

基因组时代的放线菌系统学及其研究进展

刘志恒¹, 王剑^{1,2}, 张立新^{1,2*}

¹ 中国科学院微生物研究所, 北京 100190

² 中国科学院南海海洋研究所, 广州 510301

摘要: 由于放线菌在生物技术、医药卫生和环境治理等领域中的实际重要性, 已经成为人们研究得最为深入的微生物类群之一。现代放线菌分类学是建立在对 16S rRNA 基因保守分子序列的系统发育学分析基础上、综合利用多种微生物信息的多相分类学 (polyphasic taxonomy)。随着大规模基因测序技术的飞速发展, 已经完成了超过 100 株放线菌的全基因组序列。近年来发展起来的“基因组系统发育学”有助让人们更加系统地理解放线菌类群的发生、演化, 以及不同生境类群之间的相互关系。随着越来越多的以系统发育学为指导的基因组测序研究项目, 例如“细菌和古菌基因组百科全书 (Genomic Encyclopedia of Bacteria and Archaea, GEBA) 计划”的出现, 标志着放线菌系统学进入了基因组学研究时代。本文对基因组时代的放线菌系统学方法, 以及国内外的相关研究成果进行综述。

关键词: 放线细菌, 放线菌分类学, 基因组系统发育学, GEBA 计划

中图分类号: Q939.13 **文献标识码:** A **文章编号:** 0001-6209 (2011) 02-0141-13

自 17 世纪中叶, 荷兰人 Antoni van Leeuwenhook 用自己制造的显微镜观察微生物以来, 人们对微生物的认识随着新技术的不断出现也越来越深入。诞生于 20 世纪 70 年代的 DNA 测序技术无疑是生命科学研究领域中最为重要的一项发明, 在过去的 30 年中对生物学各个领域的发展起了主导作用。近年来, 随着原核生物全基因组测序工作的广泛开展, 大量的基因组数据也不断应用于系统发育学和分类学研究。尽管在原核生物中广泛存在的水平基因转移 (lateral gene transfer, LGT) 使得人们在应用基因组学数据研究分类学问题的过程中出现了种种问题^[57], 但是近年来的一些研究证明基因组学仍然是原核生物系统学未来发展的方向^[71]。作为原核

生物中最为重要的类群之一的放线菌, 其系统分类体系的发展从一个侧面印证了系统学在基因组时代发生的深刻变化。

1 放线菌分类学研究的实际重要性

放线菌 (actinobacteria) 是一类高 G + C 含量的革兰氏阳性细菌, 具有复杂的形态分化和较高的遗传不稳定性。放线菌因其在生物技术、医疗卫生和环境治理等领域中的重要角色, 已经成为人们研究的最为深入, 且描述的最为具体的微生物类群之一。放线菌不仅是主要生物活性物质的生产者, 同时也是某类生物活性物质的工业生产菌株^[1–4]。

放线菌形态特征多样, 既包括产菌丝的经典放

基金项目: 国家自然科学基金青年基金 (31000004)

* 通信作者。Tel/Fax: +86-10-62566511; E-mail: zhanglixin@im.ac.cn

作者简介: 刘志恒 (1940–), 男, 河南省西华县人, 研究员, 博导, 主要从事原核微生物资源学和放线菌系统学研究。Tel: +86-10-62538564; E-mail: zhliu@sun.im.ac.cn

收稿日期: 2010-10-28

线菌(actinomycete),又包括杆状或者球状等细菌形态的放线细菌(actinobacteria)。放线菌的生存环境和生态分布也极其多样,在自发热植物材料(self-heating materials,例如甘蔗渣、堆肥、谷物以及饲料等)、土壤、淡水水体和海洋生境中类群尤为丰富。放线菌在一些特殊的生境也有分布,例如蜂巢^[5],铜锈^[6],沙漠干旱土壤^[7],伽马射线辐射过的物体表面^[8],海绵^[9-10],昆虫^[11-13]以及植物的根际土壤^[14]、根瘤^[15-17]或者其它植物组织^[18]等。很多放线菌还是人和动植物的病原菌^[19],例如结核分枝杆菌(*Mycobacterium tuberculosis*)造成人类的结核病^[20],白喉棒杆菌(*Corynebacterium diphtheria*)感染造成人类的白喉病^[21],痤疮丙酸杆菌(*Propionibacterium acnes*)是生痤疮的诱因之一^[22],疮痂链霉菌(*Streptomyces scabies*)可以引发马铃薯疮痂病^[23],还有很多放线菌类群可以引发人类的放线菌性足菌病(actinomycetoma)^[24]。

正是由于放线菌有着如此重要的生物学功能和次生代谢产物,因此深入理解放线菌各个类群之间的分类学关系显得尤其重要。现代放线菌分类学是建立在系统进化研究基础上的多相分类学。放线菌的系统进化研究一方面可以帮助我们解释放线菌是如何适应现在的生存环境的,例如土壤或者动植物的器官组织。另一方面,一个分辨率较高、重复性较好的系统进化树可以指导我们进行基因组序列的比对、基因组再注释和基因组可视化分析等工作。此外,构建一个重复性好的系统进化树也是人们构建放线菌代谢网络模型的前提^[25],进而为放线菌菌株的生物工程改造奠定了理论基础。

2 放线菌分类学的发展和基因组系统发育学的创立

早期的放线菌分类学研究,是仅仅基于形态和培养特征上的差异进行的表述分类。但是这一时期的研究为建立放线菌的形态学、生理学和生态学等经典分类学方法奠定了基础。70年代, Mary P. Lechevalier 与 Hubert A. Lechevalier^[26]根据放线菌胞壁化学组分和全细胞水解糖型分析,提出了以细胞化学与形态特征相结合对放线菌进行分类的观点。随后,计算机技术的发展使得上述表观特征定量地定义微生物分类单位,称为数值分类。1983年 S. T. Williams 等^[27]利用数值分类对放线菌的链霉

菌及相关菌进行了大量的研究,为理清链霉菌混乱的分类系统做出了贡献。同一年代, Erko Stackebrandt 等根据 16S rRNA 基因分子序列的相似性等构建了放线菌和其它原核生物之间的系统发育树,这标志着放线菌分子分类时期的开始。随着分子生物学和核酸测序技术的发展,这种基于放线菌分子特征的分类正在成为放线菌分类学研究的主要方法^[28]。现代的放线菌分类方法学,是以系统发育学研究为基础,将表型分类(形态和生理生化特征等)、数值分类、化学分类和分子分类等各种信息综合考虑,来确定菌株的分类地位的多相分类学(polyphasic taxonomy)^[28]。

