

外源 CdS 纳米粒子对大肠杆菌生长的影响

王杰, 杨悦, 崔岱宗, 赵敏

东北林业大学 生命科学学院, 黑龙江 哈尔滨 150040

王杰, 杨悦, 崔岱宗, 赵敏. 外源 CdS 纳米粒子对大肠杆菌生长的影响. 生物工程学报, 2022, 38(12): 4681-4691.

WANG J, YANG Y, CUI DZ, ZHAO M. Effect of exogenous CdS nanoparticle on the growth of *Escherichia coli*. Chin J Biotech, 2022, 38(12): 4681-4691.

摘 要: 半导体纳米材料在光激发下产生光电子和空穴, 会影响微生物生长, 其中空穴的氧化性将对菌体造成损伤, 而光电子的作用可能会促进微生物代谢。本研究以大肠杆菌 (*Escherichia coli*) 作为研究对象, 通过 OD_{600} 和菌落形成单位 (colony forming unit, CFU) 的测定, 评价添加外源硫化镉 (cadmium sulfide, CdS) 纳米粒子后大肠杆菌的生长变化; 结合对胞内氧化酶活力、丙酮酸和丙二醛浓度的测定, 及相关基因的实时荧光定量 PCR 分析, 说明 CdS 对大肠杆菌代谢的影响。结果表明, 在光照条件下, CdS 的加入使大肠杆菌 OD_{600} 提升了 32.4%, 丙酮酸积累量提高了 34.6%; 分裂蛋白基因 *ftsZ* 上调, 并维持在 50% 以上, 三羧酸循环关键酶基因 *icdA* 和 *gltA* 相对表达量上调 86% 和 103%。这表明微生物可利用半导体光电子, 促进自身生长代谢。研究结果有助于加深对纳米粒子与微生物相互作用的认识。

关键词: 大肠杆菌; 光催化; 硫化镉; 微生物生长代谢; 矿物光电子

Effect of exogenous CdS nanoparticle on the growth of *Escherichia coli*

WANG Jie, YANG Yue, CUI Daizong, ZHAO Min

College of Life Sciences, Northeast Forestry University, Harbin 150040, Heilongjiang, China

Abstract: Semiconductor nanoparticles generate photoelectrons and photo-induced holes under light excitation, and thus may influence the growth of microbial cells. The highly oxidative holes may

Received: November 29, 2021; **Accepted:** April 27, 2022; **Published online:** May 5, 2022

Supported by: Fundamental Research Funds for the Central Universities, China (2572020DY03)

Corresponding authors: ZHAO Min. Tel/Fax: +86-451-82191513; E-mail: 82191513@163.com

CUI Daizong. E-mail: siyu19831114@163.com

基金项目: 中央高校基本科研业务费专项资金 (2572020DY03)

severely damage the cells, while the photoelectrons may promote microbial metabolism. In this study, we evaluated the effect of exogenous cadmium sulfide (CdS) nanoparticles on bacterial growth using OD_{600} and colony forming unit (CFU) as indicators. The oxidase activities, the concentration of pyruvate and malondialdehyde, and the expression of relevant genes assessed by real-time fluorescent quantitative PCR were analyzed to investigate the effect of excited CdS on cellular metabolism. The results showed that the OD_{600} and pyruvate accumulation of *E. coli* increased by 32.4% and 34.6%, respectively, under light conditions. Moreover, the relative expression level of the division protein gene *ftsZ* was increased more than 50%, and the tricarboxylic acid cycle pathway gene *icdA* and *gltA* increased by 86% and 103%, respectively. The results indicated that photoelectrons could be used by microorganisms, resulting in promoted growth and metabolism. This study gives a deep insight into the interaction between nanoparticles and bacteria.

Keywords: *Escherichia coli*; photocatalysis; CdS; microbial growth metabolism; mineral photoelectron

半导体纳米颗粒具有典型的光催化特性, 当入射光子能量高于禁带宽度时, 光电子会从能量较低的价带跃迁到能量较高的导带, 在原价带位置留下空穴, 形成光电子-空穴对, 进而参与氧化还原反应^[1-2]。基于此, 半导体纳米材料在光解水产氧/氢、污染物降解、光敏材料制备和电子传输器件等方向具有广阔的应用前景。

此前研究中, 国内外学者广泛关注半导体纳米材料的抑菌能力^[3], 其机理主要有两方面: 一是半导体材料释放重金属离子对细胞具有毒性作用^[4-5]; 二是半导体材料经光激发后, 其光生电子和空穴与微生物细胞膜或胞内物质反应, 使功能分子失活, 或基于氧化还原反应, 与环境内氧分子/水分子结合, 产生超氧自由基, 对菌体细胞结构造成损伤, 导致菌体死亡^[6]。尽管半导体纳米颗粒对微生物生长具有明显毒性, 但近年研究发现, 半导体光生电子可能对细菌生长具有促进作用, 参与胞内电子传递和能量流动。2012年, Lu等^[7]首次提出天然半导体矿物产生的光生电子可促进化能自养菌氧化亚铁硫杆菌 (*Acidithiobacillus ferrooxidans*) 和化能异养菌粪产碱杆菌 (*Alcaligenes faecalis*) 的生长。之后, Sakimoto等^[8]利用热醋穆尔

