

教学研究

此“壁酸”非彼“壁酸”——关于“细胞生物学”教材中 细菌细胞壁特征描述的商榷

李绍军 曹建军 陈坤明* 胡景江

(西北农林科技大学生命科学院, 杨凌 712100)

摘要 目前,相当数量的“细胞生物学”教材中关于革兰氏阳性菌(G+)与革兰氏阴性菌(G-)细胞壁特征差异的描述不够准确,尤其是有关“壁酸”的论述,存在一些不妥与混乱。这给学生的学习带来了较大困惑。该文根据最新文献查证,讨论了细菌细胞壁壁酸的确切含义,并对革兰氏阳性菌与革兰氏阴性菌之间细胞壁差异提出了更准确的表述。

关键词 教学; 知识点表述优化; 胞壁酸; 磷壁酸

Muramic Acid and Teichoic Acid are not Same: An Accurate Description for Bacteria Cell Wall Property in the Textbook of Cell Biology

Li Shaojun, Cao Jianjun, Chen Kunming*, Hu Jingjiang

(College of Life Sciences, Northwest A&F University, Yangling 712100, China)

Abstract The difference of cell wall properties between Gram positive and negative bacteria is found to be inaccurately summarized in some Cell Biology textbooks. This will lead to much confusion for students when they study the course. In the present paper, we provided new evidences to distinguish the properties of cell wall between Gram positive and negative bacteria, and a more accurate explanation for those was proposed.

Key words teaching; optimizing for knowledge point statements; muramic acid; teichoic acid

翟中和等主编的《细胞生物学》教材因其体系完整、论述详细,有助于学生系统掌握细胞生物学基础理论知识及科学研究方法,在高校中使用比较广泛,是普通高等教育“十一五”国家级规划教材,2011年推出了第四版。但在教学中我们发现,这本教材从第一版到第四版^[1]及其他一些教材^[2]中有关革兰氏阳性菌(G+)与革兰氏阴性菌(G-)的细胞壁壁

酸的论述存在一定的问题,特此提出与广大同行讨论。

翟中和等主编《细胞生物学》教材^[1]第14页和韩榕主编《细胞生物学》教材^[2]第13页是这样描述的:“革兰氏阳性菌(G+)细胞壁厚20~80 nm,层次不清楚,壁酸含量高达90%;革兰氏阴性菌(G-)细胞壁厚约10 nm,层次较分明,壁酸含量仅占5%。青霉素的

收稿日期: 2014-04-10 接受日期: 2014-06-11

西北农林科技大学本科优质课程建设项目(细胞生物学)(批准号: 办教发[2012]39号)、2011年陕西省高等学校省级特色专业建设(西北农林科技大学生物学070401)(批准号: 陕教高[2011]42号)和西北农林科技大学教学改革项目(批准号: JY0902074)资助的课题

*通讯作者。Tel: 029-87092262, E-mail: kunmingchen@nwsuaf.edu.cn

Received: April 10, 2014 Accepted: June 11, 2014

This work was supported by the Construction Project of Undergraduate Students Courses Optimization in Northwest A&F University (Grant No.39, [2012]), the Construction of Characteristic Specialty in Colleges and Universities of Shaanxi Province (Biological Sciences, Northwest A&F University 070401, Grant No.42, [2011]) and the Teaching Reform Project of Northwest A&F University (Grant No.JY0902074)

*Corresponding author. Tel: +86-29-87092262, E-mail: kunmingchen@nwsuaf.edu.cn

网络出版时间: 2014-09-23 14:17 URL: <http://www.cnki.net/kcms/doi/10.11844/cjcb.2014.10.0123.html>

抑菌作用主要是通过抑制壁酸的合成,从而抑制细胞壁的形成。阳性菌因细胞壁的壁酸含量极高,故对青霉素很敏感;反之,阴性菌由于壁酸含量极少,对青霉素不敏感。”

