

生物膜形成机理及影响因素探究

戚韩英¹ 汪文斌² 郑昱³ 朱亮^{1*} 徐向阳¹

(1. 浙江大学 环境与资源学院 浙江 杭州 310058)

(2. 湖州南太湖环保科技发展有限公司 浙江 湖州 313000)

(3. 湖州市能源监察支队 浙江 湖州 313000)

摘要: 生物膜是一种依附于载体材料的特殊微生物聚集体, 其大量存在于自然环境中, 并在水质净化、废水处理等领域广泛应用。本文介绍了生物膜形成基本原理, 综述了有关载体界面性质、胞外多聚物(EPS)关键组分对生物膜形成及其稳定性的影响, 并对各学科交叉研究生物膜提供技术思路。

关键词: 生物膜, 形成机理, 载体性质, 胞外多聚物

Mechanism of biofilm formation and analysis of influencing factors

QI Han-Ying¹ WANG Wen-Bin² ZHENG Yu³ ZHU Liang^{1*} XU Xiang-Yang¹

(1. College of Environmental and Resource Sciences, Zhejiang University, Hangzhou, Zhejiang 310058, China)

(2. Huzhou Nantaihu Environmental Production Technology Company, Huzhou, Zhejiang 313000, China)

(3. Huzhou Energy Supervising Division, Huzhou, Zhejiang 313000, China)

Abstract: Biofilm is a kind of special microbial aggregates, and exists widely in various natural environments. The paper introduced the basic principle of biofilm formation, and reviewed the effects of carrier property, key components of extracellular polymeric substances

基金项目: 国家自然科学基金项目(No. 51078327, 51008269); 浙江省环保科研计划项目(No. 2011B10)

*通讯作者: ✉: felix79cn@hotmail.com

收稿日期: 2012-05-20; 接受日期: 2012-08-27

(EPS) on the formation and stability of biofilms. Finally, the cross-disciplinary research prospect on the biofilm was provided.

Keywords: Biofilm, Formation mechanism, Carrier property, Extracellular polymeric substances (EPS)

生物膜是无柄微生物群落各种载体上的附着^[1],随着对生物膜在水、土壤等自然环境净化、废弃物生物处理等方面的认识加深,国内外研究者对生物膜进行了大量研究,取得很多重要成果^[2-3]。研究表明,这些附着型微生物细胞面附着由自身分泌产生的胞外多聚物(EPS),既能增强微生物细胞对外界环境的抵抗能力,又是影响生物膜稳定的关键因素^[4-5]。

本文从生物膜形成机理角度出发,运用不同学科知识综述了生物膜的形成机理及结构稳定的主要影响因素,并从应用角度对生物膜领域研究进行展望。

1 生物膜形成机理

生物膜的形成过程可分为5个阶段,主要为可逆接触阶段、不可逆接触阶段、菌落形成阶段、生物膜成熟阶段及生物膜老化脱落阶段^[6]。具体过程如下:

(1) 细胞在载体表面的可逆粘附。利用鞭毛、纤毛和菌丝等胞外细胞器和外层膜蛋白粘附于载体表面^[7-8]。

(2) 细胞在载体表面的不可逆粘附。通过细胞分泌的胞外多聚物(EPS)增强细胞和载体之间的粘附,EPS主要组分成分有DNA、蛋白、脂质、脂多糖^[2]。

(3) 粘附在载体表面细胞的分裂及小菌落的形成。该过程菌落明显增大,胞外多聚物量增多并形成一层水凝胶覆盖于细胞表面^[9];同时,群体效应(Quorum sensing, QS)可显著表征细菌之

