

微生物学报 *Acta Microbiologica Sinica*
52(8):1027-1032; 4 August 2012
ISSN 0001-6209; CN 11-1995/Q
<http://journals.im.ac.cn/actamicrocn>

哈氏噬纤维菌吸附纤维素的影响因素

陈凝, 徐元喜, 王慧, 卢雪梅*

山东大学, 微生物技术国家重点实验室, 济南 250100

摘要: 【目的】探索哈氏噬纤维菌 (*Cytophaga hutchinsonii*) 吸附纤维素的作用机制。【方法】通过比较不同因素对哈氏噬纤维菌吸附纤维素的影响, 包括: 菌龄、pH、温度、表面电荷、细胞活力、细胞表面蛋白、细胞表面多糖以及纤维素类似物等, 寻找在吸附过程中起重要作用的细胞成分。【结果】菌体经蛋白酶及热处理, 对纤维素的吸附能力完全丧失; 叠氮化钠、甲醛和戊二醛处理对菌体吸附能力影响不明显; 菌体经刚果红和高碘酸钠处理, 吸附能力变化不大; 菌体对纤维素底物的吸附具有特异性, 吸附作用不受纤维二糖和羧甲基纤维素的抑制。【结论】实验表明, 哈氏噬纤维菌吸附纤维素的能力与菌体表面蛋白密切相关, 而受细胞的代谢活性和胞外多糖影响较小, 推测细胞表面可能存在特异性的纤维素结合蛋白。

关键词: 哈氏噬纤维菌, 纤维素吸附, 影响因素, 表面蛋白

中图分类号: Q935 **文献标识码:** A **文章编号:** 0001-6209 (2012) 08-1027-06

哈氏噬纤维菌 (*Cytophaga hutchinsonii*) 是广泛存在于土壤中能降解纤维素的革兰氏阴性好氧细菌, 在贫瘠的条件下, 它可以迅速彻底地降解结晶度很高的天然棉纤维或滤纸, 其最适的生长条件是中温 pH 中性环境^[1-2]。哈氏噬纤维菌最早由 Walker 和 Warren 分离成功, 有极强的纤维素降解能力, 但只有极低的胞外纤维素降解酶活力和极少的葡萄糖类水解产物, 它不能够形成复杂的纤维小体结构, 其降解机制不同于厌氧纤维素降解细菌; 它不分泌可溶性纤维素酶^[3], 降解机制又不同于广泛被研究的真菌及放线菌, 因此推测它具有独特的第三种纤维素降解策略^[4-5]。本实验室刚刚建立了该菌的遗传操作体系^[6-7], 但是对其纤维素降解机制的研究国内外几乎还是空白。实验现象表明, 哈氏噬纤维菌

实现高效降解纤维素的首要条件是菌体吸附到纤维素基质表面^[8], 探索哈氏噬纤维菌对纤维素的吸附机制对揭示其独特的纤维素降解机制具有重要意义。已知纤维素降解微生物在吸附纤维素的过程中, 起关键作用的主要是纤维素酶的碳水化合物结合结构域^[9-10] (CBMs) 以及纤维小体上的 CBMs^[11-14]。但哈氏噬纤维菌中既不存在纤维小体, 绝大部分的纤维素酶也不含有 CBMs^[3], 这些特点显示出哈氏噬纤维菌具有独特的纤维素吸附机制, 关于其吸附机制的研究国内外未见报道。

为探索哈氏噬纤维菌吸附纤维素的机制, 本文从以下因素出发: 菌龄、pH、温度、表面电荷、细胞活力、细胞表面蛋白和多糖以及纤维素类似物, 研究各种因素其对哈氏噬纤维菌吸附纤维素的影响, 发现

基金项目: 国家自然科学基金 (31170051, 30870021)

* 通信作者。Tel: +86-531-88369495; Fax: +86-531-88565610; E-mail: luxuemei@sdu.edu.cn

作者简介: 陈凝 (1987-), 女, 安徽省桐城市人, 硕士, 主要研究方向环境资源微生物。E-mail: cn4036@126.com

收稿日期: 2012-02-29; 修回日期: 2012-04-26

吸附过程中可能涉及的细胞组分,初步探讨其吸附机制。

1 材料和方法

1.1 材料

1.1.1 菌种与培养条件: 哈氏噬纤维菌 (*Cytophaga hutchinsonii*) 由美国威斯康辛大学 Mark J. McBride 教授惠赠,在以葡萄糖为碳源的无机盐液体培养基中培养 (KNO_3 0.1%, $\text{K}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 0.1%, MgSO_4 0.02%, CaCl_2 0.01%, FeCl_3 0.002%, 葡萄糖 0.2%, pH 7.0–7.5)。培养温度 30℃, 转速 160 r/min。

