



细菌DNA损伤修复的诱导、调控及结局的研究进展*

郭越 韩璐文 齐志豪 杜昕奇 关松磊** 贾宇**

(吉林农业大学生命科学学院, 长春 130118)

摘要 DNA损伤修复(SOS反应)是细菌适应环境、抵抗外界压力和修复自身损伤的重要机制。为了解SOS反应的过程,全面揭示细菌生存机制,本研究对DNA损伤修复的过程、调节及适应性变化进行文献综述。结果表明,内源和外源的诸多压力都可以激活SOS反应,抗生素是激活该反应的主要因素。RecA在感知外界压力和系统启动过程中发挥重要作用,也是整个反应调控的重要靶点。LexA作为阻遏蛋白是整个反应的抑制剂,SOS反应启动后,其释放下游一系列的DNA修复基因,进而完成DNA的损伤修复。SOS反应的结局包括:DNA精准修复、减慢或停止细胞分裂、染色体基因突变率增高、毒力/致病性改变、耐药性增强或耐药基因水平传播。了解SOS反应的整个过程,有助于揭示细菌适应环境的生存代谢过程,为致病菌的防治奠定理论基础。

关键词 细菌, DNA损伤修复, SOS反应, 调控, 结局

中图分类号 Q931, R378

DOI: 10.16476/j.pibb.2020.0269

DNA作为遗传信息的载体,其完整性和稳定性与生存紧密相关。在正常细胞中,内、外源因素都可以造成DNA损伤,这种损伤可以迅速被损伤诱导反应(DNA damage response, DDR)识别,启动DNA修复程序。“SOS”是国际上紧急呼救的通用信号,1974年Radman等^[1]提出了细菌DNA修复系统的“SOS repair”,故通常把细菌DNA损伤修复称为SOS反应。SOS反应是细菌适应环境、抵抗外界压力和修复自身损伤的重要机制,与遗传、代谢、环境适应密切相关。当细菌DNA分子受到严重破坏时,正常的复制和修复系统无法完成DNA修复,即启动SOS反应。LexA和RecA蛋白是引发和调节SOS反应的关键分子。RecA蛋白是反应的激活剂,而LexA是阻遏蛋白,控制下游涉及DNA修复的40余个基因的表达^[2]。自1974年提出这一机制后,国内外许多学者开展了这一领域的研究。本文主要针对细菌SOS反应的诱发因素、调控及其适应性结局展开综述。

1 细菌SOS反应的过程

1.1 基本过程

SOS反应是在环境压力的作用下,由警报序列(p)ppGpp介导的应激反应,(p)ppGpp可以增加转录延伸复合物的暂停时间,阻断DNA复制叉迁移,产生单链DNA(single strand DNA, ssDNA),ssDNA与辅蛋白酶RecA结合形成RecA细丝。RecA是一种ATP依赖的重组酶,属于DNA链交换蛋白家族成员,序列高度保守,在细菌DNA修复中起重要作用。RecA蛋白与ssDNA间隙结合形成RecA-ssDNA丝,细丝与转录抑制蛋白/阻遏蛋白

* 吉林省科技厅“优秀青年人才基金”(20180520044JH)和吉林省教育厅“十三五”科学技术项目(JJKH20180679KJ)资助。

** 通讯联系人。

关松磊 Tel: 13894833786, E-mail: songleig@jlau.edu.cn

贾宇 Tel: 15904313670, E-mail: 66045944@qq.com

收稿日期: 2020-07-29, 接受日期: 2020-09-24

LexA相互作用。正常情况下，阻遏蛋白LexA以二聚体的形式与SOS反应基因组启动子区域的高度特异性位点（回文结构，又称SOS盒）结合，抑制RNA聚合酶活性。RecA-ssDNA丝形成后，促使阻遏蛋白LexA裂解，从SOS盒解离，促使下游参与DNA修复的40多个基因被释放。修复完成后，ssDNA消失，RecA失去辅蛋白酶活性，LexA自裂解减少，重新形成二聚体结合到启动子区域，继续抑制DNA修复基因的表达^[3]。这其中涉及到两个重要的过程，即RecA的激活及LexA的自裂解（图1）。

1.2 RecA的激活机制

1.2.1 RecBCD螺旋酶/核酸酶途径

RecB、RecC和RecD蛋白属于三聚体复合物共同起作用。RecBCD解旋酶/核酸酶从一端展开和降解双链DNA，RecB亚基具有3'至5'解旋酶活性，RecD亚基具有5'至3'解旋酶活性。当DNA损伤时，首先，RecB降解3'端，RecC亚单位的一个位点与3'端链的 χ 序列（chi序列：5'-GCTGGTGG-3'）结合，防止其进一步降解，然后，5'端被RecD降解，导致DNA链产生一个长的3'端单链延伸，最后，RecBCD将RecA长丝加载到延伸的单链片段上取代ssDNA结合蛋白（ssDNA-binding

protein, SSB），RecA酶水解ATP后搜索核酸同源序列，将ssDNA与同源序列配对，开启DNA修复程序^[4]。

1.2.2 RecFOR途径

在DNA双链重组过程中，RecFOR途径是RecBCD途径的补充。recF、recO和recR基因形成一个上位性群体，更适合于修复DNA裂隙损伤。当RecBCD螺旋酶/核酸酶因突变失去DNA重组修复的能力时，RecFOR途径取代RecBCD途径进行重组修复。

1.3 LexA的自裂解及降解机制

LexA蛋白由两个结构域组成：N端为wHTH DNA结构域（wing-helix-helix-helix），C端为二聚化和潜在的蛋白酶结构域，这两个结构域的相对位置高度可变。LexA最初以二聚体的形式绑定到SOS盒，阻断RNA聚合酶活性以阻止下游基因转录。DNA损伤导致RecA激活，引起LexA在Ala⁸⁴-Gly⁸⁵位点上自切割，切割的LexA无法形成二聚体，从而解除阻遏作用。当DNA损伤水平增加时，细胞直接激活LexA自我切割程序，释放下游基因。一般来讲，完整的LexA可以在细胞中稳定缓慢降解，但SOS反应启动后的LexA自切割片段会迅速降解，这得益于细胞内一系列的蛋白水解酶。

