

太空环境对细菌的影响及作用机制

陈振鸿, 刘长庭

解放军总医院 南楼呼吸科, 北京 100853

摘要: 伴随太空事业的发展, 一门新兴的交叉学科—空间微生物学应运而生。与地球相比, 太空环境具有微重力、强辐射、超低温、高真空和弱磁场等特殊的环境因素, 这些环境因素对宇航员和其携带的细菌势必产生影响。为了促进空间微生物学科的发展, 本文对国内外关于太空环境对细菌的影响及其作用机制进行综述。

关键词: 空间微生物学; 细菌; 太空辐射; 微重力

中图分类号: R 854 **文献标志码:** A **文章编号:** 2095-5227(2014)07-0763-03 **DOI:** 10.3969/j.issn.2095-5227.2014.07.033

网络出版时间: 2014-03-25 17:11 **网络出版地址:** http://www.cnki.net/kcms/detail/11.3275.R.20140325.1711.003.html

Effects and mechanisms of space environment on bacterial responses

CHEN Zhen-hong, LIU Chang-ting

Respiratory Diseases Department in South Building, Chinese PLA General Hospital, Beijing 100853, China

Corresponding author: LIU Chang-ting. Email: liuchangt@gmail.com

Abstract: With the huge development of space industry, an emerging subject named Space Microbiology is coming with the tide of fashion. Compared with the earth's biosphere, there are some special environmental factors in outer space, such as cosmic radiation, microgravity, space vacuum, low intensity magnetic field, ultralow temperature, thermal extremes and so on. These conditions of outer space present an environmental challenge for not only astronauts but also bacteria. Vast literatures in the effects and mechanisms of space environment on bacterial responses are reviewed in this article in order to promote the development of Space Microbiology.

Key words: space microbiology; bacteria; space radiation; microgravity

自20世纪60年代开始, 国外逐渐开展了太空环境对细菌表型、代谢和遗传变异等多方面的实验研究。近年来随着我国航天事业的发展, 国内也进行了该领域的研究, 如本课题组刘长庭等发现神舟八号飞船搭载的屎肠球菌基因重组介导蛋白dprA发生突变, 褪色沙雷菌LCT-SM166和屎肠球菌LCT-EF18出现与代谢相关的多种蛋白差异表达, 而且还发现太空环境诱导 α 干扰素工程菌产量增加^[1-5]。伴随太空事业的发展, 一门新兴的交叉学科—空间微生物学应运而生, 为了促进该学科的发展, 本文在对太空环境对细菌的影响因素及作用机制进行阐述。

1 太空辐射及对细菌的影响

太空辐射包含粒子流和电磁波。目前的载人航天活动主要集中在距地面500 km以内的近地球轨道上, 该区域存在3种高能粒子辐射源, 即银河宇宙线、太阳粒子和地球

辐射带^[6]。银河宇宙线指银河系超新星爆发产生的高能粒子, 特点是能量高, 尤其是宇宙线重核粒子(HZE)具有极强的杀伤力, 且目前没有有效的屏蔽材料。太阳粒子是太阳爆发产生的高能粒子流, 持续时间从几分钟到几天, 主要成分是质子, 对航天员造成较大威胁, 但具有随机性, 主要集中在极区附近。地球辐射带是高能带电粒子受到地球磁场捕获而形成的强辐射区域, 主要由高能电子与高能质子构成, 集中在南大西洋异常区和极区电子带, 因能量不高, 可被航天器的舱壁有效屏蔽。太空中各种天体除了辐射高能粒子外, 还辐射电磁波, 电磁波按频率从低到高, 包括无线电波、微波、红外线、可见光、紫外光、X线和 γ 射线等, 其中X线和 γ 射线为电离辐射, 其余为电磁辐射。