1.1.2 主要试剂和仪器: 微晶纤维素 (microcrystalline cellulose, Merck, Germany), 纤维二糖、CMC、胰蛋白酶 (Sigma Chemical Co. USA), 蛋白酶 K (Merck, Germany), 磷酸膨胀纤维素 (自制^[16]), 其他试剂购自国药。紫外分光光度计 (UnicoTM-UV2000, 尤尼柯仪器有限公司)。JS94H 微电泳仪 (上海中晨数字技术设备有限公司)。

1.2 纤维素吸附实验分析

菌体对纤维素吸附率的测定参考 Gong 和 Forsberg 的比浊度测定法^[17], 在无机盐液体培养基中培养 30 h 至对数中期, 5000 × g 离心 10 min 收集菌体, 去除上清, 收集的菌体用 PBS (磷酸盐缓冲液) (100 mmol/L pH 7.2) 重悬, 在 600 nm 处测定菌的 OD_{600} 值, 取适量菌液, 向其中加入 500 μL 的经高压灭菌的 10% (wt/vol) 的纤维素粉悬液, 补充 PBS 缓冲液至体系总体积 4 mL, 并且使菌体 OD_{600} 值大致维持在 1.0 (不同处理时均保持菌 $OD_{600} = 1.0$, 此时菌浓度约为 1.0×10^8 /mL)。室温下 (约 25℃) 摇床 100 r/min 水平震荡 10 min, 然后自沉降 60 min (此沉降条件下只含纤维素粉的空白对照组中纤维素基本完全沉降), 测定上清 OD_{600} (A_0)。以未加纤维素粉的菌悬液自沉降后上清 OD_{600} (A_1) 为对照。以下吸附实验没做特殊说明的均按上述条件进行, 每组设 3 个平行, 实验重复 2 次, 结果取平均值。菌吸附率 A 的计算:

$$A = \frac{A_1 - A_0}{A_1} \times 100\%$$

1.3 影响菌体吸附的不同因素

1.3.1 菌龄、温度以及 pH 对吸附的影响: 菌龄的

影响: 收集培养至对数早、中、后期, 稳定期以及衰亡期的哈氏噬纤维菌, 测定不同培养时期的哈氏噬纤维菌的纤维素吸附率;

温度的影响: 收集培养至对数中期的菌体, 悬于不同温度 PBS 中 (4℃, 18℃, 30℃, 37℃, 50℃), 温育 30 min 后, 并在相应温度条件下检测吸附率。

pH 的影响: 配制 pH 分别为 5.5、6.0、6.5、7.0、7.5、8.0、8.4 的 PBS 缓冲液, 检测菌体在 pH 5.5–pH 8.4 的 PBS 溶液中的纤维素吸附率。

1.3.2 菌体与纤维素的表面电荷: 哈氏噬纤维菌培养至对数中期, 离心收集后, 分别用 pH 3–pH 8 的柠檬酸钠缓冲液稀释菌体, 至浓度 10 个/ml; 纤维素粉在上述 pH 体系下的浓度均为 0.3%。在 JS94H 微电泳仪上对菌体和纤维素粉进行 Zeta 电位分析, 数据测定重复 3 次。

1.3.3 菌体活性对吸附的影响: 热处理: 细胞悬液 100℃ 煮沸处理 10 min。

叠氮化钠处理: 菌体收集后, 悬于含不同浓度叠氮化钠 (1, 1.5, 2, 2.5, 3, 3.5 mg/mL) 的 PBS 中, 30℃ 温育 30 min。

戊二醛与甲醛处理: 菌体收集后悬于含不同浓度戊二醛 (1%, 1.5%, 2%, 2.5%, 3%, 3.5%) 和甲醛 (1%, 1.5%, 2%, 2.5%, 3%) 的 PBS 中, 30℃ 下处理 2 h。

