

# 肉足鞭毛类原生动物中 宿主-共生体系统的研究\*

顾福康 隋淑光 杨振云

(华东师范大学生物系, 上海 200062)

**摘要** 目前已在20多种变形虫和70多种鞭毛虫中发现细菌内共生体。大部分细菌内共生体位于宿主细胞质共生泡中,仅少数鞭毛虫的内共生体位于核质中。变形虫-细菌共生系统形成后,共生体影响宿主细胞基因,对其基因缺陷产生互补作用。灰胞藻类鞭毛虫-蓝绿藻共生体系统的研究表明,叶绿体起源于一种原始的共生蓝细菌。锥体亚目鞭毛虫细胞质内普遍含有双心体,该共生体可能是由来自波豆亚目的锥体类鞭毛虫遗传的。作者推测,继续研究鞭毛虫和原核生物共生关系起源的基本阶段,可阐明原生动物的共生系统起源的基本原则,并为真核细胞起源的理论提供进一步的证据;深入研究变形虫-细菌共生系统,可在遗传精细结构和代谢调节的进化方面为真核细胞内共生起源的理论提供分子水平上的证据。

**关键词** 变形虫,鞭毛虫,细菌内共生体,共生作用,真核细胞起源

**Studies on the host-symbiont systems in sarcodines and flagellates/GU Fu-Kang, SUI Shu-Guang, YANG Zhen-Yun**

**Abstract** The study of the host-prokaryotic symbiosis in sarcodines and flagellates is an important part of the exploration of the origin and evolution of eukaryocytes. Until now, bacterial endosymbionts have been found in more than 20 species of amoebae and 70 species of flagellates. Most of the symbiotic bacteria are sustained in symbiontophoric vacuole of the host's cytoplasm, whereas the nuclear symbionts are observed in a few flagellate species. The biogenesis of membranes of symbiontophoric vacuoles is an important aspect of the amoebae-bacteria system establishment, also, the symbiont may become essential cellular components of amoebae by supplementing a genetic defect for an amoebae's house-keeping gene that is brought about by an action of the symbiont themselves. Studies on the endosymbiotic systems of Glaucophyceae-cyanellae have proved that the chloroplast originated from a single ancestral symbiotic cyanobacterium. Trypanosomatids quite often contain endosymbiotic diploosomes in their cytoplasm, also, it is deduced that the diploosome have been inherited by trypanosomatids from bodonids. It is supposed that: (1) further study on basic stages of origin of symbiotic relationship between flagellates and prokaryotes may formulate the major principles of the origin of symbiotic systems of protozoa, and still further furnish the theoretical evidences of the endosymbiotic origin of eukaryocytes; (2) profound study on the amoebae-bacteria system will probably produce testimony to the theory of endosymbiotic origin of eukaryocytes at the aspect of the evolution of genetic fine structures and metabolic regulation at molecular level.

**Key words** amoebae, flagellate, bacterial endosymbiont, symbiosis, origin of eukaryocyte

**Author's address** Department of Biology, East China Normal University, Shanghai 200062

自从1970年Margulis提出真核细胞的共生作用起源说以来,研究原生动物和原核生物间的共生作用,探索真核细胞的起源及其进化,已越来越引起各国学者的重视。由于原生动物是一个多系统类群,而不是一个自然类群,这一类群所显示的多样性特征是其它生物类群无可比拟的,加之原生动物细胞体积大,主要以吞噬作用获取营养,这种特殊的营养方式,使之成为细菌

等各种微生物进入细胞内栖息提供了重要条件。因此,原生动动物成为研究细胞内共生作用的理想材料。在生物分类的五界系统中,原生动动物被作为原生生物界中的一个亚界,肉足鞭毛虫类原生动动物则是其中一个门<sup>[1]</sup>。对这类原生动动物内共生作用的研究,目前已涉及到应用少数模式材料以现代生物学方法作深入的理论研究、对不同类群中的内共生体作比较进化分析两个方向,其中,关于内共生体的进入方式、内共生系统建立过程中双方的相互识别、内共生体在宿主细胞内的生存方式及其协同进化(coevolution)是研究的主要内容<sup>[2]</sup>。随着超微结构技术、生化和分子生物学方法的普遍应用,对肉足鞭毛虫类原生动动物共生系统的研究已取得较快进展,所得结果对揭示真核细胞生命系统的结构和功能、真核细胞器的起源及其细胞进化等生命现象的基本理论问题有重要价值。

