

黄海冷水团附近沉积物中的趋磁细菌及磁小体的特性研究

高峻¹, 潘红苗^{1,2}, 吴龙飞³, 岳海东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, 山东 青岛 266071; 2. 中国科学院 研究生院, 北京 100864; 3. 法国科研中心马赛结构生物学-微生物学研究所 细菌化学实验室, 马赛)

摘要: 对黄海冷水团附近海域的沉积物进行了富集、荧光显微镜观察、电镜观察, 并对其大小均匀、形状规则的高密度颗粒进行了能谱分析。结果显示, 在黄海冷水团附近有趋磁细菌和磁小体的存在。

关键词: 趋磁细菌; 磁小体; 黄海冷水团

中图分类号: Q93 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-3096(2006)01-0011-06

趋磁细菌趋磁性(Magnetotaxis)^[1]的获得来源于它体内数目不等的磁小体(magnetosome), 由于磁小体特有的化学纯度高、细小均匀、形态独特、分散性好等特点^[2], 使得它在材料学、生物医学等领域具有巨大的应用潜力。趋磁细菌在自然界分布范围极其广泛。从南半球^[3]到北半球^[4]乃至赤道^[5]等不同地理位置的池塘^[6,7]、河流^[3]、湖泊^[8,9]、海洋^[10-12]、土壤^[13-15]中都有趋磁细菌的存在。但趋磁细菌对营养的苛刻要求及微好氧、厌氧等特性的存在, 导致分离纯化趋磁细菌十分困难, 特别是海洋趋磁细菌, 由于海洋环境的特殊性、复杂性, 造成海洋趋磁细菌的分离更加困难, 目前仅有包括 MV-1, MV-2 等少数几株海洋趋磁细菌得以分离和纯化^[16]。本研究以期通过对黄海冷水团附近海域的沉积物的富集、荧光显微镜观察、电镜观察和能谱分析, 研究黄海冷水团附近趋磁细菌和磁小体存在的生物学证据, 以进一步分离海洋趋磁细菌和更好地应用磁小体这一特殊的生物源磁性纳米材料。

1 材料与方法

1.1 样品来源

使用无菌界面取样器采取黄海冷水团附近海域的底泥, 采样站位见图 1 和表 1。

1.2 趋磁细菌的富集

分别取 1-1, 1-5 和 1-9 站位的泥样加入富

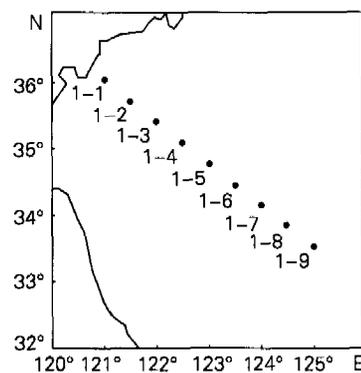


图 1 采样站位

Fig.1 Situations for sediments collection

集培养基^[17] (泥样与富集培养基体积比约为 1: 2), 装入 500 mL 玻璃瓶中, 塞紧橡皮塞, 置于 24℃ 恒温培养箱中, 避光富集。

收稿日期: 2004-11-12; 修回日期: 2005-09-20

基金项目: 中国科学院海外杰出学者基金项目(2003-1-5); 山东省科技发展计划项目(031070117); 青岛市科技发展计划项目(02-2-kj-hh-55)

作者简介: 高峻(1976-), 男, 山东济南人, 助理研究员, 博士, 主要从事海洋趋磁细菌研究, E-mail: gaojun@ms.qdio.ac.cn; 肖天, 通讯作者, E-mail: txiao@ms.qdio.ac.cn

