

海洋趋磁细菌研究进展*

THE PROGRESS OF MARINE MAGNETOTACTIC BACTERIUM

高峻^{1,2} 孙松¹ 肖天¹⁽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 青岛 266071⁽²⁾中国科学院研究生院 北京 100864

中图分类号 Q939.96 文献标识码 A 文章编号 1000-3096(2003)06-0021-04

海洋趋磁细菌是近年来研究的热点之一,趋磁细菌和磁小体的研究具有重要的理论意义和应用价值。本文对海洋趋磁细菌的研究进行了回顾和展望。

1 简介

趋磁细菌(Magnetotactic bacterium)是一类能够沿着磁力线运动的特殊细菌。趋磁细菌最早是1975年美国生物学家Blakemore^[1]在研究海泥中的螺旋体时发现的,此后一些学者不断从各地的淡水、池塘、河流、海洋沉积物表层中分离到各种形态的趋磁细菌(球形、杆状、弧形)^[2]。

趋磁细菌革兰氏染色阴性(G⁻),生有端生或从生鞭毛^[3]。目前《伯杰氏细菌分类手册》将其分为两属:一是以趋磁水螺菌为代表的**水螺菌属**(*Aquaspirillum*);另一属暂归为**双丛球菌属**(*Bilophococcus*)^[4]。在北半球分离到的趋磁细菌会沿磁力线向地理北极(即地磁南极S)游动;在南半球趋磁性细菌则趋向地理南极(即地磁北极N);在赤道附近则既有趋向S极,也有趋向N极的^[5]。这样的趋性活动可帮助它们逃避有害的氧环境,向下泳动并停留在其生长的**最适环境——有氧/无氧过渡区(OATZ)**^[6,7]。这是因为地磁场并不位于一个简单的南北平面,在北半球,当磁力线穿过地球表面时,磁力线向下偏北倾斜,因此,在北半球趋磁细菌向北移动的同时也向下泳动,下行朝北将其带到更适合其生长的OATZ区。

趋磁细菌对磁场反应敏感,是由于它体内含有数目不等的**磁小体(magnetosome)**,多数趋磁细菌中的磁小体呈**链状(单链或多链)沿细胞长轴排列**,形成一个“生物磁铁”,以感应磁场^[8]。这些磁小体**大小均匀一致**,线度在25~120 nm之间,正好处在稳定的单畴磁

晶体范围内^[9],**外有脂质膜**,呈现平行六面体^[10]、平截八面体^[11]、子弹状或泪滴状^[12]、薄片状^[13]。单个磁小体的形态、大小依细菌种类的不同而不同,**同种细菌合成的磁小体其晶型具有严格的特异性**^[14]。磁小体的合成是在基因水平上指导和控制的调节过程^[15]。**磁小体主要由Fe₃O₄组成**,在含硫丰富的环境中分离出的趋磁细菌,其磁小体内还包含有**硫化铁**的成分,如FeS₂、Fe₃S₄、FeS等^[16]。磁小体外包裹着一层膜,使其能以**单颗粒形式存在**,很少聚合在一起^[17]。磁小体对细胞的生长和存活不是必需的,但它的存在使趋磁细菌能够沿着地磁定位无氧环境和微好氧环境,以利于细菌更好的生长。

铁是细菌中的痕量元素,一般不超过0.025%,而**趋磁性细菌中铁的含量达到3.8%**。因此,在原核生物中趋磁细菌可能具有独特的在体内积累铁的能力^[18]。有研究表明,趋磁细菌中的**铁还原酶**较非趋磁细菌中出现得更为频繁,该酶松散地结合在细胞膜的内表面上,分子量为36 000 u,需要NADH和FMN作为光电受体和辅基,酶活受Zn²⁺的强烈抑制,当培养基中的ZnSO₄浓度增加时,趋磁细菌中磁小体的数目和铁还原酶的活力同时下降,表明铁还原酶与磁小体的合成有关^[19]。

* 中国科学院海洋研究所知识创新工程领域前沿项目资助;青岛市科技计划项目资助。

第一作者:高峻,出生于1976年,博士生。通讯地址:山东省青岛市南海路7号,中国科学院海洋研究所海洋生态与环境科学重点实验室,266071。E-mail:gaojun@ms.qdio.ac.cn

