

一株分离自运城盐湖土壤沉积物的链霉菌 (*Streptomyces* sp.) YH02 全基因组测序和 比较基因组特征

李珍华, 王佳欣, 张琳婕, 孙宇佳, 田蓉, 杨瑾, 刘缙*

运城学院 生命科学系, 山西 运城

李珍华, 王佳欣, 张琳婕, 孙宇佳, 田蓉, 杨瑾, 刘缙. 一株分离自运城盐湖土壤沉积物的链霉菌(*Streptomyces* sp.) YH02 全基因组测序和比较基因组特征[J]. 微生物学报, 2025, 65(3): 1053-1069.

LI Zhenhua, WANG Jiabin, ZHANG Linjie, SUN Yujia, TIAN Rong, YANG Jin, LIU Jin. Whole genome sequencing and comparative genomic analysis of *Streptomyces* sp. YH02 isolated from the soil sediment in Yuncheng Salt Lake[J]. Acta Microbiologica Sinica, 2025, 65(3): 1053-1069.

摘要: 【目的】链霉菌(*Streptomyces* sp.) YH02 是从山西运城盐湖土壤沉积物中分离的一株革兰氏阳性放线菌。解析菌株 YH02 的全基因组序列信息, 探究其在种属进化关系中的位置, 深入挖掘其次级代谢产物基因资源。【方法】利用 Illumina 和 PacBio 平台相结合的测序技术对菌株 YH02 进行全基因组测序, 并进行基因预测、功能注释、次级代谢产物合成基因簇预测、比较基因组学分析以及形态和生理生化测定。【结果】菌株 YH02 基因组为一条线性染色体, 全长 8 285 116 bp, G+C 含量为 71.77%, 编码 7 237 个开放阅读框; 在 GO、COG、KEGG、CAZy 数据库中分别注释到 2 829、5 478、4 805、279 个基因; 蛋白亚细胞定位分析预测到多种分泌系统相关蛋白和 1 030 个转运蛋白; 同时预测到菌株 YH02 中存在 32 个次级代谢产物合成基因簇, 涉及萜烯类、非核糖体肽类、聚酮类、核糖体合成和翻译后修饰肽类等多种天然产物的合成。比较基因组学分析揭示了 15 739 个泛基因组直系同源基因簇和 4 267 个核心基因组直系同源基因簇。基于 16S rRNA 基因序列的系统发育树分析显示, 菌株 YH02 与委内瑞拉链霉菌(*Streptomyces venezuelae*) ATCC 10712、沙阿霉素链霉菌(*Streptomyces zaomyceticus*) NBC 00278 亲缘关系较近, 但平均核苷酸一致性(average nucleotide identity, ANI)分析小于 95.00%, 数字 DNA-DNA 杂交(digital DNA-DNA hybridization, dDDH)值小于 70.00%。形态学和生理生化特性分析表明, 菌株

资助项目: 山西省基础研究计划(自由探索类)(20210302124526, 202203021212176); 山西省高等学校科技创新项目(2021L472); 运城学院博士科研启动项目(YQ-2020027)

This work was supported by the Basic Research Program of Shanxi Province (Free Exploration) (20210302124526, 202203021212176), the Science and Technology Innovation Project of Higher Education Institutions of Shanxi Province (2021L472), and the Doctoral Scientific Research Program of Yuncheng University (YQ-2020027).

*Corresponding author. E-mail: liuj4037@163.com

Received: 2024-10-27; Accepted: 2024-12-19; Published online: 2025-01-23

YH02 在 ISP 2 培养基上的气生菌丝体呈现浅粉色, 其对 pH 值、氯化钠耐受量和生长温度的耐受性与近缘菌株存在差异, 且在淀粉水解能力上表现出较弱的活性, 同时具有明胶液化、硝酸盐还原阳性、牛奶凝固缓慢的特性。【结论】基于基因组学和生理生化特性的分析结果, 菌株 YH02 被确认为链霉菌属潜在新种。本研究不仅丰富了微生物物种资源库, 而且为探索具有独特作用机制的天然产物提供了理论基础和潜在的遗传资源。

关键词: 链霉菌; 全基因组测序; 次级代谢合成基因簇; 比较基因组

Whole genome sequencing and comparative genomic analysis of *Streptomyces* sp. YH02 isolated from the soil sediment in Yuncheng Salt Lake

LI Zhenhua, WANG Jiabin, ZHANG Linjie, SUN Yujia, TIAN Rong, YANG Jin, LIU Jin*

Life Sciences Department, Yuncheng University, Yuncheng, Shanxi, China

Abstract: [Objective] To elucidate the phylogenetic position and mine the gene resources for synthesis of secondary metabolites from *Streptomyces* sp. YH02, a Gram-positive actinomycete strain isolated from the soil sediment of Yuncheng Salt Lake in Shanxi. [Methods] Illumina and PacBio platforms were used for whole genome sequencing of YH02, which was followed by gene prediction, functional annotation, prediction of secondary metabolite synthetic gene clusters (BGCs), comparative genomic analysis, and morphological, physiological, and biochemical characterization. [Results] The YH02 genome was a linear chromosome spanning 8 285 116 bp, with the G+C content of 71.77% and 7 237 open reading frames. Gene annotations in the GO, COG, KEGG, and CAZy identified 2 829, 5 478, 4 805, and 279 genes, respectively. The subcellular localization analysis predicted various secretion system-related proteins and 1 030 transporters. Additionally, 32 secondary metabolite BGCs were predicted in strain YH02, involving the synthesis of various natural products such as terpenoids, non-ribosomal peptides, polyketides, and ribosomally synthesized and post-translationally modified peptides. The comparative genomic analysis revealed 15 739 pan-genome orthologous gene clusters and 4 267 core genome orthologous gene clusters. The phylogenetic analysis based on the 16S rRNA gene sequence revealed a proximate phylogenetic affiliation between strain YH02 and *Streptomyces venezuelae* ATCC 10712 as well as *Streptomyces zaomyceticus* NBC 00278. However, the average nucleotide identity (ANI) value was below the threshold of 95.00%, and the digital DNA-DNA hybridization (dDDH) value was less than 70.00%. YH02 exhibited light pink aerial mycelia on the ISP 2 medium. It showed significant differences in tolerance to pH, sodium chloride, and growth temperature compared with its closely related strains. Additionally, this strain demonstrated weak starch hydrolysis activity, positive gelatin liquefaction, positive nitrate reduction, and slow milk coagulation. [Conclusion] Based on the findings from genomic, physiological, and biochemical

analyses, strain YH02 is confirmed as a potential new species of *Streptomyces*. This study not only enriches the microbial resource pool but also provides a theoretical basis and potential genetic resources for mining the natural products with unique mechanisms of action.

Keywords: *Streptomyces*; whole genome sequencing; secondary metabolite synthetic gene clusters; comparative genomics

链霉菌属(*Streptomyces*)为革兰氏阳性放线菌,广泛分布于土壤、海洋生态系统以及植物组织等多种生态位中^[1-3]。此类微生物以其复杂的生命周期和强大的次级代谢能力而著称,在生物合成一系列具有生物活性的次级代谢产物方面展现出显著的能力^[4-5]。这些化合物包括抗生素、生物碱和酶类等,在农业、制药以及环境修复等领域发挥着极其重要的作用^[6-8]。

在后基因组时代,链霉菌的研究已从基因组测序及功能注释的初步阶段,发展到利用全基因组数据进行深入功能研究与应用开发的更为复杂阶段^[9-10]。功能基因组学研究借助链霉菌的全基因组信息,能够揭示复杂的次级代谢网络及其调控机制^[11]。比较基因组分析鉴定出许多同源基因家族及物种特有的基因簇,这些基因簇通常与特定次级代谢产物的生物合成密切相关^[12]。例如,经生物信息学分析,在海洋链霉菌(*Streptomyces maritimus*)的基因组中发现一个II型聚酮合酶基因簇,该基因簇负责编码肠球菌素(enterocin)和 wailupemycin 家族的聚酮类化合物^[13]。此外,通过转座子突变和同源重组等遗传操作手段针对特定基因簇进行改造,可以有效地激活或抑制某些次级代谢途径,从而提升目标次级代谢产物的产量^[14-15]。

本研究从山西运城盐湖土壤沉积物中分离出一株链霉菌 YH02,采用第三代测序技术对其进行了全基因组测序、功能基因注释及次级代谢基因簇分析。同时,基于16S rRNA 基因序列比对结果,筛选出5株近缘链霉菌模式菌株,分别进行比较基因组分析以及形态、生理生化

测定,以此确定菌株 YH02 的系统发育位置。旨在为探索具有新颖结构、显著生物活性和独特作用机制的天然产物提供理论基础。

1 材料与方法

1.1 菌株分离

链霉菌 YH02 分离自山西省运城盐湖土壤沉积物。该土壤样本于2024年2月采自运城盐湖(35°01'48.84"N, 111°03'00.14"E),并在采集后的4h内予以处理。运用标准的系列稀释法开展菌株 YH02 的分离操作^[16],采用添加放线菌酮(浓度为50 μg/mL)与萘啶酸(浓度为25 μg/mL)的高氏一号琼脂(杭州百思生物技术有限公司)作为分离培养基。在30℃的需氧环境下培养3周后,从其中挑选出1个菌落,并在酵母提取物麦芽提取物琼脂(ISP 2号琼脂培养基^[17])上进行纯化处理。菌株 YH02 的纯培养物于室温条件下存放于ISP 2培养基中,同时以20%甘油作为保护剂,保存于-80℃冰箱,以便后续研究与应用。

1.2 菌株培养和全基因组测序

将菌株 YH02 接种于ISP 2培养基,28℃恒温下培养6d。随后,转移至胰蛋白胨大豆肉汤[(tryptone soy broth, TSB), 杭州微生物试剂有限公司]液体培养基,28℃、180 r/min 继续培养5d。发酵结束后,12 000 r/min 离心20 min 收集菌体,并送往上海美吉生物医药科技有限公司进行从头测序。测序过程采用PacBio的第三代单分子实时(single molecule real-time, SMRT)测序技术与第二代Illumina高通量测序平台相结

