

环境微生物组中胞内与胞外基因的动态穿梭与生态功能

叶茂¹, 张忠云^{1,2}, 孙明明³, 时玉^{4,*}

Received: 11 April 2022 | Revised: 16 May 2022 | Accepted: 25 May 2022
DOI: 10.1002/imt2.34

REVIEW ARTICLE

iMeta WILEY

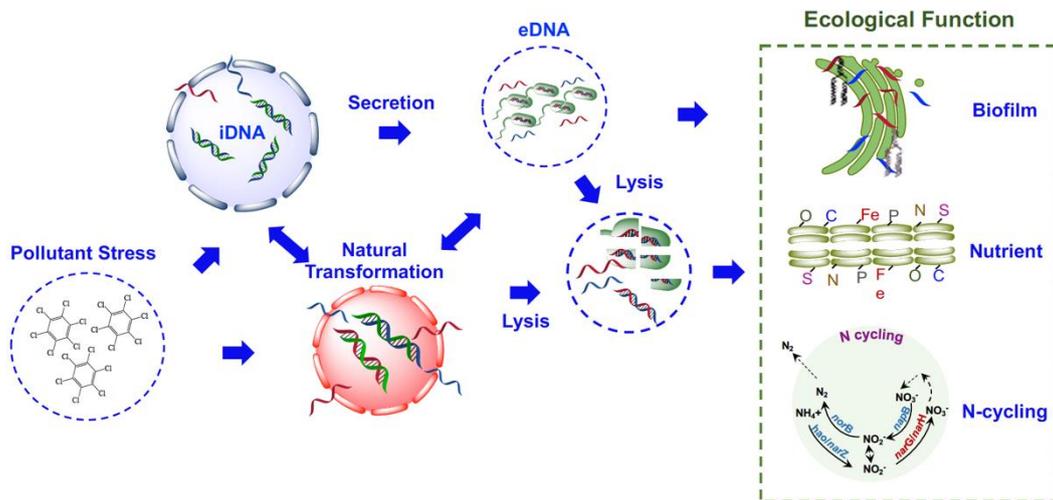
Dynamics, gene transfer, and ecological function of intracellular and extracellular DNA in environmental microbiome

Mao Ye¹ | Zhongyun Zhang^{1,2} | Mingming Sun³ | Yu Shi⁴ 

- 1 中国科学院南京土壤研究所, 中国 南京, 210008
- 2 中国科学院大学, 中国 北京, 100049
- 3 南京农业大学资源与环境科学学院, 中国 南京, 210095
- 4 河南大学生命科学学院, 中国 开封, 475004

* 通讯作者: 时玉, 邮箱: yshi@henu.edu.cn

Mao Ye, Zhongyun Zhang, Mingming Sun, Yu Shi. 2022. Dynamics, gene transfer, and ecological function of intracellular and extracellular DNA in environmental microbiome. *iMeta* 1: e34. <https://doi.org/10.1002/imt2.34>



图片摘要

摘要:

细胞外 DNA(extracellular DNA, eDNA)和细胞内 DNA(intracellular DNA, iDNA)广泛存在于陆生和水生生态环境系统中, 在物质循环和基因信息传递中发挥重要的生态学作用。胞

外 DNA 在环境中不易受核酸酶攻击，相对稳定，与胞内 DNA 都可反映功能基因丰度及其对应微生物活性；同时，胞外 DNA 是细胞生物膜中的重要组分，在微生物细胞抵御抗生素、重金属和农药等外来污染物胁迫中发挥了重要作用。本文从 e/iDNA 环境行为、eDNA 在生物膜中的环境作用、物质信息传递、e/iDNA 生态学功能等角度，综述了环境 e/iDNA 的行为归趋及生态功能研究进展，并对未来研究方向进行了展望。

关键词：

胞外 DNA；胞内 DNA；功能基因；宏基因组学；生态功能

亮点：

e/iDNA 广泛存在于土壤环境中；e/iDNA 能够指示功能基因多样性和微生物活性；e/iDNA 生物信息可以相互转化；e/iDNA 对营养元素转化和基因转换至关重要。