## 1 肉足类原生动动物

裸变形虫是这类原生动动物中最常见的。除在似卓变形虫(*Parachaos zoochlorellae*)中观察到非专性的变形虫-藻类共生作用外,在裸变形虫中常见细菌内共生现象,例如,至今对60多种变形虫的超微结构观察中,发现含细菌内共生体的便有20多种。在变形虫-细菌共生系统中,细菌位于变形虫细胞质的共生泡(symbiontophoric vacuole)中,或游离在无膜结构围着的细胞质中,有时在同一变形虫细胞内可同时含有这两种定位方式的内共生体。

### 1.1 变形虫细胞内共生体的起源

60年代中期,有人将细菌实验感染大变形虫(*Amoeba proteus*),新感染细菌的变形虫其细胞生命活动受到一定程度的有害影响<sup>[3]</sup>。但经数年维持培养后,其中细菌对变形虫的有害作用逐渐变小,最终,变形虫须依赖所获得的细菌才能生存下来。后来,又有人以人工诱导变形虫吞噬作用或以显微注射方法将外来细菌引入到含有细菌共生体的变形虫细胞内,观察到,细菌由变形虫质膜包裹形成吞噬体,经历一个消化过程,其中少数吞噬体能避免被消化而成为包有共生细菌的小泡。实验后4~10天,约有5%的细菌以这种形式存活下来,在变形虫细胞内继续繁殖。由此表明,小泡对细菌共生体有特殊保护作用。应用生物化学方法分析质膜和来自质膜的共生体小泡(共生泡)两者的膜蛋白成分,其中共生泡在细胞质面有一个分子量为200 kD的特殊多肽,但质膜含有的几个多肽在共生泡中已不存在。由这一结果推测,共生泡是吞噬体被消化期间与溶酶体结合对其质膜选择性地分离出来的特殊膜成分,因此细胞内共生体产生的一个重要方面是共生泡膜的生物合成,其中包括在膜内插入200 kD多肽的过程<sup>[4]</sup>。

对棘变形虫(*Acanthamoeba*)及其细菌内共生体嗜肺军团菌(*Legionella pneumophila*)的共培养实验观察到,其中变形虫能分泌某些可溶性物质到培养基中,经分析,这些物质对细菌的生长繁殖是必要的<sup>[5]</sup>。并且,细菌经变形虫的吞噬作用迅速进入变形虫细胞质,长期停留在“食物泡”中生活<sup>[6]</sup>。应用潜在的细菌共生体对几种棘变形虫作人工感染传播实验,观察到实验棘变形虫均可能成为细菌内共生体的宿主<sup>[7]</sup>。由这些结果推断,棘变形虫与其潜在的共生菌两者完全可能形成一个共生系统。

目前对位于共生泡的细菌其经由变形虫吞噬作用进入宿主细胞质中的途径比较清楚,但对游离在变形虫细胞质内的细菌内共生体的起源尚不清楚。

### 1.2 变形虫-细菌共生系统的维持和整合机制

经观察发现,一个新感染了细菌的大变形虫约经过200个细胞世代便会对细菌共生体产生依赖作用<sup>[8]</sup>,如果从变形虫细胞内去除全部的细菌共生体的话,则建立了共生关系的该变

形虫必将死亡,而如果再将细菌引入到实验变形虫的细胞质,不能存活的变形虫会重新恢复活力<sup>[9,10]</sup>。这些结果意味着,由于细菌共生体的作用,使含共生体的变形虫细胞核基因组成成分发生了改变,而与无共生体的变形虫不再一样,结果导致变形虫必须依赖其共生系统生存的情况。