合的测序技术^[18], 获得的数据用 unicycler v0.4.8 软件进行拼接组装获得基因组完全图, 采用 Circos v0.69.6 软件绘制基因组圈图^[19]。

1.3 基因组预测和功能注释

使用 Glimmer、Prodigal v2.6.3 和 GeneMarkS v4.3 软件对组装得到的基因组序列进行编码基因预测。采用 Barrnap v0.9 软件预测核糖体 RNA (rRNA) 基因, 利用 tRNAscan-SE v2.0.12 软件预测转移 RNA (tRNA) 基因。其他非编码 RNA (sRNA) 通过 Infernal v1.1.4 软件进行预测, CRISPR 元件借助 Minced v0.2.0 软件预测。基因组岛通过 IslandPath-DIMOB v1.0.0 软件推测得出, 噬菌体由 Phigaro v2.3.0 软件预测。另外, 运用 GO (<https://geneontology.org/>)、eggNOG (<http://eggnogdb.embl.de/>)、KEGG (<https://www.kegg.jp/>) 以及 CAZy (<http://www.cazy.org/>) 数据库, 对预测的蛋白质组序列进行功能注释。

1.4 蛋白质亚细胞定位分析

通过比对 PHI-base 数据库 (<http://www.phibase.org/>)、VFDB 数据库 (<http://www.mgc.ac.cn/VFs/>)、CARD 数据库 (<https://card.mcmaster.ca/>) 以及 TCDB 数据库 (<http://www.tcdb.org/>), 对功能性蛋白质进行注释^[20]。跨膜与分泌蛋白分别采用 SignalP v4.0 和 TMHMM v2.0 软件进行预测。此外, 借助 Diamond v0.8.35 软件, 基于 KEGG 数据库对菌株 YH02 的分泌系统蛋白进行预测。

1.5 次级代谢产物生物合成基因簇预测

运用 antiSMASH v7.0 软件对菌株 YH02 中的次级代谢产物合成基因簇进行深入分析, 并预测该菌株潜在的生物合成代谢物^[21]。

1.6 16S rRNA 基因分析和系统发育树构建

利用 EzBioCloud 数据库 (www.ezbiocloud.net) 工具从菌株 YH02 的基因组中提取 16S

rRNA 基因, 并上传至 GenBank 数据库 (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank/>), 登录号为 PQ764780。通过 EzBioCloud 数据库的 BLAST 搜索来确定最相近的亲缘关系^[22]。运用 MEGA 11.0 软件, 分别采用邻接 (neighbor-joining, NJ) 法和最大似然法 (maximum-likelihood, ML) 构建系统发育树。使用 Kimura 双参数模型计算菌株间的进化距离^[23]。使用 1 000 次重复的自举值评估分支节点的置信度。

1.7 比较基因组分析

通过菌株 YH02 的 16S rRNA 基因序列比较分析, 筛选出与其系统发育关系接近的 5 个模式菌株, 即委内瑞拉链霉菌 (*Streptomyces venezuelae*) ATCC 10712 (CP029197.1)、沙阿霉素链霉菌 (*Streptomyces zaomyceticus*) NBC 00278 (CP108062.1)、脱叶链霉菌 (*Streptomyces exfoliatus*) NBC_00077 (CP108238.1)、*Streptomyces vilmorinianum* YP1 (CP040244.1) 和加德那氏链霉菌 (*Streptomyces gardneri*) ATCC 15439 (CP059991.1)。从 NCBI genome 数据库 (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/genome/>) 获取上述菌株的完整基因组序列与菌株 YH02 的全基因组序列进行比较分析。

采用 OrthoMCL 软件包 v2.0 对同源基因进行聚类分析, 以确定核心基因组和泛基因组的大小^[24]。将所有预测的蛋白质序列合并在一起, 并采用 BLASTp 算法进行比较分析 (E 值阈值为 $1E-5$, 相似性百分比截止值为 $\geq 50\%$)。进一步使用 CDHIT 软件对相似蛋白质进行快速聚类分析, 设定成对相似性阈值为 50%, 氨基酸长度差异截止值为 0.7^[25]。构建韦恩 (Venn) 图以展示样本间的关系。

平均核苷酸一致性 (average nucleotide identity, ANI) 被视作一种基于基因组的稳健标准, 用于确定遗传相关微生物的物种身份^[26]。通过 EzBioCloud 数据库中 ANI calculator 在线工

具(<https://www.ezbiocloud.net/tools/ani>)计算 ANI 分数。使用 GGDC 3.0 在线工具(<https://ggdc.dsmz.de/ggdc.php#>)中的 BLAST+方法, 通过计算同一性与 HSP 长度的比值(即同一性/HSP 长度)来确定菌株 YH02 与模式菌株的数字 DNA-DNA 杂交(digital DNA-DNA hybridization, dDDH)值^[27]。

1.8 形态和生理生化测定

菌株 YH02 及其近缘菌株在 5 种不同培养基上生长: 酵母提取物麦芽提取物琼脂(ISP 2)、燕麦琼脂(ISP 3)、无机盐淀粉琼脂(ISP 4)、甘油天冬酰胺琼脂(ISP 5)和酪氨酸琼脂(ISP 7) (ISP: 国际链霉菌项目^[17])。使用 Arai 等^[28]所描述的各种

方法确定对各种碳源的利用以及几种生化试验。使用 Williams 和 Cross^[29]所描述的标准方法确定硝酸盐还原、明胶液化、淀粉水解、牛奶凝固。在 ISP 2 琼脂上观察生长温度(4、16、27、37、45 和 55 °C)、不同 pH 值(pH 4.0–12.0, 间隔为 1.0)下的生长情况和氯化钠浓度(质量分数为 1%–10%、15% 和 20%)对生长的影响。

2 结果与分析

2.1 菌株 YH02 全基因组特征分析

菌株 YH02 全基因组序列显示, 其基因组由一条线性染色体构成, 总长度为 8 285 116 bp (图 1)。G+C 含量为 71.77%, 包含 7 237 个开放

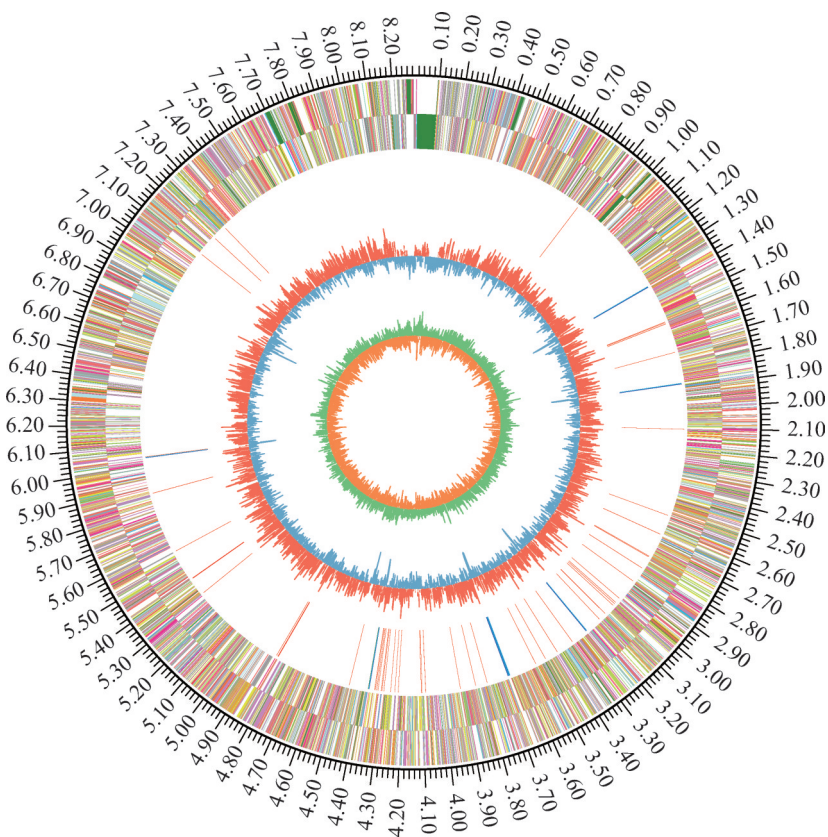


图1 菌株YH02的全基因组注释圈图

Figure 1 Circular maps of the complete genome of strain YH02. The circular map contains seven circles. Marked information is displayed from the outer circle to innermost, as follows: genome size, CDSs on the forward stand, CDSs on the reverse stand, rRNA and tRNA, G+C content and GC skew.

