

论著·基础研究

大肠埃希菌蛋白质组芯片对砷相互作用蛋白的检测分析

刘 殷¹, 杨丽娜², 张海南¹, 陶生策¹

1. 上海交通大学 系统生物医学研究院, 系统生物医学教育部重点实验室, 上海 200240; 2. 复旦大学 附属肿瘤医院中西医结合科, 上海 200032

[摘要] 目的·以大肠埃希菌作为模式生物, 全局性分析砷对大肠埃希菌的作用及生理途径的影响。**方法**·基于由4256个大肠埃希菌蛋白构建的蛋白质组芯片, 检测并验证三价砷化物与大肠埃希菌蛋白之间的相互作用。通过生物信息学对砷的相互作用蛋白的功能及相互作用网络进行分析。**结果**·发现了91个与砷有显著相互作用的蛋白。经过生物信息学分析发现这些蛋白涉及多种具有催化活性的酶类, 并且显著影响着大肠埃希菌的细胞合成及代谢途径。通过Western blotting验证了*malY*、*cfa*及*hypF*基因编码的蛋白与砷之间的结合, 进一步证实了蛋白质芯片的结果。**结论**·砷与大肠埃希菌的多种酶类有相互作用, 并对其生理代谢途径有显著影响。

[关键词] 砷; 蛋白质组芯片; 大肠埃希菌; 生理代谢

[DOI] 10.3969/j.issn.1674-8115.2017.05.003 [中图分类号] Q935 [文献标志码] A

Identification and analysis of arsenic interactors by *Escherichia coli* proteome microarrayLIU Yin¹, YANG Li-na², ZHANG Hai-nan¹, TAO Sheng-ce¹

1. Key Laboratory of Systems Biomedicine (Ministry of Education), Shanghai Center for Systems Biomedicine, Shanghai Jiao Tong University, Shanghai 200240, China;

2. Department of Integrative Oncology, Fudan University Shanghai Cancer Center, Shanghai 200032, China

[Abstract] **Objective**·To globally study the influence of arsenite to the various biological pathways of *Escherichia coli* as a model organism.

Methods·The protein-arsenite interactions was globally studied based on a proteome microarray constructed by 4256 affinity-purified *Escherichia coli* proteins. The functions of interacting proteins and their network were then analyzed by bioinformatics. **Results**·91 proteins that remarkably interact with arsenic were successfully identified. Bioinformatics analysis found that most of the proteins possess catalytic activity and are involved in various biosynthesis and cellular metabolism pathways. The interactions of arsenic with proteins encoded by *malY*, *cfa* and *hypF* genes were further validated by Western blotting, which proves the results of proteome microarray reliable. **Conclusion**·Arsenite interacts with a variety of enzymes of *Escherichia coli* and can greatly affect its biological metabolism.

[Key words] arsenic; proteome microarray; *Escherichia coli*; biological metabolism

砷是一种广泛分布于自然界的类金属, 也是环境中存在的主要致癌污染物之一^[1]。砷以无机盐及有机化合物的形式存在, 主要来自地质物质的循环^[2]。无机砷盐主要为五价砷酸盐及三价亚硝酸盐。有机砷化合物主要为甲基化的代谢物, 如一甲基胂酸 (monomethylarsonic acid, MMA)、二甲基次胂酸 (dimethylarsinic acid, DMA)、三甲基砷氧化物 (trimethylarsine oxide, TMAO) 等^[3]。砷通过多种途径释放到自然环境中, 比如含砷地质的自然风化、含砷除草剂及农业杀虫剂的使用、砷黄铁矿的开采及含砷煤矿的燃烧等^[4]。砷主要以无机形式存在于水中, 研究发现三价砷对人体的毒性比五价砷大60倍^[5]。许多国家如孟加拉、印度、中国和美国等都有地下水砷污染的问题^[6]。根据世界卫生组织的报道, 水中砷元素的安全含量应低于10 μg/L, 最高允

