

海洋中麻痹性贝类毒素的合成转化及其影响因素研究进展

宋维佳^{1,2,3,4}, 宋秀贤^{1,2,3,4}, 俞志明^{1,2,3,4}, 李靖^{1,2,3}, 张悦^{1,2,3}

(1. 中国科学院海洋研究所海洋生态与环境科学重点实验室, 山东 青岛 266071; 2. 青岛海洋科学与技术试点国家实验室 海洋生态与环境科学功能实验室, 山东 青岛 266237; 3. 中国科学院海洋大科学研究中心, 山东 青岛 266071; 4. 中国科学院大学, 北京 100049)

摘要: 麻痹性贝类毒素(paralytic shellfish toxins, PSTs)是由某些甲藻产生的一种高毒性神经毒素, 在海洋环境中分布广、危害大, 可对水产养殖和人类健康造成重大危害; PSTs 毒素的毒性大小随种类和结构的不同有较大差异。迄今, 国内外学者针对 PSTs 的来源分布、迁移转化、生物合成及其影响因素等开展了大量的调查研究, 但目前对于藻细胞产毒的生物合成途径、遗传学特征及其环境调控机理等研究仍处于起步阶段。PSTs 的生物合成过程不仅与藻细胞自身生长阶段有关, 还会受到光照、温度、营养盐等多种环境因素的影响, 环境条件的改变会引起藻细胞毒素组成和含量发生不同程度的变化。近年来, 研究人员应用基因组学和蛋白质组学技术, 发现了产生 PSTs 的典型甲藻——亚历山大藻(*Alexandrium*)细胞内与 PSTs 毒素生物合成相关的某些基因或蛋白质, 对我们更清晰地了解亚历山大藻产生 PSTs 毒素的机制具有重要意义。本文综合以往的研究报道, 对亚历山大藻中 PSTs 的生物合成与转化及其主要影响因素进行了总结, 以期对产毒有害藻华的防治提供科学依据。

关键词: 甲藻; 麻痹性贝类毒素; 生物合成; 环境因素

中图分类号: Q-1 文献标识码: A 文章编号: 1000-3096(2022)09-0117-13

DOI: 10.11759/hyxx20201001001

随着人类活动影响的加剧, 有害藻华已经成为一种全球性的海洋生态问题, 且呈现出暴发规模加大、持续时间更长、致灾效应加重、全球扩张明显等特点^[1], 对海洋生态系统的平衡、人类的健康与安全构成严重威胁。尤其值得注意的是, 近年来有害藻华的原因种呈现出向甲藻类、有毒藻类演变的趋势, 有毒甲藻藻华频繁暴发。其中, 亚历山大藻(*Alexandrium*)是我国近海较为常见的、能够产生麻痹性贝类毒素(paralytic shellfish toxins, PSTs)等多种藻毒素的甲藻类群, 2002—2017年间, 在我国近海形成了 24 次赤潮^[2], 同时欧洲、北美等全球范围内多个海域也曾多次暴发该藻藻华。不仅破坏了海洋生态环境, 还给海水养殖业和滨海旅游业造成巨大的经济损失。更为严重的是, 当海域中暴发有毒亚历山大藻藻华后, 由藻细胞合成的 PSTs 毒素将通过食物链的生物放大作用(如贝类等滤食有毒藻细胞后, 毒素可在其体内积累), 最终进入食物链顶端的人类体内。其带有正电荷的胍基基团可以与电压门控钠离子通道的羧基基团发生相互作用, 阻断钠离子通过神经细胞膜, 影响正常的动作电位形成, 进而阻断

神经传导, 对神经系统产生麻痹作用, 从而导致中毒, 甚至造成死亡。

从全球范围看, 近年来 PSTs 中毒事件显著增加, 分布区域和影响范围迅速扩散, 对海洋生物乃至人类健康与安全构成了严重威胁。20 世纪 70 年代以前, PSTs 仅在北美、日本、欧洲沿海海域有所分布, 有记录的 PSTs 中毒事件约为 1 600 人次; 而到 2009 年, 在环北太平洋沿海地区、欧洲沿海、美国东海岸、澳大利亚、北美南部等几乎全球范围内均有 PSTs 的分布^[3]。据估计, 近年来全球范围内每年发生约 2 000 起 PSTs 中毒事件, 人员死亡率约为 15%^[3-4], 已成为全球性的公共健康问题。在我国的广东沿海、福建

收稿日期: 2020-10-01; 修回日期: 2020-11-28

基金项目: 国家自然科学基金项目(41976148); 山东省重大科技创新工程项目(2019JZZY010808); 2019 年度“泰山学者攀登计划”(泰山学者工程专项经费资助)

[Foundation: The National Natural Science Foundation of China, No. 41976148; the Key R&D Project of Shandong Province, No. 2019JZZY010808; The Taishan Scholars Climbing Program of Shandong Province of the Year 2019]

作者简介: 宋维佳(1997—), 女, 山东日照人, 硕士研究生, 主要从事海洋生态学研究, 电话: 0532-82898985, E-mail: songwj178@163.com; 宋秀贤, 通信作者, 电话: 0532-82898587, E-mail: songxx@qdio.ac.cn

沿海、长江口邻近海域、海州湾、北黄海和河北秦皇岛近岸等海域 PSTs 问题也较为突出^[5]。

海洋中 PSTs 毒素的生物合成受到营养盐、温度、光照等诸多外界环境因子的影响,处于不同环境条件下的藻细胞其毒素的组成和含量是不同的。另外,一些研究结果表明不同生长阶段、不同细胞周期的亚历山大藻细胞内毒素含量也有差异,毒素的生物合成是一个不连续的过程,这说明藻细胞的产毒情况与其自身的生长情况密切相关^[6-7]。

目前,虽然亚历山大藻产毒机制已成为有害藻华研究领域中的一个热点,但对于藻细胞产毒的环境调控机理、生物合成途径和遗传学机制等方面的研究仍处于起步阶段。近年来随着基因组学和蛋白质组学技术的发展,针对 PSTs 的生物合成研究取得了一些新的进展,学者们筛选鉴定出亚历山大藻细胞内与毒素生物合成相关的某些基因或蛋白质,对揭示亚历山大藻毒素的生物合成途径具有重要意义。本文基于国内外大量研究对亚历山大藻中 PSTs 毒素的生物合成与转化、外界环境因素对其影响等进行了综述,将为揭示 PSTs 毒素的产生及其环境因素之间的关系提供理论指导,对于产毒甲藻赤潮的有效防治、保障人类健康和海洋生态安全具有重要意义。

1 海洋中 PSTs 的来源

海洋环境中 PSTs 毒素主要来源于亚历山大藻和裸甲藻,已知的能够产生 PSTs 的藻类包括塔玛亚历山大藻(*Alexandrium tamarense*)、链状亚历山大藻(*A. catenella*)、微小亚历山大藻(*A. minutum*)、链状裸甲藻(*Gymnodinium catenatum*)等。近年来,随着城市化和工业化进程的加剧,在沿海区域经济快速发展的同时,近岸海域富营养化问题日益显现。富营养化不仅表现为海水中营养物质含量的剧烈升高,更为严重的是海水中营养物质的结构也发生明显的变化,如 N、P、Si 三种主要营养盐之间的比例发生改变,尿素等有机态营养物质在总营养物质中所占比例上升等^[8]。水体中营养物质结构的改变会导致浮游植物优势类群的更替,一些有毒甲藻在浮游植物群落中占据优势,在藻细胞快速繁殖的同时产生大量藻毒素。

亚历山大藻属中约有 30 余个藻种,其中至少一半可以产生 PSTs 毒素。尽管不同藻种以及同一藻种的不同株系均具有不同的产毒特性,甚至同一株系

藻细胞在不同的环境条件下的产毒特征也有所差异,但亚历山大藻属的产毒种所产生的 PSTs 毒素种类相对稳定,主要可以产生两类 PSTs 毒素:氨基甲酸酯类毒素和 N-磺酰氨基甲酰基类毒素^[9]。另外,研究表明,不仅亚历山大藻营养细胞能够产生毒素,其在不利环境下形成的孢囊也具有较强的产毒能力^[10]。滤食性贝类摄食游动细胞和孢囊都会引起 PSTs 在其组织内的积累。而鉴于 PSTs 较强的水溶性特征,自然水体中往往也存在一定含量的溶解态 PSTs 毒素,已有报道表明美国、葡萄牙等近海海域均出现过水体中 PSTs 高于产毒藻细胞内 PSTs 含量的情况^[11-13]。另有研究表明,被产毒藻释放到胞外水体的这部分毒素对于水生生物仍具有显著危害^[14]。

