

学校编码: 10384

分类号 \_\_\_\_\_ 密级 \_\_\_\_\_

学号: 20620141151454

UDC \_\_\_\_\_

厦 门 大 学

硕 士 学 位 论 文

奥纳达希瓦氏菌重组表达偶氮还原酶及 *mtrA* 基因敲除  
研究

Recombinant Expression of Azoreductase and  
Gene-knockout of *mtrA* on *Shewanella oneidensis* MR-1

苏 畅

指导教师姓名: 卢英华 教授 吴意珣 副教授

企业导师姓名: 李专成 高级工程师

企业导师单位: 厦门嘉盟生物科技有限公司

专 业 名 称: 化学工程

论文提交日期: 2017 年 5 月

论文答辩时间: 2017 年 5 月

学位授予日期: 2017 年 5 月

答辩委员会主席:

评 阅 人:

2017 年 5 月

# 厦门大学学位论文原创性声明

本人呈交的学位论文是本人在导师指导下,独立完成的研究成果。本人在论文写作中参考其他个人或集体已经发表的研究成果,均在文中以适当方式明确标明,并符合法律规范和《厦门大学研究生学术活动规范(试行)》。

另外,该学位论文为( )课题(组)的研究成果,获得( )课题(组)经费或实验室的资助,在( )实验室完成。(请在以上括号内填写课题或课题组负责人或实验室名称,未有此项声明内容的,可以不作特别声明。)

声明人(签名):

年 月 日

# 厦门大学学位论文著作权使用声明

本人同意厦门大学根据《中华人民共和国学位条例暂行实施办法》等规定保留和使用此学位论文，并向主管部门或其指定机构送交学位论文（包括纸质版和电子版），允许学位论文进入厦门大学图书馆及其数据库被查阅、借阅。本人同意厦门大学将学位论文加入全国博士、硕士学位论文共建单位数据库进行检索，将学位论文的标题和摘要汇编出版，采用影印、缩印或者其它方式合理复制学位论文。

本学位论文属于：

（        ） 1. 经厦门大学保密委员会审查核定的保密学位论文，于     年   月   日解密，解密后适用上述授权。

（        ） 2. 不保密，适用上述授权。

（请在以上相应括号内打“√”或填上相应内容。保密学位论文应是已经厦门大学保密委员会审定过的学位论文，未经厦门大学保密委员会审定的学位论文均为公开学位论文。此声明栏不填写的，默认为公开学位论文，均适用上述授权。）

声明人（签名）：

年   月   日

## 摘要

希瓦氏菌在自然界中广泛分布,因其出色的异化金属还原能力与染料褪色能力而备受研究者关注。然而希瓦氏菌在基因水平的研究尚无较大进展,现阶段缺乏遗传操作工具,包含合适的质粒以及高效的基因敲除方式,使得希瓦氏菌在基因工程的研究上受到了极大的限制。

本研究探究了两个大肠杆菌与希瓦氏菌 (*E.coli-Shewanella*) 穿梭质粒 pETSXM2 与 pSB1C3-repB, 其在 *placI* 启动子驱动下具表达能力, 上述质粒于大肠杆菌 BL21 (DE3)以及希瓦氏菌 MR-1 中均能表达外源蛋白。重组构建于质粒 pETSXM2 以及 pSB1C3-repB 的外源基因为偶氮还原酶基因 *azoRI*, 其中在 pSB1C3-repB-*azoRI*/BL21 中活性最高, 对甲基红酶活达 18,366U/L, 重组偶氮还原酶在 MR-1 中也首次获得了活性。对重组偶氮还原酶的特征还包括对不同底物的测试显示其对多种偶氮染料有活性, 其中对甲基红染料活性最高, 甲基橙染料次之, 刚果红染料最低。