许含量不应超过50 μg/L^[3]。长期摄入砷会对损害人体健康, 并产生许多不良反应, 如高血压、皮肤损伤、黑变病、结膜炎、肢体坏死以及角化过度^[7-9]。不仅如此, 由砷引起的细胞内活性氧、氧化磷酸化作用及细胞内信号转导的变化会导致DNA损伤或致癌, 包括皮肤癌、肺癌、膀胱癌、肾癌和肝癌^[10-13]。然而, 砷对人的作用不全是负面的。研究发现砷有抑癌的功能, 比如无机砷盐三氧化二砷与全反式维甲酸的联合用药可以成功治疗急性早幼粒细胞白血病^[14]。另有基于人蛋白质组芯片的研究发现, 砷可以抑制己糖激酶2 (hexokinase 2, HK2) 在癌症细胞中的表达并促使癌症细胞凋亡^[15]。尽管如此, 人们对砷的毒理机制并不完全清楚。

蛋白质组芯片是一种理想的可实现高通量检测蛋白与蛋白相互作用的工具, 已被成功应用于多种研究中, 如生

[基金项目] 国家自然科学基金(31670831) (National Natural Science Foundation of China, 31670831)。

[作者简介] 刘 殷(1992—), 女, 硕士生; 电子信箱: yinliu_lynn@outlook.com。

[通信作者] 陶生策, 电子信箱: taosc@sjtu.edu.cn。



物标志物的发现、蛋白翻译后修饰及酶底物检测等^[16]。为了更好地研究砷的毒理机制及其影响的生理途径,本研究以大肠埃希菌为模式生物,运用合成的带生物素标签且具有氧化砷结构的对氨基苯氧化砷(Ⅲ)(*p*-aminophenylarsine oxide, PAPAO),研究由4256个蛋白构建的大肠埃希菌蛋白质组芯片与PAPAO的相互作用,发现与砷结合的靶标蛋白,通过生物信息分析靶标蛋白的功能和参与的细胞通路。

1 材料与方法

1.1 材料

AG1大肠埃希菌克隆库来自ASKA库(购于美国Agilent,货号200274),所有表达蛋白构建于pCA24N载体(来自ASKA库);纯化蛋白用的镍珠(Ni-NTA Super Flow)购于QIAGEN(德国);ZebaTM脱盐离心柱(截留相对分子质量7000)、PieceTMBCA蛋白浓度测定试剂盒购于Thermo Scientific(美国);Western blotting及芯片检测使用的anti-6xHis抗体购于上海艾比玛特生物医药有限公司(中国),IRDyeH 800CW Donkey anti-mouse抗体购于LI-COR Bioscience(美国),Cy3标记的链霉素亲和(Cy3-SA)抗体购于Invitrogen(美国);硝酸纤维素膜购于Merck Millipore(美国);二巯基丙醇(2,3-dimercapto-1-propanol,BAL)购于Tokyo Chemical Industry(日本);PAPAO由上海交通大学系统生物医学研究院陈竺教授实验室赠送;其他化学试剂均购于Sigma-Aldrich(美国)。点制大肠埃希菌蛋白质组芯片用的FASTTM基片购于Whatman(英国);点制芯片的SmartArrayerTM48微阵列芯片点样系统及芯片洗干仪(SlideWasherTM8)购于北京博奥生物有限公司(中国);用于芯片结果扫描及处理的软件GenePix Pro 6.0及芯片扫描仪GenePix 4200A购于Axon Instruments(美国);高压细胞破碎仪UH06购于上海永联生物科技有限公司(中国)。

1.2 方法

1.2.1 大肠埃希菌蛋白的纯化 挑取目的菌于LB培养基中,37℃培养。用600 nm波长处的光密度D(600 nm)监测细菌的密度,当D(600 nm)达0.8时停止培养。以1 mmol/L异丙基硫代半乳糖苷(isopropyl-β-D-thiogalactopyranoside,IPTG)诱导4 h后离心收菌,并用磷酸缓冲液清洗。将大肠埃希菌用高压细胞破碎仪裂解后,收集上清与Ni-NTA珠混合,于垂直摇床4℃孵育2 h。收集Ni-NTA珠并清洗3次,去除杂蛋白后,用洗脱液洗脱捕获蛋白并收集洗脱液。用BCA蛋白浓度测定试剂盒检测蛋白浓度并银染定量。

