

研究报告

一株人源性高效尿酸降解菌 M2a 的分离鉴定、全基因组测序及功能分析

迪力努尔·艾克帕¹, 贺怡², 田婷婷³, 梁美婷², 陈邬锦¹, 陈晓瑜¹, 朱语秋¹, 杜满茜¹, 孙玉萍^{*4,5}

1 新疆医科大学 基础医学院, 新疆 乌鲁木齐 830000

2 新疆第二医学院 基础医学部, 新疆 克拉玛依 834000

3 新疆医科大学第五附属医院 检验科, 新疆 乌鲁木齐 830000

4 新疆医科大学基础医学院 医学微生物学教研室, 新疆 乌鲁木齐 830000

5 新疆医科大学 新疆地方病分子生物学重点实验室, 新疆 乌鲁木齐 830000

迪力努尔·艾克帕, 贺怡, 田婷婷, 梁美婷, 陈邬锦, 陈晓瑜, 朱语秋, 杜满茜, 孙玉萍. 一株人源性高效尿酸降解菌 M2a 的分离鉴定、全基因组测序及功能分析[J]. 微生物学通报, 2025, 52(3): 1309-1322.

Dilinur Aikepa, HE Yi, TIAN Tingting, LIANG Meiting, CHEN Wujin, CHEN Xiaoyu, ZHU Yuqiu, DU Manxi, SUN Yuping. Isolation, identification, whole-genome sequencing, and functional analysis of a human-derived efficient uric acid-degrading bacterium M2a[J]. Microbiology China, 2025, 52(3): 1309-1322.

摘要:【背景】高尿酸血症是一种尿酸生成与排泄失衡所导致的嘌呤代谢紊乱疾病, 而肠道微生物在嘌呤代谢中发挥重要作用, 其中 1/3 的尿酸通过肠道菌群分解, 所以肠道益生菌能够有效降低体内尿酸水平, 缓解高尿酸血症。【目的】获得人源性尿酸降解菌, 并了解其与尿酸降解有关的基因及功能。【方法】通过体外尿酸强化培养和驯化, 从正常低尿酸健康人群肠道粪便中获得具备尿酸降解能力的菌株, 对其进行一般形态学观察、生化试验、16S rRNA 基因序列测定, 以及生物信息学分析和鉴定, 并进行全基因组测序和功能基因挖掘。【结果】分离出一株具有较高尿酸降解功能的革兰氏阳性杆菌 M2a, 尿酸降解率达到 82.73%, 经鉴定为类干酪乳酪杆菌(*Lactocaseibacillus paracasei*), 全基因组测序发现菌株 M2a 具有 9 个与尿酸降解相关的基因。【结论】菌株 M2a 具有高效降解尿酸的能力, 为开发和利用微生物制剂进行尿酸治疗提供了科学依据和菌种资源。

关键词: 类干酪乳酪杆菌; 菌株鉴定; 全基因组测序; 尿酸降解; 功能分析

资助项目: 国家自然科学基金(82260182); 新疆克拉玛依市科技计划(20232023hjcxc0084); 新疆维吾尔自治区研究生科研创新项目(XJ2024G174); 新疆医科大学医学科学研究所开放课题(YXYJ20230204)

This work was supported by the National Natural Science Foundation of China (82260182), the Science and Technology Plan of Karamay, Xinjiang, China (20232023hjcxc0084), the Graduate Research Innovation Project in Xinjiang Uygur Autonomous Region (XJ2024G174), and the Open Project of Institute of Medical Sciences, Xinjiang Medical University (YXYJ20230204).

*Corresponding author. E-mail: Sunyuping@xjmu.edu.cn

Received: 2024-06-07; Accepted: 2024-07-15; Published online: 2024-11-19

Isolation, identification, whole-genome sequencing, and functional analysis of a human-derived efficient uric acid-degrading bacterium M2a

Dilinur Aikepa¹, HE Yi², TIAN Tingting³, LIANG Meiting², CHEN Wujin¹, CHEN Xiaoyu¹, ZHU Yuqiu¹, DU Manxi¹, SUN Yuping^{*4,5}

1 School of Basic Medical Science, Xinjiang Medical University, Urumqi 830000, Xinjiang, China

2 Department of Basic Medicine, Xinjiang Second Medical College, Karamay 834000, Xinjiang, China

3 Department of Laboratory, The Fifth Affiliated Hospital of Xinjiang Medical University, Urumqi 830000, Xinjiang, China

4 Department of Medical Microbiology, Basic Medical College, Xinjiang Medical University, Urumqi 830000, Xinjiang, China

5 Key Laboratory of Molecular Biology of Endemic Diseases in Xinjiang, Xinjiang Medical University, Urumqi 830000, Xinjiang, China

Abstract: **[Background]** Hyperuricemia is a purine metabolism disorder caused by an imbalance between uric acid production and excretion. The gut microbiota plays a significant role in purine metabolism, degrading approximately one-third of uric acid. Accordingly, gut probiotics have garnered wide attention for their potential of lowering uric acid levels and alleviating hyperuricemia. **[Objective]** To isolate human-derived uric acid-degrading bacteria and identify the genes and functions potentially involved in uric acid degradation. **[Methods]** After *in vitro* enrichment and acclimatization with uric acid, a strain capable of degrading uric acid was isolated from the feces of healthy individuals with normal low uric acid levels. Morphological observation, biochemical tests, 16S rRNA gene sequencing, bioinformatics analysis, and identification were then carried out for this strain. In addition, whole-genome sequencing and functional gene mining were performed. **[Results]** A Gram-positive bacterium (M2a) with a high uric acid degradation rate of 82.73% was isolated and identified as *Lacticaseibacillus paracasei*. Whole-genome sequencing revealed that M2a carried nine genes associated with uric acid degradation. **[Conclusion]** M2a can efficiently degrade uric acid, providing a scientific basis and bacterial resource for the future development and utilization of microbial preparations for treating uric acid-related disorders.

Keywords: *Lacticaseibacillus paracasei*; strain identification; whole-genome sequencing; uric acid degradation; functional analysis

类干酪乳酪杆菌(*Lacticaseibacillus paracasei*)是一种常见的革兰氏阳性杆菌,属于乳酪杆菌属(*Lacticaseibacillus*),广泛存在于发酵乳、泡菜等发酵食品^[1-2],以及人体的口腔和肠道中。该菌株为兼性厌氧,不运动且不产生芽孢,因其研究和历史悠久且具有较高的安全性,

已被许多国家批准用于食品制备^[3-4]。随着研究的深入,类干酪乳酪杆菌被发现具有平衡肠道菌群、降血压、降胆固醇、抗肿瘤和抗氧化等多种生物活性^[5-9]。然而,不同菌株在功能性和安全性特征上存在显著差异^[10-11],且现有研究主要集中在其生理特性上,对其基因功能的研

究相对较少。根据肠道菌群与高尿酸血症的相关性研究^[12-14],我们推测低尿酸人群的肠道中可能存在具有降尿酸功能的细菌。本研究采用传统细菌分离培养技术,从低尿酸人群的粪便中分离纯化并驯化可能具有高效尿酸降解功能的细菌,并利用高通量测序平台进行全基因组测序,旨在挖掘微生物资源,为未来开发和利用微生物制剂进行尿酸治疗提供科学依据和菌种资源。

1 材料与amp;方法

1.1 样品

利用国际人类微生物组项目推荐的肠道微生物样品采集套装,收集 10 名 20–22 岁新疆某高校大一健康低尿酸男性的清晨空腹粪便,2 h 内送回实验室,放入 4 °C 冰箱保存备用。纳入标准:近一个月内无胃肠道及全身重大疾病且未服用抗生素者,健康体检后血尿酸水平 < 190 μmol/L 的男性。所有志愿者对本研究均知情同意。本实验获得新疆医科大学第一附属医院医学伦理委员会批准(审批号: K202105-08)。

