解糖微小寄生菌的研究进展

聂杰¹, 陈宇星¹, 姜淞¹, 王晓燕^{1†*}, 陈峰^{2†*}, 何雪松^{3,4†*}

1. 北京大学口腔医院牙体牙髓科, 北京, 100081;

2. 北京大学口腔医院中心实验室, 北京, 100081;

3. The Forsyth Institute, Harvard University, Cambridge 02142, USA;

4. Harvard School of Dental Medicine, Boston 02115, USA

† 同等贡献

* 联系人, E-mail: wangxiaoyan@pkuss.bjmu.edu.cn; chenfang2011@hsc.pku.edu.cn; xhe@forsyth.org

收稿日期: 2020-12-09; 接受日期: 2021-03-27; 网络版发表日期: 2021-04-28

国家自然科学基金(批准号: 81991501)和北京大学口腔医院青年科研基金(批准号: PKUSS20180101)资助

摘要 候选门级辐射类群(candidate phyla radiation, CPR)所包含的细菌种类约占已知细菌种类总数的1/4, 然而该类细菌中只有解糖微小寄生菌(Saccharibacteria, 又名TM7)的少数菌株被成功分离培养。研究发现, 解糖微小寄生菌具有许多独特的生物学性状: 该类细菌需要寄生在宿主细菌表面生长, 这是一种全新的“细菌-细菌”寄生生存方式; 细菌尺寸及基因组均较小, 缺乏代谢相关基因, 不能合成氨基酸和维生素; 对宿主细菌表现出杀伤作用或保护其躲避免疫系统的攻击。此外, 解糖微小寄生菌与牙周病等疾病存在紧密的联系。同时, 宏基因组学研究表明, 其他CPR细菌与解糖微小寄生菌具有相似的生物学特性。本文通过介绍解糖微小寄生菌的研究概况、形态特征、生理特性、基因特点以及与疾病的相关关系, 以期对目前研究进展有更全面的了解, 为未来解糖微小寄生菌及CPR细菌的研究提供参考, 这对于发现新物种、发掘新基因、改进疾病的预防和治疗方式以及研究细菌的进化有着重要的生物学意义和社会意义。

关键词 解糖微小寄生菌, TM7, 候选门级辐射类群, 寄生, 宿主细菌

对于未知物种的探索一直是生物学研究的重要课题, 人类微生物组学在过去十余年中最伟大的成果之一就是通过对培养和/或非培养技术揭示了与人类相关的极其丰富的微生物多样性^[1]。可培养的微生物新物种是发现新基因资源和新活性物质的巨大宝库, 然而人类相关微生物中约有60%迄今仍未能够被分离培养, 候选门级辐射类群(candidate phyla radiation, CPR)是其中最大的“暗物质”, 这一类微生物约占已知细菌

总数的1/4, 包含70余个菌门^[2]。直到近几年, CPR中解糖微小寄生菌门(Saccharibacteria, 又名TM7)中的少数菌株才得到成功分离并在体外环境中稳定培养, 为CPR的深入探索打开了突破口(图1)。同时, 解糖微小寄生菌与多种人体疾病相关, 是人类微生物组学研究领域的新兴热点。本文通过介绍解糖微小寄生菌的研究历史、形态学特征、生理特性、基因特点以及与疾病的相关关系, 以期较全面地概括目前的研究成果, 为

引用格式: 聂杰, 陈宇星, 姜淞, 等. 解糖微小寄生菌的研究进展. 中国科学: 生命科学, 2021, 51: 1523–1531

Nie J, Chen Y X, Jiang S, et al. Research progress of Saccharibacteria: a review (in Chinese). Sci Sin Vitae, 2021, 51: 1523–1531, doi: 10.1360/SSV-2020-0400

图 1 解糖微小寄生菌在生物系统进化树中的位置示意图 (包含细菌域、古菌域及真核生物域)(网络版彩图)

Figure 1 A brief illustration of Saccharibacteria in the phylogenetic tree (including bacteria, archaea, and eukaryotes domain) (color online)