研究报告 *REPORTS*

表1 采样站位具体经纬度、水深

Tab.1 Longitudes, latitudes and depths of situations for Sediments collection

站号	经度	纬度	水深(m)
1-1	121°00'	36°00'	32
1-5	123°00'	34°45'	73
1-9	125°00'	33°30'	78

1.3 趋磁细菌的收集与观察

在富集瓶顶部套一环形磁铁, S极朝下, 过夜收集, 用一次性无菌注射器抽取富集瓶顶部的富集液作为收集液。

取收集液 100 μL 通过 0.22 μm 的微孔滤膜抽滤, 吡啶橙染色, 荧光显微镜(OLYMPUS BH-2)下观察, 同时以未收集前的富集液作为对照。

取收集液, 适当稀释, 不固定, 不污染, 直接滴铜网, 透射电镜(HITACHI H8100, 中国海洋大学电镜室)观察。

1.4 能谱测定

选取收集液中大小均匀、形状规则的致密颗粒(见结果与讨论部分), 透射电镜下使用能谱仪(PHILIPS DX4, 中国地质大学(北京)矿物岩石材料开发应用国家实验室)分析颗粒的元素组成, 以铜网的空白区域作为对照。

2 结果与讨论

2.1 富集

富集 2 个月后, 在黄海冷水团附近编号为 1-5 的沉积物富集瓶中发现有黄色锈状物膜并有气泡产生, 气泡中有棕色颗粒状沉淀出现(图 2)。其他趋磁细菌研究^[26]富集过程中也有类似现象报道。而在编号为 1-1 和 1-9 的沉积物富集瓶中未发现此现象。

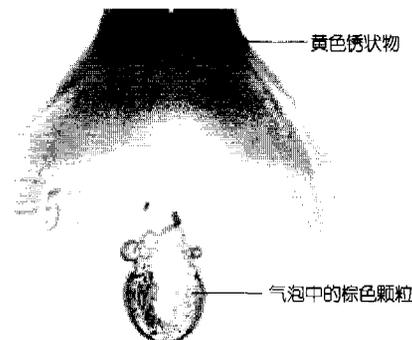


图2 趋磁细菌的富集

Fig.2 Rust-like particles in magnetotactic bacteria enrichment bottles

2.2 荧光显微镜观察

取编号为 1-5 的沉积物富集瓶未放磁铁收集前的富集液和收集后的收集液各 100 μL , 通过 0.22 μm 的微孔滤膜抽滤, 吡啶橙染色, 荧光显微镜观察, 结果如图 3 所示。

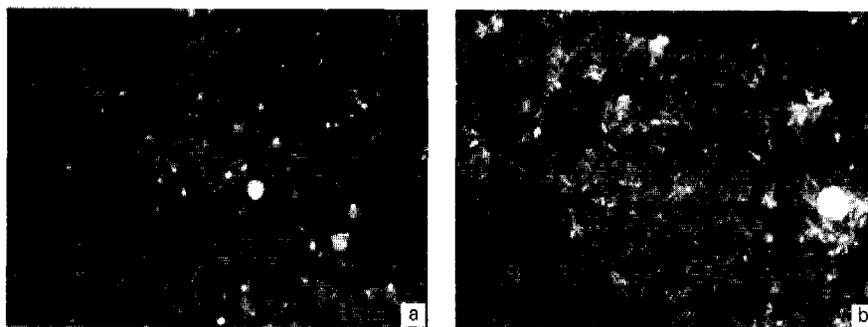


图3 富集液荧光显微镜观察

Fig.3 Fluorescence micrographs of bacteria in magnetotactic bacterium enrichment bottles

a. 未放磁铁收集前; b. 收集后; 放大倍数 1000 \times a. before magnetic collection; b. after magnetic collection; zoom is 1000 \times

