

DOI: 10.20098/j.cnki.1001-5132.2022.1209

污水中环丙沙星对活性污泥胞外蛋白质组学的影响研究

张佳璐¹, 郭敏辉², 吕 阳¹, 于 洁¹, 王 侃^{1*}, 杜志敏³

(1.宁波大学 土木工程与地理环境学院, 浙江 宁波 315211; 2.浙江大学 环境工程系, 浙江 杭州 310058;

3.河南工业大学 环境工程系, 河南 郑州 450001)

摘要: 为了考察活性污泥法处理含环丙沙星(Ciprofloxacin, CIP)废水时污泥与 CIP 的相互作用, 本文采用液相色谱-串联质谱研究 CIP 影响下活性污泥中胞外蛋白质的表达谱, 并进行基因本体注释分析. 在未投加 CIP 的对照组和 CIP 组中分别鉴定出高可信度蛋白质 89 和 97 种, 相同表达蛋白质仅 13 种, 差异显著. 对照组和 CIP 组胞外蛋白质具有相似的等电点分布, CIP 组大分子量胞外蛋白质增多. 从亚细胞定位来看, 对照组和 CIP 组分别有 62.9%和 66.0%的蛋白质细胞定位已知, 说明大部分胞外蛋白质源于细胞裂解释放, CIP 加入后胞外蛋白质发生了更新和重组, 为 CIP 的吸附提供了结合位点; CIP 的加入导致定位于细胞核的蛋白质显著减少. 从分子功能和生物学过程来看, CIP 的加入抑制了与 DNA 和 RNA 的结合、合成、转录等分子功能相关的蛋白质的表达, 阻碍了 DNA 和 RNA 的转录、分解代谢等生物学过程; 激发了具有核酸修复、蛋白质结合和架桥等分子功能的蛋白质的表达, 促进了核酸损伤修复、应急反应、萜类化合物合成、蛋白质合成和代谢等生物学过程. CIP 抑制了对照组中高丰度蛋白质的表达. 可见, CIP 通过影响活性污泥的生物学过程引起胞外蛋白质性质的改变, 进而影响活性污泥与 CIP 的结合.

关键词: 活性污泥; 环丙沙星; 蛋白质组学; 胞外蛋白质; 结合

中图分类号: Q89

文献标志码: A

文章编号: 1001-5132 (2023) 04-0048-16

氟喹诺酮类(Fluoroquinolones, FQs)是一类广谱型抗生素, 广泛应用于预防和治疗人类疾病以及畜、禽、海产养殖等方面^[1]. FQs 大量使用使其在环境中不断被检出, 质量浓度达 42~1 740 ng·L⁻¹. 污水处理厂是 FQs 进入环境的主要点源^[2]. 活性污泥吸附是污水处理流程中 FQs 去除的主要途径, 可去除污水中 50%~100%的 FQs^[3-4]. 胞外聚合物(Extracellular Polymeric Substances, EPS)是由活性污泥微生物分泌的一类大分子物质, 在维持污泥功能和结构等方面具有重要作用^[5]. EPS 中的蛋白质(简称“胞外蛋白质”)是 EPS 的主要成分, 可为污染物的吸附提供许多结合位点, 如羧基、胺基、羟基和疏水区等^[6]. 在活性污泥吸附去除 FQs 的过程中, 胞外蛋白质可通过氢键、偶极键和其他静电相互作用与 FQs 形成复合物, 对 FQs 的去除至关重

要^[7-10]. 另一方面, FQs 等微污染物会影响污水处理厂中的微生物群落, 例如膜生物反应器中的 FQs 会引起微生物物种丰富度急剧下降和细菌群落结构显著波动^[7,11]; 暴露于 FQs 中时, 好氧颗粒污泥的细菌群落会发生动态变化^[12]. 蛋白质表达是生态系统中微生物活动的直接反映, 在胞外蛋白质与 FQs 的结合过程中, FQs 也可能通过改变活性污泥的生物过程进而影响胞外蛋白质的性质^[13].

蛋白质组学是一种研究特定时间内微生物群落表达的所有蛋白质总和的新兴方法, 能够直观地反映微生物种群的生物功能及其变化^[14]. 王婧媛^[15]通过研究活性污泥厌氧发酵产氢反应器内产氢菌的蛋白质组学来推断产氢菌的产氢途径; Jia 等^[16]采用蛋白质组学方法来评估厨余垃圾中短期水热预处理后两阶段厌氧消化过程中微生物群落

收稿日期: 2022-12-09.

宁波大学学报(理工版)网址: <http://journalg.nbu.edu.cn/>

基金项目: 国家自然科学基金(51408325); 浙江省自然科学基金(Y19E080023).

第一作者: 张佳璐(1998-), 女, 浙江宁波人, 在读硕士研究生, 主要研究方向: 环境科学与资源利用. E-mail: 903013696@qq.com

*通信作者: 王侃(1977-), 男, 浙江宁波人, 博士/副教授, 主要研究方向: 水污染控制. E-mail: wangkan@nbu.edu.cn

系统发育、功能和代谢活性之间的关系。然而, 目前尚无研究从活性污泥的胞外蛋白质组学角度评估活性污泥与 FQs 的相互作用。研究 FQs 影响下活性污泥的胞外蛋白质组学将为活性污泥与 FQs 的结合提供新的视角, 有助于深入理解活性污泥对 FQs 的去除过程以及生物学响应。

环丙沙星(Ciprofloxacin, CIP)是污水中经常检出的一种高质量浓度($\text{ng}\cdot\text{L}^{-1}\sim\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$) FQs, 可诱导微生物种群产生耐药性, 对水生生物产生毒性作用, 危害人体健康等^[3,17-18]。本文研究活性污泥与 CIP 结合过程中胞外蛋白质组学的变化, 通过分析胞外蛋白质的理化性质、亚细胞定位、分子功能、生物学过程以及高丰度蛋白质等, 揭示活性污泥与 CIP 之间的相互作用。

1 材料与方法

1.1 污泥样品

活性污泥取自宁波市江东北区生活污水处理厂, 该厂处理能力达 10 万 $\text{t}\cdot\text{d}^{-1}$ 。污泥经 24 目筛网过滤去除悬浮物后于 4 °C 避光保存。污泥主要理化性质见表 1。

表 1 污泥主要理化性质

参数	数值
含水率/%	99.17 ± 0.03
pH	6.84 ± 0.05
电导率/ $(\text{mS}\cdot\text{cm}^{-1})$	2.70 ± 0.07
溶解性化学需氧量/ $(\text{mg}\cdot\text{L}^{-1})$	8.6 ± 0.4
溶解性蛋白质/ $(\text{mg}\cdot\text{L}^{-1})$	4.69 ± 0.20
溶解性多糖/ $(\text{mg}\cdot\text{L}^{-1})$	54.32 ± 2.07
混合液悬浮固体/ $(\text{mg}\cdot\text{L}^{-1})$	8.4 ± 0.3

1.2 活性污泥与环丙沙星的结合实验

实验在 25 °C 下进行, 取 150 mL 含固率为 3% 的污泥于锥形瓶中, 在恒温水浴振荡箱中 $110\text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$ 震荡 5 min, 后添加 $10\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 的 CIP 开始反应, 振荡 30 min 后取样分析, 样品记为 CIP 组。同时设置不添加 CIP 的空白对照, 记为对照组。每组实验均重复一次。

1.3 活性污泥胞外蛋白质的提取

采用热提法提取活性污泥 EPS^[19]。将 20 mL 污泥样品以 4000g 离心 5 min, 弃去上清液; 剩余固体中添加 45 mL 0.05% 的 NaCl 溶液, 振荡 1 min 后,

在 60 °C 下水浴 30 min。混合液经 4000g 离心 15 min, 上清液过 0.45 μm 滤膜后即为 EPS。

采用 $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 分级沉淀法从 EPS 中提取胞外蛋白质^[20]。在冰浴中将一定量的 $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 缓慢添加到 EPS 中, 依次达到 20%、40%、60% 和 90% 饱和度, 然后 4 °C 沉淀过夜。混合液经 10000g、4 °C 离心 40 min, 得到沉淀的蛋白质。将蛋白质混合并溶解于 PBS 缓冲液中, 通过 3.5 kDa 膜透析。透析后的溶液冷冻干燥成白色粉末, 即为胞外蛋白质, 并于 -16 °C 保存。

1.4 胞外蛋白质酶解

采用超滤辅助样品制备法(Filter-Aided Sample Preparation, FASP)酶解胞外蛋白质。将 200 μg 胞外蛋白质与 30 μL SDT 缓冲液(4% SDS, 100 mM DTT, 150 mM Tris-HCl, pH 8.0)混合, 将混合液转入 10 kD 超滤离心管中, 加入 200 μL UA 缓冲液(8 M 尿素, 150 mM Tris-HCl, pH 8.0)混匀, 反复超滤去除小分子量有害物质。然后加入 100 μL 100 mM 碘乙酰胺, 避光反应 30 min。将蛋白质悬浮液经 100 μL UA 缓冲液洗涤 3 次, 100 μL NH_4HCO_3 缓冲液洗涤 2 次, 后在 40 μL 裂解缓冲液(4 μg 胰蛋白酶加入 40 μL NH_4HCO_3 缓冲液)中放置过夜(37 °C)。混合液经 14000g 离心 15 min, 收集滤液, 采用 C18 Cartridge 对肽段进行脱盐, 肽段冻干后加入 15 μL 0.1% 甲酸溶液复溶, 通过 280 nm 的紫外光谱确定肽浓度^[21]。

1.5 酶解产物的液相色谱-串联质谱分析

按照定量结果各取 2 μg 酶解后产物进行液相色谱-串联质谱(Liquid Chromatography-tandem Mass Spectrometry, LC-MS/MS)分析。采用纳升流速液相色谱系统(EASY-nLC1000, 美国 Thermo Scientific)进行分离, 流动相 A 为 0.1% 甲酸水溶液, 流动相 B 为 0.1% 甲酸和 84% 乙腈水溶液, 梯度洗脱程序见表 2。

表 2 酶解产物液相色谱梯度洗脱程序

洗脱时间/ min	流速/ ($\text{nL}\cdot\text{min}^{-1}$)	流动相 A/%	流动相 B/%
0	300	100	0
50	300	45	35
55	300	0	100
60	300	0	100
60	300	停止	停止

酶解产物经毛细管高效液相色谱分离后用 Q-Exactive 质谱仪(美国 Thermo Scientific)进行质谱分析. 分析时长为 120 min, 检测方式为正离子, 母离子扫描范围为 300~1 800 m/z . 多肽和多肽碎片的质量电荷比按照每次全扫描后采集 20 个碎片图谱的方法采集. 一级质谱在 m/z 200 时分辨率为 70 000, 二级质谱在 m/z 200 时分辨率为 17 500.

