

- Electrochem. Commun, 2003;5(1): 83- 86
- [9] Cai H, Wang YQ, Fang Y Z, et al. Electrochemical detection of DNA hybridization based on silver- enhanced gold nanoparticle label[J]. Anal. Chim. Acta, 2002; 469(2): 165- 172
- [10] Wang J, Liu G D, Merko? i A. Particle- based detection of DNA hybridization using electrochemical stripping measurements of an iron tracer[J]. Anal. Chim. Acta, 2003; 482(2): 149- 155
- [11] Cai H, Zhu N N, Fang YZ, et al. Cu@ Au alloy nanoparticle as oligonucleotides labels for electrochemical stripping detection of DNA hybridization[J]. Biosens. Bioelectron, 2003; 18(11): 1311- 1319
- [12] Cheng G F, Zhao J, Tu Y H, He P G, Fang Y Z. A sensitive DNA electrochemical biosensor based on magnetite with a glassy carbon electrode modified by multi- walled carbon nanotubes in polypyrrole[J]. Anal. Chim. Acta, 2005; 533(1): 11- 16
- [13] 李静,秦晓民,丁焕平等. 磁性纳米微粒分离中药蛋白质的实验研究[J]. 生物磁学, 2005, 5(2): 1- 4
- [14] 王明华. 磁性纳米材料[J]. 生物磁学, 2002, 2(2): 12
- [15] Wang J, Liu G D, Jan M R, Zhu Q. Electrochemical detection of DNA hybridization based on carbon- nanotubes loaded with CdS tags. Electrochem. Commun, 2003, 5(12): 1000- 1004
- [16] Wang J, Polsky R, Danke X. Silver- Enhanced Colloidal Gold Electrochemical Stripping Detection of DNA Hybridization[J]. Langmuir, 2001, 17(19): 5739- 5741
- [17] Cai H, Xu Y, Zhu ZZ, et al. An electrochemical DNA hybridization detection assay based on a silver nanoparticle label[J]. Analyst, 2002, 127(6): 803- 808
- [18] Wang J, Liu G, Merko? i A. Electrochemical Coding Technology for Simultaneous Detection of Multiple DNA Targets[J]. J. Am. Chem. Soc, 2003; 125(11): 3214- 3215
- [19] Zhu N N, Cai H, Fang Y Z, et al. Tris(2, 2'- bipyridyl) cobalt(III) - doped silica nanoparticle DNA probe for the electrochemical detection of DNA hybridization[J]. Anal. Chim. Acta, 2003, 481(2): 181- 189
- [20] Wang J, Polsky R, Merko? i A, et al. "Electroactive Beads" for Ultrasensitive DNA Detection[J]. Langmuir, 2003; 19(4): 989- 991
- [21] Palecek E, Billova S, Havran L, et al. DNA hybridization at microbeads with cathodic stripping voltammetric detection[J]. Talanta, 2002, 56(5): 919- 930
- [22] Palecek E, Fojta M, Jelen F. New approaches in the development of DNA sensors: hybridization and electrochemical detection of DNA and RNA at two different surfaces[J]. Bioelectrochem, 2002, 56(1P2): 85- 90
- [23] Wang J, Dong GL, et al. Electrochemical stripping detection of DNA hybridization based on cadmium sulfide nanoparticle tags[J]. Electrochem. Commun, 2002, 4(9): 722- 726

趋磁细菌及其应用于生物导航的研究进展^{*}

东南大学生物电子学国家重点实验室 (南京 210096) 何世颖

东南大学生物科学与医学工程系 (南京 210096) 顾宁

摘要:趋磁性细菌是一种由于体内含有对磁场具有敏感性的磁小体,而能够沿着磁力线运动的特殊细菌,本文综述了趋磁细菌的分布、分类、特性、磁小体研究以及趋磁细菌在生物导航方面的研究进展。

关键词:趋磁细菌; 生物导航; 磁小体

Research on Magnetotactic Bacteria and the Application in Bio- navigation

HE Shi- ying, GU Ning

State Key Laboratory of Bioelectronics, Southeast University, Nanjing 210096, China

Department of Biomedical Engineering, Southeast University, Nanjing 210096, China

ABSTRACT: Magnetotactic bacteria is a certain bacteria whose swimming direction could be manipulated by magnetic fields, due to the discovery of unique intracellular structure of small magnetic particles known as magnetosomes. Their distribution, classification, characteristic, its magnetosome, and the bio- navigation were introduced in this article.