从图 3a 和图 3b 可以看出, 磁铁收集后富集液上层中的细菌数量大量增加, 主要是杆菌和螺菌。推测

研究报告 REPORTS

这些在外加磁铁的作用下大量增加的细菌其中有趋磁细菌的存在。

2.3 电镜观察

取编号为 1-5 的沉积物富集瓶收集液, 制铜网, 透射电镜观察, 发现螺菌、短杆菌等多种形态的细

菌, 胞内大多都含一至多颗电子致密颗粒 (图 4 a-d), 其中一些颗粒密度不均匀 (图 4c), 在某些菌中还有囊泡出现 (图 4d), 这在以前趋磁细菌的研究中也有报道^[18]。由此, 我们认为, 富集液中的这些细菌中的部分菌株有可能是趋磁细菌。

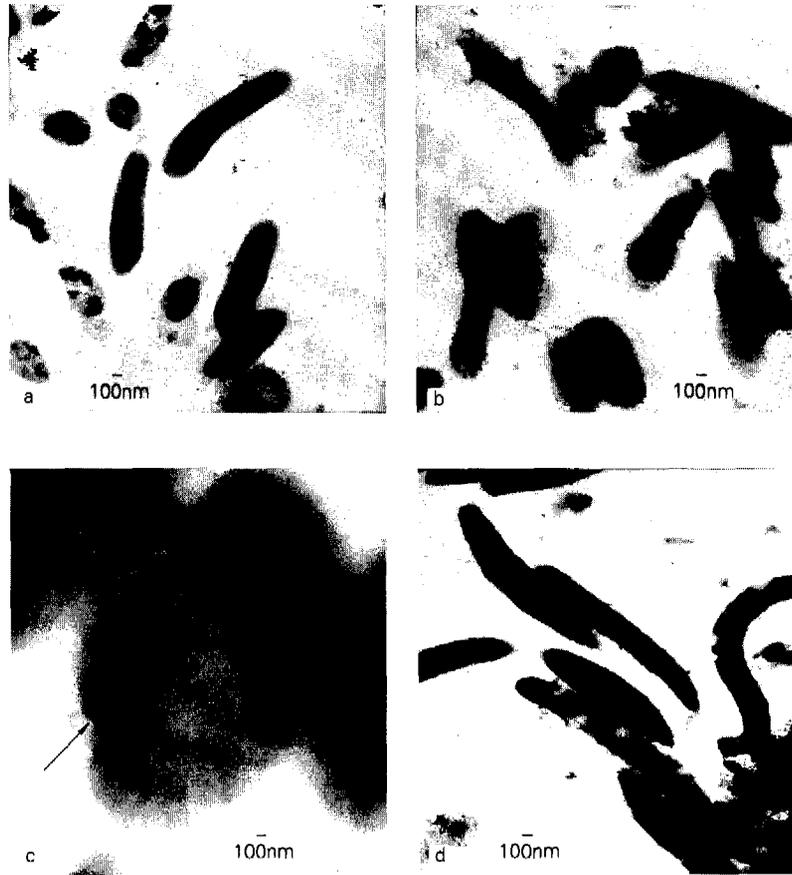


图 4 富集液中细菌的电镜观察

Fig.4 Transmission electron micrographs of bacteria in magnetotactic bacteria enrichment bottles

c 中箭头所指为颗粒

arrowhead at c is particles

同时, 在 1-5 的富集液电镜观察时看到很多大小均匀、形状规则的高密度颗粒 (图 5 a-f), 大小从 25 nm (图 5 a) 到 200 nm (图 5 f), 以 100 nm (图 5 c-e) 左右大小的为主; 形状有矩形 (图 5 a) 和圆形 (图 5