未来研究方向提供参考。

1 解糖微小寄生菌研究概况

解糖微小寄生菌最初被命名为TM7, 来源于20世纪90年代Rheims等人^[3]的研究, TM是德语Torf, mit-

tlere Schicht的缩写, 意为“泥炭的中间层”。该研究采集了262个泥炭沼泽样本, 编号为TM1~TM262, 在编号为TM7的样本中检测到的部分16S rRNA基因序列形成了独立的进化树分支。之后, Hugenholtz等人^[4]通过荧光原位杂交(fluorescence in situ hybridization, FISH)实验发现, 解糖微小寄生菌的细胞形态具有特征性的鞘丝结构, 同时基于其16S rDNA序列差异相对较小, 提出它是独立的菌门, 命名为“Candidate Division TM7”。2013年, Albertsen等人^[5]从活性污泥生物反应器的样本中首次拼装得到4个完整的解糖微小寄生菌基因组, 分析显示解糖微小寄生菌的基因组较小(约1 Mb)且具有与多糖酵解相关的基因(如*ptk*), 因此提出以解糖微小寄生菌(Saccharibacteria)作为新的命名, 得到了学界的认可。Brown团队^[6]在2015年运用宏基因组学对地下水细菌多样性进行分析, 获得了包含约35个新细菌门的分支, 将其命名为“候选门级辐射类群”, 并将解糖微小寄生菌归入CPR。解糖微小寄生菌在各种自然生境中广泛分布, 包括土壤、海水、深海沉积物、温泉和动物体内(如海豚、白蚁)等^[3,4,7,8], 在人体的不同部位也有分布, 包括口腔、胃肠道等^[9~12] (图2A)。

近年来, 解糖微小寄生菌研究的突破性进展是He

图 2 解糖微小寄生菌的分布及形态特征。A: 解糖微小寄生菌在自然生境中的分布; B: 解糖微小寄生菌与病毒、放线菌的大小比较; C: 解糖微小寄生菌TM7x寄生在其宿主细菌龋齿放线菌XH001表面扫描电子显微镜照片(何雪松教授供图)(网络版彩图)

Figure 2 The distribution and morphological characteristics of Saccharibacteria. A: The distribution of Saccharibacteria in the natural environment; B: a comparison of size among virus, Saccharibacteria, and Actinomyces; C: a SEM image of the parasitic Saccharibacteria strain TM7x on the surface of its host *Actinomyces odontolyticus* strain XH001 (courtesy of Professor Xuesong He) (color online)

等人^[8]在2015年首次成功分离了解糖微小寄生菌菌株TM7x(*Nanosynbacter lyticus*, strain TM7x)并在体外进行了培养. 以往非培养技术的进步虽然极大地拓展了人们对微生物的认识, 但由于缺乏可培养的菌株, 难以对其生理特性、基因特点和生态学功能等方面进行进一步的研究. He等人的研究发现, TM7x具有极小的尺寸(200~300 nm)和较小的基因组(约705 kb), 需要寄生在宿主细菌表面生长, 是一种全新的“细菌-细菌”寄生关系(图2B和C). 类似寄生关系目前只在古菌中发现, 纳米级大小的超嗜热古生菌*Nanoarchaeum equan- tum*同样寄生在特定古细菌宿主上生存与增殖^[13].

He等人最初使用抗生素富集法分离得到TM7x. 解糖微小寄生菌16S rRNA序列中相当于大肠杆菌位点912的碱基由C换为U, 这与古菌类似, 而该位点的变化为古菌带来了链霉素抗性^[4]. 因此He等人^[8]推测, 解糖微小寄生菌也具有链霉素抗性, 通过在含唾液的施氏培养基(SHI medium)中加入链霉素进行定向富集, 最终得到了TM7x和宿主细菌(龋齿放线菌XH001, *Actinomyces odontolyticus* strain XH001)的共培养物. 随着研究深入, 解糖微小寄生菌的分离方式也在不断改进. 有研究利用解糖微小寄生菌的超小菌体尺寸及专性寄生的特点发明了过滤-诱饵分离法. 通过0.22或0.45 μm滤膜过滤, 直径小的解糖微小寄生菌可以通过滤膜而其他细菌不能通过, 将过滤的解糖微小寄生菌溶液与不同潜在宿主细菌进行共培养, 得到稳定的解糖微小寄生菌-宿主细菌共培养物, 达到分离解糖微小寄生菌的目的^[14]. 此外, 还有学者提出逆向基因组技术, 通过测序数据逆向分析及预测参与解糖微小寄生菌寄生过程中的调控基因及表面蛋白结构, 依此设计相应的荧光抗体标记物, 通过流式细胞仪直接从菌群中捕获和分离解糖微小寄生菌和宿主细菌^[15](图3).

宿主细菌对于解糖微小寄生菌的生存至关重要,

它需要寄生在宿主细菌表面进行生长和增殖, 其生长条件主要取决于宿主细菌的生长需求. 同时, 解糖微小寄生菌对宿主细菌具有选择性, 目前大多数解糖微小寄生菌的宿主细菌属于放线菌属, 少部分来自于假丙酸杆菌属^[14,16]. 宿主细菌为解糖微小寄生菌提供生长和增殖必须的物质, 而解糖微小寄生菌也对宿主细菌施加影响, 二者相互作用, 表现出独特的形态特征、生理特性、基因特点以及与多种疾病的密切关系.

2 解糖微小寄生菌的形态特征

解糖微小寄生菌主要呈小球状, 直径约200~300 nm, 少数菌株以小球状与棒状形态混合出现. 当寄生在宿主细菌表面后, 其形态会伸长并发生改变, 共培养物中解糖微小寄生菌可呈球状、短杆状、杆状或丝状, 而在宿主细胞凋亡期, 其菌体尺寸达到最长^[14,17]. 同时, 解糖微小寄生菌的球状形态在生长的各个时期还可表现为带尾的球形或双球状, 类似于细菌的出芽增殖形态^[18,19], 因此推测其在宿主细菌表面寄生后以出芽的方式进行增殖.