Choi<sup>[11]</sup>等应用聚丙烯酰胺凝胶电泳研究了含共生体和无共生体的两种大变形虫细胞质的组成,由此揭示,含共生体变形虫不再产生一种具有 S-腺苷甲硫氨酸(SAM)合成酶活性的 45 kD 蛋白质,但无共生体变形虫含这种蛋白质,这可能是由于栖息共生体的结果,使宿主变形虫不能转录该蛋白质的基因造成的。为了确定无共生体变形虫中 45 kD 蛋白质的可能作用,他们制备了抗该蛋白质的单抗,以此作探针,克隆了该蛋白质相应的 cDNA,经测序分析,所得的 cDNA 能编码一种蛋白质,其氨基酸顺序与 *E. coli*、鼠、酵母等生物细胞中 SAM 合成酶的氨基酸顺序非常相似。结果表明,大变形虫中的内共生细菌可能已成为其细胞内重要的组分,通过细菌内共生体的活动对宿主细胞基因产生影响,并对其基因缺陷产生互补作用。变形虫中的这一发现,即共生体改变宿主的基因的表达,阻断宿主细胞中一个必需蛋白质的合成的情况,目前尚是第一例。

此后, Pak 等<sup>[12]</sup>又发现,在大变形虫-细菌共生系统中,细菌共生体作为变形虫细胞组成成分,大量合成一种 29 kD 的蛋白质,该蛋白质通过共生体膜进入宿主细胞质,最终到达细胞核中。氨基酸顺序分析显示,该蛋白质中有一段与细胞核定位信号有关的碱性氨基酸,但在其 N-端无信号肽。目前对所述蛋白质的功能尚不清楚,据其显著存在于变形虫细胞核中的情况推测,它可能对细胞核基因的表达产生影响。

## 2 鞭毛类原生动物

至今已报道有 70 多种鞭毛虫含细菌内共生体,其共生细菌的细胞壁无胞壁质(mureine),呈革兰氏阴性,但大部分未作鉴定。共生细菌一般位于宿主细胞质的共生泡中,或游离在无膜物质包裹的宿主细胞质内;有些共生菌位于鞭毛虫粗面内质网形成的分隔中,或在核周腔(perinuclear space)及粗面内质网两者位置兼有;少数共生菌成为鞭毛虫核内共生体,无膜物质包裹而位于宿主细胞核的核质(karyoplasm)中。

关于鞭毛虫细胞内共生体的起源和进化,一般认为有两种可能结果:(1)细菌侵入鞭毛虫细胞质以后,由“外来生物体”进化成宿主细胞的互补细胞器;(2)细菌共生体位于宿主细胞质分隔中,其外围的膜结构可抵抗宿主溶酶体酶系的水解,期间,共生体可进入宿主的核周腔甚至细胞核的核质中。

### 2.1 鞭毛虫-细菌共生系统的研究中关于叶绿体起源的证据

鞭毛虫细菌内共生体进化的研究为探索真核细胞的细胞器起源提供了重要证据。在对红藻(red algae)叶绿体起源的研究中,有人发现在灰胞藻类鞭毛虫(*Glaucophyceae*)细胞质中含有蓝色体,这并非是一种独立的鞭毛虫胞器,而实际上是一类原始的蓝细菌(Cyanobacterium)。根据蓝色体含色素、有细胞壁及一定程度上依赖于宿主细胞核基因组等特征,一方面尚不能把它看作为“胞器-叶绿体”,但另一方面它很可能是自由生活的蓝细菌和红藻叶绿体之间的一种过渡形式。据此认为,全部叶绿体可能起源于一种原始的蓝细菌<sup>[13]</sup>。

### 2.2 动基体目鞭毛虫-细菌共生系统的研究

动基体目鞭毛虫(*Kinetoplastids*)含波豆亚目(*Bodonina*)和锥体亚目(*Trypanosomatina*)两个类群。自由生活的波豆虫细胞质内普遍存在革兰氏阴性细菌,但也在某些自由生活的波豆

虫(例如 *Pleuromona jaculans*)和寄生生活的隐鞭虫(例如 *Cryptobia* sp.)中观察到,细菌内共生体位于核周腔,在全部营寄生生活的锥体虫中广泛存在细菌内共生体,且共生体仅位于细胞质,总是形成由一层膜围着一个大的分裂细胞,有人称之为“双心体”(diplosome)。

经研究,双心体内共生体的存在与宿主基因组的分子特征多少是有联系的,并且含内共生体的几种短膜虫(*Crithidia deanei*, *C. oncopelti*, *C. desouzai*)其中 18S rDNA 基因的核苷酸序列与无共生体的法氏短膜虫(*C. fasciculata*)中同种基因比较,其同源性超过 90%。经种类鉴定和核苷酸序列分析,芽短膜虫属(*Blastocrithidia*)和短膜虫属(*Crithidia*)中的双心体属于紫色原细菌  $\beta$ -亚群,其 rDNA 基因的 G + C 含量为 53%,编码区相同性达 97.3%。这类细菌共生体与一种自由生活的细菌(*Bordetella bronchiseptica*)亲缘关系最近。