因细胞膜通道蛋白 *mtrA* 在希瓦氏菌的异化金属还原与染料褪色能力发挥了重要的作用, 本研究运用自杀质粒 pDS3.0 对希瓦氏菌 MR-1 中色素蛋白 *mtrA* 基因进行敲除。结果证明, 将 *mtrA* 基因敲除后, MR-1 的铁还原能力大幅下降, 以  $\text{FeCl}_3$  为底物的酶活由 6.5U/L 下降至 0.9U/L, 以柠檬酸铁为底物的酶活由 60.3 U/L 下降至 5.0U/L。基于上述结果, 证明色素蛋白 *mtrA* 在电子传递体系中扮演关键角色。

**关键词:** 希瓦氏菌; 表达质粒; 重组偶氮还原酶; 基因敲除;

## Abstract

Due to the widely distribution of *Shewanella* and its outstanding performance of ability in dissimilatory metal reduction and dye decoloration, *Shewanella* has been one of the popular research nowadays. However, the genetic research of genus *Shewanella* is still a mystery. The lack of genetic tool, such as vector and high efficient knock-out system is the limitation on molecular studies of *Shewanella*. Therefore, the suitable plasmids and genetic manipulating tool on *Shewanella* are urgent and required.

Two kind of *E.coli* – *Shewanella* shuttle plasmids, i.e., pETSXM2 and pSB1C3-repB were investigated in this study. We found that both plasmids were able to express in *E.coli* BL21 (DE3) and *Shewanella oneidensis* MR-1 under driven by promoter *lacI*. The recombinant *azoRI* (encoded as *AzrS*) could be over-expressed in plasmid pETSXM2 and pSB1C3-repB. The maximum yield of recombinant *AzrS* from pSB1C3-repB-*azoRI*/BL21 reached up to 18366.5U/L, against on methyl red as substrate. What's more, recombinant *AzrS* appeared enzyme activity in MR-1 for the first time. Besides, recombinant *AzrS* also showed activities of several substrates, with a rank of methyl red > methyl orange > congo red.

The *mtr* proteins on outer membrane of *Shewanella* are strictly important to itself, especially on dissimilatory metal reduction and dye decoloration. In this study, the gene of *mtrA* in MR-1 was knockout by the suicide plasmid of pDS3.0. After knockout of *mtrA* gene, the activity of ferric reductase using  $\text{FeCl}_3$  as substrate drop from 6.5U/L to 0.9U/L, while the activity using ferric citrate as substrate drop from 60.5U/L to 5.0U/L, respectively. According to the of ferric reductase results, we suggested that the *mtrA* is a key protein of electron transport chain in *Shewanella*.

**Key word:** *Shewanella*, expression plasmid, recombinant *AzrS*, knockout of gene

目录

<b>第一章 文献综述</b> .....	<b>1</b>
<b>1.1 希瓦氏菌简介</b> .....	<b>1</b>
1.1.1 希瓦氏菌的研究历史与分类.....	1
1.1.2 异化金属还原.....	2
1.1.3 mtr 电子传递体系.....	3
1.1.4 胞外电子传递与纳米导线.....	5
<b>1.2 偶氮染料褪色</b> .....	<b>7</b>
1.2.1 偶氮染料及其处理方式.....	7
1.2.2 微生物褪色及其机理.....	9
1.2.3 偶氮还原酶.....	10
<b>1.3 基因工程与基因敲除</b> .....	<b>11</b>
1.3.1 基因工程.....	11
1.3.2 质粒载体基本性质.....	13
1.3.3 基因敲除.....	15
<b>1.4 课题研究内容与意义</b> .....	<b>16</b>
<b>第二章 材料与amp;方法</b> .....	<b>18</b>
<b>2.1 实验材料</b> .....	<b>18</b>
2.1.1 化学药品及仪器.....	18
2.1.2 菌种来源、质粒及引物.....	18
2.1.3 培养基.....	20
2.1.4 溶液配制.....	21
<b>2.2 基因工程基本操作</b> .....	<b>23</b>
2.2.1 提取细菌基因组.....	23
2.2.2 提取质粒.....	24
2.2.3 DNA 纯化.....	25
2.2.4 聚合酶链式反应（PCR）.....	26
2.2.5 琼脂糖凝胶电泳.....	27
2.2.6 化学转化感受态细胞制备.....	27

