

2015 年中国微生物遗传学研究领域若干重要进展

谢建平¹, 韩玉波², 刘钢³, 白林泉⁴

1. 西南大学生命科学学院, 现代生物医药研究所, 三峡库区生态环境与生物资源省部共建国家重点实验室培养基地, 重庆 400715;
2. 中国科学院遗传与发育生物学研究所, 北京 100101;
3. 中国科学院微生物研究所真菌学国家重点实验室, 北京 100101;
4. 上海交通大学生命科学技术学院 微生物代谢国家重点实验室, 上海 200240

摘要: 中国微生物遗传学研究在 2015 年取得了重要进展。本文回顾了 2015 年度中国本土科研团队在微生物遗传学领域取得的若干重要科研进展, 扼要介绍了若干重点论文, 展示了中国科学家在本领域的学术贡献。在基础微生物遗传学领域, 明确了调控基因表达的一系列重要生物大分子的组成、结构和功能, 解析了微生物免疫系统识别外源核酸片段的分子基础, 阐明了多个微生物来源重要活性物质的生物合成途径及新颖的酶学反应过程, 发现了微生物基因表达调控的新机理, 在微生物发育、进化与群体行为生物学方面也取得一定进展。在工业微生物遗传学方面, 阐明了微生物制造及其分子基础。在病原微生物遗传学方面, 研究了多个致病菌的遗传调控, 明晰了致病菌-宿主相互作用的遗传机制, 在基因组水平解析了微生物耐药、新发病原和环境微生物的遗传机理, 为致病菌防控新措施的研发提供了基础。在微生物多样性与环境微生物遗传学方面, 展示了利用微生物遗传多样性的特点通过催化获得特定手性的化合物具有较好应用前景, 肠道微生物组学研究方兴未艾。

关键词: 中国; 微生物学; 遗传学; 研究进展; 2015 年

Research advances on microbial genetics in China in 2015

Jianping Xie¹, Yubo Han², Gang Liu³, Linquan Bai⁴

1. State Key Laboratory Breeding Base of Eco-Environment and Bio-Resource of the Three Gorges Area, Key Laboratory of Eco-environments in Three Gorges Reservoir Region, Ministry of Education, School of Life Sciences, Institute of Modern Biopharmaceuticals, Southwest University, Chongqing 400715, China;
2. Institute of Genetics and Developmental Biology, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100101, China;
3. Institute of Microbiology, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100101, China;
4. School of Life Sciences and Biotechnology, State Key Laboratory of Microbial Metabolism, Shanghai Jiao Tong University, Shanghai 200240, China

Abstract: In 2015, there are significant progresses in many aspects of the microbial genetics in China. To showcase the contribution of Chinese scientists in microbial genetics, this review surveys several notable progresses in microbial genetics made largely by Chinese scientists, and some key findings are highlighted. For the basic microbial genetics, the components, structures and functions of many macromolecule complexes involved in gene expression regulation

收稿日期: 2016-07-03; 修回日期: 2016-08-29

通讯作者: 谢建平, 研究员, 博士生导师, 研究方向: 重要病原微生物致病耐药分子机理与新干预措施研发。E-mail: georgex@swu.edu.cn

刘钢, 研究员, 博士生导师, 研究方向: 微生物次生代谢与调控。E-mail: liug@sun.im.ac.cn

白林泉, 教授, 博士生导师, 研究方向: 微生物药物系统生物学。E-mail: bailq@sjtu.edu.cn

DOI: 10.16288/j.ycz.16-305

网络出版时间: 2016/9/2 14:30:22

URL: <http://www.cnki.net/kcms/detail/11.1913.R.20160902.1430.002.html>

have been elucidated. Moreover, the molecular basis underlying the recognition of foreign nucleic acids by microbial immune systems was unveiled. We also illustrated the biosynthetic pathways and regulators of multiple microbial compounds, novel enzyme reactions, and new mechanisms regulating microbial gene expression. And new findings were obtained in the microbial development, evolution and population genetics. For the industrial microbiology, more understanding on the molecular basis of the microbial factory has been gained. For the pathogenic microbiology, the genetic circuits of several pathogens were depicted, and significant progresses were achieved for understanding the pathogen-host interaction and revealing the genetic mechanisms underlying antimicrobial resistance, emerging pathogens and environmental microorganisms at the genomic level. In future, the genetic diversity of microbes can be used to obtain specific products, while gut microbiome is gathering momentum.

Keywords: China; microbial genetics; genetics; research advances; 2015

随着国家科研经费投入的持续增长,我国在遗传学领域的研究取得了巨大进步,成果日益受到世界瞩目。2015年,我国科学家在微生物遗传学领域的研究成果同样斐然,在 *Cell*, *Science*, *Nature*, *Nature Immunology* 等国际著名期刊上发表了多项研究成果。多样性(包括物种、代谢、遗传等方面)是微生物的显著特征之一,这也充分体现在2015年中国微生物遗传学研究进展中。例如,以微生物为研究材料的结构生物学研究揭示了诸如 RNA 剪切体的三维结构、与真核生物 DNA 复制和延伸相关的 DNA 解旋酶核心组分 MCM 的结构、病毒转录和复制的关键组分的结构,以及作为新一代基因组编辑工具重要组分的 Cas1-Cas2 与 DNA 的共晶结构等;在微生物代谢产物生物合成与调控的分子遗传机制方面,我国科学家也取得了一些重要发现,如依赖放线硫醇的硫元素引入林可霉素等天然产物的新模式、以青蒿素为代表的含过氧桥键吡咯生物碱合成所需的依赖 α -酮戊二酸的单核非血红素酶 FtmOx1 的作用机制;以二代测序技术为主要手段的基因组和转录组研究继续丰富人们对微生物多样性的认识,如对珊瑚礁共生微生物、被视为人体重要“第二器官”的元基因组(Metagenome)、禽病毒组等;微生物遗传学不断为合成生物学和“微生物制造”提供结构和调控元件,如链霉菌调控元件的筛选、改造原始霉素生物合成的途径特异性调控网络等。此外,在新发传染病病原体的快速鉴定、致病菌与宿主相互作用、动植物致病真菌的遗传调控、致病菌防控措施等研发方面,也涌现出一大批创新成果。经过遗传工程改造的微生物在环境监测和环境污染治理中渐显身手,比如利用定向进化手段构建的检测环境

中砷污染的工程菌和监测纳米材料毒性的重组菌等。

2015年微生物遗传学领域的突出创新成果大多与化学、结构生物学、免疫学等学科紧密相关。当前,国内微生物遗传学研究的对象主要集中在酿酒酵母(*Saccharomyces cerevisiae*)、粟酒裂殖酵母(*Schizosaccharomyces pombe*)、白色念珠菌(*Candida albican*)、植物病原真菌(Phytopathogen)、链霉菌(*Streptomyces*)、大肠杆菌(*Escherichia coli*)、猪链球菌(*Streptococcus suis*)、表皮葡萄球菌(*Staphylococcus epidermidis*)、结核分枝杆菌(*Mycobacterium tuberculosis*)、流感病毒(Influenza virus)、HIV、乙肝病毒(Hepatitis virus B)、冠状病毒(Coronavirus)、埃博拉病毒(Ebola virus)、植物病毒和古菌(Archaea)等。但是从整体来看,在微生物发育遗传学、表观遗传学和群体遗传学等领域的研究亟待加强。尤其是在次级代谢与调控研究领域,以链霉菌为材料的研究取得了长足进步,但在能够产生大量结构新颖、活性广泛的丝状真菌研究方面与国外的研究尚存在一定差距,这也是未来需要进一步努力的方向。

为展示我国科学家2015年在微生物遗传学领域的重要成果,我们从 Web of Science 数据库中选取了中国科学家在国际著名综合性期刊和微生物领域的主流期刊发表的若干重要论文,展开综述性介绍。通过回顾和盘点过去一年我国在微生物遗传学领域取得的若干重要研究成果,我们希望能客观反映出中国微生物遗传学领域的研究前沿和热点,旨在为将来相关领域的科学研究提供借鉴和参考。在资料收集、整理和撰写的过程中,限于人力和篇幅所限,难免会有一些重要成果未被纳入其中,敬请读者谅解。

1 基础微生物遗传学研究

1.1 明确了调控基因表达的一系列重要生物大分子的组成、结构和功能

微生物仍然是揭示生命重大科学问题的关键实验材料。利用病毒、细菌和真核微生物为研究材料, 科学家陆续解析了基因表达调控多个关键复合体的结构。基因的表达至少涉及由 RNA 聚合酶(RNA polymerase)、剪接体(Spliceosome)和核糖体(Ribosome)执行的转录(Transcription)、剪接(Splicing)和翻译(Translation)等过程。DNA 经 RNA 聚合酶转录为前体信使 RNA(Precursor messenger RNA, pre-mRNA), pre-mRNA 在剪接体作用下, 去除内含子、连接外显子之后成为成熟的 mRNA。RNA 剪接是真核生物基因表达调控过程中一个非常重要的环节, 至少 15% 的人类疾病源于剪接错误。剪接体是一个动态的超大型分子机器, 由 U1、U2、U4、U5 和 U6 等 5 个核内小分子核糖核蛋白(Small nuclear ribonucleoprotein, snRNP)、NTC(Nineteen complex, NTC)、NTR(NTC related, NTR)相关酶及辅因子组成。5 个核内小分子核糖核蛋白各含有一条 snRNA, 分别为 U1、U2、U4、U5 和 U6。清华大学施一公课题组利用冷冻电子显微镜(Cryo-electron microscopy, cryo-EM)获得了分辨率为 3.6 Å 的裂殖酵母剪接体的三维结构^[1], 并在该结构的基础上阐明了其剪接 pre-mRNA 的分子机理^[2]。

DNA 复制的关键之一是双链 DNA 的解开。在原核生物中, DNA 解旋酶负责解开 DNA 双链, 而在真核生物中, 双链 DNA 解开则由非常保守的微小染色体维持蛋白(Minichromosome maintenance, MCM)负责, 其家族成员包括 MCM2、MCM3、MCM4(Cdc21)、MCM5(Cdc46)、MCM6(Mis5)、MCM7(Cdc47)。MCM2-7 六聚体复合物构成 DNA 复制许可因子, 启动 DNA 复制。在真核生物中, 复制起始识别复合物(Origin recognition complex, ORC)负责结合复制起始点, 然后在 DNA 复制蛋白 Cdc6 和 Cdt1 的帮助下将 2 个 MCM2-7 六聚体组装到原双链 DNA 上, 以二聚体形式结合复制起点, 组装为 pre-RC(Pre-replicative complex), 此时 MCM2-7 解旋酶活性尚未被激活。在细胞周期的 G₁-S 期, Cdc7-

Dbf4(Cell division cycle 7, Dbf4)和细胞周期蛋白依赖的激酶 CDK(Cyclin-dependent kinase, CDK)磷酸化一系列蛋白, 从而使 Cdc45 和 GINS 等其他必需的复制蛋白结合到 pre-RC 上, 形成具有解旋酶活性的 CMG 复合物(Cdc45-MCM2-7-GINS), 完成对复制起点的激活, 再由 DNA 聚合酶介导链延伸。清华大学高宁课题组与香港科技大学研究人员合作纯化了来自酿酒酵母 G₁ 期染色体的内源性 MCM2-7 双六聚体, 利用冷冻电镜获得了分辨率为 3.8 Å 的晶体结构, 解析了该复合物的结构, 为阐明 MCM2-7 复合物的功能及其作用机制, 以及该家族酶在真核生物中的组装、激活和调控奠定了基础^[3]。

dsRNA 病毒(Double-stranded RNA, dsRNA)是 RNA 病毒的一大类群, 其宿主范围涉及细菌、真菌、原虫、高等动植物。许多 dsRNA 病毒是动植物的病原。dsRNA 病毒包含一个分段的 dsRNA 基因组以及一些 RNA 依赖的 RNA 聚合酶(RNA-dependent RNA polymerases, RdRPs)。在病毒粒子中, RdRPs 以 dsRNA 为模板转录成(+)链 RNA 分子, (+)链 RNA 分子从病毒颗粒释放至宿主细胞质中, 然后作为 mRNA 翻译出病毒的结构和功能蛋白。最后, (+)链 RNA 分子包被为新的病毒颗粒或亚病毒粒子。在新的病毒颗粒或亚病毒粒子中, 以(+)链为模板复制(-)链而形成 dsRNA, 开始新一轮的循环。但对病毒基因组与 RdRPs 的三维结构却并不清楚。湖南师范大学刘红荣课题组和清华大学程凌鹏课题组合作利用冷冻电镜和对称失配(Symmetry-mismatch)技术重建了非转录和转录的质型多角体病毒(Cypovirus)的 RdRPs 及结合 RNAs 的结构, 解析了病毒内部基因组三维结构, 以及基因组与其他蛋白之间的相互作用。研究发现双链 RNA 病毒内部聚合酶和病毒基因组是非线轴结构, 而不是此前普遍认为的线轴状排列, 为阐明 dsRNA 病毒复制和转录机制奠定了基础^[4]。

RdRPs 也是流感病毒基因组进行复制和转录所必需的。它的 3 个亚基分别为 PA、PB1 和 PB2。由 RdRP3 个亚基的 N 端组成的 RdRP 亚复合体在溶液中为二聚体, 也可以组装为四聚体。中国科学院生物物理研究所刘迎芳课题组和清华大学王宏伟课题组合作解析了含有 A 型流感病毒 RdRP 大部分成分的 4.3 Å 分辨率的四聚体冷冻电镜结构。该复合体涵盖

了流感病毒聚合酶催化活性的核心区域。从晶体结构图可以清晰识别出 RNA 合成反应的区域,即该空腔内 PB1 上的催化结构域以及结合的 RNA 复制起始链。这为了解流感病毒合成新生 RNA 链的机制,流感病毒和其他负链 RNA 病毒的生活史提供了理论基础^[5]。

冠状病毒(Coronaviruses, CoV)是基因组庞大的一类 RNA 病毒,能够感染人类并引起多种急性和慢性疾病,如 SARS 和 MERS(Middle east respiratory syndrome coronavirus, MERS-CoV)。其基因组编码结构蛋白、非结构蛋白和一些辅助蛋白。冠状病毒的非结构蛋白 14 (Nonstructural protein 14, nsp14)对于病毒的复制和转录都很重要。nsp14 的 N 端具有核糖核酸外切酶(ExoN)结构域,该结构域的校读功能可以防止基因组出现致死性突变。nsp14 的 C 端结构域具有甲基转移酶活性(N7-MTase),负责对病毒 mRNA 进行加帽。但是,目前关于 nsp14 发挥功能的分子基础仍然不甚清楚。清华大学饶子和和中国科学院生物物理研究所张荣光研究团队联合,获得了 SARS-CoV(CoV)nsp14、nsp10 以及功能性配体结合时的晶体结构,揭示了 nsp14-nsp10 复合体参与 RNA 病毒复制和转录中校读的结构基础^[6]。

双链 RNA 病毒是最大的病毒家族(其他包括逆转录病毒和乳头状瘤病毒)。呼肠孤病毒(Reoviridae)的蛋白衣壳包装着分节段(Segmented)的双链 RNA 基因组,并且通过转录酶复合体(Transcriptional enzyme complex, TEC)进行内源性 mRNA 合成。人类轮状病毒(Rotavirus)和昆虫质形多角体病毒(Cytoplasmic polyhedrosis virus, CPV)都是呼肠孤病毒科的成员。华南农业大学孙京臣和美国加州大学洛杉矶分校的周正洪研究团队联合通过冷冻电镜和不对称重建(Asymmetric reconstruction)技术,解析了休眠状态 CPV(Quiescent CPV, q-CPV)的基因组结构,在 q-CPV 和 t-CPV(有转录活性)中明确了 TEC 的原位结构。CPV 的 10 个 dsRNA 片段以一种特异性的不对称方式与 10 个 TEC 结合,每个 dsRNA 片段直接结合一个 TEC。TEC 含有两个广泛互作的亚基,即一个 RNA 依赖的 RNA 聚合酶和一个 NTPase VP4。当 q-CPV 转变为 t-CPV 的时候,RdRP 的 bracelet 结构域的构象显著改变,形成通道,允许 RNA 模板

进入并接触聚合酶活性位点。此外,CSP(Capsid shell protein)的两个亚基与 VP4 和 RdRP 存在互作。这一发现将感知环境信号的蛋白与病毒 RNA 转录关联起来^[7]。

1.2 解析了微生物免疫系统识别外源核酸片段的分子基础

基因组完整性的维持是物种存活和繁衍的前提。为保证基因组信息的稳定遗传,细菌和古菌等微生物在不断遭受外源 DNA(噬菌体、病毒、质粒等)的侵扰下逐渐发展起自身的防御保护机制。成簇规律性间隔短回文重复序列(Clustered regularly interspaced short palindromic repeat, CRISPR)及其辅助蛋白(CRISPR-associated proteins, Cas)是其重要的适应性免疫防御系统(CRISPR/Cas),能够序列特异性地切割外源 DNA,从而维持自身基因组的稳定性。其中,CRISPR/Cas9 已成为应用前景广泛的第三代基因组编辑技术的基础。其防御过程主要分为 3 个阶段:(1)间隔区(Spacer)的获取:通过核心蛋白 Cas1 和 Cas2 的作用,获取外源入侵的核酸片段,并插入到 CRISPR 位点;(2)crRNA(CRISPR RNA, crRNA)表达:该片段被转录加工为成熟的 crRNA,并与相应的 Cas 蛋白形成复合物;(3)crRNA 干扰:成熟的 crRNA 引导 RNA-Cas 蛋白复合物识别携带有与该序列互补的外源 DNA,并将其降解。crRNA 表达和干扰两个阶段的分子及作用机理已经比较清楚,但整个间隔区的获取过程仍有待进一步研究。中国科学院生物物理研究所王艳丽课题组解析了 Cas1-Cas2 与多种类型 DNA 的复合物的晶体结构,证明了被 Cas1-Cas2 所获取的外源核酸片段以双叉构象存在。Cas1-Cas2 通过两个酪氨酸固定并且准确量取双链部分,并以序列特异性的方式识别 3'单链中的 PAM(Protospacer adjacent motifs, PAM)互补序列(5'-CTT-3'),然后在 Cas1 作用下,分别从两侧的 3'突出(Overhang)端切割出 5 nt 的长度,产生一段 33 nt 长度的 DNA 片段。在这个过程中,与外源核苷酸片段结合,使得 Cas1-Cas2 经历了类似于蝴蝶飞舞时“翅膀上扬”到“翅膀水平”的构象变化,最终通过一种类似切割-拷贝的方式将获取的外源核酸片段插入到 CRISPR 位点。该研究发现了 Cas1-Cas2