b-f), 以圆形为主。

选取 1-5 收集液中的致密颗粒 (图 5d 颗粒), 能谱分析颗粒成分, 结果如图 6 a 所示, 铜网的空白区域 (对照) 见图 6 b。

研究报告 *REPORTS*

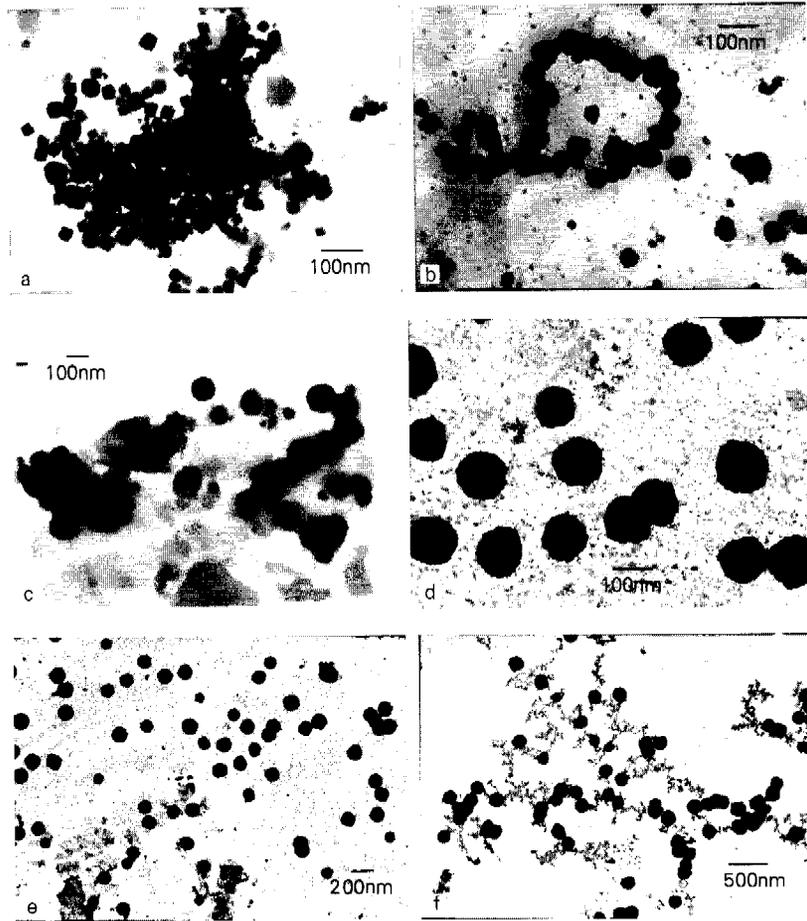


图5 富集液中高密度颗粒的电镜观察

Fig.5 Transmission electron micrographs of high-density particles in magnetotactic bacteria enrichment bottles

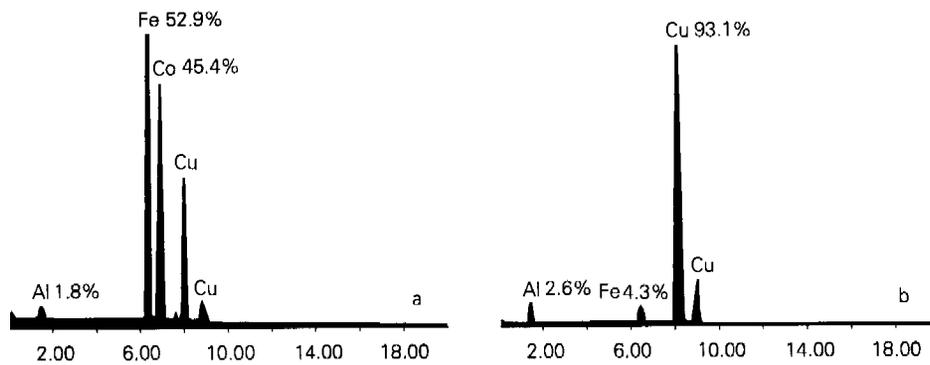


图6 富集液中致密颗粒的能谱分析

Fig.6 Energy analysis of high-dense particle in magnetotactic bacterium enrichment bottles

a. 致密颗粒的分析; b. 空白区域的分析

a. Energy dispersive X-ray spectrum of magnetosome; b. Energy dispersive X-ray spectrum of magnetosome-free region

