

特约评述

DOI: 10.12211/2096-8280.2026-015

细菌胞外DNA释放机制、功能及环境生物学应用

张保财^{1,2,3}, 李腾^{1,2}, 郭云雪^{1,2}, 刘胜男^{1,2}, 宋浩^{1,2,3}, 李锋^{1,2}¹ 天津大学, 合成生物与生物制造学院, 天津 300372; ² 天津大学, 合成生物技术全国重点实验室, 天津 300372;³ 东北大学, 生命科学与健康学院, 辽宁 沈阳 110169)

摘要: 胞外脱氧核糖核酸 (Extracellular DNA, eDNA) 作为环境中重要的遗传物质组成成分, 在细菌群落结构维持与遗传信息传播中的功能逐渐受到重视。本文系统梳理了细菌 eDNA 的释放机制、功能属性及其环境应用。首先, 介绍了细胞裂解依赖型和分泌依赖型释放机制, 以及群体感应对其精细调控机制; 其次, 概述了细菌 eDNA 作为结构性基质和生态位构建因子、生物膜内部的遗传信息交换平台、胞外电子传递过程中的重要介质, 揭示其在细菌生命周期与环境适应中的多维作用; 随后, 综述了 eDNA 在环境基因风险评估、生态环境物种监测、环境污染修复以及环境生物膜污染控制方面的研究进展, 强调其在抗性基因、毒力基因等功能遗传单元环境滞留与水平传播中的载体作用, 及其对致病微生物定植潜在的影响, 揭示其作为连接分子机制、群落行为与环境效应关键纽带的环境生物学意义。最后, 针对当前在释放机制整合、结构异质性与功能耦合、环境情境下命运归趋及应用过程中的风险控制等方面仍存在的瓶颈, 讨论了未来从多尺度机制解析、原位过程表征、生态效应评估与安全应用协同等方向开展深入研究的必要性, 以推动 eDNA 研究由现象描述向机制整合与理性应用拓展。

关键词: 胞外 DNA; 释放机制; 生物膜结构; 群体感应调控; 水平基因转移

中图分类号: Q89 文献标志码: A

Release mechanism, function and application in environmental biology of bacterial extracellular DNA

ZHANG Baocai^{1,2,3}, LI Teng^{1,2}, GUO yunxue^{1,2}, LIU shengnan^{1,2}, SONG hao^{1,2,3}, LI Feng^{1,2}

¹School of Synthetic Biology and Biomanufacturing, Tianjin University, Tianjin 300072, China; ²State Key Laboratory of Synthetic Biology, Tianjin University, Tianjin 300072, China; ³College of Life and Health Science, Northeastern University, Shenyang 110169, Liaoning, China)

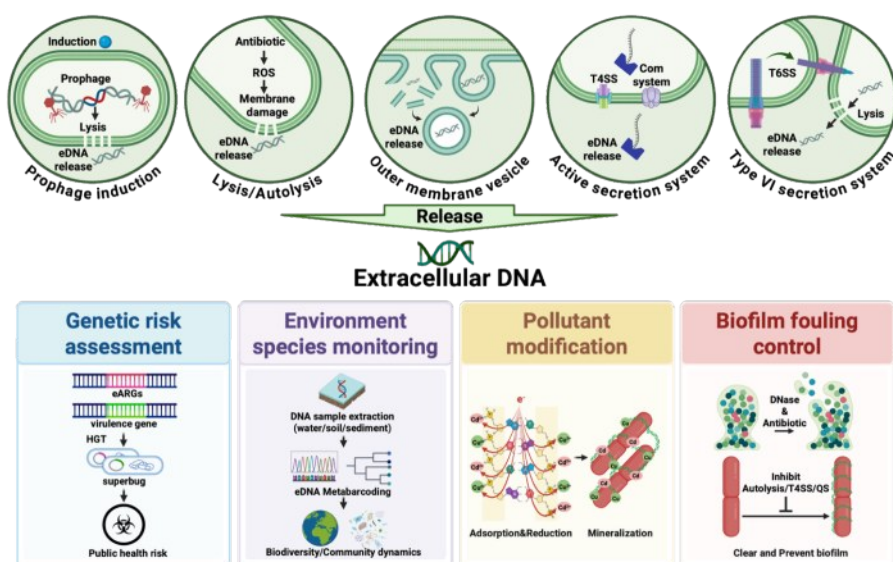
Abstract: Extracellular DNA (eDNA), an important component of environmental genetic material, has received increasing attention in environmental microbiology because of its diverse roles in bacterial community organization,

收稿日期: 2026-03-10 修回日期: 2026-05-06

基金项目: 国家重点研发计划 (2024YFC3407000); 国家自然科学基金 (NSFC 22478293); 呼和浩特市“揭榜挂帅”重大科技项目 (2024-揭榜挂帅-社-1); 天津市科技计划项目 (24JCYBJC01120); 天津市科技重大专项 (No. 25ZXWCSY00360); 绿色生物制造全国重点实验室开放课题基金资助 (SKLGBMOPG20250004); 绿色化学合成与转化技术全国重点实验室开放课题资助 (SKLGSC-KF-202508); 太阳能光电转化与利用全国重点实验室 (创新基金项目 SKLPCU25OP009)

引用本文: 张保财, 李腾, 郭云雪, 刘胜男, 宋浩, 李锋. 细菌胞外DNA释放机制、功能及环境生物学应用[J]. 合成生物学, 2026, 7. DOI: 10.12211/2096-8280.2026-015
Citation: ZHANG Baocai, LI Teng, GUO yunxue, LIU shengnan, SONG hao, LI Feng. Release mechanism, function and application in environmental biology of bacterial extracellular DNA[J]. Synthetic Biology Journal, 2026, 7. DOI: 10.12211/2096-8280.2026-015

genetic information transfer, and microbial adaptation to complex habitats. Unlike intracellular genomic DNA, bacterial eDNA exists outside cells in free, particle-associated, or matrix-bound forms, and can participate directly in ecological and biogeochemical processes. This review systematically summarizes current advances in the release mechanisms, functional attributes, environmental implications, and potential applications of bacterial eDNA. First, the major pathways responsible for eDNA release are discussed, including cell lysis-dependent mechanisms, such as autolysis, phage-induced lysis, and stress-triggered cell disruption, as well as secretion-dependent mechanisms mediated by membrane vesicles, secretion systems, and active export processes. Particular attention is given to quorum sensing, which can finely regulate eDNA production in response to population density, nutrient conditions, and environmental stress, thereby linking individual cellular processes with collective bacterial behavior. Second, the multifunctional roles of eDNA in bacterial ecosystems are reviewed. As a structural component of extracellular polymeric substances, eDNA contributes to biofilm formation, mechanical stability, surface adhesion, and niche construction. As a reservoir and platform for genetic exchange within biofilms, eDNA facilitates natural transformation and horizontal gene transfer, enhancing bacterial adaptability and evolutionary potential. In addition, eDNA may act as an important mediator in extracellular electron transfer, influencing microbial energy metabolism and redox-related environmental processes. Third, this review summarizes recent progress in the use of eDNA in environmental genetic risk assessment, biodiversity and species monitoring, pollutant bioremediation, and biofilm contamination control. Special emphasis is placed on the persistence and dissemination of functional genetic elements carried by eDNA, particularly antibiotic resistance genes and virulence genes, as well as their possible contribution to pathogen colonization and ecological health risks. These findings highlight eDNA as a critical link connecting molecular mechanisms, microbial community behavior, and environmental consequences. Finally, key challenges are discussed, including the integration of multiple release mechanisms, the relationship between structural heterogeneity and ecological function, the fate and transformation of eDNA under realistic environmental conditions, and risk control during environmental applications. Future studies should combine multiscale mechanistic analysis, in situ characterization, ecological effect evaluation, and biosafety-oriented application strategies, thereby promoting the development of eDNA research from descriptive observation toward mechanistic understanding and rational environmental implementation.



Keywords: extracellular DNA; release mechanism; biofilm structure; quorum sensing regulation; horizontal gene transfer

胞外DNA (extracellular DNA, eDNA) 是指存在于微生物细胞外环境中的脱氧核糖核酸分子, 广泛分布于水体^[1, 2]、土壤和沉积物^[3]及生物膜^[4, 5]等多种生态系统中。早期研究多将其视为细胞裂解后的遗传残留物, 主要用于物种监测与环境溯源分析。随着生物膜结构解析及分子检测技术的发展, eDNA逐渐被认识为胞外聚合物基质 (extracellular polymeric substances, EPS) 的重要组成部分, 可参与细胞初始黏附、微菌落形成及生物膜三维网络稳定, 从而影响生物膜的形成、结构完整性和环境适应性^[6, 7]。eDNA可与多糖、蛋白质及多价阳离子形成交联网络, 增强基质的三维结构稳定性和抗扰动能力。在部分电活性细菌生物膜中, eDNA还参与胞外电子传递过程, 影响氧化还原反应效率。其分子结构特性使其能够吸附污染物、络合重金属并影响界面反应过程, 在污染修复与生物电化学体系中具有潜在应用价值。

eDNA的来源具有多样性, 除随机裂解外, 其释放涉及程序性细胞裂解、自溶系统调控、前噬菌体诱导、膜囊泡运输及分泌系统介导的主动释放等多种机制。这些途径在发生条件、DNA完整性及生态后果方面存在差异, 并受群体感应、营养限制与环境胁迫信号调控。不同释放方式所形成的eDNA在结构组织能力、可利用性及功能表达方面表现出明显差异, 直接影响生物膜结构构建与群落稳定性。现有研究已从结构特性、功能属性及环境效应等方面对eDNA展开探讨, 不同释放途径之间的内在联系及其调控机制仍缺乏系统梳理与综合分析。

基于此, 本文围绕细菌eDNA释放机制、功能认知及环境应用展开系统梳理。概述了细菌eDNA的不同释放机制及其过程的调控机制; 归纳了细菌eDNA在群落物理结构稳定、遗传信息流动及胞外电子传递中的功能; 随后, 介绍了eDNA环境基因风险评估、生态环境物种监测、环境污染物修复以及环境生物膜污染控制方面的环境应用进展; 最后, 针对当前在机制解析、功能认知、生态效应及应用转化层面仍存在的瓶颈与不足进行了展望, 以推动eDNA研究向机制整合与理性应用方向拓展。

1 细菌胞外DNA环境生物学意义概述

在环境生物学框架下, eDNA的意义不仅体现在结构层面, 还涉及群落调控与物质循环过程。细菌群落在自然环境中面临营养波动、氧化还原变化及物理扰动等多重压力, 其空间组织与功能表达呈动态变化。eDNA的释放与程序性裂解、自溶系统、噬菌体诱导及膜囊泡分泌等机制相关^[2, 8, 9], 这些过程通常受群体感应网络及胁迫信号调节。不同释放路径对DNA片段长度、空间分布及稳定性的影响不同, 从而改变其结构支撑能力与生态效应^[9, 10]。因此, eDNA的形成过程可被视为个体与群落尺度结构构建之间的连接点。系统解析其释放途径及调控网络, 是理解细菌群落演替规律、稳态维持机制及环境适应策略的重要理论基础。在生态尺度上, eDNA嵌入环境物质循环与界面反应网络之中。其分子骨架带负电荷, 可吸附金属离子与有机污染物, 参与沉积物-水界面反应过程。环境条件对其降解与保存具有显著影响^[11]。与此同时, eDNA可作为抗生素抗性基因等功能遗传单元的载体, 在环境中参与水平基因转移过程, 并可能加速抗性基因的扩散与累积^[12]。在电活性生物膜体系中, eDNA还被发现参与胞外电子传递过程, 影响氧化还原反应效率及相关生物地球化学循环^[13, 14]。此外, 随着高通量测序与环境DNA技术的发展, eDNA已成为生态系统多样性监测与风险评估的重要分子工具。其在水体、土壤及沉积物中的检测与解析, 不仅能够重建群落结构与演替轨迹, 也为生态安全与公共健康风险评估提供分子证据^[15-17]。这为环境质量监测、污染修复强化及生物膜靶向控制策略的讨论奠定了机制基础, 并为将eDNA纳入可调控生态因子体系提供了系统化思路。

2 细菌胞外DNA的释放机制

深入解析eDNA的释放机制, 是阐明微生物群落组装、功能实现及环境适应过程的重要前提, 也为生物技术开发及抗生素抗性基因传播风险管控提供了新的理论视角与潜在干预靶点。eDNA在

环境中的积累源于细菌的释放，其释放并非随机过程，而是由多种精密且相互关联的机制所介导，这些机制响应于细胞密度、环境压力及种间竞争等信号。当前研究表明，细菌 eDNA 的释放主要包括细胞裂解依赖型和分泌依赖型两类路径，涉及程序性裂解、噬菌体诱导、自溶系统调控、胞外囊泡运输及分泌系统介导等多种机制。相关代表

菌种、调控因子及主要生态效应见表 1。

2.1 细胞裂解依赖型释放机制

细胞裂解依赖型释放是当前研究最为深入的 eDNA 形成方式，其本质并非被动破裂，而是由特定环境信号诱发、经调控网络整合后由裂解效应模块执行的程序化过程^[7, 39]。从诱发层面看，氧

表 1 细菌 eDNA 释放机制及其调控

Tab. 1 eDNA release and regulatory mechanism in bacterias

eDNA 释放核心机制	菌株中文名及拉丁学名	关键蛋白/调控因子及其作用	参考文献	
内源性程序化裂解	新月柄杆菌 <i>Caulobacter crescentus</i>	ParDE4: 在氧限制条件下被诱导, ParE4 毒素活性促进细胞死亡并释放 eDNA, ParD4 抗毒素在正常条件下抑制其毒性	[18]	
	嗜硫红球菌 <i>Rhodovulum sulfidophilum</i>	CtrA: 群体感应响应调节蛋白, 正向调控 eDNA 产生, 缺失后 eDNA 显著下降, 回补后恢复。	[19, 20]	
	枯草芽孢杆菌 <i>Bacillus subtilis</i>	Spo0A: 全局调控因子, 调节生物膜形成和细胞命运分化, 间接促进 eDNA 的产生与积累	[21]	
	变异链球菌 <i>Streptococcus mutans</i>	ComCDE: 感知群体密度信号 CSP 诱导部分细胞裂解释放 eDNA	[22]	
	金黄色葡萄球菌 <i>Staphylococcus aureus</i>	LytSR: 感知膜电位调节 <i>lrgAB</i> 表达调控细胞自溶 CidABC: 感知代谢水平调控细胞自溶	[23-25]	
	外源性诱导裂解	鼠伤寒沙门菌 <i>Salmonella typhimurium</i>	Gifsy-2: 氧化应激下活化导致细胞裂解	[26]
		中心伯克霍尔德菌 <i>Burkholderia cenocepacia</i>	RecA: 基因毒性应激诱导激活解除 SOS 基因表达抑制并活化前噬菌体	[27]
霍乱弧菌 <i>Vibrio cholerae</i>		VxrB: 通过增强 T6SS, 间接促进靶细胞裂解和局部 eDNA 释放	[28]	
艰难梭菌 <i>Clostridioides difficile</i>		LuxS: 介导群体感应信号分子 AI-2 合成, 活化前噬菌体	[29]	
粪肠球菌 <i>Enterococcus faecalis</i>		GelE: 群体感应调控下表达, 促进靶细胞裂解和局部 eDNA 释放	[30]	
奥奈达希瓦氏菌 <i>Shewanella oneidensis</i>		RecA: 铁水平变化及氧化应激诱导激活 SOS 基因表达抑制并活化前噬菌体	[31]	
胞外囊泡介导		鲍曼不动杆菌 <i>Acinetobacter baumannii</i>	OmpA: 参与外膜稳定, 其表达变化会改变外膜张力和局部连接, 从而影响囊泡释放	[32]
	幽门螺杆菌 <i>Helicobacter pylori</i>	目前尚不清楚	[33]	
	铜绿假单胞菌 <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	PQS: 群体感应信号分子, 可插入细胞外膜促进囊泡形成	[34]	
	跨膜分泌系统介导	流感嗜血杆菌 <i>Haemophilus influenzae</i>	TraCG: 内膜复合体, DNA 通过其转移到周质空间 ComE: 外膜孔蛋白, DNA 通过其分泌至胞外	[35]
淋病奈瑟菌 <i>Neisseria gonorrhoeae</i>		TraD: 响应生长速率调控 IV 型分泌系统表达, 促进 eDNA 释放	[36]	
铜绿假单胞菌 <i>Pseudomonas aeruginosa</i>		PilA: IV 型菌毛, 受群体感应调控表达, 促进 eDNA 释放	[37]	
路邓葡萄球菌 <i>Staphylococcus lugdunensis</i>		ComEB: 通过非裂解机制实现 eDNA 的释放	[38]	