1 eDNA 和 iDNA

死亡细胞裂解和活细胞分泌通常会产生 eDNA，细胞自溶、病毒侵染和主动转运等都是 eDNA 产生的主要途径。环境中 eDNA 包含：游离态、松散和紧实结合态 eDNA。细菌可利用游离态 eDNA 作为 C、N、P 和 O 等基本元素的能源，也可整合同源或异源 eDNA 进入染色体，使其成为自身 DNA 的一部分或将其作为自身生物膜的一种组分。松散及紧实结合态 eDNA 通过磷酸基团间的无机阳离子桥或二价阳离子与有机质结合，一般以吸附或结合态存留于环境中，不易被核酸酶攻击，较为稳定，但随着环境 pH、温度和矿物性质等因素的变化，这部分 eDNA 也可以逐渐参与解吸和降解等物质循环过程。iDNA 是存留在正常代谢细胞内的 DNA，活细胞主动分泌、细胞裂解和重金属/有机污染物胁迫下细胞被动分泌等都是 iDNA 转化为 eDNA 的方式。

2 eDNA 和 iDNA 的环境相对丰度

通常条件下，土壤及沉积物环境中 eDNA 丰度较 iDNA 高，水体中 iDNA 丰度较高；土壤及沉积物中 eDNA 丰度比水体中 eDNA 丰度高。据统计，eDNA 在沉积物中的浓度是水体中浓度的 3 倍~4 倍，沉积物中 eDNA 的半衰期也比在水体系中长。土壤中也含有丰富的 eDNA 且多集中在土壤表层，利用 DNA 酶(DNase)去除土壤样品中的 eDNA，发现 eDNA 约占据土壤总 DNA 的 0%~83%；而使用叠氮溴化丙锭去除土壤中的 eDNA，发现这部分 DNA 约占据土壤总 DNA 的 40%；不同的比例可能与 eDNA 去除方法及土壤性质等环境因素密切相关。

