

环境科学

(HUANJING KEXUE)

ENVIRONMENTAL SCIENCE

第34卷 第1期

Vol.34 No.1

2013

中国科学院生态环境研究中心 主办
科学出版社 出版



目次

长三角背景地区秋冬季节大气气态总汞含量特征研究	窦红颖,王书肖,王龙,张磊,郝吉明(1)
厦门城区大气颗粒物 PM ₁₀ 中有机酸源谱特征分析	杨冰玉,黄星星,郑桢,刘碧莲,吴水平(8)
兴隆大气气溶胶中水溶性无机离子分析	李杏茹,宋爱利,王英锋,孙颖,刘子锐,王跃思(15)
气相组分对氨吸收同步脱除模拟烟气 SO ₂ 和 NO _x 的影响	王鸿,朱天乐,王美艳(21)
麦秸全量还田下太湖地区两种典型水稻土稻季氨挥发特性比较	汪军,王德建,张刚,王远(27)
单光子/光电子在线质谱实时分析聚氯乙烯热分解/燃烧产物	陈文东,侯可勇,陈平,李芳龙,赵无垠,崔华鹏,花磊,谢园园,李海洋(34)
碱性活性炭表面特征及其吸附甲烷的研究	张梦竹,李琳,刘俊新,孙永军,李国滨(39)
夏季黄渤海表层海水中二甲亚砜(DMSO)的浓度分布	王敏,张洪海,杨桂朋(45)
2010年秋季长江口口外海域 CDOM 的三维荧光光谱-平行因子分析	闫丽红,陈学君,苏荣国,韩秀荣,张传松,石晓勇(51)
基于集合均方根滤波的太湖叶绿素 a 浓度估算与预测	李渊,李云梅,王桥,张卓,郭飞,吕恒,毕坤,黄昌春,郭宇龙(61)
基于 HJ1A-CCD 数据的高光谱影像重构研究	郭宇龙,李云梅,朱利,徐德强,李渊,檀静,周莉,刘阁(69)
重庆雪玉洞岩溶地下河地球化学敏感性研究	徐尚全,杨平恒,殷建军,毛海红,王鹏,周小萍(77)
区域点源和非点源磷入河量计算的二元统计模型	陈丁江,孙嗣阳,贾颖娜,陈佳勃,吕军(84)
秦淮河典型河段总氮总磷时空变异特征	李跃飞,夏永秋,李晓波,熊正琴,颜晓元(91)
湘江沉积物铜和汞质量基准的建立及其应用	蒋博峰,桑磊鑫,孙卫玲,郝伟,李丽,邓宝山(98)
丹江口水库迁建区土壤重金属分布及污染评价	张雷,秦延文,郑丙辉,时瑶,韩超男(108)
汾河水库周边土壤重金属含量与空间分布	李晋昌,张红,石伟(116)
黄河下游引黄灌区地下水重金属分布及健康风险评估	张妍,李发东,欧阳竹,赵广帅,李静,柳强(121)
胶州湾、套子湾及四十里湾表层沉积物中有机氯农药的含量和分布特征	刘艺凯,钟广财,唐建辉,潘晓辉,田崇国,陈颖军(129)
基于干扰梯度的钦江流域底栖动物完整性指数候选参数筛选	卢东琪,张勇,蔡德所,刘朔孺,陈燕海,王备新(137)
海洋细菌 <i>Marinobacter adhaerens</i> HY-3 分离鉴定及对中肋骨条藻的化感作用	王洪斌,陈文慧,李信书,李士虎,阎斌伦(145)
水稻秸秆浸泡液对铜绿微囊藻生理特性的影响	苏文,孔繁翔,于洋,贾育红,张民(150)
化感物质肉桂酸乙酯对蛋白核小球藻生长及生理特性的影响	高李李,郭沛涌,苏光明,魏燕芳(156)
无负压供水模式下管网水力模拟与安全评价分析	王欢欢,刘书明,姜帅,孟凡琳,白璐(163)
天然有机物的相对分子质量分布及亲疏水性对微滤膜组合工艺中膜污染的影响	胡孟柳,林洁,许光红,董秉直(169)
不同基质条件下透性处理对脱硫弧菌硫酸盐还原活性的影响	徐慧伟,张旭,李立明,郑光洁,李广贺(177)
基于零价铁的双金属体系对六氯苯还原脱氯研究	曾宪委,刘建国,聂小琴(182)
负载型 TiO ₂ 光电催化降解孔雀石绿的动力学研究	张小娜,周少奇,周晓(188)
污水厂微曝气系统工况下充氧性能测试与分析	吴媛媛,周小红,施汉昌,邱勇(194)
微气泡及其产生方式对活性污泥混合液性质的影响	刘春,马锦,张磊,张静,张明,吴根(198)
不同氮浓度冲击对颗粒污泥脱氮过程中 N ₂ O 产生量的影响	韩雪,高大文(204)
模拟电镀污泥重金属浸出液对氧化亚铁硫杆菌活性的影响	谢鑫源,孙培德,楼菊青,郭茂新,马王钢(209)
嗜麦芽窄食单胞菌对铜的吸附特性与离子交换	白洁琼,尹华,叶锦韶,彭辉,唐立楠,何宝燕,李跃鹏(217)
阴离子表面活性剂改性水滑石吸附硝基苯的特性研究	夏燕,朱润良,陶奇,刘汉阳(226)
活性氧化铝对水中磷的去除与回收研究	孟文娜,谢杰,吴德意,张振家,孔海南(231)
北京城区可吸入颗粒物分布与呼吸系统疾病相关分析	杨维,赵文吉,官兆宁,赵文慧,唐涛(237)
北京市市售鸡蛋和鸭蛋中全氟化合物的污染水平研究	齐彦杰,周珍,史亚利,孟昭福(244)
北京市场常见淡水食用鱼体内农药残留水平调查及健康风险评估	于志勇,金芬,孙景芳,原盛广,郑蓓,张文婧,安伟,杨敏(251)
多效应残差法(MERA)表征二甲亚砜-农药二元混合物毒性相互作用	霍向晨,刘树深,张晶,张瑾(257)
利用 DGGE-菌落原位杂交法分离土壤中精喹禾灵降解菌	吕欣,彭霞薇,呼庆,马安周,江泽平,魏远(263)
不同白腐真菌复配方式对产酶的影响	孟瑶,梁红,高大文(271)
不同施肥措施对土壤活性有机碳的影响	张瑞,张贵龙,姬艳艳,李刚,常泓,杨殿林(277)
垦殖对湿地土壤有机碳垂直分布及可溶性有机碳截留的影响	霍莉莉,邹元春,郭佳伟,吕宪国(283)
黄河三角洲碱蓬湿地土壤有机碳及其组分分布特征	董洪芳,于君宝,管博(288)
丘陵林地土壤酸化改良剂的集中施用-自然扩散修复技术研究	方熊,刘菊秀,尹光彩,赵亮,刘世忠,褚国伟,李义勇(293)
重度滴滴涕污染土壤低温等离子体修复条件优化研究	陈海红,骆永明,滕应,刘五星,潘澄,李振高,贾玉娟(302)
无定形 Fe(OH) ₃ 和 Fe ₃ O ₄ 共沉淀态 As 的化学提取	陈义萍,王少峰,黄永锋(308)
铝和锰对外生菌根真菌生长、养分吸收及分泌作用的影响	李华,黄建国,袁玲(315)
污泥和餐厨垃圾联合干法中温厌氧消化性能研究	段妮娜,董滨,李江华,戴翎翎,戴晓虎(321)
高比表面生物质炭的制备、表征及吸附性能	李坤权,李焯,郑正,桑大志(328)
基于情景分析的浙江沿海地区环境污染防治战略研究	田金平,陈吕军,杜鹏飞,钱易(336)
微生物全细胞传感器在重金属生物可利用度监测中的研究进展	侯启会,马安周,庄绪亮,庄国强(347)
2012 城市生态学术研讨会会议论文	
北京市城乡环境梯度下街尘中重金属污染特征	何小艳,顾培,李叙勇,赵洪涛(357)
北京市道路灰尘中污染物含量沿城乡梯度、道路密度梯度的变化特征	唐荣莉,马克明,张育新,毛齐正(364)
北京城市典型下垫面降雨径流污染初始冲刷效应分析	任玉芬,王效科,欧阳志云,侯培强(373)
洋河流域张家口段河流水质演化及驱动因子分析	虎博,王铁宇,吕永龙,杜立宇,罗维(379)
低碳交通电动汽车减排潜力及其影响因素分析	施晓清,李笑诺,杨建新(385)
北京市社区生活垃圾分类收集实效调查及其长效管理机制研究	邓俊,徐琬莹,周传斌(395)
人工湿地在应用中存在的问题及解决措施	黄锦楼,陈琴,许连煌(401)
《环境科学》征订启事(26)	《环境科学》征稿简则(68)
信息(76,144,301,400)	专辑征稿通知(394)

微生物全细胞传感器在重金属生物可利用度监测中的研究进展

侯启会, 马安周, 庄绪亮, 庄国强*

(中国科学院生态环境研究中心环境生物技术研究室, 北京 100085)

摘要: 传统的物理化学方法主要用于测定环境重金属的总量, 微生物全细胞传感器可以对土壤及水体环境的重金属生物可利用度进行监测。此外, 微生物全细胞传感器还具有操作简单、快速、经济的特点, 适用于污染事件的应急监测。微生物全细胞传感器的生物学元件主要由 MerR、ArsR、RS 等家族的金属调控蛋白和 *gfp*、*lux*、*luc* 等报告基因组成。调控蛋白、报告基因与微生物全细胞传感器的灵敏度、特异性和监测特点有关。受 pH、金属螯合物及检测条件等因素的影响, 不同的环境条件下的重金属生物可利用度是不同的。增加重金属在微生物细胞内的累积, 进行调控蛋白的分子生物学改造, 优化检测条件是提高传感器灵敏度、特异性和准确性的可行方案。实现污染物的原位和在线监测是微生物全细胞传感器的主要发展方向。