限制、氧化应激、营养失衡、DNA损伤以及群体感应信号积累，均可作为裂解程序的启动因素^[40]。从调控层面看，相关过程常受双组分系统、自溶调控模块、SOS应答及前噬菌体相关基因网络共同控制。从执行层面看，最终均汇聚为肽聚糖水解酶、自溶素或噬菌体裂解蛋白等效应分子的激活，导致细胞壁完整性下降、膜稳态失衡和胞内DNA释放^[41, 42]。这一机制的复杂性与重要性，使其成为理解生物膜生物学核心问题的关键切入点。从诱发机制上看，细胞裂解释放eDNA的途径可系统性地分为两大类：内源性程序化裂解和外源性诱导裂解。基于启动方式不同，裂解依赖型eDNA释放可进一步分为内源性程序化裂解和外源性诱导裂解两类。前者更强调群体在生物膜发育过程中的主动分工与结构重塑，后者则更多体现为细胞在氧化胁迫、基因毒性刺激或前噬菌体活化条件下的应激性释放^[43, 44]。

2.1.1 内源性程序化裂解释放

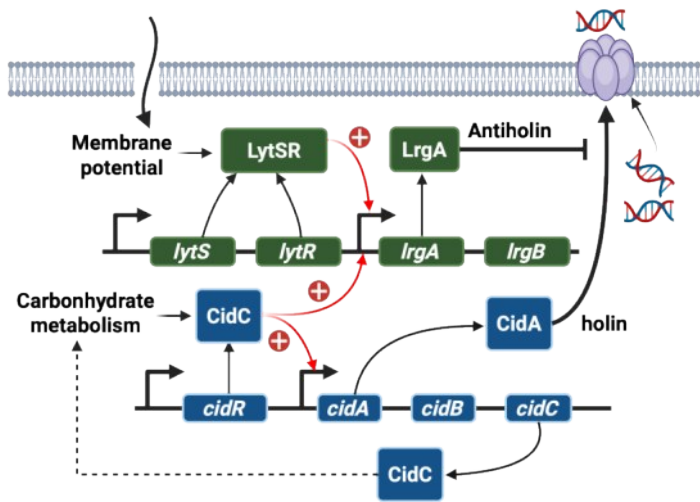
内源性程序化裂解与细菌固有的生长周期和群体发育阶段紧密关联，在生物膜发育的特定时空节点被激活^[44]。以金黄色葡萄球菌 (*Staphylococcus aureus*) 为例，其关键的自溶素Atl为双功能肽聚糖水解酶，在空间上限制在细胞分裂及子代分离所需的局部区域，从而参与细胞壁的有序重塑而不引发整体肽聚糖降解。然而，在特定应激条件或细胞壁稳态受到扰动时（例如细胞壁损伤或营养状态变化），这种精细的活性调控可能发生破坏，导致Atl由局部受控的分裂相关水解因子转变为具有全局作用的肽聚糖水解活性，进而引起细胞壁的过度降解，最终触发渗透压驱动的细胞裂解并伴随DNA的释放^[43]。此外，在金黄色葡萄球菌中，Cid/Lrg调控模块在eDNA的释放中同样发挥着重要的作用，该系统由两个功能拮抗的操纵子构成：cid操纵子（编码如CidA等促裂解蛋白）和lrg操纵子（编码如LrgA等抗裂解蛋白）。双组分调控系统LytSR受控于膜电位的变化，调节抗裂解蛋白LrgA和LrgB的表达，抑制CidA形成孔道，从而抑制细胞裂解^[45]。相对地，碳水化合物代谢状态调控CidR系统，诱导类穿孔素CidA的表达，增加裂解和eDNA释放（图1a）。细菌通过调节两者的表达水平，在不同环境和代谢状态下动态控

制细胞裂解事件的发生，从而调节群体行为和生物膜结构的稳定性。

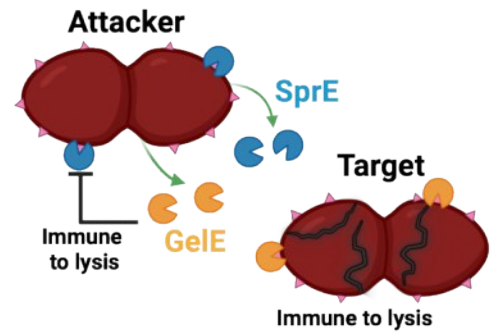
在某些细菌中，程序化裂解还表现出更高级的社会性协同特征。粪肠球菌 (*Enterococcus faecalis*) 中报道的一种典型机制被称为“兄弟相残” (fratricide)，反映了生物膜群体内部的功能分化与协作。在这一机制中，生物膜群体中的一部分细胞分化为“攻击者”，通过分泌两种关键的胞外蛋白酶——锌金属蛋白酶GelE和丝氨酸蛋白酶SprE，协同细胞自身的自溶素AtlA，特异性地裂解同种的其他靶细胞。GelE被认为通过降解靶细胞表面的特定保护性蛋白或信号分子，使AtlA能够更有效地水解其肽聚糖底物，而SprE的存在可以有效保护攻击者的存活（图1b）^[46]。这种细胞间攻击并非随机的暴力行为，而是一种程序化的群体行为，可能由微环境中的局部信号所触发^[47]。其生物学意义在于一方面为生物膜发育的早期阶段提供了局部高浓度的eDNA，加速了基质骨架的形成^[48]；另一方可能作为一种“质量控制系统”，清除群体中生长迟缓、代谢缺陷或携带不利突变的个体，从而优化整个生物膜群落的适应性^[49]。

2.1.2 外源性诱导裂解释放

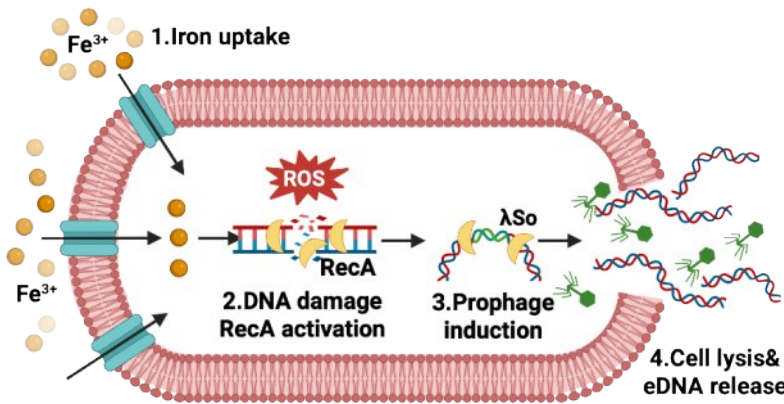
外源性诱导裂解则由多种环境压力触发，例如营养限制^[50]、氧化应激^[51]、抗生素暴露^[52]以及与其他生物的竞争作用^[27, 28]。在外源性裂解介导的eDNA释放中，前噬菌体诱导及种间VI型分泌系统 (type VI secretion systems, T6SS) 导致的细胞裂解是两种具有代表性的途径。其中前噬菌体诱导通过噬菌体介导的裂解程序破坏细胞壁与细胞膜结构，从而引发细胞裂解并释放大量eDNA^[53, 54]。这一转换通常由高度保守的分子开关（如λ噬菌体的CI/Cro系统）调控，最终导致宿主细胞程序性裂解，释放出子代噬菌体颗粒以及宿主的基因组DNA片段，后者随即成为生物膜胞外基质中eDNA的关键来源^[55]。其诱导机制具有多样性和环境响应性，最经典的途径是通过SOS反应激活多个参与DNA修复、细胞周期调控和易错复制相关基因的表达^[56, 57]，进而介导前噬菌体阻遏蛋白的失活，启动裂解程序。在希瓦氏菌 (*Shewanella oneidensis*) 中，整合于染色体上的λSo前噬菌体介导的程序性细胞裂解，是释放



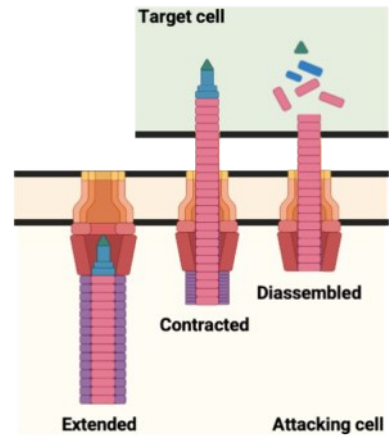
(a) 金黄色葡萄球菌通过 CidA/LrgA 类穿孔素/抗穿孔素系统的平衡调控下介导细胞裂解和 eDNA 释放
 (a) *Staphylococcus aureus* mediates cell lysis and the release of extracellular eDNA through the balanced regulation of the CidA/LrgA holin - antiholin system.



(b) 粪肠球菌群体中部分细胞分化为“攻击者”，分泌 GclE、SprE 并协同 AtlA 裂解邻近“靶标”细胞并释放 eDNA
 (b) *Enterococcus faecalis* become "attackers", secreting GclE and SprE and working with AtlA to lyse nearby target cells and release eDNA.



(c) 希瓦氏菌 MR-1 中前噬菌体介导的 eDNA 释放机理
 (c) Mechanism of prophage-mediated eDNA release in *Shewanella oneidensis* MR-1



(d) T6SS 系统的工作原理
 (d) The working mechanism of the T6SS system

图 1 eDNA 细胞裂解依赖型释放机制

Fig. 1 Mechanisms of cell lysis-dependent release of eDNA

eDNA 并塑造三维群落结构的核心机制。该过程的启动受到生物被膜微环境中铁离子动态的精密调控，当细菌附着于生长基质表面并启动生物被膜发育时，其代谢需求导致胞内铁摄取系统活跃，游离铁水平上升。在氧气存在的条件下，累积的铁离子可直接或间接地引起 DNA 损伤。这种损伤信号被细菌的 SOS 应激系统感知，激活关键蛋白 RecA。活化的 RecA 进而切割 λSo 前噬菌体的阻遏蛋白，解除其溶原状态，驱动前噬菌体进入裂解

周期 (图 1c)^[51]。这种机制不仅在环境适应中发挥了重要作用，还深度参与了病原菌在宿主体内的致病过程。在肺炎链球菌 (*Streptococcus pneumoniae*) 中，前噬菌体的自发激活是早期生物膜形成过程中 eDNA 的关键来源^[58, 59]。鼠伤寒沙门氏菌的 Gifsy-1 和 Gifsy-2 前噬菌体携带重要的毒力基因，其诱导裂解在释放 eDNA 构建生物膜的同时，也促进了这些毒力基因的水平转移，增强了菌株在感染环境中的竞争优势和致病潜力^[26, 60, 61]。

除噬菌体相关裂解外, T6SS介导的细胞裂解则体现了细菌间竞争驱动的eDNA释放机制。(图1d)^[62]。在铜绿假单胞菌中, T6SS的活性受到环境离子浓度的调节。当环境中镁离子不足以充分螯合eDNA时, 膜感应系统TagQRST感知并激活*Fha*和*PpkA*等下游基因^[63], 最终激活T6SS并攻击邻近细胞。被攻击的细胞发生裂解, 释放出更多的eDNA, 从而形成一个自我放大的正反馈循环: eDNA螯合Mg²⁺→激活T6SS→裂解细胞释放更多eDNA^[64]。类似的调控逻辑也存在于霍乱弧菌(*Vibrio cholerae*)中, 响应调节蛋白VxrB作为关键信号节点, 参与调控T6SS相关基因的表达和装配^[65, 66]。在混合菌株生物膜中, T6SS活性高的菌株可通过攻击并裂解缺乏免疫蛋白的邻近菌株, 影响了整个生物膜的物理结构和群落动态^[66]。T6SS介导的eDNA释放机制凸显了生物膜的竞争性与合作性共存本质。eDNA作为种内和种间斗争的产物与工具, 细菌通过T6SS将细胞间竞争转化为公共基质物质的积累, 既清除了竞争者, 又加固了自己所处的生存环境^[62, 64]。这一机制将生物膜的发育与细菌的社会行为紧密联系在一起, 为理解多物种生物膜的复杂组装过程提供了重要线索。

2.2 细胞分泌依赖型释放机制

与裂解依赖型释放相比, 分泌依赖型释放的特点在于细胞无需发生破裂, 而是通过膜性载体或分泌系统将eDNA主动输出至胞外环境。该过程通常具有较高的选择性与可调控性, 使eDNA的释放在时间和空间上呈现更强的组织化特征。按照具体实现方式, 分泌依赖型释放主要可分为胞外囊泡介导释放和跨膜分泌系统介导释放两类, 前者主要依赖外膜囊泡等膜性结构对DNA进行包裹、转运和释放, 其特点是eDNA通常以囊泡负载形式进入胞外环境, 从而在转运过程中获得一定保护, 并更容易表现出局部富集和空间定向分布; 后者则主要依赖特定跨膜分泌装置将DNA直接输出至细胞外, 其核心特征在于释放过程更依赖分泌系统本身的组装与功能状态。

2.2.1 胞外囊泡介导的eDNA释放

膜囊泡是细菌分泌的纳米级脂质双层结构, 作为重要的细胞间通讯和物质运输载体, 在eDNA的释放与分布中发挥着独特作用。根据起源和组成, 主要分为外膜囊泡和胞质膜囊泡, 其中革兰氏阴性菌释放的外膜囊泡(Outer Membrane Vesicles, OMVs)研究最为广泛。细菌外膜囊泡的生物发生是一个多途径调控的精密过程, 双层耦合模型与爆炸性细胞裂解模型代表了两种在触发机制、动力学和生理结局上存在根本差异的生成范式(图2a)。近年来针对这两种机制如何具体介导eDNA释放的研究取得了突破性进展, 揭示了高度精细的调控网络和多样化的生理功能^[33, 67, 68]。

双层耦合模型阐释了细菌在维持细胞活力条件下主动形成外膜囊泡(OMVs)的机制。其核心在于外膜局部结构稳定性发生可控改变, 使外膜相对于内膜向外弯曲并出芽。铜绿假单胞菌中的群体感应信号分子PQS是关键调节因子。PQS插入外膜并削弱脂多糖之间的阳离子桥联作用, 降低外膜稳定性, 从而促进OMV形成, 并将eDNA等胞内成分包裹释放至胞外环境^[69]。最近的研究将这一认知推向了分子互作和选择性包装的层面。例如, 外膜蛋白OprF作为肽聚糖层中重要的孔蛋白, 在维持外膜张力和完整性中起到锚定作用, 而营养条件的限制会影响OprF的表达, 导致外膜与肽聚糖层的连接局部松弛, 这一松弛现象促进了OMV及其携带eDNA量的升高。这一机制解释了在OprF缺失的假单胞菌中, OMV产量呈现数倍增长的现象^[70, 71]。

除双层耦合模型外, 细菌还存在另外一种囊泡生成机制, 在某些裂解模块激活下导致的细胞剧烈崩解过程中, 破碎的细胞膜并非无序消散, 而是能够自我重组并形成纳米级的微囊泡结构。这些囊泡可以包裹并保护释放出的eDNA, 成为其在生物膜基质中运输和分布的一种载体^[72]。在*Shewanella vesiculosa* M7T中, 高分辨率电镜观察到了细胞爆炸性裂解、膜碎片重联以及最终形成囊泡的连续过程。由此产生的囊泡在结构上明显区别于经典的出泡囊泡, 包括单层的爆炸性外膜囊泡和一种新型的双层囊泡(爆炸性O-IMV)。基