间是否发生化学交流,用于调节细胞致病性、营养物质的获取、细胞之间的杂交、细胞运动及次生代谢产物的生成,决定细胞各种功能^[10]。

(4) 粘附小菌落成长为具三维结构的成熟生物膜。该过程细胞与载体及细胞之间主要依靠EPS胶粘在一起,使菌落能够抵御一定的机械压力,防止从载体表面脱落。

(5) 部分细胞从生物膜上的脱落。该过程有利于生物膜的繁殖及群落的自我重建,因为脱落细胞可于新的生境中重新吸附于载体表面,形成新的生物膜。

2 生物膜形成的影响因素

2.1 载体材料性质研究

由于生物膜的形成需要一定的物质载体,这就决定了载体界面性质会对细胞粘附和生物膜形成造成一定影响,主要包括:载体界面的静电作用、亲疏水性、界面粗糙度及形态特征等。

2.1.1 载体界面静电作用:众所周知,静电力是细胞和载体界面发生相互粘附过程中最先产生的相互作用。因大部分细菌带负电荷^[11],其极易与带正电的载体界面相结合,故界面带正电的载体有利于生物膜的形成。此外,细菌也可在带负电的载体界面富集,主要是通过细胞的鞭毛、纤毛和菌丝等胞外细胞器对载体表面的粘附,提高细胞克服静电斥力的能力^[7]。在实际应用环境中,介质载体普遍浸没于离子强度较高的溶液中,溶液中的离子、小分子物质等可通过扩散及质量传递过程吸附于载体表面,从而影响载体表面性

质, 改变载体表面与细菌细胞之间的静电作用, 使部分带负电的载体转变成带正电, 细菌细胞和载体界面的静电作用得到加强。

综上, 界面带正电的载体更有利于细胞粘附, 具有较高的实际应用性。

2.1.2 载体界面亲疏水性: 随着微生物细胞与载体界面通过静电力作用初始粘附, 细胞与载体界面的距离缩短, 载体界面非极性且低表面能的疏水基团与细菌细胞粘附后, 界面上的水分子被替代, 细菌细胞的粘附作用增强^[8,12]。同时, 有研究发现采用氟材料氧化后载体界面接触角变小, 细菌在载体界面上的初始附着能力随之变弱^[13], 揭示载体界面疏水基团有利于生物膜的形成及稳定。但不同菌群性质不同, Ista 等^[14]研究发现 *Staphylococcus epidermidis* 更易粘附于表面能较高的亲水载体界面上。Hyde 等^[15]比较了疏水性与玻璃、钢铁等界面生物膜形成的关系发现, 疏水性界面的细胞粘附及生物膜成熟速度较慢。但也有研究得到相反的结果, Heistad 等^[16]研究界面疏水性对生物膜粘附的影响发现, 生物膜的形成及稳定与界面疏水性无明显关系。

可见, 微生物细胞既可以粘附于疏水性的载体界面, 也可粘附于亲水性的载体界面, 载体界面的亲疏水性不能用来判断载体界面是否有利于生物膜的形成及结构稳定。

2.1.3 载体界面粗糙度: 研究表明, 载体界面粗糙度对细菌细胞的粘附作用影响较大, 纳米和微米级的界面粗糙度通过增加细胞与界面的接触面积, 增强了细胞的初始粘附。同时, 表面粗糙度的增加可减少液体流动相生物膜中细菌细胞所承受的水力剪切力, 大大减小了细胞被冲刷的可能性。Truong 等^[17]利用钛作为载体材料研究发现, 相比于微米级的界面粗糙度, 纳米级界面更有利于细菌细胞的粘附; 但纳米级界面改变了材料表面其他物化性质, 如表面能等, 从而影响材

料界面的细胞粘附性。Machado 等^[18]利用化学蚀刻技术研究纳米级 PVC 材料的表面能及其对细胞初始粘附的影响, 发现该材料表面能因粗糙度的变化而发生变化, 同时细胞于该界面上的初始粘附能力下降。由于细胞粒径各不相同, 所以针对不同细菌不可能有统一的标准, 有关粗糙度和细胞粘附之间的相互关系仍有待进一步研究。

2.1.4 载体界面形态特征: 除粗糙度外, 载体界面还有一定的形态特征。有研究发现, 较游离态细胞而言, 形成生物膜后的细胞具有更大的刚性, 易在载体表面维持一定的形态结构。Chung 等^[19]设计两种形态 PDMS 材料表面结构, 比较细胞富集程度发现, 仿造鲨鱼皮结构的纳米级界面载体上的细胞富集量明显少于光滑表面的载体, 表明一定形态结构的载体表面并不利于生物膜的初始粘附。该结果与 Hochbaum 和 Aizenberg 的研究结果相似^[19], 认为一定的空间隔离会影响细菌富集与生长。

载体界面一定的形态特征有利于形成一定的空间格局, 从而减少生物膜的粘附及生长, 在抑制生物膜研究领域具有研究价值。目前, 有关一定形态特征的载体界面研究较少, 特别是纳米级或微米级形态特征以及载体界面覆膜情况的研究。