1.2.2 用生物素标记的砷盐作为探针检测大肠埃希菌蛋白质组芯片 蛋白质组芯片用TBST封闭液[1%牛血清白蛋白(BSA),0.1%聚氧乙烯失水山梨醇月桂酸(Tween 20,pH=8.0)]于摇床上室温封闭1 h。将生物素标记的砷于封闭液中稀释至10 μmol/L,与蛋白质组芯片室温孵育1 h。反应结束后,用TBST将蛋白质组芯片洗3次,每次5 min;然后用Cy3标记的链霉素亲和素抗体以1:1 000浓度稀释,室温孵育1 h;再用TBST洗3次,每次5 min。将蛋白质组芯片以250×g离心3 min甩干。用GenePix芯片扫描仪和软件扫描分析结果。

1.2.3 蛋白质组芯片结果处理 根据芯片扫描所得信噪比(前景信号中值与背景信号中值的比值,SNR),将与生物素化的砷反应的蛋白点的信噪比定义为SNR(+),将单纯与生物素反应的蛋白点的信噪比定义为SNR(-)。芯片上每个样本有2个重复点,取2个重复点的平均SNR值。另一个指标为SNR(+)与SNR(-)的比值(Ratio)。为了得到有代表性的相互作用蛋白,截取SNR(+)、Ratio>2.5且P<0.01的蛋白进行后续分析。

1.2.4 生物信息学分析蛋白质组芯片结果 对软件分析得到的与砷相互作用的蛋白进一步进行生物信息学分析。用PANTHER(protein analysis through evolutionary relationships)分析蛋白功能并进行分类^[17]。通过网络程序DAVID(database for annotation, visualization and integrated discovery)Bioinformatics Resources v6.8和GO(gene ontology consortium)^[18],对显著富集的蛋白(P<0.05)进行生物学过程、细胞功能及信号通路分析。通过STRING(search tool for the retrieval of interacting genes/proteins)分析得到目的蛋白在大肠埃希菌蛋白质组中的相互作用网络图^[19]。

1.2.5 Western blotting验证砷与目的蛋白的相互作用 将大肠埃希菌目的蛋白(50 μg/mL)纯化后,以HK2-His(600 μg/mL)作为阳性对照,分别与终浓度为10 μmol/L的PAPAO在磷酸缓冲液中于室温反应1 h。阴性对照组的目的蛋白浓度一致,加入终浓度为10 mmol/L BAL(PAPAO竞争结合剂)。反应结束后,电泳并转硝酸纤维素膜,用IRDye 800CW-链霉素亲和素抗体以1:1 000于室温孵育1 h后,用TBST缓冲液洗3次,每次5 min。用LI-COR Odyssey红外激光扫描仪及软件Odyssey v3.0.21(LI-COR Bioscience)进行扫描并处理结果。