阅读框, 累计长度达 7 350 447 bp, 占基因组总长度的 87%, 平均每个基因长度约为 1 015.68 bp。对基因组进行结构分析后, 进一步揭示出 21 个 rRNA 基因, 其中 5S、16S 和 23S rRNA 基因各 7 个; 66 个 tRNA 基因; 以及 52 个 sRNA 基因。此外, 在基因组中还预测存在 18 个 CRISPR 阵列、16 个基因组岛以及 3 个前噬菌体。这些特征为进一步解析菌株 YH02 的遗传背景和生物学特性奠定了基础。将链霉菌 (*Streptomyces* sp.) YH02 全基因组序列提交至 GenBank 数据库, 登录号为 CP171841。

2.2 功能基因分析

2.2.1 GO 功能分类

在菌株 YH02 基因组中, 共有 2 829 个基因在 GO 数据库中获得注释。这些基因被划分至 3 个主要的生物学领域, 即生物过程(biological process)、细胞组分(cellular component)和分子功

能(molecular function) (图 2)。在细胞组分中, 共鉴定出 10 个功能基因类别, 其中与细胞膜和细胞质相关的基因占据较为显著的比例。在分子功能中, 鉴定出 10 个基因类别, 参与 DNA 结合和 ATP 结合的基因占较大比例。在生物过程中, 鉴定出 10 个基因类别, 其中相当多的基因参与了转录调控、蛋白质水解和翻译等过程。

2.2.2 COG 功能分类

与 eggNOG 数据库比较分析显示, 菌株 YH02 基因组中共有 5 478 个基因被注释, 并归入 24 个功能类别中(图 3)。转录相关的基因最为丰富, 共有 799 个, 占注释基因的 14.59%。此外, 大量基因参与一般功能预测(R)、碳水化合物的转运与代谢(G)、氨基酸的转运与代谢(E)以及信号传导机制(T), 分别占 11.39%、10.04%、9.16% 和 7.59%。在生物代谢大类中, 涉及能量产生与转换(C) (1.50%)、氨基酸的转运与代谢

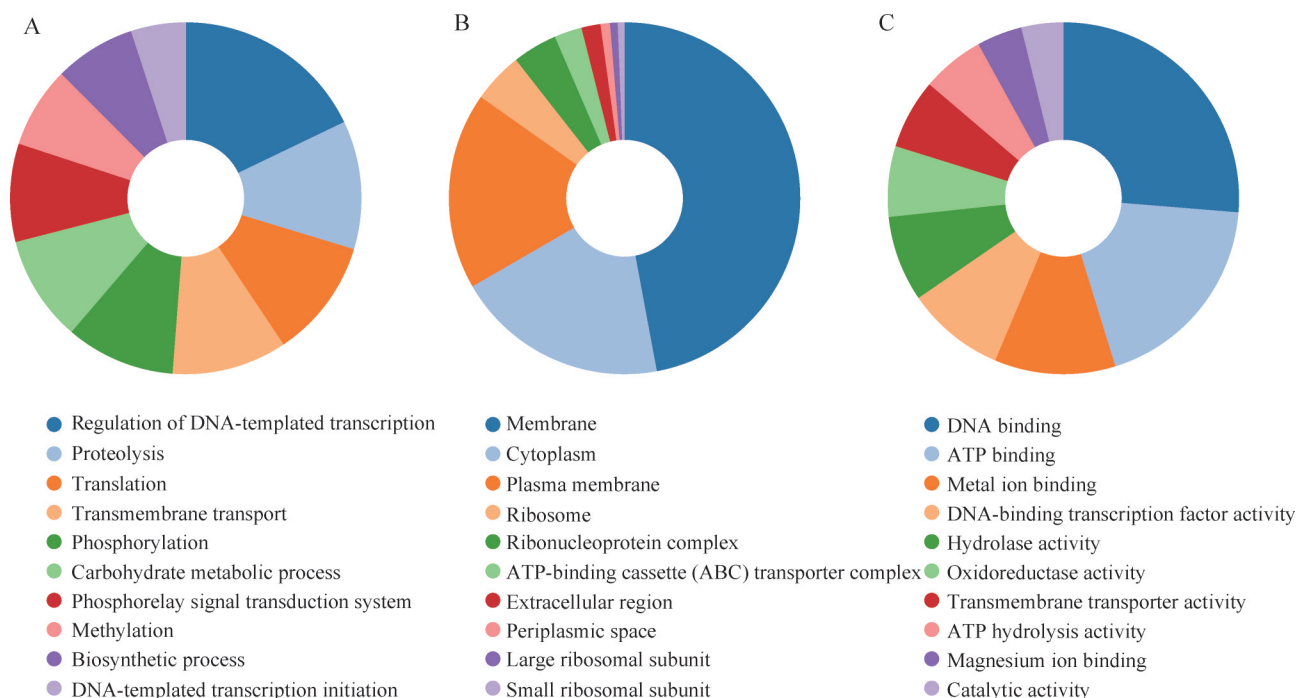


图2 菌株YH02基因组的GO功能分类

Figure 2 GO functional classification diagram of the genome of strain YH02. A: Biological process; B: Cellular component; C: Molecular function.

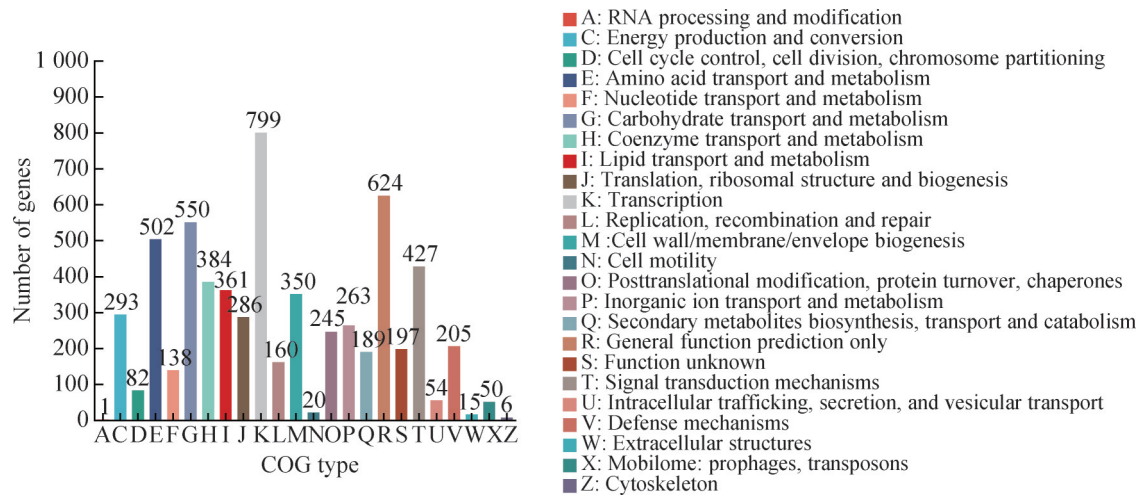


图3 菌株YH02基因组的COG功能分类

Figure 3 COG functional classification diagram of the genome of strain YH02.

(E) (9.16%)、核苷酸的转运与代谢(F) (2.52%)、碳水化合物的转运与代谢(G) (10.04%)、异构酶的转运与代谢(H) (7.01%)、脂质的转运与代谢(I) (6.59%)、无机离子的转运与代谢(P) (4.80%)以及次级代谢产物的生物合成与代谢(Q) (3.45%)的基因占有所有功能基因的 48.92%。这一结果表明, 菌株 YH02 在生物代谢方面具有显著的能力。

2.2.3 KEGG 代谢途径分析

在 KEGG 数据库中, 对菌株 YH02 的基因组进行注释, 共鉴定出 4 805 个基因(图 4)。这些基因参与了 121 条不同的代谢途径, 并被细分为 6 个主要代谢类别, 即代谢、环境信息处理、细胞过程、遗传信息处理、有机系统以及人类疾病。具体来说, 这些基因在各个代谢类别中的分布如下: 代谢(12 个亚类)、环境信息处理(3 个亚类)、细胞过程(4 个亚类)、遗传信息处理(5 个亚类)、有机系统(8 个亚类)以及人类疾病(12 个亚类)。在这些代谢功能中, 与代谢过程相关的基因占据显著地位, 共有 1 618 个基因参与了广泛的代谢活动。特别值得注意的是, 碳水化合物代谢途径包含 477 个基因, 氨基酸代谢

途径包含 433 个基因, 辅酶和维生素代谢途径包含 313 个基因, 能量代谢途径包含 228 个基因, 而脂质代谢途径涉及 200 个基因。这些基因组注释结果揭示了菌株 YH02 在代谢能力方面的巨大潜力。

2.2.4 CAZy 数据库注释

通过 CAZy 数据库对菌株 YH02 进行注释分析, 共鉴定出 279 个碳水化合物活性蛋白序列, 并将其归类为六大功能类别, 分别是糖苷水解酶 (glycoside hydrolases, GHs)、糖基转移酶 (glycosyltransferases, GTs)、多糖裂解酶 (polysaccharide lyases, PLs)、碳水化合物酯酶 (carbohydrate esterases, CEs)、辅助活性 (auxiliary activities, AAs) 以及碳水化合物结合模块 (carbohydrate-binding modules, CBMs)。在这些类别中, 糖苷水解酶的数量最为丰富, 共有 106 个序列, 在其中占据最大比例; 其次是糖基转移酶, 占比为 22.9%。相比之下, 碳水化合物结合模块的数量最少, 仅占注释总数的 1.4% (图 5)。这些数据表明, 菌株 YH02 在碳水化合物的代谢过程中具有多样化的酶类, 为其在复杂碳水化合物的降解和转化中提供了潜在的生

