



## 候选门级辐射类群(CPR)细菌研究进展

陶晔<sup>1,2</sup>, 邢鹏<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>中国科学院南京地理与湖泊研究所, 湖泊与环境国家重点实验室, 江苏 南京 210008

<sup>2</sup>中国科学院大学, 北京 100049

**摘要:** 候选门级辐射类群(candidate phyla radiation, CPR)是一类在自然界广泛分布的庞大细菌类群, 成员众多, 基于宏基因组测序结果已划分出 75 个门水平分支。CPR 细菌是研究微生物进化与各类生境微生物协同作用的理想材料与系统, 其在系统进化树中位于细菌域的最外侧, 与古菌域外侧的 DPANN 超门毗邻, 进化地位特殊。该类群具有独特的生物学特性, 如细胞个体小, 基因组精简, 缺少三羧酸循环途径以及常见细菌电子传递链相关基因, 通常需要与宿主共生、纯培养困难, 目前仅在人类口腔中成功分离到一株 CPR 细菌(TM7 菌株 UB2523)。本文综述了 CPR 细菌的发现历程、细胞形态、代谢特征、在碳/氮/硫元素循环中的作用, 以及不依赖于培养的组学技术在 CPR 细菌研究中的应用, 可为深入探究 CPR 细菌的进化地位和驱动地球化学元素循环的方式, 以及与宿主共生系统的互作机制提供参考。

**关键词:** 候选门级辐射类群, 生命之树, “二域假说”, “三域假说”, 共生, 宏基因组

人类对于生物的理解与认识伴随着各种新物种的发现。早在 1859 年, 达尔文在其著名的《物种起源》中首次提出“Tree of Life”(生命之树)的概念, 用来比喻不同物种之间的相互亲缘关系。随着分子生物学的发展, 基于序列特征分子标记用于物种分类与系统进化研究的趋势日益明显<sup>[1-2]</sup>。20 世纪 70 年代末, 卡尔·乌斯(Carl R Woese)等利用核糖体小亚基(small subunit, SSU)

基因在不同物种中的差异作为特征构建系统发育树, 提出目前广泛接受的三域(three-domain hypothesis)假说, 即把地球上所有生物归类到古菌域、细菌域和真核生物域<sup>[3]</sup>。近些年单细胞测序、宏基因组等技术的广泛应用, 使得越来越多新的物种被发现, 更新着我们对于生物分类的理解, 也使“三域”假说受到严重的挑战<sup>[4]</sup>。2013 年 Williams 等综合分析了近 30 年的生物分类系统

基金项目: 国家自然科学基金(31722008, 91751111), 科技部基础资源调查专项(2017FY100300), 中国科学院青年创新促进会(2014273)

\*通信作者。Tel: +86-25-86882112; Fax: +86-25-57714759; E-mail: [pxing@niglas.ac.cn](mailto:pxing@niglas.ac.cn)

收稿日期: 2020-02-28; 修回日期: 2020-04-11; 网络出版日期: 2020-04-26

研究结果,发现相对于细菌与古菌的亲缘关系而言,真核生物与古菌中的泉古菌(旧称 Crenarchaeota, 新称 Eocytes)具有更为接近的亲缘关系,两者为姊妹群,总结性地提出“二域”分类系统,也称为 Eocyte Hypothesis (中文常译为“泉古菌假说”,笔者认为该翻译不适合,见下文解释),即真核生物起源于古菌,将所有生物分为细菌域和古菌域<sup>[5-6]</sup>。

候选门级辐射类群(candidate phyla radiation, CPR)细菌在生命之树上形成一个主要的单系分枝,系统进化地位极其特殊。2015 年 Brown 等研究地下水微生物群落时,首次定义 CPR 细菌,同时运用生物信息方法预估 CPR 可能拥有超过 250 个门,考虑当时估计地球上存在超过 1500 个细菌门<sup>[7-8]</sup>,由此推断 CPR 细菌占有所有细菌种类的 15% 以上。2016 年 Hug 等收集当时所有已知微生物基因组(30437 个),在属(genera)层级内挑选序列组装质量最好的菌株作为该属的代表菌株,共获得 3083 个代表微生物基因组。然后用 16S rDNA 核酸序列与 16 个核糖体蛋白分别构建系统进化树,发现在核酸与蛋白质两个水平上获得的系统进化树形状一致, CPR 细菌处于细菌域最外侧,毗邻古菌域,与 DPANN 超门(包括 5 个古菌门: *Diapherotrites*, *Parvarchaeota*, *Aenigmarchaeota*, *Nanoarchaeota* 和 *Nanohaloarchaeota*)最为接近<sup>[9]</sup>。2019 年 Zhu 等收集超过 1 万个微生物基因组数据,在全基因组水平上通过对 381 个标记基因(markers)的系统进化分析,得到与 Hug 等一致的结论<sup>[10]</sup>。具体来说(图 1),古菌域中重要分支 DPANN 超门最为接近细菌域,而 CPR 细菌分支又最为接近古菌域, DPANN 与 CPR 的遗传差异(假设遗传距离为 A, 图 1)直接影响细菌和古菌的亲缘关系远近;

另一方面,在真核生物与古菌域的亲缘关系中,古菌域的 ASGARD 分支最为接近真核生物(ASGARD 分支发现以前最接近的是泉古菌门),假设两者之间的遗传距离为 B (图 1)。如果  $A > B$ , 那么说明真核生物与古菌更为接近,支持“二域”系统;如果  $A < B$ , 那么说明真核生物需要单独成为“一域”,支持“三域”系统。现今的研究结果中, A 远大于 B, 由此越来越多的学者开始支持“二域”假说。CPR 细菌与 ASGARD 古菌中新物种,尤其是分支最外侧的新物种可以直接影响 A 和 B 的关系,所以寻找两大分支中新物种的工作是当前生命科学和地球科学最为热门的研究领域之一<sup>[11-14]</sup>。随着更多 CPR 细菌的不断发现,细菌域与古菌域的亲缘关系可能逐渐变短,遗传距离 A 与 B 之间的关系如何尚无法定论。无疑 CPR 细菌遗传多样性研究将为生命起源和演化提供极为关键的证据,是微生物系统进化研究的热点之一。

CPR 也称为 *Patescibacteria* 超门,作为一类独特的细菌,在自然界各种生境中都能检测到<sup>[15]</sup>。截止 2020 年 1 月, CPR 细菌已经包含 75 个门水平的分支,对应大于 3000 个基因组草图(或完成图),可见 CPR 细菌是个非常庞大的细菌独立分支,而且在 16S rDNA 序列多样性层面上, CPR 细菌的遗传多样性占细菌总体变异的 50% 以上<sup>[7-8,16-18]</sup>。CPR 细菌细胞形态特殊,是目前已知地球上最小细菌家族的重要子集<sup>[21]</sup>。截止 2020 年 1 月,仅从人类口腔中成功富集培养出一类 CPR 细菌(TM7, *Saccharibacteria*),自然环境中没有可培养 CPR 细菌的报道<sup>[22-23]</sup>。由于缺少分离纯培养菌株,常规微生物学研究方法,例如形态学观察和生理生化检测等等,无法用于 CPR 细菌的研究。不依赖于分离培养的组学技术发展,如扩增子测

序, 宏基因(转录)组和单细胞测序等方法, 使得 CPR 细菌的研究得到快速推进。研究人员在短时间内收集到大量 CPR 细菌的基因组信息, 通过生物信息学分析, 对自然界“隐匿的”庞大细菌类群的生理特征和生态学功能的认识逐渐丰富起来。不过, 在缺少分离培养菌株的情况下, 大量预测结果尚无法获得有效的验证。因此, 我们对 CPR

细菌的认识仍然处于起步阶段。

本文综述了 CPR 细菌的研究历史、形态特征、代谢机制和生态功能以及各类新技术在 CPR 研究过程中起到的重要作用, 以期为更好地认识 CPR 在地球环境中的生态学功能提供理论参考, 也为生命分类系统的确定提供更多的数据和理论支持。

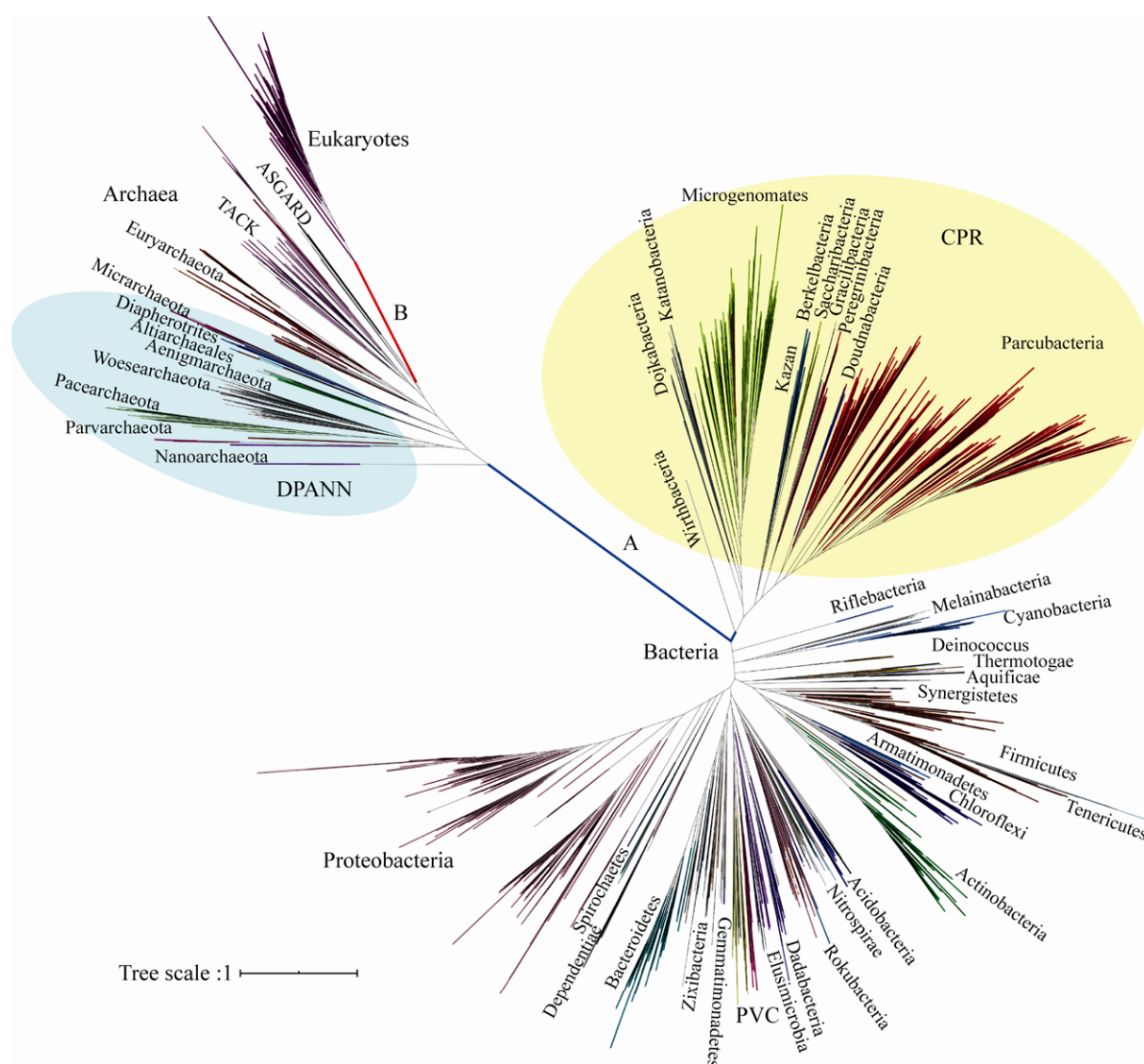


图 1. 细菌、古菌和真核生物的系统进化树

Figure 1. Phylogenetic Tree (Bacteria, Archaea, and Eukaryotes). The trees were calculated using a maximum-likelihood algorithm (RAxML with PROTCATLG model) based on 14 ribosomal proteins (L2–L6, L14, L15, L18, L22, L24, S3, S8, S17 and S19). Branch A: genetic distance between bacteria and archaea. Branch B: genetic distance between archaea and eukaryotes.

# CPR 细菌的研究历史

## 1.1 CPR 细菌的发现

2015 年, Brown 等首次将该分支命名为“候选门级辐射类群”(candidate phyla radiation, CPR)。美国加州大学伯克利分校的 Brown 等对科罗拉多河水体进行宏基因组测序与生物信息学分析, 获得 797 个(其中大多数基因组完整度在 90%以上)以前没有报道过的宏基因组组装的基因组(metagenome-assembled genomes, MAGs), 分布在超过 35 个新的细菌门(phylum)中。通过对来源于宏基因组拼接结果中的 16S rDNA 序列以及已经公布的 16S rDNA 序列进行系统进化分析, Brown 等发现的新细菌门与早期得到的一些候选菌门(如 OD1 和 OP11)相互融合, 且在生命之树中聚集在一起形成一个新的独特的神秘分支, 而这些细菌门中的微生物几乎都无法在实验室中培养<sup>[8]</sup>。

虽然 CPR 细菌概念在 2015 年第一次被提出, 但是对于该类群中部分成员的研究却可以追溯到 20 世纪末。1996 年 Rheims 等利用 16S rDNA PCR 扩增与 Sanger 测序相结合的技术对沼泽中泥炭进行细菌检测, 然后对获得的克隆子进行系统进化树的构建。其中有 25 条 16S 序列无法定位到当时已知的菌属中, Rheims 等将其命名为“TM7”<sup>[22]</sup>。1998 年 Philip 等在美国黄石公园热泉口(黑曜石池, Obsidian Pool)采样, 同样利用 16S rDNA 引物对样品 DNA 进行 PCR 扩增, 通过限制性内切酶多样性技术分析超过 300 个克隆子, 且对其中 122 个代表性克隆子进行 Sanger 双末端测序, 发现 8 条 16S rDNA 来源于未知细菌门。由于这些微生物无法培养, 且受限于当时的分子生物学技术水平, Philip 等只能使用采样点缩写 OP (Obsidian

Pool)作为一系列类细菌的名称(OP1–OP12)<sup>[23–24]</sup>。在 Brown 等 2015 年的系统分析中, TM7 和 OP11 都被归为 CPR 细菌。

CPR 细菌的命名也处在不断发展的过程中。由于几乎所有成员都无法纯培养, 绝大部分的 CPR 细菌所以并不能像其他可培养微生物那样获得一致性的拉丁名称, 使用采样地或者发现者名字缩写命名的习惯一直沿用到现在。Brown 等(2015)在提出 CPR 细菌框架的同时, 建议将其划分为 2 个细菌超门(*Superphyla*)和多个独立的细菌门(或分支), 其中俭菌超门(*Parcubacteria*), 早期研究中命名为“OD1”, 包含 13 个菌门; 小基因组细菌超门(*Microgenomates*), 早期研究也称为“OP11”, 包含 11 个菌门<sup>[8]</sup>。随着研究的深入, 目前已经发现的 CPR 至少包含 75 个门水平的分支, 其中 73 个门已经被研究人员命名, 剩余 4 个门等级的分支还没有获得命名<sup>[10,16,25]</sup> (表 1)。此外, Parks 等在构建微生物标准基因组数据库(GTDB)时, 将 CPR 细菌称为 *Patescibacteria* 门(phylum), 包含 18 个纲(2019 年 12 月版本)<sup>[26]</sup>。GTDB 的分类体系更加注重生物信息学的可操作性, 与 CPR 细菌实际的生物学研究可能并不符合, 因此该分类方法可能并没有较强的参考价值。

## 1.2 CPR 细菌的生境

CPR 细菌广泛存在于地下水、沉积物、含水层、动物口腔等生境中(表 1)。OP11 (小基因组菌超门, *Microgenomates*)被 Hugenholtz 等第一次发现时, 其并不仅仅存在于热泉水体中, 在其他淡水和沉积物样品中也可以被检测到<sup>[23–24]</sup>。WS6 分支在地表污染水体中被发现, 而且 WS6 分支的 16S rDNA 变异程度明显高于其他已知的细菌门, 反映同一环境中存在多种不同的 WS6 分支微生

表 1. CPR 细菌已知门水平成员信息

Table 1. Summary of phylum-level CPR members

Superphylum	Proposed phylum name	Code name	Habitat	References
<i>Parcubacteria</i> (OD1)	<i>Adlerbacteria</i>	—	Groundwater	[8]
	<i>Azambacteria</i>	—		
	<i>Campbellbacteria</i>	—		
	<i>Falkowbacteria</i>	—		
	<i>Gioannonibacteria</i>	—		
	<i>Jorgensenbacteria</i>	—		
	<i>Kaiserbacteria</i>	—		
	<i>Kuenenbacteria</i>	—		
	<i>Magasanikbacteria</i>	—		
	<i>Nomurabacteria</i>	—		
	<i>Uhrbacteria</i>	—		
	<i>Wolfebacteria</i>	—		
	<i>Yanofskybacteria</i>	—		
<i>Microgenomates</i> (OP11)	<i>Amesbacteria</i>	—		[8]
	<i>Beckwithbacteria</i>	—		
	<i>Collierbacteria</i>	—		
	<i>Curtissbacteria</i>	—		
	<i>Daviesbacteria</i>	—		
	<i>Gottesmanbacteria</i>	—		
	<i>Levybacteria</i>	—		
	<i>Pacebacteria</i>	—		
	<i>Roizmanbacteria</i>	—		
	<i>Shapirobacteria</i>	—		
	<i>Woesebacteria</i>	—		
—	<i>Abawacabacteria</i>	—	Aquifer sediments and groundwater	[16]
—	<i>Andersenbacteria</i>	RIF9		
—	<i>Blackburnbacteria</i>	RIF35		
—	<i>Brennerbacteria</i>	RIF18		
—	<i>Buchananbacteria</i>	RIF37		
—	<i>Chisholmbacteria</i>	RIF36		
—	<i>Colwellbacteria</i>	RIF41		
—	<i>Doudnabacteria</i>	SM2F11		
—	<i>Harrisonbacteria</i>	RIF43		
—	<i>Jacksonbacteria</i>	RIF38		
—	<i>Kerfeldbacteria</i>	RIF4		
—	<i>Komeilibacteria</i>	RIF6		
—	<i>Liptonbacteria</i>	RIF42		
—	<i>Lloydbacteria</i>	RIF45		
—	<i>Nealsonbacteria</i>	RIF40		
—	<i>Niyogibacteria</i>	RIF11		
—	<i>Peribacteria</i>	—		
—	<i>Portnoybacteria</i>	RIF22		
—	<i>Ryanbacteria</i>	RIF10		
—	<i>Spechtbacteria</i>	RIF19		

(待续)

(续表 1)

–	<i>Staskawiczbacteria</i>	RIF20		
–	<i>Sungbacteria</i>	RIF17		
–	<i>Tagabacteria</i>	RIF12		
–	<i>Taylorbacteria</i>	RIF16		
–	<i>Terrybacteria</i>	RIF13		
–	<i>Veblenbacteria</i>	RIF39		
–	<i>Vogelbacteria</i>	RIF14		
–	<i>Wildermuthbacteria</i>	RIF21		
–	<i>Woykebacteria</i>	RIF34		
–	<i>Yonathbacteria</i>	RIF44		
–	<i>Zambryskibacteria</i>	RIF15		
–	–	Kazan	Groundwater	[8]
–	–	CPR2		
–	–	CPR3		
–	–	CPR1		
–	<i>Dojkabacteria</i>	WS6		
–	<i>Moranbacteria</i>	–		
–	<i>Brownbacteria</i>	–	Groundwater	[27]
–	<i>Hugbacteria</i>	–		
–	<i>Fertabacteria</i>	–	Dolphin's mouth	[28–29]
–	<i>Katanobacteria</i>	WWE3	Acetate-stimulated aquifer	[30]
–	<i>Saccharibacteria</i>	TM7	sediment	
–	<i>Gribaldobacteria</i>	–	Deep terrestrial aquifers	[31]
–	<i>Howlettbacteria</i>	–	subsurface	
–	<i>Moisslbacteria</i>	–		
–	<i>Torokbacteria</i>	–		
–	<i>Absconditabacteria</i>	SR1/ACD80	Acetate-amended aquifer	[32]
–	<i>Berkelbacteria</i>	ACD58		
–	<i>Gracilibacteria</i>	GN02/BD1-5		
–	<i>Peregrinibacteria</i>	PER		
–	<i>Gottesmanbakteria</i>	–	Anoxic spring	[33]

物<sup>[34]</sup>。Brown 等在富集处理过的水样中检测到 CPR 细菌相对丰度为 10%–70%，而 Danczak 等在正常采集的地下水样品中发现 CPR 细菌的相对丰度在 4%–20% 之间，说明天然存在的 CPR 细菌丰度并不低<sup>[8,27]</sup>。在所有已知的 CPR 细菌中，SM2F11 与 TM7 的生境来源最为广泛。SM2F11 菌除了能在淡水溪流中生存，也在小鼠胃肠道与卵巢癌组织中被检测到<sup>[35–37]</sup>。TM7 在 1996 年沼泽泥炭中被发现后的 20 年中，陆续在海水、土壤、深海沉积物、温泉、昆虫肠道以及人体的不同部位(包

括胃肠道、皮肤和生殖道)中被报道<sup>[21–22,38–39]</sup>。在研究不同地下水深度 CPR 细菌丰度时，发现其在表层、中间层和深层都有分布，其中中间层的丰度最高<sup>[31]</sup>。Herrmann 等比较土壤和淡水中的 CPR 细菌，发现其在水体中的相对丰度明显高于土壤，而且网络分析的结果表明部分 CPR 细菌的丰度与水体营养盐指标呈现负相关关系，说明 CPR 细菌适应寡营养环境<sup>[40]</sup>。深水湖底层类似于深海水体，营养物质极少，Cabello 等在贝尔加湖底层水体中也能组装获得 CPR MAGs，同样反

映 CPR 细菌可以生活在寡营养环境中<sup>[41]</sup>。综上所述,绝大部分已发现的 CPR 细菌来源于地下水、热泉、沉积物等寡营养生境,而且自然丰度不低(表 1)。

## 2 CPR 细菌的形态

CPR 细菌的细胞个体极小。细菌的细胞大小与微生物功能关系密切,如在外界压力(寡营养、低温、高盐等)下,细菌个体往往会变小以降低新陈代谢量;而在富营养环境中,微生物细胞通常会比较大,增加细胞表面积获得充足养分用于生长代谢,因此细胞大小一直是微生物领域的重要研究课题<sup>[42–44]</sup>。20 世纪以前运用生物物理、生物化学的综合分析,学界对最小细菌细胞结构的普遍观点是:一般情况下,细菌细胞的直径约在 0.5–5.0  $\mu\text{m}$  之间。一个拥有独立生活史的细菌最小直径需要在 0.14–0.30  $\mu\text{m}$ , 体积需要在 0.014–0.060  $\mu\text{m}^3$  这个尺度范围,此时 DNA、RNA、蛋白质与脂类等物质才能有足够的空间行使生物学功能<sup>[43,45]</sup>。2000 年左右,当直径在 0.020–0.128  $\mu\text{m}$  的“纳米细菌(nanobacteria)”被观测到时,很多科学家都认为其无法正常行使细胞功能,更有可能无法存活<sup>[46]</sup>。2015 年 Luef 等使用 0.2  $\mu\text{m}$  滤膜过滤科罗拉多州 Rifle 的地下水,运用 16S rDNA 与宏基因组测序技术发现滤膜上含有多数 WWE3 分支、俭菌超门和小基因组菌超门细菌。针对这些 CPR 细菌的 16S rDNA 序列设计特异探针,采用流式细胞-荧光原位杂交(flow cytometry-fluorescence *in situ* hybridization, FISH)与低温透射电子显微镜相结合的技术对滤膜上的 CPR 细菌进行观察,发现细菌体积只有  $(0.009\pm0.002) \mu\text{m}^3$ , 显著低于之前估计的最小值

0.014  $\mu\text{m}^3$ , 是迄今为止体积最小的细胞;而且这些极其微小的细胞都是有活性的。显微电镜的结果还显示,DNA 在极小的细胞中呈现紧密的螺旋包装形态,并没有包装成熟的高密度核糖体结构,DNA 和核糖体在细胞内形成独特的菌毛类似结构<sup>[19]</sup>。后续 CPR 细菌研究中报道的细胞直径普遍小于 0.5  $\mu\text{m}$ <sup>[8,47]</sup>,例如在人类口腔中富集培养得到的 TM7x 单菌(TM7 分支)的细胞直径只有 0.2–0.3  $\mu\text{m}$ <sup>[21]</sup>。利用 0.1  $\mu\text{m}$  和 0.2  $\mu\text{m}$  两种孔径的滤膜对地下水进行过滤,从 16S rDNA 的组成来看,0.1  $\mu\text{m}$  滤膜上 CPR 细菌的相对丰度比 0.2  $\mu\text{m}$  滤膜上多 50%以上,反映地下水中 CPR 细菌直径集中分布在 0.1–0.2  $\mu\text{m}$ <sup>[8]</sup>。挖掘更多的极小体积 CPR 细菌,可以研究生命在极限细胞空间内各个细胞器、能量物质与遗传物质等的排列策略,为人工合成生命提供理论与实践基础。

从仅有的富集培养菌株来看 CPR 细菌的细胞形态具有可变性。2014 年 Soro 等利用富集培养的方法获得 TM7 可培养菌株 UB2523,当其与放线菌(*Actinomyces oris*)或具核梭杆菌(*Fusobacterium nucleatum*)共培养形成双物种生物膜时,UB2523 是长棒状形态,菌丝长度达到 20–200  $\mu\text{m}$ ;而当 UB2523 与牙龈卟啉单胞菌(*Porphyromonas gingivalis*)、中间普氏菌(*Prevotella intermedia*)或格氏链球菌(*Streptococcus gordonii*)共培养时,UB2523 呈现出短杆或球状形态<sup>[20]</sup>。

