

细菌尿素酶的生化 and 分子生物学特点

赵圣国^{1,2} 王加启^{1*} 卜登攀¹ 刘开朗¹ 魏宏阳¹ 周凌云¹ 李发弟²

(1. 中国农业科学院北京畜牧兽医研究所动物营养学国家重点实验室 北京 100094)

(2. 甘肃农业大学 兰州 730070)

摘要: 尿素酶属于镍金属酶, 能够分解尿素成氨和二氧化碳。细菌尿素酶在氮素循环和致病性方面有重要的作用。本文讨论了细菌尿素酶的生物化学和分子生物学性质, 并就尿素酶的活化和调控方式以及生物学效应进行阐述。

关键词: 细菌尿素酶, 生化性质, 基因簇, 调控, 生物效应

Biochemistry and Molecular Biology of Bacterial Ureases

ZHAO Sheng-Guo^{1,2} WANG Jia-Qi^{1*} BU Deng-Pan¹ LIU Kai-Lang¹

WEI Hong-Yang¹ ZHOU Ling-Yun¹ LI Fa-Di²

(1. State Key Lab of Animal Nutrition, Institute of Animal Science, Chinese Academy of Agriculture Science, Beijing 100094)

(2. Gansu Agricultural University, Lanzhou 730070)

Abstract: Ureases are nickel-containing enzymes that catalyze the hydrolysis of urea to carbon dioxide and ammonia. This brief review discusses the biochemistry and molecular biology of bacterial ureases and outlines its activation, regulation and biological effects.

Keywords: Bacterial ureases, Biochemistry, Gen clusters, Regulation, Biological effects

尿素酶(urease)系统命名为酰胺水解酶(urea amidohydrolase), 编号为EC 3.5.1.5, 是人类首次获得晶体的含有镍离子的金属酶。尿素酶能水解尿素产生氨和氨基甲酸酯, 从而为微生物提供氮源^[1]。人们为什么关注细菌尿素酶呢? 首先, 尿素酶是镍金属酶, 被作为镍金属中心生物合成的研究模型^[2]; 其次, 分析尿素酶有助于我们认识细菌在环境氮素循环中的作用^[3]; 最后, 尿素酶是尿道和消化道中病原菌重要的致病因子, 与消化道和尿道疾病的预防、诊断和治疗密切相关^[4]。本文分析了细菌尿素酶的生化性质、基因簇结构和功能、尿素酶活性调节及其致病作用, 从宏观到微观, 从结构到生物学

功能上充分认识细菌尿素酶。

1 细菌尿素酶的生化性质

在自然界中, 很多生物体中都能合成尿素酶, 如细菌、植物、真菌。细菌尿素酶是多种细菌的致病因子, 存在于许多的致病菌中, 如幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*)、唾液链球菌(*Streptococcus salivarius*)、产气克雷伯氏菌(*Klebsiella aerogenes*)、奇异变形杆菌(*Proteus mirabilis*)和小肠结肠炎耶尔森菌(*Yersinia enterocolitica*)等。在植物中, 刀豆尿素酶和大豆尿素酶是脲酶生化性质和基因组成的研究模型。研究发现大豆尿素酶分别由两个具有非特异

性和胚胎特异性基因编码, 其中特异性胚胎尿素酶在大豆、刀豆种子中占很大的比例, 而其它类型的尿素酶在植物组织中含量不高。同样, 在真菌中也发现了尿素酶, 目前研究较为详细的是构巢曲霉 (*Aspergillus nidulans*) 和紫黑粉菌 (*Ustilago violacea*)^[21]。

细菌尿素酶是由 2~3 个不同亚基组成的杂聚肽, 例如幽门螺杆菌尿素酶相对分子质量为 380 kD, 组成形式为 $\alpha_4\beta_4$; 产气克雷伯氏菌尿素酶相对分子质量为 224 kD, 组成形式为 $\alpha_2\beta_4\gamma_4$ ^[22]。而刀豆脲酶和粟酒裂殖酵母尿素酶分别是由 6 个大小为 90.8 kD 和 102 kD 亚单位构成的聚合体。细菌尿素酶每个亚单位的初级氨基酸顺序与植物和真菌尿素酶的氨基酸顺序高度相似。比较各种酶后发现, 产气克雷伯氏菌尿素酶的 α 亚单位和幽门螺杆菌尿素酶的

62 kD 大小的亚单位与刀豆和真菌尿素酶的羧基端具有 2/3 的相似性, 产气克雷伯氏菌的 β , σ 亚单位和幽门螺杆菌 30 kD 大小的亚单位与刀豆和真菌尿素酶的氨基端具有 1/3 的相似性。因此, 尽管亚单位数量不同, 但是植物、真菌和细菌尿素酶的氨基酸序列还是具有高度的同源性^[23]。