Key words: magnetotactic bacteria; Bio- navigation; magnetosome

前言

生物磁现象的研究是目前高新技术活动中活跃的领域之一,生物磁导航是国内外研究的热点。磁场充满了生物生存是整个空间,1975年Blakemore发现了趋磁细菌^[1],趋磁细菌是有磁性的微生物,它们体内有一个或几个质点,几乎完全是由纯磁物质构成的立方磁性小体,使它们借助自身的鞭毛沿着与地磁场平行的方向运动^[2]。趋磁细菌沿地磁场磁力线迁移的能力可作为一种模式来研究地磁场对生物系统的影响,许多生物现象都与磁场有关,科学家发现,鸽子的头颅骨和喙部,嵌有一些细微的天然磁铁,它们像指南针一样为鸽子

导航。海豚、金枪鱼、海龟、候鸟、蝴蝶甚至某些海藻体内,都有微小磁体,但这些生物对外加磁场的反应不如趋磁细菌明显,了解趋磁细菌的趋磁行为可以为生物体内的类似的磁性导向提供基础。

本文介绍了国内外趋磁细菌和磁小体的研究现状,以推动趋磁细菌的深入研究,特别在生物导航方面的研究。

1 趋磁细菌的分类和运动特性

Blakemore将趋磁细菌作为单独的类群^[3],将它们分为两个属:趋磁水生螺菌属,和双丛生球菌属,目前发现的趋磁细

* 基金项目: 国家 863 计划重点课题(2004AA302G40), 预研基金项目(51409030405JW0604)

作者简介: 何世颖(1978-), 女, 博士生; hshiyng@seu.edu.cn, 025- 83792576, 13951679605

顾宁, 男, 博士, 教授, 博士生导师, guning@seu.edu.cn

收稿日期: 2006- 01- 18, 接受日期: 2006- 02- 16

菌都是革兰氏阴性菌,趋磁水生螺菌属的主要特征是,形态为弧菌或杆菌,细胞两端生有鞭毛,胞内可积累聚 β -羟丁酸,好氧或厌氧生长,化能有机营养型,以有机酸或氨基酸为碳源,一般不利用碳水化合物,多存在于淡水环境中。 $G+Cmol\%$ 为 49–66,此属的代表菌株是 MS-1,而双丛生球菌属的菌株到目前为止还没有获得纯培养,它们主要分布于氧分压低的水底淤泥,细胞为球形的革兰氏阴性细菌,以两个相邻的鞭毛丛运动,细胞氧化酶反应为阴性,含硫量较高, $G+Cmol\%$ 为 61–62。目前发现的磁细菌在形态上是多样性的^[4,5]:有不同大小的单细胞球菌, (magnetic coccus, MC), 有多细胞聚合的球菌 (multicellular coccoid or manetotactic many-celled prokaryote, MMP), 有不同长短的棒状杆菌 (rods of varying dimensions, MR), 还要弧菌 (Marine vibrios, MV), 和螺旋状菌 (marine spirilla, MS)。趋磁细菌的代谢类型也是多样的:有厌氧型、微好氧和好氧型等。

趋磁细菌的趋性运动发现有两类,即在北半球发现的趋磁菌趋向地磁 S 极,沿地磁力线往北向下运动,而存在于南半球的趋磁菌则趋向地磁 N 极,沿地磁力线往南向下运动,在赤道附近的趋磁菌则二者皆有^[6]。Michael 在研究趋磁细菌运动后,提出趋磁细菌在水中的运动有成带现象,这一方面取决于细胞个体之间的磁场力作用,一方面由于细菌同向平行移动时细菌个体间的水流力作用。趋磁细菌在水中运动形成了稳定的带状分布,分布带以低于单个细菌的速度移动,快速运动的细菌可以穿越分布带,如果细菌的运动速度低,以致接近于分布带的移动速度,细菌将不能穿过而被分布带捕获,这可能由于位于中央的多数细菌产生的磁场作用于分布带边缘细菌的结果^[7]。