3 解糖微小寄生菌的生理特性

3.1 解糖微小寄生菌的培养条件

解糖微小寄生菌是专性寄生菌, 必须寄生在宿主细菌上才能生长、增殖, 因此, 解糖微小寄生菌的培养条件首先要满足宿主细菌的生长需求. 例如, 二氧化碳对于TM7x的宿主细菌XH001的生长是必需的, TM7x是在37℃厌氧环境(85%氮气, 5%二氧化碳, 10%氢气)中获得分离培养. 后续研究发现, 在微需氧环境(92.4%氮气, 5%二氧化碳, 2.6%氧气)下共培养物中

图3 解糖微小寄生菌的研究简史(网络版彩图)

Figure 3 A brief history of Saccharibacteria research (color online)

TM7x的相对丰度最高, 增加氧气含量会抑制其生长。体外稳定培养解糖微小寄生菌需要特殊的培养基, 如施氏培养基, 它通过模拟唾液成分, 可以支持绝大多数口腔微生物生长; 此外, 在培养基中添加胎牛血清也可提高共培养物中解糖微小寄生菌的相对丰度。需要注意的是, 游离状态的解糖微小寄生菌并不会迅速凋亡, 可以在唾液/培养基中存活一段时间(数日甚至一个月), 当遇到合适的宿主细菌时会再次寄生在宿主表面生长、增殖^[20]。

3.2 解糖微小寄生菌的鉴定

解糖微小寄生菌的鉴定主要依靠影像学方法和基因组学方法。影像学方法中, 可以通过相差显微镜、透射电子显微镜、扫描电子显微镜等在不同尺度上对解糖微小寄生菌及其宿主细菌进行直接观察。也可利用荧光原位杂交技术, 采用特异的荧光标记引物进行标记, 将解糖微小寄生菌与其他微生物区分开来, 并可以进一步了解其在共培养物或菌群中的分布特点; 此外, 也有研究结合荧光原位杂交技术和流式细胞仪直接从样本中分离解糖微小寄生菌。基因组学鉴定方法包括16S rRNA测序、全基因组测序等, 通过特定引物

进行PCR扩增及测序分析, 可以直接鉴定样本中是否存在解糖微小寄生菌并确定其生物学分类(表1和2)。

3.3 解糖微小寄生菌与宿主细菌的相互影响

解糖微小寄生菌是专性寄生菌, 它不能合成生长所需的氨基酸和维生素, 需要寄生在宿主细菌表面来获得营养物质。在适宜的培养条件下, 二者可以形成长期、稳定的寄生关系, 表现为共培养物中同时存在被寄生的宿主细菌和未被寄生的宿主细菌, 二者比例维持在一定水平。未被寄生的宿主细菌生长不受影响, 可作为细菌库为新的解糖微小寄生菌提供宿主细菌; 而被寄生的宿主细菌生长增殖则会受到明显影响^[20]。

解糖微小寄生菌对宿主细菌的影响包括负面和正面两方面。解糖微小寄生菌对宿主细菌的负面影响主要是诱导宿主细菌的应激反应, 抑制宿主细菌的生长和增殖, 甚至导致宿主细菌凋亡。细菌处于应激状态的最直观表现为细菌体积增大和形态变化, 在极端环境导致的应激状态下(如营养缺乏、低温、高盐等), 细菌菌体可能会伸长或膨胀, 通过增加细菌表面积来获得充足养分用于生长代谢^[23,24]。被解糖微小寄生菌寄生的宿主细菌通常伴有菌体的伸长或是呈分枝状,

表 1 解糖微小寄生菌PCR鉴定引物

Table 1 The PCR primers of Saccharibacteria

名称	序列	用途
580F ^[4]	AYTGGGCGTAAAGAGTTGC	通用鉴定引物
1177R ^[21]	GACCTGACATCATCCCCTCCTTCC	
G3-F73 ^[22]	ACTTGGCTATTATGCGAGT	G3组群鉴定引物
G3-R1469 ^[22]	GGATACCTTGTACGAC	
G5-F47 ^[22]	GCTCTTCGGAGTACACGAGA	G5组群鉴定引物
G5-R1336 ^[22]	AAATAAATCCGGACGTCGGGTGCTCC	
G6-F180 ^[22]	GCATCGAAAGGTGTGC	G6组群鉴定引物
G6-R1469 ^[22]	CCTTGTTACGACTTAAC	