表 1 列举了某些细菌尿素酶的性质, 包括了米氏常数 (K_m)、酶比活力、相对分子质量、亚单位组成和镍金属含量。从中可以看出, 各种细菌尿素酶在生化性质上表现出较大的差异, 这除了跟细菌本身和生存环境有关外, 还可能跟尿素酶的测定方法有关。大部分细菌的尿素酶都定位于细胞质中, 但是幽门螺杆菌等小部分细菌的尿素酶位于细胞膜上和细胞膜外。这是因为幽门螺杆菌有一种特殊的选择性分泌机制, 能将细胞内尿素酶分泌到细胞外^[24]。

表 1 纯化的微生物尿素酶性质
Table 1. Properties of purified microbial ureases

细菌 Microorganism	K_m (mmol/L)	比活力 Spact	纯化倍数 Purification	最适 pH pH optimum	Mr (kD)	亚单位 Mr(kD) Subunit Mr	亚单位组成 Subunit composition	金属含量 Metal content	参考文献 References
<i>Helicobacter pylori</i>	0.3	1100	112	8	380	$\alpha=62, \beta=30$	$\alpha_4\beta_4$		[5]
<i>Arthrobacter oxydans</i>	12.5	219	121	7.6	242			0.3 Ni/242	[6]
<i>Streptococcus salivarius</i>	3.5~4.1	1700	193	7		$\alpha=62, \beta<15, \gamma<15$			[7]
<i>Bacillus pasteurii</i>	40~131	1528	66		230	$\alpha=65.5$	α_4	0.82-1.0 Ni/ α	[8]
<i>Ureaplasma urealyticum</i>	2.5	180000	180	6.9	190	$\alpha=72, \beta=14, \gamma=11$			[9]
<i>Brevibacterium ammoniagenes</i>	18~72	3570	638	7	200	$\alpha=67$	α_3	0.8 Ni/ α	[10]
<i>Klebsiella aerogenes</i>	2.8	2200	1070	7.75	224	$\alpha=72, \beta=11, \gamma=9$	$\alpha_2\beta_4\gamma_4$	2.1 Ni/ $\alpha_2\beta_2\gamma_2$	[11]
<i>Proteus mirabilis</i>	13	2057	800	7.5	212~250	$\alpha=73, \beta=10, \gamma=8$	$\alpha_2\beta_4\gamma_4$		[12]
<i>Arthrobacter mobilis</i>	3.0	2370		4.2	290	$\alpha=67, \beta=17, \gamma=14$	$\alpha_3\beta_3\gamma_3$	2.0 Ni/ $\alpha\beta\gamma$	[13]
<i>Yersinia enterocolitica</i>	0.15			3.5~4.5					[14]
<i>Morganella morganii</i>		2130	175		590	$\alpha=63, \beta=15, \gamma=6$			[15]
<i>Providencia rettgeri</i> ^e	10.5~71	30.6	43	7.5		NR			[16]
<i>Providencia stuartii</i> ^f	9.3	5520	331		230	$\alpha=73, \beta=10, \gamma=8$		1.9 Ni/ $\alpha_2\beta_2\gamma_2$	[17]
<i>Selenomonas ruminantium</i>	2.2±0.5	1100	592		360	$\alpha=70, \beta=8, \gamma=8$		2.1 Ni/ $\alpha_2\beta_2\gamma_2$	[18]
<i>Spirulina maxima</i>	0.12	9.27	44	8.7	232	$\alpha=38$	α_6		[19]
<i>Staphylococcus saprophyticus</i>	7.36	150		6.8	250				[20]

2 细菌尿素酶基因簇

2.1 结构基因

细菌尿素酶基因簇由结构基因、辅助基因和调节基因组成, 它们之间相互独立, 单独受到其上游

的启动子调控。由图 1 可以看出, 不同来源的尿素酶基因簇结构相似, 表明它们可能拥有共同的进化来源。奇异变形杆菌、产气克雷伯氏菌、小肠结肠炎耶尔森菌和唾液链球菌的尿素酶结构基因包括

ureA、*ureB*和*ureC*基因, 分别编码 γ 、 β 和 α 亚单位, 组成尿素酶原, 但不具有催化活性。在奇异变形杆菌的*ureA*和*ureB*间存在内含子拼接受体共有序列, 表明*ureA*和*ureB*来源于一个无功能的内含子剪接位点。而且, *ureB*和*ureC*之间只有一个核苷酸。单核苷酸的变化就能导致*ureB*与*ureC*的破裂和融合, 这一特征有利于真核到原核或者原核到真核基因转换。幽门螺杆菌只有两个结构基因*ureA*和*ureB*, 分别编码两个亚单位^[25-29]。