2 趋磁细菌的分布及分离培养

趋磁细菌的分布很广,在地球南、北半球的海洋、湖泊、土壤中均有发现了趋磁细菌。根据生态分析,趋磁细菌生活环境的要求,不同种类的趋磁细菌生活在不同的区域,这种分布主要是由于水体中氧硫浓度和溶解性铁源浓度不同,随着水层的加深,溶解氧的浓度降低,溶解硫的浓度增加,因此,在水体上层,主要是兼性厌氧型和微好氧型,在水体深处和土壤中,主要是厌氧型。

据文献报道,国外所发现的趋磁性细菌主要是在海洋沉积泥中及潮湿的草原土壤中,如 Blakemore 在 1975 年发现的 MS-1^[1],该类菌是 G- 弧菌,厌氧生长,菌内磁小体含量较高,磁性物质主要是铁氧化物及铁硫化物,有关趋磁菌的一些较深入的研究工作都是以此菌为材料进行的。因此它是目前了解最清楚的一种趋磁菌,并且通过培养还获得了该菌无趋磁特性的变异株^[8];各国科学家不断从南北美洲、大洋洲、欧洲及日本等地的海洋、湖泊、淡水池塘底部的表层淤泥中分离出各种类型的趋磁菌。1988 年 Bazylnski 等从海底含硫丰富的沉积物中分离纯化出一种近似螺旋状的趋磁弧菌^[9],简称 MV-1,它不仅在 $G+C\%$ 、形态及其它特性方面不同于 MS-1,更重要的是它在微好氧及厌氧条件下都能合成磁小体。1991 年 Matsunaga 等人从东京的淡水池塘中分离纯化出好氧生长的螺旋形趋磁菌^[10],简称 AMB-1,它具有氧化酶活性,这种菌在改良过的培养基上生长 4 天后,磁敏感细胞浓度可达 1.4×10^9 cell/mL,超声波破碎细胞后,磁小体收获量达 2.6 mg/L。它在琼脂平板上能形成规则的圆形棕黑色菌落。1992 年他们又进行了 AMB-1 好氧生长的呼吸抑制试验,对其铁运输系统及磁小体形成过程进行了研究^[11]。1993 年 Sakaguchi 等分离纯化出异养的硫还原菌 RS-1^[12],它在有氧情况下或在培养基中缺乏硫时皆不生长,因此只有在有硫存在且严格厌氧时才能生长并在菌体内产生硫化铁颗粒。

我国南北淡水湖泊和土壤中均分离出了趋磁性细菌,卫

扬保等人分离纯化出的东湖趋磁球菌 WD-1^[13];在西安段家坡黄土、辽宁盖县棕壤土中也分离出了趋磁性细菌黄土趋磁杆菌 HMB-1^[14],且磁小体内含钴,同时发现其分布与黄土剖面的土壤磁化率呈正相关性,即磁化率高的层位,其趋磁菌分布量较多,菌体内磁小体颗数也多,约 15–20 颗/细胞;在磁化率较低的层位则其分布量较少,菌体内磁小体数只有 0–2 颗/细胞。

中科院海洋研究所从海洋中筛选获得一株好氧、高效产生磁小体的趋磁细菌^[15]YSC-1,16SrDNA 序列,分析表明该菌株是 Rosebacter 属的新种。通过对其生长和磁小体合成的培养条件进行了优化,完成了 5L 发酵罐培养,获得菌体数量 1.7×10^{10} 细胞/L,建立了磁小体初步分离纯化技术,电镜观察表明每个细胞含有一个磁小体。

