

研究报告

基于宏基因组学重建来自深海热液喷口的
Epsilonproteobacteria 基因组及其代谢分析侯佳林^{1,2} 聂唱^{1,2} Venki Perumal^{1,2} 肖湘^{1,2,3} 王风平^{1,2,3*}

(1. 上海交通大学生命科学技术学院 上海 200240)

(2. 上海交通大学 微生物代谢国家重点实验室 上海 200240)

(3. 上海交通大学 海洋工程国家重点实验室 上海 200240)

摘要:【背景】非致病性 *Epsilonproteobacteria* 广泛存在于全球各种不同的自然环境中, 特别是一些极端生境如深海热液喷口, 并且经常在微生物群落中作为优势物种被发现。然而, 由于现阶段培养技术的限制, 仅有为数不多的深海热液 *Epsilonproteobacteria* 被分离培养, 极大限制了对其生理特征、代谢方式以及生态功能的深入认识。【目的】研究深海热液未培养 *Epsilonproteobacteria* 的进化地位、代谢潜能及其在原位生态系统中可能发挥的作用。【方法】基于宏基因组学 Binning 的方法, 从采集自东太平洋海隆深海热液烟囱体样本中构建 4 个高质量的 *Epsilonproteobacteria* 基因组 Bin225、Bin51、Bin54 和 Bin189, 并进行了系统发育和代谢途径的分析。【结果】Bin189 在系统发育树上相对独立于其他所有已知的 *Epsilonproteobacteria* 类群, 而其余 3 个重构基因组都与 *Nitratiruptor* sp. SB155-2 具有较近的亲缘关系。在代谢潜能方面, 所有的基因组除了都含有 *sqr* 硫氧化和 *rTCA* 碳固定途径的基因以外, 也同时具有脂多糖输出转运子和多种分泌系统。Bin189 显示出与其它基因组显著不同的代谢特征, 其中还检测到与有机物和氨基酸转运相关的功能基因。而其他的 3 个基因组均具有完整的反硝化途径的功能基因, 其中 2 个还具有 Sox 系统、氢化酶和鞭毛移动系统。【结论】Bin189 可能是一种新发现的深海热液兼性化能营养型 *Epsilonproteobacteria*, 推测其余的 3 个类群能够利用硫化物和氢气作为能源进行化能自养生长。考虑到它们多样的代谢潜能, 这些 *Epsilonproteobacteria* 类群很可能在深海热液微生物群落的形成发展和地球化学元素循环中发挥重要作用。

关键词: 深海热液, *Epsilonproteobacteria*, 宏基因组, Binning, 化能自养

Foundation items: National Natural Science Foundation of China (41525011, 41530967, 91751205, 31661143022, 91428308); National Key Research and Development Program of China (2016YFA0601102); International IMBER Plan; International Deep Carbon Observatory Plan

***Corresponding author:** Tel: 86-21-34207205; E-mail: fengpingw@sjtu.edu.cn

Received: January 31, 2018; **Accepted:** March 29, 2018; **Published online** (www.cnki.net): May 15, 2018

基金项目: 国家自然科学基金(41525011, 41530967, 91751205, 31661143022, 91428308); 国家重点研发计划项目(2016YFA0601102); 国际 IMBER 计划项目; 国际深部碳观测计划项目(DCO)

***通信作者:** Tel: 86-21-34207205; E-mail: fengpingw@sjtu.edu.cn

收稿日期: 2018-01-31; **接受日期:** 2018-03-29; **网络首发日期**(www.cnki.net): 2018-05-15

Metabolic analysis of Epsilonproteobacteria genomes reconstructed from the deep sea hydrothermal vent chimney based on metagenomic technology

HOU Jia-Lin^{1,2} NIE Chang^{1,2} Venki Perumal^{1,2} XIAO Xiang^{1,2,3} WANG Feng-Ping^{1,2,3*}

(1. School of Life Sciences and Biotechnology, Shanghai Jiao Tong University, Shanghai 200240, China)

(2. State Key Laboratory of Microbial Metabolism, Shanghai Jiao Tong University, Shanghai 200240, China)

(3. State Key Laboratory of Ocean Engineering, Ocean and Civil Engineering, Shanghai Jiao Tong University, Shanghai 200240, China)

Abstract: [Background] Nonpathogenic Epsilonproteobacteria globally distributes in diverse natural environments, especially extreme environments like deep sea hydrothermal vents, are usually detected in microbial communities as a dominant microbial group. Only few hydrothermal Epsilonproteobacteria species have been isolated due to the limitation of current culture technology, which significantly influences our further understanding about their physiological features, metabolic pathways and ecological roles. [Objective] Gaining insight into the phylogenetic position, metabolic potentials and putative roles of uncultured Epsilonproteobacteria in the deep sea hydrothermal communities and vent ecosystems. [Methods] We analyzed the phylogeny and metabolic pathway of four Epsilonproteobacteria reconstructed from the East Pacific Rise deep sea hydrothermal chimney sample based on metagenomic Binning technology. [Results] Bin189 is phylogenetically independent from all other known Epsilonproteobacteria, whereas the other three reconstructed genomes have closed relationship with *Nitratiruptor* sp. SB155-2. In metabolic potentials, all of reconstructed genomes have the *sqr* and *rTCA* carbon fixation pathway related genes, besides they all have the lipopolysaccharide exporter system and multiple secretion system. However, Bin189 has the extra organic matter and amino acid transporters, all of the other three genomes have the complete denitrification pathway and two of them also have the Sox system, hydrogenase as well as the flagella system. [Conclusion] Bin189 very likely is a kind of novel heterotrophic Epsilonproteobacteria detected in the deep sea hydrothermal environments, whereas the other three chemoautotrophic taxa are capable of oxidizing diverse reduced sulfur compounds and hydrogen as energy source. Consequently, these Epsilonproteobacteria are supposed to play crucial roles in the colonization and development of the hydrothermal microbial communities as well as the deep sea geochemical element cycling.

