

趋磁细菌磁小体研究进展*

林巍 田兰香 潘永信**

(中国科学院地质与地球物理研究所古地磁学实验室 北京 100029)

摘要: 趋磁细菌能在细胞内形成由膜包裹的纳米级单畴磁性颗粒——磁小体。磁小体的形成是受生物严格控制的矿化过程, 包括铁离子的吸收、转运和结晶成核等。磁小体膜在磁铁矿 (Fe_3O_4) 晶体的形成中起着重要的作用。主要介绍近年来关于磁小体形成过程和参与这一过程的蛋白质等方面的一些重要研究进展。

关键词: 趋磁细菌, 磁小体, 磁小体膜, 生物矿化作用

中图分类号: Q93 **文献标识码:** A **文章编号:** 0253-2654 (2006) 03-0133-05

Formation of Magnetosomes in Magnetotactic Bacteria*

LIN Wei TIAN Lan-Xiang PAN Yong-Xin**

(Biogeomagnetism Laboratory, Institute of Geology and Geophysics,
Chinese Academy of Sciences, Beijing 100029)

Abstract: Magnetotactic bacteria can orient and migrate along ambient geomagnetic field lines because of their intracellular magnetic particles (referred as magnetosomes), which comprise nanometer-sized, membrane-bound crystals of the magnetic iron minerals. Magnetosome formation is a mineralization process with very strict biological controls over the accumulation, transportation and nucleation in the cell. This paper describes the current progresses of magnetosome formation and the function of proteins involved in this biomineralization process.

Key words: Magnetotactic bacteria, Magnetosomes, Magnetosome membrane, Biomineralization

趋磁细菌 (Magnetotactic bacteria) 是一类能够沿着磁场方向 (趋磁性) 和氧浓度梯度方向 (趋氧性) 运动的革兰氏阴性细菌, 它们分布广泛, 在湖泊、海洋甚至湿土里都能找到。趋磁细菌的共同特征是体内都具有晶形独特的、由膜包裹的磁性颗粒——磁小体 (Magnetosome)。磁小体一般为 35nm ~ 120nm 长, 化学成分主要是磁铁矿 (Fe_3O_4), 偶见胶黄铁矿 (Fe_3S_4), 化学纯度高、粒度细而均一、外形因种类不同而异, 并且在趋磁细菌体内呈链状排列, 这些特点表明磁小体的形成过程受到了严格的生物和生化作用的控制。细胞内磁小体链不仅能帮助趋磁细菌沿地磁场磁力线运动, 而且有利于细菌储集能量和铁、调节细胞内的 Eh 和 pH 值等。自 1975 年发现趋磁细菌以来, 磁小体的形成不仅得到微生物和生化学家研究的青睐, 而且磁小体的磁学性质受到矿物磁学的广泛关注^[1]。认识磁小体形成过程, 不仅能够帮助解释高等动物和人体内可能存在的相似的矿化过程, 揭示生物与地球磁场联系之谜, 还有助于提高人工合成磁性晶体的水平, 对现代生物医学技术和新材料等发展具有重要的潜在应用价值。

* 国家自然科学基金项目资助 (No. 40325011, No. 40221402)

Project Granted by Chinese National Natural Science Fund (No. 40325011, No. 40221402)

中国科学院重要方向性项目资助 (KZCX-3-SW-150)

** 通讯作者 Tel: 010-62007913, Fax: 010-62010846, E-mail: yxpan@mail.iggcas.ac.cn

收稿日期: 2005-08-04, 修回日期: 2005-08-30

趋磁细菌磁小体的形成可以分为 4 个阶段：(1) 细菌需要从外界环境中吸收铁离子；(2) 有磁小体膜的形成；(3) 细菌中的铁离子进入磁小体膜中；(4) 磁铁矿晶体在磁小体膜中形成。本文将从上述四个方面介绍磁小体形成过程和参与这一过程的一些蛋白质研究的主要进展。