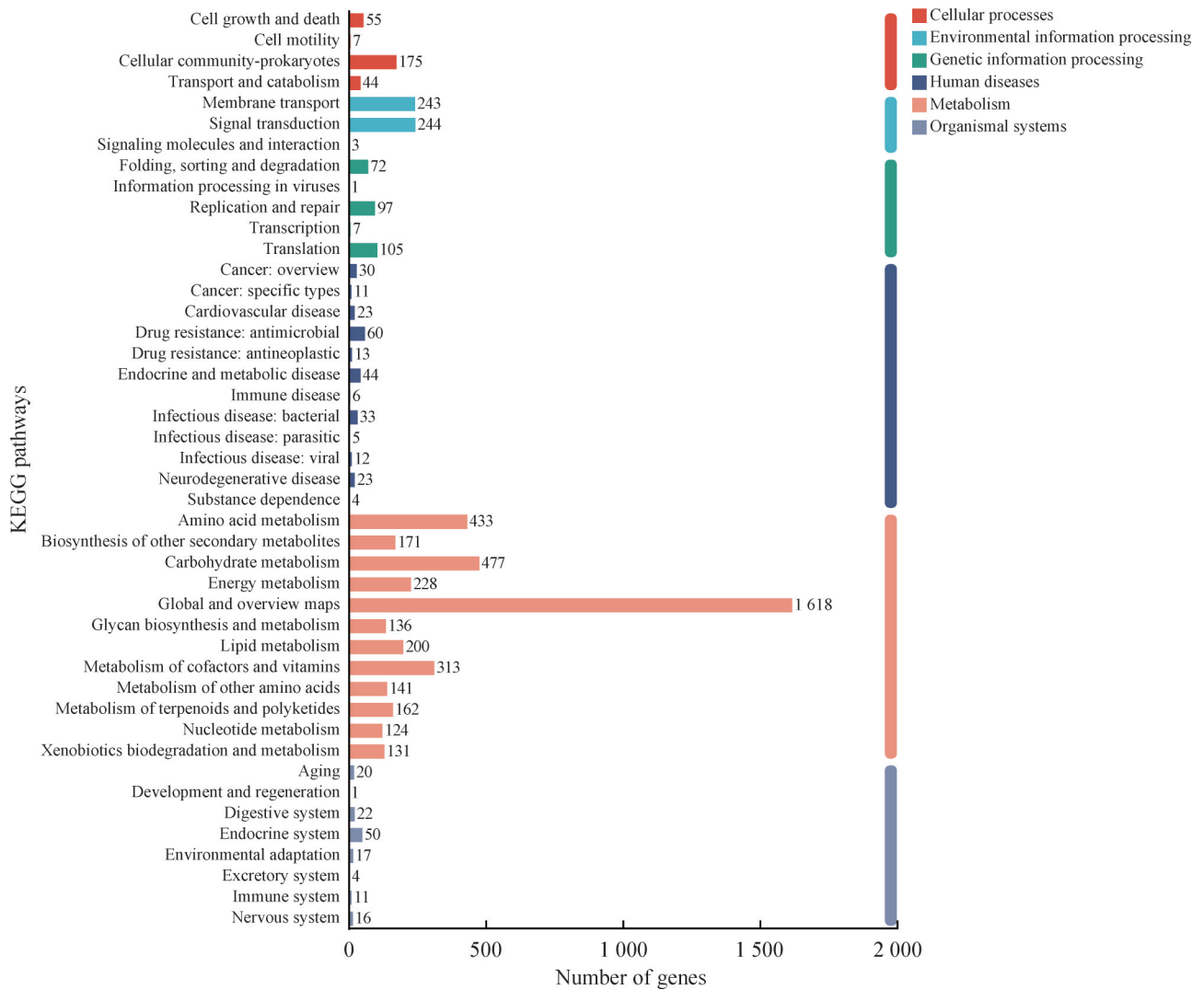


图4 菌株YH02基因组的KEGG功能分类

Figure 4 KEGG functional classification diagram of the genome of strain YH02.

物学功能及应用价值。

2.3 蛋白质亚定位分析

利用生物信息学工具 SignalP 和 TMHMM 进行亚细胞定位预测, 共鉴定出 1 620 个具有跨膜螺旋的蛋白质和 233 个分泌蛋白。将菌株 YH02 的蛋白质组与 CARD、PHI-base 和 VFDB 数据库进行比较分析, 共鉴定出 467 个与抗生素抗性相关的蛋白质。此外, 还发现了 1 169 个与病原体-宿主互作相关的蛋白质和 619 个毒力因子。这些蛋白质和毒力因子在盐湖生境中可

能具有非致病性的独特作用。它们可能参与分解盐湖周边的特殊有机物质以获取营养, 而非侵染宿主。在应对盐湖的高盐、高碱等极端环境压力时, 这些因子可能参与细胞内的渗透压调节和抗氧化防御机制, 保障菌株的存活。同时, 它们可能在与盐湖生态系统中的其他微生物竞争中发挥抑制作用, 有助于维持微生物群落的平衡^[30]。

2.3.1 分泌系统蛋白分析

细菌的分泌系统是一组复杂的跨膜蛋白质

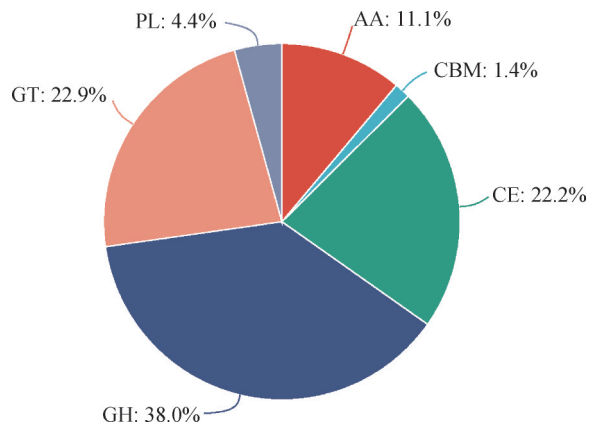


图5 菌株YH02中碳水化合物酶分布图

Figure 5 The distribution proportion diagram of carbohydrate enzyme. AA: Auxiliary activities; CBM: Carbohydrate-binding modules; CE: Carbohydrate esterases; GH: Glycoside hydrolases; GT: Glycosyl transferases; PL: Polysaccharide lyases.

机器, 负责将蛋白质和其他分子从细胞内部转运到细胞外环境。根据最新的研究进展, 这些系统被分类为 6 种主要类型, 即 I 型至 VI 型^[31]。利用基于 KEGG 数据库的 Diamond 软件进行分析, 预测到菌株 YH02 中存在 2 个 IV 型分泌系统相关蛋白 VirD4, 这 2 个蛋白可能直接

参与效应蛋白或 DNA 的识别和传递, 并将其转运至分泌通道^[32-33]。此外, 还鉴定出 12 个 Sec-SRP 蛋白质, 这些蛋白质参与将蛋白质从细胞质转移到细胞外空间或周质空间, 以及 3 个 Tat 蛋白质, 这些 Tat 蛋白质通过双精氨酸信号肽促进蛋白质在未折叠状态下穿过细胞膜^[34]。这些发现为理解菌株 YH02 的分泌机制提供了新的见解, 并可能有助于揭示其在环境适应性方面的作用。

2.3.2 转运蛋白分析

将菌株 YH02 的全部蛋白质序列与 TCDB 数据库比对后, 共鉴定出 1 030 个转运蛋白 (图 6)。这些蛋白质被归类为 7 个不同的类别: 原发性主动转运体、电化学势驱动的转运体、未完全表征的转运系统、通道/孔隙、参与转运的辅助因子、群体转运体和跨膜电子载体。其中, 原发性主动转运体数量最为丰富, 由 465 个成员构成了最大的群体; 而跨膜电子载体类别的代表性最低, 比例为 0.68%。这一全面的注释有助于更深入地理解菌株的转运机制, 对于阐明其生理特性和适应能力至关重要。

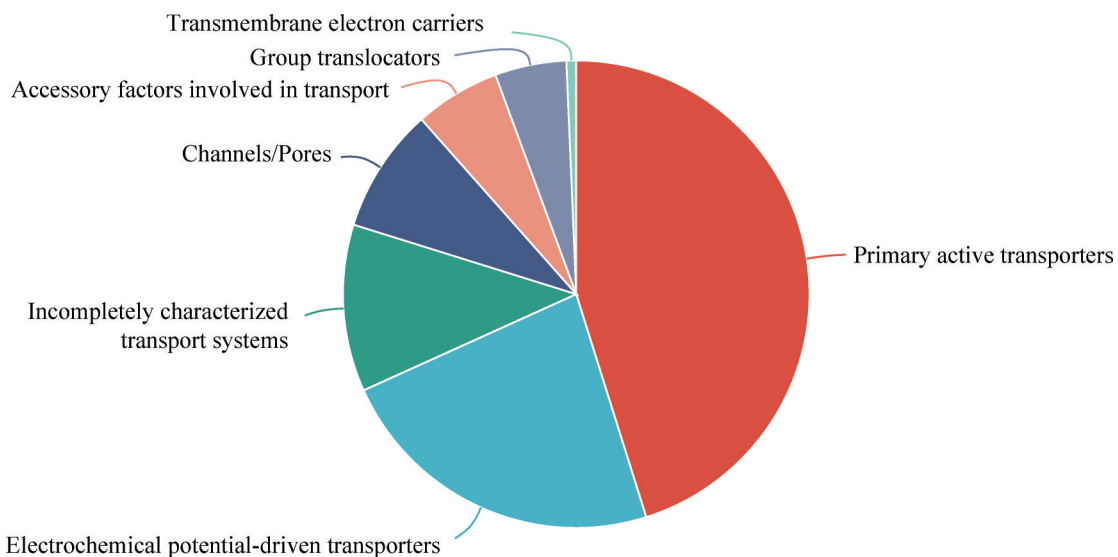


图6 菌株YH02中转运蛋白功能分类图

Figure 6 Functional classification diagram of transport proteins.