近年来,随着大规模测序技术的飞速发展,已经完成了 111 株(<http://www.genomesonline.org/>)放线菌菌株的全基因组序列,人们对放线菌的认识也因此更深入。基于基因组学而创立的“基因组系统发育学”将成为重建放线菌“生命之树”的一场革命。基因组系统发育学(phylogenomics)最先由 Jonathan A. Eisen 和 Philip C. Hanawalt 正式提出^[29],来源于生命科学领域中的两个重要领域的结合:“基因组学(genomics)”,即基因和基因组结构和功能的研究;和“系统发育学(phylogenetics)”,即生物间的进化关系的研究。从分类学家的角度而言,可以将基因组系统发育学定义为利用大量的基因组数据进行系统发育分析的方法学。基因组学的发展为重建生物间进化关系的研究提供了海量的分子性状,使很多在以前因为只使用少量数据而无法解决的问题有望得以澄清。由美国“DOE 联合基因组研究所(DOE Joint Genome Institute)”联合“德国微生物菌种和真核细胞保藏中心(DSMZ)”等机构^[30],启动的“细菌和古菌基因组百科全书(Genomic Encyclopedia of Bacteria and Archaea, GEBA)计划”完全依据分类学标准,选取具有特殊系统发育地位的原核生物新菌株进行全基因组测序。该计划于 2009 年底完成了第一批次 100 株细菌的全基因组测序,并计划在后续的研究中每年完成 100 株。基因组系统发育学的诞生和广泛应用以及 GEBA 计划的诞生,标志着包括放线菌在内的原核生物系统学全面进入了基因组时代。

3 基因组系统发育学分析方法在放线菌分类学中的应用

现行的放线菌分类系统,是通过对 16S rRNA

基因序列的系统发育分析和特征性核苷酸分析等建立的^[31-33, 72-73]。近年来基因组系统发育学的发展给放线菌分类学者提供了新的研究方法。目前,基因组系统发育学研究所用的分析方法主要分为两类:“序列分析法(sequence-based methods)”和“全基因组特征(whole-genome features, WGFs)分析法”。此外,在这两种分析方法的研究过程中还会出现“罕有基因组改变(rare genomic changes, RGCs)”现象。RGCs 现象在序列分析中,主要表现为保守基因某个片段的插入或缺失(insertion or deletion, indels)、保守基因的特征性核苷酸和真核生物的内含子位置等;RGCs 现象在 WGFs 分析中,主要表现为基因的分裂和融合、逆转座子(LINE 和 SINE)整合现象等^[34]。

3.1 序列分析法在放线菌分类学中的应用

基因组系统发育学方法可以通过比较原始序列,由序列比对来推断谱系关系。目前这种分析方法使用得最为广泛。一般来说,当直系同源基因(ortholog)序列确定以后,有3种途径可以进行基因组数据的系统发育分析:第一种是基于单一保守基因序列的系统发育分析;第二种是先把多组序列数据串联为一组,然后在这一合并的序列数据基础上使用标准的建树方法构建系统树,称为“超矩阵(supermatrix)”或者“基因串联系统发育(gene concatenation phylogeny)”分析途径;第三种途径称为“超级树(supertree)”分析途径,即先根据各个基因序列分别构建各自的系统发育树,然后将这些系统树通过一定的优化技术,如MRP(Matrix Representation using Parsimony)方法,合并成为一个“超级树”^[34-36]。

3.1.1 单一序列系统发育分析:目前绝大多数的放线菌系统发育分析都是以核糖体RNA(rRNA)为指示物。例如,2001年Zhenshui Zhang等^[37]利用16S、23S rRNA分子和16S-23S rRNA转录间隔区序列对高温单孢菌科(*Thermomonosporaceae*)的各个类群进行再分类研究,并结合化学分类分析数据,把卓孢菌(*Excellospora*)属并入了马杜拉放线菌属(*Actinomadura*),把马杜拉放线菌属的4个种转入珊瑚放线菌属(*Actinocorallia*),并把该属也放在了这个科。Mohammad T. Alam等^[38]的最新研究利用3种不同的rRNA分子(5S、16S和23S)对已经完成全基因组序列测定的45株放线菌菌株进行系统发育

分析,发现rRNA基因序列的长度对系统发育树的分辨率影响很大:以5S rRNA为指示物构建的系统发育树分辨率最低,尤其是放线菌亚目级别分类单位之间的进化关系,完全分辨不出;而以16S rRNA和23S rRNA为指示物构建的系统发育树,各个亚目之间的进化关系则比较清晰;但在16S rRNA基因树中,弗兰克氏菌亚目(*Frankineae*)、链霉菌亚目(*Streptomycineae*)和动孢菌亚目(*Kineosporineae*)的进化关系仍然不明确;在23S rRNA基因树中,弗兰克氏菌亚目的两个科(热酸菌科和弗兰克氏菌科)与链霉菌亚目的进化关系非常接近,而动孢菌亚目则落在了微球菌亚目中。此外,在16S rRNA基因树中链孢囊菌亚目的*Thermobifida fusca* YX与弗兰克氏菌亚目的酸热菌科和弗兰克氏菌科聚在一起,而在23S rRNA基因树种*T. fusca* YX则与假诺卡氏菌亚目关系更近。而关于小单孢菌亚目的进化地位,在rRNA基因树中始终没能得到解决,但在16S rRNA基因树中小单孢菌亚目似乎与弗兰克氏菌亚目关系较近。

Mohammad T. Alam等的研究还以5种高分子量的保守蛋白(异亮氨酰 tRNA 合成酶、核糖体蛋白S1、DNA拓扑异构酶、SecY蛋白和鸟苷酸酶)为指示物构建了系统发育树,也显示了在亚目级别上的较为清晰的分辨率。近年来,许多像这样的保守蛋白序列也被用来构建系统树。相对于rRNA比较而言,这个方法具有一些优点:20种氨基酸构成的序列比由4种核苷酸构成的序列在每个点上有更多的信息;蛋白质序列比DNA和RNA序列较少受物种特异G+C含量差异的影响;最后,蛋白质排列更容易些,因为它不像rRNA那样依赖二级结构。2005年,Beile Gao等^[39]利用去掉indels的CTP合成酶氨基酸序列构建放线菌及其临近类群的系统树,也得到了与16S rRNA基因树相类似的结果。唯一显著的例外是微球菌亚目(*Micrococcineae*)惠普尔吸收障碍菌(*Tropheryma whipplei*)相对于放线菌亚纲形成了一个进化深度很高的独立进化枝。这一现象与Mohammad T. Alam等以DNA拓扑异构酶为指示物构建的系统树的结果以及Dongying Wu等^[30]的研究结果是一致的。但是,考虑到该菌种分离自病人的贲门瓣,是一类真核细胞的胞内共生菌^[40],生物大分子的进化速率加快的现象在很多内生菌中比较常见,因此该现象比较容易得到解释。在实际的放

