

低温微生物研究进展

辛明秀 周培瑾

(中国科学院微生物研究所 100080)

关键词 低温微生物, 嗜冷菌, 耐冷菌

分类号 Q938

低温微生物指生活在低温环境下的微生物。这类微生物可细分为两类。一类是必须生活在低温条件下, 在 0℃ 可生长繁殖, 最适温度不超过 15℃, 最高温度不超过 20℃ 的微生物, 称之为嗜冷菌 (psychrophiles)。另一类是能在低温条件下生长, 在 0~5℃ 可生长繁殖, 最高温度可达 20℃ 以上的微生物, 称之为耐冷菌 (psychrotrophs)。这两类微生物的生态分布和低温生物学特性均存在差异, 它们以独特的生理功能适应环境。研究这类微生物不仅具有重要的理论意义, 而且在实际应用中已经产生了日益明显的经济意义, 同时它们是生物技术和生物产业发展的十分重要的资源。

1 低温微生物的生态分布

嗜冷菌对温度很敏感, 即使短时间受热, 20℃ 以上即引起死亡。因此嗜冷菌的分布很受环境的限制, 主要分布于终年常冷的环境中, 如南北两极地区、冰窟、高山、深海和冻土域^[1]等低温环境中。耐冷菌分布范围较宽, 从常冷到不稳定的低温环境中均可分离到, 除上述低温环境外还分布于海产品及冷冻食品上。即使南北两极常冷的环境中分离到的微生物大部分是耐冷菌, 嗜冷菌只占很少部分。低温微生物具有广泛的微生物类群。已发现的嗜冷微生物既有真细菌、蓝细菌、又有酵母菌、真菌和藻类。但直到现在尚未发现嗜冷的古细菌。在嗜冷菌中研究最多的是真细菌, 有自养菌也有异养菌, 有好氧菌也有厌氧菌。

2 温度对微生物的影响

2.1 低温影响溶质转运

低温微生物能在 0℃ 氧化外源葡萄糖。中温微生物在低于 5℃ 时不能代谢外源物质只能代谢内源物质。看来限制因素之一是在接近 0℃ 时细胞能否转运外源营养物质进入细胞的能力。Morton^[2]等研究了嗜冷的、中温的和嗜热的 *Torulopsis* 酵母菌株, 发现只有嗜冷菌能在 2℃ 运转葡萄糖。Herbert 等研究比较了嗜冷的弧菌和耐冷的假单胞菌, 结果证明嗜冷菌吸收和利用葡萄糖及乳糖的速度在 0℃ 最快, 在 15~20℃ 降低。耐冷菌相反, 在 20℃ 吸收和利用葡萄糖及乳糖最快。Emmanuelle De^[3]等研究了耐冷菌 *Pseudomonas fluorescens* 外膜蛋白 (OM), 在不同温度下蛋白含量的比例和组成没有明显差异, 但对 β -内酰胺类药物通透性有差异, 推测是通过膜蛋白结构的改变控制了对 β -内酰胺类药物的通透性。

2.2 温度对微生物代谢的影响

嗜冷菌比中温菌具有相对低的代谢速率, 这是低温微生物最显著的特征。随着温度的降低, 嗜冷菌的生长速率降低较慢。嗜冷菌的温度系数 (Q_{10}) 比中温菌的温度系数低。由于嗜冷菌的呼吸酶在高于 20℃ 时失活, 因此其呼吸酶对热的敏感性是这类微生物必须生活在低温下的一个因素。当环境温度超过其最高生长温度时, 有些嗜冷菌细胞溶解且随之死亡^[4]。

2.3 温度对蛋白质合成的影响

随着温度的降低,细胞内蛋白质的合成速率降低,其一是由于低温下分子内氢键增加导致酶的折叠增加,从而降低了酶的催化活性。其二是由于在低温下单个酶分子的合成减少。温度影响蛋白质合成速率的精确机制还不完全清楚。从嗜冷酵母 *Candida gelida* 提取的核糖体于 40℃ 处理 5min 即失去活性,与 tRNA 的结合能力降低。也有一些研究者发现低温对中温菌蛋白质合成过程中 mRNA 翻译的精确程度有影响,但却不影响低温微生物^[5]。温度对蛋白质合成的影响还表现在当微生物的生长温度突然升高或降低时细胞中可诱导合成应激蛋白(stress protein)。

2.4 温度影响细胞分裂、基因调控和 RNA 的合成

当温度提高时会影响低温微生物细胞分裂的正常进行^[6]。原因可能有二,其一是影响细胞分裂早期 DNA 的复制及新生 DNA 分子的分开,其二是影响细胞分裂晚期新细胞壁的分开。温度升高时低温微生物细胞中的阻遏蛋白可能发生空间构象的变化,从而更紧密地与 DNA 结合并阻碍酶的形成。嗜冷菌和耐冷菌在环境温度超过它们的最适温度时 RNA 的合成便停止。如耐冷菌 *Micrococcus cryophilus* 当温度升高时蛋白质和 DNA 的含量保持不变,但 RNA 却急剧降低。这是由于温度升高使 RNA 酶活性增强,从而使 RNA 被降解。