2.2 辅助基因

尿素酶基因簇中的辅助基因包括*ureD*、*ureE*、

ureF、*ureG*、*ureH*、*ureI*等, 这些基因的编码蛋白能协助将Ni离子转运到无活性的酶原上, 激活酶蛋白。UreH是尿素酶的伴侣蛋白, 与尿素酶蛋白组成复合物, 维持尿素酶蛋白构象或者阻止无效镍离子的结合。UreE蛋白中具有多聚组氨酸尾巴, 可以结合细胞中的镍离子, 在尿素酶激活过程中作为镍离子的载体。UreF和UreG形成一个复合物, 使酶原对镍离子处于感受态, 促进镍离子有效地结合到活性位点。UreI可能是位于细胞内膜上的H⁺尿素转运通道, 随着pH的改变调节细胞外尿素向细胞质内的转运, 调节细胞质内尿素酶的活性^[25-29]。

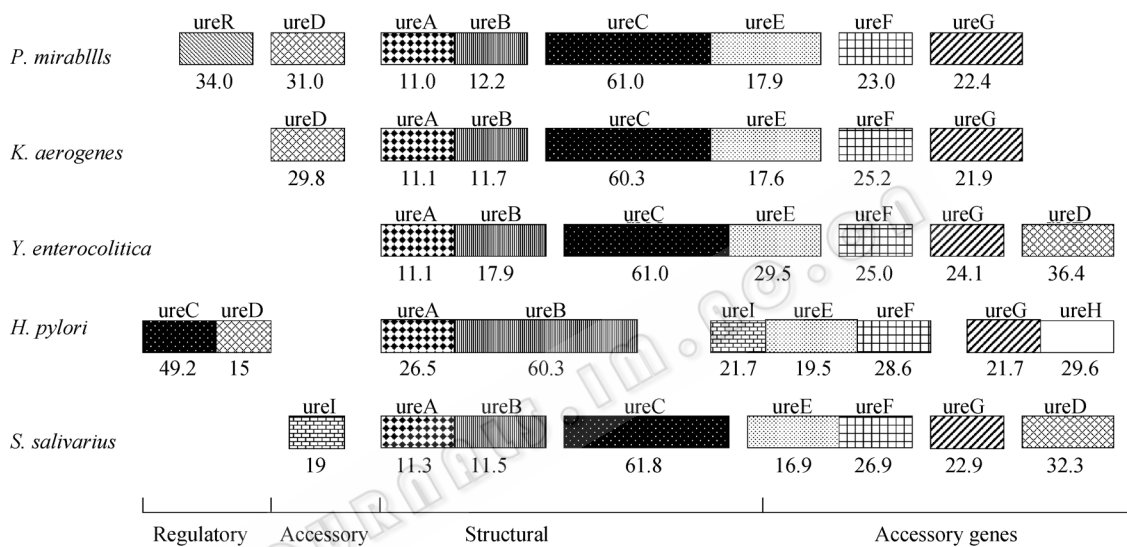


图1 微生物尿素酶基因簇^{[14] [25-29]}

Fig. 1 Genetic organization of microbial urease gene clusters^{[14] [25-29]}

注: 图形上面字母代表基因名称, 下面数字代表该基因编码蛋白的相对分子质量(kD)

Note: Gene assignments are shown above the rectangles and the predicted molecular size of the polypeptide are shown below the rectangles

2.3 调节基因

在奇异变形杆菌的尿素酶基因簇中, *ureR*属于调节基因。它编码的UreR蛋白在尿素诱导酶活性过程中起重要作用, 在有尿素存在时它能编码类似阿糖胞苷C的正调节物。幽门螺杆菌中*ureC*和*ureD*也属于调节基因, 位于结构基因的上游, 但目前还不知道其功能^[25-29]。

植物大豆尿素酶只有1个结构基因, 编码蛋白长度为840个氨基酸, 辅助基因有4个, 分别是*Eu1*、*Eu2*、*Eu3*和*Eu4*。*Eu1*和*Eu4*分别编码胚胎尿素酶和组织尿素酶, *Eu2*和*Eu3*与细菌尿素酶的辅助基因很相似, 能协助镍离子组装到活性位点, 激

活尿素酶^[21]。构巢曲霉尿素酶需要4个互补的基团。*ureA*编码尿素转运蛋白, *ureB*编码脲酶的单个亚单位, *ureC*编码维持酶活性的蛋白, *ureD*可能编码镍辅助因子。紫黑粉菌中有两个尿素酶基因, *Ure-1*编码尿素酶的单个亚单位, *ure-2*编码尿素透明质酸酶, 因为这一基因的突变体在酚红尿素检测平板上没有活性反应, 而其溶解后的产物变现出活性反应^[1]。