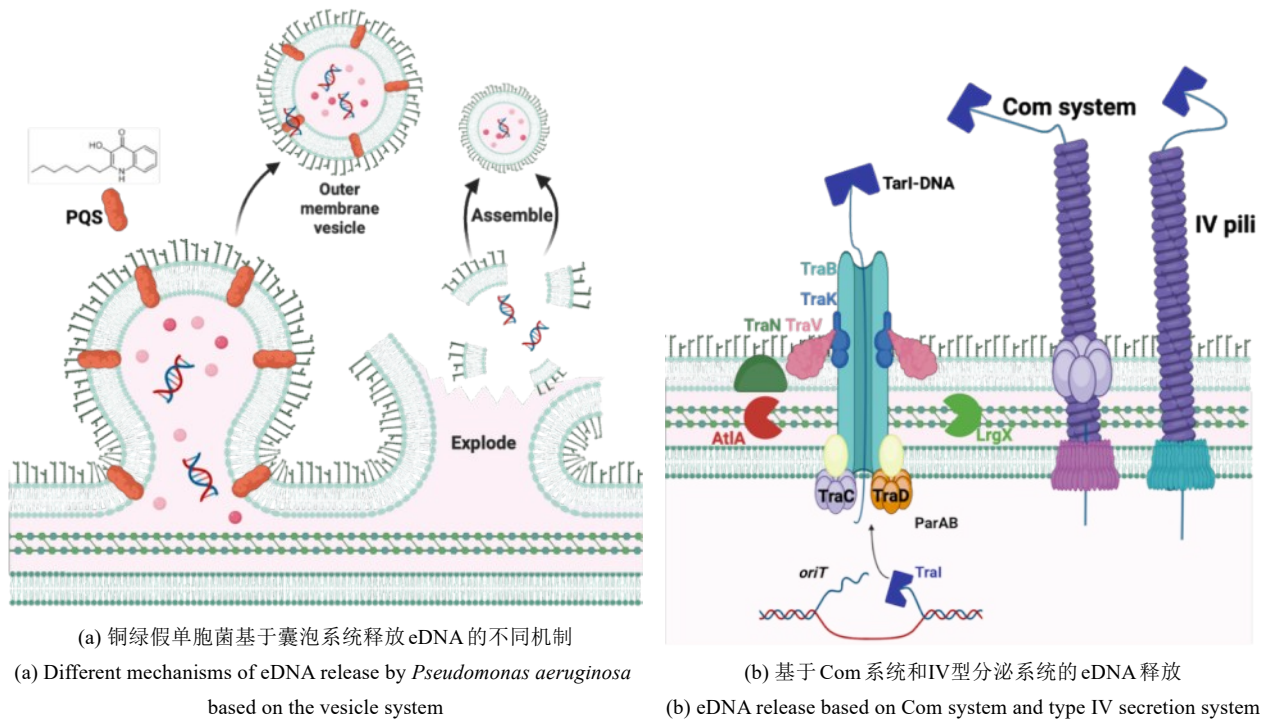


图2 eDNA细胞分泌依赖型释放机制

Fig. 2 Mechanisms of cell lysis-independent release of eDNA

基因组测序进一步表明，这些囊泡内包裹的DNA片段覆盖了整个细菌染色体，印证了其来源于全面的细胞裂解^[73]。这一机制不仅丰富了对细菌胞外囊泡生物发生途径的理解，也为探索生物膜内遗传物质交换、群体应激响应及环境适应策略提供了新的分子视角。OMV介导的eDNA释放主要通过“双层耦合”与“爆炸性裂解”两条核心路径实现。前者是细菌在正常生理或适度压力下，进行物质运输和通讯的主动、可控机制；后者则是细菌在面临生存危机时，通过自我裂解向群体贡献结构资源的应急性、爆发式机制。未来研究的关键在于进一步阐明调控这两条路径相互转换或协同作用的全局性信号网络。

2.2.2 跨膜分泌系统介导的eDNA释放

除裂解相关途径外，越来越多研究表明，多种细菌还进化出了主动跨膜分泌机制，能够在不依赖细胞死亡的情况下，将eDNA定向输送至胞外环境。这类分泌过程通常受到严格的遗传调控，并与细菌的群体竞争、生态适应及遗传交流等社会行为密切相关^[74]。

例如，在非分型流感嗜血杆菌 (*Nontypeable Haemophilus influenzae*) 中，eDNA的释放主要由TraCG内膜复合物与ComE外膜孔道协同完成的非裂解性分泌机制介导^[35]。该过程不依赖细胞接触或程序性细胞死亡，可实现双链DNA及其稳定蛋白DNABII的定向胞外输送 (图2b)。其核心机制可分为以下几个关键环节：首先，位于基因组ICEHin1056亚家族可移动遗传元件上的TraC与TraG蛋白形成类似IV型分泌系统的内膜转运复合物，可能在与细胞质伴侣蛋白TraI、ParA、ParB等的协同下，将DNA从细胞质主动转运至周质空间。随后，DNA通过位于细菌亚极区的ComE外膜孔道释放至胞外，该孔道原本为IV型菌毛的表达通道，其直径足以容纳双链DNA通过。释放出的eDNA与DNABII蛋白在胞外迅速组装成网格状结构，为生物膜提供关键结构支撑。

类似的主动分泌策略也存在于淋病奈瑟菌 (*Neisseria gonorrhoeae*) 中，eDNA释放主要由其基因组中一段57kb的基因岛编码的IV型分泌系统 (type IV secretion system, T4SS) 介导。该系统可

不依赖细胞接触，主动将单链DNA分泌至胞外。其核心机制可分为几个关键环节：首先，位于GGI上的松弛酶TraI在特定转移起始位点(*oriT*)切割DNA，产生并可能共价连接于5'端的ssDNA底物；ParA与ParB蛋白则负责将此DNA-蛋白质复合物空间定位至分泌装置。随后，由TraB、TraK和TraV组成的外膜核心复合物，在AtlA和LtgX两种肽聚糖水解酶局部修饰细胞壁的辅助下，组装成跨膜通道，并在偶联蛋白TraD及ATP酶TraC的协同下，驱动DNA完成跨内膜与外膜的双重转运，最终以5'端受保护的形式释放至环境中(图2b)。研究显示，该过程与细胞自溶无关，且所分泌的DNA被高度甲基化，可能有助于避免宿主免疫识别^[75, 76]。

2.3 群体感应对于eDNA释放的调控

传统观点认为细菌释放eDNA主要源于细胞衰亡或环境损伤导致的个体死亡这一被动现象。然而，越来越多研究表明，在生物膜发育及群体适应过程中eDNA释放具有程序化特征，并表现出群体层面的功能指向性。因此，从群体选择视角看，eDNA释放在一定条件下可被视为一种具备适应意义的程序性群体行为，而非单纯的个体死亡副产物^[77, 78]。基于这一界定，群体感应(Quorum

Sensing, QS)作为密度依赖型调控系统发挥着重要的调控作用。大量研究表明，QS对eDNA释放的调控并非依赖单一途径，而是通过裂解依赖型与分泌依赖型等多种机制协同实现。目前已经在多种细菌中发现了相似的机制(表2)^[79, 80]，以铜绿假单胞菌为例，其QS网络主要由*las*、*rhl*、*pqs*和*iqs*四个相互耦联的信号通路构成，呈现明显的层级调控特征(图3)^[37]，首先，*las*系统中LasI合成的酰基高丝氨酸内酯信号分子3-oxo-C₁₂-HSL与转录调控蛋白LasR结合后，可激活包括*lasI*、*rhlI*、*rhlR*以及*pqsABCDE/pqsH*在内的多种下游基因，从而处于整个网络的上游枢纽位置。随后，*rhl*系统中RhlI合成的C₄-HSL与RhlR结合，进一步调控鼠李糖脂、生物膜相关因子及部分自溶和表面活性分子合成过程。与此同时，*pqs*系统通过PqsABCD和PqsH合成HHQ与PQS，并由转录因子PqsR感知后形成正反馈放大，既可促进喹啉类信号持续积累，也可进一步影响囊泡形成、DNA稳定性及毒力因子表达。*iqs*系统则更多体现环境胁迫输入特征，可将营养限制、磷缺乏或氧化应激等外界信号整合进入QS调控网络，增强eDNA释放对环境条件的响应性^[81-84]。以下将以铜绿假单胞菌为模型，分别从裂解依赖型与分泌依赖型两条路径系统阐述QS对eDNA释放的精细调控机制。

表2 不同菌株中QS调控eDNA释放及其作用

Tab. 2 The regulation of eDNA release and function by QS in different strains

菌株中文名	菌株拉丁学名	相关基因	eDNA释放作用	参考文献
革兰氏阴性菌				
嗜水气单胞菌	<i>Aeromonas hydrophila</i>	<i>ahyI/ahyR</i>	表面粘附增强和生物膜基质稳定	[85]
鲍曼不动杆菌	<i>Acinetobacter baumannii</i>	<i>abaI/abaR</i>	表面粘附增强和生物膜基质稳定	[86]
哈维氏弧菌	<i>Vibrio harveyi</i>	<i>luxM/luxS/luxR</i>	生物膜基质稳定和群体密度适应	[87]
霍乱弧菌	<i>Vibrio cholerae</i>	<i>luxS, cqsA, hapR</i>		[88]
新洋葱伯克霍尔德菌	<i>Burkholderia cenocepacia</i>	<i>cepI/cepR</i>	慢性感染生物膜的结构强化	[89]
脑膜炎奈瑟菌	<i>Neisseria meningitidis</i>	<i>luxS</i>	生物膜基质稳定和抵抗免疫系统	[90]
铜绿假单胞菌	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	<i>lasI/lasR, rhlI/rhlR, pqsABCDE, pqsR</i>	生物膜基质稳定和抵抗免疫系统	[37, 91]
革兰氏阳性菌				
枯草芽孢杆菌	<i>Bacillus subtilis</i>	<i>comX, comA, spo0A</i>	生物膜基质稳定	[92]
艰难梭菌	<i>Clostridioides difficile</i>	<i>luxS</i>	生物膜基质稳定	[29]
粪肠球菌	<i>Enterococcus faecalis</i>	<i>fsr, gelE</i>	生物膜成熟和蛋白酶相关的基质重塑	[93]
李斯特菌	<i>Listeria monocytogenes</i>	<i>agrBDCA</i>	生物膜基质稳定和环境持久性	[94]
金黄色葡萄球菌	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>agrA/agrC, atlA</i>	初始生物膜附着和结构完整性	[45, 95]
表皮葡萄球菌	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	<i>agr, atlE</i>	初始生物膜附着和结构完整性	[43, 96]
肺炎链球菌	<i>Streptococcus pneumoniae</i>	<i>comCDE, lytA</i>	生物膜基质稳定和水平基因转移	[97]

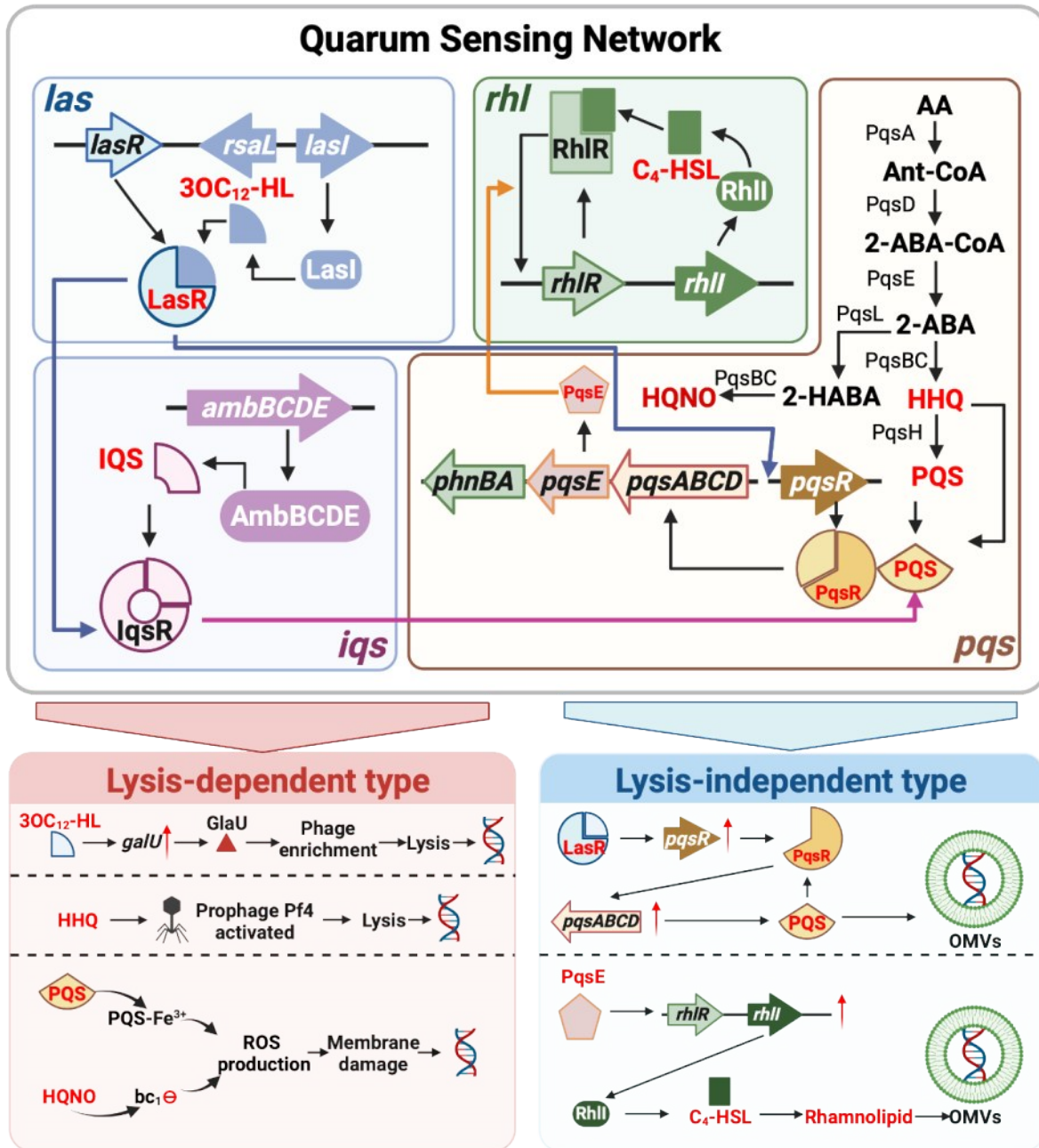


图3 铜绿假单胞菌中多层QS系统调控eDNA释放示意图

Fig. 3 Schematic representation of the regulation of the multilayer QS system in *Pseudomonas aeruginosa*

2.3.1 QS对裂解依赖型释放的调控

在裂解依赖型释放路径中，QS可通过诱导程序性裂解促进eDNA输出，主要涉及噬菌体激活与自溶型死亡两种机制。高细胞密度条件下，*las*系统受3OC₁₂-HSL激活，上调例如*galU*等脂多糖合成相关基因，增加细胞表面噬菌体受体丰度，从而提高特定噬菌体的吸附效率与裂解发生率，促进eDNA释放^[98]。此外，QS系统还可通过代谢中

间体间接触发前噬菌体激活。例如，PqsL单加氧酶缺失或功能下降时，*pqs*系统中间物HHQ在胞内积累（图3）。可通过不依赖经典转录因子PqsR的途径激活Pf4前噬菌体，使其由溶原态转入裂解周期，从而释放大量eDNA^[99]。这一现象说明QS不仅通过转录调控网络发挥作用，还可通过代谢物积累影响噬菌体命运，实现对eDNA输出的调控。另一方面，PQS系统调控产生的喹啉类分子

HQNO (图3) 可抑制细胞色素 bc_1 复合体电子传递, 导致呼吸链受阻和活性氧积累, 引发膜电位下降与膜结构损伤, 最终诱导细胞裂解^[100]。此外, PQS 还可通过螯合 Fe^{3+} 参与氧化应激反应, 在高浓度条件下加剧膜损伤并增强细胞毒性。这些结果表明, QS 通过转录调控与代谢调节双重路径, 协同驱动裂解依赖型 eDNA 释放^[101-104]。

