

生物磁受体蛋白 MagR/IscA 研究进展*

汪红霞 向远彩** 张义国**

(重庆大学生物工程学院细胞生化与基因拓扑生物学实验室, 重庆 400040)

摘要 铁硫簇蛋白是一类重要的线粒体功能蛋白, 在细胞能量代谢、电子传递、底物结合与激活、铁/硫存储、酶促反应、基因表达调控等诸多过程中均发挥了关键作用。铁硫簇蛋白质组装及转运过程一旦发生障碍, 必将严重影响细胞内铁的稳态及铁硫蛋白的功能。分子质量约 11 ku 的铁硫簇蛋白 *IscA*, 是铁硫蛋白亚家族 *hesB* 高保守性成员之一, 能结合铁离子及 [2Fe-2S] 簇, 参与铁硫簇蛋白质合成, 因此 *IscA* 在铁硫簇组装蛋白与级联反应系统中具有重要的作用。更值得关注的是, 2015 年谢灿和张生家两个研究组发现 *IscA1* 具有磁受体(MagR/MAR)作用, 此外, 谢灿课题组揭示 MagR 能与 Cry 形成磁感应复合物行使磁感应器(magnetic sensor, MagS)功能。尤为重要的是, 体内实验表明通过外磁场刺激活化 MagR 能调控相关磁基因表达, 影响神经活动及行为定位。鉴于 MagR 磁受体的独特功能, 张生家等将磁受体的基因定位与远程磁刺激相结合, 发明了一种非损伤性的神经调控方法, 称之为磁遗传学。本文简要介绍 MagR/IscA 及其同源基因的始初发现与鉴定历程、进化保守性、独特的生理生物学功能, 并凝练出磁遗传假说机制调控模型, 以解释 MagR/IscA 的磁遗传学功能。

关键词 铁硫簇蛋白 *IscA*, 铁硫簇, 线粒体, 磁遗传学(磁基因学), 进化保守性

学科分类号 Q5, Q6, Q75

DOI: 10.16476/j.pibb.2016.0190

地磁场能够影响动物的生命活动, 如信鸽因地磁场改变而迷失方向、候鸟迁徙因地磁场变化而受到干扰等。动物如何感知磁场? 目前, 学术界存在两种不同的假说: 一种是自由基介导磁感受机制(radical pair-mediated magnetoreceptor systems)——磁场影响“自由基对”(感光蛋白隐花色素(cryptochrome, Cry)分子上光诱导电子转移反应所产生^[1]) 在单重态与三重态之间相互转换和排列^[2], 致使隐花色素生化活性发生改变并进一步影响神经元的活化程度^[3]; 另一种假说则是磁颗粒介导磁感受机制(magnetic particle-mediated magnetoreceptor)——基于特定神经细胞胞膜上磁铁矿(Fe_3O_4)纳米颗粒在磁场的影响下发生偏转所致细胞去极化而引发神经激活应答。生物体内存在两类磁颗粒: 超顺磁体(super-paramagnetic)^[4]和单畴磁铁矿颗粒(single-domain magnetite)^[5]。超顺磁体因自身结构较小(小于 30 nm)而不能维持稳定的磁矩, 但可在外加磁场下移动重排; 而单畴磁铁矿颗粒自身结构相对较大(约 60 nm)具永久磁矩, 该磁矩可在磁铁矿颗粒链中放大, 此磁铁矿颗粒如“指南针”可随磁场变化

而旋转变化^[3]。磁颗粒通过细胞支架与细胞膜上的压力敏感性离子通道相连, 且随磁场条件变化而发生偏转或移动, 使细胞膜变形产生张力而致离子通道打开, 细胞进入去极化状态产生动作电位, 由传入神经传至大脑神经元并激活产生应答反应。

2015 年谢灿研究组报道发现一种磁受体(magnetic receptor)蛋白, 并简化命名为 MagR^[6]。该团队从果蝇的 12 536 个编码蛋白的基因入手, 用计算机分析并结合文献资料从理论上进行筛选、再经实验验证、最终将研究对象锁定为铁硫簇蛋白 *IscA1*(*Drosophila* CG8198)。该簇蛋白质分子最初发现于 20 世纪 50 年代末, 随后探知此类蛋白富含铁硫复合物(由铁与半胱氨酸上硫元素组成), 且在形成 2 和 4 个铁簇时能整合无机的或易“酸化”的硫

* 国家自然科学基金资助项目(91429305, 31270879)和重庆市研究生科研创新项目(CYB15024)。

** 通讯联系人。Tel: 023-65111632

向远彩。E-mail: yuancax@126.com

张义国。E-mail: yiguozhang@cqu.edu.cn

收稿日期: 2016-06-07, 接受日期: 2016-10-11

化物,因而将这类蛋白质命名为铁硫簇蛋白^[7].之后,大量证据揭示铁硫簇蛋白广泛存在于生物体内,主要参与细胞能量代谢、电子传递、底物结合与激活、铁/硫存储、酶促反应及基因表达调控.

为进一步理解 *IscA* 所特有的磁受体功能,本文通过检索大量文献得知:从 1989 年至今,对 *IscA* 已有诸多方面的探索研究(图 1).由此可见, *IscA* 早已备受科学家的关注.



Fig. 1 Timeline of major discoveries of research on the MagR/IscA

图 1 MagR/IscA 主要内容研究时程轴

更为值得关注的是, 张生家研究组发现, *IscA1* 能够通过外磁场刺激活化 *MagR* 调控相关磁基因表达, 影响神经活动与行为定位. 基于该磁受体的独特功能, 张生家等将磁受体的基因定位与远程磁刺激结合, 发明了一种非损伤性的神经调控方法, 称之为磁遗传学(magnetogenetics)^[8]. 为学术界认知区分 *IscA* 磁感应、磁受体与磁遗传学效应功能, 本文特此简要介绍 *IscA* (*MagR*)蛋白的始初发现与鉴定历程, 及其结构功能在磁受体与磁遗传学争议中的真实地位.

1 MagR/IscA 的命名变迁

文献检索悉, 对 *IscA* (*MagR*)同源基因的研究始于 1989 年. Jacobson 等^[9]在棕色固氮菌(*A. vinelandii*)中鉴定 *Nif* 基因簇(*Nif* cluster)时, 发现 15 个特异且相似度较高的基因, 因这些基因之间还存在 11 个潜在的 *Nif* 开放阅读框(open reading frame, ORF), 而将其命名为 ORF1~ORF11. 同年, 他们发现插入突变 ORF6、ORF7、ORF8、ORF9 后对该菌的固氮作用并无明显影响^[10]. 随着基因测序技术的进步, 1998 年该研究组^[11]对棕色固氮菌内 *Nif* 特异性基因簇中的 *IscS* (*NifS*-like)进行微序列测定(microsequencing), 并通过 PCR 扩增、测序对其进行验证, 发现该段序列具有 3 个完全编码的序列且与 *NifS*、*NifU*、*Orf6* 有高度一致性, 因此根据其潜

在功能, 将上述基因分别重命名为 *IscS*、*IscU* 和 *IscA* (iron-sulfur cluster assembly).

在随后的研究中, 不同物种中 *IscA* 的命名也存在许多差异, 譬如: Kaut 等^[12]将酵母菌中 *IscA* 命名为 *Isa*, 包括 *Isa1* 和 *Isa2* 2 个同源基因. 2004 年 Cozar-Castellano 等^[13]在人类大脑中, 发现与 *Isa* 同源的基因并将其命名为 *hIscA*. 2012 年 Sheftel 等^[14]在 HeLa 细胞中也发现了与酵母菌 *Isa1* 和 *Isa2* 相对应的两种编码铁硫簇集合的蛋白, 并分别命名为 *IscA1*(*hIscA*)和 *IscA2*. 而在布氏锥虫(*Trypanosoma brucei*)中的同源基因则由 Long 等^[15]命名为 *TbIsa*. 2015 年张生家课题组因在 HEK-293 细胞及秀丽隐杆线虫中导入 *IscA1* 后, 发现细胞的动作电位与线虫的运动受外加磁场影响, 而将 *IscA* 命名为 *MAR* (magnetoreceptor)^[8]. 同年, 谢灿课题组(在线发表)体外研究发现细菌 *IscA1* 同源物 *Drosophila* G8198 可能为磁受体, 而将其命名为 *MagR*^[6].

