

· 序 言 ·

钱韦 博士，中国科学院微生物研究所研究员。植物基因组学国家重点实验室副主任。从事病原细菌致病机理和感知寄主与环境信号的分子机制研究。作为主要完成人，完成国内首个植物病原细菌全基因组测序和功能基因组学分析；完成黄单胞菌双组分信号转导系统的遗传与功能研究；发现细菌识别金属离子、群体感应信号和植物激素等信号分子的生物化学机制。主要研究成果发表在 *PLoS Pathogens*、*Genome Research*、*Environmental Microbiology*、*Genetics*、*Molecular Plant-Microbe Interaction* 等期刊上。担任植物病理学会理事、植物生理与分子生物学会植物-微生物互作专业委员会副主任、《植物病理学报》编委和 *Frontiers in Plant-Microbe Interactions* 的 Review Editor 等学术职务。



## Biofilm 与 c-di-GMP 专刊序言——微生物的社会性、c-di-GMP 调控及研究新技术

钱韦<sup>1</sup>，马旅雁<sup>2</sup>，谷立川<sup>3</sup>，张炼辉<sup>4</sup>

1 中国科学院微生物研究所 植物基因组学国家重点实验室，北京 100101

2 中国科学院微生物研究所 微生物资源与前期开发国家重点实验室，北京 100101

3 山东大学 生命科学院 微生物技术国家重点实验室，山东 济南 250100

4 华南农业大学 群体微生物研究中心 亚热带农业生物资源保护与利用国家重点实验室，广东 广州 510642

钱韦，马旅雁，谷立川，等. Biofilm 与 c-di-GMP 专刊序言——微生物的社会性、c-di-GMP 调控及研究新技术. 生物工程学报, 2017, 33(9): 1351–1356.

Qian W, Ma LY, Gu LC, et al. Preface for special issue on biofilm and c-di-GMP——Microbial society, c-di-GMP regulation, and new research techniques. Chin J Biotech, 2017, 33(9): 1351–1356.

**摘 要：**生物被膜 (Biofilm) 是微生物生存的主要形式。它是一种或多种微生物通过胞外多糖、胞外 DNA、蛋白质等组成的基质聚集在一起形成的细胞多聚体。生物被膜中的微生物细胞之间存在密切的信号通讯，并且表现出与浮游生活时完全不同的生理代谢特征，其发育过程受到环二鸟苷单磷酸 (c-di-GMP) 等细胞第二信使的控制。由于生物被膜在基础生命科学和医疗、工业、农业、环境治理等应用科学中的重要性，相关研究是微生物学领域的前沿之一。本期专刊从生物工程、研究技术、感染与免疫、环境生物学和植物病理学等角度，较系统地对比生物被膜的形成机制、调控分子机理、理化特性和应用技术等进行了综述或研究，展示了我国在本领域的研究水平，同时也对本领域未来发展趋势进行了有益的讨论。

**关键词：**生物被膜，环二鸟苷单磷酸，调控机制，新技术

**Received:** September 8, 2017

**Corresponding author:** Wei Qian. Tel: +86-10-64806063; Fax: +86-10-64858245; E-mail: qianw@im.ac.cn

# Preface for special issue on biofilm and c-di-GMP—Microbial society, c-di-GMP regulation, and new research techniques

Wei Qian<sup>1</sup>, Luyan Ma<sup>2</sup>, Lichuan Gu<sup>3</sup>, and Lianhui Zhang<sup>4</sup>

*1 State Key Laboratory of Plant Genomics, Institute of Microbiology, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100101, China*

*2 State key Laboratory of Microbial Resources, Institute of Microbiology, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100101, China*

*3 State Key Laboratory of Microbial Technology, Shandong University, Jinan 250100, Shandong, China*

*4 State Key Laboratory of Conservation and Utilization of Subtropical Agro-Bioresources, Integrative Microbiology Research Centre, South China Agricultural University, Guangzhou 510642, Guangdong, China*

**Abstract:** Biofilm is prevalent in various ecological niches, in which microbial cells interconnect with each other through extracellular polymeric substances including polysaccharides, extracellular DNA, and proteins. When living in biofilms, the microbial cells employ small signalling chemicals as their “language” to communicate mutually, and exhibit remarkable differences in physiology compared to those living in planktonic state. It has been proven that the development of biofilm is subject to the regulation of c-di-GMP, an important second messenger found in prokaryotes. Given its important roles of biofilms in microbial infection, industry application, plant-microbe interactions and environmental pollution, biofilm is one of frontier research areas in microbiology. This special issue of “Biofilm and c-di-GMP” systematically reviews the current progresses in the multiple research frontiers, including biotechnology, infectious diseases, environmental microbiology and plant pathology, with special focus on the methods and techniques in biofilm research. We hope that the issue will boost the interest of students and young scientists in this exciting area of microbiology.

**Keywords:** biofilm, c-di-GMP, regulatory mechanism, new technology

囿于观察尺度的限制，人类特别不容易理解特别快（如光速）、特别慢（如生物进化）、特别宏大（如宇宙）或者是特别微小的客观存在。其中，包含细菌、真菌和病毒在内的微生物由于体形“特别小”，且多是单细胞甚至无细胞生命，细胞大小一般也仅能达到真核细胞的数十分之一。所以，不难理解为何在生命科学的研究历史中，直到 1674 年，荷兰人列文虎克 (Antony van Leeuwenhoek) 才靠自己发明的显微镜首次观察到微生物，时间远远晚于人类对动、植物的感知与认识。

正因如此，普通人对微生物的直观认识常常是：单细胞，“低等”生物，毫无群体性可言。

然而，诚如微生物学家已经发现了的，以及本专刊多篇论文即将要描述的：在大多数时间和环境中，微生物的生存方式绝非单细胞形式的单打独斗，它们一般以形成“生物被膜” (Biofilm) 的形式存在。一方面，生物被膜是“有组织的”：即一种或多种微生物细胞聚集在一起，通过各自分泌的胞外多糖、胞外 DNA、蛋白质及其他高分子化合物构建出具有特定形态的结构。另一方面，生物被膜也是“有纪律的”：与蜜蜂、蚂蚁和人类一样，生存于生物被膜中的微生物具有显著的社会性 (Society)。在微生物细胞-细胞之间进行着复杂的通讯 (Cell-cell communication)，产生了合作、欺骗、互惠等复

杂的社会关系。此外,生物被膜存在的形式还是“有意义的”:生存于生物被膜内的微生物在生活方式、生理代谢途径和细胞信号机制等方面与它们处于浮游生存状态 (Planktonic state) 时完全不同,从而使这些微生物具有更高的环境适应能力。生物被膜并不罕见:难以清除的牙菌斑、水族箱里的粘性物、使用一段时间后各种器具表面和管道内部摸上去有粘稠感的物质,都是生物被膜最直观的存在形式。

生物被膜之所以在过去 10 余年中成为微生物学研究的最前沿领域之一,起因于其在应用和基础研究两方面的重要性。从应用及生物工程的角度而言,生物被膜形成和发育在病原感染、耐药性、污水处理、环境修复等过程中具有重要的作用。以病原感染为例,80%以上的微生物感染与生物被膜有关。生存于生物被膜内的病原菌往往能够分泌更多的毒素及其他致病因子,破坏寄主组织或细胞。同时能够通过增加水解酶表达量、增加分子外排泵的工作效率、减少抗生素渗透等控制方式,大幅提高病原微生物的耐药性。正因如此,阻碍病原微生物形成生物被膜是发现新型抗病化合物的有效策略之一。而从基础研究的角度而言,微生物细胞之间利用小分子化合物进行信号通讯 (Cell-cell communication)、在物质表面及寄主体内生物被膜的发育过程、生物被膜中不同物种微生物在寄主感染过程中的合作与分工等,都是高度有趣、值得深入研究的重要科学问题。也就是在上述研究过程中,微生物学家发现了环二鸟苷单磷酸 (c-di-GMP) 以及其他类似的嘌呤衍生物 (统称 c-di-NMP, 包括 c-di-AMP, c-AMP-GMP 等)。c-di-NMP 是一类与真核细胞 cAMP 或 cGMP 不同的、重要的细胞第二信使。它们能够

结合蛋白质或核糖开关 (Riboswitch),对微生物生物被膜形成、群体感应、运动性等过程进行精细调控。对 c-di-NMP 调控机制的研究也是近年来原核生物信号转导领域研究的热点之一,其介导的信号通路是各类应用研究领域的理想分子靶点,在合成生物学、生物工程学等领域具有重要研究价值。

生物被膜这一术语是由 J. W. Costerton 于 1985 年定义的。而 c-di-GMP 虽然是于 1987 年在木醋杆菌 *Gluconacetobacter xylinus* 中被发现的,但其引起科学家的高度重视则是在 2000 年前后。因此,即使国内的相关研究起步略晚于国际同行,从科学发现的绝对时间上来讲并无多少年的差异。尤其是最近 10 余年以来,随着我国科技部、国家自然科学基金委员会和各高校、科研单位加大对该领域的投入;随着各类优秀人才引进和培育计划的推进,国内生物被膜领域的科学家队伍已经具有相当的规模,相关研究成果在 PubMed 上的检索数量已经从 1992 年的 1 篇增长到 2016 年的 585 篇,其中不乏具有重要突破性的成果,有高度的国际显示度。与此同时,虽然目前还没有成立相应的生物被膜或群体微生物学专业委员会,但在国内各大微生物学相关学会组织的学术会议上,有关生物被膜的精彩报告、展板数量已经非常可观。基于这一发展趋势,2016 年底由山东大学发起,中国科学院微生物研究所、中国医学科学院病原所、中国科学院南海海洋所、华中农业大学、华南农业大学、天津大学和南京农业大学的青年科学家自发汇集在一起,召开了国内第一届“生物被膜专题研讨会”。会议期间达成共识,拟邀请本领域内的科学家撰稿组织一期“生物被膜与 c-di-GMP”专刊,共同推动本领域

在国内的快速发展。这一出版计划后来获得了《生物工程学报》编辑部的鼎力支持，这就是本期专刊的由来和初衷。

本期专刊包含 21 篇综述和原始研究论文。在“生物技术与新方法”栏目，华中农业大学何进教授团队综述了 c-di-GMP 核糖开关的研究现状与发展趋势。众所周知，c-di-GMP 与蛋白质的相互作用研究得比较深入，但有关 c-di-GMP 核糖开关的研究由于调控方式复杂，研究难度较大。该文全面综述了两类核糖开关与 c-di-GMP 结合后调控下游基因表达的分子机制，强调了核糖开关在本领域的重要意义。四川大学华西口腔医院徐欣教授团队综述了另一种细胞第二信使，即 c-di-AMP 调控细菌生物被膜形成和毒力因子表达的研究进展。c-di-AMP 广泛存在于革兰氏阳性菌中，如李斯特氏菌 *Listeria monocytogenes*、金黄色葡萄球菌 *Staphylococcus aureus* 和枯草芽孢杆菌 *Bacillus subtilis*。它也通过结合蛋白质或核糖开关而在生物被膜的发育过程中发挥调控功能。对 c-di-AMP 的研究有助于我们理解 c-di-NMP 类第二信使在细菌细胞信号转导中调控功能分化与进化的分子过程。中国科学院微生物研究所的钱韦研究员团队则全面综述了筛选、鉴定和验证 c-di-GMP 结合蛋白的技术方法，包括各类遗传学、生物化学和生物物理学技术，如微量热泳动 (Microscale thermophoresis)、差异性配体毛细辐射实验 (Differential radial capillary action of ligand assay, DRaCALA)、生物膜干涉技术 (Biolayer interferometry) 等，对比了不同方法的优缺点，供研究者在设计技术路线时参考。

如前所述，微生物学研究是一门高度依赖新装备、新技术的科学领域。国内学者早有建

议设立“技术微生物学”学科的提法。国家自然科学基金委员会于 2017 年专门设立了“微生物学新技术和新方法交叉性研究 (申请代码 C0104)”，汇聚多领域学术研究，鼓励非生物教育背景学科的申请者 (本科或研究生阶段为数学、物理学、化学、电子等) 申请微生物学领域面上项目的资助。与此趋势相呼应，在本专刊的“新技术”栏目内，共有 5 篇论文集中讨论生物被膜研究中的新技术与新方法。其中，华南理工大学龚湘君副教授团队综述了生物被膜的物理特性及其表征的研究进展，强调在生物被膜形成过程中，细菌运动与物质表面张力之间的相互作用、生物被膜中多聚物的形态以及生物被膜机械性能对于结构、功能的重要性。同时，该综述也强调了原子力显微镜、超高分辨率激光共聚焦显微镜、可变压扫描电子显微镜、三维全息显微镜、磁镊等新技术在生物被膜研究中的重要意义。华中农业大学蔡鹏教授团队则集中阐述了原子力显微镜在生物被膜研究中的应用。作为一种超高分辨率的表面可视化技术，原子力显微镜能够对生物被膜的超微形态、机械特性、多聚物之间的相互作用力进行观察，具有强大的表征能力。天津大学的赵坤教授团队在国际上率先利用显微追踪技术，从单细胞水平研究细菌在生物被膜中的运动并进行数学建模。他们的论文从显微追踪技术装备、细菌运动的超微观察和生物被膜形成过程中细胞运动的影响等方面进行了全面的论述。华南农业大学的崔紫宁教授则发表了 2 篇综述，分别从调节生物被膜形成的化合物与抑制 c-di-GMP 信号通路的化合物研究两个方面，从化学生物学的角度全面分析了各类信息化合物在细菌细胞信号转导、生物被膜形成和毒力因子表达调控

等过程中的控制作用。这 2 篇论文资料翔实，论述全面，是了解化合物分子调控机制和发展新型抗生素研究策略的绝佳入口。颇值一提的是，这几篇论文的团队带头人都是非生物专业出身的优秀青年科学家，在生物被膜研究领域都作出了一流的研究成果，充分表明交叉和汇聚研究在本领域创新研究中所具有的重要意义。

生物被膜的形成、发育和消散 (Dispersal) 在病原微生物的生存和致病过程中发挥着关键的作用，因此，理解生物被膜的形成与调控机制是科学防治病原感染、控制耐药性和发展新型抗生素的有效策略。本专刊共有 8 篇论文涉及这一领域。中国科学院微生物研究所马旅雁研究员团队发表了 2 篇论文。其中一篇综述了铁离子在生物被膜形成过程中的调控作用。由于寄主在感染过程中会将铁离子结合于载铁蛋白或小分子化合物上，造成铁匮乏的环境来控制病原微生物生长，这方面的内容对于理解寄主天然免疫反应与病原菌生物被膜的形成具有研究价值。在另一篇论文中，她们分析了乳酸锌和氟化亚锡等金属离子化合物对数种病原细菌生物被膜的影响，表明这些化合物可以作为抑菌物质应用于各类产品中。中国医学科学院病原生物学研究所的孙义成研究员团队综述了在鼠疫耶尔森氏菌 *Yersinia pestis* 形成生物被膜的过程中，c-di-GMP 及其他调控系统发挥的功能与研究展望。南京农业大学冯治洋教授团队利用宏基因组学方法，从土壤中分离获得 2 株具有抗菌活性的链霉菌 *Streptomyces* spp.，发现它们的发酵提取物能够有效抑制金黄色葡萄球菌生物被膜的形成，为进一步分离分析抗菌有效成分打下了基础。华中科技大学刘智教授团队综述了霍乱弧菌 *Vibrio cholerae* 生物被膜发

育过程与环境因子，如寄主信号、渗透压、温度、营养元素等之间的关系，为控制该病菌造成的恶性感染提供了理论依据。中国科学院微生物研究所陈义华研究员团队综述了口腔中变形链球菌 *Streptococcus mutans* 次生代谢产物的合成以及它们在病原形成生物被膜过程中的控制功能。口腔生物被膜在龋病的形成过程中具有关键性的作用，这方面的研究在未来能够为解除人类口腔疾病的痛苦作出实质性的贡献。除了细菌以外，真菌同样能够单独或与其它微生物一起形成生物被膜。中国科学院微生物研究所黄广华研究员团队和王淋淇研究员团队分别发表了 2 篇综述，系统评述了白色念珠菌调控生物被膜的遗传通路以及病原真菌社会行为的研究进展。由于地球上的生命均起源于共同的祖先，这部分的内容也促使研究者思考：高等生物的社会行为是否起源于在微生物中已经被发现的这些原始的社会关系。基于当前的研究现状，我们相信生物被膜在未来的病原感染与免疫领域仍然将会是核心研究内容之一。

在环境微生物和污水处理领域，生物被膜已经在实际应用中发挥了重要的作用。山东大学李越中、胡玮教授团队长期从事黄色粘球菌 *Myxococcus xanthus* 的研究。该菌是细菌类群中生活和运动方式最为复杂的一类，他们综述了黄色粘球菌在生物被膜形成过程中细菌运动性的作用与调控机制。北京大学深圳研究生院王文昭教授团队综述了在利用生物被膜法处理污水时，群体感应与群体淬灭在微生物固定化技术和膜污染处理中的控制机制。中国科学技术大学金帆教授团队则通过自动图像处理、高通量数据分析和数据库构建技术，对细菌发生蹭行运动 (Twitching) 和生物被膜形成时的行为

进行了精细分析，建立了定量分析单个细菌运动行为的分析体系。

在植物-微生物相互作用研究领域，中国农业大学张力群教授团队研究了不动杆菌 (*Acinetobacter* sp. 77) 中群体感应信号降解酶基因 *aidE* 的功能，发现 AidE 是一种新的高丝氨酸内酯酶，能够淬灭细菌的群体感应信号。最后，中国科学院微生物研究所贾燕涛研究员团队综述了病原菌生物被膜形成和寄主植物感染的关系。其中，值得注意的是细菌和植物能够分别感应对方产生的信号物质，发生跨界信号通讯。

这些研究为有效控制作物病害提供了新的思路。

尽管本期专刊已经包含了众多的学术观点和研究成果，相对于国内正在壮大的生物被膜研究队伍和相关成果而言，仍然只是很小的一部分。我们组织出版本期专刊的目标是为了吸引更多的研究者加入这一激动人心的领域，同时也吁请同行专家和科技政策制定者共同关注。生物被膜领域的研究在国内已经度过了“启始”这一发育阶段，随着多学科交叉研究的引入和更多青年才俊的加入，它正在向着“成熟”这个发育阶段迈进。

(本文责编 陈宏宇)