2.3.2 QS 对分泌依赖型释放的调控

除裂解型机制外, QS 还可通过调控主动分泌过程影响 eDNA 的释放与空间分布, 其中外膜囊泡途径尤为关键^[105, 106]。当细菌进入早期稳定期时, *las* 系统产生的 C_{12} -HSL 激活转录因子 LasR 并增强 *pqsABCDE* 及 *pqsH* 等关键基因的表达促进 PQS 合成。PQS 通过驱动外膜出芽形成直径约 50 - 150 nm 的 OMVs。其包裹 DNA、蛋白质及多种信号分子并释放至胞外环境, 从而实现非裂解型 eDNA 输出。此外, 转录因子 PqsR 在 PQS 作用下形成正反馈调节环路, 进一步增强喹啉类信号分子生成 (图3)。*pqsE* 虽不直接参与 PQS 合成, 却作为重要效应调控因子协调 *rhl* 系统及多种毒力基因表达^[107], 从而影响 OMVs 形成效率及其内容物的装载。*lasI* 缺失突变株产生的 OMVs 数量显著减少, 胞外 DNA 含量同步下降^[108, 109], 进一步证明 *las-pqs* 轴在分泌依赖型 eDNA 释放中的核心地位。

进一步研究表明, QS 对主动型 eDNA 释放的调控并非局限于单个环节, 而是体现为“信号积累—转录响应—膜重塑—分泌执行”的连续过程。首先, QS 信号随细胞密度升高而逐步累积, 从而将主动型 eDNA 释放限定在生物膜成熟或群体重构等特定阶段, 而非随机发生^[110, 111]。其次, PQS 除促进 OMVs 生物发生外, 还可与 DNA 发生相互作用, 增强其稳定性并提高其在囊泡中的装载与保存效率。此外, *rhl* 系统产生的 C_4 -HSL 可通过调节鼠李糖脂等表面活性分子的合成, 影响膜流动性及囊泡脱离效率, 并与 *pqs* 系统协同作用, 共同调控 eDNA 释放的速率与空间分布 (图3)^[112]。因此, 与裂解依赖型路径相比, 分泌依赖型机制在维持群体存活率的同时, 实现了对 eDNA 数量、释放时序及空间组织的精细调控, 使 QS 成为主动型 eDNA 释放过程中的核心调节枢纽。

从环境生物学视角看, eDNA 释放机制的差

异, 本质上反映了细菌群落对遗传物质胞外输出方式的差异化选择。不同机制以不同代价、在不同空间尺度上, 并以不同分子状态释放 DNA, 从而塑造 eDNA 的异质性及功能分化^[113]。裂解依赖型释放通常属于高代价策略, 部分细胞经程序化裂解、自溶或噬菌体诱导后快速释放大量 DNA, 并在局部微环境中形成高浓度积累, 更有利于生物膜基质搭建和生态位构建^[114]。相比之下, 囊泡介导或分泌系统介导的释放不依赖细胞完全裂解, 属于低代价、可持续的主动输出方式, 有助于提高 DNA 释放的连续性、定向性和环境适应性^[115]。不同路径产生的 eDNA 在空间分布、长度完整性、单链/双链状态及是否受囊泡保护等方面存在差异, 进而影响其在结构支撑、遗传交换和电子传递中的功能偏向。因此, eDNA 如何释放在很大程度上决定了其如何发挥作用, 也为后续功能分析提供了机制基础。

3 胞外 DNA 的核心功能

胞外 DNA 作为生物膜胞外聚合物基质的重要组成部分, 在生物膜的形成、稳态维持及群体功能整合过程中发挥着多层次、系统性的核心作用。首先, 作为结构性基质和生态位构建因子, 参与细胞初始黏附、生物膜三维骨架形成及抗逆屏障建立; 其次, 作为生物膜内部的遗传信息交换平台, 通过保护和富集游离遗传物质, 促进自然转化及水平基因转移; 此外, 作为胞外电子传递过程中的重要介质, 通过富集电子穿梭体或构建连续传递网络, 参与调控群体能量流动 (图4)。因此, 本节将围绕 eDNA 在结构支撑、遗传交换和电子传递三个平行维度上的作用展开论述, 以系统阐明其在微生物生态学中的重要性。

3.1 作为生物膜的结构性基质和生态位构建因子

在细菌由浮游态向附着态、由单细胞向多细胞群落转变的过程中, 生物膜的形成是其社会生活的典型体现。这一高度组织化的结构并非细胞的简单堆积, 而是依赖于细胞外基质 (extracellular polymeric substances, EPS) 的精妙

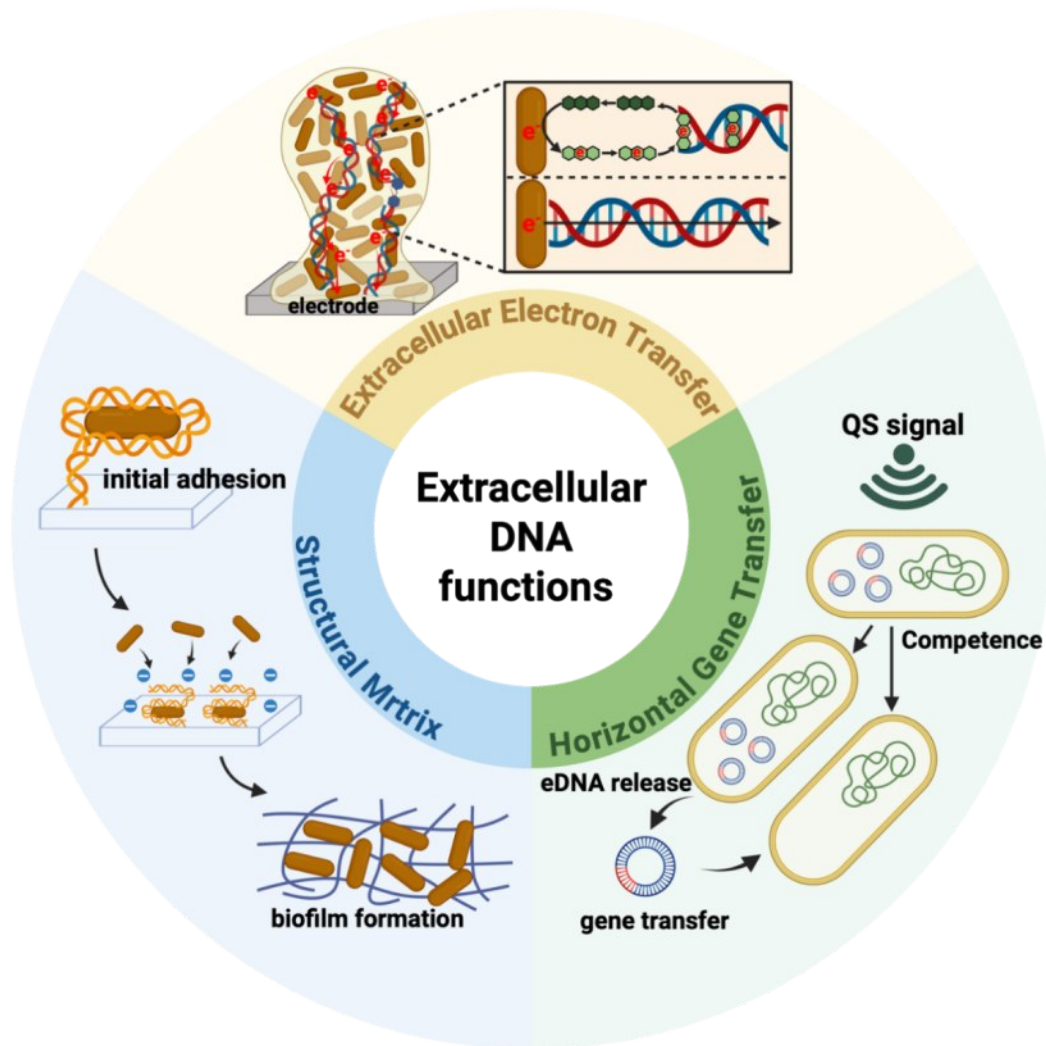


图4 胞外DNA的核心功能

Fig. 4 Core functions of eDNA

构建与调控。作为EPS的关键组分之一，胞外DNA (eDNA) 的作用已远超越早期认识的“分子胶水”。而是主动参与构建一个具有特定物理化学性质的微环境^[116]，即生态位构建过程。

在生物膜形成的初始粘附阶段，eDNA起到关键的先导作用。研究发现，许多细菌会主动释放或利用环境中已有的eDNA覆盖在惰性或生物表面，改变界面的电荷、疏水性等性质，从而为后续细胞的定植创造有利条件。例如，在金黄色葡萄球菌 (*Staphylococcus aureus*) 和表皮葡萄球菌中 (*Staphylococcus epidermidis*)，带负电的eDNA能与细胞表面的阳离子成分 (如壁磷壁酸、表面蛋白) 发生酸碱相互作用，显著增强细胞与表面

之间以及细胞间的粘附力^[117]。对于枯草芽孢杆菌 (*Bacillus subtilis*) 和蜡样芽孢杆菌 (*Bacillus cereus*)，eDNA能在细胞表面形成一层保护性覆盖层，介导细胞与疏水性表面的结合，并初步构成抵抗环境胁迫的物理屏障^[118, 119]。这一阶段的eDNA功能，凸显了其对细菌从浮游态向附着态转变的关键促进作用^[116]。

随着生物膜的发育成熟，eDNA的作用进一步深化，成为维持三维结构完整性和机械强度的核心骨架。在铜绿假单胞菌 (*Pseudomonas aeruginosa*) 这一模式生物中，eDNA与胞外多糖Pel之间形成特异的离子交联网络，构成了生物膜基质的主体框架^[120, 121]。这种eDNA-Pel复合物形成的水合凝

胶, 不仅赋予生物膜抵抗流体剪切力的韧性, 还通过限制内部水分子和大分子的自由扩散, 塑造了独特的生态位。此外, eDNA 的网络构建能力极具多样性。它能与 EPS 中的其他组分, 如蛋白质 (例如淀粉样纤维) 发生相互作用, 共同增强基质的凝聚力^[122]。更为重要的是, eDNA 能高效螯合环境中的二价阳离子 (如 Ca^{2+} ^[123]、 Mg^{2+} ^[124]), 这些 eDNA 与阳离子的相互作用极大地增强了整个 EPS 网络的机械稳定性。此外, 这种由 eDNA 主导形成的致密凝胶状基质, 直接构成了生物膜固有抗性的第一道物理防线。它能够有效限制大分子抗生素的渗透扩散, 形成传质屏障; 同时, eDNA 通过静电作用螯合带正电荷的抗菌肽 (如多粘菌素 B), 降低其局部生物利用度^[125]。近年在 eDNA 中发现 Z 型 DNA (Z-DNA) 和 G-四链体 (G4) 等非经典二级结构^[6, 126], 进一步深化了我们对 eDNA 在生物膜结构与功能中核心作用的认识。eDNA 本身具有高度可塑的空间构象和独特的物理化学性质, 使其不仅是被动的结构支架, 更是决定生物膜粘弹性网络组织方式的重要分子基础。其中 Z-DNA 对核酸酶具有更强的抗性, 生物膜中的 G4/血红素复合物可能通过调节氧化还原信号级联反应和促进 ROS 的清除, 帮助生物膜适应氧化应激^[127]。

3.2 作为生物膜内部的遗传信息交换平台

除了作为物理支架, eDNA 在生物膜中还承载着重要的生物学信息功能, 是细菌群落进行遗传交流、实现快速适应与进化的重要平台。在生物膜中, eDNA 作为一种可移动的公共遗传资源库, 极大地促进了水平基因转移 (horizontal gene transfer, HGT), 从而增强了种群的遗传多样性和环境适应潜力^[8]。eDNA 介导的水平基因转移在生物膜中具有独特的优势。首先, 生物膜基质对 eDNA 的物理吸附和保护作用, 可通过静电作用、氢键和疏水作用将 DNA 固定于基质网架之中, 延长其在环境中的存留时间, 降低被核酸酶快速降解的风险, 为受体细胞摄取 DNA 创造了更长的时间窗口^[128, 129]。其次, 生物膜内细胞空间距离近、密度高, 提高了供体 DNA 与受体细胞接触的频率。

最后, 生物膜内部异质性的微环境 (如营养梯度、压力梯度), 使遗传交换更具针对性和高效益^[130]。

eDNA 的释放与细菌感受态转化在时空上常存在精妙的协同调控, 这优化了遗传交换的效率。在肺炎链球菌 (*Streptococcus pneumoniae*) 中, 群体感应信号 (如 CSP) 在核心的群体感应信号既诱导部分群体进入感受态, 上调 DNA 摄取和重组相关基因, 又驱动另一部分细胞发生程序性裂解, 主动释放基因组 DNA。这些 eDNA 可被周围处于感受态的同伴摄取, 并通过同源重组整合到自身基因组中^[131]。同样, 在枯草芽孢杆菌 (*Bacillus subtilis*) 中, 早期感受态发育信号直接调控 eDNA 的主动释放, 而释放的 DNA 优先被同一生物膜群落内的感受态细胞捕获, 完成了高效的种内遗传物质交换^[132, 133]。大量研究表明, 抗生素抗性基因可以以游离 eDNA 的形式存在于水体、污泥和生物膜中, 并通过自然转化使环境菌群具备抗性^[130, 134]。在生物膜系统中, 抗性基因的水平基因转移频率往往显著高于浮游状态, 这与生物膜中高密度细胞、eDNA 富集和应激反应增强密切相关^[135]。最近研究发现各类表面环境 (如微塑料) 上的生物膜同样积累大量 eDNA 和抗性基因, 并通过自然转化等方式促进传播^[136]。这类以游离 eDNA 为载体的抗性基因库, 在一定时间内保持结构完整和具有可转化性, 为后续进入系统的环境菌株提供可利用的抗性基因来源。

3.3 作为生物膜导电介质促进胞外电子传递

近年的研究表明, eDNA 不仅是生物膜的重要结构性组分, 而且在细菌呼吸相关的胞外电子传递 (extracellular electron transfer, EET) 过程中发挥着关键调控作用。在生物膜体系中, eDNA 依托其高度带负电的磷酸骨架以及在空间上的连续分布特征, 为氧化还原活性电子载体的富集、固定与循环提供了稳定的微环境, 从而在细胞群体尺度上显著影响电子传递的效率。

以假单胞菌为代表的研究显示, eDNA 除参与生物膜基质构建外, 还可与小分子电子穿梭体形成稳定的复合体系, 从而增强 EET 过程的连续性。Saunders 等在铜绿假单胞菌中发现, 吩嗪类分子可

与eDNA结合并被滞留于生物膜基质内部,显著降低其向周围环境的扩散损失,在生物膜内部构建起稳定的电子传递通路,从而支持跨细胞的远距离电子传递^[13]。类似地,eDNA还能有效滞留resazurin/resorufin等外源电子载体,使其在生物膜内部形成局部高浓度的氧化还原反应区域,提高电子受体的再循环效率,并增强呼吸电子传递过程的整体稳定性^[137]。上述研究表明,eDNA通过调控电子穿梭体的空间分布和滞留行为,在间接EET路径中发挥着核心支撑作用。

在*Shewanella oneidensis*中,eDNA的积累同样与EET能力密切相关。研究表明,当eDNA在细胞表面及胞外空间持续累积并形成高度水合的凝胶状网络时,可在不干扰细胞色素功能的前提下,为胞外电子流动提供连续、低阻且稳定的传递介质^[138]。该eDNA网络不仅能够维持电子在细胞与电极之间的有效传输,还可通过其对离子、水分子及电子载体的调控能力,缓冲胞外环境波动对电子传递过程的不利影响。与单一依赖导电蛋白或可溶性电子载体的EET模式相比,eDNA介导的电子传递体系在空间尺度上更具连续性,在功能上更具鲁棒性,体现出生物膜作为整体功能单元的代谢优势。

4 胞外DNA在环境生物学中的应用

胞外DNA作为广泛存在于水体、土壤及沉积

物中的生物高分子,在环境总DNA池中占据重要比例,并表现出异于胞内DNA的独特物理赋存状态与生物地球化学行为。胞外DNA在环境基质中具有持久残留性、界面吸附能力强,并能够作为水平基因转移的载体,因此成为连接微观分子机制与宏观生态过程的重要纽带(表3)。本节将重点阐述胞外DNA在环境生态风险评估中的指示作用,作为生物多样性监测的稳定遗传标记,解析其参与环境污染物吸附并修复的机理,并探讨基于eDNA形成过程的环境生物膜污染靶向控制策略,为环境生物技术的创新应用提供理论依据。

