

细菌的芽孢

刘 蔚 武

(云南农业大学,昆明)

在一定条件下,某些细菌生长到一定阶段,在细胞内形成一个近似圆形的内生孢子,称为芽孢。芽孢结构复杂,新陈代谢几乎停止,处于休眠状态,对热、干燥、辐射、酸、碱和有机溶剂等杀菌因子具有极强的抵抗力。在不利条件下,可保持生命数十年。

芽孢的形状、部位与大小因菌种而异,在分类鉴定上有一定意义。需氧芽孢杆菌的芽孢位

于菌体中央,卵圆形,直径小于菌体宽度。梭菌属的芽孢位于菌体的近端或顶端,直径大于菌体宽度,而使菌体呈梭形。芽孢一般在 $1\mu\text{m}$ 左右。

(一) 形成芽孢的菌类

能否形成芽孢,是细菌种的特征。常见产生芽孢的菌类特征如表 1:

表 1 产生芽孢的菌类的特征^[1,2]

菌 属	繁殖体形状	与氧的关系	代谢异化	G + C%
需氧芽孢杆菌属	杆菌	需氧或兼性厌氧	需氧呼吸 发酵,反硝化	33—51
梭菌属	杆菌	严格厌氧	发 酵	22—28
脱硫肠状杆菌属	杆菌	严格厌氧	发 酵 (SO_4^{2-} 为最终受氢体)	42—46
芽孢乳酸杆菌属	杆菌	耐氧	发 酵	39—47
高温放线菌属	丝状	需氧	需氧呼吸	53
芽孢八叠球菌属*	球状	需氧	需氧呼吸	28—31
螺菌属*	螺旋状	微需氧	发 酵	38
弧菌属*	弧状	需氧	发 酵	45—49

* 表示该属的少数菌种。

(二) 芽孢的结构

未染色的细菌芽孢,在光学显微镜下,折光性强,呈透明的气泡状。芽孢的详细结构,可用电子显微镜检查。一般多用枯草杆菌、蜡状芽孢杆菌、巨大芽孢杆菌和梭菌进行研究^[3]。各种细菌的芽孢结构不尽相同,一般来说,成熟的芽孢,中央为髓质 (core),往外依次为内膜 (inner)、初生芽孢壁 (primordial cell wall)、皮质 (cortex)、外膜 (outer spore membrane)、芽孢鞘 (spore coat) 和芽孢外衣 (exospore)^[4,5]。

1. 髓质: 位于芽孢中央,电子密度很高,结构不太清楚。主要含胞质、核质、2, 6-吡啶

二羧酸。2, 6-吡啶二羧酸是芽孢特有成分,约占芽孢干重量的 15—20%,它与 Ca^{2+} 螯合,起金属缓冲剂的作用。它的存在也改变了蛋白质和酶的构象,使其非常稳定^[6,7]。

2. 内膜与初生芽孢壁: 内膜来自母细胞的细胞膜。芽孢发芽时,两者分别转变为繁殖体的细胞膜和细胞壁。

3. 皮质: 皮质层比较疏松,在电子显微镜下呈透明层。主要成分是修饰了的肽聚糖,其结构如图 1:

根据渗透调节皮层膨胀学说,皮质层肽聚糖带负电荷,分子间交联较少,呈膨胀状态,渗透压很高 (20 个大气压以上);而髓质主要是高

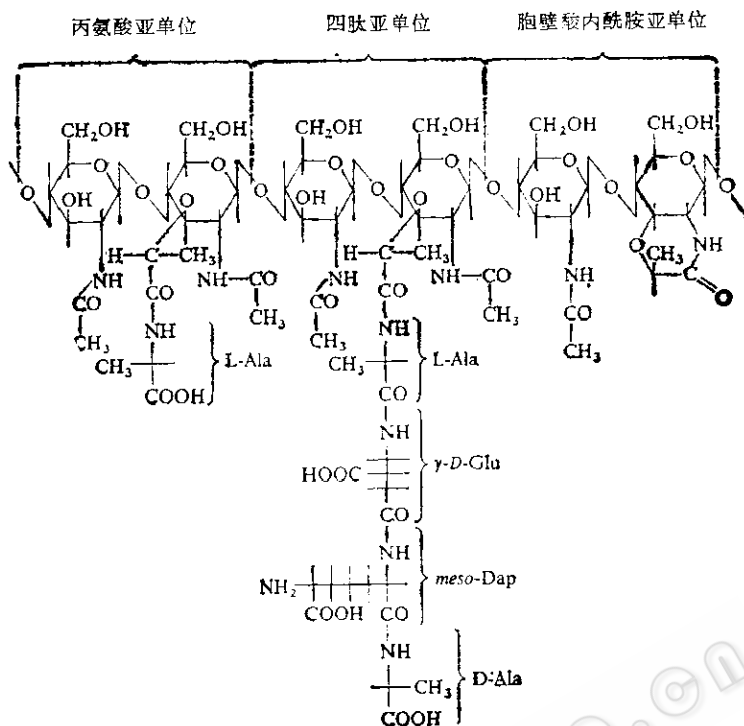


图1 芽孢皮质中修饰了的肽聚糖结构^[2]

分子和不溶性小分子化合物,故渗透压很低。由于两者渗透压差,使髓质呈高度脱水状态^[7]。

4. 外膜: 由母细胞膜演化而来,外膜里边常带些母细胞的细胞质。

5. 芽孢鞘: 呈多层结构,比较致密,电子密度也大,是枯草杆菌芽孢的最外层,呈光滑的槽轮状或呈坚硬的六角形图案。主要成分是富有半胱氨酸的蛋白质,各层蛋白质间由许多二硫键交联。此外,也含少量碳水化合物与类脂。由于该层疏水状态与等价交联,芽孢鞘可防止表面活性剂、酶类和各种化学因子侵入,成为芽孢的保护屏障。

6. 芽孢外衣: 蜡状芽孢杆菌的芽孢还有芽孢外衣层。主要由母细胞的细胞质演化而来,呈特有的皱纹状。它也可能与芽孢的粘性及抗原性有关,也可抵抗蛋白酶和溶菌酶的作用。

(三) 芽孢形成过程

芽孢的形成条件,因菌种而异。炭疽杆菌在有氧条件下形成芽孢;而破伤风梭菌则相反。一般来说,营养缺乏或 C、N、P 元素饥饿时,

细菌生长减速,启动芽孢形成基因,引起繁殖体形成芽孢。但是,苏芸金杆菌形成芽孢则要求适宜生长的条件。芽孢形成,在形态学上可以分为七个时期^[2],大约经过 8—10 个小时。

0 期: 为对数生长末期的繁殖体细胞。

I 期 ($T_0-T_{1.5}$): DNA 复制,形成轴索状染色体。此时,细胞内蛋白质转换,开始合成抗生素和特殊的酶。这些抗生素可能减缓代谢与控制芽孢阶段变化有关^[7]。

II 期 ($T_{1.5}-T_{2.5}$): 染色体分开,形成非对称性的中隔,分隔成小的部份,称为前芽孢 (Prospore)。这时的变化与细胞分裂相似,特点是中隔不对称,肽聚糖合成停止。

III 期 ($T_{2.5}-T_{4.5}$): 芽孢母细胞的细胞膜磷脂合成活跃,细胞膜快速增长,极性相反的细胞膜^[8] (见图 2) 又包被前芽孢,形成双层膜的结构,同时包入少量细胞质,并合成磷基乳酸。此过程与吞噬过程相似。

IV 期 ($T_{4.5}-T_6$): 两层芽孢膜开始合成肽聚糖等物质,形成初生芽孢壁和皮质物质,同

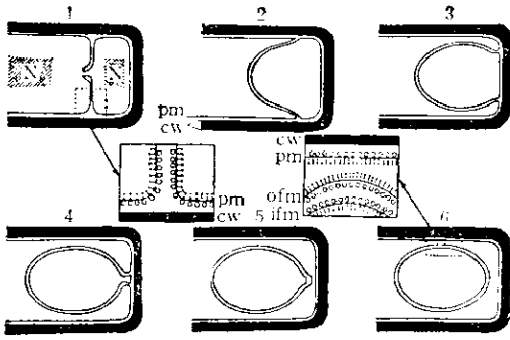


图2 芽孢形成时的膜行为^[4]

CW: 细胞壁 PM: 细胞膜
OFM: 芽孢外膜 IFM: 芽孢内膜

时吸收钙离子。

V期 (T_6-T_7): 在皮质外的外膜上,芽孢母细胞从 II—III 期就开始合成芽孢鞘的角质蛋白,沉积于外膜之外,形成芽孢鞘。此时发现大量半胱氨酸渗入芽孢鞘。