氏菌 (*Moorella thermoacetica*) 与硫化镉纳米粒子 (cadmium sulfide nanoparticles, CdS NPs) 杂化耦合构建“半导体-微生物”光合杂化系统, 经光激发后, 光生电子可与氢化酶作用提高胞内还原力, 并通过 Wood-Ljungdahl 通路固定 CO_2 。此外, 微生物也可以自发地在胞内外合成半导体纳米颗粒, 经光激发后, 光生电子直接参与细菌电子传递, 增强胞内代谢能力^[9-10], 如促进细菌产氢^[11-13]、固定 CO_2 ^[14-16] 和产聚羟基丁酸酯 (polyhydroxybutyrate, PHB)^[17] 等作用, 提高胞内还原酶活性^[18]。目前的研究多是利用半导体光生电子促进菌株产生更多有价值的代谢产物, 而对利用光生电子对菌株生长的影响并没有较多的报道。

针对上述问题, 本研究选取大肠杆菌 (*Escherichia coli*) ATCC 15597 作为研究对象, 旨在探究半导体 CdS NPs 在可见光激发下对细菌生长的影响。本研究通过外源添加 CdS NPs 与细菌共培养, 对 CdS NPs 促进细菌生长的条件进行探索, 确定其最佳反应条件; 研究在该条件下, 细菌胞内参与氧化应激反应关键酶的活性变化; 同时观察此过程中细胞膜主要成分和参与代谢的主要物质含量变化, 判断细菌生

存状态,分析细菌接受光生电子后的生理情况,为深入探究微生物利用光生电子的行为模式提供科学依据和研究基础。

1 材料与方法

1.1 实验材料

1.1.1 试剂

3,5-二硝基水杨酸 (3,5-dinitrosalicylic acid, DNS) 购自上海展云化工有限公司;维生素 C (vitamin C, Vc) 购自上海阿拉丁生化科技股份有限公司;葡萄糖、 $(\text{NaPO}_3)_6$ 、 $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$ 、 NaCl 、 KH_2PO_4 、 NH_4Cl 、 CaCl_2 、 $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 、 CdCl_2 、 Na_2S 及其他化学试剂皆为分析纯。

1.1.2 菌株和培养基

试验菌株选用购自 The Global Bioresource Center 的 *E. coli* ATCC 15597,采用改良的 M9 培养基 (1/6 碳源) 进行培养,对细菌菌落计数时采用 LB 固体培养基。

改良的 M9 培养基:配置 1 mol/L 的 $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 溶液 10 mL,高温高压灭菌 (121 °C, 15 min) 备用;配置 1 mol/L 的 CaCl_2 溶液 10 mL,高温高压灭菌 (121 °C, 15 min) 备用;配置 5×M9 溶液: $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$ 19.6 g, KH_2PO_4 3.0 g, NaCl 0.5 g, NH_4Cl 1.0 g, 使用双蒸水溶解,高温高压灭菌 (121 °C, 15 min) 备用;配置 3.33%葡萄糖溶液 20 mL, 0.22 μm 滤器过滤除菌备用;在无菌工作台将前 4 步溶液混合,补充无菌水至 1 L, 备用。

LB 固体培养基:胰蛋白胨 10 g/L, 酵母提取物 5 g/L, NaCl 10 g/L, 琼脂糖 15–20 g/L。pH 调至 7.00 ± 0.02 。

1.2 方法

1.2.1 合成 CdS NPs

通过改良的超声法合成方法合成 $\text{CdS}^{[19]}$ 。首先,分别配制 0.1 mol/L 的 CdCl_2 、 Na_2S 和

$(\text{NaPO}_3)_6$ 溶液。按体积比 6:3:20 混合,其中 Na_2S 以滴定的方式缓慢加入混合溶液,可见溶液颜色由无色变为明黄又变橙黄。随后进行超声处理,用定性滤纸过滤后收集滤液,置于真空干燥箱中烘干,于暗处保存。

1.2.2 CdS NPs 的表征

采用日本电子株式会社的 JEM-2100 透射电子显微镜 (transmission electron microscope, TEM) 观察 CdS NPs 的外貌形态,同时通过 X-射线能量色散谱方法 (energy dispersive X-ray spectroscopy, EDS) 分析表面元素组成。利用荷兰帕纳科的 X'Pert3 PowderX 射线衍射仪对 CdS 纳米颗粒进行 X 射线衍射 (X-ray diffraction, XRD) 分析,测试扫描范围 10° – 80° ,扫描速度 $10^\circ/\text{min}$ 。通过北京普析通用仪器有限责任公司的 TU-1901 紫外-可见吸收分光光度计 (UV-vis absorption spectrophotometer) 进行紫外-可见漫反射光谱 (UV-Vis diffuse reflectance spectroscopy, UV-Vis DRS) 分析,将结果通过公式 $(\alpha h\nu)^2 = A(h\nu - E_g)$ 推导出 Tauc plot^[20],计算得到纳米粒子的带隙宽度。进行 Mott-Schottky 和 I-t 等电化学分析 (电化学工作站,上海辰华,CHI-760E),分别获得平带电位和纳米粒子对光照的响应情况;将 CdS 附着在玻碳电极上作为工作电极, Pt 作为辅助电极, Ag/AgCl 作为参比电极,使用 0.2 mol/L 的 Na_2SO_4 作为电解液进行检测。

1.2.3 菌种的活化

接种菌株于 250 mL 且加入 100 mL 的改良的 M9 培养基的锥形瓶中,于 37 °C、200 r/min 的数显振荡培养箱培养 12 h ($OD_{600}=1.0$),所得菌液用于后续实验。

1.2.4 最适生长条件

取 5 mL 上述已经培养好的菌液,接种至 50 mL 且装有 25 mL 改良 M9 培养基的锥形瓶

中。本文在大肠杆菌接种时添加外源 CdS NPs, 置于不同的条件下进行静置培养, 探究在光照条件下对细菌生长的影响。实验中使用全波长的氙灯作为光源, 光强为 1 500 lx; 实验过程中同时探究了不同变量, 添加不同浓度的 CdS NPs、使用不同种类和不同浓度的牺牲剂对细菌生长的影响。细菌生长状况通过测定吸光值 (OD_{600}) 和 CFU 进行分析。