Keywords: Deep sea hydrothermal vent, Epsilonproteobacteria, Metagenomics, Binning, Chemoautotrophic

Epsilonproteobacteria 纲是变形菌门中一支独特的细菌类群, 最新的研究提出将所有 Epsilonproteobacteria 和部分的 Deltaproteobacteria 重新归为一个单独的门的水平的分类单元 Epsilonbacteraeota^[1]。Epsilonproteobacteria 最初是作为一种致病菌被发现的, 并且在临床医学领域得到了长期的重点关注^[2], 如导致胃溃疡的幽门螺旋杆菌(*Helicobacter pylori*), 据估计全球至少有 50% 的人群已被其感染。近些年随着分子测序技术的不断发展, 越来越多的非致病性 Epsilonproteobacteria 在各种类型的极端环境中被发现, 比如深海热液口、

泥火山、陆地热泉和硫化洞穴等^[3-10]。除了可以营自由生活以外, 部分 Epsilonproteobacteria 还可以寄生于各种无脊椎动物(如热液管状蠕虫)的体内或者体表^[11-12]。在深海热液微生物群落中, Epsilonproteobacteria 有时会占到全部物种的 90% 以上并形成大规模的菌席^[10,13]。基于为数不多的可培养代表种的研究结果, 绝大部分非致病性 Epsilonproteobacteria 都为无机化能自养营养型, 如 *Nitratiruptor salsuginis*、*Nautilia nitratireducens*、*Hydrogenimonas thermophila* 和 *Caminibacter profundus* 可以利用氢气作为电子供体^[3-5,7], 而

Sulfurovum lithotrophicum 和 *Sulfurimonas parvalvinellae* 则能够通过氧化单质硫和硫代硫酸盐提供能量^[4,14]。另外, 也有个别类群如 *Nautilia nitratireducens* 为混合营养或者化能异养类型, 能够利用甲酸、乙酸等简单小分子有机物^[5,15]。所有的非致病性 Epsilonproteobacteria 都可以利用硝酸盐作为电子受体, 此外它们中的部分菌也能够将产生的电子传递至氧气和单质硫。因此, 非致病性 Epsilonproteobacteria 被认为在其所栖息微生物群落中很可能会作为初级生产者而发挥着重要的生态功能^[16-17]。有研究表明, 来自于深海热液环境的化能自养 Epsilonproteobacteria 很可能是其现代致病性类群的祖先^[2,15]。

由于现代微生物培养条件和技术的限制, 大部分极端自然环境中的 Epsilonproteobacteria 都基于 16S rRNA 基因被发现, 只有少数的代表种已经被分离培养, 而在自然环境中超过 99% 的微生物尚不可培养, 这极大地限制了对其生理代谢特点进行深入研究。现代的宏基因组学 Binning 技术可以直接从环境基因组中分装并重新构建出高质量的微生物基因组, 这为进一步研究这些非培养微生物的进化分类地位和代谢潜能提供了新的方法和途径, 也为更加深入地理解和评估其生态功能以及在全球化学元素循环中所发挥的作用提供了研究基础。

本研究利用宏基因组学 Binning 方法对来自于东太平洋海隆深海热液硫化物烟囱体的样本进行深入分析, 重新构建获得 4 个高质量的 Epsilonproteobacteria 基因组, 并对其系统发育地位和代谢潜能进行全面而深入的研究。

1 材料与方法

1.1 主要试剂和仪器

所有试剂均购自生工生物工程(上海)股份有限公司。DNA 提取缓冲液(均 pH 8.0 的 100 mmol/L Tri-HCl、EDTA 钠、磷酸钠, 1.5 mmol/L NaCl, 1% 十六甲基三甲基铵溴化物), 溶解酶(20 g/L), 蛋白酶 K (20 g/L), SDS 溶液(20%), 醋酸钠(pH 5.2)。

