结构域—— $\sigma 2$ 、 $\sigma 3$ 和 $\sigma 4$ (图 1), 它们分别结合区域 2、3 和 4^[33]。

Sigma54 家族在结构上不同于 sigma70 家族, 基于其家族蛋白之间的同源性, 可将其划分为 3 个结构域^[34](图 2)。区域 I 是富含谷氨酰胺的结构域, 该区域包含了 25~50 个氨基酸; 在该区域之后是一个可变结构域——区域 II, 通常含 60~110 个氨基酸, 决定 DNA 的开放; 区域 III 位于 C 末端, 约 400

个氨基酸, 是三个区域当中最大的结构域, 并含有 X 连接区^[35]。其中, 区域 III 显示其交联 DNA 和两个良好保守的基序(亮氨酸拉链基序)——螺旋-转角-螺旋 (HTH) 区和 RpoN 盒, 两者均参与 sigma54 依赖性启动子区的识别^[36]。研究发现, 两个亮氨酸拉链基序有助于将聚合酶定位在 DNA 区域附近。RpoN 盒含有一段具有 10 个氨基酸的保守区——ARRTVAKYRE, 即大肠杆菌 RpoN 的 363 和 383 位氨基酸之间区段, 其附近的单点突变破坏了 sigma54 结合 DNA 的能力^[37], 表明 RpoN 盒中的保守区与结合 DNA 密切相关。

2 Sigma因子的作用机制

σ 因子是属于细菌 RNA 聚合酶结构中参与启

表1 Sigma因子家族成员分类及主要功能

家族种类	家族成员	主要功能	部分菌株	参考文献
$\sigma 70$ 家族	基础sigma因子	调控大部分基因转录	大肠杆菌Sig70	[7]
	非必需sigma因子	与主要sigma因子高度相似, 识别启动子序列	链霉菌属HrdB	[18]
			芽孢杆菌属SigA	[19]
			天蓝色链霉菌HrdA、C、D	[20]
	可选择sigma因子	选择性调控基因转录, 响应环境胁迫(热激、饥饿、高渗、重金属离子等)	假单胞菌属RpoS	[21]
胞外功能sigma因子	调控某些细胞代谢及响应胞外环境信号(干燥、渗透压信号、高温等)	大肠杆菌RpoH	[22]	
		枯草芽孢杆菌SigB	[23]	
$\sigma 54$ 家族	-	调控细胞代谢、应激胁迫反应、生物膜形成、毒力反应、细胞运动活力	假单胞菌属AlgU	[14]
			枯草芽孢杆菌SigW、X、Y	[13]
			蜡样芽孢杆菌RpoN	[16]
			苏云金芽孢杆菌SigL	[24]

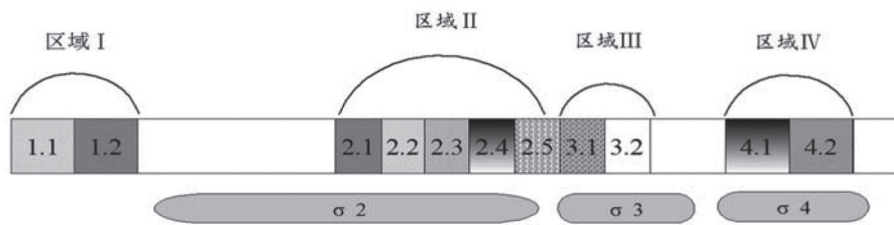


图1 Sigma70家族的结构特征^[26]

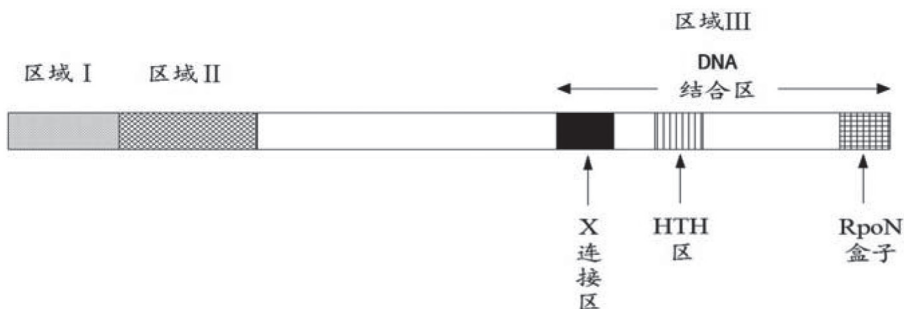


图2 Sigma54家族的结构特征^[15]

