

# 细菌压力响应调控因子 RpoS 功能及多态性研究进展

石佳丽<sup>1,2</sup>, 魏雨萌<sup>1,2</sup>, 李嘉敏<sup>2</sup>, 滕昕辰<sup>1</sup>, 宋凯<sup>2\*</sup>, 宋亚军<sup>1,2\*</sup>

1 苏州大学 药学院, 江苏 苏州

2 军事医学研究院, 病原微生物生物安全全国重点实验室, 北京

石佳丽, 魏雨萌, 李嘉敏, 滕昕辰, 宋凯, 宋亚军. 细菌压力响应调控因子 RpoS 功能及多态性研究进展[J]. 微生物学报, 2026, 66(5): 2091-2102.

SHI Jiali, WEI Yumeng, LI Jiamin, TENG Xinchen, SONG Kai, SONG Yajun. Research progress in the functions and polymorphism of the bacterial stress response regulator RpoS[J]. *Acta Microbiologica Sinica*, 2026, 66(5): 2091-2102.

**摘要:** 通用压力响应(general stress response, GSR)是细菌为应对多种外界刺激而形成的一种全局性策略, 能使细菌通过协调一系列生理和代谢变化来适应不断变化的环境。替代 $\sigma$ 因子 RpoS ( $\sigma^S$ )是细菌 GSR 的核心调节蛋白, 对细菌应对胁迫环境至关重要。细菌中此类关键调控因子通常具有较高的保守性, 但研究发现多种细菌的自然分离株和实验室诱导株中 RNA 聚合酶 $\sigma^S$ 因子(RNA polymerase sigma factor S, *rpoS*)存在多态性现象。该现象反映了细菌在进化过程中形成的适应性权衡机制, 使 RpoS 成为研究此机制的关键模型之一。本文综述了细菌 RpoS 的重要功能及其多态性特征, 并结合 RpoS 功能初步探讨了其多态性形成的环境驱动因素。

**关键词:** 通用压力响应; 适应度; RpoS 功能; *rpoS* 多态性

## Research progress in the functions and polymorphism of the bacterial stress response regulator RpoS

SHI Jiali<sup>1,2</sup>, WEI Yumeng<sup>1,2</sup>, LI Jiamin<sup>2</sup>, TENG Xinchen<sup>1</sup>, SONG Kai<sup>2\*</sup>, SONG Yajun<sup>1,2\*</sup>

1 College of Pharmaceutical Sciences, Soochow University, Suzhou, Jiangsu, China

2 State Key Laboratory of Pathogen and Biosecurity, Academy of Military Medical Sciences, Beijing, China

**Abstract:** The general stress response (GSR) is a global regulatory strategy developed by bacteria to adapt to diverse environmental stresses by coordinating a suite of physiological and metabolic

资助项目: 国家自然科学基金(U22A20526)

This work was supported by the National Natural Science Foundation of China (U22A20526).

\*Corresponding authors. E-mail: SONG Kai, [ksongzy@126.com](mailto:ksongzy@126.com); SONG Yajun, [songyj@bmi.ac.cn](mailto:songyj@bmi.ac.cn)

Received: 2025-12-01; Accepted: 2026-01-02; Published online: 2026-01-29

changes, thereby enabling survival in fluctuating conditions. The alternative sigma factor RpoS ( $\sigma^S$ ) serves as a central GSR regulator in bacteria and is crucial for bacterial responses to various stress conditions. Such regulators in bacteria are conserved, while polymorphic variations in *rpoS* are prevalent across numerous natural isolates and acclimated strains. This polymorphism reflects the adaptive trade-off mechanism formed by bacteria during the evolutionary process, positioning RpoS as a key model for investigating fitness trade-offs in bacteria. This review summarizes the functions and polymorphisms of RpoS and explores the potential environmental drivers underlying its polymorphism.

**Keywords:** general stress response; fitness; RpoS function; *rpoS* polymorphism

细菌在自然环境和宿主体内生存时会面临多种胁迫环境(如高/低 pH、高/低温度、高/低渗透压及营养缺乏等), 针对这些胁迫细菌会启动通用压力响应(general stress response, GSR)。RNA 聚合酶  $\sigma^S$  因子(RNA polymerase sigma factor S, RpoS)是细菌 GSR 体系的重要成员, 其合成受上述胁迫压力的诱导, 可调节细菌多种应激反应途径, 包括氨基酸分解代谢、生物膜形成和毒力等<sup>[1]</sup>。尽管 RpoS 对细菌的核心代谢功能并非必需, 但其在应激反应中的多种辅助功能使其在进化过程中得以保留。RpoS 通过调控一系列保护性反应, 帮助细菌适应多种次优生长条件, 为后代群体提供了新的适应性可能<sup>[2]</sup>。编码基因 *rpoS* 可能与其祖先基因 RNA 聚合酶  $\sigma^D$  因子(RNA polymerase sigma factor D, *rpoD*)的复制事件有关, 在绝大多数假单胞菌门(*Pseudomonadota*)中保守<sup>[1,3]</sup>。*rpoD* 作为管家基因, 主要参与基础代谢、大分子合成和转运等过程<sup>[4]</sup>。研究表明, 作为细菌适应性反应的关键调节因子, RpoS 的缺失会导致细菌对多种胁迫因子抗性下降<sup>[1,5-6]</sup>; 而在营养匮乏的环境中, RpoS 突变能够促进细菌生长, 并上调 RpoD 相关基因表达, 使细菌能够在有限的营养资源中充分调动增殖所需基因的优先表达, 最大限度地提高细菌的环境适应性<sup>[4]</sup>。

RpoS 对细菌的压力响应具有核心作用, 传统认知中, 如此重要的调控蛋白应该是高度保守的, 但多种细菌的自然分离株 *rpoS* 基因存在

多态性, 这种蛋白保守性与多态性之间的矛盾可能反映了细菌在快速生长与胁迫生存之间的适应性权衡(adaptive trade-off)策略。前期研究发现, 鼠疫耶尔森菌(*Yersinia pestis*) *rpoS* 同样存在多态性, 进一步支持该基因是病原菌面临自然选择时适应性权衡的重要靶点。鉴于 RpoS 在细菌胁迫环境耐受中发挥重要作用, 却存在高频变异的“矛盾”现象, 系统阐释其多态性的分布规律、环境驱动机制及进化意义, 不仅有助于深化对细菌应激调控网络的理解, 也对揭示病原菌适应性进化规律具有重要科学价值。

本文通过系统综述 RpoS 的表达调控机制及其生理功能, 梳理其在自然与实验种群中基因多态性普遍存在的证据, 重点探讨驱动该多态性形成及维持的环境因素与进化权衡机制, 以期为该领域后续研究提供清晰的理论框架, 并为深入理解细菌在多样化环境中的进化策略提供新的视角。