线菌系统分类工作中,蛋白质序列树相对于 rRNA 基因树显示出一定的优越性:在以未经过处理的 16S rRNA 基因序列为基础构建的系统树中,棒杆菌亚目 (*Corynebacterineae*) 中的棒杆菌科 (*Corynebacteriaceae*)、分枝杆菌科 (*Mycobacteriaceae*) 和诺卡氏菌科 (*Nocardiaceae*) 并不聚在一起;而在上述蛋白序列树中这 3 个科可以聚在一起,这与 Casanova 和 Abel 的 2002 年的工作^[41] 以及 Beile Gao 等^[39] 的工作取得的结果是完全一致的。但是需要指出的是,在 Beile Gao 等的工作中,以去除掉 indels 的 16S rRNA 基因为指示物构建的系统树,上述 3 个科是可以形成单一进化枝的。

综上所述,以单一指示物分子序列构建的系统树虽然在整体上一致,但在细节上差异还是比较大的。虽然总的来说 16S rRNA 仍然是最好的指示物,但是如果外群 (outgroup) 选择不合适,仍然会出现问题。例如,绿弯菌门 (phylum *Chloroflexi*) 热微菌纲 (class *Thermomicrobia*) 的嗜热球杆菌 (*Sphaerobacter thermophilus*) 曾经因为选择了不合适的建树外群,而被错误的归在了放线菌纲的“球杆菌亚纲 (subclass *Sphaerobacteridae*)”。Philip Hugenbultz 和 Erko Stackebrandt 在 2004 年的工作^[42] 对该菌株进行了正确的再分类,并取消了“球杆菌亚纲”。又如 2000 年,Labeda 和 Kroppenstedt^[43] 也因为选择了不合适的外群而在假诺卡氏菌亚目 (suborder *Pseudonocardineae*) 中建立了束丝放线菌科 (family *Actinosynnemataceae*)。2009 年 Labeda 等最新的工作^[44] 取消掉了这个科。

3.1.2 超矩阵 (Supermatrix) 途径: 研究证实水平基因转移 (HGT) 在原核生物进化中是频繁发生的^[45]。即便是 16S rRNA 基因也不是完全没有发生 HGT 的可能^[46],在放线菌中分类地位不确定的高温双孢菌 (*Thermobispora bispore*)^[47] 基因组含有 4 个独立的 16S rRNA 基因,这 4 个 16S rRNA 基因之间的差异最高在 6% 以上 (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/nuccore/CP001874>)。但是这种频繁发生的水平基因转移还没有完全湮灭系统发育信号,在基因组水平上还是很有可能重建真实的系统发育关系。通过 Supermatix 途径构建系统树,又称为“序列串联系统发育分析 (sequence concatenation phylogeny)”^[48-50],是单一序列系统发育分析的在方法学上的延伸。该方法的关键是首先需要准确判断和选择直系同源基

因 (ortholog),即鉴定很少发生 HGT 的一系列保守基因。并以这些直系同源基因为指示物分别进行序列比对,将比对好的序列去掉 indels 后串联在一起形成一个“超矩阵”,进行系统发育树的构建。因为“超矩阵”相对于单一序列分析,拥有更多的信息量,因此在理论上会揭示更多的进化细节,并较少受到“局部非随机重排 (local non-random rearrangements)”现象的影响^[51, 52]。

Supermatrix 途径的前身可能是“多位点序列分析 (multi-locus sequence analysis, MLSA)”技术,因为二者几乎使用相同的技术流程。Ying Huang 课题组的 Xiaoying Rong 等^[53, 54] 的最新工作利用 5 种保守蛋白编码基因 (*atpD*、*recA*、*rpoB*、*trpB* 和 *gyrB*) 的 MLSA 分析,对微白黄链霉菌 (*Streptomyces albidoflavus* clade) 和灰色链霉菌类群 (*Streptomyces griseus* clade) 等进行了再分类研究。研究同时结合 DNA-DNA 杂交的数据,最终将微白黄链霉菌类群的 13 个种和亚种合并为唯一的一个分类学种,将灰色链霉菌类群的 29 个种和 3 个亚种合并为 11 个分类学种。2009 年, Dongying Wu 等^[30] 利用 31 种保守蛋白基因进行“串联系统发育分析”,对包括“放线细菌门”在内的整个细菌域进行再分类研究。遗憾的是,在该研究构建的系统树中 *Tropheryma whipplei* 依然表现出了过快的进化速率,且棒杆菌亚目没能形成单一的进化枝。但在该进化树中,放线菌的其它亚目级别以上分类单位之间的进化关系表现出了较高的分辨率和可信度。例如棒杆菌亚目与假诺卡氏菌亚目关系最近,其次是小单孢菌亚目、链孢囊菌亚目、链霉菌亚目、放线多孢菌亚目和丙酸杆菌亚目;链霉菌亚目与放线多孢菌亚目关系最近;微球菌亚目基本形成一个稳定的进化枝;动孢菌亚目依然与微球菌亚目最为接近,但是并没有落在微球菌亚目内;高温双孢菌应当归类于链孢囊菌亚目等。但是,在该进化树中弗兰克氏菌亚目变成了一个多起源的类群:热酸菌科 (*Acidothermaceae*)、弗兰克氏菌科 (*Frankiaceae*)、嗜地皮菌科 (*Geodermatophilaceae*) 和中村氏菌科 (*Nakamurellaceae*) 彼此之间分歧久远,其中只有热酸菌科与链孢囊亚目较为临近,其余的科进化地位都不明确。2010 年, Mohammad T. Alam 等的工作^[38],利用 45 株完成全基因组测序的放线菌的 155 种保守蛋白序列进行 Supermatrix 分析,同样也取得了较为可信的结果。该研究构建的

系统树与 16S 和 23S rRNA 基因树吻合度极高,其中棒杆菌亚目形成了一个单一的进化枝,且与假诺卡氏菌亚目临近,其次是小单孢菌亚目;弗兰克氏菌亚目的热酸菌科依然与弗兰克氏菌科分歧久远,反而与链孢囊菌亚目关系较近;链霉菌亚目与链孢囊菌亚目以及弗兰克氏菌亚目的热酸菌科和弗兰克氏菌科关系较近;包括 *Tropheryma whippelii* 在内的微球菌的所有类群形成单一的进化枝;动孢菌亚目^[33]的进化地位问题依然没能得到解决。

