

细菌群体的异质性

张汉波 丁骅孙

(云南大学生物系 昆明 650091)

摘要:发生在由一祖先细胞形成的菌悬液、菌落或生物膜中的细菌群体异质性,可以使群体在面临多种胁迫环境时,通过各亚群间的协同作用生存下去。这种分化不仅有表型差异,而且还通过细胞间的遗传物质交换和细胞内的自发突变在群体水平上产生遗传差异。细菌群体的这种异质性分化可能是细菌适应环境的根本源泉。

关键词:细菌,群体分化,遗传差异

中图分类号:Q93 **文献标识码:**A **文章编号:**0253-2654(2001)02-0093-04

长期以来,细菌作为单细胞的简单生物,个体与个体之间独立生存,由一个细胞分裂产生的后代在表型和遗传上是均一的,我们称之为“纯培养”。本文所要讨论的异质性主要指这种“纯培养”的细菌群体在一定环境条件下,在表型和遗传两方面所表现出来的差异。有越来越多

收稿日期:2000-01-31, **修回日期:**2000-04-30

的证据表明,在一定环境条件下,一个“纯培养”的细菌群体会发生分化,形成许多生理生化不同的小亚群(Subpopulation),它们类似高等生物的组织。相互之间通过各种各样的化学信号实现彼此的交流和调控;此外,在群体细胞之间有着广泛的遗传信息的交换;细胞内部也发生大量的基因突变。

1 细菌群体的分化现象

细菌群体的分化是很普遍的现象。在通气良好的液体培养基中,细菌生长形成均匀的菌悬液,但在静置的情况下,好氧的细菌倾向于生活在液体表面,而厌氧的相对集中在底部。在固体培养基上,因菌落内部各区域的细胞密度,运动能力有差异,发育成不同的菌落形态^[1]。生长了24h的大肠杆菌(*Escherichia coli*)菌落,不同区域表现出细胞大小、形状的不同,以及细胞排列方式的不同;同时也发现菌落有分层现象,各细胞层的蛋白成分有差异,其中有很多死亡的细胞;在枯草芽孢杆菌(*Bacillus subtilis*)中,在较低的营养水平和较高的琼脂浓度下,为了有效地获取营养,菌落发育成高度分叉的树枝状,最大限度地提高了菌落的表面积。在这些枝突内,很多长型的、高移动性的细胞包裹在一层由它们分泌的胞外多聚物中,随着这层多聚物被移动的细胞往外推进,菌落的分枝向外延展,菌落中心的细胞却不能运动,这些细胞倾向于产生芽孢^[2]。

细菌能够粘附在某些固体表面,形成一层粘液状的,湿滑的薄膜,称为生物膜(biofilm)。在自然环境中,细菌不能获取象实验室中提供的简单物质来生活,它们必须组织在一起,发挥不同的功能将大分子物质降解成为可吸收利用的小分子。如在污水中由多个细菌种属(或真菌)聚集生活在一起形成的活性污泥颗粒;生长在医疗器械或生物组织(包括死的和活的)表面的各种病原菌等。前者由于涉及多个种属的细菌及真菌的相互作用,这里不予论述。后者因为能引起人类大量慢性的、持续性的疾病感染,且难以用抗生素根除,其发育的过程近年来得到了广泛的研究^[3]。绿脓杆菌(*Pseudomonas aeruginosa*)能导致患有隐性遗传疾病囊性纤维变性(cystic fibrosis)的人群慢性肺部感染,其生物膜的发育包括附着,微菌落形成,成熟3个阶段。当细胞接触到固体表面,一系列基因被启动表达,产生胞外多糖,使细胞得以附着在表面。细胞借助发样菌毛,在表面扭动,聚集形成微菌落。微菌落发生分化,外被胞外多糖,形成成熟的生物膜。

2 细菌群体分化的意义

从生态学的观点来看,细菌群体的生长受不同的物理化学和生物因素的影响。面对噬菌体的攻击,有害化学物质及不良环境的影响,或为了能够更有效地利用营养物质,群体必须产生分化来适应环境。