表 2 解糖微小寄生菌FISH荧光标记引物

Table 2 The FISH probes for Saccharibacteria

名称	序列	用途
TM7-G1-Cy3 ^[8]	CCTACGCAACTCTTTACGCC	G1组群FISH标记引物
TM7-G3-Cy3 ^[22]	ACTTGGCTATTATGCGAGT	G3组群FISH标记引物
TM7-G5-Cy3 ^[22]	GCTCTTCGGAGTACACGAGA	G5组群FISH标记引物
TM7-G6-Cy3 ^[22]	GCATCGAAAGGTGTGC	G6组群FISH标记引物

甚至形成类似真菌菌丝样形态,在趋近凋亡时,菌体呈末端膨大的棒状形态.此外,被寄生的宿主细菌生长速度减缓且细胞分裂受到抑制,出现细菌凋亡,而未被寄生的宿主细菌生长、增殖无异常;基因表达的分析显示,被寄生的宿主细菌中与应激反应相关基因表达升高.宿主细菌也会对解糖微小寄生菌产生适应性,当宿主细菌初次接触解糖微小寄生菌时,可出现大量寄生菌(平均>50)感染单个宿主细菌的情况,宿主细菌生长受到抑制甚至发生凋亡.随着传代次数的增加,宿主细菌对其易感性逐渐降低,最终达到宿主细菌与解糖微小寄生菌稳定共存的阶段,这可能是宿主细菌发生了遗传适应性的快速进化;而基因测序分析结果表明,稳定共存阶段的宿主细菌在转运蛋白调控基因中存在多个突变(如*PadR*),这可能是保护宿主免受寄生的原因.解糖微小寄生菌也同样能够快速适应宿主细菌易感性的变化,使得解糖微小寄生菌可以与许多细菌结合并持续存在于口腔或其他自然环境中^[20].

解糖微小寄生菌对宿主细菌的正面影响是有益于宿主细菌在人体的定植.解糖微小寄生菌可以通过群体感应机制促进宿主细菌生物膜的形成,使生物膜增厚且表面更加粗糙,大大增加定植部位的菌量^[25].生物膜是细菌在人体的主要存在形式,不仅可以协助菌群抵御物理、化学因素的作用以及周围环境的波动,提高菌群的稳定性,还可以抑制宿主免疫炎症反应^[26].解糖微小寄生菌还可能通过抑制巨噬细胞*TNF- α* 基因的表达,协助宿主细菌躲避人体免疫系统的攻击^[8].放线菌是目前已知的解糖微小寄生菌的宿主细菌,也是重要的人体致病菌,因此二者的相互作用对放线菌致病性的影响值得深入研究.

需要强调的是,本文对于微小解糖寄生菌的生理特性以及与宿主相互关系的阐述主要基于目前所能分离培养的少量解糖微小寄生菌菌株的研究成果.随着更多的解糖微小寄生菌得到分离,不能排除新的菌株可能会表现出不同的生理特性.

4 解糖微小寄生菌的基因组特征

解糖微小寄生菌基因组最显著的特征是基因组较小同时缺乏大量细菌生长所必需的基因.以TM7x为例,其基因组大小仅为705 kb,是已知基因组最小的细菌之一;它缺乏代谢相关基因,因此不能合成氨基酸和

维生素,这也从基因角度解释了TM7x寄生生存的特性,同时寄生生存的方式也可能导致其基因组的进一步缩小. TM7x基因组中编码跨膜蛋白的基因数量较高,这可能与从宿主细菌中获取营养物质相关. Al-bertsen等人^[5]通过宏基因组分析发现,解糖微小寄生菌具有明显的与糖代谢相关的基因,其基因组中还有较多编码毒力因子的基因(如编码IV型菌毛相关基因).研究还发现,目前已知的大多数CPR细菌的基因特征与解糖微小寄生菌相似,表现为较小的基因组以及缺乏大量与生物合成相关的通路,推测这些细菌可能与解糖微小寄生菌一样是寄生菌.同时,目前所得到的解糖微小寄生菌菌株的核心基因仍有约30%无法匹配到特定的生物学功能,包含潜在的具有特定生物学功能的新基因,值得深入研究.

通过比较宿主细菌的基因,发现易感型和抵抗型宿主细菌的差异基因同样有独特之处.易感型宿主细菌是指将宿主细菌与解糖微小寄生菌进行共培养并连续传代时在某个时间点会出现菌液浓度骤降(crash)的现象,培养液光密度(optical density, OD)值出现特征性的“升高-骤降-恢复”模式;而抵抗型则不会出现菌液浓度骤降的现象.在宿主细菌基因中,精氨酸脱氨酶(arginine deiminase, ADI)通路中的关键基因转氨酶*arc A*基因在抵抗型宿主细菌中均有发现,易感型宿主细菌中未发现,而解糖微小寄生菌有完整的编码精氨酸脱氨酶通路的基因^[27].精氨酸脱氨酶通路可以升高环境pH值,提高细菌在酸性条件下的生存能力,由此推测解糖微小寄生菌可以补全易感型宿主的精氨酸脱氨酶通路缺陷,使宿主细菌在低pH的生物膜中和pH变化较大的口腔环境中生存^[28,29].此外,二者在与细胞壁修饰相关的基因上有显著差异,这些基因可能直接或间接地影响解糖微小寄生菌对宿主细菌的附着^[28-31].必须注意的是,目前大多数代谢、细菌毒力等特性均基于测序分析的结果,未来需要通过可培养菌株进一步验证.