1.2 培养基

高尿酸溶液:参考文献[15]配制,称取 1.076 g 尿酸溶于 1 000 mL 蒸馏水,用磷酸氢二钾将 pH 值调至 7.2–7.5,制备成终浓度为 6.40 mmol/L 的尿酸溶液。利用二倍稀释法将 6.40 mmol/L 的尿酸溶液分别稀释成 3.20、1.60、0.80 mmol/L 浓度梯度的尿酸溶液。

德氏乳杆菌培养基(de Man, Rogosa and Sharpe, MRS)液体培养基(g/L):蛋白胨 10.00,牛肉浸粉 8.00,酵母浸粉 4.00,葡萄糖 20.00,吐温-80 1.00,磷酸氢二钾 2.00,乙酸钠 5.00,柠檬酸二铵 2.00,硫酸镁 0.20,硫酸锰 0.05, pH 5.5–5.9。

MRS 固体培养基:在 MRS 液体培养基基础上加入 15.0 g/L 琼脂。

MRS 高尿酸培养基:以上述 4 个浓度梯度

的高尿酸溶液作为溶剂,以 MRS 培养基作为溶质即得到相应浓度的 MRS 高尿酸培养基,于 118 °C 灭菌 15 min 备用。

1.3 主要试剂和仪器

尿酸,麦克林生化公司;琼脂, BioFroxx 公司;尿酸检测试剂盒,南京建成生物工程研究所有限公司;细菌基因组提取试剂盒,北京索莱宝科技有限公司;Illumina 文库制备试剂盒及 2×Taq PCR Master Mix II,北京全式金生物技术股份有限公司;VITEK® 2 ANC 厌氧菌及棒状杆菌鉴定卡片,梅里埃诊断产品(上海)有限公司;激光共聚焦专用培养皿,北京华力德科技有限公司。喷金-离子溅射仪、透射电镜和扫描电镜,日立公司;全自动微生物鉴定分析仪,梅里埃(上海)生物制品有限公司;酶标仪,赛默飞世尔科技(中国)有限公司;超声波破碎仪,Covaris 公司。

1.4 菌株的分离驯化与形态学观察

用无菌环挑取 0.2–0.5 g 新鲜粪便,分别接种至 4 个浓度梯度的 MRS 高尿酸液体培养基中,在 37 °C 厌氧条件下恒温培养 36–72 h,然后取 10 μL 培养液均匀涂布在 4 个浓度梯度的 MRS 高尿酸固体培养基上进行分离,继续培养 24–72 h 后,根据菌落的大小、颜色、表面的光滑程度及边缘的整齐度等特征,选择不同的菌落,采用分区划线法接种到 6.40 mmol/L MRS 高尿酸培养基上进行驯化,此步骤重复 3–5 次,直到培养基上的菌落形态一致,拍照记录菌落特征并进行革兰氏染色和镜检。挑取单个菌落接种至含 1 mL MRS 液体培养基的 15 mm 激光共聚焦专用培养皿,37 °C 厌氧培养 48 h 后使用无菌生理盐水进行漂洗,并在戊二醛中固定过夜。对漂洗后的菌体进行乙醇梯度脱水,用二氧化碳临界点干燥,并将样品放置到喷金-离子溅射仪中进行喷金处理,最后用扫描电镜观察菌体特征。

1.5 尿酸降解率的测定

将驯化后的细菌接种于 6.40 mmol/L 尿酸浓度的 MRS 液体培养基中, 菌落组和空白对照组各设立 3 个平行样, 在 37 °C 恒温厌氧培养 24 h 后使用尿酸酶法测定前 5 d 培养基中的尿酸浓度, 取每日单个浓度的均值计算尿酸降解率。

降解率=[原始尿酸浓度(空白组)-尿酸降解后浓度(菌落组)]/原始尿酸浓度×100%。

选取尿酸降解率>50%的菌株作为进一步研究的对象。

1.6 菌株的生化鉴定

使用无菌环挑取菌株的纯培养物于 0.45% 无菌生理盐水中进行乳化, 使用麦氏比浊法将菌悬液浊度调至 3.30 后接种至 VITEK® 2 ANC 厌氧菌及棒状杆菌鉴定卡内, 用全自动微生物鉴定分析仪进行生化反应鉴定。

1.7 菌株的分子生物学鉴定

根据参考文献[16]的方法提取并纯化菌株 DNA, 以其为模板, 采用细菌通用引物 27F (5'-GAACCGCATGGTTCTTGGC-3') 和 1492R (5'-ACCCACATCTCACGACACG-3') 扩增细菌 16S rRNA 基因序列。PCR 反应体系(25 μL): 2×Taq PCR Master Mix II 12.5 μL, 上、下游引物(10 μmol/L)各 1 μL, DNA 模板 1 μL, RNase free water 9.5 μL。PCR 反应条件: 94 °C 5 min; 94 °C 30 s, 55 °C 30 s, 72 °C 1 min, 30 次循环; 72 °C 10 min。PCR 产物经 1.0% 琼脂糖凝胶电泳检测并将目的片段进行胶回收后送至生工生物工程(上海)股份有限公司完成全基因组测序, 采用 Roary 分析得到核心基因序列, 通过 MEGA 11 对核心基因序列进行多重序列比对并以 neighbour-joining 聚类的方式构建核心基因系统发育树。通过构建系统发育树可了解细菌基因间进化关系, 推测功能基因组的演化。

1.8 全基因组测序及功能基因挖掘

纯种菌培养物经由生工生物工程(上海)股

份有限公司提取 DNA 并进行基因组完成图测定。对测序产生的原始数据通过 fastp 进行数据统计、质量评估以及质量剪切。质控后的数据与 Nanopore 数据通过 Unicycler v0.4.8^[17] 软件进行拼接, 再使用 Pilon v1.22 进行序列矫正, 修正拼接过程中的剪辑错误及小片段的插入缺失。使用 CGView^[18] 软件绘制菌株基因组圈图, 全面展示基因组特征, 包括正链和负链上的基因、直系同源基因簇功能分类(clusters of orthologous groups functional classification, COG)功能分类、G+C 含量及基因组大小等信息。对蛋白编码序列进行功能注释, 筛选出与尿酸代谢相关的功能基因。采用 Barrnap (0.9-dev) 软件预测 rRNA, tRNAscan-SE 软件预测 tRNA, Glimmer v3.02 软件预测细菌基因组中的基因结构、开放阅读框(open reading frame, ORF)及蛋白编码基因, 将测序结果与京都基因与基因组百科全书(Kyoto encyclopedia of genes and genomes, KEGG)、基因本体论数据库(gene ontology, GO) 等 11 个数据库进行比对, 完成基因功能注释。

2 结果与分析

2.1 尿酸降解菌株的分离纯化及降尿酸效果评价

2.1.1 菌株的形态学特征

通过分离培养纯化获得一株优势菌, 命名为 M2a。菌落呈白色, 圆形凸起, 表面光滑, 边缘整齐。革兰氏染色阳性, 杆状, 散在排列。扫描电镜下菌体呈杆状, 长约 1–2 μm、宽约 0.70–0.80 μm, 无荚膜和鞭毛, 不产芽孢(图 1)。

2.1.2 降尿酸效果评价

在厌氧条件下, 驯化培养基中培养 5 d, 该菌的尿酸降解率分别为 13.51%、21.95%、35.25%、46.91%、82.73%, 并且与原始浓度相比具有统计学意义(表 1)。