2.2 细胞表面物化性质研究

在多数生物膜内, 微生物细胞占生物膜干重的比例较少, 相比胞外多聚物(EPS)所占的比重较大, 几乎占细胞干重的 90%以上。作为生物膜骨架的 EPS 是微生物自身代谢产物, 被研究者认为是构成生物膜三维结构的关键因子^[21]。EPS 在生物膜形成过程的作用主要体现在以下几方面: (1) 有利于游离细胞在载体界面初始粘附; (2) 增强细胞间架桥作用, 利于细胞聚集、成膜; (3) 是细胞的天然保护屏障, 保护微生物耐受抗菌剂等影响, 并免受原生动物的捕食; (4) 可作

为细胞代谢二次能源碳源,供微生物在营养匮乏环境生长维持;(5)含水率较高,利于生物膜耐受干燥环境。

尽管EPS组分在不同种类生物膜之间存在较大的差异,但研究表明其在生物膜形成过程起作用的主要组分为多糖、蛋白和胞外DNA。

2.2.1 胞外多糖:早期研究发现,胞外多糖普遍存在于各种环境下形成的生物膜中^[21-22],分子量主要集中于 0.5×10^6 – 2.0×10^6 Da,结构为直链或含支链的链状,以杂多糖为主,大部分属于聚阴离子性多糖。Vanningelgem等^[23]研究表明同种菌属产生的胞外多糖组成及各组成的比例均不相同。以假单胞菌属为例,分析其不同胞外多糖结构对生物膜形成及稳定的影响,主要为以下3种常见多糖,即Alginate、Pel和Psl;其中,Alginate含多聚古罗糖醛酸[Poly(G)]及多聚甘露糖醛酸[Poly(M)]两种糖醛残基,属于直链杂多糖,且只有粘液型菌株具有编码该类多糖的基因,存在于初期生物膜小菌落中,也是成熟生物膜稳定的主要组成成分;Pel由葡萄糖聚合而成,Psl则由五糖聚合形成,主要包括D-甘露糖、D-葡萄糖和L-鼠李糖^[24],前者在细胞与载体粘附过程中起重要作用,后者则在细胞初始粘附及维持生物膜稳定中起关键作用。研究还发现,Psl以螺旋状固定于细胞表面,加强细胞间相互作用,进而形成一个以小菌落为中心的无Psl腔结构,便于后续细胞膜的脱落^[25]。

对不能合成胞外多糖的突变体纯菌属研究发现,该类菌属只能形成短暂的小菌落,难以形成成熟稳定的生物膜^[25-27]。Sutherland^[3]研究混合菌属生物膜结构发现,只要存在能合成胞外多糖的微生物菌属,就能形成成熟稳定的生物膜,且该生物膜结构中还包含大量不能合成胞外多糖的微生物菌株。综上可知,胞外多糖是大多数细菌形成成熟生物膜结构不可或缺的组成部分。

2.2.2 胞外蛋白:研究发现,生物膜EPS中胞外蛋白的含量远比胞外多糖多,特别是自然环境和污水处理系统的生物膜^[4,28]。胞外多糖含量较少的一部分原因是,胞外蛋白中有一部分是胞外酶,其可降解水溶性胞外多聚物(如多糖、蛋白、核酸)、不溶于水的胞外物质(如纤维素、几丁质、脂质及有机颗粒等)和生物膜EPS,使这些生物大分子变成小分子产物被细胞代谢吸收。据此,有研究将生物膜用于污染环境自净过程,如土壤、沉积物及水体自净,因其具有较好的有机物降解性能,被广泛应用于环境修复领域^[29-30]。在废水生物处理系统内,研究者发现EPS作为污泥絮体、生物膜、颗粒污泥等生物聚集体的重要组分,在生物聚集体的形成与结构稳定过程中起到关键作用^[2]。Zhu等研究发现,胞外多糖是颗粒污泥EPS的主成分,对颗粒污泥结构维持具有重要作用^[31]。

同时,也有研究发现dspB编码的N-乙酰- β -氨基己糖苷酶可用于降解胞外多糖,从而导致生物膜细胞分散脱落,而不能编码该类多糖降解酶的dspB突变体则不会引起生物膜解体^[32]。因此,一定量的胞外酶可维持修复系统生物膜结构稳定,但EPS降解酶过量出现会导致生物膜解体,这一类型的酶可有效防治生物医学、牙医等领域的生物膜污染。

