

真细菌的渗透调节机制

黄红英 刘爱民 张林普

(安徽师范大学生物系 芜湖 241000)

关键词 真细菌, 渗透调节, 渗透保护剂

分类号 Q935 文献标识码 C 文章编号 0253-2654(1999)-03-0218-220

许多科学家对真细菌的渗透调节机制很感兴趣。不仅是因为真细菌细胞中普遍存在复杂的渗透调节系统, 对外界渗透压力有相当程度的耐受能力, 而且是因为它们采取了有别于嗜盐古细菌而类似于真核生物的渗透调节机制。当环境中渗透压升高时, 不是积累高浓度的 KCl, 它们和真核生物细胞一样, 通过积累小分子有机物质来对抗外界渗透压力, 以维持细胞正常生理功能。正是由于它们在渗透调节的生理和遗传机制上与真核生物相似, 人们有望将真细菌的耐渗基因应用基因工程, 创造出耐高渗环境(如旱生地、盐碱地等)的农作物新品种。本文结合国际最新研究进展, 对真细菌渗透调节机制作一简介。

1 渗透保护剂

渗透保护剂(Osmoprotectant)是指那些能在细胞中大量积累并对细胞起保护作用使之免受渗透压力和盐失活影响的物质分子或离子^[1]。

在生物细胞中, 充当渗透保护剂的物质只是少数的无机盐离子(主要是 K⁺)和小分子有机物, 后者在真细菌渗透调节中起决定作用。小分子有机物主要包括谷氨酸、脯氨酸、N, N-二甲基脯氨酸、N, N, N-三甲基甘氨酸、 γ -三甲氨基丁酸、四氢吡咯嘧啶和海藻糖等^[1~3]。在理论上, 许多离子和分子都可以用于平衡细胞内外渗透压, 但由于它们与细胞的不相容性(incompatibility)而没有为细胞所选择。所谓不相容性, 是指某些分子或离子在细胞内的积累会影响细胞及其组分特别是生物大分子的正常结构和功能。如 Na⁺ 就是细胞的一种不相容性溶质。Measures^[6]的体外实验证明, Na⁺ 对大肠杆菌(*Escherichia coli*)、枯草杆菌(*Bacillus subtilis*)和金黄色葡萄球菌(*Staphylococcus*

aureus)的醛醇酶、异柠檬酸脱氢酶、磷酸己糖异构酶的活性有严重的抑制作用。早在 1888 年, Hofmeister 就提出了一个霍弗米斯特效应。他指出, 各种中性盐对蛋白质和其他胶体的结构和溶解度的影响是不同的。不同的阴、阳离子会引起生物大分子发生不同级别的构象变化^[7]。越是精细的系统, 其稳定的自由能越低, 越容易遭受盐溶液的破坏。在高渗环境中生长的生物细胞, 为了平衡内外渗透压, 要求细胞内高浓度地积累渗透保护物质。如果以无机盐离子作为渗透保护剂, 高浓度的内部盐溶液会严重影响细胞代谢功能以及穿膜蛋白的稳定性。要适应这种高无机盐离子强度就必然要求细胞内各种蛋白质对其氨基酸进行广泛取代。显然, 在渗透压力下, 象嗜盐古细菌那样依靠无机盐离子作为首要的渗透保护剂是一种次理想的选择。真细菌以少数有机小分子作为渗透保护剂, 这些物质与细胞是相容的, 高浓度积累不会对细胞结构和酶活性造成重大影响^[2]。研究发现^[8~9], 非嗜盐菌常常利用游离氨基酸(通常是谷氨酸和脯氨酸)作为渗透保护剂, 并伴随 K⁺ 离子为主的阳离子积累以中和电荷; 耐盐和嗜盐真细菌往往利用氨基酸衍生物—三甲基内铵盐(betaine)为渗透保护剂, 这类化合物有高溶解度、无需无机离子中和电荷以及对酶活性影响极少的优点, 是一种极其优良的相容性溶质。

2 渗透保护剂对渗透压的调节

2.1 游离氨基酸对渗透压的调节

作为对渗透压力反应积累谷氨酸的主要是革兰氏阴性菌^[6], 在正常条件下, 它们具有一个几乎完全由谷氨酸组成的低总量氨

氨基酸库和低 K^+ 水平。而那些积累脯氨酸的则主要是革兰氏阳性菌,在尤渗透压力下,它们有一个大的游离氨基酸库(同样,谷氨酸占大部分比例)和高 K^+ 水平^[6]。生长在缺失渗透压力条件下的革兰氏阳性菌同生活在高渗透环境中的革兰氏阴性菌有些相似。这说明,在渗透压力作用下,最基本的反应是建立一个含有大量谷氨酸的氨基酸库。在革兰氏阴性菌中这种增加尚有余地,而在革兰氏阳性菌中,谷氨酸浓度可能到了极限,谷氨酸的增长同时要求积累阳离子以维持电荷中性状态。在多数情况下这种阳离子是 K^+ , Na^+ 常常抑制酶的活性,而 K^+ 由于水合程度低,对酶活性抑制也较弱。积累 K^+ 和 Na^+ 对菌体都不利, K^+ 离子浓度过高,也会产生抑制作用^[2]。革兰氏阳性菌因此演化出了一系列生理机制,将谷氨酸通过一些相近代谢途径转变成脯氨酸、 γ -三甲氨基丁酸等渗透保护剂,或代之以其它的氨基酸衍生物。

