



专论与综述

粘细菌基因组学研究进展

王春玲^{1,2} 冯广达¹ 姚青² 李安章¹ 朱红惠^{*1}

1 广东省微生物研究所 省部共建华南应用微生物国家重点实验室 广东省微生物菌种保藏与应用重点实验室
广东省微生物菌种保藏中心(GDMCC) 广东 广州 510070

2 华南农业大学园艺学院 广东 广州 510642

摘要: 粘细菌(*Myxobacteria*)隶属于 δ 变形菌纲(*Deltaproteobacteria*)的粘球菌目(*Myxococcales*), 是一类革兰氏阴性杆状细菌。它是继放线菌和真菌之后又一重要的活性次级代谢产物产生菌, 尽管如此, 由于分离纯化困难, 粘细菌的研究进展一直较为缓慢。随着测序技术的进步和生物信息学的应用, 大量粘细菌基因组被完成测序和报道。本文对粘细菌研究意义及该类资源开发价值、分离培养存在的困难进行了阐述, 对粘细菌基因组注释及目前已测菌株的全基因组进行了归纳总结, 同时介绍了基因组学在粘细菌生态、捕食机制、子实体形成以及次级代谢产物合成方面的研究进展。本文有助于了解基因组学在粘细菌研究中的重要价值, 为联合应用多组学技术深入研究粘细菌代谢机制和社会性行为提供了参考, 对粘细菌基础研究、资源发掘和开发利用具有重要意义。

关键词: 粘细菌, 基因组学, 高通量测序, 次级代谢产物

Research progress in genomics of *Myxobacteria*WANG Chun-Ling^{1,2} FENG Guang-Da¹ YAO Qing² LI An-Zhang¹ ZHU Hong-Hui^{*1}

1 State Key Laboratory of Applied Microbiology Southern China, Guangdong Provincial Key Laboratory of Microbial Culture Collection and Application, Guangdong Microbial Culture Collection Center (GDMCC), Guangdong Institute of Microbiology, Guangzhou, Guangdong 510070, China

2 College of Horticulture, South China Agricultural University, Guangzhou, Guangdong 510642, China

Abstract: *Myxobacteria* are Gram-staining-negative and rod-shaped bacteria belonging to the order *Myxococcales* in the class of *Deltaproteobacteria*. The excellent capability of producing secondary metabolites makes myxobacteria one of the most important sources of natural products, following fungi and actinomycetes. However, the research and development of *Myxobacteria* has been limited because of the difficulty to isolate and purify *Myxobacteria* strains. With the advances in sequencing technology and bioinformatics, a large number of genomes of *Myxobacteria* have been sequenced and released. In this paper, we reviewed the importance of research, value of resource development and difficulties of isolation

Foundation items: National Natural Science Foundation of China (31470141, 31600008, 31800003); The Science and Technology Innovation Leading Talent Program of Guangdong Province (2015TX01N036); The GDAS' Special Project of Science and Technology Development (2019GDASYL-0401002)

***Corresponding author:** Tel: 86-20-87685669; E-mail: zhuhh@gdim.cn

Received: 24-09-2018; **Accepted:** 25-01-2019; **Published online:** 19-03-2019

基金项目: 国家自然科学基金(31470141, 31600008, 31800003); 广东省科技创新领军人才项目(2015TX01N036); 广东省科学院科学技术发展专项(2019GDASYL-0401002)

***通信作者:** Tel: 020-87685669; E-mail: zhuhh@gdim.cn

收稿日期: 2018-09-24; **接受日期:** 2019-01-25; **网络首发日期:** 2019-03-19

and purification in *Myxobacteria*, summarized the published myxobacterial genomes and their annotation information, introduced the research progress of myxobacterial genomics involved in myxobacterial ecology, predation mechanism, formation of fruiting bodies and producing of secondary metabolites. This paper is helpful for understanding the important value of genomics in *Myxobacteria* research and for further investigating the metabolic mechanism and social behaviors of *Myxobacteria* using multi-omics techniques, with great significance for resource collection and development of *Myxobacteria*.

Keywords: *Myxobacteria*, Genomics, High-throughput sequencing, Secondary metabolites

粘细菌(*Myxobacteria*)是一类革兰氏阴性细菌, 营养细胞相对较大, 在(0.5–1.1) μm ×(5–8) μm 之间, 隶属于 δ 变形菌纲(*Deltaproteobacteria*)的粘球菌目(*Myxococcales*), 目前包括 3 个亚目: 孢囊杆菌亚目(*Cystobacterineae*)、堆囊菌亚目(*Sorangiiineae*)和小囊菌亚目(*Nannocystineae*)。粘细菌广泛分布于各种环境中, 如土壤、草食动物的粪便、腐烂植物的表面, 在淡水^[1]、海洋^[2]及沼泽^[3]等环境中也有分布。根据利用底物类型不同, 可分为噬细菌型(Bacteriolytic)粘细菌和噬纤维素(Cellulolytic)粘细菌, 目前绝大多数可培养的粘细菌都属于噬细菌类型, 仅堆囊菌属(*Sorangium*)和 *Byssovorax* 属于噬纤维素类型。粘细菌具有复杂的社会行为如滑行运动, 形成子实体和抗逆性粘孢子及捕食其他细菌和真菌等, 更为重要的是粘细菌能够产生种类丰富和结构新颖的活性次级代谢产物, 特别是堆囊菌属是一类具有独特结构和行为模式的天然产物资源库^[4], 因此, 粘细菌具有重要的研究价值。尽管如此, 从发现至今的 200 多年中, 粘细菌仅被发现 10 个科 30 个属和 66 个物种, 各方面研究进展一直很慢, 直到基因组时代的到来, 才有了新的突破。

微生物基因组学(Microbial genomics)^[5]是研究基因组组成、进化和生物如何利用基因的一门学科, 包括两方面内容, 第一方面是结构基因组学, 研究生物基因组的组成、进化和选择压力; 第二方面是功能基因组学, 研究基因功能发现、基因表达分析和突变检测。近年来, 随着组学技术和生物信息学等研究的不断深入, 进一步拓宽了粘细菌的研究和应用范畴, 高通量测序技术为粘细菌的研究带来了突破性进展。本文从粘细菌研究意义、传统研