2.4 次级代谢产物生物合成基因簇的预测分析

运用 Antismash v7.0 软件对菌株 YH02 的基因组进行预测分析, 共鉴定出 32 个与次级代谢产物生物合成相关的基因簇(表 1)。这些基因簇涵盖了多种功能类别, 具体包括 6 个非核糖体肽合成酶 (non-ribosomal peptide synthetase, NRPS) 基因簇、4 个聚酮合成酶 (polyketide synthases, PKS) 基因簇、3 个萜烯 (terpene) 类化合物基因簇、3 个铁载体 (siderophore) 类基因簇、3 个羊毛硫肽 (lanthipeptide) 类基因簇、2 个核糖体合成和翻译后修饰肽 (ribosomally synthesized and post-translationally modified peptides, RiPP) 基因簇、2 个丁内酯 (butyrolactone) 基因簇、2 个黑色素 (melanin) 基因簇以及 1 个与四氢嘧啶 (ectoine) 合成相关的基因簇。其余 6 个被预测为线性唑类化合物 (linear azole-containing peptides, LAP)、吲哚 (indole)、亚麻硫肽 (linaridin)、环二肽合酶 (cyclodipeptide synthases, CDPS)、套索肽 (lassopeptide) 和其他未分类的合成基因簇。特别地, 基因簇 2、4、5、10、12、15 和 29 分别与委内瑞拉霉素 (venezuelin)、依克多因 (ectoine)、土臭素 (geosmin)、去铁胺素 (desferrioxamin) B、环肽菌素 (cypemycin)、A 因子 (A-factor) 和 2-甲基异冰片 (2-methylisoborneol) 的生物合成密切相关, 其相似性均为 100%, 占菌株 YH02 总基因簇的 21.88%。相比之下, 基因簇 17、24、25 和 28 分别与黄素 (flaviolin)、aluminum/prealuminum/thaluminum、禾烯 (hopene)、盐生菌素 (salinichelins) 的生物合成基因簇具有高度相似性, 相似度介于 50%–76%, 这表明菌株 YH02 具有合成抗炎、抗菌、抗肿瘤和抗病毒活性等多种生物活性物质的潜力。此外, 还有 17 个基因簇与已知化合物的生物合成基因簇相似性较低 (低于 31%), 如耐久霉素 (enduracidin)、herboxidiene、primycin、

亮菌素 (leinamycin)、瑞贝卡霉素 (rebeccamycin)、malacidin、兰卡霉素 (lankamycin)、istamycin、colabomycin E、chlorotonil A、murayaquinone、ficellomycin、红菌素 (rubradirin)、coelimycin P1、甲酰霉素 A-M (formicamycins A-M)、黑色素 (melanin) 和弗鲁利霉素 (friulimicin) 等。

2.5 16S rRNA 基因系统发育分析

通过对菌株 YH02 的 16S rRNA 基因序列 (1 523 nt) 进行 BLAST 分析发现, 其与 5 个链霉菌属模式菌株的 16S rRNA 基因序列具有高度相似性, 即 *S. venezuelae* ATCC 10712 (99.93%)、*S. zaomyceticus* NBRC 13348 (99.93%)、*S. exfoliatus* NRRL B-2924 (99.86%)、*S. vilmorinianum* YP1 (99.8%) 和 *S. gardneri* NBRC 12865 (99.65%)。基于 16S rRNA 基因序列构建的系统发育树显示, 菌株 YH02 与 *S. venezuelae* ATCC 10712 聚类于同一节点, 且与 *S. zaomyceticus* NBRC 13348 的亲缘关系较近。这一亲缘关系在采用邻接 (NJ) 法和最大似然 (ML) 法构建的系统发育树中均得到一致体现 (图 7、图 8)。

2.6 比较基因组分析

2.6.1 菌株 YH02 的核心和泛基因组

利用 16S rRNA 基因序列比对结果, 选择与菌株 YH02 序列相似度较高的链霉菌属模式菌株进行全基因组比较。选定的菌株包括 *S. venezuelae* ATCC 10712、*S. zaomyceticus* NBC 00278、*S. exfoliatus* NBC_00077、*S. vilmorinianum* YP1 和 *S. gardneri* ATCC 15439。通过泛基因组分析, 共鉴定出 15 739 个直系同源基因簇 (图 9)。这些基因簇进一步被划分为核心基因组, 包含 4 267 个在所有菌株中普遍存在的同源基因簇 (占 27.12%), 附属基因组, 包含 3 836 个在部分菌株中发现的同源基因簇 (占 24.37%), 以及 7 636 个菌株特异性的同源基因簇 (占 48.51%)。泛基因组的大小是这 6 株菌株平均基因组大小

表1 菌株YH02基因组中的次级代谢产物生物合成基因簇

Table 1 The gene clusters for the biosynthesis of secondary metabolites in the genome of strain YH02

Region number	Gene cluster type	Start	End	Predicted product	Similarity (%)
1	NRPS	2	112 887	Enduracidin	14
2	Lanthipeptide-class-iv	300 441	323 174	Venezuelin	100
3	NRPS	402 054	453 041	Herboxidiene	2
4	Ectoine	583 795	594 212	Ectoine	100
5	Terpene	621 444	642 362	Geosmin	100
6	Lanthipeptide-class-ii	889 209	950 699	Primycin	5
7	NRPS-like	953 289	1 022 495	Leinamycin	22
8	Indole	1 160 109	1 183 373	Rebeccamycin	25
9	CDPS	2 348 037	2 368 751	Malacidin	5
10	Siderophore	2 988 237	2 998 118	Desferrioxamin B	100
11	NRPS-like	4 562 363	4 605 498	Lankamycin	16
12	Linaridin	5 137 647	5 160 275	Cypemycin	100
13	Melanin	5 175 473	5 183 729	Istamycin	8
14	Butyrolactone	5 545 020	5 554 900	Colabomycin E	4
15	Other	5 657 024	5 698 134	A-factor	100
16	LAP	5 703 255	5 762 595	Chlorotonil A	15
17	T3PKS	5 985 845	6 026 979	Flaviolin	50
18	Siderophore	6 074 562	6 086 959	Murayaquinone	6
19	Siderophore	6 119 730	6 134 556	Ficellomycin	3
20	T1PKS	6 279 271	6 381 294	Rubradirin	31
21	RiPP-like	6 470 007	6 480 677	-	-
22	Butyrolactone	6 596 825	6 607 776	Coelimycin P1	8
23	T1PKS	6 745 282	6 808 200	Formicamycins A-M	18
24	T2PKS	6 942 292	7 014 832	Alnumycin/Prealnumycin/Thalnumycin	75
25	Terpene	7 157 915	7 183 759	Hopene	76
26	RiPP-like	7 235 466	7 246 348	-	-
27	Melanin	7 497 255	7 507 633	Melanin	28
28	NRPS	7 680 916	7 731 629	Salinichelins	61
29	Terpene	7 743 561	7 764 938	2-methylisoborneol	100
30	NRPS	7 770 573	7 827 609	-	-
31	Lanthipeptide-class-iii	7 889 159	7 911 817	-	-
32	Lassoptide	8 221 130	8 285 116	Friulimicin	15

-: No similar gene cluster predicted.

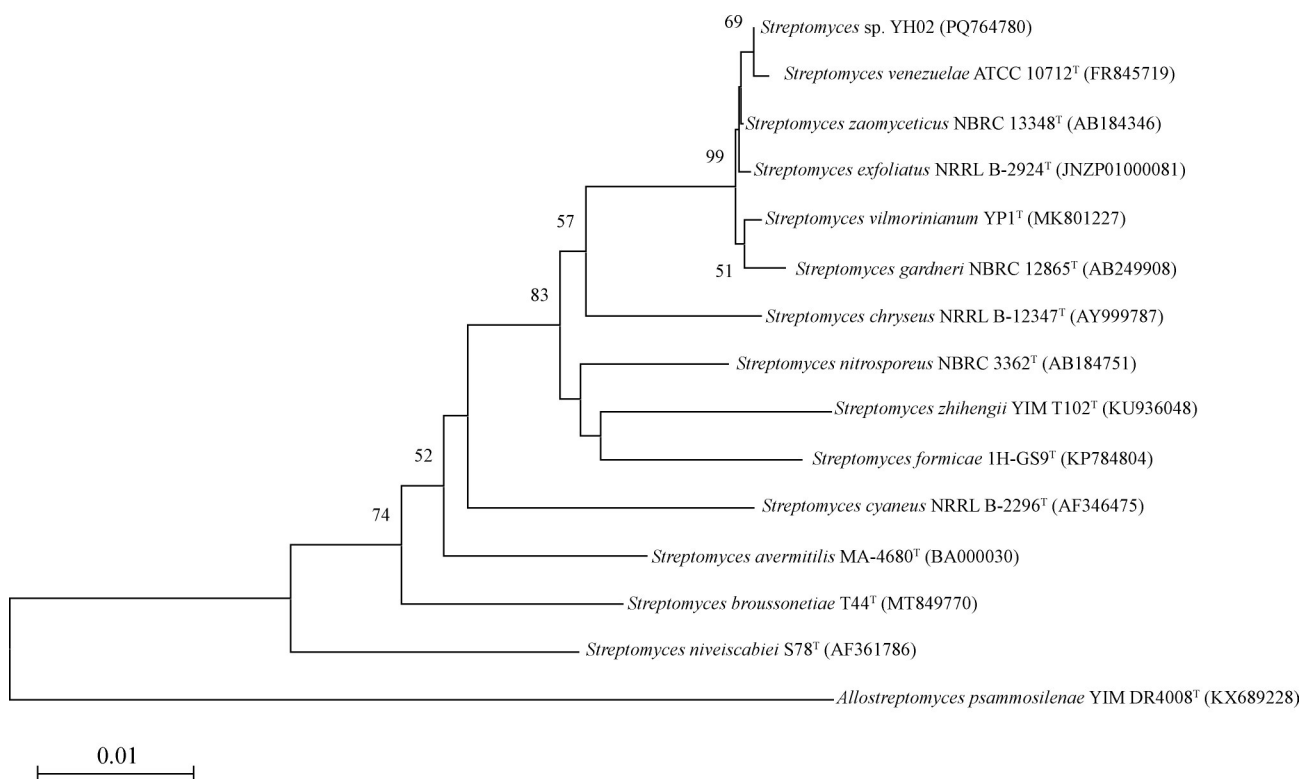


图7 基于16S rRNA基因序列构建的邻接法系统发育树

Figure 7 The neighbor-joining phylogenetic tree based on 16S rRNA gene sequences of strain YH02 was constructed with closely related type species. *Allostreptomyces psammosilena* YIM DR4008^T was selected as the outgroup. Bootstrap values of above 50% are shown at the branch points. Bar: 0.01 substitutions per nucleotide position.

的 1.97 倍，其中核心基因组占平均菌株基因组大小的 57%。

2.6.2 ANI 和 dDDH 值计算

为了对菌株 YH02 进行更精确地分类，基于全基因组比对计算了 6 株菌株基因组之间的平均核苷酸一致性 (ANI) 值和 DNA-DNA 杂交 (dDDH) 值 (表 2)。结果显示，菌株 YH02 与 *S. venezuelae* ATCC 10712 之间的 ANI 值为 90.91%，dDDH 值为 39.80%，与 *S. zaomyceticus* NBC 的 ANI 值为 91.02%，dDDH 值为 47.90%，与其他所有模式菌株之间的 ANI 值均低于 95.00%，dDDH 值均小于 70.00%，这一结果表明菌株 YH02 可能是链霉菌属 (*Streptomyces*) 中的

一个潜在新种^[35]。

2.6.3 形态和生理生化分析

基于 16S rRNA 基因序列比对以及 ANI 和 dDDH 计算结果，选取 *S. venezuelae* ATCC 10712、*S. zaomyceticus* NBC 00278、*S. exfoliatus* NBC_00077 与菌株 YH02 进行形态和生理生化特性比较，结果见表 3。菌株 YH02 在 ISP 2 培养基上的气生菌丝体颜色为浅粉色，与其他类型菌株不同。菌株 YH02 最大耐受 pH 值可达 12.0，其最大氯化钠耐受量以及生长温度也与 3 个近缘菌株存在差异。在淀粉水解方面，菌株 YH02 仅能微弱水解，而其余菌株均能有效水解淀粉。此外，菌株 YH02 具有明胶液化、硝酸盐

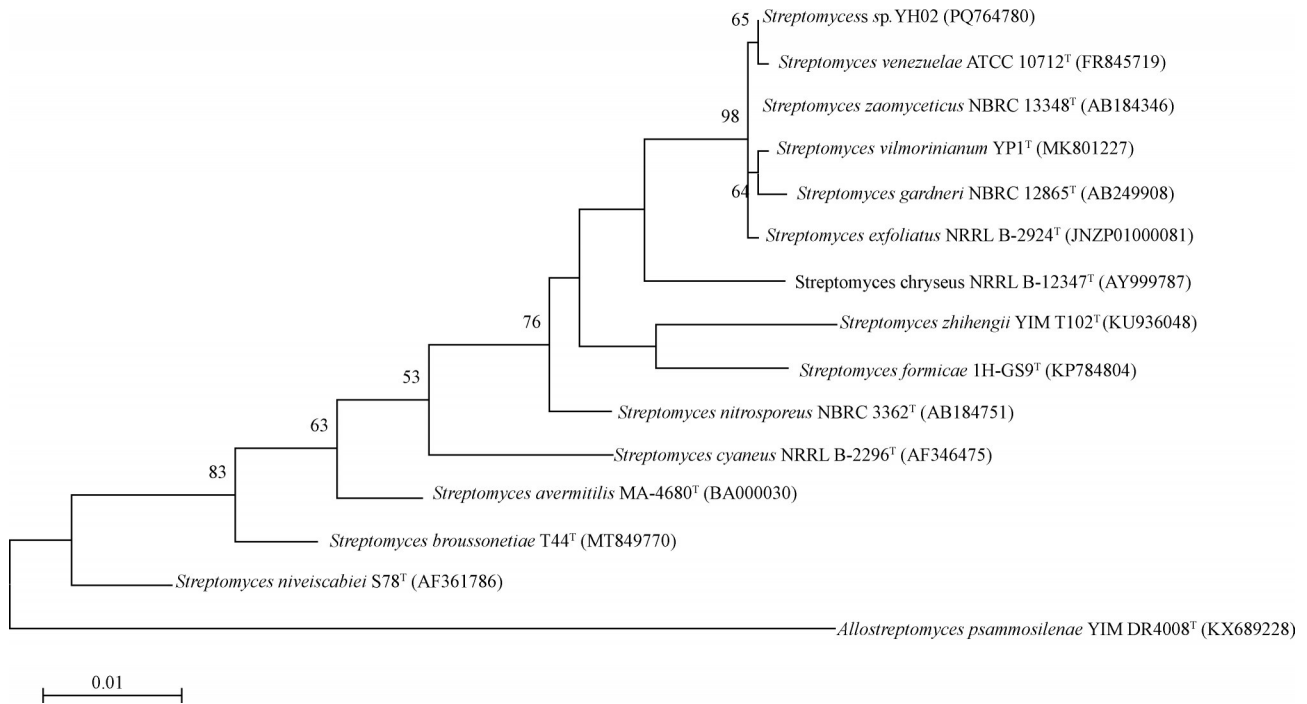


图8 基于16S rRNA基因序列构建的最大似然法系统发育树

Figure 8 The maximum-likelihood phylogenetic tree based on 16S rRNA gene sequences of strain YH02 was constructed with closely related type species. *Allostreptomyces psammosileneae* YIM DR4008^T was selected as the outgroup. Bootstrap values of above 50% are shown at the branch points. Bar: 0.01 substitutions per nucleotide position.

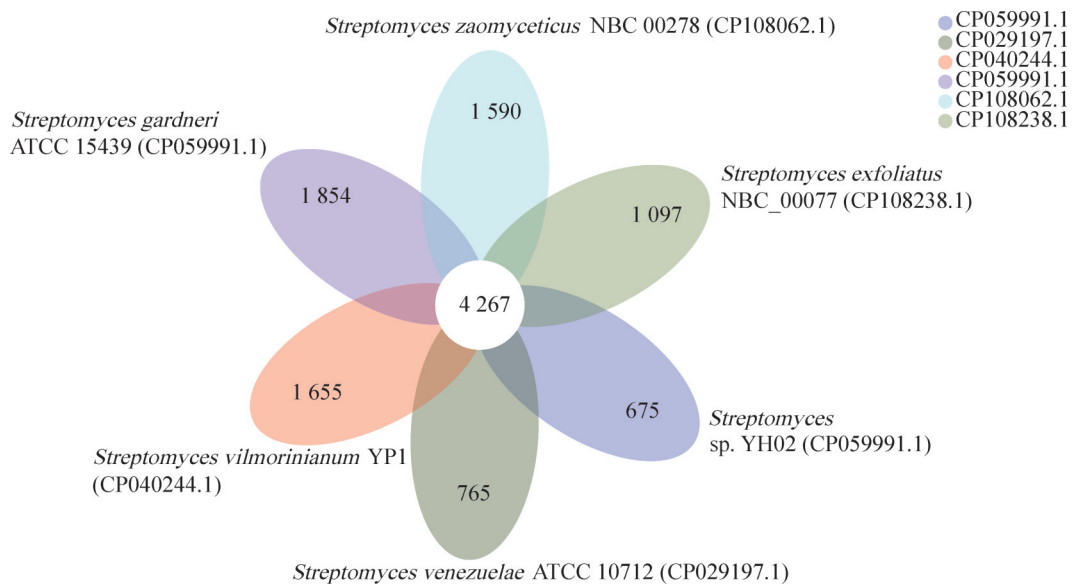


图9 泛基因组韦恩图

Figure 9 Venn diagram of Pan-genome homology. The Venn diagram shows the number of orthologous gene clusters of the core genome (the center part) and the numbers of unique genes of each genome.

表2 菌株YH02与其近缘物种之间的平均核苷酸一致性值和DNA-DNA杂交值

Table 2 Average nucleotide identities and digital DNA-DNA hybridization values between strain YH02 and their related species

Similarity index	1	2	3	4	5
ANI (%)	90.91	91.02	90.23	87.28	89.18
dDDH (%)	39.80	47.90	37.20	35.00	37.20

1: *S. venezuelae* ATCC 10712; 2: *S. zaomyceticus* NBC 00278; 3: *S. exfoliatus* NBC_00077; 4: *S. vilmorinianum* YP1; 5: *S. gardneri* ATCC 15439.

还原阳性、牛奶凝固缓慢的特性。基于此，菌株 YH02 被确认为链霉菌属(*Streptomyces*)潜在新种。

3 讨论与结论

链霉菌属(*Streptomyces*)物种在多样的生态环境中展现出卓越的适应能力，使其能在极端条件下如高温、高盐和低氧环境中生长繁殖^[39]。这种生态适应性使得链霉菌属成为研究新化合物的重要资源，尤其是在深海、沙漠、冰原和

火山地带等特殊生境中^[40]。菌株 YH02 是我们课题组从山西运城盐湖土壤沉积物中分离得到的一株链霉菌。大多数常用抗生素来源于链霉菌，但传统的实验和鉴定方法在全面分析链霉菌的作用机制方面存在局限^[41]。因此，深入研究菌株 YH02 的基因组序列具有重要意义。通过全基因组测序和生物信息学分析，获得了菌株 YH02 的完整基因组序列，其基因组大小为 8 285 116 bp，编码 7 237 个基因。利用 GO、COG 和 KEGG 等数据库进行比对，完成了 YH02 基因组注释和数据整理。分析结果显示，菌株 YH02 的基因功能主要集中在生物代谢过程，尤其是次级代谢产物的合成和调控上。此外，通过 CAZy 数据库的注释分析，在菌株 YH02 中鉴定出多种与碳水化合物代谢相关的酶，其中数量最多的是糖苷水解酶和糖基转移酶，这些酶在复杂碳水化合物的降解和次级代谢产物的生产中可能发挥关键作用^[42-44]。转运蛋白分析揭示了 YH02 基因组中存在 1 030 种不同类型的转运蛋白，这些蛋白参与能量转换和物质转运过程，并与其在特定生境中的适应性

表3 菌株YH02与近缘物种之间的差异特征

Table 3 Differential characteristics between the strain YH02 and related species of *Streptomyces*

Characteristics	1 [#]	2 ^[36]	3 ^[37]	4 ^[38]
Spore chain	Rectiflexibile	Rectiflexibile	Rectiflexibile	Flexibile/Spiral
Aerial mass color on ISP 2	Light pink	Yellowish gray	White	White
Diffusion pigment on ISP 2	-	-	nd	-
pH range for growth	6.0-12.0	6.5-7.5	6.5-7.5	nd
Maximum NaCl tolerance (%)	5	2.5	nd	6
Temperature range for growth (°C)	16-37	25-30	30	10-37
Hydrolyze of starch	w	+	+	+
Gelatin hydrolysis	+	+	+	w
Nitrate reduction	+	+	+	-
Milk coagulation	w	nd	+	w

1: *Streptomyces* sp. YH02; 2: *S. venezuelae* ATCC 10712; 3: *S. zaomyceticus* NBC 00278; 4: *S. exfoliatus* NBC_00077. +: Positive or present; -: Negative or absent; w: Weak; nd: No report. #: All data from this study.

和代谢能力紧密相关^[45]。

运用 Antismash v7.0 软件进行预测分析, 共鉴定出 32 个次级代谢产物生物合成基因簇, 表明菌株 YH02 具有合成多种具有不同结构和功能的次级代谢产物的能力^[46]。非核糖体肽合成酶(NRPS)和聚酮合酶(PKS)基因簇的存在表明菌株 YH02 有潜力产生结构复杂的非核糖体肽和聚酮化合物, 在制药领域具有广阔的应用前景。例如, 与 NRPS 基因簇相关的非核糖体肽是一类具有强大抗菌性能的抗生素^[47]。此外, PKS 基因簇与具有抗肿瘤和抗真菌活性的聚酮化合物的生物合成相关^[48]。萜烯和铁载体基因簇的存在意味着菌株 YH02 可能能够合成具有免疫调节和抗菌特性的化合物^[49-50]。羊毛硫肽生物合成基因簇的存在进一步强调了菌株 YH02 在合成具有新型结构和生物活性的次级代谢产物方面的潜力^[51]。值得注意的是, 与已知化合物如委内瑞拉霉素、依克多因和土霉素等具有高相似性的基因簇, 在抗氧化、抗菌和抗病毒能力方面表现出显著的生物活性; 这表明 YH02 可能有能力产生这些已知的生物活性物质, 为进一步的药物开发和应用奠定了基础^[52]。

比较基因组学分析揭示了菌株 YH02 的独特基因组特征, 表明其在链霉菌属中的特有系统发育位置; 在泛基因组分析预测的 15 739 个直系同源基因簇中, 核心基因组的比例为 27.12%, 这不仅突显了链霉菌属基本生物学功能的保守性, 也反映了种间遗传异质性的存在^[53]。构建的系统发育树以及 ANI 和 dDDH 值的计算进一步明确 YH02 与其他链霉菌属参考菌株之间的亲缘关系, 尽管 YH02 与 *S. venezuelae* ATCC 10712 和 *S. zaomyceticus* NBC 00278 表现出较近的亲缘关系, 但其 ANI 值低于 95% 的阈值, dDDH 值也低于 70%, 提示 YH02 可能具有新的

分类地位^[35]。这种分类上的差异, 暗示 YH02 在适应特定环境压力的过程中可能经历了独特的进化历程^[54]。

作者贡献声明

李珍华: 研究构思和设计, 论文撰写和修改; 王佳欣: 数据收集和处理; 张琳婕: 协助实验操作; 孙宇佳: 数据收集和处理; 田蓉: 协助实验操作; 杨瑾: 提供技术支持; 刘缙: 研究构思和设计, 参与论文讨论。

作者利益冲突公开声明

作者声明不存在任何可能会影响本文所报告工作的已知经济利益或个人关系。

参考文献

- [1] DAI QY, MA MZ, WANG N, ZHOU YF, ZHANG ZZ. Antiproliferative metabolites against glioma cells from the marine-associated actinomycete *Streptomyces* sp. ZZ735[J]. *Fitoterapia*, 2024, 178: 106176.
- [2] KAEWKLA O, PERKINS M, THAMCHAIPENET A, SAIJUNTHA W, SUKPAÑO A S, SURIYACHADKUN C, CHAMROENSAKSRI N, CHUMROENPHAT T, FRANCO CMM. Description of *Streptomyces naphthomycinicus* sp. nov., an endophytic actinobacterium producing naphthomycin A and its genome insight for discovering bioactive compounds[J]. *Frontiers in Microbiology*, 2024, 15: 1353511.
- [3] KANCHANASIN P, SRIPREECHASAK P, SURIYACHADKUN C, SUPONG K, PITTAYAKHAJONWUT P, SOMPHONG A, TANASUPAWAT S, PHONGSOBITANUN W. *Streptomyces macrolidinus* sp. nov., a novel soil actinobacterium with potential anticancer and antimalarial activity[J]. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 2023, 73(1): 005682.
- [4] Van WEZEL GP, MCDOWALL KJ. The regulation of the secondary metabolism of *Streptomyces*: new links and experimental advances[J]. *Natural Product Reports*, 2011, 28(7): 1311-1333.
- [5] ZHAO M, WANG MR, WANG SL, XIONG LB, GAO B, LIU M, TAO XY, WANG FQ, WEI DZ. A self-sustained system spanning the primary and secondary metabolism stages to boost the productivity of *Streptomyces*[J]. *ACS Synthetic Biology*, 2022, 11(1): 353-365.
- [6] QUINN GA, BANAT AM, ABDELHAMEED AM, BANAT IM. *Streptomyces* from traditional medicine: sources of new innovations in antibiotic discovery[J]. *Journal of Medical Microbiology*, 2020, 69(8):

- 1040-1048.
- [7] KIM S, HILLMAN PF, LEE JY, LEE J, LEE J, CHA SS, OH DC, NAM SJ, FENICAL W. Actinopolymorphols E and F, pyrazine alkaloids from a marine sediment-derived bacterium *Streptomyces* sp.[J]. *The Journal of Antibiotics*, 2022, 75(11): 619-625.
- [8] SENIČAR M, LEGENTIL L, FERRIÈRES V, ELISEVA SV, PETOUD S, TAKEGAWA K, LAFITE P, DANIELLOU R. Galactofuranosidase from JHA 19 *Streptomyces* sp.: subcloning and biochemical characterization[J]. *Carbohydrate Research*, 2019, 480: 35-41.
- [9] YI JS, KIM JM, KANG MK, KIM JH, CHO HS, BAN YH, SONG MC, SON KH, YOON YJ. Whole-genome sequencing and analysis of *Streptomyces* strains producing multiple antineoplastic drugs[J]. *BMC Genomics*, 2022, 23(1): 610.
- [10] SHARAF A, MERCATI F, ELMAGHRABY I, ELBAZ RM, MAREI EM. Functional and comparative genome analysis of novel virulent actinophages belonging to *Streptomyces flavovirens*[J]. *BMC Microbiology*, 2017, 17(1): 51.
- [11] QUACH NT, VU THN, BUI TL, PHAM AT, NGUYEN TTA, LE TTX, TA TTT, DUDHAGARA P, PHI QT. Genome-guided investigation provides new insights into secondary metabolites of *Streptomyces parvulus* SX6 from *Aegiceras corniculatum*[J]. *Polish Journal of Microbiology*, 2022, 71(3): 381-394.
- [12] SHAN YM, GUO D, GU QS, LI YD, LI YQ, CHEN YH, GUAN WJ. Genome mining and homologous comparison strategy for digging exporters contributing self-resistance in natamycin-producing *Streptomyces* strains[J]. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 2020, 104(2): 817-831.
- [13] PIEL J, HERTWECK C, SHIPLEY PR, HUNT DM, NEWMAN MS, MOORE BS. Cloning, sequencing and analysis of the enterocin biosynthesis gene cluster from the marine isolate '*Streptomyces maritimus*': evidence for the derailment of an aromatic polyketide synthase[J]. *Chemistry & Biology*, 2000, 7(12): 943-955.
- [14] BAO HY, LI HJ, ZHANG YY, BECHTHOLD A, YU XP, MA Z. Transposon-based identification of genes involved in the rimocidin biosynthesis in *Streptomyces rimosus* M527[J]. *World Journal of Microbiology & Biotechnology*, 2023, 39(12): 359.
- [15] CHENG K, RONG XY, HUANG Y. Widespread interspecies homologous recombination reveals reticulate evolution within the genus *Streptomyces*[J]. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 2016, 102: 246-254.
- [16] 李楠, 孙大智, 王紫薇, 曹晶晶, 汪志琴, 赵盼, 仲乃琴. 甘蔗鞭黑粉菌拮抗菌鉴定及特性研究[J]. *微生物学报*, 2024, 64(10): 3685-3701.
- LI N, SUN DZ, WANG ZW, CAO JJ, WANG ZQ, ZHAO P, ZHONG NQ. Identification and characterization of sugarcane *Sporisorium scitamineum* antagonists[J]. *Acta Microbiologica Sinica*, 2024, 64(10): 3685-3701 (in Chinese).
- [17] SHIRLING EB, GOTTLIEB D. Methods for characterization of *Streptomyces* species[J]. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 1966, 16(3): 313-340.
- [18] BERLIN K, KOREN S, CHIN CS, DRAKE JP, LANDOLIN JM, PHILLIPPY AM. Assembling large genomes with single-molecule sequencing and locality-sensitive hashing[J]. *Nature Biotechnology*, 2015, 33(6): 623-630.
- [19] 周奕帆, 李陈贵, 许云, 吴文婧, 夏薇, 黄小龙, 黄东益, 周双清. 紫黑链霉菌进化枝菌株 *Streptomyces solisilvae* HNM0141^T 的全基因组分析[J]. *热带作物学报*, 2022, 43(3): 455-462.
- ZHOU YF, LI CG, XU Y, WU WQ, XIA W, HUANG XL, HUANG DY, ZHOU SQ. Analysis of complete genome sequence of *Streptomyces solisilvae* HNM0141^T of the *Streptomyces violaceusniger* clade[J]. *Chinese Journal of Tropical Crops*, 2022, 43(3): 455-462 (in Chinese).
- [20] 罗逊, 丁碧荷, 王印, 罗燕, 姚学萍, 任梅滢, 杨泽晓. 一株兔源 A 型多杀性巴氏杆菌的分离鉴定和全基因组测序及分析[J]. *微生物学通报*, 2024, 51(2): 582-598.
- LUO X, DING BH, WANG Y, LUO Y, YAO XP, REN MS, YANG ZX. Isolation, identification, and whole genome sequencing of a rabbit-derived type A *Pasteurella multocida* strain[J]. *Microbiology China*, 2024, 51(2): 582-598 (in Chinese).
- [21] 阮文伟, 付建红, 崔凤真, 铁瑞岚, 徐国燕, 阿依卡买尔·艾克拜尔. 环圈链霉菌(*Streptomyces anulatus*) 89-2-2 全基因组测序及序列分析[J]. *微生物学通报*, 2024, 51(8): 3085-3102.
- RUAN WW, FU JH, CUI FZ, TIE RL, XU GY, Ayekabayr E. Whole-genome sequencing and sequence analysis of *Streptomyces anulatus* 89-2-2[J]. *Microbiology China*, 2024, 51(8): 3085-3102 (in Chinese).
- [22] YOON SH, HA SM, KWON S, LIM J, KIM Y, SEO H, CHUN J. Introducing EzBioCloud: a taxonomically united database of 16S rRNA gene sequences and whole-genome assemblies[J]. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 2017, 67(5): 1613-1617.
- [23] KIMURA M. A simple method for estimating evolutionary rates of base substitutions through comparative studies of nucleotide sequences[J]. *Journal of Molecular Evolution*, 1980, 16: 111-120.
- [24] LI L, STOECKERT CJ, ROOS DS. OrthoMCL: identification of ortholog groups for eukaryotic genomes[J]. *Genome Research*, 2003, 13(9): 2178-2189.
- [25] LI W, GODZIK A. Cd-hit: a fast program for clustering and comparing large sets of protein or nucleotide sequences[J]. *Bioinformatics*, 2006, 22(13): 1658-1659.
- [26] LEE I, OUK KIM Y, PARK SC, CHUN J. OrthoANI: an improved algorithm and software for calculating average nucleotide identity[J]. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 2016, 66(2): 1100-1103.
- [27] MEIER-KOLTHOFF JP, AUCH AF, KLENK HP, GÖKER M. Genome sequence-based species delimitation with confidence intervals and improved distance functions[J]. *BMC Bioinformatics*, 2013, 14: 60.
- [28] ARAI T, TAMOTSU F, MASA H, AKIHIRO M, YUZURU M. Culture media for actinomycetes[M]. Tokyo: The Society for Actinomycetes Japan, 1975: 1-20.
- [29] WILLIAMS ST, CROSS T. Chapter XI actinomycetes[J]. *Methods in Microbiology*, 1971, 4: 295-334.
- [30] PRINS RA, VRIJ W, GOTTSCHAL JC, HANSEN TA. Adaptation of microorganisms to extreme environments[J]. *FEMS Microbiology Reviews*, 1990, 6(2/3): 103-104.
- [31] GREEN ER, MECSAS J. Bacterial secretion systems: an overview[J]. *Microbiology Spectrum*, 2016, 4(1): VMBF-0012-2015.
- [32] COSTA TRD, HARB L, KHARA P, ZENG L, HU B,

- CHRISTIE PJ. Type IV secretion systems: advances in structure, function, and activation[J]. *Molecular Microbiology*, 2021, 115(3): 436-452.
- [33] ATMAKURI K, CASCALES E, CHRISTIE PJ. Energetic components VirD4, VirB11 and VirB4 mediate early DNA transfer reactions required for bacterial type IV secretion[J]. *Molecular Microbiology*, 2004, 54(5): 1199-1211.
- [34] FREUDL R. Signal peptides for recombinant protein secretion in bacterial expression systems[J]. *Microbial Cell Factories*, 2018, 17(1): 52.
- [35] THOMPSON CC, CHIMETTO L, EDWARDS RA, SWINGS J, STACKEBRANDT E, THOMPSON FL. Microbial genomic taxonomy[J]. *BMC Genomics*, 2013, 14: 913.
- [36] EHRLICH J, GOTTLIEB D, BURKHOLDER PR, ANDERSON LE, PRIDHAM TG. *Streptomyces venezuelae*, n. sp., the source of chloromycetin[J]. *Journal of Bacteriology*, 1948, 56(4): 467-477.
- [37] HINUMA Y. Zaomycin, a new antibiotic from a *Streptomyces* sp. [J]. *Journal of Antibiotics*, 1954, 7(4): 134-136.
- [38] WAKSMAN SA, CURTIS RE. The Actinomycetes of the soil[J]. *Soil Science*, 1916, 1: 99-134.
- [39] WEN Y, ZHANG GS, BAHADUR A, XU YT, LIU Y, TIAN M, DING W, CHEN T, ZHANG W, LIU GX. Genomic investigation of desert *Streptomyces huasconensis* D23 reveals its environmental adaptability and antimicrobial activity[J]. *Microorganisms*, 2022, 10(12): 2408.
- [40] KAMJAM M, SIVALINGAM P, DENG Z, HONG K. Deep sea actinomycetes and their secondary metabolites[J]. *Frontiers in Microbiology*, 2017, 8: 760.
- [41] MAST Y, STEGMANN E. Actinomycetes: the antibiotics producers[J]. *Antibiotics*, 2019, 8(3): 105.
- [42] GÓMEZ C, HORNA DH, OLANO C, MÉNDEZ C, SALAS JA. Participation of putative glycoside hydrolases SlgC1 and SlgC2 in the biosynthesis of streptolydigin in *Streptomyces lydicus*[J]. *Microbial Biotechnology*, 2012, 5(5): 663-667.
- [43] 高小晓, 孟虹, 李蓉, 李宪臻. 糖苷水解酶7家族蛋白在纤维素降解中作用的研究进展[J]. *微生物学杂志*, 2020, 40(6): 113-117.
GAO XX, MENG H, LI R, LI XZ. Advances in cellulose degradation by glycoside hydrolase family 7 proteins[J]. *Journal of Microbiology*, 2020, 40(6): 113-117 (in Chinese).
- [44] 曹孟婵, 张部昌. 大环内酯类抗生素糖基合成及生物学功能[J]. *中国抗生素杂志*, 2007, 32(3): 140-145.
CAO MC, ZHANG BC. Glycosyl synthesis and biofunction of macrolide antibiotics[J]. *Chinese Journal of Antibiotics*, 2007, 32(3): 140-145 (in Chinese).
- [45] TAKANO H, TORIUMI N, HIRATA M, AMANO T, OHYA T, SHIMADA R, KUSADA H, AMANO S, MATSUDA K, BEPPU T, UEDA K. An ABC transporter involved in the control of streptomycin production in *Streptomyces griseus*[J]. *FEMS Microbiology Letters*, 2016, 363(14): fnw149.
- [46] BLIN K, SHAW S, AUGUSTIJN HE, REITZ ZL, BIERMANN F, ALANJARY M, FETTER A, TERLOUW BR, METCALF WW, HELFRICH EJN, VAN WEZEL GP, MEDEMA MH, WEBER T. antiSMASH 7.0: new and improved predictions for detection, regulation, chemical structures and visualisation[J]. *Nucleic Acids Research*, 2023, 51(W1): W46-W50.
- [47] DROR B, WANG ZQ, BRADY SF, JURKEVITCH E, CYTRYN E. Elucidating the diversity and potential function of nonribosomal peptide and polyketide biosynthetic gene clusters in the root microbiome[J]. *mSystems*, 2020, 5(6): e00866-20.
- [48] KOMAKI H, SAKURAI K, HOSOYAMA A, KIMURA A, TRUJILLO ME, IGARASHI Y, TAMURA T. Diversity of PKS and NRPS gene clusters between *Streptomyces abyssomicinicus* sp. nov. and its taxonomic neighbor[J]. *The Journal of Antibiotics*, 2020, 73(3): 141-151.
- [49] ZHANEL GG, GOLDEN AR, ZELENITSKY S, WIEBE K, LAWRENCE CK, ADAM HJ, IDOWU T, DOMALAON R, SCHWEIZER F, ZHANEL MA, LAGACÉ-WIENS PRS, WALKTY AJ, NOREDDIN A, LYNCH III JP, KARLOWSKY JA. Cefiderocol: a siderophore cephalosporin with activity against carbapenem-resistant and multidrug-resistant Gram-negative bacilli[J]. *Drugs*, 2019, 79(3): 271-289.
- [50] KU CM, LIN JY. Anti-inflammatory effects of 27 selected terpenoid compounds tested through modulating Th1/Th2 cytokine secretion profiles using murine primary splenocytes[J]. *Food Chemistry*, 2013, 141(2): 1104-1113.
- [51] CHENG Z, HE BB, LEI K, GAO Y, SHI Y, ZHONG Z, LIU H, LIU R, ZHANG H, WU S, ZHANG W, TANG X, LI YX. Rule-based omics mining reveals antimicrobial macrocyclic peptides against drug-resistant clinical isolates[J]. *Nature Communications*, 2024, 15(1): 4901.
- [52] KANCHANASIN P, SRIPREECHASAK P, SURIYACHADKUN C, RUEANGSAWANG K, TANASUPAWAT S, PHONGSOPITANUN W. *Streptomyces cylindrosporus* sp. nov. and *Streptomyces spinosiporus* sp. nov.: two new endophytic actinobacteria isolated from the roots of *Barleria lupulina* Lindl[J]. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 2023, 73(5): 005926.
- [53] WANNAWONG T, MHUANTONG W, MACHAROEN P, NIEMHOM N, SITDHIPOL J, CHAIYAWAN N, UMRUNG S, TANASUPAWAT S, SUWANNARACH N, ASAMI Y, KUNCHAROEN N. Comparative genomics reveals insight into the phylogeny and habitat adaptation of novel *Amycolatopsis* species, an endophytic actinomycete associated with scab lesions on potato tubers[J]. *Frontiers in Plant Science*, 2024, 15: 1346574.
- [54] SIDDARAMAPPA S, CHALLACOMBE JF, PETERSEN JM, PILLAI S, HOGG G, KUSKE CR. Common ancestry and novel genetic traits of *Francisella novicida*-like isolates from North America and Australia as revealed by comparative genomic analyses[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2011, 77(15): 5110-5122.