无脊椎动物金属硫蛋白(MTs)多样性 及其生态服务功能*

叶属峰 陆健健

(华东师范大学河口海岸国家重点实验室, 上海 200062)

摘要 金属硫蛋白(MTs)是一类低分子量、半胱氨酸含量异常丰富的金属结合多肽,自从20世纪70年代中期发现海洋无脊椎动物MTs以来,MTs已被证明广泛存在于无脊椎动物的各个类群之中。无脊椎动物物种间的金属硫蛋白存在着显著差异,研究无脊椎动物MTs多样性并揭示其生态服务功能,在理论与实践上都至关重要。本文分析了无脊椎动物MTs的多样性,结合金属元素多样性、同形体及其变体的蛋白质遗传多样性和生态服务功能多样性,并讨论了MTs的三个生态服务功能:MTs对重金属解毒和调节作用、MTs作为环境监测的生物标志物、MTs的环境重金属污染净化功能及其在环境污染治理中的作用。

关键词 无脊椎动物,金属硫蛋白,多样性,生态服务功能

Metallothionein diversity and its ecological service functions of invertebrates: an overview/YE Shu-Feng, LU Jian-Jian

Abstract Metallothioneins(MTs) are low molecular mass, cysteine-rich metal binding polypeptides, which have been found widely distributed in invertebrates since 1975 and established a central role in the regulation of the essential metals, zinc and copper, and the detoxification of nonessential metals, cadmium and mercury. So far, more than 60 invertebrate MTs have been reported each with two and more than two MT isoforms and variants respectively in most major invertebrate groups including nematodes, annelids, echinoderm, mollusks, arthropods, pogonophora, and crustaceans. It was reported that MTs differed significantly among invertebrate species with plentiful information of biodiversity and many kinds of ecological functions, including the following three aspects: diversity of binding metals to MTs, diversity of MT isoforms and variants, and diversity of MTs ecological service functions. Up to now, however, studies on the diversity of MTs are not enough, especially on MTs ecological service functions, so that few MTs ecological functions have been found and studied in natural populations of invertebrates. For this reason, it is important to indicate the ecological service functions on the basis of the diversity of invertebrate MTs in terms of theory and practice. The diversity of invertebrate MTs are overviewed and analyzed in this paper, and their ecological service functions are also discussed in three aspects: MTs function in detoxification and regulation of heavy metals, MTs as biomarkers in environmental monitoring, purification function of MTs in environmental heavy metal pollution and their roles in the environmental pollution management.

Key words invertebrates, Metallothioneins, diversity, ecological service functions

Author's address State Key Laboratory of Estuarine and Coastal Research, East China Normal University, Shanghai 200062

20世纪70年代中期首次报道了海洋无脊椎动物——美洲牡蛎(*Crassostrea virginica*)的金属硫蛋白(Metallothioneins,简称MTs)。二十多年来,在无脊椎动物MTs结构研究上取得

* 本课题得到国家教育部专项基金、华东师范大学大型仪器测试基金和华东师范大学河口海岸国家重点实验室1999年度开放基金的资助

收稿日期 2000-05-23;修改稿收到日期 2000-06-23

叶属峰 e-mail 地址 ysf6@hotmail.com

了很大进展。至今已发现在大多数主要无脊椎动物种类(60多种)中都存在着 MTs(Roesijadi & Fowler, 1991)并证明其中大多数种类的 MTs 都具有 2 种或 2 种以上同形体(isoforms),有的种类个体的 MT 同形体还具有若干变体(variants)。物种间 MTs 存在着显著差异,并且表现出多种生理生态功能。从现有研究来看,MTs 多样性信息异常丰富,主要表现在三个方面:结合金属元素的多样性、同形体及其变体蛋白的遗传多样性和生态服务功能的多样性。但目前对 MTs 多样性研究不够,尤其是对其生态服务功能不甚了解。因此,本文分析了无脊椎动物 MTs 的多样性,并讨论了其生态服务功能,以期在今后研究中加以借鉴。

