

# 粘细菌的滑行运动及其分子生物学研究进展

陈锡时 李 颐

(沈阳农业大学微生物教研室 沈阳 110161)

关键词 粘细菌, 滑行运动, 基因调控

分类号 Q935

粘细菌以形成含有休眠粘孢子的子实体区别于其它细菌,粘孢子对于干燥和冷冻的耐性使它在干旱的沙漠和极地的冻土带等严峻的环境下能够生存,很可能是它在地球上广泛分布的主要原因。粘细菌依靠滑行运动,与鞭毛运动相比,滑行运动相对缓慢,而且要有固体表面支持<sup>[1]</sup>。滑行运动对于粘细菌子实体形态发生和粘孢子形成等群体行为有着重要的意义。粘细菌不同菌株 16SrRNA 分子的比较表明它们不同于其它滑行细菌,是一个独立的类型。粘细菌接近的分类地位使得所有粘细菌有可能具有相同的运动机制。

## 1 滑行运动结构的研究

滑行是菌体靠蠕动按其长轴方向运动,偶尔停顿和改变方向,没有发现明显的细胞器作为推动器。根据不同原理曾对滑行的机制提出不同假设,如粘液的定向挤压;细胞质内可收缩的管状结构;细胞表面收缩的波纹;端生纤毛;细胞表面分泌的粘性物质等等,至今进展不大<sup>[2]</sup>。近年对滑行纤维粘细菌(*Cytophaga johnsonae*)的深入研究中,发现被固定的细胞表面存在按一定轨迹运动的颗粒。Pate 等<sup>[3,4]</sup>用电镜观察了来自细胞溶解物的近环状颗粒,认为它们类似于细胞鞭毛基部旋转的圆盘,滑行是靠包裹在细胞表面的这种近环状颗粒旋转而实现的。但是关于这些近环状颗粒的旋转并无实验依据。Lapidus<sup>[5]</sup>等则认为球状颗粒结合在细胞外膜的特定结合位点上,这些位点按一定轨迹运动。位于细胞壁外膜和肽聚糖层的相互作用的蛋白复合物为它们之间的结合和分开提供作用力<sup>[6]</sup>。近年对于橙色粘球菌(*Myxococcus fulvus* Mxf65-9)细胞壁超微结构观察中所发现的复杂结构,进一步从形态结构学角度为后一种观点提供了直接证据。Lunsdorf<sup>[7]</sup>等

将 Mxf65-9 菌株细胞壁制备物的离子交换层析片段负染色后用透射电镜观察,看到一种被称为“线束”(Strands)的十分规则的链状结构。线束由两部分组成:(1)间隔 14.3nm 规则排列的内外径分别为 5.3~6.3nm 和 12.6~15.6nm 的环;(2)直径为 2.8nm 的可延伸的细丝。每个环被两根伸长的细丝串连起来,环相对于细丝的方向可以轻微改变,使得两部分之间存在一定的弹性,整个线束能够协调地活动。三个或更多的线束形成被称作条带(ribbon)的高一级结构。条带有膨胀和收缩两种状态,收缩时可使条带宽度减少 40%,产生收缩波纹。

通过对完整细胞表面及细胞超薄切片的电镜观察,为确定分离自细胞壁制备物的复杂结构的来源,提供了以下实验依据:(1)细胞表面细小亚结构间距离(14~15nm)与细胞壁制备物中链状结构规则排列的环间距离(14.3nm)相同;(2)细胞表面细小亚结构倾斜方向也与链状结构中环的倾斜方向一致;(3)细胞表面深色彩带所显示的平行隆起间的距离(40~50nm)与链状结构中横向收缩后呈人字形的条带间宽度(45~50nm)相当;(4)在固体培养细胞的超薄切片电镜照片中可见外膜下的周质空间有一列规则排列的结构,据此认为分离自细胞壁的复杂结构与滑行运动相关,是滑行运动的真实结构。