2.2.7 化学转化.....	28
2.2.8 电转化感受态细胞的制备.....	28
2.2.9 电穿孔转化至希瓦氏菌.....	29
<b>2.3 质粒的重组构建.....</b>	<b>29</b>
2.3.1 Simple Cloning 法.....	29
<b>2.4 重组质粒的表达与表征.....</b>	<b>32</b>
2.5.1 重组菌的诱导培养与预处理.....	32
2.5.2 SDS-PAGE 蛋白分析.....	32
2.5.3 偶氮还原酶活性测定.....	33
<b>2.5 基因敲除.....</b>	<b>34</b>
2.5.1 自杀质粒 pDS3.0 的构建.....	34
2.5.2 基因敲除步骤.....	35
2.5.3 铁还原酶的酶活测定表征.....	36
<b>第三章 偶氮还原酶在奥纳达希瓦氏菌的重组表达.....</b>	<b>38</b>
<b>3.1 引言.....</b>	<b>38</b>
<b>3.2 结果与讨论.....</b>	<b>38</b>
3.2.1 表达质粒的重组构建.....	38
3.2.2 重组偶氮还原酶的表达分析.....	41
3.2.3 重组偶氮还原酶的酶活以及底物专一性分析.....	42
<b>3.3 本章小结.....</b>	<b>45</b>
<b>第四章 奥纳达希瓦氏菌中基因 mtrA 的敲除研究.....</b>	<b>46</b>
<b>4.1 引言.....</b>	<b>46</b>
<b>4.2 结果与讨论.....</b>	<b>46</b>
4.2.1 基因敲除原理.....	46
4.2.2 敲除载体 pDS3.0- $\Delta$ mtrA 的构建以及 mtrA 基因的敲除.....	48
4.2.3 铁还原酶活力表征 mtrA 基因敲除结果.....	51
4.2.4 敲除载体 pETSXM2- $\Delta$ mtrA-InsAB-SacB 的构建.....	51
<b>4.3 本章小结.....</b>	<b>54</b>
<b>第五章 总结与展望.....</b>	<b>55</b>

5.1 总结.....	55
5.2 展望.....	56
参考文献.....	57
附录.....	64
硕士阶段发表论文.....	68
致谢.....	69

厦门大学博硕士论文摘要库



Contents

<b>Chapter 1 Introduction.....</b>	<b>1</b>
<b>1.1 Introduction of <i>Shewanella</i> genus.....</b>	<b>1</b>
1.1.1 Research history and classification .....	1
1.1.2 Dissimilatory metal reduction .....	2
1.1.3 mtr Pathway.....	3
1.1.4 Extracellular electron transfer and nanowire.....	5
<b>1.2 Decolorization of azo dyes .....</b>	<b>7</b>
1.2.1 Introduction of azo dyes and wastewater treatment .....	7
1.2.2 Mechanism of microbial decolorization .....	9
1.2.3 Azoreductase .....	10
<b>1.3 Genetic engineering and gene knockout .....</b>	<b>11</b>
1.3.1 Genetic engineering.....	11
1.3.2 Nature of plasmid .....	13
1.3.3 Gene knockout.....	15
<b>1.4 Purpose and contents of this study .....</b>	<b>16</b>
<b>Chapter 2 Materials and methods .....</b>	<b>18</b>
<b>2.1 Experimental material and equipments.....</b>	<b>18</b>
2.1.1 Chemicals and instruments.....	18
2.1.2 Bacterial strains, plasmids and primers .....	18
2.1.3 Culture medium.....	20
2.1.4 Solution preparation .....	21
<b>2.2 Basic operation of genetic engineering.....</b>	<b>23</b>
2.2.1 Extraction of bacterial genomic DNA.....	23
2.2.2 Extraction of plasmid DNA.....	24
2.2.3 DNA purification.....	25
2.2.4 Polymerase chain reaction (PCR) .....	26
2.2.5 Agarose gel electrophoresis .....	27
2.2.6 Chemical competent cell preparation .....	27