除胞外酶外,还有结构蛋白,其可加强生物膜结构的紧密性和稳定性,主要分为三类,即胞外多糖结合型胞外蛋白(也称为外源凝集素)、细胞结合型胞外蛋白及生物膜结合型表层蛋白。目前,已知的胞外多糖结合型蛋白有: *Streptococcus mutans* 于牙齿上形成的葡聚糖结合型蛋白^[33]、活性污泥中的凝集素类蛋白^[34]、*Azospirillum brasiliense* 外层膜中的凝集素类蛋白^[35]以及 *P. aeruginosa* 生物膜中的LecA和LecB两种凝集素类蛋白^[36-37]等。有研究发现,假单胞菌属中的两

种类蛋白分别与半乳糖和海藻糖结合,合成的具有高亲和力的多价配体与 LecB 结合时,可抑制假单胞菌生物膜的形成,甚至能导致已形成的生物膜完全解体^[38]。可见,海藻糖结合型胞外蛋白是假单胞菌生物膜形成及稳定的必要组成部分。

细胞结合型胞外蛋白 TasA 是 *B. subtilis* 生物膜结构完整性的必要组分,其与胞外多糖共同维持枯草杆菌生物膜结构稳定。除此之外,有研究发现 CdrA 蛋白既属于细胞结合型胞外蛋白,也属于多糖结合型胞外蛋白(和 Psl 多糖相结合),可促进更多的细胞与胞外多糖 Psl 结合,从而加快假单胞菌生物膜形成^[39]。生物膜结合型表层蛋白主要分布于细胞表面,可有效地提高细菌生物膜的形成速度,有研究发现生物膜结合型蛋白 *Bap* 是多种菌属生物膜结构中不可或缺的组分^[40]。

除此之外,Goodman 等^[41]研究还发现一类核酸结合型胞外蛋白,即 DNABII 类蛋白,其在胞外与 eDNA 紧密结合,在维持生物膜完整性中起关键作用。Stinson 和 Bergey^[42]研究也发现其存在于胞外,和 eDNA 一样主要通过细胞裂解、自溶等形式从胞内释放。

上述介绍的结合态结构蛋白种类存在差异,但均能在生物膜形成及稳定阶段起作用。但目前研究主要集中在纯菌方面,有待在实际应用中对生物膜胞外结构蛋白开展研究。

2.2.3 胞外 DNA: 胞外 DNA (eDNA)浓度在不同菌属生物膜中差异较大,但在废水处理系统生物膜中 eDNA 量则较多。目前有关 eDNA 的研究基本集中于纯菌生物膜的研究,认为 eDNA 不仅是诱导生物膜形成的关键因素,也是维持生物膜结构稳定的重要组分^[5,43-45]。早在 eDNA 对自絮凝微生物 *Rhodovulum* 研究发现,eDNA 降解后会导致絮凝细胞分散,而其胞外蛋白及多糖的去除对该菌属絮凝性能没有影响,说明 eDNA 是自絮凝微生物的关键结构组分^[46]; eDNA 因其电负性,

是维持生物膜稳定的关键组分^[47];研究假单胞菌属生物膜发现,eDNA 是生物膜形成初期的必要组分,推测可释放 eDNA 的菌属利于生物膜形成^[5]。Qin 等^[48]发现 *S. epidermidis* 生物膜在两种载体条件下的初始形成过程中 eDNA 均起关键作用。

为进一步验证 eDNA 在生物膜形成初期及稳定过程的影响,Whitchurch 等^[5]酶处理试验发现 DNase 不仅可以抑制生物膜的形成,还可导致成熟生物膜失稳。但 Thomas 等^[49]研究结果表明,eDNA 主要对生物膜形成初期影响较大,而对成熟生物膜的稳定性影响不大。同时有研究表明,960 U/mL 的酶剂量可抑制 70% 的生物膜生长量^[50],说明微量的酶制剂即可有效控制生物膜的生长。

也有研究结果表明^[51-52],eDNA 会抑制 *Caulobacter crescentus* 新合成细胞在生物膜上的粘附,并导致已成熟生物膜的扩散。研究 eDNA 抑制 *Caulobacter crescentus* 生物膜的形成机理发现,eDNA 之所以能抑制该菌属生物膜的形成,是由于 eDNA 与该菌属特有的固着点结合导致 eDNA 在生物膜形成过程中不能发挥作用^[52]。由此可知,不是 eDNA 对生物膜形成及稳定不利,而是部分菌群特殊的胞外结构抑制了 eDNA 在生物膜形成及稳定中的作用。总的来说,除含特殊结构的菌属外,eDNA 具有促进生物膜形成及结构稳定的作用,这在生物膜形成初期尤为重要。