3 低温微生物适应低温的分子机制

3.1 膜蛋白和脂多糖的磷酸化和去磷酸化

感受环境信号的变化对于生物适应环境是非常重要的。微生物感受环境温度的变化是很复杂的。在病原菌 *yersiniae* 中, *lcrF* 基因被认为和感受温度有关^[7]。耐冷菌生活在 0~30℃ 的温度范围内,不同基因的表达是对温度波动的适应,这就要求首先感受外界温度的变化。因为磷酸化和去磷酸化机制是生物感受环境信号的首要机制,为此 Ray^[8,9] 等研究了耐冷菌 *Pseudomonas syringae* 脂多糖和膜蛋白的磷酸化和温度变化的关系,发现该菌的脂多糖激酶在较高温度时使脂多糖更多的发生磷酸化,而在较低温度时则较少发生磷酸化。同时发现该菌存在三种膜蛋白,这三种膜蛋白在不同温度时发生磷酸化的情况不同。其中 30kD 蛋白质在温度升高时发生磷酸化,很可能是一个组氨酸激酶。但对磷酸化和感受温度变化的关系还所知甚少。

3.2 调整膜中的脂类,维持膜的营养吸收功能

膜中脂的组成提供了膜流动和相结构(固相和液相)的正确条件从而保证膜中镶嵌的蛋白质发挥正确的功能,如离子和营养的吸收、电子转移等^[10]。当微生物处于低温时最经常看到的变化是增加细胞膜中不饱和脂肪酸的比例^[11],不饱和脂肪酸某种程度的增加会引起脂类溶化点的降低,从而使膜中脂类处于液态和流动态。因此微生物必须通过调节脂类的组成来调节膜的流动性和相的结构以此适应环境温度的变化。中温酵母和嗜冷酵母同时处于低温时嗜冷酵母合成的不饱和脂肪酸量高于中温菌。嗜冷细菌处于低温时除了不饱和脂肪酸的改变外尚有其他变化如缩短酰基链的长度、增加脂肪酸支链的比例和减少环状脂肪酸的比例等。这些变化对于低温时维持膜的流动性具有重要意义。

3.3 蛋白质和蛋白质合成

中温菌特别是高温菌中的蛋白质是冷不稳定的,随温度降低,活性也逐渐降低。嗜冷菌中的蛋白质在低温下能保持结构上的完整性和催化功能。从低温菌中分离出的酶蛋白在低温下是稳定的且具有很高的催化活性。高催化活性是由于酶蛋白分子能形成相对松动和具有弹性的结构。另一方面,嗜冷菌中的蛋白质是以单体和多聚物的形式存在的。如嗜冷菌 *Vibrio* sp. 的异柠檬酸脱氢酶,其单体形式比二聚体形式对热敏感,当温度超过 15℃ 其单体即迅速失去活性,但当温度降至 0℃ 时又立刻恢复活性。

低温微生物在它们的生长温度范围内有 10~15% 的细胞内蛋白质是通过积极的调节机制合成的^[12]。温度影响细胞中总蛋白质的合成或某种蛋白质的合成是通过影响核糖体上蛋白质的翻译速率或是通过影响某种特异 mRNAs 翻译的起始或翻译的速率实现的。体外实验表明,在同样低温条件下嗜冷菌体外

蛋白质翻译的错误率最低。Szer从耐冷菌的核糖体分离到一种蛋白质(FactorP)^[13]具有在0℃翻译蛋白质的能力。这种蛋白质能使大肠杆菌的核糖体在0℃翻译PolyU。这种蛋白质在30℃即可失活。Oshima^[14]等的研究表明嗜冷菌在低温下合成蛋白质的能力是由于核糖体的30S亚基,但也有结果显示低温下蛋白质的合成能力与细胞中的可溶性因子有关^[15]。许多中温菌不能在0℃合成蛋白质一方面是由于其核糖体对低温的不适应,翻译过程中不能形成有效的起始复合物,另一方面是由于低温下细胞膜的破坏导致细胞溶解死亡。由此可见在蛋白质合成过程中嗜冷菌适应低温的能力表现为翻译机制的适应性以及在低温下能保持完整的膜结构。