3 细菌尿素酶是镍金属蛋白酶

金属蛋白酶是活性中心依赖于某种金属离子, 能够被金属螯合剂强烈抑制的酶类。细菌中很多属都有产金属蛋白酶的菌株, 如克雷伯氏菌属

(*Klebsiella*)、变形杆菌属(*Proteus*)、芽孢杆菌属(*Bacillus*)、埃希氏菌属(*Escherichia*)和螺杆菌属(*Helicobacter*)等。金属蛋白酶依赖的金属离子,最普遍的是锌离子,还有铜、钴、锰和镍离子等。锌金属蛋白酶主要包括微生物分泌的乙醇脱氢酶、磷酸酶C、嗜热蛋白酶、嗜冷蛋白酶、磷酸酐酶,其功能在于催化,通过激活水分子亲核攻击断裂肽键等^[30]。目前已经得到了12种锌金属酶的X-射线晶体结构,并作为标准来区别催化和结构性Zn原子。催化性Zn²⁺与3个氨基酸残基和1个活性水分子配对,而结构性Zn²⁺则与4个Cys残基配对。His、Glu、Asp或Cys残基的组合组成了一个三齿形的活性Zn²⁺位点,再加上一个活性水分子组成配对区。Zn²⁺-酶能通过底物结合形成复合物,扩大配位层或者改变配基来催化反应。Zn²⁺-酶-底物复合物能确定底物的位置或改变电子分布来催化反应进行^[31]。荚膜红细菌(*Rhodobacter capsulatus*)分泌的丙酮羧化酶,是锰离子金属蛋白酶,能催化丙酮羧化产生乙酰乙酸。该酶每个 $\alpha_2\beta_2\sigma_2$ 多聚体含有1.9个锰,每个 $\alpha\beta\sigma$ 单体含有0.95个锰。锰能与丙酮羧化酶紧密结合,

无法被各种金属螯合剂去除。经核磁共振分析纯化的丙酮羧化酶,表明存在1个锰离子中心,2个单核位点的自旋偶联^[32]。

细菌尿素酶则是一种镍金属蛋白酶,镍与无活性的酶原结合后,修饰酶原蛋白的金属结合位点,使酶活性大大增强。在此过程中,二氧化碳也能作为活化因子,促进镍与酶原的结合。每个催化位点含有2个镍离子,在产气克雷伯氏菌尿素酶中,1个镍原子与2个组氨酸残基(His-246和His-272)结合,第2个镍原子与2个组氨酸残基(His-134和His-136)和1个精氨酸(Asp-360)结合,并且这两个镍离子由一个氨基甲酸盐配体(Lys-217)连接^[1,21,29]。

镍活化尿素酶的过程见图2。UreA、UreB和UreC蛋白组合形成尿素酶酶蛋白(UreABC)₃复合物,并连接UreF和UreG,在二氧化碳的作用下,酶原蛋白变成镍配体,并结合Ni供体,酶原蛋白被激活成活性尿素酶。UreE是Ni供体,它能结合经由扩散、膜蛋白NixA(幽门螺杆菌)或UreH转运进入胞内的Ni离子。NixA是一种位于胞膜上的高亲和力镍转运蛋白,能够独立地将镍离子输入细胞。1个UreE