3 趋磁细菌磁小体形成及颗粒特征

3.1 磁小体的形成

趋磁细菌能吸收外界的铁元素,并在体内合成具有磁性的铁化合物晶体,即磁小体。一般认为这种微生物对于吸收周遭环境中的铁并浓缩堆积在细胞体内有良好的能力,培养环境并不须大量的铁,目前对于磁球的形成过程尤其是微生物如何去控制磁性结晶结构的机制尚未完全了解。自然界中,绝大多数的磁性菌是合成 Fe_3O_4 磁体, Fe_3S_4 磁体只有在海洋中含硫的环境会发现。然而在实验室培养磁性菌并不容易,面临的挑战之一是氧气的供应,氧气是一个非常重要的因素,又因为这些微生物只能生活在介于微氧和无氧之间转换的环境中,过多或过少的氧气浓度都会影响微生物增长速率进而降低磁性结晶生产的效率。 Fe_3O_4 磁体的产生必须是一个微氧的环境,溶氧的浓度介于 2 μM 到 7 μM 之间, Fe_3S_4 磁体则需要一个无氧的状态才会形成。磁体上的铁成分来自于环境中的 Fe^{+2} 或 Fe^{+3} ,但因为 Fe^{+2} 高溶解度且易被吸收,所以一般于高铁环境时微生物会倾向于吸收 Fe^{+2} ,于低铁环境时才会键结 Fe^{+3} 。

Frankel^[16]研究了 MS-1 菌株形成磁小体的过程,认为 Fe_3O_4 按下列顺序形成: 奎尼酸铁 (Fe_3+) $\rightarrow Fe^{2+} \rightarrow$ 低密度水合 $Fe_2O_3 \rightarrow 5Fe_2O_3 \cdot 9H_2O \rightarrow Fe_3O_4$ 。水合 Fe_2O_3 向磁小体的转变是一个缓慢的过程,包括 Fe^{3+} 的脱水、溶解、重新沉积和部分还原。新生成的水合 Fe_2O_3 颗粒溶解形成混合价态的羟基化合物,紧接着这些离子在包膜表面进行成晶过程,从而启动磁小体形成。前体物不断溶解,并把 $Fe^{3+} - Fe^{2+}$ 复合物离子掺入到晶体晶格中,这样磁小体就不断生长。

3.2 磁小体颗粒的特性

磁小体可以在细菌体内按照磁力线方向排列,具有极性,使得细菌对磁场敏感,具有趋磁性质。不同菌株产生的磁小体具有不同的外观^[1,17,18],有八面体、立方体、长方体、球状体、水滴状等,成分为 Fe_3O_4 、 Fe_3S_4 ,测量结晶长轴部分大小约为 35–120 nm,也有长 300 nm 的结晶,磁场取向易受热能影响,因而不产生残留磁化。磁小体的磁矩比普通的顺磁性大得多,并具有超顺磁性的性质。磁小体的单晶体性对细菌趋磁性是适宜的。

磁小体产生的数量随着菌株的不同也有所不同,包括一条至多条磁小体链,有的只有 1–2 颗磁小体,而有的甚至会高达 1000 颗的结晶,排列成像五条绳子一样并组成管束。虽然结晶的形状、大小和生产数量都会随细菌的种类而不相同,然而每颗磁性结晶表面都会有一层生物性的膜包裹着,膜的厚度大约有 10 nm 上下,这种磁性结晶且具有膜包裹着的构造称为磁体 (magnetosomes)。包覆膜的成分包含了蛋白质,目前的研究认为这蛋白质对于磁体形状和大小的控制以及运输铁离子聚集成磁体有很大的关系。磁小体包膜和细胞膜是不连续的,在其上面发现有两种特异性蛋白质,分子量分别为

15500和16500道尔顿,它们在磁小体合成中可能具有特殊作用,磁小体包膜在合成磁小体的过程中具有以下几方面作用:把每一磁小体颗粒保持在细胞中一定位置;限制磁小体颗粒的体积,使其处于稳定的单畴畴晶范围内;参与磁小体形成过程,一方面作为结构成分,另一方面作为某些酶活性部位,包括控制磁小体包膜内的氧化还原电势 E_n 和 pH。

