

微生物学报 *Acta Microbiologica Sinica*
54 (10) :1109 – 1115; 4 October 2014
ISSN 0001 – 6209; CN 11 – 1995/Q
http://journals.im.ac.cn/actamicrocn
doi: 10.13343/j.cnki.wsxb.2014.10.002

汞在微生物中的跨膜运输机制研究进展

杜红霞^{1,2}, Yasuo Igarashi^{1,2*}, 王定勇²

¹西南大学生物能源与环境修复研究中心, 重庆 400715

²西南大学资源环境学院, 重庆 400715

摘要: 甲基汞是一种强亲脂性、高神经毒性的有机汞化合物, 可以通过生物富集或生物放大造成人类甲基汞暴露。环境中甲基汞的产生主要是厌氧微生物所调控的无机汞的甲基化。主流观点认为厌氧微生物对汞的甲基化是一种细胞内反应, 因此, 甲基汞的产生速率不仅与环境中具有汞甲基化能力的厌氧微生物的存在与活性相关, 同时也与无机汞在微生物细胞中的跨膜运输过程有着重要联系。要明确无机汞经微生物甲基化的机制, 就必须了解无机汞被微生物细胞生物吸收的过程, 即无机汞在微生物中的跨膜运输路径。目前研究认为该过程主要有 Mer 抗汞操纵子转运体系、被动扩散、促进扩散和主动运输 4 种路径。本综述主要围绕无机汞被微生物细胞生物吸收的这 4 种路径展开, 将系统介绍科学界对这 4 种路径的最新研究进展, 并对相关研究进行展望, 指出无机汞经促进扩散或主动运输进入到微生物细胞内将是未来研究的重点。

关键词: 汞, 微生物, 甲基化, 跨膜运输

中图分类号: Q935 **文章编号:** 0001-6209 (2014) 10-1109-07

汞是环境中毒性极强的重金属元素之一, 有零价、正一价与正二价 3 种价态。虽然所有形态的汞皆具毒性, 但相较于无机汞, 有机汞毒性更高, 特别是甲基汞。甲基汞是一种强亲脂性、高神经毒性的有机汞化合物, 经食物链生物富集造成人类甲基汞暴露^[1]。20 世纪 50 年代, 日本发生的水俣病 (Minamata Disease) 事件使人们充分认识到甲基汞对人体和动物的毒害。因此, 对自然环境中汞甲基化的研究具有十分重要的意义。

自然环境中, 无机汞的甲基化主要有生物甲基化和非生物甲基化两种形式; 大量研究已经证明, 非

生物甲基化率较低, 在自然条件下甚至可以忽略, 甲基汞主要来自生物甲基化作用^[2]。甲基化微生物主要是水体及底泥中的一群厌氧微生物, 特别是 δ -变形菌纲的硫酸盐还原菌 (Sulfate reducing bacteria, SRB) 及铁还原菌 (Iron reducing bacteria, IRB), 它们具有甲基化的共同关键基因, 即美国橡树岭实验室 Parks 等最新发现并命名的 hgcAB 基因^[1]。

厌氧微生物对汞的生物甲基化, 大量研究都指向细胞内反应^[1,3-4], 这就意味着无机汞在甲基化之前如何进入微生物细胞内是极为关键的过程^[1,4-6]。该过程必然涉及到汞穿过细胞外膜、外周胞质、细胞

基金项目: 国家重点基础研究发展计划 (2013CB430004); 国家自然科学基金项目 (41103040); 中央高校基本科研业务费项目 (XDJK2014C104); 重庆市自然科学基金项目 (cstc2011jjA0390)

* 通信作者。Tel: +86-23-68250100; Fax: +86-23-68250444; E-mail: aigara@mail.ecc.u-tokyo.ac.jp; aigara@swu.edu.cn

作者简介: 杜红霞 (1980-), 女, 黑龙江牡丹江人, 环境微生物学博士研究生, 方向为厌氧微生物对汞的甲基化与去甲基化研究。E-mail: dhx13@163.com

收稿日期: 2013-12-24; 修回日期: 2014-02-23

内膜到达细胞质的全过程。那么,具有 *hgcAB* 基因的这群厌氧微生物,通过何种路径进入到微生物细胞内,并在细胞内发生生化反应合成了甲基汞? 本文将对国内外在汞生物吸收路径方面的研究进展进行综述,并对未来的研究重点提出展望,希望对开展汞的微生物甲基化机理方面的研究有所启迪。

1 汞生物吸收的路径

科学家经过研究认为, Hg^{2+} 首先进入外周胞质区,进入的方式可能是亲脂性 Hg^{2+} 经被动扩散穿过细胞外膜,或者是亲水性汞及其它汞化合物,如硫醇汞,经促进扩散穿过细胞外膜^[7]。 Hg^{2+} 穿过细胞内

膜的方式,目前公认的主要有 4 种^[7]: Mer 抗汞操纵子转运体系 (Mer-based transport system)、被动扩散 (Passive diffusion)、促进扩散 (Facilitated diffusion) 和主动运输 (Active transport) (图 1 A-D^[7])。

1.1 Mer 抗汞操纵子转运体系

Mer 抗汞操纵子转运体系是目前为止科学界对于汞与微生物之间的互动研究得最为彻底的机制。细菌对汞的抗性研究始于 20 世纪 60 年代。细菌对无机汞和有机汞化合物的抗性是细菌最广泛关注的表型之一。对所有生命体而言,汞并没有任何生化功能。长期处于汞毒害环境中的微生物已演化出一套独特的抗汞操纵子 (mer operon) 基因系统 (图 1 - A^[7])。

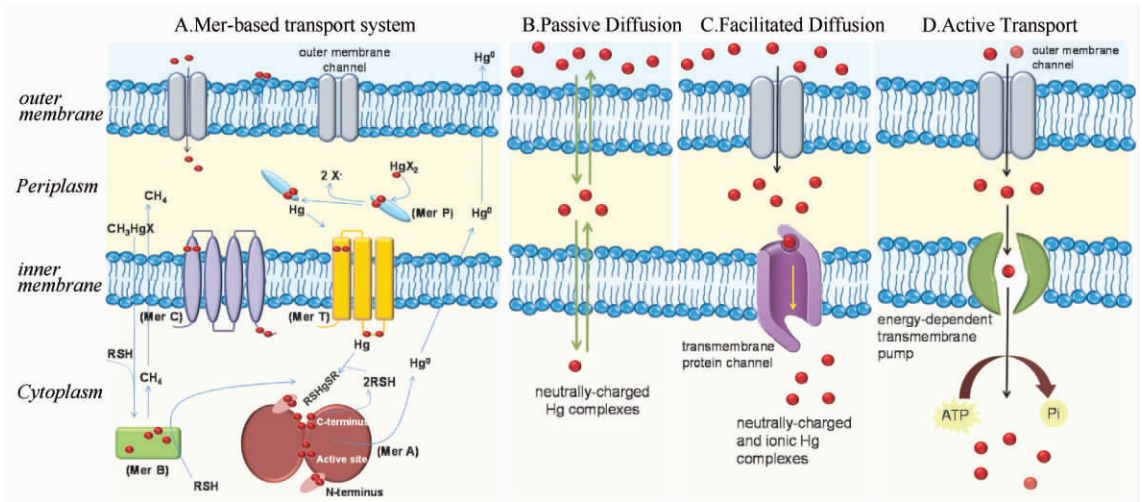
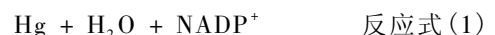


图 1. 无机汞穿过细胞膜进入细胞质的几种方式^[7]。A: Mer 抗汞操纵子转运体系; B: 被动扩散; C: 促进扩散; D: 主动运输

Figure 1. Possible pathways of inorganic Hg^{2+} entering into the cytoplasm of microbial cells^[7], A: mer-based transport system; B: passive diffusion; C: facilitated diffusion; D: active transport. Reprinted with permission from "Mechanisms Regulating Mercury Bioavailability for Methylating Microorganisms in the Aquatic Environment: A Critical Review". Copyright (2013) American Chemical Society.

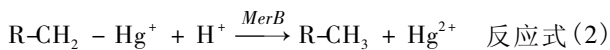
在 Mer 抗汞操纵子转运体系中, Hg^{2+} 的吸收由转运蛋白来调节,其中 Mer P、Mer C、Mer T 和 Mer A 转运蛋白发挥了重要作用。Mer P 编码的蛋白为二聚体,位于细胞周质;Mer T 编码的蛋白为三聚体,位于细胞膜内。Mer A 编码的汞还原酶位于细胞内,为蛋白二聚体。由图 1A 可知,Mer P 转运蛋白在外周胞质与 HgX_2 连接,将 Hg^{2+} 传递给 Mer T 转运蛋白,之后 Mer T 又将 Hg^{2+} 转移至 Mer A 转运蛋白,并在 Mer A 发生还原反应(反应式 1)。在这套诱发汞的去毒系统里,除了能将汞带入细胞内的 Mer T 与 Mer P 转运蛋白之外,最重要的成员是 Mer

A。由上可知,Mer A 是位于细胞质的二价汞还原酶,是一种主要的脱毒蛋白酶,可依靠 NADPH 为电子供体催化 Hg^{2+} 的还原,将毒性较高的离子态二价汞还原成毒性较低且挥发性高的零价元素汞;随后将元素汞自细胞内排出,挥发到大气中。



然而,对于 Mer 抗汞操纵子转运体系学说,科学家对此仍旧有很多的疑惑:(1)并不是所有具有汞甲基化能力的厌氧微生物的基因组都具有 Mer 序列^[8-9],并且,大多数分离出的具有汞甲基化能力的

厌氧菌为 G^- 菌^[2,10], 而该路径主要存在于 G^+ 菌中, 因此一定有其他路径。(2) 该体系并不存在于具有甲基化汞能力的硫酸盐还原菌及铁还原菌^[5, 11], 有关该体系的证据都是基于不具有汞甲基化能力的厌氧菌上。(3) Mer 抗汞操纵子家族还有一个参与有机汞降解的 Mer B 转运蛋白, 它可将有机汞 C-H 键打断, 降解为 Hg^{2+} ^[12] (反应式 2), Hg^{2+} 再经 Mer A 还原为元素汞 (反应式 1)。然而, 科学家对于硫酸盐还原菌或铁还原菌采用甲基化作为汞的去毒机制也持怀疑态度, 或者说找不到合理的理由来解释这种行为。因为对微生物来说, 甲基汞带来的毒性并不亚于无机汞^[13-14]。而且, 甲基汞中的汞仍属二价态汞, 所以多数科学家认为其依旧能与微生物体内的含硫物质如氨基酸等轻易键结, 而无法像元素汞那样迅速自细胞内扩散出去。因此, 微生物为什么要去做对自己本身无益的事情?



1.2 被动扩散

科学界对于汞的甲基化过程推定为非抗汞机制之后, 出现大量研究将该过程指向为被动扩散^[15-19]。所谓被动扩散, 指的是汞离子在浓度差或电位差的驱动下, 不需要任何特定转运介质或载体的协助而通过膜转运的一种形式, 该过程不需要能量 (图 1-B^[7])。

当前研究认为, 无机汞经被动扩散 (或促进扩散) 穿过细胞外膜进入细胞周质后, 再经被动扩散进入细胞质是汞在微生物细胞膜上最主要的传输机制; 也就是说, 主流观点认为: 不带电、分子量小、膜透性高的 Hg^{2+} 化合物, 如 $HgCl_2$ 、 $Hg(HS)_2$ 等, 特别是汞硫配合物, 经被动扩散进入到细菌细胞内的学说是最广为接受的无机汞之细胞膜传输机制^[17-23]。

如果被动扩散成立, 那么汞在胞外环境里的化学形态, 即汞的赋存形态及其化学稳定性, 是其生物可利用性的重要决定因素。汞是一种常温下呈液态的金属, 自然界天然存在的汞化合物是汞的硫化物, 如天然的硫化汞朱砂、黑辰砂。可见, 汞极易与含硫分子发生反应, 尤其是还原态硫, 并形成难溶性沉淀物或水溶性配合物。在模拟汞生物可利用性的模型中使用最多的就是假设厌氧水体中, 微生物主要经被动扩散吸收汞。这种情况下, 人们推测中性不带电荷的、小的、可溶解的 Hg^{2+} 化合物如 $Hg(HS)_2^0$ 、

$HgS_{(aq)}^0$ 能够被具有甲基化能力的厌氧微生物所吸收, 而 $HgHS^+$ 、 $HgHS_2^-$ 以及 $Hg-DOM$ 等形态汞则不能经被动扩散进入到细胞内 (图 2^[7])。在水体中可溶解的无机汞达到化学平衡态时, 各式各样的汞硫配合物是孔隙水中可溶解汞的主要形式^[24]。因此, 甲基汞的净产量与中性的汞硫配合物相关, 该结论最早是由 Benoit 等在 1999 年率先提出的^[20-21]。从微生物的角度来看, 细菌细胞膜的结构是脂质双分子层并镶嵌有多种蛋白质, 具有选择性渗透作用, 与细胞壁共同完成细胞内外的物质交换, 细胞膜上的多种酶可参与生物合成。细菌细胞膜内层是由两段疏水性或亲脂性极强的脂肪酸所组成。如果汞离子能够以被动扩散方式进入细菌体内, 此物质必须不带电, 如此才能溶于细胞膜, 该物质也必须是像 O_2 、 CO_2 、 H_2O 这样的小分子物质, 如此才能穿过细胞膜。从这个角度再次证明了不带电荷的小分子化合物 $HgS_{(aq)}^0$ 和 $Hg(HS)_2^0$ 较有可能穿过细胞内膜而进入细胞质并进行后续的生化反应。

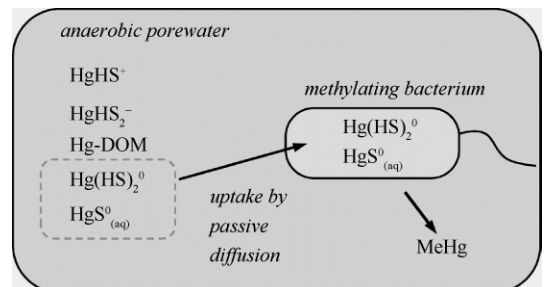


图 2. 汞生物可利用性模型假设小的、中性不带电荷的、可溶解汞硫配合物经被动扩散进入微生物细胞内^[7]

Figure 2. Bioavailability model postulates that only small, neutrally charged dissolved Hg-sulfide complexes can be taken up by methylating microorganisms through passive diffusion in anaerobic porewater. Reprinted with permission from "Mechanisms Regulating Mercury Bioavailability for Methylating Microorganisms in the Aquatic Environment: A Critical Review". Copyright (2013) American Chemical Society.

早期许多科学家的研究结果, 证明了汞主要经被动扩散被具有汞甲基化能力的厌氧微生物所利用的假设。淡水底泥实验得出, 硫化物在甲基汞的生成过程中发挥了重要作用^[15], 并进一步得出硫化物含量在 10 到 300 $\mu mol/L$ 时最为显著, 高于 300 $\mu mol/L$ 时汞甲基化速率与硫化物浓度或硫酸盐还原速率则成反比^[17]。Mason 等^[18] 1996 年研究了汞的形态、毒性及浮游植物对汞化合物的吸收, 结果发现

不带电荷的脂溶性氯化物经被动扩散进入浮游植物是其累积甲基汞及氯化汞的主要路径。也有学者通过化学热力学平衡模式及纯菌实验双重验证,证明了甲基汞生成速率与热力学平衡模式推算的 $\text{HgS}^0_{(\text{aq})}$ 浓度之间的确具有正相关性^[23,25], $\text{HgS}^0_{(\text{aq})}$ 是能够穿透硫酸盐还原菌细胞膜的最主要化合物^[26]。而且,纯菌实验已证明该机制仍适用于汞多元硫配合物^[27-29]。

虽然被动扩散基本确立了其主流地位,但因为对于某些现象仍无法解释,所以近年来也不断受到挑战。比如:(1)与 Mer 抗汞操纵子转运体系一样,被动扩散的证据目前也仅限于不能产生甲基汞的厌氧微生物中^[18,30-31]; (2)有关被动扩散的研究大多是基于模型。

1.3 促进扩散

近年来陆续有一些研究表明, Hg^{2+} 吸收是经由其他路径,如促进扩散或主动运输完成的^[32-33]。促进扩散指的是不带电荷的离子汞化合物经由跨膜蛋白泵进入到细胞质的过程,又称为促进运输 (Facilitated transport) 或促进吸收 (Facilitated uptake) (图 1-C^[7])。该路径与被动扩散相同的是,都是顺浓度或电化学浓度梯度,不消耗 ATP 进入膜内的一种运输方式。不同的是,促进扩散是非脂溶性汞化合物借助细胞膜上的膜蛋白完成的。

目前,有关促进扩散路径的研究相对较少。Schaefer 等^[5] (2009) 采用汞甲基化的模式菌株 *G. sulfurreducens* PCA 研究发现,甲基化效率会因为半胱氨酸存在而大幅提升,所形成的汞-半胱氨酸配合物在细胞膜上的传输却无法单纯以被动扩散做解释,而推测是以某种未知的促进扩散方式进行。

然而,目前有关促进扩散路径的研究仅仅是以铁还原菌为研究对象得出的推论,硫酸盐还原菌的促进扩散机理则更不明确。细胞膜上有究竟哪些膜蛋白参与了这一过程更不得而知。因此,有关促进扩散路径要做的工作还很多。

1.4 主动运输

主动运输指汞经过依赖能量的跨膜蛋白泵的主动转运,又称为主动吸收 (Active uptake) (图 1-D^[7])。早期科学家认为,主动运输的概率将微乎其微,主要是因为它属于耗能反应,科学家认为微生物一般只在可维持其生长代谢的必要分子(而不是汞)上消耗能量^[34]。

近 3 年来,有一些研究直接关注的是甲基化微生物细胞与 Hg^{2+} 的连接和生物吸收的机理^[4-5,35-36]。这些关于主动运输的研究主要集中在 Schaefer 与 Morel 的团队,该团队 2011 年采用汞甲基化的模式菌株 *G. sulfurreducens* PCA 及 *D. desulfuricans* ND132 研究发现,在有巯基官能团小分子存在时,甲基化微生物将采用主动运输方式将汞传输到胞内^[4]。同时,还发现 *G. sulfurreducens* PCA 吸收 Hg^{2+} 高度依赖于将 Hg^{2+} 与外部介质连接起来的巯基的特性,有些巯基会促进吸收和甲基化,有些则会抑制吸收和甲基化。最为重要的发现是,当让两株菌饥饿或是抑制这两株菌细胞的氢离子传递时,汞甲基化反应完全停止;当恢复能量供给后,这两株菌甲基化汞的能力也随之恢复。因此,得出 *G. sulfurreducens* PCA 及 *D. desulfuricans* ND132 采用主动运输方式将汞运送至细胞内的重要结论^[4]。同时,对微生物采用甲基化作为汞的去毒机制也给出了全新的解释,这两个模式菌株的实验均发现胞内生成的甲基汞输出到胞外的效率很高,得出 Hg^{2+} 吸收与甲基汞输出到胞外之间紧密的化学计量耦合可避免细胞内形成较高汞浓度的结论。因此认为汞甲基化并从胞内排出甲基汞可以成为降低 Hg^{2+} 毒性的一种方式^[4]。并将此情况类比于砷 (As) 的脱毒机制,As (V) 还原为毒性更强的 As (III) 与其排出胞外的过程紧密相连。

然而,主动运输路径也同样存在一些疑惑:(1)汞巯基化合物可以直接被微生物吸收的另外一种解释可能是巯基抑制了厌氧条件下 Hg^{2+} 对悬浮颗粒的吸收^[3,37-38]。(2)硫酸盐还原菌的主动运输机制则更加不清楚^[4,35]。有些研究表明硫酸盐还原菌的甲基化速率与微生物代谢相关^[4],但有些却表明二者不相关^[35]。(3)Schaefer 团队 2009 年的研究也发现,当系统内同时存在无机硫化物与带巯基官能团的小分子时,因为汞对硫化物的亲和力依旧大于这些小的有机分子,系统中的优势汞分子主要还是汞硫配合物,甲基化效率虽低但还是极为明显^[5]。这说明被动扩散在此状态下仍旧是无机汞最主要的细胞传输机制。因此,主动运输路径仍然需要进一步研究给出这些问题的答案。

2 展望

有关汞生物吸收的以上 4 种路径,对 Mer 抗汞

操纵子转运体系与被动扩散的研究开始早,数量多,但过程中都发现了阻碍其发展的瓶颈问题。比如,对于 Mer 抗汞操纵子转运体系来说,并不是所有具有汞甲基化能力的厌氧微生物的基因组都具有 Mer 序列,微生物为何会采用甲基化作为对抗汞毒性的机制?对于被动扩散机制来说,在甲基化微生物的遗传基础取得重大突破后,尚未有人采用具有 *hgcAB* 基因的汞甲基化模式菌株对被动扩散做进一步验证,现有的结果主要是基于模型。

对于近年来出现的促进扩散与主动运输,不断有研究指向这两种方式,虽然目前的研究仅限于个别研究团队,尚未得到大范围的验证,过程中也发现了不能单纯用促进扩散或主动运输来解释的情况,但是该 2 种路径必将是未来研究的重点。

有关汞的微生物甲基化的研究,目前,已经在汞甲基化微生物的遗传基础上取得重大突破。然而,对汞在细胞膜上的传输机制的研究,尚未取得重大进展。基于汞甲基化微生物的关键基因 *hgcAB*,很有必要对具有该基因的汞甲基化微生物吸收汞的路径做进一步验证。结果或许是几种生物吸收路径同时存在。如果是这样,则很有必要进一步分析甲基化微生物究竟在怎样的条件下采用其中的某种方式,又是在何种条件下采用另外一种方式?弄清汞在微生物细胞膜上的传输路径也将进一步推动细胞内 Hg^{2+} 形成甲基汞的生化反应的研究。

致谢:感谢杜克大学 Hsu-Kim 博士和美国化学学会 (ACS) 授权引用图 1 和 2;感谢西南大学生物能源与环境修复研究中心罗锋博士、代先祝博士和 Pedro Mannix 博士在资料收集提供的帮助以及在文章撰写分析中提供的建议。

参考文献

- [1] Parks JM, Johs A, Podar M, Bridou R, Hurt RA, Smith SD, Tomanicek SJ, Qian Y, Brown SD, Brandt CC, Palumbo AV, Smith JC, Wall JD, Elias DA, Liang L. The genetic basis for bacterial mercury methylation. *Science*, 2013, 339(6125):1332-1335.
 - [2] Raposo JC, Ozamiz G, Etxebarria N, Tueros I, Munoz C, Muela A, Arana I, Barcina I. Mercury biomethylation assessment in the estuary of Bilbao (North of Spain). *Environmental Pollution*, 2008, 156(2):482-488.
 - [3] Gilmour CC, Elias DA, Kucken AM, Brown SD, Palumbo AV, Schadt CW, Wall JD. Sulfate-reducing bacterium *Desulfovibrio desulfuricans* ND132 as a model for understanding bacterial mercury methylation. *Applied and Environmental Microbiology*, 2011, 77(12):3938-3951.
 - [4] Schaefer JK, Rocks SS, Zheng W, Liang L, Gu B, Morel FMM. Active transport, substrate specificity, and methylation of Hg(II) in anaerobic bacteria. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2011, 108(21):8714-8719.
 - [5] Schaefer JK, Morel FMM. High methylation rates of mercury bound to cysteine by *Geobacter sulfurreducens*. *Nature Geoscience*, 2009, 2(2):123-126.
 - [6] Bridou RMM, Gonzalez PR, Guyoneaud R, Amouroux D. Simultaneous determination of mercury methylation and demethylation capacities of various sulfate-reducing bacteria using species-specific isotopic tracers. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 2011, 30(2):337-344.
 - [7] Hsu-Kim H, Kucharzyk KH, Zhang T, Deshusses MA. Mechanisms regulating mercury bioavailability for methylating microorganisms in the aquatic environment: A critical review. *Environmental Science & Technology*, 2013, 47(6):2441-56.
 - [8] Barkay T, Miller SM, Summers AO. Bacterial mercury resistance from atoms to ecosystems. *FEMS Microbiological Reviews*, 2003, 27(2-3):355-384.
 - [9] Lin CC, Yee N, Barkay T. Microbial transformations in the mercury cycle. // Liu G L, Cai Y, Driscoll N O. Environment chemistry and toxicology of mercury. Hoboken, New Jersey, USA: John Wiley & Sons, Inc., 2012:55-191.
 - [10] Moberly JG, Miller CL, Brown SD, Biswas A, Brandt CC, Palumbo AV, Elias DA. Role of morphological growth state and gene expression in *Desulfovibrio africanus* strain Walvis Bay mercury methylation. *Environmental Science & Technology*, 2012, 46(9):4926-4932.
 - [11] Boening DW. Ecological effects, transport, and fate of mercury: a general review. *Chemosphere*, 2000, 40(12):1335-1351.
 - [12] Chen DD, Lin JQ, Liu XM, Lin YQ, Yan WM. Study and application of bacterial mercury-resistance mechanism and evolution. *Microbiology*, 2006, 33(5):126-133. (in Chinese)
- 陈丹丹,林建强,刘相梅,林建群,颜望明. 细菌抗汞分子机制与进化的研究及应用. 微生物学通报, 2006, 33