## 1 RpoS 概述

### 1.1 RpoS 表达调控

$\sigma$  因子是细菌 RNA 聚合酶(RNA polymerase, RNAP)的重要组成部分, 通过与 RNA 聚合酶核心酶结合, 识别基因的启动子区域并启动转录。在大肠杆菌(*Escherichia coli*)中已鉴定出 7 种  $\sigma$  因子, 包括管家因子  $\sigma^{70}$  (RpoD)和替代  $\sigma$  因子( $\sigma^E$ 、 $\sigma^F$ 、 $\sigma^H$ 、 $\sigma^I$ 、 $\sigma^N$  和  $\sigma^S$ )<sup>[7-8]</sup>。管家  $\sigma$  因子 RpoD 主要调控细菌在营养丰富环境以及指数增

长期管家基因的转录, 此时替代  $\sigma$  因子的表达受到严格的负调控, 以避免其与 RpoD 竞争性结合 RNA 聚合酶核心酶。因此, 在最佳生长条件或指数增长期, RpoS 表达量极低; 而当细胞进入稳定期或处于胁迫环境时, RpoS 被大量诱导表达以提高细菌的抗逆性<sup>[7,9]</sup>。RpoS 的表达涉及转录、翻译及翻译后修饰等多层次的调控(图 1)。

细菌 *rpoS* 的转录主要受其上游新型脂蛋白 D (novel lipoprotein D, *nlpD*) 基因启动子及位于 *nlpD* 基因内启动子(*rpoS*<sub>p1</sub>) 的控制<sup>[9-10]</sup>。其中, 在胁迫条件下 *rpoS*<sub>p1</sub> 受多种因子的精密调控:

全局营养应激信号分子鸟苷四磷酸(guanosine 3',5'-bispyrophosphate, ppGpp)在营养匮乏时积累, 正调控 *rpoS* 转录以适应胁迫<sup>[11]</sup>; 此外, 双组分系统 ArcAB 响应环境氧浓度, 磷酸化的应答调节因子缺氧氧化还原调控蛋白 A (Anoxic redox control protein A, ArcA)可直接结合并抑制 *rpoS*<sub>p1</sub><sup>[12-13]</sup>。*rpoS* 转录本存在 567 个核苷酸的 5'-非翻译区(5' untranslated region, 5'-UTR)<sup>[9]</sup>, 该区域形成的茎-环结构阻碍核糖体结合, 从而抑制其翻译(图 1B)<sup>[14]</sup>。RpoS 调节子 RNA A (RpoS regulator RNA A, RprA)、DsrA 小非编码 RNA (DsrA small non-coding RNA, DsrA) 和小非编码

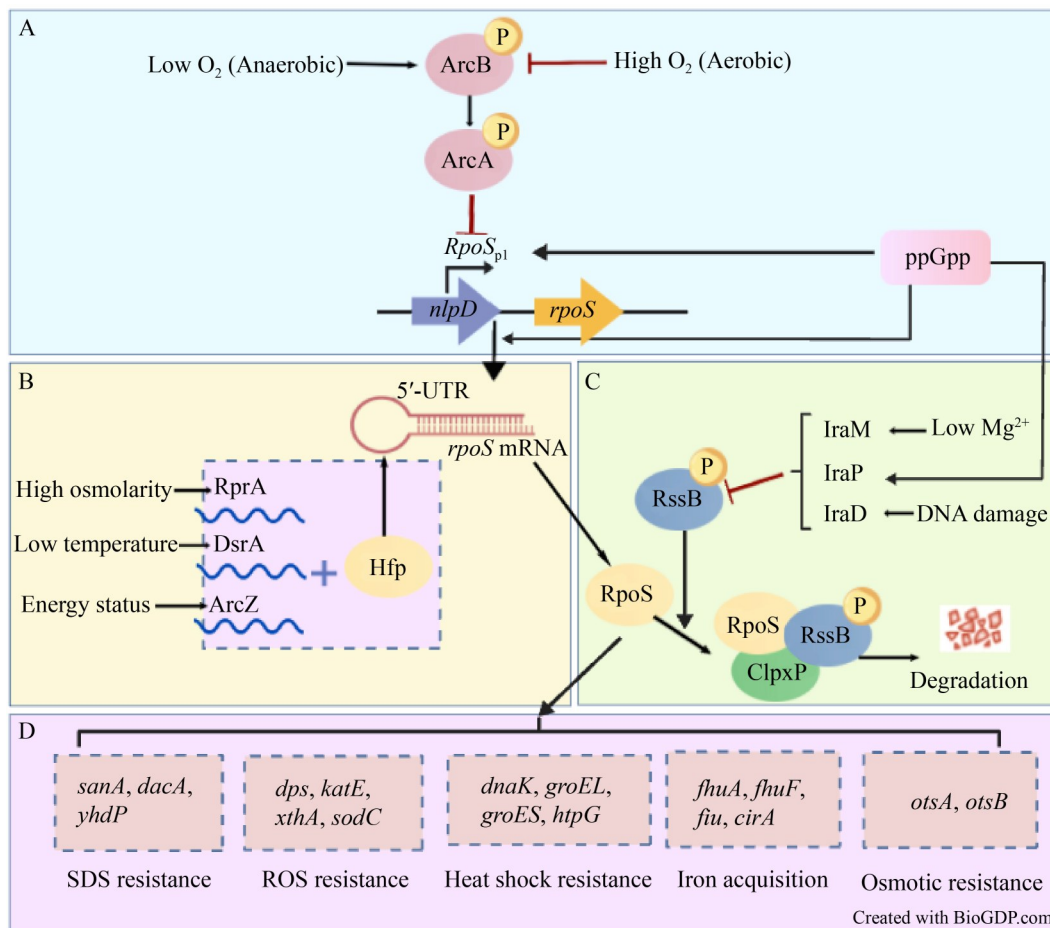


图1 *rpoS*表达调控及其介导的应激响应(改编自文献[7])

Figure 1 Regulation of *rpoS* expression and its mediated stress response (adapted from reference [7]). A: Transcriptional regulation; B: Translational regulation; C: Regulation of stability and degradation; D: RpoS-mediated stress response.

RNA ArcZ (small non-coding RNA ArcZ, ArcZ) 等 sRNAs 在分子伴侣 Q $\beta$  噬菌体宿主因子 I (host factor I for RNA bacteriophage Q $\beta$ , Hfq) 的介导下, 可与 5'-UTR 结合并打开茎-环结构, 进而解除对翻译的抑制<sup>[15-19]</sup>。此外, RpoS 蛋白稳定性主要体现在大肠杆菌的指数增长期,  $\sigma^S$  接头蛋白 B (regulator of sigma S protein B, RssB) 协助 ATP 依赖型 Clp 蛋白酶复合物 XP (ATP-dependent Clp protease complex XP, ClpXP) 介导 RpoS 蛋白快速降解<sup>[20-21]</sup>; 而在平台期或营养限制环境下, 该降解过程被抑制<sup>[22]</sup>。抗适配体(anti-adaptor)蛋白磷酸饥饿响应 RssB 抑制蛋白(inhibitor of RssB activity during phosphate starvation, IraP)、镁饥饿响应 RssB 抑制蛋白(inhibitor of RssB activity during magnesium starvation, IraM) 和 DNA 损伤响应 RssB 抑制蛋白(inhibitor of RssB activity during DNA damage, IraD) 可通过隔离 RssB 阻断降解通路, 从而提升 RpoS 水平<sup>[23]</sup>。