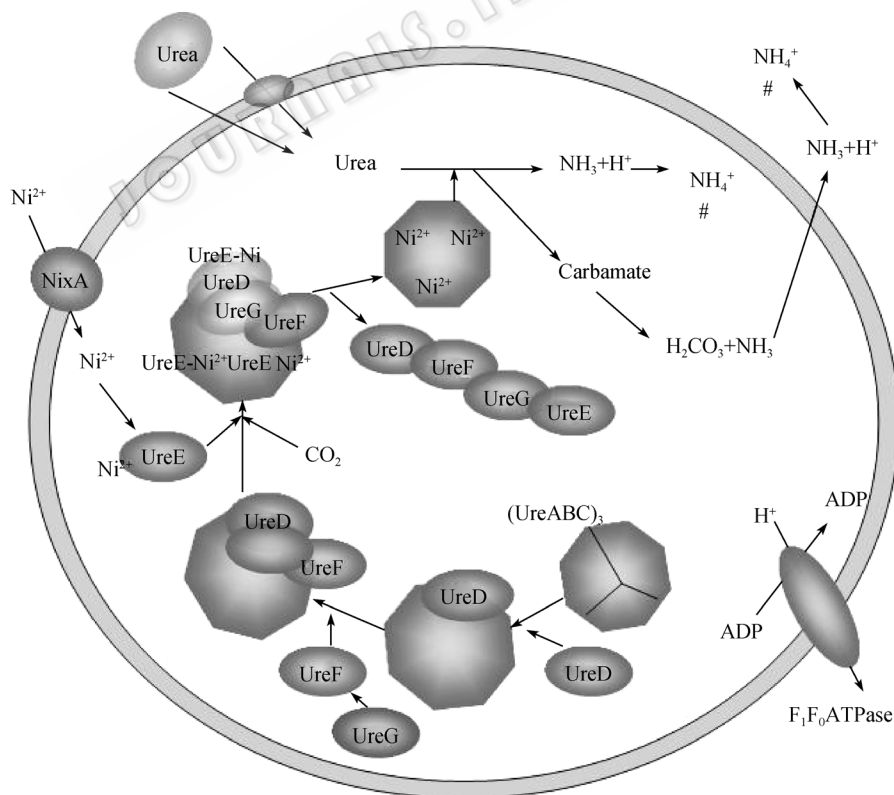


图2 微生物尿素酶的活化和尿素代谢模拟图^[23,29]

Fig. 2 Model for microbial urease activation and urea metabolism^[23,29]

蛋白可以结合 2 个镍原子。尿素酶被激活后, UreD、UreF、UreE、UreG 从酶上解离下来, 重新进入下一个循环。活化的最终结果就是使得每个尿素酶中含有 3 个催化部位, 每个部位有两个镍离子^[23,29]。

4 细菌尿素酶的表达调控方式

4.1 氮对尿素酶表达的调控

研究表明, 产气克雷伯氏菌在含氮等氮源丰富的培养基上不能合成尿素酶, 而在低氮如脯氨酸、精氨酸、组氨酸的培养基上则能合成尿素酶, 这说明在此类细菌中, 氮调节系统(ntr)是尿素酶基因表达调控的主要机制。其中 *ntrA* 编码 σ^{54} , *ntrC* 编码一种调节蛋白, 能激活依赖 σ^{54} 的启动子的转录^[33]。产气克雷伯氏菌还有一个位于 *his* 操纵基因附近的氮调节基因 *nac*。Nac 分子量为 32 kD, 类似于转录激活子 LysR 家族, 由一个依赖于 *ntrA* 和 *ntrC* 的启动子启动转录^[34]。在低氮水平下, 磷酸化的 Ntrc 激活 σ^{54} 聚合酶的转录, 提高 Nac 含量, 然后 Nac 结合到 *ureD* 上游的 σ^{70} 启动子区, 从而激活转录^[35]。内氏放线菌 (*Actinomyces naeslundii*) WVU45 在低氮条件下, 尿素酶的 mRNA 水平和活性增加 50 倍^[36]。

4.2 尿素诱导的调控

在含尿素培养基中, 奇异变形杆菌尿素酶活性能增加 5–25 倍^[12]。部分大肠杆菌和沙门氏菌质粒上也有尿素酶基因, 被称为质粒编码的尿素酶基因簇^[29]。研究表明, 质粒编码的基因簇和奇异变形杆菌基因簇上都有 *ureR*, 编码转录调节因子 UreR 蛋白。这种蛋白含有螺旋-转角-螺旋结构, 与转录激活子 AraC 家族有很高的氨基酸同源性^[37]。*ureA-lacZ* 结构证实了尿素酶结构基因表达对尿素具有专一性。但也有报道称, 奇异变形杆菌的 UreR 是尿素酶基因表达的负调控因子。因此, 与 AraC 相似, UreR 可能既是阻遏物也是诱导物^[38]。

4.3 pH 值调控

唾液链球菌的尿素酶表达受 pH 调控, 在 pH 5.5 时, 尿素酶合成增多, 在 pH 中性时, 尿素酶的降解升高。pH 值对唾液链球菌尿素酶操纵子的诱导表达调控受到邻近的启动子 *PureI* 的阻遏调控^[39]。尿素酶含量和 pH 值呈反比关系, pH 5.5 时的尿素酶活性要比 pH 7.0 时的尿素酶活性高 100 倍, 这可能是由于 OH⁻ 对尿素酶具有抑制作用^[40]。内氏放线菌和小肠结肠炎耶尔森氏菌的脲酶也受 pH 调控^[41]。

4.4 组成型调控

摩氏摩根氏菌 (*Morganella morganii*) 尿素酶的合成呈组成型调节方式, 其活性酶的合成不受其他诱导物和阻遏物的调节。在检测抑制剂乙酰氧肟酸对尿素酶的诱导作用时, 尿素诱导作用无效果^[42]。大肠杆菌中很少的一部分尿素酶, 也是受组成型调节。该尿素酶由染色体编码, 与克雷伯氏菌、肠杆菌属、柠檬酸细菌属和粘质沙雷氏菌中的尿素酶基因同源性很高^[43]。一些土壤微生物尿素酶也是组成型调节, 如巴氏芽孢杆菌 (*Bacillus pasteurii*) 和豚芽孢八叠球菌 (*Sporosarcina ureae*)。但组成型调节的尿素酶活性多不如氮调节和尿素诱导调节所产生的尿素酶活性高^[29]。