研究报告 **REPORTS**

能谱分析显示该致密颗粒的元素组成为 Fe 和 Co (图 6a), Fe 和 Co 都是构成磁性材料的重要组成部分, 其中 Fe 占 52.9%, Co 占 45.4%, 这与国内外的磁小体成分的研究结果^[19, 20]完全相符。在空白区域, 能谱结果显示的 Fe 只有 4.3% (图 6b)。由此, 我们认为这些颗粒是磁小体, 很有可能是富集液中的趋磁细菌菌体溶解后释放出来的。

3 结论

通过对黄海冷水团附近海域的底泥的富集, 在编号为 1-5 的黄海冷水团附近沉积物的富集瓶中发现有黄色锈状色膜并有气泡产生, 气泡中有棕色颗粒状沉淀出现, 这与文献报道的趋磁细菌已得到富集的现象一致。磁铁收集后富集液上层中的细菌数量大量增加, 推测这些在外加磁铁的作用下大量增加的细菌其中有趋磁细菌的存在。同时, 对富集液的电镜观察发现螺菌、短杆菌等多种形态的细菌, 胞内大多都含一至多颗电子致密颗粒, 其中一些颗粒密度不均匀, 在某些菌中还有囊泡出现, 我们认为, 富集液中的这些细菌中的部分菌株有可能是趋磁细菌。在富集液电镜观察时还看到很多大小均匀、形状规则的高密度颗粒, 大小从 25 nm 到 200 nm, 以 100 nm 左右大小的为主; 形状有矩形和圆形, 以圆形为主。选取收集液中的 100 nm 圆形致密颗粒, 能谱分析显示, 该颗粒的元素组成为 Fe 和 Co, 其中 Fe 占 52.9%, Co 占 45.4%, 这与国内外的磁小体成分的研究结果完全相符。由此, 我们认为这些致密颗粒是磁小体, 很有可能是富集液中的趋磁细菌菌体溶解后释放出来的。因此, 通过这些生物学证据, 我们可以断定, 在黄海冷水团附近有趋磁细菌和磁小体的存在, 这对进一步分离海洋趋磁细菌和更好地应用磁小体这一特殊的生物源磁性纳米材料具有重要的指导意义。

参考文献:

- [1] Talor B L, Zhulin I B, Johnson M S. Aerotaxis and other energy-sensing behavior in bacteria[J]. **Annual Reviews of Microbiology**, 1999, 53: 103 - 128.
- [2] Bazylinski D A, Frankel R B. Magnetosome formation in prokaryotes[J]. **Nature Reviews Microbiology**, 2004, 2: 217 - 230.
- [3] Blakemore R P, Frankel R B, Kalmijn A J. South-seeking magnetotactic bacteria in the southern hemisphere[J]. **Nature**, 1980, 236: 384 - 385.
- [4] Bazylinski D A, Frankel R B. Anaerobic magnetite production by a marine, magnetotactic bacterium[J]. **Nature**, 1988, 334: 518 - 519.
- [5] Frankel R B, Blakemore R P, Torres F F de Araujo, et al. Magnetotactic bacteria at the geomagnetic equator[J]. **Science**, 1981, 212: 1269 - 1270.
- [6] Matsunaga T, Sakaguchi T, Tadokoro F. Magnetite formation by a magnetic bacterium capable of growing aerobically[J]. **Applied and Microbiology Biotechnology**, 1991, 35: 651 - 655.
- [7] Sparks N H C, Loyd T L, Board R G. Salt marsh ponds a preferred habitat for magnetotactic bacteria[J]. **Letter in Applied Microbiology**, 1989, 8: 109 - 111.
- [8] Sparks N H C, Courtaux L, Mann S, et al. Magnetotactic bacteria are widely distributed in sediments in the U.K.[J]. **FEMS Microbiology Letters**, 1986, 37: 305 - 308.
- [9] 吕扬保, 张洪霞, 姜伟, 等. 武昌东湖水体中趋磁细菌 WD-1 的分离[J]. **武汉大学学报 (自然科学版)**, 1994, 6: 115 - 120.
- [10] Kannapiran E, Purushothaman A, Kannan I, et al. Magneto bacteria from estuarine, mangrove and coral reef environs in Gulf of Mannar[J]. **Indian Journal of Marine Sciences**, 1999, 28: 332 - 334.
- [11] Petermann H, Bleil U. Detection of live magnetotactic bacteria in South Atlantic deep-sea sediments[J]. **Planetary Science Letters**, 1993, 117: 223 - 228.
- [12] Sparks N H C, Mann S. Structure and morphology of magnetite anaerobically produced by a marine magnetotactic bacterium and a dissimilatory iron-reducing bacterium[J]. **Earth and Planetary Science Letters**, 1990, 98: 14 - 22.
- [13] Farina M, Eesqutvel D M S. Magnetic iron-sulphur crystals from a magnetotactic microorganism[J]. **Nature**, 1990, 343: 256 - 258.
- [14] Fassbinder J W E, Stanjek H, Vali H. Occurrence of magnetic bacteria in soil[J]. **Nature**, 1990, 343: 161 - 163.
- [15] 彭先芝, 贾蓉芬. 黄上-古土壤序列中趋磁细菌分布和磁小体形成的古环境研究[J]. **科学通报**, 2000, 45: 2 710 - 2 715.
- [16] 高峻, 孙松, 肖天. 海洋趋磁细菌研究进展[J]. **海洋科学**, 2003, 27: 21 - 24.

