

海洋微生物宏基因组工程进展与展望

李 翔¹, 秦 岭¹, 戴世鲲¹, 姜淑梅¹, 刘志恒²

(¹ 中国科学院南海海洋研究所 海洋药物重点实验室 广州 510301)

(² 中国科学院微生物研究所 北京 100080)

摘 要 据初步统计,生活于海洋环境包括大洋深处的微生物有 100 万种以上,构成了一个动态的遗传基因库,其中绝大多数微生物或者从来没有经过实验室培养,或者至今无法培养,因而其分类地位及其生态学功能尚未为人类所认识。随着 16S rRNA 序列分析与系统分类学的广泛应用,海洋微生物多样性研究领域已经发生了很可观的改变,这些变化极大的丰富了人们对的微生物多样性及其生态功能的认识和理解。这里结合笔者近十年来的工作实践,讨论近年来在海洋微生物资源开发利用方面的研究进展,提出一个带有自动化特征的宏基因组功能表达平台,探讨海洋微生物资源利用的新途径。可以预见在不久的将来,海洋环境宏基因组工程研究将在一定程度上使得传统未培养海洋微生物基因资源及其功能产物能够为人所开发和利用。

关键词: 宏基因组学, 微生物多样性, 海洋药物发现, 细菌人工染色体

中图分类号: Q78, Q933 文献标识码: A 文章编号: 1001-6209(2007)03-0548-06

从 1929 年发现青霉素以来,人们已经从微生物中开发了一百多种临床使用的抗生素、抗癌和抗病毒药物。然而,近几年来人类病原菌抗(耐)药性迅速发展,新的传染病隐患日益加深,但是从可培养微生物中发现新型生物活性物质的研究却趋于停滞,为此科学家们将研究的重点从陆地微生物转移到海洋微生物,希望在海洋药物开发方面突破药物来源方面的瓶颈,从而高效而可持续开发利用浩瀚海洋中丰富的微生物资源。

复杂多变的海洋环境赋予了海洋微生物在物种资源、基因功能和生态功能上无与伦比的生物多样性,可持续开发和利用这些特殊环境下的微生物资源是工业生物技术开发的一个全新领域,也是人类寻找新型功能活性物质和天然药物的天然宝库,具有广阔的开发应用前景。由于在海洋微生物群体中大量难培养的微生物占优势地位,并且对于它们的新陈代谢相关知识缺乏了解,要完全理解这种相互作用还需要时间。

过去十多年来在海洋微生物培养和高新生物技术上的发展,特别是在基因组相关技术上的飞速发展,为我们从分子水平上了解海洋微生物及其生态功能多样性提供了诸多的便利。随着 16S rRNA 序列分析与系统分类学的广泛应用,以及不依赖于标准微生物培养技术的基因克隆等相关技术的快速发展,海洋微生物多样性研究领域发生了根本性改变,这些变化极大地丰富了对微生物多样性的认识。在

基因库(GenBank)中不断增加的 16S rRNA 及基因组序列数据库,为微生物系统分类提供了相当丰富的种源信息。目前微生物学界所公认的原核生物分类系统中,原来 11 个单列的“门”的设定^[1,2]已经为 53 个分类学意义上“门”的系统分类所取代,形成了现代微生物学的分类学基础^[3,4]。

宏基因组(metagenomics)工程,直接将特定环境中的总体遗传物质,克隆到可培养的宿主细胞中,建立宏基因组文库,从所获得的重组克隆子中筛选活性物质和相关基因(簇),避开了环境微生物分离培养的难题,在挖掘和利用未培养微生物资源,筛选新颖生物活性物质方面具有极大的潜力^[5]。宏基因组工程与海洋生物学进行有机的结合,促使人类了解许多未培养海洋微生物的基因组序列及其功能产物^[6],这方面的飞速发展揭开了海洋天然药物研究的新篇章,同时,在海洋极端环境微生物研究、海洋微生物多样性探索中具有十分重要的应用前景。该领域近几年发展非常迅速,大规模的海洋宏基因组测序工作提供了大量 DNA 序列方面的数据^[6]。据估计,在百慕大群岛马尾藻海域每 1L 贫瘠营养海水中即存在着一种以上的难培养的海洋原核生物的新物种。这些信息对于人类了解这些生活在高度贫营养环境下,不为人知的微生物的生物学和遗传信息提供了丰富的第一手资料。