1.6 质谱数据分析

原始文件导入软件 Maxquant 1.3.0.5 进行数据库检索. 蛋白质数据库为 uniprot_archaeorrhyncha_3644_20161118.fasta (序列总数: 3 644, 下载时间: 2016-11-18, 下载链接: <http://www.uniprot.org>)、P16512_N.lugens_unigene.blast.pep_16168_20161114.fasta (自建库, 源于 N.lugens 转录组, 序列总数: 16 168, 下载时间: 2016-11-14) 以及 P16512_Sogatella_furcifera_unigene.blast.pep_17694_20161114.fasta (自建库, 源于 Sogatella_furcifera 转录组, 序列总数: 17 694, 下载时间: 2016-11-14). 搜库参数设定如下: enzyme 为 Trypsin; missed cleavage sites 设为 2; 固定修饰为 Carbamidomethyl(C); 动态修饰设定 Oxidation(M)和 Acetyl(Protein N-term). 数据库检索鉴定到的蛋白质必须通过设定的过滤参数 FDR $\leq$ 0.01.

2 结果与讨论

2.1 胞外蛋白质的理化性质

通过 LC-MS/MS 分析和生物学信息搜索, 从对照组鉴定出 786 种蛋白质, CIP 组鉴定出 172 种蛋白质, 具有高可信度的蛋白质(至少有两段肽序列与之匹配)分别有 89 和 97 种, 相同表达蛋白质 13 种(图 1), 蛋白质的详细信息见附录表 A1 和 A2. 这说明 CIP 与活性污泥的结合导致活性污泥的胞外蛋白质发生显著改变.

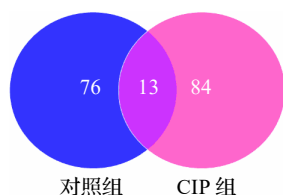


图 1 对照组和 CIP 组高可信度胞外蛋白质种类的 Venn 图

根据高可信度胞外蛋白质的氨基酸序列得到理论等电点分布, 结果如图 2(a)所示. 对照组和

CIP 组胞外蛋白质的等电点分布呈现出相似的规律, 大部分蛋白质的等电点在 4.5~7.0 和 8.0~10.0 之间, 且以 4.5~7.0 居多. 例如, 对照组胞外蛋白质中有 66 种的等电点分布在 4.5~7.0, 23 种分布在 8.0~10.0, 其中 5.0~5.5 之间的数量最多(19 种); CIP 组胞外蛋白质的等电点有 68 种分布在 4.5~7.0, 26 种分布在 8.0~10.0, 其中 4.5~5.0 和 5.5~6.0 之间的数量最多(17 种). 污泥的 pH 为 6.84 ± 0.05 (表 1), 在此 pH 下大部分胞外蛋白质会带正电荷或负电荷, 而 CIP 为两性污染物, 在水中解离后可同时带正、负电荷^[17]. 因此, 胞外蛋白质可通过静电作用力与 CIP 的正负电荷基团发生结合, 促使 CIP 与活性污泥吸附而从水中去除^[17].

胞外蛋白质的理论分子量分布如图 2(b)所示. 大部分胞外蛋白质的分子量位于 10~60 kDa 之间, 在对照组和 CIP 组中的占比分别为 77.4% 和 78.6%. 对照组的胞外蛋白质在分子量为 10~20 kDa 时数量最多(19 种), 此时 CIP 组仅 10 种; 而 CIP 组的胞外蛋白质在 50~60 kDa 分布最多(20 种), 对照组仅 5 种. 这说明 CIP 的加入导致活性污泥胞外蛋白质的分子量分布发生改变, 大分子量蛋白质增多.

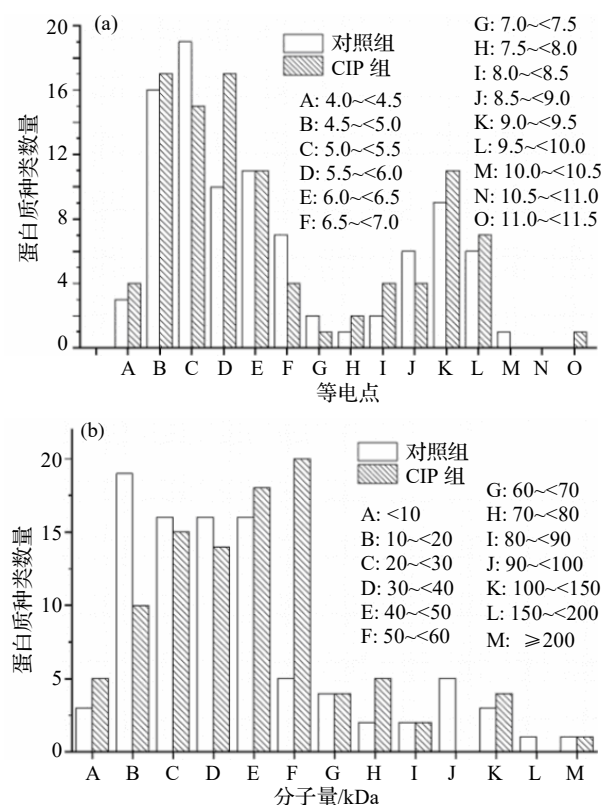


图 2 污泥中高可信度蛋白质等电点和分子量分布

2.2 胞外蛋白质的基因本体功能分类

通过 Uniport 生物信息学网站, 利用基因本体 (Gene Ontology, GO) 工具, 对鉴定出的蛋白质从亚细胞定位、分子功能和生物学过程 3 方面进行分类。

2.2.1 亚细胞定位

在对照组 89 种高可信度蛋白质中, 细胞定位已知者 56 种, 其中细胞质蛋白质种类最多, 为 29 种, 其次依次为细胞核蛋白质、各细胞器蛋白质、细胞膜蛋白质和其他蛋白质; 细胞定位未知者 33 种, 如图 3(a)所示。在 CIP 组 97 种高可信度蛋白质中, 细胞定位已知者 64 种, 其中细胞质蛋白质种类最多, 为 37 种, 其次依次为各细胞器蛋白质、细胞膜蛋白质、其他蛋白质和细胞核蛋白质; 细胞定位未知者 33 种, 如图 3(b)所示。经对比, 污泥中添加 CIP 后, 细胞质蛋白质、细胞膜蛋白质和各细胞器蛋白质的数量和占比增加, 细胞核蛋白质的数量和占比显著减少。这说明 CIP 的加入导致蛋白质更多地参与了细胞质、细胞膜和各细胞器中的生物学过程, 而向细胞核的转运和表达则显著减少。

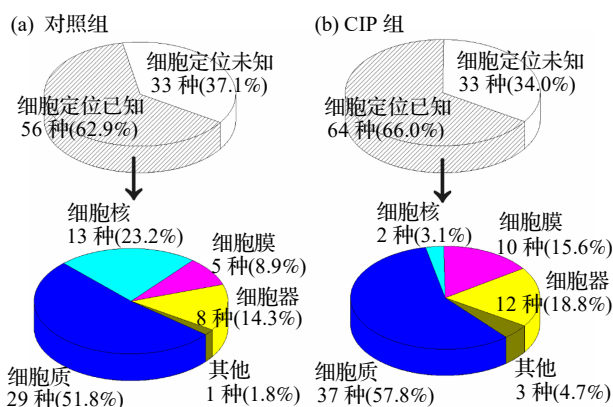


图3 污泥中高可信度胞外蛋白质的 GO 亚细胞定位

活性污泥中的 EPS 主要来源于微生物的分泌、细胞裂解释放以及大分子物质的水解等^[22]。在已鉴定出的高可信度胞外蛋白质中, 细胞定位已知说明蛋白质在细胞中特定的位置上(主要为细胞质、细胞核、细胞膜、各细胞器)参与了相关生物学过程, 因此该类胞外蛋白质主要源于细胞裂解释放^[23]。而细胞定位未知则可能是受限于现有生物信息技术, 也可能是蛋白质被分泌到细胞外或者由大分子物质分解而来^[24]。可见, 大部分胞外蛋白质源于细胞裂解释放, 这与以往研究结果一致^[25]。污泥中加入 CIP 后, 细胞定位已知的蛋白质种类和

占比升高, 说明 CIP 可能导致更多的细胞裂解, 释放蛋白质。这也可作为 CIP 在污泥上的吸附提供更多结合位点^[9]。

2.2.2 分子功能

对照组鉴定出的 89 种高可信度蛋白质中, 分子功能已知者 77 种, 占 86.5%; 分子功能未知者 12 种, 占 13.5%。在 CIP 组鉴定出的 97 种高可信度蛋白质中, 分子功能已知者 82 种, 占 84.5%; 分子功能未知者 15 种, 占 15.5%。

在已知的蛋白质分子功能中, 对照组与 CIP 组的鉴定结果见表 3。

对照组与 CIP 组蛋白质共鉴定出 14 类相同分子功能(对照组 48 种蛋白质, 占 71.6%; CIP 组 54 种蛋白质, 占 66.7%)。在这些具有相同分子功能的蛋白质中, 与对照组相比, CIP 组具有金属离子结合、DNA 结合等分子功能的蛋白质种类数显著降低, 具有镁离子结合、ATP 结合等功能的蛋白质种类数明显升高。可见, 尽管对照组与 CIP 组中大多数蛋白质具有相同的分子功能, CIP 的加入会导致具体蛋白质的分子功能出现显著变化。此外, 对照组蛋白质中有 9 类分子功能在 CIP 组未检出(19 种蛋白质, 占 28.4%)。同时, CIP 组新增 13 类分子功能(27 种蛋白质, 占 33.3%)。CIP 的加入抑制了具有翻译延伸因子活性、RNA 解旋酶活性等分子功能的蛋白质的表达, 同时促进了具有泛素结合、转运 RNA 结合等分子功能的蛋白质的表达。

2.2.3 生物学过程

对照组鉴定出的 89 种高可信度蛋白质中, 生物学过程已知者 69 种, 占 77.5%; 生物学过程未知者 20 种, 占 22.5%。在 CIP 组鉴定出的 97 种高可信度蛋白质中, 生物学过程已知者 84 种, 占 86.6%; 生物学过程未知者 13 种, 占 13.4%。

在已知的蛋白质生物学过程中, 对照组与 CIP 组的鉴定结果见表 4。

对照组与 CIP 组蛋白质共鉴定出 7 类相同生物学过程(对照组 15 种蛋白质, 占 44.1%; CIP 组 18 种蛋白质, 占 40.9%), 且对照组和 CIP 组中参与相同生物学过程的蛋白质种类数没有明显的差异。对照组中有 11 类生物学过程在 CIP 组未检出(19 种蛋白质, 占 55.9%)。同时, CIP 组新增 16 类生物学过程(26 种蛋白质, 占 59.1%)。可见, CIP 的加入

