



群感效应对电活性微生物胞外电子传递的影响

杨钰婷, 陈瑾, 陈姗姗*, 周顺桂

福建农林大学资源与环境学院, 福建省土壤环境健康与调控重点实验室, 福建 福州 350002

摘要: 群感效应(quorum sensing, QS)是微生物之间以信号分子受体蛋白感知信号浓度变化, 从而调控菌群的行为及功能, 使其适应环境变化的信号通讯机制。电活性微生物(electroactive microorganisms, EAMs)能进行胞外电子传递, 在可再生能源利用和环境修复方面具有广阔的应用前景。近年来, 关于 QS 在 EAMs 胞外电子传递中的作用的研究日益增多。本文总结了 QS 对纯 EAMs 或混合产电菌群的直接或间接电子传递的影响效应及机制, 阐述了基于 QS 的 EAMs 逻辑与门的构建及其应用前景, 并从机制研究的角度展望其未来发展方向。

关键词: 群感效应, 信号分子, 电活性微生物, 胞外呼吸, 逻辑与门

群感效应(quorum sensing, QS)是一种微生物间通过分泌、释放特定的化学信号分子(例如革兰氏阴性菌使用的高丝氨酸内酯(acylhomoserine lactone, AHL)、革兰氏阳性菌使用的寡肽), 并以信号分子受体蛋白感知信号分子浓度变化, 从而调控菌群的行为及功能, 使其适应环境变化的信号通讯机制^[1]。化学信号分子可以调节微生物中关键基因的表达, 从而增强微生物的活性、增殖能力、生存能力和聚集性^[2]。

QS 对微生物的影响效应在费式弧菌(*Vibrio fischeri*)的生物发光、铜绿假单胞菌(*Pseudomonas*

aeruginosa)的生物膜形成和致病因子产生等研究中较为成熟^[3-4]。近年来, 开始有学者研究 QS 在电活性微生物(electroactive microorganisms, EAMs)胞外电子传递中的作用^[5]。EAMs 是一类能将胞内代谢活动产生的电子传输给细胞外的固态载体(如电极、氧化铁、其他微生物细胞等), 或能从胞外载体摄取电子并以氧化态物质(如二氧化碳、硝酸盐和高氯酸盐等)作为最终电子受体的微生物, 具有胞外电子传递功能是 EAMs 区别于其他微生物的最大特点, 目前已知的 EAMs 有近百种^[6-7]。其胞外电子传递机制可分为两大类^[8-9]:

基金项目: 国家自然科学基金(41877052)

*通信作者。Tel: +86-591-86398509; E-mail: chenss@fafu.edu.cn

收稿日期: 2020-02-21; 修回日期: 2020-05-19; 网络出版日期: 2020-07-10

(1) 间接电子传递机制: 部分 EAMs 能分泌吩嗪、核黄素、绿脓素、黑色素等氧化还原物质作为介导 EAMs 内部电子传递链与胞外固体载体间电子穿梭的介质; (2) 直接电子传递机制: 部分 EAMs 能利用细胞膜上的细胞色素 *c*、铁硫蛋白或 IV 型导电菌毛, 与胞外载体直接接触进行电子传递。EAMs 的发现拓宽了人们对微生物新陈代谢多样性的认识, 为理解自然环境的生物地球化学过程提供了全新的科学视角, 并在土壤污染物原位修复、污水处理、生物质能回收与环境在线检测等方面表现出广阔的应用前景。微生物电化学系统 (bioelectrochemical systems, BES) 是一种 EAMs 以固体电极为电子供/受体进行氧化还原反应的装置^[10], 能模拟复杂的微生物系统电子流动, 输出直观的电位或电压信号以表征 EAMs 的胞外电子传递性能, 是研究 EAMs 电子传递相关生理生态特性的重要手段。本论文将介绍 EAMs 中的 QS 系统, 根据电子传递机制的不同, 分类总结 QS 对纯菌 EAMs 及混合菌 EAMs 的影响效应, 阐述 QS 联合 EAMs 的逻辑与门的构建与应用前景。

1 QS 对纯菌 EAMs 间接电子传递过程的影响

假单胞菌属微生物是通过分泌内源性电子穿梭体来进行间接胞外电子传递的代表性 EAMs^[11]。以铜绿假单胞菌为例, 铜绿假单胞菌有两个基于 AHL 的 QS 系统——LasR/LasI 系统和 RhIR/RhII 系统, 分别由转录调节蛋白(LasR 和 RhIR)和自诱导合成酶(LasI 和 RhII)组成^[12-13]。LasI 控制 *N*-3-氧代十二烷基高丝氨酸内酯

(3O-C₁₂-HSL)的合成, 3O-C₁₂-HSL 与转录调节蛋白 LasR 结合后, LasR 发生响应激活下游基因, 例如编码胞外蛋白酶的基因、*rhII* 和 *rhIR* 基因以及基于 2-庚基-3-羟基-4-喹诺酮(假单胞菌喹诺酮信号, PQS)的 QS 系统基因。RhII 控制 *N*-丁酰基高丝氨酸内酯(C₄-HSL)的合成, 转录调节蛋白 RhIR 与 C₄-HSL 结合激活下游基因, 包括产生氧化物的基因及 PQS 系统的基因。PQS 系统是铜绿假单胞菌中一个非 AHL 介导的 QS 系统。该系统中 *pqsABCDE* 参与 PQS 的合成, PQS 与 LysR 型受体 PqsR 蛋白结合以完成 QS 过程。以上 3 个 QS 系统在铜绿假单胞菌中以分层网络的形式运作, 通过合作来控制铜绿假单胞菌的许多生理现象, 例如毒力因子诱导、次生代谢物生成、群体运动和生物膜形成等^[14]。

铜绿假单胞菌分泌吩嗪类化合物作为电子穿梭体介导自身的胞外电子传递, 其吩嗪类化合物的合成受 LasR/LasI、RhIR/RhII 和 PQS 三个 QS 系统的共同调控, 调控关系如图 1 所示。LasR/LasI 系统正向调控 RhIR/RhII 系统和 PQS 系统, PQS 系统正向调控 RhIR/RhII 系统, 而 RhIR/RhII 系统通过干扰 PQS 系统中 *pqsR* 和 *pqsABCDE* 基因的表达对 PQS 系统进行负调控^[15]。RhIR/RhII 系统的 RhIR 蛋白与 PQS 系统的 PqsE 蛋白均可直接激活与吩嗪类化合物合成相关的 *phz* 操纵子, 正向调控吩嗪的合成^[16]。吩嗪类化合物合成系统中, *phzABCDEFG* 负责将分支酸转化为吩嗪-1-羧酸, 基因 *phzS*、*phzM* 和 *phzH* 将吩嗪-1-羧酸分别转化为吩嗪类物质 1-羟基吩嗪、绿脓菌素和吩嗪-1-甲酰胺^[17]。表 1 总结了能影响 EAMs 合成和分泌电子穿梭体能力的 QS 系统。