以上关于细菌细胞壁中“壁酸”的表述是不恰当的。第一句话中作者的两个“壁酸”本意大概是指肽聚糖(peptidoglycan),却将肽聚糖单体的组成性亚基——胞壁酸(muramic acid)当成了肽聚糖本身。后面两句,作者可能了解过壁磷壁酸(wall teichoic acid)含量与培养条件存在相关性,但可能误认为青霉素对某种壁酸合成有直接抑制作用,并取决于某种壁酸含量的多少发挥抑菌作用。实际上,G⁻对青霉素不敏感并非某种壁酸含量少所导致,主要的原因是:G⁻的肽聚糖纤维连接方式与G⁺不同(图1),这种方式的不同取决于G⁺依赖细菌转肽酶(transpeptidase)而G⁻不依赖这种转肽酶,细菌转肽酶是G⁺的一种青霉素结合蛋白(penicillin-binding protein),受青霉素影响会失活;G⁻的肽聚糖层非常薄,而且更重要的是受到了其外层细胞壁(也叫外膜,outer membrane)的保护(图2),这与G⁺肽聚糖层以裸露在外的形式完全不同。因此,G⁻的肽聚糖层虽然薄但由于外壁(外膜)的存在而能够抗拒青霉素类抗生素的作用。

在概念上,这段论述实际涉及到了胞壁酸(muramic acid)和磷壁酸(teichoic acid)^[3-7]两个不同的概念,两者差别很大。前者指的是N-乙酰胞壁酸(N-acetyl muramic acid, NAM),简称为胞壁酸,是肽聚糖分子中的亚基,G⁺和G⁻中都有。后者是能与肽聚

糖或细胞膜上其他分子产生共价连接的分子,存在于G⁺中,在G⁻中未见报道。

细菌细胞壁的肽聚糖都是由N-乙酰葡萄糖胺(N-acetyl glucosamine,简称NAG或G)和N-乙酰胞壁酸(N-acetyl muramic acid,简称NAM或M)构成双糖单元,形成聚糖纤维。也就是说,N-乙酰胞壁酸是细菌肽聚糖这种大分子的结构性组成亚基,不管是G⁺还是G⁻,N-乙酰胞壁酸做为亚基在肽聚糖分子的组成比例上没有多少差别。相邻肽聚糖纤维之间的短肽尾(四肽尾)通过肽桥(peptide interbridge)(G⁺)或肽键(G⁻)连接起来形成肽聚糖片层,像胶合板一样黏合成多层^[5-6]。如图1所示,G⁺的肽聚糖单体在胞壁酸上有一条“四肽尾”(L-Ala-D-Glu-L-Lys-D-Ala),由单体肽尾上的D-丙氨酸和另一单体肽尾上的L-赖氨酸以“肽桥”形式进行相互的连接[肽桥的变化甚多,目前报道超过100种,如在金色葡萄球菌(*Staphylococcus aureus*)中,肽桥为甘氨酸五肽];而G⁻肽聚糖单体的肽尾(L-Ala-D-Glu-m-DAP-D-Ala)与G⁺肽聚糖单体的肽尾序列稍有不同,由L-内消旋二氨基庚二酸(meso-2,5-diaminopimelic acid,简称m-DAP或DAP)取代了L-赖氨酸,由其与另一单体的肽尾末端的D-丙氨酸之间产生肽键连接[如大肠杆菌(*Escherichia coli*)]^[7]。

磷壁酸的主要成分因其所含的醇组分不同而分为甘油磷壁酸(glycerol teichoic acid)和核糖醇磷壁酸(ribitol teichoic acid)^[7]。根据磷壁酸结合部位的不同分为两类,一类是壁磷壁酸(wall teichoic acid),

