

叶 巍. 乳酸菌 DNA 序列分析与功能基因研究现状[J]. 江苏农业科学, 2014, 42(10): 40-41.

乳酸菌 DNA 序列分析与功能基因研究现状

叶 巍^{1,2}

(1. 上海医疗器械高等专科学校, 上海 200093; 2. 上海理工大学, 上海 200433)

摘要:乳酸菌在食品发酵业中得到广泛的应用,被认为是加强健康食品生产的益生菌。关于多种乳酸菌的基因组测序和功能基因组的研究加快了对乳酸菌多样性和进化的理解,并且揭示了重要特性的分子基础。随着目标试验的证实、代谢工具的开发、网络工具的利用,生物信息学工具以及数据库重新构建代谢途径为食品和饲料菌种提供了新的开发途径。

关键词:乳酸菌;基因组;生物信息学;多样性;代谢重建

中图分类号: Q789 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2014)10-0040-02

含有乳酸菌的发酵剂,如乳杆菌、乳球菌等,对于很多食物如牛奶、肉类、蔬菜、谷类的发酵起重要作用。这些菌种发酵主要产生有防腐作用的乳酸,影响产品的风味及质地^[1-3]。乳酸菌在发酵中还有其他重要的功能,人们在不同的环境中发现了各种特性的菌种^[4-6]。随着乳酸菌基因组数据的公布,生物信息学对乳酸菌功能特性研究作用越发重要。本研究介绍了乳酸菌 DNA 序列分析与功能基因研究现状,旨在为开发利用乳酸菌资源提供依据。

收稿日期: 2013-12-05

基金项目: 上海理工大学科研启动基金(编号: A2500130104)。

作者简介: 叶 巍(1981—),女,黑龙江大庆人,博士,讲师,主要从事生物工程研究。E-mail: beatify@hotmail.com。

1 基因组、质粒

乳酸菌全基因组大小相对一致,约为 1.8~2.6 Mb,植物乳杆菌全基因组大小约为 3.3 Mb。过去 20 年,分子遗传学家一直青睐的不含质粒的 *L. lactis* ssp. *Cremoris* MG1363 测序已经完成。通过将其与 *L. lactis* ssp. *Lactis* IL1403 染色体共线性绑定,以非常相近的菌种或菌种的全基因组为模板完成原核基因组定位。对 *Lactobacillus brevis* KB290 的 9 个质粒测序分析表明, *L. brevis* KB290 有很好的稳定性^[7]。乳酸菌特别是乳球菌也含有多种质粒,大小为 2~130 kb。所有已知的乳酸菌质粒的详细信息都可以在质粒数据库中找到。一些乳酸菌特别是链球菌有很多转座子复杂的结构,意味着更高的遗传学可塑性。含有很长的相似重复片段的大质粒的出现为

- [16] Li G, Quiros C F. Sequence - related amplified polymorphism (SRAP), a new marker system based on a simple PCR reaction; its application to mapping and gene tagging in *Brassica* [J]. Theoretical and Applied Genetics, 2001, 103(2/3): 455-461.
- [17] Han X Y, Wang L S, Liu Z A, et al. Characterization of sequence - related amplified polymorphism markers analysis of tree peony bud sports [J]. Scientia Horticulturae, 2008, 115(3): 261-267.
- [18] Budak H, Shearman R C, Parmaksiz I, et al. Molecular characterization of buffalograss germplasm using sequence - related amplified polymorphism markers [J]. Theoretical and Applied Genetics, 2004, 108(2): 328-334.
- [19] Ferriol M, Picó B, Nuez F. Genetic diversity of a germplasm collection of Cucurbita pepo using SRAP and AFLP markers [J]. Theoretical and Applied Genetics, 2003, 107(2): 271-282.
- [20] Lin Z X, Zhang X L, Nie Y C, et al. Construction of a genetic linkage map for cotton based on SRAP [J]. Chinese Science Bulletin, 2003, 48(19): 2064-2068.
- [21] 周劲松, 曹哲明, 杨国梁, 等. 罗氏沼虾缅甸引进种和浙江本地种及其杂交种的生长性能与 SRAP 分析 [J]. 中国水产科学, 2006, 13(4): 667-673.
- [22] 傅洪拓, 乔 慧, 姚建华, 等. 基于 SRAP 分子标记的海南沼虾种群遗传多样性 [J]. 生物多样性, 2010, 18(2): 145-149.
- [23] 丁炜东, 曹丽萍, 曹哲明. 草鱼种质相关 SRAP 及 SCAR 的分子

标记 [J]. 动物学报, 2008, 54(3): 475-481.