2.1 获得分散细胞不能获取的资源 and 生态位 粘细菌(*Myxobacteria*)以池塘中的蓝细菌为食,它们通过释放一种胞外裂解酶来裂解蓝细菌的细胞,从而吸收裂解细胞的内含物。但在水环境中,它们释放的裂解酶以及裂解细胞产生的内含物都会被稀释,不能有效地捕食。为了克服这种困难,这些捕食者形成一种球状的群落,中间有一个小的空间,被捕食者被包裹在其中进行消化和吸收^[4]。

2.2 有效地抵抗一些有害的物质 有许多化学试剂能有效地杀灭悬液中分散的细胞,但对发生了“组织”分化的同种微生物却不一定有效。在稀的细胞悬液中,大肠杆菌过氧化物酶缺陷型细菌与野生菌对过氧化氢的抵抗能力没有差异,如果处理很浓的细胞悬液或琼脂表面的微菌

落,野生菌却表现出很大的抵抗能力^[2]。病原菌形成的生物膜对抗生素的抵抗能力更引人注目。由于生物膜内含有大量的多糖及多糖样物质,抗生素很难渗透到其中的细胞;另外,在营养匮乏的条件下,许多细胞生长缓慢或根本不生长,这些细胞可以抵抗任何的抗生素作用;分化的亚群在生理代谢上所表现出来的异质性,使得在面对那些针对损害其某种代谢途径的抗生素作用时,至少有些细胞可以生存下来;这些生物膜还能程序化地脱落(programmed detachment)一些游离的细胞,如果寄主不能有效地杀灭这些游离的细胞,生物膜就扮演了“病灶”的角色^[3]。

3 群体分化的遗传基础

上述细菌群体的分化是否也体现在遗传背景差异上呢?分化是一种很复杂的细胞群体行为,涉及了细胞间大量的化学信号的交流与调控,以及在不同时期不同发育阶段基因表达的启动与关闭问题^[5]。更为有趣的是,分化还涉及到细胞遗传物质的改变,这是我们要详细讨论的。

3.1 细胞间的遗传物质交换 在 *B. subtilis* 群体中,有的亚群可以被诱发出感受态来吸收外源 DNA,发生大量的重组,产生新的基因型,提高了群体的繁殖和生存能力;淋病奈瑟氏球菌(*Neisseria gonorrhoeae*)的感受态是组成型的,但只限于吸收带本种特异 DNA 序列标签的 DNA 片段^[2]。由于质粒,噬菌体,转座子和其他一些可移动的 DNA 成分在微生物的 DNA 交换中起了主要的作用,这些交换解释了细菌抗性在群体间迅速传播的现象。近年的研究证实这种交换比我们想象的要频繁,交换可以发生在同种甚至不同种属的细胞之间。意大利火山岛 100°C 的水中的弗立萨斯火球菌(*Pyrococcus furiosus*)与生长在附近的 85°C 水体中不同属的立托拉丽斯嗜热球菌(*Thermococcus litoralis*)有同样的运输麦芽糖的基因,二者 DNA 具有一段完全同序列的 16Kb 片段。但那些生活在太平洋中的 *P. furiosus* 却没有此运输麦芽糖的基因。这些大片段同源 DNA 很可能通过可移动的遗传因子如转座子的作用在相邻微生物(不同种)之间传递^[6]。有种理论认为,虽然单个的细菌细胞所能容纳的遗传信息有限,但整个细菌群体基因组所包含的基因信息是巨大的。每个细菌细胞都可以通过这些可移动的 DNA 成分来获得群体(有可能是不同种属)的遗传信息。为了适应新的环境,细菌象一个裁缝,根据需要不同的基因进行拼接^[2]。

3.2 基因突变 除了细胞间的遗传物质交换,纯粹的细胞内遗传物质的改变也对群体的分化和多样性产生作用。从单个细胞的角度,突变往往是不利的,如某些失去了表面受体的个体,在正常环境的竞争中失去了优势,但当面对烈性噬菌体的攻击时,群体却因为他们得以延续下来。在不良环境中,*E. coli* 和沙门氏菌(*Salmonella*)的自发突变率大大提高,增加了群体生存的机会^[7],*E. coli* 菌落还能产生一些濒临死亡的小亚群,他们都是一些超突变的细胞,丧失了进一步分离增殖的能力,但他们是群体适应环境的重要源泉^[8]。这些超突变体的个体难以生存而死亡,但他们的 DNA 片段却可以贡献给群体中的其他细胞作为重组的材料,产生新的适应环境的突变体。这种群体策略很象一种天然的基因工程。