究方法遇到的瓶颈及粘细菌基因组学研究现状进行综述, 总结了基因组学在粘细菌研究中的重要价值, 并对联合应用多组学技术深入研究粘细菌进行展望。

1 粘细菌具有重要的研究意义

粘细菌是一类捕食菌和大分子物质降解菌, 能够影响环境中其他微生物数量, 控制生态平衡。粘细菌运用两套独特的运动系统进行移动, 即群体运动系统(S-motility)和探险运动系统(A-motility)。这两套运动系统时空协调, 不仅促进了营养细胞向前移动形成 Swarm^[6], 而且是细胞间捕食^[7]及多细胞子实体形成等社会性行为的基础^[8]。当营养充足时, Swarms 会分泌水解酶或某些次级代谢产物, 裂解并释放营养物质, 被细胞消化利用^[6,9]。当营养缺乏时, 大部分营养细胞会死亡, 一小部分营养细胞(大约 5%)缩短变粗, 形成圆形的抗逆性粘孢子, 粘孢子聚集在一起, 形成肉眼可见的子实体^[10], 用于抵御不良环境。遇到适宜的环境条件, 粘孢子又会重新萌发变成营养细胞进行生长^[11]。在进化过程中, 粘细菌形成的多细胞行为, 是为了维持它们特殊的捕食生活方式, 适应复杂多变的环境。

粘细菌能够产生许多结构独特、新颖的次级代谢产物, 对于新药研发具有很高价值。迄今为止, 人们从粘细菌中发现 100 多种次级代谢产物及 600 多种新的结构衍生物^[12]。这些次级代谢产物主要包括了非核糖体肽(Non-ribosomal peptide, NRP)、聚酮化合物(Polyketide, PK)和二者杂合类化合物、萜类、类丙酯类和生物碱等^[13]。这些重要的活性天然产物在抵御病原菌、疟疾、病毒、免疫抑制力及杀虫等领域都展现了重要的应用前景^[14]。最著名的抗癌药

物埃博霉素 2007 年已经被美国 FDA 批准上市, 被认为是 21 世纪将取代紫杉醇的更为有效的抗肿瘤药物。粘细菌复杂的社会行为和强大的大分子物质降解能力为微生物生态和应用研究提供了丰富的素材。

2 传统研究方法遇到的瓶颈

2.1 粘细菌资源挖掘技术困难

目前分离粘细菌常用的方法有大肠杆菌诱导法、兔粪诱导法及纤维滤纸法等, 每种方法都存在一定的局限性, 只能分离到一个或几个种类^[15]。另外, 粘细菌主要通过诱导子实体形成进行分离, 而环境中有些粘细菌缺少子实体形成基因^[16]或缺乏合适的诱导因子导致不能形成子实体^[17-18], 从而未被分离到。此外, 粘细菌生长缓慢, 极易被其他真菌或细菌覆盖, 从而使其纯化难度也很大。

本研究团队长期从事粘细菌资源挖掘, 从多种环境如亚热带森林土壤^[19]、湿地^[20]、新疆盐碱地^[21]及药用植物根系土壤^[22]等环境中进行粘细菌的分离工作。目前已分离获得粘细菌资源 600 多株, 涵盖了粘细菌的 14 个属, 其中以珊瑚球菌属、粘球菌属和原囊菌属的菌株为主。还尝试了多种新的分离方法如使用不同辅助菌^[23]或者向培养基中添加土壤提取液诱导子实体形成, 为粘细菌新资源的分离提供了思路。在分离过程中发现部分粘细菌形成的子实体, 转接入培养基中难以生长, 可能培养基中缺少了生长所需的某种特殊条件。目前, 粘细菌新资源的分离仍然是亟待解决的重大挑战之一。

2.2 粘细菌应用开发困难

粘细菌的天然活性产物在本源菌中产量很低, 其高效培养及规模化发酵技术尚不成熟, 导致其产品价格高昂。另一方面, 仅在橙色粘球菌 *Myxococcus fulvus* 中发现具有独立于染色体存在的自主复制质粒, 致使粘细菌的遗传操作手段有限。粘球菌主要通过由 pBJ113 质粒的抗性基因盒和负筛选基因 *galK* 二次筛选策略来进行基因敲除, 而

纤维堆囊菌只能通过自杀质粒实现基因的插入与失活。这些方法通量低、周期长、有些基因不能被敲除或者敲除后会导致其他遗传物质改变, 从而限制了粘细菌的研究^[24]。

3 粘细菌基因组学研究现状

随着大量粘细菌基因组被测序, 生物信息学迅速发展, 相应地, 基因组学在粘细菌生态、多细胞社会行为及次级代谢产物形成等方面被广泛应用, 并取得了突破性进展。

3.1 基因组注释

随着基因组和生物信息学研究的不断深入, 越来越多的软件及在线工具被开发, 用于基因组分析。首先, 对于基因组序列, 要进行基因组组件识别和开放阅读框(ORF)的预测。基因组组件主要包括 rRNA、tRNA 及一些控制元件、转座子和重复序列元件。RNAmmer^[25]预测 rRNA 及 Rfam 数据库^[26]预测其他小 RNA。tRNAscan-SE 软件^[27]预测 tRNA。ORF 预测工具主要有 Glimmer (ccb.jhu.edu/software/glimmer/index.shtml)^[28]或 GENSCAN^[29]等。其次, 对基因组功能的注释, 主要通过 COG 数据库(NCBI 注释同源蛋白的数据库)^[30]、NR 数据库(NCBI 中一个综合的蛋白质注释数据库)、KEGG 数据库(预测代谢通路和蛋白质互作数据库)和 RAST 在线服务器等进行注释。一般每个基因组都采用多种数据库进行注释, 综合其信息得到最优的结果。对于粘细菌基因组的分析, 还会涉及到专门的数据库, 如用 antiSMASH 数据库^[31]预测次级代谢产物合成基因簇、CAZy 数据库^[32]预测多糖水解酶(www.cazy.org)、P2CS 数据库预测双组分系统(TCS, www.p2cs.org)、CRISPR 数据库分析粘细菌含有的 CRISPR 系统。对于遗传进化研究, 一般通过 OrthoFinder^[33]或 BPGA^[34]寻找同源基因或核心基因组和泛基因组。

