

抗汞细菌的遗传

刘志培

(中国科学院微生物研究所, 北京 100080)

众所周知, 不论是无机汞化合物还是有机汞化合物, 都是有毒化合物, 其对于细菌的毒性主要表现在以下几个方面: (1) 汞离子和蛋白质分子中的硫醇基具有很强的亲和性^[1], 能形成稳定的结合, 从而使蛋白质分子丧失功能; (2) 抑制细胞中大分子物质的合成, 尤其是转录和翻译过程 (DNA 的转录, mRNA 的翻译) 对汞特别敏感; (3) 强烈抑制许多酶中的重要活性基团——硫醇基。

抗汞性是许多革兰氏阳性和革兰氏阴性细菌所共有的普遍特性^[2-6]。一般来说, 可能是由细胞中的还原酶把 Hg^{2+} 还原成毒性小得多的元素汞 (Hg^0)^[2,5-7] 但是也还有其他机制^[8,9]。抗有机汞的菌株除了具有汞还原酶外, 还具有有机汞裂解酶, 它能催化有机汞分子中的 C-Hg

键断裂形成 Hg^{2+} , 然后由汞还原酶把 Hg^{2+} 还原成元素汞 Hg^0 ^[10]。

本文就抗汞细菌遗传学方面研究的发展状况作简要综述。

(一) 抗汞细菌的遗传因子

人们在研究抗汞细菌的生理生化特性、抗汞特性时发现, 有些抗汞细菌经过几代传接之后, 便丧失了抗汞能力, 并具有可诱导性^[4,11]; 有些抗汞菌则不然, 其抗汞性能具有稳定的遗传性^[12,13]。经研究发现: 那些具有可诱导性的抗汞菌株, 其抗汞性能通常是由质粒所编码控制的, 特别是在革兰氏阴性细菌中更是如此^[3-6]; 还有报告^[14,15]报道了一些抗汞转座子, 这些转座子在许多病原性革兰氏阴性细菌中广为发生的抗汞性能中起着决定性的作用; 此外, 有些报

道认为细菌抗汞性的遗传因子是细胞中的染色体^[12,13]。另外,抗汞遗传因子通常也能从受汞污染环境中的细菌中发现^[3,6]。

(二) 抗汞细菌的分子遗传

1. 抗汞质粒: 如上所述,在许多抗汞细菌,特别是抗汞革兰氏阴性细菌中,质粒是其遗传因子, Pan-Hou 等人报道^[8]匙形梭菌的抗汞性能通过质粒消除的方法,使其失去抗汞能力,又能通过接合的方式重新获得抗汞能力。Gauchier 等人报道^[16],通过质粒转化试验,可以把 31 株抗汞海洋细菌中的 8 株抗汞性能转移到大肠杆菌中,使原先没有抗汞性能的大肠杆菌获得了抗汞能力,其转化频率为 10^{-3} — 10^{-9} 范围内。还有的研究表明^[17],在许多病原菌中的抗汞性是由其中的抗药性质粒编码的,在对 800 株病原菌的研究结果表明,大约有 30% 的抗药性质粒同时具有抗汞能力;此外,还有许多研究结果^[3-5,7]都证实了许多抗汞细菌的抗汞性能是由质粒编码控制的。不仅如此, Foster 等人^[18]还对抗汞质粒 R100-1 进行了基因结构分析,发现在该质粒中起抗汞作用的主要是一个转座子 Tn21,并以此结果为基础,绘制了质粒 R100-1 的基因图谱,并提出了一个抗汞操纵子模型(图 1),根据抗汞质粒所带的转座

子和转座子 Tn3 (抗氨基青霉素转座子) 有密切关系,这类转座子^[20]有它们共同的特性:①在它们的末端有一个 38bp 的反向重复序列;②它们的转座作用比较特别,其间包括中间复合体的形成与分解,否则不能发生转座;③它们有两个编码多肽的基因,这两个多肽片段对于它们的转座是必不可少的。转座基因 A(TnpA) 编码转座酶蛋白,该蛋白可以与反向重复序列结合,并能促进中间复合体的形成;转座基因 R(TnpR) 编码分解酶,该酶能识别一个叫做 *res* 的位点(复合体分解位点)并与之结合,催化特殊位点的重组,从而导致中间复合体的分解,形成转座作用的最终产物。Tn3 类群的转座子可以分为两个亚类,其中之一包括与 Tn3 非常相似并在功能上可以和它相互作用的 Tn1000^[20] 在内的转座子;另一亚类包括 Tn1721^[21] 以及抗汞转座子 Tn21 和 Tn501,它们之间的转座功能也能相互作用^[19,22-24]。