3 其他影响因素

载体表面的性质一定程度上和载体材料有关,目前采用较多的是对载体材料界面进行“化学修饰”,从而改变载体界面和细菌之间的相互作用,如含有各种官能团的单分子层^[53-54]、聚 N-异丙基丙烯酰胺^[55]、聚乙烯^[56]等,这些表面涂层一定程度上会抑制生物膜的形成及稳定。

部分细菌表面鞭毛、菌丝、纤毛及膜小泡等细胞结构对生物膜的形成也有一定作用^[57-59]。在生物膜形成初期,微生物细胞主要依靠含上述结构胞外细胞器附着在载体上,进而增殖形成紧密结合的生物膜结构。同时,这些胞外细胞器也决定着细胞能否运动,对新生生物膜的形成比较有利。

除此之外,生物膜形成过程温度、pH、离子强度等环境条件,以及微生物生长的营养条件等,都会影响细胞表面的组成及胞外特性,从而影响细胞与细胞及细胞于载体上的粘附^[60]。

4 应用与展望

Wong 和 O'Toole^[61]总结了生物膜多学科研究结果,发现生物膜研究已涉及微生物学、医药工程、环境工程、生物工程、化学、物理及材料科学等诸多学科,近二十年来获得许多突出成果。通过对生物膜形成机理、结构稳定影响因素等方面的研究,有效控制生物膜的生长及其结构稳定,并在生物生态修复领域得到广泛应用^[3-4,11-12];在生物医学、牙医、食品等领域^[15,18,33,42,53,60],通过生物膜生长抑制及其影响因素分析,在上述领域的生物膜抑制方面取得较大程度的应用。鉴于生物膜的形成是一把双刃剑,如何有效的利用或控制仍将是未来多学科关注的重点,各学科在生物膜研究方面的联系有待加强^[2-3]。此外,目前有关生物膜的研究多数关注纯培养微生物,有关自然环境、人工系统中的混合菌群生物膜研究有待开展,以提高该技术的实际应用性。

参考文献

- [1] Monroe D. Looking for chinks in the armor of bacterial biofilms[J]. Plos Biology, 2007, 5(11): 2458-2461.
- [2] Flemming HC, Wingender J. The biofilm matrix[J]. Nature Reviews Microbiology, 2010, 8(9): 623-633.
- [3] Sutherland IW. The biofilm matrix-an immobilized but dynamic microbial environment[J]. Trends in Microbiology, 2001, 9(5): 222-227.
- [4] Jahn A, Nielsen PH. Cell biomass and exopolymer composition in sewer biofilms[J]. Water Science and Technology, 1998, 37(1): 17-24.
- [5] Whitchurch CB, Tolker-Nielsen T, Ragas PC, et al. Extracellular DNA required for bacterial biofilm formation[J]. Science, 2002, 295(5559): 1487-1487.
- [6] Renner LD, Weibel DB. Physicochemical regulation of biofilm formation[J]. MRS Bulletin, 2011, 36(5): 347-355.
- [7] Bullitt E, Makowski L. Structural polymorphism of bacterial adhesion pili[J]. Nature, 1995, 373(6510): 164-167.
- [8] Thomas WE, Nilsson LM, Forero M, et al. Shear-dependent 'stick-and-roll' adhesion of type 1 fimbriated *Escherichia coli*[J]. Molecular Microbiology, 2004, 53(5): 1545-1557.
- [9] Borlee BR, Goldman AD, Murakami K, et al. *Pseudomonas aeruginosa* uses a cyclic-di-GMP-regulated adhesin to reinforce the biofilm extracellular matrix[J]. Molecular Microbiology, 2010, 75(4): 827-842.
- [10] Harmsen M, Yang LA, Pamp SJ, et al. An update on *Pseudomonas aeruginosa* biofilm formation, tolerance, and dispersal[J]. FEMS Immunology and Medical Microbiology, 2010, 59(3): 253-268.
- [11] Soni KA, Balasubramanian AK, Beskok A, et al. Zeta potential of selected bacteria in drinking water when dead, starved, or exposed to minimal and rich culture media[J]. Current Microbiology, 2008, 56(1): 93-97.
- [12] Pringle JH, Fletcher M. Influence of substratum wettability on attachment of fresh-water bacteria to solid-surfaces[J]. Applied and Environmental Microbiology, 1983, 45(3): 811-817.
- [13] Davidson CAB, Lowe CR. Optimisation of polymeric surface pre-treatment to prevent bacterial biofilm formation for use in microfluidics[J]. Journal of Molecular Recognition, 2004, 17(3): 180-185.