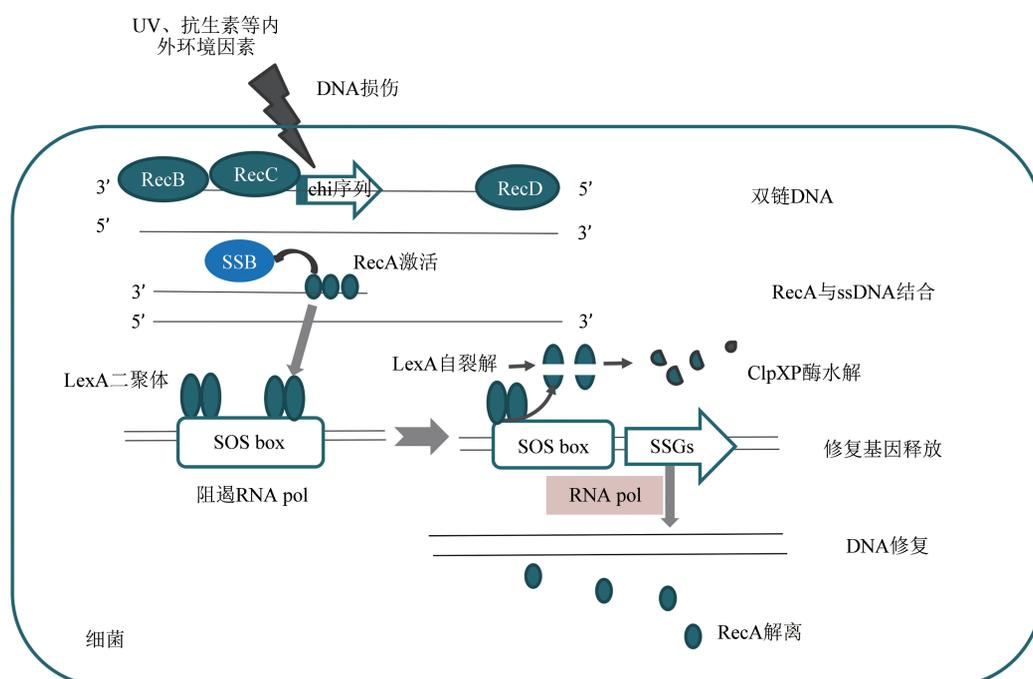


Fig. 1 The process of SOS response

图1 SOS反应基本过程

SSGs: SOS反应抑制基因; ssDNA: 单链DNA; chi序列: 交叉序列; RNA pol: RNA聚合酶。

ClpXP蛋白酶的底物恰好是LexA的两个切割片段, ClpXP可以识别并将其迅速降解。ClpX属于胸苷磷酸化酶TPase, 能够识别特定的底物, 展开这些蛋白质, 然后将变性的多肽转移至肽酶腔中降解。研究人员^[5]对ClpXP底物进行了免疫印迹实验, 从裂解的片段中仅检测到少量LexA蛋白, 而未检测到全长LexA。此外, 将纯化的LexA添加到捕获物质的样品中进行免疫印迹实验, 结果检测到了完整的LexA片段^[5]。事实证明, ClpX蛋白酶可以识别LexA的两个自裂解片段, 但不能识别全长LexA, 说明ClpX只在DNA损伤时发挥酶解作用, 正常情况下不会干扰LexA的阻遏效应。同时也说明, LexA阻遏物想要完全降解, 在此之前必须进行最初的自裂解过程。

2 细菌SOS反应的诱导因素

2.1 外源性因素

环境中存在各种引起细菌DNA损伤的危险因素, 包括物理因素(电离辐射、紫外线、静水压、高渗透压、热应激)、化学因素(丝裂霉素C、氧化剂、抗生素、亚硝化胺或S-腺苷甲硫氨酸、铬酸盐冲击、pH水平、活性氧等)和生物因素(饥饿、接合、转化等)。这些因素直接或间接地对基因组构成持续的威胁。SOS反应正是细菌在这些压力下产生的一种应急防御方式。紫外线和电离辐射引起DNA损伤的报道由来已久, 紫外光照射后引起染色体凝聚, 激活LexA下游的*uvrA*、*uvrB*、*uvrC*基因, UvrA检测并结合于DNA损伤部位, 在UvrB和UvrC帮助下触发修复过程, 与此同时, UvrB还可以延缓细胞分裂, 为DNA修复争取时间。此外, 紫外压力启动SOS反应后, 后者调控DNA聚合酶I、III、IV和V的水平^[6], 完成DNA修复。研究证实, 即使在缺乏DNA聚合酶V的菌种内, 也会形成一种SOS反应基因盒——*lexA2-imuA-imuB-imuC*, 其中*imuB*和*imuC*编码DNA聚合酶(Y家族和DNA聚合酶III的 α 亚基), ImuB和ImuC形成共转录单元表达增加, 完成DNA修复^[7]。活性氧(reactive oxygen species, ROS)是细菌代谢的副产物, OH⁻攻击DNA糖和碱基, 导致双链断裂, 并通过RecBCD激活SOS反应。电离辐射既可以直接损伤DNA, 也可以通过水电离产生OH⁻, 间接造成DNA断裂、碱基脱落、杂环破

裂等损伤, 从而诱发SOS反应。目前, 抗生素已经成为激活SOS反应的主要外界压力。已发现包括 β -内酰胺类、氨基糖苷类、硝基咪唑类、氟喹诺酮类、利福平等在内的多种抗生素均可引起SOS反应。例如, 氨基糖苷类、氯霉素、利福平和四环素在亚致死浓度下并不直接损伤DNA, 而是通过活性氧间接损伤DNA, 诱发SOS反应^[8-9], 反应启动后阻断II型拓扑异构酶来防止DNA损伤或防止复制叉的形成^[10]。

除了经典的依赖RecA-LexA途径启动SOS反应外, 许多外源因素也可以通过其他非依赖RecA-LexA途径启动该反应。如: β -内酰胺类抗生素可以激活细菌膜的组氨酸激酶, 调控DpiA/B双组分通用信号传导系统, 调节蛋白Hu直接促进RpoS的转录或竞争性替换LexA蛋白而启动SOS反应^[11]。此外, 饥饿、酸性环境、高渗透压等外源压力, 可以通过激活RpoS途径完成DNA修复。高温胁迫引起的细菌热休克反应, 导致DNA损伤和蛋白质变性, 这种应激压力主要通过激活RpoH途径完成DNA损伤修复。

