

文章编号: 1000-5013(2008)04-0495-03

纳米细菌研究的现状与展望

颜聪毅¹, 王兆守², 郑天凌¹

(1. 厦门大学 亚热带湿地生态系统研究教育部重点实验室; 2. 厦门大学 化学化工学院, 福建 厦门 361005)

摘要: 探讨纳米细菌的分离培养、形态特征、极端环境适应性、生物矿化特性、致病性等方面的研究进展, 指出目前纳米细菌研究存在的问题. 提出应整合现代微生物学技术、分子生物学技术、纳米生物技术等多种研究方法, 通过对纳米细菌的研究, 力求在海洋环境、极地环境及极端生态环境中发现具有嗜酸、嗜盐、嗜热、抗高压等特殊生理生化特性, 以及具有降解多环芳香烃、农药等特殊生态功能的菌种资源.

关键词: 纳米细菌; 菌种资源; 研究现状; 研究展望

中图分类号: Q 939.101

文献标识码: A

纳米细菌(Nanobacteria, NB)由芬兰科学家 Kajander 等发现并命名, 为纳米级的超微细菌, 是常见细菌的 1/100 ~ 1/1 000. 它广泛存在于自然界矿物质中和生物体内, 感染谱极广, 是一种人畜共患的致病原^[1]. 纳米细菌特殊的病理性钙化特征, 为治疗结石和肿瘤等多种顽固性疾病提供了新的思路. 作为一种新的生命体, 纳米细菌引起广泛的关注, 已成为当前生物学、医学等领域研究的一个热点^[2].

1 纳米细菌的检测

纳米细菌在标准微生物培养基上无法生长, 能在一定环境条件下用 DME 培养基或 RPMI-1640 培养基培养^[3], 但目前仍缺乏理想的快速增殖方法. 常用的分离方法是纳米孔径滤膜滤菌法^[4], 而检测方法主要有以下 3 种.

(1) 染色、电镜下观察. 常用的染色剂有茜素红 S、刚果红等^[5].

(2) 免疫荧光检测. 常用异硫氰酸荧光素作染料.

(3) 免疫抗体检测. 滴加小鼠纳米细菌单克隆抗体, 二氨基联苯胺(DAB)溶液显色, 酶联免疫吸附法(ELISA)测定^[2].

此外, 还有 Nanobac TEST-S(血液)和 Nanobac TEST-U/A(尿液)两种检测方法^[2], 但 Nanobac TEST-S 只能对处于活性状态的纳米细菌进行检测, 而不能测定处于休眠状态(形成钙化外壳)的纳米细菌, 更精确的检测方法有待进一步研究.

2 纳米细菌的生物学特性

2.1 形态特征

纳米细菌为革兰氏阴性菌, 呈球状或球杆状, 细胞壁厚, 无荚膜与鞭毛, 直径约 50 ~ 200 nm. 由于体积小, 用普通光学显微镜难以发现.

2.2 极端环境适应性

纳米细菌对生长环境要求非常苛刻, 新陈代谢率极为缓慢, 仅为普通细菌的万分之一^[5]. 有研究发

收稿日期: 2008-05-27

作者简介: 颜聪毅(1983-), 男; 通信作者: 郑天凌(1955-), 男, 教授, 主要从事环境微生物学的研究. E-mail: wshwzh@jingxian.xmu.edu.cn.

基金项目: 福建省青年科技人才创新项目(2007F3094); 厦门大学引进人才科研启动项目(0000-X071C3); 厦门大学国家重点实验室开放研究基金资助项目(MEL0603); 厦门大学教育部重点实验室访问学者研究基金资助项目(2007110); 国家海洋局重点实验室开放研究基金资助项目(HY200601, 200702)

现,纳米细菌在生长繁殖过程中主要利用氨基酸而非葡萄糖来供能,如谷氨酰胺、天冬酰胺、精氨酸等均可被其利用.纳米细菌在自然环境中分布广泛,如哺乳动物体内血液、胆汁中,以及尿道、心脏等器官,砂岩、辉铜矿、磁铁矿等碳酸盐为主要成分的矿物中,热泉,甚至 5 000 m 深海下都存在纳米细菌.

2.3 生物矿化特性

独特的生物矿化作用是纳米细菌的重要特征.研究表明,它在 pH 值为 7.4 和生理性钙磷浓度条件下能形成羟磷灰石碳酸盐结晶^[3],在菌体周围产生坚硬的钙化外壳,使其能耐受高温和强酸等不利条件,普通的灭菌方法,如加热、酒精、常规 射线照射等均对它无效.在纳米细菌细胞膜表面所生成的羟基磷灰石结晶是源自于生物大分子的,并非是由于 pH 值改变所导致的简单的物理结晶现象.这层外壳也是科学家对其进行深入研究的一个阻碍因素.