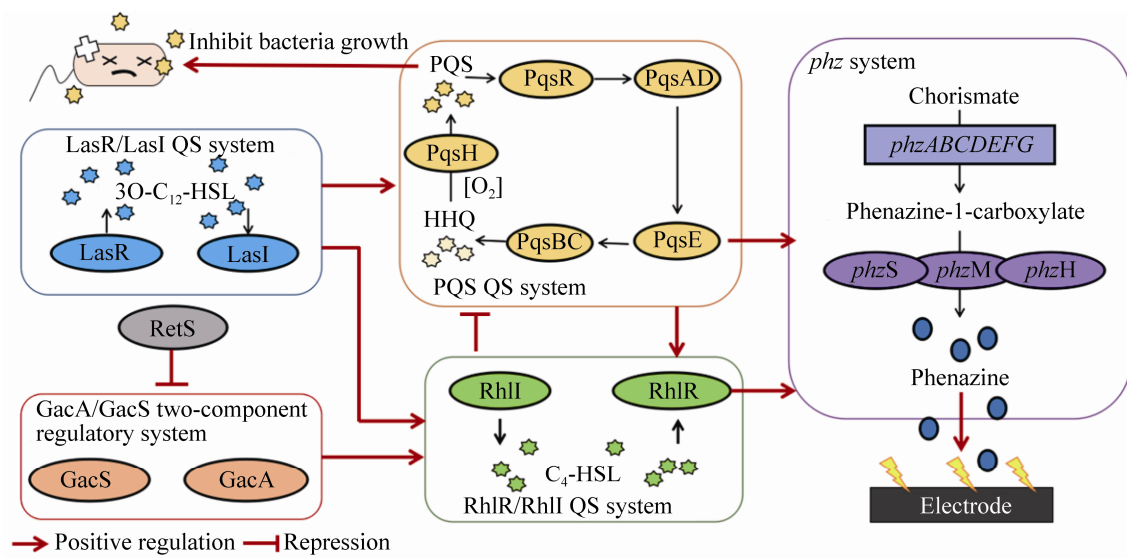


图 1. 群感效应对铜绿假单胞菌的间接电子传递的影响机制

Figure 1. Influencing mechanisms of quorum sensing on indirect electron transfer of *Pseudomonas aeruginosa*.

表 1. 电活性微生物中电子穿梭体合成及生物膜形成相关的群感效应系统

Table 1. Quorum sensing systems related to electron shuttle production and biofilm formation in electroactive bacteria

Strains	QS system	Function	References
<i>Acidithiobacillus ferrooxidans</i> ATCC 23270	Type AI-1	Biofilm formation	[18]
<i>Acinetobacter</i> sp. strain DR1	LuxI/LuxR	Biofilm formation	[19]
<i>Bacillus subtilis</i> YC-161	LuxS/AI-2	Biofilm formation	[20]
<i>Burkholderia cepacia</i> H111	Cep	Biofilm formation	[21]
<i>Escherichia coli</i>	Pfs LuxS	Biofilm formation	[22]
<i>Proteus mirabilis</i> O18	LuxS/AI-2	Biofilm formation	[23]
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> PAO1	LasI/LasR PQS	Biofilm formation Pyocyanin production	[24]
<i>Pseudomonas</i> sp. M18	RhIR/RhII LasI/LasR RhIR/RhII	Pyocyanin production Phenazine production	[14]
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> 30-84	PhzI/PhzR	Phenazine production	[25]
<i>Pseudomonas chlororaphis</i> PA23	PhzI/PhzR	Phenazine production	[26]
<i>Pseudomonas fluorescens</i> 2P24	LuxR/LuxI PcoI/PcoR	Biofilm formation	[27]
<i>Pseudomonas putida</i> IsoF	PpuI/PpuR	Biofilm formation	[28]
<i>Rhodobacter sphaeroides</i> 2.4.1	LuxR/LuxI	Growth of large aggregates	[29]
<i>Shewanella woodyi</i> MS32	LuxR/LuxI	Biofilm formation	[30]
<i>Staphylococcus</i>	LuxS/AI-2	Biofilm formation	[31]

Venkateraman 等^[32]敲除铜绿假单胞菌 PA14 的 *retS* 基因,发现突变株在 BES 中电流密度达到接近 $9 \mu\text{A}/\text{cm}^2$, 是野生株的 60 倍以上, 其作用机制如下: PA14 中的 GacS/GacA 双组控系统能正向调控其 RhIR/RhII 系统, 而 RetS 蛋白会抑制 GacS 的磷酸化(图 1); 当不表达 RetS 蛋白时, GacS 的磷酸化功能被活化, 导致小分子 RNA RsmY 和 RsmZ 的转录增加; 这些小分子 RNA 能螯合 RsmA 蛋白, 而 RsmA 蛋白对 RhIR/RhII 系统是有抑制作用的。因此, RsmY 和 RsmZ 对 RsmA 蛋白的螯合使其对 RhIR/RhII 系统的抑制作用消失, 从而促使吩嗪类化合物的生成, 电子传递性能提高。

Berger 等^[33]以 PA14 野生株与其不表达 LasR 蛋白的 $\Delta lasR$ 突变株为研究对象, 当以葡萄糖为碳源时, 野生株和突变株均可生成电子穿梭体, 只是电子穿梭体的组成和产电的时间有变化。当以 2,3-丁二醇为碳源时, 突变株无法产生电子穿梭体及电流。该研究揭示了在某些碳源中, LasR 蛋白对铜绿假单胞菌电活性的稳定性至关重要。野生型铜绿假单胞菌 CGMCC1.860 是以一种中点电位高达 0.2 V 的氧化还原化合物为电子穿梭体进行胞外电子传递的。Yong 等^[34]构建了其 RhIR/RhII 系统相关基因过表达的突变株 IR, 其分泌的电子穿梭体转变为低中点电位的绿脓素 (-0.17 V) 和 1-羟基吩嗪 (-0.28 V), 低中点电位的电子穿梭体更有利于胞外电子传递。因此, 突变株产生的最大电流密度比野生株增大了 1.6 倍。

Yang 等^[24]以铜绿假单胞菌 PAO1 为研究对象, 发现 QS 系统对铜绿假单胞菌的胞外电子传递具有双向调节作用: 当同时敲除 *lasI* 和 *rhII* 基