太空辐射对微生物的危害主要是引起DNA变异。其中太空粒子流对细菌等生物的生物效应与细胞核酸物质直接吸收粒子流能量或因粒子流电离细胞水分子的间接作用有关, 包括细胞染色体畸变、特定基因突变、DNA断裂, 甚至导致细胞死亡等。Schäfer等^[7]研究发现暴露于外太空环境中的大肠埃希菌死亡率显著增高, 是因为HZE粒子辐射导致了大量的DNA双链断裂。还有研究发现HZE粒子导致DNA双链断裂后细菌会启动一些修复机制, 如断端连接、同源重组和非同源末端连接途径(NHEJ)等^[8]。

太空电磁波中的X线和 γ 射线为电离辐射, 可电离细胞中H₂O分子, 分解出游离基H⁺, 生成O₂⁻、HO₂和H₂O₂等强氧化基团, 进而导致细胞蛋白酶的巯基氧化。紫外线为

收稿日期: 2014-03-06

基金项目: 国家“973”重点基础研究发展规划项目(2014CB744400); 国家自然科学基金项目(81200059); 全军医学科研“十二五”课题重点项目(BWS12J046); 载人航天领域项目(040203)

Supported by National “973” Program for Basic Science Research Development of China(2014CB744400); National Natural Science Foundation of China(81200059); Military Special-purpose Program of “Twelfth Five-Year”(WS12J046); Program of Manned Spaceflight(040203)

作者简介: 陈振鸿, 女, 博士, 主治医师。研究方向: 细菌耐药及空间微生物学。Email: zhenhong_chen@hotmail.com

通信作者: 刘长庭, 主任医师, 教授, 博士生导师, 973首席科学家。Email: liuchangt@gmail.com

电磁辐射,可造成DNA链相邻两个嘧啶发生共价交联,形成嘧啶共聚体,造成胸腺嘧啶变异,进而影响DNA复制,导致细菌等微生物的高致死率^[9-10]。1966年美国双子座4号飞船(Gemini IX)任务研究发现噬菌体T1暴露于外太空环境16.8 h后存活率为 3×10^{-5} ,但予0.4 mm铝板保护的样品存活量为暴露组的3 000倍,这说明杀伤噬菌体的紫外线和X线等是可以被有效防护的太空因子^[11]。

2 太空微重力及对细菌的影响

微重力是指物体在重力加速度不超过 $10^{-5} \sim 10^{-4} g$ 时所受重力,太空环境即为微重力环境。地球环境下物体由于地球引力受到竖直的力叫重力,等于物体质量与重力加速度(地面重力加速度为1 g)的乘积,它是万有引力的一个分力,使物体具有重量并可使之竖直向下移动,另一个分力是随地球自转的向心力。太空环境的重力加速度在 $10^{-6} \sim 10^{-3} g$,而航天器在地球轨道作惯性飞行运动时,重力与离心力相抵消,航天器质心处重力为零,即失重环境,质心以外的部位为微重力环境;当航天器加速上升和减速返回时,正负加速度使航天器处于超重状态。太空的探索活动中处于超重状态是短暂的,主要为微重力和失重状态。微重力和失重环境为物质提供了一种独特的环境,与重力环境相比,物质会出现一系列独特的物理变化。太空探索和多种地面回旋模拟失重设备为人们研究重力对微生物的影响及作用机制提供了宝贵的科学实验研究平台。

研究证实不论微重力还是模拟微重力环境下培养细菌,均为菌体提供了低剪切力环境,细菌培养环境发生改变,间接地对细菌造成影响,这利于细菌的培养^[11-12]。研究发现模拟微重力下大肠埃希菌抵抗酸性、热应力和渗透压等能力增强,耐药性也增强,这种变化与RNA聚合酶稳定因子的编码基因rpoS表达有关^[13-14]。Arunasri等^[15]发现大肠埃希菌出现了上百种基因的表达变化。Wilson等^[16-17]通过动物实验证明微重力环境下鼠伤寒杆菌的毒力增强,发现鼠伤寒杆菌编码转录蛋白、调节蛋白、细菌毒力和脂多糖等100多种基因的表达变化,而且认为sRNA伴侣蛋白Hfq起到了关键作用。Crabbé等^[18-19]发现伴侣蛋白Hfq在太空飞行对铜绿假单胞菌的多种基因转录和蛋白表达改变中起了关键作用,而AlgU因子调节了抗压蛋白的表达。Kim等^[20]证实太空微重力环境下铜绿假单胞菌的生物被膜生长速率明显增加,Mauclaire和Egli^[21]也证实模拟微重力环境下藤黄微球菌的生物被膜形成增强。