本文结合笔者近 10 年来来的工作实践,综述宏基因组工程研究方面的进展,提出一个带有自动化特征的海洋微生物功能基因簇表达平台,探讨海洋微生物资源利用的新途径,

基金项目:中国科学院“引进国外杰出人才”(百人计划)项目;国家科技支撑计划项目(2006BAB19B02);广东省科技计划项目(2006B36501004)

作者简介:李 翔(1962-)男,湖北人,研究员,研究方向为海洋微生物学、组合生物学、系统分类与进化。Tel: 86-20-89023013;Fax: 86-20-84451672;E-mail: lixiang@scsio.ac.cn

其他作者: 欧阳永长¹

收稿日期: 2006-11-17;接受日期: 2007-01-30;修回日期: 2007-01-18

及其所具有的难以预测的潜力和应用价值。

1 海洋药物开发的限制因子

海洋环境在压力、盐分、温度和营养成分上的极端变化,使得海洋微生物进化出了独特的生理生化生存竞争模式,产生了在普通陆生微生物上观察不到的特殊的次生代谢产物。20 世纪 70 年代以来,经过科学家不懈的努力,从海洋微生物、藻类及无脊椎动物中发现了约 15000 种具有结构多样性和生物活性的天然产物^[7],其中,三类源自于海洋微生物的药物已经投放到国际药品市场。与此同时,研究人员正对十多种源自海洋的药物进行临床试验和临床前期实验观察^[8],其中包括来自于海绵共生微生物和海洋底泥微生物的替斯利得(discodermolide)临床试验结果非常令人鼓舞。

长期以来,人们怀疑早先从海洋无脊椎动物中分离的很多生物活性物质是由与其共生的微生物产生的。比如我们熟知的无脊椎动物海绵和海鞘就与多种多样的细菌群形成共生体,它们产生的天然产物与一些相关陆生微生物产生的天然产物具有高度的结构相似性,最近的研究成果也充分证明了这个推论^[9,10]。因此,海洋环境中的化学多样性是天然产物药物开发的一个重要目标。目前,很多资源已投入这个领域的研究前沿,期望解决对新颖抗生素类药物和其它高效天然药物越来越迫切的需求,用于治疗如心血管疾病、癌症和其它新的突发性的疾病,如 2003 年大规模爆发的非典型肺炎和现今常见诸于东南亚报端的禽流感等等。此外,病原菌对现有药物抗药性和耐药性的不断增强,尤其是具有多重抗药性病原菌的频繁出现,使得目前抗生素类药物在新颖性和多样性上的储备显得越来越不足,人类在治疗感染性疾病方面近 50 年来的优势正在丧失。这一切都更加彰显了海洋天然药物研究开发的重要性。

然而,和国际药品市场上众多的土壤来源的天然药物相比较,海洋天然药物无论是在数量上还是在应用范围上都有很大的差距,其根本原因在于下述 3 个方面。

1.1 海洋生物活性产物的痕量存在

由海洋生物(包括微生物)产生的生物活性物质在海洋小生态系统中存量极微,比如在海绵中,生物活性物质通常仅痕量存在。大规模的样品采集和化合物分离提纯难度很大,难以满足临床前期和临床实验的最低需求。

1.2 海洋生物活性物质难于化学合成

很多海洋化学物质具有独特的结构特点,目前尚缺乏经济有效的化学合成途径,不能进行有效的人工生产。

1.3 产生活性物质的海洋微生物难于人工培养

大多数产生活性产物的海洋微生物在现有实验室条件下尚不能培养,少数能培养的海洋微生物培养周期超长,这些问题已经困扰科学家很多年。根据早期的研究结果推断,超过 99% 的海洋微生物在目前可提供的培养条件下不能人工培养,从海洋底泥和海洋生物海绵中随机克隆的 16S rRNA 基因序列分析所得到的系统发育数据也支持这个推断^[10]。