5 解糖微小寄生菌与疾病

5.1 解糖微小寄生菌与口腔疾病

目前对口腔中的解糖微小寄生菌研究最为深入,其在口腔中广泛分布^[21,32],但丰度较低,约占1%^[21,33].通过比对不同解糖微小寄生菌16S rRNA的差异,可以

将解糖微小寄生菌分为六个不同的组群(G1~G6)^[22], 这六个组群的解糖微小寄生菌都可在口腔中发现, 但不同部位的组成和丰度各不相同^[34]。由于解糖微小寄生菌在口腔中有很高的检出率, 有研究认为应该将其归入口腔核心菌群。同时, 该研究通过比较环境和人体中解糖微小寄生菌组群的基因, 提出人体中解糖微小寄生菌可能来自于环境的假设, 原因包括: (i) 许多解糖微小寄生菌在环境和人体中均可检出; (ii) 口腔中解糖微小寄生菌的基因组小于环境中解糖微小寄生菌的基因组, 提示该菌转变成寄生菌后会丧失部分基因; (iii) 在定植于口腔的过程中, 解糖微小寄生菌也获得了一些原本不存在于环境中解糖微小寄生菌的基因, 这些新基因有助于它们在人体环境中生存; (iv) 人口腔中检出率最高的G1组群的解糖微小寄生菌基因与地下水中G1组群的基因相似度很高, 这可能由于人在长期的进化过程中通过饮水不断摄入环境中的G1组群的解糖微小寄生菌, 使其不断与口腔中的宿主细菌作用并最终形成寄生关系, 成为口腔中的常驻菌^[22]。

解糖微小寄生菌与牙周病有紧密联系, 在牙周炎的患者中丰度增加, 可升高至21%^[35,36]。此外, 某些特定的口腔解糖微小寄生菌种系型, 在患病样本中更为普遍存在, 甚至可以在宿主龈上皮细胞表面或内部检测到^[37]。Khemwong和Acharya等人^[38,39]的研究也显示, 在牙周炎患者的唾液中解糖微小寄生菌的相对丰度升高。Sousa等人^[40]通过比较侵袭性牙周炎患者治疗前后的菌群变化, 发现治疗后残留牙周袋的病例中鉴定出解糖微小寄生菌, 而健康对照组未检出。Colombo等人^[41]使用人类口腔微生物识别芯片(Human Oral Microbe Identification Microarray, HOMIM)比较了难治性牙周炎(refractory periodontitis)、预后较好的牙周炎和牙周健康受试者的龈下微生物群, 结果显示, 难治性牙周炎患者中解糖微小寄生菌丰度更高。Duran-Pinedo等人^[42]借助转录组学分析了牙周炎患者和健康对照受试者龈下菌斑样本, 发现在牙周炎患者中, 解糖微小寄生菌与致病性相关的基因表达增高。但也有学者比较了慢性牙周炎患者和健康对照受试者的龈下菌斑主要致病菌的绝对和相对含量, 结果显示, 解糖微小寄生菌与牙周炎无显著相关关系^[43]。

此外, 正畸治疗也会影响口腔内解糖微小寄生菌的相对丰度。Rego等人^[44]研究发现, 与健康人群相比,

正畸患者口腔中的解糖微小寄生菌相对丰度升高。Wang等人^[45]的研究结果显示, 使用Invisalign正畸治疗的患者口腔中解糖微小寄生菌丰度比采用固定矫治器治疗的患者高。由于解糖微小寄生菌与牙周炎的相关性, 不同的正畸治疗方式是否会增加患者牙周炎的风险目前仍不明确。

5.2 解糖微小寄生菌与消化道疾病

解糖微小寄生菌也是消化道微生物组的重要组成部分^[44-47]。Stearns等人^[48]对消化道不同部位进行广泛取样, 位点包括口腔的龈上菌斑、龈下菌斑、舌表面, 在结肠镜和胃镜过程中在横结肠、乙状结肠、直肠、胃窦、胃体以及十二指肠位置进行取样。随后对样品进行16S rRNA测序分析, 发现虽然胃肠道中解糖微小寄生菌相对丰度比口腔内低, 但它仍是胃肠道中的重要菌群。年轻人肠道中解糖微小寄生菌的相对丰度都高于老年人^[49]。Gomes等人^[50]应用16S rRNA测序分析肠道中与肥胖和心脏疾病风险因素相关的细菌, 结果显示, 解糖微小寄生菌与研究中的所有肥胖标志物密切相关, 相较于健康对照组, 肥胖者粪便样本中解糖微小寄生菌的比例更高^[48]。然而疾病组的解糖微小寄生菌丰度并非均高于健康对照组。Liu等人^[51]通过16S rRNA测序分析急性胆囊炎患者肠道微生物组成, 结果显示, 健康对照者的粪便样本中解糖微小寄生菌大量富集。