识别外源入侵 DNA 的分子机制,揭示了如何确定外源核酸片段的长度,同时也解释了其中核心蛋白 Cas1 和 Cas2 的功能,为揭示微生物抵御病毒及外源 DNA 入侵的机理奠定了基础^[8]。

除了通过结构生物学阐明了 CRISPR/Cas 系统的机理外,还发现了其他一些机理。细菌外源 DNA 沉默蛋白选择性结合并沉默染色体的多个富含 AT 的区域,是水平获得 DNA 的主要调控因子,包括毒力基因。目前发现了 3 类沉默外源 DNA 的蛋白:如变形菌门 H-NS,放线菌的 Lsr2 和假单胞菌的 MvaT。H-NS 和 Lsr2 家族蛋白结构不同,但都通过共同的 AT 沟状基序,识别富含 AT 的 DNA 小沟。MvaT 家族缺乏 AT 沟状基序。北京大学夏斌课题组研究发现, MvaT 通过 AT 钳子(AT-pincer)基序插入小沟,以及多个赖氨酸侧链与 DNA 糖-磷酸骨架相互作用,从形状来识别富含 AT 的序列^[9]。细菌的免疫系统如 CRISPR/Cas 启发了新一代基因组编辑工具的创新。清华大学朱听、中国科学院微生物研究所的姜春波以及以色列特拉维夫大学的 Yuval Ebenstein 合作研究发现,RNA 引导的 Cas9 核酸酶可以直接克隆细菌高达 100 kb 的 DNA 片段^[10]。中国科学院上海生命科学研究院植物生理生态研究所杨晟课题组利用 *Streptococcus pyogenes* II 型 CRISPR-Cas9 多基因编辑系统,在肠杆菌科的 *Tatumella citrea* 中的编辑效率甚至可以高达 100%^[11]。

1.3 阐明了多个微生物来源重要活性物质的生物合成途径及新颖的酶学反应过程

微生物来源的生物活性物质,包括但不限于抗生素、抗肿瘤药物、抗寄生虫药物等。这些生物活性物质一直是保护人类健康的利器。深入揭示这些天然产物生物合成途径及其调控机制,对进一步开发和利用这些生物活性物质具有着直接的现实意义。中国科学院上海有机化学研究所刘文课题组揭示了以硫醇为核心的林可霉素生物合成机制。广泛存在于动物、植物和微生物中的硫醇是一类带有巯基官能团的小分子化合物。林可霉素是一种含有硫元素的高效广谱抗生素。林可链霉菌中的两个小分子硫醇——麦角硫因和放线硫醇相互配合,通过两个罕见的 S-糖苷化反应主导了林可霉素的生物合成进程,

这是麦角硫因参与生化反应的首个范例,该反应也代表了一种依赖放线硫醇的硫元素引入的新模式。这为林可霉素生产菌株的改良以及发酵过程中通过组分优化提高产量、降低生产成本、减轻环境污染提供了理论依据,也为含硫单元的新型生物基化学品的“生物制造”奠定了分子基础^[12]。此外,刘文课题组还发现螺环乙酰乙酸内酯/内酰胺类(Spirotetramate)抗生素生物合成中的 PyrE3 和 PyrI4 两种酶通过串联作用促进 Diels-Alder 反应,完成线性中间体的刚性交联。这两个不同酶催化的环化反应可以偶联也可以解偶联,共同参与核心骨架相似、但整体结构不同的抗生素分子的合成^[13]。

中国科学院微生物研究所张立新课题组与美国德克萨斯大学 Zhang Yan 课题组和波士顿大学刘平华课题组合作,从烟曲霉(*Aspergillus fumigatus*)中分离了具有抗感染等多种生物活性的含过氧桥键的萜类吡啶生物碱-真菌毒素 Verruculogen,发现该化合物中的过氧桥键由一个依赖 α -酮戊二酸的单核非血红素酶 FtmOx1 催化合成,并解析了 FtmOx1 的晶体结构,以及 FtmOx1 分别与 α -酮戊二酸和底物 Fumitremorgen B 的共晶结构。这为催化青蒿酸形成青蒿素等含有过氧桥键的萜类吡啶生物碱的机理认识和应用奠定了理论基础^[14]。

1.4 发现了微生物基因表达调控的新机理

生命存在和延续的最重要和最基本的遗传过程之一是基因组复制。细菌染色体通常只有一个复制起点,真核生物和许多古菌的染色体均具有多个复制起始位点,以应对体内外环境的变化。类似真核生物中普遍存在休眠状态的复制起始位点,如何解析这些休眠复制起点的激活机制及其生理功能是该领域研究的难点和热点。染色体多复制起点是嗜盐古菌中普遍存在的现象。与真核生物的休眠复制起点(Dormant origins)类似,古菌部分休眠复制起点在基因组复制时也并不活跃。中国科学院微生物研究所向华课题组研究发现古菌-地中海富盐菌(*Haloferrax mediterranei*)复制严格依赖复制起点。地中海富盐菌染色体具有且只有 3 个活跃的复制起始位点。这 3 个活性有差异的复制起点在生长过程中被协同调控,可以构建 3 个起始位点的三突变菌株。必要

时,可以激活休眠复制起点^[15]。这是在古菌中首次实验证明休眠复制起始位点存在及其被激活的现象,为研究染色体多位点复制起始的调控机制提供了新的切入点,也为包括真核生物在内的复制起点的沉默与激活机制的研究提供了重要的研究模型。GINS是真核 Cdc45-MCM-GINS 复合体的关键组分,负责在移动的复制叉(Replication fork)处解开双链 DNA。嗜热嗜酸硫磺矿硫化叶菌(*Sulfolobus solfataricus*)的 GINS(SsoGINS) 优先结合 5'端的单链 DNA (Single-stranded DNA, ssDNA)。中国科学院微生物研究所黄力课题组研究发现硫化叶菌 GINS 复合体通过提高 ATP 酶活力,稳定 MCM 与移动的复制叉的相互作用,刺激相应 MCM 的解旋酶(Helicase)活性,有利于行进中的 DNA 解开^[16]。

金黄色葡萄球菌(*Staphylococcus aureus*)是一种重要的革兰氏阳性致病菌,可导致包括皮肤局部感染,甚至危及生命的全身性感染。葡萄球菌 GGDEF 功能域蛋白(GGDEF domain protein from *Staphylococcus*, GdpS)是唯一不参与 c-di-GMP 合成,但参与 *S. aureus* NCTC8325 毒力调控的保守 GGDEF 功能域蛋白质。中国科学技术大学孙宝林课题组研究发现,GdpS 失活会改变多个毒力因子的表达,尤其是大的表面蛋白 Spa(蛋白 A)。SarS 是 Spa 的正调控因子。GdpS 可能与 SarS 直接相互作用影响 Spa。GdpS 与 SarS mRNA 的 5'-非翻译区(5'-untranslated region, 5'UTR)通过 RNA-RNA 碱基配对相互作用来稳定 SarS mRNA。整个调控过程涉及 18 nt 组成的区域^[17]。RNA 寿命和 RNA 聚合酶延伸速率影响基因表达。细菌基因表达涉及协调 RNA 的合成与降解。细菌 RNA 的合成和降解位于同一个亚细胞部位。北京大学谢晓亮和葛颢研究团队利用 RNA-seq 和抑制剂利福平处理,研究大肠杆菌全基因组水平的 RNA 降解规律。他们的研究发现细菌 RNA 降解分为两个阶段:RNA 少量合成期和 RNA 指数降解期。RNA 少量合成期实际上是稳定 RNA 被中断时间的延后,这个阶段 RNA 的稳定性取决于和 mRNA 5'端的相对距离。其研究建立了 RNA 共转录降解(co-transcription degradation)的模式^[18]。

转录或者翻译的衰减是控制基因表达的重要一环。核糖体结合蛋白质可以控制翻译延伸。抗生素

耐药性是当前重要的科学问题和公共卫生难题。抗生素耐药与翻译延伸的关系目前尚不非常明确。*suhB* 基因产物是肌醇单磷酸酶,最早发现于大肠杆菌,与细菌的胁迫应答密切相关。*suhB* 能阻遏 *secY24* 突变, *suhB* 基因突变能够抑制 *dnaB* 突变株或者 *rpoH* 突变菌株的生长。环境胁迫如饥饿、抗生素处理可以暂停细菌核糖体功能,通过转录或者翻译衰减而调控基因的表达。南开大学吴卫辉和金守光课题组研究发现 *suhB* 基因突变导致铜绿假单胞菌多药外排泵 MexXY 和前导肽 PA5471 上调表达,对氨基糖苷类抗生素敏感性降低。该研究提示 *suhB* 负调控核糖体活性^[19]。

大肠杆菌质粒的天然转化是一个复杂的过程,涉及全局性胁迫应答 sigma 因子 σ^S 。武汉大学谢志雄课题组研究发现:添加外源碳源可以显著增强 *E. coli* 的天然转化能力;失活磷转移系统基因(*ptsH*、*ptsG* 和 *crr*)可以增加转化频率。碳源的增效效应可以被 cAMP 抵消。cAMP-cAMP 受体蛋白(cAMP receptor protein, CRP)复合体抑制转化。*crp* 和 *cyaA* 突变则可以提高转化效率。*rpoS* 在早对数期受 cAMP-CRP 负调控。*rpoS* 被敲除后, *crp* 和 *cyaA* 突变株的转化频率降低。*crp* 和 *cyaA* 突变可以解除对数早期 *rpoS* 表达受到的阻遏,促进天然转化。这个发现有助于研究转化对进化、抗生素耐药基因和致病性转移的影响^[20]。

单链退火(Single-strand annealing, SSA)过程修复两侧有直接重复序列的 DNA 双链断裂(DNA double-strand breaks)。单链退火涉及协调一系列参与重组、误配修复和核苷切除修复(Nucleotide excision repair, NER)的因子。具体哪些因子参与则有待研究。酿酒酵母中, Saw1 和 Slx4 是 SSA 修复的主要元件。粟酒裂殖酵母是否如此,则有待研究。中国农业科学院王磊课题组在裂殖酵母(*Schizosaccharomyces pombe*)中建立了基于染色体的 SSA 的分析技术。他们利用该技术发现粟酒裂殖酵母的 Saw1 和 Slx4 不是 SSA 修复途径的主要分子,而与 Rad16、Swi10 和 Saw1 相互作用的种特异性分子 Rsf1/Pxd1 才是 SSA 修复的关键分子^[21]。

单细胞生物的细胞命运决定机制与高等生物有无区别仍有待明确。酿酒酵母进入细胞周期取决于

时间整合激发信号 Cln3。阻遏因子 Whi5 是信号整合器。北京大学汤超课题组研究发现 Cln3-Cdk1 激酶的活性随 Whi5 磷酸化而变化。只有当磷酸化 Whi5 到达阈值时,才启动信号。营养条件不同时,细胞调控 Whi5 浓度,协调生长和分裂。他们发现细胞水平的命运决策与动物整体的决策模式类似,都减少噪音,降低不确定性^[22]。同样,对于端粒重组在细胞命运中的作用,也缺乏详细的机理研究。中国科学院上海生命科学研究院生物化学与细胞生物学研究所周金秋课题组研究发现,酿酒酵母端粒重组导致基因组不稳定,加速细胞衰老,而失活 KEOPS 亚基 Cgi121 特异性抑制端粒重组,延长细胞寿命^[23]。

活性氧(Reactive oxygen species, ROS)是生物普遍遭遇的氧化胁迫。真核生物具有受到转录调控的氧化应激系统。氧化胁迫下,酵母需要 45 min 才能开启氧化应激系统。在开启氧化应激系统前,真核生物通过 tRNA 核转运、可逆性切割 CCA 尾、将 tRNA 切成两半等 3 种方式迅速降低 tRNA 的量,应对氧化压力。细菌通过如 SoxRS 系统和 OxyR 系统的转录调控应对氧化应激,需要 20~30 min 才能起效。暨南大学张弓和何庆瑜研究团队研究发现,过氧化氢处理后,蛋白质合成虽然在 1~2 min 内迅速降低至检测下限,却未见细胞内大面积的蛋白质氧化损伤,翻译起始速率未受影响,翻译延伸速率迅速降低。与真核生物不同,细菌 tRNA 被酶不可逆降解。人工增加 tRNA 可以加速翻译,在氧化应激条件下使细菌生长更快,保护大肠杆菌对抗更高浓度的过氧化氢,甚至耐受环丙沙星引起的 ROS。这个研究改变了细菌基因表达主要是转录调控、翻译调控只占很小比例的传统观点,发现了细菌快速应对氧化应激的新机制,为细菌耐药提供了全新视角^[24]。

操纵子通常被认为是原核生物基因组结构和调控的主要特征之一。而真菌中的基因往往是独立的顺反子。中国科学院微生物研究所刘杏忠课题组与德克萨斯大学休斯顿健康科学中心的安志强课题组合作发现,在子囊真菌 *Glarea lozoyensis* 中存在着参与次级代谢的 *glpks3/glnrps7* 操纵子。根据构巢曲霉、*Glomerella graminicola* 和 *Drechslerella stenobrocha* 的基因组与转录组数据对类似操纵子结构进行了预

测,发现真菌中该类操纵子结构很普遍。该结果为研究真菌次级代谢产物编码基因的起源与进化提供了新方法^[25]。

微生物与宿主相互作用的分子机理是目前研究的热点。许多病毒利用病毒或者细胞的染色质机器获得有效感染。中山大学杨凯课题组研究发现,杆状病毒(Baculovirus)编码的保守鱼精蛋白样(protamine-like)分子 P6.9 在感染、病毒的生理过程中发挥功能。质谱检测发现 P6.9 有 22 个磷酸化位点、10 个甲基化位点,但无乙酰化位点。病毒编码的 PK1 参与 P6.9 磷酸化^[26]。DNA 磷硫酰基化修饰(Phosphorothioation, PT)指非桥磷酸的一个磷被硫取代,在原核生物中分布广泛。每个菌株修饰位点周围有一段短的一致序列。上海交通大学由德林课题组研究发现 *Salmonella enterica* serovar Cerro 87 的 PT 修饰由 *dp-tBCDE* 基因簇负责,PT 修饰也受到转录水平的调控^[27]。

表观遗传在微生物生理和毒力中的作用是目前研究的热点领域之一。胞嘧啶的甲基化是一种重要的表观遗传修饰,属于双加氧酶家族的 TET 蛋白参与 DNA 去甲基化。中国科学院上海生命科学研究院生物化学与细胞生物学研究所丁建平研究员课题组在解析粗糙链孢菌胸腺嘧啶水解酶 T7H 的高分辨率晶体结构的基础上,揭示了 T7H 底物特异性的分子基础和催化机制,为认识 TET 蛋白的底物特异性和催化机制提供了基础^[28]。组蛋白修饰是基因表达调控的重要环节。组蛋白去乙酰化酶(Histone deacetylase, HDAC)与酵母的形态发生和毒力有关。中国医学科学院皮肤病研究所刘维达课题组研究 HDAC 抑制剂曲古柳菌素 A(Trichostatin A, TSA)是否影响白色念珠菌(*Candida albicans*)对氟康唑(fluconazole)等唑类(Azole)的敏感性,发现药物处理 48 h 后, *C. albicans* 菌株的生长慢了 2~256 倍。在唑类抗性形成中发挥作用的 Rpd3/Hda1 家族基因如外排泵的表达受到组蛋白去乙酰化的控制^[29]。

1.5 微生物发育、进化与群体行为生物学研究取得进展

原核生物的发育分化是急需加强研究的领域之一,也是新抗生素靶标发现的重要源头和合成生物学调控通路设计的基础。分子伴侣/引领蛋白(Chap-

erone/usher, CU)分泌通路是迄今最普遍、最具代表性的菌毛装配途径。CU 通路包括经典型、交替型和远古型三类家族,其中远古型 CU 通路分布最广,存在于许多重要的致病微生物和环境微生物中。黄色粘球菌(*Myxococcus xanthus*)是研究原核生物发育分化的良好模型,其基因簇 *mcuABCD* 编码 mCU 途径。东南大学毛晓华课题组研究发现黄色粘球菌 MXAN2872 编码的黄素腺嘌呤二核苷酸结合单加氧酶,调控发育聚合体的形成、形态关卡(Morphological checkpoint),还影响 mCU 基因簇的表达^[30]。

细胞命运决定的分子机理也是细菌发育生物学面临的主要挑战之一。部分分化的细胞类型具有合作行为,如产孢子的苏云金芽孢杆菌(*Bacillus thuringiensis*, Bt)是研究进化中细胞合作的很好模型。中国农业科学院植物保护研究所张杰研究团队和法国农科院合作,利用 *lacZ* 和 *gfp* 报告基因转录分析发现,新型细胞分化与毒素晶体形成相关的基因 *cry* 的表达调控模式有关。产毒素晶体的分化菌株产生孢子的量比典型菌株多,在与欺骗者的竞争中更容易获胜。就孢子存活力或者 *cry* 毒素的耐久性而言,分工有利于提高部分菌株的适合度(Fitness)。该研究为产量更高、晶体蛋白稳定性更强的新型 Bt 产品的开发奠定了理论基础^[31]。