因时, 突变株产生的电流密度比野生株低, 添加 $10 \mu\text{mol}/\text{L}$ 的外源信号分子 3O-C₁₂-HSL 不影响其电流密度而 $10 \mu\text{mol}/\text{L}$ 的 C₄-HSL 能使突变株的产电情况恢复到与野生株相当的水平, C₄-HSL 是 RhIR/RhII 系统的信号分子, 证明 RhIR/RhII 系统对铜绿假单胞菌胞外电子传递具有正向调控的作用; 相反地, 敲除 PQS 系统相关基因的 *pqsA* 突变株反而比野生株和过表达 PQS 系统相关基因的 *pqsL* 突变株具有更高的产电性能, 添加 $10 \mu\text{mol}/\text{L}$ 的外源信号分子 PQS 不影响野生株和 *pqsL* 突变株的电流, 却会降低 *pqsA* 突变株的产电效果, 发生负作用的原因在于, PQS 信号分子的毒性会抑制细菌生长, 在有氧的情况下抑制作用比厌氧时更明显。假单胞菌 PQS 系统的调控路径如图 1 所示。PqsC 合成 PQS 的前体物质 2-庚基-4-羟基喹啉(HHQ), 在有氧环境中, 单氧酶 PqsH 氧化 HHQ 生成 PQS 信号分子, PQS 与 PqsR 结合后, 激活 PqsAD 和 PqsE, PqsE 直接激活 *phz* 操纵子, 促使吩嗪类化合物的合成与分泌。基于此, 为达到降低 PQS 信号分子毒性同时增加吩嗪分泌的目的, Wang 等^[35]构建敲除 *pqsC* 基因并过表达 *pqsE* 基因的突变株 $\Delta pqsC+sPqsE$, 该突变株可以在不产生 PQS 信号分子的情况下, 比野生株多分泌 1.3 倍的吩嗪。接种突变株的 BES 最大电流密度达到 $0.5 \mu\text{A}/\text{cm}^2$, 约是对照组的 5 倍。

综上所述, QS 信号分子及与 QS 系统相关的基因操控均能影响基于间接机制的 EAMs 的胞外电子传递, 其抑制机制是 QS 系统分泌的某些信号分子会抑制 EAMs 的生长, 其促进机制是 QS 系统正向调控了合成电子穿梭体的相关蛋白, 从而影响了 EAMs 分泌电子穿梭体的能力。

2 QS 对纯菌 EAMs 直接电子传递过程的影响

以直接电子传递机制进行产电/吸电的 EAMs 通常需与细胞外的固态电子供/受体进行直接物理接触, 因此该类 EAMs 往往在电子供/受体表面形成生物膜。QS 正是通过影响该类 EAMs 的生物膜形成, 进而影响其胞外电子传递的。表 1 总结了能影响 EAMs 生物膜形成的 QS 系统。

地杆菌属(*Geobacter*)微生物是以膜结合蛋白和导电 IV 型菌毛来进行直接胞外电子传递的代表性微生物。目前关于地杆菌属的 QS 系统未见研究。分析地杆菌属三株代表性菌株金属还原地杆菌(*Geobacter metallireducens* GS-15)、硫还原地杆菌(*Geobacter sulfurreducens* PCA)和土壤地杆菌(*Geobacter soli* GSS01)的全基因组^[36-38], 发现三者均存在可编码 QS 系统转录调节蛋白 LuxR 的基因。Fang 等^[39]研究了 AHL 对吸收胞外电子的土壤地杆菌 GSS01 的影响。在接种了 GSS01 的 BES 阴极液中添加终浓度为 10 $\mu\text{mol/L}$ 的 C₆-HSL 或 3O-C₁₂-HSL, 发现土壤地杆菌可直接在阴极快速启动, 启动时间缩短为不添加 AHL 对照组的 50%。成膜后, 添加 AHL 的实验组电子吸收性能增强, 硝酸盐还原率为对照组的 2 倍以上。究其原因, 添加 AHL 的实验组中生物膜的生物量及细胞活性有所提高, 生物膜的胞外聚合物中的蛋白质和多糖含量增加, 最外层表面蛋白的氧化还原活性增强, GSS01 生物膜的吸收电子性能得以促进。

Jing 等^[40]在以 GSS01 为阳极产电菌的 BES 阳极液中添加终浓度为 10 $\mu\text{mol/L}$ 的 C₆-HSL 或

3O-C₁₂-HSL, 发现 GSS01 在电极上的成膜速度加快, 第一周期即出现完整生物膜, BES 的电流启动时间从对照组的 12 d 缩短至 4 d, 电流稳定时的电流密度从约 0.35 mA/cm² 升高至约 0.6 mA/cm², 生物膜中胞外聚合物的电化学活性也增强了 50%–75%。鉴定 GSS01 形成的生物膜最外层表面蛋白的相变行为, 发现外源添加的 QS 信号分子促进生物膜上酰胺 II 以及羰基和酰胺之间 H 键的形成。猪酰化酶能淬灭 AHL。Jing 等^[40]添加猪酰化酶来研究 GSS01 是否分泌内源性 AHL, 结果表明 GSS01 会分泌内源性 AHL, 且内源性 AHL 也能促进生物膜的形成和电化学活性, 其机理是通过提高外膜蛋白的相对丰度来达到促进效果, 机制上与外源 AHL 不同(图 2)。

嗜酸氧化亚铁硫杆菌 (*Acidithiobacillus ferrooxidans*)是以膜结合蛋白和 IV 型菌毛进行直接传递电子的嗜酸自养 EAM^[18]。其 QS 系统由 AI-1 系统和一个类 Lux 系统组成。其中 AI-1 系统由转录调节蛋白 AfeR 和 AHL 自诱导合成酶 AfeI 组成, AfeI 可合成 9 种具有不同 C3 取代基的 AHL 分子, 其 QS 系统影响了胞外聚合物的合成和生物定殖。在嗜酸氧化亚铁硫杆菌吸收电子的 BES 中, 添加终浓度为 5 $\mu\text{mol/L}$ 的 C₁₄-HSL 混合物(包括 C₁₄-HSL、3OH-C₁₄-HSL 和 3O-C₁₄-HSL), 电流值增加了 2 倍, 原因是 AHL 加速了微生物在电极表面的定殖^[41]。

QS 除了影响 EAMs 与电极间的直接电子传递外, 还可能影响 EAMs 的种间直接电子传递。Wei 等^[42]在金属还原地杆菌和硫还原地杆菌形成的团聚体中检测到的 C₄-HSL 浓度, 远高于在两者的浮游细胞中检测到的 C₄-HSL 浓度, 他们由此推测 C₄-HSL 促进了地杆菌属微生物团聚体的形

