

放线菌研究专栏

建立放线菌门的证据*

职晓阳¹ 蔡 曼¹ 杨玲玲¹ 李文均^{1**} 徐丽华¹ 刘志恒² 姜成林¹(云南大学微生物研究所 昆明 650091)¹ (中国科学院微生物研究所 北京 100080)²

摘要:放线菌是细菌域中的一个重要类群,其分类地位一直受到人们的关注。《伯杰氏细菌系统学手册》第二版,把放线菌从厚壁菌门中的一个纲提升为放线菌门。目前的研究发现,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,可以将放线菌与其它细菌区分开,为放线菌门的建立提供了新的有力证据。简述了国内外的研究信息,并提出了自己的一些观点,供国内学者参考。

关键词:放线菌门, 16S rRNA, 分类

中图分类号: Q93 **文献标识码:** A **文章编号:** 0253-2654 (2006) 03-0181-03

放线菌形态多样、生理活性丰富,在生态系统中扮演着重要的角色;又能产生种类繁多的胞外酶和次生代谢产物,是一类重要的微生物资源。所以放线菌的分类地位一直受到各国学者的广泛重视。

1 放线菌分类地位的演变

1875 年 Cohn 最早发现了放线菌,由于大多数放线菌具有发育良好的菌丝体,19 世纪前人们曾将其归入真菌中。随着科学的发展和新技术的应用,人们对微生物的认识逐渐深入,才将放线菌列于细菌中。1968 年 Murray 将放线菌归入原核生物界厚壁菌门。1986 年出版的《伯杰氏系统细菌学手册》中,放线菌被划分在原核生物界,厚壁菌门,裂殖菌纲,放线菌目。1997 年,Stackebrandt 等^[1]通过对 16S rRNA 序列进化分析,提出了放线细菌纲 (Class Actinobacteria) 这一分类等级。此时的放线菌纲既包括产菌丝的经典放线菌,又包括细菌形态的放线细菌。2001 年出版的《伯杰氏系统细菌学手册》第二版把高 G + C 含量革兰氏阳性细菌确定为放线菌门 (phylum Actinobacteria)^[2]。2005 年 Beile Gao 等^[3]进一步验证了这一结论。

* 国家“973 项目”(No. 2004CB719601)

国家自然科学基金资助 (No. 30560001)

云南省自然科学基金 (No. 2004C0002Q)

教育部“新世纪优秀人才支持计划”资助

** 通讯作者 Tel: 86-871-6231202, Fax: 86-871-5173878, E-mail: wjli@ynu.edu.cn, liact@hotmail.com

收稿日期: 2006-02-28, 修回日期: 2006-03-20

2 建立放线菌门的证据

2.1 16S rRNA 系统发育树

根据很多学者的研究结果,在涵盖细菌域的 16S rRNA 系统发育树中,放线菌的系统发育深度与厚壁菌门等 13 个门基本相当,能够将放线菌与其他低 GC 革兰氏阳性细菌分开。

2.2 23S rRNA 插入序列

早在 1992 年,Roller^[4]就提出,放线菌的 23S rRNA 中,有 90~100bp 插入序列,这是放线菌区别于其它细菌的明显特征。但由于当时选取的实验菌株较少,缺乏代表性,所以没有成为放线菌门成立的有力证据。Beile Gao 等^[3]在 Roller 的基础上扩大了实验菌株的选取范围,进一步证实了放线菌 23S rRNA 确实存在特异性的插入序列,而其他细菌并不存在这类插入序列。

2.3 细胞色素 C 等分子结构获得的新证据

2005 年 Beile Gao 等在 IJSEM 杂志上发表的一篇论文^[3],为放线菌门的建立提供了新的有力证据。在这项研究中,他们发现细胞色素 C 氧化酶 1 亚基上的一个保守区域中存在 2 个氨基酸的缺失,且缺失仅存在于放线菌中。除了支原体外,编码 CTP 合成酶的基因在所有其它微生物基因组上都存在,并且只有一个拷贝。CTP 合成酶基因也广泛分布于细菌基因组,并且只有一个拷贝。在几乎所有放线菌的 CTP 合成酶中存在 4 个氨基酸的插入。谷氨酰 tRNA 合成酶在蛋白质合成中扮演重要的角色,在几乎所有放线菌的谷氨酰 tRNA 合成酶同源蛋白质中存在 5 个氨基酸的插入。这些特征存在于几乎所有放线菌的同源蛋白中,但在任何其它细菌类群中没有被发现。

2.4 CV 法研究提供的证据

郝柏林等使用 CV 法 (A composition vector method),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,放线菌 (包括 *Propionibacterium*, *Mycobacterium*, *Nocardia*, *Streptomyces* 等) 与厚壁菌的系统发育分歧久远。这些结果与 rRNA 构建的系统发育树很相似,也与《伯杰氏系统细菌学手册》的结果十分吻合。