3.1.3 超级树 (Supertree) 途径: Supertree 途径同 Supermatrix 途径一样,首先都需要准确判断和选取直系同源基因 (ortholog)。不同的是前者是将所有的序列分别构建系统树,然后再对所有系统树拓扑结构一致性进行研究。这个途径目前是最有效的构建多物种原核生物类群的完整的系统发育树的方法。例如同样是在 Mohammad T. Alam 等的研究中,该研究通过多种途径构建链霉菌和其它放线菌类群的系统树,并最终采取“多数通过原则一致性 (majority-rule consensus) 分析”策略,仅保留了那些经过确凿印证过的进化枝,从而形成了一个最终的“一致性树 (consensus tree)”。该进化树显示的结果与现行的放线菌分类系统非常吻合,且具有非常高的分辨率和可信度。其中,链霉菌亚目 (*Streptomycineae*) 与链孢囊菌亚目 (*Streptosporangineae*) 最为接近,其次是弗兰克氏菌亚目 (*Frankineae*);棒杆菌亚目 (*Corynebacterineae*) 还是一个单一的进化枝,且与假诺卡氏菌亚目 (*Pseudonocardineae*) 最为接近,其次是小单孢菌亚目 (*Micromonosporineae*);动孢菌亚目 (*Kineosporineae*) 则完全落在了微球菌亚目 (*Micrococcineae*) 中。

3.2 全基因组特征 (WGFs) 分析法在放线菌分类学中的应用

除了比较序列差异以外,基因组系统发育学研究还可以基于“基因顺序 (gene order)”、“基因内容 (gene content/ repertoire)”以及“核酸短串 (DNA strings)/ 基因组中寡核苷酸分布”等构建系统发育树^[34]。基因顺序分析法是通过研究某些基因(一般是直系同源基因)在基因组中的物理位置,或者说是这些基因在基因组中的排列顺序,而进行系统发育分析的方法。该方法的理论基础是,进化地位接近的微生物基因组在基因的排列顺序上往往也是近似的^[51, 52, 55, 56]。基因内容分析法,是比较不同物种

间的基因组差异的最明显的办法,关系较近的物种会含有大量共同的基因,而关系较远的物种含有的共同基因则较少。

3.2.1 基因顺序分析法在放线菌分类学中的应用: 基因顺序分析法的实现途径是多种多样的,其中一个已经应用于放线菌再分类工作的方法是首先确定所有分析类群的一系列直系同源基因,然后通过比较直系同源基因左右临近位置是否具有相同的基因,而对类群之间的相似度进行打分,根据得到的相似性矩阵进行系统发育分析。通过该方法构建的系统树与通过序列分析法构建的系统树具有较好的一致性,虽然该系统树中放线菌各个亚目之间的进化关系仍然不清晰,但是棒杆菌亚目的 3 各科形成了一个高自展值的进化枝,体现了该方法的优越性。此外,云南大学职晓阳等也应用该途径对高温双孢菌的进化地位进行论证,发现该菌种与链孢囊菌亚目的链孢囊菌属具有较高的亲缘关系。

3.2.2 基因内容分析法在放线菌分类学中的应用: 基因内容分析法,相对于序列串联分析法和基因顺序分析法具有更多的优势。在后两者中,只有那些在所有研究类群中都保守的基因才会被分析,而很多仅在部分研究类群中保守的基因会被忽视掉。基因内容分析法不存在这个问题,因此该方法在放线菌分类学中最早得到了有效应用,并取得了可信的结果。加拿大 McMaster 大学生物化学与生物医学系的 Redhey S. Gupta 课题组建立的“特征性蛋白质”研究方法^[58]便是基因内容分析法的一种。该方法通过 NCBI 的 BLAST 搜索引擎对已经完成全基因组测序的微生物菌株的所有蛋白进行同源性检索,并对检索结果进行评价,从而确定某个微生物类群相对于其它微生物类群所特有的“特征性蛋白质”。运用该途径 Beile Gao 等^[59]以 4 株放线菌 (*Mycobacterium leprae* TN, *Leifsonia xyli* subsp. *xyli* CTCB07, *Bifidobacterium longum* NCC2705 和 *Thermobifida fusca* YX) 为出发菌株,比对了这 4 株菌基因组中所有的蛋白序列,进而发现了放线细菌门的 233 种特征性蛋白质,并通过这些蛋白在放线细菌门的各个类群中的分布建立了放线菌各个亚目之间的进化关系。Beile Gao 等的工作最早证明了动孢菌亚目的 *Kineococcus radiotolerans*^[60]并不属于弗兰克氏菌亚目,而与微球菌亚目具有较近的关系。

Mohammad T. Alam 等利用另一种基因内容分

析法对放线菌进行了系统发育分析。该方法技术路线是:首先将研究分类单元进行两两比对得到它们的“相互最佳匹配(reciprocal best hit)”即同源基因,计算同源基因数占这两个菌株基因组总的基因数的比率,并以该数值组成的矩阵构建系统发育树。在这种方法构建的放线菌系统树中,链霉菌亚目、链孢囊菌亚目和弗兰克氏菌亚目的热酸菌科和弗兰克氏菌科关系较近;*Kineococcus radiotolerans* 再一次落在了微球菌亚目中;棒杆菌亚目的3个科形成了一个稳定的进化枝;微球菌亚目的各个研究菌株也形成了一个稳定的进化枝。该结果与 Beile Gao 等^[39]和 Xiaoyang Zhi 等^[33]的工作是一致的。

3.2.3 核酸短串(DNA strings)/基因组中寡核苷酸分布分析:核酸短串(DNA strings)即基因组中寡核苷酸的分布是基因组结构的一个特征印记,是可以直接对非同源DNA序列进行比较得到系统发育信息的一种方法,能够真正从整个基因组水平构建系统树。该方法将核苷酸分布差异作为物种间的进化距离,然后使用标准的距离法进行系统发育分析^[34, 61]。2006年,职晓阳等^[62]引述郝柏林等使用“组分矢量(composition vector, CV)方法”构建了222个生物种(21个古菌,193个细菌,8个真核生物)的CV树,证明放线菌(包括 *Propionibacterium*, *Mycobacterium*, *Nocardia*, *Streptomyces* 等)与厚壁菌等的系统发育分歧久远。CV方法^[63-65]是由郝柏林等提出的基于统计全基因组中核苷酸序列碱基或蛋白序列氨基酸残基的各种短串(strings)的频率,并根据 strings 在不同分类单元序列中出现的频率差异计算各分类单元的进化距离,构建系统树。郝柏林等的工作为“放线细菌门”的建立提供了佐证。