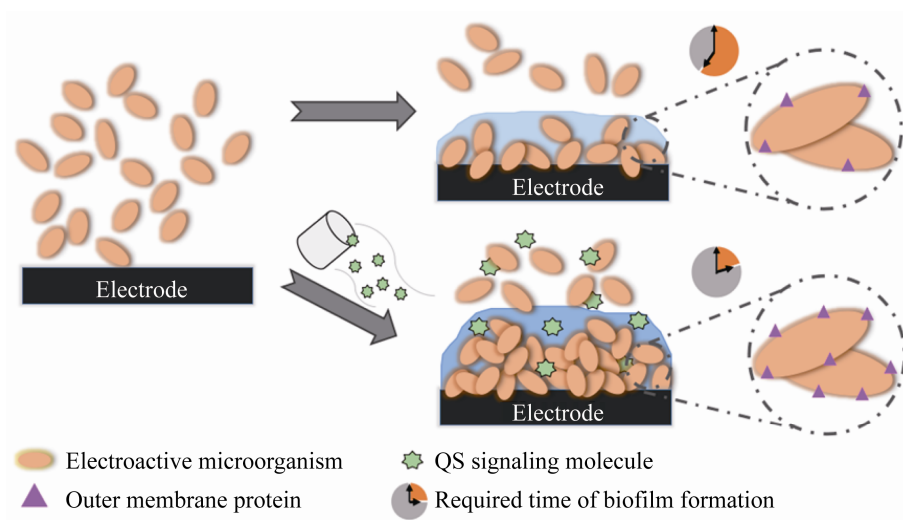


图 2. 群感效应对纯菌电活性微生物直接电子传递的影响机制

Figure 2. Influencing mechanisms of quorum sensing on direct electron transfer of pure electroactive microorganisms.

成，而形成紧密的团聚体是地杆菌属进行种间直接电子传递的必要条件。目前对 QS 影响 EAMs 种间直接电子传递的研究较为匮乏，亟需深入探索。

综上所述，QS 信号分子能促进基于直接机制的 EAMs 的胞外电子传递，其促进机制主要是 QS 信号分子加快了生物膜的形成速度及改变了生物膜表面蛋白的丰度与结构。

3 QS 对混合菌 EAMs 的胞外电子传递的影响

在实际应用中，混合菌更占据优势，因此除了研究 QS 对纯菌 EAMs 的影响效应外，不少学者围绕 QS 对混合菌 EAMs 电子传递的影响效应进行探索。

Liu 等^[43]在单室混合菌产氢 BES 中投加浓度为 1 $\mu\text{mol/L}$ 或 10 $\mu\text{mol/L}$ 的 3O-C₆-HSL 或 3O-C₁₂-HSL 后，发现添加 AHL 电流均有所上升，添加 3O-C₆-HSL 的实验组比添加 3O-C₁₂-HSL 的

实验组产电更高。在产氢 BES 中，用能量效率(即质子还原为氢气的得电子量与总电量的比值)来表征电能转化为氢能的效率，短链的 3O-C₆-HSL 能使能量效率提高 10%，而长链的 3O-C₁₂-HSL 对能量效率没有明显改善，短链信号分子比长链信号分子更有效的原因是，短链信号分子更容易在细胞内外快速扩散。Cai 等^[44]进一步探究了短链信号分子 3O-C₆-HSL 对单室混合菌产氢的 BES 中阴阳极生物膜的微生物群落结构的影响，结果表明，添加 10 mmol/L 的 3O-C₆-HSL 实验组，阴阳极生物膜中的 EAMs 占比增加，嗜氢菌占比减少，促使 BES 的能量效率提高。

Monzon 等^[45]研究了 QS 信号分子对处理高盐废水的 BES 中嗜盐产电混合菌[其中前柔嗜盐厌氧菌(*Halanaerobium praevalens*)占比 70%]的影响。分别添加 100 nmol/L 或 1 $\mu\text{mol/L}$ 的 C₄-HSL、3O-C₁₂-HSL 或 PQS，发现 AHL 对嗜盐混合菌的生物膜形成没有明显影响，而低至 100 nmol/L 的 PQS 即可促进混合菌中前柔嗜盐厌氧菌与多糖生

物合成相关的基因表达,极大地刺激了生物膜的形成。100 nmol/L 的 PQS 促进效果(约提高 11 倍)比 1 μ mol/L 的 PQS 更佳(约提高 5 倍), 产电功率密度最高可提高 75%, 长期稳定值增长 30%。

Chen 等^[46]在接种厌氧好氧混合污泥的 BES 启动阶段, 往阳极培养基中投加终浓度为 10 μ mol/L 的 C₄-HSL、C₆-HSL 或 3O-C₁₂-HSL, 来研究外源 AHL 对混合菌 EAMs 的影响; 添加终浓度为 6 μ g/L 的猪酰化酶来研究内源分泌的 AHL 对混合菌 EAMs 的影响。结果发现内源 AHL 使 BES 的启动时间缩短了 3 d, 稳定期产电库仑效率增加 8%; 外源 AHL 使 BES 的启动时间缩短了 6 d, 稳定期的电流库仑效率增加了 7%以上。产电性能的提高归因于内源及外源 AHL 均能提高 EAMs 形成的电活性生物膜的氧化还原活性、电导率、生物量、胞外聚合物总量及丰度。高通量测序分析结果表明, 外源性 AHL 使混合菌生物膜中典型 EAMs 地杆菌属微生物的占比增加了 15%以上, 这也是混合菌胞外电子传递性能增加的原因之一。

酵母菌属的 QS 信号分子为芳香醇。该属在

BES 中产电时, 一般为浮游状态, 电子传递效率较低。Christwardana 等^[47]在聚乙烯亚胺(PEI)碳毡阳极上分别固定 3 种酵母菌属的 QS 信号分子苯乙醇、色醇和酪醇以改善阳极材料, 发现苯乙醇及色醇改性的阳极材料使附着成膜的酵母生物量比对照组增加 1 倍, 电荷转移电阻降低 40%以上, 且最大产电功率密度也有所增加, 原因是细胞的附着是直接电子传递发生的必要条件, 酵母在电极上的附着量增加导致其直接电子传递效率的提高。而酪醇对酵母 BES 产电性能无明显作用, 原因是酪醇的 2 个-OH 基团与 PEI 的氨基双重配位, 而 PEI 氨基的作用是在碳毡和酵母细胞膜之间建立强酰胺键和肽键以增加粘附力和截留率, 因此-OH 基团与氨基的配位减少了酵母能够附着的位点, 导致在酪醇改性的阳极材料上成膜的酵母生物量增加幅度不如苯乙醇及色醇。

综上所述, QS 信号分子能促进混合菌 EAMs 的胞外电子传递。其促进机制主要是 QS 信号分子刺激了生物膜的形成及提高了 EAMs 在生物膜中的占比(图 3)。