表 3 对照组与 CIP 组蛋白质 GO 分子功能鉴定结果

GO 分子功能	蛋白质种类数		GO 分子功能	蛋白质种类数		GO 分子功能	蛋白质种类数	
	对照组	CIP 组		对照组	CIP 组		对照组	CIP 组
锌离子结合	4	7	4 铁, 4 硫簇结合	4	3	转运 RNA 结合	—	3
核糖体的结构组成	4	5	未折叠蛋白质结合	3	7	氨基酸结合	—	2
核糖体 RNA 结合	3	4	翻译延伸因子活性	3	—	蛋白质结合、架桥	—	2
RNA 结合	4	3	RNA 解旋酶活性	3	—	肽基脯氨酰顺反异构酶活性	—	2
金属离子结合	13	8	磷脂酰肌醇-3-磷酸结合	2	—	NADPH 结合	—	3
镁离子结合	2	7	核酸结合	3	—	热休克蛋白质结合	—	2
内切酶活性	2	2	外脱氧核糖核酸酶活性	3	—	FMN 结合	—	2
GTP 酶活性	3	5	DNA 导向的 DNA 聚合酶活性	2	—	ABC 切除核酸酶活性	—	2
GTP 结合蛋白质	3	6	吡哆醛磷酸结合	2	—	转移酶活性	—	4
DNA 结合	12	6	DNA 导向的 5'-3'RNA 聚合酶活性	2	—	铁离子结合	—	2
ATP 酶活性	2	2	DNA 结合转录因子活性	2	—	相同的蛋白质结合	—	2
ATP 结合	18	27	泛素结合	—	2	β-葡萄糖苷酶活性	—	2

注：“—”表示未检出，下表同。

表 4 对照组与 CIP 组蛋白质 GO 生物过程分类鉴定结果

GO 生物过程	蛋白质种类数		GO 生物过程	蛋白质种类数		GO 生物过程	蛋白质种类数	
	对照组	CIP 组		对照组	CIP 组		对照组	CIP 组
翻译进程	4	6	与细胞结合的信息素依赖性信号转导过程	2	—	甲基赤藓糖醇 4-磷酸途径	—	2
DNA 复制过程	3	4	发病机制过程	2	—	核苷酸切除修复过程	—	3
硫胺素生物合成过程	2	2	核转录 mRNA 分解代谢过程	2	—	组氨酸生物合成过程	—	2
热响应过程	2	3	无意义介导衰变过程	2	—	谷氨酰胺代谢过程	—	3
蛋白质折叠过程	3	3	甘油磷脂代谢过程	2	—	FtsZ-依赖性胞质分裂过程	—	2
细胞壁组织过程	2	2	DNA 分解代谢过程	2	—	内吞作用	—	2
碳水化合物代谢过程	2	2	硫胺素二磷酸生物合成过程	—	2	DNA 修复过程	—	2
RNA 聚合酶 II 启动子的转录起始过程	3	—	萜类化合物生物合成过程	—	2	异戊烯基二磷酸生物合成过程	—	2
DNA 转录过程	4	—	应急反应过程	—	3	隔膜组件过程	—	2
DNA 转录调控过程	2	—	蛋白质再折叠过程	—	5	细胞分裂过程	—	2
rRNA 进程	3	—	蛋白质聚合过程	—	2			
细胞形态的调节过程	2	—	蛋白质插入线粒体外膜过程	—	2			

显著影响了蛋白质所参与的生物学过程，CIP 抑制了蛋白质参与 RNA 聚合酶 II 启动子的转录起始过程、DNA 转录过程等，促进了蛋白质参与应急反应过程、蛋白质再折叠过程等。

2.3 高丰度蛋白质分析

2.3.1 对照组高丰度蛋白质分析

对照组中丰度最高的 5 种蛋白质分别为 50S 核糖体蛋白质 L11、铁摄取调节蛋白质、RNA 聚合酶 σ 因子 SigA、核糖核酸酶 Z 1 以及 FKBP 型肽

基脯氨酰顺反异构酶 SlyD (表 5)。其中，杆菌样巴尔通体(*Bartonella bacilliformis*)中的 50S 核糖体蛋白质 L11(编号: A1USC4)是核糖体茎的一部分，有助于核糖体与三磷酸鸟苷(GTP)结合的翻译因子相互作用。杆菌样巴尔通体是一种具有高度运动性的细胞内寄生菌，可导致奥罗亚热和秘鲁疣等致命性疾病^[26]。在 CIP 组中没有检测到 50S 核糖体蛋白质 L11，说明 CIP 抑制了该蛋白质的合成和表达(附录表 A2)。

表 5 污泥对照组中丰度最高的 5 种胞外蛋白质及其来源微生物

蛋白质编号	蛋白质名称	来源微生物
A1USC4	50S 核糖体蛋白质 L11	杆菌样巴尔通体(菌株 ATCC 35685/NCTC 12138/KC583)
P45599	铁摄取调节蛋白质	肺炎克雷白杆菌
P0A603	RNA 聚合酶 σ 因子 SigA	牛型结核分枝杆菌(菌株 ATCC BAA-935/AF2122/ 97)
Q10155	核糖核酸酶 Z 1	粟酒裂殖酵母(菌株 972/ATCC 24843)(裂殖酵母)
P0A9K9	FKBP 型肽基脯氨酰顺反异构酶 SlyD	大肠埃希氏菌(菌株 K12)

铁摄取调节蛋白质(编号: P45599)来源于肺炎克雷白杆菌(*Klebsiella pneumonia*), 它能够利用 Fe^{2+} 作为辅因子负调控几种外膜蛋白质的表达^[27]. 肺炎克雷白杆菌是一种遍布于人类和其他哺乳动物肠胃、表皮和鼻咽的腐生菌, 也存在于土壤和水环境中^[28]. 在 CIP 组中未检出铁摄取调节蛋白质, 说明 CIP 可有效抑制肺炎克雷白杆菌中铁摄取调节蛋白质的表达^[29](附录表 A2).

牛型结核分枝杆菌(*Mycobacterium bovis*)中的 RNA 聚合酶 σ 因子 SigA (编号: P0A603)是一种启动因子蛋白质, 可促进 RNA 聚合酶附着于特定的起始位点. 牛型结核分枝杆菌常见于自然水体中, 是一种具有高度疏水性的非典型分枝杆菌. 因其细菌壁外膜的渗透性非常低, 药物难以穿过细胞膜, 故一旦感染很难治疗^[30]. 已有研究表明 FQs 对牛型结核分枝杆菌有抑制作用, 随着 FQs 浓度的升高, 接种在琼脂上的牛型结核分枝杆菌菌落数急剧下降^[31]. CIP 已有成功治疗牛型结核分枝杆菌感染病例的报道^[32]. 在 CIP 组中没有检测到 RNA 聚合酶 σ 因子 SigA 蛋白质, 表明 CIP 有效抑制了该蛋白质的表达(附录表 A2).

核糖核酸酶 Z 1 (编号: Q10155)源自粟酒裂殖酵母(*Schizosaccharomyces pombe*). 粟酒裂殖酵母具有简单但与人类进化亲缘关系较近的机体, 常被运用于对非自然环境压力的测试^[33]. CIP 组中没有检测到核糖核酸酶 Z 1, 但存在粟酒裂殖酵母的其他蛋白质表达(如类 Mo25 蛋白质), 表明 CIP 仅抑制了

粟酒裂殖酵母中核糖核酸酶 Z 1 的表达(附录表 A2).

源于大肠埃希氏菌的 FKBP 型肽基脯氨酰顺反异构酶 SlyD (编号: P0A9K9)在对照组和 CIP 组中均有检出(附录表 A2).

2.3.2 CIP 组高丰度蛋白质分析

CIP 组中丰度最高的 5 种蛋白质分别为 FKBP 型肽基脯氨酰顺反异构体蛋白质(编号: P0A9K9)、磷脂酰丝氨酸脱羧酶原酶(编号: C5D4W6)、3'-瓣修复核酸内切酶 Xpf (编号: Q7LXL5)、七戊基甘油基磷酸合成酶(编号: A7GKI9)以及磷酸氨基转移酶[异构化](编号: P17169), 这 5 种蛋白质在对照组中均有检出(表 6, 附录表 A1). 其中, FKBP 型肽基脯氨酰顺反异构体蛋白质和磷酸氨基转移酶[异构化]源自大肠埃希氏菌, 其他 3 种蛋白质分别源自地芽孢杆菌属(*Geobacillus sp*)、硫化叶菌(*Saccharolobus solfataricus*)和细胞毒杆菌(*Bacillus cytotoxicus*). 大肠埃希氏菌和地芽孢杆菌属是对 CIP 敏感的两种植物, 其中地芽孢杆菌属常被用于检测其他微生物的抗菌活性和牛羊乳中的抗生素^[34-35]. 这两种菌中蛋白质的顺利表达说明污泥中大肠埃希氏菌和地芽孢杆菌属可能含有 CIP 抗性基因. 已知对 CIP 产生抗性基因的大肠埃希氏菌有两个突变点, 一个是 83 位丝氨酸的 *gyrA* 突变为亮氨酸, 另一个是 87 位酸性天冬酰胺突变为亲水性天冬酰胺、酪氨酸、甘氨酸或组氨酸^[36]. 这些菌可能成为传播 CIP 抗性基因的载体. 硫化叶菌和细胞毒杆菌对苯酚、CIP 等有机物有一定的降解作用^[37-38].

表 6 污泥 CIP 组中丰度最高的 5 种胞外蛋白质及其来源微生物

蛋白质编号	蛋白质名称	来源微生物
P0A9K9	FKBP 型肽基脯氨酰顺反异构体蛋白质	大肠埃希氏菌(菌株 K12)
C5D4W6	磷脂酰丝氨酸脱羧酶原酶	地芽孢杆菌属(菌株 WCH70)
Q7LXL5	3'-瓣修复核酸内切酶	硫化叶菌(菌株 ATCC 35092/DSM 1617/JCM 11322/P2)
A7GKI9	七戊基甘油基磷酸合成酶	细胞毒杆菌(菌株 DSM 22905/CIP 110041/391-98/NVH 391-98)
P17169	磷酸氨基转移酶[异构化]	大肠埃希氏菌(菌株 K12)

3 讨论

向活性污泥中添加 CIP 后,细胞核蛋白质从 13 种下降至 2 种(图 3),具有 DNA 结合功能的蛋白质从 13 种下降至 6 种,与 DNA 和 RNA 的合成、转录相关的蛋白质分子功能被抑制(如 RNA 解旋酶活性、核酸结合、外脱氧核糖核酸酶活性、DNA 导向的 DNA 聚合酶活性、DNA 导向的 5'-3'RNA 聚合酶活性、DNA 结合转录因子活性等)(表 3),参与 DNA 和 RNA 转录和分解代谢等过程的蛋白质表达受阻(如 RNA 聚合酶 II 启动子的转录起始过程、DNA 转录过程、DNA 转录调控过程、rRNA 进程、核转录 mRNA 分解代谢过程、DNA 分解代谢过程等)(表 4),这说明 CIP 显著抑制了 DNA 和 RNA 的合成、结合、转录、分解代谢等过程,进而抑制了杆菌样巴尔通体、肺炎克雷白杆菌、牛型结核分枝杆菌等生物体内蛋白质的合成与表达(表 5)。这与 Li 等^[39]的研究结果一致, CIP 能够抑制 DNA 复制和 DNA 促旋酶、DNA 拓扑异构酶的表达,影响 tRNA 的生物合成,进而导致细菌死亡。

