

微生物硒代谢机制研究进展

徐巧林 吴文良 赵桂慎 朱燕云 郭岩彬*

(中国农业大学资源与环境学院 生物多样性与有机农业北京市重点实验室 北京 100193)

摘要: 硒(Se)是人与动物生命必需的微量元素,在医学保健和工业制造方面有着广泛的应用。硒在环境中有四种价态,包括硒酸盐 SeO_4^{2-} (+6)、亚硒酸盐 SeO_3^{2-} (+4)、单质硒 Se^0 (0)和硒化物 Se^{2-} (-2)。微生物在硒的形态转化中扮演了重要的角色,影响着环境中硒的生物地球化学循环。本文主要从自然界中硒的循环以及微生物与硒代谢机制两个方面阐述微生物对硒的生物地球化学循环的重要性。

关键词: 微生物, 硒循环, 硒代谢机制

Selenium metabolism in microorganisms

XU Qiao-Lin WU Wen-Liang ZHAO Gui-Shen ZHU Yan-Yun GUO Yan-Bin*

(College of Resources and Environmental Sciences, China Agricultural University, Beijing Key Laboratory of Biodiversity and Organic Farming, Beijing 100193, China)

Abstract: Selenium (Se) is an essential trace element which shows fundamental and important roles in medical health and industrial manufacturing. Selenium is normally a redox sensitive element that occurs in different forms including selenide [$\text{Se}(-2)$], elemental selenium [$\text{Se}(0)$], selenite [$\text{Se}(+4)$], and selenate [$\text{Se}(+6)$], all of which present in nature and organisms as organic or inorganic forms. Microorganisms play an important role in selenium transporter, reduction, oxidation, assimilation, and methylation in the environment. This review summarizes the importance of microorganism on the biogeochemical cycle of selenium, include: 1. Selenium cycle in environment; 2. Mechanism of selenium metabolism in microorganisms.

Keywords: Microorganisms, Selenium cycle, Metabolic mechanism

硒元素(Se)由瑞典化学之父 Berzelius 于 1817 年在硫酸矿尾中发现^[1],而关于硒的最早记录可以追溯到 13 世纪马可波罗在游记中所提到的马蹄病^[2]。硒是人和动物生命代谢所必需的微量元素,

也是 25 种人体含硒蛋白和酶的重要组成成分^[3-4]。在自然界中,硒主要以四种价态存在:硒酸盐 SeO_4^{2-} (+6)、亚硒酸盐 SeO_3^{2-} (+4)、单质硒 Se^0 (0)和硒化物 Se^{2-} (-2)^[5]。其中,硒氧化物(包括 SeO_4^{2-}

Foundation item: National Natural Science Foundation of China (No. 31470531); Special Fund for Agro-scientific Research in the Public Interest (No. 201303106)

*Corresponding author: Tel: 86-10-62731457; E-mail: guoyb@cau.edu.cn

Received: May 12, 2016; **Accepted:** September 28, 2016; **Published online** (www.cnki.net): September 30, 2016
基金项目: 国家自然科学基金项目(No. 31470531); 公益性行业(农业)科研专项(No. 201303106)

*通讯作者: Tel: 86-10-62731457; E-mail: guoyb@cau.edu.cn

收稿日期: 2016-05-12; 接受日期: 2016-09-28; 优先数字出版日期(www.cnki.net): 2016-09-30

和 SeO_3^{2-} 都具有高度水溶性、生物累积性和较强的毒性^[6], 不仅会对机体造成伤害, 还会引起严重的环境污染。

微生物在硒的地球化学循环中发挥着重要的作用, 而且在硒污染修复方面具有广阔的应用前景。研究发现许多微生物可以耐受高浓度的 SeO_4^{2-} 和 SeO_3^{2-} , 并将其转化为不溶性低毒的红色纳米硒(Selenium nanoparticles, SeNPs)^[7-10], 或同化还原为硒蛋白, 或甲基化为具有高挥发性的硒甲基硒化物^[11-13], 有些微生物还可以将低价态的硒氧化为高价态的硒^[14-18]。因此, 微生物对硒形态转化是有效解决硒引起的环境和健康问题的有效手段之一。

1 硒循环

硒的地球化学循环是一个复杂的过程^[19]。硒不仅有多种价态: $\text{Se}(-2)$ 、 $\text{Se}(0)$ 、 $\text{Se}(+4)$ 、 $\text{Se}(+6)$ ^[20], 而且有不同的物理(固态、液态、气态)、化学(有机、无机)形态; 还有 5 种稳定的同位素: ^{74}Se 、 ^{76}Se 、 ^{77}Se 、 ^{78}Se 和 ^{80}Se , 其中 ^{78}Se 和 ^{80}Se 是最常见的^[21]。

不同种类的硒在环境中的分布也不同, 这取决于氧化还原条件。硒酸盐(SeO_4^{2-})和亚硒酸盐(SeO_3^{2-})主要存在于好氧环境, 两者具有高度的可溶性, 毒性也很高^[22-23]。单质硒(Se^0)大多存在于厌氧环境, 由于在自然环境中的溶解度低, 一般认为是不可利用的^[24], 但是胶状单质纳米硒在自然环境中是可以转运的, 也可以被水生生物所利用^[25]。

在还原条件下, 单质硒可以进一步还原为硒化物, 硒化物可以结合金属形成金属硒化物, 通过沉积循环成为矿石和沉积物, 硒化物也可以结合有机物形成有机硒化物, 如硒代蛋氨酸和硒代半胱氨酸, 这些物质在生物体内进一步参与合成硒蛋白; 硒化物的另外一种存在形态是甲基化的硒, 如二甲基硒化物(DMSe)和二甲基联硒化物(DMDSe), 这些硒化物又可以以挥发态的形式返回到空气中^[26]。另外, 硒化物还可以形成挥发性强和毒性高的硒化氢

(H_2Se), 它是 H_2S 的类似物。

在自然界中, 物理、化学过程都可以调控硒的转化, 但越来越多的证据表明微生物在硒的循环中扮演了关键角色, 它可以通过多种方式代谢硒^[25]。因此, 微生物调控硒转化的生物过程研究也越来越受到关注。

2 微生物硒代谢机制

微生物对硒的代谢主要包括硒的转运、还原、氧化、同化、甲基化等。总体而言, 微生物硒代谢的研究以硒的同化和还原机制较为清楚, 在真菌和细菌(包括古生菌)中硒的同化机制均已阐明; 在革兰氏阴性菌和阳性菌中也都发现了专一性的硒酸盐还原酶, 但目前尚未发现专一性的亚硒酸盐还原酶或其他亚硒酸盐还原关键基因。硒的转运与硫酸盐或磷酸盐转运系统有关, 同时还会受到温度、pH、碳源、氮源等因素的影响。硒的甲基化也发现了一些关键基因和酶, 而对于硒氧化的微生物了解甚少, 截止目前还缺乏对微生物硒氧化机制的系统研究。