关键词: 重金属; 生物可利用度; 微生物全细胞传感器; 监测; 原位; 在线

中图分类号: X172 文献标识码: A 文章编号: 0250-3301(2013)01-0347-10

Advance in the Bioavailability Monitoring of Heavy Metal Based on Microbial Whole-cell Sensor

HOU Qi-hui, MA An-zhou, ZHUANG Xiu-liang, ZHUANG Guo-qiang

(Department of Environmental Biotechnology, Research Center for Eco-Environmental Sciences, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100085, China)

Abstract: Microbial whole-cell biosensor is an excellent tool to assess the bioavailability of heavy metal in soil and water. However, the traditional physicochemical instruments are applied to detect the total metal. Furthermore, microbial whole-cell biosensor is simple, rapid and economical in manipulating, and is thus a highly qualified candidate for emergency detection of pollution incidents. The biological component of microbial whole-cell biosensor mostly consists of metalloregulatory proteins and reporter genes. In detail, metalloregulatory proteins mainly include the MerR family, ArsR family and RS family, and reporter genes mainly include *gfp*, *lux* and *luc*. Metalloregulatory protein and reporter gene are related to the sensitivity, specificity and properties in monitoring. The bioavailability of heavy metals is alterable under different conditions, influenced by pH, chelate and detection methods and so on. Increasing the accumulation of intracellular heavy metal, modifying the metalloregulatory proteins and optimizing the detecting conditions are important for improving the sensitivity, specificity and accuracy of the microbial whole-cell biosensor. The future direction of microbial whole-cell biosensor is to realize the monitoring of pollutions *in situ* and on line.

Key words: heavy metal; bioavailability; microbial whole-cell biosensor; monitoring; *in situ*; on line

随着社会经济的发展, 重金属污染形势日益严峻。重金属污染与人类及环境健康息息相关, 对重金属进行合理、准确地监测是开展重金属污染防治工作的重要前提。目前, 针对重金属污染的检测方法主要是传统的物理化学方法, 如电感耦合等离子体原子发射光谱(ICP-AES)、电感耦合等离子体质谱(ICP-MS)、原子吸收火焰光度计(AAFS)和氢化物发生原子吸收光谱(GHAAS)等。这些方法的优点是具备高检测灵敏度和高特异性, 但也存在一些不足, 如仪器设备昂贵, 操作复杂, 检测周期长。最重要的一点是, 传统的物理化学方法主要是对环境重金属总量进行测定, 不能检测重金属的生物可利用度^[1]。

生物可利用度可以直接反映污染物对生物有机

体的毒性及影响, 它是环境风险评估的重要参考。自1990年 King 等^[2]第一次设计了针对汞检测的微生物全细胞传感器后, 基于微生物全细胞的生物传感器在污染物的生物可利用度检测和毒性评估中得以迅速发展。微生物全细胞传感器的特点是可以提供一种经济、简单、快捷的重金属生物可利用度监测方法。其次, 此类传感器还能对重金属生物可利用度进行原位和在线监测。对污染物进行生物可利

收稿日期: 2012-03-31; 修订日期: 2012-05-08

基金项目: 中国科学院知识创新工程重要方向项目(KSCX2-YW-JS401, KSCX2-YW-G-072); 国家高技术研究发展计划(863)项目(2007AA06A407); 国家科技支撑计划项目(2012BAJ24B01)

作者简介: 侯启会(1983~), 男, 博士研究生, 主要研究方向为环境微生物, E-mail: houqihui190@163.com

* 通讯联系人, E-mail: gqzhuang@rcees.ac.cn

用度检测可以为环境风险评估和污染环境的生物修复提供理论依据。

本研究主要对微生物全细胞传感器相关的重金属抗性机制,重金属特异诱导的传感器细胞的构建,微生物全细胞传感器在实际环境中的重金属生物可利用度检测等方面的内容进行了归纳和总结,并对微生物全细胞传感器在发展过程中遇到的问题和前景进行探讨。

1 微生物全细胞传感器及其原理

1.1 生物传感器

生物传感器是一种对化学物质进行定性和定量分析的装置。它由两部分组成,第一部分是能识别化学物质并产生与化学物质浓度相关信号的生物学感应元件,这些生物学感应元件包括微生物细胞、辅因子、酶、抗体和高等生物的组织及细胞;第二部分是对光学、电化学和热力学等信号进行转换和检测的物理装置^[3,4]。生物传感器的感应元件是传感器的核心,它对分析物的识别能力和信号产生能力直接决定传感器的检测性能。在众多生物学感应元件中,微生物细胞具有易操作、繁殖及生存能力强、易储存和稳定性高等特点,利用微生物细胞作为生物学感应元件可以极大简化传感器的制作过程,提高传感器的检测效率。另外,由于微生物细胞在新陈代谢过程中能产生大量的酶和辅因子,使得微生物对许多化学物质均有识别和响应能力,从而可以提高传感器的物质检测范围^[4]。基于微生物细胞的这些特点,近年来,以微生物细胞为生物感应元件的微生物全细胞传感器在环境和食品的检测和评估中得以快速应用和发展。

1.2 微生物全细胞传感器

微生物全细胞传感器可以分为非特异、半特异和特异 3 种响应类型。非特异的微生物全细胞传感器仅用于测定样品的毒性,不能反映毒性物质的具体信息,如 Belkin^[5] 和 Bulich^[6] 等通过检测发光细菌——费氏弧菌 (*Vibrio fischeri*) 的荧光减少量分别测定了费氏弧菌在氧化压力下和污染水体中所受的毒性大小。半特异的微生物全细胞传感器通常是对能造成过高胞内压力和 DNA 损伤等危害的特定物质进行检测,Bechor 等^[7] 利用 *fabA* 基因和 *Vibrio fischeri luxCDABE* 报告基因的融合质粒对 *E. coli* 在不同压力环境下的脂肪酸合成途径进行了成功监控,Vollmer 等^[8] 利用受 DNA 损伤诱导的启动子 *recA*、*uvrA* 和 *alkA* 检测了 *E. coli* 对丝裂霉素和紫外辐射的响应情况。特异的微生物全细胞传感器最早被应用于定量检测暴露环境的萘及其生物降解情况^[2],它是仅对一种或一类化合物进行专一响应的传感器,因此可以对环境污染物进行定性和定量分析。

特异微生物全细胞传感器的微生物细胞含有一个由特异调控蛋白基因和报告基因组成的重组质粒。当宿主细胞的生长环境中有重金属离子存在时,宿主细胞通过不同的机制吸收重金属离子。当重金属离子进入到胞内后,重组质粒或宿主染色体 DNA 编码的转录调控蛋白被重金属离子特异激活,与启动子绑定或从启动子上脱落,激活(“turn on”)或抑制(“turn off”)启动子的启动,进而调控下游报告基因表达,产生可检测的信号[图 1(A)],这种信号的变化强度与重金属诱导物的浓度密切相关,转录调控蛋白对重金属离子的识别能力和绑定能力决定着微生物全细胞传感器的检测特异性和灵敏度^[9]。信号从激发到衰减通常可以分为初始期、线

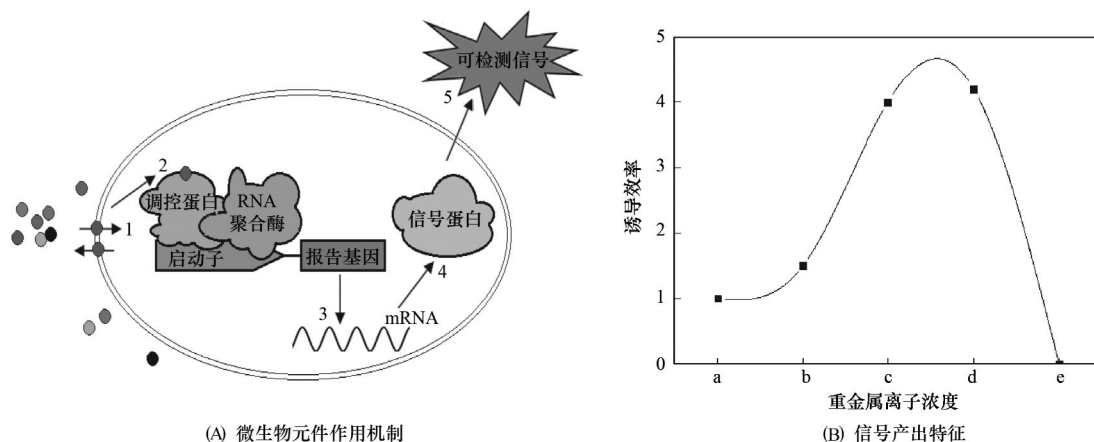


图 1 微生物全细胞传感器的微生物元件作用机制和信号产出特征

Fig. 1 Mechanism of microbial organism and output character of signal in the microbial whole-cell biosensor

性期、稳定期和衰减期 4 个时期[图 1(B)]. 初始期(a~b), 重金属离子浓度较低不足以激活调控蛋白, 细胞内只产生一定量的背景信号; 线性期(b~c), 信号强度随着重金属离子浓度的增加以线性趋势增强, 线性期为进行线性回归测定样品重金属离子浓度的最佳时期; 稳定期(c~d), 受调控蛋白和细胞自身信号释放能力的影响, 信号趋于稳定; 衰减期(d~e), 过多的重金属产生毒性导致宿主细胞死亡, 信号急剧下降^[10].

2 微生物重金属调节系统与微生物全细胞传感器

微生物全细胞传感器的转录调控蛋白和启动子元件源于微生物在长期进化过程中产生的对重金属的胞内调节系统. 微生物的胞内重金属调节系统主要可分为维持必需重金属(Zn、Fe、Ni、Cu、Co 和 Cr 等)的胞内平衡系统和毒性重金属(Pb、Hg、Cd、As、Sb、Ag 和 Ti 等)的抗性系统. 根据调控蛋白与启动子元件作用方式不同, 可以将调控蛋白主要分为 MerR、ArsR 和 RS 这 3 个家族等.