5.3 解糖微小寄生菌与其他疾病

除在消化道外, 有研究显示, 解糖微小寄生菌也可定植在肺部。Lee等人^[52]比较了肺癌患者和良性肿块样病变患者支气管肺泡液样本中的微生物组成, 结果显示, 肺癌患者中厚壁菌门和解糖微小寄生菌的相对丰度显著增加。另一项关于慢性阻塞性肺疾病(chronic obstructive pulmonary disease, COPD)研究中, 相较于健康对照组, COPD患者肺部样本中解糖微小寄生菌相对丰度更高^[53], 而COPD也是肺癌的高风险因素, 解糖微小寄生菌在肺癌中的作用需要进一步探索。

目前的研究结果表明, 解糖微小寄生菌与多种疾病密切相关。然而, 解糖微小寄生菌相对丰度的增加是导致疾病(如牙周病或肠道疾病)的诱因? 还是疾病状态导致的微环境改变有利于微小解糖寄生菌的生长

繁殖? 这是未来相关研究需要重点阐明的课题。

6 总结与展望

随着解糖微小寄生菌被成功分离与培养, 人们得以对其形态特征、生理特性、基因特点以及在疾病中的作用进行深入研究。解糖微小寄生菌与宿主细菌形成的特殊的“细菌-细菌”寄生生存方式, 拓展了人类对

微生物生存方式的认知。同时, 其作为目前CPR细菌中唯一成功获得的可培养菌株, 为探索和认识这个约占生物多样性总数1/4的“暗物质”打开了窗口。CPR细菌普遍存在于不同生境中且具有共生特性, 系统地深入研究解糖微小寄生菌有助于揭示CPR细菌的生物学特性及生态学作用, 补充和完善微生物的系统进化过程, 对发现新物种、发掘新基因、加强生物安全有重要的生物学意义和社会意义。

参考文献

- Peterson J, Garges S, Giovanni M, et al. The NIH Human Microbiome Project. *Genome Res*, 2009, 19: 2317–2323
- Castelle C J, Banfield J F. Major new microbial groups expand diversity and alter our understanding of the Tree of Life. *Cell*, 2018, 172: 1181–1197
- Rheims H, Spröer C, Rainey F A, et al. Molecular biological evidence for the occurrence of uncultured members of the actinomycete line of descent in different environments and geographical locations. *Microbiology*, 1996, 142: 2863–2870
- Hugenholtz P, Tyson G W, Webb R I, et al. Investigation of Candidate Division TM7, a recently recognized major lineage of the domain Bacteria with no known pure-culture representatives. *Appl Environ Microbiol*, 2001, 67: 411–419
- Albertsen M, Hugenholtz P, Skarshewski A, et al. Genome sequences of rare, uncultured bacteria obtained by differential coverage binning of multiple metagenomes. *Nat Biotechnol*, 2013, 31: 533–538
- Brown C T, Hug L A, Thomas B C, et al. Unusual biology across a group comprising more than 15% of domain Bacteria. *Nature*, 2015, 523: 208–211
- Camanocha A, Dewhirst F E. Host-associated bacterial taxa from Chlorobi, Chloroflexi, GN02, Synergistetes, SR1, TM7, and WPS-2 Phyla/candidate divisions. *J Oral Microbiol*, 2014, 6: 25468
- He X, McLean J S, Edlund A, et al. Cultivation of a human-associated TM7 phylotype reveals a reduced genome and epibiotic parasitic lifestyle. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2015, 112: 244–249
- Abrams M, Barton D, Vandaei E, et al. Genomic characteristics of an environmental microbial community harboring a novel human uncultured TM7 bacterium associated with oral diseases. *Sci Rep*, 2012, 5: 276
- Bik E M, Long C D, Armitage G C, et al. Bacterial diversity in the oral cavity of 10 healthy individuals. *ISME J*, 2010, 4: 962–974
- Fredricks D N, Fiedler T L, Marrazzo J M. Molecular identification of bacteria associated with bacterial vaginosis. *N Engl J Med*, 2005, 353: 1899–1911
- Grice E A, Segre J A. The skin microbiome. *Nat Rev Microbiol*, 2011, 9: 244–253
- Huber H, Hohn M J, Rachel R, et al. A new phylum of Archaea represented by a nanosized hyperthermophilic symbiont. *Nature*, 2002, 417: 63–67
- Bor B, Collins A J, Murugkar P P, et al. Insights obtained by culturing Saccharibacteria with their bacterial hosts. *J Dent Res*, 2020, 99: 685–694
- Cross K L, Campbell J H, Balachandran M, et al. Targeted isolation and cultivation of uncultivated bacteria by reverse genomics. *Nat Biotechnol*, 2019, 37: 1314–1321
- Collins A J, Murugkar P P, Dewhirst F E. Complete genome sequence of strain AC001, a novel cultured member of the human oral microbiome from the candidate phylum Saccharibacteria (TM7). *Microbiol Resour Annu*, 2019, 8
- Bor B, Poweleit N, Bois J S, et al. Phenotypic and physiological characterization of the epibiotic interaction between TM7x and its basibiont actinomycetes. *Microb Ecol*, 2016, 71: 243–255
- Herskowitz I. Life cycle of the budding yeast *Saccharomyces cerevisiae*. *Microbiol Rev*, 1988, 52: 536–553
- Hirsch P. Budding bacteria. *Annu Rev Microbiol*, 1974, 28: 391–440
- Bor B, McLean J S, Foster K R, et al. Rapid evolution of decreased host susceptibility drives a stable relationship between ultrasmall parasite