通过对海洋微生物多样性和生物活性物质多样化的研究表明,探索 and 开发新的方法和途径分离培养海洋环境中的新型微生物种群,辅之以世界一流的生物活性筛选和化学结构与功能分析方法,必将开辟全新的次生代谢产物资源用于天然药物的研究开发。对于至今难于培养的海洋微生物来说,我们认为其基因资源表达产生的功能多样性研究可以提供线索,这一点正如过去 10 年来对土壤生态系统中不同代谢产物研究取得的成功一样。海洋环境与土壤环境的未培养微生物具有相似的特点,例如,绝大多数海洋环境微生物难于培养,高度的营养竞争,以及方法学上的研究滞后等。经过近 10 年的研究发现,未培养微生物的代谢产物能够借助以细菌人工染色体(BAC)作为克隆和表达载体的宏基因组克隆技术,在异源寄主中成功表达,从而使人们初步了解这些难于正常培养的微生物的次生代谢产物与生物学功能^[11-14]。

2 宏基因组克隆表达技术与海洋药物开发平台

由 Davies 等所创导的宏基因组工程技术^[14],为 Handelsman 等^[2]系统归纳后,提出了宏基因组(metagenome)的概念,泛指某一自然环境中全部微生物的基因组群(the genomes of the total microbiota found in nature)。其研究策略克服了绝大多数环境微生物难于通过一般实验室分离培养的现实。目前,相关研究主要集中在探索微生物的基因序列,着重通过 16S rRNA 基因序列的系统进化研究,使环境微生物的多样性分析趋于完整客观。而我们这里所提出的宏基因组海洋药物开发平台(图 1),通过结合宏基因组工程与海洋生物学,形成一项旨在揭示海洋环境中微生物宏基因组特点并用于发现新药物的研究计划。

细菌人工染色体(BAC)已经广泛用于几乎所有的基因组计划的文库构建工作中。在特殊的大肠杆菌菌株中,它能克隆高达 650kb 的大片段 DNA 并稳定保持包括真核生物和原核生物等不同来源的 DNA 不发生遗传变异。基于 BAC 载体的宏基因组克隆表达是一种具有相当优势的研究方法。BAC 克隆株可以在同源和异源寄主中进行功能表达,这对天然产物药物开发尤其重要,因为在生态系统包括海洋环境中难于培养的微生物占优势地位,借助这一技术,可以绕过“实验室培养”这一长久面临的挑战。

宏基因组克隆表达技术利用 BAC 或其它大片段 DNA(35 ~ 160kb DNA 片段)的克隆载体如粘粒和 Fosmid 等^[15,16],从环境样品如土壤和海洋底泥中未知生物群体中分离 DNA,建构大片段 DNA 文库,进而一方面通过 16S rDNA 测序鉴定,了解该未知生物群体中生物多样性,另一方面通过异源表达,了解文库中未知生物群体功能基因的表达产物^[5]。早期研究主要由美国、加拿大的工业生物技术公司 Diversa Inc、TerraGen Discovery Inc 和 ChromoXome 尝试性开展,并取得了一些技术突破和关键成果。与此同时,发现了包括