2 IscA 的进化保守性

20 世纪 90 年代初, 随着分子生物学技术的改进, 在生物体内能够成功表达且正确组装铁氧化还原蛋白(ferredoxin, Fd). 在其组装过程中, 水溶性脱辅基的(apo)-Fd 及完整分子(holo)-Fd 被非变性聚丙烯酰胺凝胶电泳分离. 利用阴离子交换高效液相色谱系统, 可以对不同成分进行定量检测. 随后

IscA 纯化、超表达、基因干扰等技术的运用, 为探究该蛋白在机体内的生物学特性奠定基础。

2.1 IscA 的同源性及其分布

在 NCBI 基因数据库内检索人类 IscA1 同源分子, 并从检索结果中据其同源性选取前 50 个氨基酸序列, 用 MEGA 6.0 进行生物进化保守性分析, 生成系统发育树轮(图 2)。

据图 2 可见, IscA 广泛分布于不同物种间,

且分布方式各有差异。从检索结果可以看出: 秀丽隐杆线虫、黑腹果蝇、大肠杆菌、绿脓假单胞菌含有 2 个同源序列, 大豆有 4 个同源序列, 而拟南芥则存在 5 个同源序列。随后研究表明, 即使在同一生物体内, IscA 也广泛存在于不同的器官, 如 RNA 杂交显示 IscA 存在于人与鼠的大脑、心脏、肝脏、肾脏等器官^[13]。

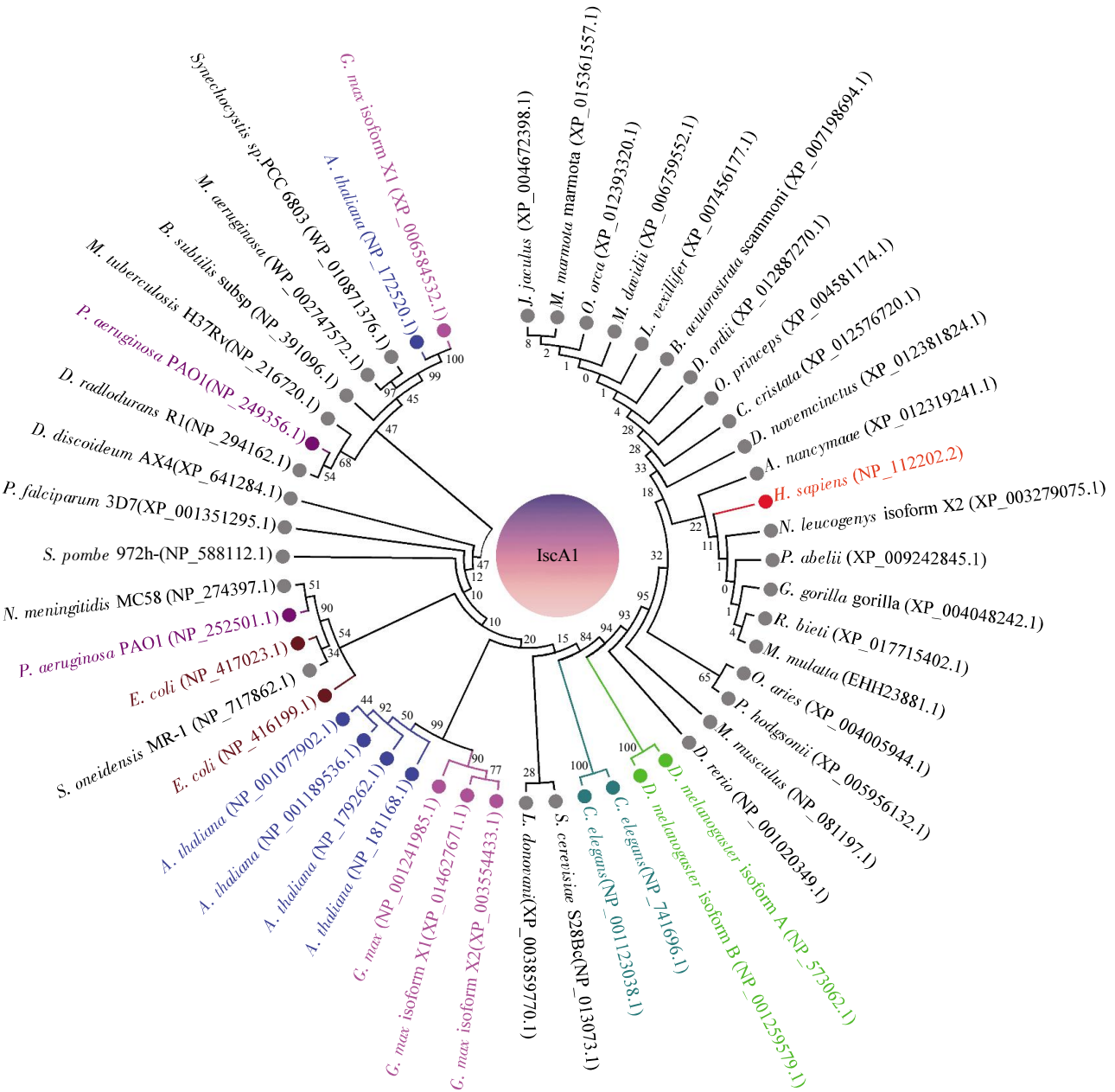
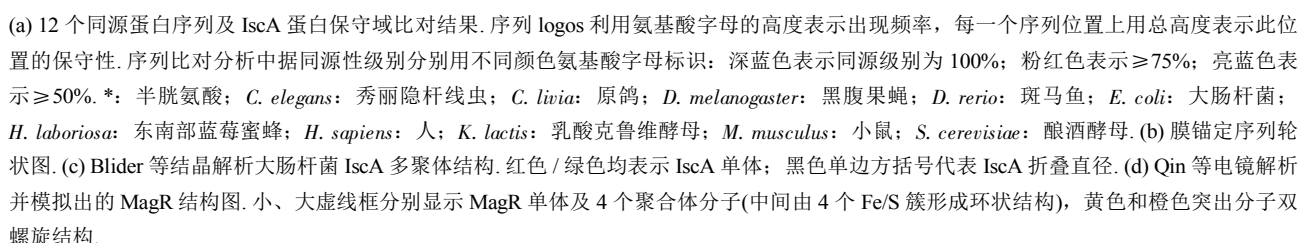


Fig. 2 The phylogenetic trees of IscA1 integrated with evolutionary relationships of taxa

图 2 IscA1 系统发育树-物种的进化关系树轮

将人 IscA1(NP_112202.2)的氨基酸序列在 NCBI 网站中进行 Smartblast, 根据同源性选取前 50 个氨基酸序列, 经 MEGA 6.0^[18]进行分析作图, 每个分枝旁的数值代表该枝条的 Bootstrap 支持率, Bootstrap 值为 1000^[17], 最优树分支长度之和为 8.511 782 83。其中依 Neighbor-Joining 法推算 IscA1 的进化史^[18], 并用 Poisson 校正法计算进化距离^[19]。图中人 IscA1 (*H. sapiens*)用红色显示, 仅有一个亚型的物种均用灰色标注, 含有 2 个及以上亚型的物种用不同颜色标出: 蓝色为拟南芥(*A. thaliana*); 紫红色为大豆(*G. max*); 青色为秀丽隐杆线虫(*C. elegans*); 酸橙色为黑腹果蝇(*D. melanogaster*); 褐紫红色为大肠杆菌(*E. coli*); 紫色为绿脓假单胞菌(*P. aeruginosa PAO1*)。

因金属离子与结合位点氨基酸存在一定的关系, 并由 MetalMine 数据库分析可知: Fe(S)结合位点氨基酸均为半胱氨酸. 1998 年 Zheng 等^[11]通过对比分析棕色固氮菌、流感嗜血杆菌、大肠杆菌中的 IscA 序列后, 曾推测 IscA 具有以下三个功能: a. 铁载体; b. 硫载体; c. Fe/S 簇中间体组装位点. 随后, 他们类比分析推测 IscA 并不具有固氮酶的作用, 而更可能的是与 Fe/S 蛋白的组装与修复相关. 此后, 研究者们针对 IscA 在参与铁硫蛋白组装中的作用, 进行了一系列实验. 如 Kaut 等^[12]对酿酒酵母菌(*S. cerevisiae*) Isa1 的 Cys 进行突变研究, 发现在缺失半乳糖培养基(关闭核内编码野生型 Isa1 表达)中突变体 Isa1 (C242S)、Isa1 (C244S)、Isa1 (C242S、C244S)的生长表型与野生



型(同样缺乏 *Isa1* 的 Gal-ISA1 菌)无本质区别, 相反, 在该菌中导入野生型 *Isa1* 基因则能恢复其生长状态. 但将野生型中 *Isa1* 基因删除后再表达突变载体时揭示: 无论是存在于线粒体或是胞浆的铁硫蛋白活性均下降, 由此指出 *Isa1* 巯基失活将会导致其蛋白质功能丢失. 之后, Jensen 等^[20]将酿酒酵母菌 *Isa2* 羧基端 3 个 Cys (89, 175, 177) 突变后也证明其活性明显下降.