动子识别和转录的一类蛋白质,能促进转录起始,主要发生在 RNA 聚合酶-DNA 的结合或者是 RNA 合成开始阶段^[38]。已知核酸带正电,核心酶带负电,在静电引力作用下,两者发生松弛的非特异性结合;当 σ 因子与核心酶结合形成全酶,会使这种非特异性结合的亲和系数明显下降,核酸与核心酶的结合复合体在极短的时间内分离。这时, RNA 聚合酶全酶能够与 DNA 上的启动子特异结合, RNA 的合成便从正确的部位开始进行。当反应开始后, σ 因子会先游离出来,剩下的核心酶则进行后续 RNA 链的延长反应,而游离的 σ 因子会参与下一次反应,重新被利用,并确保下一次反应的顺利进行^[39]。

3 Sigma因子的生物功能研究

基于 sigma 因子家族的结构特征发现,每个成员均具备其各自特有的功能作用。如 σ^{70} 家族的基础 sigma 因子,一般指导基因转录的进行;其他三组因子则具以下三大类功能:应激反应、发育以及辅助代谢^[6]。 σ^{54} 家族参与细菌的氮代谢、碳水化合物代谢、生物膜形成等。近些年来,大量的研究结果显示了 sigma 因子对于生物功能调控的重要性。

3.1 Sigma70家族功能研究

目前,将可再生生物质资源进一步转化为更高价值产品是一个热点话题。有学者在低 pH 条件下研究微生物敏感性时发现,微生物原料的酸水解以及新陈代谢受到限制,后采用三步法,即随机插入缺失链替换诱变 (random insertional-deletional strand exchange mutagenesis, RAISE) 来设计大肠杆菌全局调控因子 RpoD 的组分,结果诱变后的 Mutant VII 在 pH 低至 3.17 时,其生长速率明显高于对照,且耐酸性显著提高;此外,大肠杆菌基因中有 95 个 (2.1%) 被诱导,178 个 (4.0%) 被抑制,其核苷酸合成、氨基酸利用等生物合成与代谢受到严重影响^[40]。可见, RpoD 在大肠杆菌的生长中充当全局调控因子,因此改善其酸耐受性。

自然环境中的细菌细胞会时常面临环境挑战,如热、氧化剂或高渗性休克等胁迫^[41-42]。为解决 RpoE 和 RpoS 在响应高渗胁迫的基因表达变化的调节中的疑问, Du 等^[43] 构建伤寒沙门氏菌 DrpoE/DrpoS 双突变株,发现突变菌株在高渗透压浓度下的标准培养基 (LB) 中生长时比野生型菌株生长更慢,而在低渗透条件下突变菌株和野生型菌株的生长无显著差异。并且在早期高渗条件下,肠炎沙门氏菌血清型伤寒菌的 RpoS 响应高渗胁迫信号使其

耐受胁迫环境^[11];结果表明, RpoE 和 RpoS 对于伤寒沙门菌对高渗环境的适应是很重要的。作为光合菌的蓝细菌 (*Cyanobacteria*), 自然环境的各种胁迫对其光合器官会有一些的破坏^[44]。Pollari 和 Tyystarvi^[45] 将耐受葡萄糖的对照菌株和失活菌株 $\Delta sigB$ 在盐胁迫条件下培养。胁迫初期,对照组的光饱和 PSII 活性降低了约 70%,而 $\Delta sigB$ 的活性则减少了 80% 以上;随胁迫时间延长,对照组恢复了初始 PSII 能力,但 $\Delta sigB$ 菌株仅部分恢复。因此, *sigB* 基因与蓝细菌对盐胁迫的耐受能力息息相关;其研究还发现,在盐胁迫中,实验组较对照组产生更少的转录产物,说明 *sigB* 基因在蓝细菌的生长代谢过程中起着重要的作用。

谢妙妙^[46] 通过构建 3 个 ECF 基因缺失突变鸭疫里氏杆菌株,发现其在 H_2O_2 、胆盐以及酸性胁迫环境下的生长较野生型菌株慢,表明 ECF sigma 因子对于 RA 致病菌在胁迫环境下的耐受能力具有关键的调控能力,通过该手段可缓解该致病菌对家禽的影响。此外,朱栋华等^[47] 研究发现荧光假单胞菌 RpoS 的失活以及 RpoD 的过表达会提高抗生素 Plt、Phl、PCA 的产量,其中 RpoS 的失活会造成抗生素 Prn 合成停止;而铜绿假单胞菌 (*Pseudomonas aeruginosa*) RpoD 的过表达会抑制类黏蛋白的产生以及降低藻酸盐的合成^[48];牙龈卟啉单胞菌 (*Porphyromonas gingivalis*) 中 ECF 因子 PGN.1740 和 PGN.0274 突变体菌株调控并增强生物膜形成^[49];阿维链霉菌 (*Streptomyces avermitilis*) sigma8 通过间接压制表达簇位置的激活基因 *aveR* 来抑制阿维菌素 (除虫菌素) 的产生,同时直接启动能编码 *aveR* 基因阻遏物的下游基因 *sav.742* 的转录^[50]。