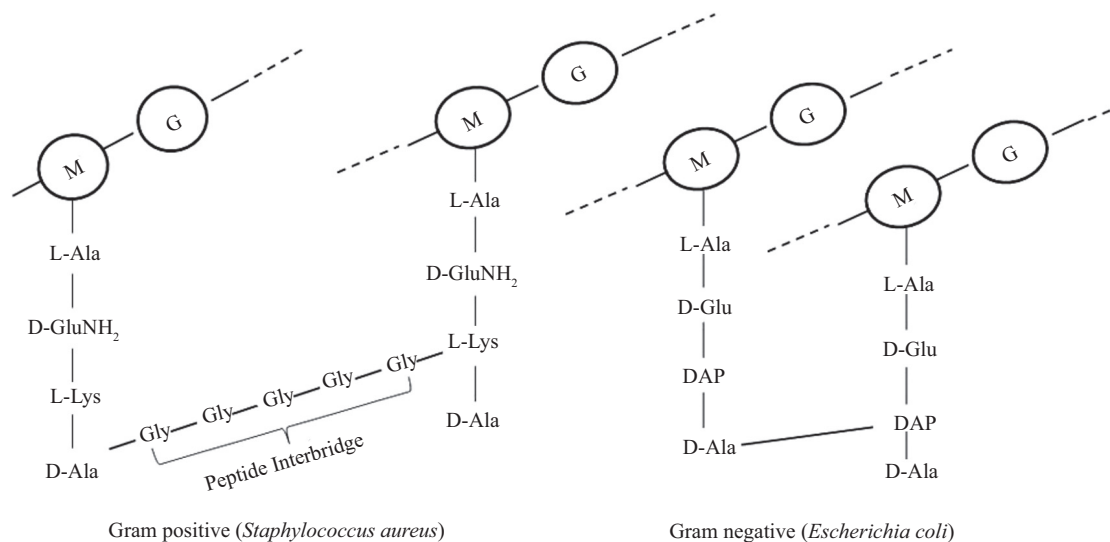


图1 革兰氏阳性菌与革兰氏阴性菌肽聚糖单体及其连接方式的比较

Fig.1 Peptidoglycan monomers and their linkage in Gram positive and negative bacteria