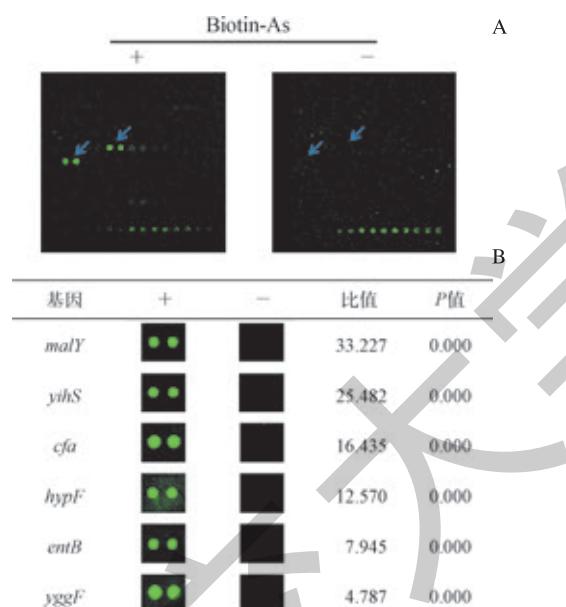
2 结果

2.1 用大肠埃希菌蛋白质组芯片检测与砷相互作用的蛋白

基于由4256个亲和纯化的大肠埃希菌蛋白构成的蛋



白质组芯片, 可以全局性地检测并分析与生物素化的砷相互作用的靶标蛋白。在生物素化的砷与蛋白质组芯片反应后, 用 Cy3 标记的链霉亲和素抗体检测与生物素化的砷结合的蛋白, 阴性对照为单纯生物素与芯片反应。按照比值的大小选取 6 个阳性基因进行展示, 其与生物素化的砷结合的阳性点如图 1 所示。根据处理结果, 与砷有明显相互作用且比值高于 2.5 的蛋白共有 91 个, 其中与砷相互作用较强的 10 个蛋白如表 1 所示, 其主要参与糖类及脂质的代谢。其中 MalY 蛋白与砷的相互作用最强, 比值高达 33.23 ($P=0.000$), 表明相互作用显著 (图 1)。



注: A. 芯片上的一个方格的扫描信号, 箭头所示为 2 个蛋白的阳性点和阴性点的位置; B. 芯片检测结果中与生物素化的砷相互作用的典型蛋白。Biotin-As 为生物素化的砷, + 表示加入试剂, - 表示未加入试剂。

图 1 大肠埃希菌蛋白质组芯片与生物素化的砷相互作用

Fig 1 Interaction of *Escherichia coli* proteome microarray with biotinylated arsenic

表 1 大肠埃希菌蛋白质组芯片与砷相互作用较强的 10 个蛋白

Tab 1 List of top 10 interacting proteins identified by *Escherichia coli* proteome microarray

UniProt 编号	基因	UniProt 数据库中已知的 蛋白功能	SNR (+)	比值
P23256	malY	β-胱硫醚裂解酶, 甲硫氨酸合 成, 转录调控	33.541	33.227
P32140	yihS	硫代异鼠李糖异构酶	25.482	25.482
P0A9H7	cfa	甲基转移酶, 脂质合成	17.039	16.435
P30131	hypF	氨基酰基转移酶	12.414	12.507
POACD2	wcaF	黏多糖生物合成	11.950	11.709
P37759	rfbB	脂多糖 O 抗原合成, 脱氧胸苷 二磷酸-L-鼠李糖生物合成	10.767	10.470
P77364	ybbZ	降解甘醇酸酯	9.954	9.445
P37146	nrdF	催化生物合成	9.665	9.071
P0A991	dhnA	果糖二磷酸醛缩酶活性; 参与 糖酵解途径	9.165	8.786
P69451	fadD	脂肪酸生物合成, 脂质代谢	8.754	8.587

2.2 Western blotting 验证砷与目的蛋白的相互作用

为了进一步验证蛋白质芯片的发现, 用 Western blotting 检测了生物素化的砷与靶标蛋白之间的相互结合作用。根据蛋白质芯片检测结果, 由比值大小选取相互作用较强的 3 个蛋白 (MalY、CFA、HypF) 进行相互作用验证。HK2 蛋白作为阳性对照, 在癌症细胞中表达上调且为糖酵解途径中重要的限速酶, 与砷有着很强的结合作用^[16]; BAL 是砷的竞争结合剂, 作为阴性对照。Western blotting 结果显示, MalY、CFA、HypF 和 HK2 与砷之间均存在着相互结合作用, 证实了大肠埃希菌蛋白质组芯片的结果 (图 2)。

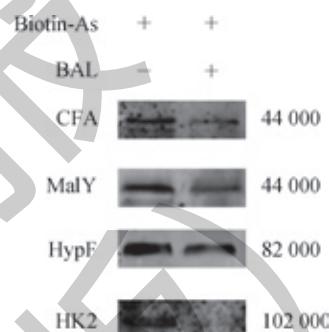


图 2 Western blotting 验证砷与目的蛋白之间的相互作用

Fig 2 Verification of biotinylated arsenic binding with target proteins by Western blotting

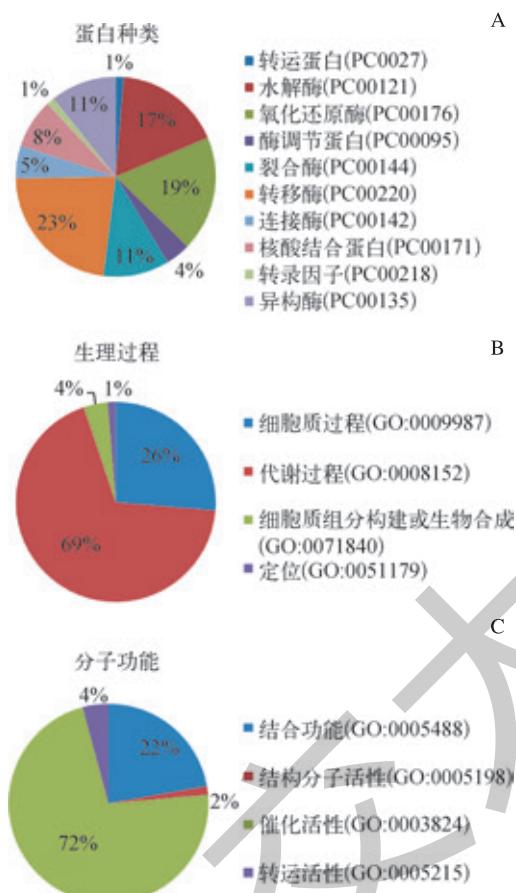
2.3 生物信息学分析与砷相互作用的蛋白并分类

为了更好地了解这些与砷相互作用的蛋白的功能及参与的生理途径, 通过在线分析工具 PANTHER, 将比值高于 2.5 的 91 个蛋白进行分类及分析。这些蛋白可被分为 10 种不同的蛋白类型 (图 3)。蛋白数量较多的 5 类为转移酶 (23%)、氧化还原酶 (19%)、水解酶 (17%)、异构酶 (11%) 和裂解酶 (11%)。根据对蛋白生理过程的分析, 这些蛋白主要分为 4 类, 分别与代谢过程 (69%)、细胞过程 (26%)、细胞组分的构建与合成 (4%) 和细胞定位 (1%) 相关。这些蛋白按照分子功能的不同可被分为 4 种类型, 分别发挥着不同功能。大部分蛋白具有催化功能 (72%), 有的蛋白具有结合功能 (22%)、转运活性 (4%) 及结构分子活性 (2%)。由此可见, 砷对大肠埃希菌的蛋白作用主要集中于酶类, 具有不同生理催化功能, 显著影响其细胞代谢及细胞进程。

由于 PANTHER 分析仅对蛋白进行了简单分类, 而 GO 分析可以进一步确定每种蛋白的富集程度, 有助于更好地对靶标蛋白进行功能和生理途径分析。我们通过 GO-DAVID 分析了这些蛋白参与的生理过程及分子功能 (图 4), 并检测了蛋白富集程度和影响的显著性, 以此更好地分析了砷对大肠埃希菌的生理影响。除去未能成功

归类的蛋白，其他蛋白按照不同的生理途径被分为 11 种 ($P<0.05$)。根据分析结果可见，蛋白富集程度较大的 4 种生理途径都集中属于代谢方面，有细胞代谢 ($P=0.000$)、代谢过程 ($P=0.000$)、有机物质的代谢过程 ($P=0.000$)、细胞过程 ($P=0.001$)。另外，通过对分子功能的分析发

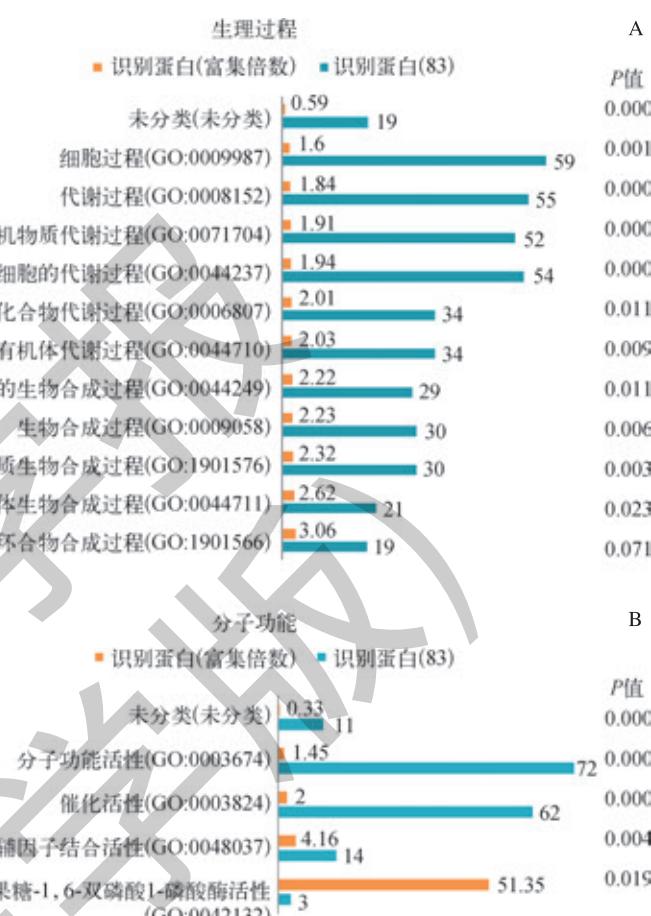
现，这些蛋白主要富集于 4 种不同的功能活性，主要具有催化活性 ($P=0.000$)、分子功能 ($P=0.000$)、辅助因子结合功能 ($P=0.004$) 及果糖-1,6-双磷酸 1-磷酸酶活性 ($P=0.019$)。由此可见，砷对大肠埃希菌的作用蛋白主要发挥催化活性，显著影响着其生理及细胞代谢过程。



注：A. 蛋白分类；B. 生化过程；C. 分子功能。

Fig 3 PANTHER analysis of the interacting proteins with ratio over 2.5

为了充分了解 91 个与砷相互作用的蛋白之间的联系，我们通过 STRING 分析，进一步验证之前的 PANTHER 和 GO 分析。发现这些蛋白之间也存在着相互联系（图 5）。将与砷作用最强的 MalY 蛋白的作用网络放大，可见其与 MetL 蛋白有着相互作用，并且 MetL 与 GlpX、FBPase class 1 (*fbp* 基因编码, Fbp) 和 YggF 之间有着相互作用。根据 PANTHER 和 GO 分析可知 *glpX*、*fbp* 和 *yggF* 基因编码的蛋白都具有果糖-1,6-双磷酸 1-磷酸酶活性，影响着糖质新生及碳水化合物的合成。通过 STRING 的蛋白与蛋白相互作用网络图也证实了这类蛋白之间的联系，验证了之前分析结果的可靠性。



注：A. 生理过程；B. 分子功能。

Fig 4 GO-DAVID analysis of the interacting proteins with ratio over 2.5

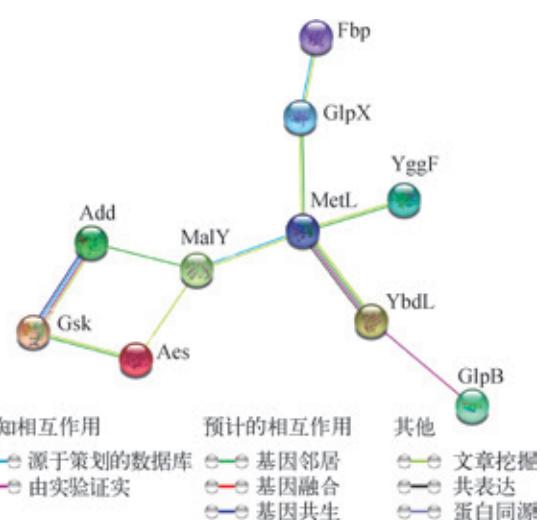


图 5 STRING 分析比值高于 2.5 的蛋白与 MalY 蛋白的作用网络

Fig 5 STRING analysis of the interacting proteins with ratio over 2.5 and their network with MalY



3 讨论

本研究中, 基于由 4 256 个大肠埃希菌蛋白构成的蛋白质组芯片, 全局性地检测了砷与大肠埃希菌蛋白之间的相互作用并发现了 91 个具有明显结合的蛋白(比值 >2.5), 通过生物信息学的分析进一步阐述了砷对其生理途径的影响及作用途径。

根据生物信息学对相互作用蛋白功能的分析, 发现与砷作用较强的 10 个蛋白与糖类和脂质代谢相关。不仅如此, 与砷作用的蛋白多为酶类, 其中 72% 相互作用蛋白具有催化功能, 22% 具有结合功能。根据生理过程分析发现砷显著影响着大肠埃希菌的细胞代谢途径, 如糖类及脂质代谢。通过蛋白网络图分析可知与砷作用最强的 *MalY* 蛋白与 *MetL* 蛋白相互作用, 它们都与甲硫氨酸和其他氨基酸(如苏氨酸)的合成相关^[20-21]。另外, 它们还与 3 个参与糖

质新生的蛋白(包含于 91 个靶标蛋白中)有相互联系, 预示着 *MalY* 及 *MetL* 不仅能影响氨基酸合成, 也能影响碳水化合物的代谢, 从而对大肠埃希菌的生理状态产生影响。

早前研究^[22]已发现大肠埃希菌进化有抗砷能力, 其抗砷机制由染色体的操纵子 *arsRBC* 影响, 且依赖于谷胱甘肽或谷胱甘肽的作用。*arsRBC* 由 *arsR*、*arsB* 和 *arsC* 3 个顺反子构成。*arsR* 编码砷诱导的抑制子 *ArsR*, 可调控 *ArsB* 及 *ArsC* 的表达。*ArsB* 是一个细胞膜上的转运蛋白, 主要负责将三价砷排出细胞外。*ArsC* 是一个砷还原酶, 可将五价砷还原为三价砷, 随后三价砷离子由 *ArsB* 转运蛋白排出体外而达到抗砷的作用^[22-23]。已有研究将大肠埃希菌的抗砷机制运用于对环境砷污染的治理中^[24]。人的肠道环境中存在大量的大肠埃希菌, 进一步研究砷对其生理的作用, 有可能帮助我们将来更好地利用大肠埃希菌对砷的解毒功能。