多项研究发现,贝类生物体内的 PSTs 含量与水体中亚历山大藻营养细胞密度、表层沉积物中孢囊的分布与丰度具有显著的正相关关系^[15-17]。贝类生物通过滤食藻类摄入的 PSTs 在其体内不断累积,当达到一定浓度后会引发贝类生物发生壳瓣闭合反应、耗氧反应、足丝反应、心搏,以及神经生理反应和摄食反应,甚至影响到存活^[18]。另一方面,学者们深入分析了贝类、鱼类生物体内抗氧化酶系统对摄入 PSTs 毒素的响应。结果表明,在摄入一定的 PSTs 毒素后,贻贝、虾夷扇贝(*Patinopecten yessoensis*)、鲈鱼(*Lateolabrax japonicus*)等生物体内的超氧化物歧化酶(SOD)、谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-Px)、谷胱甘肽硫转移酶(GSTs)等酶活性均受到不同程度的激活^[19-21]。这说明 PSTs 毒素进入贝类、鱼类等生物体内后将诱导产生大量的活性氧自由基,进而导致脂质过氧化损伤,对贝类、鱼类生物产生一定的毒害作用。更为严重的是,该毒素若通过食物链向更高营养级生物传递将会对人类的生命健康与安全造成严重威胁。

PSTs 作为一类由石房蛤毒素(saxitoxin, STX)及其衍生物组成的生物毒素,其对海洋生物及人类的毒性效应随毒素的种类和结构的不同有较大差异。了解产毒藻和其他海洋生物体内 PSTs 的种类、结构的动态变化,对于评估有害藻华暴发海域 PSTs 毒素污染的危害性至关重要。

2 PSTs 的化学结构与相互转化

PSTs 毒素是一类四氢嘌呤的衍生物,其结构上的 4 个位点(R₁-R₄)可以发生乙酰化、磺酰化、羟基化、氨基酰化等多种取代反应(见图 1)。

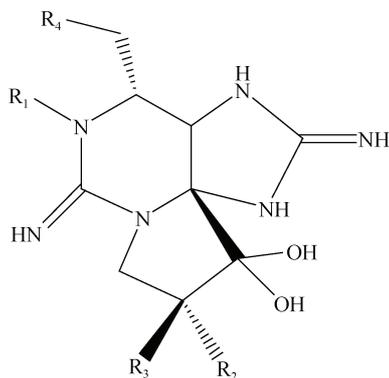


图1 麻痹性贝类毒素(PSTs)的结构
Fig. 1 Structure of paralytic shellfish toxins

根据 R₄ 基团的不同可以将常见的 PSTs 毒素分为 4 类: 1) 氨基甲酸酯类毒素(carbamate toxins), 包

括 STX、新石房蛤毒素(neosaxitoxin, neoSTX)和膝沟藻毒素 1-4(gonyautoxin 1-4, GTX1-4); 2) 脱氨甲酰基类毒素(decarbamoyl toxins), 包括脱氨甲酰基石房蛤毒素(decarbamoyl saxitoxin, dcSTX)、脱氨甲酰基新石房蛤毒素(decarbamoyl neosaxitoxin, dcneoSTX)和脱氨甲酰基膝沟藻毒素 1-4(decarbamoyl gonyautoxin 1-4, dcGTX1-4); 3) N-磺酰氨基甲酰基类毒素(N-sulfocarbamoyl toxins), 包括膝沟藻毒素 5-6(gonyautoxin 5-6, GTX5-6)和 N-磺酰氨基甲酰基膝沟藻毒素 1-4(N-sulfocarbamoylgonyautoxin 1-4, C1-4); 4) 脱氧脱氨甲酰基类毒素(deoxydecarbamoyl toxins), 包括脱氧脱氨甲酰基石房蛤毒素(deoxydecarbamoyl saxitoxin, doSTX)和脱氧脱氨甲酰基膝沟藻毒素 2-3 (deoxydecarbamoyl gonyautoxin 2-3, doGTX2-3)(见表 1)。

表 1 不同种类 PSTs 的毒性和结构
Tab. 1 Toxicity and structure of different PSTs

		毒性/(MU·μmol ⁻¹)	R ₁	R ₂	R ₃	R ₄
氨基甲酸酯类毒素 (carbamate toxins)	STX	2 483	H	H	H	OCONH ₂
	neoSTX	2 295	OH	H	H	OCONH ₂
	GTX1	2 468	OH	H	OSO ₃ ⁻	OCONH ₂
	GTX2	892	H	H	OSO ₃ ⁻	OCONH ₂
	GTX3	1 584	H	OSO ₃ ⁻	H	OCONH ₂
脱氨甲酰基类毒素 (decarbamoyl toxins)	GTX4	1 803	OH	OSO ₃ ⁻	H	OCONH ₂
	dcSTX	1 274	H	H	H	OH
	dcneoSTX	—	OH	H	H	OH
	dcGTX1	—	OH	H	OSO ₃ ⁻	OH
	dcGTX2	1 617	H	H	OSO ₃ ⁻	OH
N-磺酰氨基甲酰基类毒素 (N-sulfocarbamoyl toxins)	dcGTX3	1 872	H	OSO ₃ ⁻	H	OH
	dcGTX4	—	OH	OSO ₃ ⁻	H	OH
	GTX5	160	H	H	H	OCONHSO ₃ ⁻
	GTX6	—	OH	H	H	OCONHSO ₃ ⁻
	C1	15	H	H	OSO ₃ ⁻	OCONHSO ₃ ⁻
脱氧脱氨甲酰基类毒素 (deoxydecarbamoyl toxins)	C2	239	H	OSO ₃ ⁻	H	OCONHSO ₃ ⁻
	C3	33	OH	H	OSO ₃ ⁻	OCONHSO ₃ ⁻
	C4	143	OH	OSO ₃ ⁻	H	OCONHSO ₃ ⁻
	doSTX	—	H	H	H	H
脱氧脱氨甲酰基类毒素 (deoxydecarbamoyl toxins)	doGTX1	—	OH	H	OSO ₃ ⁻	H
	doGTX2	—	H	H	OSO ₃ ⁻	H
	doGTX3	—	H	OSO ₃ ⁻	H	H

注: STX: 石房蛤毒素; neoSTX: 新石房蛤毒素; GTX: 膝沟藻毒素; dcSTX: 脱氨甲酰基石房蛤毒素; dcneoSTX: 脱氨甲酰基新石房蛤毒素; dcGTX: 脱氨甲酰基膝沟藻毒素; C, N-磺酰氨基甲酰基膝沟藻毒素; doSTX: 脱氧脱氨甲酰基石房蛤毒素; doGTX: 脱氧脱氨甲酰基膝沟藻毒素

取代基的差异导致不同种毒素的毒性水平呈现出多样化^[22-23]。其中, 氨基甲酸酯类毒素具有较高的毒性, STX 和 neoSTX 的毒性最高; N-磺酰氨基甲酰基类毒素, 包括 GTX5-6 和 C1-4, 毒性最低。

多项研究表明, 有毒藻和以其为食的贝类生物

两者体内 PSTs 的组成及其相对含量有所差异。比如 Kwong 等研究了暴露于产毒甲藻 *A. fundyense* 的贝类体内毒素情况, 发现这些以微藻为食的贝类生物体内毒素组分与藻细胞相似, 但各组分相对含量却存在较大差异, *A. fundyense* 藻细胞内的 PSTs 以

N-磺酰氨基甲酰基类毒素(C1&2)为主,其含量占 PSTs 总含量的 66.6%,氨基甲酸酯类毒素(GTX1-4、STX、neoSTX)只占 PSTs 总含量的 33.4%;而在贝类生物体内,C1&2 毒素相对含量明显降低,氨基甲酸酯类毒素(GTX1-4、STX、neoSTX)所占比例升高至 53.0%^[24]。生物摄食含有毒素的亚历山大藻后,其体内的酶可促进不同结构、不同种类 PSTs 发生相互转化^[25-27];学者还从蟹、贻贝、牡蛎等多种生物体内筛选出可促进 PSTs 相互转化的细菌^[28-30]。也就是说不同结构的 PSTs 毒素可在生物体内某些酶或细菌的作用下发生转化,从而导致产毒藻和以其为食的其他海洋生物两者体内 PSTs 的含量和组成有较大差异。另外,部分研究表明在某些不存在酶或细菌的条件下,PSTs 基团也可以发生改变从而导致不同结构 PSTs 之间发生相互转化,且其转化速率受到 pH 和温度的影响,这说明 PSTs 之间的转化还包括一些不依赖于酶或细菌即可发生的化学过程^[31]。