收稿日期:2003-01-10;修回日期:2003-03-20

趋磁细菌的发现扩大了生物磁学研究的内容,以趋磁细菌为模式生物研究磁场对生物的影响,有助于阐明磁场对生物作用的机理和生物磁导向的本质,促进生物磁学这门新型交叉学科的发展^[20]。由于趋磁细菌体内的磁小体细小均匀、晶型规则独特、单畴性等特性,趋磁细菌的发现引起各国科学家包括微生物学家、物理学家、化学家等的注目,美国、日本等国的学者竞相展开研究,并已取得很大进展,目前磁小体已在信息储存、医疗卫生、传感器等领域得到应用^[5]。趋磁细菌和磁小体的研究已经涉及到生物学、物理学、材料学、医学、地球化学和地球物理学等多学科领域,在一定程度上促进了生物学与其他学科的相互渗透。1991年,日本学者 Matsunaga^[15]预计趋磁细菌的磁小体在未来的10年中将是高新技术应用中的一种新的生物资源,10多年过去了,磁小体已经应用于生物活性物质的分离、检测、固定(例如,将用于检测目的菌株的种特异性寡核苷酸探针固定在磁小体上,以达到对蓝细菌DNA鉴定的目的,同样,磁小体还被用于太平洋和大西洋金枪鱼亚种的辨别等)^[21~23],药物的磁导向^[24],细胞与分子的磁标记、磁分离^[25]和放射性核素的回收^[26]等方面。

海洋被认为是人类资源最大的储藏地,也是趋磁细菌巨大的温床,趋磁细菌最早就是在海洋中发现的。海洋中具有产生和孕育趋磁细菌的环境和条件,数千米深的海底和丰富的铁锰结核都是趋磁细菌的滋生地,因此我们有必要进行海洋趋磁细菌的研究,从海洋中分离应用价值较好的趋磁细菌为海洋生物的应用开发开辟新的途径。

2 海洋趋磁细菌研究进展

1975年美国生物学家 Blakemore 在研究海泥中的螺旋体时,看到显微镜视野中有一种微生物总是向北移动,原以为是趋光性所致,但在黑暗中观察仍然如此。把磁铁置于附近,则微生物全向着S极移动,遂把这种微生物称之为“向磁微生物”。最早发现的这种微生物是名为 *Aquaspirillum gnatitaticum* 的单细胞细菌,是 Blakemore 从美国马萨诸塞州的海泥中看到的一种直径约 $1\ \mu\text{m}$ 的球状细菌,该菌有2组鞭毛,每组由7根组成。细胞内又存在2条由5~10个粒子组成的链。粒子由里外3层包埋着的小胞组成。小胞内的晶体成分主要是 $\text{Fe}(\text{Fe}_3\text{O}_4)$ ^[11]。

1984年, Kirschvink^[27]在研究深海沉积物稳定剩磁形成机理的时候,发现深海沉积物中存在单畴生物成因磁铁矿晶体,在TEM下观测这些100 nm以内的磁铁矿晶体形态与趋磁细菌胞内的磁小体非常相

似(六方柱形、泪滴形等),并由此推测趋磁细菌生成的磁铁矿可能是深海沉积物稳定剩磁的重要载体。后来的研究进一步证实了磁小体对现代和古代沉积物稳定剩磁的贡献。趋磁细菌死后,磁小体链保存在沉积物中,可记录当时的古地磁方向。

Vali 等人^[28]在研究沉积物中的磁小体时发现,相对稳定的海洋环境中磁小体总是以某一种形态为主。如太平洋和南大西洋沉积物中磁小体主要为八面体形,而南极沉积物中的磁小体则以棱柱为主。淡水环境中的趋磁细菌的磁小体形态有较大变化。

趋磁细菌极难分离和培养。直到发现趋磁细菌的13年后,1988年 Bazylnski 等才从马萨诸塞州海底含硫丰富的沉积物中分离纯化出一种近似螺旋状的趋磁弧菌,简称 MV-1,这是首次得到海洋趋磁性细菌的纯培养。MV-1 在微好氧及严格厌氧条件下都能合成磁小体^[5]。

利用高分辨率透射电镜、电子衍射和⁵⁷Fe 穆斯堡尔谱分析对海洋趋磁性弧菌 MV-1 合成的胞内晶体和无趋磁性铁还原细菌 GS-15 产生的胞外晶体进行了研究,发现 MV-1 菌体中包含由10个不等轴的磁小体形成的单链,沿长轴排列,磁小体为纯化学磁性物质,沿晶体长轴观察发现其具有六角形的截面,而侧面呈截短的矩形。磁小体长度为21~74 nm,宽度为12~54 nm,平均大小为53 nm×35 nm。电子衍射和晶格像研究显示 MV-1 的磁小体是特定结构的单晶体。而与之相比,无趋磁性铁还原细菌 GS-15 产生的晶体则形状不规则,同时较小(14 nm),可形成单晶体但不够完美。这些研究结果更加证明了胞内控制对细菌磁性物质结晶化学特异性的影响。对磁小体的鉴定有助于古化石磁性中生物磁性的鉴定和沉积物的磁化研究^[29]。