细胞器极性分布的机理有多种。进化上相对保守的鞭毛的发育也呈现明显的极性。弧菌和假单胞菌的极性鞭毛的位置和数量由 FlhF(Multiple-domain (B-N-G) GTPase)和 FlhG(MinD-like ATPase)共同决定。浙江大学高海春课题组研究发现奥奈达希瓦氏菌(*Shewanella oneidensis*)的 FlhFG(SoFlhFG)与上述菌不同,决定极性排列的是 SoFlhF 的 G 功能域,而不是霍乱弧菌(*Vibrio cholerae*)FlhF 的 N 功能域。SoFlhF N 功能域可以抵消 G 功能域功能。SoFlhF 的 GTPase 的主要功能是负责运动,而不是定位^[32]。

细菌群体感应(Quorum sensing)调控系统负责合成和释放与群体密度相关的信号分子,并通过感知其浓度变化来调节细菌的基因表达和群体行为。群体感应是细菌的“语言”,它调节细菌群体内所有成员的行为并使之社会化,从而实现单一细菌个体无法完成的生理功能。挥发性物质是空气传播的化学小分子,具有多种生物活性。枯草芽孢杆菌(*Bac-*

illus subtilis)产生的挥发性小分子对位于附近但空间上隔离的枯草芽孢杆菌细胞的生物膜形成有巨大影响。其中,乙酸特别容易刺激生物膜形成。浙江大学的 Chen Yun 与美国东北大学的柴运嵘合作,利用乙酸产生或者运输缺陷的 *B. subtilis* 突变菌株进行研究发现,乙酸能协调生物膜形成的速度。*YwbHG*、*ysbAB* 和 *ysaKC* 等 3 个基因都编码 holin-antiholin-like 蛋白质,该蛋白负责对乙酸产生应答,从而刺激生物膜形成。当这 3 个基因都突变时,突变菌株形成生物膜的能力严重减弱。同时该研究也证实,过量表达 *ywbHG* 的菌株的生物膜形成较早且较强^[33]。中国科学院上海药物研究所蓝乐夫课题组研究发现,铜绿假单胞菌(*Pseudomonas aeruginosa*)Rhl 群体感应系统由转录调节因子 RhlR、信号分子 C4-HSL 及其合成酶 RhlI 蛋白组成,调节细菌毒力因子的表达、致病力,是抗细菌感染药物开发的潜在靶点。Crc-Hfq/Lon/RhlI 级联调节途径调节 Rhl 群体感应系统。Crc(Catabolite repression control)基因控制鼠李糖脂(Rhamnolipid,铜绿假单胞菌一个重要的毒力因子)产生。Crc 基因通过正调节 Rhl 群体感应系统来促进鼠李糖脂的生成以及细菌的致病力。Lon 蛋白酶基因是 Crc 基因突变的抑制子(Suppressor)。Crc 基因的突变没有影响 Lon 蛋白酶基因的转录,却引起了 Lon mRNA 的翻译活性升高。Crc 蛋白在 RNA 分子伴侣 Hfq 蛋白的存在下可与 Lon mRNA 形成蛋白质/RNA 复合物,在翻译水平上抑制了 Lon 蛋白酶基因的表达。Hfq 蛋白可直接结合在 Lon mRNA 的翻译起始位点附近,而且 *hfq* 基因的突变和 Crc 基因的突变相类似,均造成 *lon* 基因的翻译升高、RhlI 蛋白的稳定性降低、信号分子 C4-HSL 的水平下降。这表明 Hfq 也在翻译水平上抑制 Lon 蛋白酶基因的表达,从而激活 Rhl 群体感应系统^[34]。

在新发传染病原的溯源和进化分析方面,军事医学科学童贻刚课题组测定 175 个埃博拉病毒的全基因组序列,确定了病毒进化和传播动力学,为国际合作开发疫苗和药物提供了基础^[35]。此外,中国科学院微生物研究所和中国疾病预防控制中心的高福研究团队分析了从中东呼吸综合征冠状病毒输入病例分离的病毒的基因组序列,发现在 B 类冠状病毒的 3 组和 5 组之间发生遗传重组,并影响了其传播能力^[36]。

2 工业微生物遗传学

微生物制造及其分子基础研究取得了显著成绩。微生物是一系列新材料如生物塑料、蛋白质生物材料、生物基尼龙、天然产物等的重要来源。此外,微生物制造还包括生产抗生素在内的菌种的遗传改良及其一系列基础研究工作。

中国科学院微生物研究所的娄春波和张立新课题组合作建立了一个基于流式细胞仪和绿色荧光蛋白 sfGFP 的单细胞基因表达精确定量方法,用于链霉菌调控元件的鉴定,在链霉菌中首次利用高通量技术筛选到 200 个天然的或人工合成的启动子和 200 个核糖体结合位点,并成功激活、提高了阿维链霉菌(*Streptomyces avermitilis*)中原本沉默的番茄红素生物合成基因簇的表达^[37]。该结果对于利用天然元件提高重要微生物代谢产物的产量有重要的实践指导意义。

绿色高效生产头孢类抗生素的重要中间体 7-氨基去乙酰氧基头孢烷酸(7-ADCA)的方法十分必要。中国科学院微生物研究所陶勇和杨克迁课题组合作,在大肠杆菌中重构了三羧酸循环。首先使三羧酸循环中从 α -酮戊二酸到琥珀酸的合成步骤被 7-ADCA 的合成反应所替代,推动 7-ADCA 的合成。并通过减少乙酸积累、敲除宿主自身 β -内酰胺酶,减少底物和产物降解,提高合成反应效率。以上代谢工程手段的组合应用使 G-7-ADCA 的产量从 2.50 ± 0.79 mmol/L(0.89 ± 0.28 g/L)提高到 29.01 ± 1.27 mmol/L(10.31 ± 0.46 g/L),全细胞催化效率提高了 11 倍^[38]。该结果对于改造代谢途径、提高重要抗生素及其中间体的产量具有重要意义。

上海交通大学冯雁和白林泉课题组合作以吸水链霉菌(*Streptomyces hygroscopicus* 5008)井冈霉素(Validamycin)生物合成途径为基础,引入具有高度立体选择性的芽孢杆菌氨基转移酶的基因,并敲除相关酶基因以阻断竞争途径,获得的突变株发酵培养 96 h 后可产生 20 mg/L 的 β -糖苷酶抑制剂合成前体 β -有效烯胺^[39]。

四环二萜类化合物甜菊糖仅存在于南美菊科植物甜菊(*Stevia rebaudiana* Bertoni)和中国的甜茶(*Rubus suavissimus*)等少数植物中,是下一代重要的

天然甜味剂,同时具有潜在药用价值。中国科学院上海生命科学研究院植物生理生态研究所王勇课题组对甜叶菊 RNA 序列数据库进行挖掘,解析和鉴定了甜菊糖生物合成途径中的两个关键酶。通过在静息细胞中共表达候选的细胞色素 P450 基因和糖基转移酶基因,在大肠杆菌中重构了从头合成甜菊糖苷类化合物的非天然合成途径,大幅提高了甜菊糖生物合成的关键中间体产量,为将大肠杆菌改造成为复杂萜类化合物异源合成的底盘细胞奠定了基础^[40]。

嗜盐古菌(Haloarchaea)的聚羟基烷酸(Polyhydroxyalkanoates, PHAs)合成和组装形成 PHA 颗粒的过程受到严格调控。中国科学院微生物研究所向华课题组研究发现 *Haloferax mediterranei* 的 *phaRP* 操纵子包含颗粒结构基因 *phaP* 及其负调控基因 *phaR*。*H. mediterranei* 的 PhaR 是一个新的双功能蛋白质,在调控 PHA 积累和 PHA 颗粒形成中发挥核心作用。该工作对于生物可降解塑料的合成具有基础性意义^[41]。

中国科学院天津工业生物研究所孙媛霞研究团队基于大肠杆菌果糖-1,6-二磷酸醛缩酶(FruA)和地衣芽孢杆菌(*Bacillus licheniformis*)的塔格糖 1,6-二磷酸醛缩酶(TagA)催化磷酸二羟丙酮(DHAP)和 L-甘油醛产物构型的非专一现象,获得两种产物 L-山梨糖和 L-阿洛酮糖,并以谷氨酸棒杆菌为底盘构建并优化了由 FruA 和去磷酸化酶(YqaB)组成的醛缩途径,以葡萄糖等为底物合成了两种 L-稀有己酮糖^[42]。此外,该研究团队经代谢工程改造积累胞内磷酸二羟丙酮(DHAP),同时在工程菌中构建由醛缩酶和去磷酸化酶组成的新合成途径,以葡萄糖和 D-甘油醛等小分子为底物合成了 D-sorbose、D-psicose、D-赤藓酮糖(D-erythrulose)、L-木酮糖(L-xylulose)、L-果糖(L-fructose)、3R,4S,5R,6R-heptulose 和 3R,4R,5R,6R-heptulose 等高附加值的稀有糖及其衍生物^[43]。中国科学院微生物研究所李寅课题组将卡尔文循环中的磷酸核酮糖激酶和核酮糖-1,5-二磷酸羧化酶/加氧酶导入大肠杆菌,大肠杆菌可以固定 CO₂,进一步引入蓝细菌特有的碳浓缩机制,大肠杆菌的固碳速率大大提高^[44]。

放线链霉菌(*Streptomyces pristinaespiralis*)产生的原始霉素(Pristinamycin)(也称普那霉素)属于链阳性类抗生素,包含原始霉素 I(PI)与原始霉素 II(PII)

两个组分。其衍生物已获批用于治疗多种临床耐药性病原菌感染。为提高其发酵单位并实现产业化,中国科学院上海生命科学研究院植物生态研究所姜卫红课题组以高产菌株为出发菌株,通过 PII 生物合成基因簇拷贝数的扩增、系统改造原始霉素生物合成的途径特异性调控网络等组合代谢工程策略与发酵工艺优化,使改造后的工程菌 PII 产量在摇瓶和发酵罐的分批发酵中分别达到了 1.13 g/L 和 1.16 g/L^[45]。此外,该课题组还通过遗传工程的方法改造提高了产溶剂微生物丙酮丁醇梭菌(*Clostridium acetobutylicum*)利用木糖的效率。降解物控制蛋白 A(Catabolite control protein A, CcpA)负责木糖的利用,介导碳降解物阻遏(Carbon catabolite repression, CCR)。CcpA 的 302 位缬氨酸残基是丙酮丁醇梭菌 CcpA-依赖性 CCR 所必需的分子。V302N 突变可以上调 *sol* 基因如 *ctfA*、*ctfB* 和 *adhE1* 的表达,减轻 CCR,提高木糖利用效率。工程改造的菌株在 72 h 内可以利用葡萄糖和木糖混合发酵培养基中 90% 的木糖,其利用木糖的效率较对照菌株提高了 30%^[46]。

力达霉素(Lidamycin C-1027)是球孢链霉菌(*Streptomyces globisporus*)产生的具有重要临床意义的抗肿瘤抗生素。中国医学科学院医药生物技术研究所以洪斌课题组研究发现,庚烷(Heptaene)是力达霉素生物合成的前体物,AtrA 是球孢链霉菌合成力达霉素的转录激活因子,SgcR1 是产生力达霉素的成簇调控因子(Cluster-situated regulators, CSRs),庚烷抑制 AtrA 与 SgcR1 基因启动子序列的结合,天蓝色链霉菌产生的放线紫红素也能够抑制该相互结合作用^[47]。

中国农业大学文莹课题组研究发现,阿维链霉菌(*Streptomyces avermitilis*)中的 TetR 家族转录调控因子 SAV3619(AveT)是抗蠕虫药阿维菌素产生以及菌丝形态分化的正调控因子,通过途径专一性调控蛋白 AveR 来发挥调控作用,而受其负调控的下游外排泵蛋白基因产物 AveM 对阿维菌素产生和形态分化具有负影响,同时发现阿维菌素合成的中间产物 5-酮-阿维菌素(C-5-O-B1)能够通过 AveT 的直接结合来进一步促进阿维菌素的产生。通过过量表达 AveT 或敲除及其靶基因 *aveM*,将高产菌株的产量分别提高了 22% 和 42%^[48]。

为改善酿酒酵母对木质纤维素水解液(Ligno-

cellulosic hydrolysate)和 L-阿拉伯糖(L-arabinose)的利用率和提高乙醇发酵产率,中国科学院天津工业生物技术研究所以田朝光课题组鉴定和利用粗糙脉孢菌(*Neurospora crassa*)和嗜热毁丝菌(*Myceliophthora thermophila*)的转运蛋白 LAT-1 和 MtLAT-1 来改造酿酒酵母,提高了 L-阿拉伯糖的利用效率、细胞生物量和乙醇产量^[49]。

3 病原微生物遗传学

3.1 致病菌的遗传调控

与人类和动植物密切相关的致病真菌的研究是另一个近期热点。尽管蛋白激酶广泛存在于植物病原真菌当中,并在致病过程中起着关键作用,但对于它们在锈菌致病中的作用还不甚清楚。国内在这方面开展了一系列工作。西北农林科技大学康振生课题组研究表明,小麦条锈病菌(*Puccinia striiformis* f. sp. *tritici*)的一个受宿主植物高度诱导的蛋白激酶 PsSRPKL 参与真菌对环境胁迫的反应,是适应宿主的毒力因子^[50]。浙江大学马忠华课题组研究发现,禾谷镰孢菌(*Fusarium graminearum*)中 *Sch9* 的同源基因 *FgSch9* 的缺失导致气生菌丝生长、分支以及孢子萌发受阻,并表现出对渗透压、氧化压力的敏感性。与 *FgSch9* 相互作用的 *FgMaf1* 在真菌毒素的产生和致病力方面起着重要的作用。*FgSch9* 还与 *FgT* 以及 *FgHog1* 具有相互作用。*FgSch9* 作为雷帕霉素和高渗透性甘油途径目标的调解子,调节禾谷镰孢菌多种应激反应和次级代谢^[51]。西北农林科技大学刘慧泉与美国普渡大学徐金荣合作研究发现,禾谷镰孢菌细胞周期涉及有丝分裂开启和进行的多个蛋白激酶,其中与 CDC2 同源的分子有两个:Cdc2A 和 Cdc2B。两个 *cdc2* 基因在禾谷镰孢菌营养生长和传染性菌丝中具有不同功能,*cdc2A* 的缺失可以导致真菌毒力的显著下降以及有性孢子的减少。同时 Cdc2A 与特定的细胞周期蛋白作用,从而影响禾谷镰孢菌的侵染力和有性孢子形成^[52]。徐金荣课题组还发现 MADS-box 转录因子 *FgMcm1* 对禾谷镰孢菌附着胞以及分生孢子梗的形成是必需的,同时还与真菌毒力和次级代谢相关。酵母双杂交实验表明 *FgMcm1* 同参与有性生殖的 *Mat1-1-1* 和 *Fst12* 存在

相互作用^[53]。

组蛋白表观遗传与基因表达调控的关系, 在致病真菌中也是研究热点之一。浙江大学马中华课题组研究发现组蛋白甲基化(H3K4me)在真核生物中与基因活跃转录有关。FgSet1 负责在禾谷镰孢菌中的组蛋白 H3K4 甲基化。通过基因敲除、酵母双杂交等证明组蛋白 H3K4 甲基化调节禾谷镰孢菌菌丝的生长、次级代谢以及多种应激反应^[54]。南京农业大学张正光课题组研究发现, 致病菌通过基因组进化以克服遗传背景不同的宿主所施加的胁迫, 从而产生不同类型的菌株。该研究表明稻瘟病菌(*Magnaporthe oryzae*)基因组动态是其与宿主水稻共进化的结果^[55]。杀虫真菌罗伯茨绿僵菌(*Metarhizium robertsii*)属于子囊菌, 具有广谱杀虫能力。该菌株的发育、毒力和环境适应受哪些因子的调控仍然不清楚。中国科学院上海生命科学研究院植物生理生态研究所王成树课题组研究发现, PacC/Rim101 家族的 pH-应答转录因子 MrpacC 能够调控菌株的发育、菌株对环境的适应以及毒力^[56]。

植物致病菌能够分泌多种效应蛋白分子破坏宿主的免疫应答。南京农业大学王源超课题组研究发现, 大豆疫霉(*Phytophthora sojae*)重要致病因子 Avr3b 能够被宿主细胞的肽基脯氨酰异构酶和亲环蛋白激活。亲环蛋白 GmCYP1 在肽基脯氨酰异构酶帮助下直接激活 Avr3b。Avr3b 含有 GP motif, 其中 P132 的改变导致 Avr3b 不能够被激活, 同时大豆疫霉也失去了致病性。PsAvr3b 通过模拟植物抗病负调控因子 NUDIX 水解酶的功能而抑制植物产生抗病性^[57]。

单细胞生物感知和利用营养物质的具体机理仍然不清楚。单细胞的白色念珠菌(*Candida albicans*)是常见的条件性致病真菌。中国科学院微生物研究所黄广华课题组利用白色念珠菌作为模式, 研究了单细胞生物感知和利用营养的策略, 揭示了致病真菌的生境特化(Niche specialization)机制。*C. albicans* 利用胃肠道丰富的 N-乙酰葡萄糖胺(N-acetylglucosamine, GlcNAc)作为营养状况的信号分子。*C. albicans* 在水中自然进入 G₀ 期, 可以存活数周。如果水里加入 GlcNAc, 菌株很快死亡, 称为 N-乙酰葡萄糖胺诱导的细胞死亡(GlcNAc-induced cell death,