## 1.2 RpoS 调控靶标

在富营养条件下, 大肠杆菌中约 23% 的基因受 RpoS 调控, 这些靶基因根据其对 RpoS 浓度梯度的依赖程度, 可划分为敏感性、线性和迟钝性 3 类响应模式, 从而协调细菌在稳定期及应激条件下的转录适应<sup>[24]</sup> (表 1)。在最小培养基条件下的微阵列研究表明, RpoS 在指数期和稳定期分别影响 200 个和 225 个基因的差异表达, 其中稳定期超过 90% 的靶基因为正调控, 凸显了 RpoS 调控网络的营养依赖性特征<sup>[25]</sup>。然而, 对于其中绝大多数基因, 其受 RpoS 直接或间接调控的机制尚未明确。

Peano 等<sup>[27]</sup> 通过 ChIP-seq 技术在大肠杆菌中鉴定出 63 个已知或预测的 RpoS 特异性依赖的启动子区域, 如渗透压诱导脂蛋白 B (osmotically-inducible lipoprotein B) 基因 *osmB*、饥饿细胞 DNA 结合蛋白(DNA-binding protein from starved cells) 基因 *dps*、渗透压诱导脂蛋白 E (osmotically-inducible protein E) 基因 *osmE* 和碳储存调控因子 A (carbon storage regulator A) 基因

*csrA* 等, 并且发现了 2 个新的 RpoS 依赖性基因未表征锌指结构域蛋白(uncharacterized zinc finger domain-containing protein) 基因 *ybil* 和推定丙酮酸-黄素氧还蛋白氧化还原酶(putative pyruvate-flavodoxin oxidoreductase) 基因 *ydbK*。大量证据表明, RpoS 依赖性基因功能多样, 但其核心作用在于增强细菌对各种环境胁迫的抵抗力。例如, 在碳源限制条件下, RpoS 通过调控万古霉素抗性蛋白 SanA (vancomycin resistance protein) 基因 *sanaA*、D-丙氨酰-D-丙氨酸羧肽酶 A (D-alanyl-D-alanine carboxypeptidase A) 基因 *dacA* 和未表征蛋白(uncharacterized protein) 基因 *yhdP* 等基因介导细菌对十二烷基硫酸钠 (sodium dodecyl sulfate, SDS) 的抗性<sup>[44]</sup>; 关键抗氧化应激基因 (如 *dps*、过氧化氢酶 HP II (catalase HP II) 基因 *katE*、外切核酸酶 III (exonuclease III) 基因 *xthA* 和铜锌超氧化物歧化酶[superoxide dismutase (Cu-Zn)] 基因 *sodC* 的表达也显著依赖于 RpoS<sup>[28]</sup>。此外, RpoS 广泛参与多种代谢途径的调控。例如, RpoS 能激活编码谷氨酸合成酶的谷氨酸合酶大亚基(glutamate synthase large subunit) 基因 *gltB* 和谷氨酸合酶小亚基(glutamate synthase small subunit) 基因 *gltD* 的表达, 该酶可利用  $\alpha$ -酮戊二酸催化谷氨酰胺转化为谷氨酸<sup>[1]</sup>; 同样地, RpoS 还能激活细菌糖酵解相关基因<sup>[45]</sup> 以及 L-精氨酸代谢(转化为谷氨酰胺或经腐胺途径转化为琥珀酸) 的相关基因<sup>[24]</sup>; 类似地, 海藻糖合成基因[海藻糖-6-磷酸合酶(trehalose-6-phosphate synthase) 基因 *otsA* 和海藻糖-6-磷酸磷酸酶(trehalose-6-phosphate phosphatase) 基因 *otsB*] 也受 RpoS 调控<sup>[46]</sup>。Lacour 等<sup>[29]</sup> 研究了营养丰富培养基中大肠杆菌 *rpoS* 突变体的基因表达情况, 发现 41 个基因表达水平显著降低, 并鉴定到 7 个已知的 RpoS 调控基因 [*dps*、*osmE*、渗透诱导蛋白 Y (osmotically inducible protein Y) 基因 *osmY*、*sodC*、30S 核糖体蛋白 S22 (30S ribosomal protein S22) 基因 *rpsV*、色氨酸阻遏物结合蛋白 A (tryptophan repressor

表1 RpoS重要调控靶标

Table 1 Important regulatory targets of RpoS

Target gene	Gene function	References
<i>gltD</i>	Encoding glutamate synthase	[1]
<i>csrA</i>	RNA-binding protein, translational regulator	[25-26]
<i>ybiI</i>	Unknown	[27]
<i>ydbK</i>	Unknown	[27]
<i>katE</i>	Hydroperoxidase II	[28]
<i>xthA</i>	Exonuclease III	[28]
<i>sodC</i>	CuZnSOD	[28]
<i>artI/P</i>	Amino acid transport and metabolism	[29]
<i>ansP</i>	Amino acid transport and metabolism	[29]
<i>tnaA</i>	Amino acid transport and metabolism	[29]
<i>ilvD</i>	Amino acid transport and metabolism	[29]
<i>fhuA</i>	Iron acquisition	[30]
<i>cirA</i>	Uptake of iron-siderophore	[30]
<i>fecI</i>	Sigma19	[30]
<i>osmB</i>	Osmotically inducible lipoprotein	[31-32]
<i>osmE</i>	Osmotically inducible lipoprotein	[32]
<i>dps</i>	Stress response to DNA-binding protein with a ferritin-like domain	[32-33]
<i>otsA</i>	Trehalose-6-phosphate synthase	[33]
<i>otsB</i>	Trehalose-6-phosphate phosphatase, biosynthetic	[33]
<i>sanA</i>	Multicopy suppressor	[34]
<i>dacA</i>	PG carboxypeptidases	[35]
<i>yhdP</i>	Involved in GPL transport	[36]
<i>gltB</i>	Encoding glutamate synthase or glutamate-2-oxoglutarate aminotransferase, GOGAT	[37]
<i>dnaK</i>	Encoding heat shock proteins	[38]
<i>osmY</i>	Starvation and stress response	[39]
<i>sodC</i>	Starvation and stress response	[40]
<i>rpsV</i>	Protein synthesis	[41]
<i>wrbA</i>	Starvation and stress response	[42]
<i>yahO</i>	Unknown	[43]

binding protein A) 基因 *wrbA* 和未表征蛋白 (uncharacterized protein) 基因 *yahO*], 这些基因主要参与氨基酸的转运和代谢、铁的摄取和储存、蛋白质合成、碳水化合物代谢以及核苷代谢等, 参与氨基酸转运 [精氨酸转运基因 I (arginine transport gene I, *artI*)、精氨酸转运 ATP 结合蛋白 (arginine transport ATP-binding protein) 基因 *artP* 和 L-天冬酰胺转运蛋白 (L-asparagine permease)