由于自由生活的波豆虫以胞口和胞咽吞食细菌,这是细菌进入鞭毛虫细胞质营共生生活的重要条件,但寄生生活的锥体虫并非以吞噬作用获取营养,因此推测,其双心体共生体可能是由来自波豆虫的锥体类鞭毛虫遗传的<sup>[14]</sup>。

对几种锥体类鞭毛虫(*Crithidia oncopelti*, *C. deanei*, *Trypanosoma corbitis*, *Blastocrithidia culicis*)作无菌培养,其中细菌内共生体的细胞壁会减少或消失,并且有 1 种短膜虫(*C. oncopelti*)的内共生体能为宿主提供或为宿主简化所需的营养,例如,宿主细胞含内共生体时,能在由 4 种氨基酸组成的培养基中生长,但无共生体时需要 12 种氨基酸加上高氯铁血红素和尼克酰胺的培养基才能生长<sup>[15]</sup>,这些结果意味着,内共生系统整合过程中宿主-共生体间相互作用,使宿主细胞越来越依赖于内共生体获取营养及其内共生体对宿主产生的有益作用<sup>[16]</sup>。

### 3 展望

将原生动物的鞭毛虫与纤毛虫两者的结构作比较,许多方面表现出明显的同源性和相似性,由此认为鞭毛虫最可能是纤毛虫的祖先<sup>[17]</sup>。随着原生动物的鞭毛虫等一些具有原核细胞向真核细胞过渡的典型结构的原始真核类鞭毛虫的发现,关于鞭毛虫是地球上现存的并最有可能是真核生物祖先这一认识的证据则更为充分。有关学者推测,鞭毛虫这些原始的真核细胞中细胞的吞噬活动是其中某些细胞器共生作用起源的基础<sup>[18]</sup>。也有证据表明,在鞭毛虫中即使是最低等的类群(例如某些无线粒体、不进行光合作用的异养型种类)也能与各类不同的细菌形成大量的多样性共生系统。由此可以确信,继续研究鞭毛虫的区系和分类,深入探索鞭毛虫和原核生物共生关系起源的基本阶段,有可能揭示原生动物的共生关系起源的基本原则,并为真核细胞的起源理论提供进一步的证据。

变形虫-细菌共生系统是目前应用最多的模式材料之一。在变形虫类原生动物的细胞质分隔内含有原核类共生体,而在细胞表膜、核周腔和核质中则没有,这可能是变形虫生命活动中,其变形运动使细胞体形的不断改变及表膜与内质网膜系统的不断转换造成的。在变形虫中发现细菌共生体影响宿主细胞的基因表达,阻断其中一个必需蛋白质合成的情况是很有意义的,这也标志着对原生动物的共生系统的研究,已经开始注意于共生作用与宿主细胞大分子物质的变化,并将其对细胞基因结构的影响联系起来。接下去,开展对基因表达产物及其基因组 DNA 与共生作用机理的研究,深入在分子水平上阐明细胞内共生作用的调节和控制,可能是这一领域的研究趋势。在分子水平上的预期研究,不但可深入了解共生系统双方在基因结构上的调节、控制机理,也可为真核细胞共生作用起源的理论在遗传精细结构及其细胞代谢调节的进化方面提供证据。