GICD)。GlcNAc 能够上调核糖体合成基因的转录, 改变线粒体代谢, 积累活性氧, 从而导致细胞经凋亡和坏死两种方式快速死亡。保守的 cAMP 信号传递和 GlcNAc 降解途径参与 GICD^[58]。白色念珠菌也是人肠道正常的共生菌, 能进行形态转换以适应人体内环境。其形态转换能力与致病力直接相关。Wor1 是主控白色念珠菌白灰形态转换的一个关键调控因子, 通过结合多个基因启动子区域的 DNA 特征序列, 调控下游基因的转录。在已测定基因组序列的真菌中都存在 Wor1 的同源蛋白, 这些 Wor1 同源蛋白在各自真菌的形态转换过程或致病过程中发挥重要的调控作用。中国科学院上海生命科学研究院生物化学与细胞生物学研究所陈江野课题组研究发现, Wor1 被 E3 连接酶 Wos1(Wor1 SUMO-ligase 1)在 385 位赖氨酸残基进行 SUMO 化修饰, 调控 CO₂ 诱导的白灰转变, 并维持灰表型^[59]。

酿酒酵母 14-3-3 蛋白 Bmh1/2 的同源分子在昆虫致病真菌(Entomopathogen)如球孢白僵菌(*Beauveria bassiana*)中的作用未知。浙江大学冯明光课题组研究发现任何一个 Bmh1/2 缺失或者双缺失都会导致下列缺陷, 如 G₂/M 转换、芽生孢子(Blastospore)大小、碳/氮源利用、分生孢子(Conidiation), 萌发(Germination)和分生孢子对高渗透压、氧化胁迫、细胞壁胁迫、高温和 UV-B 辐射等的改变^[60]。冯明光课题组还研究发现, 球孢白僵菌 Wee1 和 Cdc25 平衡细胞周期所需的周期蛋白依赖性激酶 1(Cyclin-dependent kinase 1, Cdk1)活性, 控制细胞周期、形态发生、无性发育、胁迫耐受和毒力^[61]。西南大学罗志兵和美国佛罗里达大学 Nemat O. Keyhani 合作研究发现球孢白僵菌的 Bbmsn2 依赖 pH, 负调控次级代谢产物卵孢子素(Oosporein)以及一种红色素苯醌(Benzoquinone)的合成^[62]。西南大学张永军课题组证明球孢白僵菌 Ohmm(Oxidative homeostasis membrane-protein-mitochondria)能够被 Hog1(Mitogen-activated protein, MAP)下调^[63]。

人类和禽类日益密切的关系, 使得禽病毒更容易跨种传播, 导致人畜共患病(Zoonosis)。全面的禽病毒组(Avian virome)有助于认识禽类进化动态。除了病毒直接从禽类感染人外, 香港大学袁国勇课题组研究发现, 过去只存在于禽类的腺病毒(Adenovirus)

可以促进另一种人畜共患病致病菌如鹦鹉热嗜衣原体(*Chlamydophila psittaci*)感染人和禽类^[64]。香港大学管毅和朱华晨研究团队发现, H7N9 病毒的传播、分化模式类似于 H5N1 和 H9N2^[65]。

3.2 病毒-宿主相互作用的遗传调控

病毒与宿主相互作用的遗传机制一直是本领域的研究热点之一, 主要涉及病毒的组分调控宿主一系列的信号传递, 进而改变宿主代谢和免疫应答, 以有利于病毒的复制和繁殖等。中国科学院微生物研究所高福课题组研究发现, 甲流病毒(H6N1)的受体结合特异性是宿主偏好和病毒跨种传播的主要决定因素。E190V 和 G228S 取代是获得人受体结合能力的关键。P186L 取代可以降低与禽受体结合能力。感染人的 H6N1 演进获得了结合人受体的偏好^[66]。

肝炎一直是重要的全球性公共卫生和社会问题之一。世界卫生组织统计数据表明, 目前全球约有 3.5 亿慢性乙型肝炎病毒携带者和 1.85 亿慢性丙肝病毒感染者。其中, 我国乙肝患者近 1 亿人, 全球每年大约 70 万病毒性肝炎的相关死亡者中, 我国占近 50%。乙肝病毒(Hepatitis B virus, HBV)基因表达和复制被肝细胞核因子 6(Hepatocyte nuclear factor 6, HNF6)抑制。武汉大学郭德银课题组研究发现, HBV 复制在转录水平和转录后水平都被 HNF6 抑制。HBV 感染的结局因性别而异, 这可能与 HNF6 表达水平高低的性别差异有关^[67]。小 RNA 在病毒-宿主相互作用中的功能也颇受关注。中国科学院微生物研究所叶昕课题组和解放军 302 医院李志伟合作研究发现, HBV mRNAs 可以吸收 microRNA-15a (miR-15a)经 Bcl-2 途径影响凋亡, 也可以经 MicroRNA-15a-Smad7-Transforming Growth Factor Beta(TGF-beta)调控凋亡和肿瘤发生^[68]。乙肝病毒感染导致的肝损伤源于宿主免疫应答。microRNA-146a(miR-146a)是天然免疫相关的 miRNA。补体因子 H(Complement factor H, CFH)是补体激活的替代途径的重要负调控因子。CFH 的表达水平高低与肝细胞中有无乙肝病毒密切相关。军事医学科学院微生物流行病研究所周育森课题组研究发现, HBV X 蛋白(HBV X protein, HBx)经 NF-kappa B-介导的增强 miR-146a 启动子活性而影响 miR-146a 表达。HBV/HBx 下调 CFH 转录。

HBx-miR-146a-CFH-补体激活调控途径在慢性乙肝病毒感染的免疫病理中发挥作用^[69]。复旦大学基础医学院袁正宏课题组研究发现, HBV 抑制 RNA helicase RIG-I-介导的干扰素(interferon, IFN)诱导, 其聚合酶(polymerase, Pol)抑制 STING-刺激的 IRF3(Interferon regulatory factor 3)激活和 IFN- β 诱导。负责该功能的是 Pol 的逆转录酶(reverse transcriptase, RT)和核酸酶 H(RNase H, RH)功能域。Pol 与 STING 结合, 经其 RT 功能域降低 STING 的 K63-多聚泛素化, 但不改变 STING 的表达水平。HBV 聚合酶还是多功能的免疫调节蛋白^[70]。

流感病毒感染常常促进细菌感染宿主而导致肺炎, 但是其具体的分子机理有待揭示。中国科学院微生物研究所王北难课题组研究发现, 甲型流感病毒(Influenza A virus, IAV)的神经酰胺酶(Neuraminidase, NA)可以促进细菌粘附, 激活 TGF-beta。TGF-beta 上调细菌结合所需的宿主粘附分子如纤粘蛋白(Fibronectin)和整联素(Integrin), 导致细菌感染肺部 and 增殖。该研究发现 TGF-beta 和细胞粘附素是防止病毒-细菌共感染的药物干预靶标^[71]。

人巨细胞病毒(Human cytomegalovirus, HCMV)感染是出生缺陷的主要原因之一, 表现为神经紊乱。HCMV 感染改变小 RNA(microRNAs, miRs)表达, 阻断细胞周期, 改变细胞环境, 有利于病毒复制。HCMV 感染降低神经前体/干细胞(Neural progenitor/stem cells, NPCs)miR-21 表达。被感染的 NPCs 和 U-251MG 细胞阻遏 miR-21 表达, 增加其靶标-细胞周期调控因子 Cdc25a 的表达。miR-21, Cdc25a 和病毒复制之间关系如何? 中国科学院武汉病毒研究所罗敏华课题组研究发现 miR-21 靶向 Cdc25a, 负调控 HCMV 复制。miR-21 可能是内源性抗病毒因子, 是治疗干预的靶标^[72]。

呼吸道合胞体病毒(Respiratory syncytial virus, RSV)是婴儿呼吸道急性感染的主要原因, 导致支气管炎和肺炎。南京大学医学院李尔广课题组研究发现宿主经过维甲酸诱导基因 I(Retinoic acid-inducible gene I, RIG-I)对 RSV 应答。RSV 感染经诱导 NLRC5 上调 MHC-I 表达。NLRC5 是 NOD-样、含 CARD 功能域的胞内蛋白, 是 I 类 MHC 反式激活蛋白(Class I MHC trans-activator, CITA)。RSV 感染 A549 细胞,

诱导产生 IFN- β , 促进 NLRC5^[73]。

自噬是宿主先天性和适应性免疫的关键之一。病毒逃避自噬或者利用自噬的策略比较多样化。浙江大学周继勇课题组研究发现, 位于宿主细胞表面的致病菌受体 HSP90AA1(Heat shock protein 90kDa [cytosolic], class A member 1)经 Akt-mTOR (Mechanistic target of rapamycin)途径诱导自噬。胞内自溶酶体包装禽双 RNA 病毒(Avibirnavirus)颗粒。早期禽双 RNA 病毒感染增加轻链 3(Light chain 3, LC3)- II 的量, 也上调 Akt-mTOR 的去磷酸化^[74]。

病毒感染诱导的去泛素化酶(Deubiquitinase, DUB)-泛素特异性蛋白酶 25(Ubiquitin-specific protease 25, USP25)是宿主防御 RNA 和 DNA 病毒感染所需。武汉大学钟波课题组研究发现 USP25(-/-)细胞或者小鼠更容易被 H5N1 或 HSV-1 感染。感染后, USP25 结合 TRAF3 和 TRAF6, 保护 TRAF3 和 TRAF6 不被降解^[75]。

类鼻疽伯克霍尔德菌(*Burkholderia pseudomallei*)是类鼻疽(Melioidosis)的致病菌。类鼻疽死亡率高, 主要发生在热带地区。中国人民解放军第三军医大学毛旭虎课题组研究发现, 该菌上调 MIR4458、MIR4667-5p 和 MIR4668-5p 等 3 个新 miRNAs 表达, 靶向 ATG10 的 3'-非翻译区(Untranslated region), 抑制 ATG10 转录, 逃避自噬介导的清除, 促进 *B. pseudomallei* 在哺乳动物细胞内存活^[76]。该研究发现了类鼻疽致病的新机理。

厦门大学韩家淮课题组研究发现坏死性凋亡(Necroptosis=necrosis+apoptosis)由 RIP3(Receptor-interacting protein 3)和 RIP1 激酶介导。RIP3 与 HSV-1 (Herpes simplex virus type 1)蛋白 ICP6 相互作用, 激发坏死性凋亡^[77]。

卡波西肉瘤相关疱疹病毒(Kaposi's sarcoma-associated herpesvirus, KSHV)感染导致卡波西肉瘤, 一种扩散能力很强的内皮细胞血管生成性肿瘤。KSHV 编码 20 多个 miRNAs。南京医科大学卢春课题组研究发现, 异位表达 miR-K12-3(miR-K3)可以促进内皮细胞迁移和侵袭, 其靶标是 GRK2(G protein-coupled receptor (GPCR) kinase 2, ADRBK1)。感染也上调被 GRK2 负调控的趋化因子受体 CXCR2。miR-K3 阻遏 GRK2, 经激活 CXCR2/AKT 信号传递,

有利于细胞迁移和侵袭, 与 KSHV 诱导的肿瘤扩散有关^[78]。

猪瘟导致巨大的经济损失。经典猪瘟病毒(classical swine fever virus, CSFV)的 E2 蛋白是包膜糖蛋白, 参与病毒粘附和侵入。中国农业科学院哈尔滨兽医研究所仇华吉课题组研究发现, 参与多种细胞功能的线粒体结合的硫氧还蛋白 2(Thioredoxin 2, Trx2)与 E2 相互作用。Trx2 促进 NF- κ B 的 p65 亚基细胞核转位, 增加 NF- κ B 启动子活性。Trx2 经 NF- κ B 途径抑制 CSFV 复制^[79]。

HIV-1 结构蛋白 Gag 和包被蛋白(envelope protein, Env)之间的比例正确是病毒粒子发挥最大感染力的关键。中国科学院生物物理研究所高光侠课题组研究发现, HIV-1 利用宿主因子 RuvB-like 2 (RVB2)平衡 Gag 和 Env 的相对表达。RVB2 与 Gag 蛋白的基质(Matrix, MA)功能域和正在翻译的 mRNA 的 5' UTR 相互作用, 促进 mRNA 降解, 抑制 Gag 表达。Env 与 MA 竞争性相互作用, 拮抗 RVB2 的抑制活性。HIV-1 阳性患者中, RVB2 水平与病毒载量和疾病进展状态正相关^[80]。中国医学科学院北京协和医院 Yang Wei 课题组研究发现丙型肝炎病毒抑制剂 N-(cyclopropyl(phenyl)methyl)thieno[2,3-d]pyrimidin-4-amine(IB-32)阻遏 STAT3(Signal transducer and activator of transcription 3)的表达^[81]。

RNA 解旋酶(RNA helicase)和分子伴侣(chaperone)是两类 RNA 重塑蛋白质, 负责改变 RNA 结构、RNA-蛋白质相互作用, 参与 RNA 代谢。肠病毒(Enteroviruses)是小 RNA 病毒科(Picornaviridae)的一大类正链 RNA 病毒。武汉大学周溪课题组研究发现, 肠病毒 EV71(Enterovirus 71, EV71)的非结构蛋白 2C (Nonstructural protein 2C, ATPase)具有 RNA 螺旋酶和分子伴侣活性, 在 RNA 复制中发挥作用^[82]。

RIG-I 家族受体识别感染的 RNA 病毒, 激活线粒体接头分子 MAVS, 导致病毒被清除。胰岛素受体酪氨酸激酶底物(Insulin receptor tyrosine kinase substrate, IRTKS)参与肌动蛋白成束和胰岛素信号传递。其缺陷导致胰岛素抵抗和增强对 RNA 病毒免疫。中国科学院生物物理研究所范祖森课题组和上海交通大学韩泽广课题组合作研究发现, IRTKS 介导的阻遏抗病毒反应依赖于 RIG-I-MAVS 信号传递途径。

IRTKS 是过度炎症应答的负调控因子,负责募集 E2 连接酶 Ubc9 到细胞核内被 sumo 修饰的 PCBP2,结合 MAVS 并启动 MAVS 降解,下调抗病毒反应^[83]。中国科学院上海生命科学研究院生物化学与细胞生物学研究所侯法建课题组研究发现,MAVS 不同区域分别负责激活转录因子 IRF3 和 NF-kappa B。IRF3-和 NF-kappa B-刺激区域募集偏好的 TRAFs(TNF receptor-associated factors)进行下游信号传递。静止 MAVS 的这些区域活性受到邻近区域的抑制。MAVS 自抑制,激活抗病毒信号级联放大系统^[84]。

病毒感染激活 IRF3,随后产生 I 型干扰素,并诱导多个抗病毒的干扰素刺激基因(Interferon stimulated genes, ISGs)表达,以清除病毒感染。IRF3 激活需要磷酸化、二聚体化和细胞核转位。山东大学高成江课题组研究发现,IRF3 的终止依赖于 TRIM26 介导的泛素化。病毒感染促进 TRIM26 转入细胞核。TRIM26 结合 IRF3,促进其 K48 多聚泛素化和在细胞核内降解,负调控 IFN- β 的产生^[85]。

中国科学院上海生命科学研究院生物化学与细胞生物学研究所孙兵课题组研究发现,感染树突状(dendritic cells, DCs)细胞的单纯疱疹病毒-1(Herpes simplex virus type 1, HSV-1)诱导 E3 泛素连接酶 TRIM30 α (Tripartite motif protein 30 α)。TRIM30 α 与 STING(Stimulator of interferon genes)相互作用。STING 是感知 DNA 的关键分子。TRIM30 α 过量表达促进 STING 经 Lys275 的 K48 泛素化而被蛋白酶体降解。TRIM30 α 靶向 STING,负调控 DNA 病毒应答^[86]。

干扰素激活基因(Interferon stimulated genes, ISGs)靶向不同复制阶段的病毒,包括病毒进入细胞早期阶段。清华大学 Shu Qian 和美国匹兹堡大学 Carolyn B. Coyne 合作研究发现,ADAP2(ArfGAP with dual pleckstrin homology (PH) domains 2)被 I 型干扰素依赖 STAT1 上调,是 Arf6 的 GTP 酶激活蛋白(GTPase-activating protein, GAP),结合磷脂酰肌醇 3,4,5-三磷酸(phosphatidylinositol 3,4,5-trisphosphate, PI(3,4,5)P-3)和 PI(3,4)P-2。过量表达 ADAP2 依赖 Arf6 GAP 活性,阻遏登革病毒(Dengue virus, DENV)和水疱性口炎病毒(Vesicular stomatitis virus, VSV)感染,但是对柯萨奇病毒 B(Coxsackievirus B, CVB)或仙台病毒

(Sendai virus, SeV)的复制没有影响^[87]。

中国科学院微生物研究所叶健课题组和美国洛克菲勒大学蔡南海实验室合作研究发现,叶型发育干细胞决定因子 AS2(Asymmetric leaves 2)是双生病毒易感基因。AS2 参与了植物细胞质 mRNA decapping 和降解,促进 DCP2 decapping 活性,加速 mRNA 周转,抑制 siRNA 积累,抑制 PTGS 和植物对双生病毒的抗性。植物内源基因转录具有发生 PTGS 的潜在的风险,细胞质 mRNA decapping 途径在真核生物中非常保守,是重要的 RNA 降解途径,具有抑制 PTGS 的功能。而双生病毒在细胞核和细胞浆中穿梭的 BV1 蛋白通过促进 AS2 转录、AS2 核质穿梭和增强 DCP2 decapping 等策略,抑制植物 PTGS 的发生,增强其致病性。这为发展防治双生病毒病害提供了新的靶点^[88]。