2.2 内源性/上游因素

SOS反应启动是外源性环境因素与内源性因素共同配合完成的。外源性因素通过内源性三种压力途径诱导SOS反应发生, 包括CcdAB途径、DpiBA途径和Mrr途径。

2.2.1 CcdAB途径

此途径包括CcdA蛋白、CcdB蛋白、Lon蛋白及环境信号反应蛋白(GroE、PmbA、TldE、TldD、CsrA)。CcdB蛋白编码大肠杆菌毒素(对大肠杆菌的作用类似于外源的喹诺酮类抗生素), 可以诱导DNA双链损伤(DNA double-strand break, DSB), 导致双链拓扑结构被破坏, 同时抑制DNA-回旋酶的活性, 使DNA无法恢复正常双链结构, 形成ssDNA, 激活RecA。CcdAB系统中, CcdA是CcdB的解毒剂(解除CcdB蛋白对DNA回旋酶的抑制作用), 因此, 二者是毒素-抗毒素的平衡关系; 但是在无F质粒的菌体内, CcdA不甚稳定, 易被Lon蛋白酶降解而失活, 而在有F质粒的菌体内, CcdB蛋白释放及环境反应蛋白可以提高Lon的水平或阻止CcdA蛋白合成, 从而诱导SOS反应的发生^[12]。

2.2.2 DpiBA途径

青霉素结合蛋白3 (*ftsI*编码) 变异、化学因素 (β -内酰胺类抗生素) 等破坏细菌细胞壁时, DpiBA 双组分信号途径被激活^[13]。具体机制是: DpiA 效应蛋白与染色体复制起始端富含 A-T 区域结合, 竞争性地抑制 DnaA 和 DnaB 与复制起始序列的结合, 从而中断 DNA 复制并诱导 SOS 反应。

2.2.3 Mrr途径

Mrr 属于 IV 型限制性内切酶家族成员, 主要作用是限制 DNA 的异常甲基化。高静水压 (high hydrostatic pressure, HHP) 是一种新发现的能够诱导 SOS 反应的物理性因素, HHP 达到 100 MPa 时, 通过 Mrr 限制性内切酶途径损伤自身基因组 (DNA 双链损伤), 促使 RecB 激活 RecA, 引发 SOS 反应^[14]。但是, 关于 HP 如何激活 Mrr 途径尚

不清楚, 有待深入研究。

3 细菌SOS反应的调控

3.1 LexA的调控作用

SOS 系统被认为是一个调节多个基因的复杂网络, 在正常情况下, LexA 与操纵子的调控序列结合, 抑制涉及 DNA 修复的下游基因的表达, 这些基因被称为 SOS 反应抑制基因 (SOS suppression genes, SSGs), SSGs 主要通过干扰 RecA-DNA 细丝的构象或功能发挥抑制作用。LexA 的调控作用则主要体现在控制 SSGs 上。一旦 LexA 降解, SSGs 基因被释放, 这些下游因子通过同源重组和/或编码修复蛋白修复受损的 DNA, 在 DNA 损伤耐受过程中发挥关键作用 (表1)。

Table 1 The information of SSGs regulated by LexA

表1 LexA调控的SOS反应抑制基因的信息

基因	编码蛋白	功能
<i>cho</i> (<i>ydjQ</i>)	核苷酸内切酶	1. 参与DNA链间交联 ^[15] 2. 核苷酸切除修复
<i>dinB</i>	DNA聚合酶IV (帮助细胞耐受某些类型的DNA损伤)	1. 参与铜绿假单胞菌和恶臭假单胞菌的DNA烷基化损伤耐受性 ^[16] 2. 抑制DNA复制 ^[17] 3. 在TLS的DNA损伤具有关键和保守的作用
<i>dinD</i> (<i>pcsA</i>)	DNA损伤诱导蛋白	在DNA链交换过程中, 干扰RecA在ssDNA上的结合, 使RecA从DNA链交换产物中分解出来 ^[18]
<i>dinF</i>	运输工具	1. DinF可能控制细胞内ROS的水平 2. 保护DNA和蛋白质免受氧化分子的破坏, 并降低突变率 ^[19]
<i>dinG</i>	ATP依赖性解旋酶	DNA修复和复制叉重启途径中解开同源重组和复制的模型中间体
<i>dinI</i>	DNA损伤诱导蛋白	DinI稳定RecA-DNA核蛋白丝, 防止拆卸但允许装配
<i>dinQ</i>	膜毒性肽	过表达使细胞膜去极化, 降低胞内ATP浓度并调节结合重组 ^[20]
<i>dinS</i>	DNA损伤诱导蛋白	未知
<i>ftsK</i>	细胞分裂蛋白	1. FtsK蛋白参与大肠杆菌细胞周期中染色体分离和细胞分裂, 还能够以ATP依赖的方式穿线DNA 2. FtsK响应短而不对称的DNA序列而改变方向
<i>lexA</i>	SOS反应调控因子	LexA的束缚构象和自由构象之间相互转换协调了细菌的SOS反应
<i>hokE</i>	毒性多肽	未知
<i>molR</i>	钼酸盐代谢调节剂	阻止硝酸盐还原酶和三甲胺-N-氧化物还原酶的合成
<i>polB</i>	DNA聚合酶II	跨碱基位点进行DNA合成 ^[21]