- TM7x and its bacterial host. [Proc Natl Acad Sci USA](#), 2018, 115: 12277–12282
- 21 Brinig M M, Lepp P W, Ouverney C C, et al. Prevalence of bacteria of division TM7 in human subgingival plaque and their association with disease. [Appl Environ Microbiol](#), 2003, 69: 1687–1694
- 22 McLean J S, Bor B, Kerns K A, et al. Acquisition and adaptation of ultra-small parasitic reduced genome bacteria to mammalian hosts. [Cell Rep](#), 2020, 32: 107939
- 23 Koch A L. What size should a bacterium be? A question of scale. [Annu Rev Microbiol](#), 1996, 50: 317–348
- 24 Maniloff J. Nannobacteria: size limits and evidence. [Science](#), 1997, 276: 1773e–1776
- 25 Bedree J K, Bor B, Cen L, et al. Quorum sensing modulates the epibiotic-parasitic relationship between *Actinomyces odontolyticus* and its Saccharibacteria epibiont, a *Nanosynbacter lyticus* strain, TM7x. [Front Microbiol](#), 2018, 9: 2049
- 26 Donlan R M, Costerton J W. Biofilms: survival mechanisms of clinically relevant microorganisms. [Clin Microbiol Rev](#), 2002, 15: 167–193
- 27 Utter D R, He X, Cavanaugh C M, et al. The Saccharibacterium TM7x elicits differential responses across its host range. [ISME J](#), 2020, 14: 3054–3067
- 28 Kleinberg I. Effect of varying sediment and glucose concentrations on the pH and acid production in human salivary sediment mixtures. [Arch Oral Biol](#), 1967, 12: 1457–1473
- 29 Edlund A, Yang Y, Yooseph S, et al. Meta-omics uncover temporal regulation of pathways across oral microbiome genera during *in vitro* sugar metabolism. [ISME J](#), 2015, 9: 2605–2619
- 30 Deli A, Koutsoulis D, Fadoulglou V E, et al. LmbE proteins from *Bacillus cereus* are de-N-acetylases with broad substrate specificity and are highly similar to proteins in *Bacillus anthracis*. [FEBS J](#), 2010, 277: 2740–2753
- 31 Vermassen A, Leroy S, Talon R, et al. Cell wall hydrolases in bacteria: insight on the diversity of cell wall amidases, glycosidases and peptidases toward peptidoglycan. [Front Microbiol](#), 2019, 10: 331
- 32 Dewhirst F E, Chen T, Izard J, et al. The human oral microbiome. [J Bacteriol](#), 2010, 192: 5002–5017
- 33 Podar M, Abulencia C B, Walcher M, et al. Targeted access to the genomes of low-abundance organisms in complex microbial communities. [Appl Environ Microbiol](#), 2007, 73: 3205–3214
- 34 Bor B, Bedree J K, Shi W, et al. Saccharibacteria (TM7) in the human oral microbiome. [J Dent Res](#), 2019, 98: 500–509
- 35 Liu B, Faller L L, Klitgord N, et al. Deep sequencing of the oral microbiome reveals signatures of periodontal disease. [PLoS ONE](#), 2012, 7: e37919
- 36 Rylev M, Bek-Thomsen M, Reinholdt J, et al. Microbiological and immunological characteristics of young Moroccan patients with aggressive periodontitis with and without detectable *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* JP2 infection. [Mol Oral Microbiol](#), 2011, 26: 35–51
- 37 Paster B J, Russell M K, Alpagot T, et al. Bacterial diversity in necrotizing ulcerative periodontitis in HIV-positive subjects. [Ann Periodontol](#), 2002, 7: 8–16
- 38 Khemwong T, Kobayashi H, Ikeda Y, et al. *Fretibacterium* sp. human oral taxon 360 is a novel biomarker for periodontitis screening in the Japanese population. [PLoS ONE](#), 2019, 14: e0218266
- 39 Acharya A, Chen T, Chan Y, et al. Species-level salivary microbial indicators of well-resolved periodontitis: A preliminary investigation. [Front Cell Infect Microbiol](#), 2019, 9: 347
- 40 Sousa V, Nibali L, Spratt D, et al. Peri-implant and periodontal microbiome diversity in aggressive periodontitis patients: a pilot study. [Clin Oral Impl Res](#), 2017, 28: 558–570
- 41 Colombo A P V, Boches S K, Cotton S L, et al. Comparisons of subgingival microbial profiles of refractory periodontitis, severe periodontitis, and periodontal health using the human oral microbe identification microarray. [J Periodontol](#), 2009, 80: 1421–1432
- 42 Duran-Pinedo A E, Chen T, Teles R, et al. Community-wide transcriptome of the oral microbiome in subjects with and without periodontitis. [ISME J](#), 2014, 8: 1659–1672
- 43 Al-hebshi N N, Al-Alimi A, Taiyeb-Ali T, et al. Quantitative analysis of classical and new putative periodontal pathogens in subgingival biofilm: a case-control study. [J Periodont Res](#), 2015, 50: 320–329
- 44 Rego R O, Oliveira C A, Dos S A, et al. Clinical and microbiological studies of children and adolescents receiving orthodontic treatment. [Am J Dent](#), 2010, 23: 317–323
- 45 Wang Q, Ma J B, Wang B, et al. Alterations of the oral microbiome in patients treated with the Invisalign system or with fixed appliances. [Am J Orthod Dentofacial Orthop](#), 2019, 156: 633–640