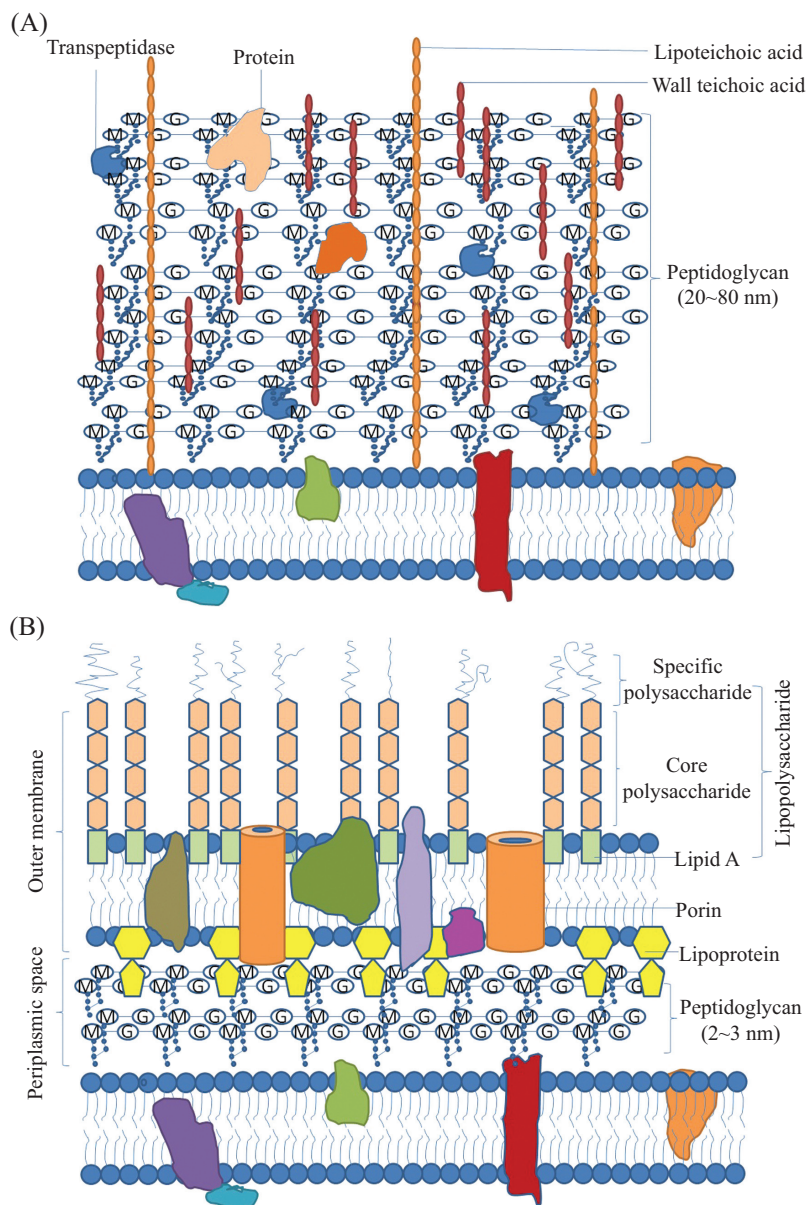


图2 革兰氏阳性菌(A)与革兰氏阴性菌(B)细胞壁结构的比较
Fig.2 Cell walls of Gram positive (A) and negative (B) bacteria

主要与肽聚糖共价连接,将不同肽聚糖纤维连在一起;另一类与细胞膜共价连接,也称为膜磷壁酸或脂磷壁酸(lipoteichoic acid)。壁磷壁酸含量与培养基有关,而膜磷壁酸含量与培养条件关系不大。壁磷壁酸可能加强肽聚糖层之间层与层的联系,从而增加肽聚糖外壳的坚韧程度,膜磷壁酸则帮助肽聚糖外壳与细胞膜的联系。

如图2所示,G⁺和G⁻细胞壁的主要差异是两者肽聚糖厚度差别很大,G⁺厚约20~80 nm,主要成分是肽聚糖(90%)和磷壁酸(10%),肽聚糖片层有15~50层,每层厚1 nm,形成了厚厚的外壳;而G⁻细胞壁厚

度相对较薄,约10 nm,其中约2~3 nm是肽聚糖层,仅2~3层肽聚糖。另一个显著不同是,G⁻细胞壁成分和结构更复杂,除了这层较薄的肽聚糖外,还有可分为多个层次的外壁(也可称其为外膜)^[5-7],脂蛋白(lipoprotein)将肽聚糖和外壁(外膜)的磷脂层连在一起,磷脂层外是脂多糖(lipopolysaccharide)层,厚约8~10 nm,脂多糖是由类脂A(lipid A)、核心多糖(core polysaccharide)和特异侧链多糖(specific polysaccharide)三部分所组成。一些外膜蛋白、孔蛋白(porin)则横跨外膜。从严格意义来说,G⁺的细胞壁主体就是厚度较大的肽聚糖层外壳;G⁻的细胞壁组成则是

含薄层肽聚糖的周质空间(periplasmic space)+外膜+脂多糖。G⁺在厚厚的肽聚糖层中分布了大约10%的磷壁酸,而G⁻中没有磷壁酸检出的文献报道。

至于青霉素作用于G⁺的原因^[7-9],并非抑制了肽聚糖的合成,更非“通过抑制壁酸的合成”,而是因为其特异性结合了许多青霉素结合蛋白(penicillin-binding protein),其中细菌转肽酶就是一种能受青霉素作用的蛋白,而转肽酶是帮助G⁺肽聚糖纤维之间侧链形成的(侧链的形成是借助于与胞壁酸亚基相连的肽尾之间的肽桥),因此使用青霉素就能抑制G⁺的肽聚糖侧链形成。这样,G⁺细胞在生长的时候,其肽聚糖片层发生受到影响,细菌细胞不能抵抗外界渗透压低的环境,就会导致生长阶段的G⁺细菌细胞不能适应渗透压力而破裂。

G⁻则对青霉素不敏感^[7-9],可能主要是因为G⁻的青霉素结合蛋白对青霉素不敏感所致。G⁻的肽聚糖虽然薄,却在外层空间有一层磷脂双分子层的外膜,外膜上附着大量脂多糖,外膜上的膜蛋白只让特定营养物质等进出细胞,因而青霉素一般不能透过外膜。另外,G⁻的聚糖纤维之间的连接不是采用肽桥侧链形成机制,而是直接通过肽键的方式相连,即一条肽尾上第三位氨基酸的m-DAP与另一条肽尾上第四位氨基酸的D-Ala形成肽键,所以G⁻不需要青霉素敏感的转肽酶就能形成肽聚糖片层,这样G⁻细胞分裂等状态受影响少。