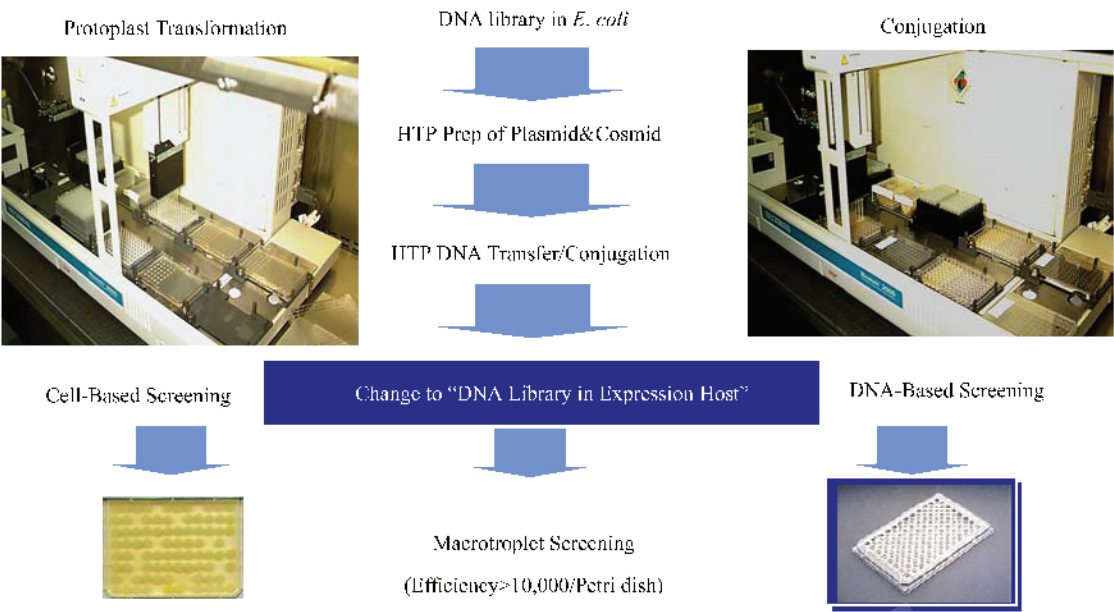


图1 以链霉菌为主的半自动化宏基因组海洋药物开发平台

Fig.1 Semi-automated drug discovery platform based on marine metagenomics involving streptomycetals.

和 turbomycins^[19]在内的特殊结构与生物活性产物。

进入21世纪以来,随着先进工业生物技术在高新技术领域的突飞猛进,相关研究工作在美、加、英、德、中、国等国家较大规模的展开,在下述4个关键技术上取得了阶段性成果。

2.1 克隆载体

通常用于DNA克隆的载体主要包括质粒、粘粒和BAC载体(图2)。质粒是DNA克隆表达中常用的载体,一般情况下用于克隆小于10kb的DNA片段,适用于单基因的克隆与表达。适用于粘粒载体的DNA插入片段在40kb左右,主要用于克隆表达相对简单的天然产物合成途径。原始BAC载体以大肠杆菌作为寄主,是1992年开发成功的^[20]。随后经过充分研究,一系列继承了BAC载体稳定大片段克隆特点的穿梭载体构建成功并投入使用^[11,13,21,22],这些穿梭BAC载体能够克隆超过120kb大小的外源DNA片段^[13,22],在大肠杆菌、链霉菌、或者假单胞杆菌中稳定表达,适用于克隆表达绝大多数已经发现的天然产物生物合成途径。

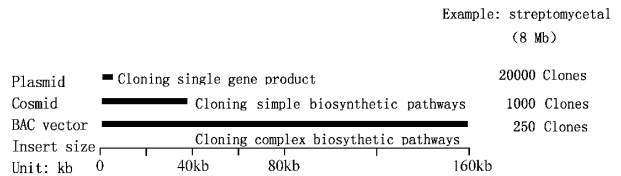


图2 目前分子生物学中常用的克隆载体及其插入片段的大小特点

Fig.2 Cloning vectors often used in biotechnology and their inserts in size.

2.2 DNA制备

BAC文库构建中对DNA的要求较高,目前常用方法提取的DNA大小在50kb以内,不能满足大片段克隆的要求。

实际工作中,人们将DNA提取的过程在琼脂糖包埋块中进行,以脉冲电泳为主要分离手段,达到超大片段DNA分离、纯化、克隆的目的(图3-B)。同时,附加Bis-benzomide的超高速离心处理可以分离不同GC含量的环境DNA(图3-A)。图3左图中,右边离心管中包括有枯草芽孢杆菌(GC含量