3.3 “罕有基因组改变”现象分析在放线菌分类学中的应用

“罕有基因组改变(rare genomic changes, RGCs)”现象是指在特定进化枝的分类类群的基因组中发生的较大规模突变。表现为基因重复、DNA片段的插入和缺失(indels)、逆转座子整合以及基因融合和分裂时间等^[35]。因为RGCs现象在物种演化过程中发生的频率很低,因而产生趋同或平行进化的概率也很低。这样,既有效避免了那些会影响序列数据分析的潜在问题,又可以在序列数据产生冲突或分辨率不好的情况下作为一个独立的系统发育信息来源,增强系统发育假说的可信度。

RGCs分析在现行的放线菌分类系统建立过程中发挥了关键作用,为“放线细菌门”的建立提供了最为有力的证据。在2001年出版的《伯杰氏系统细菌学手册》第二版中,放线菌作为一类高G+C含量的革兰氏阳性细菌,已经被确定为细菌域(domain *Bacteria*)14个门中的“放线细菌门(phylum *Actinobacteria*)”^[66]。但是此时除了16S rRNA基因系统发育深度(phylogenetic depth)的证据支持放线菌可以作为“门”分类等级存在,只有1992年Carsten Roller等^[67]的工作提出放线菌的23S rRNA基因中有90-100 bp插入序列是放线菌区别于其它细菌的明显特征。2005年,加拿大Radhey S. Gupta课题组的Beile Gao等^[39]在Roller的基础上扩大了实验菌株的选取范围,通过比较基因组学方法进一步证明了放线菌23S rRNA基因中确实存在特异性的插入序列。同时,Beile Gao等还证明了在细胞色素C氧化酶I亚基(CoxI)、CTP合成酶以及谷氨酰tRNA合成酶(GluRS)3个蛋白中存在着放线菌特异的插入或缺失序列(indels),也可以将放线菌与其它细菌区分开,为“放线细菌门”的建立提供了最为有力的证据。

此外,“特征性核苷酸”从某种意义上讲也是一类“罕有基因组改变”。在进化树中形成稳定的进化枝的各个研究类群,往往在指示物分子序列的特定的位点上具有若干保守的氨基酸,这类保守的氨基酸相对于其它位点的氨基酸进化速率缓慢,成为研究类群的分类特征。目前的放线细菌纲的分类系统就是建立在16S rRNA基因的系统发育分析和16S rRNA基因特征性核苷酸分析的基础上的。我国放线菌系统学者Xiaoyang Zhi等^[33]运用该方法在放线细菌纲中建立了2个新的亚目(动孢菌亚目和放线多孢菌亚目)和4个新的科(隐孢囊菌科、动孢菌科、布登堡菌科和放线多孢菌科)。此外,在属以上新分类单元的多相分类学研究工作中,特征性核苷酸分析已经成为必不可少的研究步骤。

4 总结和展望

分类学家认为,所有可能正确的数据都应该被用来评估分类系统。一直以来,放线菌分类学家始终致力于构建一个综合考虑各方面因素的、可信度高、信息量大的放线菌分类系统。基因组系统发育学是分类学在基因组时代与基因组学的一次成功的



参考文献

- [1] Embley TM, Stackebrandt E. The molecular phylogeny and systematics of the actinomycetes. *Annual Review of Microbiology*, 1994, 48 : 257-289.
- [2] Bentley SD, Chater KF, Cerdeño de la Haza AM, Challis GL, Thomson NR, James KD, Harris DE, Quail MA, Kieser H, Harper D, Bateman A, Brown S, Chandra G, Chen CW, Collins M, Cronin A, Fraser A, Goble A, Hidalgo J, Hornsby T, Howarth S, Huang CH, Kieser T, Larke L, Murphy L, Oliver K, O'Neil S, Rabinowitz E, Rajandream MA, Rutherford K, Rutter S, Seeger K, Saunders D, Sharp S, Squares R, Squares S, Taylor K, Warren T, Wietzorrek A, Woodward J, Barrell BG, Parkhill J, Hopwood DA. Complete genome sequence of the model actinomycete *Streptomyces coelicolor* A3(2). *Nature*, 2002, 417(6885) : 141-147.
- [3] Hopwood, DA. *Streptomyces* in Nature and Medicine: The Antibiotic Makers. New York and Cary: Oxford University Press, 2007.
- [4] Zhao W, Zhong Y, Yuan H, Wang J, Zheng HJ, Wang Y, Cen XF, Xu F, Bai J, Han XB, Lu G, Zhu YQ, Shao ZH, Yan H, Li C, Peng NQ, Zhang ZL, Zhang YY, Lin W, Fan Y, Qin ZJ, Hu YF, Zhu BL, Wang SY, Ding XM, Zhao GP. Complete genome sequence of the rifamycin SV-producing *Amycolatopsis mediterranei* U32 revealed its genetic characteristics in phylogeny and metabolism. *Cell Research*, 2010, 20(10) : 1096-1108.
- [5] Promnuan V, Kudo T, Chatawannakul P. Actinomycetes isolated from beehives in Thailand. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 2009, 25(9) : 1685-1689.
- [6] Albarracín VH, Wink B, Kothe E, Amoroso MJ, Abate CM. Copper bioaccumulation by the actinobacterium *Amycolatopsis* sp. AB0. *Journal of Basic Microbiology*, 2008, 48(5) : 323-330.
- [7] Okoro CK, R. Brown, Jones AL, Andrews BA, Asenjo JA, Goodfellow M, Bull AT. Diversity of culturable actinomycetes in hyper-arid soils of the Atacama Desert, Chile. *Antonie van Leeuwenhoek International Journal of General and Molecular Microbiology*, 2009, 95(2) : 121-133.
- [8] Phillips RW, Wiegel J, Berry CJ, Fliermans, C, Peacock AD, White DC, Shinkets LJ. *Kineococcus radiotolerans* sp. nov., a radiation-resistant, Gram-positive bacterium. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 2002, 52, 933-938.
- [9] Kim TK, Hewavitharana AK, Shaw PN, Fuerst JA. Discovery of a new source of rifamycin antibiotics in marine sponge actinobacteria by phylogenetic prediction. *Applied and Environmental Microbiology*, 2006, 72(3) : 2118-2125.
- [10] Zhang HT, Zhang W, Jin Y, Jin MF, Yu XJ. A comparative study on the phylogenetic diversity of culturable actinobacteria isolated from five marine sponge species. *Antonie van Leeuwenhoek International Journal of General and Molecular Microbiology*, 2008, 93(3) : 241-248.
- [11] Haas F, König H. *Coriobacterium glomerans* gen. nov., sp. nov. from the intestinal tract of the red soldier bug. *International Journal of Systematic Bacteriology*, 1988, 38(4) : 382-384.
- [12] Kaltenpoth M. Actinobacteria as mutualists: general healthcare for insects? *Trends in Microbiology*, 2009, 17(12) : 529-535.
- [13] Kost C, Lakatos T, Bottecher I, Arendholz WR, Redenbach M, Wirth R. Non-specific association between filamentous bacteria and fungus-growing ants. *Naturwissenschaften*, 2007, 94(10) : 821-828.
- [14] Tokala RK, Strap JL, Jung CM, Crawford DL, Salove MH, Deobald LA, Bailey JF, Morra MJ. Novel plant-microbe rhizosphere interaction involving *Streptomyces lydicus* WYEC108 and the pea plant (*Pisum sativum*). *Applied and Environmental Microbiology*, 2002, 68(5) : 2161-2171.
- [15] Normand P, Lapiere P, Tisa LS, Gogarten JP, Alloisio N, Bagnarol E, Bassi CA, Berry AM, Bickhart DM, Choise N, Couloux A, Cournoyer B, Cruveiller S, Daubin V, Demange N, Francino MP, Goltsman E, Huang Y, Kopp OR, Labarre L, Lapidus A, Lavire C, Marechal J, Martinez M, Mastrorunzio JE, Mullin BC, Niemann J, Pujic P, Rawnsley T, Rouy Z, Schenowitz C, Sellstedt A, Tavares F, Tomkins JP, Vallenet D, Valverde C, Wall LG, Wang Y, Medigue C, Benson DR. Genome characteristics of facultatively symbiotic *Frankia* sp. strains reflect host range and host plant biogeography. *Genome Research*, 2007, 17(1) : 7-15.
- [16] Trujillo ME, Kroppenstedt RM, Schumann P, Carro L, Martinez-Molina E. *Micromonospora coriariae* sp. nov., isolated from root nodules of *Coriaria myrtifolia*. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 2006, 56 : 2381-2385.
- [17] Trujillo MW, Kroppenstedt RM, Fernandez-Molinero C, Schumann P, Martinez-Molina E. *Micromonospora lupini*