培养过程中, 对照组和实验组分别设计为: 仅黑暗培养 (dark)、仅光照培养 (light)、黑暗添加 CdS NPs 培养 (dark-CdS) 和光照添加 CdS NPs 培养 (light-CdS)。

1.2.5 细菌胞内酶活和丙二醛浓度的测定

样品前处理: *E. coli* 在最适生长条件下培养处理 24 h 后, 将样品离心所获沉淀用于后续实验。

分别采用格锐思生物科技有限公司的过氧化氢酶试剂盒 (G0105F)、过氧化物酶试剂盒 (G0107F) 和超氧化物歧化酶试剂盒 (G0101F) 对细菌生长过程中的过氧化氢酶 (catalase, CAT)、过氧化物酶 (peroxidase, POD) 和超氧化物歧化酶 (superoxide dismutase, SOD) 进行检测分析。所有实验步骤均按试剂盒说明书进行。

使用格锐思生物科技有限公司的丙二醛试剂盒 (G0109F) 对细菌生长过程中的丙二醛 (malondialdehyde, MDA) 的浓度进行检测。所有实验步骤均按试剂盒说明书进行。

1.2.6 丙酮酸浓度的检测

样品处理方法同上。使用格锐思生物科技有限公司的丙酮酸试剂盒 (G0807F) 对细菌生长过程中的丙酮酸 (pyruvic acid, PA) 的浓度进行检测。所有实验步骤均按试剂盒说明书进行。

1.2.7 实时荧光定量 PCR

将 *E. coli* 在最适条件下培养, 分别取 24 h、48 h 和 72 h 时的细菌混合液置于高速冷冻离心机中离心, 4 °C、8 000 r/min 离心 10 min。弃上清, 将获得的菌体置于液氮中保存。根据 TaKaRa 公司试剂盒进行 RNA 的提取, 再将 RNA 反转录为 cDNA, 使用获得的 cDNA 在 LightCycler 480 型仪器上进行实时荧光定量 PCR (real-time fluorescent quantitative PCR, RT-qPCR) 反应, 测定功能基因的相对表达量。

RT-qPCR 反应设置 3 个重复, 目的基因和引物如表 1 所示。PCR 反应体系: cDNA (45 ng/ μ L) 2 μ L, 上下游引物 (0.1 nmol/ μ L) 各 0.8 μ L, ddH₂O 6 μ L, TB Green Premix Ex Taq II (Tli RNaseH Plus) 10 μ L, ROX Reference Dye 0.4 μ L。PCR 反应程序: 95 °C 30 s; 95 °C 5 s, 60 °C 1 min, 40 个循环; 95 °C 5 s, 60 °C 延伸 1 min。采用 $2^{-\Delta\Delta C_t}$ 法进行相对定量计算, $-\Delta\Delta C_t$ 可根据以下公式计算:

$$\Delta C_t = C_t(\text{目标基因}) - C_t(\text{内参基因, 16S rRNA}).$$

$$\Delta\Delta C_t = \Delta C_t(\text{实验组}) - \Delta C_t(\text{对照组}).$$

表 1 目的基因及扩增引物

Table 1 Target genes and primers

Target genes	Primers	Sequences (5'→3')
16S rRNA (loading control)	16S RNA F	TGGTCTGAGAGGATGACCAG
	16S RNA R	TGCTTCTTCTGCGGGTAACG
<i>ftsZ</i>	<i>ftsZ</i> -F	CTTCTCTTGACCCGGATATG
	<i>ftsZ</i> -R	CATTACGACTTTAGCAACC
<i>icdA</i>	<i>icdA</i> -F	AGTTCACCGAAGGAGCGTTT
	<i>icdA</i> -R	TCTTTGCCAGTGTTCGGGTT
<i>gltA</i>	<i>gltA</i> -F	CCACCGTAATGCGTGAAACC
	<i>gltA</i> -R	CCAGCTCCATAGCCACTTCC

2 结果与分析

2.1 合成 CdS NPs 的表征

通过 TEM 观察 (图 1A), 可见 CdS NPs 在 30–80 nm 之间, 而且比较分散。EDS 结果 (图 1A 插图) 显示, 其主要成分是 S 元素和 Cd 元素, 比例接近 1:1。使用 XRD 对 CdS 的晶体结构进行分析 (图 1B), 发现其在 26.54° 、 43.97° 和 52.16° 的衍射峰分别对应 (111)、(220) 和 (311) 晶面, 与 CdS 标准卡片 (JCPDS 10-0454) 相一致, 说明所合成的 CdS 属于立方晶型。

半导体的光电反应活性是评价其性能的重要指标^[21]。在本研究中, 利用 UV-Vis DRS

检测 CdS NPs 的光吸收情况 (图 1C 插图), 可知其吸收带边在 530 nm 左右。将光谱数据经计算可得到 Tauc Plot (图 1C), 图中直线段与 X 轴交点为禁带宽度, 即 2.5 eV。结合 Mott-Schottky 分析 (图 1D)^[22], 可知其平带电势为 -0.75 V。且图中曲线斜率为正, 说明 CdS NPs 属于 n 型半导体^[23]。根据 n 型半导体导带电位比平带电势正 0.1 V 的原理^[24], 可推算其导带电势为 -0.65 V, 价带电势为 1.85 V。通过瞬时光电流响应测试 (图 1E) 观察到 CdS NPs 对光具有良好的响应, 在光照射下可产生明显光电流。因此, 合成的 CdS NPs 分散性良好, 具有合适的带隙宽度并且对光照有迅速的响应, 适合作为本项研究的实验材料。

