空间环境诱导几种常见细菌变异的蛋白质组学研究现状

保鹏涛^{1,2}, 刘长庭¹

¹解放军总医院 南楼呼吸科, 北京 100853; ²解放军第309医院 呼吸科, 北京 100091

摘要: 空间环境由于存在微重力、高真空、极度温差、弱磁场和粒子辐射等因素可诱导细菌产生蛋白组学的变化, 进而影响微生物的生物学性状和功能。研究发现褪色沙雷菌、蜡状芽孢杆菌、鼠伤寒沙门菌、大肠埃希菌、屎肠球菌等多种细菌经空间环境诱导后均会出现蛋白组学的变化, 本文对这种变化进行综述, 为研究细菌在空间环境中的变化等问题提供新思路。

关键词: 空间环境; 细菌; 蛋白组学

中图分类号: R 854 **文献标志码:** A **文章编号:** 2095-5227(2014)09-0967-03 **DOI:** 10.3969/j.issn.2095-5227.2014.09.025

网络出版时间: 2014-05-04 15:54 **网络出版地址:** http://www.cnki.net/kcms/detail/11.3275.R.20140504.1554.001.html

Status quo in proteomics of bacteria induced by space environment

BAO Peng-tao^{1,2}, LIU Chang-ting¹

¹Department of Respiratory Medicine in South Building, Chinese PLA General Hospital, Beijing 100853, China; ²Department of Respiratory Medicine, The 309th Hospital of Chinese PLA, Beijing 100091, China

Corresponding author: LIU Chang-ting. Email: liuctdoc@163.com

Abstract: The presence of micro-gravity space environment, high vacuum, extreme temperature, weak magnetic field and particle radiation and other factors can induce proteomics changes in bacteria, thereby affecting the biological characteristics and functions of microorganisms. Studies find that proteomics of *Serratia marcescens*, *Bacillus cereus*, *Salmonella typhimurium*, *Escherichia coli* and *Enterococcus faecium* will change when induced by the space environment. The recent progress in the researches on proteomics of bacteria affected by space environment is reviewed in present paper in the hope of providing novel way for analysis of bacterial activity in space environment.

Key words: space environment; bacteria; proteomics

随着科技的不断进步, 太空已经成为人类新的活动领域, 宇航员体内携带的细菌以及飞行器内的细菌不可避免地会被带进太空, 这些细菌在空间环境下会产生怎样的生物学变化, 对宇航员及空间站各种设备等会造成什么样的影响等问题都亟需解决。我国的“载人航天与探月工程”为我国空间生物医学研究提供了一个千载难逢的平台^[1-2]。空间环境具有微重力、宇宙辐射、极端温差等特点, 这些对空间驻留人员及空间站中细菌的生物学性状及致病性都会产生影响, 既往已经在空间站中检测出包括金黄色葡萄球菌、肺炎克雷伯菌、大肠埃希菌、铜绿假单胞菌、肠球菌、沙雷菌和蜡状芽孢杆菌等多种细菌。另外, 长时间空间驻留人员的免疫系统功能下降, 容易受到病原菌的感染^[3-4]。有研究表明经航天搭载后铜绿假单胞菌、沙门菌的毒力均有所增加, 可能对航天员的健康产生威胁^[5-6]。此外有报道

空间环境下细菌可能出现增加毒力和耐药性的改变, 也可能腐蚀航天设备。然而细菌在空间环境下发生变化的机制尚不明确^[7-8]。美国宇航局进行的太空研究中发现空间环境下生长的细菌的抗酸、抗热及耐腐蚀能力都有所增加, 而且能提高其在胃肠道中与溶酶体内的存活率, 并且发现这些细菌能够更好地在巨噬细胞内存活, 这些可能都与细菌的蛋白组学改变相关^[9-10]。有研究表明, 经空间环境诱导后肺炎链球菌能更好地附着在人类细胞上, 可能与其黏附蛋白表达增加相关, 同时发现, 细菌的蛋白组学改变与细菌的生物膜、毒力因子、基因表达等相关^[11-13]。本文综合国内外文献, 阐述空间环境诱导几种常见细菌变异的蛋白质组学研究现状。

1 褪色沙雷菌

褪色沙雷菌是一种兼性厌氧的革兰阴性菌, 是水和土壤中的常居菌群的一种, 在临床上是一种常见的条件致病菌, 其所致的院内感染常包括呼吸系统感染、泌尿系统感染、伤口感染以及菌血症等。国外的报道中发现该菌曾在空间站中被检出, 如果航天员免疫系统功能下降可能会因条件感染而威胁健康^[9]。王雅娟等^[14]采用新一代的质谱技术对搭载我国神州八号飞船的褪色沙雷菌进行研究后, 筛选出空间诱变菌株 LCT-SM166。对空间诱变菌株以及地面对照株进行了3次重复实验后, 总共鉴定得到1 713个蛋白质, 其中共有111个蛋白发生变化, 上调的为21个, 下调