## 参 考 文 献

- 1 Levine N D , Corliss J O , Cox F E G et al. A newly revised classification of the Protozoa. *J. Protozool.* ,1980 , **27**( 1 ) 37 ~ 58
- 2 Corliss J O. Endosymbionts of protozoa. *Zool. Sci.* ,1990 **7**( suppl. ) :167 ~ 177
- 3 Jeon K W , Jeon M S. Unusual intra\_cellular bacterial infection in large free\_living amoebae. *Exp. Cell. Res.* , 1967 **48**( 1 ) 236 ~ 240
- 4 Reisser W , Meier R , Gortz H D et al. Establishment , maintenance , and intergration mechanism of endosymbionts in protozoa. *J. Protozool.* ,1985 **32**( 3 ) 383 ~ 390
- 5 Tyndall R L , Domingue E L. Cocultivation of *Legionella pneumophila* and free\_living amoebae. *Appl. Env. Microbiol.* ,1982 **44**( 4 ) 954 ~ 959
- 6 Holden D P , Winker H H , Wood D O et al. Intracellular growth of *Legionella pneumophila* within *Acanthamoeba castellanii*. *Infect. Immunol.* ,1984 **45**( 1 ) :18 ~ 24
- 7 Gautom R K , Fritsche T R. Transmissibility of bacterial endosymbionts between isolates of *Acanthamoeba* spp. *J. Euk. Microbiol.* ,1995 **42**( 5 ) :452 ~ 456
- 8 Jeon K W , Ahn T I. Temperature sensitivity : a cell character determined by obligate endosymbionts in amoebae. *Science* ,1978 **202** :635 ~ 637
- 9 Lorch I J , Jeon K W. Rapid induction of cellular strain specificity by newly acruired cytoplsmic components in amoebae. *Science* ,1981 **211** 949 ~ 951
- 10 Lorch I J , Jeon K W. Nuclear lethal effect and nucleocytoplasmic incompatibility induced by endosymbionts in *Amoeba proteus*. *J. Protozool.* ,1982 **29**( 3 ) :468 ~ 470
- 11 Choi J Y , Lee T W , Jeon K W et al. Evidence for symbiont\_induced alteration of a hosts gene expression irriv-ersible loss of SAM synthetase from *Amoeba proteus*. *J. Euk. Microbiol.* ,1997 **44**( 5 ) :412 ~ 419
- 12 Pak J W , Jeon K W. A symbiont-produced protein and bacterial symbiosis in *Amoeba proteus*. *J. Euk. Microbiol.* ,1997 **44**( 6 ) :614 ~ 619
- 13 Cavalier\_Smith T , Lee J J. Protozoa as hosts for endosymbionts and the conversion of symbionts into organelles. *J. Protozool.* ,1985 **32**( 3 ) 376 ~ 379
- 14 Ossipov D V , Karpov S A , Smirnov A V et al. Peculiarities of the symbiotic systems of protist with diverse pat-terns of cellular organization. *Acta. Protozool.* ,1997 **36**( 1 ) 3 ~ 21
- 15 Gautman H N , Eisenmann R N. " Cure " of *Crithidia( Strigomonas ) oncopelti* of its bacterial endosymbionts. *Nature* ,1965 **206** :113 ~ 114
- 16 Lee J J , Soldo A N , Reisser W et al. The extent of algal and bacterial endosymbioses in protozoa. *J. Protozo-ol.* ,1985 **32**( 3 ) 376 ~ 379
- 17 Lee R E , Kugrens P. Relationship between the flagellates and the ciliates. *Microbiol. Rev.* ,1992 **56**( 4 ) :529 ~ 542
- 18 Sleight M A. Progress in understanding the phylogeny of flagellates. *Cytology* ,1995 **37**( 4 ) 985 ~ 1009

## 欢迎订阅 2000 年《生物多样性》期刊

《生物多样性》期刊是由中国科学院生物多样性委员会主办,中国科学院植物研究所、动物研究所和微生物研究所共同承办的学术刊物。于 1993 年 10 月创刊。《生物多样性》现为季刊,每季度中月下旬出版。16 开本、96 页,每期定价 12.00 元,全年 4 期共 48 元。

编辑部备有精装合订本:1993(中英文版本)与 1994 年(中英文版本)合订为一册(Vol.1~2),每册 25.00 元;1995 年(Vol.3)、1996 年中英文合订本(Vol.4),每册分别为 25.00 元;1997 年(Vol.5)、1998 年(Vol.6)合订本,每册分别为 35.00 元。需邮购者请直接来函或用 e-mail 与编辑部联系,汇款收到即寄刊物和报销凭证。

地址:100093 北京香山中国科学院植物研究所院内《生物多样性》编辑部。电话:010-62591431-6137。E-mail:biodiv@caf.forestry.ac.cn;银行汇款:100037 北京三里河路 36 号,中国工商银行北京分行西城区百万庄分理处;沪头:《生物多样性》编辑部,帐号:014-144587-41