3.2 Sigma54家族功能研究

σ^{54} 家族在细菌中功能也是不可忽视的。研究表明,枯草芽孢杆菌 SigL 参与调节冷休克适应、许多氨基酸的分解代谢途径^[51]。近些年,有国内学者研究发现,缺乏 SigL 编码基因的苏云金芽孢杆菌 HD73 突变体在各种氮源中的生长能力相对于野生型 HD73 菌株较弱,并通过生物信息学和功能测定发现,HD73 突变体中的基因转录活性也有降低^[24]。可见, SigL 对细菌的氮源利用具有一定的调节功能。

Hayrapetyan 等^[16] 通过比较和分析在静态和厌氧条件下的蜡状芽孢杆菌 (*Bacillus cereus*) 野生型、无标记 RpoN 缺失突变体以及 RpoN 突变菌株的回复株,发现突变体菌株的生长较野生型菌株受损显

著; 有氧时影响相对较小; RpoN 突变体孢子数在充气 48 h 后显著降低, 并且在空气-液体界面处形成附着于聚苯乙烯或不锈钢表面的生物膜丧失, 表明 RpoN 基因对蜡状芽孢杆菌耐低温厌氧条件、生物膜形成以及生长代谢过程起到一定的调节和控制作用。以上研究结果表明, 微生物体内具有复杂多样的代谢途径, 同时有着相应的基因对其进行指导, 但往往也需要其他蛋白分子的协助才能维持生物代谢的正常运行, 而 sigma 因子就是不可或缺的一个重要成分。

3.3 Sigma因子与生物固氮

生物固氮是依靠固氮菌固定大气中的氮气, 其耗能小以及有害副产物少, 已被应用生产实践。植物内生固氮菌长期或者周期性地定殖于宿主植物体内, 不会危害宿主植物, 反而可以促进宿主生长或协助宿主植物缓解生物或者非生物胁迫, 并且其固氮作用也被视为一类不可忽视的固氮体系; 植物内生固氮菌不仅可以为宿主植物提供氮肥, 减少化肥的使用和过度浪费, 也可以协助宿主植物缓解环境胁迫和生物胁迫, 因此对于工农业生产具有重要意义。

植物内生固氮菌能够定殖在一些健康的植物体内, 并且可以与宿主植物进行联合固氮, 从而保证植物体能正常生长发育。目前已报道的许多内生固氮菌对植物体具有促生作用, 且能提高农作物产量和质量, 如澳洲野生稻 (*Oryza australiensis*) 中分离出的内生固氮菌伯克氏菌属 (*Burkholderia*)^[52]、普通野生稻 (*Oryza rufipogon*) 中分离的 β - 变形菌属 (*Ideonella*)^[53] 以及糖蜜草 (*Melinis minutiflora*) 中分离的糖蜜草固氮螺菌 (*Azospirillum melinis*)^[54] 等。据有关文献记载, 固氮菌的固氮酶活/固氮能力由固氮基因 *nif* 指导和表达, 固氮基因的表达产物包括 NifH 蛋白和 NifDK 蛋白, 又分别被称作 Fe 蛋白及 Mo-Fe 蛋白; 并且固氮酶活性受到多种因素胁迫, 如 C/N、温度、湿度、氧分压、盐浓度、碳源类型、铵浓度、pH 等^[55]。研究发现胞外功能 sigma 因子具有调控含铁蛋白的相关转运机制^[56]; NifA 蛋白的中间结构域 AAA+ 模块具有与 sigma54 结合并水解 ATP 重构 RNAP 的能力, 因此在铵抑制 NifA 蛋白活性后, NifA 与 sigma54 结合效率降低^[4], 从而推测其在高铵离子浓度条件下可能是通过此途径降低了 *Herbaspirillum seropedicae* 的生物固氮能力; 根际细菌施氏假单胞菌中固氮基因 *nifS* 的表达由 sigma 因子 RpoN/ 全局氮活化剂 NtrC/nif 特异性