2.1 硒的转运

硒元素与硫元素化学性质相似, 微生物对硒的转运与硫具有类似的转运机制。Sirko 等发现在大肠杆菌(*Escherichia coli*)中硒酸盐通过硫酸盐 ABC 转运通透酶系统(CysAWTP)进入细胞^[27]。但硫酸盐通透酶不是亚硒酸盐进入细胞的唯一通道, 研究发现抑制硫酸盐通透酶的表达, 并不会完全抑制亚硒酸盐吸收^[12]。目前还发现 GutS、SmoK 和 DedA 等蛋白也参与亚硒酸盐向细胞内的转运^[28-30]。

在真菌对硒的吸收转运研究中, 酵母的研究较为清楚。在酵母细胞中, 硒酸盐或亚硒酸盐的转运不仅受温度、pH、碳源种类的影响, 而且与磷(P)、硫(S)两种元素有关。在酿酒酵母(*Saccharomyces cerevisiae*)中发现硫酸盐转运蛋白(Sul1p 和 Sul2p)和硫酸盐通透酶(Sul1 和 Sul2)都与亚硒酸盐的转运有关, 其机制与大肠杆菌(*E. coli*)相似^[31]。Lazard 等发现在酵母细胞的培养基中, 分别加入高浓度或低

浓度磷酸盐,亚硒酸盐的转运则分别由 2 个高亲和性的(Pho84p, Pho89p)和 3 个低亲和性的(Pho87p, Pho90p, Pho91p)磷酸盐转运蛋白控制^[32]。McDermott 等发现酵母细胞中的一元羧酸同向转运体(Jen1p)也与亚硒酸盐的转运有关^[33]。

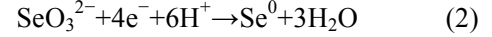
微生物对硒的吸收转运往往会受到多重因素的影响,除了微生物本身的遗传差异外,还与其培养条件和环境干扰有关联。

2.2 硒的还原

近十年的研究表明,可以进行硒还原的微生物种类繁多,已报道的至少有 15 个属的细菌,它们属于变形菌门(Proteobacteria)和厚壁菌门(Firmicutes)^[34];但是对硒矿中硒还原细菌的群落分析时发现,硒还原细菌不仅属于变形菌门(Proteobacteria)和厚壁菌门(Firmicutes),还包括放线菌门(Actinobacteria)^[35];这些微生物在生理学特性上具有较大差异,呈现丰富的多样性。

2.2.1 硒酸盐的还原:很多微生物在无氧条件下均可以利用 SeO_4^{2-} 作为最终电子受体进行呼吸作

用,将 SeO_4^{2-} 还原为 SeO_3^{2-} ,最终还原为不溶性单质硒(Se^0),这两个过程可以用两个公式表示^[36]:



在两个革兰氏阴性细菌(*Thauera selenatis* AX^T, *Enterobacter cloacae* SLD1a-1)和一个革兰氏阳性细菌(*Bacillus selenatarsenatis* SF-1)中, SeO_4^{2-} 的还原研究较为清楚。

T. selenatis AX^T 是革兰氏阴性细菌,属于 β 变形菌门,分离于加利福尼亚的华金河谷硒污染水域^[37],能够利用 SeO_4^{2-} 作为最终电子受体进行呼吸作用,还原过程中产生的红色纳米硒积累在细胞质和细胞外^[38],此过程由位于周质空间的硒酸盐还原酶(SerABC)催化完成。该还原酶是一个三聚体钼酶,SerD 作为伴侣蛋白与 SerABC 形成一个独立的转录单位,SerABCD 的分子量分别为 96、40、23 和 22 kD^[39-40]。如图 1 所示,醌池(Q-pool)释放的电子,在细胞色素 C4(cytC4)的介导作用下传递给 SerABC,从而将 SeO_4^{2-} 还原为 SeO_3^{2-} ,产生的 SeO_3^{2-} 在周质空间进行后续的反应^[41]。

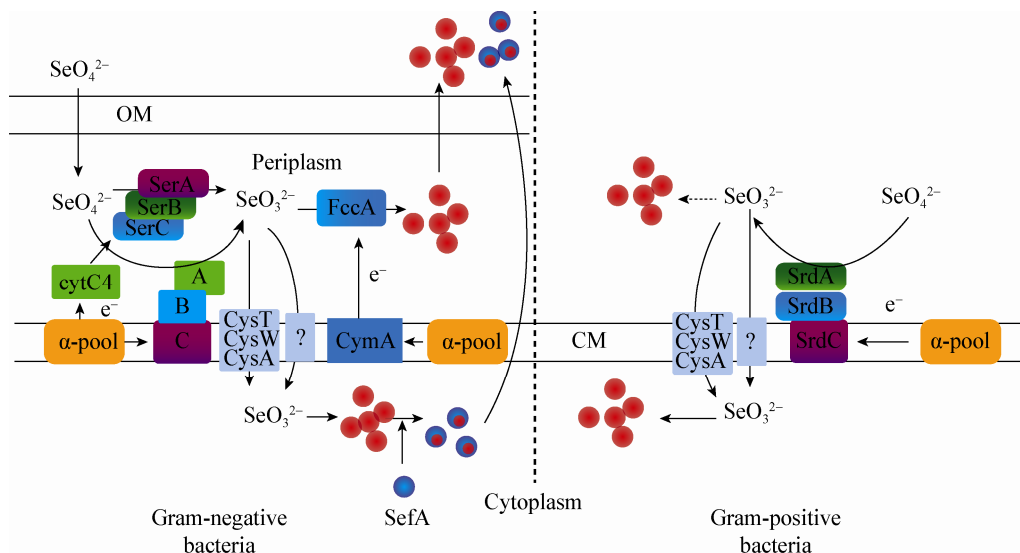


图 1 微生物对硒氧化物的还原模式图^[41]

Figure 1 Schematic diagram showing the microbial reduction of selenium oxyanions^[41]

注:CM:细胞质膜;OM:外膜;SefA:硒因子 A 蛋白;SerABC:硒酸盐还原酶;SrdBCA:硒酸盐还原酶;cytC4:细胞色素 C4;CymA:c-型细胞色素;FccA:延胡索酸还原酶;CysTWA:硫酸盐通透酶;Q-pool:醌池。

Note: CM: Cytoplasmic membrane; OM: Outer membrane; SefA: Selenium factor A protein; SerABC: Selenate reductase; SrdBCA: Selenate reductase; cytC4: Cytochrome C4; CymA: C-type cytochrome; FccA: Fumarate reductase; CysTWA: Sulphate permease; Q-pool: Quinone pool.