Illumina HiSeq 2000 平台, 深圳华大基因公司。

1.2 样品信息及 DNA 提取测序

研究样本采集于 2013 年 12 月至 2014 年 1 月的 AT26-10 航次, 采集地点为东太平洋海隆北纬 9°–10° L-vent 深海热液区域中一个处于活跃喷发状态的硫化物烟囱体, 经测定其喷发的热液温度为 231 °C, 富含大量的硫化氢和氢气。样本采集后立即储存于-70 °C 条件下, 随后使用干冰转运至实验室进行后续处理。样本 DNA 提取采用基于 SDS 的方法^[18]: 300 mg 烟囱体样本研磨后混合等量 0.1 mm 的玻璃珠并加入 670 μL DNA 提取缓冲液, 3 000×g 离心 5 min 后加入组织裂解液并混匀。随后再加入 50 μL 溶解酶和蛋白酶 K 混合液, 37 °C 静置 30 min。加入 70 μL SDS 后, 65 °C 静置 2 h。经 1 000×g 离心 10 min 后收集上清液, 剩余样品使用同样方法再提取一遍。上清液混合等量的苯酚:氯仿:异戊基乙醇溶液(24:25:1, 体积比), 离心后收集上清液, 加入冰丙基乙醇和 0.3 mol/L 醋酸钠 4 °C 沉淀过夜。经 16 000×g 离心 20 min 后去除上清液收集底部 DNA, 经 70%乙醇冲洗后加入蒸馏水使其重新悬浮。同一样本分 3 份独立提取出 DNA 后混合进行下游分析。

1.3 测序数据组装和基因组 Binning

宏基因组由深圳华大基因公司使用 Illumina HiSeq 2000 平台进行测序, 原始读长为 2×100 bp。数据由公司返回后, 使用 Sickle 软件(<https://github.com/najoshi/sickle>)对其进行质量控制, 对测序质量低的碱基使用参数--se 进行剪切和删除。随后使用 IDBA-UD^[19]进行拼接, 参数为--mink 52、--maxk 92、--step 8。对于拼接后得到的长度大于 3 kb 的拼接片段, 通过比较四核苷酸频率特征, 使用 ESOM^[20]进行 Binning, 并使用 Bowtie2^[21]将原始的 DNA 短读段比对到拼接片段上, 计算每条拼接片段的测序深度。随后使用 mmgenome^[22]对这些初步分装获得的基因组进行基于四核苷酸频率、G+C%含量和测序深度的整合分

析, 手动检查并进行更加精细的基因组片段 reBinning, 最后使用 checkM^[23]对其进行初步的物种鉴定以及完整度和污染度的评估。

1.4 功能基因的预测和注释

对于上述拼接和分装得到的高质量基因组, 使用 Prodigal^[24]进行蛋白编码序列(CDS)的预测, 参数为-meta, 同时分别使用 RNAmmer^[25]和 checkM^[23]进行 16S rRNA 基因的预测。对于蛋白质编码序列, 将其比对已知的注释信息数据库 NCBI NR、KEGG^[26]和 COG^[27]得到功能注释, 并手动检测注释的准确性, 使用阈值为 $E\text{-values} < 10^{-5}$ 。

1.5 系统发育树的构建

为了确定分装得到的基因组的物种分类信息, 选取了 NCBI 物种数据库已发表的 78 个 Epsilonproteobacteria 代表种作为参考基因组(包括所有的非致病种, 以及 *Helicobacter*、*Campylobacter* 和 *Arcobacter* 3 个致病属的代表种各 5 个), 并选取 *Aquifex aeolicus* VF5 作为外群用于构建系统发育树。通过文献调研, 使用 38 个古菌和细菌共有的保守标记基因构建系统发育树以确定各基因组的进化地位^[28]。对于上述的每一个保守单拷贝基因的蛋白序列分别进行相同的操作: 合并目标基因组和

参考基因组中对应的蛋白序列, 使用 MAFFT^[29]进行序列比对, 参数默认。随后根据其所属的基因组, 将比对好的每一组序列按照相同顺序重新首位连接, 用空位补齐缺失的蛋白。将上述连接后得到的序列使用 trimal 进行 degap, 使用-automated1 参数, 适合后续极大似然法系统发育树的分析。手动检查并删除比对时引入的大量空位。使用 FastTree2^[30]基于 Whelan-And-Goldman (WAG)模型和 CAT 预测法构建最大似然系统发育树, 自展值通过 1000 次重复计算得到。

2 结果与分析

2.1 重构 Epsilonproteobacteria 基因组的基本信息

经过精细的拼装和 Binning, 从研究的深海热液烟囱体样本中重新构建了 4 个高质量的基因组。经 checkM 检测, 它们的完整度都在 90%以上且污染度在 1%以下, 基因组大小在 1.32 Mb–1.57 Mb (表 1), 且 checkM 内置系统发育分析结果表明这 4 个基因组都属于 Epsilonproteobacteria。4 个重构基因组都已上传 DDBJ/ENA/GenBank 数据库, BioProject ID 为 PRJNA430147, GenBank 登录号为 PUXW000000000–PUXZ000000000。

表 1 重建的 4 个 Epsilonproteobacteria 基因组的基本信息

Table 1 General characteristics of four reconstructed Epsilonproteobacteria genomes

Bin ID	Bin225	Bin51	Bin54	Bin189
Genome size (bp)	1 578 483	1 440 596	1 391 252	1 321 064
Contigs	59	20	94	156
N50	45 720	120 868	22 545	10 677
Mean contig length (bp)	26 753	72 029	14 800	8 468
Completeness	98.58	97.97	94.11	90.11
Contamination	0.81	0.41	0	0.41
Strain heterogeneity	0	0	0	0
GC	53.98	56.1	48.96	43.83
Predicted genes	1 639	1 522	1 564	1 347
Metabolism	688	663	666	587
Genetic information processing	172	169	176	153
Environmental information processing	68	66	57	35
Others	76	53	18	7
Unknown	635	571	647	565