3.2 粘细菌全基因组测序进展

随着黄色粘球菌 *Myxococcus xanthus* DK1622 在 2006 年被完成基因组测序以来, 粘细菌进入了基因组时代。根据 NCBI (<https://www.ncbi.nlm.nih>).

gov/genome)和 JGI 数据库(<https://genome.jgi.doe.gov/portal/?core=genome&query=Myxococcales&searchIn>)公布的基因组信息, 共有 91 株菌株已完成测序, 其中公开发表 23 株, 结果见表 1。除 *Vulgatibacter incomptus* DSM27710^T (4.35 Mb)^[35]、厌氧粘细菌 *Anaeromyxobacter dehalogenans* 2CP-1 和 2CP-C (5.0 Mb, (G+C)mol%含量 75%)^[16]外, 其他已知粘细菌基因组大小为 9–16 Mb, 远大于其他 δ 变形菌纲的基因组(一般 2–7 Mb)。粘细菌基因组的 (G+C) mol%含量(67%–75%)也远远高于其他细菌。目前已知最大粘细菌基因组是 *Minicystis rosea* DSM24000^T (16.04 Mb)^[36], 它也是迄今为止在细菌中发现的最大基因组菌株, 其次是纤维堆囊菌 *Sorangium cellulosum* So0157-2^T (14.78 Mb)^[37]。橙色

粘球菌 *Myxococcus fulvus* DSM16525^T 是目前发现唯一具有能够独立存在和进行内源性自主复制质粒 pMF1 的菌株^[38], 而其他已知粘细菌的遗传物质都是由单一环状染色体组成。菌株 *Sandaracinus amylolyticus* DSM53668^T 是目前报道唯一具有淀粉酶活性的粘细菌^[39]。菌株 *Archangium gephyra* DSM2261^T 含有一个几丁质酶基因, 它来自于菌株 *Acidobacteria* 的水平基因转移, 但这个基因不具有几丁质酶活性, 而与其邻近的其他种属都具有一定的酶活性^[40]。CRISPR 数据库分析发现粘细菌基因组中含有 CRISPR 系统, 该系统参与基因突变、重组、复制和水平转移等, 从而导致粘细菌基因组重塑和进化。大量重复的蛋白质对其适应多样环境和复杂的生活史起重要作用^[41]。

表 1 已发表粘细菌基因组及参考文献

Table 1 The published genomes and references of *Myxobacteria*

科 Family	物种 Species	基因组大小 Genome size (Mb)	(G+C)mol%	参考文献 References
<i>Vulgatibacteraceae</i>	<i>Vulgatibacter incomptus</i> DSM27710 ^T	4.35	68.9	[35]
<i>Anaeromyxobacteraceae</i>	<i>Anaeromyxobacter dehalogenans</i> 2CP-C	5.01	74.9	[16]
<i>Polyangiaceae</i>	<i>Minicystis rosea</i> DSM24000 ^T	16.04	69.1	[36]
<i>Polyangiaceae</i>	<i>Sorangium cellulosum</i> So0157-2 ^T	14.78	72.1	[37]
<i>Polyangiaceae</i>	<i>Sorangium cellulosum</i> Soce56	13.0	71.4	[37]
<i>Myxococcaceae</i>	<i>Myxococcus fulvus</i> DSM16525 ^T	10.82	70.6	[38]
<i>Sandaracinaceae</i>	<i>Sandaracinus amylolyticus</i> DSM53668 ^T	10.33	72.0	[39]
<i>Archangiaceae</i>	<i>Archangium gephyra</i> DSM2261 ^T	12.49	69.4	[40]
<i>Myxococcaceae</i>	<i>Myxococcus xanthus</i> DSM16526 ^T	9.26	68.9	[41]
<i>Myxococcaceae</i>	<i>Myxococcus stipitatus</i> DSM14675 ^T	10.35	69.2	[42]
<i>Myxococcaceae</i>	<i>Corallococcus coralloides</i> DSM2259 ^T	10.08	69.9	[43]
<i>Myxococcaceae</i>	<i>Myxococcus xanthus</i> DSM16526 ^T	9.26	68.9	[44]
<i>Myxococcaceae</i>	<i>Myxococcus xanthus</i> DK1622	9.14	68.9	[45]
<i>Myxococcaceae</i>	<i>Myxococcus hansupus</i> DSM436	9.49	69.2	[46]
<i>Archangiaceae</i>	<i>Archangium</i> sp. CbG35	12.93	68.8	[47]
<i>Archangiaceae</i>	<i>Cystobacter fuscus</i> DSM52655	12.28	68.6	[48]
<i>Archangiaceae</i>	<i>Cystobacter violaceus</i> Cbvi76 ^T	12.57	68.9	[49]
<i>Archangiaceae</i>	<i>Stigmatella aurantiaca</i> DW4/3-1	9.37	67.5	[50]
<i>Archangiaceae</i>	<i>Melittangium boletus</i> DSM14713 ^T	9.91	68.4	[51]
<i>Haliangiaceae</i>	<i>Haliangium ochraceum</i> DSM14365 ^T	9.45	69.5	[52]
<i>Polyangiaceae</i>	<i>Chondromyces crocatus</i> Cmc5 ^T	11.39	68.7	[53]
<i>Nannocystaceae</i>	<i>Plesiocystis pacifica</i> SIR-1 ^T	10.59	70.7	[54]
<i>Nannocystaceae</i>	<i>Nannocystis exedens</i> DSM71 ^T	11.84	72.1	[55]
<i>Nannocystaceae</i>	<i>Enhygromyxa salina</i> DSM15201 ^T	10.44	67.4	[56]