在 *E. cloacae* SLD1a-1 中硒酸盐还原酶位于细胞内膜, 不溶于水, 此酶是一个膜结合三聚体复合物, ABC 三个亚基的分子量分别为 100、55 和 36 kD, 其活性位点朝向周质空间, 因此 SeO_4^{2-} 还原在周质空间进行(图 1)^[42]。另外, 此还原过程还需要全局性调控基因 *fnr*、双精氨酸转运系统基因 *tatABC* 和甲基萘醌类合成途径基因 *menFDHBCE* 的共同参与^[38,43]。

B. selenatarsenatis SF-1 为革兰氏阳性细菌, 分离于玻璃制造厂的废水沉积物, 利用乳酸盐和 SeO_4^{2-} 分别作为电子供体和电子受体进行 SeO_4^{2-} 还原^[44-45]。在 *B. selenatarsenatis* SF-1 中的硒酸盐还原酶(SrdABC)是一个膜结合三聚体钼酶(图 1), 由醌池(Q-pool)释放的电子, 可直接传递给 SrdABC, 完成 SeO_4^{2-} 的还原。由于 SrdABC 的活性位点位于细胞外, 因此 SeO_4^{2-} 还原的终产物纳米硒会被释放到培养基中^[46-47]。

此外, 硒酸盐还可通过硝酸盐还原酶 A 或 Z (*narGHIJ* 或 *narZUWV*)的作用或者异化硫还原途径转化为亚硒酸盐或单质硒^[48-49]。

2.2.2 亚硒酸盐的还原: 硒酸盐(SeO_4^{2-})还原后, 生成的亚硒酸盐(SeO_3^{2-})被释放到周质空间(图 1), 在周质非特异性亚硒酸盐还原酶系统作用下, 进一步还原为单质硒(Se^0)。这些非特异性酶系统包括: 亚硝酸盐还原酶、亚硫酸盐还原酶和谷胱甘肽还原酶系统。不同细菌对亚硒酸盐的代谢途径不同, 上述的代谢途径在某些细菌中可能共同参与亚硒酸盐的还原, 而在其他细菌中可能单独起作用^[38]。例如, 低浓度的亚硝酸盐会强烈抑制荚膜红细菌(*Rhodobacter capsulatus*)对亚硒酸盐的还原, 说明这两条途径是共同作用的, 而在深红螺菌中(*Rhodospirillum rubrum*), 这两条途径却是分别起作用的^[50-51]。

在 2014 年, Li 等在 *Shewanella oneidensis* MR-1 中发现了一个周质延胡索酸还原酶(FccA)参与了亚硒酸盐的还原^[52]。*S. oneidensis* MR-1 是一株异化金属还原模式菌, 其无氧呼吸途径与亚硒酸盐

的还原同时发生, 如图 1 所示, NADH 脱氢酶(NADH dehydrogenase)和醌池(Quinol pool)提供连续的电子, 经细胞色素 C(CymA)传递给 FccA, 从而催化 SeO_3^{2-} 还原为 Se^0 。

亚硒酸盐(SeO_3^{2-})与硫醇(RSH)反应是目前普遍认同的一种微生物解毒机制^[12,50]。谷胱甘肽(GSH)是真核细胞、蓝细菌和 α 、 β 、 γ 变形菌中最丰富最简单的一种硫醇^[53], 其巯基与亚硒酸盐有很高的反应活性, 如图 2A 所示, GSH 与 SeO_3^{2-} 反应生成的 GS-Se-SG, 在谷胱甘肽还原酶(GR)或硫氧还蛋白还原酶(TR)的作用下进一步还原生成 GS-Se⁻, GS-Se⁻ 不稳定, 经水解作用生成 GSH 和 Se^0 , 此过程产生的活性氧 O_2^- 是亚硒酸盐具有毒性的机理之一^[50]。

在酵母细胞中, 硒的还原终产物并不是单质硒, 并且其还原过程需要多个酶的参与^[54]。如图 2B 所示, SeO_4^{2-} 先在 ATP-硫酸化酶(ATP sulfurylase)催化下转化为 APSe, 接着在 APSe 激酶(APSe kinase)的作用下将 APSe 转化为 PAPSe, 再经过 PAPSe 还原酶(PAPSe reductase)的作用才能还原为 SeO_3^{2-} , SeO_3^{2-} 则在硫酸盐还原酶(Sulphate reductase)的作用下进一步转化为硒化氢^[55-57]。

Hunter 等在亚硒酸盐还原酶方面做了很多研究, 他们发现在 *Rhizobium* sp. B1 中有两个钼酶(分子量分别约为 100 kD 和 45 kD), 在 *Tetrathibacter kashmirensis* 中有一个分子量约为 120 kD 的蛋白, 在 *Pseudomonas* sp. CA5 无细胞提取物中有一个分子量约为 115 kD 的蛋白, 在 *Rhizobium selenitireducens* 中的 NADH—黄素氧化还原酶, 均能将亚硒酸盐还原为单质硒, 但他们并未对这些还原酶做进一步的研究^[58-61]。此外, deMoll-Decker 等研究发现在 *T. selenatis* 中周质亚硝酸盐还原酶能将亚硒酸盐还原为单质硒^[62], Yanke 等在梭状芽孢杆菌(*Clostridium pasteurianum*)中发现脱氢酶 I (Hydrogenase I)可作为亚硒酸盐还原酶参与反应^[63]。由此可见, 不同细菌中有不同的酶参与了亚硒酸盐的还原, 参与亚硒酸盐还原的酶可能都不具有特异性^[64]。

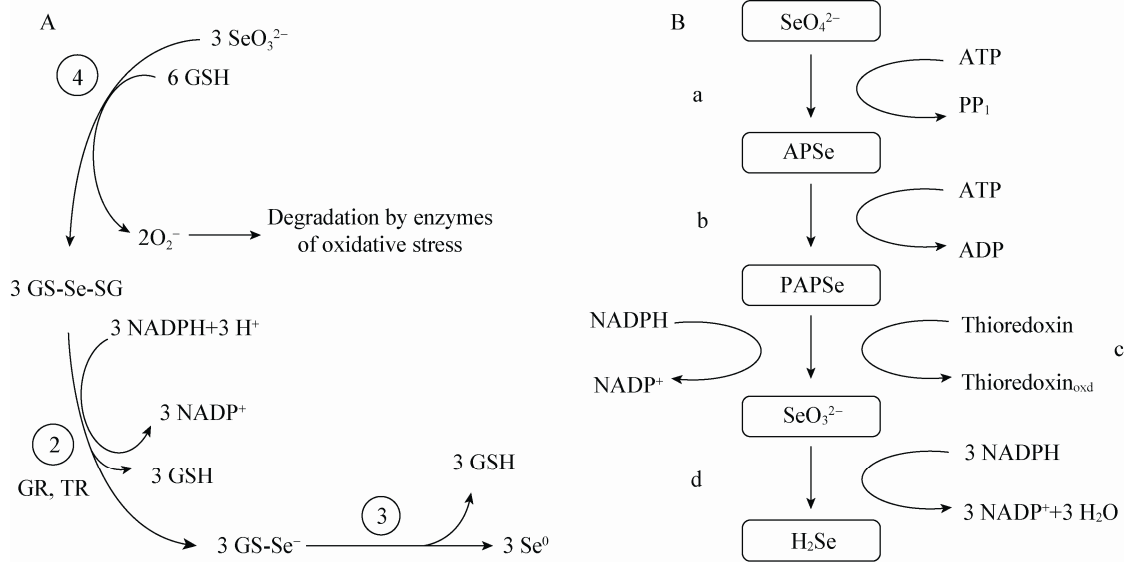


图 2 亚硒酸盐在细菌(A)^[50]和酵母(B)细胞中的还原途径^[54]