基因 *ansP*] 或代谢 [色氨酸酶 A (tryptophanase A) 基因 *tnaA* 和二羟基酸脱水酶 (dihydroxy-acid dehydratase) 基因 *ilvD*] 的基因同样依赖于 RpoS。Dong 等<sup>[30]</sup>检测了大肠杆菌对数生长期 RpoS 的调控作用, 进一步发现大肠杆菌 RpoS 在对数生长期正向调控热休克蛋白编码基因 [分子伴侣 DnaK (DnaK chaperone protein) 基因 *dnaK* 等] 和铁获取相关基因 [铁色素摄取蛋白 A

(ferrichrome uptake protein A)基因 *fhuA*、大肠菌素 I 受体蛋白(colicin I receptor protein)基因 *cirA* 和柠檬酸铁  $\sigma$  因子 FecI (ferric citrate sigma factor FecI)基因 *fecI* 等], 同时负向调节三羧酸循环(tricarboxylic acid cycle, TCA)相关基因的表达。不同靶基因对 RpoS 的敏感性差异, 使得不同强度或性质的应激信号能诱导产生特异性的蛋白质组响应, 从而极大地增强细菌适应多变环境的能力。

### 1.3 *rpoS* 基因的多态性

尽管 RpoS 在应激响应中的核心功能已明确, 但 *rpoS* 基因在大肠杆菌和沙门菌等多种细菌的自然种群中普遍存在多态性(表 2), 这反映了细菌在应对不同环境压力时的进化适应策略<sup>[4]</sup>。例如, Alvarez-Ordóñez 等<sup>[47]</sup>对 15 株阪崎克洛诺斯杆菌(*Cronobacter sakazakii*)的 *rpoS* 基因测序发现, 其中 2 株菌存在无义突变及碱基缺失, 且这 2 株突变株对胁迫环境高度敏感。Waterman 等<sup>[48]</sup>在 58 株志贺样产毒素大肠杆菌中鉴定出 13 株存在耐酸性缺陷表型, 对其中 2 株耐酸性缺陷菌株的 *rpoS* 基因测序结果显示, 该基因均发生功能丧失性突变, 导致 RpoS 蛋白失活。Lalaouna 等<sup>[55]</sup>通过对 80 株细菌的全基因组分析显示, 假单胞菌门(*Pseudomonadota*) [尤其肠杆菌科(*Enterobacteriaceae*)]的 *mutS-rpoS* 基因簇区域长度差异显著(40 bp–13 kb), 而假单胞菌属(*Pseudomonas*)中这一区域结构高度保守。Bhagwat 等<sup>[56]</sup>分析了来自 34 个国家的 82 株致病性大肠杆菌分离株, 发现其中 20 株的谷氨酸依赖酸抗性 (glutamate-dependent acid-resistance, GDAR)系统的缺陷源于 RpoS 功能缺失。Ferenci 等<sup>[49]</sup>分析来源于大肠杆菌参考菌株集 (*Escherichia coli* reference, ECOR)菌种保藏中心的 31 株大肠杆菌, 其中 22 株菌的 *rpoS* 基因存在序列长度多态性(1.3、3.4、4.2 kb)和非同义突变或无义突变。Berger 等<sup>[50]</sup>从 2011 年德国大肠杆菌疫情中发现 *Escherichia coli* O104:H4 的 *rpoS* 基因起始密码子存在 ATG→ATA 的单核

昔酸突变, 且 RpoS 主要通过 AggR 依赖性机制抑制肠聚集性大肠杆菌 (enteroaggregative *Escherichia coli*, EAEC)特异性毒力基因的表达。Jordan 等<sup>[51]</sup>分析了 18 株环境来源沙门菌的 *rpoS* 变异水平, 发现 6 株菌存在序列多态性, 且主要出现在基因中末端。Valencia 等<sup>[52]</sup>从 Pirajuçara 河流中分离出 328 株大肠杆菌, 并对无 RpoS 蛋白和 RpoS/RpoD 比值较高的 40 株菌的 *rpoS* 进行测序, 发现几乎所有的测序分离株均存在 C97G 的非同义突变。Wu 等<sup>[57]</sup>分析了 3 318 株鼠疫菌基因组序列, 发现 45 个突变热区(突变率高于平均水平), 而 *rpoS* 位于第 36 个突变热区, 其突变多为无义突变或移码突变, 这表明鼠疫菌自然种群中的 *rpoS* 同样存在高度的多态性。

类似地, *rpoS* 多态性在实验室培养条件下同样高频发生, Ratib 等<sup>[58]</sup>在长达 1 200 d 长期营养限制培养过程中, 对 1 117 株大肠杆菌的全基因组分析揭示了 *rpoS* 基因的高频多态性, 其中导致 RpoS 表达显著降低的启动子-10 区的 T→C 突变在 4 个平行培养群中均受正向选择, 说明 RpoS 活性的下降赋予了大肠杆菌碳源竞争的适应性优势。然而, Snyder 等<sup>[59]</sup>对涵盖主要谱系的 96 株非致病大肠杆菌 RpoS 蛋白产物进行了鉴定, 发现仅有 2 株菌因碱基的插入缺失引起移码突变导致无法产生功能性 RpoS 蛋白, 且该突变均为实验室培养过程中发生; 但研究中并未对能够表达 RpoS 菌株的 *rpoS* 基因进行测序鉴定, 因此无法排除这些菌株存在 *rpoS* 基因层面的多态性现象。

同样值得注意的是, Chiang 等<sup>[53]</sup>通过检测琥珀酸生长和过氧化氢酶活性这 2 种 RpoS 依赖的表型来鉴定环境来源的 2 040 株大肠杆菌中 RpoS 活性, 仅筛选出 6 株 RpoS 功能缺失株; 而对其中 45 株分离株的 *rpoS* 基因测序结果显示, 该基因存在 8 种非同义突变和 81 种同义突变。Notley-McRobb 等<sup>[54]</sup>将野生型 *E. coli* K-12 接种至葡萄糖限制或氮源限制的培养基中培养 10 d, 第 4 天时菌落分解过氧化氢能力减

表2 部分细菌*rpoS*基因的多态性Table 2 Polymorphism of the *rpoS* gene in some bacteria

Bacteria species	Mutation status	Mutation type	Phenotypic difference	References
<i>Cronobacter sakazakii</i>	843 bp deletion	Fragment deletion	No catalase activity	[47]
	Single-base substitution at position 601	Nonsense mutation	No catalase activity	
<i>E. coli</i>	Premature termination of translation	Nonsense mutation	Acid sensitivity	[48]
<i>E. coli</i>	C97G, G377T	Missense mutation	Unknown	[49]
	T32G, G124T, T163C, $\Omega$ A269, T339C, T357G, $\Omega$ T392, C405T, T462C, $\Omega$ A518, T573C, G598T, C732T, C942T	Nonsense mutation, Frameshift mutation	Unknown	
	$\Delta$ nt94-nt121	Fragment deletion	Unknown	
<i>E. coli</i>	ATG→ATA	Missense mutation	No catalase activity	[50]
<i>Salmonella enterica</i>	T897C, C687T, C1466T, G915A	Missense mutation	Unknown	[51]
	Single-base deletion at position 619, Single-base insertion at position 750	Frameshift mutation	Unknown	
<i>E. coli</i>	C97G, T374A, G376T, G926A	Nonsynonymous mutation	Unknown	[52]
	A deletion at position 191, multiple base insertion at position 158	Frameshift mutation	Unknown	
	Single-base variations at 39 sites	Synonymous mutation	Unknown	
<i>E. coli</i>	96 bp deletion	Fragment deletion	Grows faster when using succinate as the carbon source, and is sensitive to acid and hydrogen peroxide	[53]
	G148A	Nonsense mutation	Grows faster when using succinate as the carbon source, and is sensitive to acid and hydrogen peroxide	
	Multiple base insertion at position 32	Frameshift mutation	Grows faster when using succinate as the carbon source, and is sensitive to acid and hydrogen peroxide	
<i>E. coli</i>	G297T, T383A	Missense mutation	Has partial glycogen synthesis capacity and catalase activity	[54]
	T515G, G814T	Nonsense mutation	Has partial glycogen synthesis capacity and catalase activity	
	$\Delta$ nt484-nt487, $\Delta$ nt151-nt155, $\Delta$ nt393-nt397, $\Delta$ A900, $\Delta$ nt249-nt345	Fragment deletion	No glycogen synthesis capacity and no catalase activity	