1 铁离子的吸收过程

众所周知，铁是细菌生长所必须的无机离子，细菌体内的许多蛋白质，如细胞色素、超氧化物歧化酶和固氮酶等，都含有铁。在趋磁细菌中，铁除了参与合成多种蛋白质以外，还是组成磁小体的主要成分。趋磁细菌中铁的含量很高，可以达到或超过细胞干重的 2%，比大肠杆菌的含铁量 (0.005% ~ 0.022%) 高出 100 倍还多。由于需要大量的铁，趋磁细菌必须拥有高效的铁吸收系统，便于从外界环境中吸收足量的铁以保障自身的生存和生长的需要。在自然界中，铁大多以三价铁 $\text{Fe}(\text{III})$ 的形成存在，但是 $\text{Fe}(\text{III})$ 在有氧环境和中性 pH 条件下是不能溶于水的，所以细胞不能直接吸收 $\text{Fe}(\text{III})$ 。许多细菌能产生低分子量、与 $\text{Fe}(\text{III})$ 特异结合的螯合物——铁载体，铁载体与 $\text{Fe}(\text{III})$ 有很高的亲和性，它能够帮助 $\text{Fe}(\text{III})$ 的吸收。

Paoletti 和 Blakemore^[2] 通过试验首次发现，趋磁细菌 *Aquaspirillum magnetotacticum* MS-1 (*Aquaspirillum* 后称为 *Magnetospirillum*) 能够产生一种名为异羟肟酸 (hydroxamate) 的铁载体，但异羟肟酸只在高铁浓度下 ($20\mu\text{mol/L}$ 或 $40\mu\text{mol/L}$) 产生，而在 $5\mu\text{mol/L}$ 的低铁浓度下不能形成。这与其它一些非趋磁细菌 (如大肠杆菌) 的研究结果刚好相反。他们还发现，*M. magnetotacticum* MS-1 在高铁浓度环境中，在细胞膜上形成 3 种大小为 72 ~ 85 kD 的蛋白质 (OMP)，推测这 3 种 OMP 与异羟肟酸的形成有关；在低铁浓度下细胞膜上产生一种 55 kD 的蛋白质 (IROMP)。突变菌株 NM-1A 在两种情况下都不产生 IROMP，这表明编码 IROMP 的基因可能与磁小体的形成有关。

Nakamura 等^[3] 在趋磁细菌 *M. magneticum* AMB-1 的细胞膜上发现的一种蛋白质——SfuC 可能参与了铁吸收的过程。然而他们发现，无论是在铁富集还是铁缺乏的环境下都未见铁载体的产生。Schüler 和 Baeuerlein^[4] 研究了 *M. gryphiswaldense* MSR-1 的生长和磁小体的形成，也没有发现有铁载体的存在，但他们发现该细菌与外界环境中的铁浓度有关。一般当铁浓度在 $15\mu\text{mol/L}$ 至 $20\mu\text{mol/L}$ 时这种趋磁细菌的生长和磁小体的形成就接近饱和，而在 $100\mu\text{mol/L}$ 时达到最大值；*M. gryphiswaldense* MSR-1 主要吸收环境中 $\text{Fe}(\text{III})$ ，但也可以通过低速率、类似于自由扩散的方式吸收 $\text{Fe}(\text{II})$ ；它对 $\text{Fe}(\text{III})$ 的吸收遵循米氏方程，是一个低亲和性、高速率的过程。

最近 Calugay 等^[5] 对 *M. magneticum* AMB-1 的铁吸收做了非常出色的研究工作。他们利用 CAS (the chrome azurol sulfonate assay) 法发现 AMB-1 在 $\text{Fe}(\text{III})$ 浓度大于 $6\mu\text{mol/L}$ 时就可以产生铁载体。通过亚诺分析法 (Arnow assay) 和高氯酸铁分析法，进一步分析确定出了两类铁载体，分别为异羟肟酸和邻苯二酚。他们还发现，在铁富集情况下 ($20\mu\text{mol/L}$, $40\mu\text{mol/L}$ 和 $80\mu\text{mol/L}$)，由于要形成磁小体和铁载体，所以 AMB-1 的生长速度比不产生磁小体的突变菌株 NMA61 要慢。当铁富集时细菌吸收铁的速度很快，4h 后培养基中的铁浓度就可降低到约为原来的五分之一。

铁载体和铁形成的螯合物需要细胞质膜上转运蛋白质的帮助才能进入细胞内。当这些转运蛋白失活时，铁载体就会在细胞外聚集。Calugay 等^[5] 人还发现 *M. magneti-*

cum AMB-1 的非磁性突变菌株 NMA61 周围聚集的铁载体浓度比趋磁性菌株的要高。他们将这种差异解释为磁性菌株的基因组有四个开放阅读框 (ORF), 其中 ORF4 编码一种转运蛋白激酶, 这个蛋白激酶通过磷酸化调节某些质膜转运蛋白质的活性, 这些蛋白质帮助铁载体和铁的螯合物进入细菌内部。而在非磁性 NMA61 中, ORF4 不能编码这种转运蛋白激酶, 所以细菌产生的铁载体只能在细胞外聚集。

2 磁小体膜的形成

磁小体膜在磁小体的形成中起着关键的、不可替代的作用。Gorby 等^[6]人在 *A. magnetotacticum* 中直接观察到了空的磁小体膜, 推测磁小体膜有可能先于磁体矿而形成。由于磁小体膜的存在, 在磁小体膜的内部形成了特定的氧化还原电势和 pH 值, 同时还能严格、精确的控制其内部的铁离子浓度, 从而保证了磁铁矿晶体在其中生成。

Balkwill 等人早在 1980 年就推测趋磁细菌 *M. magnetotacticum* 中包裹磁小体的膜有可能是脂双层结构, 但是由于试验方法和观测手段的限制, 一直没有找到直接的证据证明该观点。直到 1988 年, Gorby 等^[6]人采用磁性分离方法从破碎的细胞中收集到了完整的磁小体。他们发现, 磁小体膜同细胞膜相类似都是脂双层结构、上面混有多种蛋白质, 厚度约为 2nm 至 4 nm; 磁小体膜的主要成分也与细胞膜相似, 包括 (1) 中性脂质和游离脂肪酸, (2) 糖脂类和硫脂类, (3) 磷脂。他们通过凝胶电泳试验还发现, 细菌 *M. magnetotacticum* 的磁小体膜上的大部分蛋白质在细胞膜上都能找到, 但是有两类大小分别为 15 kD 和 33 kD 的蛋白质是磁小体膜所特有的, 并推测这两类蛋白质在磁小体的形成中起着特殊的作用。由于磁小体膜和细胞膜在结构和成分上都很相似, 可以推测磁小体膜可能是由细胞膜内陷和收缩形成的, 因此磁小体膜应该有一段时间与细胞膜相连接, 但是到目前为止这种现象还没有被实验观察到。多数学者认为, 细胞膜在 GTP 酶作用下有一部分发生内陷形成磁小体膜的前体^[7]。

Okamura 等^[8]人在 *M. magneticum* AMB-1 的磁小体膜上找到一类大小为 16 kD 的蛋白质, 命名为 Mms16。Mms16 有 GTP 酶活性, 与磁小体膜囊的形成有关。在 *M. magneticum* AMB-1 的培养基中加入 GTP 酶抑制剂氟化铝 (AlF_4^-), 虽然细菌的生长没有受到抑制, 但是细菌内部的磁小体链的有序排列被打乱了, 磁小体的数量同没有加入抑制剂的细菌相比也减少了, 这表明磁小体的形成需要 GTP 酶参与。

最近, Komeili 等^[9]人发现, 趋磁细菌 *M. magneticum* AMB-1 在缺铁环境中、在细胞内形成空的、不含磁铁矿的磁小体膜; 当在该细菌的周围加入铁后, 经过一段时间培养, 在磁小体膜内几乎同时有磁铁矿颗粒形成, 而且这些颗粒大小和形状非常相似, 同正常生长的细菌中的磁铁矿几乎没有区别; 另外, 他们还发现一种磁小体膜蛋白——MamA 在形成有功能的磁小体膜的过程中扮演着重要角色。他们的实验很好的证明了磁小体膜确实是先于磁铁矿颗粒形成的, 而且在磁铁矿的形成中起着不可或缺的作用。

3 参加铁离子运输的蛋白质

在趋磁细菌细胞内, 铁主要以二价铁离子 $\text{Fe}(\text{II})$ 的形式进入磁小体膜中, 所以细菌从外界环境中吸收的 $\text{Fe}(\text{III})$ 要经过还原酶作用被还原成 $\text{Fe}(\text{II})$, 再在细胞膜和磁小体膜上蛋白质的帮助下进入磁小体膜中。Nakamura 等^[10]人在趋磁细菌

M. magneticum AMB-1 中发现一种 MagA 蛋白质,它能够调节铁离子的运输。这种蛋白质在细胞膜和磁小体膜上都存在,不过 MagA 在这两种膜中作用正好相反,细胞膜上 MagA 调控铁离子流出细胞,而磁小体膜上的 MagA 则帮助铁离子进入磁小体膜内。由于磁小体单位体积上表达的 MagA 分子的数量远远大于细胞单位体积上的数量,这就使得流出细胞膜的铁离子数量几乎可以忽略不计。蛋白质 MagA 可以看成是一个 $H^+ / Fe(II)$ 的逆向转运体,它将 $Fe(II)$ 转运到磁小体膜内,这个过程需要三磷酸腺苷(ATP),因此它是一个耗能的过程。

Grünberg 等^[11]人发现在 3 种趋磁细菌 *M. gryphiswaldense*、*M. magnetotacticum* 和 Magnetic coccus MC-1 的磁小体膜上都存在蛋白质 MamB。MamB 的一级和二级结构都与促阳离子扩散家族(CDF)的成员有很高的相似性,因此推测 MamB 与 CDF 的蛋白质执行相同的功能。CDF 的蛋白质在原核生物和真核生物中都存在,它们能够促进金属离子的吸收或释放,行使“金属/ H^+ 逆向转运体”的功能。进一步的分析发现,MamB 与 CDF 中的 CDF3 亚家族成员的相似性最高,这些蛋白质成员主要帮助细胞内铁离子的运输。因此,磁小体膜蛋白 MamB 也可以帮助铁离子进入磁小体膜内。最近对 *M. gryphiswaldense* 的突变菌株的试验证明了这个观点。另外,除了编码 MamB 蛋白的 *mamB* 基因外,在 *M. magnetotacticum* 的基因组中还有两个开放阅读框 ORF5 和 ORF16、在 magnetic coccus MC-1 的基因组中有一个开放阅读框 ORF1,它们所编码的蛋白质也与 CDF 有很高的相似性,推测也执行铁离子运输的功能。据报道,*M. gryphiswaldense* 中的蛋白质 MamM 与 MamB 的功能相似,也能帮助铁离子进入到磁小体膜中。

虽然目前对趋磁细菌体内蛋白质的研究已经部分回答磁小体形成中膜蛋白的作用,但这些研究大多是对单个蛋白质进行的,磁小体的形成是一个复杂的过程、受到多因素的影响就必然涉及到多个蛋白质,而且这些蛋白质在执行功能时表现是动态的、多样的,且蛋白质之间又相互影响。因此要想对趋磁细菌磁小体的形成有全面深入的认识,就必须以细胞内全部蛋白质的存在及其活动方式为研究对象,运用蛋白质组学(Proteomics)研究细胞内的全部蛋白质及其功能,将会极大推进趋磁细菌研究的发展。

4 磁铁矿(Fe_3O_4)晶体的形成

当 $Fe(II)$ 进入磁小体膜后,是直接形成磁铁矿晶体、还是先聚集形成非磁性的前体,然后形成磁铁矿,则一直备受人们关注。Frankel 等^[12]人通过高分辨率电子显微镜、穆斯堡尔谱分析和生化试验等手段,对趋磁细菌 *M. magnetotacticum* 进行研究发现, $Fe(II)$ 在磁小体膜中被氧化形成低密度的水合氧化物,这个水合氧化物再脱水形成高密度的 $Fe(III)$ 水合氧化物(水铁矿, $Fe_2O_3 \cdot nH_2O$);最后,三分之一的水铁矿被还原、调节 pH 值、进一步脱水最终形成磁铁矿晶体。在磁铁矿结晶的过程中,水铁矿的表面吸附了水中游离的 $Fe(II)$,这也许是磁铁矿形成的一个不可缺少的步骤。另外,Gorby 等^[6]人在 *M. magnetotacticum* 中发现了一些磁小体膜内包裹着形状不规则的铁,他们推测是一类多聚铁的氢氧化物的衍生物,可能是形成磁铁矿的前体。

Schüler 和 Baeuerlein^[13]对 *M. gryphiswaldense* 研究时,在培养基中加入 ^{55}Fe 的化合物,以便分析铁离子的吸收和磁小体的形成的关系。他们指出,在微氧环境下细胞刚开始吸收铁离子时就有磁小体产生,这表明吸收的铁离子迅速转化、直接形成磁小体,没有明显的延时;这与 *M. magnetotacticum* 先形成非磁性的前体再形成磁铁矿的过程明

显不同。可以推测,不同种类的趋磁细菌形成磁小体的生物矿化过程可能有所不同。

Arakaki 等^[14]在 *M. magneticum* AMB-1 的磁小体膜上发现了一些与膜紧密相连的低分子量的蛋白质(小于 15 kD),包括 Mms5、Mms6、Mms7 和 Mms13。这些蛋白质都含有疏水性的氨基末端和亲水性的羧基末端,羧基末端上的羧基和羟基能够结合铁离子;这 4 种蛋白质都有共同的氨基酸序列 LGLGLGLGAWGPXXLGXXCXACA。其中, Mms6 在磁性颗粒成核中起着重要作用,在人工合成磁铁矿时,当有 Mms6 参与时,形成的磁铁矿形状均一、大小在 20nm 到 30nm 之间,与 *M. magneticum* AMB-1 产生的磁小体很相似;当 Mms6 不参与合成时,生成的磁性颗粒形状和大小差异很大,主要成分也不是磁铁矿。目前认为,蛋白质 Mms6 即能结合铁离子、促进晶体成核,又能抑制铁的矿化、调节晶体的形状,但是具体过程和调节机制目前还不清楚。其余 3 种 Mms 蛋白的功能和 Mms6 相似,都参与了磁小体的形成。最近,潘永信等^[15]通过对非培养趋磁细菌磁性的测量,发现磁小体与人工合成粒度相当的磁性颗粒的磁性质存在着差异。

5 展望

近 10 多年来,随着几种趋磁细菌的成功培养(如趋磁细菌 WD-1^[16]),对趋磁细菌的研究已从最初的形态、行为研究深入到分子、基因水平。随着一些趋磁细菌的基因组序列的测定和基因分析技术的成熟,对参与磁小体形成的功能基因和蛋白质功能的研究仍将是一个热点,结构基因组学和蛋白质组学技术在对趋磁细菌的研究中将会起重要作用。未来加强微生物学、生物化学和矿物磁学等学科交叉研究,将进一步深化对自然界生物矿化作用的认识。另外,与人工合成的磁性颗粒相比,磁小体粒度均一、有生物膜包裹,且具有独特的磁学特性,基因工程和蛋白质工程技术的成熟将会使磁小体的规模生产成为可能,因此磁小体在现代和未来生物技术、医药卫生、环境监测等方面都可以发挥十分重要的作用。

参考文献

- [1] Pan Y X, Petersen N, Davila A F, et al. Earth Planet Sci Lett, 2005, **232** (1~2): 109~123.
- [2] Paoletti L C, Blakemore R P. J Bacteriol, 1986, **167** (1): 73~76.
- [3] Nakamura C, Sakaguchi T, Kudo S, et al. Appl Biochem Biotechnol, 1993, **39**~**40**: 169~177.
- [4] Schler D, Baeuerlein E. Arch Microbiol, 1996, **166**: 301~307.
- [5] Calugay R J, Okamura Y, Wahyudi A T, et al. Biochemical and Biophysical Research Communications, 2004, **323**: 852~857.
- [6] Gorbey Y A, Beveridge T J, Blakemore R P. J Bacteriol, 1988, **170** (2): 834~841.
- [7] Matsunaga T, Okamura Y. Trends in Microbiol, 2003, **11** (11): 536~541.
- [8] Okamura Y, Takeyama H, Matsunaga T. J Biol Chem, 2001, **276** (51): 48183~48188.
- [9] Komeili A, Vali H, Beveridge T J, et al. PNAS, 2004, **101** (11): 3839~3844.
- [10] Nakamura C, Kikuchi T, Burgess J G, et al. J Biochem, 1995, **118**: 23~27.
- [11] Grnberg K, Wawer C, Tebo B M, et al. Applied and Environmental Microbiology, 2001, **67** (10): 4573~4582.
- [12] Frankel R B, Papaefthymiou G C, Blakemore R P, et al. Biochim Biophys Acta, 1983, **763**: 147~159.
- [13] Schler D, Baeuerlein E. J Bacteriol, 1998, **180** (1): 159~162.
- [14] Arakaki A, Webb J, Matsunaga T. J Biol Chem, 2003, **278** (10): 8745~8750.
- [15] Pan Y X, Petersen N, Winkhofer M, et al. Earth Planet Sci Lett, 2005, **237** (3~4): 311~325.
- [16] 姜伟,卫杨保.微生物学通报, 2001, **28** (3): 75~78.