2.2.7 Chemical transformation .....	28
2.2.8 Electroporation-competent cells preparation.....	28
2.2.9 Electrotransformation to <i>Shewanella</i> .....	29
<b>2.3 Construction of recombinant plasmid .....</b>	<b>29</b>
2.3.1 Simple Cloning.....	29
<b>2.4 Recombinant expression and characterization .....</b>	<b>32</b>
2.5.1 Induced cultivation and pre-treatment.....	332
2.5.2 Protein analysis of SDS .....	32
2.5.3 Enzymatic assay of Azoreductase .....	33
<b>2.5 Gene Knockout.....</b>	<b>34</b>
2.5.1 Construction of suicide plasmid .....	34
2.5.2 Process of gene knockout .....	35
2.5.3 Enzymatic assay of Fe-reductase .....	36
<b>Chapter 3 Recombinant expression of Azoreductase on <i>Shewanella oneidensis</i> MR-1.....</b>	<b>38</b>
<b>3.1 Introduction .....</b>	<b>38</b>
<b>3.2 Results and discussion .....</b>	<b>38</b>
3.2.1 Construction of recombinant plasmid .....	38
3.2.2 Analysis of recombinant azoreductase expression.....	41
3.2.3 Activity and substrate specificity of recombinant azoreductase .....	42
<b>3.3 Summary.....</b>	<b>45</b>
<b>Chapter 4 Gene knockout of mtrA on <i>Shewanella oneidensis</i> MR-1.....</b>	<b>46</b>
<b>4.1 Introduction .....</b>	<b>46</b>
<b>4.2 Results and discussion .....</b>	<b>46</b>
4.2.1 Principle of gene knockout.....	46
4.2.2 Construction of plasmid pDS3.0- $\Delta$ mtrA and knockout of gene mtrA .....	48
4.2.3 Characterization of knockout by enzymatic assay of Fe-reductase.....	51
4.2.4 Construction of plasmid pETSXM2- $\Delta$ mtrA-InsAB-SacB .....	51
<b>4.3 Summary.....</b>	<b>54</b>
<b>Chapter 5 Conclusion and Prospect .....</b>	<b>55</b>

<b>5.1 Conclusion.....</b>	<b>55</b>
<b>5.2 Prospect .....</b>	<b>56</b>
<b>Reference.....</b>	<b>57</b>
<b>Appendix.....</b>	<b>64</b>
<b>Publications.....</b>	<b>68</b>
<b>Acknowledgements.....</b>	<b>69</b>

厦门大学博硕士论文摘要库

# 第一章 文献综述

## 1.1 希瓦氏菌简介

### 1.1.1 希瓦氏菌的研究历史与分类

希瓦氏菌 (*Shewanella*) 是一类在自然环境中分布极为广泛的细菌, 属革兰氏阴性, 营兼性厌氧生活。对于希瓦氏菌属的研究有近一百年的历史, 希瓦氏菌最早由 Derby 与 Hammer 于 1931 年从腐败的黄油中分离得到, 当时分类上被划分为无色杆菌属 (*Achromobacter*), 并被命名为 *Achromobacter putrefaciens*<sup>[1]</sup>。1941 年, Long 与 Hammer 又根据其形态以及生理特征将无色腐败杆菌被归入假单胞菌属 (*Pseudomonas*), 并重新命名为 *Pseudomonas Putrefaciens*<sup>[2]</sup>。1977 年, Lee 等人根据其 G+C mol% 值处于低值, 将其归类至交替单胞菌属 (*Alteromonas*)<sup>[3]</sup>。直到 1985 年, MacDonell 和 Colwell 基于对 5S rRNA 测序分析, 对这类微生物进行重新分类, 独立出一个新的属, 该属以研究者 James Shewan 命名, 即命名为希瓦氏菌属 (*Shewanella*)<sup>[4]</sup>。1988 年, Myers 和 Nealson 等人于美国奥奈达湖 (Lake Oneida) 筛选得到一株希瓦氏菌属的金属锰离子还原细菌<sup>[5]</sup>, 根据其发现地, 命名为奥奈达希瓦氏菌 (*Shewanella oneidensis* MR-1), 命名中 MR 取自“Manganese Reducing”<sup>[6, 7]</sup>。奥奈达希瓦氏菌具有强大的异化金属还原能力, 使得其在能源、环境领域有着巨大的应用潜力, 同时也使研究领域开始重视希瓦氏菌的相关研究, 奥奈达希瓦氏菌也成为了希瓦氏菌研究中应用最广泛的模式菌株。2008 年, 奥奈达希瓦氏菌的基因组得到了完全解析, 这也是第一株基因组被完全鉴定的希瓦氏菌<sup>[8]</sup>。