3.3 基因组学在粘细菌生态方面的研究

粘细菌广泛存在于各种生境中,是环境微生物的重要成员之一。但由于分离技术的局限性,大量资源未被获得,宏基因组学的应用对其研究带来了新的突破,对了解粘细菌的分布及丰度和群落结构起重要作用。山东大学李越忠教授课题组针对 16S rRNA 基因的 V3-V4 和 V6-V8 区分别设计了粘细菌孢囊杆菌亚目(*Cystobacterineae*)和堆囊菌亚目(*Sorangineae*)的特异性引物,通过高通量测序可以特异性获取样品中粘细菌序列^[57-58],得到了大量未培养粘细菌的遗传物质,为其生态、多样性和进化研究奠定了基础。同时,他们还分析了公共数据库中 103 株粘细菌的高通量测序结果,发现粘细菌是土壤微生物的主要成员之一,占细菌群落的 0.4%-4.5%,远大于可培养分离的数量。最初,粘细菌被认为是陆地细菌,通过高通量测序发现在淡水^[1]和海洋^[2]环境中也分布着大量粘细菌资源,且不同生境中粘细菌具有一定的种属特异性。研究也表明环境因子(温度、碳氮比和 pH 等)对粘细菌丰度和多样性有着显著的影响^[59]。粘细菌更适宜生存在温和、pH 中性或偏碱性、有机质含量丰富的土壤中。这些研究为粘细菌资源挖掘提供了理论依据,但由于目前设计的两对粘细菌特异性引物并没有将全部粘细菌亚目包含在内,可能存在大量序列未被获得,所用引物存在一定的局限性。而且,粘细菌作为一类捕食菌,环境中的生物因素(如细菌和真菌等)对其影响未见报道。因此,基因组学技术在粘细菌的生态学研究方面还有广泛的应用前景。

3.4 基因组学在粘细菌捕食机制方面的研究

粘细菌捕食环境中其他微生物的过程极其复杂,需要多种水解酶和次级代谢产物参与。目前有狼群式捕食和直接捕食两种方式被发现^[7],但其为什么以及如何采用不同的捕食策略是未知的。Berleman 等认为在捕食过程中,黄色粘球菌会产生囊泡(Out membrane vesicles, OMVs),包裹分泌的水解酶和次级代谢产物,用于水解其他辅助菌^[60]。

Pasternak 等(2013 年)通过比较 11 株捕食菌(包括 3 株粘细菌: *Myxococcus xanthus*、*Sorangium aurantiaca* 和 *Sorangium cellulosum*)和 19 株辅助菌的基因组,发现捕食菌中含有大量合成黏附素、蛋白酶和特定代谢蛋白的基因,合成的这些物质可以用于吸附,加工和消化辅助菌^[61]。Livingstone 等(2018 年)分析了 23 株珊瑚球菌的基因组,发现与核心基因组相比,大量附属基因参与次级代谢产物合成、运输、分解代谢及防御机制。这些附属基因是通过水平基因转移获得,对某一类猎物发挥特定作用,而这些基因的丢失可能会导致菌株捕食能力的丧失^[62],这一发现进一步证明了粘细菌的捕食特性与系统发育分类无关^[63]。找到这些附属基因及研究它们的捕食机制对粘细菌捕食其他微生物的研究有重要意义。

粘细菌基因组中含有大量水解酶基因,产生的水解酶主要包括细胞壁裂解酶、脂肪酶、核酸酶、蛋白酶、淀粉酶、琼脂酶、纤维素酶及几丁质酶等^[39-40]。它们参与辅助菌的降解及细胞的程序性死亡过程。黄色粘球菌的基因组中有 300 多个基因参与编码水解酶,部分基因被报道合成抗生素或铁载体,在捕食过程中这些复合物的功能和作用是未知的。粘细菌中还含有大量编码外膜蛋白和转运蛋白的基因,它们可能参与酶的分泌和对辅助菌营养物质的吸收。蛋白质分泌系统的全基因组分析揭示了粘细菌含有将未折叠的蛋白质从细胞质膜向周质迁移的功能,表明黄色粘球菌有很大的蛋白质分泌潜力,其中包括一个 VI 型分泌系统的基因簇,它能够将捕食效应器从粘细菌中转移到辅助菌中,从而进行捕食^[64]。也有证据表明黄色粘球菌能利用多蛋白组装体将加工的蛋白质从辅助菌细胞质转移到周质,并使其变性和消化,进而将氨基酸产物释放到细胞质中^[45]。大多数粘细菌基因组中含有的水解酶和次级代谢产物需要分别调查其应用潜力。许多粘细菌与辅助菌共培养时,其捕食活性和天然产物表达谱会发生变化^[65],因此,粘细菌与辅助菌的转录组学研究将为新药研发和应用提供新的

突破。

3.5 基因组学在粘细菌子实体形成方面的研究

虽然粘细菌具有庞大的基因组, 但仅很小一部分基因组参与了子实体的发育过程^[66]。目前对子实体复杂的形成机制了解并不多, 一个固体表面、一定的细胞密度和细胞内及细胞间一系列信号传导是子实体形成的必要前提。Huntley 等(2011年)通过比较基因组学分析了粘细菌子实体的形成机制, 采用了 5 种粘细菌, 其中 4 种能够形成子实体(*Myxococcus xanthus*、*Stigmatella aurantiaca*、*Haliangium ochraceum* 和 *Sorangium cellulosum*), 一种不能形成子实体(*Anaeromyxobacter dehalogenans*)^[50]。3 种比较基因组学分析方法表明, 菌株 *M. xanthus* 和 *S. aurantiaca* 在控制子实体形成方面有很多相同的遗传组分, 甚至整个信号转导途径是相同的, 而另外两株菌 *H. ochraceum* 和 *S. cellulosum* 与 *M. xanthus* 差异很大, 这表明粘细菌基因组在遗传组分中展示了高度可塑性, 导致在不同亚目中子实体和孢子形成有显著的差异^[50]。Zaburannyi 等(2016年)通过比较能够形成子实体的菌株 *Chondromyces crocatus* Cmc5 和不能形成子实体的突变菌株 Cmc5 fr-的基因组, 显示了基因组上 3 个遗传位点发生突变, 第一个位点位于 tRNA 基因附近, 在 3.5 Mb 处, tRNA 基因是细菌中最受欢迎的可移动元素及噬菌体和质粒整合位点; 第二个位点在 5.5 Mb 发生基因重组, 这个位点对 DNA 合成有显著影响; 第三个位点在 7 Mb 处出现一个单核苷酸多态性(Single nucleotide polymorphism, SNP)^[53], 但是这并不认为是子实体不能形成的原因。显然, 子实体的形成还需要进一步研究。子实体形成的目的被认为代表一种保护策略, 降低近亲之间的竞争, 确保在新的栖息地比其他物种更具普遍性。