总结前人的研究结果,不同结构 PSTs 之间的转化方式主要包括以下几种(见图 2)。

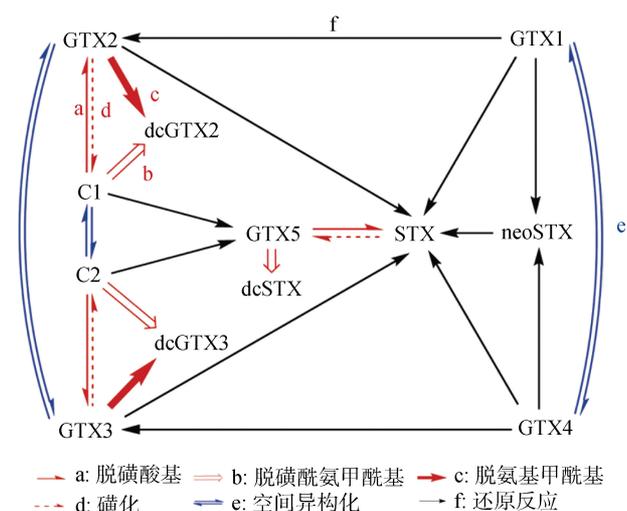


图 2 麻痹性贝类毒素(PSTs)主要转化过程^[24-39]

Fig. 2 Transformations of paralytic shellfish toxins^[24-39]

注:STX:石房蛤毒素;neoSTX:新石房蛤毒素;GTX:膝沟藻毒素;dcSTX:脱氨基甲酰基石房蛤毒素;dcGTX:脱氨基甲酰基膝沟藻毒素;C:N-磺酰氨基甲酰基膝沟藻毒素

1) N-磺酰氨基甲酰基类毒素可以脱掉 21 位 N 原子上的磺酸基,生成相应的氨基甲酸酯类毒素,如: C1→GTX2, C2→GTX3, GTX5→STX 等^[32-33]。该反应除在贝类组织内发生外,在没有酶或细菌的水体中也可发生,转化速率随着温度和 pH 的升高而加

快^[31]。由于氨基甲酸酯类毒素的毒性远远高于 N-磺酰氨基甲酰基类毒素,这一转化将使 PSTs 的总毒性升高 4~10 倍^[34]。

另外,N-磺酰氨基甲酰基类毒素也可以脱掉磺酰氨基甲酰基转化为相应的脱氨基甲酰基类毒素,如: C1→dcGTX2, C2→dcGTX3, GTX5→dcSTX 等。这类转化一般只发生于某些贝类的组织中^[25]。

2) 在某些可利用 PSTs 作为碳源的细菌作用下,氨基甲酸酯类毒素可以脱掉氨基甲酰基团,生成对应的脱氨基甲酰基类毒素,如: GTX2&3→dcGTX2&3 等。这一转化导致 PSTs 的毒性降低,常常发生于贝类生物体内^[30]。

3) 氨基甲酸酯类毒素可以在磺基转移酶(sulfo-transferase)的作用下发生磺化反应,一分子磺酸基团被转移到 21 位 N 原子上,生成毒性相应较低的 N-磺酰氨基甲酰基类毒素,如 GTX2→C1, GTX3→C2, STX→GTX5 等^[35]。这一类转化可在亚历山大藻细胞内大量发生,被认为是 C 类毒素的合成路径。

4) 11 位 C 原子上的 R₂、R₃ 基团可发生空间异构化。PSTs 在有毒藻和贝类体内可以发生由不稳定的 β 异构体向稳定的 α 异构体的转化,如 C2→C1, GTX3→GTX2, GTX4→GTX1 等^[24],最终两种异构体的比例一般约为 α:β=3:1^[25]。可以利用这一比例来判断贝类生物染毒时间的长短;此外, Jones 等利用藻细胞毒素提取物,配置成 pH=7 的毒素溶液在 25 °C 下进行了孵育实验,90 d 后 α、β 异构体的比例由 0.8 增长至 2.0^[31],也即 PSTs 在水体中也可发生由 β 异构体向 α 异构体的转化。

5) 在 *Pseudomonas* sp.、*Vibrio* sp. 等某些细菌的作用下,PSTs 毒素 1 位 N 原子上发生脱羟基过程,11 位 C 原子上的硫酸酯基团也可以被消除,完成毒素之间的转化,如 GTX1→GTX2, GTX4→GTX3, C1&2→GTX5, neoSTX→STX, GTX1-4→STX、neoSTX 等^[28-30, 36-37],这一转化在厌氧环境中具有更高的转化速率。贝类中的一些天然还原剂,如谷胱甘肽和半胱氨酸,也可以介导该还原性反应^[33]。研究发现在改性粘土去除有毒藻 *A. tamarensis* 的过程中,沉积物-海水环境中也会发生高毒性组分 GTX1&4 向低毒性组分 GTX2&3 的转化^[38]。

另外,氯化处理和臭氧处理能够有效促进水体中的 PSTs 转化为无毒性的物质^[40-42],其机理是促进 PSTs 的氧化降解,这一原理被广泛应用于水源受 PSTs 污染的饮用水处理中。

3 PSTs 的生物合成

关于甲藻中 PSTs 合成转化途径, 主要存在两种学术观点: 一种是 Sako 等提出的“STX-GTX-C”合成路线, 即在甲藻细胞中首先由前体物合成 STX, 在磺基转移酶的作用下转化 GTX2&3, 并进一步转化生成 C1&2 毒素^[43]; 另一种是 Taroncher-Oldenburg 等提出的“C-GTX-STX”合成路线, 即甲藻细胞中前体物首先构建 C1&2 毒素, 并在酶的作用下转化生成 GTX2&3, GTX2&3 进一步发生酶促反应转化为 STX^[6]。近年来, 随着基因组学和蛋白质组学的迅速发展, 学者们发现了藻细胞中与 PSTs 生物合成相关的 *sxt* 基因簇, 并对由 *sxt* 基因编码的多种酶的功能进行了推定, 从分子水平上佐证了甲藻细胞中“STX-GTX-C”合成转化路线的存在。

3.1 STX-GTX-C 生物合成途径

Shimizu 利用同位素标记前体物进行产毒甲藻的培养实验, 提出了精氨酸、乙酸盐与甲硫氨酸作合成前体的推测, 首次提出了 STX 生物合成路线^[44]。STX 在一系列修饰酶的作用下, 通过转移羟基、氨基甲酰、磺酰等基团, 转化为其他 PSTs 毒素。Shimizu 等还提出了一个可能的关键步骤: PSTs 的骨架是由一个乙酸单元或衍生物与精氨酸或其前体在 α 碳上经过克莱森缩合反应形成的^[45]。

Yoshida 等在链状亚历山大藻(*A. catenella*)中分离纯化到一种硫转运酶(sulfotransferase, ST), 该酶通过催化磺酸化过程, 将 STX 转化为 GTX5, 将 GTX2&3 转化为 C1&2^[46]。Sako 等在一种裸甲藻(*G. catenatum*)中报道了两种硫转运酶: N-ST 和 O-ST。N-ST 可以将 STX 转化为 GTX5, GTX2&3 转化为 C1&2; O-ST 可以将 11- α , β 羟基石房蛤毒素转化为 GTX2&3^[43]。同时, Sako 等在研究中发现, *G. catenatum* 藻细胞中 C1&2 毒素约占毒素总含量的 65%, GTX5 和 GTX1&4 分别占毒素总含量的 25%和 10%, 而未检测到 STX、neoSTX、11- α , β 羟基石房蛤毒素的存在, 由此推测硫转运酶将大量其他毒素转化为 C 毒素。Sako 等在此基础上提出了毒素的生物合成与转化途径: 前体物首先合成 STX, STX 的 11 位 C 原子上发生氧化反应生成 11- α , β 羟基石房蛤毒素, 并在 O-ST 的作用下转化为 GTX2&3, 而后经过 N-ST 的催化以 PAPS 为磺基供体发生磺酸化反应生成 C1&2; 或者 STX 在 N-ST 的作用下直接发生磺酸

化反应转化为 GTX5^[43]。

然而在上述对于 PSTs 合成转化途径的推测中, 未能对毒素合成的直接前体物、参与毒素合成转化的基因和功能酶等进行系统的阐述, 因此该 PSTs 的生物合成转化途径未能形成定论。而在此前, Taroncher-Oldenburg 等通过研究细胞周期不同阶段的 *A. fundyense* 产毒情况, 提出了与之相反的“C-GTX-STX”合成转化路线^[6], 难以判定这两种途径哪一种更接近实际情况。直到近年来, 学者们发现了藻细胞中与 PSTs 生物合成与转化相关的 *sxt* 基因簇和多种功能酶, 为藻细胞中 STX-GTX-C 合成转化途径的存在提供了直接证据。