4 趋磁细菌在生物导航方面的研究

趋磁细菌的研究对生物磁学和仿生学研究具有重要意义。由于生活在地球上的生物总是要受到地磁场的影响,并对这种影响表现出一定的反应,如磁场导向作用。目前发现许多生物,从低等的软体动物甲贝到家鸽和蜜蜂,甚至在大脑细胞中都发现了磁性颗粒的存在。目前已经有许多对信鸽^[19]、海龟导航的研究,也验证了这些生物的飞行或迁徙行为是由于体内的磁铁矿晶体对地磁场产生反应的结果,当磁铁矿晶体在外加短促的强磁场下改变了磁化状态,这些生物的导航也就发生了变化。趋磁细菌由于具有结构简单,在自然界中大量存在等优点,极有可能作为一种模式材料,用来了解生物体中存在磁性颗粒的功能和机理。也可为仿生学研究提供理论依据,使之能在工程技术上加以模拟和仿制,特别是对细微的地磁场也能产生响应,从而可以在导航及定向等高新技术领域里加以应用。因此趋磁菌沿地磁场磁力线迁移的能力可作为一种模式来研究地磁场对生物系统的影响。

由于趋磁细菌这种具有按照磁力线排列的特性,已经有研究开始关注于利用这一特性制作“细菌电路”,哈佛大学 Lee 等人利用微磁场研究了趋磁细菌 MS-1 在交变磁场下的运动情况^[20]。他们采用刻蚀的方法将导线排列在微米尺度上排列成一定的阵列,通过控制电流的变化来产生交变磁场,制作了微磁场陈列,电镜观察发现在微磁场内可以捕获单个的趋磁细菌并且可以控制它的定向;对于一组趋磁细菌,通过电流的变化可以在微磁场内将其分离为四组,也可以再次合并为一组细菌。这项研究结果显示了磁场可以对单个和多个趋磁细菌的运动进行精确导向控制,而且磁场的方向和强度变化都可以影响到趋磁细菌的运动和排列。

地磁场的磁场矢量在南半球向上,而在北半球向下,在磁场赤道处与地球平行,磁力线与地平线的夹角为磁倾角,在地球大部分地区,磁力线方向都是由南向北,而磁场强度则是有规律的变化,由磁极附近的 60000nT 减少到磁赤道附近的 30000nT,这种变化规律在两半球是对称的,由于磁力线的上述性质,对于导航来说,这是一种普遍存在的信息,磁力线矢量可以提供方向的信息,磁倾角和磁场强度可以提供关于位置的信息。如果将趋磁细菌组装于微电极上,观测在地磁场作用下趋磁细菌的运动变化,同时记录由于细菌运动引起的电极上的电特性变化,就得到地磁场方向和强度的信号,从而可以作为飞行或航海的导航器件。

5 展望

目前关于趋磁细菌的研究越来越多^[21-25],本实验室也已经开始了对趋磁细菌的分离培养和运动现象的研究。由于趋磁细菌培养比较困难,研究趋磁细菌在磁场中的运动行为也受到环境因素的影响较大,也就制约了研究趋磁细菌磁导向性的研究。因此要筛选出更容易培养的趋磁细菌菌株,研究趋磁细菌代谢机理和磁小体形成的分子机制,从而通过基因工程的手段来获得大量的磁小体;同时研究趋磁细菌运动的机制与它的生长、代谢和磁小体的生长都有着密切的关系。生物磁学的研究对于改进飞行器的导航系统以及观测地磁场