弱,提示 RpoS 调控的过氧化氢酶-过氧化物酶(catalase-peroxidase KatG, KatG)表达降低;进一步对 18 株糖原合成发生变化(RpoS 调控)的分离株进行 *rpoS* 基因测序,发现所有分离株的 *rpoS* 序列均发生变异,2 株完全丧失 RpoS 功能。综上所述可知,RpoS 功能丧失型多态性在多种细菌的自然种群与实验室种群中均广泛存在。

## 2 *rpoS* 多态性的驱动因素

RpoS 在抵抗外界环境压力中发挥着至关重要的作用,其介导的 GSR 可以通过不同的激活机制响应多种环境胁迫,从而增强细菌在特定环境下的适应度优势。GSR 的诱导不仅能增强细菌对特定胁迫因子的抵抗力,还能提供对其他胁迫的交叉保护(如处于碳饥饿状态的细菌也会对过氧化氢、高温和酸刺激产生抵抗力)<sup>[7]</sup>。不同细菌中 *rpoS* 多态性的普遍存在,提示 RpoS 的活性在特定生境下可能给细菌带来一定程度的适应度代价;在这些特殊生境下,RpoS 活性降低甚至失活的菌株与野生型菌株相比具备竞争优势,因此 *rpoS* 的某些突变在细菌种群中得以固定<sup>[4]</sup>,但这一推论还需要进一步实验数据的证实。以下重点阐述几种关键环境压力如何驱动细菌 *rpoS* 多态性的形成。

### 2.1 活性氧(ROS)胁迫

活性氧(如超氧化物、过氧化氢、羟基自由基等)在细菌快速生长期、磷酸盐或氮源等营养缺乏、遭遇环境压力或宿主毒素分泌时产生,高水平活性氧(reactive oxygen species, ROS)对细菌具有毒性<sup>[60-62]</sup>。为应对氧化刺激,细菌可诱导产生解毒酶,如大肠杆菌含有 3 种超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SODs),可将超氧化物转化为危害较小的过氧化物(如 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>);过氧化物进一步由 2 种过氧化氢酶(KatG 和 KatE)转化为水和氧气;上述 ROS 清除酶均属于 RpoS 调控子(RpoS regulon),当细菌面临 ROS 刺激时,RpoS 可上调其 ROS 防御系统以淬灭

ROS<sup>[63]</sup>。因此,在 ROS 胁迫环境中,功能性 RpoS 对细菌生存至关重要,而 RpoS 突变体在此选择压力下则处于明显劣势。

### 2.2 酸性胁迫

细菌常面临酸性环境胁迫,当细菌胞外环境 pH 处于中低水平时,RpoS 表达水平上升,此过程通常与 IraM 表达水平上调有关<sup>[23]</sup>。IraM 受 PhoP 应答调控蛋白(PhoP response regulator, PhoP)/PhoQ 感应激酶(PhoQ sensor kinase, PhoQ)双组分系统正调控,酸性胁迫可激活细菌 PhoP,诱导 IraM 和 RpoS 表达水平增加<sup>[23]</sup>。细菌的酸耐受反应涉及多种酸耐受体系(acid resistance systems, ARs),其中 AR1 通路需要 RpoS 调控耐酸基因的转录,而 RpoS 的表达则受 C-反应蛋白(C-reactive protein, CRP)和环腺苷酸(cyclic adenosine monophosphate, cAMP)的负调控;同时,当细菌处于极端酸性环境刺激时,cAMP 水平的下降将增强 RpoS 的表达,进而促进 AR2 体系相关蛋白酶的活性,使其在谷氨酸存在时增强细菌的酸耐受能力<sup>[64-65]</sup>。由此可知,RpoS 在细菌面临酸性胁迫时同样发挥重要作用,有助于增强细菌在酸性胁迫环境下的适应度。

### 2.3 高渗胁迫

高渗透压会导致细菌脱水,从而造成严重损伤。大肠杆菌通过积累 K<sup>+</sup>和相容性溶质(如甘氨酸甜菜碱和海藻糖)作为渗透保护剂以适应高渗环境<sup>[66]</sup>。RpoS 在此过程中同样发挥重要作用,其通过正调控甘氨酸甜菜碱合成相关基因的表达,同时激活海藻糖合成酶编码基因 *otsA* 和 *otsB* 来促进相容性溶质的产生,从而提高细菌在高渗透压环境中的适应度优势<sup>[46]</sup>。因此,在高渗胁迫下,功能性 RpoS 对维持细菌渗透压平衡和生存至关重要。

### 2.4 营养限制胁迫

与上述胁迫环境相反,在特定营养(如葡萄糖)限制条件下,*rpoS* 突变体反而表现出更强的适应度优势,在此培养条件下可快速分离得到

RpoS 功能缺失的突变体<sup>[54,58]</sup>。当将大肠杆菌野生型接种于葡萄糖限制的培养基中, 通过糖原表型(RpoS 控制糖原的合成)筛选, 并对 18 株糖原合成发生变化的分离株进行 *rpoS* 基因测序, 发现所有分离株的 *rpoS* 序列均发生变异, 其中 2 株完全丧失 RpoS 功能<sup>[54]</sup>。此外, Ratib 等<sup>[58]</sup>在长期分批培养(1 200 d)中发现, *rpoS* 是突变频率最高的基因之一; 在该营养限制条件下, RpoS 的突变一方面缓解了大肠杆菌应激反应带来的适应度代价, 另一方面可能解除了 RpoS 对氨基酸代谢基因的抑制, 通过代谢重编程增强了大肠杆菌对次级碳源(如氨基酸)的利用。以上研究表明, RpoS 突变体在营养限制条件下更具适应度优势, 因此 RpoS 的变异能够在种群中固定并形成基因的多态性。

以上研究提示, RpoS 的进化命运呈现典型的环境依赖性: 在急性胁迫环境(如 ROS、酸、高渗)下, 功能性 RpoS 能提供生存优势而被选择; 而在营养限制胁迫环境下, RpoS 的活性反而可能成为生长负担, 其失活突变体因此获得选择优势而在群体中固定下来。