4.1 环境基因风险评估

eDNA作为环境DNA的核心来源,随着分子生物学和环境科学的深度交叉,其已经从残留物逐渐转变为生态系统监测与风险评估的重要功能介质(图5)。在环境抗生素抗性传播过程中,eDNA不仅是抗性基因的储存库,更是介导水平基因转移的重要媒介^[132, 133]。环境中的抗性基因(ARGs)除存在于活体微生物细胞内外,还以胞外形式游离于水体、土壤颗粒和沉积物甚至微塑料表面^[39, 152],稳定存在的胞外ARGs可通过自然转化过程被感受态细菌摄取,并整合进受体基因组或质粒中,进而实现抗性性状的获得与扩散^[130, 134]。eDNA及其携带的eARGs构成了环境抗性传播的遗传库,其丰度、完整性以及转化活性

表3 胞外DNA及其衍生应用在环境生物学中的研究

Tab. 3 eDNA and its derivatization applications in environmental biology

应用方向	研究主题	应用场景	实例描述	参考文献
环境基因风险评估	eARGs 风险评估	淡水受污染河流	河流水体 iDNA/eDNA ARGs 丰度定量	[139]
	eARGs 方法比较	表层水体抗性监测	比较 eDNA 与 mrDNA ARGs 检测优缺点	[140]
	抗性动态研究	地表水/地下水系统	ARGs 空间分布与环境因素关联	[141]
	群落动态监测	城市水体长期监测	水体微生物/ARGs 群落并行监测	[142]
生态环境物种监测	生态多维监测	淡水系统生物多样性监测	多物种水生生物宏条形码监测	[143]
	生态健康评估	流域生态质量监测	eDNA 数据结合环境因子分析生态响应	[144]
	水质指标补充	城市饮用水源监测	eDNA 用于水体环境状态判断	[145]
环境污染物的修复	生态毒理风险预测	石油污染土壤	评估有机污染物生态风险	[146]
	污染物结合行为	重金属污染	eDNA 与重金属污染物相互作用	[147]
	eDNA-金属相互作用机制	重金属污染	eDNA 中促进 Cd(II)和 Ni(II)吸附	[148]
环境生物膜污染控制	生物膜抗性控制	污水/工业膜系统	eDNA 降解减少膜抗性	[149]
	延缓生物膜污染	抵抗致病微生物	DNase I 下调生物膜形成基因表达	[150]
	缓解膜过滤堵塞现象	分离纯化设备抗生物污染	DNase 处理可减缓和缓解膜堵塞	[151]

直接决定抗性扩散强度。同时，eDNA 所承载的风险也不限于 eARGs 本身。环境中的 eDNA 还可能携带多种致病相关基因或毒力因子基因，如与黏附、侵袭、毒素产生和宿主定殖相关的功能片段，这些遗传信息可作为环境中潜在致病性传播的重要储库^[153]。当这些致病相关基因与 eARGs 共同存在于同一环境基质中时，可能形成耐药性与致病性协同富集的复合风险，进一步增强环境暴露与公共卫生后果之间的关联^[154]。尤其是在医院废水、养殖废水、污水处理系统等受污染水体中，抗生素、消毒剂、重金属及其他选择压力共同作用，为这类功能基因的富集、维持和传播提供了

有利条件^[155-158]。在此背景下，环境 eDNA 及其携带的 eARGs 和致病相关基因可被视作一类具有生物扩增潜力的新兴污染因子，其环境危害不仅体现为对细菌群落结构和生态功能的扰动，更可能通过水体暴露、食物链传递和人类活动等途径传导至健康风险层面^[159]。因此，从风险控制角度来看，仅监测抗性菌数量已难以全面反映抗性扩散潜力，必须将检测重点进一步延伸至 eDNA 及其所携带的可传播功能基因库。

尽管传统 qPCR 及高通量检测技术具有较高灵敏度，但其通常依赖实验室设施且检测周期较长，难以满足大量环境样品的快速筛查需求。近年来，

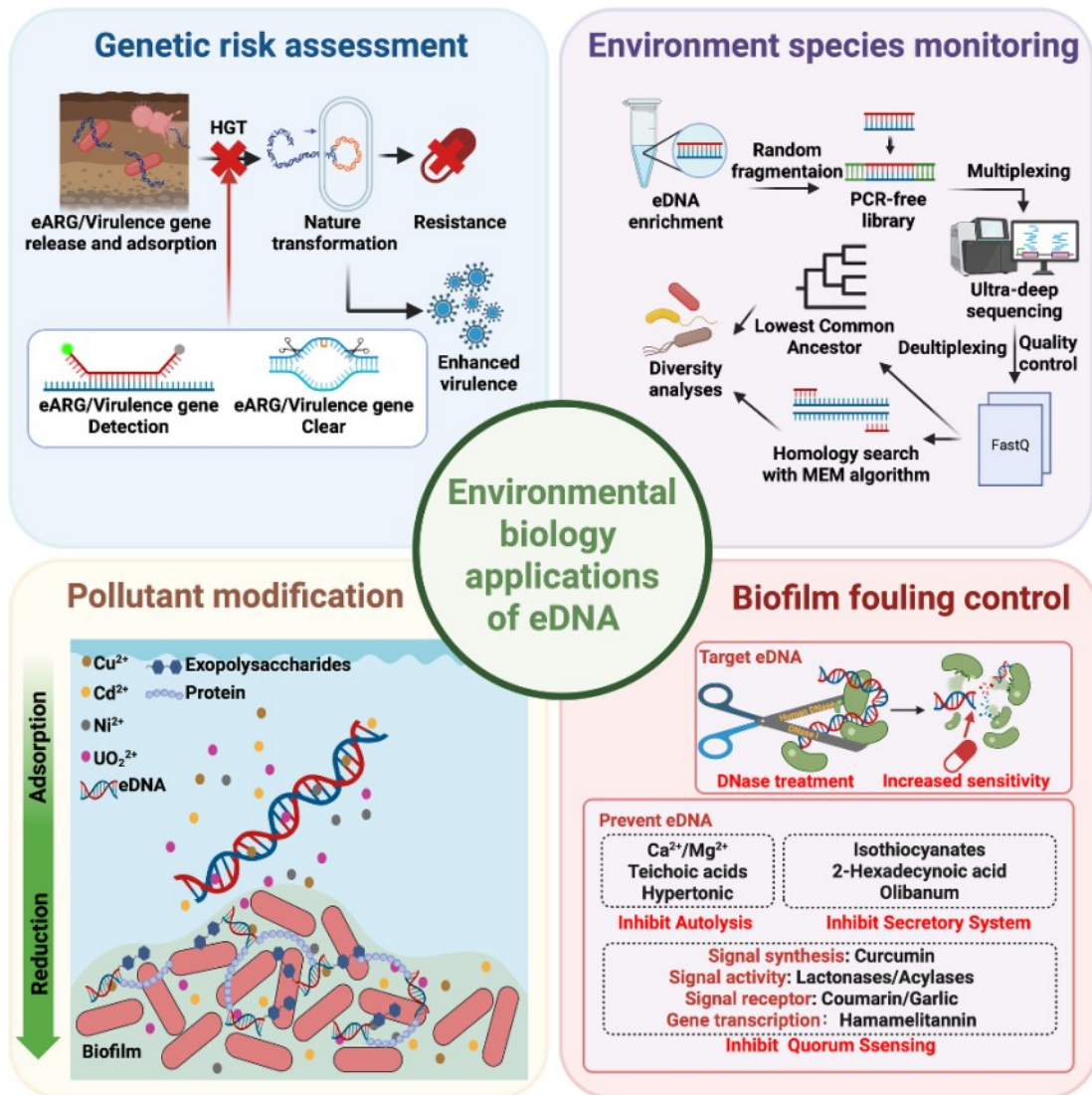


图 5 胞外 DNA 在环境生物学中的应用
Fig. 5 Environmental biology applications of eDNA

相关研究开始聚焦于利用生物传感体系实现 eDNA 中 ARGs 的快速检测,从而显著提升了现场检测的灵敏度与可操作性。例如,例如基于表面增强拉曼散射的多靶点检测平台,无需可实现对 *sull*、*tetA*、*bla_{TEM}* 等 eARGs 的痕量检测,检测周期约 40 分钟,可应用于污水及环境水体样品的现场分析^[160];另一种结合磁性固相萃取、光驱动核酸扩增与侧向流动读出 (MSPE-LD-RPA-LFA) 的方法,实现了对模型 eARG *sull* 的快速现场监测,检测灵敏度与传统 qPCR 相当 (可检测到约 10 拷贝/ μL 水平),整个流程约 35 分钟。这类生物传感策略突破了传统分子检测对实验室设备的依赖,为高频、便捷、低成本的 eARGs 环境监控提供了新的技术路径,并有潜力支持更精细的抗性传播风险评估与处理工艺效果评估研究^[161]。未来,若能进一步将致病相关基因、移动遗传元件及受体菌群感受态水平纳入协同监测框架,将有望更全面地揭示 eDNA 介导的环境遗传污染传播过程,并为面向公共卫生安全的风险预警和过程控制提供支撑。

4.2 生态环境物种监测

eDNA 通过携带物种特异性序列信息,为生态系统结构解析与历史演替重建提供了高分辨率分子证据^[162]。随着高通量测序技术与 DNA 条形码技术的快速发展,基于环境 DNA 的宏条形码 (metabarcoding) 方法已成为生物多样性监测与生态系统评估的重要分子工具。eDNA 本质上是生物体释放至环境中的遗传物质,其来源包括细胞裂解、主动分泌以及生物膜结构中的胞外 DNA 组分,能够在水体、土壤、沉积物甚至空气中稳定存在一定时间。依托其对物种特异性遗传信息的高度保真性和可扩增性,研究者通过采集环境样品并解析其中的 eDNA 序列,可在非侵入、低干扰条件下重建从微生物到大型脊椎动物的物种组成与群落结构 (图 5)^[15, 163]。大量系统综述表明,eDNA metabarcoding 已广泛用于湖泊、河流、海洋、森林和农业生态系统的物种调查、外来入侵种预警和古环境重建,并逐步形成较为标准化的采集、保存和生信分析流程^[164]。

沉积环境中的胞外 DNA 不仅是生物量的残留,更因其可通过矿物颗粒吸附、物理封装及化学稳定化作用而获得长期保存能力,能够体现出生态系统演化的过程。与主要反映当前生物活性的胞内 DNA 不同,eDNA 库跨越时间尺度封存了群落对历史环境变化的响应信息。Varrella 等通过解析沉积岩芯中不同深度的 eDNA 组分,成功重建了微生物群落的长期演替轨迹,并区分了自然环境波动与人为扰动事件对群落结构的差异化影响^[165]。这种基于 eDNA 的解码技术,不仅能够受受损生态系统确立历史参照基线,更为制定适应性管理策略、评估沉积物去污修复成效以及实现生态系统可持续恢复提供了关键的分子生物学依据。未来若能建立全球标准化、长期运行的 eDNA 监测网络,将成为应对生物多样性危机的核心基础设施,为理解、记录和保护地球生命提供前所未有的数据支持^[166]。

4.3 环境污染物的修复

eDNA 作为生物膜基质的重要结构与功能组分,在污染物生物修复中具有显著作用。eDNA 由含氮碱基、脱氧核糖和带负电的磷酸骨架组成。其分子中富含磷酸基团和含氮官能团,因此可通过静电作用、配位络合和氢键与金属离子及有机污染物发生相互作用 (图 5)。在环境 pH 条件下,eDNA 整体呈负电性,可高效吸附多价金属阳离子,是生物膜中关键的金属固定组分。研究表明,在伯克霍尔德氏菌 (*Burkholderia sp. MBR-1*) 生物膜中选择性去除 eDNA 后,其胞外聚合物对镉 (Cd^{2+}) 和镍 (Ni^{2+}) 的吸附容量分别下降 12.6% 和 15.7%,直接证明了 eDNA 在金属吸附中的贡献^[147]。通过 X 射线吸收精细结构分析发现,铜离子与生物膜 eDNA 相互作用后主要以 $\text{Cu}_3(\text{PO}_4)_2$ 的形式存在,从分子层面证实了磷酸根基团是重金属结合与固定的关键位点^[148]。Joseph Hufton 等利用 eDNA 对铀酰离子 (UO_2^{2+}) 的吸附与矿化能力,在酸性条件下通过磷酸基团的静电吸附与络合作用,实现铀酰离子的富集;随后分泌的酸性磷酸酶水解 eDNA 释放无机磷酸盐,与铀形成难溶铀磷酸盐矿物,最终实现接近 100% 的去除效

率^[167]。这一过程体现了eDNA从“吸附平台”到“矿化前驱体”的功能转化，为重金属污染原位稳定化提供了分子层面的理论依据。

除吸附与矿化功能外，eDNA在胞外电子传递(extracellular electron transfer, EET)中同样发挥重要作用。在电活性生物膜和微生物燃料电池体系中，eDNA可通过其带负电的磷酸骨架与酚嗪类氧化还原分子PYO发生静电相互作用，使其在基质中富集并稳定存在，同时其碱基堆叠结构为电子耦合提供有利环境，从而提高电子在PYO与细胞外电子受体之间的循环效率^[13]。去除eDNA会显著降低电子转移速率和电流输出，而补充外源DNA则可恢复甚至增强电子传导能力，说明eDNA不仅是结构支撑组分，也是功能性电子传递介质。因此，在污染物生物修复体系中，eDNA可能通过“络合固定—强化还原”的双重机制发挥作用，一方面降低金属离子迁移性，另一方面促进Cr(VI)、硝酸盐等氧化型污染物的还原转化。

此外，在移动床生物膜反应器等废水生物处理工艺中，生物膜对载体的附着能力及抗水力剪切稳定性直接关系到系统运行效率。除多糖组分外，eDNA通过与多糖和蛋白质交织形成连续的三维网络结构，增强生物膜的机械强度与结构韧性^[168, 169]。因此，通过遗传调控或环境诱导适度提高eDNA产生水平，有望构建更加稳固且高导电性的功能生物膜体系，从而提升有机污染物降解效率与反应器运行稳定性。

4.4 环境生物膜污染控制

与将eDNA视为生物功能材料或环境信息载体不同，在感染和工业污损环境中，eDNA是维持有害生物膜稳态和耐受性的关键结构枢纽。大量研究表明，在铜绿假单胞菌、葡萄球菌、肠球菌及口腔多菌种生物膜中，eDNA参与早期黏附、微群体形成和三维网络稳定^[170, 171]。缺乏eDNA的铜绿假单胞菌难以形成成熟生物膜，外源补充可部分恢复其黏附与聚集能力^[172]，类似现象亦见于*Staphylococcus epidermidis*和*Enterococcus faecalis*等致病菌^[4, 173]，此外，eDNA的存在与抗生素渗透受限及宿主免疫清除困难等耐受表型密切相

关^[174, 175]。表明其不仅是结构支架，也参与维持生物膜的保护性屏障功能。

基于此，靶向eDNA的干预策略成为抗生物膜的重要方向(图5)。多种体外模型、动物实验及临床研究表明，外源DNase I或重组人源DNase可显著降低生物膜生物量和厚度，削弱三维网络完整性，并提高抗生素渗透效率^[176, 177]。在铜绿假单胞菌和金黄色葡萄球菌生物膜中，DNase与抗生素联合使用通常优于单一抗菌处理^[178]，其机制在于核酸酶破坏eDNA骨架结构，削弱离子桥联与网络稳定性，从而降低机械强度与代谢协同能力^[179, 180]。在工程系统中，eDNA同样促进膜污染和生物污损形成，周期性投加DNase或DNA络合剂可延缓膜污染进程^[72, 181]。同时，通过调控细胞自溶^[182]、噬菌体诱导^[183]、分泌系统及QS响应过程减少eDNA释放，从源头抑制生物膜形成。