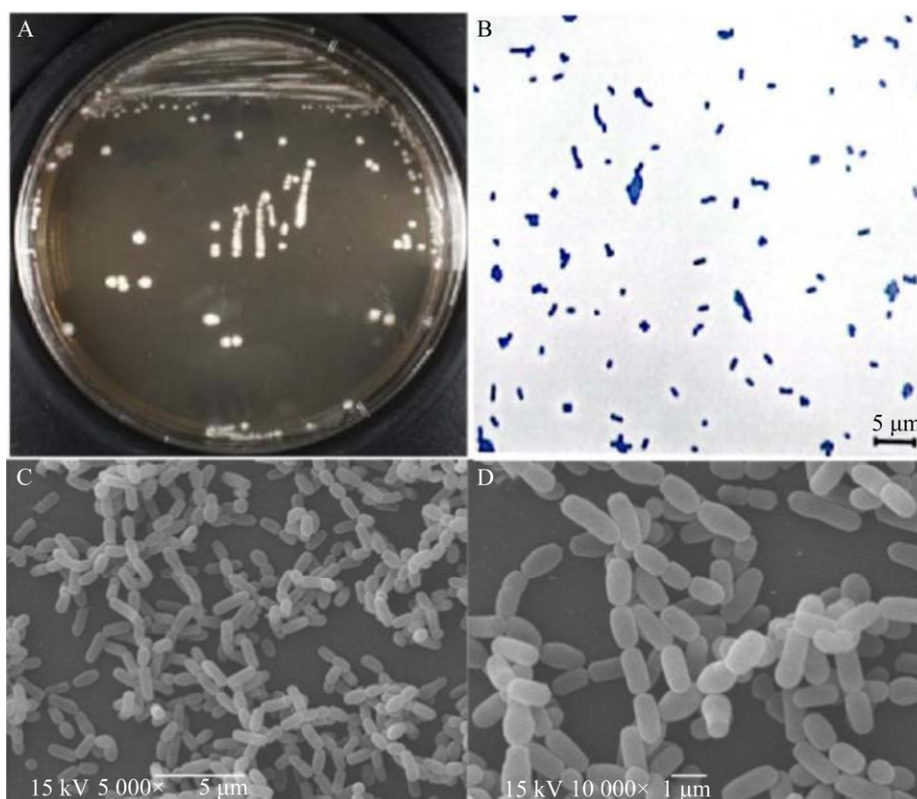


图 1 菌株 M2a 菌落、革兰氏染色和扫描电镜下特点 A: M2a 菌落形态。B: 革兰氏染色。C: 扫描电镜图(5 000 \times)。D: 扫描电镜图(10 000 \times)。

Figure 1 Characteristics of strain M2a, Gram staining and scanning electron microscopy. A: Colony morphology of the strain M2a. B: Gram staining. C: Scanning electron microscopy image (5 000 \times). D: Scanning electron microscopy image (10 000 \times).

表 1 菌株 M2a 连续 5 d 体外尿酸降解率测定

Table 1 Determination of uric acid degradation rate *in vitro* for 5 consecutive days in strain M2a

培养时间 Incubation time	原始尿酸浓度 Primary uric acid concentration (mmol/L)	降解后尿酸浓度 Uric acid concentration after degradation (mmol/L)	尿酸降解效率 Degradation efficiency of uric acid (%)	<i>P</i>
第 1 天 Day 1	5.873 \pm 2.31	5.080 \pm 6.41	13.51	0.114
第 2 天 Day 2	5.407 \pm 3.06	4.220 \pm 1.00	21.95	<0.01
第 3 天 Day 3	5.333 \pm 2.10	3.453 \pm 5.13	35.25	<0.01
第 4 天 Day 4	5.713 \pm 3.01	3.033 \pm 2.89	46.91	<0.01
第 5 天 Day 5	5.867 \pm 8.08	1.013 \pm 1.42	82.73	<0.01

2.2 菌株 M2a 鉴定结果

2.2.1 生化反应鉴定结果

采用梅里埃 VITEK[®] 2 ANC 系统鉴定菌株 M2a 为类干酪乳酪杆菌(表 2)。

2.2.2 16S rRNA 基因序列分析及系统发育树

与 NCBI GenBank 比对后,利用 MEGA 11 软件构建系统发育树(图 2)。发现菌株 M2a 与

表 2 菌株 M2a 生理生化鉴定结果

Table 2 Physiological and biochemical identification results of strain M2a

生化反应 Biochemical response	结果 Result
D-半乳糖 D-galactose	+
L-脯氨酸芳胺酶 L-phenylalanine ammonia-lyase	+
丙氨酸-苯丙氨酸-脯氨酸芳胺酶 Alanine-phenylalanine-proline arylamidase	+
蔗糖 Sucrose	+
尿素酶 Urease	-
5-溴-4-氯-3-吲哚- α -D-半乳糖苷 5-bromo-4-chloro-3-indolyl- α -D-galactopyranoside	-
麦芽三糖 Maltotriose	-
5-溴-4-氯-3-吲哚- α -D-甘露糖苷 5-bromo-4-chloro-3-indolyl- α -D-glucopyranoside	-
D-核糖 2 D-ribose 2	+
Ellman	-
D-纤维二糖 D-cellobiose	-
D-甘露糖 D-mannose	+
N-乙酰-D-氨基葡萄糖 N-acetyl-D-glucosamine	+
β -半乳糖吡喃糖苷酶吲哚酚 β -galactopyranosidase indole phenol	-
精氨酸 GP Arginine GP	+
β -D-岩藻糖苷酶 β -D-fucosidase	-
磷酸酶 Phosphatase	-
α -L-阿拉伯糖苷 α -L-arabinoside	-
亮氨酸芳胺酶 Leucine arylamidase	+
L-吡咯烷酮芳胺酶 L-pyrroline-5-carboxylate deaminase	+
D-葡萄糖 D-glucose	+
熊果苷 Arbutin	w
5-溴-4-氯-3-吲哚- α -D-葡萄糖苷 5-bromo-4-chloro-3-indolyl- α -D-glucopyranoside	-
β -甘露糖苷酶 β -mannosidases	-
槲皮素葡萄糖苷 Quercetin glucoside	+
α -L-岩藻糖苷酶 α -L-fucosidases	-
苯基磷酸盐 Phenylphosphate	-
苯丙氨酸芳胺酶 Phenylalanine ammonia-lyase	+
酪氨酸芳胺酶 Tyrosinase	+
D-麦芽糖苷 D-maltosides	+
5-溴-4-氯-3-吲哚- β -D-葡萄糖苷 5-bromo-4-chloro-3-indolyl β -D-glucoside	-
α -阿拉伯糖苷酶 α -arabinosidase	-
丙酮酸盐 Pyruvate	+
5-溴-4-氯-3-吲哚基-N-乙酰- β -D-葡萄糖胺 5-bromo-4-chloro-3-indolyl-N-acetyl- β -D-glucosaminide	-
L-阿拉伯糖 L-arabinose	-
D-木糖 D-xylose	-

+: 阳性; w: 弱阳性; -: 阴性。

+: Positive; w: Weakly positive; -: Negative.