从以上文献挖掘及分析来看,教材^[1-2]编写中因混淆了胞壁酸(肽聚糖中的亚基)和磷壁酸(相对独立的分子)的概念,以及将不同壁酸理解成了同种壁酸,将青霉素作用误解成了直接作用于某种壁酸,产生了表述问题。综上所述,建议修改表述如下:

革兰氏阳性菌(G⁺)细胞壁厚20~80 nm,组成较简单,其中肽聚糖(由N-乙酰葡萄糖胺和N-乙酰胞壁酸构成双糖单元)含量高达90%,磷壁酸(肽聚糖纤维之间共价连接的称为壁磷壁酸,能与细胞膜共价连接的称为膜磷壁酸)含量约10%。革兰氏阴性菌(G⁻)细胞壁薄,层次较分明,组成复杂,肽聚糖

(同样有胞壁酸)层薄,约2 nm,无磷壁酸相关的报道;在肽聚糖层以外的是由脂蛋白、磷脂、脂多糖组成的外壁(也有学者因其磷脂层的存在而将称其为外膜)。青霉素的抑菌作用主要是通过抑制细菌转肽酶等青霉素结合蛋白的功能,影响了G⁺的肽聚糖侧链形成,导致其细胞壁不坚固,使G⁺无法适应低渗生存环境而细胞破裂死亡。阳性菌因细胞壁的主要成分就是肽聚糖,故对青霉素很敏感;而阴性菌由于外膜保护、周质空间中肽聚糖肽尾结合方式与G⁺不同以及青霉素结合蛋白序列结构的不同,对青霉素不敏感。

这部分相关内容在国内外微生物学教材中已有详细描述,因此在细胞生物学教材的编写中,建议作者可以从原核与真核细胞差异的角度编写。在教学中,教师可以从促进学生归纳能力出发,考虑安排学生查阅文献及资料引导他们以图表的形式将相关知识进行归纳总结,促进其科学精神的发展。

参考文献 (References)

- 1 翟中和,王喜忠,丁明孝. 细胞生物学,第4版. 北京: 高等教育出版社(Zhai Zhonghe, Wang Xizhong, Ding Mingxiao. Cell Biology, 4th ed. Beijing: Higher Education Press), 2012, 14.
- 2 韩榕. 细胞生物学. 北京: 科学出版社(Han Rong. Cell Biology. Beijing: Science Press) 2011, 13.
- 3 韦革宏,王红卫. 微生物学. 北京: 科学出版社(Wei Gehong, Wang Hongwei. Microbiology. Beijing: Science Press), 2008, 15-8.
- 4 周德庆. 微生物学教程,第3版. 北京: 高等教育出版社(Zhou Deqing. Textbook of Microbiology, 3rd ed. Beijing: Higher Education Press), 2011, 21-5.
- 5 潘大仁. 细胞生物学. 北京: 科学出版社(Pan Daren. Cell Biology. Beijing: Science Press), 2007, 25.
- 6 Raven PH, Johnson GB. Biology, 6th ed. Beijing: Tsinghua University Press, McGraw-Hill Company, 2002, 682.
- 7 Madigan MT, Martinkom JM, Stahl DA, Clark DP. Brock Biology of Microorganisms, 13th ed. San Francisco: Pearson Education Inc., 2012, 59-62.
- 8 Spratt BG, Pardee AB. Penicillin-binding proteins and cell shape in *E. coli*. Nature 1975; 254(10): 516-7.
- 9 Sauvage E, Kerff F, Terrak M, Ayala JA, Charlier P. The penicillin-binding proteins: Structure and role in peptidoglycan biosynthesis. FEMS Microbiol Rev 2008; 32(2): 234-58.