- [24] 程长洪, 张敏莹, 刘 凯, 等. 利用 SRAP 标记研究四个暗纹东方鲀群体的遗传多样性 [J]. 水生生物学报, 2012, 36(5): 858-865.
- [25] 冉 玮, 张桂蓉, 王卫民, 等. 利用 SRAP 标记分析 3 个团头鲂群体的遗传多样性 [J]. 华中农业大学学报, 2010, 29(5): 601-606.
- [26] Hu Z H, Lv Y P, Wang C H, et al. Analysis on 'Whole Red' of patterns Oujiang colour carp (*Cyprinus carpio* var. Color) by SRAP and SCAR markers [J]. Aquaculture Research, 2012, 43(4): 588-594.
- [27] 徐汗福. 乌苏里拟鲿 (*Pseudobagrus ussuriensis*) 不同群体间的遗传多样性比较研究 [D]. 苏州: 苏州大学, 2011.
- [28] 张志伟, 陈爱华, 姚国兴, 等. 我国沿海不同地理原种文蛤的 SRAP 分析 [J]. 海洋与湖沼, 2010, 41(3): 429-434.
- [29] Sambrook J, Fritsch E F, Maniatis T. Molecular cloning: a laboratory manual [M]. 2nd ed. New York: Cold Springharbor Laboratory Press, 1989.
- [30] 贾永义, 顾志敏, 叶金云, 等. 翘嘴红鲌(♀) × 团头鲂(♂) 杂种 F₁ 的 SRAP 标记分析 [J]. 上海海洋大学学报, 2011, 20(2): 198-203.
- [31] 张 慧. 大麻哈鱼 SRAP 体系建立及其遗传多样性研究 [D]. 哈尔滨: 东北林业大学, 2011.
- [32] 张永明, 金 洪, 马万里, 等. 濒危植物绵刺 8 个种群遗传多样性的 AFLP 分析 [J]. 生态学报, 2009, 29(5): 2686-2693.

基因组测序增加了复杂性。随着全基因组、质粒测序数量的增长,数据的呈现及表征对于描述这些序列多种信息的应用变得越来越重要。例如,Genome Atlas 是一个呈现所有基因组序列的非交互网络基础工具。Microbial Genome Viewer 允许使用者在交互式途径下结合复杂的基因组数据库,使公布的基因组数据库中环形、线形染色体图谱交互产生。

2 比较基因组

如果基因组以标准方式进行分类,那么全体微生物基因组序列及编码蛋白比较将会非常便利,因为有很多不同的分类系统可以使用。目前,一些基因组数据库对所有公布的基因组和未完成的基因组采用标准格式进行自动注释,这些数据库经常链接比较基因组的生物信息学工具。研究表明,*L. gasseri*、*L. acidophilus*、*L. johnsonii* 的基因组含量、基因序列、基因组组织有很高的相似性。所有这些源于肠道的乳酸菌线性基因组分析有一些长的、相同的片断,偶尔有些间断、缺失。

3 乳酸菌的多样性和进化

全球有很多不同的乳酸菌发酵剂,人们对这些菌种显性特征的遗传学组成以及种与属之间的进化关系了解得很少。表型筛选、分类仍然是分析乳酸菌多样性的主要工具。有学者对 kimchi 发酵乳中的 *Leuconostoc mesenteroides*、*L. sakei*、*Weissella koreensis*、*Lc. gelidum*、*Lc. carnosum*、*Lc. gasicomitatum* 6 种乳酸菌环境进行转录分析,发现乳酸发酵基因积极参与了表达^[8]。随着乳酸菌全基因组测序的完成,可以通过 DNA-DNA 比较基因组杂交筛选收集的乳酸菌分析全 DNA 水平的多样性^[9]。以前在一些其他微生物中也使用过这种分析方法,包括 *Campylobacter jejuni*、*Streptococcus agalactiae*、*Escherichia coli* (基因芯片)。全基因组 Barcode 图提供了一些可视这些数据的方式。另一种方式是将 Barcode 图与计算机基因组分析结合,包括局部 GC 含量、碱基偏差索引、密码子适应性索引、公布基因组数据。在很多情况下,高突变的区域与同区域碱基背离指数相关联,相对于全基因组暗示了其近水平的转移。