研究发现,纳米细菌的生物矿化程度与培养体系中的血清浓度成反比^[5],即血清浓度越高,生物矿化程度越轻微,在不含血清的培养体系中,生物矿化现象剧烈而迅速.另外,当有乙二胺四乙酸(EDTA)存在时,纳米细菌的生物矿化现象受到明显抑制^[5].生物学家认为,该种矿化现象与其极端生态适应特征紧密相关.

2.4 致病性

2.4.1 致病类型 纳米细菌可引发许多人体疾病,如动脉硬化、冠心病及泌尿系统疾病等^[6-10],这些疾病的发生都跟它具有的特殊病理性钙化现象有关.2002 年,李永国等^[11]首次在胆囊结石患者的胆汁和结石等部位中发现了纳米细菌,通过对纳米细菌和大肠杆菌的混合培养后发现,二者能够共生并具有促结石的协同作用.王利民等^[12]的研究表明,纳米细菌可能引起动物胆结石.最新研究发现,纳米细菌可能与肿瘤癌症和牙周病有关系^[13-14].另据报道,大约 8% 的正常人血液中存在纳米细菌抗原^[15].

2.4.2 感染防治 由于矿化生物被膜的保护作用,纳米细菌不仅能够耐受高温、脱水、冰冻、紫外辐射、辐射等,还能够耐受青霉素、头孢菌素及大环内酯等各种抗生素.普通抗生素对其无效,但是四环素能够穿透纳米细菌的钙化外壳,其最低有效质量浓度为 $0.3 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ^[11].此外,柠檬酸盐、乙二胺四乙酸(EDTA)、阿糖胞苷均能抑制纳米细菌的钙化作用,但不影响其生长繁殖.有报道称甲氧苄氨嘧啶、磺胺甲基异唑和氨苄青霉素能抑制纳米细菌的生长繁殖,但是其有效浓度对动物和人体的毒害作用比较大^[16].目前,国内外微生物学和药物学家们正在积极研制抗纳米细菌的高效药物.

3 研究展望

虽然纳米细菌研究已经取得了十分显著的进展,但是其研究还存在以下 4 点问题.(1) 研究国家少,人员规模小.目前,纳米细菌研究仍集中在少数几个国家,如美国、芬兰、德国等,其他国家的研究工作才刚起步,远未形成规模.纳米细菌现有研究人员大部分为病理学家和地质学家,而微生物学、分子生物学及生物化学等其他领域的科学家很少,从而限制了纳米细菌的研究领域和范围的拓展.(2) 研究范围窄、内容少.研究内容至今仍处于形态描述阶段,有关纳米细菌的基本生长、繁殖、生理生化特征、生态学、遗传学等领域研究基本上还是空白.(3) 研究技术落后,方法过于简单.所有研究都以电子显微镜作为基本研究手段,缺乏可行的研究技术和方法,对纳米细菌结构、生理生化特征、基因提取和扩增等的研究还无法进行.(4) 研究支持力度不大.由于纳米细菌研究还有很多问题及不确定因素存在,并且短期内无法像纳米生物材料等领域能够取得显著经济效益,因此,得不到有关部门的大力支持.

纳米细菌研究涉及纳米生物技术,而该技术是在纳米科技中具有核心竞争力的技术.作为一项国家中长期科技规划,它关系到国家的可持续发展.因此,应整合现代微生物学技术、分子生物学技术、纳米生物技术等多种研究方法,综合多学科交叉的优势来加强纳米细菌的研究.通过对纳米细菌的研究,可以将研究领域拓宽到海洋环境、极地环境及极端生态环境中去,力求在上述特殊环境中发现具有嗜酸、嗜盐、嗜热、抗高压等特殊生理生化特性以及降解多环芳香烃、农药等特殊生态功能的菌种资源,为相关学科的基础理论研究、经济发展和环境保护提供重要的科学依据和技术支撑.

将纳米细菌应用于氨氧化、亚硝酸盐氧化、吡啉降解、垃圾渗滤液氨氧化等氮素代谢过程中,具有显著的除氮效果;也可将具有溶藻功能的纳米细菌菌株应用于生物溶藻领域,用于赤潮的防治.因此,纳米细菌在环境科学领域中的具有十分广阔的应用前景.同时,纳米细菌独特的生物矿化特性和极端生态

适应能力,使其在生命起源初期的极端环境下生长成为可能,研究纳米细菌有助于进一步了解原始生命的起源,还将有助于地球外层空间生命的探索.另外,通过研究纳米细菌与结石和肿瘤等疾病之间的关系,可以为疾病的预防、治疗提供全新的思路和方法.

参考文献:

- [1] 刘建文,李月辉,王健春. 纳米细菌——一种新的病原微生物[J]. 中国兽医杂志, 2006, 42(9): 64.
- [2] 郑永波,吴承堂,黄祥成. 纳米细菌研究进展[J]. 中华微生物学和免疫学杂志, 2003, 23(11): 914-915.
- [3] KAJANDER E O, CIFTCIOGLU N, AHO K, et al. Characteristics of nanobacteria and their possible role in stone formation[J]. Urol Res, 2003(31): 47-54
- [4] CUERPO G E, KAJANDER E O, CIFTCIOGLU N, et al. Nanobacteria: An experimental neo-lithogenesis model [J]. Arch Esp Urol, 2003, 53: 291-303.
- [5] 王利民,沈文律,张士莲. 纳米细菌研究[J]. 世界华人消化杂志, 2005, 13(23): 2783-2787.
- [6] KAJANDER E O, CIFTCIOGLU N, MILLER M A, et al. Nanobacteria: Controversial pathogens in nephrolithiasis and polycystic kidney disease[J]. Curr Opin Nephrol Hypertens, 2001, 10(3): 445-452.
- [7] 文宇,李永国. 纳米细菌与疾病[J]. 国外医学:外科学分册, 2002, 29(6): 326-328.
- [8] 赵家锋,叶观瑞. 纳米细菌的生物学特性及其与疾病的关系[J]. 医学综述, 2006, 12(8): 459-460.
- [9] 郑长黎,文继舫. 纳米细菌与人类疾病[J]. 国外医学:生理、病理科学与临床分册, 2004, 24(2): 192-194.
- [10] HADLEY M W, DANIEL A S. The role of nanobacteria in urologic disease[J]. World J Urol, 2006(24): 51-54.
- [11] CISAR J O, XU De-qi, THOMPSON J, et al. An alternative interpretation of Nanobacteria-induced biomimetalization[J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2000, 97(21): 11511-11515.
- [12] WANG Li-min, SHEN Wen-lu. An animal model of black pigment gallstones caused by nanobacteria[J]. Dig Dis and Sci, 2006, 51(6): 1126-1132.
- [13] YASIN A, MEHTAP H A, MESRUR S S, et al. The role of nanobacteria in cardiac sarcoidosis[J]. Correspondence, 2006(1): 1180.
- [14] TURGUT D. Is there any relation of nanobacteria with periodontal diseases[J]. Medi Hypo, 2008(70): 36-39.
- [15] KAJANDER E O, BJORKLUND M, CIFTCIOGLU N. Mineralization by nanobacteria[J]. Proc SPIE Int Soc Opt Eng, 1998, 3441: 86.
- [16] CIFTCIOGLU N, MILLER M A, HJELLE J T, et al. Inhibition of nanobacteria by antimicrobial drugs as measured by a modified microdilution method[J]. Antimicrob Agents Chemo Ther, 2002, 46(7): 2077-2086.

Current State and Prospect of Nanobacteria Research

YAN Cong-yi¹, WANG Zhao-shou², ZHENG Tian-ling¹

(1. Key Laboratory for Subtropical Wetland Ecosystem Research of Ministry of Education, Xiamen University;

2. College of Chemistry and Chemical Engineering, Xiamen University, Xiamen 361005, China)

Abstract: This paper reviewed the isolation, morphological characters, flexibility to extreme environments, biomineralization properties, pathogenicity, existing problems in research of nanobacteria, pointed out that the existence of nanobacteria research should be made to integrate modern technology in microbiology, molecular biology technology, biotechnology, nanotechnology and other research method. Through the study of nanobacteria, we try to find acidophilus, halophilic, anopheles heat, high pressure, such as special anti-physiological and biochemical characteristics, as well as degradation of polycyclic aromatic hydrocarbons, pesticides and other special ecological functions of the strain resources from the marine environment, polar environment and the extreme ecological environments.

Keywords: nanobacteria; strain resource; current state; research prospect

(责任编辑: 钱筠 英文审校: 陈国华)