3 系统学研究的复杂性

在 Beile Gao 等的研究中,他们选取了具有代表性的实验菌株,最终发现了 3 个新的分子标记,为放线菌门的建立提供了有力的佐证。同时,也验证了 23S rRNA 中 90~100bp 插入序列也是放线菌特有的。但也存在着极少数的例外,如: *Symbiobacterium thermophilum*。这个种目前被放在放线菌中,但缺少所有上述特征。表明它不应该划入放线菌门,尽管它具有高 G + C 含量。Ueda 等也分析了 *Symbiobacterium thermophilum* 基因组的不同基因,表明这个种的亲缘关系更近于厚壁菌门,而不应该划入放线菌门^[5]。了解这些标记蛋白质的基因保守片段的遗传变化,功能及生物学意义是非常重要的。因为大部分的这些插入或缺失序列还没有从这个门的任何种中消失,可以合理地认为,它们在这些生物中扮演着重要的生物学角色。

在放线菌分类著作中,高温放线菌属 (*Thermoactinomyces*) 是一个古老的属,它的

分类地位长期未确定。从许多人进行的 DNA 和 rRNA 的研究结果表明, 该属与 *Bacillus* 细菌的亲缘关系更近。2005 年, Yoon 等^[6] 将高温放线菌属分成 4 个属, 即高温放线菌属 (*Thermoactinomyces*), 莱斯氏属 (*Laceyella*), 黄色高温菌属 (*Thermoflavimicrobium*), 清野氏菌属 (*Seinonella*)。2005 年 Hatayama 等^[7] 报道了直丝菌属 (*Planifilum*), 也放入“高温放线菌科”。但“List of Prokaryotic Names with Standing in Nomenclature”迄今也未承认这个科。在《伯杰氏细菌系统学手册》第二版, 将高温放线菌放入厚壁菌门 (Phylum BXII *Firmicutes*)、芽孢杆菌纲 (Class “*Bacilli*”)、芽孢杆菌目 (Order *Bacillales*) 的高温放线菌科 (“*Thermoactinomycetaceae*”)。这 5 个属在形态上, 有发育良好的菌丝体, 应属于放线菌, 但有细菌样的内生孢子; 细胞壁含 meso-DAP, 无特征性糖 (胞壁 III 型), 属于放线菌; 用 Tm 法测定, GC 含量为 52 ~ 58mol%, 属于放线菌, 用 HPLC 法测定, 在 40 ~ 49mol%, 属于低 GC 革兰氏阳性细菌。因此, 我们支持将这 5 个属组合为高温放线菌科 (*Thermoactinomycetaceae*, Yoon et al., 2005)^[6]。但是, 我们认为这个科的位置应该是低 GC 革兰氏阳性细菌 (厚壁菌门) 和高 GC 革兰氏阳性细菌 (放线菌门) 之间的界限微生物。

4 关于放线菌的定义及范围

准确定义放线菌的分类地位无论对于系统学本身的发展, 还是对微生物资源开发的应用科学都有理论指导意义。目前国际上已经普遍接受了放线菌门的概念, 美国国家生物技术中心 (NCBI) 的 Taxonomy 数据库已经将放线菌作为门来收录。在国内, 阮继生^[6] 作过介绍。我们综合各种证据认为, 放线菌是指 DNA 的 G + C 含量在 50 mol% 以上的革兰氏阳性细菌, 它们的 16S rRNA 在系统发育上密切相关, 既包括具有细菌形态的放线细菌, 又包括传统意义上的菌丝较为丰富的经典放线菌。放线菌门 (Phylum BXIV *Actinobacteria*) 属于细菌域, 与其他 13 个门并列。放线菌门仅有放线菌纲 (Class *Actinobacteria*)。放线菌纲有 5 个亚纲: 酸杆菌亚纲 (Subclass *Acidimicrobiales*), 红细菌亚纲 (Subclass *Rubrobacteriales*), 红螺菌纲 (Subclass *Coriobacteriales*), 球杆菌亚纲 (Subclass *Sphaerobacteriales*), 放线菌亚纲 (Subclass *Acinobacteriales*)。放线菌亚纲包括放线菌目 (Order *Actinomycetales*) 和双歧杆菌目 (Order *Bifidobacteriales*)。

致谢: 郝柏林教授提供 CV 法研究, 特致谢!

参考文献

- [1] Stackebrandt E, Rainey F A, Ward-Rainey N L. *Int J Syst Bacteriol*, 1997, **47**: 479 ~ 491.
- [2] Boone D R, Castenholz R W, Garrity G M (editors). New York: Springer, 2001.
- [3] Beile G, Radhey S, Gupta Int J Syst Evol Microbiol, 2005, **55**: 2401 ~ 2412.
- [4] Roller C, Ludwig W, Schleifer K H. *J Gen Microbiol*, 1992, **138**: 167 ~ 175.
- [5] Ueda K, Yamashita A, Ishikawa J, et al. *Nucleic Acids Research*, 2004, **32**: 4937 ~ 4944.
- [6] Yoon J H, Kim I G, Shin Y K, et al. *Int J Syst Evol Microbiol*, 2005, **55**: 395 ~ 400.
- [7] Hatayama K, Shoun H, Ueda Y, et al. *Int J Syst Evol Microbiol*, 2005, **55**: 2101 ~ 2104.
- [8] 阮继生. 微生物学通报, 2005, **32**: 129 ~ 132.