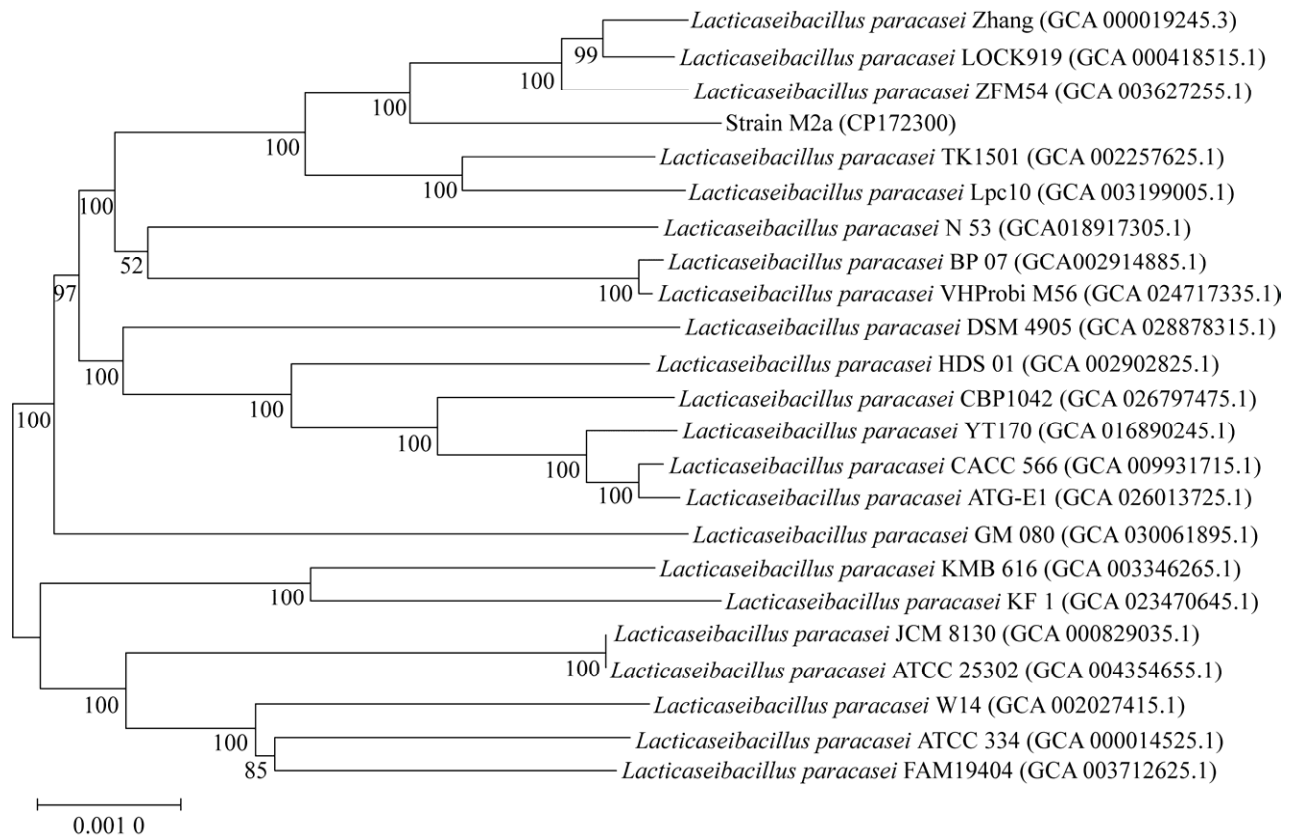


图 2 基于 16S rRNA 基因序列构建的菌株 M2a 的系统发育树 分支上的数字表示 bootstrap 值(1 000 次重复); 标尺 0.001 0 代表进化距离; 括号内为 GenBank 登录号。

Figure 2 Phylogenetic tree of strain M2a based on 16S rRNA gene sequence. The number on each node represents the bootstrap value (1 000 replications); The scale data 0.001 0 represents the evolutionary distance; The serial numbers in parentheses are GenBank accession numbers.

类干酪乳酪杆菌(*Lacticaseibacillus paracasei*) ZFM54 基因组平均核苷酸一致性(average nucleotide identity, ANI)达 99.2%, 在系统发育树上与类干酪乳酪杆菌同在一个分支, 为类干酪乳酪杆菌(*Lacticaseibacillus paracasei*)。

2.3 M2a 全基因组分析

为进一步鉴定菌株并从基因水平揭示其功能, 对菌株 M2a 进行全基因组测序。结果显示, 菌株 M2a 高质量过滤后长度为 1 572 523 043 bp, G+C 含量 46.26%, 拼接得到一条染色体和一个质粒, 大小分别为 3 006 900 bp 和 34 148 bp, G+C 含量分别为 46.36%和 40.55%。基因组中包含

2 765 个编码序列(coding sequences, CDS)、15 个 rRNA 和 58 个 tRNA, 编码基因约占基因组 85.83%。此外, 菌株 M2a 包含一个长的质粒, 基因组 Circos 圈图可以更全面、更直观地认识类干酪乳酪杆菌 M2a 基因组的特征(图 3)。

2.4 M2a 功能注释

2.4.1 COG 注释

将菌株 M2a 的基因编码蛋白序列与 COG 数据库比对分析, 共有 2 073 个基因被注释到 20 组 COG 功能中, 占总编码基因的 69.51%。其中编码碳水化合物转运代谢相关基因 262 个; 编码一般功能预测相关基因有 232 个; 编码翻

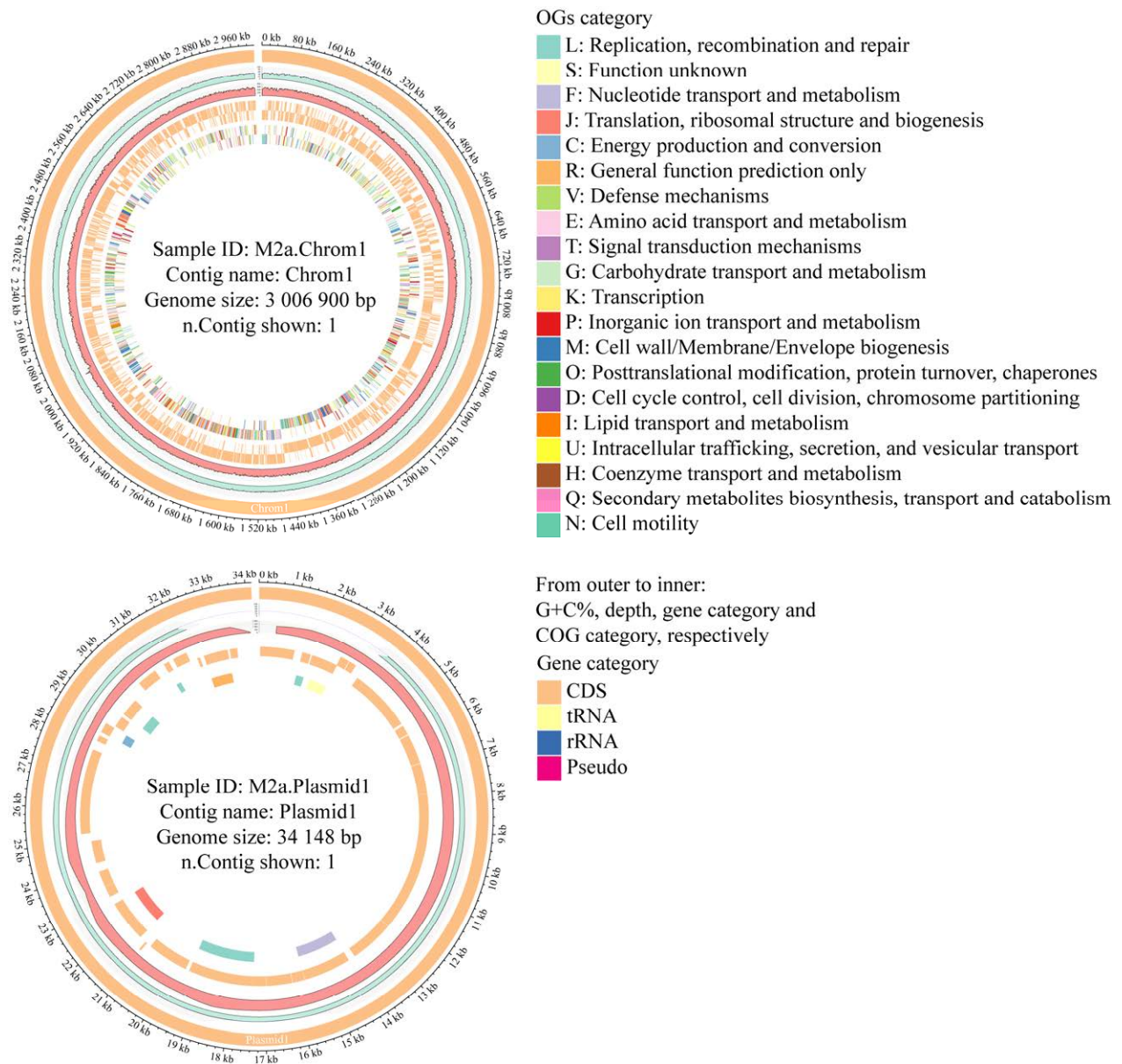


图3 菌株 M2a 全基因组测序完成图 圈图从外向内依次展示 G+C 含量、测序深度、基因元件展示、COG 功能展示。

Figure 3 Completed whole-genome sequencing of strain M2a. From outer to inner: G+C%, depth, gene category and COG category, respectively.