在宏基因组中正确地组装高度相似的 16S rRNA 编码基因一直是宏基因组学中亟待解决的问题之一，而 Epsilonproteobacteria 在本研究的原始样本中为优势类群，必然存在大量近源类群，这可能是造成 4 个重建的基因组中均未检测到 16S rRNA 编码基因的重要原因。因此，我们通过 38 个串联的保守基因蛋白质序列对其进行系统发育树的构建，从而确定这些基因组在 Epsilonproteobacteria

类群中的具体进化地位(图 1)。结果显示，Bin225、Bin51 和 Bin54 之间具有相对密切的进化关系，而且它们最近的亲缘物种都为 *Nitratiruptor* sp. SB155-2；而 Bin189 与其他 3 个基因组具有较远的进化距离，并且与 *Caminibacter mediatlanticus*、*Nautilia profundicola* 以及 *Lebetimonas* 属中的类群具有相对较近的系统发育关系，但其具体的分类和进化地位仍不能确定。

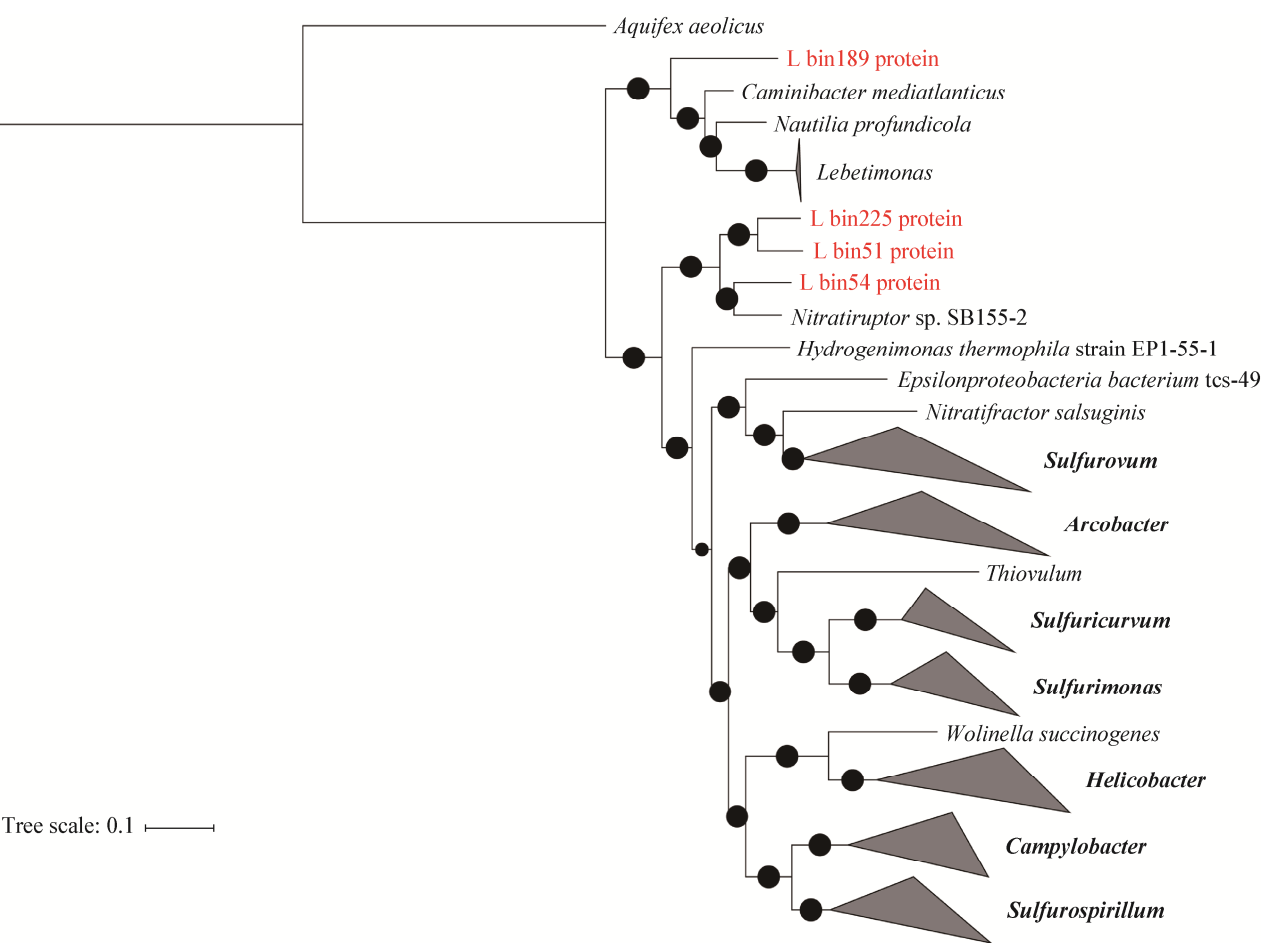


图 1 基于 38 个串联保守蛋白序列对 4 个重构 Epsilonproteobacteria 基因组的系统发育分析
Figure 1 Phylogenetic analysis of 4 reconstructed Epsilonproteobacteria genomes based on 38 concatenated conserved marker protein sequences
注：自展值>75 的显示为黑色圆点，其直径与自展的大小值成正比。
Note: Bootstrap larger than 75 were presented and in direct proportion to the diameter of the black dots on the branches.