研究报告 REPORTS

- [17] 卫扬保, 张洪波, 姜伟, 等. 武昌东湖水体中趋磁细菌 WD-1 的分离[J]. 武汉大学学报 (自然科学版), 1994, 6: 115-120.
- [18] Komeili A, Vali H, Beveridge T J. *et al.* Magnetosome vesicles are present before magnetite formation, and MamA is required for their activation[J]. *Proc Natl Acad Sci*, 2004, 101: 3 839-3 844
- [19] Balkwill D L, Maratca D, Blakemore R P. Ultrastructure of a magnetotactic spirillum[J]. *Journal of Bacteriology*, 1980, 141: 1 399-1 408
- [20] 范国昌, 钱凯先. 磁杆菌 HMB-1 的磁小体特性及其合成条件的研究[J]. 生物学杂志, 1998, 15: 11-14

Characterization of magnetotactic bacteria and magnetosomes in sediments from the Yellow Sea cold water mass

GAO Jun¹, PAN Hong-miao^{1, 2}, WU Long-fei³, YUE Hai-dong¹, XIAO Tian¹

(1. Key Laboratory of Marine Ecology & Environmental Sciences Institute of Oceanology, the Chinese Academy of Sciences, Qingdao 266071, China; 2. Graduate School of the Chinese Academy of Sciences, Beijing 100864, China; 3. Laboratoire de Chimie Bacterienne, Institut de la Biologie Structurale et Microbiologie, CNRS, Marseille, France)

Received: Nov., 12, 2004

Key words: magnetotactic bacteria; magnetosomes; cold water mass of the Yellow Sea

Abstract: Because of the unique characteristics of magnetotactic bacteria and bacterial magnetosomes, they have great application future in materials, biomedical and so on. Isolation and cultivation of these bacteria are very difficult due to their life styles such as microaerophilic or anaerobic. Studies on ecological distribution of magnetotactic bacteria are helpful for their isolations. In this research, sediment collected from site near cold water mass of the Yellow Sea was enriched, and rust-like particles were observed in the enrichmental solutions. Fluorescence microscopic examination and transmission electron microscopic observation on the enrichmental solutions were investigated. The energy dispersive X-ray spectra of the narrow-in-size and uniform-shaped high dense particles appeared in enrichmental solutions were also done. Results indicated that magnetotactic bacteria and magnetosomes existed in sediments from the Yellow Sea cold water mass.

(本文编辑: 刘珊珊)