但也有研究发现微重力对细菌影响的结果并不一致。有研究发现微重力环境下大肠埃希菌等细菌生长速率较对照组明显增加;但也有研究认为在微重力环境下铜绿假单胞菌的繁殖没有变化^[22-24]。另有研究发现微重力增加了大肠埃希菌细胞膜的流动性^[25],但England等^[24]的研究并未发现微重力造成铜绿假单胞菌膜流动性的改变。Boever等^[26]发现微重力环境下革兰阳性菌之间存在质粒的转移,而革兰阴性菌之间未见此现象。Hensley^[27]发现鲍曼不动杆菌药物敏感性在微重力环境下未发生改变。

Klaus等^[11]揭示了出现上述差异的原因,认为与细菌

是否可以游动有关,因为重力作用不单单局限在细菌上,应该从细菌、培养液、容器和外部环境等整体层面考虑。微重力环境下不具有游动性的菌体细胞悬浮于培养液中,营养物质和代谢产物相对静止在细胞周围,降低了悬浮细胞和其周围液体间的质量传递,微重力造成的细胞周围特殊化学环境造就了细菌的繁殖增长。而具有鞭毛的细菌,其游动性打破了周围相对静止的液体环境,不具有非游动性细菌在微重力环境下的微重力环境,因而未发现增殖速度的改变。Pollard^[28]发现直径 $> 10 \mu m$ 的细胞可体验出太空微重力与地面重力的差别,而绝大多数细菌的菌体长度 $< 10 \mu m$,这些细菌个体对微重力作用不敏感是因为菌体体积太小,细胞内部密度均匀,重力加速度变化对之引起的震动太过细微,菌体几乎感知不到。而Kim等^[29]发现太空微重力环境下培养基中磷酸盐和氧等营养成分受限时,铜绿假单胞菌的生长速度较正常对照组增加,但营养成分充足时两组未见差异。另外太空辐射和微重力相叠加对生物的作用更强,这与微重力环境下细菌对辐射导致DNA损伤的修复能力下降有关^[30]。随着分子生物学技术的发展和微重力模拟设备的渐趋先进,微重力对细菌影响的研究将越来越深入。

3 太空高真空及对细菌的影响

真空的含义是指在给定的空间内低于一个大气压力的气体状态,人们通常把这种稀薄的气体状态称为真空状况。在低地球轨道环境中只存在少量的分子氧、氮和高活性的氧原子、氮原子,太空大气压下降至 $10^{-7} \sim 10^{-4} Pa$,而地球海平面平均大气压为 $10^5 Pa$,故人们习惯称之为高真空环境。

太空真空环境对细菌的影响主要是引起细胞脱水,太空高真空可造成细胞脱水25%~45%,进而影响细胞膜通透性和蛋白酶活性,甚至诱发基因突变^[31-32]。有研究发现太空真空导致枯草杆菌孢子发生了DNA损伤,其分子机制是DNA旋转酶亚基A编码基因gyrA12的第84位密码子变异^[33]。Moeller等^[34]通过真空模拟装置诱发枯草杆菌孢子出现DNA双链断裂,同时存在非同源末端连接的有效修复途径,但长时间超强度真空状态诱发的DNA损伤很难修复,导致孢子死亡率增加。有研究发现同时暴露于真空和紫外线环境的枯草杆菌孢子DNA损伤更为严重,是因为真空脱水作用改变了核酸物质吸收紫外线的波长范围^[35]。

此外,太空还存在极端温度、弱磁场等因素,均对生命体产生影响。随着航天事业的蓬勃发展,太空探索活动日益增强,加强空间微生物学领域的研究,明确太空环境与地球环境的差别,并探明太空环境对细菌影响的机制,不仅可以保障航天员的健康,而且可以评价随航天器返回地球细菌的毒力及耐药性,保障人类健康。

参考文献

- 1 Chang D, Zhu Y, An L, et al. A multi-omic analysis of an *Enterococcus faecium* mutant reveals specific genetic mutations and dramatic changes in mRNA and protein expression [J]. *BMC Microbiol*, 2013, 13 : 304.
- 2 王雅娟,刘进文,方向群,等.空间环境诱导褪色沙雷菌LCT-SM166的蛋白质组学分析[J].解放军医学院学报,2013,34(1): 10-13.