此外, 互补实验表明, 除了氨基酸序列的高度保守性外, *IscA* 功能上也具有一定的保守性, 主要体现在不同物种之间同源蛋白的功能可以互补. 如在 *iscA* Δ *sufA* 双敲除的大肠杆菌中导入 *hIscA1*, 发现在有氧条件下的 M9 基本培养基中 *hIscA1* 不仅能与铁结合, 且可以代替 *IscA* 部分功能——恢复大肠杆菌细胞的生长(但无法完全恢复)^[24]. 同样, 在缺失 *IscA1* 基因的酵母菌株中转入 *hIscA* 基因, 发现转入后菌体生长密度是缺失菌株的 9 倍^[13], 而且酵母菌 *Isa1* 也可被大肠杆菌的 *IscA* 蛋白代替(尽管 *Isa2* 不能被替换)^[25]. 另外, Long 等^[15]发现 *hIscA2* 也能弥补布氏锥虫 *TbIsa2* 的部分功能, 尤其是铁硫蛋白酶如顺乌头酸的活性得以恢复. 更为有趣的是, 不同物种之间敲除 *IscA* 也会出现相似的表型, 例如从棕色固氮菌中敲除 *IscA*, 导致其不能在充氧条件下改良 Burks 基本培养基中生长^[26], 从大肠杆菌中敲除 *IscA* 及其横向同源基因 *SufA* 后, 该菌同样也不能在充氧条件下 M9 基本培养基中生长, 且呈现细胞内铁硫簇集合组装缺陷^[27-28]. 从这些实验研究可以推断, 不同物种间 *IscA* 蛋白功能具有高度保守性. 基于 *IscA* 蛋白家族的高度同源和功能相似, 后文对于 *IscA* 功能的评述, 就不再专门区分不同亚型蛋白的生物学功能.

3 *IscA* 的生物学功能

3.1 维持线粒体稳定

早期研究发现, *IscA* 位于线粒体, 当在酵母菌中缺失突变该基因时, 导致菌体生长缓慢, 代谢呼吸过程出现严重缺陷, 超表达恢复该基因时, 上述现象并没有得到缓解, 深入研究发现该菌体线粒体 DNA 丢失^[12, 20-21]. 2012 年 Sheftel 等^[14]通过基因干扰技术敲除 *IscA* 后, 观察到 HeLa 细胞大规模肿大、呈现海绵组织状, 线粒体变大且几乎未见其内嵴膜, 细胞代谢紊乱, 进而出现培养基酸化现象. 再则, 从啤酒酵母菌中敲除 *IscA* 后发现, 其在充氧条件下的生长过程异常, 出现线粒体内铁累积、

赖氨酸和谷氨酸依赖现象^[12, 20]. 上述实验表明, *IscA* 对维持线粒体稳定及其相关的呼吸能量代谢平衡尤为重要.

3.2 调控铁稳态平衡

Jensen 等^[20]在酿酒酵母菌中缺失突变 *IscA*, 揭示铁元素大量积累于线粒体内. 进而, Krebs 等^[29]通过紫外-可见光吸收光谱等方法, 研究棕色固氮菌 *Nif* 调节子内 *IscA* 的同源物 *N^oIscA* 时, 发现 *N^oIscA* 蛋白分子上的半胱氨酸残基能与铁离子 ($\text{Fe}^{2+}/\text{Fe}^{3+}$) 结合. Wollenberg 等^[30]在蓝藻集胞藻属 (*Synechocystis* PCC 6803) 也鉴定出 *IscA* 羧基端的 2 个半胱氨酸(Cys110、Cys112)与铁结合密切相关. 随后, 两课题组解析了 *IscA* 蛋白的晶体结构, 测定其近羧基端的半胱氨酸位点能与铁离子结合, 且位于 apo 形式支架蛋白表面^[31-32](图 3c). 在嗜酸氧化亚铁硫杆菌中进一步研究发现, 突变 *IscA* 的 3 个半胱氨酸(Cys35、Cys99、Cys101)后, *IscA* 无法与铁离子结合^[33]. 2004 年 Ding 等^[34]测出 *IscA* 缔合常数为 $3.0 \times 10^{19} \text{ mol}^{-1} \cdot \text{L}$ 后, 还发现 *IscA* 能够募集胞内铁离子, 并为 *IscU* 铁硫簇组装提供铁离子. 总之, *IscA* 蛋白不仅可结合铁离子维持机体内铁稳态, 而且还可作为铁供体参与后续铁硫蛋白组装过程.

3.3 线粒体铁硫蛋白成熟的必要基因

3.3.1 *IscA* 影响 Fe/S 蛋白活性

Jensen 等^[20]发现, 去除啤酒酵母菌 *IscA* 不仅会导致线粒体中铁的积累而且还造成细胞中铁硫蛋白的缺失, 但不致细胞死亡. 类似地, Takahashi 等^[35]失活大肠杆菌的同源基因研究也显示, *IscA* 失活能减少铁硫蛋白的生物合成, 也无致死性. 其后的众多研究表明, 缺失突变或基因干扰 *IscA*, 致使参与 Fe/S 蛋白组装的基因表达上调^[20], 线粒体内铁硫蛋白酶(如顺乌头酸酶、琥珀酸半醛脱氢酶、生物素合酶等)以及胞浆中的铁硫蛋白(如 Leu1p)的含量与活性均受影响^[21, 25, 36]. 相反, Mühlenhoff 等^[36]在酿酒酵母中却发现, *IscA* 缺失对顺乌头酸等蛋白量无明显影响, 这种相反的结果可能是由种属差异或基因组操作程序不同所致.

另外, 一些课题组研究揭示 *IscA1*、*IscA2* 及 IBA57 相互作用, 其中任一基因缺失都将导致相似的表型, 说明这 3 个辅因子可能参与同一反应过程^[14, 25, 37]. 但这三者蛋白功能缺陷只影响线粒体中顺乌头酸酶、硫辛酸合酶等[4Fe-4S]型铁硫蛋白的成熟^[28], 而不影响铁氧还蛋白(Yah1、Rieske)

[2Fe-2S]型铁硫蛋白的成熟^[14].

3.3.2 *IscA* 影响 Fe/S 蛋白组装

1999 年 Nakamura 等^[38]在大肠杆菌中克隆出 *isc* 基因簇(即 ORF1-ORF2-*iscS-iscU-iscA-hscA-fdx*-ORF3), 并与 5 种表达不同类型 Fe/S 簇蛋白 Fd (Fds)——PbPetF (鲍氏织线藻 [2Fe-2S])、PbFdxH (蓝藻 [2Fe-2S])、BtFd (嗜热溶蛋白芽胞杆菌 [4Fe-4S])、EcFdxN (大肠杆菌 2[4Fe-4S])、RcFd II (荚膜红细菌 [3Fe-4S][4Fe-4S])——共转, 根据不同类型蛋白的表达判断靶基因对 Fe/S 簇组装的影响. 当超表达 *isc* 基因簇后, 内源性负责合成及插入 Fe/S 簇的能力增加, 但这种增加既不依赖于 Fds 多肽的数量也不依赖于 Fe/S 簇的类型, 由此推测 *isc* 基因簇具有参与 Fe/S 蛋白组装的功能. Takahashi 等^[35]通过序列比对发现, 在多种细菌中(鼠疫杆菌、放线杆菌、绿脓杆菌、百日咳博代氏杆菌等)均含有同源的 *isc* 基因簇, 且大多数 *isc* 基因能共转录、编码具有耦合功能的蛋白. 他们又将 *isc* 基因簇的基因与 Fds 超表达, 并破坏各部分的结构, 以利于研究各组分在铁硫蛋白组装中的功能, 结果发现失活 *IscA*、*IscS*、*hscA* 和 *fdx* 均能降

低 Fds 的量. 其研究表明: *IscA*、*IscS*、*hscA* 和 *fdx* 基因是铁硫蛋白组装的先决条件. 然而, 深入研究发现 *IscA* 并不影响 EcFdx (大肠杆菌 [2Fe-2S]) 的形成. 2012 年 Shefel 等^[14]发现, 人类 *IscA1*、*IscA2* 和 IBA57 是铁硫簇组装系统中的成员, 与线粒体 [4Fe-4S] 蛋白成熟特异相关. 总之, *IscA* 被认为参与 Fe/S 簇从 EcFdx 到 Fds 预组装过程^[21, 25, 35].