那么排列在细胞表面的复杂结构是如何导致滑行运动呢?粘细菌滑行的结构包括位于外膜下螺旋状环绕在细胞表面的带状物,滑行中带状物在细胞外表面产生微小的收缩波纹,当波纹沿细胞表面传播时推动细胞运动。

## 2 滑行运动的分子生物学研究

**2.1 控制细胞滑行的两个多基因系统** Hodgkin<sup>[8,9]</sup>等对黄色粘球菌(*Myxococcus xanthus*)深入的遗传学研究表明,细胞独自和群体滑行分别由 A、S 两个基本分开的多基因系统控制。野生型细胞(A<sup>+</sup>S<sup>+</sup>)单独或成群滑行。A 系统突变的细胞(A<sup>-</sup>S<sup>+</sup>)失去了运动的独自性,只有靠近其它细胞时才能成群运动。S 系统突变的细胞(A<sup>+</sup>S<sup>-</sup>)失去了运动的群体性,呈现长而薄印迹的单独滑行。A、S 系统双重突变的细胞(A<sup>-</sup>S<sup>-</sup>)不运动。mgl 基因突变的细胞也不运动。由于 mgl 突变是唯一已知的使细胞丧失运动性的突变型,所以它应该是 A、S 两个多基因系统共有的座位。据 Stephens<sup>[10,11]</sup>等研究 mgl 基因包括两个蛋白质编码区。分离到的 7 个 mgl 突变型的 DNA 序列与野生型比较都只有 1 个碱基对的差异。其中 6 个定位在下游的开放阅读框架,命名为 mglA 基因,上游的开放阅读框架包括另一个突变。研究 mgl 基因产物在细胞内的分布和功能,可以了解滑行运动的大部分机制。

A 基因系统至少包括 aglA 至 aglH、aglJ 至 aglR 和 cglB 至 cglF 等 22 个基因<sup>[8,12]</sup>。cgl 突变型与邻近的不同基因型的细胞接触时会被激发运动,agl 突变型不会。即当 cglB 突变型与任意的 cglB<sup>+</sup>细胞接触会被激发变为 cglB<sup>+</sup>恢复独自运动。接触所激发的运动是短暂的,一旦细胞分开,激发作用将随时间而衰减。但是接触激发的高效率提示一种在相邻细胞间迅速传递的特殊蛋白质的存在。已知 cgl 基因能和许多分泌碱性蛋白酶的 Tn *phoA* 插入序列融合,看来 Cgl 蛋白是可以分泌到体外的。利用 Tn5 诱变可以分离到不与细胞壁脂多糖 O 抗原单克隆抗体反应的突变型<sup>[13]</sup>。获得的突变型中,一组合成 O 抗原决定簇缺陷,同时也不能独自运动;另一组影响核心抗原决定簇合成的突变型不抑制独自运动。因此独自运动与细胞壁脂多糖 O 抗原似乎有关。另外 17 个 agl 突变型不抑制 O 抗原与单克隆抗体间反应活性,它们的功能不详。

为了验证独自运动对野生型细胞行为的作用,Kaiser<sup>[14]</sup>等用滑行扩展试验比较了 A<sup>+</sup>S<sup>+</sup>、A<sup>-</sup>S<sup>+</sup>和 A<sup>+</sup>S<sup>-</sup>三种细胞重新聚集的速率。三种细胞重新聚集的状态显著不同,但扩展速率都随细胞密度而增加。A<sup>+</sup>S<sup>+</sup>细胞的聚集状态更类似于 A<sup>+</sup>S<sup>-</sup>,与 A<sup>-</sup>S<sup>+</sup>不同,表示独自运动是野生型细胞重新聚集的主要方式。