- 3 Chen Z, Chang D, Zou Y, et al. Genome sequence of *Enterococcus faecium* clinical isolate LCT-EF128 [J]. *J Bacteriol*, 2012, 194 (17): 4765.
- 4 常德, 刘进文, 方向群, 等. 空间环境诱导屎肠球菌突变株 LCT-EF18 的蛋白组学分析 [J]. 解放军医学院学报, 2013, 34 (1): 3-6.
- 5 Wang J, Liu C, Liu J, et al. Space mutagenesis of genetically engineered bacteria expressing recombinant human interferon α 1b and screening of higher yielding strains [J]. *World J Microbiol Biotechnol*, 2014, 30 (3): 943-949.
- 6 Hotchin J, Lorenz P, Hemenway CL. The survival of terrestrial microorganisms in space at orbital altitudes during Gemini satellite experiments [J]. *Life Sci Space Res*, 1968, 6: 108-114.
- 7 Schäfer M, Schmitz C, Bücker H. Heavy ion induced DNA double Strand breaks in cells of *E. coli* [J]. *Adv Space Res*, 1994, 14 (10): 203-206.
- 8 Bowater R, Doherty AJ. Making ends meet: repairing breaks in bacterial DNA by non-homologous end-joining [J]. *PLoS Genet*, 2006, 2 (2): e8.
- 9 Cockell CS, Horneck G. The history of the UV radiation climate of the earth--theoretical and space-based observations [J]. *Photochem Photobiol*, 2001, 73 (4): 447-451.
- 10 Moeller R, Douki T, Cadet J, et al. UV-radiation-induced formation of DNA bipyrimidine photoproducts in *Bacillus subtilis* endospores and their repair during germination [J]. *Int Microbiol*, 2007, 10 (1): 39-46.
- 11 Klaus DM, Benoit MR, Nelson ES, et al. Extracellular mass transport considerations for space flight research concerning suspended and adherent in vitro cell cultures [J]. *J Gravit Physiol*, 2004, 11 (1): 17-27.
- 12 Hammond TG, Hammond JM. Optimized suspension culture: the rotating-wall vessel [J]. *Am J Physiol Renal Physiol*, 2001, 281 (1): F12-F25.
- 13 Lynch SV, Brodie EL, Matin A. Role and regulation of sigma S in general resistance conferred by low-shear simulated microgravity in *Escherichia coli* [J]. *J Bacteriol*, 2004, 186 (24): 8207-8212.
- 14 Wilson JW, Ott CM, Ramamurthy R, et al. Low-Shear modeled microgravity alters the salmonella enterica serovar typhimurium stress response in an RpoS-independent manner [J]. *Appl Environ Microbiol*, 2002, 68 (11): 5408-5416.
- 15 Arunasri K, Adil M, Venu Charan K, et al. Effect of simulated microgravity on *E. coli* K12 MG1655 growth and gene expression [J]. *PLoS One*, 2013, 8 (3): e57860.
- 16 Wilson JW, Ramamurthy R, Porwollik S, et al. Microarray analysis identifies Salmonella genes belonging to the low-shear modeled microgravity regulon [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2002, 99 (21): 13807-13812.
- 17 Wilson JW, Ott CM, Höner zu Bentrup K, et al. Space flight alters bacterial gene expression and virulence and reveals a role for global regulator Hfq [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2007, 104 (41): 16299-16304.
- 18 Crabbé A, Schurr MJ, Monsieurs P, et al. Transcriptional and proteomic responses of *Pseudomonas aeruginosa* PAO1 to spaceflight conditions involve Hfq regulation and reveal a role for Oxygen [J]. *Appl Environ Microbiol*, 2011, 77 (4): 1221-1230.