3.6 基因组学在粘细菌次级代谢产物方面的研究

由于人类医药和抗生素的错误使用, 过度的农药利用及抗药细菌的快速传播导致多种耐药细菌的大量繁殖。新抗生素研发是迫在眉睫的问题。粘

细菌作为大量次级代谢产物产生菌, 是新药研发的重要资源。但目前粘细菌资源挖掘存在很大问题, 而且许多次级代谢产物生物合成受到负调控, 目标产物不表达或表达量很低, 导致大量次级代谢产物没有得到。基因簇相关分析工具^[31,67-69]已经被开发用于发现新型次级代谢产物, 异源表达沉默的合成基因簇结合比较代谢分析也被证明是一种可行的方法来挖掘微生物或宏基因组 DNA 文库中的天然产物^[4]。CRISPR/Cas9 系统已经在黄色粘球菌中被应用, 实现了对次级代谢基因簇激活并获得可观的产物, 为粘细菌及其他次级代谢产物的发掘和通过遗传改造培育活性物质提供了有力的工具^[70]。在研究粘细菌的天然产物方面, 粘细菌与辅助菌共培养可能是一个有效的策略。

粘细菌含有的基因簇主要包括聚酮合酶(Polyketide synthases, PKS)^[71]、非核糖体多肽合成(Nonribosomal peptide synthetases, NRPS)及二者混合类物质^[72]、抗寄生虫类物质^[73]等。绝大多数菌株都有超过 10 个 NRPS/PKS。以黄色粘球菌 *Myxococcus xanthus* DK1622 为例, antiSMASH 数据库注释到 18 个 NRPS/PKS 基因簇, 约占基因组的 8.6%^[74]。目前已经鉴定到的有 6 种, 其数量远小于通过基因组预测到的数量。纤维堆囊菌中预测到合成次级代谢产物的数量也远远大于通过传统发酵所获得的天然产物数量^[37]。近年来, 海洋粘细菌被广泛关注, 与陆地粘细菌存在明显差异, 作为新型天然产物生产者, 具有重大研究价值^[75]。Moghaddam 等(2018年)通过比较基因组学分析了 5 株海洋粘细菌(*Haliangium ochraceum* DSM14365^T、*Plesiocystis pacifica* DSM14875^T、*Enhygromyxa salina* DSM 15201^T 和 2 个新发现的菌株 *Enhygromyxa salina* SWB005 and SWB007)的基因组, 在这 5 株粘细菌中, 约 10%的基因组展示出多种多样的生物合成基因簇(BGCs), 其中聚酮化合物和萜类是预测的主要特异性代谢产物。此外, 已知来自于 *E. salina* SWB005 的化合物 Enhygrolide A 首次在 *E. salina* SWB006 中被发现并进行了结构鉴定^[55]。

4 总结和展望

粘细菌是一类分布广泛、具有复杂社会行为的高等细菌,能够产生结构新颖的活性次级代谢产物和多种水解酶,具有重要研究意义和商业价值。基因组学研究为粘细菌生态、社会行为及次级代谢产物形成等方面提供了重要的理论依据。在粘细菌资源挖掘方面,其研究意义主要表现在:(1)通过粘细菌生态学研究,发现在淡水、海洋和湿地等地都含有大量粘细菌,拓宽了分离范围;也发现了大量“未培养粘细菌”的遗传物质,可针对其中的“未培养粘细菌”设计特定的分离方法,向培养基中添加特殊成分、改善培养条件、模拟生态环境等,从而对“未培养粘细菌”进行分离和研究;(2)通过研究与辅助菌之间的捕食机制,可以了解粘细菌对哪一类细菌具有偏好性,或者用某一类细菌可以专门分离特定的粘细菌资源;(3)通过了解粘细菌子实体的形成机制,在分离过程中,向培养基中添加某些特殊成分,可以诱导形成更多的子实体。基因组学研究还发现粘细菌中含有大量未被挖掘的次级代谢产物合成基因簇,通过挖掘相关合成酶基因,表达调控因子,分析其合成途径及调控机制,为有效利用粘细菌次级代谢产物提供新的途径。生物信息学分析粘细菌基因组中 CRISPR 系统,为 CRISPR/Cas9 系统应用于粘细菌奠定了基础,提高了粘细菌的遗传操作效率。

虽然全基因组测序被广泛应用,然而由于技术的局限性,目前并不能完全挖掘粘细菌基因组各方面信息,有待依赖新的技术手段。同时,随着功能基因组学时代的到来,转录组学(Transcriptomics)、蛋白质组学(Proteomics)和代谢组学(Metabolomics)等手段也将逐渐被应用到粘细菌的研究中。Livingstone 等(2018 年)通过转录组测序分析了黄色粘球菌捕食活的大肠杆菌和死的大肠杆菌时粘细菌及辅助菌的基因表达变化,辅助菌的不同状态会引起黄色粘球菌产生不同的反应,从而进一步揭示了粘细菌的捕食机制^[76]。Pasternak 等在 2013 年就将蛋白质组与基因组学结合在一起,提出了“捕食

组”的概念来揭示捕食菌的捕食机制^[62]。粘细菌还有很多有趣的问题需要解决,如粘细菌的庞大基因组、激酶组以及细胞信号转导系统在多细胞行为中的作用等,这些问题有望通过系统生物学手段,将基因组、转录组、蛋白质组和代谢组学结合在一起来进一步揭示。