1.3.4 细胞表面蛋白对吸附的影响: 蛋白酶处理菌体对吸附的影响: 细胞离心收集后, 在以下溶液中重悬: (1) 含 1.0 mg/mL 胰蛋白酶的 PBS (100 mmol/L pH 8.0), 37℃; (2) 含 1.0 mg/mL 蛋白酶 K 的 PBS (100 mmol/L pH 7.5), 30℃; (3) 含 100 μg/mL 的蛋白酶 K 和 0.005% TritonX-100 的 PBS (100 mmol/L pH 7.5), 30℃; (4) 含 0.005% TritonX-100 的 PBS (100 mmol/L pH 7.5), PBS (100 mmol/L pH 8.0), 37℃ 和 PBS (100 mmol/L pH 7.5) 30℃ 重悬的菌体分别为胰蛋白酶和蛋白酶 K 处理的对照。检测菌体在上述条件下处理不同时间后纤维素吸附率变化。

1.3.5 胞外多糖对吸附的影响: 刚果红的作用: 菌体收集后, 加入终浓度为 2 mg/mL 的刚果红溶液, 室温放置 30 min 后, 离心去上清, 检测吸附率。

高碘酸钠处理: 菌体收集后, 重悬于含不同浓度高碘酸钠 (1, 1.5, 2, 2.5, 3, 3.5, 4 mg/mL) 的 PBS 中, 30℃ 温育 30 min, 离心收集菌体, 检测吸附

率。

1.3.6 纤维素类似物对菌吸附的影响: 在 PBS 悬浮的菌悬液中加入纤维二糖 (1%, 2%, 3%) (wt/vol), CMC (1%) (wt/vol), 30°C 温育 30 min 后, 检测吸附率。

2 结果和分析

2.1 菌龄对吸附的影响

检测不同生长时期哈氏噬纤维菌对纤维素的吸附率, 发现对数中后期菌体吸附能力最强, 但与稳定期差异不是太大, 对数早期吸附率稍低, 衰亡期吸附能力则大大降低。

2.2 温度, pH 以及表面电荷对菌体吸附的影响

哈氏噬纤维菌吸附纤维素的能力可能受到检测环境的影响, 如温度, pH 的影响。如图 1 所示, 低温处理对菌的吸附能力影响很小, 在 20°C 左右菌的吸附能力达到最大, 其后随温度的升高吸附能力不断降低。而当温度继续升高超过 40°C 时, 菌体吸附能力显著下降, 这可能是与菌体的表面蛋白在高温的条件下逐渐变性有关, 而低温对蛋白质结果影响较小。

实验结果也发现在 pH 5.5 - pH 8.4 条件下, 菌体对纤维素的吸附基本保持稳定, 说明此 pH 条件对哈氏噬纤维菌吸附纤维素的能力没有明显影响。

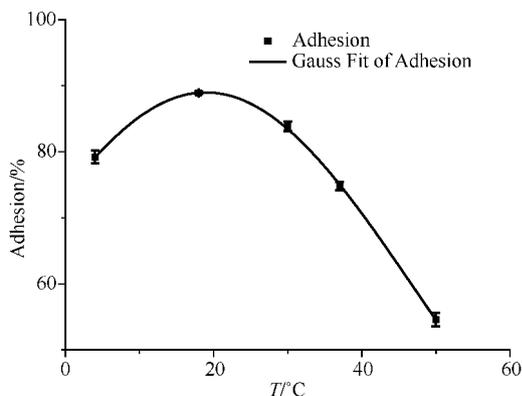


图 1 温度对菌体吸附纤维素的影响。

Fig. 1 Adhesion of cells to cellulose at different temperature.

图 2 显示了不同 pH 的柠檬酸-磷酸氢二钠缓冲液中哈氏噬纤维菌与微晶纤维素表面电荷, 发现在该菌正常生理状态 (pH 7 附近) 和检测菌体吸附纤维素能力的 pH 条件下, 菌体与纤维素均带负电荷, 因此两者之间的相互吸附不是电性吸附。

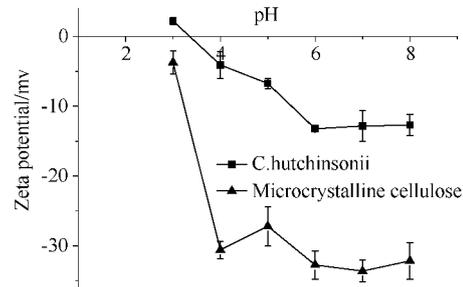


图 2 菌体与纤维素在不同 pH 下的 Zeta 电位。

Fig. 2 The Zeta potential of cells and cellulose at different pH.