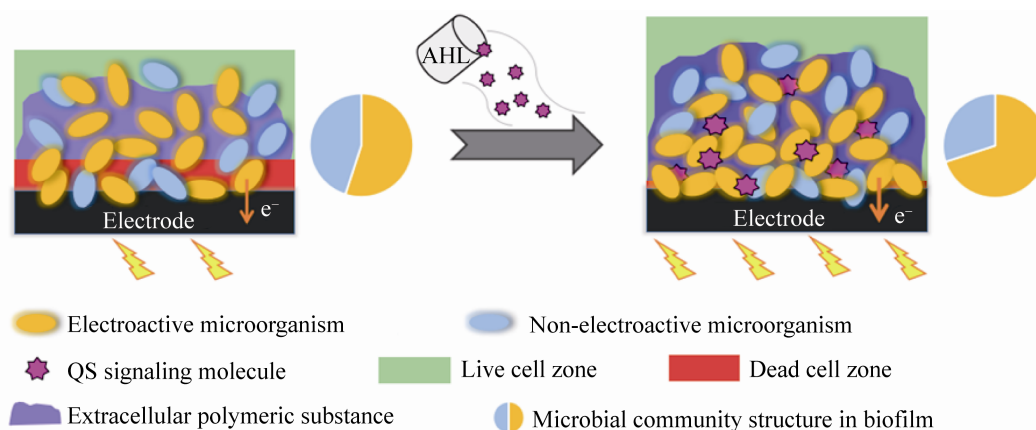


图 3. 群感效应对混合菌 EAMs 胞外电子传递的影响机制

Figure 3. Influencing mechanisms of quorum sensing on extracellular electron transfer of mixed electroactive microorganisms.

4 基于 QS 的 EAMs 逻辑与门构建

逻辑门是计算机信息处理的基本单元,可接收不同的输入信号来控制计算机中二进制的“1”与“0”输出,常由晶体管实现。常见的逻辑门包括与门、或门、非门等。其中的逻辑与门(AND logic gate)只有在所有输入同为高电平即逻辑 1 时,方可输出逻辑 1,否则输出低电平即逻辑 0。生物计算机是近年来诞生的计算机分支,相比传统计算机,具有体积小功率高、自我再生能力强、数据错误率低等优点,是发展潜力极大的朝阳领域。生物计算机中的逻辑运算由生物分子(如 DNA、核酶、细胞等)来实现,被称为生物逻辑门。以微生物为核心的逻辑门通常用大肠杆菌表达荧光蛋白,以荧光作为输出信号。然而基于荧光的逻辑门需荧光检测和信号转换技术的辅助,且易受背景荧光干扰和荧光漂白影响^[48]。QS 系统能影响 EAMs 的胞外电子传递,从而直接影响 EAMs 输出的电信号值。学者们将这一原理应用于生物逻辑与门的构建,以电信号取代荧光信号,避免荧光生物逻辑门存在的信号转换问题。

Li 等^[49]以同时敲除了编码 QS 信号分子 3O-C₁₂-HSL 合成酶 LasI 和编码 QS 信号分子 C₄-HSL 合成酶 RhlI 的铜绿假单胞菌双突变株构建逻辑与门,用以控制 BES 中电流的产生。该突变株不能分泌 3O-C₁₂-HSL 和 C₄-HSL,但具有 LasR 和 RhlR 两种转录调节蛋白,因此当外加这两种信号分子作为输入信号时,转录调节蛋白 LasR 和 RhlR 激活编码吩嗪类化合物合成蛋白的 *phz* 基因的表达,生成吩嗪用作电子穿梭体,从而使 BES 输出最大的电流信号(图 4-A)。当仅输入一种信号分子时,*phz* 基因不能表达或仅能被

部分激活,因此产生的吩嗪浓度相对较低,BES 输出的电流信号也较低。

细胞色素 MtrA 是奥奈达希瓦氏菌(*Shewanella oneidensis* MR-1)胞外电子传递路径中的重要蛋白^[51]。Hu 等^[50]在 MR-1 敲除了编码 MtrA 的相关基因的突变株中植入异丙基-β-D-硫代半乳糖苷(IPTG)响应模块和 QS 模块,构建基于 QS 的逻辑与门来控制 BES 输出电流信号。当输入 IPTG 时,IPTG 与调节蛋白 LacI 结合,通过激活 *Ptac* 启动子以诱导 *luxR* 基因的表达,从而合成 LuxR 蛋白。QS 信号分子 3O-C₆-HSL 与 LuxR 结合,激活输出模块相关基因的表达(图 4-B)。当输出模块植入编码 MtrA 的相关基因时,突变株必须在同时输入 IPTG 和 3O-C₆-HSL 的情况下,才能得到最高的电功率密度。

以 EAMs 构建生物逻辑门可实现电信号的直接输出,从而避免了传统生物逻辑门信号转换时出现的背景荧光干扰影响,因此 QS 联合 EAMs 构建微生物逻辑门具有应用前景。

5 展望

目前除了 QS 对假单胞属 EAMs 的研究较为透彻外,QS 对其他 EAMs 的效应研究尚处于起步阶段,实验均依赖于投加 QS 信号分子或淬灭剂等传统手段,缺乏靶向性与精准性,需广泛应用蛋白组、转录组等组学手段及基因编辑、基因合成等“建物致知”的合成生物学手段,对 QS 影响不同 EAMs 的微观机制进行深入探索,特别是对 QS 信号与 EAMs 胞外电子传递能力的关系进行定量研究。此外,合成微生物菌群(synthetic microbial consortia)指的是将两种或两种以上遗