收稿日期: 2014-01-09

基金项目: 国家“973”重点基础研究发展规划项目(2014CB744403); 全军医学科研“十二五”课题重点项目(BWS12J046); 武器预研重点基金项目(9140A26040312JB10078); 载人航天领域项目(040203) Supported by National “973” Program for Basic Science Research Development of China(2014CB744403); The Military Special-purpose Program of “Twelfth Five-Year”(BWS12J046)

作者简介: 保鹏涛, 男, 在读博士, 主治医师。研究方向: 肺部肿瘤学、老年医学、空间医学。Email: bao03@163.com

通信作者: 刘长庭, 男, 主任医师, 教授, 博士生导师。Email: liuctdoc@163.com

的为90个。80%以上鉴定到的蛋白质分布于能量的生成和转换、氨基酸的转运和代谢、糖类的转运和代谢、翻译过程和核糖体的结构和生物合成、转录过程、细胞膜的合成、信号转导通路等。空间诱变菌株LCT-SM166与地面对照株的差异蛋白质所处的细胞位置主要在细菌外膜,其分子功能主要为翻译因子活性和核酸结合、苹果酸酶活性、翻译调节活性等,其参与的生物过程主要为翻译、细胞蛋白代谢过程、蛋白代谢过程、己糖代谢过程等。褪色沙雷菌在空间环境发生变化的蛋白质主要与能量的代谢有关,这可能是细菌为适应空间环境而产生的变化。

2 蜡状芽孢杆菌

蜡状芽孢杆菌是目前最常见的食源性病原菌之一,也是导致人类感染性疾病的重要病原菌之一,该菌是革兰阳性菌,是一种条件致病菌,它几乎能感染所有种类的食品,能产生3种不同的肠毒素,引起呕吐综合征和腹泻。宇宙空间站中普遍存在蜡状芽孢杆菌,宇航员的食物容易受到蜡状芽孢杆菌的污染。因此研究空间诱变的蜡状芽孢杆菌对宇航员及空间工作人员的健康具有重要意义^[15]。Su等^[16]的研究筛选出蜡状芽孢杆菌空间诱变后的两株诱变株,经与地面对照株进行蛋白质数据匹配后发现诱变株可见1269个蛋白质,而且两株蜡状芽孢杆菌均出现了明显差异表达的蛋白质,但是这两株细菌差异表达的蛋白质谱明显不同,其中诱变株LCT-BC25与地面对照株比较有57个蛋白上调,77个蛋白下调;诱变株LCT-BC235与地面对照株比较有8个蛋白上调,73个蛋白下调。诱变蜡状芽孢杆菌LCT-BC25主要的差异蛋白与代谢调节水平相关;而LCT-BC235除了有代谢相关蛋白改变,还出现了溶血性肠毒素蛋白的明显高表达,提示这株细菌可能有较强的毒力,有可能对空间站航天员造成潜在的健康危害。

3 鼠伤寒沙门菌

鼠伤寒沙门菌自然疫源广泛,很多家禽、家畜、鼠、鸟和冷血动物是自然宿主,蝇、蚤可带菌传播,常由污染的水、牛奶和食物经口感染本病,能引起急性胃肠炎,重症可发生败血症和远隔部位的化脓病变,甚至休克和弥散性血管内凝血,同时也是微生物遗传学发展的一种非常重要的细菌,因此鼠伤寒沙门菌是空间微生物学研究较多的一种细菌^[17]。Chopra等^[18]利用双向凝胶电泳检测方法,发现经模拟空间暴露后的鼠伤寒沙门菌有35种蛋白表达增多,33种蛋白表达下调,新表达的蛋白有57种,这些蛋白可能参与细菌转录调节和毒力等方面的功能。Wilson等^[19]研究发现鼠伤寒沙门菌经搭载空间站后可以出现诱变株STS-115,经与地面对照株进行蛋白质数据匹配后发现诱变株可见251种蛋白质,其中73种蛋白质发生了改变。进一步研究发现,在诱变株中STS-115有167种基因发生了改变,其中69种上调,98种下调,这些可能与STS-115蛋白质学发生改变相关,特别是作用广泛的调控蛋白Hfq。