VI期 (T_7-T_8): 芽孢进一步成熟。

VII期: 母细胞溶解,芽孢游离。

芽孢形成过程^[2],如图3。从以上过程来看,前芽孢的形成过程,好像改变了的细胞分裂过程;而前芽孢的形态与化学特性也发生了改

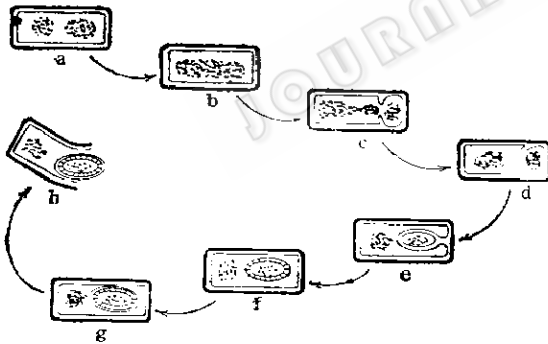


图3 蜡状芽孢杆菌形成芽孢循环的模式图^[5]

a 繁殖体细胞 (O期) c 吞噬前芽孢 (IV期)
b 形成染色体丝 (I期) f 皮质合成 (V期)
c 开始形成中隔 (II期) g 合成芽孢壳 (VI期)
d 形成前芽孢 (III期) h 芽孢释放 (VII期)

变,又被母细胞吞噬,这就是第 IV 期以前的变化。以后各期是在特定的条件下,由内向外形成的各层保护装置,这可能是前芽孢与母细胞互相作用的产物。

(四) 与芽孢形成有关的主要生化变化

芽孢形成是一个非常复杂的过程,某些机

制还不清楚,但是,已知在芽孢形成过程中有明显的生化变化。主要变化如下:

1. 在芽孢形成过程中,产生某些酶系统的改变,而使繁殖体转变为芽孢^[6]。如第 I 期的淀粉酶;第 II 期的丙氨酸脱氢酶;第 III 期的乌头酸酶、腺苷六磷酸 (P_3AP_3) 合成酶和丝氨酸蛋白酶等。其中胞内丝氨酸蛋白酶在芽孢形成中起 3 个作用:即蛋白质转换;改变依赖 DNA 的 RNA 多聚酶的作用以及为芽孢鞘蛋白提供前体的作用。

2. 在芽孢形成过程中,由于酶系统的改变而合成芽孢特有成分:如,2,6-吡啶二羧酸、皮质肽聚糖、芽孢鞘角质蛋白和苏芸金杆菌的蛋白伴孢晶体等。

3. 对芽孢形成有调节、修饰作用的物质:许多形成芽孢的菌,不管需氧还是厌氧的,在芽孢形成的开始阶段,均产生抗生物质^[7]。已描述的有三类多肽:抑制核酸合成的线状碱性多肽;抑制细胞壁合成的杆菌肽、环状肽以及修饰细胞膜结构与机能的短杆菌肽-多粘菌素-杆菌酪肽型的多肽。

这些抗生素对芽孢形成的作用尚不清楚,但是已知它们可改变蛋白质的装配机制,修饰芽孢的结构成分;并且推测,它们在控制芽孢分化过程的不同阶段上,可能起重要作用。芽孢形成的复杂过程也受基因的控制,而多环节的控制作用又是细菌生境的条件因子启动的^[9]。

(五) 芽孢转变为繁殖体的过程

芽孢转变为繁殖体的过程可以分为活化 (Activation)、萌发 (Germination) 和长出 (Out-growth) 三个阶段。这是恢复活性状态的三个连续过程。活化是萌发的条件,热刺激(如 60°C 1 小时或 85°C 5 分钟)与 pH 值降低均可致活。萌发是休眠体转变为繁殖体的主要过程。如 L-丙氨酸、葡萄糖、肌苷和腺苷均为萌发剂。现在认为,活化过程引起形态、生理的一系列变化。首先由于富有二硫键的芽孢鞘蛋白构型变化,引起渗透性改变,使阳离子渗入,而使细胞膜类脂活动性增加,启动了电子转移链;而膜潜能变化又引起芽孢内的代谢活动^[3]。