- [14] Ista LK, Fan HY, Baca O, et al. Attachment of bacteria to model solid surfaces: oligo (ethylene glycol) surfaces inhibit bacterial attachment[J]. FEMS Microbiology Letters, 1996, 142(1): 59–63.
- [15] Hyde FW, Alberg M, Smith K, et al. Comparison of fluorinated polymers against stainless steel, glass and polypropylene in microbial biofilm adherence and removal[J]. Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology, 1997, 19(2): 142–149.
- [16] Heistad A, Scott T, Skaarer, AM, et al. Virus removal by unsaturated wastewater filtration: effects of biofilm accumulation and hydrophobicity[J]. Water Science and Technology, 2009, 60(2): 399–407.
- [17] Truong VK, Rundell S, Lapovok R, et al. Effect of ultrafine-grained titanium surfaces on adhesion of bacteria[J]. Applied Microbiology and Biotechnology, 2009, 83(5): 925–937.
- [18] Machado MC, Cheng D, Tarquinio KM, et al. Nanotechnology: pediatric applications[J]. Pediatric Research, 2010, 67(5): 500–504.
- [19] Chung KK, Schumacher JF, Sampson EM, et al. Impact of engineered surface microtopography on biofilm formation of *Staphylococcus aureus*[J]. Biointerphases, 2007, 2(2): 89–94.
- [20] Hochbaum AI, Aizenberg J. Bacteria pattern spontaneously on periodic nanostructure arrays[J]. Nano Letters, 2010, 10(9): 3717–3721.
- [21] Frølund B, Palmgren R, Keiding K, et al. Extraction of extracellular polymers from activated sludge using a cation exchange resin[J]. Water Research, 1996, 30(8): 1749–1758.
- [22] Wingender J, Strathmann M, Rode A, et al. Isolation and biochemical characterization of extracellular polymeric substances from *Pseudomonas aeruginosa*[J]. Methods in Enzymology, 2001, 336: 302–314.
- [23] Vaningelgem F, Zamfir M, Mozzi F, et al. Biodiversity of exopolysaccharides produced by *Streptococcus thermophilus* strains is reflected in their production and their molecular and functional characteristics[J]. Applied and Environmental Microbiology, 2004, 70(2): 900–912.
- [24] Byrd MS, Sadovskaya I, Vinogradov E, et al. Genetic and biochemical analyses of the *Pseudomonas aeruginosa* Psl exopolysaccharide reveal overlapping roles for polysaccharide synthesis enzymes in Psl and LPS production[J]. Molecular Microbiology, 2009, 73(4): 622–638.
- [25] Ma LM, Conover M, Lu H, et al. Assembly and development of the *Pseudomonas aeruginosa* biofilm matrix[J]. Plos Pathogens, 2009, 5(3): e1000354.
- [26] Watnick PI, Kolter R. Steps in the development of a *Vibrio cholerae* El Tor biofilm[J]. Molecular Microbiology, 1999, 34(3): 586–595.
- [27] Danese PN, Pratt LA, Kolter R, et al. Exopolysaccharide production is required for development of *Escherichia coli* K-12 biofilm architecture[J]. Journal of Bacteriology, 2000, 182(12): 3593–3596.
- [28] Conrad A, Kontro M, Keinänen MM, et al. Fatty acids of lipid fractions in extracellular polymeric substances of activated sludge flocs[J]. Lipids, 2003, 38(10): 1093–1105.
- [29] Singh P, Cameotra SS. Enhancement of metal bioremediation by use of microbial surfactants[J]. Biochemical and Biophysical Research Communications, 2004, 319(2): 291–297.
- [30] Abbasnezhad H, Gray M, Foght JM, et al. Influence of adhesion on aerobic biodegradation and bioremediation of liquid hydrocarbons[J]. Applied Microbiology and Biotechnology, 2011, 92(4): 653–675.
- [31] Zhu L, Lü ML, Dai X, et al. Role and significance of extracellular polymeric substances on the property of aerobic granule[J]. Bioresource Technology, 2012, 107: 46–54.
- [32] Kaplan JB, Velliyagounder K, Ragnath C, et al. Genes involved in the synthesis and degradation of matrix polysaccharide in *Actinobacillus actinomycescomitans* and *Actinobacillus pleuropneumoniae* biofilms[J]. Journal of Bacteriology, 2004, 186(24): 8213–8220.
- [33] Lynch DJ, Fountain TL, Mazurkiewicz JE, et al. Glucan-binding proteins are essential for shaping *Streptococcus mutans* biofilm architecture[J]. FEMS Microbiology Letters, 2007, 268(2): 291–297.