相应地,在 CIP 的作用下,核酸损伤修复、应急反应、萜类化合物生成等保护过程开始启动。例如, CIP 加入后,体系新增了具有泛素结合、ABC 切除核酸酶活性等分子功能的蛋白质(表 3),参与

核苷酸切除修复过程和 DNA 修复过程等(表 4);致病菌生存所需的萜类化合物的生成过程被激发,如萜类化合物生物合成过程、异戊烯基二磷酸生物合成过程、甲基赤藓糖醇 4-磷酸途径等(表 4)。同时, CIP 的加入也激活了具有蛋白质结合和架桥功能的蛋白质的表达,如氨基酸结合,蛋白质结合、架桥,肽基脯氨酰顺反异构酶活性, FMN 结合,相同的蛋白质结合等功能(表 3),促进了蛋白质的合成和代谢过程(如蛋白质再折叠过程、蛋白质聚合过程、组氨酸生物合成过程、谷氨酰胺代谢过程等)(表 4)。在以往的研究中, CIP 显著抑制了大肠杆菌中丙氨酸、天冬氨酸和谷氨酸的代谢,这也反映了不同微生物群体对 CIP 响应的差异^[39]。 CIP 加入后, ATP 结合功能的蛋白质从 18 种上升至 27 种(表 3),表明微生物需要产生更多的 ATP 来用于 CIP 刺激下的能量消耗。

在显著影响活性污泥细胞中生命活动的同时, CIP 的加入也导致胞外蛋白质的组成和性质发生显著变化。例如,对照组和 CIP 组的相同表达蛋白质仅有 13 种(图 1), CIP 组大分子量蛋白质增多等(图 2)。大部分胞外蛋白质源于细胞裂解释放(图 3),因此,加入 CIP 后污泥中的胞外蛋白质会发生更新和重组。前期研究已证实,污水处理流程中 CIP 的去除以活性污泥吸附为主(可去除>96.0%的 CIP),

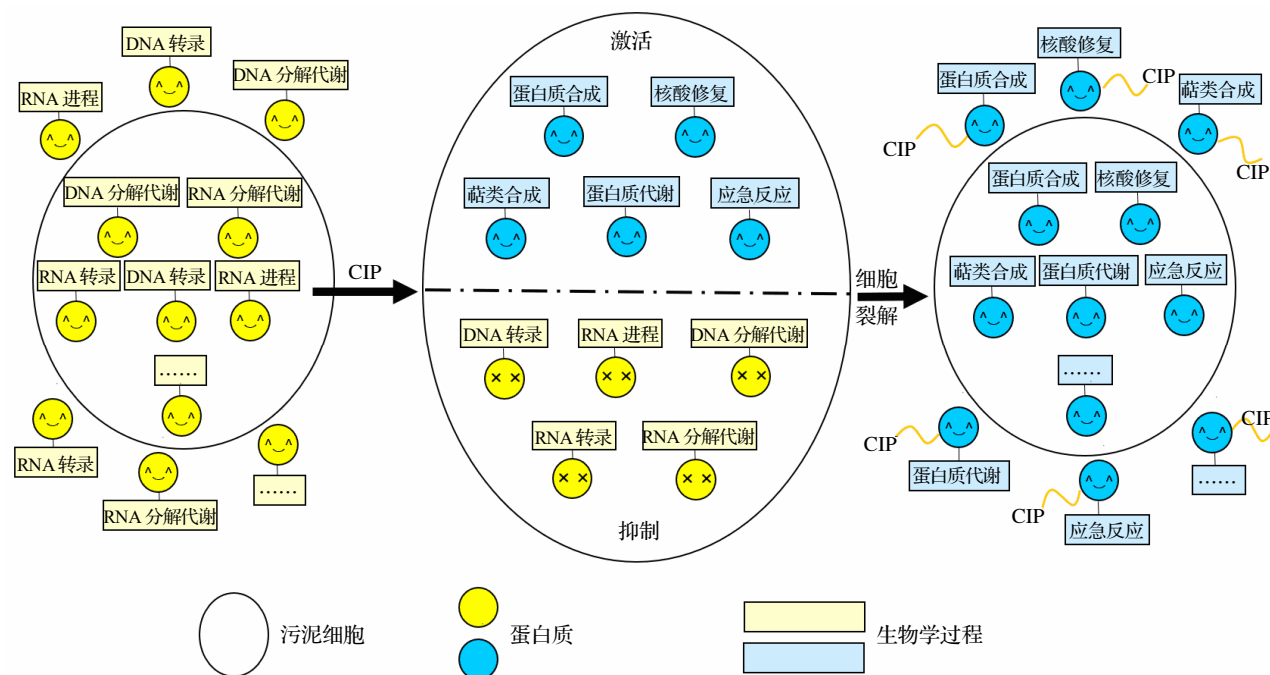


图4 CIP与活性污泥胞外蛋白质的相互作用机制

胞外蛋白质为 CIP 的吸附提供 O-H、酰胺 I 区和羧基官能团中的 C=O 等关键结合位点^[7,10]。因此, CIP 与活性污泥的相互作用机制为: CIP 抑制了污泥细胞中 DNA 和 RNA 的合成、转录、分解代谢等过程(图 4 中黄色(浅色)蛋白质), 激活了核酸损伤修复、应急反应、萜类化合物合成、蛋白质合成和代谢等过程(图 4 中蓝色(深色)蛋白质), 同时细胞裂解导致已激活的蛋白质释放至胞外, 引起胞外蛋白质的更新和重组, 蛋白质中 O-H、C=O 等官能团暴露, 为 CIP 提供结合位点。

可见, 蛋白质组学不仅能够解析 CIP 影响下蛋白质参与的生物学过程, 也可以反映由此引发的胞外蛋白质性质的改变以及与 CIP 的结合特性, 进而明晰 CIP 与活性污泥的相互作用。胞外蛋白质在污水的多种污染物去除中发挥着重要作用, 蛋白质组学技术能够从多维度提供污染物去除过程中胞外蛋白质的表达信息, 包括蛋白质的性质、定位、功能、代谢过程等, 有助于深入理解污染物的环境行为以及活性污泥微生物的相互作用^[40-41]。

4 结论

CIP 导致活性污泥中胞外蛋白质的种类和性质显著改变。在 CIP 组中鉴定出高可信度蛋白质 97 种, 其中仅 13 种在对照组中有表达; 同时, 大分子量蛋白质较对照组增多。CIP 加入后显著抑制了活性污泥细胞中 DNA 和 RNA 的合成、转录、分解代谢等生物学过程, 阻碍杆菌样巴尔通体、肺炎克雷白杆菌、牛型结核分枝杆菌等生物体内蛋白质的合成与表达; 同时, 激发了核酸损伤修复、应急反应、萜类化合物合成、蛋白质合成和代谢等生物学过程。大部分蛋白质的亚细胞定位已知, 定位于细胞质、细胞核、细胞膜和各细胞器等, 说明胞外蛋白质主要源于细胞裂解释放。CIP 通过影响活性污泥细胞的生物学过程引起胞外蛋白质的更新和重组, 为 CIP 的吸附提供结合位点。蛋白质组学技术可为深入研究活性污泥对污染物的去除过程提供新的视角和思路。

参考文献:

- [1] Zhou Y, Gao Y, Pang S Y, et al. Oxidation of fluoroquinolone antibiotics by peroxymonosulfate without activation: Kinetics, products, and antibacterial deactivation[J]. *Water Research*, 2018, 145:210-219.
- [2] Kümmerer K, Henninger A. Promoting resistance by the emission of antibiotics from hospitals and households into effluent[J]. *Clinical Microbiology and Infection*, 2003, 9(12):1203-1214.
- [3] Golet E M, Xifra I, Siegrist H, et al. Environmental exposure assessment of fluoroquinolone antibacterial agents from sewage to soil[J]. *Environmental Science & Technology*, 2003, 37(15):3243-3249.
- [4] Jia A, Wan Y, Xiao Y, et al. Occurrence and fate of quinolone and fluoroquinolone antibiotics in a municipal sewage treatment plant[J]. *Water Research*, 2012, 46(2): 387-394.
- [5] Fulaz S, Vitale S, Quinn L, et al. Nanoparticle-biofilm interactions: The role of the EPS matrix[J]. *Trends in Microbiology*, 2019, 27(11):915-926.
- [6] Dignac M F, Urbain V, Rybacki D, et al. Chemical description of extracellular polymers: Implication on activated sludge floc structure[J]. *Water Science and Technology*, 1998, 38(8/9):45-53.
- [7] Wang K, Gao D D, Xu J R, et al. Interaction of ciprofloxacin with the activated sludge of the sewage treatment plant[J]. *Environmental Science and Pollution Research International*, 2018, 25(35):35064-35073.
- [8] Song C, Sun X F, Xing S F, et al. Characterization of the interactions between tetracycline antibiotics and microbial extracellular polymeric substances with spectroscopic approaches[J]. *Environmental Science and Pollution Research International*, 2014, 21(3):1786-1795.
- [9] Zhang H Q, Jia Y Y, Khanal S K, et al. Understanding the role of extracellular polymeric substances (EPS) on ciprofloxacin (CIP) adsorption in aerobic sludge, anaerobic sludge, and sulfate-reducing bacteria (SRB) sludge systems[J]. *Environmental Science & Technology*, 2018, 52(11):6476-6486.
- [10] Yu J, Gao D D, Zhang Y, et al. Multiple roles of Ca^{2+} in the interaction of ciprofloxacin with activated sludge: Spectroscopic investigations of extracellular polymeric substances[J]. *Science of The Total Environment*, 2021, 751:142246.
- [11] Meng F G, Gao G H, Yang T T, et al. Effects of fluoroquinolone antibiotics on reactor performance and microbial community structure of a membrane bioreactor [J]. *Chemical Engineering Journal*, 2015, 280:448-458.
- [12] Amorim C L, Maia A S, Mesquita R, et al. Performance of aerobic granular sludge in a sequencing batch bioreactor exposed to ofloxacin, norfloxacin and

