

细菌的趋化性

娄 峥 江 德 杲

(浙江医学研究院医学微生物学研究所, 杭州)

细菌的趋化是指运动细菌趋向某些化学吸引剂(正向趋化反应)或避开某些化学驱斥剂(负向趋化反应)的移行行为^[1,2]。这种现象是 Engelmann 和 Pfeffer 于 1883 年发现的^[3]。当时,趋化作用被看作是运动细菌在环境中寻找营养物质或避开有害因素的一种本能。以后,有关报道就很少见。直至 1969 年 Adler 证实细菌的趋化作用是由特异性受体所介导,才开始了细菌趋化反应的现代研究。Adler 的工作阐明了引起正向和负向趋化反应的刺激是吸引剂和驱斥剂等化学物质本身而不是其代谢产物,这一发现对于从分子水平研究细菌的趋化

反应极为重要。此外,细菌的突变株是研究趋化反应机制的有力工具。如,缺乏结合蛋白的突变株对研究化学受体极为有用,而一些不能翻滚的和持续翻滚的无趋化性突变株则对于研究控制翻滚频率的机制非常有用。所有这些研究对生物体内信息传递过程的基本理解具有重大影响。同时对细菌趋化性在生态学和病原学方面的意义有了新的估价。

(一) 细菌的运动方式与趋化性

细菌在化学物质刺激时所表现的趋向性是运动细菌的本能。有动力细菌在无化学刺激物质存在的条件下,其运动方式是先平稳地直线

泳动一段距离(约 1—2 分钟),然后突然翻滚一次改变运动方向,再向前泳动,再翻滚。泳动和翻滚循序变换,其特点为随机选择运动方向。因而,细菌的行进方向不断变化,呈现出三维转向的泳动轨迹。遇到化学吸引剂时,细菌向高浓度吸引剂的方向直线泳动,不出现翻滚现象。这种朝向刺激源的运动称为正向趋化性;遇到驱斥剂时,细菌立即产生翻滚运动并沿其递减的浓度梯度泳动。这种与刺激源反向的运动称为负向趋化性。在浓度相同的化学环境中,细菌保持一定的翻滚频率,呈常态运动。长期以来,观察细菌的趋化现象,一般采用经典的毛细管法及半固体琼脂平皿法,目前已发展到利用显微摄影技术并结合磁带录像于显微镜下直接观察和记录细菌运动的轨迹。

(二) 细菌趋化作用的机制

细菌趋化反应的机制涉及到三个方面: 1. 化学刺激的感受; 2. 化学信号的传递; 3. 鞭毛的效应即运动反应。细菌表面存在与趋化反应有关的化学受体, 这些受体可以感知周围环境中以浓度梯度形式分布的化学物质, 产生化学信号。这些信号通过传递最后启动鞭毛, 使细菌进行趋向性运动, 以便在合适的环境中生长繁殖。

1. 化学受体: 细菌具有能够感知化学物质刺激的感受器即化学受体, 以此发现外环境中存在的吸引剂或驱斥剂。在分子水平被证实的第一个化学受体是大肠杆菌的半乳糖受体^[1]。该受体是用缺乏半乳糖结合蛋白的细菌突变株证实的。Anzahn 曾利用渗透压的作用使菌体的半乳糖结合蛋白游离, 导致突变株形成。这样的菌株对半乳糖不再显示趋化性。另外, 具有类似半乳糖结构的物质能够阻断细菌对半乳糖的趋化性, 以及细菌对半乳糖趋化性的临界阈值和饱和值与该受体和半乳糖的解离常数相一致, 以上事实均说明化学受体的存在^[5]。

据报道, 大肠杆菌和沙门氏菌的表面存在着大约二十种吸引剂和十种驱斥剂受体。一般可将这些受体分为糖受体、氨基酸受体和离子受体等。它们大多位于膜周间隙 (periplasmic

space) 或细胞内膜上。这些受体表现出相对的特异性和绝对的特异性。如 D-甘露糖受体不仅能感知 $3 \times 10^6 M$ 的甘露糖也能感知同样浓度的 D-葡萄糖。但有些受体表现出对某种化学物质特有的亲和力。如 D-果糖受体只接受 D-果糖的刺激, 呈现出高度的专一性^[6]。