3.2 与 PSTs 合成相关的基因和蛋白质

随着基因组学和蛋白质组学的迅速发展, 对于 PSTs 合成机制的研究逐渐深入到基因和蛋白质的水平, 为研究 PSTs 的生物合成转化途径提供了新的证据。

与蓝藻相比, 甲藻的基因组更为庞大, 基因调控更为复杂, 因此 PSTs 生物合成分子水平的研究在蓝藻中起步较早。2008 年, Kellmann 等率先在蓝藻 *Cylindrospermopsis raciborskii* T3 中发现了用于 STX 生物合成的 *sxt* 基因簇, 提出了由功能酶系催化的 PSTs 生物合成途径^[47], 为阐明甲藻中 PSTs 的产生机制和生物合成途径奠定了基石。在该合成途径中, 首先在 *sxtA* 的参与下, 精氨酸与乙酰基发生克莱森缩合反应, 产生中间产物 A; 然后 *sxtG* 编码脘基转移酶, 将另一分子精氨酸的脘基转移到上述产物 A 上, 得到中间产物 B; 新产物 B 经过由 *sxtB* 编码的胞嘧啶核苷脱氨酶的作用, 形成含有杂环的化合物 C; 随后在 *sxtD* 编码的甾醇脱饱和酶类作用下, 产物 C 末端两个碳原子间形成双键, 然后 *sxtS* 编码产生酮戊二酸依赖的双加氧酶, 在其催化下双键两端的碳原子发生环氧化反应形成环氧基团, 该环氧基团在上述酶作用下继而形成醛基。经过 *sxtU* 所编码的乙醛还原酶的作用, 醛基被还原为羟基, 至此完成 PSTs 基本骨架的构建。随后在 *sxtH/T* 编码的末端加氧酶、*sxtI* 编码的 O-氨基甲酰转移酶等酶的催化下发生一系列反应, 形成目标产物 STX。在此基础上, 产物 STX 在 *sxtX*、*sxtN*、*sxtL*、*sxtO* 等多种基因的参与下发生一系列反应, 完成向 neoSTX、GTX2&3 等多种 PSTs 的转化。

随后 *sxt* 基因簇在其他几种合成 PSTs 的蓝藻中

相继被鉴定出来^[48-50], 这种 PSTs 的合成路线得到了广泛认可与接受, 但针对甲藻中 PSTs 产生机制与合成途径的研究, 受限于甲藻庞大的基因组和较高的基因拷贝数, 目前仍然处于起步阶段。

2011 年, Stüken 等发现了甲藻中第一个与 PSTs 合成相关的基因——*sxtA*, 验证了 STX 生物合成途径在甲藻中的存在^[51]。同时发现 *A. fundyense* 中存在 *sxtA* 的长短两种转录本, 长转录本与蓝藻 *sxtA* 一样包含 *sxtA1-4* 全部功能位点(*sxtA1*: 活性腺苷甲硫氨酸甲基转移酶; *sxtA2*: 乙酰基转移酶; *sxtA3*: 乙酰基载体蛋白; *sxtA4*: 氨基转移酶), 而短转录本只包含 *sxtA1-3* 的功能位点; 通过对产毒甲藻和无毒甲藻进行比较, 发现 *sxtA1* 和 *sxtA4* 与甲藻中 PSTs 毒素的合成密切相关^[51]。另一个与 PSTs 合成相关的基因——*sxtG* 也在甲藻中被成功鉴定出来^[52]。值得注意的是 *sxtG* 在一些无毒甲藻中也存在, 因此推测 *sxtG* 在细胞内除了参与毒素合成外可能还参与其他一些生物学过程。随后, Hackett 等在 *A. tamarense* 中鉴定出多种与 PSTs 合成相关的基因, 如直接参与 STX 合成的基因 *sxtB*、*sxtD*、*sxtS*、*sxtU*、*sxtH/T*、*sxtI*, 参与 STX 向其他结构 PSTs 转化的基因, 如 *sxtL*、*sxtN*、*sxtX*, 以及 PSTs 转运相关的基因 *sxtF/M* 等^[53]。Zhang 等在针对 *A. catenella* 及其无毒突变体的研究中, 成功鉴定到与 PSTs 转化相关的基因 *sxtO* 和 PSTs 合成的调控基因 *sxtZ*, 为更清晰的认识甲藻中 PSTs 的合成路径做了进一步的补充与完善^[54](见图 3)。

目前, 关于产毒甲藻中 PSTs 合成机制的研究在基因水平已取得了较大进展, 但 PSTs 合成过程中直接发挥作用的是其翻译后的蛋白质, 且细胞内包括毒素合成在内的许多生理生化过程是由转录后调控的。因此, 蛋白质水平的研究对揭示细胞中 PSTs 的合成机制具有更为直接的意义。

学者利用 2-DE 技术对比研究了亚历山大藻产毒株和不产毒株, 鉴定到毒素指示蛋白——T1, 然而这一蛋白在毒素合成中的具体功能和作用尚不清晰^[55-56]。Wang 等对比了亚历山大藻产毒株和不产毒株的蛋白质特征, 发现与产毒株相比有 34 种蛋白质在不产毒株表现为下调, 56 种蛋白质表现为上调; 在这些差异表达蛋白中有多个可能与毒素合成直接相关, 如 *sxtA* 表达的聚酮合酶(polyketide synthase)、*sxtZ* 表达的组氨酸激酶(histidine kinase)以及 *sxtE* 表达的分子伴侣类似蛋白(chaperone-like protein)等

蛋白质在不产毒株中的表达被显著抑制^[57]。另外, Wang 等通过比较不同时期产毒亚历山大藻的蛋白质组, 筛选出了 9 个可能与甲藻 PSTs 合成相关的蛋白质, 分别为: 甲硫氨酸 S-腺苷转移酶(methionine S-adenosyltransferase, MAT)、S-腺苷高半胱氨酸酶(S-adenosylhomocysteinase, SAH)、腺苷高半胱氨酸酶(adenosylhomocysteinase, AdoHcy)、无机焦磷酸酶(inorganic pyrophosphatase, PPI)、鸟氨酸氨甲酰基转移酶(ornithine carbamoyltransferase, OTC)、磺基转移酶(sulfotransferase, SULT)、醇脱氢酶(alcohol dehydrogenase, ADH)、铁氧还蛋白-NADP⁺还原酶(ferredoxin-NADP⁺ reductase, FNR)、精氨酸脱亚胺酶(arginine deiminase, ADI)^[58]。

然而, 尽管蛋白质组学技术的发展为甲藻 PSTs 合成途径的研究提供了更为直接的工具, 但这些产毒相关蛋白质与基因的关系及它们在 PSTs 合成中的具体功能及作用尚待确定, 甲藻 PSTs 合成的具体途径仍待进一步完善。

4 影响 PSTs 合成的环境调控因素

甲藻 PSTs 的生物合成过程会受到温度、营养盐、光照等多种外界环境因素的影响, 环境条件的改变会引起藻细胞毒素的组成和含量发生不同程度的变化。目前受限于对 PSTs 生物合成机制的了解不足, 对于环境因素对藻细胞毒素合成的影响, 虽然国内外有较多的报道, 但在具体的调控机制方面尚需进一步研究。

4.1 温度对 PSTs 合成的影响

许多研究考察了温度对 PSTs 生物合成的影响。如 Anderson 等对比了 *A. fundyense* 在 8 °C 和 15 °C 下的生长情况和毒素含量, 发现在 8 °C 下细胞内毒素含量、精氨酸含量均显著升高, 且毒素含量与精氨酸含量随着时间呈现出相反的变化趋势^[59]。因此, 推测低温一方面可能通过抑制藻细胞蛋白质合成, 使细胞内积累了大量精氨酸, 而大量精氨酸的积累可能促进藻细胞毒素的合成; 另一方面低温降低了藻细胞分裂速率, 细胞在生长周期中有更长的时间用于毒素的合成, 有利于藻细胞内毒素的积累^[59]。然而, Hwang 等对不同温度下 *A. minutum* 的生长和产毒情况进行了研究, 发现在 25 °C 生长的藻细胞总毒素含量和单细胞毒力水平均远远高于 10 °C 和 30 °C 下生长的微藻, 有关作用机制尚不清楚^[60]。