参·考·文·献

- [1] Singh S, Mulchandani A, Chen W. Highly selective and rapid arsenic removal by metabolically engineered *Escherichia coli* cells expressing *Fucus vesiculosus* metallothionein[J]. *Appl Environ Microbiol*, 2008, 74(9): 2924-2927.
- [2] Su YJ, Lin JQ, Lin JQ, et al. Bioaccumulation of arsenic in recombinant *Escherichia coli* expressing human metallothionein[J]. *Biotechnol Bioproc E*, 2009, 14(5): 565-570.
- [3] Basu A, Mahata J, Gupta S, et al. Genetic toxicology of a paradoxical human carcinogen, arsenic: a review[J]. *Mutat Res Rev Mutat Res*, 2001, 488(2): 171-194.
- [4] Streckopytov S, Brownscombe W, Lapine C, et al. Arsenic and mercury in bird feathers: identification and quantification of inorganic pesticide residues in natural history collections using multiple analytical and imaging techniques[J]. *Microchem J*, 2017, 130: 301-309.
- [5] Madhukar M, Murthy BMS, Udayashankara TH. Sources of arsenic in groundwater and its health significance: a review[J]. *Nat Environ Pollut Technol*, 2016, 15(3): 971-979.
- [6] Yang T, Liu JW, Gu C, et al. Expression of arsenic regulatory protein in *Escherichia coli* for selective accumulation of methylated arsenic species[J]. *ACS Appl Mater Inter*, 2013, 5(7): 2767-2772.
- [7] Nong Q, Zhang Y, Guallar E, et al. Arsenic exposure and predicted 10-year atherosclerotic cardiovascular risk using the pooled cohort equations in U.S. hypertensive adults[J]. *Int J Environ Res Publ Health*, 2016, 13(11): 1093-1100.
- [8] Naujokas MF, Anderson B, Ahsan H, et al. The broad scope of health effects from chronic arsenic exposure: update on a worldwide public health problem[J]. *Environ Health Persp*, 2013, 121(3): 295-302.
- [9] Hausauer AK, Hoffmann R, Terushkin V, et al. Acral keratoses and squamous-cell carcinomas likely associated with arsenic exposure[J]. *Dermatol Online J*, 2016, 22(12): 30-32.
- [10] Bandyopadhyay A. Role of oxidative stress in arsenic (Ⅲ) induced genotoxicity in cells of meristematic tissue of *Allium cepa*: an in vivo study[J]. *Mater Today Proc*, 2016, 3(10): 3194-3199.
- [11] Chen H, Lee LS, Li G, et al. Upregulation of glycolysis and oxidative phosphorylation in benzo[β]pyrene and arsenic-induced rat lung epithelial transformed cells[J]. *Oncotarget*, 2016, 7(26): 40674-40689.
- [12] Kryeziu K, Pirker C, Englinger B, et al. Chronic arsenic trioxide exposure leads to enhanced aggressiveness via Met oncogene addiction in cancer cells[J]. *Oncotarget*, 2016, 7(19): 27379-27393.
- [13] Prakash C, Soni M, Kumar V. Biochemical and molecular alterations following arsenic-induced oxidative stress and mitochondrial dysfunction in rat brain[J]. *Biol Trace Elem Res*, 2015, 167(1): 121-129.
- [14] Shen Y, Fu YK, Zhu YM, et al. Mutations of epigenetic modifier genes as a poor prognostic factor in acute promyelocytic leukemia under treatment with all-trans retinoic acid and arsenic trioxide[J]. *EBioMedicine*, 2015, 2(6): 563-571.
- [15] Zhang HN, Yang LN, Ling JY, et al. Systematic identification of arsenic-binding proteins reveals that hexokinase-2 is inhibited by arsenic[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2015, 112(49): 15084-15089.
- [16] Tao SC, Chen CS, Zhu H. Applications of protein microarray technology[J]. *Comb Chem High T Scr*, 2007, 10(8): 706-718.
- [17] Mi H, Muruganujan A, Thomas PD. PANTHER in 2013: modeling the evolution of gene function, and other gene attributes, in the context of phylogenetic trees[J]. *Nucleic Acids Res*, 2013, 41(Database issue): D377-D386.
- [18] The Gene Ontology Consortium. Gene Ontology Consortium: going forward[J]. *Nucleic Acids Res*, 2015, 43(D1): 1049-1056.
- [19] Szklarczyk D, Franceschini A, Kuhn M, et al. The STRING database in 2011: functional interaction networks of proteins, globally integrated and scored[J]. *Nucleic Acids Res*, 2011, 39(suppl_1): 561-568.
- [20] Li H, Wang BS, Li YR, et al. Metabolic engineering of *Escherichia coli* W3110 for the production of L-methionine[J]. *J Ind Microbiol Biot*, 2017, 44(1): 75-88.
- [21] Lee KH, Park JH, Kim TY, et al. Systems metabolic engineering of *Escherichia coli* for L-threonine production[J]. *Mol Syst Biol*, 2007, 3(1): 149-157.
- [22] Chrysostomou C, Quandt EM, Marshall NM, et al. An alternate pathway of arsenate resistance in *E.coli* mediated by the glutathione S-transferase GstB[J]. *ACS Chem Biol*, 2015, 10(3): 875-882.
- [23] Diorio C, Cai J, Marmor J, et al. An *Escherichia coli* chromosomal ars operon homolog is functional in arsenic detoxification and is conserved in gram-negative bacteria[J]. *J Bacteriol*, 1995, 177(8): 2050-2056.
- [24] Singh N, Gupta S, Marwa N, et al. Arsenic mediated modifications in *Bacillus aryabhatai* and their biotechnological applications for arsenic bioremediation[J]. *Chemosphere*, 2016, 164: 524-534.

[收稿日期] 2017-01-11

[本文编辑] 崔黎明