译、核糖体结构和生物发生相关功能基因 183 个；编码氨基酸转运和代谢相关功能基因 173 个；编码转录相关基因有 160 个(图 4)。这些富集较多的代谢途径均为细菌新陈代谢的必需途径。

2.4.2 GO 注释

将菌株 M2a 的基因编码蛋白序列与 GO 数据库比对分析，共有 1 575 个基因得到注释。分子功能注释中，占分子功能数量最多的是催化活性、DNA 结合、分子结构活性和转运体活

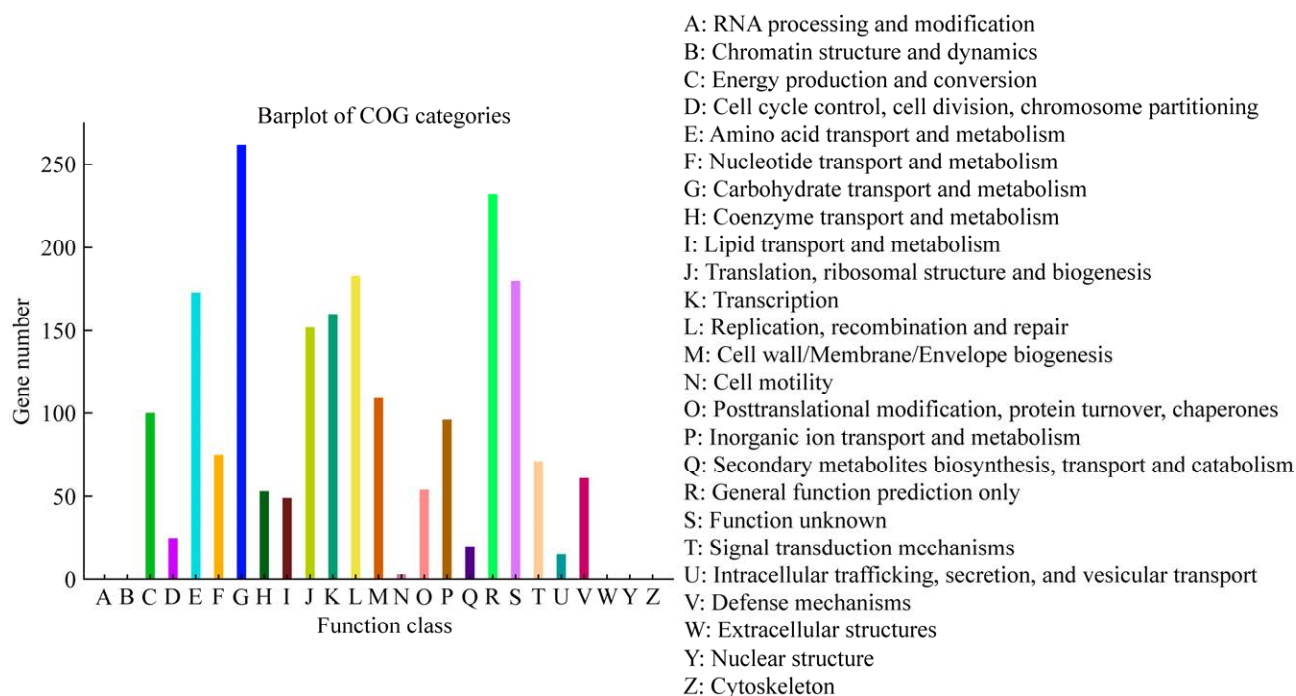


图 4 菌株 M2a 的 COG 分类统计

Figure 4 COG classification statistics of strain M2a.

性；细胞膜组成、含蛋白质的复合物和细胞器是细胞组分中数量最多的途径；细胞过程和代谢过程为主要参与的生物学过程(图 5)。这与编码基因的功能相对应,说明菌株 M2a 主要通过参与磷酸化和能量代谢等途径来发挥生物学作用。

2.4.3 KEGG 注释

将菌株 M2a 的基因编码蛋白序列与 KEGG 数据库进行比对,总共有 1 358 个编码基因得到注释,其中参与 metabolism 层次全局的基因是最多的,有 844 个相关基因;其次是环境信息处理,有 258 个相关基因(图 6)。

2.5 尿酸代谢相关功能基因挖掘

通过 COG 和 KEGG 功能注释,共发现与嘌呤和尿酸代谢相关的功能基因有 8 条,分别为编码黄嘌呤磷酸核糖基转移酶(xanthine phosphoribosyltransferase, XPT)、嘌呤渗透酶(purine permease, PBUX)、嘌呤-核苷磷酸化酶

(purine-nucleoside phosphorylase, PNP/DeoD)、嘌呤操纵子抑制子(purine operon repressor, PurR)、次黄嘌呤磷酸核糖转移酶(hypoxanthine phosphoribosyltransferase, HPRT)、双功能磷酸核糖氨基咪唑羧酰胺甲酰基转移酶/IMP 环化酶(bifunctional phosphoribosylaminoimidazole carboxamide formyl transferase/IMP cyclohydrolase, PurH)、黄嘌呤/尿嘧啶/维生素 C 透化酶(xanthine/uracil/vitamin C permease, PBUG)以及腺嘌呤磷酸核糖转移酶(adenine phosphoribosyl transferase, APT)的基因。

3 讨论

本研究利用本课题组具有知识产权的尿酸降解培养基,从健康低尿酸人群粪便中分离及驯化获得一株菌 M2a,经尿酸降解试验发现其尿酸降解率达到 82.73%,通过形态学研究、生化反应及基因组完成图测序分析发现菌株 M2a

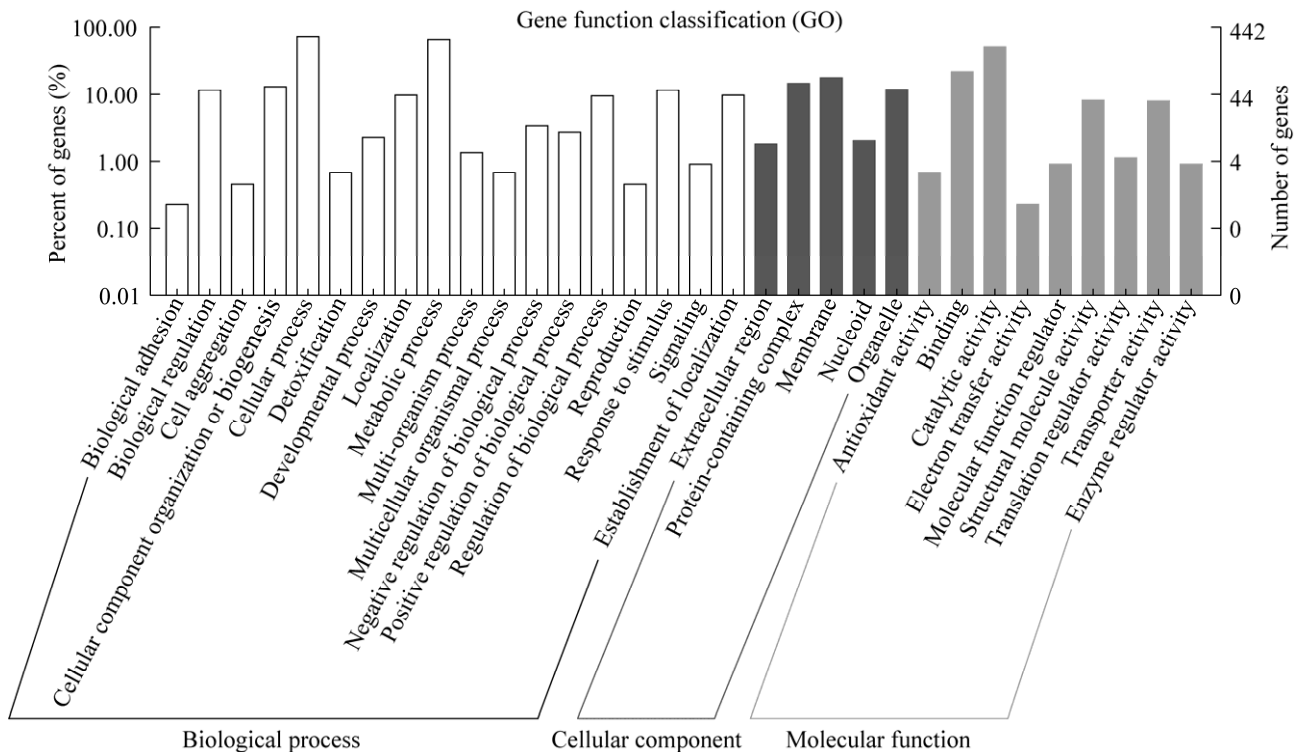


图5 菌株 M2a 的 GO 功能注释

Figure 5 GO Function notes of strain M2a.