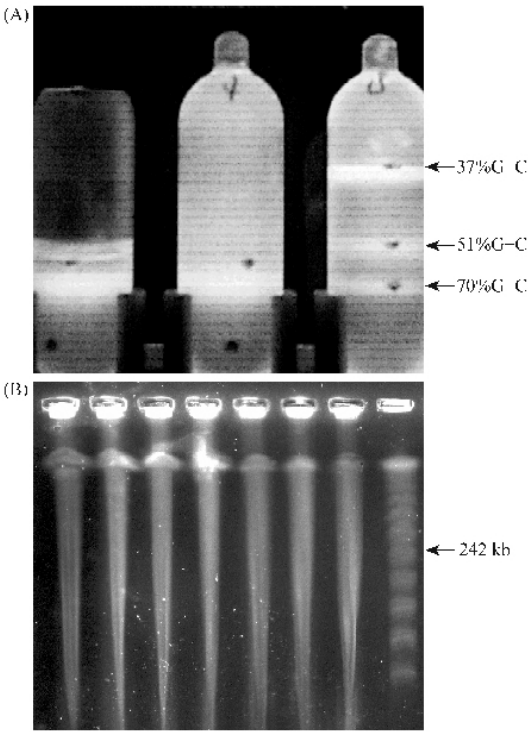


图3 大片段DNA提取方法的改进

Fig.3 Improved mega DNA extraction. A Ultracentrifuge in presence of Bis-benzomide to separate eDNA of various GC content; B Marine sponge DNA separated using pulsed field gel electrophoresis. Details see text.

37%)大肠杆菌(GC 含量 51%)和链霉菌(GC 含量 70%)的 DNA ,中间离心管内是从环境样品中分离的未知来源的 DNA 样品 ,该样品中含有大量如链霉菌般高 GC 含量(70%)的环境 DNA。

2.3 表达寄主

基于 BAC 载体的宏基因组工程中 ,找到一套适用于宏基因组功能表达的寄主是取得成功的关键 ,BAC 克隆株可同时在同源和异源寄主中表达宏基因组功能 ,这对天然产物药物开发尤其重要 ,因为生态系统包括海洋环境中占优势地位的是难于培养的微生物 ,研究者可以借助这一技术 ,绕过难培养微生物“实验室培养”这一长久面临的挑战。此外 ,这些寄主生物的发酵条件相对容易达到工业化标准 ,这一点是海洋天然产物药物开发的关键。

时致今日 ,有 3 种微生物具有成为微型原核生物反应器的潜力^[5,13] ,包括大肠杆菌(*Escherichia coli*) 变铅青链霉菌(*Streptomyces lividans*)和恶臭假单胞杆菌(*Pseudomonas putida*) ,其中链霉菌被认为是半自动化的海洋药物开发平台中高效表达具生物活性的海洋次生代谢产物的最好的微型生物反应器。一方面 ,链霉菌中编码次生代谢产物的生物合成基因簇的表达受细胞内和细胞外信号传导调控。这些已经存在的生物合成途径能作为与外源基因簇适应的分子基础 ,通过互相作用 ,产生全新的具生物活性的化合物 ;另一方

面。许多次生代谢产物包括聚酮化合物和非核糖体多肽的生物合成基因簇 ,比如四环素 ,红霉素 ,以及最近刚刚通过美国食品与药品检验局(FDA)的严格审查而上市的达托霉素(Daptomycin)^[22] ,已经在异源寄主链霉菌中成功表达 ,再者 ,当编码次生代谢产物的修饰基因被组装到这个原核生物微型反应器中 ,有可能和原有的功能基因簇共表达 ,合成产生新的杂合抗生素。

图 4 是表达寄主遗传特性改造的一个实例(Li ,未发表数据)。由于环境条件与生存竞争的需要 ,土壤中的链霉菌本身分泌产生丰富的次生代谢产物。比如 ,基因组序列已经公开的天蓝色链霉菌(*Streptomyces coelicolor*) ,其基因组序列中包含有近 20 个次生代谢产物的生物合成途径。与该菌分类上同源的 *S. lividans* 至少分离出了 4 个以上的生物活性产物。其中主要产物是放线紫红素(actinorhodin)。该产物属于细菌 II 型聚酮类化合物(PKS II) ,又称为细菌芳香型聚酮化合物。常常成为生物合成基因簇在链霉菌异源表达中的优势产物 ,影响到目标产物的产量和下游的纯化。为此 ,我们通过构建自杀性质粒(图 4-A) ,在 *S. lividans* TK23 染色体上进行标记物诱导的双交换技术 ,成功敲除了放线紫红素生物合成基因簇中的关键基因酰基载体蛋白(Acyl-Carrier Protein) ,从而在转基因表达四环素生物合成基因簇(图 4-B : a 和 c)的过程中 ,避免了放线紫红素的干扰(图 4-B b 和 d)。