1993年, Stolz 根据海洋趋磁细菌对氧的需求和磁小体成分的不同将它们分成3种生理类型:第一种类型海洋趋磁性细菌专性微好氧,产 Fe_3O_4 , 海洋球菌 MC-1 属于此类;第二种类型包括海洋弧菌 MV-1、MV-2 和 MV-4,兼性微好氧,在微好氧及厌氧条件下都能产生 Fe_3O_4 ;第三种海洋趋磁细菌严格厌氧,磁小体内包含有硫化铁的成分,如 FeS_2 、 Fe_3S_4 、 FeS 等,目前此类趋磁细菌尚未得到纯培养^[7]。

1999年,印度科学家 Kannapiran 等人^[30]对 Mannar 海湾中的河口、红树林和珊瑚礁环境中趋磁细菌的生态分布进行了研究,发现其中从珊瑚礁中分离到的趋磁细菌更多,其次是红树林和河口,同时他们还对这些菌株进行了生长、最适盐度、趋磁性和存活能力的研究,发现接种7~14 d之间培养基上形成环状,培

培养基顶端表面到环的距离在 0.5~4.6 cm 之间,环在盐度 20 时最为显著。从珊瑚礁中分离到的趋磁细菌存活时间最长,可达 5~6 个月,其次是从红树林中分离到的,存活时间为 4 个月,而从河口中分离到的趋磁细菌仅能存活 2 个月。

Dean^[31]等人对 3 株海洋趋磁细菌 MV-1、MV-2 和 MC-1 的基因组 DNA 进行了脉冲场凝胶电泳 (PFGE) 分析,在任何一株菌中都没有证据表明有质粒和线性染色体的存在,发现 MV-1 和 MV-2 含有一个单环状染色体, MV-1、MV-2 和 MC-1 基因组大小分别在 3.6~3.9 Mb、3.3~3.7 Mb 和 4.3~4.7 Mb 之间,另外, MV-1 和 MV-2 的限制性内切酶切图谱十分相似,说明它们具有相关性。该研究首次描述了趋磁细菌的基因组,也是构建趋磁性细菌基因组物理图谱的第一步。趋磁细菌为专性微需氧菌、专性厌氧菌和兼性厌氧微需氧菌,难以培养,由于它们的难培养性,大多数的趋磁细菌还未建立起有效的遗传体系,对于机体是如何在分子水平上合成磁小体的了解尚少。

最近,科学家对海洋趋磁细菌 MC-1 和淡水趋磁细菌 MS-1 的基因组全序列进行了测定,这使得在基因水平上去研究磁小体合成的机理成为可能。目前发现不同趋磁细菌菌株的基因组序列间具有令人惊奇的保守性^[32]。目前已经鉴定的 *mam* 基因成簇并分布在至少两个不同的基因组区域。例如,趋磁弧菌的两个主要基因簇 *mamA* 和 *mamB* 大于 16 kb 并包含至少 16 个基因,这些基因呈直线排列。而在 MC-1 菌株相对应的区域发现了与其类似的很象启动子的结构。由于在细菌中功能相关基因往往相邻排列,因此可以推断这些相近的基因可能与磁小体的合成有关。

3 亟待解决的问题

尽管趋磁细菌的研究已经取得了一定的进展,但趋磁细菌一些基础和应用开发研究问题仍然存在,如分离趋磁细菌有一定的困难,目前仅有少数几株趋磁性细菌能在实验室条件下生长,其中包括几株 *Magnetospirillum*^[33-35],两株海洋趋磁弧菌^[3,36],一株趋磁球菌^[37]和一株专性厌氧的硫还原趋磁细菌^[38],而其中的海洋趋磁细菌更少;大多数的研究是针对淡水或土壤趋磁细菌的,有关海洋趋磁细菌的研究很少;目前人工从趋磁细菌中提取磁小体的工序复杂,产量过低等。

亟待解决的问题有:磁小体高产海洋趋磁细菌菌株的分离与筛选;海洋趋磁细菌培养条件的优化;如何在人工培养条件下提高趋磁细菌产生磁小体的效率;用基因工程方法实现影响磁小体产生功能基因的