1 无脊椎动物 MTs 结合金属元素的多样性

无脊椎动物 MTs 多样性的最显著的特点是其结合金属元素种类及其总量变化的多样性。由于 MTs 上 Cys 残基含有易与金属结合的巯基,因此 MTs 能结合大量金属元素。一般地,在无脊椎动物 MTs 中,每克分子 MT 结合 6 个(Dallinger et al., 1999; Narula et al., 1995)或 7 个金属原子(Dallinger et al., 1997; Riek et al., 1999),巯基与金属比例为 3:1 或 3.5:1。在通常情况下,Zn、Cu 和 Cd 是 MTs 中最常见的结合金属。在特定诱导条件下,还能结合其他具有更高亲和性的非必需金属,如 Hg、Ag、Pb、Sn、Ga、Bi、Au 等。研究表明,MT 的存在形式及其稳定性与它所结合金属的种类、是否结合了金属及环境 pH 密切相关。这些 MT 结合金属的异质性与特定器官的吸收和供应或 MT 同形体的金属结合能力有关。同一种 MT 同形体的金属组成随其生物、生理和其他条件的不同而发生变化,即使同一个器官的 MT 同形体也一样,主要取决于蛋白质的来源、生物的生理状态、受金属暴露的程度以及所暴露的金属种类。

不同的 MT 同形体在体内具有明显的金属结合顺序,并且行使着不同的生理生态功能。MT 结合金属被取代的顺序是: $\text{Hg} > \text{Cu} > \text{Cd} > \text{Zn}$ 。在自然状态下,生物体 MT 具有一定的结合金属比,如 Cd/Zn 比。 Cd/Zn 比与器官中 MT 合成有关,但其生物学意义目前尚不清楚。据 Dallinger 等(1999)报道,天然罗马陆生蜗牛(*Helix pomatia*)中肠腺 MT 与外套膜 MT 不仅初级结构上存在差异,而且结合金属成分上具有明显区别。中肠腺 MT 几乎只含 Cd,而 Zn 和 Cu 含量甚微,克分子金属比为 $\text{Cd}:\text{Zn}:\text{Cu} = 100:6.6:2$;而其外套膜 MT 却主要是结合 Cu,克分子金属比为 $\text{Cu}:\text{Cd}:\text{Zn} = 100:1:6$ 。从这两种 MT 氨基酸序列来看,它们高度同源(约 57%),但在结合金属元素上却明显不同,这一点表明它们在体内行使着不同的生理功能:中肠腺 MT 的基本功能之一是 Cd 解毒作用,而外套膜 MT 根本没有解毒功能,而是参与血蓝蛋白生物合成中 Cu 调节作用。同样的生理功能也在海洋十足目动物中得到证明(Dallinger et al., 1999)。另外,有的 MT 并非诱导产生,还可以作为血蓝蛋白的铜供体,在动物体内起着携氧蛋白的作用,如美国大螯虾(*Homarus americanus*)肝胰腺 CuMT-3。同样的生理作用也在果蝇中得到证实。这些研究报道是 MT 具有生理功能的极少数直接证据之一,也为 MT 这种蛋白的多重生理功能机制的解释提供了参考模型。

2 无脊椎动物 MTs 的遗传多样性

无脊椎动物 MTs 多样性的第二个明显特点是具有广泛的遗传多样性,主要表现在同形体及其变体蛋白和基因多样性两个方面。前者表现在氨基酸组成、一级结构和空间结构、同形体及其变体多态性上,后者主要表现于基因组成上的差异。但目前对绝大多数无脊椎动物 MTs 具有广泛遗传多态性的生态学意义并不清楚,一种解释认为,是 MTs 基因在不同组织、发育和再生中不同表达的需要,是生物选择性适用于金属、激素和细胞毒素引起的挑战的需要(Kagi,