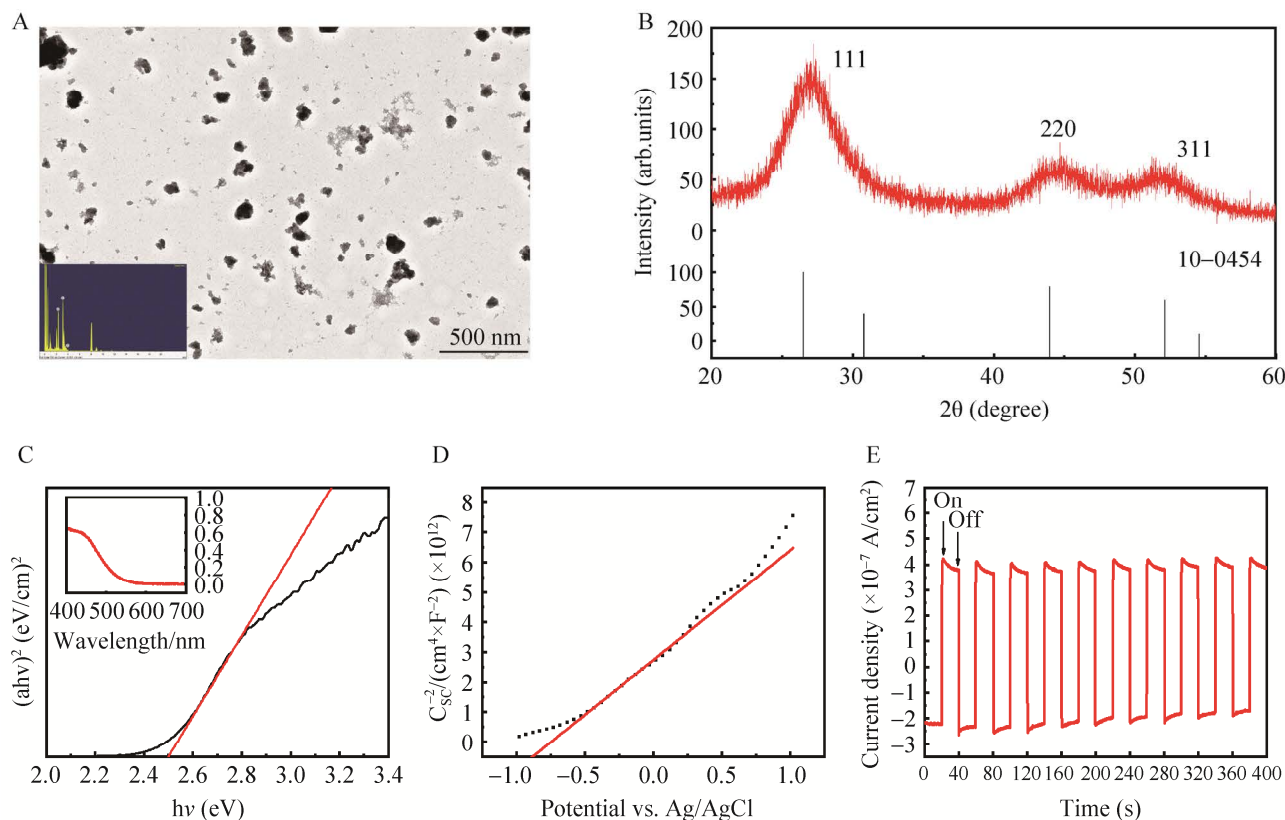


图 1 CdS NPs 的表征

Figure 1 Structural characterization of CdS NPs. (A) TEM (inset: EDS image). (B) XRD pattern. (C) Tauc plot (inset: UV-Vis DRS image). (D) Mott-Schottky plot. (E) I-t plot. On and off represent the state of the light source.

2.2 外源 CdS NPs 光催化促进细菌生长的最佳条件

将不同浓度的 CdS NPs 加入到大肠杆菌培养基中, 根据 OD_{600} 和 CFU 判断菌株生长状况。由 OD_{600} 和 CFU 值观测到, CdS NPs 的加入对大肠杆菌生长具有促进作用, 且随 CdS NPs 浓度升高而愈加明显。根据图 2A、2B 和表 2 数据可知, 大肠杆菌生长数量随 CdS NPs 浓度增加, 呈现先增大再减弱的趋势。当 CdS NPs 加入浓度为 60 mg/L 时, 大肠杆菌的生长

数量最多, 是正常培养的 1.34 倍, 差异性显著。当 CdS NPs 浓度高于 60 mg/L 时, 可能由于 Cd^{2+} 离子和超氧阴离子浓度增加, 重金属毒性和氧化毒性增强, 导致细菌数量减少。

CdS NPs 作为典型半导体, 在光照条件下会产生光电子-空穴对, 但其极易复合, 丧失氧化还原能力。若在半导体光反应体系中加入牺牲剂, 可与光空穴或其引发的超氧阴离子发生反应, 消耗光空穴, 进而提高光电子-空穴的分离效率, 增加光生电子还原能力。本研究