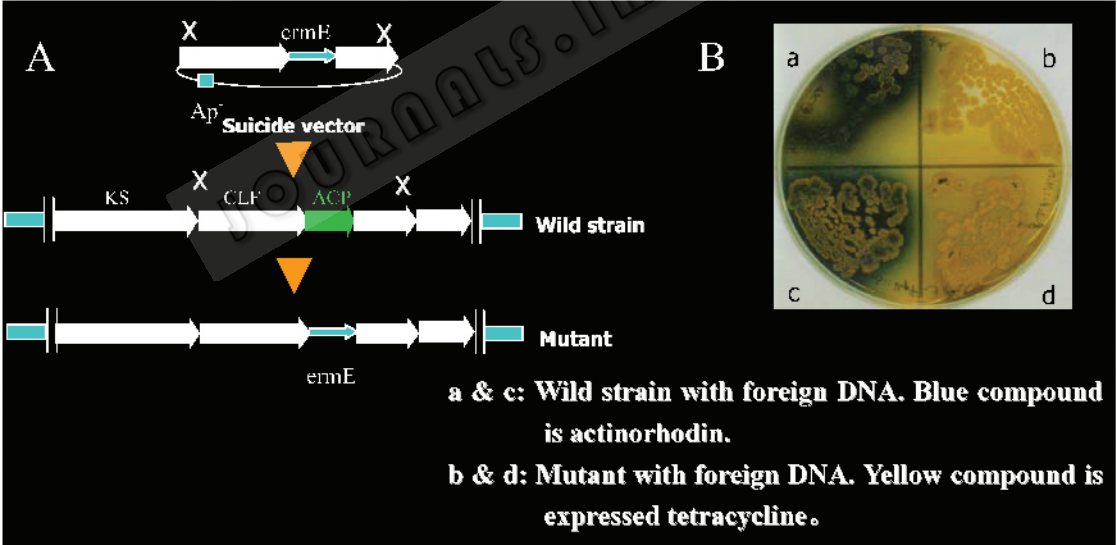


图 4 链霉菌表达寄主的构建

Fig.4 Genetic engineering of expression host of streptomycetal.
A :A gene knockout of actinorhodin biosynthetic pathway ;B :Over expression of tetracycline biosynthetic pathway.

2.4 高通量筛选

高通量筛选技术过去十多年飞速发展 ,迅速成为新药发现与药物创新的一种重要的技术手段 ,通过分子生物学和细胞生物学实验方法(或称筛选模型)上的微量化和程序化操作 ,广泛采用受体结合分析、酶活性测定、细胞分子与活性测定、代谢物质与基因产物测定等技术 ,以微板形式作为实验工具载体 ,以自动化操作系统运行实验过程 ,以灵敏快速的检测仪器收集实验数据 ,以计算机应对超量的样品数据进行

分析处理 ,从而得出科学准确的实验结果和效用分析 ,广泛用于药物筛选平台的构建中。比如 ,采用分光光度法、荧光检测技术和放射性检测技术筛选蛋白酪氨酸激酶抑制剂和蛋白水解酶抑制剂 ,广泛用于抗肿瘤与抗病毒药物的高通量筛选中。

随着包括人类在内的众多生物基因组的测序解码的完成 ,生物医药领域开始全方位的使用和开发后基因组生物技术 ,在活细胞自然条件下研究蛋白组功能和药物作用靶

点,系统的了解蛋白质在生理或病理状态下的功能变化、与其它生物大分子(如 RNA、DNA 等)的相互作用以及对信号转导途径的影响等,在高通量的基础上,形成了一种全新的新药研究手段-高内涵筛选(High Content Screening, HCS),在保持细胞结构和功能完整性的前提下,同时检测被筛样品对细胞形态、生长、分化、迁移、凋亡、代谢途径及信号转导各个环节的影响,在单一实验中获取大量相关信息,确定其生物活性和潜在毒性。

本文提出的宏基因组海洋药物开发平台,直接将海洋小生态环境中的总 DNA 克隆到可培养的宿主细胞中,建立宏基因组文库,文库既包含了可培养的又包含了不可培养的微生物基因,从所获得的重组克隆子中筛选活性物质和相关基因,从而避开微生物分离培养的难题,显示了其在挖掘和利用那些未能培养微生物的基因资源和筛选新生物活性物质的潜力,极大地扩展了微生物资源的利用空间,增加了获得新的生物活性物质的机会^[5]。