- sp. nov. and *Micromonospora saelicerisensis* sp. nov., isolated from root nodules of *Lupinus angustifolus*. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 2007, 57 :2799-2804.
- [18] Castillo UF, Strobel GA, Ford EJ, Hess WM, Porter H, Jensen JB, Albert H, Robison R, Condrón MA, Teplow DB, Stevens D, Yaver D. Munumbicins, wide-spectrum antibiotics produced by *Streptomyces* NRRL 30562, endophytic on *Kennedia nigricans*. *Microbiology-UK*, 2002, 148(9) :2675-2685.
- [19] Goodfellow M, Williams ST. Ecology of actinomycetes. *Annual Review of Microbiology*, 1983, 37 :189-216.
- [20] Cole ST, Brosch R, Parkhill J, Garnier T, Churcher C, Harris D, Gordon SV, Eiglmeier K, Gas S, Barry CE 3rd, Tekai F, Badcock K, Basham D, Brown D, Chillingworth T, Connor R, Davies R, Devlin K, Feltwell T, Gentles S, Hamlin N, Holroyd S, Hornsby T, Jagels K, Krogh A, McLean J, Moule S, Murphy L, Oliver K, Osborne J, Quail MA, Rajandream MA, Rogers J, Rutter S, Seeger K, Skelton J, Squares R, Squares S, Sulston JE, Taylor K, Whitehead S, Barrell BG. Deciphering the biology of *Mycobacterium tuberculosis* from the complete genome sequence. *Nature*, 1998, 393(6685) :537-544.
- [21] Cerdeña o-Tárraga AM, Efstratiou A, Dover LG, Holden MT, Pallen M, Bentley SD, Besra GS, Churcher C, James KD, De Zoysa A, Chillingworth T, Cronin A, Dowd L, Feltwell T, Hamlin N, Holroyd S, Jagels K, Moule S, Quail MA, Rabinowitsch E, Rutherford KM, Thomson NR, Unwin L, Whitehead S, Barrell BG, Parkhill J. The complete genome sequence and analysis of *Corynebacterium diphtheriae* NCTC13129. *Nucleic Acids Research*, 2003, 31(22) :6516-6523.
- [22] Leyden JJ. The evolving role of *Propionibacterium acnes* in acne. *Seminars in Cutaneous Medicine and Surgery*, 2001, 20(3) :139-143.
- [23] Takeuchi T, Sawada H, Tanaka F, Matsuda I. Phylogenetic analysis of *Streptomyces* spp. causing potato scab based on 16S rRNA sequences. *International Journal of Systematic Bacteriology*, 1996, 46(2) :476-479.
- [24] Goodfellow M. Systematics is classified as "A discipline in critical decline": Does this matter? In Proceedings of the 15th International Symposium on the Biology of Actinomycetes, Shanghai, China. 2009.
- [25] Borodina I, Krabben P, Nielsen J. Genome-scale analysis of *Streptomyces coelicolor* A3(2) metabolism. *Genome Research*, 2005, 15(6) :820-829.
- [26] Lechevalier MP, Lechevalier HA. Chemical composition as a criterion in the classification of aerobic actinomycetes. *International Journal of Bacteriology*, 1970, 20(4) :435-443.
- [27] Williams ST, Goodfellow M, Alderson G, Wellington EMH, Sneath PHA, Sackin MJ. Numerical classification of *Streptomyces* and related genera. *Journal of General Microbiology*, 1983, 129(6) :1743-1813.
- [28] Vandamme P, Pot B, Gillis M, DeVos P, Kersters K, Swings J. Polyphasic taxonomy, a consensus approach to bacterial systematics. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 1996, 60(2) :407-438.
- [29] Eisen JA, Hanawalt PC. A phylogenomic study of DNA repair genes, proteins, and processes. *Mutation Research-DNA Repair*, 1999, 435(3) :171-213.
- [30] Wu D, Hugenholtz P, Mavromatis K, Pukall R, Dalin E, Ivanova NN, Kunin V, Goodwin L, Wu M, Tindall BJ, Hooper SD, Pati A, Lykidis A, Spring S, Anderson IJ, D'haeseleer P, Zemla A, Singer M, Lapidus A, Nolan M, Copeland A, Han C, Chen F, Cheng JF, Lucas S, Kerfeld C, Lang E, Gronow S, Chain P, Bruce D, Rubin EM, Kyrpides NC, Klenk HP, Eisen JA. A phylogeny-driven genomic encyclopaedia of Bacteria and Archaea. *Nature*, 2009, 462(7276) :1056-1060.
- [31] Embley TM, Stackebrandt E. The molecular phylogeny and systematics of the actinomycetes. *Annual Review of Microbiology*, 1994, 48 :257-289.
- [32] Stackebrandt E, Rainey FA, WardRainey NL. Proposal for a new hierarchic classification system, *Actinobacteria* classis nov.. *International Journal of Systematic Bacteriology*, 1997, 47(2) :479-491.
- [33] Zhi XY, Li WJ, Stackebrandt E. An update of the structure and 16S rRNA gene sequence-based definition of higher ranks of the class *Actinobacteria*, with the proposal of two new suborders and four new families and emended descriptions of the existing higher taxa. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 2009, 59 :589-608.
- [34] Delsuc F, Brinkmann H, Philippe H. Phylogenomics and the reconstruction of the tree of life. *Nature Reviews Genetics*, 2005, 6(5) :361-375.
- [35] Baum BR. Combining trees as a way of combining data sets for phylogenetic inference, and the desirability of combining gene trees. *Taxon*, 1992, 41(1) :3-10.
- [36] Ragan MA. Phylogenetic inference based on matrix representation of trees. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 1992, 1(1) :53-58.