3.4 冷休克蛋白(cold shock protein)和冷适应

当微生物的生长温度突然降低时细胞会诱导合成一组冷休克蛋白,它们在对低温的生理适应过程中发挥着重要作用^[16]。低温微生物,特别是耐冷菌生活在温度波动的环境中,它们必须忍受温度的快速降低,这与它们产生的冷休克蛋白有关。Julseth等^[17]研究了嗜冷酵母的冷休克反应。当生长温度从21℃降为5℃,嗜冷酵母在12h内可诱导合成26种冷休克蛋白,这些蛋白是对冷刺激的反应。Potier^[18]等发现在10℃耐冷菌合成冷休克蛋白。而这些蛋白在较高温度时不被合成。这说明冷休克蛋白与适应低温环境是相联系的。但冷休克蛋白与微生物适应低温的具体机制尚需进一步阐明。

4 低温微生物的应用及前景

在地球这个大的生态系统中存在着广泛的低温环境,低温微生物就生活在这些特殊的生态环境中,对其进行研究既可丰富生物多样性的研究内容,还可利用其特殊的基因及产物服务于人类,是生物资源应用的重要方面。自然界中许多污染发生在河流、湖泊及地下水等相对低温的环境中,在这些环境中低温微生物对污染物的降解与转化、对自然界的物资循环起重要作用。研究表明耐冷菌能矿化甲苯等多种有机污染物^[19,20]。病原菌 *Pseudomonas* 通过产生冰核蛋白而引起植物冻害。冰晶产生细菌在-3到-5℃形成冰晶。将冰晶形成负突变菌株接种到植物上,这些植物可免遭冰晶产生菌的攻击,从而对植物起到保护作用^[21]。低温微生物进行低温发酵可用来生产许多风味食品且可节约能源及减少中温菌的污染。有些分离自嗜冷菌的水解酶在相对低的温度下具有活性^[22]。分离自低温微生物的脂酶、蛋白酶及 β -半乳糖苷酶在食品工业和洗涤剂添加剂中具有很大潜力^[23]。低温微生物在低温条件下具有相对高的生长速率且不受中温菌的污染,因而具有广泛的应用前景。

参 考 文 献

- [1] John P B, Sharee A M, Mark V B et al. *Appl Environ Microbiol*, 1997, 63(8):3068~3078.
- [2] Morton H, Watson K, Streamer M. *FEMS Microbiol Lett*, 1978, 4:291.
- [3] Emmanuelle de, Nicole Orange, Nathalie Sathalie Saint et al. *Microbiology*, 1997, 143:1029~1035.
- [4] Haight R D, Morita R Y. *J Bacteriol*, 1966, 92:1388~1393.
- [5] Hochachka P W, Somero G N. Temperature adaptation. In: *Biochemical Adaptation*. Princeton. NJ: Princeton University Press, 1984, 355~499.
- [6] Gounot A M. *Can J Microbiol*, 1976, 22:839~846.
- [7] Hoe N P and Goguen J D. *J Bacteriol*, 1993, 175:7901~7909.
- [8] Ray M K, Seshu K G, Shivaji S. *J Bacteriol*, 1994, 176(14):4243~4249.
- [9] Ray M K, Seshu K G, Shivaji S. *Microbiology*, 1994, 140:3217~3223.
- [10] Herbert R A. *Molecular Biology and Biotechnology of Extremophiles*. Glasgow and London, New York: Chapman and Hall, 1992.
- [11] Toshio Sakamoto, Shoichi Higashi, Hajime Wada et al. *FEMS Microbiol Lett*, 1997, 152:33~320.
- [12] Guillou C, Guespin-Michel J F. *Appl Environ Microbiol*, 1996, 9:3319~3324.
- [13] Szer W. *Biochim Biophys Acta*, 1970, 213:159~170.

- [14] Oshima A, Fukunaga N, Sasaki S. *J Faculty of Science, Hokkaido University, Series*. 1987, **514**:1~10.
- [15] Araki T. *J Gen Microbiol*, 1991, **137**:817.
- [16] Peter G, Mohamed A M. *Arch Microbiol*, 1996, **166**:293~300.
- [17] Julseth C R, Inniss W E. *Can J Microbiol*, 1990, **36**:519~524.
- [18] Potier P, Drevet A M, Hipkiss A. *J Gen Microbiol*, 1990, **136**:283~291.
- [19] Whyte L G, Greer C W, Inniss W E. *Can J Microbiol*, 1996, **42**:99~106.
- [20] Chablain P A, Philippe G, Groboillot A *et al. Res Microbiol*, 1997, **148**:153~161.
- [21] Shimizu S, Shinmen Y, Kawashima H. *Biochem Biophys Res Common*, 1988, **150**:335~341.
- [22] Trimbur D E, Gutshall K R, Prema P *et al. Appl Environ Microbiol*, 1994, **60**:4544~4552.
- [23] Brenchley J E. *J Indus Microbiol*, 1996, **17**:432~437.

ADVANCE OF RESEARCH FOR MICROBIAL LIFE IN LOW TEMPERATURE ENVIRONMENTS

Xin Mingxiu Zhou Peijin

(*Institute of Microbiology, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100080*)