- 19 Crabbé A, Pycke B, Van Houdt R, et al. Response of *Pseudomonas aeruginosa* PAO1 to low shear modeled microgravity involves AlgU regulation [J]. *Environ Microbiol*, 2010, 12 (6): 1545-1564.
- 20 Kim W, Tengra FK, Young Z, et al. Spaceflight promotes biofilm formation by *Pseudomonas aeruginosa* [J]. *PLoS One*, 2013, 8 (4): e62437.
- 21 Mauclair L, Egli M. Effect of simulated microgravity on growth and production of exopolymeric substances of *Micrococcus luteus* space and earth isolates [J]. *FEMS Immunol Med Microbiol*, 2010, 59 (3): 350-356.
- 22 Kim HW, Matin A, Rhee MS. Microgravity alters the physiological characteristics of *Escherichia coli* O157: H7 ATCC 35150, ATCC 43889, and ATCC 43895 under different nutrient conditions [J]. *Appl Environ Microbiol*, 2014, 80 (7): 2270-2278.
- 23 Aoyagi H, Kuroda A. Effects of low-shear modeled microgravity on a microbial community filtered through a 0.2- μ m filter and its potential application in screening for novel microorganisms [J]. *J Biosci Bioeng*, 2012, 114 (1): 73-79.
- 24 England LS, Gorzelak M, Trevors JT. Growth and membrane polarization in *Pseudomonas aeruginosa* UG2 grown in randomized microgravity in a high aspect ratio vessel [J]. *Biochim Biophys Acta*, 2003, 1624 (1/3): 76-80.
- 25 Huitema C, Beaudette LA, Trevors JT. Simulated microgravity (SMG) and bacteria [J]. *Riv Biol*, 2002, 95 (3): 497-503.
- 26 Boever P, Mergeay M, Ilyin V, et al. Conjugation-mediated plasmid exchange between bacteria grown under space flight conditions [J]. *Microgravity Sci Technol*, 2007, 19 (5/6): 138-144.
- 27 Hensley DM. Maintenance of antimicrobial susceptibility of *Acinetobacter baumannii* in modeled microgravity [J]. *Clin Lab Sci*, 2010, 23 (2): 84-88.
- 28 Pollard EC. Theoretical studies on living systems in the absence of mechanical stress [J]. *J Theor Biol*, 1965, 8 (1): 113-123.
- 29 Kim W, Tengra FK, Shong J, et al. Effect of spaceflight on *Pseudomonas aeruginosa* final cell density is modulated by nutrient and Oxygen availability [J]. *BMC Microbiol*, 2013, 13: 241.
- 30 Horneck G. Impact of microgravity on radiobiological processes and efficiency of DNA repair [J]. *Mutat Res*, 1999, 430 (2): 221-228.
- 31 Horneck G, Klaus DM, Mancinelli RL. Space microbiology [J]. *Microbiol Mol Biol Rev*, 2010, 74 (1): 121-156.
- 32 Cox CS. Roles of water molecules in bacteria and viruses [J]. *Orig Life Evol Biosph*, 1993, 23 (1): 29-36.
- 33 Munakata N, Saitou M, Takahashi N, et al. Induction of unique tandem-base change mutations in bacterial spores exposed to extreme dryness [J]. *Mutat Res*, 1997, 390 (1/2): 189-195.
- 34 Moeller R, Stackebrandt E, Reitz G, et al. Role of DNA repair by nonhomologous-end joining in *Bacillus subtilis* spore resistance to extreme dryness, mono- and polychromatic UV, and ionizing radiation [J]. *J Bacteriol*, 2007, 189 (8): 3306-3311.
- 35 Varghese AJ. 5-Thyminy-5, 6-dihydrothymine from DNA irradiated with ultraviolet light [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 1970, 38 (3): 484-490.