人是由人体与共生菌(Commensals)共同组成的超级生物体,肠道共生菌在人体健康中发挥着重要作用。微生物菌群对宿主免疫应答的效应,有利于防止致病菌定殖。宿主免疫应答是否以及如何调控微生物菌群介导的抗定殖效应仍然不清楚。ID2 是天然淋巴细胞(Innate lymphoid cell, ILC)前体发育的必需转录调控因子,在分化的 ILC 中表达仍然很高,但功能未知。清华大学郭晓欢课题组与美国芝加哥大学 Fu Yang-Xin 实验室合作研究发现,条件缺失 ID2 小鼠的分化 ILC3 拮抗鼠柠檬酸杆菌(*Citrobacter rodentium*)肠道定殖的能力受损。利用悉生小鼠发现依赖 ID2 的早期定殖抗性由 IL-22 介导,调控微生物菌群。除了调控发育, ID2 经芳烃受体(Aryl hydrocarbon receptor, AhR)和 IL-23 受体途径维持 ILC3 状态,控制 IL-22 产生。ILC3s 介导免疫监控,随时维持适当的微生物菌群,依赖 ID2 调控 IL-22,有利于早期定殖抗性^[89]。中国科学院生物物理研究所刘志华课题组与和中国人民解放军第三军医大学魏宏课题组合作研究发现,在肠道上皮潘氏细胞特异性高表达多功能蛋白激酶-富亮氨酸重复激酶 2(Leucine-rich repeat kinase, LRRK2)与炎症性肠炎发生相关, LRRK2 通过抑制 T 细胞活化转录因子(Nuclear factor of activated T cells, NFAT)通路调控炎症反应。共生菌的细胞壁组分通过 NOD2-LRRK2-Rab2a 途径调控肠道隐窝潘氏细胞内溶菌酶转运而促进共生。

细菌细胞壁的肽聚糖可以直接调控溶菌酶在致密核心囊泡(Dense core vesicles, DCVs)中的分拣以促进共生。Nod2(细胞浆内感受致病菌的受体)、Lrrk2、Rab2a 或肠道菌的缺失(无菌小鼠)均导致了溶菌酶被异常降解,而不能正常分泌到肠腔中,进而导致基因缺陷小鼠不能有效控制肠道感染。该研究不但为炎症性肠炎相关疾病的治疗提供了新的潜在靶点,为增强肠道屏障功能发现了新策略,而且在分子水平揭示了潘氏细胞独特生理功能的细胞生物学基础^[90]。

细菌效应分子与宿主相互作用及其分子机理是微生物-宿主领域的亮点之一。北京生命科学研究所邵峰团队等研究发现,细菌脂多糖诱导炎症 caspase 切割 gasdermin D (Gsdmd),改变炎症体介导的细胞 pyroptosis 和程序性坏死(Programmed necrosis)^[91] 庚糖基转移酶家族(Heptosyltransferase, BAHT)在细菌与宿主相互作用中的功能^[92]。

中国科学院遗传与发育生物学研究所周俭民研究组与法国科学家合作研究发现,来自野油菜黄单胞菌(*Xanthomonas campestris*)的效应蛋白 AvrAC 能够对其靶标蛋白 BIK1 进行 UMP 修饰从而抑制了细胞表面受体介导的天然免疫信号转导,建立了植物识别效应蛋白 AvrAC 的一个完整的信号通路,并揭示了植物 NLR 蛋白依赖于支架蛋白间接识别效应蛋白的免疫新机制^[93]。

生物素执行生理功能需要生物素蛋白连接酶(Biotin protein ligase)将辅酶与相应的蛋白质结合。浙江大学医学院冯友军与美国科学家合作研究发现,胞内致病菌 *Francisella novicida* 有两个生物素蛋白连接酶,而不是一个。类似于 *E. coli* BirA, *F. novicida* 的 BirA 具有连接酶功能域以及 N-端 DNA 结合调控功能域。第二个为 BplA,缺乏 N-端 DNA 结合基序。BirA 可以调控生物素合成的操纵子的转录,但 BplA 不能。*bplA* 而非 *birA* 在 *F. novicida* 感染巨噬细胞时表达增加^[94]。

迟钝爱德华菌(*Edwardsiella tarda*)的 III 型分泌系统将效应蛋白分子转入宿主,在感染中发挥重要作用。中国科学院水生生物研究所 Xie Haixia 和刘家寿课题组研究发现 EseB 是效应蛋白分子转位所需,介导 *E. tarda* 的自我聚集。EseB 在 *E. tarda* 表面形成丝状结构,是生物膜形成所需。*E. tarda* 形成

生物膜不需要鞭毛组装的基本组分 FlhB^[95]。

肠道致病菌(Enteropathogen)假结核耶尔森氏菌(*Yersinia pseudotuberculosis*)III 型分泌系统(Type III secretion system, T3SS)Ysc-Yop 编码的毒力质粒受 Rcs 磷酸信号中继系统调控。中国科学院武汉病毒研究所陈士云课题组研究发现,RcsB 是第一个直接控制 *lcrF* 转录的激活因子^[96]。

VI 型分泌系统(Type VI secretion system, T6SS)与致病菌毒力有关,一般需要接触宿主细胞。中国疾病预防控制中心徐建国课题组研究发现弗氏柠檬酸杆菌(*Citrobacter freundii*)缺失 T6SS GI 后,影响 84 个基因的转录。其中 15 个上调,69 个下调。下调的鞭毛合成相关基因较多,如 *FliC*^[97]。

3.3 微生物耐药、新发病原和环境微生物相关的组学研究

抗生素耐药性已成为备受关注的全球性重大医学难题之一。在该研究领域,应对以耐碳青霉烯类(Carbapenem)抗生素为代表的多重耐药菌的挑战已刻不容缓。肺炎克雷伯菌(*Klebsiella pneumoniae*)是院内感染的主要多重耐药条件致病菌之一。上海交通大学微生物代谢国家重点实验室欧竑宇课题组分析了耐碳青霉烯类抗生素具有抗性的、属于中国流行克隆群(ST11 型)的肺炎克雷伯菌 HS11286 基因组,从中发现了 6 个质粒、2 个整合子(Integron)和 7 个原噬菌体等复杂的可移动遗传元件,发现转座子(Transposon)Tn3、Tn1721 和 Tn5393 以及插入序列(Insertion sequences, ISs)IS26 等元件对 *bla*KPC-2 等 20 多个重要耐药基因的水平转移有重要贡献^[98]。

嗜麦芽寡养单胞菌(*Stenotrophomonas maltophilia*)是人和动物的条件致病菌,可能是农场中的抗生素耐药基因的主要来源。中国农业大学沈建忠研究团队利用全基因组测序寻找氟甲砜霉素(flurfenicol)抗性新基因,发现在多耐药基因组岛(Genomic island, GI)上有 *floRv*(氯霉素抗性)、*tetR-tetA*(四环素抗性)、*strA/strB*(链霉素抗性)、*sulI*(磺胺抗性)和 *aadA2*(链霉素/壮观霉素抗性)等 6 个抗性基因^[99]。此外,中国科学院微生物研究所钱韦课题组和北京理工大学张奇课题组合作,通过转座子突变库筛选、遗传和生化研究发现,*S. maltophilia* 孤儿应答调控因子

FsnR 通过结合至少两个鞭毛相关的操纵子,激活其转录,控制鞭毛组装、细胞运动以及生物膜的形成^[100]。

鲍曼不动杆菌(*Acinetobacter baumannii*)是全球性的医院内感染的致病菌,其耐药性也非常严重。北京大学人民医院的王辉与中国科学院微生物研究所的朱宝利等合作分析了 35 株临床分离的鲍曼不动杆菌,其中 32 株显示对碳青霉烯耐药,从中找到 10 类 AbaR 耐药岛。其中,抗性基因、表面多糖、限制修饰系统等具有明显的多样化。VI 型分泌系统、csuE 区域、核心脂寡糖位点等具有插入序列介导的缺失,重组发生在血红素利用区、固有耐药基因如 *blaADC* 和 *blaOXA-51*-样变异子,发现了 3 个新的 *blaOXA-51*-样变异子 *blaOXA-424*、*blaOXA-425* 和 *blaOXA-426*^[101]。

结核病仍然是全球公共卫生的重大威胁。结核分枝杆菌北京家族(*Mycobacterium tuberculosis* Beijing family)是东南亚的优势菌株,与结核病爆发和耐药有关,约为全球 1/4 结核菌感染者的致病菌。复旦大学高谦和中国疾病预防控制中心万康林联合国内外多家单位,通过对 358 株临床分离菌的基因组测序,进行种系发生地理学和溯祖分析,发现该家族株系具有遗传多样性。大约 3 万年前,该株系随着人类迁徙到东南亚而定殖。在新石器时代,在华北大量增殖。该菌株的毒力增加,可能与适应农耕生活方式有关^[102]。

节肢动物具有多样性的病毒,是重要的病毒传播媒介和病毒库,在病毒起源和进化中发挥重要作用。中国疾病预防控制中心传染病预防控制研究所张永振课题组联合武汉市疾病预防控制中心、温州市疾病预防控制中心、澳大利亚悉尼大学等国内外多家单位共同合作,在我国的湖北、浙江、新疆等地采集了 4 个纲(昆虫纲、蛛形纲、唇足纲、软甲亚纲)的 70 种节肢动物,进行宏转录组测序,发现了 112 种从未报道过的全新病毒,其中包括 arenaviruses、filoviruses、hantaviruses、influenza viruses、lyssaviruses 和 paramyxoviruses,并命名了一个全新病毒科(楚病毒科)^[103]。

感染蓝细菌的肌病毒(Myoviruses)和足病毒(Podoviruses)是两大类海洋噬藻体(Cyanophage)。中国科学院南海海洋研究所的 Huang Sijun 与马里兰

大学环境科学中心的 Cheng Feng 合作将 28 cyanomyoviruses 分成 4 类(I 到 IV) 20 个 cyanopodoviruses 中的 19 个分成两簇:MPP-A 和 MPP-B, MPP-B 中含 4 个亚簇,揭示了不同生境中的种系发生特征^[104]。

3.4 致病菌防控新措施研发

微生物遗传学研究的重要领域之一是传染病防治。军事医学科学院微生物流行病学研究所秦成峰和中国科学院微生物研究所高福联合美国和韩国的科学家,从 2009 甲流 H1N1 恢复患者分离获得了高效广谱保护性单克隆抗体^[105]。中国医学科学院病原生物学研究所金奇、北京协和医院秦川和北京市疾病预防控制中心邓英等课题组从感染 H7N9 恢复的患者外周血建立的 Fab 抗体噬菌体库,筛选获得了中和禽流感病毒 H7N9 的人单克隆抗体 HNIgGA6 和 HNIgGB5。受体结合部位的两个氨基酸 186V 和 226L 是这两个抗体结合病毒血凝素抗原的关键^[106]。香港大学 Benjamin J. Cowling 课题组研究发现,24 h 内进行抗病毒药奥司他韦(Oseltamivir)治疗可以缩短流感病毒感染自述症状报告时间^[107]。中国医学科学院病原生物学研究所何玉先课题组研究发现,来自 HIV gp41 C-端七肽重复(C-terminal hepta repeats, CHR)的 36 肽 T20(Enfuvirtide)虽然是临床上唯一的 HIV-1 融合抑制剂,但也容易诱导产生抗性。M-T 钩状结构可以用来设计短的 23 肽,特异性靶向保守的 gp41 口袋^[108]。在新疫苗设计方面,中国疾病预防控制中心邵一鸣课题组以能够复制的天坛株痘苗(Replication-competent tiantan vaccinia virus, rTV)作为载体,设计了含有 CRF07_BC HIV-1 CN54 的 *nef*、*gag*、*pol* 和 *gp140* 等基因的疫苗,在恒河猴(Simian/human immunodeficiency virus, SHIV)-CN9-7001 攻击中具有保护效果^[109]。

军事医学科学院微生物流行病学研究所曹务春课题组研究发现,嗜吞噬细胞无形体(*Anaplasma phagocytophilum*)、绵羊无形体(*Anaplasma ovis*)以及感染山羊的新无形体等蜱传致病菌(Tick-borne pathogen)是华北旅行时需要注意的^[110]。

代谢物控制抗生素耐药的分子遗传机理是目前研究的热点之一。中山大学彭宣宪课题组通过代谢组学研究发现,耐药迟钝爱德华菌(*Edwardsiella ta-*

rd)的丙氨酸和葡萄糖丰度较低。外源添加丙氨酸/葡萄糖和卡那霉素可以杀死耐药细菌。原因可能是激活底物,促进 TCA 循环,增加 NADH 和质子动力势产生,刺激对抗生素的摄取。这个效应在 *Vibrio parahaemolyticus*、*Klebsiella pneumoniae*、*Pseudomonas aeruginosa* 和革兰氏阳性 *Staphylococcus aureus* 中也存在,在小鼠尿道感染模型中也可以重复^[111]。中国医学科学院医药生物技术研究所司书毅课题组研究发现,化合物 IMB-T130 能够通过抑制酪氨酰-tRNA 合成酶(TyrRS, MtTyrRS)抑制结核菌^[112]。

植物负链 RNA 病毒(Negative-strand RNA, NSR)包括多种在作物生产上造成严重危害的病毒,如水稻条纹病毒是我国水稻上的重要病害之一,番茄斑萎病毒在世界范围内引起多种作物的毁灭性病害。浙江大学李正和课题组以植物负链弹状病毒(Rhabdovirus)——苦苣菜黄网弹状病毒(*Sonchus yellow net rhabdovirus*, SYNVR)为模式,建立了 SYNVR 病毒全长 cDNA 侵染性克隆技术,获得了与野生型病毒具有同等侵染活性的重组病毒,适合作为病毒载体表达外源基因。并利用反向遗传学方法解析了包膜病毒胞间运动、系统运动和粒子形态建成等过程^[113]。这为防治该类病毒疾病奠定了基础。

4 微生物多样性与环境微生物遗传学

4.1 微生物的遗传多样性

研究群体结构、重组和生态对微生物群体的影响,有助于理解微生物进化和物种形成。链霉菌是一大类 G^+ 细菌,在自然界广泛分布,是生物活性物质的重要来源。但是,其群体遗传学研究较少。中国科学院微生物研究所黄英团队基于 5 个基因的多位点序列分析(Multilocus sequence analysis, MLSA)分析来自昆虫、海洋和土壤等不同样品的 41 株 *Streptomyces albidoflavus*,发现生态环境和同源重组在链霉菌进化中发挥着重要作用^[114]。

在蛋白质多样性方面,山东大学马翠卿课题组在施氏假单胞菌(*Pseudomonas stutzeri*) A1501 中发现了新的乳酸脱氢酶,该酶是 3 个亚基(LldA, LldB 和 LldC)的二聚体。不同于研究较为透彻的大量含有 FMN 的乳酸脱氢酶,该酶利用铁硫簇作为辅因子,

而且底物范围较窄^[115]。也可以人工筛选获得多样性的酶,用于生产。电子科技大学汤丽霞课题组研究发现,放射形土壤杆菌(*Agrobacterium radiobacter*)AD1 的卤代醇脱卤酶(Halohydrin dehalogenase)HheC 可望用来产生手性环氧化物(Chiral epoxide)和 α -取代醇类。野生型酶对大多数芳香底物的 R-对映体偏好性强,未见 S-对映体选择性 HheC。反复饱和突变 7 个非催化活性位点,筛选具有活性和对映体选择性(Enantio-selectivity)的突变体,获得了对映体选择性改变了的 Thr134Val/Leu142Met、Leu142Phe/Asn176His 和 Pro84Val/Phe86Pro/Thr134-Ala/Asn176Ala3 个突变体^[116]。

龙胆酸(Gentisate)途径的马来丙酮酸(Maleylpyruvate)异构化比较清楚。上海交通大学周宁一课题组研究发现,产碱假单胞菌(*Pseudomonas alcaligenes*)NCIMB 9867 的 D-苹果酸脱氢酶(D-malate dehydrogenase, MDH)可以直接水解龙胆酸。缺失该酶的天然突变菌株可以从马来酸高产 D-苹果酸^[117]。江南大学陈坚和堵国成课题组研究发现,在产丙酸的詹氏丙酸杆菌(*Propionibacterium jensenii*)中高表达甘油脱氢酶(Glycerol dehydrogenase, GDH)、苹果酸脱氢酶和延胡索酸脱水酶(Fumarate hydratase, FUM),可以提高丙酸的产量^[118]。

四氢甲基嘧啶羧酸(Ectoine)和羟基四氢甲基嘧啶羧酸(Hydroxyectoine)是细菌处理环境渗透压胁迫和温度损伤的主要物质。合成这两种物质的基因在微生物中普遍存在。高盐和温度变化启动这些基因的表达。中国科学院上海植物生理生态研究所赵国屏课题组研究发现,放线菌中负责氮代谢的全局调控因子 GlnR 负调控天蓝色链霉菌的四氢甲基嘧啶羧酸/羟基四氢甲基嘧啶羧酸生物合成基因簇,以维持胞内关键的谷氨酸浓度水平^[119]。

Shewanella oneidensis 是研究环境和应用的重要菌株。浙江大学高海春课题组研究发现 *Shewanella oneidensis* 利用 OxyR 去阻遏负责清除过氧化氢的酶 KatB 的表达,介导对过氧化氢等活性氧的应答^[120]。