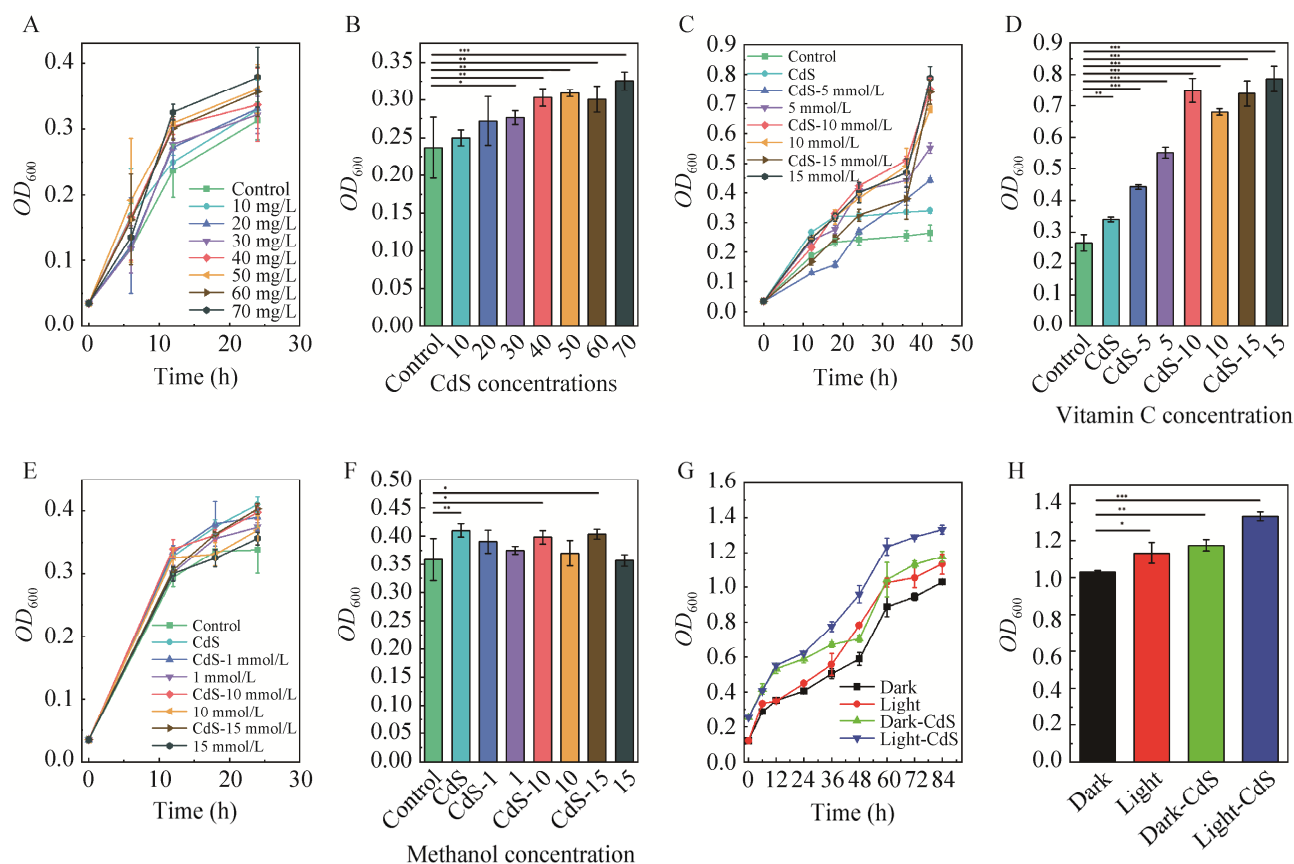


图 2 不同 CdS NPs 浓度、牺牲剂种类与浓度对 *E. coli* 的促生长作用

Figure 2 Effect of different concentrations of CdS NPs, different types and concentrations of sacrificial agents on the growth of *E. coli*. (A) Effect of different concentrations of CdS NPs. (B) Effect of different concentrations of CdS NPs at 24 h. (C) Effect of Vc as a sacrificial agent. (D) Effect of Vc as a sacrificial agent at 42 h. (E) Effect of methanol as a sacrificial agent. (F) Effect of methanol as a sacrificial agent at 24 h. (G) Effect of optimum growth conditions. (H) Effect of optimum growth conditions at 84 h. Compared with Control/Dark, * $P < 0.05$; ** $P < 0.01$; *** $P < 0.001$.

值分别较 Dark、Light 和 Dark-CdS 培养组高 32.4%、15.3%和 11.8%，由此可知，光照条件下添加 CdS NPs 对 *E. coli* 的生长具有显著的促进作用。

2.3 细菌胞内酶活和丙二醛浓度的测定

CdS NPs 作为一种典型的半导体纳米粒子，可以光激发产生光电子-空穴对。其中光空穴具有较高的氧化能力，同时会在液体环境中产生大量的活性氧 (reactive oxygen species, ROS)，对 *E. coli* 造成损害^[25-26]。而微生物本身具有应对 ROS 的防御机制，如产生 CAT、POD 和 SOD 等与之反应，降低细菌胞内氧化压力并造成酶活的降低^[27]。为探究大肠杆菌响应 CdS NPs 光氧化压力的作用，本实验在不同条件下培养大肠杆菌，测定培养 24 h 后菌株胞内 CAT、POD 和 SOD 的酶活 (图 3)。在相同添加 CdS NPs 培养条件下，黑暗处理时 CAT 具有更高的酶活，而光照处理相反，各个处理条件的酶活是：Dark-CdS>Dark>Light-CdS>Light，由于酶活越低意味着该条件氧化压力越高，因此 Light-CdS 有较高的氧化压力，且差异显著。

而 CdS NPs 的加入和光暗条件的变化，并未对细菌 SOD 的合成带来显著影响；虽然不同处理条件下 POD 有很大差异性，但是其总体的酶活很低不会对菌生长造成显著影响，可以忽略不计。

MDA 是机体内多不饱和脂肪酸形成的脂质过氧化物，其浓度越高，说明由多不饱和脂肪酸形成的脂质过氧化物越多，即细菌细胞膜的通透性越高。因此，检测 MDA 浓度变化可反映机体内脂质过氧化的程度，间接地反映出细胞膜的通透性。