活化剂 NifA 三者级联调节激活^[57]; 丝状蓝细菌 PCC7120 菌株中参与固氮代谢的调节剂 NrrA 可以特异性地结合 RNAP 中 SigE 的启动子区域^[58]。我们实验室以巴西固氮螺菌 (*Azospirillum brasilense*) sp7、喜盐固氮螺菌 (*Azospirillum halopraeferens*) DSM3675、喜硫固氮螺菌 (*Azospirillum thiophilum*) ASM96082v1、产脂固氮螺菌 (*Azospirillum lipoferum*) 4B 菌株基因组为研究对象, 发现每一类固氮螺菌中均存在多种 sigma 因子。为进一步研究 sigma 因子在固氮螺菌中的作用, 我们对巴西固氮螺菌基因组进行了 sigma 基因——*RpoD* 克隆和在大肠杆菌中的表达, 发现巴西固氮螺菌 *RpoD* 在大肠杆菌中的强表达对其多种生物代谢功能产生了极大的影响。所以, 我们推测 *RpoD* 的过表达或 *RpoD* 的缺失突变可能也会显著影响巴西固氮螺菌的生物固氮及其他生物代谢途径, 这个还需在后续的研究工作中得以验证。

在植物共生固氮菌中, 苜蓿中华根瘤菌 (*Sinorhizobium meliloti*) 中固氮基因的表达主要受氧气张力所控制; 在低氧压下, 氧传感器 FixL 自磷酸化, 并将磷酸盐转移到其同源响应调节剂 FixJ, 后者被激活后诱导 *nifA* 和 *fixK* 基因的转录, 随后 NifA 与 RpoN 一起指导 *nifHDKE* 和 *fixABCX* 操纵子进行固氮基因转录^[59]。中慢生型百脉根根瘤菌代谢物 FixV 激活 *nifA2* 的表达, 而 NifA2、RpoN1 和 RpoN2 协同作用激活 *prxS-rpoN2* 和 *fixABCX-nifA1* 操纵子的表达; 除此之外, NifA1 和 NifA2 在 RpoN2 的协同作用下激活固氮酶相关操纵子的表达^[60]。菜豆根瘤菌 (*Rhizobium etli*) *rpoN2* 基因 (位于 *nifA* 基因上游并与之成簇) 具有调节其共生固氮作用; 而 *rpoN2* 突变菌株的表型与野生型无任何差异, 但是却使其共生固氮能力降低 90%, 表明 *rpoN2* 基因是共生固氮作用的重要拷贝^[61]。此外, Mitsui 等^[62] 发现, 苜蓿根瘤菌 *rpoH1* (σ^{32} 型蛋白) 突变菌株在苜蓿结瘤后的共生固氮活性降低, 表现出共生相关表型的缺陷型变化。由此, 说明 sigma 因子的过表达和缺失突变会明显提高或降低根瘤菌的共生固氮能力。

因此, sigma 因子可以直接或间接地参与固氮菌的生物固氮代谢途径中, 并对其进行调节, 而对于 sigma 因子调控固氮能力还有待研究。

4 其他相关因子研究

除 sigma 因子外, 研究还发现有抗 -sigma 因子,

它最开始是从 T4 噬菌体中分离出的^[63]。该因子能够对 sigma 因子所指导的基因转录进行负调控, 同时它的过量表达可能会导致生物体内的转录起始终止, 从而抑制相关基因的表达^[64]。此外, RsbV 为抗-抗-sigma 因子, 其功能则是对抗-sigma 因子所指导的基因表达或代谢通路进行相应的调节和控制^[65], 从而使得生物体代谢合成平衡进行。抗-sigma 因子调节可选择性 sigma 因子所控制的众多调节子的表达, 又通过其本身的细胞分泌(即 FlgM 通过钩-基体输出)、抗-抗 sigma(即磷酸化调节的配偶体转换模块)的螯合以及与胞质内蛋白或小分子的相互作用进行调节(即胞外功能 sigma 因子的跨膜调节子)^[66-67]。

研究发现, 早期慢性铜绿假单胞菌呼吸道感染中的必需基因 SbrR 编码抑制其同源胞质功能 sigma 因子 SbrI 活性的抗 sigma 因子。细菌双杂交分析发现 SbrR 的 N 末端区域与 SbrI 直接作用, 抑制了 SbrI 依赖性基因的表达。当细胞内缺乏 SbrR 时, 突变株 muiA 的 SbrI 依赖性表达会抑制菌体活力, 促进生物膜的形成^[68]。可见, 抗 sigma 因子 SbrR 与 sigma 因子 (ECF sigma 因子 SbrI) 相互作用, 从而调节铜绿假单胞菌的活力和生物膜形成。