2.1 MerR 家族

MerR 家族的金属调控蛋白通常以同源二聚体激活子形式绑定于启动子的 RNA 聚合酶结合位点上, 当重金属离子与调控蛋白结合后, 调控蛋白即被激活, 启动子的 RNA 聚合酶结合位点区域发生弯曲和扭曲, 形成一个开放的结构启动 mRNA 的合成^[11].

2.2 ArsR 家族

ArsR 家族的金属调控蛋白是目前发现的种类最多的调控蛋白, 保守估计它有 500 个成员, 分布于 200 种已知基因组序列的细菌中. 在细胞内不存在重金属的情况下, ArsR 家族的金属调控蛋白作为抑制子绑定于启动子的 RNA 聚合酶结合位点上, 阻遏 RNA 聚合酶与启动子的结合, 当重金属离子与调控蛋白绑定后, 调控蛋白的构象发生改变, 从 RNA 聚合酶结合位点脱落后, RNA 聚合酶即可进行转录^[12].

2.3 RS 家族

第三类重金属调控系统由膜感应器(membrane sensor)和胞内的二级响应调控蛋白(the second responder regulatory protein)共同参与, 故称 RS 调控系统. 在这个系统中, 由跨膜的组氨酸激酶组成的膜感应器能够响应胞外的刺激, 当重金属离子存在时, 组氨酸激酶发生自磷酸化产生硫酸盐, 硫酸盐作用于胞内的二级调控蛋白上的天冬氨酸残基, 促使调控蛋白激活或抑制转录的进行^[13]. 与 MerR 家族和 ArsR 家族的金属调控蛋白不同的是, RS 调控系统是对胞外和细胞周质的重金属响应, 而 MerR 和 ArsR 家族的金属调控蛋白是对细胞质的重金属进行响应.

随着研究的深入, 一些新家族的金属调控蛋白得以发现(表 1), 如 CsoR 家族、CopY 家族和 DtxR 家族的金属调控蛋白等, 这些金属调控蛋白的发现为构建具有重金属广谱检测能力的微生物全细胞传感器奠定了基础.

表 1 可应用于微生物全细胞传感器构建的重金属调控蛋白特征

Table 1 Characteristics of metalloregulatory proteins which could be used in microbial whole-cell biosensor designing

调控蛋白	所调控重金属	家族	调控方式	抗性蛋白	抗性蛋白特征	文献
ArsR	As(Ⅲ), Sb(Ⅲ)	ArsR family	去阻遏	ArsA/B/C	砷还原酶及 ATPase 外排蛋白	[12, 14]
CadC	Cd(Ⅱ)	ArsR family	去阻遏	CadA	ATPase 外排蛋白	[12, 14]
ChrB	Cr(Ⅵ)	ArsR family	去阻遏	ChrA	ATPase 外排蛋白	[15]
SmtB	Zn(Ⅱ)	ArsR family	去阻遏	SmtA	金属硫蛋白	[12, 14]
NmtR	Ni(Ⅱ), Co(Ⅱ)	ArsR family	去阻遏	NmtA	ATPase 外排蛋白	[12, 14]
MerR	Hg(Ⅱ)	MerR family	激活	MerT/P/A	汞还原酶及 ATPase 外排蛋白	[11, 14]
CueR	Cu(Ⅰ)	MerR family	激活	CueA	ATPase 外排蛋白	[11, 14]
ZntR	Zn(Ⅱ)	MerR family	激活	ZntA	ATPase 外排蛋白	[11, 14]
PbrR	Pb(Ⅱ)	MerR family	激活	PbrA	ATPase 外排蛋白	[11, 14]
PcoRS	Cu(Ⅰ)	RS family	激活	PcoABCD	氧化酶	[16]
CusRS	Cu(Ⅰ)	RS family	激活	CusCFBA	外排蛋白	[16]
NikR	Ni(Ⅱ)	NikR family	联合抑制	NikA	摄取蛋白	[17, 14]
RcnR	Ni(Ⅱ), Co(Ⅱ)	CsoR family	去阻遏	RcnA	ATPase 外排蛋白	[18, 14]
CopY	Cu(Ⅱ)	CopY family	去阻遏			[14]
DtxR	Fe(Ⅱ), Ni(Ⅱ)	DtxR family	联合抑制			[14]

3 微生物全细胞传感器的报告基因

微生物全细胞传感器中常用的报告基因有绿色荧光蛋白基因 *gfp*、萤火虫荧光素酶基因 *luc*、细菌

荧光素酶基因 *lux*、 β -半乳糖苷酶基因 *lacZ*、冰核蛋白基因 *inaZ*、 β -内酰胺酶基因 *bla* 和球形烯单氧酶基因 *crtA* (表 2)。其中运用最为广泛的是 *gfp*、*luc* 和 *lux*。

表 2 微生物全细胞传感器中各种报告基因的特征描述

Table 2 Characteristics of reporter genes used in microbial whole-cell biosensors

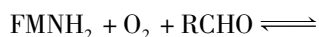
报告基因	来源	底物	检测方式	优点	缺点
<i>gfp</i>	维多利亚水母	无需底物	荧光	稳定,可在线和原位监测、不需外源物质和 ATP	延迟表达,灵敏度偏低
<i>luc</i>	北美萤火虫	荧光素	冷光	高灵敏度,响应快	需外源底物和 O ₂
<i>lux</i>	费氏弧菌,哈维氏弧菌	脂肪醛	冷光	易检测,响应快	热不稳定,需 O ₂
<i>lacZ</i>	大肠杆菌	邻硝基苯半乳糖苷	比色、荧光、电化学	可裸眼观测,检测方法多	需底物,荧光及电化学方法检测繁琐
<i>inaZ</i>	丁香假单胞菌	无需底物	冷冻液滴	高灵敏度,无需底物和辅因子	高成本,不能实现原位和在线检测
<i>bla</i>	大肠杆菌	乳糖胺	比色	易检测	需底物
<i>crtA</i>	嗜硫小红卵菌	(二甲基)球形烯	比色	易检测	需底物

3.1 绿色荧光蛋白基因 *gfp*

GFP 是一种自发荧光蛋白,它在 508 nm 处具有最大发射光,利用 *gfp* 作报告基因的微生物全细胞传感器具有高稳定性、可在线和原位监测等特点。由于某些宿主细胞的固有荧光会放大背景荧光值,且 *gfp* 不具备酶类报告基因的反应放大能力等因素,与 *lux* 和 *lacZ* 相比,*gfp* 不具备高的检测灵敏度^[19]。笔者认为这也与检测环境和检测方法有关,Liao 等^[20]利用含有 *gfp* 和 *cadC* 融合质粒的微生物全细胞传感器成功对 Cd(Ⅱ)、Pb(Ⅱ)和 Sb(Ⅲ)进行检测,且其检测灵敏度分别可达 0.1、10 和 0.1 nmol·L⁻¹,此检测限高于众多以 *lux* 和 *luc* 为报告基因的微生物全细胞传感器。另外,由于 GFP 的羟基苯咪唑酮生色团的产生有延迟性,这在一定程度上降低 GFP 的最大检测活性^[21],因此,GFP 不合适污染物的快速检测。另外,需要注意的是,由于 GFP 的正确折叠是需氧的,在缺氧的土壤环境中 GFP 不合适进行原位监测。

3.2 细菌荧光素酶基因 *lux*

lux 是微生物全细胞传感器中运用最广泛的报告基因,它具有检测灵敏度高,检测速率快的特点。LuxAB 在 O₂ 的参与下,催化还原态的黄素单核苷酸 FMNH₂ 和长链脂肪醛分别为氧化态的 FMN 和长链脂肪酸,同时释放出波长为 450~490 nm 的蓝绿光。

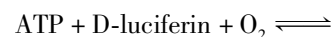


另外,*lux* 操纵子的其它基因 *luxCDE* 编码的脂肪酸还原酶复合物可以将脂肪酸又还原成脂肪醛,因此,将细菌荧光素酶操纵子区域 *luxABCDE* 作为报告基因全部整合到微生物全细胞传感器中

后,该发光反应不再需要外源底物的加入^[9],从而使 *lux* 具有在不破坏细胞壁的基础上进行检测的优势。King 等^[2]以 *luxABCDE* 作为报告基因,以 *P. fluorescens* 为宿主细胞,在不裂解细胞壁的情况下,15 min 内即可对苯进行检测,显示了较强的检测能力和应用潜力。

3.3 萤火虫荧光素酶基因 *luc*

萤火虫荧光素酶 Luc 是一种源于真核生物 *Photinus pyralis* 的单体蛋白。在 ATP 和 O₂ 存在的情况下,Luc 催化化学能 ATP 向光能转换。化学反应式如下:



luc 不需翻译后加工可直接参与催化反应,荧光产生强度与酶活性直接相关。因此,*luc* 具有高灵敏度和易检测的特点。以 *luc* 为报告基因的微生物全细胞传感器既可以用于土壤重金属污染物的原位监测,也可以用于土壤浸出液和土壤间隙水中重金属污染物的检测。需要注意的是,进行土壤原位检测和土壤浸出液检测时,应考虑检测环境中土壤颗粒有可能对 *luc* 造成荧光淬灭的情况。另外,由于 *luc* 催化的发光反应是耗能的,荧光的产生强度与微生物的生理状态息息相关,因此,繁育生理状态优良的微生物宿主菌是十分重要的^[22]。

3.4 其它报告基因

Fujimoto 等^[23]利用一种类胡萝卜素合成基因——球形烯单氧化酶基因 *crtA* 可以氧化(二甲基)球形烯为(二甲基)球形酮产生颜色变化的原理,通过敲除 *Rhodovulum sulfidophilum* 的 *crtA* 基因,在调控蛋白下游重新引入 *crtA* 基因的方法构建了一