甲硫氨酸氧化形成甲硫亚砜(Methionine sulfoxide, MetO) S 和 R 对映体。两类结构上不相关的甲硫亚砜还原酶(Methionine sulfoxide reductase, Msr)MsrA 和 MsrB 可以逆转上述反应。谷氨酸棒杆菌(*Co-*

rynebacterium glutamicum)的甲硫亚砷还原酶 A(Cg-MsrA)属于 3-Cys 家族 MsrAs,在氧化胁迫耐受中发挥重要作用。西北农林科技大学沈锡辉课题组研究发现 CgMsrA 经硫氧还蛋白/硫氧还蛋白还原酶(Thioredoxin/thioredoxin reductase, Trx/TrxR)和分枝杆菌硫氧还蛋白/分枝杆菌硫酮/分枝杆菌硫醇(Myco-redoxin 1/mycothione reductase/mycothiol, Mrx1/Mtr/MSH)途径还原 MetO^[121]。

表皮葡萄球菌(*Staphylococcus epidermidis*)是凝固酶阴性葡萄球菌中的一种,可以导致肺炎、菌血症合并心内膜炎、骨髓炎、化脓性关节炎。复旦大学医学院瞿涤课题组研究发现表皮葡萄球菌 1457 菌株(SE1457)从好氧到微氧状态生长时,上调 SrrAB 表达。该基因调控细菌生长和生物膜形成^[122]。肠出血性大肠杆菌(Enterohemorrhagic *E. coli*, EHEC)是重要的人类胃肠道病原体。生物素是所有生物中羧化酶和脱羧酶的重要辅助因子。微生物可通过从头合成或吸收来获得这一辅因子。人类只能从小肠吸收外源生物素,因而小肠中的生物素水平要高于大肠。南开大学王磊课题组研究发现大肠杆菌生物素合成与生物素供应/需求相关。其中,生物素蛋白连接酶 BirA 的表达受到严格调控。BirA 通过 Fur 发挥作用,控制了 LEE 基因的表达和细菌粘附力^[123]。

猪链球菌病是由多种致病性猪链球菌感染引起的一种人畜共患病。中国疾病预防控制中心徐建国课题组研究发现,猪链球菌的 8 个荚膜多糖合成基因(Capsular polysaccharide, CPS)^[124]构成一个基因簇。第三军医大学胡福泉和李明课题组研究发现,猪链球菌毒力岛(*Streptococcus suis* pathogenicity island, SsPI-1)上的毒素-抗毒素系统(Epsilon/Zeta toxin-antitoxin system, SezAT)促进 SsPI-1 在细胞分裂时稳定遗传,维持在细菌群体中的稳定,在致病菌毒力进化中发挥作用^[125]。高致病性猪链球菌感染导致坏死性休克,产生大量炎症细胞因子,死亡率高。华中农业大学张安定课题组研究发现,猪链球菌感染提高猪脾细胞的 TREM-1 (Triggering receptor expressed on myeloid cells 1)水平, TREM-1 信号传递促进炎症应答,激活嗜中性粒细胞,清除猪链球菌^[126]。

铜绿假单胞菌 AlgR 是调控多个毒力因子表达

的关键转录因子,包括 IV 型纤毛、海藻酸盐。西北大学梁海华和南开大学邓新课题组利用 ChIP-seq 发现 157 个位点受其调控,其中 *mucR* 编码合成胞内第二信使环二鸟苷酸(Cyclic diguanylate, c-di-GMP)的酶。AlgR 的传感分子 FimS/AlgZ 也在铜绿假单胞菌毒力中发挥作用^[127]。

放线菌摄取和利用多种碳源的机理日益得到阐明。GlnR 是氮代谢的核心调控因子,控制放线菌中非磷酸转移酶系统(non-Phosphotransferase-system, non-PTS)碳源的运输。华东理工大学叶邦策课题组研究发现, GlnR 与大多数碳水化合物 ATP 结合盒转运蛋白(一共 20 个中的 13 个)的启动子相互作用,激活产红霉素的红色糖多孢菌(*Saccharopolyspora erythraea*)中上述碳源利用基因的表达^[128]。β-变形菌 *Laribacter hongkongensis* 是新发致病菌,导致肠胃炎和腹泻。香港大学 Susanna K. P. Lau 和 Patrick C. Y. Woo 课题组研究发现精氨酸促进 *Laribacter hongkongensis* 的 *arcA2* 但阻遏 *arcA1* 表达。ArgR 结合 ARG 操纵基因位点(ARG boxes),调控两个 *arc* 操纵子^[129]。这为认识该致病菌的致病机理提供了基础。

在明确分子机理的基础上,构建多基因缺失的突变菌株更适合用来研究纳米材料的毒性。中国科学院水生生物研究所方涛课题组比较氧化铜纳米材料(CuO nanoparticles, CuO-NPs)对酿酒酵母菌株(野生型、单基因缺失株、多基因缺失株)的毒性发现,多基因缺失菌株较野生型更敏感。如果是氧胁迫调控的基因缺失,菌株在纳米材料处理时更容易产生活性氧,更适合作为毒理评价的工具微生物^[130]。

中国科学院合肥物质科学研究院技术生物与农业工程研究所陈少鹏和吴李君课题组利用带有绿色荧光蛋白的报告载体,以砷诱导型启动子为起始材料,利用易错 PCR 和 DNA 重组技术获得启动子突变文库。通过基于流式细胞仪的荧光激活细胞分选(FACS)筛选手段,定向进化得到灵敏、专一、高效的砷诱导型启动子,构建了一种新型、简便、廉价的环境砷检测的细菌生物传感器^[131]。

动物饲料中的含砷促生长物质导致有机粪便中砷含量高。利用遗传工程改造的微生物可以生物修复堆肥制作过程中含砷的有机废物。*Bacillus subtilis* 168 可以在高温下生长,但不能甲基化和挥发砷。南

京农业大学赵方杰课题组将嗜热红藻 *Cyanidioscyzon merolae* 的亚砷酸 S-腺苷甲硫氨酸甲基转移酶 (S-adenosylmethionine methyltransferase, CmarsM) 基因导入枯草芽孢杆菌, 工程菌可以将多数无机砷转化为二甲基砷酸和甲胂氧化物 (Trimethylarsine oxide)^[132]。

4.2 微生物的群体遗传学在环境微生物领域发挥了重要作用

木质素 (Lignin) 是一种广泛存在于植物体中的无定形的、分子结构中含有氧代苯丙醇或其衍生物结构单元的芳香性高聚物, 来源广泛, 是世界上除纤维素外第二丰富的有机物, 极具应用价值。分解木质素或者纤维素的微生物及其酶是利用木质素或者纤维素的关键。纤维小体是多亚基的纤维素酶构成的蛋白质分子机器, 能够高效降解木质纤维素, 生产乙醇。中国科学院微生物研究所黄力课题组和中国科学院北京基因组研究所胡松年课题组合作, 通过宏转录组分析发现, *Ruminococcus*, *Fibrobacter* 和 *Prevotella* 是奶牛瘤胃中植物细胞壁多糖 (Plant cell wall polysaccharides, PCWPs) 的主要降解者, 其中 GH48 纤维二糖水解酶 (Cellobiohydrolase) 和纤维素体样 (Cellulosome-like) 结构在 PCWP 降解中发挥重要作用^[133]。

木质纤维素的高效降解是纤维素基液体燃料与沼气等清洁能源产业的关键瓶颈之一, 也是生物圈碳循环和生态平衡的重要环节。“纤维小体” (Cellulosome) 是纤维素酶的复合体, 可由多达几十个功能上协同的亚基组成, 是自然界中降解纤维素最快的蛋白质分子机器。蛋白质亚基之间特定的化学计量比例 (Stoichiometry) 对于高效降解纤维素至关重要。但细胞编码、识别和控制这一特定的化学计量比例的机理不清楚。中国科学院青岛生物能源与过程所徐健课题组以解纤维梭菌 (*Clostridium cellulolyticum*) 为模式菌, 分析转录起始位点 (Transcriptional start sites, TSs) 和转录后加工位点 (Post-transcriptional processed sites, PSs), 发现 PS 相关基因主要是异多聚体蛋白质复合体, 基因间 PS (Intergenic PSs, iPSs) 富集在高丰度转录物的操纵子, 全基因组水平 RNA 编码的策略是通过 RNA 的选择性加工和稳定 (Selective RNA processing and stabilization, SRPS) 而

控制体内蛋白质复合体剂量关系^[134]。包含 12 个基因的纤维小体基因簇 *cip-cel* 构成同一个转录单位 (操纵子)。其转录本的丰度比例为 100:110:9:8:38:5:4:2:3:2:3:5, 且与蛋白质丰度比例成正相关。这些基因的间隔区具有至少 5 个核糖核酸内切酶的切割位点, 导致 *cip-cel* 操纵子初始转录的多顺反子 mRNA 被剪切成至少 6 个 RNA 片段。这些 RNA 片段 3' 端的茎环结构的二级结构差异导致相应 RNA 片段的稳定性各异, 从而形成了纤维小体特定的化学计量比例。这些茎环结构在相关细菌的纤维小体基因簇中既有一定保守性, 也具有物种特异性。该研究揭示了活体细胞中纤维小体化学计量比例由基因间 DNA 序列通过茎环结构的折叠能量精确编码, 并通过核糖核酸酶对 RNA 上酶切位点的特异性识别、剪切和选择性保护, 精确控制纤维小体各亚基的比例。

4.3 肠道微生物研究引发微生物组学的革命

肠道微生物是近年来生命科学研究领域的热点之一。中国医学科学院北京协和医院张焯与深圳华大基因研究院王俊、李英睿研究团队联合研究发现, 口腔和肠道微生物菌群异常是类风湿关节炎 (Rheumatoid arthritis, RA) 病理生理和疾病控制的重要环节, 为宏基因组学辅助 RA 个性化诊疗方案提供基础。该研究团队收集了未经 DMARDs 治疗 RA 患者的牙菌斑、唾液和粪便样本, 以健康人群 (包括直系亲属和共同生活无血缘关系亲属) 作为对照, 采用宏基因组鸟枪法测序技术检测微生物组 DNA, 并对 DMARDs 治疗前后 RA 患者的口腔和肠道微生物菌群的变化进行了宏基因组关联分析 (Metagenome-wide association study, MGWAS) 的对比研究。嗜血杆菌 (*Haemophilus* spp.) 在 RA 患者中的丰度相对较低, 并且其丰度与 RA 自身免疫抗体的滴度成反比。而唾液乳杆菌 (*Lactobacillus salivarius*) 在 RA 患者的牙菌斑、唾液和粪便中均显著富集, 在病情高度活动患者中尤为明显。口腔与肠道菌群功能具有一致性。RA 患者的口腔与肠道菌群 (Microbiota), 在氧化还原条件, 铁、硫、锌和精氨酸的转运和代谢, 以及 RA 相关抗原如瓜氨酸环化的分子拟态 (Molecular mimicry) 等方面明显异常, 提示这种菌群异常在 RA 的病理生理机制中具有重要的作用, 可能直接参与疾

病发生。口腔与肠道微生物菌群宏基因组学还有助于区分不同疾病病程、帮助判断不同 DMARDs 疗效, 有利于对 RA 患者进行疾病分层和药物疗效预警 (Prognosis)^[135]。

参考文献(References):

- [1] Yan C, Hang J, Wan R, Huang M, Wong CC, Shi Y. Structure of a yeast spliceosome at 3.6-angstrom resolution. *Science*, 2015, 349: 1182–1191.
- [2] Hang J, Wan RX, Yan CY, Shi YG. Structural basis of pre-mRNA splicing. *Science*, 2015, 349: 1191–1198.
- [3] Li NN, Zhai YL, Zhang YX, Li WQ, Yang MJ, Lei JL, Tye BK, Gao N. Structure of the eukaryotic MCM complex at 3.8 Å. *Nature*, 2015, 524: 186–191.
- [4] Liu HR, Cheng LP. Cryo-EM shows the polymerase structures and a nonspooled genome within a dsRNA virus. *Science*, 2015, 349: 1347–1350.
- [5] Chang SH, Sun DP, Liang HH, Wang J, Li J, Guo L, Wang XL, Guan CC, Boruah BM, Yuan LM, Feng F, Yang MR, Wang LL, Wang Y, Wojdyla J, Li LJ, Wang JW, Wang MT, Cheng GH, Wang HW, Liu YF. Cryo-EM structure of influenza virus RNA polymerase complex at 4.3 Å resolution. *Mol Cell*, 2015, 57: 925–935.
- [6] Ma YY, Wu LJ, Shaw N, Gao Y, Wang J, Sun YN, Lou ZY, Yan LM, Zhang RG, Rao ZH. Structural basis and functional analysis of the SARS coronavirus nsp14-nsp10 complex. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2015, 112: 9436–9441.
- [7] Zhang X, Ding K, Yu XK, Chang W, Sun JC, Zhou ZH. In situ structures of the segmented genome and RNA polymerase complex inside a dsRNA virus. *Nature*, 2015, 527: 531–534.
- [8] Wang JY, Li JZ, Zhao HT, Sheng G, Wang M, Yin ML, Wang YL. Structural and mechanistic basis of PAM-dependent spacer acquisition in CRISPR-cas systems. *Cell*, 2015, 163: 840–853.
- [9] Ding PF, McFarland KA, Jin SJ, Tong G, Duan B, Yang A, Hughes TR, Liu J, Dove SL, Navarre WW, Xia B. A novel AT-rich DNA recognition mechanism for bacterial xenogeneic silencer MvaT. *PLoS Pathog*, 2015, 11: e1004967.
- [10] Jiang WJ, Zhao XJ, Gabrieli T, Lou CB, Ebenstein Y, Zhu TF. Cas9-Assisted Targeting of CHromosome segments CATCH enables one-step targeted cloning of large gene clusters. *Nat Commun*, 2015, 6: 8101.
- [11] Jiang Y, Chen B, Duan CL, Sun BB, Yang JJ, Yang S. Multigene editing in the *Escherichia coli* genome via the CRISPR-Cas9 system. *Appl Environ Microbiol*, 2015, 81: 2506–2514.
- [12] Zhao QF, Wang M, Xu DX, Zhang QL, Liu W. Metabolic coupling of two small-molecule thiols programs the biosynthesis of lincomycin A. *Nature*, 2015, 518: 115–119.
- [13] Tian ZH, Sun P, Yan Y, Wu ZH, Zheng QF, Zhou SX, Zhang H, Yu FT, Jia XY, Chen DD, Mándi A, Kurtán T, Liu W. An enzymatic [4+2] cyclization cascade creates the pentacyclic core of pyrroindomycins. *Nat Chem Biol*, 2015, 11: 259–265.
- [14] Yan WP, Song H, Song FH, Guo YS, Wu CH, Sae Her A, Pu Y, Wang S, Naowarajina N, Weitz A, Hendrich MP, Costello CE, Zhang LX, Liu PH, Zhang YJ. Endoperoxide formation by an α -ketoglutarate-dependent mononuclear non-haem iron enzyme. *Nature*, 2015, 527: 539–543.
- [15] Yang HB, Wu ZF, Liu JF, Liu XQ, Wang L, Cai SF, Xiang H. Activation of a dormant replication origin is essential for *Haloferax mediterranei* lacking the primary origins. *Nat Commun*, 2015, 6: 8321.
- [16] Lang SW, Huang L. The *Sulfolobus solfataricus* GINS complex stimulates DNA binding and processive DNA unwinding by minichromosome maintenance helicase. *J Bacteriol*, 2015, 197: 3409–3420.
- [17] Chen C, Zhang X, Shang F, Sun HP, Sun BL, Xue T. The *Staphylococcus aureus* protein-coding gene *gdpS* modulates *sarS* expression via mRNA-mRNA interaction. *Infect Immun*, 2015, 83: 3302–3310.
- [18] Chen HY, Shiroguchi K, Ge H, Xie XS. Genome-wide study of mRNA degradation and transcript elongation in *Escherichia coli*. *Mol Syst Biol*, 2015, 11: 781.
- [19] Shi J, Jin YX, Bian T, Li KW, Sun ZY, Cheng ZH, Jin SG, Wu WH. SuhB is a novel ribosome associated protein that regulates expression of MexXY by modulating ribosome stalling in *Pseudomonas aeruginosa*. *Mol Microbiol*, 2015, 98: 370–383.
- [20] Guo MY, Wang HY, Xie NB, Xie ZX. Positive effect of carbon sources on natural transformation in *Escherichia coli*: Role of Low-Level Cyclic AMP (cAMP)-cAMP receptor protein in the derepression of *rpoS*. *J Bacteriol*, 2015, 197: 3317–3328.
- [21] Wang HQ, Zhang ZL, Zhang L, Zhang QX, Zhang L, Zhao YM, Wang WB, Fan YL, Wang L. A novel protein, Rsf1/Pxd1, is critical for the single-strand annealing pathway of double-strand break repair in *Schizosaccharomyces pombe*. *Mol Microbiol*, 2015, 96: 1211–1225.