基因组中都未被检测到。

对于氢化酶, 在 Bin54 和 Bin51 中都发现了可以利用醌体作为电子供体的 1 型 Ni-Fe 氢化酶基因 *hydA/B* 和 2 型氢化酶小亚基 *hybO*, 而 Bin189 和 Bin225 中未发现任何与氢化酶相关的基因。

与金属离子、无机矿物相关的转运子以及假定的 ABC 转运子基因在 4 个 Epsilonproteobacteria 基因组中被大量检测到, 如 *modA/B/C* (编码钼酸盐转运系统)、*malE/F/D* (编码磷脂转运子) 和 *znuA/B/C* (编码锌离子转运子) 在所有的基因组中都被发现。同时, 与次级代谢产物输出相关的转运子基因 *lptA/B/D/G* (编码脂多糖输出转运系统) 也被发现存在于所有的 4 个基因组中。此外, Bin189 还具有 *PstA/B/C/S* (编码磷酸盐/氨基酸转运子)、*livK/G/F* (编码支链氨基酸转运子)、*dctP/Q/M* (编码 C4-二羧酸阴离子转运子) 和 *cbiN/Q/M/O* (编码镍/钴转运子)。

在 4 个重构的基因组中都检测到了多种与分泌系统相关的完整功能基因, 包括 *gsp* (普通分泌系统)、*sec* (Sec-SRP 分泌系统) 和 *tat* (Tat 分泌系统)。除此之外, 在 Bin255 和 Bin51 中还发现了 *flh* 和 *fli* (III 型鞭毛相关分泌系统)。

对于细胞的移动能力, 结果显示 Bin255 和 Bin51 中具有完整的趋化性相关的功能基因 *cheA/W/R/Y/V*, 与鞭毛移动、分泌、粘附和调控相关的基因如 *flg*、*mot*、*fli* 等, 还有与纤毛移动相关的基因 *pilT/B/C/D*。而 Bin189 和 Bin54 中仅发现纤毛振荡移动蛋白的编码基因 *pilT* 和前体肽酶 *pilD*。此外, *aer* (趋氧性受体) 在所有的 4 个基因组中都被发现。

3 讨论

化能自养 Epsilonproteobacteria 经常在深海热液环境中的微生物群落中作为优势物种被发现, 有时甚至会形成大规模的微生物菌席覆盖在热液烟囱体表面^[10,13]。作为深海热液微生物群落的初级生产者之一, 这些化能自养微生物也被认为是整个深

海活跃热液生态系统得以存在和发展的重要基础^[16-17]。但是由于现阶段对原位深海热液环境模拟技术的困难和其本身嗜热、对氧气敏感、化能自养等不易分离培养的生理生化特点, 我们对深海热液 Epsilonproteobacteria 分类进化地位和代谢途径的认识还十分有限, 目前绝大多数研究都仅仅是基于 16S rRNA 基因的检测。随着日益发展的宏基因组技术和生物信息学方法, 研究者们有机会可以在基因组层面更加深入地探究这些热液未培养微生物的代谢潜能及其在环境原位中可能发挥的生态功能。虽然一些来自热液可培养 Epsilonproteobacteria 的预测基因的生化功能已经在之前的研究中得到了实验验证^[31-32], 但是对于更多新发现的来自未培养物种的功能基因仍需实验证明, 而本文所预测的功能基因以及重建的基因组为进一步研究其生理生化性质提供了材料和基础。当然, 现阶段所有功能基因预测的方法都是基于保守结构域的序列相似性, 因此不能排除与已知基因具有完全不同或未知结构域但具有相同生化功能的同工酶基因存在的可能性, 而对于这些同工酶的发现可能更加依赖未来原位活性检测技术、蛋白质功能检测技术以及测序技术的发展和进步。

在本研究中, 我们利用 Binning 技术从来自东太平洋海隆深海热液烟囱体的样本中重构了 4 个高质量的 Epsilonproteobacteria 基因组, 系统发育分析结果表明其中 Bin54 很可能属于 *Nitratiruptor* 属, 而 Bin51 和 Bin225 虽然也与该属具有较近的进化关系, 但其确切的分类地位仍需要更多的参考基因组来支持。Bin189 在系统发育树的位置相对靠近根部, 与已发表的任何 Epsilonproteobacteria 基因组没有较近的进化关系, 因此可能属于一支相对古老的新发现的深海热液 Epsilonproteobacteria 类群。

所有分离自深海热液环境的 Epsilonproteobacteria 都可以氧化还原性硫化物和(或)氢气, 并且利用 rTCA 固碳途径进行化能自养生长, 如 *Nitratiruptor*、*Hydrogenimonas*、*Sulfurovum*