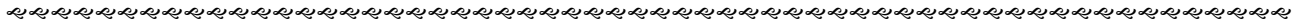
REFERENCES

- [1] Li SG, Zhou XW, Li PF, et al. The existence and diversity of myxobacteria in lake mud—a previously unexplored myxobacteria habitat[J]. *Environmental Microbiology Reports*, 2012, 4(6): 587-595
- [2] Jiang DM, Kato C, Zhou XW, et al. Phylogeographic separation of marine and soil myxobacteria at high levels of classification[J]. *The ISME Journal*, 2010, 4(12): 1520-1530
- [3] Mohr KI, Zindler T, Wink J, et al. Myxobacteria in high moor and fen: an astonishing diversity in a neglected extreme habitat[J]. *Microbiologyopen*, 2017, 6(4): e00464
- [4] Bian XY, Tang B, Yu YC, et al. Heterologous production and yield improvement of epothilones in *Burkholderiales* strain DSM 7029[J]. *ACS Chemical Biology*, 2017, 12(7): 1805-1812
- [5] Xie JB. Isolation, identification and comparative genomics of nitrogen-fixing *Paenibacillus*[D]. Beijing: Doctoral Dissertation of China Agricultural University, 2015 (in Chinese)
谢剑波. 固氮类芽胞杆菌的分离鉴定及比较基因组学研究[D]. 北京: 中国农业大学博士学位论文, 2015
- [6] Pérez J, Moraleda-Muñoz A, Marcos-Torres FJ, et al. Bacterial predation: 75 years and counting![J]. *Environmental Microbiology*, 2016, 18(3): 766-779
- [7] Pérez J, Jiménez-Zurdo JI, Martínez-Abarca F, et al. Rhizobial galactoglucan determines the predatory pattern of *Myxococcus xanthus* and protects *Sinorhizobium meliloti* from predation[J]. *Environmental Microbiology*, 2014, 16(7): 2341-2350
- [8] Nan BY, Zusman DR. Uncovering the mystery of gliding motility in the myxobacteria[J]. *Annual Review of Genetics*, 2011, 45: 21-39
- [9] Berleman JE, Kirby JR. Deciphering the hunting strategy of a bacterial wolfpack[J]. *FEMS Microbiology Reviews*, 2009, 33(5): 942-957
- [10] Mauriello EMF, Mignot T, Yang ZM, et al. Gliding motility revisited: how do the myxobacteria move without flagella?[J]. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 2010, 74(2): 229-249
- [11] Muñoz-Dorado J, Marcos-Torres FJ, García-Bravo E, et al. Myxobacteria: moving, killing, feeding, and surviving together[J]. *Frontiers in Microbiology*, 2016, 7: 781
- [12] Schäberle TF, Lohr F, Schmitz A, et al. Antibiotics from myxobacteria[J]. *Natural Product Reports*, 2014, 31(7): 953-972
- [13] Nett M, König GM. The chemistry of gliding bacteria[J]. *Natural Product Reports*, 2007, 24(6): 1245-1261

- [14] Weissman KJ, Müller R. Myxobacterial secondary metabolites: bioactivities and modes-of-action[J]. *Natural Product Reports*, 2010, 27(9): 1276-1295
- [15] Li YZ, Li J. Isolation and purification of myxobacteria[J]. *Microbiology China*, 1997, 24(4): 237-240 (in Chinese)
李越中, 李健. 粘细菌的分离与纯化[J]. *微生物学通报*, 1997, 24(4): 237-240
- [16] Thomas SH, Wagner RD, Arakaki AK, et al. The mosaic genome of *Anaeromyxobacter dehalogenans* strain 2CP-C suggests an aerobic common ancestor to the delta-proteobacteria[J]. *PLoS One*, 2008, 3(5): e2103
- [17] Jiang DM, Wu ZH, Zhao JY, et al. Fruiting and non-fruiting myxobacteria: a phylogenetic perspective of cultured and uncultured members of this group[J]. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 2007, 44(2): 545-552
- [18] Garcia R, Müller R. *Simulacricoccus ruber* gen. nov., sp. nov., a microaerotolerant, non-fruiting, myxospore-forming soil myxobacterium and emended description of the family *Myxococcaceae*[J]. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 2018, 68(10): 3101-3110
- [19] Zhang XJ, Lv YY, Zhu HH. Isolation and identification of myxobacteria in virgin forest of vietnam[J]. *Current Biotechnology*, 2018, 8(2): 147-152 (in Chinese)
张鲜姣, 吕颖颖, 朱红惠. 越南原始森林粘细菌的分离与鉴定[J]. *生物技术进展*, 2018, 8(2): 147-152
- [20] Zhang XJ, Lv YY, Zhu HH. Study on diversity of cultivable myxobacteria in wetland environment[J]. *Current Biotechnology*, 2018, 8(2): 140-146 (in Chinese)
张鲜姣, 吕颖颖, 朱红惠. 湿地环境可培养粘细菌多样性研究[J]. *生物技术进展*, 2018, 8(2): 140-146
- [21] Zhang XJ, Yao Q, Cai ZP, et al. Isolation and identification of myxobacteria from saline-alkaline soils in Xinjiang, China[J]. *PLoS One*, 2013, 8(8): e70466
- [22] Zhao ZY, Zhang XJ, Tan ZY, et al. Isolation and identification of cultivable myxobacteria in the rhizosphere soils of medicinal plants[J]. *Acta Microbiologica Sinica*, 2013, 53(7): 657-668 (in Chinese)
赵智颖, 张鲜姣, 谭志远, 等. 药用植物根系土壤可培养粘细菌的分离鉴定[J]. *微生物学报*, 2013, 53(7): 657-668
- [23] Li BY, Xie XL, Zhang XJ, et al. Influence of different prey strains on isolation of myxobacteria in saline-alkaline soils of Xinjiang[J]. *Acta Microbiologica Sinica*, 2013, 53(4): 379-389 (in Chinese)
李百元, 谢小林, 张鲜姣, 等. 不同被捕食细菌对新疆盐碱地粘细菌分离的影响[J]. *微生物学报*, 2013, 53(4): 379-389
- [24] Han K. Omics analyses of strategies for evolution and environmental adaptation in myxobacteria[D]. Ji'nan: Doctoral Dissertation of Shandong University, 2014 (in Chinese)
韩魁. 粘细菌进化与环境适应策略的组学分析[D]. 济南: 山东大学博士学位论文, 2014
- [25] Lagesen K, Hallin P, Rødland EA, et al. RNAmmer: consistent and rapid annotation of ribosomal RNA genes[J]. *Nucleic Acids Research*, 2007, 35(9): 3100-3108
- [26] Kalvari I, Nawrocki EP, Argasinska J, et al. Non-coding RNA analysis using the Rfam database[J]. *Current Protocols in Bioinformatics*, 2018, 62(1): e51
- [27] Schattner P, Brooks AN, Lowe TM. The tRNAscan-SE, snoscan and snoGPS web servers for the detection of tRNAs and snoRNAs[J]. *Nucleic Acids Research*, 2005, 33(S2): W686-W689
- [28] Delcher AL, Bratke KA, Powers EC, et al. Identifying bacterial genes and endosymbiont DNA with Glimmer[J]. *Bioinformatics*, 2007, 23(6): 673-679
- [29] Burge C, Karlin S. Prediction of complete gene structures in human genomic DNA[J]. *Journal of Molecular Biology*, 1997, 268(1): 78-94
- [30] Tatusov RL, Galperin MY, Natale DA, et al. The COG database: a tool for genome-scale analysis of protein functions and evolution[J]. *Nucleic Acids Research*, 2000, 28(1): 33-36
- [31] Weber T, Blin K, Duddela S, et al. AntiSMASH 3.0—a comprehensive resource for the genome mining of biosynthetic gene clusters[J]. *Nucleic Acids Research*, 2015, 43(W1): W237-W243
- [32] Lombard V, Golaconda Ramulu H, Drula E, et al. The carbohydrate-active enzymes database (CAZY) in 2013[J]. *Nucleic Acids Research*, 2014, 42(D1): D490-D495
- [33] Emms DM, Kelly S. OrthoFinder: solving fundamental biases in whole genome comparisons dramatically improves orthogroup inference accuracy[J]. *Genome Biology*, 2015, 16: 157
- [34] Chaudhari NM, Gupta VK, Dutta C. BPGA—an ultra-fast pan-genome analysis pipeline[J]. *Scientific Reports*, 2016, 6: 24373
- [35] Yamamoto E, Muramatsu H, Nagai K. *Vulgatibacter incomptus* gen. nov., sp. nov. and *Labilithrix luteola* gen. nov., sp. nov., two myxobacteria isolated from soil in Yakushima Island, and the description of *Vulgatibacteraceae* fam. nov., *Labilithricaceae* fam. nov. and *Anaeromyxobacteraceae* fam. nov.[J]. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 2014, 64(10): 3360-3368
- [36] Garcia R, Gemperlein K, Müller R. *Minicystis rosea* gen. nov., sp. nov., a polyunsaturated fatty acid-rich and steroid-producing soil myxobacterium[J]. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 2014, 64(11): 3733-3742
- [37] Schneiker S, Perlova O, Kaiser O, et al. Complete genome sequence of the myxobacterium *Sorangium cellulosum*[J]. *Nature Biotechnology*, 2007, 25(11): 1281-1289
- [38] Chen XJ, Han K, Feng J, et al. The complete genome sequence and analysis of a plasmid-bearing myxobacterial strain *Myxococcus fulvus* 124B02 (M 206081)[J]. *Standards in Genomic Sciences*, 2016, 11: 1
- [39] Sharma G, Khatri I, Subramanian S. Complete genome of the starch-degrading myxobacteria *Sandaracinus amylolyticus* DSM53668^T[J]. *Genome Biology and Evolution*, 2016, 8(8):