如表 5 所示，4 种处理条件的 MDA 浓度关系是：Light-CdS>Dark-CdS>Dark>Light，光照下加入 CdS NPs 产生的 MDA 浓度明显更高。其中 Light-CdS 处理条件的 MDA 浓度比 Dark 处理的 MDA 浓度高了 32.3%，表明在该条件下细菌细胞膜具有更高的通透性。这可能是因 CdS NPs 光生电子跨膜运输所引起，光电子穿过细胞膜进入 *E. coli* 细胞并参与到电子传递链。根据 CAT 酶活和 MDA 浓度的结果可以看出，Light-CdS 组中 *E. coli* 有更高的氧化压

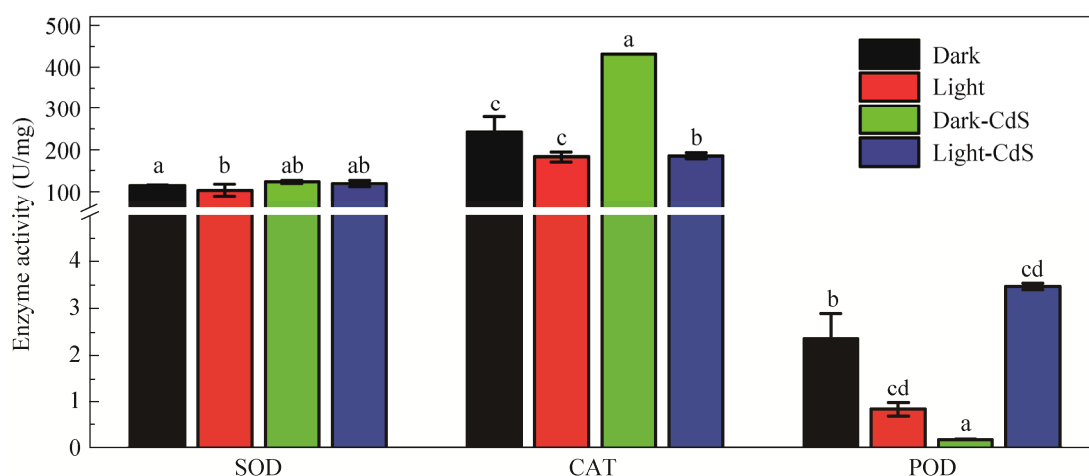


图 3 24 h 时不同处理条件下 CAT、POD 和 SOD 酶活

Figure 3 Activity of CAT, POD and SOD after different treatment for 24 h. Different letters indicate significant differences.

表 5 24 h 时不同处理条件下 MDA 的浓度
Table 5 Concentration of MDA after different treatment for 24 h

Groups	Dark	Light ($P=1.00$)	Dark-CdS ($P=0.174$)	Light-CdS* ($P=0.025$)
MDA (nmol/ 10^4 cell)	0.000 096	0.000 085	0.000 185	0.000 320
Standard deviation	0.000 068	0.000 023	0.000 023	0.000 135

Compared with Dark, * $P<0.05$.

力，导致更低的 CAT 酶活和更高浓度的 MDA；虽然更高的氧化压力会抑制细胞的生长，但是细胞膜通透性提高，有更高的电子传递效率，因此光照下添加外源 CdS NPs 不仅抵消了 CdS NPs 对细菌生长的毒性，而且实现了促进生长的作用。

2.4 丙酮酸浓度的检测

PA 是细菌中心碳代谢的重要中间产物，既是糖酵解途径的终产物，又是三羧酸循环的重要底物，在营养物质的代谢联系中起着重要的枢纽作用。因此，PA 的积累量也反映了细菌的生长代谢情况。

将大肠杆菌接种到改良的 M9 培养基培养 24 h 后，检测 PA 的浓度。如表 6 所示，4 种处理条件的 PA 浓度关系是：Light-CdS>Light>Dark>Dark-CdS，光照条件下加入 CdS NPs 会使细菌具有更高的 PA 浓度。其中 Light-CdS 处理条件的 PA 浓度比 Dark 处理的 PA 浓度高了 34.6%，即糖酵解途径和三羧酸循环途径中碳代谢水平有所提高^[12]，需要更高浓度的 PA 参与到反应中，是 *E. coli* 生长更加迅速的需求。但是考虑到 PA 的积累也可能是由于后续的代谢途径受阻，因此对后续代谢的基因相对表达量进行测定。

2.5 CdS NPs 对基因表达的影响

FtsZ 蛋白是调控细菌分裂的必需功能蛋白，由 *ftsZ* 基因编码。在细菌分裂时，Z 环收缩完成细胞分裂，FtsZ 蛋白是组成 Z 环的数十种蛋白之一^[28]。因此，*ftsZ* 基因的相对表达情况通常用于评价细菌的生长分裂状态。异柠檬酸脱氢酶和柠檬酸合酶是三羧酸循环的关键酶，分别由 *icdA* 和 *gltA* 基因编码。本研究检测了 24 h 时 *icdA* 和 *gltA* 的相对表达量，以此评价 *E. coli* 三羧酸循环的状态。

从图 4A 可以看出，在光照条件下添加 CdS NPs 后，*ftsZ* 相对表达量均有所提高。将 Light-CdS 组的相对表达量分别与 Dark、Light 和 Dark-CdS 相比较发现，在 24 h 时，Light-CdS 组的 *ftsZ* 基因相对表达量分别较之上调了 228%、270%和 76%；48 h 时，分别较之上调了 91%、201%和 91%；72 h 时，除了 Light-CdS/Light 外，相对表达量分别上调了 65%和 51%。总体上，*ftsZ* 的相对表达量逐渐减低，原因可能是随着时间的推移，有限的代谢底物使 *E. coli* 生长趋于稳定。不难发现，在培养过程中，Light-CdS 组基本保持较无光照对照组的基因表达量高 50%以上的优势。这说明，光照条件下添加 CdS NPs 可以有效地提高

表 6 24 h 时不同处理条件下 PA 的浓度
Table 6 Concentration of PA after different treatment for 24 h

Groups	Dark	Light ($P=0.114$)	Dark-CdS* ($P=0.022$)	Light-CdS* ($P=0.012$)
PA ($\mu\text{g}/10^4$ cell)	0.163 600	0.198 260	0.069 690	0.220 250
Standard deviation	0.004 233	0.015 003	0.008 301	0.050 990

Compared with Dark, * $P<0.05$.