1993) 这种选择是 MTs 基因进化的基础(Fuentes et al. ,1994)。

2.1 MTs 蛋白质多样性

2.1.1 一级结构 所有 I 类 MTs 一级结构的共同特征是 Cys 的保守性。哺乳动物 MTs 具有 20 个保守的 Cys,无脊椎动物 MTs 至少有 15 个 Cys 与哺乳动物 MTs 相同,这些 Cys 残基在 MTs 中的空间分布非常重要,它们构成了 MTs 主要的金属结合配位体。

迄今为止,一个易被忽视的特征是,无脊椎动物 MTs 自由 N-末端不具有 N-乙酰甲硫氨酸,而后者在所有脊椎动物 MTs 中都存在。不过,所有无脊椎动物 MTs 的 N-末端氨基酸序列,尤其是 N-末端氨基酸残基具有显著差异(Roesijadi & Fowler,1991),MTs 变体仅在 N-末端氨基酸的乙酰化上具有差异,与非乙酰化形态相比,MTs 变体表现出诱导时间格局的稍微差异(Dallinger et al. ,1999)。因此,MTs 功能上的一些差异不能够用一般的相似规律来进行解释。N-末端上具有脯氨酸、缬氨酸以及丝氨酸,因而在线虫(*Caenorhabditis elegans*)和美洲牡蛎中,N-末端残基在核苷酸序列中是倒数第二个核苷酸编码的残基,首位残基甲硫氨酸明显在共同翻译过程中不具有初生多肽。牡蛎 MT 只有一种结构,因为它是一个同时具有乙酰化和非乙酰化的形式的 MT(Roesijadi et al. ,1991)。此外,有趣的是,罗马陆生蜗牛(*H. pomatia*)中肠腺 MT 与外套膜 MT 两者初级结构(包括 Cys 在内)的同源率只有 58%,与中肠腺 MT 相比,外套膜 MT 中有几个位置的氨基酸被 Asn 残基所取代(Dallinger et al. ,1999),这些 MT 上氨基酸残基的取代及其差异是否会导致其功能上的不同,还有待于确认。不过,MT 同形体间的变异程度就已经表明,它们的生理功能差异是显著的(Dallinger et al. ,1999)。

2.1.2 空间结构及金属结合位点 到目前为止,对无脊椎动物 MTs 的高级结构知之甚少。圆二色性光谱和核磁共振(NMR)研究表明,无脊椎动物 MTs 的三级空间结构以两个球状结构域为特征,两个结构域在主链上的位置物种间存在差异。海胆、线虫 MT 的 α 结构域位于 N-末端, β 结构域位于 C-末端(Riek et al. ,1999),而蓝蟹(*Callinectes sapidus*)则与之相反(Narula et al. ,1995)。每一个结构域具有一个巯基(Dallinger et al. ,1997),多肽主链的折叠中具有典型的 I β 折片,无 II β 折片(Narula et al. ,1995)。 α 区含有 11 个 Cys 残基和 4(或 3)个金属原子, β 区含有 9 个 Cys 和 3 个金属原子,所有金属原子都与巯基结合,没有自由巯基存在;规则的二级结构中,在 2 个结构域 Lys42 与 Thr48 之间具有一短螺旋片段(Narula et al. ,1995) 2 个结构域在功能上相对较独立,域内相互作用仅对本域内的金属结合作用产生影响; α 区金属-巯基周围的多肽主链具有迭加现象。这些结构特征及其结合金属性质都与哺乳类 MTs 的整体安排结构类似,并且还具有与后者相同数目的金属螯合构象 Cys-Cys、Cys-Xaa-Cys 和 Cys-Xaa-Xaa-Xaa-Cys 特征,但除此之外,两者之间的密码区没有明显的序列关系,无脊椎动物 MTs 序列上的 4 个 Cys-Cys 残基对及 α/β 结构域的位置与哺乳动物 MTs 不同,Cys-金属配位键的连接方式也不同,一些多肽主链片段具有局部多重折叠片(Riek et al. ,1999)。

2.2 MTs 多态性

MTs 多态性(polymorphism)最早是由 Mackay 等(1990,1993)提出,广义上是指一个物种在自然状态下发生的 MTs 的多种形态,通常称为 MTs 同形体(isometallothioneins/isoforms)或变体(variants),是因为遗传而导致其初级结构上的差异,而不仅仅指金属组成或转录后同一初级结构修饰上的不同(Kojima et al. ,1999)。