- 158–165.
- [34] Higgins MJ, Novak JT. Characterization of exocellular protein and its role in bioflocculation[J]. *Journal of Environmental Engineering-Asce*, 1997, 123(5): 479–485.
- [35] Mora P, Rosconi F, Franco Fraguas L, et al. *Azospirillum brasilense* Sp7 produces an outer-membrane lectin that specifically binds to surface-exposed extracellular polysaccharide produced by the bacterium[J]. *Archives of Microbiology*, 2008, 189(5): 519–524.
- [36] Tielker D, Hacker S, Loris R, et al. *Pseudomonas aeruginosa* lectin LecB is located in the outer membrane and is involved in biofilm formation[J]. *Microbiology*, 2005, 151(5): 1313–1323.
- [37] Diggle SP, Stacey RE, Dodd C, et al. The galactophilic lectin, LecA, contributes to biofilm development in *Pseudomonas aeruginosa*[J]. *Environmental Microbiology*, 2006, 8(6): 1095–1104.
- [38] Johansson EMV, Crusz SA, Kolomiets E, et al. Inhibition and dispersion of *Pseudomonas aeruginosa* biofilms by glycopeptide dendrimers targeting the fucose-specific lectin lecB[J]. *Chemistry and Biology*, 2008, 15(12): 1249–1257.
- [39] Branda SS, Chu F, Kearns DB, et al. A major protein component of the *Bacillus subtilis* biofilm matrix[J]. *Molecular Microbiology*, 2006, 59(4): 1229–1238.
- [40] Lasa I, Penadés JR. Bap: a family of surface proteins involved in biofilm formation[J]. *Research in Microbiology*, 2006, 157(2): 99–107.
- [41] Goodman SD, Oberfell KP, Jurcisek JA, et al. Biofilms can be dispersed by focusing the immune system on a common family of bacterial nucleoid-associated proteins[J]. *Mucosal Immunology*, 2011, 4(6): 625–637.
- [42] Stinson MW, Bergey EJ. Isolation of a heart- and kidney-protein from group A streptococci[J]. *Infection and Immunity*, 1982, 35(1): 335–342.
- [43] Rice KC, Bayles KW. Molecular control of bacterial death and lysis[J]. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 2008, 72(1): 85–109.
- [44] Vilain S, Pretorius JM, Theron J, et al. DNA as an adhesin: *Bacillus cereus* requires extracellular DNA To form biofilms[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2009, 75(9): 2861–2868.
- [45] Wu JF, Xi CW. Evaluation of different methods for extracting extracellular DNA from the biofilm matrix[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2009, 75(16): 5390–5395.
- [46] Watanabe M, Sasaki K, Nakashimada Y, et al. Growth and flocculation of a marine photosynthetic bacterium *Rhodovulum* sp.[J]. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 1998, 50(6): 682–691.
- [47] Azeredo J, Oliveira R. The role of exopolymers produced by *Sphingomonas paucimobilis* in biofilm formation and composition[J]. *Biofouling*, 2000, 16(1): 17–27.
- [48] Qin ZQ, Qu YZ, Zhu Y, et al. Role of autolysin-mediated DNA release in biofilm formation of *Staphylococcus epidermidis*[J]. *Microbiology*, 2007, 153(7): 2083–2092.
- [49] Thomas VC, Thurlow LR, Boyle D, et al. Regulation of autolysis-dependent extracellular DNA release by *Enterococcus faecalis* extracellular proteases influences biofilm development[J]. *Journal of Bacteriology*, 2008, 190(16): 5690–5698.
- [50] Petersen FC, Tao L, Scheie AA, et al. DNA binding-uptake system: a link between cell-to-cell communication and biofilm formation[J]. *Journal of Bacteriology*, 2005, 187(13): 4392–4400.
- [51] Berne C, Kysela DT, Brun YV, et al. A bacterial extracellular DNA inhibits settling of motile progeny cells within a biofilm[J]. *Molecular Microbiology*, 2010, 77(4): 815–829.
- [52] Jermy A. Biofilms eDNA limits biofilm attachment[J]. *Nature Reviews Microbiology*, 2010, 8(9): 612–612.
- [53] Burton EA, Sirnon KA, Hou SY, et al. Molecular gradients of bioinertness reveal a mechanistic difference between mammalian cell adhesion and bacterial biofilm formation[J]. *Langmuir*, 2009, 25(3): 1547–1553.
- [54] Hou SY, Burton EA, Wu RL, et al. Prolonged control of patterned biofilm formation by bio-inert surface chemistry[J]. *Chemical Communications*,