- ciprofloxacin[J]. *Water Research*, 2014, 50:101-113.
- [13] Avella A C, Essendoubi M, Louvet J N, et al. Activated sludge behaviour in a batch reactor in the presence of antibiotics: Study of extracellular polymeric substances[J]. *Water Science and Technology*, 2010, 61(12):3147-3155.
- [14] Rodríguez-Valera F. Environmental genomics, the big picture?[J]. *FEMS Microbiology Letters*, 2004, 231(2): 153-158.
- [15] 王靖媛. 厌氧发酵产氢反应器的连续运行及蛋白质组学的研究[D]. 上海: 上海师范大学, 2019.
- [16] Jia X, Xi B D, Li M X, et al. Metaproteomic analysis of the relationship between microbial community phylogeny, function and metabolic activity during biohydrogen-methane coproduction under short-term hydrothermal pretreatment from food waste[J]. *Bioresource Technology*, 2017, 245:1030-1039.
- [17] Michael I, Rizzo L, McArdell C S, et al. Urban wastewater treatment plants as hotspots for the release of antibiotics in the environment: A review[J]. *Water Research*, 2013, 47(3):957-995.
- [18] Lyu Y, Yu J, Guo M H, et al. New insights into interaction of proteins in extracellular polymeric substances of activated sludge with ciprofloxacin using quartz crystal microbalance with dissipation[J]. *Chemosphere*, 2021, 263:128044.
- [19] Han X, Wang Z, Zhu C, et al. Effect of ultrasonic power density on extracting loosely bound and tightly bound extracellular polymeric substances[J]. *Desalination*, 2013, 329:35-40.
- [20] Yu J, Guo M H, Xu X H, et al. The role of temperature and CaCl_2 in activated sludge dewatering under hydrothermal treatment[J]. *Water Research*, 2014, 50:10-17.
- [21] Wiśniewski J R, Zougman A, Nagaraj N, et al. Universal sample preparation method for proteome analysis[J]. *Nature Methods*, 2009, 6(5):359-362.
- [22] Sheng G P, Yu H Q, Li X Y. Extracellular polymeric substances (EPS) of microbial aggregates in biological wastewater treatment systems: A review[J]. *Biotechnology Advances*, 2010, 28(6):882-894.
- [23] 张松, 黄波, 夏学峰, 等. 蛋白质亚细胞定位的生物信息学研究[J]. *生物化学与生物物理进展*, 2007, 34(6): 573-579.
- [24] 胡清铭. 蛋白质序列特征提取及其在亚细胞定位中的应用[D]. 长沙: 湖南大学, 2013.
- [25] Zhang P, Shen Y, Guo J, et al. Extracellular protein analysis of activated sludge and their functions in wastewater treatment plant by shotgun proteomics[J]. *Scientific Reports*, 2015, 5(1):12041.
- [26] Ihler G M. *Bartonella bacilliformis*: Dangerous pathogen slowly emerging from deep background[J]. *FEMS Microbiology Letters*, 1996, 144(1):1-11.
- [27] Bagg A, Neilands J B. Ferric uptake regulation protein acts as a repressor, employing iron (II) as a cofactor to bind the operator of an iron transport operon in *Escherichia coli*[J]. *Biochemistry*, 1987, 26(17):5471-5477.
- [28] Tzouveleakis L S, Markogiannakis A, Psychogiou M, et al. Carbapenemases in *Klebsiella pneumoniae* and other Enterobacteriaceae: An evolving crisis of global dimensions[J]. *Clinical Microbiology Reviews*, 2012, 25(4):682-707.
- [29] Roosendaal R, Bakker-Woudenberg I A, van den Berghe-van Raffe M, et al. Comparative activities of ciprofloxacin and ceftazidime against *Klebsiella pneumoniae in vitro* and in experimental pneumonia in leukopenic rats[J]. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 1987, 31(11):1809-1815.
- [30] Gong N, Tan Y, Li M, et al. ALA-PDT combined with antibiotics for the treatment of multiple skin abscesses caused by *Mycobacterium fortuitum*[J]. *Photodiagnosis and Photodynamic Therapy*, 2016, 15:70-72.
- [31] Dong Y, Zhao X, Domagala J, et al. Effect of fluoroquinolone concentration on selection of resistant mutants of *Mycobacterium bovis* BCG and *Staphylococcus aureus*[J]. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 1999, 43(7):1756-1758.
- [32] Dailloux M, Laurain C, Weber M, et al. Water and nontuberculous *Mycobacteria*[J]. *Water Research*, 1999, 33(10):2219-2228.
- [33] Banerjee P, Talapatra S N, Mandal N, et al. Genotoxicity study with special reference to DNA damage by comet assay in fission yeast, *Schizosaccharomyces pombe* exposed to drinking water[J]. *Food and Chemical Toxicology*, 2008, 46(1):402-407.
- [34] Rusch M, Spielmeier A, Zorn H, et al. Biotransformation of ciprofloxacin by *Xylaria longipes*: Structure elucidation and residual antibacterial activity of metabolites[J]. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 2018, 102(19):8573-8584.
- [35] Sierra D, Contreras A, Sanchez A, et al. Short communication: Detection limits of non- β -lactam antibiotics in goat's milk by microbiological residues screening tests[J]. *Journal of Dairy Science*, 2009, 92(9): 4200-4206.

- [36] Komp Lindgren P, Karlsson A, Hughes D. Mutation rate and evolution of fluoroquinolone resistance in *Escherichia coli* isolates from patients with urinary tract infections[J]. Antimicrobial Agents and Chemotherapy, 2003, 47(10):3222-3232.
- [37] Izzo V, Notomista E, Picardi A, et al. The thermophilic archaeon *Sulfolobus solfataricus* is able to grow on phenol[J]. Research in Microbiology, 2005, 156(5/6):677-689.
- [38] 喻娇. 环丙沙星(CIP)降解菌群驯化及降解特性初步研究[D]. 广州: 暨南大学, 2017.
- [39] Li W, Zhang S, Wang X, et al. Systematically integrated metabonomic-proteomic studies of *Escherichia coli* under ciprofloxacin stress[J]. Journal of Proteomics, 2018, 179: 61-70.
- [40] Pan X L, Liu J, Zhang D Y, et al. Binding of dicamba to soluble and bound extracellular polymeric substances (EPS) from aerobic activated sludge: A fluorescence quenching study[J]. Journal of Colloid and Interface Science, 2010, 345(2):442-447.
- [41] Xu J, Sheng G P, Ma Y, et al. Roles of extracellular polymeric substances (EPS) in the migration and removal of sulfamethazine in activated sludge system[J]. Water Research, 2013, 47(14):5298-5306.

Effect of ciprofloxacin in wastewater on extracellular proteomics of activated sludge

ZHANG Jialu¹, GUO Minhui², LÜ Yang¹, YU Jie¹, WANG Kan^{1*}, DU Zhimin³

(1.School of Civil & Environmental Engineering and Geography Science, Ningbo University, Ningbo 315211, China;

2.Department of Environmental Engineering, Zhejiang University, Hangzhou 310058, China;

3.Department of Environmental Engineering, Henan University of Technology, Zhengzhou 450001, China)

Abstract: Extracellular proteins in activated sludge play a key role in ciprofloxacin (CIP) removal during the biological wastewater treatment process. The properties of extracellular proteins might be altered by CIP via the biological processes of activated sludge. The effect of CIP on the expression profile of extracellular proteins in activated sludge was investigated in the present study, using liquid chromatography tandem mass spectrometry. In addition, gene ontology annotation analysis was carried out. A total of 89 and 97 of high confidence proteins were identified in the control group and CIP group respectively. A total of 13 proteins were identically expressed, indicating the significant difference between the two groups. The extracellular proteins in the control group and CIP group had similar isoelectric point distribution, which was mainly between 4.5–7.0 and 8.0–10.0. The molecular weight of extracellular proteins was mainly between 10–60 kDa and the extracellular proteins with large molecular weight were increased with the addition of CIP. For the subcellular localization, 62.9% and 66.0% of the proteins were present in the control group and CIP group respectively. Cellular localization was identified, including the cytoplasm, nucleus, cell membrane, and various organelle. The results suggest that most of the extracellular proteins were originated from cell lysis. They were also renewed and reorganized after the CIP addition, which is favorable for CIP adsorption. CIP resulted in a significant reduction of proteins located in the nucleus. For the molecular functions and biological processes, the addition of CIP inhibited the expression of proteins related to the binding, synthesis, and transcription of DNA and RNA. It also hindered the transcription and catabolism of DNA and RNA while stimulated the expression of proteins with molecular functions such as nucleic acid repair, proteins binding and bridging. The process promoted the biological processes including nucleic acid damage repair, emergency response, terpene synthesis, proteins synthesis and metabolism. CIP inhibited the expression of high abundance proteins in the control group, such as the 50S ribosomal protein L11 derived from *Bartonella bacilliformis*, the ferric uptake regulation protein derived from *Klebsiella pneumoniae*, the RNA polymerase sigma factor SigA derived from *Mycobacterium bovis*, and the ribonuclease Z 1 from *Schizosaccharomyces pombe*. CIP could change the properties of extracellular proteins by influencing the biological processes of activated sludge and further promote the binding of activated sludge with CIP.

Key words: activated sludge; ciprofloxacin; proteomics; extracellular proteins; binding