2.3 菌体活力对菌体吸附的影响

热、甲醛、戊二醛和叠氮化钠处理, 能够通过不同方式影响菌体活力。实验发现, 热处理后菌体完全丧失吸附能力, 这可能与细胞蛋白完全热变性有关。甲醛与戊二醛分子中的醛基可与微生物蛋白质和核酸分子中的氨基、羧基、羟基、巯基等发生反应, 生成次甲基衍生物, 从而破坏了生物分子的活性, 戊二醛也会作用于细胞膜, 改变其通透性, 破坏酶系, 抑制 DNA、RNA 和蛋白质的合成。实验发现, 甲醛以及戊二醛的处理对菌吸附的影响很小, 原因尚不明确 (图 3a-b)。呼吸链抑制剂叠氮化钠, 能够抑制细胞的代谢活动, 但叠氮化钠的处理不仅没有降低菌的吸附能力 (图 3c), 反而有轻微增加。可以推测, 菌体的吸附能力与细胞的能量代谢之间没有直接的相关性。

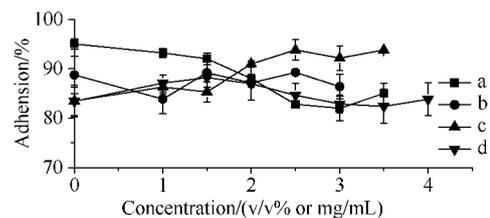


图 3 不同化学处理对菌体吸附纤维素的影响。a. 戊二醛 (v/v%); b. 甲醛 (v/v%); c. 叠氮化钠 (mg/mL); d. 高碘酸钠 (mg/mL)。

Fig. 3 Adhesion of cells to cellulose affected by different chemical treatment. a. Glutaraldehyde (v/v%); b. Formaldehyde (v/v%); c. Sodium azide (mg/mL); d. Sodium periodate (mg/mL)。

2.4 细胞表面蛋白及多糖对纤维素吸附的影响

2.4.1 细胞表面蛋白对菌体吸附的影响: 一些非纤维素降解菌 (如大肠杆菌) 和非特异性吸附蛋白质能通过非特异性吸附与纤维素发生结合^[18], 为了减

少非特异性吸附的干扰,吸附试验用的纤维素粉均预先用终浓度为 2% (wt/vol) 的酪蛋白进行屏蔽,然后离心去除上清。结果发现,酪蛋白预处理不会影响哈氏噬纤维菌对纤维素的吸附强度,说明菌体对纤维素的吸附是特异性的,不受非特异性蛋白的干扰。

图 4 显示了蛋白酶处理菌体对菌吸附的影响,菌体经 1.0 mg/mL 蛋白酶 K 以及 1.0 mg/mL 胰蛋白酶分别处理后,随着处理时间延长,菌体吸附能力不断下降至完全丧失。胰蛋白酶处理菌体后,吸附能力随处理时间的增加呈线性下降的趋势。由于胰蛋白酶的处理温度是 37℃,一定程度影响菌体的吸附,但不影响吸附曲线的下降规律。蛋白酶 K 处理后,吸附能力则呈现倒“S”曲线,处理 1 h 后菌体吸附能力开始急速下降,2 h 后吸附率降低 90% 左右,以后下降趋势变缓。

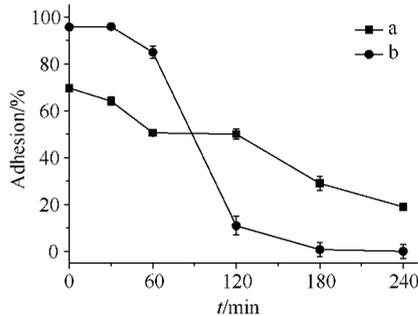


图 4 蛋白酶处理对菌体吸附纤维素的影响

Fig. 4 Adhesion of cells to cellulose affected by proteinase. a. 1.0 mg/mL Proteinase K; b. 1.0 mg/mL Trypsin.