- [22] Liu XL, Wang X, Yang XJ, Liu S, Jiang LL, Qu YM, Hu LF, Ouyang Q, Tang C. Reliable cell cycle commitment in budding yeast is ensured by signal integration. *eLife*, 2015, 4: e03977.
- [23] Peng J, He MH, Duan YM, Liu YT, Zhou JQ. Inhibition of telomere recombination by inactivation of KEOPS subunit Cgi121 promotes cell longevity. *PLoS Genet*, 2015, 11: e1005071.
- [24] Zhong JY, Xiao CL, Gu W, Du GF, Sun XS, He QY, Zhang G. Transfer RNAs mediate the rapid adaptation of *Escherichia coli* to oxidative stress. *PLoS Genet*, 2015, 11: e1005302.
- [25] Yue Q, Chen L, Li Y, Bills GF, Zhang XY, Xiang MC, Li SJ, Che YS, Wang CS, Niu XM, An ZQ, Liu XZ. Functional operons in secondary metabolic gene clusters in *Glarea lozoyensis* (Fungi, Ascomycota, Leotiomycetes). *mBio*, 2015, 6: e00703.
- [26] Li A, Zhao HZ, Lai QY, Huang ZH, Yuan MJ, Yang K. Posttranslational modifications of baculovirus protamine-like protein P6.9 and the significance of its hyperphosphorylation for viral very late gene hyperexpression. *J Virol*, 2015, 89: 7646–7659.
- [27] Cheng QX, Cao B, Yao F, Li JL, Deng ZX, You DL. Regulation of DNA phosphorothioate modifications by the transcriptional regulator DptB in *Salmonella*. *Mol Microbiol*, 2015, 97: 1186–1194.
- [28] Li W, Zhang T, Ding J. Molecular basis for the substrate specificity and catalytic mechanism of thymine-7-hydroxylase in fungi. *Nucleic Acids Res*, 2015, 43: 10026–10038.
- [29] Li XF, Cai Q, Mei H, Zhou XW, Shen YN, Li DM, Liu WD. The Rpd3/Hda1 family of histone deacetylases regulates azole resistance in *Candida albicans*. *J Antimicrob Chemother*, 2015, 70: 1993–2003.
- [30] Cao SS, Wu MM, Xu SH, Yan XW, Mao XH. Identification of a putative flavin adenine dinucleotide-binding monooxygenase as a regulator for *Myxococcus xanthus* development. *J Bacteriol*, 2015, 197: 1185–1196.
- [31] Deng C, Slamti L, Raymond B, Liu GM, Lemy C, Gominet M, Yang JN, Wang HL, Peng Q, Zhang J, Lereclus D, Song FP. Division of labour and terminal differentiation in a novel *Bacillus thuringiensis* strain. *ISME J*, 2015, 9: 286–296.
- [32] Gao T, Shi MM, Ju LL, Gao HC. Investigation into FlhFG reveals distinct features of FlhF in regulating flagellum polarity in *Shewanella oneidensis*. *Mol Microbiol*, 2015, 98: 571–585.
- [33] Chen Y, Gozzi K, Yan F, Chai YR. Acetic acid acts as a volatile signal to stimulate bacterial biofilm formation. *mBio*, 2015, 6: e00392.
- [34] Yang NN, Ding ST, Chen FF, Zhang X, Xia YJ, Di HX, Cao Q, Deng X, Wu M, Wong CCL, Tian XX, Yang CG, Zhao J, Lan LF. The Crc protein participates in down-regulation of the Lon gene to promote rhamnolipid production and *rhl* quorum sensing in *Pseudomonas aeruginosa*. *Mol Microbiol*, 2015, 96: 526–547.
- [35] Tong YG, Shi WF, Liu D, Qian J, Liang L, Bo XC, Liu J, Ren HG, Fan H, Ni M, Sun Y, Jin Y, Teng Y, Li Z, Kargbo D, Dafee F, Kanu A, Chen CC, Lan ZH, Jiang H, Luo Y, Lu HJ, Zhang XG, Yang F, Hu Y, Cao YX, Deng YQ, Su HX, Sun Y, Liu WS, Wang Z, Wang CY, Bu ZY, Guo ZD, Zhang LB, Nie WM, Bai CQ, Sun CH, An XP, Xu PS, Zhang XLL, Huang Y, Mi ZQ, Yu D, Yao HW, Feng Y, Xia ZP, Zheng XX, Yang ST, Lu B, Jiang JF, Kargbo B, He FC, Gao GF, Cao WC. Genetic diversity and evolutionary dynamics of Ebola virus in Sierra Leone. *Nature*, 2015, 524: 93–96.
- [36] Wang YQ, Liu D, Shi WF, Lu RJ, Wang WL, Zhao YJ, Deng Y, Zhou WM, Ren HG, Wu J, Wang Y, Wu GZ, Gao GF, Tan WJ. Origin and possible genetic recombination of the middle east respiratory syndrome coronavirus from the first imported case in China: phylogenetics and coalescence analysis. *mBio*, 2015, 6: e01280-15.
- [37] Bai CX, Zhang Y, Zhao XJ, Hu YL, Xiang SH, Miao J, Lou CB, Zhang LX. Exploiting a precise design of universal synthetic modular regulatory elements to unlock the microbial natural products in *Streptomyces*. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2015, 112: 12181–12186.
- [38] Lin BX, Fan KQ, Zhao J, Ji JJ, Wu LJ, Yang KQ, Tao Y. Reconstitution of TCA cycle with DAOCS to engineer *Escherichia coli* into an efficient whole cell catalyst of penicillin G. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2015, 112: 9855–9859.
- [39] Cui L, Zhu Y, Guan XQ, Deng ZX, Bai LQ, Feng Y. *De novo* biosynthesis of β -valienamine in engineered *Streptomyces hygroscopicus* 5008. *ACS Synth Biol*, 2016, 5: 15–20.
- [40] Wang JF, Li SY, Xiong ZQ, Wang Y. Pathway mining-based integration of critical enzyme parts for *de novo* biosynthesis of steviolglycosides sweetener in *Escherichia coli*. *Cell Res*, 2016, 26: 258–261.
- [41] Cai SF, Cai L, Zhao DH, Liu GM, Han J, Zhou J, Xiang

- H. A novel DNA-binding protein, PhaR, plays a central role in the regulation of polyhydroxyalkanoate accumulation and granule formation in the haloarchaeon *Haloferax mediterranei*. *Appl Environ Microbiol*, 2015, 81: 373–385.
- [42] Yang JG, Zhu YM, Li JT, Men Y, Sun YX, Ma YH. Biosynthesis of rare ketoses through constructing a recombination pathway in an engineered *Corynebacterium glutamicum*. *Biotechnol Bioeng*, 2015, 112: 168–180.
- [43] Yang JG, Li JT, Men Y, Zhu YM, Zhang Y, Sun YX, Ma YH. Biosynthesis of L -Sorbitose and L -Psicose based on C-C bond formation catalyzed by aldolases in an engineered *Corynebacterium glutamicum* strain. *Appl Environ Microbiol*, 2015, 81: 4284–4294.
- [44] Gong FY, Liu GX, Zhai XY, Zhou J, Cai Z, Li Y. Quantitative analysis of an engineered CO_2 -fixing *Escherichia coli* reveals great potential of heterotrophic CO_2 fixation. *Biotechnol Biofuels*, 2015, 8: 86.
- [45] Li L, Zhao YW, Ruan LJ, Yang S, Ge M, Jiang WH, Lu YH. A stepwise increase in pristinamycin II biosynthesis by *Streptomyces pristinaespiralis* through combinatorial metabolic engineering. *Metab Eng*, 2015, 29: 12–25.
- [46] Wu Y, Yang YP, Ren C, Yang C, Yang S, Gu Y, Jiang WH. Molecular modulation of pleiotropic regulator CcpA for glucose and xylose coutilization by solvent-producing *Clostridium acetobutylicum*. *Metab Eng*, 2015, 28: 169–179.
- [47] Li XX, Yu TF, He Q, McDowall KJ, Jiang BY, Jiang ZB, Wu LZ, Li GW, Li QL, Wang SM, Shi YY, Wang LF, Hong B. Binding of a biosynthetic intermediate to AtrA modulates the production of lidamycin by *Streptomyces globisporus*. *Mol Microbiol*, 2015, 96: 1257–1271.
- [48] Liu WS, Zhang QL, Guo J, Chen Z, Li JL, Wen Y. Increasing avermectin production in *Streptomyces avermitilis* by manipulating the expression of a novel TetR-family regulator and its target gene product. *Appl Environ Microbiol*, 2015, 81: 5157–5173.
- [49] Li JG, Xu J, Cai PL, Wang B, Ma YH, Benz JP, Tian CG. Functional analysis of two L -Arabinose transporters from filamentous fungi reveals promising characteristics for improved pentose utilization in *Saccharomyces cerevisiae*. *Appl Environ Microbiol*, 2015, 81: 4062–4070.
- [50] Cheng YL, Wang XJ, Yao JN, Voegelé RT, Zhang YR, Wang WM, Huang LL, Kang ZS. Characterization of protein kinase *PsSRPKL*, a novel pathogenicity factor in the wheat stripe rust fungus. *Environ Microbiol*, 2015, 17: 2601–2617.
- [51] Gu Q, Zhang CQ, Yu FW, Yin YN, Shim WB, Ma ZH. Protein kinase FgSch9 serves as a mediator of the target of rapamycin and high osmolarity glycerol pathways and regulates multiple stress responses and secondary metabolism in *Fusarium graminearum*. *Environ Microbiol*, 2015, 17: 2661–2676.
- [52] Liu HQ, Zhang SJ, Ma JW, Dai YF, Li CH, Lyu XL, Wang CF, Xu JR. Two Cdc2 kinase genes with distinct functions in vegetative and infectious hyphae in *Fusarium graminearum*. *PLoS Pathog*, 2015, 11: e1004913.
- [53] Yang C, Liu HQ, Li GT, Liu MG, Yun YZ, Wang CF, Ma ZH, Xu JR. The MADS-box transcription factor FgMcm1 regulates cell identity and fungal development in *Fusarium graminearum*. *Environ Microbiol*, 2015, 17: 2762–2776.
- [54] Liu Y, Liu N, Yin YN, Chen Y, Jiang JH, Ma ZH. Histone H3K4 methylation regulates hyphal growth, secondary metabolism and multiple stress responses in *Fusarium graminearum*. *Environ Microbiol*, 2015, 17: 4615–4630.
- [55] Dong YH, Li Y, Zhao MM, Jing MF, Liu XY, Liu MX, Guo XX, Zhang X, Chen Y, Liu YF, Liu YH, Ye WW, Zhang HF, Wang YC, Zheng XB, Wang P, Zhang ZG. Global genome and transcriptome analyses of Magnaporthe oryzae epidemic isolate 98–06 uncover novel effectors and pathogenicity-related genes, revealing gene gain and loss dynamics in genome evolution. *PLoS Pathog*, 2015, 11: e1004801.
- [56] Huang W, Shang YF, Chen PL, Gao Q, Wang CS. MrpacC regulates sporulation, insect cuticle penetration and immune evasion in *Metarhizium robertsii*. *Environ Microbiol*, 2015, 17: 994–1008.
- [57] Kong GH, Zhao Y, Jing MF, Huang J, Yang J, Xia YQ, Kong L, Ye WW, Xiong Q, Qiao YL, Dong SM, Ma WB, Wang YC. The activation of phytophthora effector Avr3b by plant cyclophilin is required for the nudix hydrolase activity of Avr3b. *PLoS Pathog*, 2015, 11: e1005139.
- [58] Du H, Guan GB, Li XL, Gulati M, Tao L, Cao CJ, Johnson AD, Nobile CJ, Huang GH. N-acetylglucosamine-induced cell death in *Candida albicans* and its implications for adaptive mechanisms of nutrient sensing in yeasts. *mBio*, 2015, 6: e01376-15.
- [59] Yan MH, Nie XY, Wang HF, Gao N, Liu HP, Chen JY. SUMOylation of Wor1 by a novel SUMO E3 ligase controls cell fate in *Candida albicans*. *Mol Microbiol*, 2015, 96: 1257–1271.

- obiol*, 2015, 98: 69–89.
- [60] Liu Q, Li JG, Ying SH, Wang JJ, Sun WL, Tian CG, Feng MG. Unveiling equal importance of two 14-3-3 proteins for morphogenesis, conidiation, stress tolerance and virulence of an insect pathogen. *Environ Microbiol*, 2015, 17: 1444–1462.
- [61] Qiu L, Wang JJ, Ying SH, Feng MG. Wee1 and Cdc25 control morphogenesis, virulence and multistress tolerance of *Beauveria bassiana* by balancing cell cycle-required cyclin-dependent kinase 1 activity. *Environ Microbiol*, 2015, 17: 1119–1133.
- [62] Luo ZB, Li YJ, Mousa J, Bruner S, Zhang YJ, Pei Y, Keyhani NO. *Bbmsn2* acts as a pH-dependent negative regulator of secondary metabolite production in the entomopathogenic fungus *Beauveria bassiana*. *Environ Microbiol*, 2015, 17: 1189–1202.
- [63] He ZJ, Zhang SH, Keyhani NO, Song YL, Huang SS, Pei Y, Zhang YJ. A novel mitochondrial membrane protein, Ohmm, limits fungal oxidative stress resistance and virulence in the insect fungal pathogen *Beauveria bassiana*. *Environ Microbiol*, 2015, 17: 4213–4238.
- [64] Chan JFW, To KKW, Chen HL, Yuen KY. Cross-species transmission and emergence of novel viruses from birds. *Curr Opin Virol*, 2015, 10: 63–69.
- [65] Lam TTY, Zhou BP, Wang J, Chai YJ, Shen YY, Chen XC, Ma C, Hong WS, Chen Y, Zhang YJ, Duan L, Chen PW, Jiang JF, Zhang Y, Li LF, Poon LLM, Webby RJ, Smith DK, Leung GM, Peiris JSM, Holmes EC, Guan Y, Zhu HC. Dissemination, divergence and establishment of H7N9 influenza viruses in China. *Nature*, 2015, 522: 102–105.
- [66] Wang F, Qi JX, Bi YH, Zhang W, Wang M, Zhang BR, Liu JH, Yan JH, Shi Y, Gao GF. Adaptation of avian influenza A (H6N1) virus from avian to human receptor-binding preference. *EMBO J*, 2015, 34: 1661–1673.
- [67] Hao RD, He J, Liu X, Gao GZ, Liu D, Cui L, Yu GJ, Yu WH, Chen Y, Guo DY. Inhibition of hepatitis B virus gene expression and replication by hepatocyte nuclear factor 6. *J Virol*, 2015, 89: 4345–4355.
- [68] Liu NN, Jiao T, Huang Y, Liu WJ, Li ZW, Ye X. Hepatitis B virus regulates apoptosis and tumorigenesis through the MicroRNA-15a-Smad7-Transforming growth factor beta pathway. *J Virol*, 2015, 89: 2739–2749.
- [69] Li JF, Dai XP, Zhang W, Sun SH, Zeng Y, Zhao GY, Kou ZH, Guo Y, Yu H, Du LY, Jiang SB, Zhou YS. Upregulation of MicroRNA-146a by hepatitis B virus X protein contributes to hepatitis development by down-regulating complement factor H. *mBio*, 2015, 6: e02459-14.
- [70] Liu YH, Li JH, Chen JL, Li YM, Wang WX, Du XT, Song WH, Zhang W, Lin L, Yuan ZH. Hepatitis B virus polymerase disrupts K63-Linked ubiquitination of STING to block innate cytosolic DNA-sensing pathways. *J Virol*, 2015, 89: 2287–2300.
- [71] Li N, Ren AH, Wang XS, Fan X, Zhao Y, Gao GF, Cleary P, Wang BN. Influenza viral neuraminidase primes bacterial coinfection through TGF- β -mediated expression of host cell receptors. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2015, 112: 238–243.
- [72] Fu YR, Liu XJ, Li XJ, Shen ZZ, Yang B, Wu CC, Li JF, Miao LF, Ye HQ, Qiao GH, Rayner S, Chavanas S, Davrinche C, Britt WJ, Tang QY, McVoy M, Mocarski E, Luo MH. MicroRNA miR-21 attenuates human cytomegalovirus replication in neural cells by targeting Cdc25a. *J Virol*, 2015, 89: 1070–1082.
- [73] Guo XC, Liu TX, Shi HF, Wang JJ, Ji P, Wang HW, Hou YY, Tan RX, Li EG. Respiratory syncytial virus infection upregulates NLRC5 and major histocompatibility complex class I expression through RIG-I induction in airway epithelial cells. *J Virol*, 2015, 89: 7636–7645.
- [74] Hu BL, Zhang YN, Jia L, Wu HS, Fan CF, Sun YT, Ye CJ, Liao M, Zhou JY. Binding of the pathogen receptor HSP90AA1 to avibirnavirus VP2 induces autophagy by inactivating the AKT-MTOR pathway. *Autophagy*, 2015, 11: 503–515.
- [75] Lin DD, Zhang M, Zhang MX, Ren YJ, Jin J, Zhao QY, Pan ZS, Wu M, Shu HB, Dong C, Zhong B. Induction of USP25 by viral infection promotes innate antiviral responses by mediating the stabilization of TRAF3 and TRAF6. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2015, 112: 11324–11329.
- [76] Li Q, Fang Y, Zhu P, Ren CY, Chen H, Gu J, Jia YP, Wang K, Tong WD, Zhang WJ, Pan J, Lu DS, Tang B, Mao XH. *Burkholderia pseudomallei* survival in lung epithelial cells benefits from miRNA-mediated suppression of ATG10. *Autophagy*, 2015, 11: 1293–1307.
- [77] Huang Z, Wu SQ, Liang YJ, Zhou XJ, Chen WZ, Li LS, Wu JF, Zhuang QF, Chen CA, Li JX, Zhong CQ, Xia WX, Zhou RB, Zheng CF, Han JH. RIP1/RIP3 binding to HSV-1 ICP6 initiates necroptosis to restrict virus propagation in mice. *Cell Host Microbe*, 2015, 17: 229–242.
- [78] Hu MM, Wang C, Li W, Lu WP, Bai ZQ, Qin D, Yan Q, Zhu JZ, Krueger BJ, Renne R, Gao SJ, Lu C. A KSHV microRNA directly targets G protein-coupled receptor kinase 2 to promote the migration and invasion of