- 2009(10): 1207–1209.
- [55] Ista LK, Mendez S, Lopez GP, et al. Attachment and detachment of bacteria on surfaces with tunable and switchable wettability[J]. *Biofouling*, 2010, 26(1): 111–118.
- [56] Wong SY, Li Q, Veselinovic J, et al. Bactericidal and virucidal ultrathin films assembled layer by layer from polycationic N-alkylated polyethylenimines and polyanions[J]. *Biomaterials*, 2010, 31(14): 4079–4087.
- [57] van Schaik EJ, Giltner CL, Audette GF, et al. DNA binding: a novel function of *Pseudomonas aeruginosa* type IV pili[J]. *Journal of Bacteriology*, 2005, 187(4): 1455–1464.
- [58] Yonezawa H, Osaki T, Kurata S, et al. Outer membrane vesicles of *Helicobacter pylori* TK1402 are involved in biofilm formation[J]. *BMC Microbiology*, 2009, 9: 1455–1464.
- [59] Wilksch JJ, Yang J, Clements A, et al. MrkH, a novel c-di-GMP-dependent transcriptional activator, controls *Klebsiella pneumoniae* biofilm formation by regulating type 3 fimbriae expression[J]. *Plos Pathogens*, 2011, 7(8): e1002204.
- [60] Bryers JD. Medical biofilms[J]. *Biotechnology and Bioengineering*, 2008, 100(1): 1–18.
- [61] Wong GCL, O'Toole GA. All together now: integrating biofilm research across disciplines[J]. *MRS Bulletin*, 2011, 36(5): 339–345.

稿件书写规范

高校教改纵横栏目简介及撰稿要求

“高校教改纵横”栏目,是中国微生物学会主办的科技期刊中唯一的教学类栏目,也是中国自然科学核心期刊中为数不多的教学栏目。该栏目专为微生物学及其相关学科领域高校教师开辟,一方面为高校微生物学学科的教师提供一个发表论文的平台,同时微生物关联学科的一部分确实优秀的论文也可以在此发表,是微生物学及相关领域教学研究、交流、提高的园地。

本栏目的文章有别于其他实验类研究报告,特色非常鲜明。要求作者来自教学第一线,撰写的稿件内容必须要有新意、要实用,不是泛泛地叙述教学设计与过程,而是确实有感而发,是教学工作中的创新体会,或者在教学中碰到的值得商榷的、可以与同行讨论的有价值的论题。在内容选材上应该有鲜明的特点和针对性,做到主题明确、重点突出、层次分明、语言流畅。教师的教学思路应与时俱进,注意将国内外新的科技成果和教学理念贯穿到教学之中,只有这样才能真正起到教与学的互动,促进高校生物学教学的发展,更多更好地培养出国家需要的高科技创新人才。这也是本栏目的目的所在。

同时,为了给全国生物学领域的教学工作者提供一个更广阔更高层次的交流平台,本栏目还开辟了“名课讲堂”版块,邀约相关生命科学领域,如微生物学、分子生物学、生物医学、传染病学、环境科学等的教学名师、知名科学家就教学和学生培养发表观点,推荐在教学改革、教学研究、引进先进教学手段或模式以及学生能力培养等方面有突出成绩的优秀论文,为高校教师以及硕士、博士研究生导师提供一个可资交流和学习的平台,促进高校教学和人才培养水平的提高。

欢迎投稿! 欢迎对本栏目多提宝贵意见!