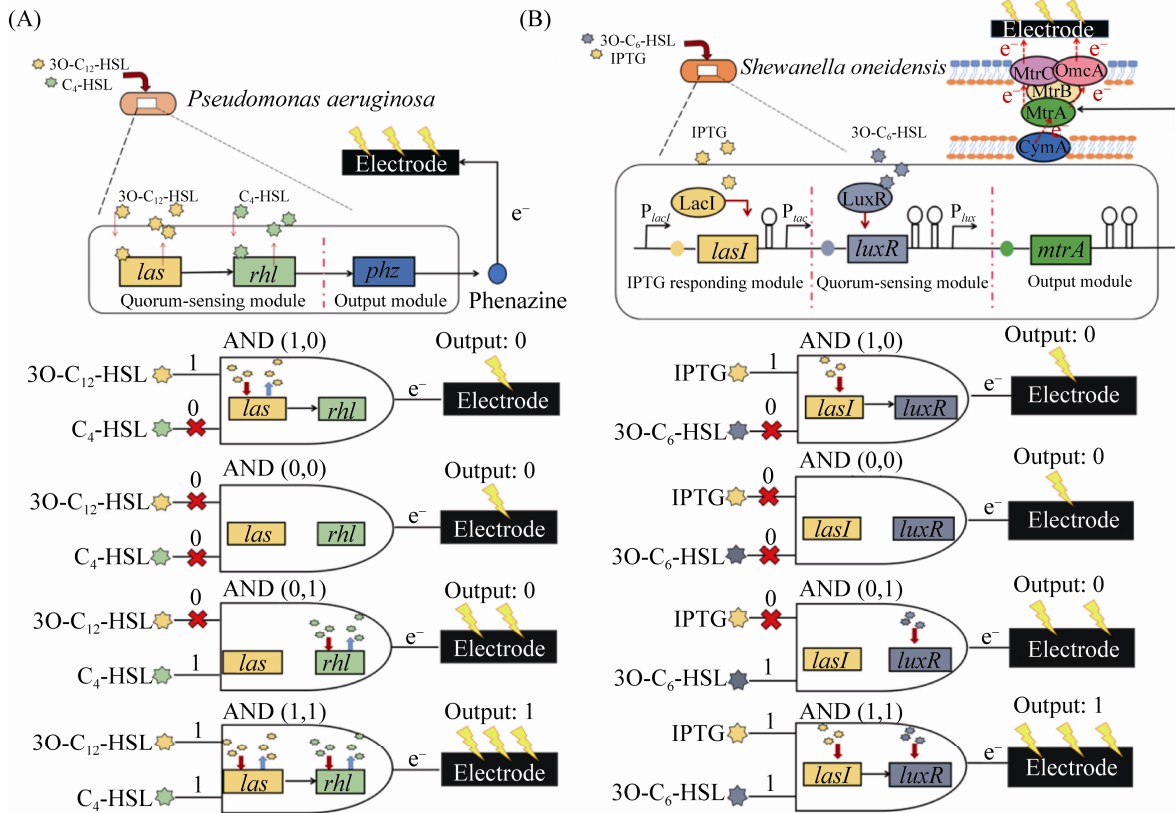


图 4. 群感效应联合电活性微生物的生物逻辑与门示意图(据文献[49–50]绘制)

Figure 4. Schematic diagrams of bacteria-based AND logic gates based on quorum sensing modules in electroactive microorganisms. A: *Pseudomonas aeruginosa*; B: *Shewanella oneidensis* (adapted from reference [49–50]).

传背景完全解析的微生物，在确定的环境条件下共同培养，构建而成的人工群落体系，被用于识别微生物间互作模式^[52]，对研究菌群行为大有裨益，其稳定性高、可控性强，是未来研究 QS 对 EAMs 胞外电子传递的一个重要工具，研究结果可为复合菌剂的调配提供理论指导。

胞外电子传递发生的场所除电极外，还有 EAMs 与胞外腐殖质、难溶性氧化铁以及 EAMs 种间。然而目前 QS 对 EAMs 的胞外电子传递影响效应研究基本集中在 EAMs 与电极间。鉴于刺激 QS 系统来诱导胞外电子传递从而调控生物膜/颗粒的形成是一种有效的策略，因此需拓宽研究

中胞外电子供/受体的种类，以扩大该策略的应用范围。

除 QS 化学信号外，电信号也是 EAMs 调控菌群行为功能的重要信号模式^[53]，其中的钾离子通道介导的电信号影响 EAMs 成膜已被报道^[54]。从属性来说，电信号不受扩散环境限制，传播速度更快、传播距离更远(可达毫米甚至厘米尺度)；而化学信号受扩散环境的限制，作用距离(微米尺度)远不及电信号，但具有专一性和高效性，在复杂的微界面精准调控中占据优势。QS 化学信号与电信号在调控 EAMs 胞外电子传递中是否存在协同或者拮抗关系，还有待探究。

参考文献

- [1] Whiteley M, Diggle SP, Greenberg EP. Progress in and promise of bacterial quorum sensing research. *Nature*, 2017, 551(7680): 313–320.
- [2] Brameyer S, Bode HB, Heermann R. Languages and dialects: bacterial communication beyond homoserine lactones. *Trends in Microbiology*, 2015, 23(9): 521–523.
- [3] Høyland-Kroghsbo NM, Paczkowski J, Mukherjee S, Broniewski J, Westra E, Bondy-Denomy J, Bassler BL. Quorum sensing controls the *Pseudomonas aeruginosa* CRISPR-Cas adaptive immune system. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2017, 114(1): 131–135.
- [4] Defoirdt T. Quorum-sensing systems as targets for antivirulence therapy. *Trends in Microbiology*, 2018, 26(4): 313–328.
- [5] Yang GQ, Lin J, Zeng EY, Zhuang L. Extraction and characterization of stratified extracellular polymeric substances in *Geobacter* biofilms. *Bioresource Technology*, 2019, 276: 119–126.
- [6] Koch C, Harnisch F. Is there a specific ecological niche for electroactive microorganisms? *ChemElectroChem*, 2016, 3(9): 1282–1295.
- [7] Logan BE, Rossi R, Ragab A, Saikaly PE. Electroactive microorganisms in bioelectrochemical systems. *Nature Reviews Microbiology*, 2019, 17(5): 307–319.
- [8] Jing XY, Chen SS, Zhou SG. Electroactive microorganism that absorbs extracellular electrons. *Acta Microbiologica Sinica*, 2018, 58(1): 19–27. (in Chinese)
靖宪月, 陈姗姗, 周顺桂. 吸收胞外电子的电活性微生物. *微生物学报*, 2018, 58(1): 19–27.
- [9] Kong GN, Xu MY, Yang YG. Direct contact-dependent microbial extracellular electron transfer. *Acta Microbiologica Sinica*, 2017, 57(5): 643–650. (in Chinese)
孔冠楠, 许玫英, 杨永刚. 基于直接接触的微生物胞外电子传递. *微生物学报*, 2017, 57(5): 643–650.
- [10] Rabaey K, Rozendal RA. Microbial electrosynthesis-revisiting the electrical route for microbial production. *Nature Reviews Microbiology*, 2010, 8(10): 706–716.
- [11] Yong YC, Zhong JJ. *N*-Acylated homoserine lactone production and involvement in the biodegradation of aromatics by an environmental isolate of *Pseudomonas aeruginosa*. *Process Biochemistry*, 2010, 45(12): 1944–1948.
- [12] Wang MZ, Zheng X, He HZ, Shen DS, Feng HJ. Ecological roles and release patterns of acylated homoserine lactones in *Pseudomonas* sp. HF-1 and their implications in bacterial bioaugmentation. *Bioresource Technology*, 2012, 125: 119–126.
- [13] Corral Lugo A, Daddaoua A, Ortega A, Morel B, Díez Peña AI, Espinosa-Urgel M, Krell T. Purification and characterization of *Pseudomonas aeruginosa* LasR expressed in acyl-homoserine lactone free *Escherichia coli* cultures. *Protein Expression and Purification*, 2017, 130: 107–114.
- [14] Lu JS, Huang XQ, Zhang MY, Li SN, Jiang HX, Xu YQ. The distinct quorum sensing hierarchy of *las* and *rhl* in *Pseudomonas* sp. M18. *Current Microbiology*, 2009, 59(6): 621–627.
- [15] Licciardello G, Bertani I, Steindler L, Bella P, Venturi V, Catara V. *Pseudomonas corrugata* contains a conserved *N*-acyl homoserine lactone quorum sensing system; its role in tomato pathogenicity and tobacco hypersensitivity response. *FEMS Microbiology Ecology*, 2007, 61(2): 222–234.
- [16] Higgins S, Heeb S, Rampioni G, Fletcher MP, Williams P, Cámara M. Differential regulation of the phenazine biosynthetic operons by quorum sensing in *Pseudomonas aeruginosa* PAO1-N. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, 2018, 8: 252.
- [17] Whiteley M, Lee KM, Greenberg EP. Identification of genes controlled by quorum sensing in *Pseudomonas aeruginosa*. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 1999, 96(24): 13904–13909.
- [18] Sasaki K, Ida C, Ando A, Matsumoto N, Saiki H, Ohmura N. Respiratory isozyme, two types of rusticyanin of *Acidithiobacillus ferrooxidans*. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*, 2003, 67(5): 1039–1047.
- [19] Kang YS, Park W. Contribution of quorum-sensing system to hexadecane degradation and biofilm formation in