4 大肠埃希菌

大肠埃希菌是一种条件致病菌,在环境中广泛存在,很容易污染医疗器械而造成机会感染,是导致医院内感染

的重要病原菌,所致的感染中以泌尿系感染、菌血症等最为常见,其患者多具有严重的基础疾病,免疫力低下。长时间停留空间站人员免疫系统会受到一定影响,因此易感染大肠埃希菌^[20]。Zhang等^[21]通过回转器模拟微重力研究空间环境对革兰阴性菌大肠埃希菌基因与蛋白表达的影响。结果发现15个差异表达蛋白点,其中4个表达上调蛋白质谱鉴定为抗转录终止蛋白NusG、固氮铁蛋白、硫醇过氧化物酶,1个表达下调蛋白为未知蛋白,2个新增蛋白为谷氨酰胺ABC转运周质蛋白,1个表达消失蛋白为IcIR转录调节蛋白家族,有可能影响大肠埃希菌的毒力及致病性。国外Chopra等^[18]研究发现,模拟微重力暴露后的致病性大肠埃希菌,74种蛋白表达升高,18种蛋白表达下降,新表达的蛋白有62种,这些蛋白可能与大肠埃希菌毒力及耐药性等相关。

5 尿肠球菌

空间站上最大的微生物库是航天员胃肠道的常驻菌群,而胃肠道的常驻菌群便有尿肠球菌,尿肠球菌为革兰阳性菌属肠球菌属,在人体免疫力下降时常可导致多个系统发生感染,例如人体生殖系统、泌尿系统、腹腔感染、伤口表面感染等^[22-23]。Chang等^[24]通过对搭载我国神舟8号飞船的尿肠球菌鉴定,发现了诱变株LCT-EF18,与地面对照菌株对,发现有124个蛋白质表达的改变,其中包括50个表达增加的蛋白和74个表达下调的蛋白,最后经过GO功能的注释分析发现,这些表达异常的蛋白主要参与大分子催化、ATP生物合成、嘌呤核苷生物合成、ATP代谢和嘌呤核苷酸生物合成等过程,可能影响细菌的能量和物质代谢从而和细菌致病性和耐药性相关。

6 其他菌属

随着航天技术的进步,国外研究者也发现其他菌属经空间环境诱导后也会出现蛋白组学的变化,Mastroleo等^[25]通过模拟空间微重力环境对深红螺菌进行研究,结果显示经空间环境诱导后深红螺菌406种蛋白组中224种出现变化。Tucker等^[26]发现耐金属铜菌,经空间环境诱导后YaeT蛋白家族的相对丰度较地面环境下降。该蛋白家族主要负责组装革兰阴性细菌的蛋白质外膜。

7 展望

载人航天工程的实施为微生物科学技术的发展提供了一条新途径,提供了一个独特的研究微生物高致变的环境,而且已经取得了一定的成果,并促进了一门新的空间生物学分支领域——空间微生物学的诞生^[27-28]。目前,关于空间环境因素诱导病原菌表型变化的分子机制研究国内外尚属初级阶段,进一步通过对空间细菌的研究促进人类感染性疾病的预防和控制更是空白^[29]。随着科技的发展,2020年,我国将建立太空空间站,未来多次进入太空或长时间停留太空环境的人类及各种细菌将会越来越多。短时间的空间环境即可使细菌产生蛋白组学等方面的变化,那么,二次及多次进入太空或是长时间停留太空会对细菌产生哪些影响,细菌等微生物的蛋白组学、基因组学等是否会产生进一步变化,是否会进一步影响细菌等微生物的毒力、抗菌耐药性