### 3 总结与展望

通用应激反应是细菌应对外界多变环境的核心策略, 而  $\sigma^S$  因子 RpoS 作为其核心调控元件, 通过调控细菌内大量胁迫抗性相关基因的表达, 在细菌环境适应过程中发挥重要功能<sup>[8]</sup>。当细菌处于活性氧刺激、酸应激和高渗透压等胁迫环境中时, RpoS 能够通过调控 GSR 提高细菌对胁迫环境的耐受性, 从而为细菌提供适应度优势。传统认为, 发挥重要功能的基因通常更加保守, 而在多种细菌中均发现 *rpoS* 存在多态性。这一现象提示, 在特定生境中 RpoS 活性可能反而成为细菌生存的负担, 因此细菌采取 *rpoS* 突变策略来降低其带来的适应度代价, 这体现了细菌在“生存”与“繁殖”这一根本进化权衡中的动态适应; 此外, 在实验室葡萄糖限制和氮源限制的培养条件下, 同样较易获得 *rpoS*

基因突变分离株。同时, 在竞争环境下, 大肠杆菌野生株会被 *rpoS* 突变株取代<sup>[2]</sup>, 这也为细菌 RpoS 突变在特定环境中的适应度优势提供了证据。尽管目前尚未发现 *rpoS* 无义突变回复为野生型的现象, 但不排除此类菌株在长期或高频暴露于急性胁迫环境下发生回复突变的可能。

由此可推测, *rpoS* 多态性的驱动机制可能是替代性  $\sigma$  因子对 RNA 聚合酶核心酶的竞争以及细菌进化的权衡。RNA 聚合酶核心酶的总量在细菌内相对恒定, 因此 RpoS (保护应激)和 RpoD (支持生长)对核心酶的竞争性结合主导了细菌截然不同的生存策略: 当细菌面临极端胁迫环境时, RpoS 大量表达并激活应激保护网络, 有助于细菌的抗逆性, 但以牺牲最大生长速率为代价; 而在营养限制等亚适宜环境中, 细菌生长速率降低引发 ppGpp 积累并诱导 RpoS 表达但 RpoS 依赖性应激基因的转录会抢占核心酶资源, 抑制 RpoD 主导的管家基因, 导致细菌因应激响应而削弱了对稀缺营养的竞争能力<sup>[4,63]</sup>。此时, RpoS 突变体对核心酶的结合能力下降或丢失, 从而解除对 RpoD 的竞争抑制, 使细菌获得生长优势。这一现象体现了典型的拮抗多效性, 即 RpoS 突变虽在胁迫环境下损害生存能力, 却可以在营养竞争中提供适应度优势。这种环境波动驱动的“生长-生存”动态权衡, 使 RpoS 成为细菌适应异质生境的进化开关, 为细菌种群应对不可预测的环境压力提供了权衡策略。

随着技术的进步, 未来关于 RpoS 的研究可以从以下 3 个层面深入。在机制层面, 利用单细胞组学技术解析 RpoS 调控网络的动态变化及其在细菌群体异质性中的作用; 在进化层面, 结合多组学与实验室进化手段, 直接验证不同环境下的选择压力对 *rpoS* 基因多态性的影响, 阐述其多态性驱动因素和进化动力学机制; 在临床微生物学应用层面, 可以重点研究临床常见病原菌中 *rpoS* 多态性对其毒力与抗生素耐受

性/特留性的影响, 以发现基于干扰细菌“生长-生存”权衡的新型抗感染策略。

## 作者贡献声明

石佳丽: 撰写文章; 魏雨萌: 执行调研; 李嘉敏: 论文修改; 滕昕辰: 论文校验; 宋凯: 提出概念、监督管理; 宋亚军: 获取基金、完成呈现。

## 作者利益冲突公开声明

作者声明不存在任何可能会影响本文所报告工作的已知经济利益或个人关系。

## 参考文献

- [1] Bouillet S, Bauer TS, Gottesman S. RpoS and the bacterial general stress response[J]. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 2024, 88: e00151-22.
- [2] Schellhorn HE. Function, evolution, and composition of the RpoS regulon in *Escherichia coli*[J]. *Frontiers in Microbiology*, 2020, 11: 560099.
- [3] Gruber TM, Bryant DA. Molecular systematic studies of eubacteria, using sigma70-type sigma factors of group 1 and group 2[J]. *Journal of Bacteriology*, 1997, 179(5): 1734-1747.
- [4] Ferenci T. What is driving the acquisition of mutS and rpoS polymorphisms in *Escherichia coli*? [J]. *Trends in Microbiology*, 2003, 11(10): 457-461.
- [5] Kim W, Choi JS, Kim D, Shin D, Suk S, Lee Y. Mechanisms for *hfq*-independent activation of *rpoS* by DsrA, a small RNA, in *Escherichia coli*[J]. *Molecules and Cells*, 2019, 42(5): 426-446.
- [6] Bak G, Han K, Kim D, Lee Y. Roles of *rpoS*-activating small RNAs in pathways leading to acid resistance of *Escherichia coli*[J]. *MicrobiologyOpen*, 2014, 3(1): 15-28.
- [7] Handler S, Kirkpatrick CL. New layers of regulation of the general stress response sigma factor RpoS[J]. *Frontiers in Microbiology*, 2024, 15: 1363955.
- [8] Guan JY, Xiao X, Xu SJ, Gao F, Wang JB, Wang TT, Song YH, Pan JF, Shen XH, Wang Y. Roles of RpoS in *Yersinia pseudotuberculosis* stress survival, motility, biofilm formation and type VI secretion system expression[J]. *Journal of Microbiology*, 2015, 53(9): 633-642.
- [9] Landini P, Egli T, Wolf J, Lacour S. sigma S, a major player in the response to environmental stresses in *Escherichia coli*: role, regulation and mechanisms of promoter recognition[J]. *Environmental Microbiology Reports*, 2014, 6(1): 1-13.
- [10] Lange R, Fischer D, Hengge-Aronis R. Identification of transcriptional start sites and the role of ppGpp in the expression of *rpoS*, the structural gene for the sigma S subunit of RNA polymerase in *Escherichia coli*[J]. *Journal of Bacteriology*, 1995, 177(16): 4676-4680.
- [11] Gentry DR, Hernandez VJ, Nguyen LH, Jensen DB, Cashel M. Synthesis of the stationary-phase sigma factor sigma s is positively regulated by ppGpp[J]. *Journal of Bacteriology*, 1993, 175(24): 7982-7989.
- [12] Merrikh H, Ferrazzoli AE, Bougdour A, Olivier-Mason A, Lovett ST. A DNA damage response in *Escherichia coli* involving the alternative sigma factor, RpoS[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2009, 106(2): 611-616.
- [13] Mika F, Hengge R. A two-component phosphotransfer network involving ArcB, ArcA, and RssB coordinates synthesis and proteolysis of  $\sigma^S$  (RpoS) in *E. coli*[J]. *Genes & Development*, 2005, 19(22): 2770-2781.
- [14] Battesti A, Majdalani N, Gottesman S. The RpoS-mediated general stress response in *Escherichia coli*[J]. *Annual Review of Microbiology*, 2011, 65: 189-213.
- [15] Mandin P, Gottesman S. Integrating anaerobic/aerobic sensing and the general stress response through the ArcZ small RNA[J]. *The EMBO Journal*, 2010, 29(18): 3094-3107.
- [16] Sledjeski DD, Gupta A, Gottesman S. The small RNA, DsrA, is essential for the low temperature expression of RpoS during exponential growth in *Escherichia coli*[J]. *The EMBO Journal*, 1996, 15(15): 3993-4000.
- [17] Moon K, Gottesman S. Competition among *hfq*-binding small RNAs in *Escherichia coli*[J]. *Molecular Microbiology*, 2011, 82(6): 1545-1562.
- [18] Kim W, Lee Y. Mechanism for coordinate regulation of *rpoS* by sRNA-sRNA interaction in *Escherichia coli*[J]. *RNA Biology*, 2020, 17(2): 176-187.
- [19] McCullen CA, Benhammou JN, Majdalani N, Gottesman S. Mechanism of positive regulation by DsrA and RprA small noncoding RNAs: pairing increases translation and protects *rpoS* mRNA from degradation[J]. *Journal of Bacteriology*, 2010, 192(21): 5559-5571.
- [20] Klauck E, Lingnau M, Hengge-Aronis R. Role of the response regulator RssB in  $\sigma^S$  recognition and initiation of  $\sigma^S$  proteolysis in *Escherichia coli*[J]. *Molecular Microbiology*, 2001, 40(6): 1381-1390.
- [21] Rodríguez-Martínez K, Muriel-Millán LF, Ortiz-Vasco C, Moreno S, Soberón-Chávez G, Espín G. Defining the regulatory mechanisms of sigma factor RpoS degradation in *Azotobacter vinelandii* and *Pseudomonas aeruginosa*[J]. *Molecular Microbiology*, 2023, 120(1): 91-102.
- [22] Lange R, Hengge-Aronis R. The cellular concentration of the sigma S subunit of RNA polymerase in *Escherichia coli* is controlled at the levels of transcription, translation, and protein stability[J]. *Genes & Development*, 1994, 8(13): 1600-1612.
- [23] Bougdour A, Cunning C, Baptiste PJ, Elliott T, Gottesman S. Multiple pathways for regulation of  $\sigma^S$  (RpoS) stability in *Escherichia coli* via the action of multiple anti-adaptors[J]. *Molecular Microbiology*, 2008, 68(2): 298-313.
- [24] Wong GT, Bonocora RP, Schep AN, Beeler SM, Lee Fong AJ, Shull LM, Batachari LE, Dillon M, Evans C, Becker CJ, Bush EC, Hardin J, Wade JT, Stoebel DM. Genome-wide transcriptional response to varying RpoS