典型的 MTs 由 2 种同形体组成,即 MT-I 和 MT-II,以它们从阴离子交换柱中被洗脱的顺序来命名。这 2 种同形体具有相同的 Cys 残基数,在多肽链上占据着相同的位置。所以 2 种同形体的电荷差异性和亲水性,以及同形体和物种间 MTs 的化学性质差异是由其氨基酸组成

导致的,而不是由 Cys 残基引起的。

在大多数已研究过的无脊椎动物种类中,I类和II类MTs都表现出明显的遗传多态现象,通常具有1~9种同形体及其变体,多种MTs同形体存在时,同形体间氨基酸组成和分子量不同,而且每一种同形体的内部结构也表现出不均一性,可能又由若干亚型变体构成。在甲壳动物中,Olafson等(1979)最初报道了泥蟹(*Scylla serrata*)MTs具有2种氨基酸组成和分子量不等的同形体;之后,又报道了大螯虾肝胰腺CuMT具有3种同形体,线虫具有2种MT-Ce同形体。

在软体动物中,证明MTs以多种形式存在已经有一段时间。这些MTs同形体分子量不同,其内部也表现出不均一性。在牡蛎、贻贝及一种腹足类中,已经发现20K和10K的主要同形体,每一种同形体由1~4个个体蛋白组成。这些20K蛋白同形体大多表现为不同结构的二聚体形式也已经得到证实。在贻贝组织中分离提取了2种氨基酸组成和分子量不同的同形体,总计有9个变体(Mackay et al., 1993)。特别有趣的是,在美洲牡蛎不同种群中,要么明显仅有10K MT形态,要么10K和20K MT形态都有。这种在不同牡蛎种群中种间MTs的多样性的原因目前还不太清楚。在陆生蜗牛(*H. pomatia*和*Arianta arbustorum*)中存在着中肠腺MT和外套膜MT 2种同形体,而且各自又由若干变体构成(Dallinger et al., 1997, 1999)。MTs这些具有差异的MTs同形体存在,执行金属专一的解毒和代谢功能,为这些蛋白的多功能性原理的阐明提供了有价值的互变模型(Dallinger et al., 1999)。但是,目前在这些MTs同形体的生理功能及其生态学意义方面几乎没有做工作。

2.3 MTs基因多样性及其调控和表达

自从发现MTs以来,至今已报道了170多种MTs基因序列(Kojima et al., 1999)。在无脊椎动物中,果蝇(*Drosophila melanogaster*)、线虫及美洲牡蛎等MTs基因已被克隆和测出序列,人们从中了解到这种普遍存在蛋白的基因多样性及其调控和表达过程。

从已测定的MTs基因序列中发现,MTs的多态性是由不同的MTs基因编码所决定的。无脊椎动物MTs基因属于多基因类,其MT mRNA及其cDNA也表现出多样性。如线虫具有2种MT-Ce mRNA,美洲牡蛎具有1个或多个明显编码MT的RNAs,个体间mRNA数目明显不同(Fuentes et al., 1994),存在着多个基因同时编码单个蛋白的现象,如线虫和美洲牡蛎(Fuentes et al., 1994)。一般地,MTs同形体及其变体基因位于同一染色体上,基因间一般间隔数百个碱基对。实验表明,果蝇MT基因(Mtn)只有一个复制片段,位于第3条染色体85E10-15区的右臂上,其结构序列在Gly-8密码子处被一个包括拼接信号GT-AG的小内含子(265 bp)位于C末端第7个残基,将密码区分隔开来。在转录启动子上游300个碱基对内,TATA盒之前有7个短的被分隔开的12碱基对的保守序列片段,非常类似于哺乳动物控制金属调节的12碱基片段(相似程度大于75%),具有(5'...(GC)TTTTGCAYNCG...3')序列,推测此序列可能与重金属的调节作用有关。比较已报道的果蝇Mtn,在TATA盒上游的200 bp之内,有9个12-mers,其保守程度达到75%,特别是其中有5个序列,其相似程度在83%以上。此外,从其MT氨基酸组成分析,外显子中的GC含量非常高,高达64%,但比转录子的未翻译区要低得多,3'和5'末端为40%,内含子为32%。