等, 这些目前还都属于空白, 有待研究人员去解决^[30-32]。

参考文献

- 1 David MK, Heather NH. Antibiotic efficacy and microbial virulence during space flight [J]. *TRENDS in Biotechnology*, 2006, 24 (3): 131-136.
- 2 Su L, Chang D, Liu C. The development of space microbiology in the future: the value and significance of space microbiology research [J]. *Future Microbiol*, 2013, 8 (1): 5-8.
- 3 Vaishampayan PA, Rabbow E, Horneck G, et al. Survival of bacillus pumilus spores for a prolonged period of time in real space conditions [J]. *Astrobiology*, 2012, 12 (5): 487-497.
- 4 Maucilaire 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.
- 5 郭英华, 刘长庭. 空间生命科学研究与展望 [J]. *解放军医学杂志*, 2011, 36 (4): 416-417.
- 6 Horneck G, Klaus DM, Mancinelli RL. Space microbiology [J]. *Microbiol Mol Biol Rev*, 2010, 74 (1): 121-156.
- 7 Wilson JW1, Ott CM, Quick L, et al. Media ion composition controls regulatory and virulence response of *Salmonella* in spaceflight [J]. *PLoS One*, 2008, 3 (12): e3923.
- 8 Charles D. Science on the shuttle. NASA's busload of science [J]. *Science*, 2011, 333 (6038): 28-29.
- 9 Chang D, Zhu Y, Zou Y, et al. Draft genome sequence of *Enterococcus faecium* strain LCT-EF90 [J]. *J Bacteriol*, 2012, 194 (13): 3556-3557.
- 10 Fang X, Fang Z, Zhao J, et al. Draft genome sequence of *Pseudomonas aeruginosa* strain ATCC 27853 [J]. *J Bacteriol*, 2012, 194 (14): 3755.
- 11 Chang D, Zhu Y, Chen J, et al. Draft genome sequences and annotation of *enterococcus faecium* strain LCT-EF20 [J]. *Genome Announc*, 2013, 1 (1): 1-2.
- 12 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.
- 13 Timmerly S, Hu X, Mahillon J. Characterization of bacilli isolated from the confined environments of the Antarctic concordia station and the international space station [J]. *Astrobiology*, 2011, 11 (4): 323-334.
- 14 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.
- 15 苏龙翔, 刘进文, 方向群, 等. 空间诱导蜡状芽孢杆菌 LCT-BC25 和 LCT-BC235 的蛋白质组学研究 [J]. *解放军医学院学报*, 2013, 34 (1): 7-9.
- 16 Su L, Zhou T, Zhou L, et al. Draft genome sequence of *Bacillus cereus* strain LCT-BC244 [J]. *J Bacteriol*, 2012, 194 (13): 3549.
- 17 Wang JF, Liu CT, Liu JY, 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.
- 18 Chopra V, Fadl AA, Sha J, et al. Alterations in the virulence potential of enteric pathogens and bacterial-host cell interactions under simulated microgravity conditions [J]. *J Toxicol Environ Health A*, 2006, 69 (14): 1345-1370.
- 19 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.
- 20 Li T, Chen J, Chang D, et al. Draft Genome Sequence of *Escherichia coli* Strain LCT-EC59 [J]. *Genome Announc*, 2013, 1 (1): pii: e00242-12.
- 21 Zhang YL, Yang H, Xie Q, et al. Effects of simulated microgravity with clinostat on gene and protein expression in *escherichia coli* [J]. *Space Med Med Eng (Beijing)*, 2012, 25 (3): 157-161.
- 22 常德, 刘进文, 方向群, 等. 空间环境诱导屎肠球菌突变株 LCT-EF18 的蛋白质组学分析 [J]. *解放军医学院学报*, 2013, 34 (1): 3-6.
- 23 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 (1): 304.
- 24 Chang D, Zhu Y, Fang X, et al. Draft Genome Sequences of the *Enterococcus faecium* Strain LCT-EF258 [J]. *Genome Announc*, 2013, 1 (1): pii: e00147-12.
- 25 Mastroleo F, Van Houdt R, Leroy B, et al. Experimental design and environmental parameters affect *Rhodospirillum rubrum* S1H response to space flight [J]. *ISME J*, 2009, 3 (12): 1402-1419.
- 26 Tucker DL, Ott CM, Huff S, et al. Characterization of *Escherichia coli* MG1655 grown in a low-shear modeled microgravity environment [J]. *BMC Microbiol*, 2007, 7: 15.
- 27 Mcmeekin T, Bowman J, Mcquestin O, et al. The future of predictive microbiology: strategic research, innovative applications and Great Expectations [J]. *Int J Food Microbiol*, 2008, 128 (1): 2-9.
- 28 Hensley DM. Maintenance of antimicrobial susceptibility of *Acinetobacter baumannii* in modeled microgravity [J]. *Clin Lab Sci*, 2010, 23 (2): 84-88.
- 29 Nickerson CA, Ott CM, Mister SJ, et al. Microgravity as a novel environmental signal affecting *Salmonella enterica* serovar Typhimurium virulence [J]. *Infect Immun*, 2000, 68 (6): 3147-3152.
- 30 Rosenzweig JA, Abogunde O, Thomas K, et al. Spaceflight and modeled microgravity effects on microbial growth and virulence [J]. *Appl Microbiol Biotechnol*, 2010, 85 (4): 885-891.
- 31 康春燕, 袁明, 邹琳等. 模拟微重力对肺微血管内皮细胞窖蛋白 -1 和内皮型一氧化氮合酶表达的影响 [J]. *解放军医学杂志*, 2010, 35 (11): 1322-1324.
- 32 刘长庭. 空间环境对微生物的影响及意义 [J]. *军医进修学院学报*, 2012, 33 (5): 433-434.

本刊对来稿中统计学符号书写要求

本刊常用统计学符号书写要求如下:

样本的算术平均数用英文小写 $\bar{x}$, 不用大写 $\bar{X}$, 也不用 Mean, 标准差用英文小写 s , 不用 SD. 标准误用英文小写 $s\bar{x}$, 不用 S_e 也不用 standard error. t 检验用英文小写 t . F 检验用英文大写 F . 卡方检验用希文小写 χ^2 . 相关系数用英文小写 r . 样本数用英文小写 n . 概率用英文大写 P .