早期研究发现, 在细菌(如大肠杆菌和棕色固氮菌)中存在一个特异地负责铁硫簇组装的通道. 该通道由至少 7 个基因组成的高度保守基因簇编码(图 4a, *iscRSUA-hscBA-fdx*), 其中 *isc* 操纵子是这个通道的核心基因, 包括 *IscS*, *IscA* 和 *IscU*. 而该通道的关键是, 通过半胱氨酸脱硫酶获取硫、将铁和硫结合到支架蛋白、以及将合成的 Fe/S 簇传递至靶蛋白^[11, 39]. 但是, *IscA* 在哺乳动物铁硫簇组装过程中的具体功能至今尚不明确, 而且在大肠杆菌和酵母菌中则存在一定的争议. 一种观点认为, *IscA* 作为候选的支架或者载体蛋白结合暂时组装的铁硫簇^[29, 40]. Krebs 等^[29]采用紫外可见光吸收光谱、穆斯堡尔谱、共振拉曼光谱等方法检测, 发现 *IscA* 可能作为备用支架蛋白 (alternate scaffold

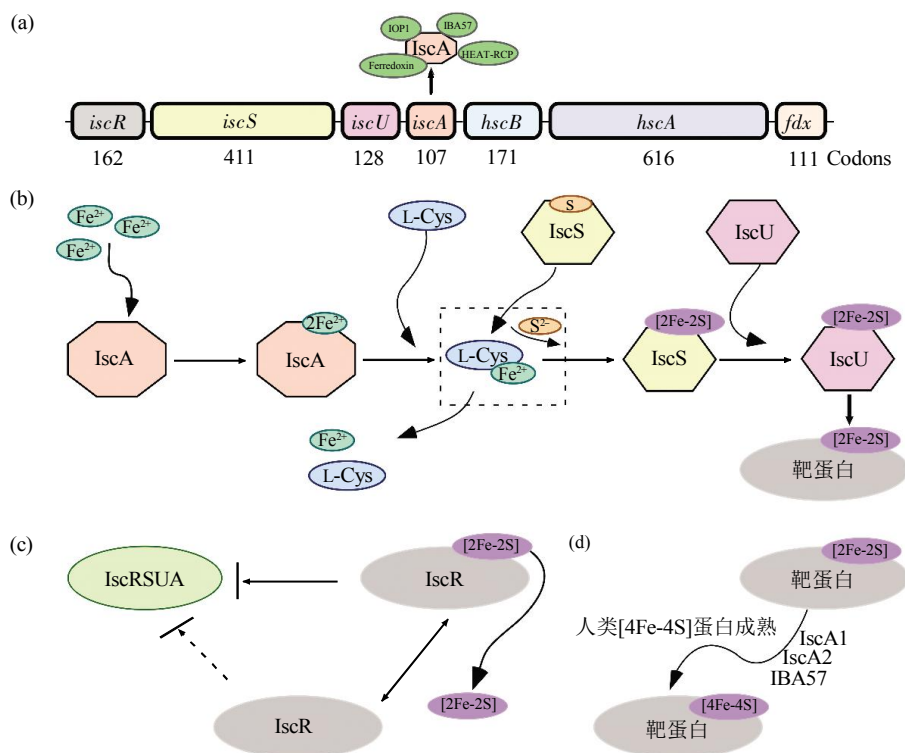


Fig. 4 Mechanisms underlying the iron-sulfur cluster synthesis

图 4 铁硫簇的合成机制

(a) 大肠杆菌 *iscRSUA* 基因簇, 其中 *IscA* 编码的蛋白与 IOP1、IBA57、Ferredoxin、HEAT-RCP (HEAT-repeats-containing protein) 相互作用. (b) 大肠杆菌和其他细菌 [2Fe-2S] 蛋白合成机制, 黑色虚框: 过渡态. (c) *IscR* 抑制 *IscRSUA* 铁硫蛋白合成机制. (d) *IscA1*、*IscA2*、IBA57 参与人类 [4Fe-4S] 蛋白成熟过程.

protein)以组装铁硫簇并将其传递至靶蛋白的方式参与铁硫蛋白簇生物合成过程。随后, Ollagnier-de-Choudens 等^[41]证实 IscA 作为支架蛋白参与铁硫簇蛋白组装。另一种观点认为, IscA 为铁硫簇组装提供铁^[28, 42-43]。2007 年 Ding 等^[34]通过实验证实, 在正常生理条件下 IscA 能募集细胞内的自由铁, 并将这些铁传递到 IscU 分子用于铁硫簇的装配, 同时测定载铁 IscA 的铁信号($g = 4 \sim 6$ 的电子顺磁共振信号强度), 然而, 在左旋半胱氨酸残基(L-Cys)存在下, 又可转变为溶液中的铁信号($g = 4.0$)。

铁和硫从 IscA 有效转移至 IscU, 需要 L-Cys 和半胱氨酸脱硫酶 IscS 同时参与^[43-47]。L-Cys 独特结构使它容易接近 IscA 的铁中心, 触发铁中心的移动, 并形成过渡态 Cys-Fe 复合物^[48]。而 IscS 通过其活性位点上具有强亲核性的巯基与底物中半胱氨酸的硫原子相互作用, 催化半胱氨酸脱硫, 进而为铁硫簇的组装提供硫^[45-46]。IscS 与 Cys-Fe 作用产生的铁硫簇, 通过蛋白质-蛋白质相互作用而随之直接转移至 IscU^[48]。其中作为支架蛋白的 IscU, 为铁硫簇蛋白成熟提供铁硫簇组装的平台^[46, 49](图 4b)。

据 Schwartz 等^[50]研究报道, IscS、IscU 和 IscA 表达还受铁硫簇调节因子 IscR 的抑制。因此包含 1 个 [2Fe-2S] 的 IscR 可抑制 iscRSUA 操纵子的表达。当细胞需要合成 [4Fe-4S] 时, IscR 分子内铁硫簇处于解离状态, 脱铁 IscR 无法抑制该基因表达; 反之, [4Fe-4S] 簇合成超过细胞的需求时, IscR 内在铁硫簇装配完整, 反馈抑制新铁硫簇的合成(图 4c)。另有研究发现, 即使去除 IscA, 也不能阻止生物素合酶 Bio2 的 2 个 Fe/S 核心形成^[36]。类似研究揭示, 从大肠杆菌中删除 IscA/SufA 也无明显影响 [2Fe-2S] 簇形成(如氧化还原转录因子 SoxR 和铁氧还蛋白), 而二羟酸脱水酶 IlvD 支架上的 [4Fe-4S] 簇组装却明显受阻^[28]。2014 年 Tan 等^[51]通过敲除大肠杆菌 IscA 及其旁系同源基因 SufA, 发现在充氧条件下蛋白质不能组装 [4Fe-4S] 簇, 这表明 IscA 对 [4Fe-4S] 簇生成起着至关重要的作用。这些结果提示, 大肠杆菌中的 [4Fe-4S] 和 [2Fe-2S] 生物合成, 可能存在不同的途径: IscA 蛋白是充氧条件下 [4Fe-4S] 型铁硫簇合成所必需的, 但对于 [2Fe-2S] 型铁硫簇合成而是非必需的。进而, Muhlenhoff 等^[25]在酵母菌中研究提示 IscA 主要用于铁硫蛋白组装后期, 且特异地指导线粒体内

[4Fe-4S] 成熟。2012 年在 HeLa 细胞中研究证实, 实验中所有线粒体 [4Fe-4S] 蛋白成熟均需 IscA1、IscA2 和 IBA57 参与(图 4d), 而 [2Fe-2S] 蛋白亚铁螯合酶和血红素的合成则无相关性^[14]。

总之, IscA 可能参与铁硫蛋白组装的各个阶段: 既能影响其活性, 也能影响组装后期成熟过程, 又作为支架蛋白与铁硫蛋白形成中间体而辅助其成熟, 乃是线粒体铁硫蛋白成熟所必需的组装蛋白。

3.4 调节昼夜节律行为

2012 年 Mandilaras 等^[52]在果蝇中研究观察, 干扰 IscA 表达致使其昼夜节律行为混乱, 而 Kosmidis 等^[53]在其神经胶质细胞超表达铁蛋白亚基, 促使载铁的铁蛋白积累, 导致迟发性丧失昼夜节律活动。这一发现提示, IscA 可能通过维持铁存储稳态恒定平衡, 实现对其昼夜时间分子机制的基因神经调节, 进而影响果蝇节律行为。

其实, 蛋白质功能行使的影响因素都不是单一的, 大都需要受其他因素的调节, 使之最终协调完成。IscA 也不例外, 其对铁硫蛋白组装的影响, 除了自身结构、IBA57、IscR 因素外, 还与胞内氧化还原环境^[20]、L-Cys 含量^[32]、铜(Cu(I))含量^[51]、酪氨酸是否突变^[54]等因素相关, 不再一一阐述。

4 IscA 突变与人类疾病

基因 IscA 异常影响菌体的生长状态及其适应环境压力的能力, 而在人类同源基因的研究中也发现其表达异常可能与某些疾病的发生相关。2008 年 Gelling 等^[55]从酿酒酵母全基因组中筛选出一个新的铁硫簇组装蛋白 IBA57, 因其与 Isa1、Isa2 相互作用, 进而分别删除突变则发现三者的表型一致, 暗示三者可能以复合体形式共同作用。更应注意的是, 人 IscA1 与 IBA57 基因突变可能引起枫糖尿症(maple syrup urine disease)。2009 年 Nilsson 等^[56]大规模计算筛选线粒体基因时, 发现 IscA1 可能与血红素合成有关, 随即在斑马鱼胚胎中敲除验证该基因功能, 观测其因血红蛋白细胞缺失而致深度贫血。最近, Al-Hassnan 等^[57]通过研究来自 5 个无血缘关系家庭的 6 名病人, 发现 IscA2 缺陷会引起小儿遗传性线粒体神经退行性白质疾病。

5 MagR 磁受体功能

目前, 关于 IscA 的研究主要聚焦于它在铁硫蛋白组装过程中的作用, 且多为体外及单细胞内

研究, 而与 MagR/IscA 相互作用的分子仅发现 IOP1^[22]、铁氧化还原蛋白^[40]、IBA57^[56]、HEAT 重复蛋白^[58] (图 4a)。最值得关注的是, 2015 年张生家与谢灿两个课题组研究发现 IscA1 新功能, 报道该分子可能为磁受体或磁感应器(magnetic sensor, MagS), 这为深入理解动物磁感应机制提供了新的方略, 同时也开启了磁遗传学这一全新领域。

5.1 MagR-Cry 复合体介导磁感应

此前普遍认为, Cry 是动物感知磁场过程中唯一的磁受体候选蛋白。因其能通过光诱导的“自由基对”反应的“量子自旋动力”而感应磁场信息^[59]。Cry 是广泛分布于动植物体内的 DNA 光裂合酶/隐花色素黄素蛋白家族一员^[60-61], 首次发现于隐花植物中, 故命名为隐花色素^[62]。该分子含有一个可吸收蓝光的辅因子——黄素腺嘌呤二核苷酸(flavin adenine dinucleotide, FAD), 该辅因子与 Cry 上的色氨酸链(由 Trp400、Trp377 和 Trp324 组成, 其中, Trp400 最接近 FAD, 而 Trp324 则靠近于 Cry 蛋白表面, 图 5a)发生一系列光诱导电子转移而

产生“自由基对”反应, 进而调控 Cry 信号活动(图 5b)^[63]。当氧化态 FAD 吸收 1 个光子后转为激发态(FAD*), 随即被临近的酸性残基(Asp)质子化(FADH*), 紧接着从 Trp400 获得一个电子转变为 FADH•, 此半还原的 FADH• 与 Trp400• 构成“自由基对”, 即二者均有一个不成对的电子, 且自旋相互关联, 此时, Cry 处于活性信号态; 随后 Trp400• 从 Trp377 残基上得到一个电子恢复正常, Trp377 失去的电子由 Trp324 补充, 最后 Trp324• 去质子化; 在 Trp324• 去质子化前, 电子可从 FADH• 返回至色氨酸, FADH• 转变为 FAD, 致使 Cry 失活。另外, 值得说明的是, Cry 的电子转移系统多处于[FADH• + Trp324•]“自由基对”状态, 且 FADH• 和 Trp324• 自由基的每个核自旋均对局部磁场产生影响。外加磁场与核自旋叠加而成的局部磁场的改变, 可促使“自由基对”的未成对电子进行单重态(自旋方向相反)-三重态(自旋方向相同)相互转变(图 5b), 影响电子转移, 控制 Cry 的活性状态, 进一步影响神经元的活化程度。

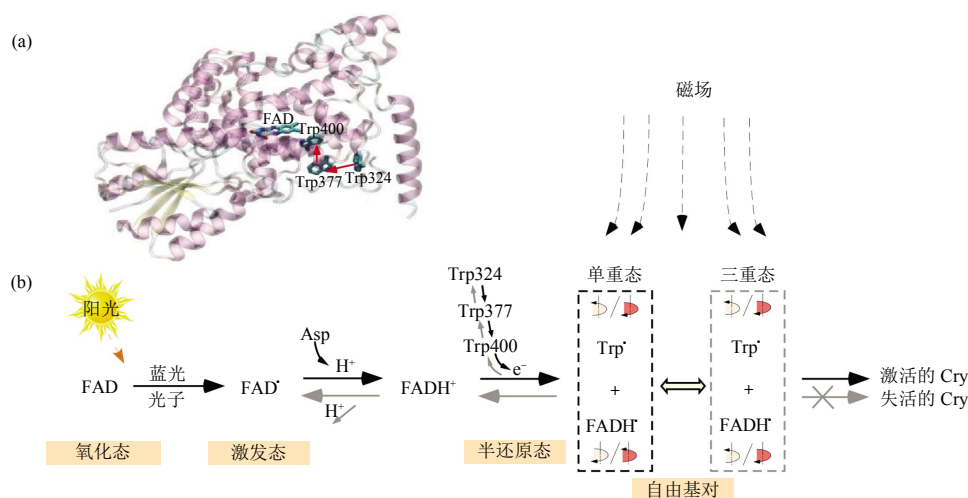


Fig. 5 The structure of Cry and relevant radical reactions

图 5 隐花色素 Cry 结构及其光诱导的自由基反应

(a) Cry 3D 结构图(改自文献[63]). (b) 光诱导 FAD-Cry 上自由基对反应。

2015 年谢灿课题组^[6]在大肠杆菌内证明 MagR 能与 Cry 形成复合体, 推测该复合体可能为人们寻找已久的磁感应复合物(magnetosensor complex), 开展磁受体领域研究提供新思路。该研究着重于在

体外阐明该复合物的物理特性: MagR-Cry 多聚体结构、电镜解析其结合方式及其在磁场中的磁性分析等。该课题组经计算机进行全基因组筛选并结合文献资料, 锁定 14 个磁受体候选蛋白, RT-PCR

验证发现有 9 个蛋白的基因能与 *Drosophila Cry* (dCry) 在果蝇头部共同表达. 将这 9 个基因分别与 dCry 共同表达于大肠杆菌, 在光和磁场共同存在条件下, 仅 MagR 与 dCry 能共纯化. 随之, 也证实帝王蝶、鸽子、鼯鼠、小须鲸和人等的 MagR 也能与 dCry 稳定地结合. 同时, 用计算机模拟与电镜解析结构推定^[6]: MagR-Cry 为磁感应复合物, 其外形呈类似棒状结构(横截面类似六角雪花状), 大小为 20~24 nm; 该复合物由 20 个 MagR 组成复合物中心(图 3d), 10 个 Cry 分子通过“螺旋-螺旋”与 MagR 相互作用构成复合物外层. 其中, 4 个 MagR 分子中的 Fe/S 簇形成“铁环”(iron loop)用于磁场感应, 外层 Cry 用于光感应. Cry 与 MagR 结合比率存在物种差异, 且在同一机体内也是动态变化的^[6]. 总之, 该复合体自带磁极性可能成为一个光依赖生物指南针, 并指出光刺激电子传递可能是从 Cry 的 FAD 组分向 MagR 的铁硫簇传递. 而在动物导航系统中, MagR-Cry 复合物假定为生物指南针, 感知地球磁场力的强度及其倾角信息, 其磁敏元件可能来自于一个可感知地球磁场方向的极性指南针.

张生家课题组的研究^[8]侧重于体内生物学实验, 结合磁受体 IscA1 蛋白的遗传靶向和远程磁刺激实现神经元的非侵入性激活. 他们实验发现: 将该蛋白超表达质粒转染于 HEK-293 及大鼠海马神经元细胞内, 施加外部磁场后能诱导细胞膜去极化及钙离子内流, 而且活化细胞的最低磁场强度约为正常环境下磁场强度的 6 倍; 全细胞膜片钳记录显示, 外界磁场可以诱发单个神经元的动作电位, 而且关闭外加磁场后能够迅速恢复; 不同的神经元细胞对磁场方向的感应存在差异, 即存在感知不同磁场方向的神经元细胞, 且与神经元细胞轴突的方向无明显相关性; 同样, 在实验中也发现神经元细胞对外部磁场产生开/关响应(on/off-response)引发的钙离子内流存在不同的响应类型(钙离子信号随磁场开关而一致响应、不响应、相反响应). 最令人兴奋的发现是, 通过启动子 myo-3 和 mec-4 将 *IscA1* 特异性地导入秀丽隐杆线虫的肌肉细胞和机械敏感神经元中, 外界磁场可以分别触发线虫肌肉收缩和后退行为. 值得注意的是, 显微镜观察发现, 当 MAR 超表达 HEK-293 后在磁场中出现类棒状或不均一排列, 推测其可能为多聚体或铁硫簇蛋白, 由此可看出尽管张生家课题组与谢灿课题组的实验目的一致, 但实验设计思路与结果完全不同.

5.2 MagR 磁受体及磁遗传学模型假设

从谢灿和张生家两组的实验结果来看, 铁硫簇蛋白 MagR 感应磁场的能力是其固有生物物理学特性所为之. 体外实验说明 MagR 与 Cry 可结合形成复合物感应磁场, 但其在机体内是否也以该复合物的形式参与磁场应答则需要进一步动物行为学实验证明. MagR 主要存在于线粒体内, 若是磁受体, 那么该分子则是如何从线粒体解离而控制机体磁反应与行为应答? Belyavskaya^[64]根据弱磁场(100 nT~0.5 mT)中植物胞内钙离子的分布和线粒体形态变化提出, 线粒体可能是对弱磁场最敏感的植物细胞器. Ye 等^[65]通过双壳细胞结构模型(外层壳代表细胞膜, 内层壳代表内部细胞器膜)证实线粒体跨膜电位受时变磁场诱导, 方向磁场刺激引起的膜电位变化不会影响线粒体的功能. Choi 等^[66]实验发现, HeLa 细胞暴露于静态磁场 24 h 后, 细胞活力增强约 20%, 表明弱磁场能通过增加线粒体活性促进细胞增殖. 中国科学院生物物理研究所^[67]最新研究发现, 小鼠骨骼肌细胞在亚磁场(< 3 μ T)环境中培养 3 天后, 线粒体的活力与膜电位显著性降低, 进而从成年小鼠骨骼肌组织中分离线粒体并将其暴露于亚磁场中, 1 h 后即发现线粒体的活力和膜电位均明显降低, 这为线粒体响应亚磁场提供直接证据, 但对于线粒体本身是否是生物体内的“指南针”仍需要进一步研究. 此外, Mandilaras 等^[52]则猜测 MagR (IscA)可能通过调节铁量来控制果蝇的昼夜节律行为, 这是否暗示 MagR 对磁场的感应通过调节胞内铁的变化或者其他未知分子的改变来实现? 另外, 在机体内 MagR 除了存在于大脑外, 还存在于心脏、肝脏、肾脏等多个器官^[13], 这说明该蛋白在感应磁场过程中的作用并非人们想象的具有特异性或独特性. 而且目前已在鸽子的上喙和内耳、鱼类筛骨薄片^[68-71]等区域均发现存在磁颗粒, 这提示机体内可能存在多种感知磁场的细胞共同完成磁感应导向定位. 令人振奋的是, Eder 等^[72]从鳟鱼鼻部器官分离出含磁颗粒的磁受体细胞, 然而 Edelman 等^[73]用类似的方法在鸽子听壶、基底乳头、喙上皮、嗅觉上皮以及鳟鱼嗅觉器官也分离出能感应磁场的细胞, 但是他们通过严谨的实验分析认为此筛选出的“磁感应细胞”可能是因外来污染物造成的. 对比上述两者的实验方法与过程, 推测其结果存在差异的原因可能是, Edelman 团队实验过程中筛选磁感应细胞的磁矩参数与细胞内自身存在的磁颗粒磁矩不匹配, 致使后续研究所检测出

现偏差, 亦或者 Eder 团队实验操作中的组织确实受到了环境污染, 然而无论二者对于磁受体细胞的争议如何, 均无法否认组织器官中存在感应磁场的细胞, 而且线粒体直接响应磁场的实验说明细胞响应磁场具有普遍性。

值得一提的是, 基于“自由基对”理论的 Cry 依赖的磁感受机制, 谢灿课题组对于 MagR 的发现为磁性和光感受蛋白 Cry 之间提供了一个桥梁, 然而张生家课题组的研究则表明 MAR (MagR) 可不依赖 Cry 调控神经活动, 那么机体到底如何对磁场进行感知响应呢? 根据业已积累的实验证据, 本文作者从分子细胞生物学与基因神经调节的角度, 对磁受体感知磁场及其应答调控网络提出如下假设模型 (图 6): 生物体内存在着一类对磁敏感的磁受体细胞与定位细胞或辅助定位的细胞, 共同作用将机体

的位置信息整合且与预定位比较, 存储至神经中枢 (或记忆细胞); 当磁场改变或机体位置发生变化后, 通过中枢神经系统分析处理, 由机体不停地调整, 最终恢复改变前状态而引导其定位行为。如图 6 所示, 在磁受体细胞受到磁场改变刺激时, 经细胞膜上磁感应器 (MagS) 感知反应, 转导信号给胞内磁受体 (MagR, 也可存在于细胞膜或胞浆), 使之与配体 (如 Cry) 结合, 经过一系列级联信号传递反应 ($\text{Fe}^{2+}/\text{Fe}^{3+}$ 可能参与信号调控), 使得假定的磁响应元件结合蛋白 (magnetic response element-binding protein, MREBP) 与其靶基因调控区磁响应元件 (magnetic response element, MRE) 相互作用, 启动下游参与磁响应相关基因表达, 从而对磁场改变作出磁遗传学基因应答及与之相应的神经导向行为反应。

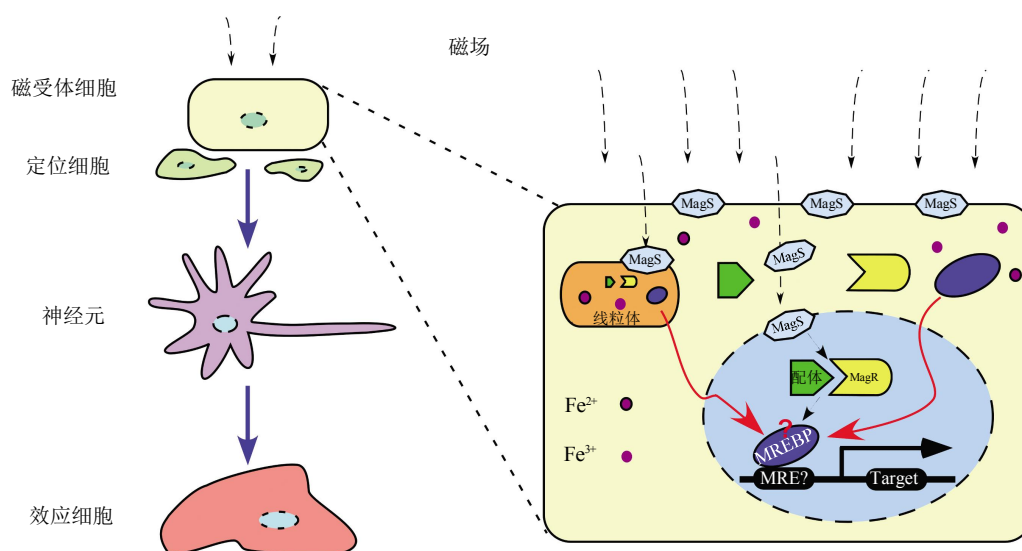


Fig. 6 A proposed mechanistic model to explain the putative magnetic receptor functioning in magnetogenetics

图 6 磁受体及磁遗传学的机理模型

MagR: 磁受体(magnetic receptor); MagS: 磁感应器(magnetic sensor); MRE: 磁响应元件(magnetic response element); MREBP: 磁响应元件结合蛋白(magnetic response element-binding protein).

总的来说, 有关 MagR 磁受体新功能的报道, 为从分子水平上揭示生物感知磁场机理的研究提供新的突破口, 为进一步深化理解基于“自由基对”理论的 Cry 依赖机制提供新的切入点。与此同时, MagR 的发现也开辟了另一个新的领域——磁遗传学。这为解决现有神经调节技术(如光遗传学和深部脑刺激)的侵入性, 磁受体感应信号到磁遗传学导向行为性的应用研究, 特别是磁遗传学调控神经

元活动的领域打开了一扇崭新的窗户。Wheeler等^[74]就已通过融合瞬时电位受体香草素 4 (transient receptor potential vanilloid 4)离子通道和顺磁铁蛋白合成磁敏致动器 (magnetically sensitive actuator) “Magneto”, 运用体外钙成像、脑片电生理记录证实: 在斑马鱼和小鼠中, 该磁敏致动器能在磁力控制下利用磁矩拉开离子通道使细胞去极化, 进一步激活神经和干预动物行为。尽管 MagR 的发现给我

们展现出广阔的应用前景,但目前对于磁受体的研究才刚刚开始,有许多问题亟待解决,如谢灿课题组提出 MagR-Cry 作为生物“指南针”的理论已被 Meister 指出违背基本的物理规律^[75],急需在体内确认 MagR 参与磁感应的作用机制?该机制是否真的依赖于 Cry 进行光磁耦合?是否还存在其他类似 MagR 功能的磁受体蛋白?生物体如何将微弱的地磁场信息转化为生物电信息传递给神经系统并指引动物迁徙和生物导航?等等。只有解决这些问题,才能逐渐解开磁感应之谜。

致谢 我们由衷地感谢编辑部与匿名审稿人公正、严谨的评审!感谢审稿人对丰富文章内容、提高文章评述深度及增加文章的可读性提出的宝贵意见!

参 考 文 献

- [1] Johnsen S, Lohmann K J. The physics and neurobiology of magnetoreception. *Nat Rev Neurosci*, 2005, **6**(9): 703–712
- [2] Ritz T, Adem S, Schulten K. A model for photoreceptor-based magnetoreception in birds. *Biophys J*, 2000, **78**(2): 707–718
- [3] Shaw J, Boyd A, House M, *et al.* Magnetic particle-mediated magnetoreception. *J R Soc Interface*, 2015, **12**(110): 0499
- [4] Kirschvink J L, Walker M M, Chang S B, *et al.* Chains of single-domain magnetite particles in chinook salmon, *oncorhynchus-tshawytscha*. *J Comp Physiol A*, 1985, **157** (3): 375–381
- [5] Kirschvink J L, Gould J L. Biogenic magnetite as a basis for magnetic field detection in animals. *Biosystems*, 1981, **13** (3): 181–201
- [6] Qin S, Yin H, Yang C, *et al.* A magnetic protein biocompass. *Nat Mater*, 2016, **15**(2): 217–226
- [7] Beinert H, Holm R H, Münck E. Iron-sulfur clusters: Nature's modular, multipurpose structures. *Science*, 1997, **277**(5326): 653–659
- [8] Long X, Ye J, Zhao D, *et al.* Magnetogenetics: Remote non-invasive magnetic activation of neuronal activity with a magnetoreceptor. *Sci Bull (Beijing)*, 2015, **60**(24): 2107–2119
- [9] Jacobson M, Brigle K, Bennett L, *et al.* Physical and genetic map of the major *nif* gene cluster from *Azotobacter vinelandii*. *J Bacteriol*, 1989, **171**(2): 1017–1027
- [10] Jacobson M R, Cash V L, Weiss M C, *et al.* Biochemical and genetic analysis of the *nifUSVWZM* cluster from *Azotobacter vinelandii*. *Mol Gen Genet*, 1989, **219**(1–2): 49–57
- [11] Zheng L, Cash V L, Flint D H, *et al.* Assembly of iron-sulfur cluster. Identification of an *iscSUA-hscBA-fdx* gene cluster from *Azotobacter vinelandii*. *J Biol Chem*, 1998, **273**(21): 13264–13272
- [12] Kaut A, Lange H, Diekert K, *et al.* *Isa1p* is a component of the mitochondrial machinery for maturation of cellular iron-sulfur proteins and requires conserved cysteine residues for function. *J Biol Chem*, 2000, **275**(21): 15955–15961
- [13] Cózar-Castellano I, del Valle Machargo M, Trujillo E, *et al.* *hIsca*: A protein implicated in the biogenesis of iron-sulfur clusters. *Biochim Biophys Acta*, 2004, **1700**(2): 179–188
- [14] Sheftel A D, Wilbrecht C, Stehling O, *et al.* The human mitochondrial *ISCA1*, *ISCA2*, and *IBA57* proteins are required for [4Fe-4S] protein maturation. *Mol Biol Cell*, 2012, **23** (7): 1157–1166
- [15] Long S, Changmai P, Tsaousis A D, *et al.* Stage-specific requirement for *Isa1* and *Isa2* proteins in the mitochondrion of *Trypanosoma brucei* and heterologous rescue by human and *Blastocystis* orthologues. *Mol Microbiol*, 2011, **81**(6): 1403–1418
- [16] Tamura K, Stecher G, Peterson D, *et al.* Mega6: Molecular evolutionary genetics analysis version 6.0. *Mol Biol Evol*, 2013, **30**(12): 2725–2729
- [17] Felsenstein J. Confidence limits on phylogenies: An approach using the bootstrap. *Evolution*, 1985, **39**(4): 783–791
- [18] Saitou N, Nei M. The neighbor-joining method: A new method for reconstructing phylogenetic trees. *Mol Biol Evol*, 1987, **4** (4): 406–425
- [19] Zuckerkandl E, Pauling L. Evolutionary divergence and convergence in proteins. Bryson V, Vogel HJ (eds). *Evolving Genes and Proteins*. Academic Press, 1965: 97–166
- [20] Jensen L T, Culotta V C. Role of *Saccharomyces cerevisiae* *ISA1* and *ISA2* in iron homeostasis. *Mol Cell Biol*, 2000, **20** (11): 3918–3927
- [21] Pelzer W, Muhlenhoff U, Diekert K, *et al.* Mitochondrial *Isa2p* plays a crucial role in the maturation of cellular iron-sulfur proteins. *FEBS Lett*, 2000, **476**(3): 134–139
- [22] Song D, Tu Z, Lee F S. Human *ISCA1* interacts with *IOP1/NARFL* and functions in both cytosolic and mitochondrial iron-sulfur protein biogenesis. *J Biol Chem*, 2009, **284**(51): 35297–35307
- [23] Bilder P W, Ding H, Newcomer M E. Crystal structure of the ancient, Fe-S scaffold *IscA* reveals a novel protein fold. *Biochemistry*, 2004, **43**(1): 133–139
- [24] Lu J, Bitoun J P, Tan G, *et al.* Iron-binding activity of human iron-sulfur cluster assembly protein *hIsca1*. *Biochem J*, 2010, **428**(1): 125–131
- [25] Muhlenhoff U, Richter N, Pines O, *et al.* Specialized function of yeast *Isa1* and *Isa2* proteins in the maturation of mitochondrial [4Fe-4S] proteins. *J Biol Chem*, 2011, **286**(48): 41205–41216
- [26] Johnson D C, Unciuleac M C, Dean D R. Controlled expression and functional analysis of iron-sulfur cluster biosynthetic components within *Azotobacter vinelandii*. *J Bacteriol*, 2006, **188** (21): 7551–7561
- [27] Lu J, Yang J, Tan G, *et al.* Complementary roles of *SufA* and *IscA* in the biogenesis of iron-sulfur clusters in *Escherichia coli*. *Biochem J*, 2008, **409**(2): 535–543
- [28] Tan G, Lu J, Bitoun J P, *et al.* *IscA/SufA* paralogues are required for the [4Fe-4S] cluster assembly in enzymes of multiple physiological pathways in *Escherichia coli* under aerobic growth conditions. *Biochem J*, 2009, **420**(3): 463–472
- [29] Krebs C, Agar J N, Smith A D, *et al.* *IscA*, an alternate scaffold for

- Fe-S cluster biosynthesis. *Biochemistry*, 2001, **40** (46): 14069–14080
- [30] Wollenberg M, Berndt C, Bill E, *et al.* A dimer of the FeS cluster biosynthesis protein IscA from cyanobacteria binds a [2Fe2S] cluster between two protomers and transfers it to [2Fe2S] and [4Fe4S] apo proteins. *Eur J Biochem*, 2003, **270**(8): 1662–1671
- [31] Cupp-Vickery J R, Silberg J J, Ta D T, *et al.* Crystal structure of IscA, an iron-sulfur cluster assembly protein from *Escherichia coli*. *J Mol Biol*, 2004, **338**(1): 127–137
- [32] Ding B, Smith E S, Ding H. Mobilization of the iron center in isca for the iron-sulphur cluster assembly in IscU. *Biochem J*, 2005, **389**(Pt 3): 797–802
- [33] Qian L, Zheng C, Liu J. Characterization of iron-sulfur cluster assembly protein IscA from *Acidithiobacillus ferrooxidans*. *Biochemistry (Mosc)*, 2013, **78**(3): 244–251
- [34] Ding H, Clark R J. Characterization of iron binding in IscA, an ancient iron-sulphur cluster assembly protein. *Biochem J*, 2004, **379**(Pt 2): 433–440
- [35] Takahashi Y, Nakamura M. Functional assignment of the ORF2-iscS-iscU-iscA-hscB-hscA-fdx-ORF3 gene cluster involved in the assembly of Fe-S clusters in *Escherichia coli*. *J Biochem*, 1999, **126**(5): 917–926
- [36] Mühlhoff U, Gerl M J, Flaiger B, *et al.* The ISC proteins Isa1 and Isa2 are required for the function but not for the *de novo* synthesis of the Fe/S clusters of biotin synthase in *Saccharomyces cerevisiae*. *Eukaryot Cell*, 2007, **6**(3): 495–504
- [37] Waller J C, Alvarez S, Naponelli V, *et al.* A role for tetrahydrofolates in the metabolism of iron-sulfur clusters in all domains of life. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2010, **107**(23): 10412–10417
- [38] Nakamura M, Saeki K, Takahashi Y. Hyperproduction of recombinant ferredoxins in *Escherichia coli* by coexpression of the ORF1-ORF2-iscS-iscU-iscA-hscB-hscA-fdx-ORF3 gene cluster. *J Biochem*, 1999, **126**(1): 10–18
- [39] Tokumoto U, Takahashi Y. Genetic analysis of the isc operon in *Escherichia coli* involved in the biogenesis of cellular iron-sulfur proteins. *J Biochem*, 2001, **130**(1): 63–71
- [40] Ollagnier-de-Choudens S, Mattioli T, Takahashi Y, *et al.* Iron-sulfur cluster assembly: characterization of IscA and evidence for a specific and functional complex with ferredoxin. *J Biol Chem*, 2001, **276**(25): 22604–22607
- [41] Ollagnier-de-Choudens S, Sanakis Y, Fontecave M. SufA/IscA: reactivity studies of a class of scaffold proteins involved in [Fe-S] cluster assembly. *J Biol Inorg Chem*, 2004, **9**(7): 828–838
- [42] Wang W, Huang H, Tan G, *et al.* *In vivo* evidence for the iron-binding activity of an iron-sulfur cluster assembly protein IscA in *Escherichia coli*. *Biochem J*, 2010, **432**(3): 429–436
- [43] Ding H, Clark R J, Ding B. IscA mediates iron delivery for assembly of iron-sulfur clusters in IscU under the limited accessible free iron conditions. *J Biol Chem*, 2004, **279**(36): 37499–37504
- [44] Kato S, Mihara H, Kurihara T, *et al.* Cys-328 of IscS and Cys-63 of IscU are the sites of disulfide bridge formation in a covalently bound IscS/IscU complex: implications for the mechanism of iron-sulfur cluster assembly. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2002, **99**(9): 5948–5952
- [45] Shepard E M, Boyd E S, Broderick J B, *et al.* Biosynthesis of complex iron-sulfur enzymes. *Curr Opin Chem Biol*, 2011, **15**(2): 319–327
- [46] Zeng J, Geng M, Jiang H, *et al.* The IscA from *Acidithiobacillus ferrooxidans* is an iron-sulfur protein which assemble the [Fe4S4] cluster with intracellular iron and sulfur. *Arch Biochem Biophys*, 2007, **463**(2): 237–244
- [47] Ding H, Harrison K, Lu J. Thioredoxin reductase system mediates iron binding in IscA and iron delivery for the iron-sulfur cluster assembly in IscU. *J Biol Chem*, 2005, **280**(34): 30432–30437
- [48] Urbina H D, Silberg J J, Hoff K G, *et al.* Transfer of sulfur from IscS to IscU during Fe/S cluster assembly. *J Biol Chem*, 2001, **276**(48): 44521–44526
- [49] Kim J H, Füzy A K, Tonelli M, *et al.* Structure and dynamics of the iron-sulfur cluster assembly scaffold protein IscU and its interaction with the cochaperone HscB. *Biochemistry*, 2009, **48**(26): 6062–6071
- [50] Schwartz C J, Giel J L, Patschkowski T, *et al.* IscR, an Fe-S cluster-containing transcription factor, represses expression of *Escherichia coli* genes encoding Fe-S cluster assembly proteins. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2001, **98**(26): 14895–14900
- [51] Tan G, Cheng Z, Pang Y, *et al.* Copper binding in IscA inhibits iron-sulphur cluster assembly in *Escherichia coli*. *Mol Microbiol*, 2014, **93**(4): 629–644
- [52] Mandilaras K, Missirlis F. Genes for iron metabolism influence circadian rhythms in *Drosophila melanogaster*. *Metallomics*, 2012, **4**(9): 928–936
- [53] Kosmidis S, Botella J A, Mandilaras K, *et al.* Ferritin overexpression in *Drosophila* glia leads to iron deposition in the optic lobes and late-onset behavioral defects. *Neurobiol Dis*, 2011, **43**(1): 213–219
- [54] Landry A P, Cheng Z, Ding H. Iron binding activity is essential for the function of IscA in iron-sulphur cluster biogenesis. *Dalton Trans*, 2013, **42**(9): 3100–3106
- [55] Gelling C, Dawes I W, Richhardt N, *et al.* Mitochondrial Iba57p is required for Fe/S cluster formation on aconitase and activation of radical SAM enzymes. *Mol Cell Biol*, 2008, **28**(5): 1851–1861
- [56] Nilsson R, Schultz I J, Pierce E L, *et al.* Discovery of genes essential for heme biosynthesis through large-scale gene expression analysis. *Cell Metab*, 2009, **10**(2): 119–130
- [57] Al-Hassnan Z N, Al-Dosary M, Alfadhel M, *et al.* ISCA2 mutation causes infantile neurodegenerative mitochondrial disorder. *J Med Genet*, 2015, **52**(3): 186–194
- [58] Morimoto K, Nishio K, Nakai M. Identification of a novel prokaryotic HEAT-repeats-containing protein which interacts with a cyanobacterial IscA homolog. *FEBS Lett*, 2002, **519**(1): 123–127
- [59] Xu J J, Wan G J, Hu D B, *et al.* Molecular characterization, tissue and developmental expression profiles of cryptochrome genes in wing dimorphic brown planthoppers, *Nilaparvata lugens*. *Insect Sci*,

- 2015, doi: 10.1111/1744-7917.12256
- [60] Cashmore A R, Jarillo J A, Wu Y J, *et al.* Cryptochromes: blue light receptors for plants and animals. *Science*, 1999, **284** (5415): 760–765
- [61] Todo T. Functional diversity of the DNA photolyase/blue light receptor family. *Mutat Res*, 1999, **434**(2): 89–97
- [62] Gressel J. Blue light photoreception. *Photochem Photobiol*, 1979, **30**(6): 749–754
- [63] Solov'yov I A, Chandler D E, Schulten K. Exploring the possibilities for radical pair effects in cryptochrome. *Plant signal Behav*, 2008, **3**(9): 676–677
- [64] Belyavskaya N A. Biological effects due to weak magnetic field on plants. *Adv Space Res*, 2004, **34**(7): 1566–1574
- [65] Ye H, Cotic M, Kang E E, *et al.* Transmembrane potential induced on the internal organelle by a time-varying magnetic field: a model study. *J Neuroeng Rehabil*, 2010, **7**(1): 12
- [66] Choi J, Shin J, Lee J, *et al.* Magnetic response of mitochondria-targeted cancer cells with bacterial magnetic nanoparticles. *Chem Commun (Camb)*, 2012, **48**(60): 7474–7476
- [67] Fu J P, Mo W C, Liu Y, *et al.* Decline of cell viability and mitochondrial activity in mouse skeletal muscle cell in a hypomagnetic field. *Bioelectromagnetics*, 2016, **37**(4): 212–222
- [68] Hanzlik M, Heunemann C, Holtkamp-Rötzler E, *et al.* Superparamagnetic magnetite in the upper beak tissue of homing pigeons. *Biometals*, 2000, **13**(4): 325–331
- [69] Tian L X, Xiao B, Lin W, *et al.* Testing for the presence of magnetite in the upper-beak skin of homing pigeons. *Biometals*, 2007, **20**(2): 197–203
- [70] Walker M M, Diebel C E, Haugh C V, *et al.* Structure and function of the vertebrate magnetic sense. *Nature*, 1997, **390** (6658): 371–376
- [71] Lauwers M, Pichler P, Edelman N B, *et al.* An iron-rich organelle in the cuticular plate of avian hair cells. *Curr Biol*, 2013, **23** (10): 924–929
- [72] Eder S H, Cadiou H, Muhamad A, *et al.* Magnetic characterization of isolated candidate vertebrate magnetoreceptor cells. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2012, **109**(30): 12022–12027
- [73] Edelman N B, Fritz T, Nimpf S, *et al.* No evidence for intracellular magnetite in putative vertebrate magnetoreceptors identified by magnetic screening. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2015, **112** (1): 262–267
- [74] Wheeler M A, Smith C J, Ottolini M, *et al.* Genetically targeted magnetic control of the nervous system. *Nat Neurosci*, 2016, **19**(5): 756–761
- [75] Meister M. Physical limits to magnetogenetics. *Elife*, 2016, **5**: e17210

The Proceedings of IscA That Functions as a Biomagnetic Receptor Protein (MagR)*

WANG Hong-Xia, XIANG Yuan-Cai**, ZHANG Yi-Guo**

(Laboratory of Cell Biochemistry and Topogenetic Regulation, College of Bioengineering, Chongqing University, Chongqing 400040, China)

Abstract An important class of mitochondrial function protein is referred to as an iron-sulfur cluster protein (Isc) family, which plays a vital role in the cellular energy metabolism, electron transfer, substrate-binding and activation, iron-sulfur storage, enzymatic reaction and gene regulation. Dysregulation in either the Isc assembly or transport processes would give rise to a deteriorative effect on both the intracellular iron homeostasis and the functionality of Isc-relevant proteins. Particularly, IscA (molecular mass, ~11 ku) is identified as a highly conserved member of the iron-sulfur protein hesB subfamily that can directly bind to iron ions and iron-sulfur [2Fe-2S] cluster and hence participates in the biosynthesis of iron sulfur cluster proteins. Thereby, IscA is postulated to display a paramount function in the iron-sulfur cluster assembly and cascade reaction system. Curiously, it is worth mentioning that two seemingly similar but different discoveries on the topic of IscA1 published respectively by Dr. Xie and Dr. Zhang's groups in 2015, no matter whether they have attracted extensive public attention, unraveled that IscA1 possesses a putative magneto-receptor capability and thus IscA1 has been renamed as MagR/MAR in their papers. In addition, Xie's group found that IscA could act as a magnetic sensor by means of forming magnetosensor (MagS) complex with Cry. Of crucial importance to notice, the expression of certain magneto-responsive genes *in vivo* could be regulated by the external magnetic field-stimulated activation of MagR, which would subsequently affect neural activity and the magnetic oriented animal behaviors. Regarding to the unique magneto-sensing function of MagR, the concept for "magnetogenetics" is proposed by Dr. Zhang's group in combination of the genetic targeting to MagR/MAR with relevant remote magnetic stimulation. In this mini-review, we give a brief introduction into the discovery of MagR/IscA and its homologues together with their high evolutionary conservation, as well as current proceedings of researches on its physiological functions. Furthermore, we proposed an intracellular biomagnetic signaling-responsive mechanism insofar as to provide an explicit explanation of how MagR/IscA1 exerts its intrinsic function in magnetogenetics.

Key words iron-sulfur cluster protein IscA, iron-sulfur cluster, mitochondrion, magnetogenetics, evolutionary conversion

DOI: 10.16476/j.pibb.2016.0190

* This work was supported by grants from The National Natural Science Foundation of China (91429305, 31270879), Chongqing Graduate Research and Innovation Project (CYB15024).

**Corresponding author. Tel: 86-23-65111632

Xiang Yuan-Cai. E-mail: yuancax@126.com

Zhang Yi-Guo. E-mail: yiguozhang@cqu.edu.cn

Received: June 7, 2016 Accepted: October 11, 2016