4 挑战与展望

总体而言，eDNA研究正在从“现象描述与单通路拆解”走向“多尺度机制整合、风险可量化评估与工程可控利用”的新阶段。未来突破在于围绕机制整合、风险防控与理性应用形成能够被验证、可预测、可调控的统一框架，从而把eDNA推进为可解释、可建模、可管理的生物资源。

首先，机制整合是eDNA研究的核心瓶颈，也是后续风险评估与工程调控的前提。当前eDNA释放途径的多样性及其调控网络的复杂性尚未形成系统整合框架。多重释放通路属于功能冗余抑或级联响应，以及如何在eDNA输出的代谢代价与生态效益间达成群落演化权衡，仍有待深入定量解析。因此，有必要在多通路耦合调控视角下，从单向的机制分解迈向多维的系统整合。现有方法难以有效区分游离eDNA、囊泡包裹DNA及裂解释放残留DNA，不同来源eDNA的定量比较存在技术偏差，仍需开发高时空分辨原位观测技术、系统动力学模型与多组学方法，深入阐明群落如何通过机制切换与协同来响应外部环境信号，揭示其高度的环境依赖特征。

其次，风险防控应成为eDNA研究从生态学走向环境安全与公共健康的重要抓手。eDNA并非简

单的物质残留,其持久性、可利用性与传播通量会促进抗生素抗性基因和有关毒力基因通过水平基因转移扩散。当前风险评估多依赖实验室体系,缺乏真实环境中长期、多扰动情境下的验证,致使关键阈值难以判定。未来应将eDNA纳入基因污染风险的核心进行如下推进,第一,开展真实环境中的长期原位追踪,围绕污水处理厂出水、河流沉积物、农业回用水和生物膜反应器等典型场景,系统解析eDNA在不同温度、pH、离子强度、颗粒负荷和有机质背景下的代谢动力学;第二,构建多扰动耦合下的转化风险模型,重点考察抗生素、重金属、消毒副产物、微塑料及表面活性剂等共存压力对受体菌感受态诱导、膜通透性变化及eDNA持久性的协同影响;第三,在常规qPCR定量基础上,引入片段长度分布、核酸损伤程度、受体菌实测转化频率及功能基因表达响应等指标,形成更接近实际暴露后果的生态安全标准。

最后在工程化应用层面,eDNA在生物膜结构稳定、群落黏附、污染物吸附固定、生物修复效率提升以及生物电化学体系构建中展现出积极作用,提示其有望成为环境工程调控的重要靶点。可从以下路径推进理性应用:其一,面向结构与性能优化的“功能定向强化”,通过调控菌体生理状态及外界条件,使eDNA在关键结构区域定向富集,形成具有可预测的功能网络;其二,面向工艺流程的“定时释放调控”,将eDNA从载体/细胞外基质中按预设时间窗口释放出来,使其在特定阶段发挥结构支撑、黏附成膜、水平基因转移底物或信号调控等作用,随后再被降解或清除以避免对后续步骤造成不利影响;其三,面向多功能集成的“耦合增效利用”,将eDNA由单一结构或调控因子拓展为多过程协同的功能节点,通过与其他材料或生物过程的深度耦合,实现系统性能的整体提升。例如可将eDNA与导电材料(如生物炭、石墨烯等)或胞外聚合物协同组装,构建兼具结构稳定性与电子传递能力的复合生物膜,从而提升生物电化学体系中的电流输出与电子传递效率。

总体来看,eDNA研究正由现象描述与机制分解阶段逐步迈向机制整合与生态建模阶段。未来

有望在分子、群落与生态系统多个层级实现理论框架的协同统一,通过多学科交叉与方法整合,深化对微生物群落结构—功能关系的系统认识,并为环境治理与公共健康问题提供更加坚实的理论基础。

参 考 文 献

- [1] TORTI A, LEVER M A, JØRGENSEN B B. Origin, dynamics, and implications of extracellular DNA pools in marine sediments [J]. *Marine Genomics*, 2015, 24 Pt 3: 185-196.
- [2] WANG S, TIAN R, BI Y, et al. A review of distribution and functions of extracellular DNA in the environment and wastewater treatment systems [J]. *Chemosphere*, 2024, 359: 142264.
- [3] ALDEIAS V, STAHLSCHEIDT M C. Sediment DNA can revolutionize archaeology—if it is used the right way [J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 2024, 121 (26): e2317042121.
- [4] STEINBERGER R E, HOLDEN P A. Extracellular DNA in single- and multiple-species unsaturated biofilms [J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2005, 71(9): 5404-5410.
- [5] CAMPOCCIA D, MONTANARO L, ARCIOLA C R. Tracing the origins of extracellular DNA in bacterial biofilms: story of death and predation to community benefit [J]. *Biofouling*, 2021, 37(9-10): 1022-1039.
- [6] SEVIOUR T, WINNERDY F R, WONG L L, et al. The biofilm matrix scaffold of *Pseudomonas aeruginosa* contains G-quadruplex extracellular DNA structures [J]. *npj Biofilms and Microbiomes*, 2021, 7(1): 27.
- [7] FLEMMING H-C, VAN HULLEBUSCH E D, NEU T R, et al. The biofilm matrix: multitasking in a shared space [J]. *Nature Reviews Microbiology*, 2023, 21(2): 70-86.
- [8] SHARMA D K, RAJPUROHIT Y S. Multitasking functions of bacterial extracellular DNA in biofilms [J]. *Journal of Bacteriology*, 2024, 206(4): e0000624.
- [9] MINERO G A S, MØLLEBJERG A, THIESEN C, et al. Extracellular G-quadruplexes and Z-DNA protect biofilms from DNase I, and G-quadruplexes form a DNzyme with peroxidase activity [J]. *Nucleic Acids Research*, 2024, 52(4): 1575-1590.
- [10] PANLILIO H, RICE C V. The role of extracellular DNA in the formation, architecture, stability, and treatment of bacterial biofilms [J]. *Biotechnology and Bioengineering*, 2021, 118(6): 2129-2141.

- [11] JOSEPH C, FAIQ M E, LI Z, et al. Persistence and degradation dynamics of eDNA affected by environmental factors in aquatic ecosystems [J]. *Hydrobiologia*, 2022, 849(19): 4119-4133.
- [12] DENG P, HU X, CAI W, et al. Profiling of intracellular and extracellular antibiotic resistance genes in municipal wastewater treatment plant and their effluent-receiving river [J]. *Environmental Science and Pollution Research*, 2023, 30(12): 33516-33523.
- [13] SAUNDERS S H, TSE E C M, YATES M D, et al. Extracellular DNA promotes efficient extracellular electron transfer by pyocyanin in *Pseudomonas aeruginosa* biofilms [J]. *Cell*, 2020, 182(4): 919-932.e919.
- [14] GODAIN A, VOGEL T M, MONNIER J M, et al. Metaproteomic and metagenomic-coupled approach to investigate microbial response to electrochemical conditions in microbial fuel cells [J]. *Microorganisms*, 2023, 11(11).
- [15] MANU S, UMAPATHY G. Deep sequencing of extracellular eDNA enables total biodiversity assessment of ecosystems [J]. *Ecological Indicators*, 2023, 156: 111171.
- [16] BAIROLIYA S, KOH ZHI XIANG J, CAO B. Extracellular DNA in environmental samples: Occurrence, extraction, quantification, and impact on microbial biodiversity assessment [J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2022, 88(3): e01845-01821.
- [17] BASS D, CHRISTISON K W, STENTIFORD G D, et al. Environmental DNA/RNA for pathogen and parasite detection, surveillance, and ecology [J]. *Trends in Parasitology*, 2023, 39(4): 285-304.
- [18] BERNE C, ZAPPA S, BRUN Y V. eDNA-stimulated cell dispersion from *Caulobacter crescentus* biofilms upon oxygen limitation is dependent on a toxin-antitoxin system [J]. *Elife*, 2023, 12.
- [19] SUZUKI H, DAIMON M, AWANO T, et al. Characterization of extracellular DNA production and flocculation of the marine photosynthetic bacterium *Rhodovulum sulfidophilum* [J]. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 2009, 84(2): 349-356.
- [20] KIKUCHI Y, UMEKAGE S. Extracellular nucleic acids of the marine bacterium *Rhodovulum sulfidophilum* and recombinant RNA production technology using bacteria [J]. *FEMS Microbiology Letters*, 2017, 365(3).
- [21] ZAFRA O, LAMPRECHT-GRANDÍO M, DE FIGUERAS C G, et al. Extracellular DNA release by undomesticated *Bacillus subtilis* is regulated by early competence [J]. *PLOS ONE*, 2012, 7(11): e48716.
- [22] NAGASAWA R, NOMURA N, OBANA N. Identification of a novel gene involved in cell-to-cell communication-induced cell death and eDNA production in *Streptococcus mutans* [J]. *Microbes and Environments*, 2023, 38(2).
- [23] BRUNSKILL E W, BAYLES K W. Identification of LysR-regulated genes from *Staphylococcus aureus* [J]. *Journal of Bacteriology*, 1996, 178(19): 5810-5812.
- [24] GROICHER K H, FIREK B A, FUJIMOTO D F, et al. The *Staphylococcus aureus* lrgAB operon modulates murein hydrolase activity and penicillin tolerance [J]. *Journal of Bacteriology*, 2000, 182(7): 1794-1801.
- [25] RICE K C, FIREK B A, NELSON J B, et al. The *Staphylococcus aureus* cidAB operon: evaluation of its role in regulation of murein hydrolase activity and penicillin tolerance [J]. *Journal of Bacteriology*, 2003, 185(8): 2635-2643.
- [26] FIGUEROA-BOSSI N, BOSSI L. Inducible prophages contribute to *Salmonella* virulence in mice [J]. *Molecular Microbiology*, 1999, 33(1): 167-176.
- [27] HEREDIA-PONCE Z, SECCHI E, TOYOFUKU M, et al. Genotoxic stress stimulates eDNA release via explosive cell lysis and thereby promotes streamer formation of *Burkholderia cenocepacia* H111 cultured in a microfluidic device [J]. *npj Biofilms and Microbiomes*, 2023, 9(1): 96.
- [28] TESCHLER JENNIFER K, JIMÉNEZ-SIEBERT E, JECKEL H, et al. VxB Influences antagonism within biofilms by controlling competition through extracellular matrix production and type 6 secretion [J]. *mBio*, 2022, 13(4): e01885-01822.
- [29] SLATER R T, FROST L R, JOSSI S E, et al. *Clostridioides difficile* LuxS mediates inter-bacterial interactions within biofilms [J]. *Scientific Reports*, 2019, 9(1): 9903.
- [30] THOMAS V C, HIROMASA Y, HARMS N, et al. A fratricidal mechanism is responsible for eDNA release and contributes to biofilm development of *Enterococcus faecalis* [J]. *Molecular Microbiology*, 2009, 72(4): 1022-1036.
- [31] GÖDEKE J, PAUL K, LASSAK J, et al. Phage-induced lysis enhances biofilm formation in *Shewanella oneidensis* MR-1 [J]. *The ISME Journal*, 2011, 5(4): 613-626.
- [32] WENG Z, YANG N, SHI S, et al. Outer membrane vesicles from *Acinetobacter baumannii*: Biogenesis, functions, and vaccine application [J]. *Vaccines (Basel)*, 2023, 12(1).
- [33] GRANDE R, DI MARCANTONIO M C, ROBUFFO I, et al. *Helicobacter pylori* ATCC 43629/NCTC 11639 outer membrane vesicles (OMVs) from biofilm and planktonic phase associated with extracellular DNA (eDNA) [J]. *Frontiers in Microbiology*, 2015, 6: 1369.

- [34] KADURUGAMUWA J L, BEVERIDGE T J. Bacteriolytic effect of membrane vesicles from *Pseudomonas aeruginosa* on other bacteria including pathogens: conceptually new antibiotics [J]. *Journal of Bacteriology*, 1996, 178(10): 2767-2774.
- [35] JURCISEK J A, BROCKMAN K L, NOVOTNY L A, et al. Nontypeable *Haemophilus influenzae* releases DNA and DNABII proteins via a T4SS-like complex and ComE of the type IV pilus machinery [J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 2017, 114(32): E6632-E6641.
- [36] SALGADO-PABÓN W, DU Y, HACKETT K T, et al. Increased expression of the type IV secretion system in pilated *Neisseria gonorrhoeae* variants [J]. *Journal of Bacteriology*, 2010, 192(7): 1912-1920.
- [37] ALLESEN-HOLM M, BARKEN K B, YANG L, et al. A characterization of DNA release in *Pseudomonas aeruginosa* cultures and biofilms [J]. *Molecular Microbiology*, 2006, 59(4): 1114-1128.
- [38] RAJENDRAN NITHYA B, EIKMEIER J, BECKER K, et al. Important contribution of the novel locus *comEB* to extracellular DNA-dependent *Staphylococcus lugdunensis* biofilm formation [J]. *Infection and Immunity*, 2015, 83(12): 4682-4692.
- [39] 张忠云, 叶茂, 孙明明, et al. 环境胞外胞内DNA的行为归趋及生态功能研究进展 [J]. *生态毒理学报*, 2020, 15(6): 10-23.
Zhang Z Y, Ye M, Sun M M, et al. Review of extracellular and intracellular DNA environmental behavior and ecological function [J]. *Asian Journal of Ecotoxicology*, 2020, 15(6): 10-23 (in Chinese)
- [40] OKSHEVSKY M, MEYER R L. The role of extracellular DNA in the establishment, maintenance and perpetuation of bacterial biofilms [J]. *Critical Reviews in Microbiology*, 2015, 41(3): 341-352.
- [41] DAS T, IBUGO A, KLARE W, et al. Role of pyocyanin and extracellular DNA in facilitating *Pseudomonas aeruginosa* biofilm formation [M]//DHANASEKARAN D, THAJUDDIN N. *Microbial Biofilms - Importance and Applications*. London: IntechOpen. 2016.
- [42] SARKAR S. Release mechanisms and molecular interactions of *Pseudomonas aeruginosa* extracellular DNA [J]. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 2020, 104(15): 6549-6564.
- [43] QIN Z, OU Y, YANG L, et al. Role of autolysin-mediated DNA release in biofilm formation of *Staphylococcus epidermidis* [J]. *Microbiology*, 2007, 153(7): 2083-2092.
- [44] SADYKOV M R, BAYLES K W. The control of death and lysis in *staphylococcal* biofilms: a coordination of physiological signals [J]. *Current Opinion in Microbiology*, 2012, 15(2): 211-215.
- [45] RICE K C, MANN E E, ENDRES J L, et al. The *cidA* murein hydrolase regulator contributes to DNA release and biofilm development in *Staphylococcus aureus* [J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 2007, 104(19): 8113-8118.
- [46] THOMAS VINAI C, THURLOW LANCE R, BOYLE D, et al. Regulation of autolysis-dependent extracellular DNA release by *Enterococcus faecalis* extracellular proteases influences biofilm development [J]. *Journal of Bacteriology*, 2008, 190(16): 5690-5698.
- [47] COOK L C, FEDERLE M J. Peptide pheromone signaling in *Streptococcus* and *Enterococcus* [J]. *FEMS Microbiology Reviews*, 2014, 38(3): 473-492.
- [48] DUNNY G M, HANCOCK L E, SHANKAR N. *Enterococcal Biofilm Structure and Role in Colonization and Disease* [M]//GILMORE M S, CLEWELL D B, IKE Y, et al. *Enterococci: From commensals to leading causes of drug resistant infection*. Boston; Massachusetts Eye and Ear Infirmary. 2014.
- [49] PEETERS S H, DE JONGE M I. For the greater good: Programmed cell death in bacterial communities [J]. *Microbiological Research*, 2018, 207: 161-169.
- [50] SCHEMBRI M A, KJÆRGAARD K, KLEMM P. Global gene expression in *Escherichia coli* biofilms [J]. *Molecular Microbiology*, 2003, 48(1): 253-267.
- [51] BINNENKADE L, TEICHMANN L, THORMANN KAI M. Iron triggers λ So prophage induction and release of extracellular DNA in *Shewanella oneidensis* MR-1 biofilms [J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2014, 80(17): 5304-5316.
- [52] FENG J, MA L, NIE J, et al. Environmental stress-induced bacterial lysis and extracellular DNA release contribute to *Campylobacter jejuni* biofilm formation [J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2018, 84(5): e02068-02017.
- [53] FEINER R, ARGOV T, RABINOVICH L, et al. A new perspective on lysogeny: prophages as active regulatory switches of bacteria [J]. *Nature Reviews Microbiology*, 2015, 13(10): 641-650.
- [54] BONDY-DENOMY J, DAVIDSON A R. When a virus is not a parasite: the beneficial effects of prophages on bacterial fitness [J]. *Journal of Microbiology*, 2014, 52(3): 235-242.
- [55] OPPENHEIM A B, KOBILER O, STAVANS J, et al. Switches in bacteriophage lambda development [J]. *Annual Review Of Genetics*, 2005, 39: 409-429.
- [56] THABET M A, PENADÉS J R, HAAG A F. The ClpX protease is essential for inactivating the CI master repressor