目前已知的希瓦氏菌种类有 60 余种, 主要分布于各类水体环境以及水体沉积物之中, 少部分来自废水及其腐败食物中。对希瓦氏菌的分类, 在早期仅借助简单的形态学以及生理学表型进行鉴别, 例如希瓦氏菌的硫还原特性以及嗜盐性等。后来发展的另一类更加准确, 运用上也更加广泛的分类方法是依赖于 16S rDNA 的序列分析分类法。因为 16S rDNA 在分子结构与功能上高度保守, 同时在不同种之间 16S rDNA 序列又具有些许特异性, 因此 16S rDNA 具有生物学意义上进化时钟

的功能, 利用 16S rDNA 的序列分析可以快速分类与鉴别绝大部分微生物<sup>[9]</sup>。然而 16S rDNA 序列鉴别法也有其局限性, 由于 16S rDNA 序列较短、特异性区域较小, 有些相似菌种的种间差异小, 单独依靠 16SrDNA 序列分析法无法准确鉴定到种。希瓦氏菌属的细化分类与鉴别上通常可运用 *gyrB* 基因序列上的差异进行分析<sup>[10]</sup>。*gyrB* 基因编码 DNA 促旋酶中 B 亚单位蛋白, 其普遍存在于细菌的染色体上, 并且分类上属非蛋白编码基因, 碱基替换率较高, 可用于构建演化系统。*gyrB* 基因序列鉴别法同样用于弧菌属、绿脓杆菌属、不动杆菌属等的菌株鉴别<sup>[10, 11]</sup>。

2010 年, Zhang 等在厦门附近海域新发现了一株新的希瓦氏菌, 最初命名为 *Shewanella sp.* S4, 后经过 16S rRNA 和 *gyrB* 基因分析, 发现其与希瓦氏菌各菌中仅有 11.9-30.4% 的相似度, 表明这是希瓦氏菌一个全新的种, 后重新命名为厦门希瓦氏菌 (*Shewanella xiamenensis*)<sup>[12]</sup>。后来, Zong 等人发现该种的 *Shewanella xiamenensis* WCJ25 能够引起人的胰周感染, 这是厦门希瓦氏菌首个人感染病例, 其潜在致病性有待进一步探究<sup>[13]</sup>。本课题组从厦门白城海域筛选得到一株细菌, 具有偶氮染料褪色能力, 后据 16S rRNA 和 *gyrB* 基因分析发现其属厦门希瓦氏菌, 并命名为 *Shewanella xiamenensis* BC01<sup>[10]</sup>。

### 1.1.2 异化金属还原

异化金属还原 (Dissimilatory metal reduction) 指某些微生物以金属氧化物作为最终电子受体的呼吸过程。据地球化学和微生物学证据表明, 呼吸作用中最终电子传递给 Fe(III) 的呼吸类型, 可能是地球上生命进化过程中微生物最早的一种形式<sup>[14]</sup>。而诸如锰、铁等金属氧化物作为异化金属还原常见受体, 在自然界中含量丰富, 也是生命活动所必须的微量元素。微生物的异化金属还原过程, 客观上促进了多种金属元素在自然界的物质循环。迄今为止发现的希瓦氏菌属的细菌, 几乎都具有一定的异化金属还原的能力。例如, 腐败希瓦氏菌 (*Shewanella putrefaciens*)、海藻希瓦氏菌 (*Shewanella algae*) 以及奥奈达希瓦氏菌 (*Shewanella. oneidensis* MR-1) 等。希瓦氏菌异化金属还原的最终电子受体除了锰、铁金属元素氧化物外, 也包含亚硝酸盐、三价铁离子、TMAO、DMSO, 延胡索峻、硫代硫酸盐等<sup>[15, 16]</sup>。随着相关研究的深入, 某些希瓦氏菌甚至可以利用部分放射性核素比如钍