Dworkin<sup>[15]</sup>用定时摄影显微镜观察了黄色粘球菌向着大小相似的藤黄微球菌(*Micrococcus luteus*)菌落、玻璃珠和聚苯乙烯乳胶珠的滑行行为。A<sup>+</sup>S<sup>+</sup>和 A<sup>+</sup>S<sup>-</sup>细胞均直接向三种不同的物质运动,A<sup>-</sup>S<sup>+</sup>细胞不同。因此很难用趋药性解释细胞的运动行为,细胞沿琼脂中应力线确定运动方向的弹力顺应性有可能是运动的机制。细胞很可能是通过位于其外表面的脂多糖 O 抗原与培养基相互作用并在其上运动的。

S 系统至少包括 10 个基因:sglA 至 sglH、tgl 和 dsp。S 系统的突变型中只有 tgl 与 tgl<sup>+</sup>细胞接触能被激发恢复群体运动<sup>[9,12]</sup>。S 系统的功能对于子实体形成和波动性等群体行为是必需的<sup>[16]</sup>。细胞间的接触是群体运动的基础,如果 A<sup>-</sup>S<sup>+</sup>细胞间的距离分散到超过一个细胞长度时就不再运动了<sup>[14,17]</sup>。相互接触的 A<sup>-</sup>S<sup>+</sup>细胞移走的速率随细胞的密度而增加<sup>[14]</sup>。细胞表面有两种附属物——纤毛和纤丝连接相邻的细胞。纤毛位于细胞一端,和细胞等长,5nm 宽。除了 dsp 外,所有 S 突变型均不产生纤毛。tgl 细胞在被激发恢复群体运动时,纤毛也被诱导形成了<sup>[18]</sup>。纤丝宽约 50nm,分布在细胞周围的空间<sup>[19]</sup>。纤丝的聚合或结晶有可能成为细胞聚集或发育的胞外基质。许多 S 突变型不产生由多糖蛋白质复合物组成的胞外基质。细胞凝集试验是一种检测细胞间反应对群体运动依赖性的方法,经测定橙色和直立标桩粘球菌(*Stigmatella aurantiaca* and *Stigmatella erecta*)至少有两种抗剪切的凝集作用<sup>[20]</sup>。一种组成型表达,与能量无关;另一种受 Ca<sup>2+</sup>诱导,被呼吸毒剂抑制。凝集试验开始的几分钟内细胞表面出现大量纤丝<sup>[19]</sup>。野生型黄色粘球菌用刚果红处理可以抑制纤丝形成和凝集,除去结合在细胞上的刚果红,纤丝形成和凝集得以恢复。dsp 突变型缺少刚果红受体。刚果红受体的化学成份不详。asgA、asgB 和 asgC 基因突变降低但不完全抑制凝集作用<sup>[21]</sup>。三种突变型结合刚果红的 Ka 值与野生型接近。野生型细胞发育中所分泌的热稳定性因子能部分地恢复 asgB 和 sgl 突变型的凝集作用,该因子的化学特性也不详。

A<sup>+</sup>S<sup>+</sup>细胞可以利用独自运动离开菌落,当细胞密度大时更为迅速。细胞密度同时也调节凝集作用,所以独自运动是凝集活性下降的结果。

**2.2 控制细胞滑行的其它基因** frz 是 A、S 多基因系

统外研究得最详尽的基因。克隆的 *frz* 基因经互补测验和 DNA 测序发现它包括 *frzA*、*frzB*、*frzCD*、*frzE*、*frzF* 和 *frzG* 等 6 个基因。*frz* 基因控制粘细菌滑行方向转换的频率<sup>[22]</sup>。野生型细胞平均 6.8min 转换一次运动方向,能观察到滑行现象。多数 *frz* 突变型 2h 转换一次运动方向,呈现长长的滑行印迹。少数 *frz* 突变型 2.2min 转换一次运动方向,观察不到滑行现象。*FrzCD* 与鼠伤寒菌 Tar 蛋白三分之一以上氨基酸序列上有 40% 同种氨基酸。Tar 是甲基受体趋化性蛋白,它通过控制鞭毛旋转方向确定菌体运动和旋转的频率。*FrzCD* 类似于 Tar,在谷氨酸残基附近甲基化。只有 *frzF* 细胞中的 *FrzCD* 不发生甲基化,所以 *FrzF* 可能编码转甲基酶。*CheW* 是鼠伤寒菌控制鞭毛顺时旋转的蛋白<sup>[23]</sup>,*FrzA* 与之有 28% 同种氨基酸。*FrzE* 与鼠伤寒菌的 *CheA* 和 *CheY* 是同种蛋白<sup>[24]</sup>,后者是双组分感应调节器成员,*FrzE* 是在 *FrzCD* 和滑行传动器间传递信息的第二信号器。*FrzG* 与大肠杆菌编码甲基酯酶的 *CheB* 是同种蛋白。总之,黄色粘球菌的滑行运动有一系列蛋白参与作用,它们与肠细菌鞭毛运动的蛋白在进化过程中密切相关。

对粘细菌滑行运动的深入研究,必然步入该领域的分子机制,而分子学的研究又将合理地解释粘细菌协同生长、波动、子实体发生、粘孢子形成等群体行为和发育的特性。近年在粘细菌滑行运动研究中的进展不仅为微生物学家所关注,而且引起了发育生物学家的极大兴趣。

## 参 考 文 献

- [1] Holt J G, Krieg N R, Sneath P H A *et al.* Bergey's Manual of Determinative Bacteriology, 9th ed. Baltimore, Williams and Wilkins. 1994.
- [2] Burchard R P. In Myxobacteria: development and cell interactions, Springer-Verlag, New York, 1984.
- [3] Pate J L, Chang L Y E. Cur Microbiol, 1979, 2: 59~64.
- [4] Pate J L. Microbiol Sci, 1985, 2:289~295.
- [5] Lapidus I R, Breg H C. J Bacteriol, 1982, 151:283~398.
- [6] Duxbury T, Humphrey B A, Marshall K C. Arch Microbiol, 1980, 124:169~175.
- [7] Lunsdorf H, Reichenbach H. J Gen Microbiol, 1989, 135:1633~1641.
- [8] Hodgkin J, Kaiser D. Mol Gen Genet, 1979, 171: 167~176.
- [9] Hodgkin J, Kaiser D. Mol Gen Genet, 1979, 172: 177~191.
- [10] Stephens K, Hartzell P, Kaiser D. J Bacteriol, 1989, 171:819~830.
- [11] Stephens K, Kaiser D. Mol Gen Genet, 1987, 207: 256~266.
- [12] Hodgkin J, Kaiser D. Proc Natl Acad Sci USA, 1977, 74:2938~2942.
- [13] Fink J S, Kalos M, Zissler J F. J Bacteriol, 1989, 171:2033~2041.
- [14] Kaiser D, Crosby C. Cell Motil, 1983, 3:227~245.
- [15] Dworkin M. J Bacteriol, 1983, 154:452~459.
- [16] Shimkets L J, Kaiser D. J Bacteriol, 1982, 152:451~461.
- [17] Burchard R P. J Bacteriol, 1970, 104:940~947.
- [18] Kaiser D. Proc Natl Acad Sci USA, 1979, 76:5952~5956.
- [19] Arnold J W, Shimkets L J. J Bacteriol, 1988, 170: 5771~5777.
- [20] Gilmore D F, White D. J Bacteriol, 1985, 161:113~117.
- [21] Kuspa A, Kaiser D. J Bacteriol, 1989, 171:2762~2772.
- [22] Blackhart B D, Zusman D R. Proc Natl Acad Sci USA, 1985, 82:8767~8771.
- [23] McBride M J, Weinberg R A, Zusman D R. Proc Natl Acad Sci USA, 86:424~428.
- [24] McCleary W R, Zusman D R. Proc Natl Acad Sci USA, 1990, 87:5898~5902.