- and completing prophage induction in *Staphylococcus aureus* [J]. *Nature Communications*, 2023, 14(1): 6599.
- [57] NANDA ARUN M, THORMANN K, FRUNZKE J. Impact of spontaneous prophage induction on the fitness of bacterial populations and host-microbe interactions [J]. *Journal of Bacteriology*, 2015, 197(3): 410-419.
- [58] CHEN Y-Y, WANG J-T, LIN T-L, et al. Prophage excision in *Streptococcus pneumoniae* serotype 19A ST320 promote colonization: Insight into its evolution from the ancestral clone taiwan 19F-14 (ST236) [J]. *Frontiers in Microbiology*, 2019, Volume 10 - 2019.
- [59] CARROLO M, FRIAS M J, PINTO F R, et al. Prophage spontaneous activation promotes DNA release enhancing biofilm formation in *Streptococcus pneumoniae* [J]. *PLOS ONE*, 2010, 5(12): e15678.
- [60] BRAETZ S, SCHWERK P, FIGUEROA-BOSSI N, et al. Prophage Gifsy-1 induction in *Salmonella enterica* serovar typhimurium reduces persister cell formation after ciprofloxacin exposure [J]. *Microbiology Spectrum*, 2023, 11(4).
- [61] ZENG X, WANG W, ZHU D, et al. Two receptor-targeting mechanisms of lambda-like siphophage Gifsy-1 of *Salmonella Typhimurium* [J]. *PLOS Pathogens*, 2025, 21(7): e1013352.
- [62] COULTHURST S. The type VI secretion system: a versatile bacterial weapon [J]. *Microbiology (Reading)*, 2019, 165(5): 503-515.
- [63] HABICH A, CHAVES VARGAS V, ROBINSON L A, et al. Distribution of the four type VI secretion systems in *Pseudomonas aeruginosa* and classification of their core and accessory effectors [J]. *Nature Communications*, 2025, 16(1): 888.
- [64] WILTON M, WONG MEGAN J Q, TANG L, et al. Chelation of membrane-bound cations by extracellular DNA activates the type VI secretion system in *Pseudomonas aeruginosa* [J]. *Infection and Immunity*, 2016, 84(8): 2355-2361.
- [65] JOSHI A, KOSTIUK B, ROGERS A, et al. Rules of engagement: The type VI secretion system in *Vibrio cholerae* [J]. *Trends in Microbiology*, 2017, 25(4): 267-279.
- [66] SEPER A, FENGLER V H, ROIER S, et al. Extracellular nucleases and extracellular DNA play important roles in *Vibrio cholerae* biofilm formation [J]. *Molecular Microbiology*, 2011, 82(4): 1015-1037.
- [67] BLES A, BERENQUER J. Contribution of vesicle-protected extracellular DNA to horizontal gene transfer in *Thermus spp* [J]. *International Microbiology*, 2015, 18(3): 177-187.
- [68] LIAO S, KLEIN MARLISE I, HEIM KYLE P, et al. *Streptococcus mutans* extracellular DNA is upregulated during growth in biofilms, actively released via membrane vesicles, and influenced by components of the protein secretion machinery [J]. *Journal of Bacteriology*, 2014, 196(13): 2355-2366.
- [69] MASHBURN L M, WHITELEY M. Membrane vesicles traffic signals and facilitate group activities in a prokaryote [J]. *Nature*, 2005, 437(7057): 422-425.
- [70] CASSIN ERIN K, ARAUJO-HERNANDEZ SOPHIA A, BAUGHN DENA S, et al. OprF Impacts *Pseudomonas aeruginosa* biofilm matrix eDNA levels in a nutrient-dependent manner [J]. *Journal of Bacteriology*, 2023, 205(7): e00080-00023.
- [71] WILKES R A, MILLER T E, WALDBAUER J, et al. Engineered membrane vesicle production via *oprF* or *oprI* deletion has distinct phenotypic effects in *Pseudomonas putida* [J]. *ACS Synthetic Biology*, 2025, 14(7): 2739-2752.
- [72] TURNBULL L, TOYOFUKU M, HYNEN A L, et al. Explosive cell lysis as a mechanism for the biogenesis of bacterial membrane vesicles and biofilms [J]. *Nature Communications*, 2016, 7(1): 11220.
- [73] BAEZA N, DELGADO L, COMAS J, et al. Phage-mediated explosive cell lysis induces the formation of a different type of O-IMV in *Shewanella vesiculosa* M7T [J]. *Frontiers in Microbiology*, 2021, Volume 12 - 2021.
- [74] NADELL C D, DRESCHER K, FOSTER K R. Spatial structure, cooperation and competition in biofilms [J]. *Nature Reviews Microbiology*, 2016, 14(9): 589-600.
- [75] HAMILTON H L, DOMÍNGUEZ N M, SCHWARTZ K J, et al. *Neisseria gonorrhoeae* secretes chromosomal DNA via a novel type IV secretion system [J]. *Molecular Microbiology*, 2005, 55(6): 1704-1721.
- [76] HAMILTON H L, DILLARD J P. Natural transformation of *Neisseria gonorrhoeae*: from DNA donation to homologous recombination [J]. *Molecular Microbiology*, 2006, 59(2): 376-385.
- [77] KAKAHI F B, MARTINEZ J A, AVITIA F M, et al. Release of extracellular DNA by *Pseudomonas sp.* as a major determinant for biofilm switching and an early indicator for cell population control [J]. *iScience*, 2025, 28(3): 112063.
- [78] SQUYRES G R, NEWMAN D K. Single-cell lysis patterns morphogenesis of eDNA in the matrix of *Pseudomonas aeruginosa* biofilms [J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 2025, 122(41): e2514210122.
- [79] ROMERO M, MAYER C, HEEB S, et al. Mushroom-shaped structures formed in *Acinetobacter baumannii* biofilms grown

- in a roller bioreactor are associated with quorum sensing-dependent Csu-pilus assembly [J]. *Environmental microbiology*, 2022, 24(9): 4329-4339.
- [80] GUO T, ZHOU N, YANG L, et al. *Acinetobacter baumannii* biofilm was inhibited by tryptanthrin through disrupting its different stages and genes expression [J]. *iScience*, 2024, 27(6).
- [81] KATHIRVEL B, FELIX RAJ LUCAS L O, MYLONAKIS E, et al. Biofilm and quorum sensing mediated pathogenicity in *Pseudomonas aeruginosa* [J]. *Process Biochemistry*, 2020, 96.
- [82] SAUER K, CAMPER ANNE K, EHRLICH GARTH D, et al. *Pseudomonas aeruginosa* displays multiple phenotypes during development as a biofilm [J]. *Journal of Bacteriology*, 2002, 184(4): 1140-1154.
- [83] TAHRIQUI A, DUCHESNE R, BOUFFARTIGUES E, et al. Extracellular DNA release, quorum sensing, and PrfF1/F2 small RNAs are key players in *Pseudomonas aeruginosa* tobramycin-enhanced biofilm formation [J]. *npj Biofilms and Microbiomes*, 2019, 5.
- [84] 李盼欣, 成娟丽, 张恒, et al. 铜绿假单胞菌群体感应信号分子 PQS 的功能多样性研究进展 [J]. *微生物学报*, 2023, 63 (09): 3500-3519.
- Li Panxin, Cheng Juanli, Zhang Heng, Lin Jinshui. Research progress in functional diversity of quorum sensing signaling molecule PQS in *Pseudomonas aeruginosa* [J]. *Acta Microbiologica Sinica*, 2023, 63(9): 3500-3519.
- [85] LYNCH M J, SWIFT S, KIRKE D F, et al. The regulation of biofilm development by quorum sensing in *Aeromonas hydrophila* [J]. *Environmental microbiology*, 2002, 4(1): 18-28.
- [86] NIU C, CLEMMER KATY M, BONOMO ROBERT A, et al. Isolation and characterization of an autoinducer synthase from *Acinetobacter baumannii* [J]. *Journal of Bacteriology*, 2008, 190(9): 3386-3392.
- [87] HENKE J M, BASSLER B L. Three parallel quorum-sensing systems regulate gene expression in *Vibrio harveyi* [J]. *Journal of Bacteriology*, 2004, 186(20): 6902-6914.
- [88] HAMMER B K, BASSLER B L. Quorum sensing controls biofilm formation in *Vibrio cholerae* [J]. *Molecular Microbiology*, 2003, 50(1): 101-104.
- [89] MALOTT R J, BALDWIN A, MAHENTHIRALINGAM E, et al. Characterization of the *cciIR* quorum-sensing system in *Burkholderia cenocepacia* [J]. *Infect Immun*, 2005, 73(8): 4982-4992.
- [90] WINZER K, SUN Y-H, GREEN A, et al. Role of *Neisseria meningitidis luxS* in cell-to-cell signaling and bacteremic infection [J]. *Infection and Immunity*, 2002, 70(4): 2245-2248.
- [91] YANG L, BARKEN K B, SKINDERSOE M E, et al. Effects of iron on DNA release and biofilm development by *Pseudomonas aeruginosa* [J]. *Microbiology (Reading)*, 2007, 153(Pt 5): 1318-1328.
- [92] LOPEZ D, VLAMAKIS H, KOLTER R. Generation of multiple cell types in *Bacillus subtilis* [J]. *FEMS Microbiology Reviews*, 2009, 33(1): 152-163.
- [93] VADAKKAN K, GHODAKE G S, LAI C W, et al. A critical review on innovative targets for signal disruption in *Enterococcus faecalis* infection management [J]. *Microbial Pathogenesis*, 2025, 207: 107876.
- [94] RIEU A, WEIDMANN S, GARMYN D, et al. Agr system of *Listeria monocytogenes* EGD-e: role in adherence and differential expression pattern [J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2007, 73(19): 6125-6133.
- [95] BOLES B R, HORSWILL A R. Agr-mediated dispersal of *Staphylococcus aureus* biofilms [J]. *PLOS Pathogens*, 2008, 4 (4): e1000052.
- [96] DAI L, YANG L, PARSONS C, et al. *Staphylococcus epidermidis* recovered from indwelling catheters exhibit enhanced biofilm dispersal and "self-renewal" through downregulation of agr [J]. *BMC Microbiology*, 2012, 12: 102.
- [97] LIN J, ZHU L, LAU G W. Disentangling competence for genetic transformation and virulence in *Streptococcus pneumoniae* [J]. *Current Genetics*, 2016, 62(1): 97-103.
- [98] XUAN G, LIN H, TAN L, et al. Quorum sensing promotes phage infection in *Pseudomonas aeruginosa* PAO1 [J]. *mBio*, 2022, 13(1): e03174-03121.
- [99] GIALONARDI G, LETIZIA M, MELLINI M, et al. Alkyl-quinolone-dependent quorum sensing controls prophage-mediated autolysis in *Pseudomonas aeruginosa* colony biofilms [J]. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, 2023, Volume 13 - 2023.
- [100] HAZAN R, QUE YOK A, MAURA D, et al. Auto poisoning of the respiratory chain by a quorum-sensing-regulated molecule favors biofilm formation and antibiotic tolerance [J]. *Current Biology*, 2016, 26(2): 195-206.
- [101] BREDENBRUCH F, GEFFERS R, NIMTZ M, et al. The *Pseudomonas aeruginosa* quinolone signal (PQS) has an iron-chelating activity [J]. *Environmental microbiology*, 2006, 8(8): 1318-1329.
- [102] LIN J, YANG J, CHENG J, et al. *Pseudomonas aeruginosa* H3-T6SS combats H₂O₂ stress by diminishing the amount of intracellular unincorporated iron in a dps-dependent manner and inhibiting the synthesis of PQS [J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2023, 24(2): 1614.
- [103] HÄUSSLER S, BECKER T. The pseudomonas quinolone

- signal (PQS) balances life and death in *Pseudomonas aeruginosa* populations [J]. PLOS Pathogens, 2008, 4(9): e1000166.
- [104] MURRAY E J, DUBERN J F, CHAN W C, et al. A *Pseudomonas aeruginosa* PQS quorum-sensing system inhibitor with anti-staphylococcal activity sensitizes polymicrobial biofilms to tobramycin [J]. Cell Chemical Biology, 2022, 29(7): 1187-1199.e1186.
- [105] FLOREZ C, RAAB JULIE E, COOKE ADAM C, et al. Membrane distribution of the pseudomonas quinolone signal modulates outer membrane vesicle production in *Pseudomonas aeruginosa* [J]. mBio, 2017, 8(4): 10.1128/mbio.01034-01017.
- [106] COOKE ADAM C, FLOREZ C, DUNSHEE ELISE B, et al. Pseudomonas quinolone signal-induced outer membrane vesicles enhance biofilm dispersion in *Pseudomonas aeruginosa* [J]. mSphere, 2020, 5(6): 10.1128/msphere.01109-01120.
- [107] RAMPIONI G, PUSTELNY C, FLETCHER M P, et al. Transcriptomic analysis reveals a global alkyl-quinolone-independent regulatory role for PqsE in facilitating the environmental adaptation of *Pseudomonas aeruginosa* to plant and animal hosts [J]. Environmental microbiology, 2010, 12(6): 1659-1673.
- [108] NAKAMURA S, HIGASHIYAMA Y, IZUMIKAWA K, et al. The roles of the quorum-sensing system in the release of extracellular DNA, lipopolysaccharide, and membrane vesicles from *Pseudomonas aeruginosa* [J]. Japanese journal of infectious diseases, 2008, 61 5: 375-378.
- [109] RENELLI M, MATIAS V, LO R Y, et al. DNA-containing membrane vesicles of *Pseudomonas aeruginosa* PAO1 and their genetic transformation potential [J]. Microbiology, 2004, 150(7): 2161-2169.
- [110] LEE J, ZHANG L. The hierarchy quorum sensing network in *Pseudomonas aeruginosa* [J]. Protein Cell, 2015, 6(1): 26-41.
- [111] JIMENEZ P N, KOCH G, THOMPSON J A, et al. The multiple signaling systems regulating virulence in *Pseudomonas aeruginosa* [J]. Microbiology and Molecular Biology Reviews, 2012, 76(1): 46-65.
- [112] CAIAZZA N C, SHANKS R M, O'TOOLE G A. Rhamnolipids modulate swarming motility patterns of *Pseudomonas aeruginosa* [J]. Journal of Bacteriology, 2005, 187(21): 7351-7361.
- [113] YI H, LI M, XU L, et al. Deciphering the immunomodulatory cross-talk: Bacterial extracellular vesicles in gut homeostasis [J]. Virulence, 2025, 16(1): 2566255.
- [114] IBÁÑEZ DE ALDECOA A L, ZAFRA O, GONZÁLEZ-PASTOR J E. Mechanisms and regulation of extracellular DNA release and its biological roles in microbial communities [J]. Frontiers in Microbiology, 2017, 8: 1390.
- [115] NIE X, LI Q, CHEN X, et al. Bacterial extracellular vesicles: Vital contributors to physiology from bacteria to host [J]. Microbiological Research, 2024, 284: 127733.
- [116] GLOAG E S, TURNBULL L, HUANG A, et al. Self-organization of bacterial biofilms is facilitated by extracellular DNA [J]. Proceedings of the National Academy of Sciences, 2013, 110(28): 11541-11546.
- [117] DAS T, SHARMA P K, BUSSCHER H J, et al. Role of extracellular DNA in initial bacterial adhesion and surface aggregation [J]. Applied and Environmental Microbiology, 2010, 76(10): 3405-3408.
- [118] VILAIN S, PRETORIUS J M, THERON J, et al. DNA as an adhesin: *Bacillus cereus* requires extracellular DNA to form biofilms [J]. Applied and Environmental Microbiology, 2009, 75(9): 2861-2868.
- [119] LANDER S M, FISHER G, EVERETT B A, et al. Secreted nucleases reclaim extracellular DNA during biofilm development [J]. npj Biofilms and Microbiomes, 2024, 10(1): 103.
- [120] BENEDENS M, ROSALES-HERNANDEZ C, STRAATHOF S A P, et al. Assembly and the gating mechanism of the Pel exopolysaccharide export complex PelBC of *Pseudomonas aeruginosa* [J]. Nature Communications, 2025, 16(1): 5249.
- [121] JENNINGS L K, STOREK K M, LEDVINA H E, et al. Pel is a cationic exopolysaccharide that cross-links extracellular DNA in the *Pseudomonas aeruginosa* biofilm matrix [J]. Proceedings of the National Academy of Sciences, 2015, 112(36): 11353-11358.
- [122] WIEN F, GRAGERA M, MATSUO T, et al. Amyloid-like DNA bridging: a new mode of DNA shaping [J]. Nucleic Acids Research, 2025, 53(5).
- [123] WELLS M J, CURRIE H, GORDON V D. Physiological concentrations of calcium interact with alginate and extracellular DNA in the matrices of *Pseudomonas aeruginosa* biofilms to impede phagocytosis by neutrophils [J]. Langmuir, 2023, 39(48): 17050-17058.
- [124] SEREK K, BABIĆ S D, TOMIĆ S. Magnesium ions reversibly bind to DNA double stranded helix in thin films [J]. Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy, 2022, 268: 120663.
- [125] KARYGIANNI L, REN Z, KOO H, et al. Biofilm matrixome: Extracellular components in structured microbial communities [J]. Trends in Microbiology, 2020, 28(8): 668-681.