附录

表 A1 活性污泥胞外蛋白质组表达谱

蛋白质编号	蛋白质名称	PI/MW	有机体
A2STK8	Nucleoside diphosphate kinase	5.81/11.0	<i>Methanocorpusculum labreanum</i> (strain ATCC 43576 / DSM 4855 / Z)
A3CX71	Glycerol-1-phosphate dehydrogenase [NAD(P)+]	5.61/11.0	<i>Methanoculleus marisnigri</i> (strain ATCC 35101 / DSM 1498 / JR1)
A4FW97	UPF0210 protein MmarC5_0151	4.94/11.7	<i>Methanococcus maripaludis</i> (strain C5 / ATCC BAA-1333)
A4FZY1	Glutamate-1-semialdehyde 2,1-aminomutase	5.16/12.7	<i>Methanococcus maripaludis</i> (strain C5 / ATCC BAA-1333)
A4G0G9	DNA polymerase II large subunit	5.42/13.9	<i>Methanococcus maripaludis</i> (strain C5 / ATCC BAA-1333)
A6UT27	50S ribosomal protein L21e	10.42/15.7	<i>Methanococcus aeolicus</i> (strain ATCC BAA-1280 / DSM 17508 / OCM 812 / Nankai-3)
A7GKI9	Heptaprenylglyceryl phosphate synthase	4.83/17.8	<i>Bacillus cytotoxicus</i> (strain DSM 22905 / CIP 110041 / 391-98 / NVH 391-98)
B0R3H3	Chaperone protein DnaJ	4.53/19.3	<i>Halobacterium salinarum</i> (strain ATCC 29341 / DSM 671 / R1)
B7IHU4	Elongation factor Tu	5/22.5	<i>Thermosiphon africanus</i> (strain TCF52B)
O27264	GTP cyclohydrolase MptA	5.28/26.7	<i>Methanothermobacter thermotrophicus</i> (strain ATCC 29096 / DSM 1053 / JCM 10044 / NBRC 100330 / Delta H) (<i>Methanobacterium thermoautotrophicum</i>)
O28437	Putative ABC transporter ATP-binding protein AF_1841	5.18/27.4	<i>Archaeoglobus fulgidus</i> (strain ATCC 49558 / VC-16 / DSM 4304 / JCM 9628 / NBRC 100126)
P22498	Beta-galactosidase	6.04/33.8	<i>Saccharolobus solfataricus</i> (strain ATCC 35092 / DSM 1617 / JCM 11322 / P2) (<i>Sulfolobus solfataricus</i>)
P58024	Uncharacterized protein AF_2407.1	8.42/40.1	<i>Archaeoglobus fulgidus</i> (strain ATCC 49558 / VC-16 / DSM 4304 / JCM 9628 / NBRC 100126)
Q3IMY3	50S ribosomal protein L22	4.96/45.7	<i>Natronomonas pharaonis</i> (strain ATCC 35678 / DSM 2160 / CIP 103997 / NBRC 14720 / NCIMB 2260 / Gabara) (<i>Halobacterium pharaonis</i>)
Q50756	H(2):CoB-CoM heterodisulfide, ferredoxin reductase subunit A	4.87/47.6	<i>Methanothermobacter marburgensis</i> (strain ATCC BAA-927 / DSM 2133 / JCM 14651 / NBRC 100331 / OCM 82 / Marburg) (<i>Methanobacterium thermoautotrophicum</i>)
Q58295	DNA polymerase	9.17/48.0	<i>Methanocaldococcus jannaschii</i> (strain ATCC 43067 / DSM 2661 / JAL-1 / JCM 10045 / NBRC 100440) (<i>Methanococcus jannaschii</i>)
Q58593	Polyferredoxin protein VhuB	8.04/57.8	<i>Methanocaldococcus jannaschii</i> (strain ATCC 43067 / DSM 2661 / JAL-1 / JCM 10045 / NBRC 100440) (<i>Methanococcus jannaschii</i>)
Q7LXL5	3'-flap repair endonuclease Xpf	7.72/72.1	<i>Saccharolobus solfataricus</i> (strain ATCC 35092 / DSM 1617 / JCM 11322 / P2) (<i>Sulfolobus solfataricus</i>)
Q8PZU2	UPF0228 protein MM_0400	5.1/90.6	<i>Methanosarcina mazei</i> (strain ATCC BAA-159 / DSM 3647 / Goel / JCM 11833 / OCM 88) (<i>Methanosarcina frisia</i>)
Q8TPW4	Phosphomethylpyrimidine synthase 1	5.21/94.5	<i>Methanosarcina acetivorans</i> (strain ATCC 35395 / DSM 2834 / JCM 12185 / C2A)
Q8TUB9	3-methylornithine synthase	5.23/96.0	<i>Methanosarcina acetivorans</i> (strain ATCC 35395 / DSM 2834 / JCM 12185 / C2A)
Q8TW12	Phosphoribosylformylglycinamide cyclo-ligase	4.61/97.6	<i>Methanopyrus kandleri</i> (strain AV19 / DSM 6324 / JCM 9639 / NBRC 100938)
Q9UYS6	Transcription factor E	8.55/136.7	<i>Pyrococcus abyssi</i> (strain GE5 / Orsay)
Q9WY77	Phospho-N-acetylmuramoyl-pentapeptide-transferase	9.28/159.7	<i>Thermotoga maritima</i> (strain ATCC 43589 / MSB8 / DSM 3109 / JCM 10099)
Q9X1W3	Ribose-phosphate pyrophosphokinase	5.94/940.2	<i>Thermotoga maritima</i> (strain ATCC 43589 / MSB8 / DSM 3109 / JCM 10099)
P52854	Elongation factor Tu	6.04/38.0	<i>Brachyspira hyodysenteriae</i> (<i>Treponema hyodysenteriae</i>)
A4W5R3	RNA-binding protein Hfq	6.97/15.7	<i>Enterobacter</i> sp. (strain 638)
A1A766	Chaperone protein DnaK	4.83/69.1	<i>Escherichia coli</i> O1:K1 / APEC
A1USC4	50S ribosomal protein L11	9.55/7.5	<i>Bartonella bacilliformis</i> (strain ATCC 35685 / NCTC 12138 / KC583)
A1VE69	1-deoxy-D-xylulose-5-phosphate synthase	6.06/8.8	<i>Desulfovibrio vulgaris</i> subsp. <i>vulgaris</i> (strain DP4)

表 A1 (续)

蛋白质 编号	蛋白质名称	PI/MW	有机体
A2RCN9	Nucleoid-associated protein SpyM50270	4.79/10.4	<i>Streptococcus pyogenes</i> serotype M5 (strain Manfredo)
A3DK82	Glucose-1-phosphate adenylyltransferase	5.35/11.1	<i>Hungateiclostridium thermocellum</i> (strain ATCC 27405 / DSM 1237 / JCM 9322 / NBRC 103400 / NCIMB 10682 / NRRL B-4536 / VPI 7372) (<i>Clostridium thermocellum</i>)
A6W133	UPF0502 protein Mmwy11_3509	5/16.4	<i>Marinomonas</i> sp. (strain MWYL1)
A9WW74	Ubiquinone/menaquinone biosynthesis C-methyltransferase UbiE	5.91/17.8	<i>Brucella suis</i> (strain ATCC 23445 / NCTC 10510)
B1YGC9	Nucleoid-associated protein Exig_0019	4.75/20.9	<i>Exiguobacterium sibiricum</i> (strain DSM 17290 / JCM 13490 / 255-15)
B2I7N1	Glycerol-3-phosphate acyltransferase	9.34/20.9	<i>Xylella fastidiosa</i> (strain M23)
B3EGW3	DNA-directed RNA polymerase subunit alpha	5.06/21.5	<i>Chlorobium limicola</i> (strain DSM 245 / NBRC 103803 / 6330)
B7IDU7	50S ribosomal protein L9	9.68/22.5	<i>Thermosipho africanus</i> (strain TCF52B)
B9K852	Exodeoxyribonuclease 7 small subunit	4.17/24.6	<i>Thermotoga neapolitana</i> (strain ATCC 49049 / DSM 4359 / NS-E)
C5D4W6	Phosphatidylserine decarboxylase proenzyme	5.05/25.7	<i>Geobacillus</i> sp. (strain WCH70)
P0A603	RNA polymerase sigma factor SigA	4.71/30.7	<i>Mycobacterium bovis</i> (strain ATCC BAA-935 / AF2122/97)
P45599	Ferric uptake regulation protein	6.18/37.5	<i>Klebsiella pneumoniae</i>
P0A9K9	FKBP-type peptidyl-prolyl cis-trans isomerase SlyD	4.86/32.2	<i>Escherichia coli</i> (strain K12)
P0C2E4	Ornithine carbamoyltransferase, catabolic	5.4/32.2	<i>Clostridium perfringens</i> (strain 13 / Type A)
P17169	Glutamine--fructose-6-phosphate aminotransferase [isomerizing]	5.56/32.5	<i>Escherichia coli</i> (strain K12)
P44004	Uncharacterized protein HI_0488	5.37/37.3	<i>Haemophilus influenzae</i> (strain ATCC 51907 / DSM 11121 / KW20 / Rd)
P57379	Adenosylmethionine-8-amino-7-oxon onanoate aminotransferase	9.6/39.6	<i>Buchnera aphidicola</i> subsp. <i>Acyrtosiphon pisum</i> (strain APS) (<i>Acyrtosiphon pisum</i> symbiotic bacterium)
Q2LRN9	Elongation factor P	4.96/43.4	<i>Syntrophus aciditrophicus</i> (strain SB)
Q2N5Q5	DNA-directed RNA polymerase subunit beta'	5.72/44.3	<i>Erythrobacter litoralis</i> (strain HTCC2594)
Q2RJP0	Ribosome-recycling factor	8.7/44.4	<i>Moorella thermoacetica</i> (strain ATCC 39073 / JCM 9320)
Q49XB7	Homoserine kinase	5.05/47.0	<i>Staphylococcus saprophyticus</i> subsp. <i>saprophyticus</i> (strain ATCC 15305 / DSM 20229 / NCIMB 8711 / NCTC 7292 / S-41)
Q5FPX2	Methionyl-tRNA formyltransferase	6.46/59.9	<i>Gluconobacter oxydans</i> (strain 621H) (<i>Gluconobacter suboxydans</i>)
Q65W50	tRNA1(Val) (adenine(37)-N6)- methyltransferase	8.7/61.1	<i>Mannheimia succiniciproducens</i> (strain MBEL55E)
Q7VMB8	UPF0756 membrane protein HD_1071	9.87/87.2	<i>Haemophilus ducreyi</i> (strain 35000HP / ATCC 700724)
Q83FR7	Exodeoxyribonuclease 7 large subunit	5.85/90.4	<i>Tropheryma whipplei</i> (strain Twist) (<i>Whipple's bacillus</i>)
Q9Z7H0	Uridine kinase	5.02/25.8	<i>Chlamydia pneumoniae</i> (<i>Chlamydophila pneumoniae</i>)
A1C6C4	ATP-dependent RNA helicase dbp2	9.29/3.8	<i>Aspergillus clavatus</i> (strain ATCC 1007 / CBS 513.65 / DSM 816 / NCTC 3887 / NRRL 1)
A2QC74	ATP-dependent RNA helicase dbp2	9.34/10.3	<i>Aspergillus niger</i> (strain CBS 513.88 / FGSC A1513)
A3LP48	Altered inheritance of mitochondria protein 11	4.97/11.4	<i>Scheffersomyces stipitis</i> (strain ATCC 58785 / CBS 6054 / NBRC 10063 / NRRL Y-11545) (Yeast) (<i>Pichia stipitis</i>)
A6ZPU3	ATP-dependent RNA helicase DBP4	7/18.7	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> (strain YJM789) (Baker's yeast)
A6ZYV6	Biogenesis of lysosome-related organelles complex 1 subunit CNL1	5.02/17.1	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> (strain YJM789) (Baker's yeast)
B9W757	ATPase GET3	4.83/25.5	<i>Candida dubliniensis</i> (strain CD36 / ATCC MYA-646 / CBS 7987 / NCPF 3949 / NRRL Y-17841) (Yeast)
C6Y4B9	Uncharacterized protein C222.17	4.76/26.1	<i>Schizosaccharomyces pombe</i> (strain 972 / ATCC 24843) (Fission yeast)
O13563	26S proteasome regulatory subunit RPN13	4.46/26.7	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> (strain ATCC 204508 / S288c) (Baker's yeast)

表 A1 (续)