萌发也是一个生化降解过程,随着水分渗入,使30%的芽孢物质降解、外流,如芽孢特有的吡啶二羧酸钙复合物、皮质肽聚糖和芽孢鞘物质等明显分解、外流。而这些物质排出,又使芽孢通透性加强,折光性降低,耐热、抗辐射性能消失。与此同时,大量吸收水分和营养物质,随着早期蛋白和酶的出现,代谢活性与呼吸增强,开始生物合成与积累繁殖体物质。合成的顺序为RNA、蛋白质、类脂,大约60分钟以后才合成DNA。随着芽孢髓质体积的增大,皮质膨胀,致使芽孢鞘破裂而长出芽管。根据形态变化,芽管长出有龟裂型(如枯草杆菌)和延长型(如蜡状芽孢杆菌)^[7]。由于合成结构成分,芽管不断长大,逐渐发育成新的繁殖体细胞。

了解以上变化的条件与特点,就能采取适当措施,提高灭菌效果,控制和消灭有害微生物。

(六) 芽孢的生物学意义

芽孢的生物学意义还不太清楚。一般认为芽孢是细菌的唯一分化型式,是适应不利条件延续生命的方式,也是在长期进化过程中,不断适应外界环境的结果。

芽孢的形成与萌发均为相继有序的过程^[10],即生命循环方式,如此形成细菌细胞的明显分化,可以作为细菌细胞分化的一个研究模型。也可以研究休眠体与繁殖体互相转化的机制和研究微生物对环境的适应与进化机制。

芽孢耐热与抵抗力的问题,自从德国Ferdinand Cohn和Robert Koch二氏首先发现芽孢以后,一百多年以来,一直是最有趣的问题。现在认为,芽孢耐热(枯草杆菌的芽孢在沸水中存活1个小时,破伤风杆菌的芽孢存活3个小时,而肉毒梭菌的芽孢可存活6个小时左右),对其它有害因子也具有极强的抵抗力,这主要与芽孢的非渗透性结构、吡啶二羧酸- Ca^{2+} 和磺基乳酸钙,改变了的蛋白质与酶的构型、皮

质膨胀与髓质脱水、整个芽孢含水量很少(与羊毛的含水量相似)以及蛋白质与酶的分子量较小均有一定关系。细菌形成芽孢以后,能在不利条件下长期存活,因此也是医学理论和实践上的一个重要课题。

应该注意的是,一个繁殖体细胞内只能形成一个芽孢,而一个芽孢也只能萌发成一个繁殖体,所以芽孢形成不是繁殖方式,而是休眠体,为细菌生活史中的一个环节。

有些细菌(如粘细菌),可以产生另外一种不同的休眠体,称为孢囊(Cyst)。它是由繁殖体缩短成球形,表面形成厚的孢子壁而成。而且一个孢囊可以产生许多孢子,因此,它与芽孢不同。

芽孢的形态学资料,主要是Fitz-Games, Young, Murray, Holt和Leadbetter等氏早期研究的结果。有些问题仍不太清楚,正如1977年第七届国际芽孢会议指出的那样,今后应从分子水平上继续研究^[6]。

参 考 文 献

- [1] 武汉大学、复旦大学:微生物学(第二版),高等教育出版社,北京,48—56,1987。
- [2] R. Y. Staier: The Microbial World (Fifth ed.), New Jersey: Prentice Hall, 475—494, 1986。
- [3] W. V. Iterson: Inner Structure of bacteria, VNR, CO.: 280—359, 1984。
- [4] 洪涛著: 生物医学超微结构与电子显微镜技术, 科学出版社, 北京, 382—383, 1980。
- [5] 甘肃农业大学主编: 兽医微生物学, 农业出版社, 北京, 29—32, 1983。
- [6] 程皆能主编: 微生物生理学, 复旦大学出版社, 上海, 222—228, 1987。
- [7] 黄翠芬主编: 医学细菌分子生物学进展, 科学出版社, 北京, 27—35, 1984。
- [8] Howard J. Rogers: Bacterial cell Structure, VNR (uk) CO., 39—40, 1983。
- [9] Szulmajster J.: Trends in Biochemical Science, 1: 18—32, 1979。
- [10] P. L. Carpenter: Microbiology (Fourth edition), VNR. CO., 101—111, 1977。