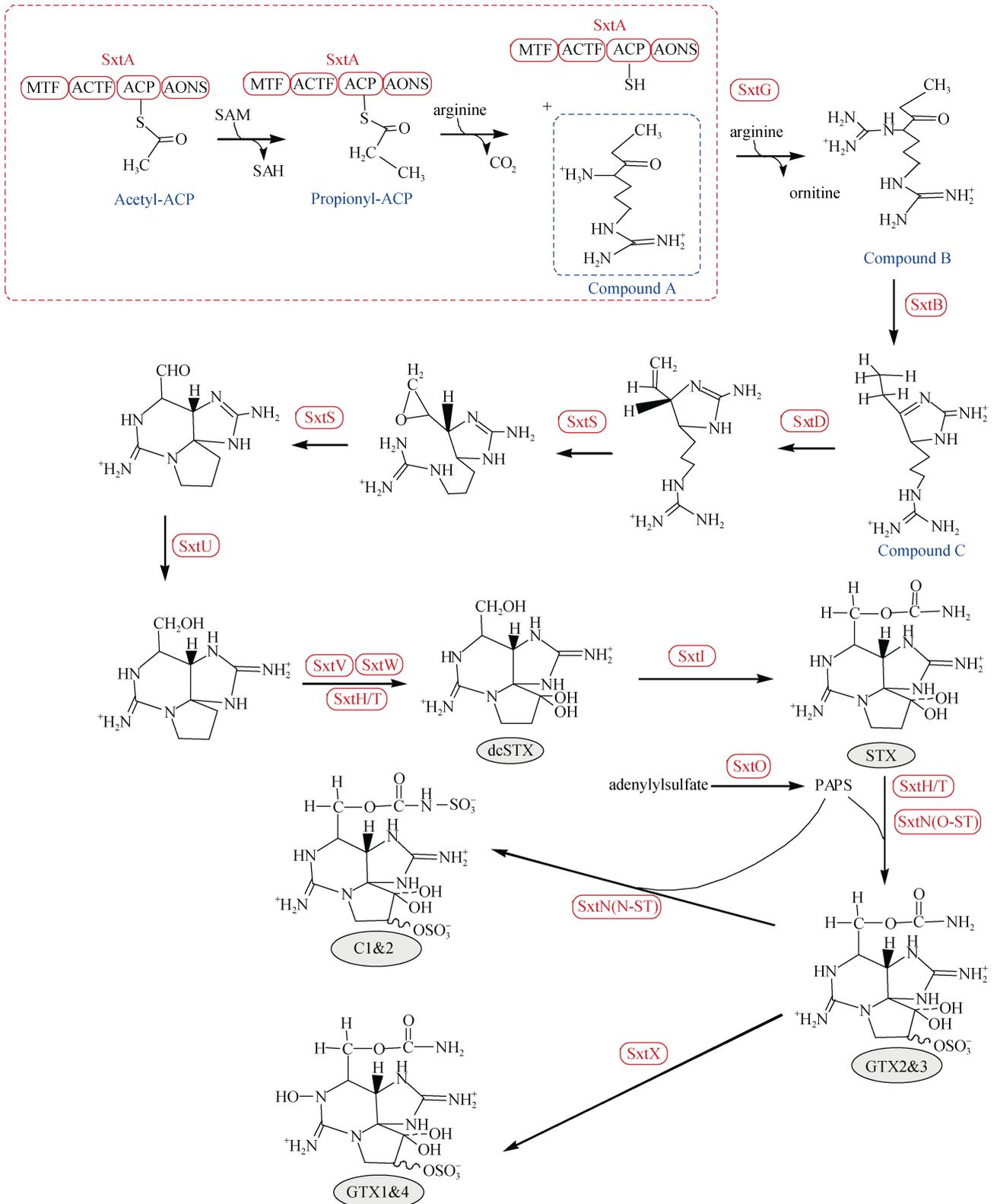


图 3 甲藻中已知 PSTs 合成路线及推定的 *sxt* 基因功能^[51-54]

Fig. 3 Known biosynthetic PSTs pathways in dinoflagellates and the putative functions of the *sxt* gene cluster^[51-54]

注: 红色实线框表示 *sxt* 基因编码的催化酶或结构域; 黑色球形表示 PSTs 组分; SAM: S-腺苷甲硫氨酸; SAH: S-腺苷半胱氨酸; arginine: 精氨酸; ornitine: 鸟氨酸; adenylylsulfate: 腺苷酰硫酸; PAPS: 3'-磷酸腺苷-5'-磷酸硫酸; STX: 石房蛤毒素; GTX: 膝沟藻毒素; dcSTX: 脱氨基酰基石房蛤毒素; C: N-磺酰基甲酰基膝沟藻毒素

此后, 多项研究结果也均表明产毒亚历山大藻在某一适当温度条件下会产生大量 PSTs, 过高或过低的温度条件均会导致毒素含量的降低^[61-62]。温度对藻细胞产毒的影响, 可能是因为过高或过低的温度会影响产毒藻的生长及体内的产毒酶促反应, 从而引起产毒的变化。

4.2 氮对 PSTs 合成的影响

从 PSTs 的化学结构可以看出, N 是构成 PSTs 的主要元素, 占其分子量的 30%。充足的 N 有利于藻细胞积累大量精氨酸, 作为毒素合成的前体物, 有利于藻细胞毒素的合成; 而 N 限制时, 转运蛋白和酶等富含氮的细胞化合物的合成减少, 藻细胞内的精氨酸含量也大量减少, 这些精氨酸主要被藻细胞的生长等代谢活动所利用, 无法参与毒素的合成, 因此氮限制将同时减少藻细胞分裂和毒素的合成。

多项研究结果表明, 随着 N 浓度的升高, 亚历山大藻单位细胞毒素含量升高^[63-65]。Anderson 等指出与氮限制的培养环境相比, 在氮营养盐充足时, *A. fundyense* 藻细胞密度和单位细胞的毒素含量明显升高^[59]。Leong 等的研究也发现, 随着硝酸盐浓度从 6 $\mu\text{mol/L}$ 增加到 100 $\mu\text{mol/L}$, *A. tamarensis* 的单细胞毒素含量也随之增加^[65]。Waal 等分别在氮限制和营养盐充足的环境对 *A. tamarensis* 进行了培养, 结果表明, 氮限制环境下生长的微藻毒素含量与氨基酸的含量均明显低于对照组, 且 PSTs 含量与细胞 N:P 比值、细胞精氨酸含量均有很好的相关性, 因此 PSTs 的合成与细胞内的氨基酸含量尤其是精氨酸的含量密切相关, 而精氨酸的合成依赖于氮的同化^[66]。

另外, 研究表明铵盐和硝酸盐这两种不同类型的 N 营养盐对亚历山大藻产生 PSTs 的影响有一定差异^[67-68]。以铵盐为氮源的亚历山大藻的毒素含量要明显高于以硝酸盐为氮源, 这可能是因为硝酸盐下生长的藻细胞, 其胞内毒素合成对于 N 的利用还要受到硝酸还原酶的限制。但以铵盐为氮源培养的藻细胞内, 氮含量与毒素含量无明显关系, 而以硝酸盐为氮源培养的藻细胞内, 氮含量与毒素含量成明显正相关关系, 毒素生物合成速率受硝酸盐还原速率的限制。

4.3 磷对 PSTs 合成的影响

磷营养盐在甲藻细胞代谢和生长中起着重要的作用, 充足的磷有利于促进藻细胞分裂和生长。环境中的磷浓度也可间接影响藻类 PSTs 毒素合成,

很多研究表明, 藻细胞内毒素含量随着环境中磷含量的升高而降低, 磷限制可以导致亚历山大藻细胞内毒素含量显著增加^[69-71]。因为磷含量的升高会导致细胞 N:P 比率暂时下降, 当环境中磷含量较高时, 细胞可能会将大多数氮优先分配给含磷化合物的合成, 因此, 可以用于 PSTs 合成的 N 减少, 从而导致在磷充足的条件下藻细胞内毒素含量降低这一现象的出现。

而当环境中磷限制时, 藻细胞的分裂活动减慢或停止, 藻细胞内会出现大量氮过剩的现象, 毒素的合成过程在氮源充足的情况仍可继续进行, 合成的毒素在细胞内持续积累, 从而导致磷限制时细胞内的毒素含量显著升高。另外, 研究发现, 在磷限制的环境条件下, 藻细胞内过剩的氮主要以铵盐的形式存在。过量的铵盐积累对藻细胞自身造成毒害作用, 藻细胞为了缓解对自身的毒害作用, 会激活精氨酸的合成^[72]。而精氨酸是 PSTs 生物合成的重要前体物质, 这也是导致在磷限制环境条件下藻细胞内毒素含量升高的原因之一。

4.4 其他因素对 PSTs 合成的影响

多项研究表明, 藻细胞毒素含量与光照强度呈现出正相关关系^[60-61, 73-74], 足够的光照对于甲藻细胞内 PSTs 的合成至关重要。Hwang 等通过研究不同光照条件下 *A. minutum* 的产毒情况, 发现在 240 $\mu\text{E}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ 光照强度下, 单细胞毒素含量明显高于 120 $\mu\text{E}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ 下单细胞毒素含量^[60]。这是因为很多甲藻作为光合自养生物, 毒素及其前体物质的合成需要足够的光照为其提供能量^[73]。