在降低蛋白酶 K 用量到 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 时,蛋白酶 K 处理对菌体吸附能力的影响明显趋缓(图 5a),而同时加入 0.005% TritonX-100 与蛋白酶 K 一起处理菌体,则菌体吸附能力显著下降,直至完全丧失吸附能力(图 5c),其变化曲线与 1.0 mg/mL 蛋白酶 K 处理时的效果类似(图 4a)。而 0.005% TritonX-100 单独处理,则对吸附能力没有影响(图 5b)。TritonX-100 是一种对膜蛋白具有抽提作用的表面活性剂,它的加入能促进膜上蛋白的暴露和降解,因此推测参与吸附的相关蛋白可能是镶嵌在细胞外膜中。

2.4.2 胞外多糖对菌体吸附的影响:刚果红能够与哈氏噬纤维菌胞外多糖结合,使菌体呈现肉眼可见的颜色变化。但是实验发现刚果红的添加对菌体的吸附能力没有影响。高碘酸钠是一种多糖氧化剂,

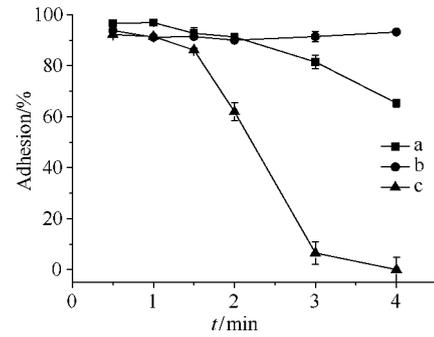


图 5 蛋白酶 K 和 TritonX-100 对菌体吸附纤维素的影响

Fig. 5 Adhesion of cells to cellulose affected by proteinase K and TritonX-100. a. 100ug/mL Proteinase K; b. 0.005% TritonX100; c. 100ug/mL Proteinase K and 0.005% TritonX100.

能够氧化菌体表面多糖的羟基,使多糖变性。不同浓度的高碘酸钠氧化细胞表面多糖后,菌体吸附能力也没有明显变化(图 3d)。这些实验说明,胞外多糖对菌体吸附纤维素影响不大。

2.5 纤维素类似物对菌体吸附的影响

有研究表明添加 0.1% 的 MC 或 CMC-Na 能够抑制一些厌氧微生物如黄色瘤胃球菌对纤维素的吸附,而添加 1% 的纤维二糖时没有抑制作用,说明这类细菌的纤维素结合因子识别位点比重复的纤维二糖单元要大得多^[19]。而在哈氏噬纤维菌中,即使添加 1% 的 CMC-Na 或 3% 纤维二糖对菌体的吸附也几乎没有影响。

2.6 菌体对不同多糖底物的吸附

哈氏噬纤维菌对不同的底物的吸附能力不同,我们的吸附实验表明菌体对纤维素类底物具有很强的特异性,而不能吸附其他不溶性多糖,如木聚糖、壳聚糖和几丁质。哈氏噬纤维菌对不同形态的纤维素吸附能力也不同,我们检测了菌体对磷酸膨胀纤维素(PSC)以及微晶纤维素的吸附,其吸附曲线如图 6 所示。在保持菌浓度为 $1.0 \times 10^8 / \text{mL}$ 的条件下,两种不同形态的纤维素与菌体吸附达到饱和时的纤维素量与吸附率均有很大差异。哈氏噬纤维菌对微晶纤维素的饱和吸附率达到 93% 以上,PSC 饱和吸附率约 70%。不同的纤维素在达到饱和和吸附时的用量也不同,微晶纤维素的用量为 50 mg, PSC 则为 125 mg 左右。这说明微晶纤维素表面的吸附位点更多,对菌体的吸附能力也更强。

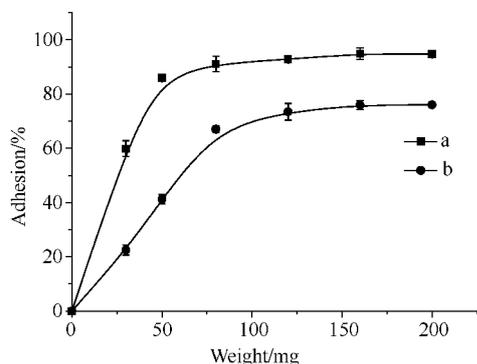


图 6 菌体对不同纤维素的吸附。a. 微晶纤维素; b. 磷酸膨胀纤维素

Fig. 6 The adhesion of cells to different kinds of cellulose. a. Microcrystalline cellulose; b. PSC.