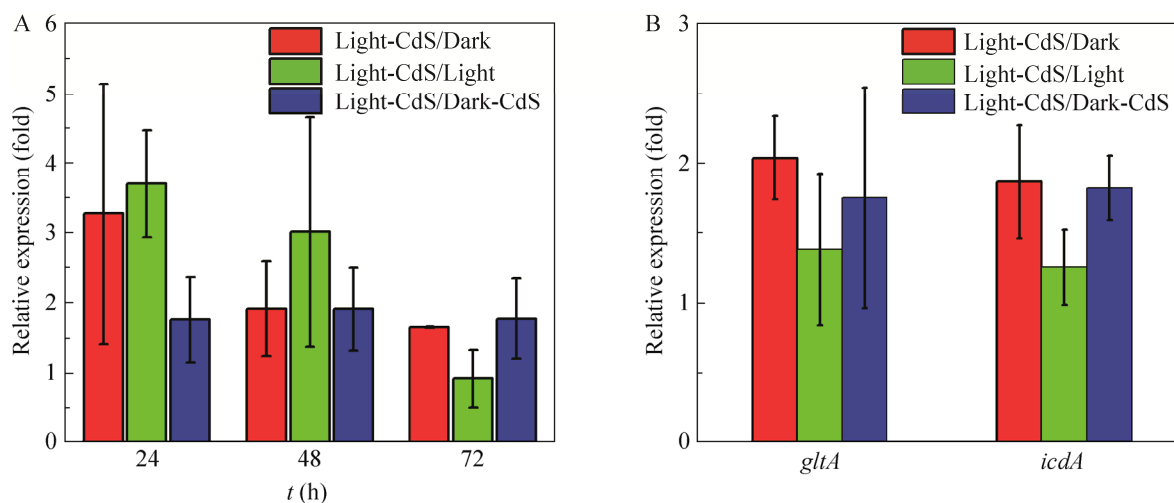


图4 *ftsZ*、*icdA* 和 *gltA* 基因的相对表达量

Figure 4 Relative expression of *ftsZ* (A), *icdA* and *gltA* genes (B).

E. coli 的分裂, 即提高 *E. coli* 的生长, 这与细菌 OD_{600} 的结果一致。

根据图 4B 结果, 在光照条件下添加 CdS NPs 后, *icdA* 和 *gltA* 相对表达量均有所提高。Light-CdS 组 *icdA* 基因相对表达量比 Dark、Light 和 Dark-CdS 上调 86%、25%和 82%, 而 Light-CdS 组 *gltA* 基因相对表达量比 Dark、Light 和 Dark-CdS 上调 103%、38%和 75%。因此, 可以得出结论, Light-CdS 组三羧酸循环相对其他组有所提高, 这个结果与测定 PA 浓度的结果一致。*E. coli* 有更高的 PA 积累量和三羧酸循环, 可以推断出加入 CdS 后施加光照会调高 *E. coli* 的代谢水平。

3 结论

本研究探讨了 CdS NPs 对 *E. coli* 生长的影响。研究发现光照条件下, 加入 60 mg/L 的 CdS NPs, 并以 10 mmol/L 的 Vc 作为牺牲剂, 大肠杆菌的 OD_{600} 提高了 32.4%。结果显示, 体系中 PA 和 MDA 的浓度分别提高了 34.6%和 32.3%。分裂蛋白编码基因 *ftsZ* 相对表达量在 24 h、48 h 和 72 h 分别上调了 228%、91%和 65%。三羧

酸循环关键基因 *icdA* 和 *gltA* 基因相对表达量上调了 86%和 103%, 说明三羧酸循环水平提高, 结合前期实验中 PA 的更高积累量, 证明糖代谢水平有所提高。同时 *ftsZ* 基因相对表达量一直处于较高水平, 因此 *E. coli* 一直保持较高的分裂状态。虽然添加 CdS NPs 会提高 *E. coli* 的氧化压力, 但是光照培养条件下添加 CdS NPs 对细菌生长的促进作用大于毒性影响。综上所述, 在光照条件下, 半导体 CdS NPs 产生的光电子可明显促进大肠杆菌的生长。

REFERENCES

- [1] Kenney MJ, Gong M, Li YG, et al. High-performance silicon photoanodes passivated with ultrathin nickel films for water oxidation. *Science*, 2013, 342(6160): 836-840.
- [2] 贾昊凝, 李艳, 黎晏彰, 等. 矿物电子能量协同微生物胞外电子传递与生长代谢. *微生物学报*, 2020, 60(9): 2084-2105.
Jia HN, Li Y, Li YZ, et al. Mineral electronic energy cooperates with microbial extracellular electron transfer and growth metabolism. *Acta Microbiol Sin*, 2020, 60(9): 2084-2105 (in Chinese).
- [3] Zhou QX, Hu XG, Ren CX. Review on attenuation of nanotoxicity and the mechanisms. *Chin Sci Bull*, 2016, 61(7): 707-717.