种砷诱导的微生物全细胞传感器,砷诱导表达的 CrtA 蛋白可将 *Rhodovulum sulfidophilum* 产生的(二甲基)球形烯氧化为红色的(二甲基)球形酮。此方法根据颜色的变化在不需底物的情况下可以对 $5 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 的砷进行检测,且该方法直观、快速,具有较强的应急检测能力。另外,报告基因 *inaZ* 已经被用来研究微生物群体感应的信号分子酰基高丝氨酸内酯,此报告基因具有极高的检测灵敏度,在对检测灵敏度有较高要求情况下,*inaZ* 可以应用于重金属的生物可利用度检测^[24]。

4 重金属的生物可利用度的监测应用

4.1 生物可利用度

常用的化学方法(ICP-MS、ICP-AES等)是对环境中重金属总量进行检测,不能进行重金属的生物可利用度检测和风险评估。目前,可对重金属的生物可利用度进行评估的生物主要有微生物、植物、蚯蚓和蚊虫类,由于对重金属的摄取机制和生长环境等因素的不同,不同生物体所反映的重金属的生物可利用度是不同的。微生物作为生物可利用度检测的工具具有较明显的优势。首先,微生物在实验操作上具有简单、快捷和经济的特点;另外,微生物是土壤生态系统中重要的物质循环如重金属的转移、有机物的降解的唯一参与者,可以参与监测和解释这些过程。

微生物全细胞传感器是一种利用微生物细胞对重金属的可利用性,通过相应的信号产出反映微生物对重金属的利用情况的化学检测装置。生物可利用度(bioavailability)的定义是,在给定时间内,生物有机体环境周围能自由通过细胞膜的化合物量。与之接近的一个概念为 bioaccessibility,它是指理论上可以进入生物有机体细胞膜的化合物,但是它进入细胞受时间和空间条件的限制^[25]。然而在实际操作条件下,不可能对任意时间下的生物可利用度进行检测,因为传感器和化合物的响应是受时间条件限制的^[26]。近年来,随着众多重金属调控蛋白的发现和传感器检测条件的优化,已有许多研究对水体及土壤中生物可利用的多种重金属进行了检测(表3),检测范围在逐步加大,检测灵敏度在逐渐提高。

4.2 水中重金属生物可利用度

利用微生物全细胞传感器对水样品中 As^[19, 27] 和 Fe^[28] 的检测研究较多(表3)。Stocker 等^[19] 利用 *luxAB* 和 *P_{ars}-arsR* 构建的传感器细胞可以检测到水中 $4 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 的 As,检测最低值低于欧盟和美国水中

砷的最低安全标准 $10 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 。另外,作者还利用 *lacZ* 和双启动子 *P_{ars}-arsR-P_{ars}* 的重组质粒可以降低报告基因背景噪音的原理,制作了一种检测试纸,这种试纸可以对 As 浓度 $\geq 8 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 的水样品进行快速半定量检测,具有很强的实用价值。Trang 等^[27] 对 As 浓度 $\leq 10 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 和 $\geq 10 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 的 150 份水样品分别用 *E. coli* 传感器和原子吸收光谱(AAS)的方法进行了检测,结果表明,在 As 浓度 $\leq 10 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 样品中,*E. coli* 传感器的检测结果与化学检测结果相比仅有 8.0% 的假阴性率(以 $10 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 为污染标准),在 As 浓度 $\geq 10 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 的样品中,仅有 2.0% 的假阳性率(以 $10 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 为污染标准),显示出较强的准确性。这可能是由于在相对简单的水环境中,影响重金属进入细胞膜和传感器检测的因素较少,用微生物全细胞传感器测定的重金属生物可利用度几乎可以接近重金属总量。但是在较为极端如多悬浮颗粒和高金属螯合物浓度的水环境中,微生物对重金属的生物可利用度是有很大的差别的,不能仅凭重金属的化学总量去衡量微生物及植物的生物可利用度^[28]。

4.3 土壤重金属生物可利用度

水是维持细胞生理活性的必需物质,土壤孔隙水中的重金属是移动性最强及生物相关性最高的,一般认为,土壤环境中生物可利用的重金属即指土壤孔隙水中离子态的能直接被微生物和植物吸收从而产生环境风险重金属^[29, 30]。目前,基于微生物全细胞传感器的土壤重金属的生物可利用度检测的方法主要是土壤-水提取液分析法和土壤悬浮液分析法。研究表明,由于土壤质地、温度、湿度、pH、有机质、氧化还原电势、阳离子可交换量和金属螯合物等因素的影响,土壤中水溶性的离子态重金属往往只占重金属总量的很小部分,约为 0.1% ~ 50%^[1, 31~33],大部分的重金属被吸附于土壤颗粒之上,是不能被生物利用的。

当可溶性的重金属被水提取出来以后,一般情况下,土壤-水提取液中重金属总量的大部分是可以被生物利用的,其最高生物可利用度可占总量的 80% ~ 100%^[33]。但是,在较为特殊的环境,土壤-水提取液中可利用的重金属也可能很低。在腐殖质地表土中,土壤-水提取液中的生物可利用的 Cu 只占 Cu 总量的 4% ~ 6%,这可能是腐殖质土壤有机质含量较高,有机质及金属离子被水溶解于土壤-水提取液后,会进一步发生螯合作用从而影响土壤-水提取液中可利用的金属离子的含量^[34]。

也有研究表明,并非只有离子态的重金属是生

物可利用的. Brandt 等^[35]发现,当向土壤添加含 Cu 肥料时,微生物对 Cu 的生物可利用度会增加,而 Cu^{2+} 本身的活性却急剧下降. 与测定土壤-水提取液相比,以土壤悬浮液直接测定 Cd 和 Pb 的生物可

利用度可以高出 115 倍和 40 倍^[36]. 这些结果都说明,并非只有离子态的重金属是生物可利用的. 因此,对生物可利用的重金属形态的定义需要从生物学角度进行进一步的阐明^[37].

表 3 基于微生物全细胞传感器的重金属生物可利用度检测

Table 3 Monitoring of metal bioavailability based on microbial whole-cell biosensor

调控蛋白基因	响应元素	报告基因	宿主	响应浓度	诱导时间	文献
<i>arsR</i>	As^{3+}	<i>yfp</i>	<i>E. coli</i>	$0.1 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1} \sim 8 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$	2 h	[38]
	As^{5+}			$1 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1} \sim 25 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$		
	As	<i>luxAB</i>	<i>E. coli</i>	$0.1 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1} \sim 0.4 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$		[27]
	As	<i>luxAB</i>	<i>E. coli</i>	$1 \text{ fmol} \cdot \text{L}^{-1} \sim 10 \text{ nmol} \cdot \text{L}^{-1}$	3 h	[39]
	Sb			$1 \text{ fmol} \cdot \text{L}^{-1} \sim 10 \text{ nmol} \cdot \text{L}^{-1}$	30 min	
	As^{3+}	<i>luc</i>	<i>E. coli</i>	$0.033 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1} \sim 1 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$	90 min	[40]
	As^{5+}			$33 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1} \sim 33\,000 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$		
	Cd			$10 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1} \sim 10\,000 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$		
	Sb			$0.1 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1} \sim 100 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$		
	Cd	<i>gfp</i>	<i>E. coli</i>	$0.0001 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1} \sim 500 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$	2 h	[20]
<i>cadC</i>	Pb			$0.01 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1} \sim 10 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$		
	Sb			$0.0001 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1} \sim 10 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$		
<i>chrB</i>	CrO_4^{2-}	<i>luc</i>	<i>C. metallidurans</i>	$\geq 50 \text{ nmol} \cdot \text{L}^{-1}$	2 h	[36]
	$\text{Cr}_2\text{O}_7^{2-}$			$\geq 30 \text{ nmol} \cdot \text{L}^{-1}$		
<i>copA</i>	Ag	<i>luc</i>	<i>E. coli</i>	$0.003 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1} \sim 0.3 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$	2 h	[41]
	Cu			$0.3 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1} \sim 300 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$		
	Cu	<i>luxCDABE</i>	<i>E. coli</i>	$24 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$	2 h	[42]
<i>merR</i>	Hg	<i>luxCDABE</i>	<i>E. coli</i>	$0.03 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$	2 h	[42]
<i>merT</i>	Hg	<i>luc</i>	<i>E. coli</i> Tn21	$0.1 \text{ fmol} \cdot \text{L}^{-1} \sim 1 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$	1 h	[43]
<i>merRB</i>	MeHg	<i>luxAB</i>	<i>E. coli</i>	$\geq 0.01 \text{ nmol} \cdot \text{L}^{-1}$	40 min	[44]
<i>merRTPA</i>	Hg	<i>luxCDABE</i>	<i>E. coli</i>	$0.05 \text{ nmol} \cdot \text{L}^{-1} \sim 0.5 \text{ nmol} \cdot \text{L}^{-1}$	80 min	[45]
<i>pbrR</i>	Pb	<i>gfp</i>	<i>E. coli</i>	$50 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1} \sim 250 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$		[46]
	Pb	<i>luxCDABE</i>	<i>C. metallidurans</i>	$500 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1} \sim 5 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$	3 h	[47]
<i>zntR</i>	Cd	<i>luc</i>	<i>E. coli</i>	$0.05 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1} \sim 30 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$	2 h	[36]
	Hg			$0.01 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1} \sim 1 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$		
	Zn			$40 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1} \sim 15\,000 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$		
<i>cnr</i>	Ni	<i>luxCDABE</i>	<i>metallidurans</i> CH34	$100 \text{ nmol} \cdot \text{L}^{-1} \sim 60 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$	4 ~ 6 h	[48]
	Co	<i>luxCDAE</i>		$9 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1} \sim 400 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$		

5 微生物全细胞传感器的发展方向与结论

5.1 提高检测灵敏度和特异性

自 Selifonova 等^[49]第一次构建了检测重金属汞的微生物全细胞传感器以后,在将近 20 年的时间里,已有众多检测重金属生物可利用度的微生物全细胞传感器应用于环境样品检测,但除了少数几种传感器的检测灵敏度可以达到 $\text{fmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 级外^[39,43],大部分微生物全细胞传感器的检测灵敏度均为 $\text{nmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 级或 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 级. 而即使在污染严重的土壤环境中,生物可利用的重金属仅占重金属总量的 0.1% ~ 50%^[1, 31~33],这就对传感器的检测灵敏度提出了较高的要求. 另外,微生物细胞的重金属调控蛋白并非完全特异的(表 3),只有少数重金属调控是相对特异的,这将导致微生物全细胞传感器在

实际环境检测中会受其他元素的干扰. 因此,提高传感器的检测灵敏度和特异性是亟待解决的问题. 笔者认为,对于传感器检测灵敏度和特异性的提高,总的来说可以从两个方面去考虑,即提高重金属在细胞内的积累量和进行重金属调控蛋白的分子生物学水平改造.