比较几种无脊椎动物MT基因发现,密码区是相当保守的,而非密码区3'-末端未翻译区(UTR)和内含子在种间和种内都存在着明显差异。美洲牡蛎MT mRNAs研究表明,个体间差异在于3'-UTR非编码序列,不同种群间MT差异性部分原因是由于MT表达在转录水平上受到3'-UTR的调节(Fuentes et al., 1994)。而线虫2种

MT-Ce mRNA 在其 5'-UTR 存在着显著差异,转录起始点上游相差 10 bp,分别受不同金属效应元件(MREs)控制。

无脊椎动物 MT 诱导是一个密度依赖性过程,表现出一种阈值效应,具有一个最大效应值(Roesijadi et al., 1997)。金属对 MT 基因转录的调控是通过 MT 本身进行的,其基因转录调节机理在低等与高等真核生物表现不同。Roesijadi(1996)提出并证实了真核生物 MT 基因转录调节“挽救”假说。该假说认为 MT 诱导受其基因调节序列上的 MRE(具有金属诱导增强子功能,是转录调控蛋白的识别位点)、金属转录因子(MTFs)(一个具 Zn 指肽结构的启动子,结合游离 Zn 后即可启动基因表达)、金属转录抑制子(MTIs)(Zn 敏感抑制子,具有抑制金属诱导作用)的一系列调节作用,合成新生 ZnMT,以达到挽救和恢复 MT 金属解毒的目的。

3 无脊椎动物 MTs 生态服务功能的多样性

过去对 MTs 结构了解得较为深入,但对于其特殊生理过程以及与其生态功能之间的相互关系却知道得很少。有一点是可以肯定的,这类蛋白质对重金属在生物体内的传递、运输和毒性解除起着十分重要的作用。Brouwer 等(1989)首次提出无脊椎动物 MTs 的生理功能多样性,其后又报道了大量有关无脊椎动物 MTs 生理功能的研究。从研究报道来看,MTs 的生态服务功能异常丰富。

3.1 MTs 对重金属的解毒和调节作用

普遍认为,MTs 的一个主要生理功能是稳态调节细胞内金属水平,即参与生物体内必需金属元素的调节和非必需金属元素的解毒作用。在动物体内受金属诱导而合成的 MTs 能结合这些过量金属和有毒重金属,并能限制其中毒作用,保护细胞器免受金属毒性的影响。

对贝类的研究表明,其体内 Cd 的积累与 MT 有关,MT 在细胞内 Cd 的解毒中具有重要作用(Bebianno & Langston, 1992; Bebianno & Serafim, 1998)。陆生蜗牛之所以能忍受高浓度的 Cd 和 Cu,并在它们的软体组织中能大量累积这两种重金属,这与其中肠腺 MT 的 Cd 解毒功能以及外套膜 MT 的 Cu 调节功能是分不开的(Dallinger et al., 1997)。Brouwer 等(1989)研究发现,甲壳动物 I 类 MTs 参与高水平重金属离子的螯合作用;美国大螯虾肝胰腺 CuMT 的 3 种同形体中的 2 种(CuMT-1 和 CuMT-2)参与暴露金属的解毒作用。世界广布种端足目 *Themisto* 属动物(*Themisto libellula* (Mandt) 和 *T. Abyssorum* Boeck),其整体 Cd 浓度很高,被认为必定具有某种有效的解毒机制,而这种解毒机制经证实就是 MT,其在 Cd 的毒性解除中起着显著的作用(Ritterhoff & Zauke, 1998)。在河口端足动物(*Gammarus zaddachi*)中也得到了同样的证明(Ritterhoff et al., 1996)。此外还证实果蝇 MT 存在解毒作用。但应注意的是,MTs 对重金属的解毒和调节作用是有限的,一旦环境中重金属含量超过这个阈值,该种动物就会表现出病理状态,严重时会导致种群的衰退甚至灭绝。

耐污种群是在其生境受某种特别污染物污染后,经动物本身一系列生理调节之后重新适应的种群。在污染生境下,尤其是重金属污染,耐污种小种群与敏感种群的生理生态功能方面肯定具有明显差异。但目前对耐污小种群的系统发育、MT 基因的扩增、个体适合度的降低、细胞功能的受损、生殖力降低等方面是否与其 MT 的解毒和调节作用有关,还有待于深入研究。

3.2 MTs 作为环境监测的生物标志物

重金属是水环境中的一类主要污染物,在环境科学研究中一直受到广泛的重视。MTs 的一个显著特点是能在转录水平上被环境中的金属所诱导,且这种诱导水平与环境中的金属浓

度有直接相关性。生物体内调节必需金属元素已具有一定的 MT 基础水平,当周围环境中生物体内的金属含量达到一定高的浓度时,才能诱导合成新的 MT。通过监测水生无脊椎动物 MTs 含量的增加,即能反映环境中的金属水平,估计出海洋生物受金属暴露的状况和重金属的污染压力。因此,70 年代末就有人提出水生生物 MTs 水平可作为一种指示水环境污染生物暴露和毒性效应早期警报的主要生物标志物,以及作为水生环境自然种群金属污染压力评价和监测的分子生态毒理学诊断指标(徐立红等,1995;Bayne,1979;Fuentes et al.,1994),并凭此进行水环境的监测、管理和保护。长期以来,有关这方面的工作一直在进行,并且越来越多的研究结果证实,在水环境保护和监测中,MT 是一种非常有意义的生物标志物。

无脊椎动物 MTs 生化结构、理化性质和生理功能的多样性,决定了其作为水生无脊椎动物对重金属暴露的生物标志物有着相当广泛的适用范围。对贝类的研究表明,不同种的基础 MT 水平(2~3 mg/g 干重)和 MT 诱导速率是相似的,对 MT 的测定可决定生物对 Cd 污染的亚致死反应,是决定 Cd 污染的生物效应的有效手段。野外自然贻贝种群和慢性 Cd 暴露种群的鳃、消化腺和整体软组织中的 Cd 浓度与 MT 诱导水平相关,组织中 MT 水平作为金属污染的生物标志物是恰当的(Bebianno & Langston,1992)。因此,经常将 MT 作为金属污染的一种早期生物反应,其中最肯定已被确认的生物是贻贝(整体软组织或鳃),其 MT 水平可作为环境中 Cd、Hg、Ag 及可能 Cu 污染的生物标志物(Bebianno & Serafim,1998)。在具体用作个体金属暴露状况评价时,Roesijadi(1992)认为 Cd-MT 较为合适,因为在生物过程中 Cd 是非必需金属,正常组织中 Cd 的浓度低,Cd-MT 反应专一。

但近年来研究表明,除了金属之外,尚有其他大量的内外因素可以诱导合成 MTs。目前对它的机理并不十分清楚。同时由于我们对水生生物 MT 的结构、功能和环境因子对其的影响了解不多,以及高水平的基础 MT 水平和 MT 结合金属浓度,都会制约我们将 MT 用作评价水生生物金属暴露的毒理学状况,因此在用作生物标志物时要谨慎。

3.3 MTs 的环境重金属污染净化功能及其在环境污染治理中的作用

微生物可以降解环境中的有机污染物,但不能降解重金属污染物。而 MTs 在高度诱导之后,能大量地结合重金属。根据一些事实推断,MTs 是唯一能有效地解离、解毒重金属的一种生物途径。

陆生蜗牛中肠腺 MT 结合 Cd 量占整个蜗牛软体组织 Cd 总量的 85%~95%。此外,其外套膜 MT 对过多的 Cu 也能起到调节作用,使其体内的 Cu 量保持稳定(Dallinger et al.,1997)。另外,端足目 *Themisto* 属动物整体 Cd 浓度很高,MT 结合 Cd 高达 34%(Ritterhoff & Zauke,1998)。暴露于 Cd 环境中的美洲牡蛎, Cd 优先于其他配体结合到其 MT 上。野外污染种群牡蛎鳃中的 MT 结合 Cd 高达 20%(Roesijadi,1994)。

研究表明,水生无脊椎动物的贝壳和外骨骼富集重金属,作为重金属去除途径,是水生生物重金属生物净化功能的一种主要表现形式。除此之外,MT 也能结合大量重金属,可认为是水生生物另一类主要的环境污染重金属生物净化形式。水生生态系统中重要的初级消费者——无脊椎动物种群密度和生物量都异常丰富,无脊椎动物自然种群 MTs 的金属净化功能非常可观。

重金属污染是当今世界水环境保护中面临的两大难题之一。据报道,可利用克隆 MT 基因的工程菌或水生生物(包括藻类)来排除环境中受污染土壤或污水中的有毒金属(茹炳根等,1991;茹炳根,1998),这为环境重金属污染治理开辟了一条崭新的道路。目前,土壤线虫 MT 基因在大肠杆菌(*Escherichia coli*)体内的重组体已得到很好的表达,并且已得到分离、纯化和

特征分析(You et al., 1999),使这一问题的解决成为可能。此外,对脊椎动物研究表明,MT还具有抗电离辐射、清除自由基的作用。虽然目前还没有对无脊椎动物MT进行这几个方面的研究,但在不久的将来,无脊椎动物MT可能会成为一种非常有前途的环境污染治理措施。

综上所述,对于无脊椎动物MTs多样性的研究,在生物多样性和水环境保护中具有重要意义。目前对无脊椎动物MTs生态服务功能的研究很少,需要作进一步的研究和探讨。无脊椎动物MTs多样性与其生态服务功能之间的相互关系也是一个非常值得深入研究的领域之一。