高效表达;磁小体分离提取技术等。

4 展望

趋磁细菌研究至今已有近 30 年的历史,然而直到今天仍未得到大规模的应用,这一方面是由于趋磁细菌具有难培养的特性,另一方面是因为对趋磁细菌磁小体生物合成的生化和遗传机制了解的不够,例如细胞基质是如何控制磁小体的成核和增长的,磁小体膜的结构和蛋白组成等,仍需要在这方面做进一步的研究。今后,更多的研究重点将集中在对磁小体形成的遗传和分子机制的生物学分析上,基因工程技术的应用将使磁小体的大规模生产成为可能。一旦控制磁小体合成途径的基因被发现,就有可能将该基因在可稳定培养的宿主中表达,从而克服趋磁细菌难培养的困难。*Magnetospirillum* 单基因已成功地在大肠杆菌中得到功能性表达,但是控制磁小体合成的基因的异源表达由于缺少胞内受体而尚未成功^[39,40]。另外,趋磁细菌在自然界具有惊人的多样性,同时,磁小体的形态也多种多样,因此,有必要去分离具有独特磁小体合成能力的新型趋磁细菌。总的来说,海洋趋磁性细菌的研究是一个新方向,需要做的工作还有很多,需要进一步去研究。

参考文献

- 1 Blakemore R P. Magnetotactic bacteria. *Science*, 1975, 190: 377-379
- 2 Bazylinski D A, Garratt-Reed A, Frankel R B. Electron-microscopic studies of magnetosomes in magnetotactic bacteria. *Microscopy Research Technology*, 1994, 27: 389-401
- 3 Bazylinski D A, Frankel R B. Anaerobic magnetite production by a marine, magnetotactic bacterium. *Nature*, 1988, 334: 518-519
- 4 Bergey D H. *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*. Vol 3. [S1]: Williams & Wilkins Press, 1989. 1 882-1 889
- 5 Matsunaga T. Application of bacterial magnets. *Tibtech-March*, 1991, 9: 91-95
- 6 Bazylinski D A. Structure and function of the bacterial magnetosome. *ASM News*, 1995, 61: 337-343
- 7 Stolz J F. Magnetosomes. *Journal of General Microbiology*, 1993, 139: 1 663-1 670
- 8 Balkwill D L, Maratea D, Blakemore R P. Ultrastructure of a magnetotactic spirillum. *Journal of Bacteriology*, 1980, 141: 1 399-1 408
- 9 Moskowitz B M. Biomineralization of magnetic minerals. *Reviews of Geophysics*, 1995, 33: 123-128
- 10 Matsuda T, Endo J. Morphology and structure of biogenic magnetite particles. *Nature*, 1983, 302: 411-412
- 11 Mann S, Sparks N H C, et al. Biomineralization of ferro-