3 前景展望

随着从海洋微生物中克隆的生物合成基因簇数量的增多,以及这些基因簇在异源寄主中的表达,将会开创对海洋微生物这个巨大的遗传资源库进行系统研究的新纪元。至今为止,天然产物药物开发广泛得益于对陆生土壤微生物多样性的研究开发。随着培养技术的不断突破,以及不依赖人工培养的相关技术(比如宏基因组克隆表达技术)的发展,如同人们在陆生土壤微生物多样性研究中一样,人类将逐步了解到海洋自然环境中微生物多样性的核心秘密。通过对海洋微生物多样性的不断探索无疑会为制药工业提供结构全新的化合物,并产生高质量的生物活性先导化合物,用于药物的研发。

同时,随着对海洋生态系统功能的深入探索,半自动化海洋药物开发平台,将会拓宽我们在微生物生态结构方面的知识。而且,在选择的外源寄主诸如链霉菌、大肠杆菌和假单胞菌中,其蛋白组和 DNA 芯片方面的功能基因组数据的积累和使用,会使得我们更清楚的了解难培养的海洋微生物种群中次生代谢产物在定性和定量水平上的功能。此外,包括一些能独立生存的蓝藻、微藻或酵母等,它们具有克隆和表达源于真核生物的宏基因组克隆株的潜力,在海洋真核生物如海藻和海绵等难培养生物的研究中具有相当的应用优势。

中国南海是世界上除四大洋以外最大的内海,地处热带和亚热带的气候条件,最大限度的造就了其独特的生物种类,是世界上生物多样性最丰富的地区之一。由于南海特殊的地理环境,和周边国家相对贫困的经济条件,中科院南海海洋研究所提出了积极开发南海典型海洋样带生物多样性的工作方案,立志于系统深入的开展南海海洋环境下生物种类、种间关系、物种进化等方面的基础研究,相应的生态学功能和天然药物开发等方面的应用研究,在国家安全和南海海洋生物资源的合理利用的基础上,进一步研究开发南海海洋微生物资源,充分利用和发挥南海地域资源优势。

参 考 文 献

- [1] Pace NR. A molecular view of microbial diversity and the biosphere. *Science*, 1997, **276**(5313): 734–740.
- [2] DeLong EF. Marine microbial diversity: the tip of the iceberg. *Trends Biotechnol*, 1997, **15**(6): 203–207.
- [3] Hugenholtz P, Goebel BI, Pace NR. Impact of culture independent studies on the emerging phylogenetic view of bacterial diversity. *J Bacteriol*, 1998, **180**(18): 4765–4774.
- [4] Handelsman J. Metagenomics: Application of genomics to uncultured microorganisms. *Microbiol Mol Biol Rev*, 2004, **68**(4): 669–685.
- [5] Li X, Qin L. Metagenomics-based drug discovery and marine microbial diversity. *Trends Biotechnol*, 2005, **23**(11): 539–543.
- [6] Venter JC, Remington K, Heidelberg JF, et al. Environmental genome shotgun sequencing of the Sargasso Sea. *Science*, 2004, **304**(5667): 66–74.
- [7] Salomon CE, Magarvey NA, Sherman DH, et al. Merging the potential of microbial genetics with biological and chemical diversity: an even brighter future for marine natural product drug discovery. *Nat Prod Rep*, 2004, **21**(1): 105–121.
- [8] Haefner B. Drugs from the deep: marine natural products as drug candidates. *Drug Discovery Today*, 2003, **8**(12): 536–544.
- [9] Proksch P, Edrada RA, Ebel R, et al. Drugs from the seas-current status and microbiological implications. *Appl Microbiol Biotechnol*, 2002, **59**(2–3): 125–134.
- [10] Hentschel U, Hopke J, Horn I, et al. Molecular evidence for a uniform microbial community in sponges from different oceans. *Appl Environ Microbiol*, 2002, **68**(9): 4431–4440.
- [11] Wang GY, Graziani E, Waters B, et al. Novel natural products from soil DNA libraries in a streptomycete host. *Organ Lett*, 2000, **2**(16): 2401–2404.
- [12] Keller M, Zengler K. Tapping into microbial diversity. *Nature Rev*, 2003, **2**(2): 141–150.
- [13] Martinez A, Kolvek SJ, Yip CL, et al. Genetically modified bacterial strains and novel bacterial artificial chromosome shuttle vectors for constructing environmental libraries and detecting heterologous natural products in multiple expression hosts. *Appl Environ Microbiol*, 2004, **70**(4): 2452–2463.
- [14] Gewin V. Genomics: Discovery in the dirt. *Nature*, 2006, **439**(7075): 384–386.
- [15] 郭斌, 吴晓磊, 钱易. 提高微生物可培养性的方法和措施. *微生物学报*, 2006, **46**(3): 504–507.
- [16] 阎冰, 洪葵, 许云, 等. 宏基因组克隆——微生物活性物质筛选的新途径. *微生物学通报*, 2005, **32**(1): 113–117.
- [17] Brady SF, Chao CJ, Handelsman J, et al. Cloning and heterologous expression of a natural product biosynthetic gene cluster from eDNA. *Organ Lett*, 2001, **3**(13): 1981–1984.
- [18] MacNeil IA, Tiong CL, Minor C, et al. Expression and isolation of antimicrobial small molecules from soil DNA libraries. *J Mol Microbiol Biotechnol*, 2001, **3**(2): 301–308.
- [19] Gillespie DE, Brady SF, Bettermann AD, et al. Isolation of antibiotics turcomycin A and B from a metagenomic library of soil