5.1.1 提高重金属在细胞内的积累量

由于大多数传感器是对微生物可利用的即胞内的重金属进行检测,提高重金属在细胞内的积累量,可在同样的检测浓度下提高调控蛋白对重金属的识别数量,这是提高传感器灵敏度的有效方法之一. Hynninen 等^[50]通过敲除 *Pseudomonas putida* KT2440 的 Zn/Cd/Pb 主要外排系统,使 Zn/Cd/Pb 在胞内积累,从而将传感器的灵敏度在原来的基础上提高了 45 倍. Selifonova 等^[49]的实验结果也表

明,在不携带汞还原蛋白 MerAD 的重组质粒中引入汞摄取蛋白 MerTPC 可以增加细胞内 Hg(II) 的含量,从而可以将微生物传感器对汞的检测灵敏度提高两倍. 同样地,通过敲除 Cu/Ag ATPase 外排蛋白 CopA,传感器对 Cu/Ag 的检测灵敏度分别提高了 15 倍和 8 倍^[51].

5.1.2 重金属调控蛋白的分子生物学水平改造

在长期进化过程中,微生物存在多种抵抗复杂外界环境的重金属抗性机制,通过增加重金属摄取蛋白和敲除外排蛋白是提高传感灵敏度的方法之一,但由于重金属调控蛋白的非完全特异性,通过增加重金属摄取蛋白和敲除外排蛋白不能提高传感器的检测特异性. 调控蛋白对重金属的识别和结合能力直接决定着传感器的检测灵敏度和特异性,对调控蛋白在分子生物学水平进行改造是提高传感器特异性和灵敏度最直接和有效的方法,应加以重视.

在有机物检测的传感器中,进行调控蛋白改造的研究较为成熟. Beggah 等^[52]通过易错 PCR 的方法对 2-羟基联苯转录调控蛋白 HbpR 的 A 亚基进行了突变筛选,其中一突变株的 HbpR 对分析物的识别能力提高了 20 倍. Shin^[53]通过对萘和水杨酸的转录调控蛋白 NahR 的诱导物识别区域和 C-末端多聚化区域进行定点突变,同样将传感器的检测灵敏度提高了近 50 倍. 对于重金属转录调控蛋白,Desilva 等^[54]发现,改变调控蛋白半胱氨酸的排列位置可以增强金属调控蛋白的响应特异性. Cu/Ag 转录调控蛋白 CueR 的单个氨基酸的突变可以消除它对 Ag 的响应能力,从而提高了它对 Cu 的响应特异性^[53].

5.2 优化检测过程

设计合理的检测过程是保证微生物全细胞传感

器检测结果准确的前提. 从传感器细胞的构建到实际样品的检测,影响微生物全细胞传感器检测结果的因素众多,这些因素包括:宿主细胞种类、宿主细胞的状态、报告基因类别、培养基组成、无机离子配体含量、pH、诱导时间、诱导温度、样品基质等^[10]. 优化检测过程,尽可能地消除这些因素对提高传感器检测准确度的影响是十分必要的.

合理的实验设计可以极大提高传感器的灵敏度和准确性. 例如,当以 *lux* 为报告基因时,减少 2 个数量级的诱导细胞浓度可以提高 *E. coli* 传感器对 Hg 检测的 2 个数量级灵敏度^[33]; 当 $\text{pH} \geq 6$ 时, $1 \text{ ng} \cdot \text{L}^{-1}$ 的 Hg 不能诱导传感器细胞 *luxCDABE* 荧光信号的产生,但当 $\text{pH} \approx 5$ 时, $1 \text{ ng} \cdot \text{L}^{-1}$ 的 Hg 可以激发 100 倍的 *luxCDABE* 荧光信号的产生^[56]; 金属螯合物在土壤环境中广泛存在, Cu^{2+} 与金属螯合物 EDTA 会减低 Cu^{2+} 的活性,从而降低了传感器细胞对 Cu^{2+} 的利用能力^[57]. 实际的实验操作过程需要研究人员根据具体的实验情况去摸索和确定,笔者在此不一一赘述.

5.3 加强原位和在线监测

加强重金属、有机物及其它毒性污染物的原位和在线监测是微生物全细胞传感器的发展趋势,已有越来越多的微生物全细胞传感器被应用于重金属等污染物的原位和在线监测(表 4). 相比土壤-水提取液分析和土壤悬浮液分析,实现原位和在线监测有以下优点:首先,原位和在线检测可以真实反映重金属及其他污染物土壤及水体的分布. 其次,原位和在线监测可以减少因样品挥发、运输损失和样品前处理等因素造成的误差,从而更加真实地反映重金属的生物可利用度. 此外,原位和在线监测可以对污染突发事故进行及时预警.

表 4 微生物全细胞传感器对重金属生物可利用度的原位和在线监测

Table 4 Monitoring of metal bioavailability *in situ* or on line based on microbial whole-cell biosensor

宿主菌	报告基因	分析物	检测范围	监测方式	样品特征	文献
<i>E. coli</i>	<i>lux</i>	Cd^{2+}	$\geq 0.5 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$	原位、在线监测	污染源	[58]
		As^{3+}	$\geq 5.0 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$			
<i>Ralstonia eutropha</i>	<i>lux</i>	Ni^{2+}	$\geq 0.1 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$	原位监测	污染土壤	[48]
		Co^{2+}	$\geq 9.0 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$			
<i>E. coli</i>	<i>lux, gfp, luc</i>	As^{3+} , As^{5+}	$0 \sim 0.5 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ (<i>lux</i>) $0.1 \sim 0.6 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ (<i>gfp</i>)	原位监测	饮用水	[19]
<i>E. coli</i>	<i>lacZ</i>	Cd^{2+}	$25 \text{ nmol} \cdot \text{L}^{-1}$ (水溶液) $5.34 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ (土壤)	原位、在线监测	水溶液、土壤	[59]
<i>E. coli</i>	<i>luc, lux</i>	Hg^{2+} , As , Cu^{2+} , Zn^{2+} , Pb^{2+} , Cd^{2+}	$20 \sim 400 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$	在线监测	污染河水	[41]
<i>S. cerevisiae</i> (I)	<i>lacZ</i>	Cu^{2+}	$1.6 \sim 6.35 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$	原位、在线监测	城市污水	[60]
<i>S. cerevisiae</i> (II)			$0.05 \sim 0.35 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$			
<i>Bacillus megaterium</i>	<i>egfp</i>	Zn^{2+}	$\geq 1 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$	在线监测	水溶液	[61]
<i>Alcaligenes eutrophus</i>	<i>luxCDABE</i>	Cu^2	$\geq 1 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$	在线监测	水溶液	[62]

Magrisso 等^[1]借助对宿主细胞和检测土壤的分离进行微生物全细胞传感器的土壤原位检测的方法是值得借鉴的. 他们利用 80% 的细胞分离液, 结合密度梯度离心的方法成功将暴露充分的传感器细胞 *C. metallidurans* AE1433 从检测土壤分离(图 2), 极大地消除了土壤颗粒对检测结果的影响, 为微生物全细胞传感器的原位检测研究提供了有效的方法支持, 应加以推广和利用.

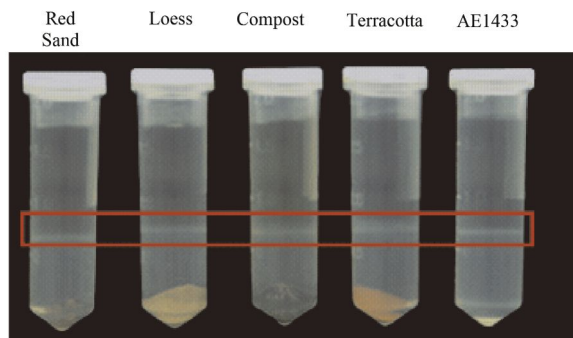


图 2 传感器细胞 *C. metallidurans* AE1433 与不同类型土壤的密度梯度离心分离效果^[1]

Fig. 2 Separation of *C. metallidurans* AE1433 bioreporter cells (frame) from different soils by density gradient centrifugation

在原位和在线监测过程中需要注意的是, 在相对极端的监测环境, 筛选土著菌作为传感器细胞的宿主以保障宿主的生存能力是十分必要的. 其中, *Ralstonia metallidurans* CH34 是一株研究较早的重金属广谱抗性菌株, 其重金属调控蛋白也基本被阐明, 是进行重金属原位和在线监测宿主菌的良好选择. 另外, 受土壤含水量、微生物分布和土壤密度的影响, 传感器细胞的原位监测能力也会受到限制^[63], 这些因素在实际操作过程中都是需要考虑的.

目前, 越来越多的微生物全细胞传感器实现了环境污染物的原位及在线监测, 也有针对污染物进行快速检测、准确检测的试剂盒得以开发. 但是, 目前的微生物全细胞传感器几乎仅限于对传统的毒性较强的重金属的监测, 为扩大微生物全细胞传感器的应用范围, 探究更全面的重金属抗性机制是开发新的传感器的重要途径. 另外, 建立标准化的检测操作步骤和标准化的生物可利用度评估方法对微生物全细胞传感器的全面推广和应用也具有十分重要的意义.

参考文献:

[1] Magrisso S, Erel Y, Belkin S. Microbial reporters of metal bioavailability[J]. Microbial Biotechnology, 2008, 1(4): 320-

330.

- [2] King J M H, DiGrazia P M, Applegate B, et al. Rapid, sensitive bioluminescent reporter technology for naphthalene exposure and biodegradation[J]. Science, 1990, 249(4970): 778-781.
- [3] Belkin S. Microbial whole-cell sensing systems of environmental pollutants[J]. Current Opinion in Microbiology, 2003, 6(3): 206-212.
- [4] Su L, Jia W Z, Hou C J, et al. Microbial biosensors: a review [J]. Biosensors and Bioelectronics, 2011, 26(5): 1788-1799.
- [5] Belkin S, Smulski D R, Vollmer A C, et al. Oxidative stress detection with *Escherichia coli* harboring a *katG*::*lux* fusion[J]. Applied and Environmental Microbiology, 1996, 62(7): 2252-2256.
- [6] Bulich A A, Isenberg D L. Use of the luminescent bacterial system for the rapid assessment of aquatic toxicity [J]. ISA Transactions, 1981, 20(1): 29-33.
- [7] Bechor O, Smulski D R, Van Dyk T K, et al. Recombinant microorganisms as environmental biosensors: pollutants detection by *Escherichia coli* bearing *fabA*::*lux* fusions [J]. Journal of Biotechnology, 2002, 94(1): 125-132.
- [8] Vollmer A C, Belkin S, Smulski D R, et al. Detection of DNA damage by use of *Escherichia coli* carrying *recA*::*lux*, *uvrA*::*lux*, or *alkA*::*lux* reporter plasmids [J]. Applied and Environmental Microbiology, 1997, 63(7): 2566-2571.
- [9] Borisov S M, Wolfbeis O S. Optical Biosensors [J]. Chemical Reviews, 2008, 108(2): 423-461.
- [10] Hynninen A, Virta M. Whole-Cell bioreporters for the detection of bioavailable metals [J]. Advances in Biochemical Engineering/Biotechnology, 2010, 118: 31-64.
- [11] Brown N L, Stoyanov J V, Kidd S P, et al. The MerR family of transcriptional regulators [J]. FEMS Microbiology Reviews, 2003, 27(2-3): 145-163.
- [12] Busenlehner L S, Pennella M A, Giedroc D P. The SmtB/ArsR family of metallorepressors: structural insights into prokaryotic metal resistance [J]. FEMS Microbiology Reviews, 2003, 27(2-3): 131-143.
- [13] Silver S, Phung L T. A bacterial view of the periodic table: genes and proteins for toxic inorganic ions [J]. Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology, 2005, 32(11-12): 587-605.
- [14] Giedroc D P, Arunkumar A I. Metal sensor proteins: nature's metalloregulated allosteric switches [J]. Dalton Transaction, 2007, (29): 3107-3120.
- [15] Ramírez-Díaz M I, Díaz-Pérez C, Vargas E, et al. Mechanisms of bacterial resistance to chromium compounds [J]. Biometals, 2008, 21(3): 321-32.
- [16] Rensing C, Grass G. *Escherichia coli* mechanisms of copper homeostasis in a changing environment [J]. FEMS Microbiology Reviews, 2003, 27(2-3): 197-213.
- [17] Leitch S, Bradley M J, Rowe J L, et al. Nickel-Specific response in the transcriptional regulator, *Escherichia coli* Nikr

- [J]. *Journals of the American Chemical Society*, 2007, **129** (16): 5085-5095.
- [18] Iwig J S, Leitch S, Herbst R W, *et al.* Ni(II) and Co(II) sensing by *Escherichia coli* RcnR[J]. *Journal of the American Chemical Society*, 2008, **130**(24): 7592-7606.
- [19] Stocker J, Balluch D, Gsell M, *et al.* Development of a set of simple bacterial biosensors for quantitative and rapid measurements of arsenite and arsenate in potable water[J]. *Environmental Science & Technology*, 2003, **37**(20): 4743-4750.
- [20] Liao V H C, Chien M T, Tseng Y Y, *et al.* Assessment of heavy metal bioavailability in contaminated sediments and soils using green fluorescent protein-based bacterial biosensors[J]. *Environmental Pollution*, 2006, **142**(1): 17-23.
- [21] Yaqi K. Applications of whole-cell bacterial sensors in biotechnology and environmental science[J]. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 2007, **73**(6): 1251-1258.
- [22] Jansson J K. Marker and reporter genes: illuminating tools for environmental microbiologists[J]. *Current Opinion in Microbiology*, 2003, **6**(3): 310-316.
- [23] Fujimoto H, Wakabayashi M, Yamashiro H, *et al.* Whole-cell arsenite biosensor using photosynthetic bacterium *Rhodovulum sulfidophilum*. *Rhodovulum sulfidophilum* as an arsenite biosensor[J]. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 2006, **73**(2): 332-338.
- [24] Wood D W, Gong F, Daykin M M, *et al.* *N*-acyl-homoserine lactone-mediated regulation of phenazine gene expression by *Pseudomonas aureofaciens* 30-84 in the wheat rhizosphere[J]. *Journals of Bacteriology*, 1997, **179**(24): 7663-7670.
- [25] Semple K T, Doick K J, Jones K C, *et al.* Defining bioavailability and bioaccessibility of contaminated soil and sediment is complicated[J]. *Environmental Science & Technology*, 2004, **38**(12): 228A-231A.
- [26] Nguyen M D, Risgaard-Petersen N, Sørensen J, *et al.* Rapid and sensitive *Nitrosomonas europaea* biosensor assay for quantification of bioavailable ammonium *sensu strictu* in soil[J]. *Environmental Science & Technology*, 2011, **45**(3): 1048-1054.
- [27] Trang P T K, Berg M, Viet P H, *et al.* Bacterial bioassay for rapid and accurate analysis of arsenic in highly variable groundwater samples[J]. *Environmental Science & Technology*, 2005, **39**(19): 7625-7630.
- [28] Boyanapalli R, Bullerjahn G S, Pohl C, *et al.* Luminescent whole-cell cyanobacterial bioreporter for measuring Fe availability in diverse marine environments[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2007, **73**(3): 1019-1024.
- [29] Giller K E, Witter E, McGrath S P. Heavy metals and soil microbes[J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2009, **41**(10): 2031-2037.
- [30] Worms I, Simon D F, Hassler C S, *et al.* Bioavailability of trace metals to aquatic microorganisms: importance of chemical, biological and physical processes on biouptake[J]. *Biochimie*, 2006, **88**(11): 1721-1731.
- [31] Magrisso S, Belkin S, Erel Y. Lead bioavailability in soil and soil components[J]. *Water, Air, and Soil Pollution*, 2009, **202** (1-4): 315-323.
- [32] Ivask A, Green T, Polyak B, *et al.* Fiber-optic bacterial biosensors and their application for the analysis of bioavailable Hg and As in soils and sediments from Aznalcollar mining area in Spain[J]. *Biosensors and Bioelectronics*, 2007, **22**(7): 1396-402.
- [33] Fu Y J, Chen W L, Huang Q Y. Construction of two *lux*-tagged Hg²⁺-specific biosensors and their luminescence performance[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2008, **79**(3): 363-370.
- [34] Brandt K K, Petersen A, Holm P E, *et al.* Decreased abundance and diversity of culturable *Pseudomonas* spp. populations with increasing copper exposure in the sugar beet rhizosphere[J]. *FEMS Microbiology Ecology*, 2006, **56**(2): 281-291.
- [35] Brandt K K, Holm P E, Nybroe O. Evidence for bioavailable copper-dissolved organic matter complexes and transiently increased copper bioavailability in manure-amended soils as determined by bioluminescent bacterial biosensors[J]. *Environmental Science & Technology*, 2008, **42**(8): 3102-3108.
- [36] Ivask A, Virta M, Kahru A. Construction and use of specific luminescent recombinant bacterial sensors for the assessment of bioavailable fraction of cadmium, zinc, mercury and chromium in the soil[J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2002, **34**(10): 1439-1447.
- [37] Smolders E, Oorts K, Van Sprang P, *et al.* Toxicity of trace metals in soil as affected by soil type and aging after contamination: using calibrated bioavailability models to set ecological soil standards[J]. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 2009, **28**(8): 1633-1642.
- [38] Hu Q, Li L, Wang Y J, *et al.* Construction of WCB-11: A novel *phi*YFP arsenic-resistant whole-cell biosensor[J]. *Journal of Environmental Sciences*, 2010, **22**(9): 1469-1474.
- [39] Ramanathan S, Shi W P, Rosen B P, *et al.* Sensing antimonite and arsenite at the subatomole level with genetically engineered bioluminescent bacteria[J]. *Analytical Chemistry*, 1997, **69** (16): 3380-3384.
- [40] Tauriainen S, Virta M, Chang W, *et al.* Measurement of firefly luciferase reporter gene activity from cells and lysates using *Escherichia coli* arsenite and mercury sensors[J]. *Analytical Biochemistry*, 1999, **272**(2): 191-198.
- [41] Hakkila K, Green T, Leskine P, *et al.* Detection of bioavailable heavy metals in EILATox-Oregon samples using whole-cell luminescent bacterial sensors in suspension or immobilized onto fiber-optic tips[J]. *Journal of Applied Toxicology*, 2004, **24** (5): 333-342.
- [42] Ivask A, Rõlova T, Kahru A. A suite of recombinant luminescent bacterial strains for the quantification of bioavailable heavy metals and toxicity testing[J]. *MBC Biotechnology*, 2009, **9**: 41.
- [43] Virta M, Lampinen J, Karp M. A luminescence-based mercury