3 讨论

哈氏噬纤维菌菌体与纤维素的直接接触是降解纤维素的前提条件, 研究菌体与纤维素的吸附机制对于探索其独特纤维素降解机制具有重要意义。哈氏噬纤维菌的自然生活环境为中性, 研究表明在 pH 5.5 - 8.4 范围内哈氏噬纤维菌对纤维素的吸附能力变化不大, 而且在此 pH 范围内, 菌体和纤维素颗粒均带负电, 说明菌体与纤维素的吸附不是表面电荷的相互作用。温度对吸附的影响较明显, 最适的吸附温度为 20℃, 低温条件下哈氏噬纤维菌的吸附能力虽有所下降但并不明显, 4℃ 时仅下降 11%, 而当温度高于 40℃ 时吸附能力则明显下降。这些结果与该菌是一种生活在自然环境中的中温菌相一致。其性质与生活在牛瘤胃中的一些纤维素降解瘤胃细菌明显不同, 低温对瘤胃细菌的吸附能力有显著的抑制作用^[20]。

除热处理外, 多种化学试剂处理灭活菌体后对纤维素的吸附能力并没有明显影响, 这说明细胞的代谢活性不是菌体吸附纤维素的先决条件, 吸附过程可能不需要能量的供给。结果表明哈氏噬纤维菌的吸附作用受胞外多糖影响较小, 而与细胞表面蛋白密切相关。这些蛋白可能镶嵌在细胞外膜中, 其对纤维素的吸附不受非特异性蛋白的干扰, 因此推测哈氏噬纤维菌表面可能存在一些特异性的纤维素吸附蛋白, 这将是我们的下一步研究的重点。

实验发现纤维二糖不能抑制菌体对纤维素的吸附, 说明菌体表面的吸附位点大于纤维二糖单元。

菌体对结晶度较高的微晶纤维素比磷酸膨胀纤维素具更强的吸附能力, 而可溶性的羧甲基纤维素并不能抑制吸附作用, 因此推测哈氏噬纤维菌的吸附能力与纤维素的结晶状态相关, 可能更倾向于吸附结晶态的纤维素, 这方面还需要更多的实验证明。对哈氏噬纤维菌表吸附纤维素机制的研究将为揭示其独特的纤维素降解机制提供重要的帮助。

参考文献

- [1] Larkin JM. Nonphotosynthetic, nonfruiting gliding bacteria//Staley JT, Bryant MP, Pfennig N, Holt JG. ed. vol. 3. Bergey's Manual of Systematic Bacteriology. Baltimore MD: Williams and Wilkins, 1989: 2010-2138.
- [2] Reichenbach H. The order Cytophagales//Balows A, Truper HG, Dworkin M, Harder W, Schleifer KM. ed. The Prokaryotes. New York, New York: Springer-Verlag, 1992: 3631-3675.
- [3] Xie G., Bruce DC, Challacombe JF. Genome sequence of the cellulolytic gliding bacterium *Cytophaga hutchinsonii*. *Applied and Environmental Microbiology*, 2007, 73 (11) :3536-3546.
- [4] Wilson DB. Evidence for a novel mechanism of microbial cellulose degradation. *Cellulose*, 2009, 16 (4) :723-727.
- [5] Wilson DB. Three microbial strategies for plant cell wall degradation. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 2008, 1125 (1) :289-297.
- [6] Xu YX, Ji XF, Chen N, Li PW, Liu WF, Lu XM. Development of replicative oriC plasmids and their versatile use in genetic manipulation of *Cytophaga hutchinsonii*. *Applied and Environmental Microbiology*, 2012, 93 (2) :697 - 705.
- [7] Ji XF, Xu YX, Zhang C, Chen N, Lu XM. A new locus affects cell motility, cellulose binding, and degradation by *Cytophaga hutchinsonii*. *Applied and Environmental Microbiology*. DOI 10.1007/s00253-012-4051-y.
- [8] Chang WT, Thayer DW. The cellulase system of a *Cytophaga* species. *Canadian Journal of Microbiology*, 1977, 23 (9) :1285-1292.
- [9] Wilson DB. Biochemistry and genetics of actinomycete cellulases. *Critical Reviews in Biotechnology*, 1992, 12 (1-2) :45-63.
- [10] Alisdair BB, David NB, Harry JG, Gideon JD. Carbohydrate-binding modules: fine-tuning polysaccharide recognition. *Biochemical Journal*, 2004, 382 (3) , 769 - 781.