另外, 还有研究表明, 秋水仙素能够抑制亚历山大藻细胞分裂和 PSTs 产生, 但其分子机理尚不清楚。Zhang 等利用 iTRAQ 技术进一步研究秋水仙素处理后 *A. catenella* 藻细胞内蛋白质组的变化, 结果同样表明, 经过秋水仙素处理的藻细胞内毒素含量明显低于对照组毒素含量, 且细胞内多种蛋白质发生差异表达^[75]。然而, 有趣的是经秋水仙素处理的藻细胞内与毒素合成有关的蛋白质表达量与空白组相比无明显差异, 这说明毒素的合成可能受到翻译后调控^[75]。

5 结语与展望

PSTs 毒素在海洋中分布广、危害大, 对海洋生物乃至人类健康与安全构成了严重威胁, 其毒性大

小随种类和结构的不同有较大差异。不同结构 PSTs 毒素在一定条件下可以发生相互转化,了解产毒藻和其他海洋生物体内 PSTs 种类、结构的动态变化,对于评估有害藻华暴发海域 PSTs 毒素污染的危害性至关重要。另外,甲藻中 PSTs 毒素的生物合成是一个非常复杂的过程,受到环境胁迫、基因调控等多种外界因素和内在因素的共同作用,目前对于藻细胞产毒的生物合成途径、遗传学特征及其环境调控机理等研究仍处于起步阶段。深入了解 PSTs 合成机制及其影响因素,将为有害藻华的监测与防治提供新思路,对减少有害藻华的危害、保障人类健康和海洋生态安全具有重要意义。

总结已有研究成果, PSTs 毒素还存在以下值得深入研究的方面:

1) PSTs 毒素带有正电荷的胍基基团可以与电压门控 Na^+ 通道的羧基基团相互作用,阻断钠离子通过神经细胞膜,进而阻断神经传导,理论上具有麻醉、镇痛的作用,是一种具有医学应用潜力的钠离子通道阻断剂。在今后的研究中可以此特性为出发点,深入挖掘其医用价值。

2) 近年来针对 PSTs 生物合成途径的研究已取得了一些进展,发现了与毒素合成相关的部分基因,但仍需要进一步研究与探讨,譬如这些基因在毒素合成过程中的具体功能和作用,毒素的生物合成在分子水平上是如何运作的,环境因素影响毒素合成的分子机理等,这些问题需要进一步完善。

3) PSTs 合成过程中直接发挥作用的是其翻译后的蛋白质。因此,蛋白质水平的研究对揭示细胞中 PSTs 的合成机制具有更为直接的意义。目前已经鉴定出部分产毒相关的蛋白质,但这些蛋白质与基因的关系及它们在 PSTs 合成中的具体功能及作用尚待确定,甲藻 PSTs 合成的具体途径仍待完善。

参考文献:

- [1] 俞志明, 陈楠生. 国内外赤潮的发展趋势与研究热点[J]. 海洋与湖沼, 2019, 50(3): 474-486.
YU Zhiming, CHEN Nansheng. Emerging trends in red tide and major research progresses[J]. Oceanologia et Limnologia Sinica, 2019, 50(3): 474-486.
- [2] 梁玉波, 李冬梅, 姚敬元, 等. 中国近海藻毒素及有毒微藻产毒原因种调查研究进展[J]. 海洋与湖沼, 2019, 50(3): 511-524.
LIANG Yubo, LI Dongmei, YAO Jingyuan, et al. Progresses in investigation and research on phycotoxins and toxic microalgae in the coastal waters of China[J]. Oceanologia et Limnologia Sinica, 2019, 50(3): 511-524.
- [3] ANDERSON D M, CEMBELLA A D, HALLEGRAEFF G M. Progress in understanding harmful algal blooms: paradigm shifts and new technologies for research, monitoring, and management[J]. Annual Review of Marine Science, 2012, 4(1): 143-176.
- [4] HALLEGRAEFF G M. A review of harmful algal blooms and their apparent global increase[J]. Phycologia, 1993, 32(2): 79-99.
- [5] 于仁成, 吕颂辉, 齐雨藻, 等. 中国近海有害藻华研究现状与展望[J]. 海洋与湖沼, 2020, 51(4): 768-788.
YU Rencheng, LV Songhui, QI Yuzao, et al. Progress and perspectives of harmful algal bloom studies in China[J]. Oceanologia et Limnologia Sinica, 2020, 51(4): 768-788.
- [6] TARONCHER-OLDENBURG G, KULIS D, ANDERSON D M. Toxin variability during the cell cycle of the dinoflagellate *Alexandrium fundyense*[J]. Limnology and Oceanography, 1997, 42(5): 1177-1188.
- [7] 林琳, 张树刚, 洪华生, 等. 亚历山大藻细胞周期中毒素含量及组成的变化[J]. 厦门大学学报(自然科学版), 2007, 46(1): 111-114.
LIN Lin, ZHANG Shugang, HONG Huasheng, et al. Toxin content and composition of *Alexandrium tamarense* varied with the cell cycle[J]. Journal of Xiamen University(Natural Science), 2007, 46(1): 111-114.
- [8] 周名江, 于仁成. 有害赤潮的形成机制、危害效应与防治对策[J]. 自然杂志, 2007, 29(2): 72-79.
ZHOU Mingjiang, YU Rencheng. Mechanisms and impacts of harmful algal blooms and the countmeasures[J]. Chinese Journal of Nature, 2007, 29(2): 72-79.
- [9] 高岩. 定量 PCR 方法与流式成像技术在亚历山大藻藻华研究中的应用[D]. 青岛: 中国科学院海洋研究所, 2015.
GAO Yan. Application of quantitative PCR and imaging flow cytobot in the study of *Alexandrium* blooms[D]. Qingdao: Institute of Oceanology, Chinese Academy of Sciences, 2015.
- [10] OSHIMA Y, BOLCH C J, HALLEGRAEFF G M. Toxin composition of resting cysts of *Alexandrium tamarense* (dinophyceae)[J]. Toxicon, 1992, 30(12): 1539-1544.
- [11] 陈军辉, 吴丹妮, 何秀平, 等. 海洋水环境中藻毒素的检测技术及分布研究进展[J]. 海洋科学进展, 2019, 37(3): 355-373.
CHEN Junhui, WU Danni, HE Xiuping, et al. The research advances in detection technology and distribution characteristics of algae toxins in marine water environment[J]. Advances in Marine Science, 2019, 37(3): 355-373.