续表1

基因	编码蛋白	功能
<i>recN</i>	DNA修复和重组	1. 在丝裂霉素C存在的情况下限制姐妹染色单体的分离, 并在大肠杆菌中起DNA损伤诱导的内聚因子的作用 ^[22] 2. 促进依赖RecA的DSB修复 ^[23] 3. 修复染色体断裂
<i>recX</i>	recA抑制剂	1. RecX和DprA在基因重组过程中调节RecA 2. RecX抑制RecA催化的ATP水解 3. RecX和SsbA抑制稳定的RecA聚合在ssDNA上 4. RecX促进重组的启动并增加跨物种的重组 ^[24] 5. RecX在SOS响应期间对抗RecF 6. RecX影响重组DNA修复过程中RecA丝的形成 ^[25]
<i>ruvAB</i>	解旋酶亚基A和B	未知
<i>sbmC</i>	DNA回旋酶抑制剂	未知
<i>ssb</i>	结合蛋白	1. 可稳定DNA加工过程中产生的单链DNA中间体, 参与DNA修复途径, 包括碱基切除修复和重组 2. 介导与SSB相互作用的14种DNA结合蛋白的结合 3. 增加RecQ的DNA解链功能 ^[26]
<i>sulA</i>	抑制细胞分裂	1. 抑制Fts Z环的形成来防止细胞分裂
<i>umuDC</i>	DNA聚合酶V	1. DNA的易错修复 ^[27]
<i>uvrA</i>	核酸酶亚基A	1. 紫外线照射后凝集染色体DNA 2. 结核分枝杆菌中, 与UvrD1共同起作用, 阻断同源和非同源RecA蛋白促进的DNA链交换 3. 检测DNA形态 4. 水解ATP, 从复合物中解离, 形成UvrB-DNA切割前复合物 5. 作用于DNA损伤, 引入与UvrB和UvrC结合基因产物的缺口, 触发修复过程
<i>uvrB</i>	核酸核酸酶亚基B	1. UvrB验证病变的存在 2. 与FtsZ蛋白结合, 延缓细胞分裂 ^[28]
<i>uvrD</i>	DNA依赖性ATPase I和解旋酶II	在G ⁻ 细菌的核苷酸切除修复和错配修复期间解开DNA
<i>ybfE</i>	DNA损伤诱导蛋白	未知
<i>ydjM</i>	内膜蛋白	未知
<i>yebG</i>	DNA损伤诱导蛋白	未知
<i>symE</i> (<i>yjiW</i>)	类毒素蛋白	核酸内切酶毒素功能
<i>tisAB</i> (<i>ysdAB</i>)	SOS诱导的毒性肽	未知
<i>rmuC</i> (<i>yigN</i>)	重组限制蛋白	编码两个与转录阻遏物相关模块的保守蛋白
<i>ymfE</i>	内膜蛋白	介导分泌杆菌素 ^[29]
<i>ymfI</i>	未知	防止抑制性EF-P修饰状态的积累 ^[30]
<i>ydeO</i>	DNA结合转录双重调节子	1. YdeO是在酸性和厌氧条件下大肠杆菌存活的关键调节剂: YdeO激活Gad系统组件 <i>gadE</i> 、 <i>gadA</i> 和 <i>gadBC</i> 的转录 ^[31] 2. 激活MdtEF外排泵提高大肠杆菌的多重耐药性
<i>ydeS</i>	纤维蛋白	未知
<i>yoaB</i>	RutC家族蛋白	未知
<i>intE</i>	e14预言推定整合酶	未知
<i>ogrK</i>	噬菌体P2后期控制蛋白	控制噬菌体P2基因的表达

续表1

基因	编码蛋白	功能
<i>yqgC</i> (<i>afuC</i>)	CP4-6预言ABC	未知
<i>CP4-6 prophage: ABC transporter ATP-binding protein</i>	转运蛋白ATP结合蛋白	
<i>yhiL</i>	未知	未知
<i>glvB</i>	PTS酶II组分	未知
<i>ibpA</i>	小热激蛋白	1. 扫描细胞, 防止不可逆的聚集并帮助变性蛋白质重新折叠。保护重组蛋白免于蛋白酶降解 2. 降低重组大肠杆菌的压力负荷并延迟包涵体的降解 3. <i>IbpA</i> 保护酶免受热和氧化剂的灭活 4. 影响细胞外吡啶的水平来影响生物膜的形成 5. 保护细胞免受铜引起的氧化损伤

3.2 RecA的调控

RecA 主要接受4个层次的调节: a. 直接调节: SOS 反应对 *recA* 基因的表达水平实现直接控制, 即当损伤因素作用于DNA片段时启动 RecA 的表达; 反之, RecA 基因受到抑制。比如, 当pH、渗透压、化学物质等外源因素导致DNA损伤时, RecA 构象发生变化(出现纤维细丝), 功能被激活。同样地, 当DNA损伤后造成核糖核酸酶表达上调, 导致dATP蓄积, RecA 结合ATP形成活性细丝, RecA 也被激活^[32]。b. 自动调节: RecA 蛋白可以通过自身的C端进行自动调节。RecA 蛋白C端25个氨基酸残基的排列处于无序状态, 特别是C端17个氨基酸残基是SOS反应自动调节的开关(C端17个氨基酸肽段被移除后, RecA 功能被激活)。正常情况下, RecA 与DNA结合需要游离Mg²⁺的存在, 而C端的氨基酸残基被去除后, RecA 不需要Mg²⁺即可激活, 启动SOS反应。因此C端成为了RecA的自调控模式, 这个肽段也成为了其他蛋白质调控RecA的关键靶点。c. 其他蛋白质调节: RecA的活性调控蛋白还包括SSB、RecF、RecO、RecR、DinI、RecX、RdgC、PsiB、UvrD等。SSB通过与RecA竞争ssDNA结合位点而间接影响其功能; RecO、RecR及RecF蛋白调节RecA细丝的组装和拆卸; RecX是天然的RecA抑制剂, 能够分解RecA细丝, 阻止细丝延伸, 影响RecA活性。研究者根据RecX的作用机制, 利用SEQOPT设计了一种抑制RecA突触前复合物的 α 螺旋肽, 它既能抑制RecA的体外活性, 又能阻断菌体内的SOS反应^[33]。DinI蛋白可稳定RecA细丝; RdgC蛋白与dsDNA结合, 并阻止RecA与

dsDNA结合; PsiB蛋白功能尚不明确, 初步判断可能以某种方式抑制RecA活性; UvrD解旋酶从RecA中去除RecA细丝。以上这些调控蛋白主要通过调整RecA的位置和与DNA的作用方式起作用。d. 小分子化合物的调节: 研究发现, 酚类化合物——对香豆酸是有效的RecA抑制剂, 抑制RecA驱动的多个过程, 如ssDNA结合、链交换、ATP水解和RecA蛋白酶活性, 机制是干扰RecA蛋白的识别能力^[34]。

3.3 RNase E的调节作用

大肠杆菌需要RNA酶E(RNase E)才能启动SOS反应。RNase E是参与RNA成熟和mRNA降解的限速酶, 是mRNA降解体复合物的支架。RNase E是SOS反应的动态调控因子。研究者利用丝裂霉素C诱导大肠杆菌发生SOS反应, RNase E逐渐失活后, SOS反应终止; 而当RNase E功能恢复后, SOS反应又重新启动。RNase E对SOS反应的调控主要是通过RNase E活性调节蛋白A(regulator of ribonuclease activity A, RraA)实现的。RraA是近年来发现的对RNase E起抑制作用的重要调节因子。研究人员使用染色体定位的绿色荧光蛋白证明, RraA过表达时通过与RNase E的C端非催化区域结合, 下调RNase E的核酸内切酶活性, 间接抑制SOS反应, 而且这种调节是动态的: RraA过量表达不仅可以抑制SOS反应的启动环节, 而且可以灵活地随时停止SOS应答^[35]。此外, 也有报道认为, 在大肠杆菌内, RNase E旁系同源物RNase G表达增强可以弥补RNase E缺乏造成的SOS反应抑制, 进而重新启动大肠杆菌内的SOS反应^[36]。