- Acinetobacter* sp. strain DR1. *Journal of Applied Microbiology*, 2010, 109(5): 1650–1659.
- [20] Duanis-Assaf D, Steinberg D, Chai YR, Shemesh M. The LuxS based quorum sensing governs lactose induced biofilm formation by *Bacillus subtilis*. *Frontiers in Microbiology*, 2016, 6: 1517.
- [21] Huber B, Riedel K, Hentzer M, Heydorn A, Gotschlich A, Givskov M, Molin S, Eberl L. The *cep* quorum-sensing system of *Burkholderia cepacia* H111 controls biofilm formation and swarming motility. *Microbiology*, 2001, 147(9): 2517–2528.
- [22] González Barrios AF, Zuo RJ, Hashimoto Y, Yang L, Bentley WE, Wood TK. Autoinducer 2 controls biofilm formation in *Escherichia coli* through a novel motility quorum-sensing regulator (MqsR, B3022). *Journal of Bacteriology*, 2006, 188(1): 305–316.
- [23] Stankowska D, Czerwonka G, Rozalska S, Grosicka M, Dziadek J, Kaca W. Influence of quorum sensing signal molecules on biofilm formation in *Proteus mirabilis* O18. *Folia Microbiologica*, 2012, 57(1): 53–60.
- [24] Yang Y, Zhou HH, Mei XX, Liu BF, Xing DF. Dual-edged character of quorum sensing signaling molecules in microbial extracellular electron transfer. *Frontiers in Microbiology*, 2018, 9: 1924.
- [25] Pierson III LS, Keppenne VD, Wood DW. Phenazine antibiotic biosynthesis in *Pseudomonas aureofaciens* 30-84 is regulated by PhzR in response to cell density. *Journal of Bacteriology*, 1994, 176(13): 3966–3974.
- [26] Selin C, Fernando WGD, de Kievit T. The PhzI/PhzR quorum-sensing system is required for pyrrolnitrin and phenazine production, and exhibits cross-regulation with RpoS in *Pseudomonas chlororaphis* PA23. *Microbiology*, 2012, 158(4): 896–907.
- [27] Wei HL, Zhang LQ. Quorum-sensing system influences root colonization and biological control ability in *Pseudomonas fluorescens* 2P24. *Antonie van Leeuwenhoek*, 2006, 89(2): 267–280.
- [28] Steidle A, Allesen-Holm M, Riedel K, Berg G, Givskov M, Molin S, Eberl L. Identification and characterization of an *N*-acylhomoserine lactone-dependent quorum-sensing system in *Pseudomonas putida* strain IsoF. *Applied and Environmental Microbiology*, 2002, 68(12): 6371–6382.
- [29] Puskas A, Greenberg EP, Kaplan S, Schaefer AL. A quorum-sensing system in the free-living photosynthetic bacterium *Rhodobacter sphaeroides*. *Journal of Bacteriology*, 1997, 179(23): 7530–7537.
- [30] Hayek M, Baraquet C, Lami R, Blache Y, Molmeret M. The marine bacterium *Shewanella woodyi* produces C₈-HSL to regulate bioluminescence. *Microbial Ecology*, 2020, 79(4): 865–881.
- [31] Kong KF, Vuong C, Otto M. *Staphylococcus* quorum sensing in biofilm formation and infection. *International Journal of Medical Microbiology*, 2006, 296(2/3): 133–139.
- [32] Venkataraman A, Rosenbaum M, Arends JBA, Halitschke R, Angenent LT. Quorum sensing regulates electric current generation of *Pseudomonas aeruginosa* PA14 in bioelectrochemical systems. *Electrochemistry Communications*, 2010, 12(3): 459–462.
- [33] Berger C, Rosenbaum MA. Spontaneous quorum sensing mutation modulates electroactivity of *Pseudomonas aeruginosa* PA14. *Bioelectrochemistry*, 2017, 117: 1–8.
- [34] Yong YC, Yu YY, Li CM, Zhong JJ, Song H. Bioelectricity enhancement via overexpression of quorum sensing system in *Pseudomonas aeruginosa*-inoculated microbial fuel cells. *Biosensors and Bioelectronics*, 2011, 30(1): 87–92.
- [35] Wang VB, Chua SL, Cao B, Seviour T, Nesatyy VJ, Marsili E, Kjelleberg S, Givskov M, Tolker-Nielsen T, Song H, Loo JSC, Yang L, Virolle MJ. Engineering PQS Biosynthesis pathway for enhancement of bioelectricity production in *Pseudomonas aeruginosa* microbial fuel cells. *PLoS One*, 2013, 8(5): e63129.
- [36] Méthé BA, Nelson KE, Eisen JA, Paulsen IT, Nelson W, Heidelberg JF, Wu D, Wu M, Ward N, Beanan MJ, Dodson RJ, Madupu R, Brinkac LM, Daugherty SC, DeBoy RT, Durkin AS, Gwinn M, Kolonay JF, Sullivan SA, Haft DH, Selengut J, Davidsen TM, Zafar N, White O, Tran B, Romero C, Forberger HA, Weidman J, Khouri H, Feldblyum TV, Utterback TR, Van Aken SE, Lovley DR, Fraser CM. Genome of *Geobacter sulfurreducens*: metal reduction in subsurface environments. *Science*, 2003, 302: 1967–1969.
- [37] Aklujkar M, Krushkal J, DiBartolo G, Lapidus A, Land ML, Lovley DR. The genome sequence of *Geobacter*