- [20] Shizuya H, Birren B, Kim UJ, *et al.* Cloning and stable maintenance of 300-kilobasepair fragments of human DNA in *Escherichia coli* using an F-factor-based vector. *Proc Natl Acad Sci USA* ,1992 **89**(18) 8794 – 8797.
- [21] Rondon MR, August PR, Bettermann AD, *et al.* Cloning the soil metagenome: a strategy for accessing the genetic and functional diversity of uncultured microorganisms. *Appl Environ Microbiol* , 2000 **66**(6) 2541 – 2547.
- [22] Penn J, Li X, Whiting A, *et al.* Heterologous production of daptomycin in *Streptomyces lividans*. *J Ind Microbiol Biotechnol* , 2006 **33**(2) :121 – 128.

Marine microbial metagenomics : progress and prospect

LI Xiang^{1*}, QIN Ling¹, DAI Shi-kun¹, JIANG Shu-mei¹, LIU Zhi-heng²

(¹ Guangdong Key Lab of Marine Materia Medica, South China Sea Institute of Oceanology, Chinese Academy of Sciences, Guangzhou 510301, China)

(² Institute of Microbiology, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100080, China)

Abstract Preliminary statistics showed that there are more than one million species of microbes in marine environments that formed a dynamic genetic reservoir, among which the majority are not revealed and categorized due to barrier in cultivation techniques. However, the situation has changed in recent years because of the rapid development of phylogenetic studies based on small ribosomal RNA and rDNA sequencing independent to standard laboratory cultivation. These changes have significantly altered our understanding about microbial diversity and microbial ecology. In this review, we highlight some of recent progress and innovation in research on microbial diversity, and propose a metagenomic scheme as an alternative to overcome some of the barriers that still remain for exploitation of marine microbial diversity for its enormous potential in pharmaceutical applications. We believe that rapid progress in marine metagenomics allows direct access to the genomes of numerous non-cultivable microorganisms for their associated chemical prosperity.

Keywords : metagenomics ; microbial diversity ; marine drug discovery ; bacterial artificial chromosome

Foundation item :Hundred Talent Program of Chinese Academy of Sciences ; National Supportive Plan Project of Science and Technology under Grant (2006BAB19B02) ; The Research Foundation of Science and Technology Plan Project of Guangdong Province of China under Grant (2006B36501004)

* Corresponding author. Tel : 86-20-89023013 ; Fax : 86-20-84451672 ; E-mail : lixiang@scsio.ac.cn

Other author : OUYANG Yong-chang¹

Received : 17 November 2006 / Accepted : 30 January 2006 / Revised : 18 January 2006