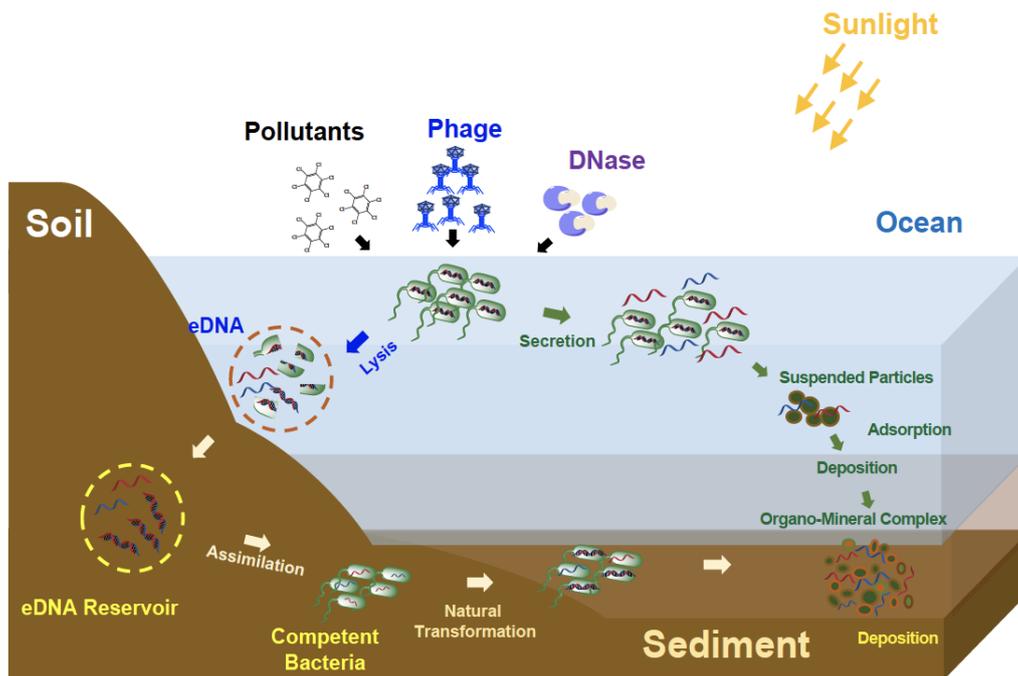


图 1. e/iDNA 在土壤、海水及沉积物中的环境归趋

3 eDNA 和 iDNA 的环境归趋

3.1 来源

eDNA 可能来自于死亡细胞裂解、活细胞受病毒侵害、暴露于污染物质后的主动或被动释放。许多细菌属，如不动杆菌属、假单胞菌属、芽孢杆菌属、微球菌属、葡萄球菌属在其活跃生长或暴露于辐射和抗生素环境中都可以分泌质粒和染色体 eDNA。植物中 eDNA 释放主要来自于地下生物量的自溶和分解、机械破坏、植物病原体对细胞结构的酶促降解等。在根系生长过程中，例如早期玉米根系伸长，每天每个初生根多达 10^3 个细胞脱落，其中大部分 DNA 被核酸酶切割成小片段。植物膜和细胞壁的机械破坏导致 eDNA 的释放，但周围丰富的核酸酶可能会在细胞死亡后降解这些 eDNA。此外，病原体定殖增强了内切葡聚糖酶、多聚半乳糖醛酸酶和果胶甲酯酶的酶活性，导致植物结构降解以释放 eDNA。

3.2 吸附

细胞裂解后产生的 eDNA 易被环境中大量存在的核酸酶攻击，破碎成为小分子 eDNA，被砂砾、矿物吸附或通过有机质结合后免受核酸酶攻击；据统计，>80%的海洋沉积物中 DNA 为 eDNA，且>95% eDNA 被沉积物所吸附，只有少于 5%为游离态 eDNA。土壤中 eDNA 被土壤矿物质、腐殖质及有机质吸附，得以免受微生物 DNA 酶的快速降解作用。土壤吸附

位点保护 eDNA 免受 DNA 酶攻击可能是在土壤颗粒的吸附作用下,削弱了 DNA 酶与 eDNA 直接反应的能力和概率。土壤矿物组成、土壤 pH、腐殖质含量和阳离子含量等因素都会相互影响土壤中 eDNA 的吸附过程。

3.3 降解

eDNA 进入土壤环境中, DNA 自身性质和土壤环境因素都会对 eDNA 降解产生影响; DNA 自身性质包括 DNA 来源、DNA 中 G+C 碱基含量、分子纯度以及分子重量。土壤环境因素包括土壤矿物组成、有机质含量、温度、静电作用和土壤湿度等。研究表明,外源添加的 eDNA 会在土壤中迅速降解, eDNA 降解速率与湿度及温度呈正相关,与土壤有机质含量呈负相关; eDNA 在耕种土壤中比在休耕土壤中有更高的降解率和更低的固定率。

在不同的环境介质中, eDNA 的降解速率并不相同。研究表明,在海洋水体及沉积物中游离态 eDNA 的降解及转化率,发现沉积物中 eDNA 降解速率较快,是水体中的 7 倍~100 倍,这与沉积物中含大量 DNA 酶有关。当环境温度低于 0℃时, DNA 依旧会缓慢降解,这可能是化学水解、化学氧化和 DNA 交联等作用依旧会降解 DNA。

3.4 自然转化

自然转化是 e/iDNA 环境行为的重要部分,同时, eDNA 自然转化也是原核生物摄取、整合、使 eDNA 表达的主要机制。自然转化过程不需要特殊的蛋白机制,在环境中频繁发生,尤其是自然感受态微生物细胞,其包括 4 个关键步骤:感受态细胞表面结合 eDNA→细胞壁/细胞膜吸收 eDNA→eDNA 整合进入细菌基因组→eDNA 表达。eDNA 成功整合进入细菌基因组后,会通过细胞间的结合及转导作用传播,进而进入基因传递网络。但是,并不是所有的 e/iDNA 都能够成功整合进入细菌基因组,这取决于外源链和染色体 DNA 之间的同源区域。

土壤中 eDNA 其他环境行为也会影响参与自然转化过程的有效态 eDNA。eDNA 吸附于土壤颗粒时降低了自然转化发生的频次,并且,通常情况下,土壤中热点区域如根际、细菌生物膜和营养物质流动区等, eDNA 自然转化发生的频次相对较高。