在 DNA 复制过程中会随机产生一定数量的碱基配对错误,当这种错误逃避了校正系统的修复时,细胞产生了自发突变。但在校正系统正常的细菌中,仍有 10^{-8} 的配对错误^[9],如果校正系统被修饰,比如校正功能下降了,那么, DNA 突变的几率应该更大。对 *E. coli* lac+1 格的适应性回复突变研究表明,在营养匮乏时,细胞通过某种机制将 DNA 错配校正系统的活性降低了^[10],细胞突变的活性也大大提高^[11]。这种有目的的突变仍然有争论,但事实是肯定的,即在一定的环境特别是不良环境条件下,一个“纯培养”的细菌群体倾向于增加它们的遗传多样

性。由于DNA损伤、断裂、碱基修饰、DNA交联、DNA复制的底物短缺都可能导致细胞产生SOS反应,而SOS反应引发了细胞的DNA错误倾向修复(error-prone repair)^[12]。因此,当细菌在面对饥饿和其他一些不良生存环境时,很可能诱发出SOS或类似的反应,从而导致群体中出现大量的突变体。

4 讨论

把细菌群体这种表型的分化和遗传物质的改变与对环境的适应联系起来,一个纯培养的细菌群体在上述两方面的异质性就很明显了。虽然从宏观的角度看,一个平板或一瓶液体培养基是均一的,但随细胞的生长,微观环境发生了动态的改变,很可能被微分化了。如处于菌落边缘的细胞亚群总要比中央的亚群有更丰富的营养和氧气条件,随菌落的扩展,中央区域的微观环境条件越来越差,这些区域的细胞会不会变成超突变的小群体呢?因此,从微观上看,某个细胞和亚群的环境变化是绝对的,没有等同的微环境。为了适应这种环境上的差异,细菌群体即便是一个菌落的异质化肯定难以避免,这种异质化表现在表型和遗传型的不同。

但为什么我们一直观察到的是均一的群体呢?原因正是问题的本身。由于我们是在群体水平而不是(技术限制也不能)从个体来研究微生物,这种方法本身有一个前提:群体是均一的(不管是从表型还是遗传型),因此群体可以代表个体。如果个体是各不相同,是否在群体上表现一致呢?实际上,Lenski等的实验已给了一个旁证^[13]。将12个遗传背景一致的群体,在葡萄糖饥饿状态下,连续传代24,000代,12个群体细胞的生长速率都增加了60%,细胞大了两倍。虽然表型上是均一的群体,但这些隔离群体的遗传背景却各不相同。选择1,000代后的群体也有类似的情况^[14]。这些例子说明细胞可以产生不同的遗传突变来达到同样的表型。

细菌是地球上最成功的生物,它们广泛的分布和极大的环境适应能力使生物学家留下了深刻的印象。深入研究细菌群体的这种异质性,可能是解释这种能力的最好途径。

参 考 文 献

- [1] Ben-Jacob E, Cohen I, Gutnick D L. *Annu Rev Microbiol*, 1998, **52**:779~806.
- [2] Shapiro J A. *Annu Rev Microbiol*, 1998, **52**:81~104.
- [3] Costerton J W, Stewart P S, Greenberg E P. *Science*, 1999, **284**:1318~1322.
- [4] Burnham J C, Collart S A, Highison B W. *Arch Microbiol*, 1981, **129**:285~294.
- [5] Dunny G M, Leonard B A B. *Annu Rev Microbiol*, 1997, **51**:527~564.
- [6] Pennisi E. *Science*, 1999, **284**:1306.
- [7] LeClerc J E, Li B, Payne W L, *et al.* *Science*, 1996, **274**:1208~1211.
- [8] Yarmolinsky M B. *Science*, 1995, **267**:836~837.
- [9] 童克中. 基因及其表达. 北京:科学出版社, 1998, 55.
- [10] Foster P L, Trimarchi J M. *Science*, 1994, **265**:407~409.
- [11] Foster P L. *Annu Rev Microbiol*, 1993, **47**:467~504.
- [12] Echols H, Goodman M. *Mutation Res*, 1990, **236**:301~311.
- [13] Appenzeller T. *Science*, 1999, **284**:2108~2110.
- [14] Travisano M. *Genetics*, 1997, **146**:471~479.