- [12] LEFEBVRE K A, BILL B D, ERICKSON A, et al. Characterization of intracellular and extracellular saxitoxin levels in both field and cultured *Alexandrium spp.* samples from Sequim Bay, Washington[J]. *Marine Drugs*, 2008, 6(2): 103-116.
- [13] COSTA P R, BOTELHO M J, LEFEBVRE K A. Characterization of paralytic shellfish toxins in seawater and sardines (*Sardina pilchardus*) during blooms of *Gymnodinium catenatum*[J]. *Hydrobiologia*, 2010, 655(1): 89-97.
- [14] 陈洋, 颜天, 谭志军, 等. 四种/株亚历山大藻(*Alexandrium*)毒性的比较研究[J]. *海洋与湖沼*, 2007, 38(1): 55-61.
CHEN Yang, YAN Tian, TAN Zhijun, et al. Toxicity of dinoflagellate *Alexandrium* species[J]. *Oceanologia et Limnologia Sinica*, 2007, 38(1): 55-61.
- [15] SCHWINGHAMER P, HAWRYLUK M, POWELL C, et al. Resuspended hypnozygotes of *Alexandrium fundyense* associated with winter occurrence of PSP in inshore Newfoundland waters[J]. *Aquaculture*, 1994, 122(2): 171-179.
- [16] WANG Z H, NIE X P, JIANG S J, et al. Source and profile of paralytic shellfish poisoning toxins in shellfish in Daya Bay, South China Sea[J]. *Marine Environmental Research*, 2011, 72(1): 53-59.
- [17] MARTIN J L, LEGRESLEY M M, HANKE A R. Thirty years – *Alexandrium fundyense* cyst, bloom dynamics and shellfish toxicity in the Bay of Fundy, eastern Canada[J]. *Deep Sea Research Part II Topical Studies in Oceanography*, 2014, 103: 27-39.
- [18] 傅萌, 颜天, 周名江. 麻痹性贝毒对海洋贝类的影响及加速贝毒净化的研究进展[J]. *水产学报*, 2000, 24(4): 382-387.
FU Meng, YAN Tian, ZHOU Mingjiang. Advances in the study of the effect of PSP on marine shellfish and its accelerating detoxification[J]. *Journal of Fisheries of China*, 2000, 24(4): 382-387.
- [19] 谭志军. 塔玛亚历山大藻(*Alexandrium tamarense*)对鲈鱼(*Lateolabrax japonicus*)的危害机制研究[D]. 青岛: 中国科学院海洋研究所, 2006.
TAN Zhijun. Toxic effects and its mechanism of dinoflagellate *Alexandrium tamarense* on perch *Lateolabrax japonicus*[D]. Qingdao: Institute of Oceanology, Chinese Academy of Sciences, 2006.
- [20] 马菲菲. 麻痹性贝毒在贝类中的生物转化及其对机体免疫系统的影响[D]. 青岛: 中国海洋大学, 2012.
MA Feifei. Biotransformation of paralytic shellfish toxins in shellfish and effect on its immune system[D]. Qingdao: Ocean University of China, 2012.
- [21] 邱江兵. 双壳贝类对麻痹性贝毒的代谢转化及其生理生化响应[D]. 青岛: 中国海洋大学, 2014.
QIU Jiangbing. Metabolic transformation of paralytic shellfish toxins by bivalve molluscs and their physiological and biochemical responses[D]. Qingdao: Ocean University of China, 2014.
- [22] LLEWELLYN L E. Saxitoxin, a toxic marine natural product that targets a multitude of receptors[J]. *Natural Product Reports*, 2006, 23(2): 200-222.
- [23] WANG D Z, ZHANG S F, ZHANG Y, et al. Paralytic shellfish toxin biosynthesis in cyanobacteria and dinoflagellates: A molecular overview[J]. *Journal of Proteomics*, 2015, 135: 132-140.
- [24] KWONG R W M, WANG W X, LAM P K S, et al. The uptake, distribution and elimination of paralytic shellfish toxins in mussels and fish exposed to toxic dinoflagellates[J]. *Aquatic Toxicology*, 2006, 80(1): 82-91.
- [25] BRICELJ V M, SHUMWAY S E. Paralytic shellfish toxins in bivalve molluscs: occurrence, transfer kinetics, and biotransformation[J]. *Reviews in Fisheries Science*, 1998, 6(4): 315-383.
- [26] CEMBELLA A D, SHUMWAY S E, LAROCQUE R. Sequestering and putative biotransformation of paralytic shellfish toxins by the sea scallop *Placopecten magellanicus*: seasonal and spatial scales in natural populations[J]. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 1994, 180(1): 1-22.
- [27] RAPOSO M I C, GOMES M T S R, BOTELHO M J, et al. Paralytic shellfish toxins (PST)-transforming enzymes: a review[J]. *Toxins*, 2020, 12(344): 1-21.
- [28] KOTAKI Y, OSHIMA Y, YASUMOTO T. Bacterial transformation of paralytic shellfish toxins in coral reef crabs and marine snail[J]. *Nippon Suisan Gakkashi*, 1985, 51(6): 1009-1013.
- [29] KOTAKI Y. Screening of bacteria which convert gonyautoxin 2, 3 to saxitoxin[J]. *Nippon Suisan Gakkashi*, 1989, 55(7): 1293.
- [30] SMITH E A, GRANT F, FERGUSON C M, et al. Biotransformations of paralytic shellfish toxins by bacteria isolated from bivalve molluscs[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2001, 67(5): 2345-2353.
- [31] JONES G J, NEGRI A P. Persistence and degradation of cyanobacterial paralytic shellfish poisons (PSPs) in freshwaters[J]. *Water Research*, 1997, 31(3): 525-533.
- [32] CEMBELLA A D, LEWIS N I, SHUMWAY S E. Anatomical distribution and spatio-temporal variation in paralytic shellfish toxin composition in two bivalve species from the Gulf of Maine[J]. *Journal of Shellfish Research*, 1993, 12(2): 389-403.
- [33] DING L, QIU J B, LI A F, et al. Proposed biotransformation pathways for new metabolites of paralytic shellfish toxins based on field and experimental mussel samples[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2017, 65(27): 5494-5502.

- [34] TAN K S, RANSANGAN J. Factors influencing the toxicity, detoxification and biotransformation of paralytic shellfish toxins[J]. *Reviews of Environmental Contamination and Toxicology*, 2015, 235: 1-25.
- [35] LEE N S, KIM B T, KIM D H, et al. Purification and reaction mechanism of arylsulfate sulfotransferase from *haemophilus k-12*, a mouse intestinal bacterium[J]. *Journal of Biochemistry*, 1995, 118(4): 796-801.
- [36] SUGAWARA A, IMAMURA T, ASO S, et al. Change of paralytic shellfish poison by the marine bacteria living in the intestine of Japanese surf clam, *Pseudocardium sybillae* and the brown sole, *Pleuronectes herensteini*[J]. *Scientific Reports of Hokkaido Fisheries Experimental Station*, 1997, 50: 35-42.
- [37] CHOI M C, HSIEH D P H, LAM P K S, et al. Field depuration and biotransformation of paralytic shellfish toxins in scallop *Chlamys nobilis* and green-lipped mussel *Perna viridis*[J]. *Marine Biology*, 2003, 143(5): 927-934.
- [38] LU G Y, SONG X X, YU Z M, et al. Environmental effects of modified clay flocculation on *Alexandrium tamarense* and paralytic shellfish poisoning toxins (PSTs)[J]. *Chemosphere*, 2015, 127: 188-194.
- [39] INDRASENA W M, GILL T A. Thermal degradation of partially purified paralytic shellfish poison toxins at different times, temperatures, and pH[J]. *Journal of Food Science*, 2000, 65(6): 948-953.
- [40] NICHOLSON B C, SHAW G R, MORRALL J, et al. Chlorination for degrading saxitoxins (paralytic shellfish poisons) in water[J]. *Environmental Technology*, 2003, 24(11): 1341-1348.
- [41] ORR P T, JONES G J, HAMILTON G R, et al. Removal of saxitoxins from drinking water by granular activated carbon, ozone and hydrogen peroxide - implications for compliance with the Australian drinking water guidelines[J]. *Water Research*, 2004, 38(20): 4455-4461.
- [42] NEWCOMBE G, NICHOLSON B. Water treatment options for dissolved cyanotoxins[J]. *Journal of Water Supply Research and Technology-Aqua*, 2004, 53(4): 227-239.
- [43] SAKO Y, YOSHIDA T, UCHIDA A, et al. Purification and characterization of a sulfotransferase specific to N-21 of saxitoxin and gonyautoxin 2+3 from the toxic dinoflagellate *Gymnodinium catenatum* (Dinophyceae)[J]. *Journal of Phycology*, 2001, 37(6): 1044-1051.
- [44] SHIMIZU Y. Microalgal metabolite[J]. *Chemical Reviews*, 1993, 93: 1685-1698.
- [45] SHIMIZU Y, MANUEL N, AKIRA H. Biosynthesis of saxitoxin analogues: The unexpected pathway[J]. *Journal of the American Chemical Society*, 1984, 106(21): 6433-6434.
- [46] YOSHIDA T, SAKO Y, KAKUTANI T, et al. Comparative study of two sulfotransferase for sulfation to N-21 of *Gymnodinium catenatum* and *Alexandrium catenella* toxins[C]// REGUERA B, BLANCO J, FERNANDEZ M L, et al. *Harmful Algae*. Vigo: Xunta de Galicia and Intergovernmental Oceanographic Commission of United Nations Educational, Scientific, and Cultural Organization, 1998: 366-369.
- [47] KELLMANN R, MIHALI T K, JEON Y J, et al. Biosynthetic intermediate analysis and functional homology reveal a saxitoxin gene cluster in cyanobacteria[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2008, 74(13): 4044-4053.
- [48] MIHALI T K, KELLMANN R, NEILAN B A. Characterisation of the paralytic shellfish toxin biosynthesis gene clusters in *Anabaena circinalis* AWQC131C and *Aphanizomenon* sp. NH-5[J]. *BMC Biochemistry*, 2009, 10(1): 1-13.
- [49] MOUSTAFA A, LORAM J E, HACKETT J D, et al. Origin of saxitoxin biosynthetic genes in cyanobacteria[J]. *PLoS One*, 2009, 4(6): e5758.
- [50] STÜKEN A, JAKOBSEN K S. The cylindrospermopsin gene cluster of *Aphanizomenon* sp. strain 10E6: organization and recombination[J]. *Microbiology*, 2010, 156: 2438-2451.
- [51] STÜKEN A, ORR R J S, KELLMANN R, et al. Discovery of nuclear-encoded genes for the neurotoxin saxitoxin in dinoflagellates[J]. *PLoS One*, 2011, 6(5): e20096.
- [52] ORR R J S, STÜKEN A, MURRAY S A, et al. Evolutionary acquisition and loss of saxitoxin biosynthesis in dinoflagellates: the second “core” gene, *sxtG*[J]. *Applied & Environmental Microbiology*, 2013, 79(7): 2128-2136.
- [53] HACKETT J D, WISECAVER J H, BROSNAN M L, et al. Evolution of Saxitoxin Synthesis in Cyanobacteria and Dinoflagellates[J]. *Molecular Biology & Evolution*, 2013, 30(1): 70-78.
- [54] ZHANG Y, ZHANG S F, LIN L, et al. Comparative transcriptome analysis of a toxin-producing dinoflagellate *Alexandrium catenella* and its non-toxic mutant[J]. *Marine Drugs*, 2014, 12(11): 5698-5718.
- [55] CHAN L L, HODGKISS I J, LAM P K S, et al. Use of two-dimensional gel electrophoresis to differentiate morphospecies of *Alexandrium minutum*, a paralytic shellfish poisoning toxins (PST)-producing dinoflagellate of harmful algal blooms[J]. *Proteomics*, 2005, 5(6): 1580-1593.
- [56] CHAN L L, SIT W H, LAM P K S, et al. Identification and characterization of a “biomarker of toxicity” from the proteome of the paralytic shellfish toxin-producing