- [37] Zhang Z, Kudo T, Nakajima Y, Wang Y. Clarification of the relationship between the members of the family *Thermomonosporaceae* on the basis of 16S rDNA, 16S-23S rRNA internal transcribed spacer and 23S rDNA sequences and chemotaxonomic analyses. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 2001, 51 (Pt 2):373-383.
- [38] Alam MT, Merlo ME, Takano E, Breitling R. Genome-based phylogenetic analysis of *Streptomyces* and its relatives. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 2010, 54 (3):763-772.
- [39] Gao B, Gupta RS. Conserved indels in protein sequences that are characteristic of the phylum *Actinobacteria*. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 2005, 55 (6):2401-2412.
- [40] La Scola B, Fenollar F, Fournier PE, Altwegg M, Mallet MN, Raoult D. Description of *Tropheryma whipplei* gen. nov. , sp. nov. , the Whipple ' s disease bacillus. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 2001, 51 :1471-1479.
- [41] Casanova JL, Abel L. Genetic dissection of immunity to mycobacteria: The human model. *Annual Review of Immunology*, 2002, 20 :581-620.
- [42] Hugenholtz P, Stackebrandt E. Reclassification of *Sphaerobacter thermophilus* from the subclass *Sphaerobacteridae* in the phylum *Actinobacteria* to the class *Thermomicrobia* (emended description) in the phylum *Chloroflexi* (emended description). *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 2004, 54 :2049-2051.
- [43] Labeda DP, Kroppenstedt RM. Phylogenetic analysis of *Saccharothrix* and related taxa: proposal for *Actinosynnemataceae* fam. nov. . *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 2000, 50 :331-336.
- [44] Labeda DP, Goodfellow M, Chun J, Zhi XY, Li WJ. Reassessment of the Systematics within the suborder *Pseudonocardineae*: Transfer of the genera within the family *Actinosynnemataceae* (Labeda and Kroppenstedt 2000) Zhi *et al.* 2009 into an emended family *Pseudonocardiaceae* (Embley *et al.* 1989) Zhi *et al.* 2009. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, inpress.
- [45] Egan S, Wiener P, Kallifidas D, Wellington EMH. Phylogeny of *Streptomyces* species and evidence for horizontal transfer of entire and partial antibiotic gene clusters. *Antonie van Leeuwenhoek International Journal of General and Molecular Microbiology*, 2001, 79 (2): 127-133.
- [46] Wang Y, Zwang ZS, Ramanan N. The actinomycete *Thermobispora bispora* contains two distinct types of transcriptionally active 16S rRNA genes. *Journal of Bacteriology*, 1997, 179 (10):3270-3276.
- [47] Wang Y, Zhang ZS, Ruan JS. A proposal to transfer *Microbispora bispora* (Lechevalier 1965) to a new genus, *Thermobispora* gen. nov. , as *Thermobispora bispora* comb. nov. . *International Journal of Systematic Bacteriology*, 1996, 46 (4):933-938.
- [48] Brown JR, Douady CJ, Italia MJ, Marshall WE, Stanhope MJ. Universal trees based on large combined protein sequence data sets. *Nature Genetics*, 2001, 28 (3):281-285.
- [49] Herniou EA, Luque T, Chen X, Vlak JM, Winstanley D, Cory JS, O'Reilly DR. Use of whole genome sequence data to infer baculovirus phylogeny. *Journal of Virology*, 2001, 75 (17):8117-8126.
- [50] Ciccarelli FD, Doerks T, von Mering C, Creevey CJ, Snel B, Bork P. Toward automatic reconstruction of a highly resolved tree of life. *Science*, 2006, 311 (5765): 1283-1287.
- [51] Snel B, Huynen MA, Dutilh BE. Genome trees and the nature of genome evolution. *Annual Review of Microbiology*, 2005, 59 :191-209.
- [52] Kunisawa T. Gene arrangements characteristic of the phylum *Actinobacteria*. *Antonie van Leeuwenhoek International Journal of General and Molecular Microbiology*, 2007, 92 (3):359-365.
- [53] Rong XY, Guo YP, Huang Y. Proposal to reclassify the *Streptomyces albidoflavus* clade on the basis of multilocus sequence analysis and DNA-DNA hybridization, and taxonomic elucidation of *Streptomyces griseus* subsp. *solvifaciens*. *Systematic and Applied Microbiology*, 2009, 32 (5):314-322.
- [54] Rong XY, Huang Y. Taxonomic evaluation of the *Streptomyces griseus* clade using multilocus sequence analysis and DNA-DNA hybridization, with proposal to combine 29 species and three subspecies as 11 genomic species. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 2010, 60 :696-703.
- [55] Koonin EV, Aravind L, Kondrashov AS. The impact of comparative genomics on our understanding of evolution. *Cell*, 2000, 101 (6):573-576.