Figure 2 Pathway of reduction of selenium in bacteria (A)^[50] and yeast cells (B)^[54]

注: GSH: 谷胱甘肽; GR: 胱甘肽还原酶; TR: 硫氧还蛋白还原酶; a: ATP-硫酸化酶; b: APSe-激酶; c: PAPSe-还原酶; d: 硫酸盐还原酶。

Note: GSH: Glutathione; GR: Glutathione reductase; TR: Thioredoxin reductase; a: ATP Sulfurylase; b: APSe kinase; c: PAPSe reductase; d: Sulfate reductase.

微生物将硒酸盐和亚硒酸盐还原为单质硒后, 通常可以观察到红色纳米硒颗粒(SeNPs)积累于细胞质、细胞膜或培养基中, 同时伴随着细胞膜的内陷、外翻和孔洞^[38,65-66]。微生物产生的纳米硒颗粒往往具有毒性低、稳定性好的特点^[67], 研究发现蛋白对纳米硒的稳定性具有重要的作用^[68]。RarA 是一个非金属还原酶, 此酶含有大量的缩氨酸, 对纳米硒有很高的亲和力, 因此可以有效地稳定纳米硒颗粒^[69]。Sef A (硒因子 A)是一个分子量约为 95 kD 的外泌蛋白, 从纳米硒表面分离而来, 其可以通过防止硒的聚集来稳定纳米硒, 同时它还可能与纳米硒的分泌过程有关^[36]。

2.3 硒的甲基化

细菌、真菌和酵母均可以进行硒的生物甲基化, 这些微生物在含有硒酸盐或亚硒酸盐的培养基中生长时会产生一种大蒜气味, 这种气味就是由甲基化的硒产生。常见的甲基硒化物为二甲基硒化物(DMSe)和二甲基联硒化物(DMDSe), 两者中的硒

均为完全还原价态(Se^{2-})^[5]。

近几年的研究表明, 可以进行硒的甲基化的细菌种类繁多, 包括假单胞菌属(*Pseudomonas* sp.)、气单胞菌属(*Aeromonas* sp.)、棒状杆菌属(*Corynebacterium* sp.)、脱硫弧菌属(*Desulfovibrio* sp.)、荚膜红细菌(*R. capsulatus*)、深红红螺菌(*R. rubrum*)以及弗氏柠檬酸杆菌(*Citrobacter freundii* KS8)、梭状芽胞杆菌(*Clostridium collagenovorans*)等; 真菌主要包括头孢霉属(*Cephalosporium* sp.)、镰刀菌属(*Fusarium* sp.)、青霉菌属(*Penicillium* sp.)以及链状支顶孢菌(*Acremonium falciforme*)、互隔交链孢菌(*Alternaria alternata*)、桔青霉(*Penicillium citrinum*)、短柄帚霉(*Scopulariopsis brevicaulis*)等; 古细菌主要有甲烷杆菌(*Methanobacterium formicicum*)和巴氏甲烷八叠球菌(*Methanosarcina barkeri*)^[70]。

在原核生物中, 硒的甲基化需要甲基转移酶的参与^[71]。Ranjard 等在假单胞杆菌(*Pseudomonas*)

中发现了两种不同的甲基转移酶：一种是细菌的巯基嘌呤甲基转移酶(bTPMT)，另一种是烯二炔类抗生素(Calichaemicin)甲基转移酶的同源物，均可将亚硒酸盐和硒代半胱氨酸转化为二甲基硒醚和二甲基联硒化物。后续的研究又发现甲基转移酶基因——MmtA 也参与了硒甲基化，并且在许多细菌中可以找到它的同源基因^[72-73]。纤细红螺菌(*Rhodocyclus tenuis*)和深红红螺菌(*R. rubrum*)可以在光能自养的过程中，分别利用亚硒酸盐和硒酸盐产生甲基硒^[13]。谷胱甘肽与亚硒酸盐反应生成的 GS-Se-SG，还可以进一步与 S-腺苷甲硫氨酸(SAM)反应生成甲烷硒醇和二甲基硒醚^[74]。另外，硒代半胱氨酸也可以与谷胱甘肽反应还原为硒化氢^[75]。此外，大肠杆菌(*E. coli*)中的氧硫族解毒蛋白 TehB 也与硒的甲基化有关^[76]，丁香假单胞菌(*Pseudomonas syringae*)的三甲基嘌呤甲基化酶基因(*tmp*)与硒酸盐、亚硒酸盐和硒代半胱氨酸的甲基化都有关^[77]。

2.4 硒氨基酸和硒蛋白的合成

硒在微生物细胞中可以被同化为硒氨基酸，包括硒代蛋氨酸(Se-Met)、硒代胱氨酸(SeCys2)和硒代半胱氨酸(Sec, U)，并进一步参与硒蛋白的合成。在硒代蛋氨酸、硒代胱氨酸和硒代半胱氨酸中硒与氨基酸通过共价键结合。硒代半胱氨酸是第 21 种氨基酸^[78]，也是唯一不能循环利用再合成硒蛋白的氨基酸，在硒代半胱氨酸裂解酶(Lyase)的作用下被完全降解转化为还原态的硒^[79]，其合成主要与 *selA*、*selB*、*selC*、*selD* 四个基因的产物直接相关^[5]。

SelC 是一个特异性的硒代半胱氨酸 tRNA^{Sec}，在 RNA 翻译时，tRNA^{Sec} 首先被氨酰化，此过程由 seryl-tRNA 合成酶(SerRS)催化完成，形成的 Ser-tRNA^{Sec} 为硒代半胱氨酸的形成提供了基本的碳骨架^[77]。在大肠杆菌中(图 3A)，硒代磷酸盐合成酶(*SelD*)可以将还原态的硒([Se])转化为硒代磷酸盐(Se-P)。Ser-tRNA^{Sec} 在 *SelA* (硒代半胱氨酸合成酶)作用下进一步转化为 Sec-tRNA^{Sec}^[80]，此过程的活性硒由硒代磷酸盐(Se-P)提供。而在古细菌(例