糖受体因功能不同分为两类: 糖结合蛋白和磷酸转位酶 II。它们具有感知和转运糖的双重功能。细菌的趋化作用只与前种功能相关而转运功能对趋化来说并无意义。

糖结合蛋白是菌细胞膜表面的外周蛋白。部分糖结合蛋白如麦芽糖、核糖等几种糖结合蛋白已得到纯化。在研究大肠杆菌的半乳糖结合蛋白时发现这种糖结合蛋白是 *mgI B* 基因的产物, 其生物学活性受到 *mgI A*、*mgI B*、*mgI C* 一组基因的调控。*mgI B* 基因缺陷的突变株丧失转运半乳糖的能力以及向半乳糖趋化的能力。*mgI A* 和 *mgI C* 基因缺陷的突变株, 虽然其转运能力明显减弱但大多数突变株的趋化能力接近亲代株^[7]。

磷酸转位酶 II 是一种膜受体蛋白, 是磷酸转移酶系的组成部份。这一酶系包括酶 I、Hpr、酶 II 几种可溶性蛋白。其功能是转运和识别糖类物质。转运时, 先要通过菌细胞膜的糖分子上加一个磷酸基, 然后将磷酸化的糖分子移入菌细胞质内。这一酶系对糖的识别主要依赖酶 II。酶 II 是一种复合物, 包括酶 IIA 和酶 IIB。酶 IIA 表现出对糖的特异性有严格的针对性, 酶 IIB 无此特性。磷酸转移酶 II 识别糖和转运糖的功能不可分隔。磷酸转移酶系的完整性对细菌的趋化作用是必不可少的^[11]。

通过对 *E. coli* 氨基酸受体的研究表明: 在天然的二十种氨基酸中, 只有九种氨基酸可以吸引大肠杆菌向其趋化。这些氨基酸分别由天冬酰胺受体 (Tar 基因的产物, Tar 基因是与细菌趋向天冬酰胺和某些驱斥剂这一性状有关的基因) 或丝氨酸受体 (Tsr 基因的产物, Tsr 基因是与细菌趋向丝氨酸和某些驱斥剂这一性状有关的基因) 感知^[8]。氨基酸结构发生微细变化时, 如 α 氨基被甲基、羧基或氢取代时, 其

受体的感知能力就下降。两种结构类似的氨基酸同时存在时,可以竞争受体的结合位点。浓度高和亲和力高的氨基酸可以饱和受体的结合位点,从而抑制细菌趋向另一氨基酸^[9]。

驱斥剂受体感知某些化学物质后影响细菌鞭毛的转动方向和增加其翻滚频率,使细菌避开这些物质,产生负向趋化反应^[1,5,8,10]。

离子受体具有结合和转运二价离子的作用。至于其在细菌趋化过程中发挥的具体作用尚未阐明^[8]。

2. 化学信号的感受与传递: 在感受器和效应器之间存在着一个将感觉到的信息传递于鞭毛的系统。在这个系统中感觉和传导涉及到膜蛋白的甲基化和膜电荷的改变。

细菌的趋化反应需要 L-甲硫氨酸,通过其中间产物 S-腺苷蛋氨酸而产生作用。其功能的是使位于细菌胞浆膜上的蛋白质甲基化。此蛋白质即甲基接受趋化蛋白 (methyl-accepting chemotaxis protein 简称 MCP)。现已知有两种 MCP (MCPI 和 MCP II), 它们的分子量很接近。对某些化学吸引剂和驱斥剂 (type I), 细菌的化学受体感知信息后通过 MCP I 传递; 对另一些化学吸引剂和驱斥剂 (type II), 细菌的化学受体则通过 MCP II 而起作用。就大肠杆菌而言,就有两个互补的信息传递途径。