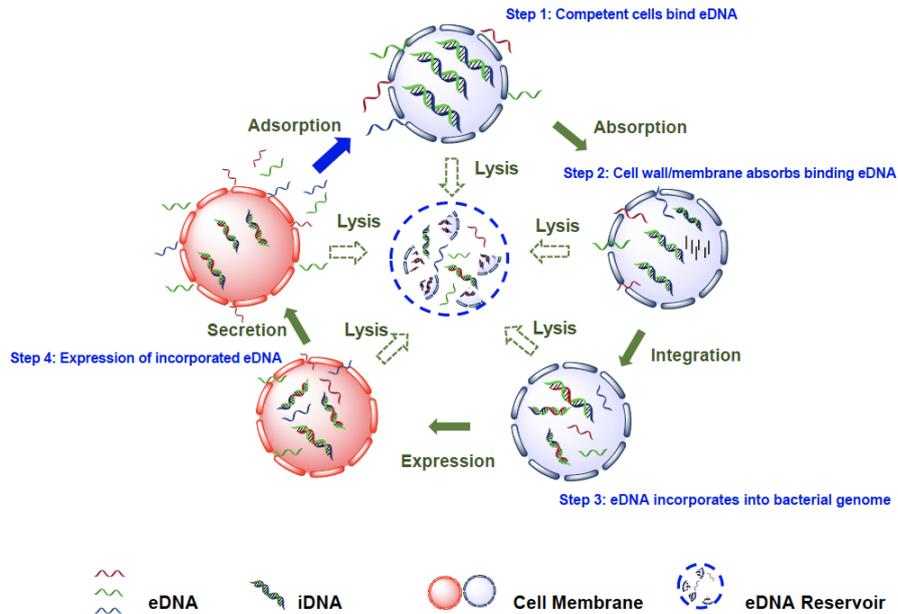


图 2. 细菌自然转化流程图

4 e/iDNA 在细菌生物膜形成中的作用

细菌生物膜是由微生物、有机质和一些非有机固体组成的混合物，包含多糖、脂质、蛋白质和核酸，尤其是 eDNA 等。细胞表面存在的 eDNA 一方面参与酸碱相互作用，另一方面为细菌粘附到疏水表面提供热力学有利条件，能够增强细菌生物膜形成时的粘附及细菌表面聚集作用，因而，eDNA 是细菌生物膜形成中的重要介质。

eDNA 是 *P. aeruginosa* 生物膜形成中的重要结构前体，且作为 *P. aeruginosa* 生物膜中细胞-细胞互连基质的化合物。eDNA 也能够保护 PAO1 生物膜抵御外部污染物质影响。eDNA 可以结合带正电荷的抗菌剂，如氨基糖苷类和抗微生物肽，使得 PAO1 生物膜免受氨基糖苷类的影响。eDNA 是 *S. aureus* 和 *S. epidermidis* 生物膜形成中的重要胞外前聚体，能够介导表面附着和细胞间粘附作用。eDNA 可在基质中作为结构组分、细胞间聚集的促进因子、表面结构粘附素、N/P 营养源，调控微生物群落中的遗传信息交换。