属等^[15,17]。类似地,在本研究中重构的4个基因组都具有碳固定 rTCA 途径,说明深海热液环境中大量未知的、未得到纯培养的 *Epsilonproteobacteria* 很可能也同样可以进行化能自养的固碳过程,可能在深海生物地球化学碳元素循环以及维持整个热液生态系统的稳定中发挥重要作用。此外,这些基因组也都具有糖酵解和非氧化磷酸戊糖的代谢潜能,表明这些来自热液的 *Epsilonproteobacteria* 可以合成生命所必需的核苷酸和各种氨基酸,同时也暗示它们具有异养代谢的可能性。

所有重构的 *Epsilonproteobacteria* 都具有利用 *sqr* 氧化硫化物的潜能,但除 Bin189 之外,其他3个基因组都具有完整的反硝化途径,其中 Bin51 和 Bin54 还具有完整的 Sox 系统和氢化酶,这些也都与 *Nitratiruptor* sp. SB155-2 的代谢特征一致^[2],说明它们还可以利用硫代硫酸盐、单质硫和氢气作为能源,并且将产生的电子通过反硝化传递至硝酸盐生成氮气。同时这也支持了系统发育分析的结果,Bin51 很可能属于 *Nitratiruptor* 属,而 Bin54 和 Bin225 也与 *Nitratiruptor* 属在进化上具有较近的亲缘关系。

除了大量的金属和无机离子转运通道及 ABC 转运子以外,所有重构的基因组中都含有次级代谢产物转运系统,比如 *lpt* 脂多糖转出系统。另外,它们还都具有强大的细菌分泌系统。由此说明这些热液 *Epsilonproteobacteria* 很可能在生长的不同阶段向胞外环境分泌次级代谢产物,使其能够形成具有一定机械强度的三级结构,以抵抗超高温羽流的直接冲击或者波动影响。同时,这些次级代谢产物也可以为其他微生物提供相对稳定的栖息环境和能源物质,比如之前在 Loki castle 热液区域烟囱体微生物群落的研究中观察到 *Bacteroidetes* 附着生长于 *Epsilonproteobacteria* 产生的纤维状多糖细丝上^[10],这可能也是深海热液环境大规模微生物席形成的重要原因之一。与其他基因组不同的是 Bin189 还具有转运氨基酸和 C4-二羧酸的潜能^[33-34], Bin189 很可能会利用这些胞外有机物作为碳源和

能源物质进行化能异养代谢。

鉴于完整趋化性和鞭毛移动相关的功能基因,Bin256 和 Bin51 被推测很可能具有自由移动的能力,这一点不同于其他2个基因组。当然,这也有可能是由于基因组的非完整性所造成的。此外,趋氧性受体说明这些深海热液 *Epsilonproteobacteria* 类似于其已分离的近源物种,对氧气都具有较高的敏感性,很可能为厌氧或者微耐氧微生物。

4 结论

非致病性 *Epsilonproteobacteria* 广泛分布于不同的自然环境中,在一些极端生境中常常作为优势物种被发现,比如陆地热泉和深海热液喷口。它们当中的绝大多数为化能自养类型且具有多样的代谢潜能,在碳、氮、硫等地球化学元素循环中发挥着重要的作用。本研究对东太平洋海隆深海热液烟囱体宏基因组样本进行拼接和 Binning,从中重构出4个高质量的 *Epsilonproteobacteria* 基因组 Bin225、Bin51、Bin54 和 Bin189 并进行了详细的系统发育和代谢途径分析。结果显示,Bin189 可能为一种新型深海热液兼性化能营养型 *Epsilonproteobacteria* 类群,除了可以利用完整的 rTCA 碳固定途径和 *sqr* 硫氧化进行化能自养生长以外,同时也具有转运和利用胞外氨基酸和有机物进行异养代谢的潜力;而其他3个基因组与 *Nitratiruptor* 属具有相对较近的进化关系和相似的代谢特征,它们都具有完整的反硝化途径,其中2个基因组还包括 Sox 系统和氢化酶,具有氧化多种硫化物和氢气的潜能。此外,所有重构的 *Epsilonproteobacteria* 基因组中都具有脂多糖输出系统和强大的分泌系统,说明其很可能在深海热液微生物群落的形成和发展中发挥着重要作用。本研究对4个重构自深海热液系统的 *Epsilonproteobacteria* 基因组的系统发育地位和代谢潜能进行了深入的探索研究,这不仅有助于更加深入理解 *Epsilonproteobacteria* 在深海热液生态系统和地球化学元素循环中所发挥的作用,同时也为今后研究非