- [126] BUZZO J R, DEVARAJ A, GLOAG E S, et al. Z-form extracellular DNA is a structural component of the bacterial biofilm matrix [J]. *Cell*, 2021, 184(23): 5740-5758. e5717.
- [127] DEMIR T D, AZECHI-OGAWA S, RAM-MOHAN N, et al. Unravelling the noncanonical extracellular DNA structures in biofilm and NETosis [J]. *Nucleic Acids Research*, 2026, 54(1).
- [128] ROMANOWSKI G, LORENZ M G, WACKERNAGEL W. Adsorption of plasmid DNA to mineral surfaces and protection against DNase I [J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 1991, 57(4): 1057-1061.
- [129] KHANNA M, STOTZKY G. Transformation of *Bacillus subtilis* by DNA bound on montmorillonite and effect of DNase on the transforming ability of bound DNA [J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 1992, 58(6): 1930-1939.
- [130] MICHAELIS C, GROHMANN E. Horizontal gene transfer of antibiotic resistance genes in biofilms [J]. *Antibiotics*, 2023, 12(2): 328.
- [131] STEINMOEN H, KNUITSEN E, HÅVARSTEIN L S. Induction of natural competence in *Streptococcus pneumoniae* triggers lysis and DNA release from a subfraction of the cell population [J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 2002, 99(11): 7681-7686.
- [132] KIDANE D, CARRASCO B, MANFREDI C, et al. Evidence for different pathways during horizontal gene transfer in competent *Bacillus subtilis* cells [J]. *PLOS Genetics*, 2009, 5(9): e1000630.
- [133] STEFANIC P, BELCIJAN K, KRAIGHER B, et al. Kin discrimination promotes horizontal gene transfer between unrelated strains in *Bacillus subtilis* [J]. *Nature Communications*, 2021, 12(1): 3457.
- [134] AL-GASHGARI B, MANTILLA-CALDERON D, WANG T, et al. Impact of chemicals and physical stressors on horizontal gene transfer via natural transformation [J]. *Nature Water*, 2023, 1(7): 635-648.
- [135] ABE K, NOMURA N, SUZUKI S. Biofilms: hot spots of horizontal gene transfer (HGT) in aquatic environments, with a focus on a new HGT mechanism [J]. *FEMS Microbiology Ecology*, 2020, 96(5).
- [136] WANG H, XU K, WANG J, et al. Microplastic biofilm: An important microniche that may accelerate the spread of antibiotic resistance genes via natural transformation [J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2023, 459: 132085.
- [137] QIN B, YANG G, ZHUANG Z, et al. Resorufin retainment by extracellular DNA ensures efficient extracellular electron transfer of *Geobacter* biofilm [J]. *Electrochimica Acta*, 2024, 476: 143703.
- [138] GASPERS P, BICKMANN C, WALLNER C, et al. Extracellular bacterial production of DNA hydrogels-toward engineered living materials [J]. *Small*, 2025, 21(19): 2502199.
- [139] SABATINO R, SIVALINGAM P, DI NEZIO F, et al. Intra- and extracellular DNA as carriers of antibiotic resistance genes and class I integrons in river waters [J]. *Hydrobiologia*, 2025, 852(20): 5135-5146.
- [140] TAKEDA-NISHIKAWA K, PALANICHAMY R, MIYAZATO N, et al. What samples are suitable for monitoring antimicrobial-resistant genes? Using NGS technology, a comparison between eDNA and mrDNA analysis from environmental water [J]. *Frontiers in Microbiology*, 2023, Volume 14 - 2023.
- [141] AL-RASHIDI A, SABARATHINAM C, SAMAYAMANTHULA D R, et al. Environmental DNA signatures as a tool to trace the groundwater contamination mechanisms and its associated biodiversity; Applications, limitations and future directions [J]. *Current Opinion in Environmental Science & Health*, 2025, 45: 100622.
- [142] YOON H J, SEO J H, SHIN S H, et al. Bioinformation and Monitoring Technology for Environmental DNA Analysis: A Review [J]. *Biosensors*, 2025, 15(8): 494.
- [143] ÇEVİK T, ÇEVİK N. Environmental DNA (eDNA): A review of ecosystem biodiversity detection and applications [J]. *Biodiversity and Conservation*, 2025, 34(9): 2999-3035.
- [144] SUREN ALASTAIR M, BURDON FRANCIS J, WILKINSON SHAUN P. eDNA Is a useful environmental monitoring tool for assessing stream ecological health [J]. *Environmental DNA*, 2024, 6(4): e596.
- [145] THOMSEN P F, KIELGAST J, IVERSEN L L, et al. Monitoring endangered freshwater biodiversity using environmental DNA [J]. *Molecular Ecology*, 2012, 21(11): 2565-2573.
- [146] HUANG J, ZHOU C, SONG F, et al. Environmental DNA-based ecological risk assessment of PAHs in aged petroleum-contaminated soils [J]. *Toxics*, 2025, 13(5): 357.
- [147] PENG T, LIAO W, GU G, et al. Insights into the role of extracellular DNA in heavy metal adsorption [J]. *Science of The Total Environment*, 2022, 808: 152067.
- [148] LIN H, WANG C, ZHAO H, et al. Interaction between copper and extracellular nucleic acids in the EPS of unsaturated *Pseudomonas putida* CZ1 biofilm [J]. *Environmental Science and Pollution Research*, 2018, 25(24): 24172-24180.
- [149] DA CRUZ NIZER W S, ADAMS M E, ALLISON K N, et al. Extracellular DNA enhances *Pseudomonas aeruginosa* biofilm resistance to sodium hypochlorite stress [J]. *Canadian Journal*

- of Microbiology, 2025, 71: 1-10.
- [150] DENG W, ZHOU C, QIN J, et al. Molecular mechanisms of DNase inhibition of early biofilm formation *Pseudomonas aeruginosa* or *Staphylococcus aureus*: A transcriptome analysis [J]. Biofilm, 2024, 7: 100174.
- [151] BERG M C, ERDEM I, BERGER E, et al. Genomic DNA causes membrane fouling during sterile filtration of cell lysates [J]. Separation and Purification Technology, 2023, 324: 124540.
- [152] 牛亦菲, 吴礼贵, 黄亮亮, et al. 典型微塑料对环境DNA的吸附特性及其机制 [J]. 环境科学学报, 2026, 46(02): 221-230.
NIU Yifei, WU Ligui, HUANG Liangliang, et al. 2026. Adsorption characteristics and mechanisms of environmental DNA by typical microplastics[J]. Acta Scientiae Circumstantiae, 46(2):221-230
- [153] LI X, LIN L, LIU Q, et al. Fate of extracellular antibiotic resistant genes in wastewater treatment plants: Characteristics, persistence, transformation, removal and potential risk [J]. Energy & Environmental Sustainability, 2025.
- [154] MURRAY L M, HAYES A, SNAPE J, et al. Co-selection for antibiotic resistance by environmental contaminants [J]. npj Antimicrobials and Resistance, 2024, 2(1): 9.
- [155] YUAN K, WANG X, CHEN X, et al. Occurrence of antibiotic resistance genes in extracellular and intracellular DNA from sediments collected from two types of aquaculture farms [J]. Chemosphere, 2019, 234: 520-527.
- [156] ZHANG S, AL-GASHGARI B, MEDINA J S, et al. Extracellular DNA-associated dissemination of antimicrobial resistance in anaerobic versus aerobic membrane bioreactor [J]. Bioresource Technology, 2025, 437: 133054.
- [157] ZHANG S, HUANG J, ZHAO Z, et al. Hospital wastewater as a reservoir for antibiotic resistance genes: A meta-analysis [J]. Frontiers In Public Health, 2020, 8: 574968.
- [158] 马心远, 吴礼贵, 黄亮亮, et al. 非甾体抗炎药与胞外DNA相互作用及机制研究 [J]. 环境科学与技术, 2025, 48(05): 110-118.
Ma Xinyuan, Wu Ligui, Huang Liangliang, et al. The structural effects and mechanisms of interaction between non-steroidal anti-inflammatory drugs and extracellular DNA[J]. Environmental Science & Technology, 2025, 48(5): 110-118.
- [159] SU J-Q, AN X-L, LI B, et al. Metagenomics of urban sewage identifies an extensively shared antibiotic resistome in China [J]. Microbiome, 2017, 5(1): 84.
- [160] LU S, YIN Z, ZHANG L, et al. On-site detection of multiple extracellular antibiotic resistance genes using SERS [J]. Sensors and Actuators B: Chemical, 2022, 369: 132262.
- [161] YANG Y-N, WANG Z-H, HUANG Y, et al. On-site detection of extracellular antibiotic resistance genes by magnetic solid phase extraction-light driven amplification-lateral flow assay [J]. Sensors and Actuators B: Chemical, 2025, 437: 137707.
- [162] WASMUND K, PELIKAN C, SCHINTLMEISTER A, et al. Genomic insights into diverse bacterial taxa that degrade extracellular DNA in marine sediments [J]. Nature Microbiology, 2021, 6(7): 885-898.
- [163] THOMSEN P F, WILLERSLEV E. Environmental DNA-An emerging tool in conservation for monitoring past and present biodiversity [J]. Biological Conservation, 2015, 183: 4-18.
- [164] TABERLET P, COISSAC E, POMPANON F, et al. Towards next-generation biodiversity assessment using DNA metabarcoding [J]. Molecular Ecology, 2012, 21(8): 2045-2050.
- [165] VARRELLA S, TANGHERLINI M, CORINALDESI C, et al. Decoding past microbial communities shifts induced by natural and anthropogenic disturbance events through extracellular DNA [J]. Molecular Ecology, 2025, 34(20): e70078.
- [166] THOMSEN P F, JENSEN M R, SIGSGAARD E E. A vision for global eDNA-based monitoring in a changing world [J]. Cell, 2024, 187(17): 4444-4448.
- [167] HUFTON J, HARDING J H, ROMERO-GONZÁLEZ M E. The role of extracellular DNA in uranium precipitation and biomineralisation [J]. Physical Chemistry Chemical Physics, 2016, 18(42): 29101-29112.
- [168] MAHTO K U, DAS S. Bacterial biofilm and extracellular polymeric substances in the moving bed biofilm reactor for wastewater treatment: A review [J]. Bioresource Technology, 2022, 345: 126476.
- [169] YANG Y, LI M, ZHENG X, et al. Extracellular DNA plays a key role in the structural stability of sulfide-based denitrifying biofilms [J]. Science of The Total Environment, 2022, 838: 155822.
- [170] HARMSEN M, LAPPANN M, KNØCHEL S, et al. Role of Extracellular DNA during Biofilm Formation by *Listeria monocytogenes* [J]. Applied and Environmental Microbiology, 2010, 76(7): 2271-2279.
- [171] OKSHEVSKY M, REGINA V R, MEYER R L. Extracellular DNA as a target for biofilm control [J]. Current Opinion in Biotechnology, 2015, 33: 73-80.
- [172] WHITCHURCH C B, TOLKER-NIELSEN T, RAGAS P C, et al. Extracellular DNA Required for Bacterial Biofilm Formation [J]. Science, 2002, 295(5559): 1487-1487.
- [173] BARNES AARON M T, BALLERING KATIE S, LEIBMAN RACHEL S, et al. *Enterococcus faecalis* produces abundant

- extracellular structures containing DNA in the absence of cell lysis during early biofilm formation [J]. *mBio*, 2012, 3(4): 10.1128/mbio.00193-00112.
- [174] CHIANG W C, NILSSON M, JENSEN P, et al. Extracellular DNA shields against aminoglycosides in *Pseudomonas aeruginosa* biofilms [J]. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 2013, 57(5): 2352-2361.
- [175] MULCAHY H, CHARRON-MAZENOD L, LEWENZA S. Extracellular DNA chelates cations and induces antibiotic resistance in *Pseudomonas aeruginosa* biofilms [J]. *PLOS Pathogens*, 2008, 4(11): e1000213.
- [176] IZANO ERA A, AMARANTE MATTHEW A, KHER WILLIAM B, et al. Differential Roles of Poly-N-Acetylglucosamine Surface Polysaccharide and Extracellular DNA in *Staphylococcus aureus* and *Staphylococcus epidermidis* Biofilms [J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2008, 74(2): 470-476.
- [177] LIN Q, SHENG M, TIAN Y, et al. Antibiofilm activity and synergistic effects of DNase I and lysostaphin against *Staphylococcus aureus* biofilms [J]. *Food Quality and Safety*, 2024, 8.
- [178] TETZ GEORGE V, ARTEMENKO NATALIA K, TETZ VICTOR V. Effect of DNase and antibiotics on biofilm characteristics [J]. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 2009, 53(3): 1204-1209.
- [179] DOMINIAK D M, NIELSEN J L, NIELSEN P H. Extracellular DNA is abundant and important for microcolony strength in mixed microbial biofilms [J]. *Environmental microbiology*, 2011, 13(3): 710-721.
- [180] ZHAO H, DUFOUR D, GHOBAEI N, et al. DNA adenine methylation influences gene expression and biofilm formation in *Streptococcus mutans* [J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2025, 91(10): e0109425.
- [181] WEBB J S, THOMPSON L S, JAMES S, et al. Cell death in *Pseudomonas aeruginosa* biofilm development [J]. *Journal of Bacteriology*, 2003, 185(15): 4585-4592.
- [182] ALVAREZ L, HERNANDEZ S B, TORRENS G, et al. Control of bacterial cell wall autolysins by peptidoglycan crosslinking mode [J]. *Nature Communications*, 2024, 15(1): 7937.
- [183] HU J, WU Y, ZHOU X, et al. L-Arabinose inhibits shiga toxin type 2-converting bacteriophage induction in *Escherichia coli* O157:H7 [J]. *Gut Microbes*, 2023, 15(1): 2221778.



通讯作者: 李锋(1988—),男,副教授,博士生导师,研究方向为微生物电合成/电发酵技术开发、高效微生物细胞工厂构建等。

E-mail: feng.li@tju.edu.cn



第一作者: 张保财(1996—),男,副教授,硕士生导师。研究方向为电活性微生物胞外电子传递机制与工程化。

E-mail: zhangbc@mail.neu.edu.cn



共同第一作者: 李腾(2001—),男,硕士研究生。研究方向为电活性微生物在污染物的生物降解、电发酵技术开发。

E-mail: liteng20011023@126.com