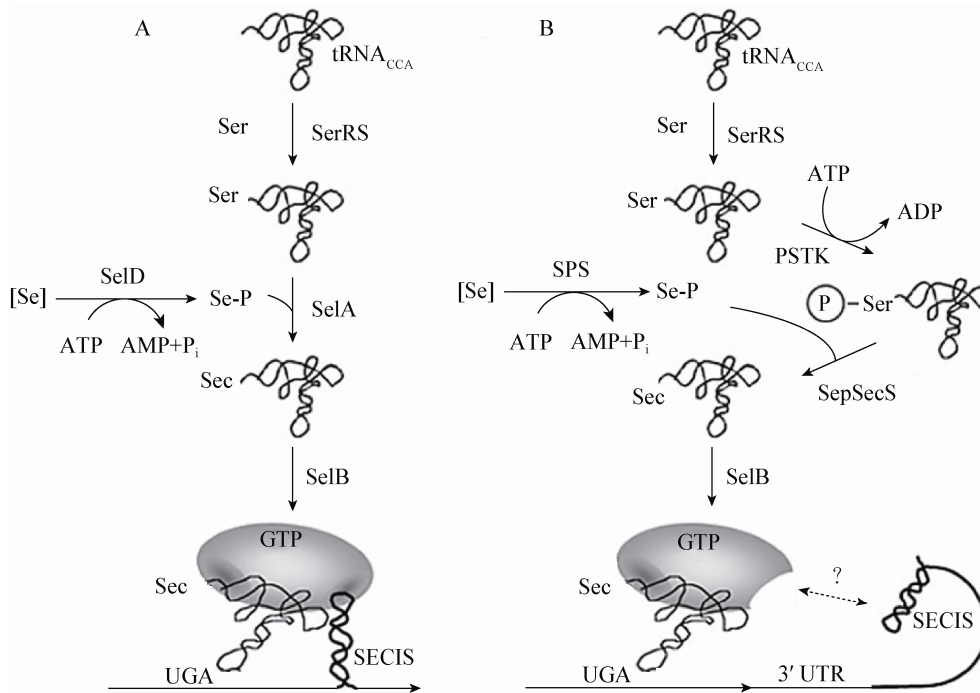
如 *Methanosarcina maripaludis*) 中(图 3B)，Ser-tRNA^{Sec} 的合成由 O-phosphoseryl-tRNA^{Sec} 激酶(PSTK)完成，活性硒由 SPS 激活的 Se-P 提供^[81]。硒代半胱氨酸延长因子(*SelB*)通过 mRNA 的特殊二级结构元素(SECIS)识别密码子 UGA 来编码硒代半胱氨酸^[82-83]。在酵母细胞中，Sec-tRNA^{Sec} 复合体在 *Sep43* 因子的作用下被转运到核糖体中，在 SBP2 等结合蛋白以及 eEFSec 延长因子的作用下，进一步完成硒代半胱氨酸的合成^[80]。

另外，在古细菌和真核生物中，硒代半胱氨酸插入序列(SECIS)位于 mRNA 的 3'端-非编码区，而原核生物中的 SECIS 位于 mRNA 的开放阅读区(3'-UTR)UGA 密码子的上游。

2.5 硒的氧化

Lipman 和 Waksman 于 1923 年首次报道了硒氧化细菌，他们在新鲜土壤中加入单质硒，发现单质硒被氧化，土壤酸度增加，当把这些土壤加入以单质硒作为唯一能量来源的培养基中，发现培养基中有棒状细菌的生长^[14]，在此之后，有关硒氧化的微生物却少有报道。因此，在 1964 年 Shirft 刚提出硒的微生物地球化学循环时，关于微生物对硒的氧化作用存在较大分歧^[84]。

后来，Torma 等于 1972 年发现了可以将铜硒化物中硒(Se²⁻)氧化为元素硒(Se⁰)的 *T. ferrooxidans* 菌^[15]。Sarithchandra 和 Watkinson 也报道了巨大芽胞杆菌(*Bacillus megatherium*)可以将单质硒氧化成亚硒酸盐或硒酸盐，主要产物为亚硒酸盐^[16]。1998 年，Dowdle 和 Oremland 将土壤污泥高压蒸气灭菌或者添加代谢抑制剂(如：福尔马林、抗生素、叠氮化物、2,4-二硝基苯酚)后，发现亚硒酸盐和硒酸盐的产量减少，但是当加入醋酸盐、葡萄糖或硫化物则提高单质硒的氧化，说明参与硒氧化的包括化能异养细菌和化能自养的硫杆菌^[17]。几乎在同时，Losi 和 Frankenberger 也报道了氧化单质硒的化能自养细菌。但仍然缺乏这些细菌的全基因组序列和硒氧化规律、相关基因的研究^[18]。直到 2016 年，Wang 等才报道了一株硒氧化细菌的全基因组序列，

图3 硒代半胱氨酸生物合成及插入多肽链机制^[79]Figure 3 Mechanism of Selenocysteine and peptides biosynthesis^[79]

注: A: *E. coli*; B: *M. maripaludis*. 3'-UTR: 3'-非编码区; PSTK: Seryl-tRNA^{Sec} 激酶; [Se]: 还原态硒形态; SelA: 硒代半胱氨酸合酶; SelB: 硒半胱氨酸专用延长因子; SelD、SPS: 硒代磷酸盐合成酶; SepSecS: O-phosphoseryl-Trna; Sec: 硒代半胱氨酸合酶; Ser: 丝氨酸; SerRS: Seryl-tRNA 合成酶; Se-P: 硒代磷酸盐; 虚线代表未知机理。

Note: A: *E. coli*; B: *M. maripaludis*. 3'-UTR: 3'-untranslated region; PSTK: Seryl-tRNA^{Sec} kinase; [Se]: Reduced Se-species; SelA: Selenocysteine synthase; SelB: Selenocysteine-specific elongation factor; SelD/SPS: Selenophosphate synthetase; SepSecS: O-phosphoseryl-tRNA; Sec: Selenocysteine synthase; Ser: Serine; SerRS: Seryl-tRNA synthetase; Se-P: Seleno (mono) phosphate; The dashed arrow indicates an unknown recoding mechanism.