细微扰动等方面有重要意义,随着趋磁细菌的研究深入,它在生物磁导航和其它生物技术方面的应用前景将会更加广阔。

参考文献

- [1] Blakemore R P. magnetic bacteria[J]. Science, 1975, 190: 377- 379
- [2] Blakemore R P. magnetic bacteria[J]. Annual Review of Microbiology, 1982, 36: 217- 238
- [3] Blakemore RP. magnetic bacteria [J]. Bergey's Manual of Systematic Bacteriology, 1989, (3): 1882- 1889
- [4] Meldrum FC, Heywood BR, Manna S, et al. Electron microscopy study of magnetosomes in two cultured vibrioid magnetotactic bacteria [J]. Proc R London, 1993, 251: 237- 242
- [5] 潘继承,肖宋,李如亮,等. 趋磁细菌的研究进展[J]. 微生物学通报, 1997, 24(1): 47- 51
- [6] Matasunaga T. Application of bacteria magnet [J]. Tibtech- March, 1991, 9: 91- 95
- [7] Frankel RB, Bazylinski DA, Johnson MS, et al. Magneto- aerotaxis in marine coccid bacteria [J]. Biophys. 1997, 73: 994- 1000
- [8] Blakemore RP, Maratea D, Wolfe RS. Isolation and pure culture of a freshwater magnetic spirillum in chemically defined medium [J]. J bacteriology, 1979, 140: 720- 729
- [9] Bazylinski DA, Frankel RB, Garratt- Reed AJ, etc. Anaerobic production of magnetite by a marine magnetotactic bacterium [J] Nature, 1988, 334: 518- 519
- [10] Matasunaga T, Sakaguchi T, Tadokoro F. Magnetite formation by a magnetic bacterium capable of growing aerobically [J]. Appl Microbio Biotechnol, 1991, 35: 651- 655
- [11] Matasunaga T, Tsujimura N. Respiratory inhibitors of a magnetic bacterium magnetospirillum sp. AMB- 1 capable of growing aerobically [J]. Appl Microbio Biotechnol, 1993, 39: 368- 371
- [12] Sakaguchi T, Burgess JG, and Matasunaga T. Magnetite formation by a sulphate- reducing bacterium [J]. Nature, 1993, 365: 47- 49
- [13] 蒋伟,卫扬保. 趋磁细菌 WD- 1 的超微结构及批量培养方法 [J]. 微生物通报, 2001, 28: 44- 47
- [14] 范国昌,钱凯先,李荣森,等. 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(5): 11- 14
- [15] 高峻等. 新型海洋趋磁菌 YSC- 1 的分离及其特异性磁性纳米材料磁小体的研究 [J]. 高技术通讯, 2004, 14(5): 44- 4
- [16] Frankel RB, Bazylinski DA, Johnson MS, et al. Biomineralization of magnetic iron minerals in magnetotactic bacterium [J]. Biophys, 1997, 79: 994- 1000
- [17] Mann S, Sparks NCH, Frankel RB, et al. Biomineralization of ferromagnetic greigite and iron pyrite in a magnetotactic bacterium [J]. Nature, 1990, 343: 258- 261
- [18] Spring S, Amann R, Ludwig W, et al. phylogenetic application and ultrastructure of uncultured magnetic bacteria with usually large magnetosomes [J]. Arch Microbiol, 1998, 169: 136- 147
- [19] 王毅男,潘永信,田兰香,等. 生物磁学在鸟类定向研究中的进展 [J]. 动物学杂志, 2005, 40(5): 119- 123
- [20] Lee H, Purdon AM, Chu V, et al. Controlled assembly of magnetic nanoparticles from magnetotactic bacteria using microelectromagnets arrays [J]. Nano Letters, 2004, 4(5): 995- 998
- [21] 代群威,董发勤,吴峰春. 微生物磁学研究现状述评 [J]. 生物磁学, 2005, 5(2): 38- 40
- [22] 刘新星,谢建平,刘文斌,等. 磁选育浸矿菌种新方法的研究- 磁泳分离菌种 [J]. 生物磁学, 2005, 5(4): 5- 8
- [23] 代群威,董发勤,王媛. 趋磁性细菌的研究与应用现状 [J]. 生物磁学, 2004, 4(4): 33- 36
- [24] 谢建平,刘新星,刘文斌,等. Acidithiobacillus ferrooxidans 中磁小体的提取 [J]. 生物磁学, 2005, 5(3): 7- 10
- [25] 范国昌,李英林. 我国趋磁细菌的分布及其磁小体的研究 [J]. 科学通报, 1996, 41(4): 349- 352