- levels in *Escherichia coli* K-12[J]. *Journal of Bacteriology*, 2017, 199(7): e00755-16.
- [25] Dong T, Schellhorn HE. Control of RpoS in global gene expression of *Escherichia coli* in minimal media[J]. *Molecular Genetics and Genomics*, 2009, 281(1): 19-33.
- [26] Yakhnin H, Yakhnin AV, Baker CS, Sineva E, Berezin I, Romeo T, Babitzke P. Complex regulation of the global regulatory gene *csrA*: CsrA-mediated translational repression, transcription from five promoters by E $\sigma^{70}$  and E $\sigma^S$ , and indirect transcriptional activation by CsrA[J]. *Molecular Microbiology*, 2011, 81(3): 689-704.
- [27] Peano C, Wolf J, Demol J, Rossi E, Petiti L, De Bellis G, Geiselmann J, Egli T, Lacour S, Landini P. Characterization of the *Escherichia coli*  $\sigma^S$  core regulon by Chromatin Immunoprecipitation-sequencing (ChIP-seq) analysis[J]. *Scientific Reports*, 2015, 5: 10469.
- [28] Chiang SM, Schellhorn HE. Regulators of oxidative stress response genes in *Escherichia coli* and their functional conservation in bacteria[J]. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 2012, 525(2): 161-169.
- [29] Lacour S, Landini P.  $\sigma^S$ -dependent gene expression at the onset of stationary phase in *Escherichia coli*: function of  $\sigma^S$ -dependent genes and identification of their promoter sequences[J]. *Journal of Bacteriology*, 2004, 186(21): 7186-7195.
- [30] Dong T, Kirchhof MG, Schellhorn HE. RpoS regulation of gene expression during exponential growth of *Escherichia coli* K12[J]. *Molecular Genetics and Genomics*, 2008, 279(3): 267-277.
- [31] Wise A, Brems R, Ramakrishnan V, Villarejo M. Sequences in the -35 region of *Escherichia coli* *rpoS*-dependent genes promote transcription by E sigma S[J]. *Journal of Bacteriology*, 1996, 178(10): 2785-2793.
- [32] Patten CL, Kirchhof MG, Schertzberg MR, Morton RA, Schellhorn HE. Microarray analysis of RpoS-mediated gene expression in *Escherichia coli* K-12[J]. *Molecular Genetics and Genomics*, 2004, 272(5): 580-591.
- [33] Weber H, Polen T, Heuveling J, Wendisch VF, Hengge R. Genome-wide analysis of the general stress response network in *Escherichia coli*:  $\sigma^S$ -dependent genes, promoters, and sigma factor selectivity[J]. *Journal of Bacteriology*, 2005, 187(5): 1591-1603.
- [34] Rida S, Caillet J, Alix JH. Amplification of a novel gene, *SanA*, abolishes a vancomycin-sensitive defect in *Escherichia coli*[J]. *Journal of Bacteriology*, 1996, 178(1): 94-102.
- [35] Park SH, Choi U, Ryu SH, Lee HB, Lee JW, Lee CR. Divergent effects of peptidoglycan carboxypeptidase *DacA* on intrinsic  $\beta$ -lactam and vancomycin resistance[J]. *Microbiology Spectrum*, 2022, 10(4): e01734-22.
- [36] Douglass MV, McLean AB, Trent MS. Absence of YhdP, TamB, and YdbH leads to defects in glycerophospholipid transport and cell morphology in Gram-negative bacteria[J]. *PLoS Genetics*, 2022, 18(2): e1010096.
- [37] Jo JH, Seol HY, Lee YB, Kim MH, Hyun HH, Lee HH. Disruption of genes for the enhanced biosynthesis of  $\alpha$ -ketoglutarate in *Corynebacterium glutamicum*[J]. *Canadian Journal of Microbiology*, 2012, 58(3): 278-286.
- [38] Kluck CJ, Patzelt H, Genevaux P, Brehmer D, Rist W, Schneider-Mergener J, Bukau B, Mayer MP. Structure-function analysis of HscC, the *Escherichia coli* member of a novel subfamily of specialized Hsp70 chaperones[J]. *Journal of Biological Chemistry*, 2002, 277(43): 41060-41069.
- [39] Yim HH, Brems RL, Villarejo M. Molecular characterization of the promoter of *osmY*, an *rpoS*-dependent gene[J]. *Journal of Bacteriology*, 1994, 176(1): 100-107.
- [40] Gort AS, Ferber DM, Imlay JA. The regulation and role of the periplasmic copper, zinc superoxide dismutase of *Escherichia coli*[J]. *Molecular Microbiology*, 1999, 32(1): 179-191.
- [41] Izutsu K, Wada C, Komine Y, Sako T, Ueguchi C, Nakura S, Wada A. *Escherichia coli* Ribosome-associated protein SRA, whose copy number increases during stationary phase[J]. *Journal of Bacteriology*, 2001, 183(9): 2765-2773.
- [42] Yang W, Ni L, Somerville RL. A stationary-phase protein of *Escherichia coli* that affects the mode of association between the *trp* repressor protein and operator-bearing DNA[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 1993, 90(12): 5796-5800.
- [43] Ibanez-Ruiz M, Robbe-Saule V, Hermant D, Labrude S, Norel F. Identification of RpoS ( $\sigma^S$ )-regulated genes in *Salmonella enterica* Serovar typhimurium[J]. *Journal of Bacteriology*, 2000, 182(20): 5749-5756.
- [44] Mitchell AM, Wang W, Silhavy TJ. Novel RpoS-dependent mechanisms strengthen the envelope permeability barrier during stationary phase[J]. *Journal of Bacteriology*, 2017, 199(2): e00708-16.
- [45] Baev MV, Baev D, Radek AJ, Campbell JW. Growth of *Escherichia coli* MG1655 on LB medium: monitoring utilization of sugars, alcohols, and organic acids with transcriptional microarrays[J]. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 2006, 71(3): 310-316.
- [46] Kaasen I, Falkenberg P, Styrvold OB, Strøm AR. Molecular cloning and physical mapping of the *otsBA* genes, which encode the osmoregulatory trehalose pathway of *Escherichia coli*: evidence that transcription is activated by *katF* (AppR)[J]. *Journal of Bacteriology*, 1992, 174(3): 889-898.
- [47] Álvarez-Ordóñez A, Begley M, Hill C. Polymorphisms in *rpoS* and stress tolerance heterogeneity in natural isolates of *Cronobacter sakazakii*[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2012, 78(11): 3975-3984.
- [48] Waterman SR, Small PL. Characterization of the acid resistance phenotype and *rpoS* alleles of shiga-like toxin-producing *Escherichia coli*[J]. *Infection and Immunity*, 1996, 64(7): 2808-2811.
- [49] Ferenci T, Galbiati HF, Betteridge T, Phan K, Spira B. The constancy of global regulation across a species: the concentrations of ppGpp and RpoS are strain-specific in *Escherichia coli*[J]. *BMC Microbiology*, 2011, 11: 62.
- [50] Berger P, Dumevi RM, Berger M, Hastor I, Treffon J, Kouzel IU, Kehl A, Scherff N, Dobrindt U, Mellmann A. RpoS acts as a global repressor of virulence gene expression in *Escherichia coli* O104:H4 and