Caulobacter ibrioides T5M6 为革兰氏阴性细菌, 分离于湖北恩施根围土壤样品, 该细菌可以将化学单质硒(Se^0)和含硒矿物(硒混合物)转化为亚硒酸盐(SeO_3^{2-})^[85]。这些研究都证明微生物可以进行硒的氧化作用, 也说明了微生物对硒的生物地球化学循环的重要作用。

有研究显示硒的氧化过程比还原过程慢 3-4 个数量级^[17], 这可能是阻碍硒氧化微生物研究的一个重要原因。目前, 几乎没有关于古细菌和真菌对硒氧化的报道, 也没有关于硒氧化细菌的系统报道, 同时缺乏硒氧化分子机制的研究。

3 小结与展望

本文从微生物对硒的转运、还原、甲基化、同

化及氧化五个方面综述了微生物对硒的生物地球化学循环的重要作用。近年来, 虽然硒的研究逐渐成为人们研究的热点, 但仍然有很多问题有待解决, 未来需要对以下几个方面做进一步研究:

(1) 微生物对硒的全球地化循环的贡献, 特别是在水圈、大气圈、土壤圈、岩石圈和生物圈: 硒的全球地化循环中到底是生物过程占主导还是非生物过程占主导? 微生物对全球硒的分布和硒在环境中的迁移有怎样的影响? 微生物对硒的全球地化循环的贡献率是多少?

(2) 对硒的转运研究发现, 在细菌和真菌中, 硒的转运与硫的转运机制相似, 在古菌中是否存在专一性的硒转运酶系统? 对硒的甲基化研究中,

已经在原核生物中找到了硒甲基化的关键基因和酶,但在真核生物中硒的甲基化机理尚不清楚,其是否与原核生物具有相似性,又或是具有其独特性?对硒的氧化研究相对最少,后续不仅要丰富硒氧化微生物资源及全基因组序列,还需进一步研究硒的氧化规律及其机制。

(3) 微生物在自然界中的自解毒机理:在自然界中微生物将硒酸盐或亚硒酸盐还原为单质硒,毒性下降,是否与其自解毒机制有关?是否是其长期进化适应环境的结果?其微观和宏观生态机理又是什么?

(4) 单质硒合成机制:亚硒酸盐被还原为单质硒后,单质硒是如何聚集为纳米硒颗粒的?如果纳米硒在细胞内聚集完成,又是如何被转运到细胞外的?

参 考 文 献

- Berzelius JJ. Lettre de M. Berzelius a M. Berthollet sur deux metaux nouveaux[J]. Annales de Chimie et de Physique, 1817, 7: 199-207
- Oldfield JE. Historical perspectives on selenium[J]. Nutrition Today, 2001, 36(2): 100
- Rayman MP. The importance of selenium to human health[J]. Lancet, 2006, 356(9225): 233-241
- Zhang JS, Spallholz JE. Toxicity of selenium compounds and nanoselenium particles[A]//General, Applied and Systems Toxicology[M]. New York: John Wiley & Sons, 2011: 787-802
- Stolz JF, Basu P, Santini JM, et al. Arsenic and selenium in microbial metabolism[J]. The Annual Review of Microbiology, 2006, 60: 107-130
- Stolz JF, Oremland RS. Bacteria respiration of arsenic and selenium[J]. FEMS Microbiology Reviews, 1999, 23(5): 615-627
- Ike M, Takahashi K, Fujita T, et al. Selenate reduction by bacteria isolated from aquatic environment free from selenium contamination[J]. Water Research, 2000, 34(11): 3019-3025
- Tomei FA, Barton LL, Lemanski CL, et al. Transformation of selenate and selenite to elemental selenium by *Desulfovibrio desulfuricans*[J]. Journal of Industrial Microbiology, 1995, 14(3/4): 329-336
- Li BZ, Liu N, Li YQ, et al. Reduction of selenite to red elemental selenium by *Rhodospseudomonas palustris* strain N[J]. PLoS One, 2014, 9(4): e95955
- Lampis S, Zonaro E, Bertolini C, et al. Delayed formation of zero-valent selenium nanoparticles by *Bacillus mycoides* SeITE01 as a consequence of selenite reduction under aerobic conditions[J]. Microbial Cell Factories, 2014, 13: 35
- Zehr JP, Oremland RS. Reduction of selenate to selenide by sulfate-reducing bacteria: experiments with cell suspensions and estuarine sediments[J]. Applied and Environmental Microbiology, 1987, 53(6): 1365-1369
- Turner RJ, Weiner JH, Taylor DE. Selenium metabolism in *Escherichia coli*[J]. BioMetals, 1998, 11(3): 223-227
- McCarty S, Chasteen T, Marshall M, et al. Phototrophic bacteria produce volatile, methylated sulfur and selenium compounds[J]. FEMS Microbiology Letters, 1993, 112(1): 93-98
- Lipman JG, Waksman SA. The oxidation of selenium by a new group of autotrophic microorganisms[J]. Science, 1923, 57(1463): 60
- Torma AE, Habashi F. Oxidation of copper (II) selenide by *Thiobacillus ferrooxidans*[J]. Canadian Journal of Microbiology, 1972, 18(11): 1780-1781
- Sarathchandra SU, Watkinson JH. Oxidation of elemental selenium to selenite by *Bacillus megaterium*[J]. Science, 1981, 211(4482): 600-601
- Dowdle PR, Oremland RS. Microbial oxidation of elemental selenium in soil slurries and bacterial cultures[J]. Environmental Science & Technology, 1998, 32(23): 3749-3755
- Losi ME, Frankenberger WT Jr. Microbial oxidation and solubilization of precipitated elemental selenium in soil[J]. Journal of Environmental Quality, 1998, 27(4): 836-843
- Winkel LHE, Annette JC, Lenz M, et al. Environmental selenium research: from microscopic processes to global understanding[J]. Environmental Science & Technology, 2012, 46(2): 571-579
- Fernández-Martínez A, Charlet L. Selenium environmental cycling and bioavailability: a structural chemist point of view[J]. Reviews in Environmental Science and Bio/Technology, 2009, 8(1): 81-110
- Boyd R. Selenium stories[J]. Nature Chemistry, 2011, 3(7): 570
- Barceloux DG. Selenium[J]. Clinical Toxicology, 1999, 37(2): 147-172
- Wu L. Review of 15 years of research on ecotoxicology and remediation of land contaminated by agricultural drainage sediment rich in selenium[J]. Ecotoxicology and Environmental Safety, 2004, 57(3): 257-269
- Minaev VS, Timoshenkov SP, Kalugin VV. Structural and phase transformations in condensed selenium[J]. Journal of Optoelectronics and Advanced Materials, 2005, 7(4): 1717-1741
- Nancharaiyah YV, Lens PNL. Ecology and Biotechnology of Selenium-Respiring Bacteria[J]. Microbiology and Molecular Biology Reviews, 2015, 79(1): 61-80
- Markus L, Lens PNL. The essential toxin: the changing perception of selenium in environmental sciences[J]. Science of the Total Environment, 2009, 407(12): 3620-3633
- Sirko A, Hryniewicz M, Hulanicka D, et al. Sulfate and thiosulfate transport in *Escherichia coli* K-12: nucleotide sequence and expression of the *cysTWAM* gene cluster[J]. Journal of Bacteriology, 1990, 172(6): 3351-3357
- Guzzo J, Dubow MS. A novel selenite- and tellurite-inducible gene in *Escherichia coli*[J]. Applied and Environmental Microbiology, 2000, 66(11): 4972-4978
- Bebien M, Chauvin JP, Adriano JM, et al. Effect of selenite on growth and protein synthesis in the phototrophic bacteria *Rhodobacter sphaeroides*[J]. Applied and Environmental Microbiology, 2001, 67(10): 4440-4447
- Ledgham F, Quest B, Vallaeyts T, et al. A probable link between the DedA protein and resistance to selenite[J]. Research in Microbiology, 2005, 156(3): 367-374
- Mapelli V, Hillestrøm PR, Patil K, et al. The interplay between sulphur and selenium metabolism influences the intracellular redox balance in *Saccharomyces cerevisiae*[J]. FEMS Yeast Research, 2012, 12(1): 20-32
- Lazard M, Blanquet S, Fiscicaro P, et al. Uptake of selenite by *Saccharomyces cerevisiae* involves the high and low affinity orthophosphate transporters[J]. The Journal of Biological Chemistry, 2010, 285(42): 32029-32037
- McDermott JR, Rosen BP, Liu ZJ, JenIp: a high affinity selenite transporter in yeast[J]. Molecular Biology of the Cell, 2010, 21(22): 3934-3941
- Zheng SX, Su J, Wang R, et al. Metabolism of selenium in microorganisms[J]. Journal of Huazhong Agricultural University, 2013, 32(5): 1-8 (in Chinese)