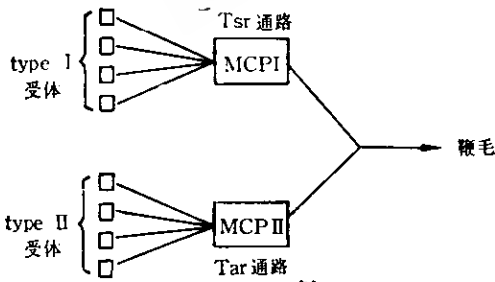


图 1 两条互补的信号传递途径

Tsr 突变株因其 Tsr 基因突变影响了 MCPI 的甲基化, 细菌对于 Type I 化学物质的刺激无反应, 不能趋向丝氨酸和某些驱斥剂, 但这些株可以通过 Tar 通路传递信息; Tar 基因突变后影响 MCP II 甲基化, 细菌对 type II 化学

物质的刺激无反应, 不能趋向天冬酰胺和某些驱斥剂。Tsr 和 Tar 双重突变的菌株因 MCPI 和 MCP II 都无甲基化作用, 细菌感受的信息不能经过任一通路传递, 这样的突变株虽有动力但无趋化反应性。

MCP 的甲基化是通过甲基酯酶的作用使天冬氨酸盐和谷氨酸盐残基加甲基形成甲基酯或通过甲基转移酶的作用在相应部位去甲基。当化学受体感知吸引剂或驱斥剂浓度变化时, 必定将信息传递给 MCP, 使其甲基化水平升高或下降。这就将信息传递于鞭毛, 使之向逆时针或顺时针方向转动 (见图 2)。

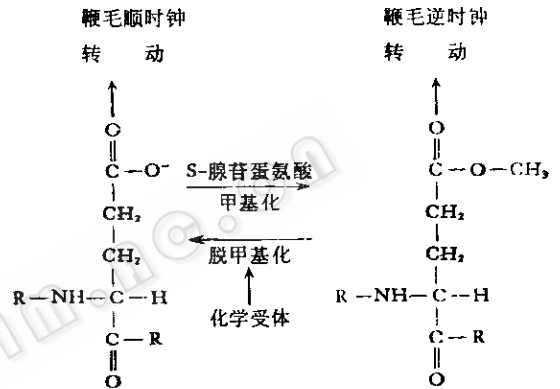


图 2 化学受体、MCP 及鞭毛三者间的关系 (谷氨酸盐残基的甲基化和脱甲基反应)

3. 鞭毛运动

细菌的鞭毛是趋化反应的效应器官也是化学信号传递的终端, 它是由鞭毛纤维、钩、环和杆等部件组成。在其基部有一个坚硬的逆时针旋转的螺旋。其作用如同推进器。细菌靠鞭毛转动而运动。鞭毛逆时针方向转动, 细菌向前推进呈直线泳动。反之, 鞭毛顺时针方向转动, 螺旋松散, 细菌不能泳动而呈翻滚运动。细菌的趋化性行为是通过操纵其鞭毛的转动方向来控制。急剧增加或减少周围环境中的化学物质可使细菌的运动方式发生改变。例如: 立即稀释吸引剂可使泳动细菌增加翻滚频率。相反, 降低驱斥剂的浓度, 使不断翻滚的细菌呈直线泳动。瞬息之后细菌即适应, 恢复到未受刺激时的翻滚频率。一旦细菌生存环境中的化学物质在某个时间内持续存在而无浓度变化时,