通过细菌双杂交、免疫沉淀以及聚丙烯酰胺凝胶实验发现, 天蓝色链霉菌 (*Streptomyces coelicolor*) 体内的抗 sigma 因子 prsI、抗-抗 sigma 因子 arsI 与其可选择性 sigma 因子 sigI 相互作用。敲除 *S. coelicolor* M145 菌株中的 sigI 基因对生长、应激反应和分化没有明显的影响, 同时转录分析表明 sigI 由单个启动子引导, arsI 由单一组成型启动子引导, prsI 由两个串联启动子引导, 三者均在渗透胁迫下诱导。体外的磷酸化反应揭示 arsI 对于 prsI 是一种拮抗剂, prsI 对于 arsI 是一特定激酶^[69]。以上结果证明, 天蓝色链霉菌的 sigI 在渗透胁迫反应中的作用由 prsI 与 arsI 的合作切换机制调控。

可见, 在原核生物的基因表达调控中存在着 sigma 因子、抗-sigma 因子、抗-抗-sigma 因子三种调控因子, 三者之间共同作用与调控, 从而使得生物体的生长代谢得以规律而有序的进行, 并顺利适应内外环境的变化。

5 结论与展望

Sigma 因子的种类、分布及其结构功能特性呈多样性, 在多种原核生物体内均可发现, 并且在生物体的各个生长阶段起着不同的作用。其中, sigma70

家族各成员能够增强生物体对外界环境胁迫的耐受力和抵抗作用等, 而 sigma54 家族则对于生物体自身的生长、代谢合成以及拮抗性起着不可或缺的作用。近些年, 对于该类因子的相关分子研究迅速发展, 国内外对其各家族成员的生物功能性探索正趋热化。目前微生物的许多功能作用也都普遍应用于农业生产当中, 如高效溶磷解钾作用以及拮抗致病菌等作用; 并成功地地为农作物质量和产量作出了一定的贡献, 固氮微生物也不例外。生物固氮是一个复杂的生物代谢调控过程, 在其固氮反应中, 固氮酶起着尤为重要的作用。固氮酶由钼铁蛋白和铁蛋白组成, 其生物合成受多个操纵子调控; 其中钼铁蛋白中包含了钼铁辅因子和 P-簇, 而钼铁辅因子的生物合成与 [2Fe-2S] 和 [4Fe-4S] 的形成紧密相关。而研究表明, 胞外功能 sigma 因子可调控铁离子的利用, 因此在固氮菌胞内可能存在相关 sigma 因子可以调控固氮酶生物合成中的某一个或多个基因, 从而提高固氮酶的活性。若将 sigma 或其相关因子与强启动子的结合体导入固氮微生物中, 是否能促进其固氮能力; 若在增强代谢过程中是否能够同时提高或保证生物体生存能力不受影响; 又或者当 sigma 因子增强相关代谢能力后是否会削弱生物体的其他代谢途径。这一系列问题仍需在以后的研究中寻求答案。

[参 考 文 献]

- [1] Lin W, Mandal S, Degen D, et al. Structural basis of *Mycobacterium tuberculosis* transcription and transcription inhibition. *Mol Cell*, 2017, 66: 169-79
- [2] Schnider U, Keel C, Blumer C, et al. Amplification of the housekeeping sigma factor in *Pseudomonas fluorescens* CHA0 enhances antibiotic production and improves biocontrol abilities. *J Bacteriol*, 1995, 177: 5387-92
- [3] Sarniguet A, Kraus J, Henkels MD, et al. The sigma factor sigma s affects antibiotic production and biological control activity of *Pseudomonas fluorescens* Pf-5. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1995, 92: 12255-9
- [4] Oliveira MA, Aquino B, Bonatto AC, et al. Interaction of GlnK with the GAF domain of *Herbaspirillum seropedicae* NifA mediates NH₄⁺-regulation. *Biochimie*, 2012, 94: 1041-7
- [5] Bai H, You Y, Yan H, et al. Antisense inhibition of gene expression and growth in gram-negative bacteria by cell-penetrating peptide conjugates of peptide nucleic acids targeted to rpoD gene. *Biomaterials*, 2012, 33: 659-67
- [6] Dubrovin EV, Koroleva ON, Khodak YA, et al. AFM study of *Escherichia coli* RNA polymerase sigma70 subunit aggregation. *Nanomedicine*, 2012, 8: 54-62
- [7] Tomohiro S, Yukiko Y, Kan T, et al. The whole set of