3.4 RpoS蛋白

RpoS 是 RNA 聚合酶 $\sigma 38$ 因子 (RNA polymerase $\sigma 38$ factor, RpoS/ $\sigma 38$) 主要功能是识别转录起始位点, 并将 RNA 聚合酶引导至启动子区。正常情况下, RpoS 与 RssB 相互作用, 被 ClpXP 蛋白酶完全水解。其在细菌的指数生长期不稳定, 在静止期稳定^[36], 表达水平受到多阶段调控, 主要包括转录水平、翻译水平、翻译后水平^[37]。RpoS 在细菌氧化应激和饥饿状态下稳定表达, 因此 RpoS 被认为是主要的应激调控因子之一。整个 RpoS 调节系统涉及约 100 个基因的表达, 其编码的蛋白质主要帮助细菌应对饥饿等压力条件。具体机制是: 当细菌受到高渗、酸性环境, 高温、饥饿等压力胁迫时, 细胞内产生抗适应因子 IraD、IraM、IraP (分别由氧化应激、镁和磷酸盐饥饿诱导产生) 阻止 RssB 靶向 RpoS, 从而稳定 RpoS 蛋白^[38], 此时可以通过非依赖 RecA-LexA 的信号传导途径启动 SOS 反应, 通过调控 DNA Pol II 或在细胞静止期和生长期通过 SbcCD 核酸酶和 RecB 中间因子的活性调控 DNA 聚合酶 IV 的表达。这一过程通常也被称为 RpoS 应激途径。此外, 在环境压力下, ClpXP 蛋白酶停止对 RpoS 的水解, 使 RpoS 在细胞内积累, 激活 RpoS 修复途径^[37]。

3.5 RpoH蛋白

RpoH 是 RNA 聚合酶 $\sigma 32$ 因子 (RNA polymerase sigma factor, RpoH/ $\sigma 32$), 功能是引导 RNA 聚合酶到特定的转录启动子区, 然后释放。RpoH 是在细胞对数生长期控制热休克反应的主要因子。在高温胁迫条件下, 导致 DNA 损伤及蛋白质折叠/变性, 诱发细菌进入热休克状态, 高温会诱导 RpoH 的表达。RpoH 调控系统包括大约 30 个基因。GroEL/GroES 和 DnaK 分子伴侣系统 (包括 DnaK、DnaJ 和 GrpE) 是这一系统的重要成员。DNA 聚合酶 IV 和聚合酶 V 是 DNA 损伤修复不可或缺的聚合酶。GroE 能够与 UmuC 相互作用, 保护 DNA 聚合酶 V 不被降解^[39]。而 DNA 聚合酶 IV 要正常发挥作用也离不开 GroE 的保护。另外, 在非胁迫条件下, RpoH 与 DnaK 相互作用, 并与 DnaJ 和 GrpE 一起, 被蛋白酶降解^[39]。而暴露于热休克后, DnaK 被错误折叠的蛋白质隔离, 不再与 RpoH 相互作用, 此时 RpoH 可以正常发挥作用, 促使蛋白水解酶和分子伴侣蛋白表达增加, 帮助水解变性的蛋白质或展开折叠的蛋白质, 大大减轻高温的毒性作用。

4 细菌DNA损伤修复的适应性结局

细菌 SOS 反应除了精确修复 DNA 损伤以外, 还可以产生一系列适应性结局, 包括: 抑制细胞分裂、染色体突变、毒力/致病性改变、耐药性改变。这些变化帮助细菌更好地适应环境 (图 2)。

4.1 抑制细胞分裂

SOS 反应过程中, LexA 自切割后脱离 SOS 盒后, 导致细胞分裂停止并促进 DNA 加快修复。暂时停止细胞分裂有助于减轻或避免分裂细胞中 DNA 损伤向子代传递, 同时为 DNA 修复争取时间^[40]。在不同的菌种中, SOS 反应所诱导的细胞分裂抑制剂不甚相同。大肠杆菌 SOS 反应诱导的细胞分裂抑制剂是胞质的 SulA, 其通过与 FtsZ (细胞分裂组分的支架) 结合来抑制细胞分裂。 α -月牙杆菌 SOS 反应诱导的细胞分裂抑制剂是 SidA。SidA 是一种膜锚定小蛋白, 不与 FtsZ 相互作用, 而是与细胞分裂蛋白相互作用抑制细胞分裂。另外, 在月牙杆菌中, 还存在一种只与 DNA 损伤密切相关 (独立于 SOS 反应) 的细胞分裂抑制剂 DidA^[41]。在葡萄球菌中, SOS 反应诱导的分裂抑制剂是小分子膜蛋白 SosA, SosA 过量表达能抑制细胞分裂, 而 SosA 失活则使细胞恢复分裂。正常状态下, SosA 受到 LexA 的阻遏, 而当 SOS 反应启动, LexA 阻遏作用消失, SosA 抑制细胞分裂^[42]。

4.2 染色体突变

DNA 修复的早期为精准修复, 包括碱基切除修复 (BER)、核苷酸切除修复 (NER) 和重组 DNA 修复。但是如果 DNA 损伤严重, 精准修复不足以完成修复和重新启动复制, DNA 诱变阶段就会被触发。这个阶段一般有 3 种 DNA 聚合酶 (Pol II、IV 和 V) 参与跨损伤修复 (translesion synthesis, TLS)。TLS 是修复过程中绕过已经损伤的 DNA 进行复制修复的过程, 是不准确的 DNA 修复方式, 属于损伤耐受途径。具体机制是: SOS 反应启动后, RerA 细丝逐渐积累, 易错 DNA 聚合酶激活, 由于修复能力有限, 造成基因突变率增高, 因此 SOS 反应又称为突变反应^[43]。在 3 种参与 TLS 修复的 DNA 聚合酶中, 聚合酶 V 被认为是最易出错的酶, 其参与的 DNA 修复可以使染色体的突变率增加 100 倍。突变会杀死许多细胞, 只有少量复制成功的细胞会适应突变而存活下来。