- [4] Chen N, He Y, Su YY, et al. The cytotoxicity of cadmium-based quantum dots. *Biomaterials*, 2012, 33(5): 1238-1244.
- [5] Sabella S, Carney RP, Brunetti V, et al. A general mechanism for intracellular toxicity of metal-containing nanoparticles. *Nanoscale*, 2014, 6(12): 7052-7061.
- [6] Hu L, Wan J, Zeng GM, et al. Comprehensive evaluation of the cytotoxicity of CdSe/ZnS quantum dots in *Phanerochaete chrysosporium* by cellular uptake and oxidative stress. *Environ Sci: Nano*, 2017, 4(10): 2018-2029.
- [7] Lu AH, Li Y, Jin S, et al. Growth of non-phototrophic microorganisms using solar energy through mineral photocatalysis. *Nat Commun*, 2012, 3: 768.
- [8] Sakimoto KK, Wong AB, Yang PD. Self-photosensitization of nonphotosynthetic bacteria for solar-to-chemical production. *Science*, 2016, 351(6268): 74-77.
- [9] Wang B, Jiang ZF, Yu JC, et al. Enhanced CO₂ reduction and valuable C₂₊ chemical production by a CdS-photosynthetic hybrid system. *Nanoscale*, 2019, 11(19): 9296-9301.
- [10] Ye J, Ren GP, Kang L, et al. Efficient photoelectron capture by Ni decoration in *Methanosarcina barkeri*-CdS biohybrids for enhanced photocatalytic CO₂-to-CH₄ conversion. *iScience*, 2020, 23(7): 101287.
- [11] Honda Y, Hagiwara H, Ida S, et al. Application to photocatalytic H₂ production of a whole-cell reaction by recombinant *Escherichia coli* cells expressing [FeFe]-hydrogenase and maturases genes. *Angew Chem Int Ed Engl*, 2016, 55(28): 8045-8048.
- [12] Wang B, Zeng CP, Chu KH, et al. Enhanced biological hydrogen production from *Escherichia coli* with surface precipitated cadmium sulfide nanoparticles. *Adv Energy Mater*, 2017, 7(20): 1700611.
- [13] Wei W, Sun PQ, Li Z, et al. A surface-display biohybrid approach to light-driven hydrogen production in air. *Sci Adv*, 2018, 4(2): eaap9253.
- [14] Kornienko N, Sakimoto KK, Herlihy DM, et al. Spectroscopic elucidation of energy transfer in hybrid inorganic-biological organisms for solar-to-chemical production. *PNAS*, 2016, 113(42): 11750-11755.
- [15] Zhang H, Liu H, Tian ZQ, et al. Bacteria photosensitized by intracellular gold nanoclusters for solar fuel production. *Nat Nanotechnol*, 2018, 13(10): 900-905.
- [16] Liu C, Gallagher JJ, Sakimoto KK, et al. Nanowire-bacteria hybrids for unassisted solar carbon dioxide fixation to value-added chemicals. *Nano Lett*, 2015, 15(5): 3634-3639.
- [17] Xu MY, Tremblay PL, Ding R, et al. Photo-augmented PHB production from CO₂ or fructose by *Cupriavidus necator* and shape-optimized CdS nanorods. *Sci Total Environ*, 2021, 753: 142050.
- [18] Iqbal M, Ali A, Nahyoon NA, et al. Photocatalytic degradation of organic pollutant with nanosized cadmium sulfide. *Mater Sci Energy Technol*, 2019, 2(1): 41-45.
- [19] 周锋, 马强, 唐亚平, 等. 硫化镉纳米粒子的制备. *材料工程*, 2004, 32(10): 42-45, 49.
Zhou F, Ma Q, Tang YP, et al. Preparation of nano-particles of CdS. *J Mater Eng*, 2004, 32(10): 42-45, 49 (in Chinese).
- [20] Tauc J, Grigorovici R, Vancu A. Optical properties and electronic structure of amorphous germanium. *Phys Status Solidi B*, 1966, 15(2): 627-637.
- [21] Grätzel M. Photoelectrochemical cells. *Nature*, 2001, 414(6861): 338-344.
- [22] Gelderman K, Lee L, Donne SW. Flat-band potential of a semiconductor: using the Mott-Schottky equation. *J Chem Educ*, 2007, 84(4): 685.
- [23] Ren GP, Sun MY, Sun Y, et al. A cost-effective birnessite-silicon solar cell hybrid system with enhanced performance for dye decolorization. *RSC Adv*, 2017, 7(76): 47975-47982.
- [24] Pinaud BA, Chen ZB, Abram DN, et al. Thin films of sodium birnessite-type MnO₂: optical properties, electronic band structure, and solar photoelectrochemistry. *J Phys Chem C*, 2011, 115(23): 11830-11838.
- [25] Rzigalinski BA, Strobl JS. Cadmium-containing nanoparticles: perspectives on pharmacology and toxicology of quantum dots. *Toxicol Appl Pharmacol*, 2009, 238(3): 280-288.
- [26] Green M, Taylor R, Wakefield G. The synthesis of luminescent adenosine triphosphate passivated cadmium sulfide nanoparticles. *J Mater Chem*, 2003, 13(8): 1859-1861.
- [27] Hossain ST, Das P, Mukherjee SK. Toxicity of cadmium nanoparticles to *Bacillus subtilis*. *Toxicol Environ Chem*, 2013, 95(10): 1748-1756.
- [28] Margolin W. FtsZ and the division of prokaryotic cells and organelles. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2005, 6(11): 862-871.

(本文责编 郝丽芳)