培养 Epsilonproteobacteria 的代谢特征以及分离培养条件的优化提供了更加丰富的数据支持和理论基础。

REFERENCES

- [1] Waite DW, Vanwonterghem I, Rinke C, et al. Comparative genomic analysis of the class *Epsilonproteobacteria* and proposed reclassification to epsilonbacteraeota (phyl. nov.)[J]. *Frontiers in Microbiology*, 2017, 8: 682
- [2] Nakagawa S, Takaki Y, Shimamura S, et al. Deep-sea vent ϵ -proteobacterial genomes provide insights into emergence of pathogens[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2007, 104(29): 12146-12150
- [3] Nakagawa S, Takai K, Inagaki F, et al. *Nitratiruptor tergaricus* gen. nov., sp. nov. and *Nitratiruptor salsuginis* gen. nov., sp. nov., nitrate-reducing chemolithoautotrophs of the ϵ -Proteobacteria isolated from a deep-sea hydrothermal system in the Mid-Okinawa Trough[J]. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 2005, 55(2): 925-933
- [4] Inagaki F, Takai K, Nealson KH, et al. *Sulfurovum lithotrophicum* gen. nov., sp. nov., a novel sulfur-oxidizing chemolithoautotroph within the ϵ -Proteobacteria isolated from Okinawa Trough hydrothermal sediments[J]. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 2004, 54(5): 1477-1482
- [5] Pérez-Rodríguez I, Ricci J, Voordeckers JW, et al. *Nautilia nitratreducens* sp. nov., a thermophilic, anaerobic, chemosynthetic, nitrate-ammonifying bacterium isolated from a deep-sea hydrothermal vent[J]. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 2010, 60(5): 1182-1186
- [6] Keller AH, Schleinitz KM, Starke R, et al. Metagenome-based metabolic reconstruction reveals the ecophysiological function of *Epsilonproteobacteria* in a hydrocarbon-contaminated sulfidic aquifer[J]. *Frontiers in Microbiology*, 2015, 6: 1396
- [7] Voordeckers JW, Starovoytov V, Vetriani C. *Caminibacter mediatlanticus* sp. nov., a thermophilic, chemolithoautotrophic, nitrate-ammonifying bacterium isolated from a deep-sea hydrothermal vent on the Mid-Atlantic Ridge[J]. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 2005, 55(2): 773-779
- [8] Meyer JL, Huber JA. Strain-level genomic variation in natural populations of *Lebetimonas* from an erupting deep-sea volcano[J]. *The ISME Journal*, 2014, 8(4): 867-880
- [9] Goris T, Schubert T, Gadkari J, et al. Insights into organohalide respiration and the versatile catabolism of *Sulfurospirillum multivorans* gained from comparative genomics and physiological studies[J]. *Environmental Microbiology*, 2014, 16(11): 3562-3580
- [10] Stokke R, Dahle H, Roalkvam I, et al. Functional interactions among filamentous Epsilonproteobacteria and *Bacteroidetes* in a deep-sea hydrothermal vent biofilm[J]. *Environmental Microbiology*, 2015, 17(10): 4063-4077
- [11] Grzymalski JJ, Murray AE, Campbell BJ, et al. Metagenome analysis of an extreme microbial symbiosis reveals eurythermal adaptation and metabolic flexibility[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2008, 105(45): 17516-17521
- [12] Zbinden M, Marqué L, Gaudron SM, et al. Epsilonproteobacteria as gill epibionts of the hydrothermal vent gastropod *Cyathieria naticoides* (North East-Pacific Rise)[J]. *Marine Biology*, 2015, 162(2): 435-448
- [13] Steen IH, Dahle H, Stokke R, et al. Novel barite chimneys at the Loki's Castle Vent Field shed light on key factors shaping microbial communities and functions in hydrothermal systems[J]. *Frontiers in Microbiology*, 2015, 6: 1510
- [14] Takai K, Suzuki M, Nakagawa S, et al. *Sulfurimonas parvalvinellae* sp. nov., a novel mesophilic, hydrogen- and sulfur-oxidizing chemolithoautotroph within the Epsilonproteobacteria isolated from a deep-sea hydrothermal vent polychaete nest, reclassification of *Thiomicrospira denitrificans* as *Sulfurimonas denitrificans* comb. nov. and emended description of the genus *Sulfurimonas*[J]. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 2006, 56(8): 1725-1733
- [15] Nakagawa S, Takaki Y. Nonpathogenic *Epsilonproteobacteria*[A]//Encyclopedia of Life Sciences[M]. New York: John Wiley & Sons, 2009
- [16] Campbell BJ, Engel AS, Porter ML, et al. The versatile ϵ -proteobacteria: key players in sulphidic habitats[J]. *Nature Reviews Microbiology*, 2006, 4(6): 458-468
- [17] Sievert SM, Vetriani C. Chemoautotrophy at deep-sea vents: past, present, and future[J]. *Oceanography*, 2012, 25(1): 218-233
- [18] He Y, Li M, Perumal V, et al. Genomic and enzymatic evidence for acetogenesis among multiple lineages of the archaeal phylum Bathyarchaeota widespread in marine sediments[J]. *Nature Microbiology*, 2016, 1(6): 16035
- [19] Peng Y, Leung HCM, Yiu SM, et al. IDBA-UD: a de novo assembler for single-cell and metagenomic sequencing data with highly uneven depth[J]. *Bioinformatics*, 2012, 28(11): 1420-1428
- [20] Dick GJ, Andersson AF, Baker BJ, et al. Community-wide analysis of microbial genome sequence signatures[J]. *Genome Biology*, 2009, 10(8): R85
- [21] Langmead B, Salzberg SL. Fast gapped-read alignment with Bowtie 2[J]. *Nature Methods*, 2012, 9(4): 357-359
- [22] Albertsen M, Hugenholtz P, Skarshewski A, et al. Genome sequences of rare, uncultured bacteria obtained by differential coverage binning of multiple metagenomes[J]. *Nature Biotechnology*, 2013, 31(6): 533-538
- [23] Parks DH, Imelfort M, Skennerton CT, et al. CheckM: assessing the quality of microbial genomes recovered from isolates, single cells, and metagenomes[J]. *Genome Research*, 2015, 25(7): 1043-1055
- [24] Hyatt D, Chen GL, Locascio PF, et al. Prodigal: prokaryotic gene recognition and translation initiation site identification[J]. *BMC Bioinformatics*, 2010, 11: 119
- [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] Kanehisa M, Goto S. KEGG: kyoto encyclopedia of genes and genomes[J]. Nucleic Acids Research, 2000, 28(1): 27-30
- [27] Tatusov RL, Fedorova ND, Jackson JD, et al. The COG database: an updated version includes eukaryotes[J]. BMC Bioinformatics, 2003, 4: 41
- [28] Rinke C, Schwientek P, Sczyrba A, et al. Insights into the phylogeny and coding potential of microbial dark matter[J]. Nature, 2013, 499(7459): 431-437
- [29] Katoh K, Misawa K, Kuma K, et al. MAFFT: a novel method for rapid multiple sequence alignment based on fast Fourier transform[J]. Nucleic Acids Research, 2002, 30(14): 3059-3066
- [30] Price MN, Dehal PS, Arkin AP. FastTree 2-approximately maximum-likelihood trees for large alignments[J]. PLoS One, 2010, 5(3): e9490
- [31] Yamamoto M, Nakagawa S, Shimamura S, et al. Molecular characterization of inorganic sulfur-compound metabolism in the deep-sea epsilonproteobacterium *Sulfurovum* sp. NBC37-1[J]. Environmental Microbiology, 2010, 12(5): 1144-1153
- [32] Ray S, Banerjee A, Bagchi A. Molecular level insight into the interactions of SoxC and SoxD from Epsilonproteobacteria *Sulfurimonas denitrificans*: a biomolecular computational approach[A]//Proceedings of the Second International Conference on Computer and Communication Technologies[C]. New Delhi: Springer, 2016, 379: 401-410
- [33] Eick-Helmerich K, Braun V. Import of biopolymers into *Escherichia coli*: nucleotide sequences of the *exbB* and *exbD* genes are homologous to those of the *tolQ* and *tolR* genes, respectively[J]. Journal of Bacteriology, 1989, 171(9): 5117-5126
- [34] Forward JA, Behrendt MC, Wyborn NR, et al. TRAP transporters: a new family of periplasmic solute transport systems encoded by the *dctPQM* genes of *Rhodobacter capsulatus* and by homologs in diverse gram-negative bacteria[J]. Journal of Bacteriology, 1997, 179(17): 5482-5493