- dinoflagellate *Alexandrium tamarense* (Dinophyceae)[J]. *Proteomics*, 2006, 6(2): 654-666.
- [57] WANG D Z, LI C, ZHANG Y, et al. Quantitative proteomic analysis of differentially expressed proteins in the toxicity-lost mutant of *Alexandrium catenella* (Dinophyceae) in the exponential phase[J]. *Journal of Proteomics*, 2012, 75(18): 5564-5577.
- [58] WANG D Z, GAO Y, LIN L, et al. Comparative proteomic analysis reveals proteins putatively involved in toxin biosynthesis in the marine dinoflagellate *Alexandrium catenella*[J]. *Marine Drugs*, 2013, 11(1): 213-232.
- [59] ANDERSON D M, KULIS D M, SULLIVAN J J, et al. Dynamics and physiology of saxitoxin production by the dinoflagellates *Alexandrium spp*[J]. *Marine Biology*, 1990, 104(3): 511-524.
- [60] HWANG D F, LU Y H. Influence of environmental and nutritional factors on growth, toxicity, and toxin profile of dinoflagellate *Alexandrium minutum*[J]. *Toxicon*, 2000, 38(11): 1491-1503.
- [61] 余新威, 陈雨涪, 王亚军, 等. 温度、光照对微小亚历山大藻 Z1 产毒含量和组成的影响[J]. *海洋湖沼通报*, 2018, 164(5): 68-73.
YU Xinwei, CHEN Yucen, WANG Yajun, et al. Effects of temperature and light intensity on growth and toxin productivity of *Alexandrium minutum* Z1[J]. *Transactions of Oceanology and Limnology*, 2018, 164(5): 68-73.
- [62] 缪宇平, 袁骐, 周宏农, 等. 环境因子对微小亚历山大藻 Amtk-9 生长与产毒的综合影响[J]. *海洋渔业*, 2009, 31(3): 279-287.
MIAO Yuping, YUAN Qi, ZHOU Hongnong, et al. Effects of some ecological factors on the growth and toxin production of dinoflagellate *Alexandrium minutum* Amtk-9[J]. *Marine Fisheries*, 2009, 31(3): 279-287.
- [63] MACINYRE J G, CULLEN J J, CEMBELLA A D. Vertical migration, nutrition and toxicity in the dinoflagellate *Alexandrium tamarense*[J]. *Marine Ecology Progress Series*, 1997, 148(1): 201-216.
- [64] WANG D Z, HSIEH D P H. Effects of nitrate and phosphate on growth and C2 toxin productivity of *Alexandrium tamarense* CI01 in culture[J]. *Marine Pollution Bulletin*, 2002, 45(1): 286-289.
- [65] LEONG S C Y, MURATA A, NAGASHIMA Y, et al. Variability in toxicity of the dinoflagellate *Alexandrium tamarense* in response to different nitrogen sources and concentrations[J]. *Toxicon Official Journal of the International Society on Toxinology*, 2004, 43(4): 407-415.
- [66] WAAL D B V D, TILLMANN U, ZHU M, et al. Nutrient pulse induces dynamic changes in cellular C : N : P, amino acids, and paralytic shellfish poisoning toxins in *Alexandrium tamarense*[J]. *Marine Ecology Progress Series*, 2013, 493(20): 57-69.
- [67] JOHN E H, FLYN K J. Growth dynamic and toxicity of *Alexandrium fundyense* (dinophyceae): the effect of changing N : P supply ratios on internal toxin and nutrient levels[J]. *Journal European Journal of Phycology*, 2000, 35: 11-23.
- [68] HAMASAI K, HORIE M, TOKIMITSU A, et al. Variability in toxicity of the dinoflagellate *Alexandrium tamarense* isolated from Hiroshima Bay, Western Japan, as a reflection of changing environmental conditions[J]. *Journal of Plankton Research*, 2001, 23: 271-278.
- [69] FRANGÓPULOS M, GUISANDE C, MANEIRO I, et al. Toxin production and competitive abilities under phosphorus limitation of *Alexandrium* species[J]. *Harmful Algal*, 2004, 3(2): 131-139.
- [70] LEE H O, ISHIMARU T, TOSHIYA K, et al. Growth of the dinoflagellate *Alexandrium tamarense* isolated from Jinhae Bay, Korea in axenic cultures[J]. *Korean Journal of Environmental Biology*, 2006, 24(3): 275-281.
- [71] XU J, HO A Y T, YIN K, et al. Effects of inorganic and organic nitrogen and phosphorus on the growth and toxicity of two *Alexandrium* species from Hong Kong[J]. *Harmful Algae*, 2012, 16: 89-97.
- [72] 张清春. 氮、磷营养物质与微生物对微小亚历山大藻 (*Alexandrium minutum*) 生长和毒素产生的影响[D]. 青岛: 中国科学院海洋研究所, 2004.
ZHANG Qingchun. Effects of nutrients and microorganisms on the growth and toxin production of *Alexandrium minutum*[D]. Qingdao: Institute of Oceanology, Chinese Academy of Sciences, 2004.
- [73] OGATA T, ISHIMARU T, KODAMA M. Effect of water temperature and light intensity on growth rate and toxicity change in *Protogonyaulax tamarensis*[J]. *Marine Biology*, 1987, 95(2): 217-220.
- [74] ETHERIDGE S M, ROESLER C S. Effects of temperature, irradiance, and salinity on photosynthesis, growth rates, total toxicity, and toxin composition for *Alexandrium fundyense* isolates from the Gulf of Maine and Bay of Fundy[J]. *Deep-Sea Research Part II*, 2005, 52(19): 2491-2500.
- [75] ZHANG S F, ZHANG Y, LIN L, et al. iTRAQ-Based quantitative proteomic analysis of a toxigenic dinoflagellate *Alexandrium catenella* and its non-toxicogenic mutant exposed to a cell cycle inhibitor colchicine[J]. *Frontiers in Microbiology*, 2018, 9: 650.

Research progress on the biosynthesis, transformation, and factors affecting paralytic shellfish toxins in the ocean

SONG Wei-jia^{1, 2, 3, 4}, SONG Xiu-xian^{1, 2, 3, 4}, YU Zhi-ming^{1, 2, 3, 4}, LI Jing^{1, 2, 3},
ZHANG Yue^{1, 2, 3}

(1. Key Laboratory of Marine Ecology and Environmental Sciences, Institute of Oceanology, Chinese Academy of Sciences, Qingdao 266071, China; 2. Laboratory of Marine Ecology and Environmental Science, Pilot National Laboratory for Marine Science and Technology (Qingdao), Qingdao 266237, China; 3. Center for Ocean Mega-Science, Chinese Academy of Sciences, Qingdao 266071, China; 4. University of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049, China)

Received: Oct. 1, 2020

Key words: dinoflagellates; paralytic shellfish toxins; biosynthesis; environmental factors

Abstract: Paralytic shellfish toxins (PSTs) are highly toxic neurotoxins produced by dinoflagellates. They are widely distributed in the marine environment and can cause great harm to aquaculture animals and human health. The toxicity of PSTs varies greatly with type and structure. Many studies have been conducted on the source, distribution, transformation, biosynthesis and factors influencing paralytic shellfish toxins. However, studies on the environmental regulatory mechanism, the biosynthetic pathway, and the genetic characteristics of toxin production are still rare. The biosynthesis of PSTs is affected by many environmental factors, such as light, temperature, and nutrients. A change in environmental conditions will change the composition and content of the toxins to varying degrees. Some researchers have used genomics and proteomics techniques to screen and identify genes or proteins related to the biosynthesis of toxins in *Alexandrium*. It is important to understand the biosynthetic pathway of *Alexandrium* toxins more clearly. Based on the toxin-producing physiology of *Alexandrium*, this study summarizes the biosynthesis and transformation of the PSTs in *Alexandrium* and the main factors affecting synthesis to provide new ideas for preventing and controlling harmful algal blooms, reducing the damage of harmful algal blooms, and ensuring human health and marine ecological security.

(本文编辑: 杨 悦)