- enteroaggregative *E. coli*[J]. *The Journal of Infectious Diseases*, 2024: jiae151.
- [51] Jordan SJ, Dodd CER, Stewart GSAB. Use of single-strand conformation polymorphism analysis to examine the variability of the *rpoS* sequence in environmental isolates of *Salmonellae*[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 1999, 65(8): 3582-3587.
- [52] Valencia EY, Barros JP, Ferenci T, Spira B. A broad continuum of *E. coli* traits in nature associated with the trade-off between self-preservation and nutritional competence[J]. *Microbial Ecology*, 2022, 83(1): 68-82.
- [53] Chiang SM, Dong T, Edge TA, Schellhorn HE. Phenotypic diversity caused by differential RpoS activity among environmental *Escherichia coli* isolates[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2011, 77(22): 7915-7923.
- [54] Notley-McRobb L, King T, Ferenci T. *rpoS* mutations and loss of general stress resistance in *Escherichia coli* populations as a consequence of conflict between competing stress responses[J]. *Journal of Bacteriology*, 2002, 184(3): 806-811.
- [55] Lalaouna D, Fochesato S, Barakat M, Ortet P, Achouak W. Multiple transcription-activating sequences regulate the RsmZ regulatory small RNA of *Pseudomonas brassicacearum*[J]. *Journal of Bacteriology*, 2012, 194(18): 4888-4893.
- [56] Bhagwat AA, Chan L, Han R, Tan J, Kothary M, Jean-Gilles J, Tall BD. Characterization of enterohemorrhagic *Escherichia coli* strains based on acid resistance phenotypes[J]. *Infection and Immunity*, 2005, 73(8): 4993-5003.
- [57] Wu YR, Xin YQ, Yang XY, Song K, Zhang QW, Zhao HH, Li CX, Jin Y, Guo Y, Tan YF, Song YJ, Tian HY, Qi ZZ, Yang RF, Cui YJ. Hotspots of genetic change in *Yersinia pestis*[J]. *Nature Communications*, 2025, 16: 388.
- [58] Ratib NR, Seidl F, Ehrenreich IM, Finkel SE. Evolution in long-term stationary-phase batch culture: emergence of divergent *Escherichia coli* lineages over 1 200 days[J]. *mBio*, 2021, 12: e03337-20.
- [59] Snyder E, Gordon DM, Stoebel DM. *Escherichia coli* lacking RpoS are rare in natural populations of non-pathogens[J]. *G3*, 2012, 2(11): 1341-1344.
- [60] Imlay JA. Where in the world do bacteria experience oxidative stress? [J]. *Environmental Microbiology*, 2019, 21(2): 521-530.
- [61] Moreau PL. Regulation of phosphate starvation-specific responses in *Escherichia coli*[J]. *Microbiology*, 2023, 169(3): 001312.
- [62] Imlay JA. The molecular mechanisms and physiological consequences of oxidative stress: lessons from a model bacterium[J]. *Nature Reviews Microbiology*, 2013, 11(7): 443-454.
- [63] Anand A, Chen K, Yang L, Sastry AV, Olson CA, Poudel S, Seif Y, Hefner Y, Phaneuf PV, Xu SB, Szubin R, Feist AM, Palsson BO. Adaptive evolution reveals a tradeoff between growth rate and oxidative stress during naphthoquinone-based aerobic respiration[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2019, 116(50): 25287-25292.
- [64] Kim M, Choi N, Choi E, Lee EJ. ClC chloride channels in gram-negative bacteria and its role in the acid resistance systems[J]. *Journal of Microbiology and Biotechnology*, 2023, 33(7): 857-863.
- [65] Ma Z, Richard H, Foster JW. pH-dependent modulation of cyclic AMP levels and GadW-dependent repression of RpoS affect synthesis of the GadX regulator and *Escherichia coli* acid resistance[J]. *Journal of Bacteriology*, 2003, 185(23): 6852-6859.
- [66] Altendorf K, Booth IR, Gralla J, Greie JC, Rosenthal AZ, Wood JM. Osmotic stress[J/OL]. *EcoSal Plus*, 2009. 10.1128/ecosalplus.5.4.5.