[U(VI)]<sup>[17]</sup>、镉<sup>[18]</sup>、镓<sup>[19]</sup>、铈<sup>[20]</sup>等作为最终电子受体。基于希瓦氏菌在异化金属还原方面突出的表现，运用希瓦氏菌在含重金属、放射性元素的环境修复中有着巨大的潜力。

### 1.1.3 mtr 电子传递体系

希瓦氏菌的异化金属还原能力、褪色能力的实现，都需依赖于自身电子传递体系的参与，该体系主要由细胞色素构成。细胞色素是细胞中参与电子传递的功能蛋白总称，在某些细胞色素缺陷的变异实验中，突变菌株的呼吸作用会受到抑制<sup>[15]</sup>。以希瓦氏菌属的模式菌株 *Shewanella oneidensis* MR-1 为例，其胞外电子传递示意图如图 1.1 所示<sup>[21]</sup>。电子传递复合体由数个 mtr 蛋白（包括 mtrA、mtrB 与 mtrC 三种）与 OmcA、CymA 共同组成，被称为 mtr 电子传递体系。胞内电子由内膜细胞色素 CymA 通过周质细胞色素 MtrA 和外膜蛋白 MtrB 传递至外膜处细胞色素 mtrC 与 OmcA，进一步传递给最终电子受体，进而完成整个还原作用。

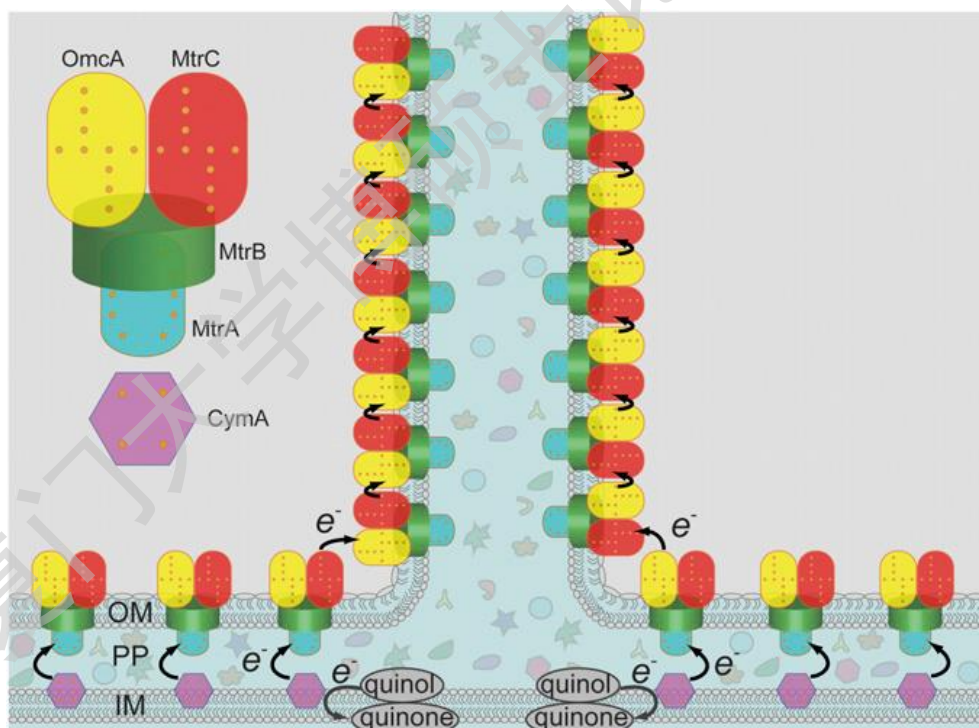


图 1.1 地杆菌以及希瓦氏菌纳米导线示意图及电子传递机理<sup>[22]</sup>

Figure 1.1 The structure of nanowire and electron transfer model for nanowires of *G. sulfurreducens* and *S. oneidensis*.

CymA 蛋白多分布于希瓦氏菌内膜以及膜间周质，是电子传递过程的第一个细

胞色素蛋白。CymA 蛋白结构的 N 端与细胞内膜相结合，C 端则游离于细胞周质。研究认为 CymA 蛋白将胞内代谢过程中产生的电子由胞内传递至细胞周质，并与甲酸盐、硝酸盐等代谢终产物偶联，起到了胞内电子跨膜运输至周质的作用<sup>[23-25]</sup>。若将 MR-1 菌株编码 CymA 蛋白的基因进行敲除，则 MR-1 对多种电子受体的利用效率下降，但电子传递在 MR-1 中保持低水平进行，说明电子传递过程中，CymA 蛋白具有重要的作用，但 MR-1 中同时还具有电子传递的代偿途径，缺乏 CymA 蛋白条件下，依旧能够维持一定强度的电子传递功能。

mtr 家族蛋白是希瓦氏菌电子传递体系的核心部分，这一家族的蛋白编码于一段四个基因的基因簇中，四个基因分别为 mtrA、mtrB、mtrC 与 OmcA，且均与铁、锰氧化物异化金属还原密切相关<sup>[26-31]</sup>。mtrA 蛋白处于细胞周质间，在电子传递过程中位于 CymA 蛋白下游，将作用在于将游离于周质空间的电子传递至外膜上的 mtr 通道。mtrA 蛋白在电子传递过程中同样有重要作用，对 mtrA 的抑制会使的希瓦氏菌对于柠檬酸铁以及 MnO<sub>2</sub> 的还原能力显著降低，但对于甲酸盐、硝酸盐以及硫代硫酸盐等底物的还原力却未受影响，暗示了 mtrA 蛋白与金属氧化物的异化还原过程关联较大<sup>[28]</sup>。

mtrB 有别于同一基因家族的另外三个蛋白，其分类上不属细胞色素 c，但在电子传递过程中同为重要枢纽环节<sup>[26, 27]</sup>。Beliaev 与 Saffarini 等通过 mtrB 的氨基酸序列，推测其在结构上为跨膜蛋白。另外，据 Myers 的研究，mtrB 蛋白的具体功能暂时不明确，但其具有辅助 mtrC 以及 OmcA 蛋白于外膜上正确定位并准确结锚定合的功能<sup>[32]</sup>。

mtrC 与 OmcA 分布在希瓦氏菌外膜上，两个蛋白结构上非常类似，均含有十个血红素<sup>[33, 34]</sup>。研究表明，无论抑制 MR-1 菌株中 mtrC 基因或 OmcA 基因的表达，都会降低菌株对金属锰氧化物的还原效率<sup>[28-30]</sup>。若 MR-1 过量表达 mtrC 蛋白，则能够极大提升还原效率，甚至由抑制 OmcA 基因产生的还原能力下降也能通过 mtrC 的过量表达进行弥补<sup>[35]</sup>。通常认为，mtrC 与 OmcA 蛋白的比例以 1:2 为宜，这一比例的蛋白结合状态下，还原能力较 mtrC 或 OmcA 蛋白单独作用的总和更高<sup>[36]</sup>。其原因可能在于细胞外膜上 mtrC 与 OmcA 蛋白以一定比例结合，形成了电子传递复合体，MR-1 通过该复合体高效地进行电子传递。然而 mtrC 与 OmcA 蛋白

分泌到膜外与形成复合体过程的过程与机理并未揭示，但研究通常认为该过程与希瓦氏菌的 II 型分泌系统 (Type II secretion system) 相关。II 型分泌系统组成上包括一系列 Gsp 蛋白，其中 GspF 蛋白的功能是在胞内组装拟鞭毛状复合物，辅助胞内分泌蛋白向外膜上的 GspD 蛋白移动，而 GspD 蛋白则辅助分泌蛋白进行跨膜运输，并在最终细胞外膜上形成复合体<sup>[37]</sup>。

希瓦氏菌的 mtr 电子传递系统不仅影响了对金属氧化物的异化还原，也影响了菌体表面的电子富集，进一步影响了产电、染料降解等功能的实现。以 mtr 蛋白家族为代表的细胞色素蛋白，大大促进了希瓦氏菌的电子传递的效率，也是未来研究的重要领域。

### 1.1.4 胞外电子传递与纳米导线

基于希瓦氏菌强大的 mtr 电子传递体系，希瓦氏菌属能够将电子从胞内传递至外膜细胞色素蛋白 mtrC 和 OmcA 处。但为完成异化金属还原或微生物产电过程，需要将胞外的电子进一步传递至外源金属氧化物或碳电极的表面，而这一过程电子的扩散又是遵循哪些机制？关于胞外电子传递的机制，目前发现了三种传递方式：直接接触机制、纳米导线机制、电子中介体机制（图 1.2）<sup>[37, 38]</sup>。

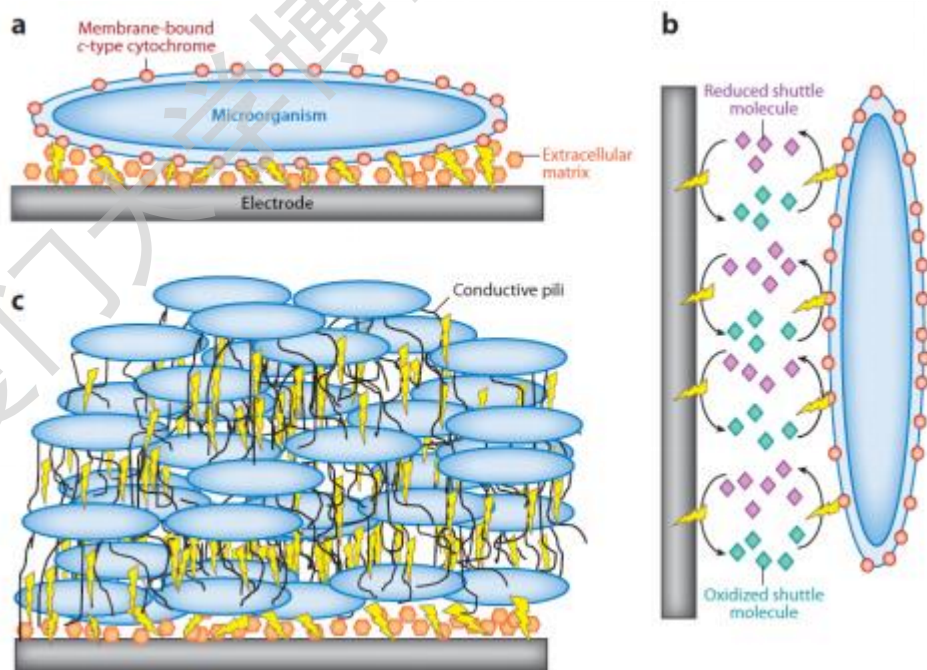


图 1.2 产电微生物的电子传递机制<sup>[38]</sup>

Figure 1.2 Models of electron transfer mechanism by electro-producing microbes



Degree papers are in the "[Xiamen University Electronic Theses and Dissertations Database](#)". Full texts are available in the following ways:

1. If your library is a CALIS member libraries, please log on <http://etd.calis.edu.cn/> and submit requests online, or consult the interlibrary loan department in your library.
2. For users of non-CALIS member libraries, please mail to [etd@xmu.edu.cn](mailto:etd@xmu.edu.cn) for delivery details.

廈門大學博碩士論文摘要庫