- magnetic greigite(Fe_3S_4) and iron pyrite(FeS_2) in a magnetotactic bacterium. *Nature*, 1990, 343: 258-261
- 12 Blakemore R P, Frankel R B, Kalmun A J. Southseeking bacteria in the southern hemisphere. *Nature*, 1980, 286: 385-386
- 13 Bazylinski D A. Anaerobic production of singled-domain magnetite by the marine magnetotactic bacterium, strain MV-1. In: Frankel R B, Blakemore R P. *Iron Biominerals*. New York: Plenum Press, 1990. 69-77
- 14 Meldrum F C, Mann S, et al. Electron microscopy study of magnetosome in a cultured coccoid magnetotactic bacteria. *Proceedings of Royal Society Lond (Bio)*, 1993, 251: 231-236
- 15 Bazylinski D A, Frankel R B, et al. Controlled biomineralization of magnetite(Fe_3O_4) and greigite(Fe_3S_4) in a magnetotactic bacterium. *Applied and Environmental Microbiology*, 1995, 61: 3 232-3 239
- 16 Farina M, Eesquvel D M S. Magnetic iron-sulphur crystals from a magnetotactic microorganism. *Nature*, 1990, 343: 256-258
- 17 Gorby Y A, Beveridge T J, Blakemore R P. Characterization of the bacterial magnetosome membrane. *Journal of Bacteriology*, 1988, 170: 834-841
- 18 Monech T T, Koneczka W A. A novel method for the isolation and study of a magnetotactic bacterium. *Archives of Microbiology*, 1978, 203-212
- 19 Yasushi N, Taketomo F, et al. Iron reductase for magnetite synthesis in the magnetotactic bacterium *Magnetospirillum magnetotacticum*. *Journal of Bacteriology*, 1999, 181: 2 142-2 147
- 20 卫扬保, 张红霞, 姜伟, 等. 武昌东湖水体中趋磁细菌 WT-1 的分离. *武汉大学学报 (自然科学版)*, 1994, 6: 115-120
- 21 Matsunaga T, Nakayama H, et al. Fluorescent detection of cyanobacterial DNA using bacterial magnetic particles on a MAGnucroarray. *Biotechnol Bioeng*, 2001, 73: 400-405
- 22 Tanaka T, Matsunaga T. Fully automated chemiluminescence immunoassay of insulin using antibody-protein A-bacterial magnetic particle complexes. *Anal Chem*, 2000, 72: 3 518-3 522
- 23 Sato R, Takeyama H, et al. Development of a high performance and rapid immunoassay for food allergen using antibody conjugated bacterial magnetic particles and fully-automated system. *Appl Biochem Biotechnol*, 2001, 91-93: 109-116
- 24 Kuznetsov AA, Filippov VI, et al. Application of magnetic liposomes for magnetically guided transport of muscle relaxants and anti-cancer photodynamic drugs. *Journal of Magnetism and Magnetic Materials*, 2001, 225: 95-100
- 25 Safarik I, Safarikova M. Magnetic nanoparticles and biosciences. *Monats Chem*, 2002, 133: 737-759
- 26 Bahay AS, Croudace IW, James PAB, et al. Continuous radionuclide recovery from wastewater using magnetotactic bacteria. *J Magn Mag Mat*, 1998, 184: 241-244
- 27 Kirschvink J L, Chang S R. Ultrafine-grained magnetite in deep-sea sediments: Possible bacterial magnetofossils. *Geology*, 1984, 12: 559-562
- 28 Vali H, Forster O, et al. Magnetotactic bacteria and their magnetofossils in sediments. *Earth and Planetary Science Letters*, 1987, 86: 389-400
- 29 Sparks N H C, Mann S, et al. Structure and morphology of magnetite anaerobically produced by a marine magnetotactic bacterium and a dissimilatory iron-reducing bacterium. *Earth and Planetary Science Letters*, 1990, 98: 14-22
- 30 Kannapiran E, Purushothaman A, Kannan L, et al. Magnetotactic bacteria from estuarine, mangrove and coral reef environs in Gulf of Mannar. *Indian Journal of Marine Sciences*, 1999, 28, 332-334
- 31 Dean A J, Bazylinski D A. Genome analysis of several marine magnetotactic bacterial strains by Pulsed-field of gel electrophoresis. *Current Microbiology*, 1999, 39: 219-225
- 32 Grunberg K, Wawer C, et al. Large gene cluster encoding several magnetosome proteins is conserved in different species of magnetotactic bacteria. *Applied and Environmental Microbiology*, 2001, 67: 4 573-4 582
- 33 Blakemore R P, Maratea D, Wolfe R S. Isolation and pure culture of a freshwater magnetic spirillum in chemically defined medium. *Journal of Bacteriology*, 1979, 140: 720-729
- 34 Scheifer K H, Schuler D, Spring S, et al. The genus *Magnetospirillum* gen nov., description of *Magnetospirillum gryphiswaldense* nov. and transfer of *Aquaspirillum magnetotacticum* to *Magnetospirillum magnetotacticum* comb. nov. *Syst Appl Microbiol*, 1991, 14: 379-385
- 35 Schuler D, Kohler M. The isolation of a new magnetic spirillum. *Zentralbl Mikrobiol*, 1992, 147: 150-151
- 36 Meldrum F C, Mann S, et al. Electron microscopy study of magnetosome in two cultured vibrioid magnetotactic bacteria. *Proceedings of Royal Society Lond (Bio)*, 1993, 251: 237-242
- 37 Meldrum F C, Mann S, et al. Electron microscopy study of magnetosome in a cultured coccoid magnetotactic bacterium. *Proceedings of Royal Society Lond (Bio)*, 1993, 251: 231-236
- 38 Sakaguchi T, Burgess J G, Matsunaga T. Magnetite formation by a sulphate-reducing bacterium. *Nature*, 1993, 365: 47-49
- 39 Berson A E, Hudson D V, Waleh N S. Cloning and characterization of the *recA* gene of *Aquaspirillum magnetotacticum*. *Archives of Microbiology*, 1989, 152: 567-571
- 40 Berson D A, Hudson D V, Waleh N S. Cloning of a sequence of *Aquaspirillum magnetotacticum* that complements the *aroD* gene of *Escherichia coli*. *Molecular Microbiology*, 1991, 5: 2 262-2 264 (本文编辑:张培新)