- [56] Rokas A, Holland PWH. Rare genomic changes as a tool for phylogenetics. *Trends in Ecology & Evolution*, 2000, 15(11):454-459.
- [57] H.-P. Klenk, M. Göker. En route to a genome-based classification of Archaea and Bacteria? *Syst. Appl. Microbiol.* 2010 June ;33(4):175-182.
- [58] Gupta RS. Protein phylogenies and signature sequences: A reappraisal of evolutionary relationships among archaeobacteria, eubacteria, and eukaryotes. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 1998, 62 (4): 1435-1491.
- [59] Gao B, Paramanathan R, Gupta RS. Signature proteins that are distinctive characteristics of *Actinobacteria* and their subgroups. *Antonie van Leeuwenhoek International Journal of General and Molecular Microbiology*, 2006, 90(1):69-91.
- [60] Phillips RW, Wiegel J, Berry CJ, Flierhans C, Peacock AD, White DC, Shinkets LJ. *Kineococcus radiotolerans* sp. nov., a radiation-resistant, Gram-positive bacterium. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 2002, 52:933-938.
- [61] Lin J, Gerstein M. Whole-genome trees based on the occurrence of folds and orthologs: Implications for comparing genomes on different levels. *Genome Research*, 2000, 10(6):808-818.
- [62] 职晓阳, 蔡曼, 杨玲玲, 李文均, 徐丽华, 刘志恒, 姜成林. 建立放线菌门的证据. *微生物学通报 (Microbiology)*, 2006, 33(3):181-183.
- [63] Qi J, Wang B, Hao BL. Whole proteome prokaryote phylogeny without sequence alignment: A k-string composition approach. *Journal of Molecular Evolution*, 2004, 58(1):1-11.
- [64] Li Q, Xu Z, Hao BL. Composition vector approach to whole-genome-based prokaryotic phylogeny: Success and foundations. *Journal of Biotechnology*, 2010, to appear.
- [65] Hao B, Gao L. Prokaryotic branch of the Tree of Life: A composition vector approach. *Journal of Systematics and Evolution*, 2008, 46(3):258-262.
- [66] Garrity GM, Winters M, Searles D. *Bergey's manual of systematic bacteriology*. 2nd eds. New York: Springer-Verlag, 2001.
- [67] Roller C, Ludwig W, Schleifer KH. Gram-positive bacteria with a high DNA G + C content are characterized by a common insertion within their 23S ribosomal-RNA genes. *Journal of General Microbiology*, 1992, 138:1167-1175.
- [68] Kurahashi M, Fukunaga Y, Sakiyama Y, Harayama S, Yokota A. *Euzebya tangerina* gen. nov., sp. nov., a deeply branching marine actinobacterium isolated from the sea cucumber *Holothuria edulis*, and proposal of *Euzebyaceae* fam. nov., *Euzebyales* ord. nov. and *Nitriliruptoridae* subclassis nov. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 2010, 60:2314-2319.
- [69] Yoon JH, Kim IG, Shin YK, Park YH. Proposal of the genus *Thermoactinomyces sensu stricto* and three new genera, *Laceyella*, *Thermoactinomyces* and *Seinonella*, on the basis of phenotypic, phylogenetic and chemotaxonomic analyses. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 2005, 55:395-400.
- [70] 徐丽华, 李文均, 刘志恒, 姜成林. 放线菌系统学——原理、方法及实践. 北京: 科学出版社, 2004:464-465.
- [71] K. H. Schleifer, Classification of Bacteria and Archaea: Past, present and future, *Syst. Appl. Microbiol.* 2009 Dec;32(8):533-42.
- [72] Yarza P, Richter M, Peplies J, Euzéby J, Amann R, Schleifer K.-H., Ludwig W., Glockner F. O., Rosselló-Móra R. (2008) The All-Species Living Tree Project: a 16S rRNA-based phylogenetic tree of all sequenced type strains. *Syst. Appl. Microbiol.* 31, 241-250.
- [73] Yarza P, Ludwig W, Euzéby J, Amann R, Schleifer KH, Glockner FO, Rosselló-Móra R. Update of the All-Species Living Tree Project based on 16S and 23S rRNA sequence analyses. *Syst Appl Microbiol.* 2010 Oct;33(6):291-299.
- [74] Goodfellow M, Fiedler H-P. A guide to successful bioprospecting: informed b actinobacterial systematic. *Antonie van Leeuwenhoek International Journal of General and Molecular Microbiology*, 2010, 98:119-142.

Advances in Actinobacterial Systematics in Genomic Era

Zhiheng Liu¹, Jian Wang^{1,2}, Lixin Zhang^{1,2}*

¹ Institute of Microbiology, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100190, China
² South China Sea Institute of Oceanology, Chinese Academy of Sciences, Guangzhou 510301, China

Abstract: Actinobacteria is one of the best studied taxa of prokaryotes due to its great importance in biotechnology, medical science, ecology and *etc.*. Modern actinobacterial taxonomy is polyphasic taxonomy, which is based on the phylogenetic analysis of sequences of 16S rRNA genes and other conservative molecular sequences, and employs a variety of microbial information for polyphasic systematic study. Currently, with the development of large-scale sequencing, over 100 actinobacterial genomes have been finished. A comprehensive, detailed and robust phylogeny of actinobacteria is thus needed for understanding how this group emerged and maintained such a vast diversity throughout evolution and how every subgroup related to each other from various habitats. “Phylogenomics” and “Genomic Encyclopedia of Bacteria and Archaea, GEBA project” indicated that actinobacterial taxonomy stepped into the era of genomics. This review summarizes the actinobacterial taxonomic methodology of the genomic era, and results from recent studies.

Keywords: actionbacteria, actinobacterial taxonomy, phylogenomics, GEBA (Genomic Encyclopedia of Bacteria and Archaea) project

(本文责编:王晋芳)

Supported by the National Natural Science Foundation of China (31000004)
* Corresponding author. Tel: + 86-10-62538564; Fax: + 86-10-62566511; E-mail: zhliu@ sun. im. ac. cn, zhanglixin@ im. ac. cn
Received: 28 October 2010

1953 年创刊以来所有文章全文上网

从 2008 年 1 月开始《微生物学报》的所有文章开始全文上网了。欢迎广大读者登陆本刊主页 (<http://journals.im.ac.cn/actamicrocn>) 浏览、查询、免费下载全文! 由于《微生物学报》历史久远, 为方便读者查阅, 将刊期变化作以下统计。

《微生物学报》刊、期统计表
2011 年 2 月统计

时间	刊期	卷号	期号
1953 – 1956	半年刊	1 – 4	1 – 2
1957 – 1958	季刊	5 – 6	1 – 4
1959	季刊	7	1 – 2
1959 – 1962	停刊 3 年		
1962	季刊	8	3 – 4
1963 – 1965	季刊	9 – 11	1 – 4
1966	季刊	12	1 – 2
1966 – 1972	停刊 6 年半		
1973 – 1988	季刊	13 – 28	1 – 4
1989 – 2007	双月刊	29 – 47	1 – 6
2008	月刊	48	1 – 12
2009	月刊	49	1 – 12
2010	月刊	50	1 – 12
2011	月刊	51	1 – 2