征 稿 简 则

1 刊物简介与栏目设置

《微生物学通报》是由中国科学院微生物研究所和中国微生物学会主办的,以微生物学应用基础研究及技术创新与应用为主的综合性学术期刊。刊登内容包括:工业、海洋、环境、基础、农业、食品、兽医、水生、药物、医学微生物学和微生物蛋白质组学、功能基因组、工程与药物等领域的最新研究成果、产业化新技术和新进展,以及微生物学教学研究改革等。设置的栏目有:研究报告、专论与综述、生物实验室、高校教改纵横、专栏等。

2 投稿方式

投稿时请登陆我刊主页 <http://journals.im.ac.cn/wwxtbcn>, 点击作者投稿区,第一次投稿请先注册,获得用户名和密码,然后依照提示提交稿件,详见主页“投稿须知”。

3 写作要求

3.1 来稿要求论点明确,数据可靠,简明通顺,重点突出。

3.2 英文摘要写作注意事项:(1) 建议使用第一人称,以此可区分研究结果是引用文献还是作者所得;(2) 建议用主动语态,被动语态表达拖拉模糊,尽量不用,这样可以避免长句,以求简单清晰;(3) 建议使用过去时态,要求语法正确,句子通顺;(4) 英文摘要的内容应与中文摘要一致,但可比中文摘要更详尽,写完务必请英文较好且专业知识强的专家审阅定稿后再返回编辑部;(5) 摘要中不要使用缩写语,除非是人人皆知的,如:DNA,ATP等;(6) 在英文摘要中不要使用中文字体标点符号。

3.3 关键词:应明确、具体,一些模糊、笼统的词语最好不用,如“基因”、“表达”等。

3.4 脚注(正文首页下方):

Foundation items:

*Corresponding author: Tel: ; E-mail:

Received: January 01, 20xx; Accepted: March 01, 20xx; Published online (www.cnki.net): March 31, 20xx

基金项目: 基金项目(编号)

*通信作者: Tel: ; E-mail:

收稿日期: 20xx-01-01; 接受日期: 20xx-03-01; 网络首发日期(www.cnki.net): 20xx-03-31

(下转 p.1971)