- metallireducens*: features of metabolism, physiology and regulation common and dissimilar to *Geobacter sulfurreducens*. *BMC Microbiology*, 2009, 9(1): 109.
- [38] Yang GQ, Chen SS, Zhou SG, Liu YF. Genome sequence of a dissimilatory Fe(III)-reducing bacterium *Geobacter soli* type strain GSS01^T. *Standards in Genomic Sciences*, 2015, 10(1): 118.
- [39] Fang YL, Deng CS, Chen J, Lü J, Chen SS, Zhou SG. Accelerating the start-up of the cathodic biofilm by adding acyl-homoserine lactone signaling molecules. *Bioresource Technology*, 2018, 266: 548–554.
- [40] Jing XY, Liu X, Deng CS, Chen SS, Zhou SG. Chemical signals stimulate *Geobacter soli* biofilm formation and electroactivity. *Biosensors and Bioelectronics*, 2019, 127: 1–9.
- [41] Chabert N, Bonnefoy V, Achouak W. Quorum sensing improves current output with *Acidithiobacillus ferrooxidans*. *Microbial Biotechnology*, 2018, 11(1): 136–140.
- [42] Wei WC, Zhang YY, Komorek R, Plymale A, Yu RJ, Wang BC, Zhu ZH, Liu FH, Yu XY. Characterization of syntrophic *Geobacter* communities using ToF-SIMS. *Biointerphases*, 2017, 12(5): 05G601.
- [43] Liu WZ, Cai WW, Ma AZ, Ren G, Li ZL, Zhuang GQ, Wang AJ. Improvement of bioelectrochemical property and energy recovery by acylhomoserine lactones (AHLs) in microbial electrolysis cells (MECs). *Journal of Power Sources*, 2015, 284: 56–59.
- [44] Cai WW, Zhang ZJ, Ren G, Shen QX, Hou YN, Ma AZ, Deng Y, Wang Aj, Liu WZ. Quorum sensing alters the microbial community of electrode-respiring bacteria and hydrogen scavengers toward improving hydrogen yield in microbial electrolysis cells. *Applied Energy*, 2016, 183: 1133–1141.
- [45] Monzon O, Yang Y, Li QL, Alvarez PJJ. Quorum sensing autoinducers enhance biofilm formation and power production in a hypersaline microbial fuel cell. *Biochemical Engineering Journal*, 2016, 109: 222–227.
- [46] Chen SS, Jing XY, Tang JH, Fang YL, Zhou SG. Quorum sensing signals enhance the electrochemical activity and energy recovery of mixed-culture electroactive biofilms. *Biosensors and Bioelectronics*, 2017, 97: 369–376.
- [47] Christwardana M, Frattini D, Duarte KDZ, Accardo G, Kwon Y. Carbon felt molecular modification and biofilm augmentation via quorum sensing approach in yeast-based microbial fuel cells. *Applied Energy*, 2019, 238: 239–248.
- [48] Zhou SG. Microbial extracellular respiration: principle and application. Beijing: Science Press, 2016: 249–252. (in Chinese)
周顺桂. 微生物胞外呼吸: 原理与应用. 北京: 科学出版社, 2016: 249–252.
- [49] Li ZL, Rosenbaum MA, Venkataraman A, Tam TK, Katz E, Angenent LT. Bacteria-based AND logic gate: a decision-making and self-powered biosensor. *Chemical Communications*, 2011, 47(11): 3060–3062.
- [50] Hu YD, Yang Y, Katz E, Song H. Programming the quorum sensing-based AND gate in *Shewanella oneidensis* for logic gated-microbial fuel cells. *Chemical Communications*, 2015, 51(20): 4184–4187.
- [51] Myer TE, Tsapin AI, Vandenberghe I, De Smet L, Frishman D, Neelson KH, Cusanovich MA, Van Beeumen JJ. Identification of 42 possible cytochrome c genes in the *Shewanella oneidensis* genome and characterization of six soluble cytochromes. *Journal of Integrative Biology*, 2004, 8(1): 57–77.
- [52] Liu Y, Ding MZ, Ling W, Yang Y, Zhou X, Li BZ, Chen T, Nie Y, Wang MX, Zeng BX, Li X, Liu H, Sun BD, Xu HM, Zhang JM, Jiao Y, Hou YN, Yang H, Xiao SJ, Lin QC, He XZ, Liao WJ, Jin ZQ, Xie YF, Zhang BF, Li TY, Lu X, Li JB, Zhang F, Wu XL, Song H, Yuan YJ. A three-species microbial consortium for power generation. *Energy & Environmental Science*, 2017, 10(7): 1600–1609.
- [53] Lee DYD, Prindle A, Liu JT, Suel GM. SnapShot: electrochemical communication in biofilms. *Cell*, 2017, 170(1): 214–214.e1.
- [54] Jing XY, Yang YT, Ai ZH, Chen SS, Zhou SG. Potassium channel blocker inhibits the formation and electroactivity of *Geobacter* biofilm. *Science of the Total Environment*, 2020, 705: 135796.

Advances in understanding the impact of quorum sensing on extracellular electron transfer of electroactive microorganisms

Yuting Yang, Jin Chen, Shanshan Chen^{*}, Shungui Zhou

Fujian Provincial Key Laboratory of Soil Environmental Health and Regulation, College of Resources and Environment, Fujian Agriculture and Forestry University, Fuzhou 350002, Fujian Province, China

Abstract: Quorum sensing (QS) is a ubiquitous cell-cell communication mechanism in which microorganisms secrete and respond to signaling molecules by synthases and regulatory proteins to adapt to environmental changes. Electroactive microorganisms (EAMs) are capable of extracellular electron transfer and have broad application prospects in renewable energy utilization and environmental remediation. Recently, an increasing number of studies have focused on the roles of QS in the extracellular electron transfer of EAMs. In this review, we summarized the effect and mechanisms of QS in EAMs. QS influences pure-culture EAMs through an indirect electron transfer mechanism by stimulating or suppressing electron shuttle production. QS improves the electroactivity of pure-culture EAMs through a direct electron transfer mechanism by stimulating biofilm formation and changing the abundance and structure of the outermost surface proteins. QS enhances the electroactivity of mixed-culture EAMs by promoting biofilm formation and increasing the relative abundance of EAMs inside the biofilm. We also review the construction and application potential of QS and EAM-based AND logic gates and propose future research directions from the perspectives of mechanistic research.

Keywords: quorum sensing, signaling molecule, electroactive microorganism, extracellular respiration, AND logic gate

(本文责编: 李磊)

Supported by the National Natural Science Foundation of China (41877052)

^{*}Corresponding author. Tel: +86-591-86398509; E-mail: chenss@fafu.edu.cn

Received: 21 February 2020; Revised: 19 May 2020; Published online: 10 July 2020