4.3 耐药性改变

4.3.1 直接改变菌株耐药性

有证据表明，低浓度的抗生素和随后的 SOS 诱导是导致细菌获得多重耐药性的因素之一。已证实，环丙沙星可导致更高的 *recA* 转录和翻译，激活 SOS 反应，使易出错的 DNA 聚合酶 V 活性增高，引起耐药性突变。喹诺酮耐药基因 *qnrB2* 的表达水平通过 SOS 反应的 LexA/RecA 依赖的负相关方式进行调节。SOS 反应上调的蛋白质还可以直接结合至 DNA 解旋酶位点，通过阻碍抗菌药物的结合而引起耐药性。此外，RecA 蛋白突变 (RecA142) 还可以导致氟喹诺酮类耐药性降低。在金黄色葡萄球菌中，抗性的持续和进化也与 SOS 反应有关。SOS 反应下游释放的 YdeO 蛋白通过激活 MdtEF 外排泵提高大肠杆菌的多重耐药性^[44]。SOS 反应在修复 DNA 损伤的同时，也增强了细菌对抗菌药物的抵抗能力，如链球菌 (*Streptococcus pneumoniae*) 热休克蛋白 ClpL 的诱导表达可以直接增强链球菌对青霉素的耐药性。

4.3.2 促进携带抗性基因的可移动遗传元件的转移

可移动元件在抗性基因传播中起着至关重要的作用。β-内酰胺类抗生素可以通过诱导 SOS 反应来促进耐甲氧西林金黄色葡萄球菌内携带抗性基因 *mecA* 和 *mecC* 的转移元件 SCCmec 的转移。SXT 是

携带抗氯霉素、磺胺甲恶唑、甲氧苄啶和链霉素的多种抗性基因的转移元件^[45]。2004 年，研究者试图利用 SetR 抑制 SXT 的转移，但是 SOS 反应能够促进 SetR 的自裂解，SetR 失活后，解除了对 SetC 和 SetD 的抑制，后两者是 SXT 接合转移和整合酶的激活因子，反而增加了 SXT 的接合转移频率，促进耐药基因的水平转移^[46]。这种促进耐药基因传播的机制不仅将耐药性限制在单个细胞内，而且还促进了整个菌群对抗菌药物的耐药性。

4.3.3 促进整合子的重排和转移

Hocquet 等^[47] 在临床治疗中，发现曾经对头孢他啶敏感的患者经甲硝唑治疗后对头孢他啶产生了耐药性，后来在此患者体内分离出 1 株超广谱 β-内酰胺酶高度表达的铜绿假单胞菌，获得性耐药的原因是此患者之前使用甲硝唑引发了 SOS 反应，激活了整合酶 IntI，引起了整合子基因重排 (切除了 *bla_{OX4-28}* 基因上游的 *gcuF1* cassette 盒)，造成 β 内酰胺酶分泌，形成了对 β-内酰胺类抗生素的广谱耐药性。Cambray 等^[48] 发现 LexA 在整合蛋白 I 启动子 Pint 的结合位点称为 LexA 盒，当 LexA 与 LexA 盒结合时，大肠杆菌和霍乱弧菌的整合酶表达明显增加。这表明 LexA 蛋白通过 Pint 启动子上的结合位点控制整合酶的表达，从而影响整合子抗性基因盒的重组和表达。

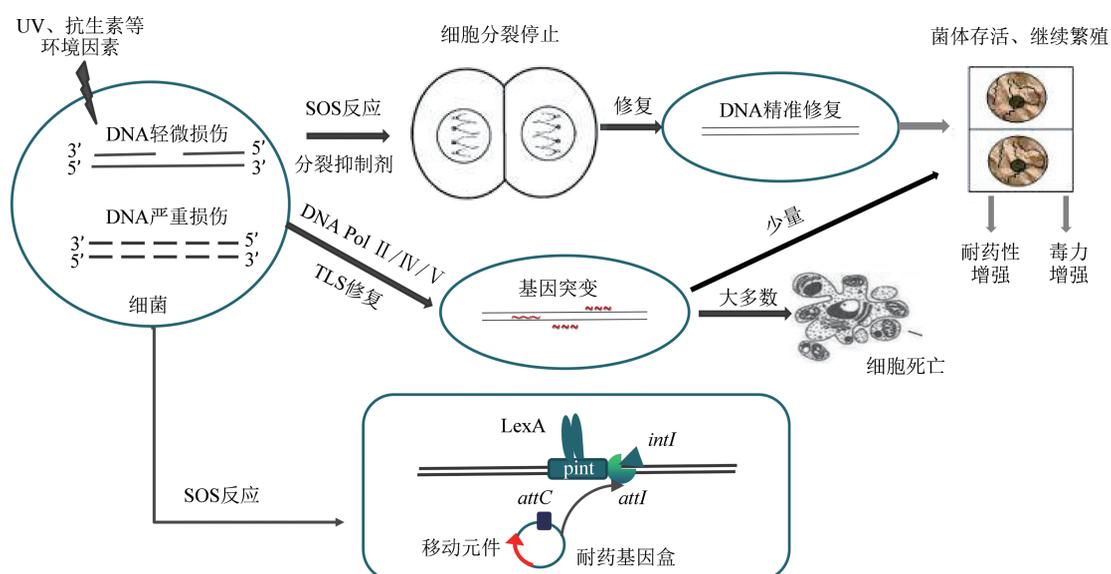


Fig. 2 The adaptive outcomes caused by SOS reaction

图2 细菌SOS反应引起的适应性结局

DNA Pol: DNA聚合酶; *intI*: 编码整合酶; *pint*: 基因盒启动子; *attI*: 结合位点; TLS: 跨损伤修复。

4.3.4 对细菌毒力的影响

在志贺毒素大肠杆菌中, SOS反应强烈诱导产生大量的志贺毒素(STX)和编码STX基因的噬菌体^[49], 增强大肠杆菌的毒性。丝裂霉素C、环丙沙星和 β -内酰胺类抗生素诱导的SOS反应还能促进金黄色葡萄球菌SaPI毒力岛的水平转移。

5 总 结

综上所述, 从1974年到今天, 国内外学者已经对细菌的DNA修复过程有了较为全面和深入的了解, DNA损伤修复过程的诱导、调控和随之出现的适应性变化是一个精细和复杂的过程, 这一过程帮助细菌抵抗外界压力并适应环境变化。随着抗生素的广泛使用, 细菌的生存压力日益增大, SOS反应是细菌抵御外界压力的有效过程之一。但是仍然有一些关键环节尚不清楚, 如LexA自切割的机制是什么? 下游释放基因的如何协同完成DNA修复过程, SSGs之间是否存在信号关联网络? SOS反应促进耐药基因转移的机制是什么? DNA损伤修复为何会改变细菌的毒力/致病性? SOS反应与细菌的接合转移及群体感应是否存在关联, 机制是什么? 诸多问题到目前为止都不十分清楚, 关于SOS反应的诸多问题还需要进行深入长期的研究。总之, 认识SOS反应的整个过程和机制, 有助于揭示细菌生存、代谢、遗传的全过程, 有利于开展致病菌的防治及新型抗生素的开发。

参 考 文 献

- [1] Matic I, Taddei F, Radman M. Survival versus maintenance of genetic stability: a conflict of priorities during stress. *Res Microbiol*, 2004, **155**(5):337-341
- [2] Bell J C, Kowalczykowski S C. RecA: regulation and mechanism of a molecular search engine. *Trends Biochem Sci*, 2016: S0968000416300056
- [3] Qin T T, Kang H Q, Ma P, *et al.* SOS response and its regulation on the fluoroquinolone resistance. *Ann Transl Med*, 2016, **3**(22):358
- [4] Bell J C, Plank J L, Dombrowski C C, *et al.* Direct imaging of RecA nucleation and growth on single molecules of SSB-coated ssDNA. *Nature*, 2012, **491**(7423):274-278
- [5] Neher S B, Flynn J M, Sauer R T, *et al.* Latent ClpX-recognition signals ensure LexA destruction after DNA damage. *Genes Dev*, 2003, **17**(9):1084-1089
- [6] Goodman M F, Woodgate R. Translesion DNA polymerases. *Cold Spring Harb Perspect Biol*, 2013, **5**:a010363
- [7] Luján A M, Moyano A J, Martino R A, *et al.* ImuB and ImuC contribute to UV-induced mutagenesis as part of the SOS regulon in *Pseudomonas aeruginosa*. *Environ Mol Mutagen*, 2019, **60**(7):594-601
- [8] Baharoglu Z, Mazel D. *Vibrio cholerae* triggers SOS and mutagenesis in response to a wide range of antibiotics: a route towards multiresistance. *Antimicrob Agents Chemother*, 2011, **55**(5):2438-2441
- [9] Händel N, Hoeksema M, Freijo M M, *et al.* Effects of stress, ROS and the SOS response on *de novo* acquisition of antibiotic resistance in *Escherichia coli*. *Antimicrob Agents Chemother*, 2015, **60**(3):1319-1327
- [10] Strugeon E, Illoy V, Ploy M, *et al.* The stringent response promotes antibiotic resistance dissemination by regulating integron integrase expression in biofilms. *mBio*, 2016, **7**(4):e00868-16
- [11] Gutierrez A, Laureti L, Crussard S, *et al.* β -lactam antibiotics promote bacterial mutagenesis via an RpoS-mediated reduction in replication fidelity. *Nat Commun*, 2013, **4**:1610
- [12] Aguirre-Ramírez M, Ramírez-Santos J, van Melderen L, *et al.* Expression of the F plasmid ccd toxin-antitoxin system in *Escherichia coli* cells under nutritional stress. *Can J Microbiol*, 2006, **52**(1):24-30
- [13] Miller C, Thomsen L E, Gaggero C, *et al.* SOS response induction β -lactams and bacterial defense against antibiotic lethality. *Science*, 2004, **305**(5690):1629-1631
- [14] Aertsen A, Van Houdt R, Vanoirbeek K, *et al.* An SOS response induced by high pressure in *Escherichia coli*. *J Bacteriol*, 2004, **186**(18):6133-6141
- [15] Perera A V, Mendenhall J B, Courcelle C T, *et al.* Chondronuclease functions during DNA interstrand cross-link repair in *Escherichia coli*. *J Bacteriol*, 2016, **198**(22):3099-3108
- [16] Tatjana J, Julia S, Signe S, *et al.* DNA polymerases ImuC and DinB are involved in DNA alkylation damage tolerance in *Pseudomonas aeruginosa* and *Pseudomonas putida*. *PLoS One*, 2017, **12**(1):e0170719
- [17] Mori T, Nakamura T, Okazaki N, *et al.* *Escherichia coli* DinB inhibits replication fork progression without significantly inducing the SOS response. *Genes Genet Syst*, 2012, **87**(2):75-87
- [18] Prasad D, Muniyappa K. The anionic phospholipids in the plasma membrane play an important role in regulating the biochemical properties and biological functions of RecA proteins. *Biochemistry*, 2019, **58**(9):1295-1310
- [19] Rodríguez-Beltrán J, Rodríguez-Rojas A, Guelfo J R, *et al.* The *Escherichia coli* SOS gene *dinF* protects against oxidative stress and bile salts. *PLoS One*, 2012, **7**(4):e34791
- [20] Weel-Sneve R, Kristiansen K I, Odsbu I, *et al.* Single transmembrane peptide DinQ modulates membrane-dependent activities. *PLoS Genet*, 2013, **9**(2):e1003260
- [21] Dapa T, Fleurier S, Bredeche M F, *et al.* The SOS and RpoS regulons contribute to bacterial cell robustness to genotoxic stress by synergistically regulating DNA polymerase Pol II. *Genetics*, 2017, **206**(3):1349-1360
- [22] Vickridge E, Planchenault C, Cockram C, *et al.* Management of *E. coli* sister chromatid cohesion in response to genotoxic stress. *Nat Commun*, 2017, **8**:14618

- [23] Keyamura K, Sakaguchi C, Kubota Y, *et al.* RecA protein recruits structural maintenance of chromosomes (SMC)-like RecN protein to DNA double-strand breaks. *J Biol Chem*, 2013, **288** (41):29229-29237
- [24] Le S, Serrano E, Kawamura R, *et al.* Bacillus subtilis RecA with DprA-SsbA antagonizes RecX function during natural transformation. *Nucleic Acids Res*, 2017, **45**(15):8873-8885
- [25] Cárdenas P P, Carrasco B, Soufo C D, *et al.* RecX facilitates homologous recombination by modulating RecA activities. *PLoS Genet*, 2012, **8**(12):e1003126
- [26] Nigam R, Anindya R. *Escherichia coli*, single-stranded DNA binding protein SSB promotes AlkB-mediated DNA dealkylation repair. *Biochem Biophys Res Commun*, 2018, **496**(2):274-279
- [27] Jaszczur M, Bertram J G, Robinson A, *et al.* Mutations for worse or better: low-fidelity DNA synthesis by SOS DNA polymerase V is a tightly regulated double-edged sword. *Biochemistry*, 2016, **55**(16):2309-2318
- [28] Friedberg E C, Walker G C, Siede W, *et al.* DNA repair and mutagenesis. *DNA Repair*, 2015, **33**(2):35-42
- [29] Miethke M, Schmidt S, Marahiel M A. The major facilitator superfamily-type transporter YmfE and the multidrug-efflux activator Mta mediate Bacillibactin secretion in *Bacillus subtilis*. *J Bacteriol*, 2008, **190**(15):5143-5152
- [30] Hummels K R, Witzky A, Rajkovic A, *et al.* Carbonyl reduction by YmfI in bacillus subtilis prevents accumulation of an inhibitory EF-P modification state. *Mol Microbiol*, 2017, **106**(2):236-251
- [31] Yamanaka Y, Oshima T, Ishihama A, *et al.* Characterization of the YdeO regulon in *Escherichia coli*. *PLoS One*, 2014, **9**(11):e111962
- [32] Kim S H, Park J, Joo C, *et al.* Dynamic growth and shrinkage govern the pH dependence of RecA filament stability. *PLoS One*, 2015, **10**(1):e0115611
- [33] Yakimov A, Pobegalov G, Bakhlanova I, *et al.* Blocking the RecA activity and SOS-response in bacteria with a short α -helical peptide. *Nucleic Acids Res*, 2017, **45**(16):9788-9796
- [34] Ojha D, Patil K N. p-Coumaric acid inhibits the *Listeria monocytogenes* RecA protein functions and SOS response: an antimicrobial target. *Biochem Biophys Res Commun*, 2019, **517**(4):655-661
- [35] Manasher R, Miller C, Kim K S, *et al.* Ribonuclease E modulation of the bacterial SOS response. *PLoS One*, 2012, **7**(6):e38426
- [36] Maslowska K H, Makiela-Dzubska K, Fijalkowska I J. The SOS system: a complex and tightly regulated response to DNA damage. *Environ Mol Mutagen*, 2019, **60** (4):368-384
- [37] Bougdour A, Cuning C, Baptiste P J, *et al.* Multiple pathways for regulation of sigmaS (RpoS) stability in *Escherichia coli* via the action of multiple anti-adaptors. *Mol Microbiol*, 2008, **68**(2):298-313
- [38] Baharoglu Z, Krin E, Mazel D. RpoS plays a central role in the SOS induction by sub-lethal aminoglycoside concentrations in *Vibrio cholerae*. *PLoS Genet*, 2013, **9**(4):e1003421
- [39] Laskos L, Ryan C S, Fyfe J A, *et al.* The RpoH-mediated stress response in *Neisseria gonorrhoeae* is regulated at the level of activity. *J Bacteriol*, 2004, **186**(24):8443-8452
- [40] Simmons L A, Foti J J, Cohen S E, *et al.* The SOS regulatory network. *EcoSal Plus*, 2008, **2008**: 10.1128/ecosalplus.5.4.3
- [41] Modlil J W, Kambara, T K, Perchuk, B S, *et al.* A DNA damage-induced, SOS-independent check point regulates cell division in *Caulobacter crescentus*. *PLoS Biol*, 2014, **12**:e1001977
- [42] Bojer M S, Wacnik K, Kjelgaard P, *et al.* SsaA inhibits cell division in *Staphylococcus aureus* in response to DNA damage. *Mol Microbiol*, 2019, **112**(4):1116-1130
- [43] Belov O V, Chuluunbaatar O, Kapralov M I, *et al.* The role of the bacterial mismatch repair system in SOS-induced mutagenesis: a theoretical background. *J Theor Biol*, 2013, **332**:30-41
- [44] Nishino K, Senda Y, Hayashi-Nishino M, *et al.* Role of the AraC-XylS family regulator YdeO in multi-drug resistance of *Escherichia coli*. *J Antibiot (Tokyo)*, 2009, **62**(5):251-257
- [45] Liu P, Wu Z, Xue H, *et al.* Antibiotics trigger initiation of SCCmec transfer by inducing SOS responses. *Nucleic Acids Res*, 2017, **45**(7):3944-3952
- [46] Beaver J W, Hochhut B, Waldor M K, *et al.* SOS response promotes horizontal dissemination of antibiotic resistance genes. *Nature*, 2004, **427**(6969):72-74
- [47] Hocquet D, Llanes C, Thouverez M, *et al.* Evidence for induction of integron-based antibiotic resistance by the SOS response in a clinical setting. *PLoS Pathog*, 2012, **8**(6):e1002778
- [48] Cambray G, Sanchez-Alberola N, Campoy S, *et al.* Prevalence of SOS-mediated control of integron integrase expression as an adaptive trait of chromosomal and mobile integrons. *Mob DNA*, 2011, **2**(1):6
- [49] Recacha E, Machuca J, de Alba P D, *et al.* Quinolone resistance reversion by targeting the SOS response. *mBio*, 2017, **8**(5):e00971-17

Research Progress of Induction, Regulation and Outcomes of Bacterial DNA Damage Repair*

GUO Yue, HAN Lu-Wen, QI Zhi-Hao, DU Xin-Qi, GUAN Song-Lei**, JIA Yu**

(College of Life Science, Jilin Agricultural University, Changchun 130118, China)

Abstract DNA damage repair (SOS response) plays an important role for bacteria to adapt to the environment, resist external pressure and repair DNA damage. In order to understand the process and comprehensively revealing the survival mechanism of bacteria, here we systematically review the studies of the process, regulation and subsequent adaptive results of DNA damage repair. The results show that both endogenous and exogenous pressures can activate the SOS response, especially antibiotics. RecA plays an important role in the process of sensing external pressure and system start-up process, and is also an important regulation target. As a repressor protein, LexA is an inhibitor of the whole response. After the SOS response starts, LexA releases a series of downstream DNA damage repair genes to complete the DNA repair. The adaptive results of SOS response are as follows: DNA precise repair, slowing down or stopping cell division, increasing of chromosome mutation rate, virulence or pathogenicity change, enhanced drug resistance or horizontal transmission of drug-resistance genes. Understanding the whole process of SOS response is helpful to reveal the survival and metabolism process of bacteria adapting to the environment, and lay a theoretical foundation for the prevention and control of pathogenic bacteria.

Key words bacteria, DNA damage repair, SOS response, regulation, outcome

DOI: 10.16476/j.pibb.2020.0269

* This work was supported by grants from “Outstanding youth talent fund” of Jilin Provincial Science and Technology Department (20180520044JH) and Science and Technology Project of Jilin Provincial Education Department During The 13th Five Year Plan (JJKH20180679KJ).

** Corresponding author.

GUAN Song-Lei. Tel: 86-13894833786, E-mail: songleig@jlau.edu.cn

JIA Yu. Tel: 86-15904313670, E-mail: 66045944@qq.com

Received: July 29, 2020 Accepted: September 24, 2020