- 郑世学, 粟静, 王瑞, 等. 硒是双刃剑? ——谈微生物中的硒代谢[J]. 华中农业大学学报, 2013, 32(5): 1-8
- [35] Wang HY. Isolation and identification of selenium-tolerance bacteria[D]. Beijing: Master's Thesis of China Agricultural University, 2015 (in Chinese)
王浩阳. 耐硒细菌的筛选与鉴定[D]. 北京: 中国农业大学硕士学位论文, 2015
- [36] Debieuxa CM, Dridge EJ, Mueller CM, et al. A bacterial process for selenium nanosphere assembly[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 2011, 108(33): 13480-13485
- [37] Macy JM, Rech S, Auling G, et al. *Thauera selenatis* gen. nov., sp. nov., a member of the beta subclass of proteobacteria with a novel type of anaerobic respiration[J]. International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology, 1993, 43(1): 135-142
- [38] Butler CS, Debieux CM, Dridge EJ, et al. Biomineralization of selenium by the selenate-respiring bacterium *Thauera selenatis*[J]. Biochemical Society Transactions, 2012, 40(6): 1239-1243
- [39] Schröder I, Rech S, Krafft T, et al. Purification and characterization of the selenate reductase from *Thauera selenatis*[J]. The Journal of Biological Chemistry, 1997, 272(38): 23765-23768
- [40] Krafft T, Bowen A, Theis F, et al. Cloning and sequencing of the genes encoding the periplasmic-cytochrome *B*-containing selenate reductase of *Thauera selenatis*[J]. DNA Sequence, 2000, 10(6): 365-377
- [41] Yarlagadda VN, Piet NLL. Selenium biomineralization for biotechnological applications[J]. Trends in Biotechnology, 2015, 33(6): 323-330
- [42] Ridley H, Watts CA, Richardson DJ, et al. Resolution of distinct membrane-bound enzymes from *Enterobacter cloacae* SLD1a-1 that are responsible for selective reduction of nitrate and selenate oxyanions[J]. Applied and Environmental Microbiology, 2006, 72(8): 5173-5180
- [43] Yee N, Ma J, Dalia A, et al. Se(VI) Reduction and the precipitation of se(0) by the facultative bacterium *Enterobacter cloacae* SLD1a-1 are regulated by FNR[J]. Applied and Environmental Microbiology, 2007, 73(6): 1914-1920
- [44] Fujita M, Ike M, Nishimoto S, et al. Isolation and characterization of a novel selenate-reducing bacterium, *Bacillus* sp. SF-1[J]. Journal of Fermentation and Bioengineering, 1997, 83(6): 517-522
- [45] Yamamura S, Yamashita M, Fujimoto N, et al. *Bacillus selenatarsenatis* sp. nov., a selenate and arsenate-reducing bacterium isolated from the effluent drain of a glass-manufacturing plant[J]. International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology, 2007, 57(5): 1060-1064
- [46] Losi ME, Frankenberger WT. Reduction of selenium oxyanions by *Enterobacter cloacae* SLD1a-1: isolation and growth of the bacterium and its expulsion of selenium nanoparticles[J]. Applied and Environmental Microbiology, 1997, 63(8): 3079-3084
- [47] Kuroda M, Yamashita M, Miwa E, et al. Molecular cloning and characterization of the *srdBCA* operon, encoding the respiratory selenate reductase complex, from the selenate-reducing bacterium *Bacillus selenatarsenatis* SF-1[J]. Journal of Bacteriology, 2011, 193(9): 2141-2148
- [48] Avazéri C, Pommier J, Blasco F, et al. Reduction of oxyanions by photosynthetic bacteria and *Escherichia coli*: role of the nitrate reductase in the reduction of tellurite and selenate[A]//Proceedings of the 10th International Photosynthesis Congress[C]. Montpellier, France: IPC, 1995: 423-426
- [49] Hockin SL, Gadd GM. Linked redox precipitation of sulfur and selenium under anaerobic conditions by sulfate-reducing bacterium biofilms[J]. Applied and Environmental Microbiology, 2003, 69(12): 7063-7072
- [50] Kessi J, Hanselmann KW. Similarities between the abiotic reduction of selenite with glutathione and the dissimilatory reaction mediated by *Rhodospirillum rubrum* and *Escherichia coli*[J]. The Journal of Biological Chemistry, 2004, 24(49): 50662-50669
- [51] Kessi J. Enzymic systems proposed to be involved in the dissimilatory reduction of selenite in the purple non-sulfur bacteria *Rhodospirillum rubrum* and *Rhodobacter capsulatus*[J]. Microbiology, 2006, 152(3): 731-743
- [52] Li DB, Cheng YY, Wu C, et al. Selenite reduction by *Shewanella oneidensis* MR-1 is mediated by fumarate reductase in periplasm[J]. Scientific Reports, 2014, 4: 3735
- [53] Newton GL, Fahey RC. Glutathione in prokaryotes[A]//Vina J. Glutathione: Metabolism and Physiological Functions[M]. Boca Raton, Florida, USA: The Chemical Rubber Company Press, 1989: 69-77
- [54] Kieliszek M, Błażej S, Gientka I, et al. Accumulation and metabolism of selenium by yeast cells[J]. Applied Microbiology and Biotechnology, 2015, 99(13): 5373-5382
- [55] Hoefig CS, Renko K, Köhrle J, et al. Comparison of different selenocompounds with respect to nutritional value vs. toxicity using liver cells in culture[J]. The Journal of Nutritional Biochemistry, 2011, 22(10): 945-955
- [56] Mapelli V, Hilleström PR, Kápolna E, et al. Metabolic and bioprocess engineering for production of selenized yeast with increased content of seleno-methylselenocysteine[J]. Metabolic Engineering, 2011, 13(3): 282-293
- [57] Kitajima T, Chiba Y. Selenomethionine metabolism and its toxicity in yeast[J]. Biomolecular Concepts, 2013, 4(6): 611-616
- [58] Hunter WJ, Kuykendall LD. Reduction of selenite to elemental red selenium by *Rhizobium* sp. strain B1[J]. Current Microbiology, 2007, 55(4): 344-349
- [59] Hunter WJ, Manter DK. Bio-reduction of selenite to elemental red selenium by *Tetrathibacter kashmirensis*[J]. Current Microbiology, 2008, 57(1): 83-88
- [60] Hunter WJ, Manter DK. Reduction of selenite to elemental red selenium by *Pseudomonas* sp. strain CA5[J]. Current Microbiology, 2009, 58(5): 493-498
- [61] Hunter WJ. A *Rhizobium selenitireducens* protein showing selenite reductase activity[J]. Current Microbiology, 2014, 68(3): 311-316
- [62] deMoll-Decker H, Macy JM. The periplasmic nitrite reductase of *Thauera selenatis* may catalyze the reduction of selenite to elemental selenium[J]. Archives of Microbiology, 1993, 160(3): 241-247
- [63] Yanke LJ, Bryant RD, Laishley EJ. Hydrogenase I of *Clostridium pasteurianum* functions as a novel selenite reductase[J]. Anaerobe, 1995, 1(1): 61-67
- [64] Li JX, Wu WL, Guo YB. Review on nano selenium produced by bacteria[J]. Journal of Agricultural Resources and Environment, 2014, 31(6): 551-554 (in Chinese)
李吉祥, 吴文良, 郭岩彬. 细菌生物合成纳米硒的研究进展[J]. 农业资源与环境学报, 2014, 31(6): 551-554
- [65] Zhu YY, Ren BY, Guo YB, et al. Biosynthesis of selenium nanoparticles and their interaction in *Rahnella aquatilis* HX2[J]. Applied Microbiology and Biotechnology, in press
- [66] Ren BY. Transformation of different selenium and bacteria-mediated plant of absorption in *Rahnella aquatilis* HX2[D]. Beijing: Master's Thesis of China Agricultural University, 2014 (in Chinese)
任宝玉. 植物促生菌 *Rahnella aquatilis* HX2 对不同硒源的转化以及玉米硒吸收的影响[D]. 北京: 中国农业大学硕士学位论文, 2014
- [67] Guo YB, Wu WL, Li JX, et al. A method of preparing biological selenium nanoparticles by *Rahnella aquatilis* HX2: China, 201510047365.4[P]. 2015-07-15 (in Chinese)