蛋白质 编号	蛋白质名称	PI/MW	有机体
O74227	Guanine nucleotide-binding protein subunit alpha	5.09/27.9	<i>Cochliobolus heterostrophus</i> (strain C4 / ATCC 48331 / race T) (Southern corn leaf blight fungus) (<i>Bipolaris maydis</i>)
O74309	Histone transcription regulator slm9	6.94/28.8	<i>Schizosaccharomyces pombe</i> (strain 972 / ATCC 24843) (Fission yeast)
P38096	Lactam utilization protein lamB	5.82/35.0	<i>Emericella nidulans</i> (strain FGSC A4 / ATCC 38163 / CBS 112.46 / NRRL 194 / M139) (<i>Aspergillus nidulans</i>)
P38359	Sulfate permease 1	6.35/36.0	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> (strain ATCC 204508 / S288c) (Baker's yeast)
P41808	Sporulation-specific mitogen-activated protein kinase SMK1	8.91/37.2	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> (strain ATCC 204508 / S288c) (Baker's yeast)
P53889	Uncharacterized mitochondrial hydrolase FMP41	8.8/39.6	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> (strain ATCC 204508 / S288c) (Baker's yeast)
P78983	Heat shock 70 kDa protein	4.5/16.0	<i>Alternaria alternata</i> (<i>Alternaria rot fungus</i>) (<i>Torula alternata</i>)
Q06099	S-(hydroxymethyl)glutathione dehydrogenase	6.27/40.7	<i>Candida maltosa</i> (Yeast)
Q10155	Ribonuclease Z 1	6.77/40.8	<i>Schizosaccharomyces pombe</i> (strain 972 / ATCC 24843) (Fission yeast)
Q1E873	PAN2-PAN3 deadenylation complex catalytic subunit PAN2	6.55/41.7	<i>Coccidioides immitis</i> (strain RS) (Valley fever fungus)
Q2GZK0	Eukaryotic translation initiation factor 3 subunit H	6.71/43.3	<i>Chaetomium globosum</i> (strain ATCC 6205 / CBS 148.51 / DSM 1962 / NBRC 6347 / NRRL 1970) (Soil fungus)
Q2UF60	Protein transport protein sec31	6.05/44.7	<i>Aspergillus oryzae</i> (strain ATCC 42149 / RIB 40) (Yellow koji mold)
Q2V2Q1	Antisense of depressing factor protein 1	10/45.0	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> (strain ATCC 204508 / S288c) (Baker's yeast)
Q4WVN4	Nonribosomal peptide synthetase 8	5.71/47.4	<i>Neosartorya fumigata</i> (strain ATCC MYA-4609 / Af293 / CBS 101355 / FGSC A1100) (<i>Aspergillus fumigatus</i>)
Q6CRE7	GPI mannosyltransferase 1	9.25/61.6	<i>Kluyveromyces lactis</i> (strain ATCC 8585 / CBS 2359 / DSM 70799 / NBRC 1267 / NRRL Y-1140 / WM37) (Yeast) (<i>Candida sphaerica</i>)
Q6FJQ9	Cell wall transcription factor ACE2	7.36/66.8	<i>Candida glabrata</i> (strain ATCC 2001 / CBS 138 / JCM 3761 / NBRC 0622 / NRRL Y-65) (Yeast) (<i>Torulopsis glabrata</i>)
Q7SG97	SVP1-like protein 2	9.24/79.5	<i>Neurospora crassa</i> (strain ATCC 24698 / 74-OR23-1A / CBS 708.71 / DSM 1257 / FGSC 987)
Q8SQS5	Probable proteasome subunit alpha type-6	6.15/91.0	<i>Encephalitozoon cuniculi</i> (strain GB-M1) (Microsporidian parasite)
Q9P781	Golgi apparatus membrane protein tvp38	5.85/31.0	<i>Schizosaccharomyces pombe</i> (strain 972 / ATCC 24843) (Fission yeast)
Q9US03	Kinesin-like protein 2	6.7/135.7	<i>Schizosaccharomyces pombe</i> (strain 972 / ATCC 24843) (Fission yeast)

表 A2 添加 10 mg·L⁻¹ CIP 后活性污泥胞外蛋白质组表达谱

蛋白质 编号	蛋白质名称	PI/MW	有机体
A1RVN1	30S ribosomal protein S8	9.66/6.95	<i>Pyrobaculum islandicum</i> (strain DSM 4184 / JCM 9189 / GEO3)
A4FZM0	Dihydroxy-acid dehydratase	5.44/11.13	<i>Methanococcus maripaludis</i> (strain C5 / ATCC BAA-1333)
A6UVF4	Nascent polypeptide-associated complex protein	5.08/14.93	<i>Methanococcus aeolicus</i> (strain ATCC BAA-1280 / DSM 17508 / OCM 812 / Nankai-3)
A7GK19	Heptaprenylglyceryl phosphate synthase	4.83/16.01	<i>Bacillus cytotoxicus</i> (strain DSM 22905 / CIP 110041 / 391-98 / NVH 391-98)
B0R3H3	Chaperone protein DnaJ	4.53/21.96	<i>Halobacterium salinarum</i> (strain ATCC 29341 / DSM 671 / R1)
B1YJ15	Heptaprenylglyceryl phosphate synthase	4.55/22.73	<i>Exiguobacterium sibiricum</i> (strain DSM 17290 / JCM 13490 / 255-15)
G4RJZ0	CRISPR system associated protein Csa5	6.19/28.17	<i>Thermoproteus tenax</i> (strain ATCC 35583 / DSM 2078 / JCM 9277 / NBRC 100435 / Kra 1)
O27179	Pyruvate carboxylase subunit B	4.66/28.55	<i>Methanothermobacter thermautotrophicus</i> (strain ATCC 29096 / DSM 1053 / JCM 10044 / NBRC 100330 / Delta H) (<i>Methanobacterium thermoautotrophicum</i>)

表 A2 (续)

蛋白质 编号	蛋白质名称	PI/MW	有机体
O27969	Nicotinamide-nucleotide adenylyltransferase	6.39/31.25	<i>Archaeoglobus fulgidus</i> (strain ATCC 49558 / VC-16 / DSM 4304 / JCM 9628 / NBRC 100126)
O29398	Uncharacterized protein AF_0863	8.99/32.19	<i>Archaeoglobus fulgidus</i> (strain ATCC 49558 / VC-16 / DSM 4304 / JCM 9628 / NBRC 100126)
P22498	Beta-galactosidase	6.04/38.10	<i>Saccharolobus solfataricus</i> (strain ATCC 35092 / DSM 1617 / JCM 11322 / P2) (<i>Sulfolobus solfataricus</i>)
P94951	F420-dependent methylenetetrahydromethanopterin dehydrogenase	4.4/41.37	<i>Methanopyrus kandleri</i> (strain AV19 / DSM 6324 / JCM 9639 / NBRC 100938)
Q12ZQ0	GTP cyclohydrolase MptA	5.98/44.15	<i>Methanococcoides burtonii</i> (strain DSM 6242 / NBRC 107633 / OCM 468 / ACE-M)
Q2S3R8	30S ribosomal protein S7	9.63/46.95	<i>Salinibacter ruber</i> (strain DSM 13855 / M31)
Q46AT6	Replication factor C large subunit	5.73/47.03	<i>Methanosarcina barkeri</i> (strain Fusaro / DSM 804)
Q8PXJ1	Glutamyl-tRNA(Gln) amidotransferase subunit A	5.94/59.99	<i>Methanosarcina mazei</i> (strain ATCC BAA-159 / DSM 3647 / Goel / Go1 / JCM 11833 / OCM 88) (<i>Methanosarcina frisia</i>)
Q57906	Uncharacterized protein MJ0481	8.29/48.65	<i>Methanocaldococcus jannaschii</i> (strain ATCC 43067 / DSM 2661 / JAL-1 / JCM 10045 / NBRC 100440) (<i>Methanococcus jannaschii</i>)
Q57995	Uncharacterized protein MJ0575	6.76/49.15	<i>Methanocaldococcus jannaschii</i> (strain ATCC 43067 / DSM 2661 / JAL-1 / JCM 10045 / NBRC 100440) (<i>Methanococcus jannaschii</i>)
Q58295	DNA polymerase	7.04/50.21	<i>Methanocaldococcus jannaschii</i> (strain ATCC 43067 / DSM 2661 / JAL-1 / JCM 10045 / NBRC 100440) (<i>Methanococcus jannaschii</i>)
Q58575	Chorismate synthase	8.05/50.41	<i>Methanocaldococcus jannaschii</i> (strain ATCC 43067 / DSM 2661 / JAL-1 / JCM 10045 / NBRC 100440) (<i>Methanococcus jannaschii</i>)
Q58863	Uncharacterized protein MJ1468	4.91/50.66	<i>Methanocaldococcus jannaschii</i> (strain ATCC 43067 / DSM 2661 / JAL-1 / JCM 10045 / NBRC 100440) (<i>Methanococcus jannaschii</i>)
Q5JH31	Cell division protein FtsZ 1	4.8/51.29	<i>Thermococcus kodakarensis</i> (strain ATCC BAA-918 / JCM 12380 / KOD1) (<i>Pyrococcus kodakaraensis</i> (strain KOD1))
Q5JI69	L-threonine 3-dehydrogenase	6.09/51.33	<i>Thermococcus kodakarensis</i> (strain ATCC BAA-918 / JCM 12380 / KOD1) (<i>Pyrococcus kodakaraensis</i> (strain KOD1))
Q5UXN1	5-amino-6-(D-ribitylamino)uracil--L-ty rosine 4-hydroxyphenyl transferase	4.43/51.71	<i>Haloarcula marismortui</i> (strain ATCC 43049 / DSM 3752 / JCM 8966 / VKM B-1809) (<i>Halobacterium marismortui</i>)
Q6KZI6	30S ribosomal protein S28e	9.51/56.87	<i>Picrophilus torridus</i> (strain ATCC 700027 / DSM 9790 / JCM 10055 / NBRC 100828)
Q7LXL5	3'-flap repair endonuclease Xpf	7.72/57.12	<i>Saccharolobus solfataricus</i> (strain ATCC 35092 / DSM 1617 / JCM 11322 / P2) (<i>Sulfolobus solfataricus</i>)
Q8PWA7	DNA mismatch repair protein MutS	5.51/59.94	<i>Methanosarcina mazei</i> (strain ATCC BAA-159 / DSM 3647 / Goel / Go1 / JCM 11833 / OCM 88) (<i>Methanosarcina frisia</i>)
Q8TL41	Histidinol dehydrogenase	5.11/63.33	<i>Methanosarcina acetivorans</i> (strain ATCC 35395 / DSM 2834 / JCM 12185 / C2A)
Q8TQS4	Probable tRNA sulfurtransferase	7.55/63.96	<i>Methanosarcina acetivorans</i> (strain ATCC 35395 / DSM 2834 / JCM 12185 / C2A)
Q8U039	Serine hydroxymethyltransferase	5.85/64.52	<i>Pyrococcus furiosus</i> (strain ATCC 43587 / DSM 3638 / JCM 8422 / Vc1)
Q8ZYL6	DNA polymerase sliding clamp 2	4.88/64.67	<i>Pyrobaculum aerophilum</i> (strain ATCC 51768 / IM2 / DSM 7523 / JCM 9630 / NBRC 100827)
Q979C2	FAD synthase	8.78/71.04	<i>Thermoplasma volcanium</i> (strain ATCC 51530 / DSM 4299 / JCM 9571 / NBRC 15438 / GSS1)
Q9HQB7	Probable S-adenosyl-L-methionine- binding protein VNG_1115H	4.34/78.81	<i>Halobacterium salinarum</i> (strain ATCC 700922 / JCM 11081 / NRC-1) (<i>Halobacterium halobium</i>)
Q9V0V2	Arginine--tRNA ligase	6.08/115.1	<i>Pyrococcus abyssi</i> (strain GE5 / Orsay)
Q9X282	UvrABC system protein B	5.3/355.44	<i>Thermotoga maritima</i> (strain ATCC 43589 / MSB8 / DSM 3109 / JCM 10099)
Q2JIM4	50S ribosomal protein L2	11.13/46.0 4	<i>Synechococcus</i> sp. (strain JA-2-3B'a(2-13)) (<i>Cyanobacteria</i> <i>bacterium Yellowstone B-Prime</i>)
A3QA46	60 kDa chaperonin	4.75/8.85	<i>Shewanella loihica</i> (strain ATCC BAA-1088 / PV-4)
A4VHN0	50S ribosomal protein L3	9.94/11.12	<i>Pseudomonas stutzeri</i> (strain A1501)
A6H0U1	CTP synthase	5.91/13.30	<i>Flavobacterium psychrophilum</i> (strain JIP02/86 / ATCC 49511)