虽然 Tn3 类群的转座子两亚类之间存在着 DNA 序列同源性以及共同的转座机制,但是它们在转座功能的互补作用上不是完全相近的,在转座基因的组成上也存在着一个根本的区别,在转座子 Tn3 和 Tn1000 中,转座基因 TnpA 和 TnpR 是从一个包含 *res* 位点(中间复合体分解位点)在内的普通调节区反向转录的;而在转座子 Tn501 上,这些基因是沿同一方向转录的^[24]。除此之外,Hyde 等人报道^[25], Tn501-Tn21 类的转座子还具有一个额外的转座基因(*tnpM*),该基因编码转座调节蛋白。在转座子 Tn501 和 Tn21 上的转座基因的顺序是 *res* 位点, *tnpM*、*tnpR*、*tnpA*, 而且它们的转录只能从位于转座基因 *tnpM* 左边的启动子开始,并不能反向进行^[25-27]。转座子 Tn21 或 Tn501 上的 *tnpR* 蛋白是否起转录调节作用还有待于试验证实^[28]。转座子 Tn501 转座调节作用的一个有趣特点就是受邻近的抗汞操纵子诱导的影响^[21],在没有经过诱导的细胞中,转座以较低频率发生,并导致不分解的中间复合体的形成。在经过汞(Hg^{2+})的诱导之后,转座发生的频率比较高,并且形成完整的转座产

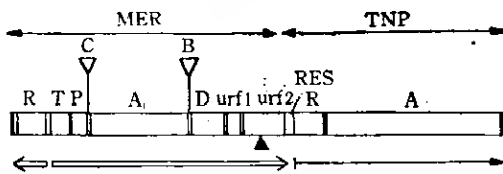


图 1 转座子 Tn501 上抗汞操纵子模型

A, D, T, P 等为结构基因, R 为调节基因 ▽ 为其他模型的额外基因位点 ▲ 为在 Tn21 中带有链霉素及磷酸抗性的 11.2kb 片段插入位点,下方线条代表转录的起点及方向

子不同,可以把质粒分为两类,一类为带有 Tn501^[15] 型转座子的质粒,如质粒 PVS1;另一类为带有 Tn21^[19] 型转座子的质粒,如质粒 R100。

2. 抗汞转座子: 抗汞转座子 Tn501 和 Tn21 同属于单独一类的可转移的遗传单位,它

物而不是中间共合体。另外,转座子 Tn501 的高水平转座作用,可以受到从抗汞启动子到邻近的转座基因 *tnp* 的完全转录所诱导。

抗汞转座子 Tn21 和 Tn501 的许多共同特点,表明它们是从相同的抗汞遗传单位发展演化而来的,这样,它们的转座基因组成相同,并具有本质上的 DNA 同源性 ($> 70\%$)^[22],在遗传上可以相互作用、相互补充。转座子 Tn501 转座基因的突变可以由转座子 Tn21 来弥补^[24,29],转座子 Tn21 的抗汞基因 *merR*⁻ 突变可以由转座子 Tn501 来弥补^[30],但是 DNA 序列分析已经揭示了它们两者之间极为复杂的相互关系,其要点简述如下:

(1) 两种转座子的抗汞基因比它们的转座基因有着更为密切的相关性,表明它们的演化不可能以一种简单的方式进行。

(2) 转座子 Tn501 左端 80bp 内含有一个 38bp 的反向重复序列,该序列和转座子 Tn21 末端的反向重复序列完全相同^[29],此外转座子 Tn501 的抗汞基因也和转座子 Tn21 的抗汞基因同源^[24,26]。

(3) 转座子 Tn501 的转座基因及反向重复序列和转座子 Tn1722 的相应结构具有非常密切的相关性^[24]。

已经报道的抗汞转座子有很多,如:多抗性转座子 Tn1642^[31]、Tn1696^[21]、Tn2101^[32];抗汞转座子有 Tn1861^[33]、Tn3401、Tn3402、Tn3403^[34] 等。

3. 抗汞基因表达的调节: 细菌的抗汞能力通常是可以诱导的,在含有汞化合物的液体培养中的细胞生长速度以及汞的挥发速度都可以证明这一点。从早期对抗汞质粒 R100-1^[18,35] 的遗传和克隆的研究,形成了抗汞操纵子的概念,由于在 *merT* 和 *merA* 中转座子插入而形成的突变株为同一组缺陷型^[18,35],而在 *merR* 突变株则为另一组缺陷型。抗汞调节基因 *merR* 控制了抗汞操纵子的转录表达,在 *merR*⁻ 突变株中,固有地表达低水平的汞还原酶活性,而在 *merR*⁻ 菌株中,不经汞的诱导则不表达汞还原酶活性,经 Hg^{2+} 诱导之后则表达这种酶活性。

该酶活性随着诱导所用汞浓度的提高而提高。

图 2 所示为 *merR* 基因的结构,该结构具有以下几个特点:

(1) 从右到左的内框架基因的表 达 受 *merR*⁺ 活性的抑制^[36]。

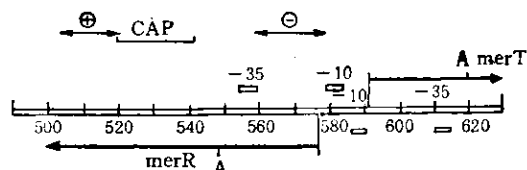


图 2 抗汞转座子 Tn501 和 Tn21 中的抗汞操纵子上的调节区域

□: 启动子位置; |→: 转录起点及方向; 字母“A”: AUG 密码位置; ⊕: *merR* 蛋白正调节结合位点; ⊖: *merR* 蛋白负调节结合位点

(2) Tn501 的 *merR* 转录子已用 S1 核酸酶图谱证实^[37]。

(3) 为 *merR* 基因产物所预期的氨基酸序列分析表明它具有两个 α -螺旋结构,在每个 α -螺旋结构的插入带上具有一个甘氨酸残基,这是调节蛋白的普遍特性。

到现在为止,好些抗汞操纵子的序列已经测定,许多基因产物已经鉴定,一些已经纯化,有关单一氨基酸残基或蛋白质上的较大区域在抗汞机制中的功用试验已经完成。诸如 *merP*、*merT* 和 *merA* 基因产物在细菌细胞内膜中的位置,胱氨酸残基如何与 Hg^{2+} 结合等问题将在以后的研究中得到证实。

此外,随着对 *merR* 基因及其纯化之产物研究的深入,有关细菌抗汞操纵子的调节机制将得到更详尽的研究,而有关正调控机制,自动负调控机制等问题还有待深入研究。

参 考 文 献

1. Albert A: in *Selective Toxicity*, 5th ed., Chapman and Hall, London, 1973, 392.
2. Summers A O et al.: *Annu. Rev. Microbiol.*, 32: 637, 1978.
3. Clark D L et al.: *J. Bacteriol.*, 132: 186, 1977.
4. Weiss A et al.: *J. Bacteriol.*, 132: 197, 1977.
5. Foster T J: *Microbiol. Rev.*, 47: 361, 1983.
6. Robinson J B et al.: *Microbiol. Rev.*, 48: 95, 1984.

7. Summers A O et al.: *J. Bacteriol.*, **112**: 1228, 1972.
8. Pan-hou H S K and N Imura: *Arch. Microbiol.*, **129**: 49, 1981.
9. Pan-hou H S K and N Imura: *Arch. Microbiol.*, **131**: 176, 1982.
10. Tezuka T and K Tonomura: *J. Bacteriol.*, **135**: 138, 1978.
11. Porter F D et al.: *Antimicrobiol. Agents Chemother.*, **22**: 852, 1982.
12. Rudrik J T et al.: *Can. J. Microbiol.*, **31**: 276, 1985.
13. Nakahara H et al.: *J. Gen. Microbiol.*, **131**: 1053, 1985.
14. Tanaka M et al.: *J. Bacteriol.*, **153**: 1432, 1983.
15. Bennett P M et al.: *Mol. Gen. Genet.*, **159**: 101, 1978.
16. Michel J Gauthier et al.: *Appl. Environ. Microbiol.*, **50**(1): 38—40, 1985.
17. Schottel J et al.: *Nature* (London), **251**: 335, 1974.
18. Foster T J et al.: *J. Bacteriol.*, **140**: 167, 1979.
19. de la Cruz F and J Grinstel: *J. Bacteriol.*, **151**: 222, 1982.
20. Kleckner N: *Annu. Rev. Genet.*, **15**: 341, 1981.
21. Kins P et al.: *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **79**: 46, 1982.
22. Altenbuchner J et al.: *Genet. Rev. Camb.*, **37**: 285, 1981.
23. Grinstel J et al.: *Plasmid*, **8**: 276, 1982.
24. Diver W P et al.: *Mol. Gen. Genet.*, **191**: 189, 1983.
25. Hyde D R et al.: *Cell*, **42**: 629, 1985.
26. Brown N L et al.: *Mol. Gen. Genet.*, **202**: 143, 1986.
27. Brown N L: *Trends Biochem. Sci.*, **10**: 400, 1986.
28. Brown N L: personal communication, 1986.
29. Grinstel J et al.: *Mol. Gen. Genet.*, **197**: 4197, 1984.
30. Foster T J et al.: *J. Bacteriol.*, **162**: 773, 1985.
31. Leemans J et al.: *Arch. Int. Phys. Biochem.*, **88**: B38, 1979.
32. Katsu K et al.: *J. Bacteriol.*, **150**: 483, 1982.
33. Friello D A et al.: *Environmental Effects and Maintenance Mechanisms* Ed. by Stuttard C and Rozee K R, Academic Press, New York, p. 249, 1980.
34. Radford A J et al.: *J. Bacteriol.*, **147**: 1110, 1981.
35. Ni'Bhriain et al.: *J. Bacteriol.*, **155**: 690, 1983.
36. Foster T J et al.: *J. Bacteriol.*, **163**: 1153, 1986.
37. Lund P A et al.: *J. Gen. Microbiol.*, **132**: 465, 1986.
38. Misra T K et al.: *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **81**: 5975, 1985.

(1992-1-4收稿)