- 郭岩彬, 吴文良, 李吉祥, 等. 一种利用水生拉恩氏菌制备生物纳米硒的方法: 中国, 201510047365.4[P]. 2015-07-15
- [68] Gurinder K, Mohammad I, Mandeep SB. Biomineralization of fine selenium crystalline rods and amorphous spheres[J]. The Journal of Physical Chemistry, 2009, 113(31): 13670-13676
- [69] Lenz M, Kolvenbach B, Gygax B, et al. Shedding light on selenium biomineralization: proteins associated with bionanominerals[J]. Applied and Environmental Microbiology, 2011, 77(13): 4676-4680
- [70] Chasteen TG, Bentley R. Biomethylation of selenium and tellurium: microorganisms and plants[J]. Chemical Reviews, 2003, 103(1): 1-26
- [71] Heider J, Böck A. Selenium metabolism in microorganisms[J]. Advances in Microbial Physiology, 1993, 35: 71-109
- [72] Ranjard L, Nazaret S, Cournoyer B. Freshwater bacteria can methylate selenium through the thiopurine methyltransferase pathway[J]. Applied and Environmental Microbiology, 2003, 69(7): 3784-3790
- [73] Ranjard L, Combaret CP, Sabine FB, et al. Characterization of a novel selenium methyltransferase from freshwater bacteria showing strong similarities with the calicheamicin methyltransferase[J]. Biochimica et Biophysica Acta, 2004, 1679(1): 80-85
- [74] Doran JW. Microorganisms and the biological cycling of selenium[A]//Marshall KC. Advances in Microbial Ecology[M]. New York: Springer, 1982, 6: 1-32
- [75] Sayato Y, Nakamuro K, Hasegawa T. Selenium methylation and toxicity mechanism of selenocysteine[J]. Yakugaku Zasshi, 1997, 117(10/11): 665-672
- [76] Choudhury HG, Cameron AD, Iwata S, et al. Structure and mechanism of the chalcogen-detoxifying protein TehB from *Escherichia coli*[J]. Biochemical Journal, 2011, 435(1): 85-91
- [77] Ranjard L, Prigent-Combaret C, Nazaret S, et al. Methylation of inorganic and organic selenium by the bacterial thiopurine methyltransferase[J]. Journal of Bacteriology, 2002, 184(11): 3146-3149
- [78] Stadtman TC. Selenocysteine[J]. Annual Review of Biochemistry, 1996, 65: 83-100
- [79] Hatfield DL, Berry MJ, Gladyshev VN. Selenium: It's Molecular Biology and Role in Human Health[M]. 3rd ed. Berlin: Springer, 2012
- [80] Xu XM, Mix H, Carlson BA, et al. Evidence for direct roles of two additional factors, SECp43 and soluble liver antigen, in the selenoprotein synthesis machinery[J]. The Journal of Biological Chemistry, 2005, 280(50): 41568-41575
- [81] Thanbichler M, Böck A. Functional analysis of prokaryotic SELB proteins[J]. Biofactors, 2001, 14(1/4): 53-59
- [82] Raymana MP. The use of high-selenium yeast to raise selenium status: how does it measure up?[J]. British Journal of Nutrition, 2004, 92(4): 557-573
- [83] Papp LV, Lu J, Holmgren A, et al. From selenium to selenoproteins: synthesis, identity, and their role in human health[J]. Antioxidants and Redox Signalling, 2007, 9(7): 775-806
- [84] Shirft DRA. A selenium cycle in nature?[J]. Nature, 1964, 201(4926): 1304-1305
- [85] Wang YH, Qin Y, Witold K, et al. Genome sequence of selenium-solubilizing bacterium *Caulobacter vibrioides* T5M6[J]. Genome Announcements, 2016, 4(1): e01721-15