细菌便产生适应现象。这时细菌表面受体不再产生化学信号, MCP 甲基化水平处于一个平稳阶段, 因而细菌恢复未受刺激时的常态运动(图 3)。

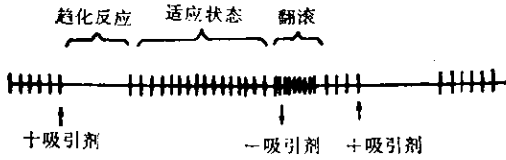


图 3 细菌趋化和适应的示意图

水平线表示直进泳动;垂直短线示翻滚运动

(三) 细菌趋化作用在生态学和病原学方面的意义

在自然环境中, 适合细菌繁殖的场所都有一定的离子浓度和营养成分^[12], 细菌利用环境中的碳源和氮源进行新陈代谢, 就造成了这些物质的梯度浓度, 细菌靠正向趋化反应总是朝着有利环境前进; 而细菌在受到环境中有害物质刺激时, 靠负向趋化反应, 避开不良的环境。这样细菌就能够有选择地吸附到某些藻类、甲壳类或贝壳类等动、植物的表面赖以生存。各种不同的细菌各有其特殊的定居环境, 因而趋化性是细菌在特定环境中定居的一个重要的生态学因素。

Allweiss 等人报道将一片小鼠或家兔小肠组织浸于霍乱弧菌悬液中约一分钟, 在相差显微镜或暗视野显微镜下观察, 可见霍乱弧菌高度聚集于肠片的微绒毛表面, 选用三株无趋化性的弧菌突变株, 作同样实验, 结果不同于有趋化性的亲代株, 弧菌随机均匀地分布于混悬液中, 不聚集于肠片表面。用大肠杆菌或鼠伤寒沙门氏菌进行实验可观察到同样的结果^[12]。该实验室在七十年代所作的体内外实验结果表明, 在霍乱弧菌与小肠粘膜相互作用的过程中, 趋化反应有其重要意义^[6,14-17]。

八十年代初, Freter 等继续作深入系统的研究。他们在家兔结扎的小肠襻中注射霍乱弧菌和直径 $1.1\mu\text{m}$ 的聚苯乙烯颗粒, 十五分钟后取出肠襻作冰冻切片, 显微镜下观察细菌与颗

粒的分布。发现有趋化能力的亲代株与颗粒之比在肠腔中是一致的, 而在深部绒毛间隙中, 这个比值就增大了十倍。在同样条件下, 有动力无趋化株或无动力的突变株侵入肠粘液层的速度与无活力的颗粒相同。采用试管内肠片粘附试验得到与上述一致的结果。他们认为:

1. 小肠组织片能持续不断地释放吸引物质以引诱具有趋化性的细菌接近。
2. 存在于弧菌表面的与这种吸引物质相应的受体, 能被肠粘膜刮取物(经胃酶消化)所封闭, 从而抑制霍乱弧菌对肠片的粘附作用。通过以上研究说明动物肠粘液层对类似细菌大小的颗粒的穿透有一定的屏障作用, 但有趋化性的霍乱弧菌能够有效地通过这个屏障^[14,15]。

Freter 认为: 霍乱弧菌引起肠道传染病时, 必需结合于小肠上皮细胞, 这种结合还依赖于弧菌的动力和趋化作用等。在小肠粘液层中, 通过弧菌的受体对粘液层中吸引物质的识别以及随之而产生的趋化反应, 使之进入更深的绒毛间隙, 最后粘附于上皮细胞, 在那里定居、繁殖, 并释放有损伤性的霍乱毒素。由此可见, 弧菌在接触上皮细胞前必须战胜肠粘液层的阻挡和肠蠕动的排菌等来自宿主方面的非特异性的局部防御能力^[1]。

细菌趋化性是一个古老的课题, 历经将近一个世纪的研究。目前, 细菌趋化反应的机制及其在生态学和病原学方面的意义已被公认。生物体因化学刺激而移动是一种普遍的生物现象, 单细胞与复杂生物体皆然。而在所有趋化系统中, 细菌趋化性可视为一个最简单的行为系统模型, 为研究复杂行为提供手段, 进而揭示生物体内活细胞如何处理感觉信息的原则^[8]。

参 考 文 献

- [1] Adler, J.: *The Johns Hopkins Medical Journal*, 144 (4): 121, 1979.
- [2] George, W. O. et al.: *J. Bacteriol.*, 129(1): 151, 1977.
- [3] George, W. O. et al.: *J. Bacteriol.*, 117(2): 509, 1974.
- [4] Adler, J.: *Science*, 153(3737): 708, 1966.