- constitutive promoters recognized by RNA polymerase *RpoD* holoenzyme of *Escherichia coli*. PLoS One, 2014, 9: e90447
- [8] Gruber TM, Bryant DA. Molecular systematic studies of eubacteria, using sigma70-type sigma factors of group 1 and group 2. J Bacteriol, 1997, 179: 1734-47
- [9] Osterberg S, Del PT, Shingler V. Regulation of alternative sigma factor use. Annu Rev Microbiol, 2011, 65: 37-55
- [10] Iwase T, Matsuo T, Nishioka S, et al. Hydrophobicity of residue 128 of the stress-inducible sigma factor RpoS is critical for its activity. Front Microbiol, 2017, 8: 656
- [11] Zhang X, Zhu CW, Yin J, et al. *RpoS* affects gene expression in *Salmonella enterica* serovar *Typhi* under early hyperosmotic stress. Curr Microbiol, 2017, 74: 757-61
- [12] Liu TY, Chu SH, Hu YN, et al. Genetic evidence that multiple proteases are involved in modulation of heat-induced activation of the sigma factor *SigI* in *Bacillus subtilis*. FEMS Microbiol Lett, 2017, 364: 1-7
- [13] Mani N, Dupuy B. Regulation of toxin synthesis in *Clostridium difficile* by an alternative RNA polymerase sigma factor. Proc Natl Acad Sci USA, 2001, 98: 5844-9
- [14] Kaufusi PH, Forsberg LS, Tittabutr P, et al. Regulation of exopolysaccharide synthesis in *Rhizobium* sp. strain TAL1145 involves an alternative sigma factor gene, *rpoH2*. Microbiology, 2004, 150: 3473-82
- [15] Wosten MM. Eubacterial sigma-factors. FEMS Microbiol Rev, 1998, 22: 127-50
- [16] Hayrapetyan H, Tempelaars M, Nierop GM, et al. *Bacillus cereus* ATCC 14579 *RpoN* (Sigma 54) is a pleiotropic regulator of growth, carbohydrate metabolism, motility, biofilm formation and toxin production. PLoS One, 2015, 10: e0134872
- [17] Garcia E, Bancroft S, Rhee SG, et al. The product of a newly identified gene, *gInF*, is required for synthesis of glutamine synthetase in *Salmonella*. Proc Natl Acad Sci USA, 1977, 74: 1662-6
- [18] Otani H, Higo A, Nanamiya H, et al. An alternative sigma factor governs the principal sigma factor in *Streptomyces griseus*. Mol Microbiol, 2013, 87: 1223-36
- [19] Zhang Z, Ding ZT, Zhong J, et al. Improvement of iturin A production in *Bacillus subtilis* ZK0 by overexpression of the *comA* and *sigA* genes. Lett Appl Microbiol, 2017, 64: 452-58
- [20] Tanaka K, Shiina T, Takahashi H. Nucleotide sequence of genes *hrdA*, *hrdC*, and *hrdD* from *Streptomyces coelicolor* A3(2) having similarity to *rpoD* genes. Mol Gen Genet, 1991, 229: 334-40
- [21] Kayama S, Murakami K, Ono T, et al. The role of *rpoS* gene and quorum-sensing system in ofloxacin tolerance in *Pseudomonas aeruginosa*. FEMS Microbiol Lett, 2009, 298: 184-92
- [22] Barros SA, Yoon I, Chenoweth DM. Modulation of the *E. coli* *rpoH* temperature sensor with triptycene-based small molecules. Angew Chem Int Ed Engl, 2016, 55: 8258-61
- [23] Waters SM, Robles-Martinez JA, Nicholson WL. Exposure of *Bacillus subtilis* to low pressure (5 kilopascals) induces several global regulons, including those involved in the SigB-mediated general stress response. Appl Environ Microbiol, 2014, 80: 4788-94
- [24] Peng Q, Wang G, Liu G, et al. Identification of metabolism pathways directly regulated by sigma(54) factor in *Bacillus thuringiensis*. Front Microbiol, 2015, 6: 407
- [25] Kustu S, Santero E, Keener J, et al. Expression of sigma 54 (*ntxA*)-dependent genes is probably united by a common mechanism. Microbiol Rev, 1989, 53: 367-76
- [26] Bochkareva A, Zenkin N. The sigma70 region 1.2 regulates promoter escape by unwinding DNA downstream of the transcription start site. Nucleic Acids Res, 2013, 41: 4565-72
- [27] Vorobiev SM, Gensler Y, Vahedian-Movahed H, et al. Structure of the DNA-binding and RNA-polymerase-binding region of transcription antitermination factor λ Q. Structure, 2014, 22: 488-95
- [28] Haakonsen DL, Yuan AH, Laub MT. The bacterial cell cycle regulator *GcrA* is a σ 70 cofactor that drives gene expression from a subset of methylated promoters. Genes Dev, 2015, 29: 2272-86
- [29] Barne KA, Bown JA, Busby SJ, et al. Region 2.5 of the *Escherichia coli* RNA polymerase sigma70 subunit is responsible for the recognition of the 'extended-10' motif at promoters. EMBO J, 1997, 16: 4034-40
- [30] Voskuil MI, Voepel K, Chambliss GH. The 16 region, a vital sequence for the utilization of a promoter in *Bacillus subtilis* and *Escherichia coli*. Mol Microbiol, 1995, 17: 271-9
- [31] Zhou YN, Gross CA. How a mutation in the gene encoding sigma 70 suppresses the defective heat shock response caused by a mutation in the gene encoding sigma 32. J Bacteriol, 1992, 174: 7128-37
- [32] Koroleva ON, Dubrovin EV, Khodak YA, et al. The model of amyloid aggregation of *Escherichia coli* RNA polymerase sigma70 subunit based on AFM data and *in vitro* assays. Cell Biochem Biophys, 2013, 66: 623-36
- [33] Campbell EA, Muzzin O, Chlenov M, et al. Structure of the bacterial RNA polymerase promoter specificity sigma subunit. Mol Cell, 2002, 9: 527-39
- [34] Sabbatini M, Vezzoli A, Milani M, et al. Evidence for self-association of the alternative sigma factor sigma54. FEBS J, 2013, 280: 1371-8
- [35] Siegel AR, Wemmer DE. Role of the sigma54 activator interacting domain in bacterial transcription initiation. J Mol Biol, 2016, 428: 4669-85
- [36] Yang Y, Darbari VC, Zhang N, et al. Structures of the RNA polymerase-sigma54 reveal new and conserved regulatory strategies. Science, 2015, 349: 882-5
- [37] Guo Y, Gralla JD. DNA-binding determinants of sigma 54 as deduced from libraries of mutations. J Bacteriol, 1997, 179: 1239-45
- [38] Glyde R, Ye F, Darbari VC, et al. Structures of RNA polymerase closed and intermediate complexes reveal mechanisms of DNA opening and transcription initiation. Mol Cell, 2017, 67: 106-16.e4
- [39] Marchetti M, Malinowska A, Heller I, et al. How to switch

- the motor on: RNA polymerase initiation steps at the single-molecule level. *Protein Sci*, 2017, 26: 1303-13
- [40] Gao X, Jiang L, Zhu L, et al. Tailoring of global transcription sigma D factor by random mutagenesis to improve *Escherichia coli* tolerance towards low-pHs. *J Biotechnol*, 2016, 224: 55-63
- [41] Mccann MP, Kidwell JP, Matin A. The putative sigma factor *KatF* has a central role in development of starvation-mediated general resistance in *Escherichia coli*. *J Bacteriol*, 1991, 173: 4188-94
- [42] Testerman TL, Vazquez-Torres A, Xu Y, et al. The alternative sigma factor sigmaE controls antioxidant defences required for *Salmonella virulence* and stationary-phase survival. *Mol Microbiol*, 2002, 43: 771-82
- [43] Du H, Wang M, Luo Z, et al. Coregulation of gene expression by sigma factors *RpoE* and *RpoS* in *Salmonella enterica serovar Typhi* during hyperosmotic stress. *Curr Microbiol*, 2011, 62: 1483-9
- [44] 雷海金. 集胞藻PCC6803中S2P蛋白酶SII0528和Sigma因子SigH参与胁迫响应的研究[D]. 广州: 华南理工大学, 2015
- [45] Pollari M, Tyystjärvi T. The sigB sigma factor of the *Cyanobacterium Synechocystis* sp. PCC 6803 is necessary for adaptation to high-salt stress[C]. Dordrecht: Springer Netherlands, 2008
- [46] 谢妙妙. 鸭疫里氏杆菌ECFs sigma基因缺失突变株的构建及其生物学特性研究[D]. 武汉: 华中农业大学, 2014
- [47] 朱栋华, 徐汪节, 耿海峰, 等. 荧光假单胞菌M18 rpoD克隆及其对抗生素合成的影响. *微生物学报*, 2003, 43: 315-23
- [48] Yin Y, Withers TR, Wang X, et al. Evidence for sigma factor competition in the regulation of alginate production by *Pseudomonas aeruginosa*. *PLoS One*, 2013, 8: e72329
- [49] Onozawa S, Kikuchi Y, Shibayama K, et al. Role of extracytoplasmic function sigma factors in biofilm formation of *Porphyromonas gingivalis*. *BMC Oral Health*, 2015, 15: 4
- [50] Di S, Qian W, Zhi C, et al. An alternative σ factor, σ_8 , controls avermectin production and multiple stress responses in *Streptomyces avermitilis*. *Front Microbiol*, 2017, 8: 736
- [51] Wiegeshoff F, Beckering CL, Debarbouille M, et al. SigmaL is important for cold shock adaptation of *Bacillus subtilis*. *J Bacteriol*, 2006, 188: 3130-3
- [52] 原红娟, 严慧, 杨芳, 等. 澳洲野生稻(*Oryza australiensis*)内生固氮菌的分子鉴定及发育分析. *应用与环境生物学报*, 2014, 20: 571-7
- [53] 谭志远, 彭桂香, 徐培智, 等. 普通野生稻(*Oryza rufipogon*)内生固氮菌多样性及高固氮酶活性. *科学通报*, 2009, 54: 1885-93
- [54] 彭桂香, 王华荣, 张国霞, 等. 糖蜜草内生固氮菌IS-PCR和16S rRNA基因全序列分析. *华南农业大学学报*, 2005, 26: 73-6
- [55] Curatti L, Rubio LM. Challenges to develop nitrogen-fixing cereals by direct nif-gene transfer. *Plant Sci*, 2014, 225: 130-7
- [56] 岳慧贤, 程安春, 刘马峰. 部分革兰氏阴性菌胞外功能sigma因子结构与调控铁离子的利用机制. *中国生物化学与分子生物学报*, 2017, 33: 108-15
- [57] Zhan Y, Yan Y, Deng Z, et al. The novel regulatory ncRNA, NfiS, optimizes nitrogen fixation via base pairing with the nitrogenase gene nifK mRNA in *Pseudomonas stutzeri* A1501. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2016, 113: E4348-56
- [58] Ehira S, Ohmori M. NrrA, a nitrogen-regulated response regulator protein, controls glycogen catabolism in the nitrogen-fixing *Cyanobacterium anabaena* sp. strain PCC 7120. *J Biol Chem*, 2011, 286: 38109-114
- [59] Fischer HM. Genetic regulation of nitrogen fixation in rhizobia. *Microbiol Rev*, 1994, 58: 352-86
- [60] Sullivan JT, Brown SD, Ronson CW. The NifA-RpoN regulon of *Mesorhizobium loti* strain R7A and its symbiotic activation by a novel LacI/GalR-family regulator. *PLoS One*, 2013, 8: e53762
- [61] Michiels J, Moris M, Dombrecht B, et al. Differential regulation of *Rhizobium etli* rpoN2 gene expression during symbiosis and free-living growth. *J Bacteriol*, 1998, 180: 3620-8
- [62] Mitsui H, Sato T, Sato Y, et al. *Sinorhizobium meliloti* RpoH1 is required for effective nitrogen-fixing symbiosis with alfalfa. *Mol Genet Genomics*, 2004, 271: 416-25
- [63] Brown KL, Hughes KT. The role of anti-sigma factors in gene regulation. *Mol Microbiol*, 1995, 16: 397-404
- [64] Paget MS. Bacterial sigma factors and anti-sigma factors: structure, function and distribution. *Biomolecules*, 2015, 5: 1245-65
- [65] Utratna M, Cosgrave E, Baustian C, et al. Effects of growth phase and temperature on σ_B activity within a *Listeria monocytogenes* population: evidence for RsbV-independent activation of σ_B at refrigeration temperatures. *BioMed Res Int*, 2014, 2014: 641647
- [66] Voelker U, Voelker A, Haldenwang WG. Reactivation of the *Bacillus subtilis* anti-sigma B antagonist, *RsbV*, by stress- or starvation-induced phosphatase activities. *J Bacteriol*, 1996, 178: 5456-63
- [67] Narula J, Tiwari A, Igoshin OA. Role of autoregulation and relative synthesis of operon partners in alternative sigma factor networks. *PLoS Comput Biol*, 2016, 12: e1005267
- [68] McGuffie BA, Vallet-Gely I, Dove SL. Sigma factor and anti-sigma factor that control swarming motility and biofilm formation in *Pseudomonas aeruginosa*. *J Bacteriol*, 2016, 195: 755-65
- [69] Homerova D, Sevcikova B, Rezuchova B, et al. Regulation of an alternative sigma factor sigmaI by a partner switching mechanism with an anti-sigma factor PrsI and an anti-anti-sigma factor ArsI in *Streptomyces coelicolor* A3(2). *Gene*, 2012, 492: 71-80