- biosensor[J]. Analytical Chemistry, 1995, **67**(3): 667-669.
- [44] Nagata T, Muraoka T, Kiyono M, *et al.* Development of a luminescence-based biosensor for detection of methylmercury[J]. Journal of Toxicological Sciences, 2010, **35**(2): 231-234.
- [45] Pepi M, Reniero D, Baldi B, *et al.* A comparison of *mer::lux* whole cell biosensors and moss, a bioindicator, for estimating mercury pollution[J]. Water, Air, and Soil Pollution, 2006, **173**(1-4): 163-175.
- [46] Chakraborty T, Babu P G, Alam A, *et al.* GFP expressing bacterial biosensor to measure lead contamination in aquatic environment[J]. Current Science, 2008, **94**(6): 800-805.
- [47] Corbisier P, Van der Lelie D, Borremans B, *et al.* Whole cell- and protein-based biosensors for the detection of bioavailable heavy metals in environmental samples[J]. Analytica Chimica Acta, 1999, **387**(3): 235-244.
- [48] Tibarzawa C, Corbisier P, Mench M, *et al.* A microbial biosensor to predict bioavailable nickel in soil and its transfer to plants[J]. Environmental Pollution, 2001, **113**(1): 19-26.
- [49] Selifonova O, Burlage R, Barkay T. Bioluminescent sensors for detection of bioavailable Hg(II) in the environment[J]. Applied and Environmental Microbiology, 1993, **59**(9): 3083-3090.
- [50] Hynninen A, Tönismann K, Virta M. Improving the sensitivity of bacterial bioreporters for heavy metals[J]. Bioengineered Bugs, 2010, **1**(2): 132-138.
- [51] Stoyanov J V, Magnani D, Solioz M. Measurement of cytoplasmic copper, silver, and gold with a *lux* biosensor shows copper and silver, but not gold, efflux by the CopA ATPase of *Escherichia coli*[J]. FEBS Letters, 2003, **546**(2-3): 391-394.
- [52] Beggah S, Vogne C, Zenaro E, *et al.* Mutant HbpR transcription activator isolation for 2-chlorobiphenyl via green fluorescent protein-based flow cytometry and cell sorting[J]. Microbial Biotechnology, 2008, **1**(1): 68-78.
- [53] Shin H J. Development of highly-sensitive microbial biosensors by mutation of the *nahR* regulatory gene[J]. Journal of Biotechnology, 2010, **150**(2): 246-250.
- [54] DeSilva T M, Veglia G, Porcelli F, *et al.* Selectivity in heavy metal-binding to peptides and proteins[J]. Biopolymers, 2002, **64**(4): 189-197.
- [55] Stoyanov J V, Brown N L. The *Escherichia coli* copper-responsive *copA* promoter is activated by gold[J]. Journal of Biological Chemistry, 2003, **278**(3): 1407-1410.
- [56] Golding G R, Sparling R, Kelly C A. Effect of pH on intracellular accumulation of trace concentrations of Hg(II) in *Escherichia coli* under anaerobic conditions, as measured using a *mer-lux* bioreporter[J]. Applied and Environmental Microbiology, 2008, **74**(3): 667-675.
- [57] Nybroe O, Brandt K K, Ibrahim Y M, *et al.* Differential bioavailability of copper complexes to bioluminescent *Pseudomonas fluorescens* reporter strains[J]. Environmental Toxicology and Chemistry, 2008, **27**(11): 2246-2252.
- [58] Charrier T, Chapeau C, Bendria L, *et al.* A multi-channel bioluminescent bacterial biosensor for the on-line detection of metals and toxicity. Part II: technical development and proof of concept of the biosensor[J]. Analytical and Bioanalytical Chemistry, 2011, **400**(4): 1061-1070.
- [59] Biran I, Babai R, Levkov K, *et al.* Online and *in situ* monitoring of environmental pollutants: electrochemical biosensing of cadmium[J]. Environmental Microbiology, 2000, **2**(3): 285-290.
- [60] Tag K, Riedel K, Bauer H J, *et al.* Amperometric detection of Cu²⁺ by yeast biosensors using flow injection analysis (FIA)[J]. Sensors and Actuators B: Chemical, 2007, **122**(2): 403-409.
- [61] Date A, Pasini P, Daunert S. Construction of spores for portable bacterial whole-cell biosensing systems[J]. Analytical Chemistry, 2007, **79**(24): 9391-9397.
- [62] Leth S, Maltoni S, Simkus R, *et al.* Engineered bacteria based biosensors for monitoring bioavailable heavy metals[J]. Electroanalysis, 2002, **14**(1): 35-42.
- [63] Burmølle M, Hansen L H J, Sørensen S J. Reporter gene technology in soil ecology; detection of bioavailability and microbial interactions[M]. Heidelberg: Springer-Verlag, 2006. 397-419.