参 考 文 献

- 茹炳根,潘爱华,黄秉乾,张建业,1991. 金属硫蛋白. 生物化学与生物物理进展, **18**(4):254~259,289
- 茹炳根,1998. 第四届国际金属硫蛋白会议简介. 生命科学, **10**(3):118,157~158
- 徐立红,张甬元,陈宜瑜,1995. 分子生态毒理学研究进展及其在水环境保护中的意义. 水生生物学报, **19**(2):171~185
- Bayne B L, 1979. Physiological measurements of stress. *Rapports et Procès-verbaux des Réunions*, **179**:56~61
- Bebianno M J, Langston W J, 1992. Cadmium induction of metallothionein synthesis in *Mytilus galloprovincialis*. *Comparative Biochemistry and Physiology*, **103C**:79~85
- Bebianno M J, Serafim M A, 1998. Comparison of metallothionein induction in response to cadmium in the gills of the bivalve molluscs *Mytilus galloprovincialis* and *Ruditapes decussatus*. *The Science of the Total Environment*, **214**:123~131
- Brouwer M, Winge D R, Gray W R, 1989. Structural and functional diversity of copper-metalllothioneins from the American lobster *Homarus americanus*. *Journal of Inorganic Biochemistry*, **35**:289~303
- Dallinger R, Berger B, Hunziker P E, Kagi J H R, 1997. Metallothionein in snail Cd and Cu metabolism. *Nature*, **388**:237~238
- Dallinger R, Berger B, E. Hunziker P, Kagi J H R, 1999. Structure and function of metallothionein isoforms in terrestrial snails. In: Klaassen C (ed.), *Metallothionein IV*, Birkhauser Verlag Basel, Switzerland, 173~178
- Fuentes M E, Unger M E, Roesijadi G, 1994. Individual variability in the 3' untranslated region of metallothionein mRNAs in a natural population of the mollusc *Crassostrea virginica*. *Molecular Marine Biology and Biotechnology*, **3**(3):141~148
- Kagi J H R, 1993. Evolution, structure and chemical activity of class I metallothioneins: as overview. In: Suzuki K T, Imura N, Kimura M (eds.), *Metallothionein III*, Birkhauser Verlag Basel, Switzerland, 29~55
- Kojima Y, Binz P-A, Kagi J H R, 1999. Nomenclature of metallothionein: proposal for a revision. In: Klaassen C (ed.), *Metallothionein IV*, Birkhauser Verlag Basel, Switzerland, 3~6
- Mackay E A, Overnell J, Dunbar B, Davidson I, Hunziker P E, Kagi J H R, Fothergill J E, 1990. Polymorphism of cadmium-induced mussel metallothionein. *Experientia* **46**, A366 abstract No. 310
- Mackay E A, Overnell J L, Dunbar B, Davidson I, Hunziker P E, Kagi J H R, 1993. Complete amino acid sequence of five dimeric and four monomeric forms of metallothionein from the edible mussel *Mytilus edulis*. *European Journal of Biochemistry*, **218**:183~194
- Narula S S, Brouwer M, Hua Y, Armitage I M, 1995. Three-dimensional solution structure of *Callinectes sapidus* metallothionein-I determined by homonuclear and heteronuclear magnetic resonance spectroscopy. *Biochemistry*, **34**:620~631
- Olafson R W, Sim R G, Boto K G, 1979. Isolation and chemical characterization of the heavy metal-binding protein metallothionein from marine invertebrates. *Comparative Biochemistry and Physiology*, **62B**:407~416
- Riek R, Precheur B, Wang Y Y, Mackay E A, Wider G, Guntert P, Liu A Z, Kagi J H R, Wuthrich K, 1999. NMR structure of the sea urchin (*Strongylocentrotus purpuratus*) Metallothionein MTA. *The Journal of Molecular Biology*, **291**:417~428
- Ritterhoff J and Zauke G-P, 1998. Potential role of metal-binding proteins in cadmium detoxification in *Themisto libellula* (Mandt) and *Themisto abyssorum* Boeck from the Greenland Sea. *Marine Environmental Research*, **45**(2):179~191
- Ritterhoff J, Zauke G-P, Dallinger R, 1996. Calibration of the estuarine amphipods, *Gammarus zaddachi* Sexton (1912), as a biomonitors: toxicokinetics of cadmium and possible role of inducible metal binding proteins in Cd

- detoxification. *Aquatic Toxicology* , **34** :351~369
- Roesijadi G , 1992. Review : Metallothioneins in metal regulation and toxicity in aquatic animals. *Aquatic Toxicology* , **22** :81~114
- Roesijadi G , 1994. Behavior of metallothionein-bound metals in natural population of an estuarine mollusc. *Marine Environmental Research* , **38** :147~168
- Roesijadi G , 1996. Metallothionein and its role in toxic metal regulation. *Comparative Biochemistry and Physiology* , **113C** (2) : 117~123
- Roesijadi G , Brubacher L L , Unger M E , Anderson R S , 1997. Metallothionein mRNA induction and generation of reactive oxygen species in molluscan hemocytes exposed to cadmium *in vitro*. *Comparative Biochemistry and Physiology* , **118C** (2) : 171~176
- Roesijadi G , Fowler B A , 1991. Purification of Invertebrate Metallothioneins. In Riordan J F , Vallee B L (eds.) , *Methods in Enzymology* , Vol. 205 , *Metallobiochemistry* , Part B , *Metallothionein and Related Molecules*. London : Academic Press , Inc. , 263~273
- Roesijadi G , Vestling M M , Murphy C M , Klerks P L , Fenselau C , 1991. Structure and time-dependent behavior of acetylated and non-acetylated forms of a molluscan metallothionein. *Biochimica et Biophysica Acta* , **1074** : 230~236
- You C H , Mackay E A , Gehrig P M , Hunziker P E , Kagi J H R , 1999. Purification and characterization of recombinant *Caenorhabditis elegans* Metallothionein. *Archives of Biochemistry and Biophysics* , **372** (1) : 44~52

(责任编辑 : 时意专)