- 2520-2529
- [40] Sharma G, Subramanian S. Unravelling the complete genome of *Archangium gephyra* DSM 2261^T and evolutionary insights into myxobacterial chitinases[J]. *Genome Biology and Evolution*, 2017, 9(5): 1304-1311
- [41] Goldman B, Bhat S, Shimkets LJ. Genome evolution and the emergence of fruiting body development in *Myxococcus xanthus*[J]. *PLoS One*, 2007, 2(12): e1329
- [42] Huntley S, Kneip S, Treuner-Lange A, et al. Complete genome sequence of *Myxococcus stipitatus* strain DSM 14675, a fruiting myxobacterium[J]. *Genome Announcements*, 2013, 1(2): e0010013
- [43] Huntley S, Zhang Y, Treuner-Lange A, et al. Complete genome sequence of the fruiting myxobacterium *Corallococcus coralloides* DSM 2259[J]. *Journal of Bacteriology*, 2012, 194(11): 3012-3013
- [44] Müller S, Willett JW, Bahr SM, et al. Draft genome sequence of *Myxococcus xanthus* wild-type strain DZ2, a model organism for predation and development[J]. *Genome Announcements*, 2013, 1(3): e00217-13
- [45] Goldman BS, Nierman WC, Kaiser D, et al. Evolution of sensory complexity recorded in a myxobacterial genome[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2006, 103(41): 15200-15205
- [46] Sharma G, Narwani T, Subramanian S. Complete genome sequence and comparative genomics of a novel myxobacterium *Myxococcus hansupus*[J]. *PLoS One*, 2016, 11(2): e0148593
- [47] Adaikpoh BI, Dowd SE, Stevens DC. Draft genome sequence of *Archangium* sp. strain Cb G35[J]. *Genome Announcements*, 2017, 5(8): e01678-16
- [48] Treuner-Lange A, Bruckskotten M, Rupp O, et al. Whole-genome sequence of the fruiting myxobacterium *Cystobacter fuscus* DSM 52655[J]. *Genome Announcements*, 2017, 5(43): e01196-17
- [49] Stevens DC, Young J, Carmichael R, et al. Draft genome sequence of gephyronic acid producer *Cystobacter violaceus* strain Cb vi76[J]. *Genome Announcements*, 2014, 2(6): e01299-14
- [50] Huntley S, Hamann N, Wegener-Feldbrugge S, et al. Comparative genomic analysis of fruiting body formation in myxococcales[J]. *Molecular Biology and Evolution*, 2011, 28(2): 1083-1097
- [51] Treuner-Lange A, Bruckskotten M, Rupp O, et al. Complete genome sequence of the fruiting myxobacterium *Melittangium boletus* DSM 14713[J]. *Genome Announcements*, 2017, 5(45): e01262-17
- [52] Ivanova N, Daum C, Lang E, et al. Complete genome sequence of *Haliangium ochraceum* type strain (SMP-2^T)[J]. *Standards in Genomic Sciences*, 2010, 2(1): 96-106
- [53] Zaburannyi N, Bunk B, Maier J, et al. Genome analysis of the fruiting body-forming myxobacterium *Chondromyces crocatus* reveals high potential for natural product biosynthesis[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2016, 82(6): 1945-1957
- [54] Moghaddam JA, Crüsemann M, Alanjary M, et al. Analysis of the genome and metabolome of marine myxobacteria reveals high potential for biosynthesis of novel specialized metabolites[J]. *Scientific Reports*, 2018, 8: 16600
- [55] Treuner-Lange A, Bruckskotten M, Rupp O, et al. Draft genome sequence of the fruiting myxobacterium *Nannocystis exedens* DSM71[J]. *Genome Announcements*, 2017, 5(43): e01227-17
- [56] Moghaddam JA, Poehlein A, Fisch K, et al. Draft genome sequences of the obligatory marine myxobacterial strains *Enhygromyxa salina* SWB005 and SWB007[J]. *Genome Announcements*, 2018, 6(17): e00324-18
- [57] Nossa CW, Oberdorf WE, Yang L, et al. Design of 16S rRNA gene primers for 454 pyrosequencing of the human foregut microbiome[J]. *World Journal of Gastroenterology*, 2010, 16(33): 4135-4144
- [58] Wu ZH, Jiang DM, Li P, et al. Exploring the diversity of myxobacteria in a soil niche by myxobacteria-specific primers and probes[J]. *Environmental Microbiology*, 2005, 7(10): 1602-1610
- [59] Zhou XW, Li SG, Li W, et al. Myxobacterial community is a predominant and highly diverse bacterial group in soil niches[J]. *Environmental Microbiology Reports*, 2014, 6(1): 45-56
- [60] Berleman JE, Allen S, Danielewicz MA, et al. The lethal cargo of *Myxococcus xanthus* outer membrane vesicles[J]. *Frontiers in Microbiology*, 2014, 5: 474
- [61] Pasternak Z, Pietrokovski S, Rotem O, et al. By their genes ye shall know them: genomic signatures of predatory bacteria[J]. *The ISME Journal*, 2013, 7(4): 756-769
- [62] Livingstone PG, Mophew RM, Whitworth DE. Genome sequencing and pan-genome analysis of 23 *Corallococcus* spp. strains reveal unexpected diversity, with particular plasticity of predatory gene sets[J]. *Frontiers in Microbiology*, 2018, 9: 3187
- [63] Livingstone PG, Mophew RM, Whitworth DE. Myxobacteria are able to prey broadly upon clinically-relevant pathogens, exhibiting a prey range which cannot be explained by phylogeny[J]. *Frontiers in Microbiology*, 2017, 8: 1593
- [64] Brunet YR, Espinosa L, Harchouni S, et al. Imaging type VI secretion-mediated bacterial killing[J]. *Cell Reports*, 2013, 3(1): 36-41
- [65] Huang Y. The research of secondary metabolites by two strains of myxobacteria[D]. Alar: Master's thesis of Tarim University, 2013 (in Chinese)
黄艳. 两株粘细菌次生代谢产物的初步研究[D]. 阿拉尔: 塔里木大学硕士学位论文, 2013
- [66] Chen H, Keseler IM, Shimkets LJ. Genome size of *Myxococcus xanthus* determined by pulsed-field gelelectrophoresis[J]. *Journal of Bacteriology*, 1990, 172(8): 4206-4213
- [67] Zhao HM, Medema MH. Standardization for natural product synthetic biology[J]. *Natural Product Reports*, 2016, 33(8): 920-924
- [68] Medema MH, Fischbach MA. Computational approaches to