- (5) :126-133.
- [13] Ranchou-Peyruse M, Monperrus M, Bridou R, Duran R, Amouroux D, Salvado JC, Guyoneaud R. Overview of mercury methylation capacities among anaerobic bacteria including representatives of the sulphate-reducers: Implications for environmental studies. *Geomicrobiology Journal*, 2009, 26 (1) :1-8.
- [14] Robinson JB, Tuovinen OH. Mechanisms of microbial resistance and detoxification of mercury and organomercury compounds: physiological, biochemical, and genetic analyses. *Microbiological Reviews*, 1984, 48 (2) :95-124.
- [15] Gilmour CC, Henry EA, Mitchell R. Sulfate stimulation of mercury methylation in fresh-water sediments. *Environmental Science & Technology*, 1992, 26 (11) : 2281-2287.
- [16] Benoit JM, Gilmour CC, Mason RP, Riedel GS, Riedel GF. Behavior of mercury in the Patuxent River estuary. *Biogeochemistry*, 1998, 40 (2-3) :249-265.
- [17] Gilmour CC, Riedel GS, Ederington MC, Bell JT, Benoit JM, Gill GA, Stordal MC. Methylmercury concentrations and production rates across a trophic gradient in the northern Everglades. *Biogeochemistry*, 1998, 40 (2-3) : 327-345.
- [18] Mason RP, Reinfelder JR, Morel FMM. Uptake, toxicity, and trophic transfer of mercury in a coastal diatom. *Environmental Science & Technology*, 1996, 30 (6) :1835-1845.
- [19] Drott A, Lambertsson L, Björn E, Skjellberg U. Importance of dissolved neutral mercury sulfides for methyl mercury production in contaminated sediments. *Environmental Science & Technology*, 2007, 41 (7) : 2270-2276.
- [20] Benoit JM, Gilmour CC, Mason RP, Heyes A. Sulfide controls on mercury speciation and bioavailability to methylating bacteria in sediment pore waters. *Environmental Science & Technology*, 1999, 33 (6) :951-957.
- [21] Benoit JM, Mason RP, Gilmour CC. Estimation of mercury-sulfide speciation in sediment pore waters using octanol-water partitioning and implications for availability to methylating bacteria. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 1999, 18(10) :2138-2141.
- [22] Benoit JM, Gilmour CC, Mason RP. Aspects of bioavailability of mercury for methylation in pure cultures of *Desulfobulbus propionicus* (1pr3). *Applied and Environmental Microbiology*, 2001, 67 (1) :51-58.
- [23] Benoit JM, Gilmour CC, Mason RP. The influence of sulfide on solid phase mercury bioavailability for methylation by pure cultures of *Desulfobulbus propionicus* (1pr3). *Environmental Science & Technology*, 2001, 35 (1) :127-132.
- [24] Dyrssen D, Wedborg M. The sulfur-mercury (II) system in natural-waters. *Water Air Soil and Pollution*, 1991, 56:507-519.
- [25] Achá DV, Iñiguez V, Roulet M, Guimarães JRD, Luna R, Alanoca L, Sanchez S. Sulfate-reducing bacteria in floating macrophyte rhizospheres from an Amazonian floodplain lake in Bolivia and their association with Hg methylation. *Applied and Environmental Microbiology*, 2005, 71 (11) :7531-7535.
- [26] Abelson PH. Methyl mercury. *Science*, 1970, 169:237-241.
- [27] Jay JA, Morel FMM, Hemond HF. Mercury speciation in the presence of polysulfides. *Environmental Science & Technology*, 2000, 34(11) :2196-2200.
- [28] Jay JA, Murray KJ, Roberts AL, Mason RP, Gilmour CC, Morel FMM, Hemond HF. Mercury methylation by *Desulfovibrio desulfuricans* ND 132 in the presence of polysulfides. *Applied and Environmental Microbiology*, 2002, 68 (11) :5741-5745.
- [29] Morel FMM, Kraepiel AML, Amyot M. The chemical cycle and bioaccumulation of mercury. *Annual Reviews in Ecology and Systematics*, 1998, 29:543-566.
- [30] Barkay T, Gillman M, Turner RR. Effects of dissolved organic carbon and salinity on bioavailability of mercury. *Applied and Environmental Microbiology*, 1997, 63 (11) : 4267-4271.
- [31] Najera I, Lin CC, Kohbodi GA, Jay JA. Effect of chemical speciation on toxicity of mercury to *Escherichia coli* biofilms and planktonic cells. *Environmental Science & Technology*, 2005, 39 (9) : 3116-3120.
- [32] Eckley CS, Hintelmann H. Determination of mercury methylation potentials in the water column of lakes across Canada. *Science of the Total Environment*, 2006, 368 (1) :111-125.
- [33] Achá D, Hintelmann H, Yee J. Importance of sulfate reducing bacteria in mercury methylation and demethylation in periphyton from Bolivian Amazon region. *Chemosphere*, 2011, 82(6) :911-916.
- [34] Henry EA. The role of sulfate-reducing bacteria in environmental mercury methylation. Harvard University,

Cambridge, MA, 1992.

- [35] Graham AM, Bullock AL, Maizel AC, Elias DA, Gilmour CC. A detailed assessment of the kinetics of Hg-cell association, Hg methylation, and MeHg degradation in several *Desulfovibrio* species. *Applied and Environmental Microbiology*, 2012, 78 (20) :7337-7346.
- [36] Pedrero Z, Bridou R, Mounicou S, Guyoneaud R, Monperrus M, Amouroux D. Transformation, localization, and biomolecular binding of Hg species at subcellular level in methylating and nonmethylating sulfate-reducing bacteria. *Environmental Science & Technology*, 2012, 46

(21) :11744-11751.

- [37] Graham AM, Aiken GR, Gilmour CC. Dissolved organic matter enhances microbial mercury methylation under sulfidic conditions. *Environmental Science & Technology*, 2012, 46 (5) :2715-2723.
- [38] Zhang T, Kim B, Levard C, Reinsch BC, Lowry GV, Deshusses MA, Hsu-Kim H. Methylation of mercury by bacteria exposed to dissolved, nanoparticulate, and microparticulate mercuric sulfides. *Environmental Science & Technology*, 2012, 46 (13) :6950-6958.

Transmembrane transport of inorganic mercury in microorganisms – A review

Hongxia Du^{1,2}, Yasuo Igarashi^{1,2*}, Dingyong Wang²

¹Research Center of Bioenergy and Bioremediation, Southwest University, Chongqing 400715, China

²College of Resources and Environment, Southwest University, Chongqing 400715, China

Abstract: Methylmercury (CH_3Hg^+ , or MeHg) is the most poisonous form of mercury (Hg) because it can enter into human bodies through the consumption of Hg-contaminated fish and shellfish. A first step toward bioaccumulation of MeHg in aquatic foods is the methylation of inorganic mercury, a process that is predominantly mediated by anaerobic bacteria, such as sulfate reducing bacteria and iron reducing bacteria. Many researches have confirmed that microbial methylation of mercury is an intracellular reaction. Therefore, MeHg production rates are not only related to the presence and productivity of methylating bacteria and also the biouptake of Hg to these anaerobic bacteria. To understand the pathways of Hg biouptake is indispensable to elucidate the mechanisms of microbial methylation. In this review, we systematically evaluated the current state of knowledge regarding the four pathways of mercury biouptake, Mer-based transport system, passive diffusion, facilitated diffusion and active transport. In the future, facilitated diffusion and active transport of inorganic mercury to the cytoplasm of microbial cells should be emphasized.

Keywords: mercury, microorganisms, methylation, transmembrane transport

(本文责编: 张晓丽)

Supported by the National Key Basic Research Program of China (973 Program) (2013CB430004), by the National Natural Science Foundation of China (41103040), by the Fundamental Research Funds for the Central Universities (XDJK2014C104) and by the Natural Science Foundation of Chongqing city (No. cstc2011jjA20007)

* Corresponding author. Tel: +86-23-68250100; Fax: +86-23-68250444; E-mail: aigara@mail.ecc.u-tokyo.ac.jp; aigara@swu.edu.cn

Received: 24 December 2013 / Revised: 23 February 2014