与 *Lacticaseibacillus paracasei* ZFM54 基因组的平均核苷酸一致性(ANI)达到了 99.2%，鉴定菌株 M2a 为类干酪乳酪杆菌。

类干酪乳酪杆菌是一种益生菌，广泛分布于传统的发酵乳制品和人体胃肠道中，具有调节肠道微生物平衡和增强免疫力等益生功能。因此，在食品、医疗保健等领域具有重要作用，近年来备受国内外研究者的关注^[19-20]。

乳杆菌群中的干酪乳酪杆菌 (*Lacticaseibacillus casei*) 数量较多，其中类干酪乳酪杆菌、鼠李糖乳酪杆菌 (*Lacticaseibacillus rhamnosus*) 及干酪乳酪杆菌亲缘结构相近^[21-22]，现有文献表明，多种类干酪乳酪杆菌具有治疗高尿酸血症的潜力。例如，王学颖等^[23]发现类干酪乳酪杆菌 FP02 可以通过增加尿酸排泄和抑制黄嘌呤氧化酶(xanthine oxidase, XOD)活

性，来降解尿酸及其前体物质肌苷和鸟苷。王婷等^[24]从发酵食品中筛选出的类干酪乳酪杆菌 X11 在体外尿酸降解率达到了 80.42%。Lee 等^[25]分离出的类干酪乳酪杆菌 MJM60396 能够使小鼠体内 XOD 活性降低 81%，从而有效缓解高尿酸血症。深入研究肠道微生物与高尿酸血症之间的关系，并筛选出能够降解尿酸及其前体物质的益生菌，已经成为高尿酸血症药物研发的重要方向^[24]。

根据体外尿酸降解实验的结果，菌株 M2a 的尿酸降解率达到了 82.73%，表明其具有良好的尿酸降解能力。这一发现为防治高尿酸血症提供了一种可能的益生菌治疗方案，也为其开发成为潜在的降尿酸药品奠定了基础。全基因组学分析结果显示，菌株 M2a 具有编码 XPT、PBUX、PNP/DeoD、PurR、HPRT、PurH、PBUG、APT

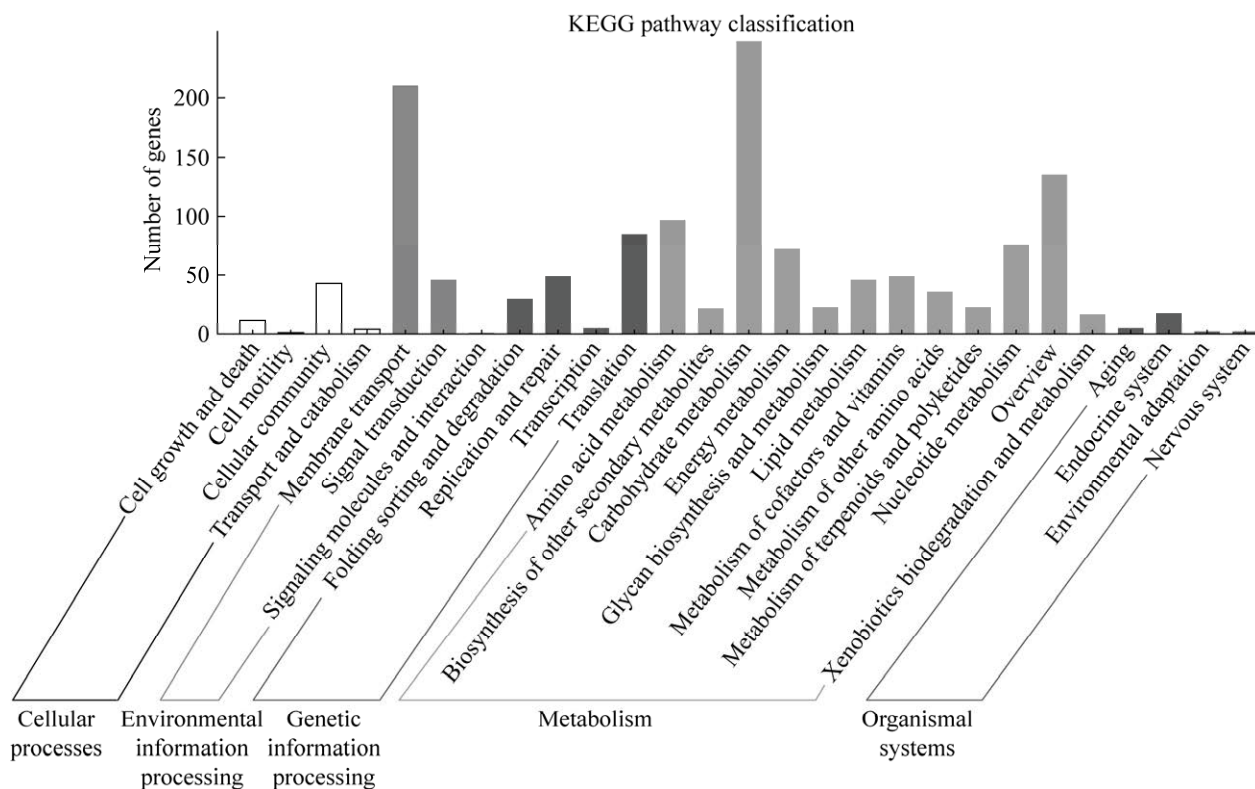


图 6 菌株 M2a 的 KEGG 功能注释

Figure 6 Annotated diagram of the KEGG function of the strain M2a.

的基因，将注释到的蛋白序列进行比对发现每种酶与已知序列的相似性高达 99% 以上。这些酶是参与细菌嘌呤代谢途径的关键酶，在细菌嘌呤代谢中发挥着重要作用，嘌呤代谢是生物体内一种重要的代谢途径，细菌通过嘌呤代谢途径合成和降解嘌呤化合物，以满足其对核酸和能量的需求。由此可见，菌株 M2a 可能具有能够利用嘌呤或尿酸的酶，这为我们进一步探究菌株 M2a 降尿酸机制提供了启示。

尿酸透过酶(uric acid permease)是一种膜蛋白，具有 12–14 个跨膜区，存在于许多微生物中，具有转运胞外的尿酸以及尿酸相关衍生物(如黄嘌呤、次黄嘌呤、腺嘌呤、鸟嘌呤等)进入细胞内部的功能，是某些微生物摄取尿酸作为氮源代谢的基础^[26-27]。XPT 连接了黄嘌呤降解和嘌呤核苷酸的合成，通过催化黄嘌呤和磷酸核

糖的反应，将黄嘌呤转化为黄嘌呤核苷酸，黄嘌呤核苷酸可以进一步参与嘌呤核苷酸的合成，如腺苷酸或鸟苷酸，XPT 的催化反应提供了合成嘌呤核苷酸所需的底物，同时还参与了嘌呤补救代谢途径中能量转化的过程^[28-29]。PBUX 则参与了嘌呤物质的运输过程，它负责嘌呤的进出细胞^[30]。PNP/DeoD 主要参与嘌呤核苷的降解，将其磷酸化为腺嘌呤或鸟嘌呤和核糖-1-磷酸，通过调节嘌呤核苷的降解速率，帮助细菌维持嘌呤代谢的平衡状态^[31]。PurR 是一个重要的调控蛋白，它通过结合嘌呤操纵子(purine operator)来抑制嘌呤合成途径的基因表达，从而控制嘌呤代谢的平衡^[32]。HPRT 也是尿酸代谢途径中的一个重要酶，它催化次黄嘌呤与磷酸核糖之间的转化，形成次黄嘌呤核糖酸^[33]。PurH 是在嘌呤生物合成途径中起关键作用的酶，

它催化磷酸核糖氨基咪唑与 N 形成磷酸核糖氨基咪唑甲酰胺(5-aminoimidazole-4-carboxamide ribonucleotide, AICAR)的转化, 并进一步催化 AICAR 环化为次黄苷一磷酸(inosine monophosphate, IMP)^[34]。PBUG 是一个跨膜蛋白, 能够促进次黄嘌呤、尿嘧啶和维生素 C 等物质的跨膜运输^[35]。多物种 APT 是在腺嘌呤代谢中起作用的酶^[36], 它催化腺嘌呤与磷酸核糖之间的转化, 形成腺嘌呤核糖酸。这些酶在细菌尿酸代谢中发挥着重要作用, 参与了尿酸的转运、嘌呤物质的合成、转化、运输和调控过程, 调节了嘌呤代谢的平衡。这些酶和蛋白的功能研究有助于进一步理解嘌呤代谢异常与疾病之间的关联, 并为相关疾病的治疗提供新的靶点和策略。

4 结论

本研究从健康低尿酸人群粪便中分离及驯化获得了一株高效尿酸降解菌 M2a, 经过形态学观察、生化试验及分子生物学鉴定为类干酪乳酪杆菌, 对其进行基因组完成图测序, 发现了一些与降尿酸有关的基因, 扩充了类干酪乳酪杆菌的基因数据库, 并为后续临床降尿酸微生物资源的开发利用提供了菌种资源和理论基础。

REFERENCES

- [1] 张哲, 郭帅, 于学健, 辛亮, 姚粟. 类干酪乳酪杆菌 PC-01 的鉴定和生物学特性及其在活菌型乳酸菌饮料中的应用[J]. 中国食品学报, 2021, 21(6): 265-272. ZHANG Z, GUO S, YU XJ, XIN L, YAO S. Identification and biological characteristics of *Lactocaseibacillus paracasei* PC-01 and its application in live-bacteria beverage[J]. Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology, 2021, 21(6): 265-272 (in Chinese).
- [2] 庄海霁, 雷虹, 张铁丹, 周东坡, 平文祥. 类干酪乳酪杆菌的应用研究进展[J]. 生物技术通讯, 2006, 17(6): 989-991. ZHUANG HJ, LEI H, ZHANG TD, ZHOU DP, PING WX. Progress in application of *Lactobacillus paracasei*[J]. Letters in Biotechnology, 2006, 17(6): 989-991 (in Chinese).
- [3] PANEL ON BIOLOGICAL HAZARDS (BIOHAZ) EFSA, KOUTSOUMANIS K, ALLENDE A, ALVAREZ-ORDÓÑEZ A, BOLTON D, BOVER-CID S, CHEMALY M, DAVIES R, de CESARE A, HILBERT F, LINDQVIST R, NAUTA M, PEIXE L, RU G, SIMMONS M, SKANDAMIS P, SUFFREDINI E, COCCONCELLI PS, ESCÁMEZ PSF, PRIETO-MARADONA M, et al. Update of the list of QPS-recommended biological agents intentionally added to food or feed as notified to EFSA 14: suitability of taxonomic units notified to EFSA until March 2021[J]. EFSA Journal European Food Safety Authority, 2021, 19(7): e06689.
- [4] 田云, 郝娟, 马永轩. 食品中益生菌的功能与安全性研究进展[J]. 现代食品科技, 2024, 40(8): 1-13. TIAN Y, HAO J, MA YX. Research progress on function and safety of probiotics in food[J]. Modern Food Science and Technology, 2024, 40(8): 1-13 (in Chinese).
- [5] CHONDROU P, KARAPETSAS A, KIOUSI DE, TSELA D, TIPTIRI-KOURPETI A, ANESTOPOULOS I, KOTSIANIDIS I, BEZIRTZOGLU E, PAPPAS A, GALANIS A. *Lactobacillus paracasei* K5 displays adhesion, anti-proliferative activity and apoptotic effects in human colon cancer cells[J]. Beneficial Microbes, 2018, 9(6): 975-983.
- [6] HASSAN YI, BULLERMAN LB. Antifungal activity of *Lactobacillus paracasei* ssp. *tolerans* isolated from a sourdough bread culture[J]. International Journal of Food Microbiology, 2008, 121(1): 112-115.
- [7] 陈飞龙, 刘渔珠, 彭勃, 陈咏春, 苗建银, 曹庸. 抗菌肽 F1 对金黄色葡萄球菌的胞内作用机制[J]. 食品科学, 2017, 38(6): 36-41. CHEN FL, LIU YZ, PENG B, CHEN YC, MIAO JY, CAO Y. Intracellular mechanism of action of antimicrobial peptide F1 on *Staphylococcus aureus*[J]. Food Science, 2017, 38(6): 36-41 (in Chinese).
- [8] 陆文伟, 杨震南, 丁历伟, 叶佳蓉, 田丰伟, 陈卫. 益生菌 *Lactobacillus paracasei* LC01 对小鼠肠道菌群的调节作用[J]. 食品科学, 2016, 37(23): 230-235. LU WW, YANG ZN, DING LW, YE JR, TIAN FW, CHEN W. Evaluation of intestinal microbiota in mice after oral administration of *Lactobacillus paracasei* LC01[J]. Food Science, 2016, 37(23): 230-235 (in Chinese).
- [9] 张俊, 赵保堂, 杨富民. 类干酪乳酪杆菌的益生特性及其应用研究进展[J]. 包装与食品机械, 2019, 37(4): 47-52. ZHANG J, ZHAO BT, YANG FM. Review on the probiotic characteristics and application of *Lactobacillus paracasei*[J]. Packaging and Food Machinery, 2019, 37(4): 47-52 (in Chinese).
- [10] Ahmed NA, Khattab RA, Ragab YM, Hassan M. Safety assessment of *Enterococcus lactis* strains complemented with comparative genomics analysis reveals probiotic and safety characteristics of the entire species[J]. BMC Genomics, 2023, 24(1): 667.

- [11] 中国食品科学技术学会益生菌分会. 益生菌的科学共识(2020年版)[J]. 中国食品学报, 2020, 20(5): 303-307.
Chinese Society of Food Science and Technology Probiotics Branch. Scientific consensus on probiotics (2020)[J]. Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology, 2020, 20(5): 303-307 (in Chinese).
- [12] GUO Z, ZHANG JC, WANG ZL, ANG KY, HUANG S, HOU QC, SU XQ, QIAO JM, ZHENG Y, WANG LF, KOH E, DANLIANG H, XU J, LEE YK, ZHANG HP. Intestinal microbiota distinguish gout patients from healthy humans[J]. Scientific Reports, 2016, 6: 20602.
- [13] 任科雨, 勇春明, 金延春, 曹彬, 魏良洲. 青岛地区高尿酸血症患者的肠道菌群分析[J]. 中国医师杂志, 2014, 16(12): 1649-1651, 1656.
REN KY, YONG CM, JIN YC, CAO B, WEI LZ. Analysis of intestinal flora in patients with hyperuricemia in Qindao District[J]. Journal of Chinese Physician, 2014, 16(12): 1649-1651, 1656 (in Chinese).
- [14] 纪泽敏, 牟菲, 陈姝琴, 赵焕虎. 基于倾向性评分匹配法筛选高尿酸血症的差异核心菌群[J]. 实用医学杂志, 2020, 36(2): 233-238.
JI ZM, MOU F, CHEN SQ, ZHAO HH. Screening differential core gut microbiota of hyperuricemia based on Propensity Score Matching[J]. The Journal of Practical Medicine, 2020, 36(2): 233-238 (in Chinese).
- [15] 孙玉萍, 陈邬锦, 梁美婷, 田婷婷, 玛依娜·卡哈尔, 周静茹, 刘业洲, 李瑞. 用于筛选肠道降解尿酸菌株的高尿酸培养基及其制备方法: 中国发明专利, CN112831448B[P]. 2022.
SUN YP, CHEN WJ, LIANG MT, TIAN TT, KAHAEER M, ZHOU JR, LIU YZ, LI R. High uric acid medium for screening intestinal uric acid-degrading strains and its preparation method: China Invention Patents, CN112831448B[P]. 2022 (in Chinese).
- [16] 徐红敏, 王敬红, 刘欢, 申贵男, 张正海, 梅雪松, 孙宇峰, 董艳, 魏丹, 王伟东. 降解尿酸乳酸菌复合菌系的筛选与菌株组合提升降解效果[J]. 微生物学通报, 2023, 50(6): 2545-2555.
XU HM, WANG JH, LIU H, SHEN GN, ZHANG ZH, MEI XS, SUN YF, DONG Y, WEI D, WANG WD. Screening of uric acid-degrading lactic acid bacteria consortium and strain combination for enhancing degradation[J]. Microbiology China, 2023, 50(6): 2545-2555 (in Chinese).
- [17] WICK RR, JUDD LM, GORRIE CL, HOLT KE. Unicycler: resolving bacterial genome assemblies from short and long sequencing reads[J]. PLoS Computational Biology, 2017, 13(6): e1005595.
- [18] STOTHARD P, WISHART DS. Circular genome visualization and exploration using CGView[J]. Bioinformatics, 2005, 21(4): 537-539.
- [19] 吕瑞瑞, 李伟程, 康小红, 张和平. 类干酪乳酪杆菌 PC-01 全基因组测序及不同类干酪乳酪杆菌菌株比较基因组学分析[J]. 微生物学通报, 2021, 48(9): 3025-3038.
LÜ RR, LI WC, KANG XH, ZHANG HP. Whole genome sequencing of *Lactobacillus paracasei* PC-01 and comparative genomics analysis about *Lactobacillus paracasei* strains[J]. Microbiology China, 2021, 48(9): 3025-3038 (in Chinese).
- [20] CAI YH, DONG Y, HAN M, JIN MF, LIU H, GAI ZH, ZOU K. *Lactocaseibacillus paracasei* LC86 mitigates age-related muscle wasting and cognitive impairment in SAMP8 mice through gut microbiota modulation and the regulation of serum inflammatory factors[J]. Frontiers in Nutrition, 2024, 11: 1390433.
- [21] 巨晓英, 寇晓虹. 类干酪乳酪杆菌的功能及其在食品工业中的应用研究进展[J]. 中国乳品工业, 2009, 37(8): 48-50.
JU XY, KOU XH. Review on the functions of *Lactobacillus paracasei* and application in food industry[J]. China Dairy Industry, 2009, 37(8): 48-50 (in Chinese).
- [22] TOH H, OSHIMA K, NAKANO A, TAKAHATA M, MURAKAMI M, TAKAKI T, NISHIYAMA H, IGIMI S, HATTORI M, MORITA H. Genomic adaptation of the *Lactobacillus casei* group[J]. PLoS One, 2013, 8(10): e75073.
- [23] 王学颖, 刘艳丽, 何苗, 赵雨晴, 彭心怡, 郭庆彬, 朱巧梅, 刘欢欢, 李贞景, 杨华. 类干酪乳酪杆菌 FP02 对高尿酸血症大鼠血清尿酸水平的影响[J]. 食品科学, 2024, 45(14): 114-120.
WANG XY, LIU YL, HE M, ZHAO YQ, PENG XY, GUO QB, ZHU QM, LIU HH, LI ZJ, YANG H. Effect of *Lactobacillus paracasei* FP02 on the Serum Uric Acid Level in Hyperuricemic Rats[J]. Food Science, 2024, 45(14): 114-120 (in Chinese).
- [24] 王婷, 曹佳媛, 刘银雪, 周炜, 印伯星, 易华西. 降尿酸益生菌的筛选及其在酸奶中的应用研究[J]. 中国乳品工业, 2023, 51(4): 23-28, 34.
WANG T, CAO JY, LIU YX, ZHOU W, YIN BX, YI HX. Screening of uric acid-lowering probiotics and its applications in yogurt production[J]. China Dairy Industry, 2023, 51(4): 23-28, 34 (in Chinese).
- [25] LEE YJ, WERLINGER P, SUH JW, CHENG JH. Potential probiotic *Lactocaseibacillus paracasei* MJM60396 prevents hyperuricemia in a multiple way by absorbing purine, suppressing xanthine oxidase and regulating urate excretion in mice[J]. Microorganisms, 2022, 10(5): 851.
- [26] DIALLINAS G, SCAZZOCCHIO C. A gene coding for the uric acid-xanthine permease of *Aspergillus nidulans*: inactivational cloning, characterization, and sequence of a cis-acting mutation[J]. Genetics, 1989, 122(2): 341-350.
- [27] DIALLINAS G, GORFINKIEL L, ARST HN Jr, CECCHETTO G, SCAZZOCCHIO C. Genetic and molecular characterisation of purine permease genes of *Aspergillus nidulans* reveals a novel family of transporters conserved in prokaryotes and eukaryotes[J]. Folia Microbiologica, 1994, 39(6): 513-514.
- [28] CHRISTIANSEN LC, SCHOUS S, NYGAARD P, SAXILD HH. Xanthine metabolism in *Bacillus subtilis*: characterization of the xpt-pbuX operon and evidence for purine- and nitrogen-controlled expression of genes

- involved in xanthine salvage and catabolism[J]. *Journal of Bacteriology*, 1997, 179(8): 2540-2550.
- [29] SAXILD HH, NYGAARD P. Genetic and physiological characterization of *Bacillus subtilis* mutants resistant to purine analogs[J]. *Journal of Bacteriology*, 1987, 169(7): 2977-2983.
- [30] NOLAN AC, ZEDEN MS, KVIATKOVSKI I, CAMPBELL C, URWIN L, CORRIGAN RM, GRÜNDLING A, O'GARA JP. Purine nucleosides interfere with c-di-AMP levels and act as adjuvants to re-sensitize MRSA to β -lactam antibiotics[J]. *mBio*, 2023, 14(1): e0247822.
- [31] MODRAK-WÓJCIK A, KIRILENKO A, SHUGAR D, KIERDASZUK B. Role of ionization of the phosphate cosubstrate on phosphorolysis by purine nucleoside phosphorylase (PNP) of bacterial (*E. coli*) and mammalian (human) origin[J]. *European Biophysics Journal*, 2008, 37(2): 153-164.
- [32] HOWDEN BP, DAVIES JK, JOHNSON PDR, STINEAR TP, GRAYSON ML. Reduced vancomycin susceptibility in *Staphylococcus aureus*, including vancomycin-intermediate and heterogeneous vancomycin-intermediate strains: resistance mechanisms, laboratory detection, and clinical implications[J]. *Clinical Microbiology Reviews*, 2010, 23(1): 99-139.
- [33] PETITGAS C, SEUGNET L, DULAC A, MATASSI G, MTEYREK A, FIMA R, STREHAIANO M, DAGORRET J, CHÉRIF-ZAHAR B, MARIE S, CEBALLOS-PICOT I, BIRMAN S. Metabolic and neurobehavioral disturbances induced by purine recycling deficiency in *Drosophila*[J]. *eLife*, 2024, 12: RP88510.
- [34] BAZURTO JV, DOWNS DM. Plasticity in the purine-thiamine metabolic network of *Salmonella*[J]. *Genetics*, 2011, 187(2): 623-631.
- [35] MATOS RC, LAPAQUE N, RIGOTTIER-GOIS L, DEBARBIEUX L, MEYLHEUC T, GONZALEZ-ZORN B, REPOILA F, de FATIMA LOPES M, SERROR P. *Enterococcus faecalis* prophage dynamics and contributions to pathogenic traits[J]. *PLoS Genetics*, 2013, 9(6): e1003539.
- [36] LAOR D, SADE D, SHAHAM-NIV S, ZAGURI D, GARTNER M, BASAVALINGAPPA V, RAVEH A, PICHINUK E, ENGEL H, IWASAKI K, YAMAMOTO T, NOOTHALAPATI H, GAZIT E. Fibril formation and therapeutic targeting of amyloid-like structures in a yeast model of adenine accumulation[J]. *Nature Communications*, 2019, 10(1): 62.