CONTENTS

Characteristics of Total Gaseous Mercury Concentrations at a Rural Site of Yangtze Delta, China	DOU Hong-ying, WANG Shu-xiao, WANG Long, <i>et al.</i> (1)
Compositions of Organic Acids in PM ₁₀ Emission Sources in Xiamen Urban Atmosphere	YANG Bing-yu, HUANG Xing-xing, ZHENG An, <i>et al.</i> (8)
Analysis on Water-soluble Inorganic Ions in the Atmospheric Aerosol of Xinglong	LI Xing-ru, SONG Ai-li, WANG Ying-feng, <i>et al.</i> (15)
Effects of Gaseous Compositions the on Simultaneous Removal of NO _x and SO ₂ from Simulated Flue Gas by Ammonia Absorption	WANG Hong, ZHU Tian-le, WANG Mei-yan (21)
Comparing the Ammonia Volatilization Characteristic of Two Typical Paddy Soil with Total Wheat Straw Returning in Taihu Lake Region	WANG Jun, WANG De-jian, ZHANG Gang, <i>et al.</i> (27)
Real-Time Analysis of Polyvinyl Chloride Thermal Decomposition/Combustion Products with Single Photon Ionization/Photoelectron Ionization Online Mass Spectrometer	CHEN Wen-dong, HOU Ke-yong, CHEN Ping, <i>et al.</i> (34)
Surface Characteristics of Alkali Modified Activated Carbon and the Adsorption Capacity of Methane	ZHANG Meng-zhu, LI Lin, LIU Jun-xin, <i>et al.</i> (39)
Distribution of Dimethylsulfoxide(DMSO) in the Surface Water of the Yellow Sea and the Bohai Sea	WANG Min, ZHANG Hong-hai, YANG Gui-peng (45)
Resolving Characteristic of CDOM by Excitation-Emission Matrix Spectroscopy Combined with Parallel Factor Analysis in the Seawater of Outer Yangtze Estuary in Autumn in 2010	YAN Li-hong, CHEN Xue-jun, SU Rong-guo, <i>et al.</i> (51)
Estimation and Forecast of Chlorophyll a Concentration in Taihu Lake Based on Ensemble Square Root Filters	LI Yuan, LI Yun-mei, WANG Qiao, <i>et al.</i> (61)
Research of Hyperspectral Reconstruction Based on HJ1A-CCD Data	GUO Yu-long, LI Yun-mei, ZHU Li, <i>et al.</i> (69)
Research on the Sensitivity of Geochemical of Underground River in Chongqing Xueyu Cave	XU Shang-quan, YANG Ping-heng, YIN Jian-jun, <i>et al.</i> (77)
Bivariate Statistical Model for Calculating Phosphorus Input Loads to the River from Point and Nonpoint Sources	CHEN Ding-jiang, SUN Si-yang, JIA Ying-na, <i>et al.</i> (84)
Temporal and Spatial Variations of Total Nitrogen and Total Phosphorus in the Typical Reaches of Qinhuai River	LI Yue-fei, XIA Yong-qiu, LI Xiao-bo, <i>et al.</i> (91)
Derivation and Application of Sediment Quality Criteria of Cd and Hg for the Xiangjiang River	JIANG Bo-feng, SANG Lei-xin, SUN Wei-ling, <i>et al.</i> (98)
Distribution and Pollution Assessment of Heavy Metals in Soil of Relocation Areas from the Danjiangkou Reservoir	ZHANG Lei, QIN Yan-wen, ZHENG Bing-hui, <i>et al.</i> (108)
Concentrations of Soil Heavy Metals and Their Spatial Distribution in the Surrounding Area of Fenhe Reservoir	LI Jin-chang, ZHANG Hong, SHI Wei (116)
Distribution and Health Risk Assessment of Heavy Metals of Groundwaters in the Irrigation District of the Lower Reaches of Yellow River	ZHANG Yan, LI Fa-dong, OUYANG Zhu, <i>et al.</i> (121)
Concentrations and Distribution of Organochlorine Pesticides in the Surface Sediments of Jiaozhou Bay, Taozi Bay and Sishili Bay	LIU Yi-kai, ZHONG Guang-cai, TANG Jian-hui, <i>et al.</i> (129)
Choice of Macroinvertebrate Metrics for Constructing a Benthic-Index of Biotic Integrity Based on the Disturbance Gradients in the Qinjiang River Basin	LU Dong-qi, ZHANG Yong, CAI De-suo, <i>et al.</i> (137)
Isolation and Identification of <i>Marinobacter adhaerens</i> HY-3 and Its Allelopathy on <i>Skeletonema costatum</i>	WANG Hong-bin, CHEN Wen-hui, LI Xin-shu, <i>et al.</i> (145)
Effects of the Rice Straw on <i>Microcystis aeruginosa</i> Analyzed by Different Physiological Parameters	SU Wen, KONG Fan-xiang, YU Yang, <i>et al.</i> (150)
Effects of Allelochemicals Ethyl Cinnamate on the Growth and Physiological Characteristics of <i>Chlorella pyrenoidosa</i>	GAO Li-li, GUO Pei-yong, SU Guang-ming, <i>et al.</i> (156)
Hydraulic Simulation and Safety Assessment of Secondary Water Supply System with Anti-Negative Pressure Facility	WANG Huan-huan, LIU Shu-ming, JIANG Shuai, <i>et al.</i> (163)
Effect of Relative Molecular Mass Distribution and Hydrophilicity/Hydrophobicity of NOM on Membrane Fouling in MF-combined Process	HU Meng-liu, LIN Jie, XU Guang-hong, <i>et al.</i> (169)
Effect of Permeabilization on Sulfate Reduction Activity of <i>Desulfovibrio vulgaris</i> Hildenborough Cells in the Presence of Different Electron Donors	XU Hui-wei, ZHANG Xu, LI Li-ming, <i>et al.</i> (177)
Dechlorination of HCB by Bimetals Based on Zero Valent Iron	ZENG Xian-wei, LIU Jian-guo, NIE Xiao-qin (182)
Study on Kinetics of Photoelectrocatalytic Degradation of Supported TiO ₂ on Malachite Green	ZHANG Xiao-na, ZHOU Shao-qi, ZHOU Xiao (188)
Measurement and Analysis of Micropore Aeration System's Oxygenating Ability Under Operation Condition in Waste Water Treatment Plant	WU Yuan-yuan, ZHOU Xiao-hong, SHI Han-chang, <i>et al.</i> (194)
Influence of Microbubble and Its Generation Process on Mixed Liquor Properties of Activated Sludge	LIU Chun, MA Jin, ZHANG Lei, <i>et al.</i> (198)
Impact of Different Nitrogen Concentrations on the N ₂ O Production in the Denitrification Process of Granular Sludge	HAN Xue, GAO Da-wen (204)
Effect of Simulated Heavy Metal Leaching Solution of Electroplating Sludge on the Bioactivity of <i>Acidithiobacillus ferrooxidans</i>	XIE Xin-yuan, SUN Pei-de, LOU Ju-qing, <i>et al.</i> (209)
Characteristic and Ion Exchanges During Cu ²⁺ and Cd ²⁺ Biosorption by <i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	BAI Jie-qiong, YIN Hua, YE Jin-shao, <i>et al.</i> (217)
Sorption of Nitrobenzene to Anionic Surfactant Modified Layered Double Hydroxides	XIA Yan, ZHU Run-liang, TAO Qi, <i>et al.</i> (226)
Study on Phosphate Removal and Recovery by Activated Alumina	MENG Wen-na, XIE Jie, WU De-yi, <i>et al.</i> (231)
Spatial Distribution of Inhalable Particulate and Association with Respiratory Disease in Beijing City	YANG Wei, ZHAO Wen-ji, GONG Zhao-ning, <i>et al.</i> (237)
Pollution Levels of Perfluorochemicals in Chicken Eggs and Duck Eggs from the Markets in Beijing	QI Yan-jie, ZHOU Zhen, SHI Ya-li, <i>et al.</i> (244)
Residual Levels of Pesticides in Freshwater Fish from Beijing Aquatic Product Markets and Health Risk Assessment	YU Zhi-yong, JIN Fen, SUN Jing-fang, <i>et al.</i> (251)
Characterizing the Toxicity Interaction of the Binary Mixture Between DMSO and Pesticide by the Multi-Effect Residual Analysis (MERA)	HUO Xiang-chen, LIU Shu-shen, ZHANG Jing, <i>et al.</i> (257)
Isolation of Quinolofop- <i>p</i> -ethyl-degrading Bacteria from Soil by DGGE-Colony <i>in situ</i> Hybridization	LÜ Xin, PENG Xia-wei, HU Qing, <i>et al.</i> (263)
White-Rot Fungi Combinations Impact on Enzyme Productions	MENG Yao, LIANG Hong, GAO Da-wen (271)
Effects of Different Fertilizer Application on Soil Active Organic Carbon	ZHANG Rui, ZHANG Gui-long, JI Yan-yan, <i>et al.</i> (277)
Effect of Reclamation on the Vertical Distribution of SOC and Retention of DOC	HUO Li-li, ZOU Yuan-chun, GUO Jia-wei, <i>et al.</i> (283)
Distribution Characteristics of Soil Organic Carbon and Its Composition in <i>Suaeda salsa</i> Wetland in the Yellow River Delta	DONG Hong-fang, YU Jun-bao, GUAN Bo (288)
Study the Restoration Technology of Concentrated Application-Natural Diffusion about Amendments of Acidified Soil of Hilly Woodland	FANG Xiong, LIU Ju-xiu, YIN Guang-cai, <i>et al.</i> (293)
Optimizing Remediation Conditions of Non-thermal Plasma for DDTs Heavily Contaminated Soil	CHEN Hai-hong, LUO Yong-ming, TENG Ying, <i>et al.</i> (302)
Chemical Extraction of Arsenic Co-precipitated with Amorphous Fe(OH) ₃ and Fe ₃ O ₄	CHEN Yi-ping, WANG Shao-feng, JIA Yong-feng (308)
Influence of Aluminum and Manganese on the Growth, Nutrient Uptake and the Efflux by Ectomycorrhizal Fungi	LI Hua, HUANG Jian-guo, YUAN Ling (315)
High-solids Anaerobic Co-digestion of Sludge and Kitchen Garbage Under Mesophilic Conditions	DUAN Ni-na, DONG Bin, LI Jiang-hua, <i>et al.</i> (321)
Preparation, Characterization and Adsorption Performance of High Surface Area Biomass-based Activated Carbons	LI Kun-quan, LI Ye, ZHENG Zheng, <i>et al.</i> (328)
Study on Strategies of Pollution Prevention in Coastal City of Zhejiang Province Based on Scenario Analysis	TIAN Jin-ping, CHEN Lü-jun, DU Peng-fei, <i>et al.</i> (336)
Advance in the Bioavailability Monitoring of Heavy Metal Based on Microbial Whole-cell Sensor	HOU Qi-hui, MA An-zhou, ZHUANG Xiu-liang, <i>et al.</i> (347)
Characteristics of Heavy Metal Contamination in Street Dusts Along the Urban-Rural Gradient Around Beijing	HE Xiao-yan, GU Pei, LI Xu-yong, <i>et al.</i> (357)
Content Trends of Pollutants in Street Dust of Beijing Along the Urban-Rural Gradient and Road Density Gradient	TANG Rong-li, MA Ke-ming, ZHANG Yu-xin, <i>et al.</i> (364)
Analysis of First Flush Effect of Typical Underlying Surface Runoff in Beijing Urban City	REN Yu-fen, WANG Xiao-ke, OUYANG Zhi-yun, <i>et al.</i> (373)
Temporal Variation of Water Quality and Driving Factors in Yanghe Watershed of Zhangjiakou	PANG Bo, WANG Tie-yu, LÜ Yong-long, <i>et al.</i> (379)
Research on Carbon Reduction Potential of Electric Vehicles for Low-Carbon Transportation and Its Influencing Factors	SHI Xiao-qing, LI Xiao-nuo, YANG Jian-xin (385)
Investigation of Waste Classification and Collection Actual Effect and the Study of Long Acting Management in the Community of Beijing	DENG Jun, XU Wan-ying, ZHOU Chuan-bin (395)
Problems and Countermeasures in the Application of Constructed Wetlands	HUANG Jin-lou, CHEN Qin, XU Lian-huang (401)

《环境科学》第6届编辑委员会

主 编: 欧阳自远

副主编: 赵景柱 郝吉明 田 刚

编 委: (按姓氏笔画排序)

万国江 王华聪 王凯军 王绪绪 田 刚 田 静 史培军
朱永官 刘志培 汤鸿霄 陈吉宁 孟 伟 周宗灿 林金明
欧阳自远 赵景柱 姜 林 郝郑平 郝吉明 聂永丰 黄 霞
黄 耀 鲍 强 潘 纲 潘 涛 魏复盛

环 境 科 学

(HUANJING KEXUE)

(月刊 1976年8月创刊)

2013年1月15日 34卷 第1期

ENVIRONMENTAL SCIENCE

(Monthly Started in 1976)

Vol. 34 No. 1 Jan. 15, 2013

主 管	中国科学院	Superintended	by	Chinese Academy of Sciences
主 办	中国科学院生态环境研究中心	Sponsored	by	Research Center for Eco-Environmental Sciences, Chinese Academy of Sciences
协 办	(以参加先后为序) 北京市环境保护科学研究院 清华大学环境学院	Co-Sponsored	by	Beijing Municipal Research Institute of Environmental Protection School of Environment, Tsinghua University
主 编	欧阳自远	Editor-in -Chief		OUYANG Zi-yuan
编 辑	《环境科学》编辑委员会 北京市 2871 信箱(海淀区双清路 18 号, 邮政编码: 100085) 电话: 010-62941102, 010-62849343 传真: 010-62849343 E-mail: hjkx@ rcees. ac. cn http://www. hjkx. ac. cn	Edited	by	The Editorial Board of Environmental Science (HUANJING KEXUE) P. O. Box 2871, Beijing 100085, China Tel: 010-62941102, 010-62849343; Fax: 010-62849343 E-mail: hjkx@ rcees. ac. cn http://www. hjkx. ac. cn
出 版	科 学 出 版 社 北京东黄城根北街 16 号 邮政编码: 100717	Published	by	Science Press 16 Donghuangchenggen North Street, Beijing 100717, China
印 刷 装 订	北京北林印刷厂	Printed	by	Beijing Bei Lin Printing House
发 行	科 学 出 版 社 电话: 010-64017032 E-mail: journal@ mail. sciencep. com	Distributed	by	Science Press Tel: 010-64017032 E-mail: journal@ mail. sciencep. com
订 购 处	全国各地邮电局	Domestic		All Local Post Offices in China
国外总发行	中国国际图书贸易总公司 (北京 399 信箱)	Foreign		China International Book Trading Corporation (Guoji Shudian), P. O. Box 399, Beijing 100044, China

中国标准刊号: ISSN 0250-3301
CN 11-1895/X

国内邮发代号: 2-821

国内定价: 90.00 元

国外发行代号: M 205

国内外公开发刊