- [11] Bayer EA, Shimon LJW, Shoham Y, Lamed R. Cellulosomes—structure and ultrastructure. *Journal of Structural Biology*, 1998, 124 (2-3) :221-234.
- [12] Beguin P, Lemaire M. The cellulosome: an exocellular, multiprotein complex specialized in cellulose degradation. *Critical Reviews in Biochemistry and Molecular Biology*, 1996, 31 (3) :201-236.
- [13] Doi RH, Goldstein M, Hashida S, Park JS, Takagi M. The Clostridium cellulovorans cellulosome. *Critical Reviews in Biotechnology*, 1994, 20 (2) :87-93.
- [14] Morrison M., Miron J. Adhesion to cellulose by Ruminococcus albus: a combination of cellulosomes and Pil-proteins? *FEMS Microbiology Letters*, 2000, 185 (2) : 109-115.
- [15] Jun HS, Qi M, Gong J, EgboSimba EE, Forsberg CW. Outer membrane proteins of *Fibrobacter succinogenes* with potential roles in adhesion to cellulose and in cellulose digestion. *Journal of Bacteriology*, 2007, 189 (19) :6806-6815.
- [16] Gong J, Forsberg CW. Factors affecting adhesion of *Fibrobacter succinogenes* subsp. *succinogenes* S85 and adherence-defective mutants to cellulose. *Applied and Environment Microbiology*, 1989, 55 (12) :3039-3044.
- [17] Forsberg CW. Mechanism of bacterial attachment to dietary fibre in the rumen//Taylor TG, Jenkins NK. ed. Proceedings of the 13th international congress on nutrition. London: John Libbey, 2001: 193-195.
- [18] Miron J, Ben GD, Morrison M. Adhesion mechanisms of rumen cellulolytic bacteria. *Journal of Dairy Science*, 2001, 84 (6) :1294-1309.
- [19] Minato H, Suto T. Attachment of rumen bacteria isolated from bovine rumen to in vitro and elution of bacteria attached there from. *Journal of General and Applied Microbiology*, 1978, 24:1-16.

Factors affecting adhesion of *Cytophaga hutchinsonii* to cellulose

Ning Chen, Yuanxi Xu, Hui Wang, Xuemei Lu*

State Key Laboratory of Microbial Technology, Shandong University, Jinan 250100, China

Abstract: [Objective] The aim of the study was to understand the mechanism of *Cytophaga hutchinsonii* adhesion to cellulose. [Methods] The effects of different factors on the bacterial adhesion to cellulose were studied, including bacterial age, pH, temperature, cell surface charge, cell viability, cell surface protein, extracellular polysaccharides, and cellulose derivatives. [Results] Treatments with heat and protease reduced the adhesion remarkably. But treatments with NaN_3 , formalin, glutaraldehyde, Congo red and NaIO_4 had only slight effect on the adhesion. The adhesion of *Cytophaga hutchinsonii* cells to microcrystalline cellulose was specific and not inhibited by cellobiose or carboxymethyl cellulose. [Conclusion] The adhesion of *Cytophaga hutchinsonii* to cellulose was closely related to cell surface proteins, while cellular metabolic activity and extracellular polysaccharides had only slight effect on it. It is speculated that there might be some specific cellulose binding proteins on the cell surface.

Keywords: *Cytophaga hutchinsonii*, adhesion, factors, surface protein

(本文责编:王晋芳)

Supported by the National Natural Science Foundation of China (31170051,30870021)

* Corresponding author. Tel: +86-531-88369495; Fax: +86-531-88565610; E-mail: luxuemei@sdu.edu.cn

Received: 29 February 2012/ Revised: 26 April 2012