- 46 Pei Z, Bini E J, Yang L, et al. Bacterial biota in the human distal esophagus. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2004, 101: 4250–4255
- 47 Dong L, Yin J, Zhao J, et al. Microbial similarity and preference for specific sites in healthy oral cavity and esophagus. *Front Microbiol*, 2018, 9: 1603
- 48 Stearns J C, Lynch M D J, Senadheera D B, et al. Bacterial biogeography of the human digestive tract. *Sci Rep*, 2011, 1: 170
- 49 Buford T W, Carter C S, VanDerPol W J, et al. Composition and richness of the serum microbiome differ by age and link to systemic inflammation. *Geroscience*, 2018, 40: 257–268
- 50 Gomes A C, Hoffmann C, Mota J F. Gut microbiota is associated with adiposity markers and probiotics may impact specific genera. *Eur J Nutr*, 2020, 59: 1751–1762
- 51 Liu J, Yan Q, Luo F, et al. Acute cholecystitis associated with infection of Enterobacteriaceae from gut microbiota. *Clin Microbiol Infect*, 2015, 21: 851.e1
- 52 Lee S H, Sung J Y, Yong D, et al. Characterization of microbiome in bronchoalveolar lavage fluid of patients with lung cancer comparing with benign mass like lesions. *Lung Cancer*, 2016, 102: 89–95
- 53 Wang H, Yang L, Zou L, et al. Association between chronic obstructive pulmonary disease and lung cancer: a case-control study in Southern Chinese and a meta-analysis. *PLoS ONE*, 2012, 7: e46144

Research progress of Saccharibacteria: a review

NIE Jie¹, CHEN YuXing¹, JIANG Song¹, WANG XiaoYan¹, CHEN Feng² & HE XueSong^{3,4}

1 Department of Cariology and Endodontology, Peking University School and Hospital of Stomatology, Beijing 100081, China;

2 Central Laboratory, Peking University School and Hospital of Stomatology, Beijing 100081, China;

3 The Forsyth Institute, Harvard University, Cambridge 02142, USA;

4 Harvard School of Dental Medicine, Boston 02115, USA

Candidate phyla radiation (CPR) contains about one-fourth of all the known bacteria. However, only a few strains of bacteria from the Saccharibacteria phylum (also known as TM7) have been successfully isolated among CPR. Studies have found that Saccharibacteria have many unique biological characteristics. This type of bacteria live on the surface of the host bacteria, which is a novel “bacteria-bacteria” parasitic lifestyle; the size and genome of the bacteria are small, thus they cannot synthesize amino acids and vitamins due to lacking metabolism-related genes; when interacted with the host bacteria, they could kill their host bacteria or protect them from the immune system. Besides, Saccharibacteria are closely related to diseases such as periodontal disease. Meanwhile, metagenomics studies have shown that other CPR bacteria may have similar biological characteristics to Saccharibacteria. This review introduces the related research, morphological characteristics, physiological characteristics, genetic characteristics, and the relationship between Saccharibacteria and diseases, and tries to update a more comprehensive understanding of the current research progress and to inspire the future studies of Saccharibacteria and CPR bacteria, which could reveal the biological and social importance in terms of discovering new species and genes, improving disease prevention and treatment and understanding the evolution of bacteria.

Saccharibacteria, TM7, candidate phyla radiation, parasitic, host bacterium

doi: [10.1360/SSV-2020-0400](https://doi.org/10.1360/SSV-2020-0400)