游离氨基酸可从环境中吸收,但主要是通过体内代谢途径合成^[2,10]。谷氨酸的积累伴随 K^+ 积累,而 K^+ 积累又可与渗透调节关联。渗透压力的第一效应就是夺去细胞水分,因而增大了胞内溶质浓度。在大多数细菌中,谷氨酸的转化酶是谷氨酸脱氢酶,它催化氨基酸氧化脱氨基作用和 α -酮戊二酸转化氨基作用。*Escherichia coli*, *Klebsiella aerogenes*, *Bacillus subtilis* 和 *Staphylococcus aureus* 等的谷氨酸脱氢酶在 K^+ 浓度增大500mmol/L时,它们的活性朝谷氨酸生成方向提高10倍^[6]。这样,渗透压力导致 K^+ 浓度升高则引起谷氨酸脱氢酶构象改变,并导致谷氨酸合成增加。这也同时要求阳离子内流,更进一步激活这种酶的活性。由此可见,渗透保护剂谷氨酸在细胞中的积累完全是由于外界渗透压升高的影响,它的积累反过来又起到了平衡细胞内外渗透压的作用。

2.2 氨基酸衍生物对渗透压的调节 除游离氨基酸外,氨基酸衍生物,四氢吡咯啉和某些低聚糖也是真细菌有效的渗透保护剂。其中氨基酸衍生物N,N,N'-三甲氨基甘氨酸被真细菌广泛采用^[10,11]。

许多真细菌能将外源性胆碱氧化成三甲氨基甘氨酸,这种氧化是以三甲氨基乙醛为中间产物的两步反应过程^[9]。其反应可以由一种可溶性氧化酶来催化,也可以由膜结合的胆碱脱氢酶和可溶性的三甲氨基乙醛脱氢酶共同催化,后两种脱氢酶具有电子传递依

赖性,电子供体是 O_2 ,不产生 H_2O_2 而产生 H_2O 。在渗透压力下,真细菌也可以从环境直接吸收三甲氨基甘氨酸。*Escherichia coli*细胞中至少有两个由渗透压调节的三甲氨基甘氨酸运输系统,它的吸收与细胞内脯氨酸合成之间存在一个精细的环式调节^[3]。三甲氨基甘氨酸进入细胞时,内源性脯氨酸的积累受到严重抑制。

在好氧菌,特别是棒杆菌中,广泛存在胆碱氧化能力,并可以作为唯一碳源和氮源^[12,13]。但在*Escherichia coli*中,则不能利用胆碱-三甲氨基甘氨酸途径中任何代谢物来合成高分子量的细胞组分,同时还发现所有的芽孢杆菌都是如此^[11-13]。看来,这些细菌积累三甲氨基甘氨酸的唯一作用仅限于渗透保护。

3 耐渗基因及其表达调控

耐渗基因(Osm gene)^[1]那些与对外界渗透压产生适应性相关的一系列基因。这些基因通过自身信息表达直接控制着渗透保护剂的吸收、合成和积累。80年代,人们就运用P_{噬菌体}转导、缺失突变、F-Prime互补等遗传学方法初步确立了*Escherichia coli*等的耐渗基因遗传连锁图谱^[1]。后来,人们又对真细菌耐渗基因的数目、基因位点、碱基序列以及表达调控进行了更加深入的研究。这些基因一般都位于染色体上^[10],但最近发现质粒与某些耐盐菌的耐盐性有关^[14],说明这些质粒上也可能存在耐渗基因或存在与耐渗基因转译调控有关的基因。耐渗基因一般都在转录水平上得到调节,这种调节至少有两种方式^[9,15]。一种是外界渗透压通过影响细胞内膨压来调节基因的转录,一种是外界渗透压刺激质膜感受器,通过级联效应,引起渗透调节基因*ompB*, *empK*, *emvZ*的表达,进而调节耐渗基因的转录。可见,外界渗透压改变是耐渗基因表达的外因,当外界渗透压升高时,基因表达增强,细胞内大量合成与渗透保护剂吸收和转化相关的酶蛋白,导致保护剂积累。值得一提的是,外界渗透压还有另一个效应,它直接影响质膜渗透酶的活性,从而影响细胞对保护剂的吸收^[15]。

随着真细菌渗透调节机制的分子生物学研究不断深入,并通过更多的耐渗基因的克隆、序列分析及体内外转录的研究,提出基因精细调控模型将指日可待。

参 考 文 献

- [1] Rudulier D Le, Storm A R, Dandelkar A M. *et al.* Science, 1984, 224: 1064~1068.
- [2] Yancey P H, Clark M E, Hand S C *et al.* Science,

- 1982, 217:1214~1222.
- [3] Cairney J, Booth I R, Higgins C F. *J Bacteriol*, 1985, 163(3):1218~1223.
- [4] Talibart R, Jebbar M, Gouesbet G *et al.* *J Bacteriol*, 1994, 176(17):5210~5217.
- [5] Strøm A R, Kaasen I. *Mol Microbiol*, 1993, 8: 205~210.
- [6] Measures J C. *Nature*, 1975, 257:398~400.
- [7] Hofmeister F. *Arch Exp Pathol Pharmacol*, 1888, 24: 247.
- [8] Imhoff J F, Rodriguez-valera F. *J Bacteriol*, 1984, 160(1):478~479.
- [9] Landfald B, Strom S. *J Bacteriol*, 1986, 165(3):849~855.
- [10] Csonka L N. *Microbiol Rev*, 1989, 53:121~147.
- [11] Boch J, Kempf B, Bremer E. *J Bacteriol*, 1994, 176: 5364~5371.
- [12] Kortstee G J J. *Arch Microbiol*, 1970, 71:235~244.
- [13] Tollefson T S, Mckercher R B. *Soil Biol Biochem*, 1982, 15:145~148.
- [14] Hasmaon S, C M Thomas. *Plasmid*, 1996, 36:191~199.
- [15] Cairney J, Booth I R, Higgins C F. *J Bacteriol*, 1985, 164(3):1224~1232.