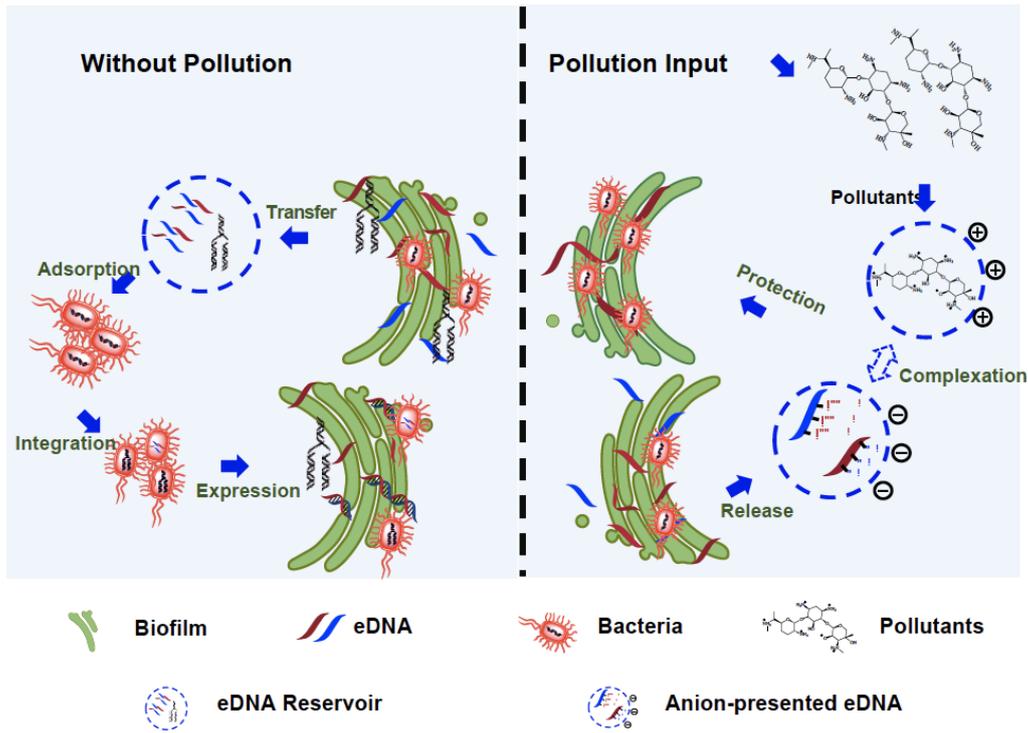


图 3. 生物膜保护细菌免受污染物胁迫机制

5 e/iDNA 生物功能信息传递

5.1 营养元素循环

eDNA 在降解后基因信息可能不被保存，但是其降解后的元素，如 C、N、P 和 O 等元素依旧存在于环境体系，可以用于从头合成 DNA，也可参与食物链中的元素大循环。对浮游生物来说，eDNA 降解能够为其提供 4% C 源、7% N 源和 47% P 源。流感嗜血杆菌 (*Haemophilus influenzae*) 和淋病奈瑟菌 (*Nisseria gonorrhoeae*) 都能够通过膜蛋白吸收同源和异源 eDNA 用于自然转化，修复自身基因组 DNA 损伤或将 eDNA 作为自身营养来源。

5.2 e/iDNA 的基因信息传递

以抗性基因为例，抗性基因可能位于染色体和一些移动遗传元件上，如质粒、转座子或整合子，在环境中作为细胞内抗性基因 (intracellular antibiotic resistance genes, iARGs) 和细胞外抗性基因 (extracellular antibiotic resistance genes, eARGs) 存在。iARGs 可通过自我复制传递给后代，也能够通过水平基因转移等方式传递给其他物种；细胞外抗性基因 (eARGs) 则可能通过自然转化被细菌吸收。环境中存在的高浓度抗生素，加速了生物膜中 ARGs 的产生及传播；eARG 占总 ARGs 60% 以上，并且与游离态 eDNA 相比，吸附态 eDNA 更容易与感受态

细胞耦合。

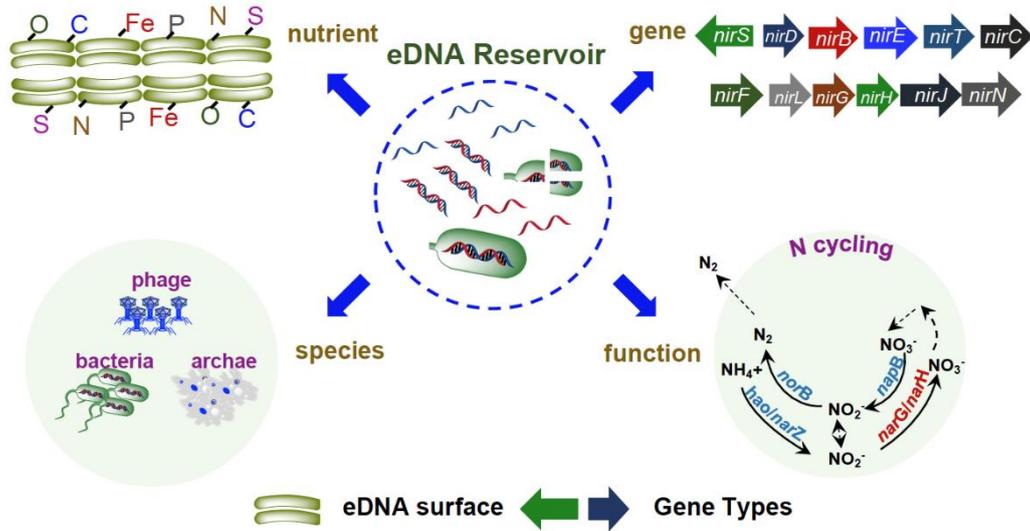


图 4. e/iDNA 生态功能及基因传递

6 研究展望

目前, 1) 现行的 e/iDNA 提取方法难以区分游离态、松散结合态及紧密结合态 eDNA 的具体环境效应, 且细菌、真菌等微生物对 eDNA 的贡献比例及不同环境体系 eDNA 来自死亡微生物的比例依旧值得探索。 2) e/iDNA 中包含的功能基因及其指示微生物种群各自参与环境过程并不相同, 对生态系统的调控作用也有差别; 因而, 为探明 e/iDNA 在生态功能多样性中的重要作用, 还应理解 e/iDNA 营养元素物质循环、功能微生物种群历史变迁、功能微生物生态位等过程。