- natural product discovery[J]. *Nature Chemical Biology*, 2015, 11(9): 639-648
- [69] Panter F, Krug D, Baumann S, et al. Self-resistance guided genome mining uncovers new topoisomerase inhibitors from myxobacteria[J]. *Chemical Science*, 2018, 9(21): 4898-4908
- [70] Peng R. Functional analysis of CRISPR system and application of CRISPR-Cas9 in *Myxococcus xanthus*[D]. Ji'nan: Doctoral Dissertation of Shandong University, 2017 (in Chinese)
彭冉. 黄色粘球菌 CRISPR 系统的功能分析及 CRISPR/Cas9 在粘球菌中的应用研究[D]. 济南: 山东大学博士学位论文, 2017
- [71] Surup F, Viehrig K, Mohr KI, et al. Disciformycins A and B: 12-membered macrolide glycoside antibiotics from the myxobacterium *Pyxidicoccus fallax* active against multiresistant staphylococci[J]. *Angewandte Chemie International Edition*, 2014, 53(49): 13588-13591
- [72] Hoffmann H, Kogler H, Heyse W, et al. Discovery, structure elucidation, and biological characterization of nannocystin A, a macrocyclic myxobacterial metabolite with potent antiproliferative properties[J]. *Angewandte Chemie International Edition*, 2015, 54(35): 10145-10148
- [73] Keller L, Plaza A, Dubiella C, et al. Macyranones: structure, biosynthesis, and binding mode of an unprecedented epoxyketone that targets the 20S proteasome[J]. *Journal of the American Chemical Society*, 2015, 137(25): 8121-8130
- [74] Diez J, Martinez JP, Mestres J, et al. Myxobacteria: natural pharmaceutical factories[J]. *Microbial Cell Factories*, 2012, 11: 52
- [75] Albataineh H, Stevens DC. Marine myxobacteria: a few good halophiles[J]. *Marine Drugs*, 2018, 16(6): 209
- [76] Livingstone PG, Millard AD, Swain MT, et al. Transcriptional changes when *Myxococcus xanthus* preys on *Escherichia coli* suggest myxobacterial predators are constitutively toxic but regulate their feeding[J]. *Microbial Genomics*, 2018. 4(2): 1-13



编辑部公告

邀请您关注《微生物学通报》公众微信号

为了更好地与读者、作者、审稿专家和编委朋友们及时沟通、方便服务,《微生物学通报》已开通公众微信服务号。作者通过微信能及时收到稿件各流程通知,第一时间了解稿件进程并及时处理;审稿专家和编委可通过微信及时收到审稿邀请,还可通过手机审稿;读者通过微信可了解《微生物学通报》文章目录,查找阅读感兴趣的文章。

关注办法:

- 1、在微信公众号搜索“微生物学通报”或“wswxtb”;
- 2、用微信扫右边二维码:

