

乳酸菌基因组学研究进展

柴丽¹综述,董良仓²审校(1. 河南省通许县人民医院检验科 475400; 2. 河北省三河市燕达国际医院检验科 065201)

【关键词】 乳酸菌; 基因组; 功能基因

DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2012.02.045 文献标志码:A 文章编号:1672-9455(2012)02-0214-02

多数乳酸菌能在有氧条件下生长,但是无氧状态下生长更好。由于这类细菌在发酵糖类时的主要代谢产物是乳酸,故将其统称为乳酸菌,但是并非所有能产生乳酸的细菌都是乳酸菌。某些乳酸菌作为人和动物胃肠道、阴道的益生菌,对维护和增强机体健康水平起到了重要作用。很久以来,乳酸菌已广泛地用于食品、饮料、微生物制剂等行业^[1]。在发酵方面主要起生物转化的作用^[2],同时乳酸菌也是一个廉价的抗菌剂^[3]。

根据伯杰细菌鉴定手册,乳酸菌目前主要分为 23 个属,主要有乳杆菌属(*Lactobacillus*)、乳球菌属(*Lactococcus*)、明串珠菌属/白联球菌属(*Leuconoszo*)、片球菌属(*Pediococcus*)、链球菌属(*Streptococcus*)、肠球菌属(*Enterococcus*)、双歧杆菌属(*Bifidobacterium*)和肉食菌属(*Caroobaerium*)等^[4]。从 2001 年完成乳酸乳球菌 IL430 即第一株乳酸菌的全基因组测序^[5]开始,至目前为止已完整公布全基因组序列的乳酸菌共有 14 种,包括嗜热乳酸链球菌、约氏乳杆菌、乳酸乳球菌、肠系膜明串珠菌等。乳酸菌基因组全长约为 1.8~3.2 Mbp, (G+C)% 普遍偏低,编码基因的百分比在 80% 左右,基因数量和可预测的蛋白质数量相差较大。多数菌属都存在假基因,从肠系膜明串珠菌的 19 个到嗜热链球菌的 206 个,数量相差较大。RNA 结构基因数量为 48~127 个,所有乳酸菌都含有 rRNA 操纵子和 tRNA 编码基因,某些乳酸菌还含有质粒与噬菌体编码基因。

1 基本功能基因

1.1 rRNA 操纵子和 tRNA 编码基因 各菌属的 rRNA 操纵子数量变化较大,其中乳杆菌属的 rRNA 操纵子的数量较多。tRNA 编码基因数量为 43~98 个,同样也是乳杆菌属偏多。通过分析 rRNA 操纵子的长度,16s rRNA 操纵子为 1 580~1 464 nt, 23s rRNA 操纵子为 3 051~2 623 nt, 5s rRNA 操纵子则在 119 nt 上下波动,只有肠系膜明串珠菌属相对较低。rRNA 操纵子排列具有一定顺序性,通常为 16s rRNA、23s rRNA、5s rRNA,而且在这其周围通常会出现 tRNA^{Ala}、tRNA^{Ile}、tRNA^{Lys} 等编码基因。在亲缘关系相近的菌属中,在 16s rRNA 中有相同的突变位点^[6],因此 16s rRNA 的同源性比较被用于推断物种间的亲缘关系。

1.2 糖转化酶相关基因 乳酸菌糖转化酶相关基因归属于 11 个基因簇,其编码蛋白和酶对特异性细菌噬菌体的敏感性相关^[7]。研究发现,乳球菌噬菌体的识别受体为细胞壁糖蛋白,而糖转化酶恰好与之相关,但是目前关于它的功能报道尚少见^[8]。乳酸乳球菌 MG1363 有 28 个糖转化酶相关基因,其中有 13 个可划归为 4 个基因簇,其中 3 个含有 3 个糖转化酶基因,另 1 个含有 4 个糖转化酶基因^[9]。

1.3 糖代谢相关基因 在大部分乳酸菌中,都含有糖酵解相关基因,以满足乳酸菌获得能量的需求。此类基因数量较多,如 1,4- α -葡萄糖分支酶、保护蛋白、纯化蛋白酶、糖转化酶、6-磷酸- β -葡萄糖酶和 β -葡萄糖酶等^[8]。这些基因的下游常存在部分糖酵解物质基因,编码产生的酶可以将三磷酸甘油醛分解成丙酮酸酯,再将丙酮酸酯转化为 2,3-二丁醇,还可以将乙酸

酯变成乙酰辅酶 A,参与戊糖磷酸酯的反应途径。虽然这些酶不足以单独完成乳酸菌的新陈代谢,但是存在或者缺少这些关键酶均会影响菌体发酵过程^[2]。

1.4 磷酸酶基因系统 根据氨基酸序列特征,原核生物磷酸酶可分为 4 个蛋白质超家族^[10]。第 1 个是磷蛋白磷酸酶(PPP)家族,主要存在于真核生物细胞中,在细菌中很少存在。第 2 个是 Mn^{2+} 、 Mg^{2+} 依赖性磷酸酶(PPM)家族,主要分布于跨膜区域,在蛋白相互作用和细胞信号传递中起作用。第 3 个家族主要包括 DNA 磷酸酶和仅在酵母、乳杆菌等中存在的组氨醇磷酸酶(PHP),后者在酵母进行氨基酸生物合成时可除去组氨酸中的磷酸盐^[11-13]。该家族特征性模序结构中均含有组氨酸和天门冬氨酸的残基,这可能与金属依赖性水解磷酸结合酶活性有关,酪氨酸激酶编码基因与 PHP 编码基因相邻,有时可能替代 PHP 活性^[11]。最后一个酪氨酸磷酸酶(PTP)家族,PTP 能催化蛋白质分子中特定定位点的磷酸化酪氨酸残基脱磷酸,在控制细胞磷酸化酪氨酸水平上,蛋白酪氨酸磷酸酶起着高度特异性的积极作用^[14]。

2 特殊功能基因

2.1 质粒编码基因 嗜热乳酸链球菌、肠系膜明串珠菌和某些乳杆菌具有质粒编码基因,它们编码基因的数量不等,但一般无假基因和 RNA 编码基因。乳酸乳球菌 ssp 可编码 5 种质粒,编码基因多达 129 个,而嗜热链球菌可编码两个质粒,编码基因仅为 6 个。德氏乳杆菌的质粒是一个长度为 6 220 bp 的环状 DNA 分子, (G+C)% 为 44.6%, 含有 6 个开放式阅读框架,编码 3 种膜镶嵌蛋白,一个转移酶和一个螺旋复制蛋白^[15]。较为典型的是乳酸乳球菌乳脂亚种 MG1363,其编码质粒的基因长度为 59 kb,有两个质粒复制蛋白基因残基 Hs-dRMS 模版系统基因和 opp-pepO 操纵子,该序列还包括 3 个重复序列,其中一个与溶解基因本身的重组连接位点高度相似^[10],这种重复的序列在其他细菌的质粒编码基因中也有发现,包括嗜热链球菌基因组中的“水平基因转移多发位点”。水平基因转移是指在单个细胞内的细胞器之间进行的遗传物质的交流,而水平基因转移多发位点就是在细菌基因中存在的容易发生水平基因转移的基因位点^[16]。

2.2 噬菌体编码基因 某些乳酸菌中还含有噬菌体编码基因,但数量一般都很少,仅为 1~2 个。乳酸乳球菌乳脂亚种 MG1363 中的噬菌体编码基因均携带有 tRNA 编码基因,此外还存在一个噬菌体矫正序列,其中包括一个长度为 712 碱基对的插入序列。该序列对菌体是否有影响还是个未知数,而在其他细菌中却始终未被发现^[7]。

3 未知功能基因

乳酸菌的很多基因是通过基因水平转移获得的,但这些基因对细菌本身的影响是无法事先预测的,这样在乳酸菌中就会出现很多的未知功能新基因,尽管有时表现出某些酶的活性,但却不易识别其完整的生理功能。例如乳杆菌的一个未知功能基因的编码蛋白可表现出烯醇化酶活性,有研究表明它是通过基因水平转移而从其他亲缘关系较远的菌属中获得的,并不

是通过基因突变而进化来^[17]。此外,乳酸菌的诸多未知功能基因都是单拷贝基因,并且其编码蛋白多与酶相关。

4 展 望

开展乳酸菌基因组学研究可拓宽对乳酸菌的认识,从更微观的角度认识乳酸菌及其功能基因。应用基因组学方法可将乳酸菌基因结构与其生理功能建立联系,从而促进其代谢组学、分泌蛋白和进化方向研究。对乳酸菌未知功能基因的研究可进一步拓宽乳酸菌的应用范围,对功能性食品开发将会有一个极大的推进。乳酸菌对机体产生的各种生态效应和生理作用的主要物质基础就是细菌蛋白,特别是分泌性蛋白。同其他细菌一样,乳酸菌在胁迫环境下包括高温或低温、极酸或极碱、高盐、氧化及各类营养限制等,通过诱导表达方式改变代谢类型与水平来适应环境。利用蛋白质化学方法可有效地分析获得乳酸菌的诱导蛋白,再结合基因组学与生物信息学方法开展蛋白功能研究,为进一步揭示乳酸菌的行为机制和生理作用提供新的认识。

参考文献

- [1] 杨洁彬,郭兴华. 乳酸菌生物学基础及应用[M]. 北京:中国轻工业出版社,1999.
- [2] Makerova K, Slesarev A, Wolf Y, et al. Comparative genome of lactic acid bacteria[J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2006, 103(42):15611-15616.
- [3] Cotter PD, Hill C, Ross RP. Bacteriocins: Developing innate immunity for food[J]. Natl Rev Microbiol, 2005, 3(10):777-788.
- [4] 凌代文,东秀珠. 乳酸菌的分类鉴定及实验方法[M]. 北京:中国轻工业出版社,1999:1-4,6-16,45-47.
- [5] Exander AL, Bolotin PW. The complete genome sequence of the lactic acid bacteria *Lactococcus lactis* ssp. *Lactis* 11L1403[J]. Genome Res, 2001, 11(5):731-753.
- [6] Botina SG, Sukhodolets VV. Speciation in Bacteria: comparison of the 16S rRNA gene of closely related *Enterococcus* species[J]. Genetika, 2006, 42(3):325-330.
- [7] Wegmann U, ÓConnell-Motherway M, Zomer A, et al. Complete genome sequence of the prototype lactic acid bacterium *Lactococcus lactis* subsp. *Cremoris* MGB63[J]. J Bac-

- teriol, 2007, 189(8):3256-3270.
- [8] Dupont K, Janzen T, Vogensen FK, et al. Identification of *Lactococcus lactis* genes required for bacteriophage adsorption[J]. Microbiology, 2004, 70(10):5818-5824.
- [9] Dabac N, LaPinte G. Identification and molecular characterization of the chromosomal exopolysaccharide biosynthesis gene cluster from *Lactococcus lactis* subsp [J]. Microbiology, 2005, 71(11):7414-7425.
- [10] Shi L. Manganese-dependent protein O-phosphatases in prokaryotes and their biological functions[J]. Front Biosci, 2004, 9(13):1382-1397.
- [11] Grangeasse C, Cozzzone AJ, Deutscher J, et al. Tyrosine phosphorylation: An emerging regulatory device of bacterial physiology[J]. Trends Biochem Sci, 2007, 32(2):86-94.
- [12] Mijakovic I, Petranovic D, Bottini N, et al. Proterin-tyrosine phosphorylation in *Bacillus subtilis* [J]. Microbiol Biotechnol, 2005, 9(3/4):189-197.
- [13] Mijakovic I, Poncet S, Boel G, et al. Transmembrane modulator-dependent bacterial tyrosine kinase activates UDP-glucose dehydrogenases[J]. Embo, 2003, 22(18):4709-4718.
- [14] Gisele L, Daniele A, Christophe G, et al. Characterization and site-directed mutagenesis of Wzb, an O-phosphatase from *Lactobacillus rhamnosus* [J]. Biochemistry, 2008, 9(10):1-12.
- [15] Ju-Hoon L, Jamie S. Comparative Sequence analysis of plasmids from *Lactobacillus clevelandii* and Construction of a Shuttle cloning vector[J]. Appl Environ Microbiol, 2007, 73(14):4417-4424.
- [16] Bolotin A, Quinquins B. Complete sequence and comparative genome analysis of the dairy bacterium *Streptococcus thermophilus* [J]. Biotechnology, 2004, 22(12):1554-1558.
- [17] Koonin EV. Orthologs, paralogs, evolutionary genomics [J]. Genetic, 2005, 39(30):9-38.

(收稿日期:2011-06-14)

放射性同位素在医学中的应用研究进展*

甘湘庆,谢 兵 综述,秦宗会[△]审校(长江师范学院化学化工学院,重庆涪陵 408100)

【关键词】 放射性同位素; 疾病诊断; 疾病治疗

DOI: 10. 3969/j. issn. 1672-9455. 2012. 02. 046 文献标志码:A 文章编号:1672-9455(2012)02-0215-03

放射性同位素的应用已深入到生物医学、遗传工程、地球科学、材料科学等诸多领域,尤其在核医学诊断或治疗方面的应用最为活跃。放射性同位素诊断与治疗疾病是利用放射性同位素发射出核射线进行诊断与治疗。治疗上,射线作用于组织细胞并将其能量部分或全部交给组织,产生一系列电离辐射生物效应,通过辐射能的直接和间接作用,使机体生物活性大分子的结构和性质遭受损害,导致细胞繁殖能力丧失、代谢紊

乱失调、细胞衰老或死亡。

放射性同位素在医疗中的应用非常广泛,在疾病的诊断、治疗上起到越来越大的作用,已用于肺癌、骨转移瘤、不明原发灶肿瘤、皮肤疾病、脑内囊性肿瘤、转移性骨肿瘤、前列腺癌、皮肤毛细血管瘤、乳腺癌、鼻咽癌、亚急性甲状腺炎、胆管癌、大肠癌、卵巢癌、甲状腺癌、宫颈癌、肺癌、头颈部肿瘤、肺癌、食管癌、胃癌、肝癌等疾病的诊断与治疗,都起到良好的效果。本文