引文:

Ye, Mao, Zhongyun Zhang, Mingming Sun, and Yu Shi. 2022. "Dynamics, Gene Transfer, and Ecological Function of Intracellular and Extracellular DNA in Environmental Microbiome." *iMeta* e34. <https://doi.org/10.1002/imt2.34>

作者简介:

通讯作者:



时玉，男，1984年2月，河南大学“黄河学者”特聘教授。2015年于中国科学院南京土壤研究所获得环境科学博士学位；2015年1月-2021年3月，在中国科学院南京土壤研究所工作；2021年3月，入选河南大学“黄河学者”特聘教授，进入生物互作与生态安全实验室工作。2021年获得中国土壤学会科学技术一等奖。2022年获得江苏省科学技术二等奖。主持和参与多项国家和省部级项目，包括国家自然科学基金2项，国家重点研发计划2项，河南省自然科学基金一项，自然资源部国土整治中心项目1项，公安部物证鉴定中心协同创新项目1项以及科技基础性工作专项1项。在 *Microbiome*、*Environment International*、*Soil Biology & Biochemistry*、*Environmental Microbiology*、*Applied and Environmental Microbiology*、*Science of the Total Environment* 等专业知名期刊发表论文60余篇，一作/通讯20篇。Web of science 他引3024次，H指数24。

Email: yshi@henu.edu.cn

第一作者



叶茂，男，副研究员/硕士生导师，中国科学院南京土壤研究所。研究方向：土壤宏病毒组、宏基因组、生物信息、污染土壤中病毒-宿主细菌群落互作机制。以第一或通讯作者在 *Microbiome*、*Environment International*、*Environment Pollution* 等期刊发表论文25篇，h指数21，他引大于1000次。第一发明人获得授权美国发明专利1项，中国发明专利7项。E-mail: yemao@issas.ac.cn

叶茂博士担任 *Frontiers in Microbiology* 期刊与 *Viruses* 期刊专刊编委、中国土壤学会优秀青年学者奖、江苏省优秀青年基金获得者、江苏省333工程第三层次培养对象、中科院青促会土壤所小组组长，主持国家重点研发计划课题、国家自然科学基金面上/青年基金、江苏省生态环境厅重点项目，中国科学院科研设备研发项

目等。

共同第一作者：



张忠云，中国科学院南京土壤研究所 博士。2016 年在南京农业大学获得理学学士学位，2022 年在中国科学院南京土壤研究所获得博士学位。导师：蒋新研究员，主要研究方向：污染场地土壤分子毒理组学。

第三作者：



孙明明，南京农业大学资源与环境科学学院教授，博士生导师。2008 年在南京师范大学获生物科学（国家理科基地）学士学位，2013 年在中国科学院南京土壤研究所获生态学博士学位。2013 年至今在南京农业大学资环学院工作，2015-2017 年在美国德州农工大学土壤作物系开展博士后研究。

主要从事污染土壤微生物群落装配机制与原位靶向修复技术、逆境胁迫对噬菌体-宿主生存策略影响与解毒调控、蚯蚓肠道菌群分子毒理组学指纹表征与代谢调控等方面的研究工作。发表学术论文 60 余篇，其中以第一或通讯作者在 *The ISME Journal*、*mSystems*、*Journal of Hazardous Materials*、*Environment Pollution* 等期刊发表论文 28 篇，h 指数 23，他引大于 1400 次。获得第一发明人授权国家发明专利 5 项，软件著作权 1 项。获中国科协青年人才托举工程、中国土壤学会优秀青年学者奖、全国农林类高校微课比赛一等奖、南京农业大学优秀共产党员、

目前担任中国土壤学会土壤生态专业委员会委员、江苏省土壤学会教育专业委员会委员、江苏省土壤学会青年委员会委员；担任 *Journal of Environmental Management* 期刊副主编、*Journal of Hazardous Materials* 编委、*Applied Soil Ecology* 青年编委等。