表 A2 (续)

蛋白质 编号	蛋白质名称	PI/MW	有机体
A7GX11	Glutamate--tRNA ligase 1	6.2/18.02	<i>Campylobacter curvus</i> (strain 525.92)
A7MYC1	Exodeoxyribonuclease 7 small subunit	4.11/20.38	<i>Vibrio campbellii</i> (strain ATCC BAA-1116 / BB120)
A8H8W3	60 kDa chaperonin	4.79/20.85	<i>Shewanella pealeana</i> (strain ATCC 700345 / ANG-SQ1)
B0B7M3	V-type ATP synthase beta chain	5.45/21.02	<i>Chlamydia trachomatis</i> serovar L2 (strain 434/Bu / ATCC VR-902B)
B1KHF1	Multifunctional CCA protein	5.95/22.61	<i>Shewanella woodyi</i> (strain ATCC 51908 / MS32)
B7GKC7	Protein GrpE	4.73/23.73	<i>Anoxybacillus flavithermus</i> (strain DSM 21510 / WK1)
B8HVK1	1-deoxy-D-xylulose 5-phosphate reductoisomerase	5.06/23.73	<i>Cyanotheca</i> sp. (strain PCC 7425 / ATCC 29141)
C0QHT9	Uracil phosphoribosyltransferase	5.46/24.75	<i>Desulfovibrio autotrophicum</i> (strain ATCC 43914 / DSM 3382 / HRM2)
C5D4W6	Phosphatidylserine decarboxylase proenzyme	5.05/25.7	<i>Geobacillus</i> sp. (strain WCH70)
P0A9K9	FKBP-type peptidyl-prolyl cis-trans isomerase SlyD	4.86/34.00	<i>Escherichia coli</i> (strain K12)
P0C2E4	Ornithine carbamoyltransferase, catabolic	5.4/35.54	<i>Clostridium perfringens</i> (strain 13 / Type A)
P11221	Major outer membrane lipoprotein	6.8/37.15	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> (strain ATCC 15692 / DSM 22644 / CIP 104116 / JCM 14847 / LMG 12228 / IC / PRS 101 / PAO1)
P17169	Glutamine--fructose-6-phosphate aminotransferase [isomerizing]	5.56/37.47	<i>Escherichia coli</i> (strain K12)
Q50318	Cell division protein FtsZ	5.17/47.99	<i>Mycoplasma pulmonis</i> (strain UAB CTIP)
P37549	Protein SspF	9.3/40.06	<i>Bacillus subtilis</i> (strain 168)
P41068	Protein TraP	9.17/40.74	<i>Escherichia coli</i> (strain K12)
Q9RNZ1	Bifunctional enzyme IspD/IspF	6.24/100.50	<i>Zymomonas mobilis</i> subsp. <i>mobilis</i> (strain ATCC 31821 / ZM4 / CP4)
Q21ZD1	60 kDa chaperonin 1	5.26/45.44	<i>Rhodospirillum rubrum</i> (strain ATCC BAA-621 / DSM 15236 / T118) (<i>Albidiferax ferrireducens</i>)
Q3A8M6	DNA replication and repair protein RecF	9.03/46.95	<i>Pelobacter carbinolicus</i> (strain DSM 2380 / NBRC 103641 / GraBd1)
Q5FPX2	Methionyl-tRNA formyltransferase	6.46/50.82	<i>Gluconobacter oxydans</i> (strain 621H) (<i>Gluconobacter suboxydans</i>)
Q5WH46	UPF0316 protein ABC1774	9.62/55.41	<i>Bacillus clausii</i> (strain KSM-K16)
Q87DC2	Fumarate hydratase class II	6.91/57.30	<i>Xylella fastidiosa</i> (strain Temecula1 / ATCC 700964)
Q8P8J6	Acetylglutamate kinase	5.54/58.94	<i>Xanthomonas campestris</i> pv. <i>campestris</i> (strain ATCC 33913 / DSM 3586 / NCPPB 528 / LMG 568 / P 25)
Q8CXQ5	tRNA dimethylallyltransferase	8.45/57.63	<i>Mycoplasma penetrans</i> (strain HF-2)
Q8KM30	60 kDa chaperonin	4.65/58.61	<i>Oleispira antarctica</i>
Q92EW7	Hydroxyethylthiazole kinase	4.85/66.76	<i>Listeria innocua</i> serovar 6a (strain ATCC BAA-680 / CLIP 11262)
Q97KH7	Phosphoribosyl-AMP cyclohydrolase	6.72/71.69	<i>Clostridium acetobutylicum</i> (strain ATCC 824 / DSM 792 / JCM 1419 / LMG 5710 / VKM B-1787)
Q9CEL9	UvrABC system protein A	6.11/76.68	<i>Lactococcus lactis</i> subsp. <i>lactis</i> (strain IL1403) (<i>Streptococcus lactis</i>)
Q9KCI0	Cobyrinic acid synthase	5.59/79.68	<i>Bacillus halodurans</i> (strain ATCC BAA-125 / DSM 18197 / FERM 7344 / JCM 9153 / C-125)
Q9WYK0	Endonuclease III	9.49/135.70	<i>Thermotoga maritima</i> (strain ATCC 43589 / MSB8 / DSM 3109 / JCM 10099)
A1C6C4	ATP-dependent RNA helicase dbp2	9.29/3.81	<i>Aspergillus clavatus</i> (strain ATCC 1007 / CBS 513.65 / DSM 816 / NCTC 3887 / NRRL 1)
A2QPK4	Probable beta-glucosidase D	4.79/7.02	<i>Aspergillus niger</i> (strain CBS 513.88 / FGSC A1513)
A2QW65	Probable pectin lyase C	5.55/7.49	<i>Aspergillus niger</i> (strain CBS 513.88 / FGSC A1513)
A5E4Z8	Nuclear fusion protein KAR5	5.62/13.25	<i>Lodderomyces elongisporus</i> (strain ATCC 11503 / CBS 2605 / JCM 1781 / NBRC 1676 / NRRL YB-4239) (Yeast) (<i>Saccharomyces elongisporus</i>)
A6ZKU1	Actin cytoskeleton-regulatory complex protein SLA1	5.83/15.04	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> (strain YJM789) (Baker's yeast)

表 A2 (续)

蛋白质 编号	蛋白质名称	PI/MW	有机体
A6ZZF6	Probable serine/threonine-protein kinase KQ8	8.97/15.05	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> (strain YJM789) (Baker's yeast)
C1GG16	Maintenance of mitochondrial morphology protein 1	6.43/24.93	<i>Paracoccidioides brasiliensis</i> (strain Pb18)
C4XVQ6	Mitochondrial distribution and morphology protein 10	9.13/25.53	<i>Clavispora lusitaniae</i> (strain ATCC 42720) (Yeast) (<i>Candida lusitaniae</i>)
C8VQ63	Glutathione S-transferase-like protein gedE	6.1/26.68	<i>Emericella nidulans</i> (strain FGSC A4 / ATCC 38163 / CBS 112.46 / NRRL 194 / M139) (<i>Aspergillus nidulans</i>)
O74227	Guanine nucleotide-binding protein subunit alpha	5.09/32.77	<i>Cochliobolus heterostrophus</i> (strain C4 / ATCC 48331 / race T) (Southern corn leaf blight fungus) (<i>Bipolaris maydis</i>)
O94205	D-lysergyl-peptide-synthetase subunit 1	5.83/33.18	<i>Claviceps purpurea</i> (Ergot fungus) (<i>Sphacelia segetum</i>)
P0C1I6	Peptidyl-prolyl cis-trans isomerase-like 4	5.32/34.41	<i>Rhizopus deleamar</i> (strain RA 99-880 / ATCC MYA-4621 / FGSC 9543 / NRRL 43880) (Mucormycosis agent) (<i>Rhizopus arrhizus</i> var. <i>deleamar</i>)
P25039	Elongation factor G, mitochondrial	5.74/38.52	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> (strain ATCC 204508 / S288c) (Baker's yeast)
P32943	S-phase entry cyclin-6	8.35/38.79	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> (strain ATCC 204508 / S288c) (Baker's yeast)
P38678	Glucan synthesis regulatory protein	5.39/40.24	<i>Neurospora crassa</i> (strain ATCC 24698 / 74-OR23-1A / CBS 708.71 / DSM 1257 / FGSC 987)
Q00179	Signal recognition particle 54 kDa protein homolog	9.3/41.51	<i>Aspergillus niger</i>
Q12306	Ubiquitin-like protein SMT3	4.92/41.71	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> (strain ATCC 204508 / S288c) (Baker's yeast)
Q6BMN7	Protein SDS23	9.35/55.55	<i>Debaryomyces hansenii</i> (strain ATCC 36239 / CBS 767 / JCM 1990 / NBRC 0083 / IGC 2968) (Yeast) (<i>Torulaspora hansenii</i>)
Q6C7F7	Sensitive to high expression protein 9 homolog, mitochondrial	5.57/55.58	<i>Yarrowia lipolytica</i> (strain CLIB 122 / E 150) (Yeast) (<i>Candida lipolytica</i>)
Q6CRE7	GPI mannosyltransferase 1	9.25/56.69	<i>Kluyveromyces lactis</i> (strain ATCC 8585 / CBS 2359 / DSM 70799 / NBRC 1267 / NRRL Y-1140 / WM37) (Yeast) (<i>Candida sphaerica</i>)
Q6FM63	Autophagy-related protein 18	5.16/56.87	<i>Candida glabrata</i> (strain ATCC 2001 / CBS 138 / JCM 3761 / NBRC 0622 / NRRL Y-65) (Yeast) (<i>Torulopsis glabrata</i>)
Q7RXL1	NADH-cytochrome b5 reductase 1	9.27/57.29	<i>Neurospora crassa</i> (strain ATCC 24698 / 74-OR23-1A / CBS 708.71 / DSM 1257 / FGSC 987)
Q9P7Q8	Mo25-like protein	8.91/82.53	<i>Schizosaccharomyces pombe</i> (strain 972 / ATCC 24843) (Fission yeast)

(责任编辑 韩 超)