- endothelial cells by inducing CXCR2 and activating AKT signaling. *PLoS Pathog*, 2015, 11: e1005171.
- [79] Li S, Wang JH, He WR, Feng S, Li YF, Wang X, Liao YJ, Qin HY, Li LF, Dong H, Sun Y, Luo YZ, Qiu HJ. Thioredoxin 2 is a novel E2-interacting protein that inhibits the replication of classical swine fever virus. *J Virol*, 2015, 89: 8510–8524.
- [80] Mu X, Fu YJ, Zhu YP, Wang XL, Xuan YF, Shang H, Goff SP, Gao GX. HIV-1 Exploits the host factor RuvB-like 2 to balance viral protein expression. *Cell Host Microbe*, 2015, 18: 233–242.
- [81] Niu YQ, Si YH, Li Y, Chi XJ, Li X, Liu XY, Li D, Cheng M, Fan JJ, Si SY, Yang W. A novel small-molecule inhibitor of hepatitis C virus replication acts by suppressing signal transducer and activator of transcription 3. *J Antimicrob Chemother*, 2015, 70: 2013–2023.
- [82] Xia HJ, Wang PP, Wang GC, Yang J, Sun XL, Wu WZ, Qiu Y, Shu T, Zhao XL, Yin L, Qin CF, Hu YY, Zhou X. Human enterovirus nonstructural protein 2CATPase functions as both an RNA helicase and ATP-independent RNA chaperone. *PLoS Pathog*, 2015, 11: e1005067.
- [83] Xia PY, Wang S, Xiong Z, Ye BQ, Huang LY, Han ZG, Fan ZS. IRTKS negatively regulates antiviral immunity through PCBP2 sumoylation-mediated MAVS degradation. *Nat Commun*, 2015, 6: 8132.
- [84] Shi YH, Yuan BF, Qi N, Zhu WT, Su JR, Li XY, Qi PP, Zhang D, Hou FJ. An autoinhibitory mechanism modulates MAVS activity in antiviral innate immune response. *Nat Commun*, 2015, 6: 7811.
- [85] Wang P, Zhao W, Zhao K, Zhang L, Gao CJ. TRIM26 negatively regulates interferon- β production and antiviral response through polyubiquitination and degradation of nuclear IRF3. *PLoS Pathog*, 2015, 11: e1004726.
- [86] Wang YM, Lian QS, Yang B, Yan SS, Zhou HY, He L, Lin GM, Lian ZX, Jiang ZF, Sun B. TRIM30 α is a negative-feedback regulator of the intracellular DNA and DNA virus-triggered response by targeting STING. *PLoS Pathog*, 2015, 11: e1005012.
- [87] Shu Q, Lennemann NJ, Sarkar SN, Sadovsky Y, Coyne CB. ADAP2 is an interferon stimulated gene that restricts RNA virus entry. *PLoS Pathog*, 2015, 11: e1005150.
- [88] Ye J, Yang JY, Sun YW, Zhao PZ, Gao SQ, Jung C, Qu J, Fang RX, Chua NH. Geminivirus activates ASYMMETRIC LEAVES 2 to accelerate cytoplasmic DCP2-Mediated mRNA turnover and weakens RNA silencing in arabidopsis. *PLoS Pathog*, 2015, 11: e1005196.
- [89] Guo XH, Liang Y, Zhang Y, Lasorella A, Kee BL, Fu YX. Innate lymphoid cells control early colonization resistance against intestinal pathogens through ID2-dependent regulation of the microbiota. *Immunity*, 2015, 42: 731–743.
- [90] Zhang Q, Pan Y, Yan RQ, Zeng BH, Wang HF, Zhang XW, Li WX, Wei h, Liu ZH. Commensal bacteria direct selective cargo sorting to promote symbiosis. *Nat Immunol*, 2015, 16: 918–926.
- [91] Shi JJ, Zhao Y, Wang K, Shi XY, Wang Y, Huang HW, Zhuang YH, Cai T, Wang FC, Shao F. Cleavage of GSDMD by inflammatory caspases determines pyroptotic cell death. *Nature*, 2015, 526: 660–665.
- [92] Lu QH, Li S, Shao F. Sweet talk: protein glycosylation in bacterial interaction with the host. *Trends Microbiol*, 2015, 23: 630–641.
- [93] Wang GX, Roux B, Feng F, Guy E, Li L, Li NN, Zhang XJ, Lautier M, Jardinaud MF, Chabannes M, Arlat M, Chen S, He CZ, Noël LD, Zhou JM. The decoy substrate of a pathogen effector and a pseudokinase specify pathogen-induced modified-self recognition and immunity in plants. *Cell Host Microbe*, 2015, 18: 285–295.
- [94] Feng YJ, Chin CY, Chakravartty V, Gao RS, Crispell EK, Weiss DS, Cronan JE. The atypical occurrence of two biotin protein ligases in *francisella novicida* is due to distinct roles in virulence and biotin metabolism. *mBio*, 2015, 6: e00591.
- [95] Gao ZP, Nie P, Lu JF, Liu LY, Xiao TY, Liu W, Liu JS, Xie HX. Type III secretion system translocon component EseB forms filaments on and mediates autoaggregation of and biofilm formation by *Edwardsiella tarda*. *Appl Environ Microbiol*, 2015, 81: 6078–6087.
- [96] Li YL, Hu YB, Francis MS, Chen SY. RcsB positively regulates the *Yersinia* Ysc-Yop type III secretion system by activating expression of the master transcriptional regulator LcrF. *Environ Microbiol*, 2015, 17: 1219–1233.
- [97] Liu LY, Hao S, Lan RT, Wang GX, Xiao D, Sun H, Xu JG. The type VI secretion system modulates flagellar gene expression and secretion in *Citrobacter freundii* and contributes to adhesion and cytotoxicity to host cells. *Infect Immun*, 2015, 83: 2596–2604.
- [98] Bi DX, Jiang XF, Sheng ZK, Ngmenterebo D, Tai C, Wang MG, Deng ZX, Rajakumar K, Ou HY. Mapping the resistance-associated mobilome of a carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* strain reveals insights into factors shaping these regions and facilitates generation of a 'resistance-disarmed' model organism. *J Antimicrob Chemother*, 2015, 70: 2770–2774.

- [99] He T, Shen JZ, Schwarz S, Wu CM, Wang Y. Characterization of a genomic island in *Stenotrophomonas maltophilia* that carries a novel *floR* gene variant. *J Antimicrob Chemother*, 2015, 70: 1031–1036.
- [100] Kang XM, Wang FF, Zhang H, Zhang Q, Qian W. Genome-wide identification of genes necessary for bio-film formation by nosocomial pathogen *Stenotrophomonas maltophilia* reveals that orphan response regulator FsnR is a critical modulator. *Appl Environ Microbiol*, 2015, 81: 1200–1209.
- [101] Li HN, Liu F, Zhang YW, Wang XJ, Zhao CJ, Chen HB, Zhang FF, Zhu BL, Hu YF, Wang H. Evolution of carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii* revealed through whole-genome sequencing and comparative genomic analysis. *Antimicrob Agents Chemother*, 2015, 59: 1168–1176.
- [102] Luo T, Comas I, Luo D, Lu B, Wu J, Wei LH, Yang CG, Liu QY, Gan MY, Sun G, Shen X, Liu FY, Gagneux S, Mei J, Lan RS, Wan KL, Gao Q. Southern East Asian origin and coexpansion of *Mycobacterium tuberculosis* Beijing family with Han Chinese. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2015, 112: 8136–8141.
- [103] Li CX, Shi M, Tian JH, Lin XD, Kang YJ, Chen LJ, Qin XC, Xu JG, Holmes EC, Zhang YZ. Unprecedented genomic diversity of RNA viruses in arthropods reveals the ancestry of negative-sense RNA viruses. *eLife*, 2015, 4: e05378.
- [104] Huang SJ, Zhang S, Jiao NZ, Chen F. Marine cyanophages demonstrate biogeographic patterns throughout the global ocean. *Appl Environ Microbiol*, 2015, 81: 441–452.
- [105] Wu Y, Cho M, Shore D, Song MK, Choi J, Jiang T, Deng YQ, Bourgeois M, Almlı L, Yang H, Chen LM, Shi Y, Qi JX, Li A, Yi KS, Chang M, Bae JS, Lee H, Shin J, Stevens J, Hong S, Qin CF, Gao GF, Chang SJ, Donis RO. A potent broad-spectrum protective human monoclonal antibody crosslinking two haemagglutinin monomers of influenza A virus. *Nat Commun*, 2015, 6: 7708.
- [106] Chen Z, Wang JM, Bao LL, Guo L, Zhang WJ, Xue Y, Zhou HL, Xiao Y, Wang JW, Wu F, Deng Y, Qin C, Jin Q. Human monoclonal antibodies targeting the haemagglutinin glycoprotein can neutralize H7N9 influenza virus. *Nat Commun*, 2015, 6: 6714.
- [107] Cheung DH, Tsang TK, Fang VJ, Xu JJ, Chan KH, Ip DKM, Peiris JSM, Leung GM, Cowling BJ. Association of oseltamivir treatment with virus shedding, illness, and household transmission of influenza viruses. *J Infect Dis*, 2015, 212: 391–396.
- [108] Chong HH, Qiu ZL, Su Y, Yang LL, He YX. Design of a highly potent HIV-1 fusion inhibitor targeting the gp41 pocket. *Aids*, 2015, 29: 13–21.
- [109] Liu Q, Li Y, Luo ZW, Yang GB, Liu Y, Sun MS, Dai JJ, Li QH, Qin C, Shao YM. HIV-1 vaccines based on replication-competent Tiantan vaccinia protected Chinese rhesus macaques from simian HIV infection. *Aids*, 2015, 29: 649–658.
- [110] Li H, Zheng YC, Ma L, Jia N, Jiang BG, Jiang RR, Huo QB, Wang YW, Liu HB, Chu YL, Song YD, Yao NN, Sun T, Zeng FY, Dumler JS, Jiang JF, Cao WC. Human infection with a novel tick-borne *Anaplasma species* in China: a surveillance study. *Lancet Infect Dis*, 2015, 15: 663–670.
- [111] Peng B, Su YB, Li H, Han Y, Guo C, Tian YM, Peng XX. Exogenous alanine and/or glucose plus kanamycin kills antibiotic-resistant bacteria. *Cell Metab*, 2015, 21: 249–261.
- [112] Zhu NY, Lin Y, Li DS, Gao NN, Liu C, You XF, Jiang JD, Jiang W, Si SY. Identification of an anti-TB compound targeting the tyrosyl-tRNA synthetase. *J Antimicrob Chemother*, 2015, 70: 2287–2294.
- [113] Liang YT, Jiang YJ, Wang F, Wen CQ, Deng Y, Xue K, Qin YJ, Yang YF, Wu LY, Zhou JZ, Sun B. Long-term soil transplant simulating climate change with latitude significantly alters microbial temporal turnover. *ISME J*, 2015, 9: 2561–2572.
- [114] Cheng K, Rong XY, Pinto-Tomás AA, Fernández-Villalobos M, Murillo-Cruz C, Huang Y. Population genetic analysis of *Streptomyces albidoflavus* reveals habitat barriers to homologous recombination in the diversification of streptomycetes. *Appl Environ Microbiol*, 2015, 81: 966–975.
- [115] Gao C, Wang YJ, Zhang YX, Lv M, Dou PP, Xu P, Ma CQ. NAD-independent L-Lactate dehydrogenase required for L-Lactate utilization in *Pseudomonas stutzeri* A1501. *J Bacteriol*, 2015, 197: 2239–2247.
- [116] Guo C, Chen YP, Zheng Y, Zhang W, Tao YW, Feng J, Tang LX. Exploring the enantioselective mechanism of halohydrin dehalogenase from *Agrobacterium radiobacter* AD1 by iterative saturation mutagenesis. *Appl Environ Microbiol*, 2015, 81: 2919–2926.
- [117] Liu, Xu Y, Zhou NY. Identification of a specific maleate hydratase in the direct hydrolysis route of the gentisate pathway. *Appl Environ Microbiol*, 2015, 81: 5753–5760.
- [118] Liu L, Zhuge X, Shin HD, Chen RR, Li JH, Du GC, Chen J. Improved production of propionic acid in

- Propionibacterium jensenii* via combinational overexpression of glycerol dehydrogenase and malate dehydrogenase from *Klebsiella pneumoniae*. *Appl Environ Microbiol*, 2015, 81: 2256–2264.
- [119] Shao ZH, Deng WX, Li SY, He JM, Ren SX, Huang WR, Lu YH, Zhao GP, Cai ZM, Wang J. GlnR-mediated regulation of *ectABCD* transcription expands the role of the *glnR* regulon to osmotic stress management. *J Bacteriol*, 2015, 197: 3041–3047.
- [120] Shi MM, Wan F, Mao YT, Gao HC. Unraveling the mechanism for the viability deficiency of *Shewanella oneidensis oxyR* null mutant. *J Bacteriol*, 2015, 197: 2179–2189.
- [121] Si MR, Zhang L, Chaudhry MT, Ding W, Xu YX, Chen C, Akbar A, Shen XH, Liu SJ. *Corynebacterium glutamicum* methionine sulfoxide reductase A uses both mycoredoxin and thioredoxin for regeneration and oxidative stress resistance. *Appl Environ Microbiol*, 2015, 81: 2781–2796.
- [122] Wu YC, Wu Y, Zhu T, Han HY, Liu HY, Xu T, Francois P, Fischer A, Bai L, Götz F, Qu D. *Staphylococcus epidermidis* SrrAB regulates bacterial growth and biofilm formation differently under oxic and microaerobic conditions. *J Bacteriol*, 2015, 197: 459–476.
- [123] Yang B, Feng L, Wang F, Wang L. Enterohemorrhagic *Escherichia coli* senses low biotin status in the large intestine for colonization and infection. *Nat Commun*, 2015, 6: 6592.
- [124] Zheng H, Ji SB, Liu ZJ, Lan RT, Huang Y, Bai XM, Gottschalk M, Xu JG. Eight novel capsular polysaccharide synthesis gene loci identified in nontypeable *Streptococcus suis* isolates. *Appl Environ Microbiol*, 2015, 81: 4111–4119.
- [125] Yao XY, Chen T, Shen XD, Zhao Y, Wang M, Rao XC, Yin SP, Wang J, Gong YL, Lu SG, Le S, Tan YL, Tang JQ, Hu FQ, Li M. The chromosomal SezAT toxin-antitoxin system promotes the maintenance of the SsPI-1 pathogenicity island in epidemic *Streptococcus suis*. *Mol Microbiol*, 2015, 98: 243–257.
- [126] Yang C, Chen B, Zhao JQ, Lin L, Han L, Pan S, Fu L, Jin ML, Chen HC, Zhang AD. TREM-1 signaling promotes host defense during the early stage of infection with highly pathogenic *Streptococcus suis*. *Infect Immun*, 2015, 83: 3293–3301.
- [127] Kong WN, Zhao JR, Kang HP, Zhu M, Zhou TH, Deng X, Liang HH. ChIP-seq reveals the global regulator AlgR mediating cyclic di-GMP synthesis in *Pseudomonas aeruginosa*. *Nucleic Acids Res*, 2015, 43: 8268–8282.
- [128] Liao CH, Yao LL, Xu Y, Liu WB, Zhou Y, Ye BC. Nitrogen regulator GlnR controls uptake and utilization of non-phosphotransferase-system carbon sources in actinomycetes. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2015, 112: 15630–15635.
- [129] Xiong LF, Teng JLL, Watt RM, Liu CH, Lau SKP, Woo PCY. Molecular characterization of arginine deiminase pathway in *Laribacter hongkongensis* and unique regulation of arginine catabolism and anabolism by multiple environmental stresses. *Environ Microbiol*, 2015, 17: 4469–4483.
- [130] Bao SP, Lu QC, Fang T, Dai HP, Zhang C. Assessment of the toxicity of CuO nanoparticles by using *Saccharomyces cerevisiae* mutants with multiple genes deleted. *Appl Environ Microbiol*, 2015, 81: 8098–8107.
- [131] Li LZ, Liang JT, Hong W, Zhao Y, Sun S, Yang X, Xu A, Hang HY, Wu LJ, Chen SP. Evolved bacterial biosensor for arsenite detection in environmental water. *Environ Sci Technol*, 2015, 49: 6149–6155.
- [132] Huang K, Chen C, Shen QR, Rosen BP, Zhao FJ. Genetically engineering *Bacillus subtilis* with a heat-resistant arsenite methyltransferase for bioremediation of arsenic-contaminated organic waste. *Appl Environ Microbiol*, 2015, 81: 6718–6724.
- [133] Dai X, Tian Y, Li JT, Su XY, Wang XW, Zhao SG, Liu L, Luo YF, Liu D, Zheng HJ, Wang JQ, Dong ZY, Hu SN, Huang L. Metatranscriptomic analyses of plant cell wall polysaccharide degradation by microorganisms in the cow rumen. *Appl Environ Microbiol*, 2015, 81: 1375–1386.
- [134] Xu CG, Huang RR, Teng L, Jing XY, Hu JQ, Cui GZ, Wang YL, Cui Q, Xu J. Cellulosome stoichiometry in *Clostridium cellulolyticum* is regulated by selective RNA processing and stabilization. *Nat Commun*, 2015, 6: 6900.
- [135] Zhang X, Zhang DY, Jia HJ, Feng Q, Wang DH, Liang D, Wu XN, Li JH, Tang LQ, Li Y, Lan Z, Chen B, Li YL, Zhong HZ, Xie HL, Jie ZY, Chen WN, Tang SM, Xu XQ, Wang XK, Cai XH, Liu S, Xia Y, Li JY, Qiao XY, Al-Aama JY, Chen H, Wang L, Wu QJ, Zhang FC, Zheng WJ, Li YZ, Zhang MR, Luo GW, Xue WB, Xiao L, Li J, Chen WT, Xu X, Yin Y, Yang HM, Wang J, Kristiansen K, Liu L, Li T, Huang QC, Li YR, Wang J. The oral and gut microbiomes are perturbed in rheumatoid arthritis and partly normalized after treatment. *Nat Med*, 2015, 21: 895–905.