4 压力反应及调节

乳酸菌发酵剂在生产、储藏、应用时压力不断改变。人们关于乳酸菌在工业加工中的反应知识大多是通过经验得到的。基因组学提供了将基因组序列信息与基因表达数据结合在一起的机会,可以鉴定不同乳酸菌的特殊发酵特性的基因及蛋白质(生长需求、风味形成、不同条件下生存)。通过比较基因组分析了 30 个乳酸菌的基因组、102 个转录因子,包括 47 个未鉴定的调控因子,对 *S. thermophilus*、*Lactobacillaceae* 这 2 个不同的调控菌株也分析了一些转录水平。基因组知识可以帮助人们预测乳酸菌在不同 pH 值、不同温度下的发酵行为,并提供与他们宿主的对抗参数^[10-11]。共生菌可以彼此提供所需要的营养,例如酸奶中的 *Lactobacillus bulgaricus*、*S. thermophilus*。基因组序列数据能在全球基因组中揭示乳酸菌彼此之间、乳酸菌和其他微生物之间的相互作用机制。

5 代谢重建

虽然乳酸菌最初的序列功能可以通过他们的全基因组序

列推测,但是还有 20% ~ 40% 的已鉴定部分还不知道其功能,因为没有相应功能的同源蛋白与之比较。尽管还不能确定,但是第 1 个自动代谢重建已经可以在途径数据库如 KEGG、WIT 等上完成。转录组数据可以添加到代谢网络中,分析调节子,调控路径。网络工具系统的开发是在稳定情况下大量代谢平衡基础之上的,这种基因组范围的代谢网络分析能预测最大产量、调控位点、优化流量分配。一些软件工具可以用于代谢网络分析,包括公共域、私人域。

6 结论

乳酸菌基因组测序的完成有利于分析、比较乳酸菌种的全基因组细节,更有助于筛选具有特殊特性的菌种,有助于现有的菌种和新的衍生物种稳定基因组排列的维持、设计。

参考文献:

- [1] Johnston B C, Ma S S, Goldenberg J Z, et al. Probiotics for the prevention of clostridium difficile - associated diarrhea; a systematic review and meta - analysis [J]. Annals of Internal Medicine, 2012, 157 (12): 878 - 888.
- [2] West C E, Hammarström M L, Hernell O. Probiotics in primary prevention of allergic disease—follow - up at 8 - 9 years of age [J]. Allergy, 2013, 68 (8): 1015 - 1020.
- [3] Escobar M C, van Tassel M L, Martínez - Bustos F, et al. Characterization of a panel cheese with added probiotics and fava bean starch [J]. Journal of Dairy Science, 2012, 95 (6): 2779 - 2787.
- [4] Munoz - Quezada S, Chenoll E, Maria V J A, et al. Isolation, identification and characterisation of three novel probiotic strains (*Lactobacillus paracasei* CNCM I - 4034, *Bifidobacterium breve* CNCM I - 4035 and *Lactobacillus rhamnosus* CNCM I - 4036) from the faeces of exclusively breast - fed infants [J]. British Journal of Nutrition, 2013, 109 (2): S51 - S62.
- [5] 王晓丽, 王永山, 诸玉梅, 等. 5 株乳酸菌的分离鉴定与生物学特性研究 [J]. 江苏农业科学, 2011 (1): 390 - 392.
- [6] 赵云焕, 李迎晓, 焦凤超, 等. 黄芪多糖、益生菌对固始鸡生产性能和免疫效果的影响 [J]. 江苏农业科学, 2012, 40 (9): 202 - 203.
- [7] Fukao Masanori, Oshima K, Morita H, et al. Genomic analysis by deep sequencing of the probiotic *Lactobacillus brevis* KB290 harboring nine plasmids reveals genomic stability [J]. PLoS One, 2013, 8 (3): e60521.
- [8] Jung J Y, Lee S H, Jin H M, et al. Metatranscriptomic analysis of lactic acid bacterial gene expression during kimchi fermentation [J]. International Journal of Food Microbiology, 2013, 163 (2/3): 171 - 179.
- [9] Rungrasamee W, Tosukhowong A, Klanchui A, et al. Development of bacteria identification array to detect lactobacilli in Thai fermented sausage [J]. Journal of Microbiological Methods, 2012, 91 (3): 341 - 353.
- [10] Johanningsmeier S D, Franco W, Perez - Diaz I, et al. Fluence of sodium chloride, pH, and lactic acid bacteria on anaerobic lactic acid utilization during fermented cucumber spoilage [J]. Journal of Food Science, 2012, 77 (7): M397 - M404.
- [11] Tsevdou M, Soukoulis C, Cappellin L, et al. Monitoring the effect of high pressure and transglutaminase treatment of milk on the evolution of flavour compounds during lactic acid fermentation using PTR - ToF - MS [J]. Food Chemistry, 2013, 138 (4): 2159 - 2167.