5 细菌尿素酶的生物学效应

尿素能通过简单扩散进入细胞, 而在某些机体中尿素通过转运载体蛋白进入细胞(图 2)。尿素进入细胞后, 有两条代谢途径。一方面, 氨能质子化变成氨离子, 促进胞质碱生化, 增加膜电势。为了维持膜电势, 还要靠 F-ATPase 不断排出质子。另一方面, 未质子化的氨还能扩散到细胞外, 提高细胞外 pH 值。

定位于细胞表面的尿素酶能中和周围的 pH, 维持细胞膜正常功能。氨可以作为细菌代谢的氮源, 但也对组织产生毒害作用。尿素水解作用能形成氢氧化铵, 损伤细胞。尿素酶和尿素分解菌与粒细胞的相互作用, 能形成氯乙烷, 破坏 DNA 结构。除了对细胞直接毒害作用, pH 的升高和氨复合物还抑制免疫系统^[23]。

6 结论

细菌尿素酶在细菌的代谢中起了重要的作用, 同时对宿主也产生了很大的影响。尿素酶作为某些疾病的致病因子, 有必要弄清楚其致病机理。近年来, 研究者不仅研究清楚了尿素酶的结构和酶学性质特征, 还从分子水平上解释了尿素酶的调控方式, 增加了研究的深度。但是, 在自然界中有大量的产尿素酶微生物, 每种微生物的尿素酶性质都有所差异, 要认识清楚各种微生物尿素酶的特征还需要很长的时间。针对尿素酶的致病机理, 设计相关疫苗用于有关细菌感染的免疫, 值得一试。

参 考 文 献

- [1] Mobley HL, Hausinger RP. Microbial ureases: significance, regulation, and molecular characterization. *Microbiol Rev*, 1989, **53**(1): 85–108.
- [2] Carlsson H, Haukka M, Bousseksou A, et al. Nickel complexes of carboxylate-containing polydentate ligands as models for the active site of urease. *Inorg Chem*, 2004, **43**(26): 8252–8262.
- [3] Karasawa Y, Ono T, Koh K. Relationship of decreased caecal urease activity by dietary penicillin to nitrogen utilisation in chickens fed on a low protein diet plus urea. *Br Poult Sci*, 1994, **35**(1): 91–96.
- [4] Schwartz JT, Allen LA. Role of urease in megasome formation and *Helicobacter pylori* survival in macrophages. *J Leukoc Biol*, 2006, **79**(6): 1214–1225.
- [5] Rokita E, Makrithathis A, Hirschl AM, et al. Purification of surface-associated urease from *Helicobacter pylori*. *J Chromatogr B Biomed Sci Appl*, 2000, **737**(1-2): 203–212.
- [6] Schneider J, Kaltwasser H. Urease from *Arthrobacter oxydans*, a nickel-containing enzyme. *Arch Microbiol*, 1984, **139**: 355–360.
- [7] Chen YY, Clancy KA, Burne RA. *Streptococcus salivarius* urease: genetic and biochemical characterization and expression in a dental plaque streptococcus. *Infect Immun*, 1996, **64**(2): 585–592.
- [8] Won HS, Lee YH, Kim JH. Structural characterization of the nickel-binding properties of *Bacillus pasteurii* urease accessory protein (Ure)E in solution. *J Biol Chem*, 2004, **279**(17): 17466–17472.
- [9] Willoughby JJ, Russell WC, Thirkell D. Isolation and detection of urease genes in *Ureaplasma urealyticum*. *Infect Immun*, 1991, **59**(7): 2463–2469.
- [10] Nakano H, Takenishi S, Watanabe Y. Purification and properties of urease from *Brevibacterium ammoniagenes*. *Agric Biol Chem*, 1984, **48**(6): 1495–1502.
- [11] Brayman TG, Hausinger RP. Purification, characterization, and functional analysis of a truncated *Klebsiella aerogenes* UreE urease accessory protein lacking the histidine-rich carboxyl terminus. *J Bacteriol*, 1996, **178**(18): 5410–5416.
- [12] Sriwanthana B, Island MD, Maneval D. Single-step purification of *Proteus mirabilis* urease accessory protein UreE, a protein with a naturally occurring histidine tail, by nickel chelate affinity chromatography. *J Bacteriol*, 1994, **176**(22): 6836–6841.
- [13] Miyagawa K, Sumida M, Nakao M, et al. Purification, characterization, and application of an acid urease from *Arthrobacter mobilis*. *J Biotechnol*, 1999, **68**(2-3): 227–236.
- [14] De Koning-Ward TF, Ward AC, Hartland EL, et al. The urease complex gene of *Yersinia enterocolitica* and its role in virulence. *Contrib Microbiol Immunol*, 1995, **13**: 262–263.
- [15] Hu LT, Nicholson EB, Jones BD. *Morganella morganii* urease: purification, characterization, and isolation of gene sequences. *J Bacteriol*, 1990, **172**(6): 3073–3080.
- [16] Magana-Plaza I, Montes C, Ruiz-Herrera. Purification and biochemical characteristics of urease from *Proteus rettgeri*. *Biochim Biophys Acta*, 1971, **242**(1): 230–247.
- [17] Mulrooney SB, Lynch MJ, Mobley HLT, et al. Purification, characterization, and genetic organization of recombinant *Providencia stuartii* urease expressed in *Escherichia coli*. *J bacterial*, 1988, **170**: 2202–2207.
- [18] Hausinger RP. Purification of a nickel-containing urease from the rumen anaerobe *Selenomonas ruminantium*. *J Biol Chem*, 1986, **261**(17): 7866–7870.
- [19] Palinsk KA, Jahns T, Rippka R. *Prochlorococcus marinus* strain PCC 9511, a picoplanktonic cyanobacterium, synthesizes the smallest urease. *Micro*, 2000, **146**, 3099–3107.
- [20] Gatermann S, John J, Marre R. *Staphylococcus saprophyticus* urease: characterization and contribution to uropathogenicity in unobstructed urinary tract infection of rats. *Infect Immun*, 1989, **57**(1): 110–116.
- [21] Sirko A, Brodzik R. Plant ureases: Roles and regulation. *Acta Biochimica Polonica*, 2000, **47**(4): 1189–1195.
- [22] Olivera-Severo D, Wassermann GE, Carlini CR. Ureases display biological effects independent of enzymatic activity: is there a connection to diseases caused by urease-producing bacterial. *Braz J Med Biol*, 2006, **39**(7): 851–861.
- [23] Burne RA, Chen YY. Bacterial ureases in infectious diseases. *Microbes Infect*, 2000, **2**(5): 533–542.
- [24] Vanet A, Labigne A. Evidence for specific secretion rather than autolysis in the release of some *Helicobacter pylori* protein. *Infect Immun*, 1998, **66**(3): 1023–1027.
- [25] Poore CA, Mobley HL. Differential regulation of the *Proteus mirabilis* urease gene cluster by UreR and H-NS. *Micro*, 2003, **149**(12): 3383–3394.
- [26] Song HK, Mulrooney SB, Huber R, et al. Crystal structure of *Klebsiella aerogenes* UreE, a nickel-binding metallochaperone for urease activation. *J Biol Chem*, 2001, **276**(52): 49359–49364.
- [27] Dunn BE, Phadnis SH. Structure, function and localization of *Helicobacter pylori* urease. *Yale J Biol Med*, 1998, **71**(2): 63–73.
- [28] Yi-Ywan M Chen, Cheryl A Weaver, Robert A Burne. Dual functions of *Streptococcus salivarius* urease. *J Bacteriol*, 2000, **182**(16): 4667–4669.
- [29] Mobley HL, Island MD, Hausinger RP, et al. Molecular biology of microbial ureases. *Microbiol Rev*, 1995, **59**(1151): 451–480.
- [30] Bert LV, David SA. Active-site zinc ligands and activated H₂O of zinc enzymes. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 1990, **87**(1): 220–224.
- [31] Joseph EC. Zinc enzymes. *Current Opinion in Chemical Biology*, 1998, **2**(2): 222–234.
- [32] Boyd JM, Ellsworth H, Ensign SA. Bacterial acetone carboxylase is a manganese-dependent metalloenzyme. *J Biol Chem*, 2004, **279**(45): 46644–46651.
- [33] Mulrooney SB, Pankratz HS, Hausinger RP. Regulation of

- gene expression and cellular localization of cloned *Klebsiella aerogenes* urease. *J Gen Microbiol*, 1989, **135**(6): 1769–1776.
- [34] Schwacha A, Bender RA. The product of the *Klebsiella aerogenes* nac (nitrogen assimilation control) gene is sufficient for activation of the hut operons and repression of the *gdh* operon. *J Bacteriol*, 1993, **175**: 2116–2124.
- [35] Collins CM, Gutman DM, Laman H, *et al.* Identification of a nitrogen-regulated promoter controlling expression of *Klebsiella pneumoniae* urease genes. *Mol Microbiol*, 1993, **8**: 187–198.
- [36] Evangelia MB, Robert AB. Analysis of urease expression in *Actinomyces naeslundii* WVU45. *Infect Immun*, 2000, **68**(12): 6670–6676.
- [37] Poore CA, Mobley HL. Differential regulation of the *Proteus mirabilis* urease gene cluster by *UreR* and *H-NS*. *Micro*, 2003, **149**(12): 3383–3394.
- [38] Dattelbaum JD, Lockatell CV, Johnson DE, *et al.* *UreR*, the transcriptional activator of the *Proteus mirabilis* urease gene cluster, is required for urease activity and virulence in experimental urinary tract infections. *Infect Immun*, 2003, **71**(2): 1026–1030.
- [39] Chen YY, Betzenhauser MJ, Burne RA. *Cis*-Acting elements that regulate the low-pH inducible urease operon of *Streptococcus salivarius*. *Microbiology*, 2002, **148**, 3599–3608.
- [40] Li YH, Chen YY, Burne RA, *et al.* Regulation of urease gene expression by *Streptococcus salivarius* growing in biofilms. *Environ Microbiol*, 2000, **2**(2): 169–177.
- [41] Liu YL, Hu T, Zhang JY, *et al.* The primary research on relevant factors influencing urease activity of *Actinomyces naeslundii*. *Sichuan Da Xue Xue Bao Yi Xue Bao*, 2007, **38**(4): 675–677.
- [42] Young GM, Amid D, Miller VL. A bifunctional urease enhances survival of pathogenic *Yersinia enterocolitica* and *Morganella morganii* at low pH. *J Bacteriol*, 1996, **178**(22): 6487–6495.
- [43] Collins CM, Falkow S. Genetic analysis of *Escherichia coli* urease genes: evidence for two distinct loci. *J Bacteriol*, 1990, **172**: 7138–7144.

征 稿 简 则

1 刊物简介与栏目设置

《微生物学通报》是由中国科学院微生物研究所和中国微生物学会主办的,以微生物学应用基础研究及高新技术创新为主的综合性学术期刊。刊登内容包括:微生物学、生物工程、病毒学、酶工程、发酵工程、细胞工程等领域的最新研究成果,产业化新技术和新进展。设置的栏目有:研究报告、专论与综述、生物实验室(原技术与方法)、高等院校教学、名师讲堂、教学与科研成果展示、显微世界、专题专栏、专家论坛、书讯、会讯等。

2 投稿方式

投稿时请登陆我刊主页 <http://journals.im.ac.cn/wswxtbcn>, 点击作者投稿区,第一次投稿请先注册,获得用户名和密码,然后依照提示提交稿件,详见主页“投稿、征稿须知”。

作者必须在网站投.doc 格式的电子稿,图与文字编好页码、图号后合成一个文件上传。凡不符合(投稿须知)要求的文稿,本部恕不受理。

3 写作要求

来稿要求论点明确,数据可靠,简明通顺,重点突出。

3.1 篇幅

以 A4 纸 5 号字计算,综述、教学和方法类文章最好在 3 页以内,研究报告 4~6 页(以上均包括图表)。

3.2 图表

文中的图表须清晰简明,文字叙述应避免与图表重复。所有小图的宽度应小于 8 cm(占半栏),大图的宽度应小于 17 cm(通栏)。

3.3 参考文献及脚注

参考文献按文内引用的先后顺序排序编码,未公开发表的资料请勿引用。我刊的参考文献需要注明著者(文献作者不超过 3 人时全部列出,多于 3 人时列出前 3 人,后加“等”或“*et al.*”,作者姓前、名后,名字之间用逗号隔开)、文献名、刊名、年卷期及页码。国外期刊名可以缩写,但必须标准,不加缩写点,斜体。参考文献数量不限。

参考文献格式举例:

期刊: [1] 刘杰,成子强,史宣玲. SARS 冠状病毒 *nsp14* 基因的克隆和表达. 微生物学通报, 2007, **34**(2): 1–3.

[2] Kajiura H, Mori K, Tobimatsu T, *et al.* Characterization and mechanism of action of a reactivating factor for adenosylcobalamin-dependent glycerol dehydratase. *J Biol Chem*, 2001, **276**(39): 36514–36519.

图书: [3] 钱存柔,黄仪秀. 微生物实验教程. 北京: 北京大学出版社, 2000, p. 4.

[4] 董志扬,张树政,方宣钧,等. 海藻的生物合成及抗逆机理. 见: 华璐等. 核农学进展. 北京: 中国农业出版社, 1996, pp. 115–120.

脚注(正文首页下方):

基金项目: 基金资助(No.)

*通讯作者 Tel: ; Fax: ; E-mail:

收稿日期: 2008-00-00 ; 接受日期: 2008-00-00

(下转 p. 1159)