## 3 CPR 细菌的代谢

随着越来越多 CPR 细菌基因组的发表,研究人员在分析 CPR 细菌基因组结构特征的基础上,进一步揭示了这类在环境中多样性极为丰富的细菌的生存方式和代谢特征。

### 3.1 简化基因组

CPR 细菌目前已经获得的基因组绝大多数小于 1.2 Mb (表 2)。Nelson 等在进行俭菌超门(*Parcubacteria*)基因组分析时发现, 俭菌超门的基因组几乎都在 1 Mb 以下, 只有 1 株菌的基因组为 1.2 Mb<sup>[47]</sup>。2015 年, Brown 等新发现的 797 个 CPR 细菌基因组中, 异域菌门(*Peregrinibacteria*)、TM6 分支和 CPR2 分支的平均基因组大小在 1.0–1.2 Mb 之间, 其余均在 1 Mb 以下, 其中伯克利菌门(*Berkelbacteria*)细菌的平均基因组最小, 只有 581 kb<sup>[8]</sup>。我们对收集到的 3175 个 CPR 细菌基因组进行统计研究, 发现 CPR 细菌的 GC 含量 (30.56%–54.25%) 和基因组大小波动都较大, 其中 *Colwellbacteria* 菌门基因组最小, 只有 0.48 Mb, 前细菌门(*Gracilibacteria*)基因组最大, 达到 1.21 Mb。Bokhari 等将所有微生物分为古菌、CPR 细菌和非 CPR 细菌进行比较, 发现 CPR 细菌的基因组显著小于另外两者<sup>[48]</sup>。

CPR 细菌基因组中保守基因少, 有接近 50% 的基因功能是未知的。CPR 细菌基因组简化造成基因数量明显降低。在淡水沉积物样品与地下水中获得的俭菌超门(*Parcubacteria*)细菌存在重要基因缺失的现象, 如三羧酸循环关键酶类与电子传递链相关基因<sup>[8,49]</sup>。对俭菌超门(*Parcubacteria*)细菌的泛基因组(pan-genome)分析结果显示, 该超门中核心保守基因仅占 28%, 各菌特有的基因差异分化明显<sup>[47,50]</sup>。Castelle 等对已知的 CPR 细菌进行代谢潜能分析, 发现基因组中会出现罕见的代谢相关基因, 但是这些基因在代谢通路中的上下游基因却不完整, 作者推测基因组中功能未知的基因可能在某些代谢过程中起作用<sup>[25]</sup>。

### 3.2 绝大多数 CPR 细菌属于厌氧发酵细菌

CPR 细菌可以进行非厌氧呼吸的发酵过程。Wrighton 等在乙酸改良的含水层中通过宏基因组方法拼接得到俭菌超门(*Parcubacteria*)、小基因组菌超门(*Microgenomates*)和异域菌门(*Peregrinibacteria*)细菌基因组。2014 年, Wrighton 等在地下水微生物群落研究中发现多个门水平的 CPR 细菌成员具有产生氢、乙酸、甲酸、乙醇、丁酸和乳酸的能力, 表明这些细菌具有非厌氧呼吸的发酵过程, 即由丙酮酸产生乙酸、乳酸和甲酸等物质获得能量 ATP。在该发酵过程中镍铁氢酶将氢原子提供电子传递到电子受体中, 形成了完整的电子传递链体系<sup>[51]</sup>。Brown 等在定义 CPR 细菌的过程中发现部分 CPR 成员拥有葡萄糖-6-磷酸脱氢酶(glucose-6-P-1-dehydrogenase), 表明 CPR 细菌属于厌氧发酵细菌, 可以在氢酶的帮助下完成电子传递过程<sup>[8,32]</sup>。Wrighton 等在 2017 年通过重构基因组 PER-1 和 WS6-1 的代谢通路, 发现 CPR 细菌可以将 RubisCO 固定 CO<sub>2</sub> 产生的 3 磷酸甘油酸通过发酵产生乙酸获得能量 ATP。另外值得注意的是, 具有 RubisCO type II/III 的 CPR 有可能利用胞外核苷酸(DNA/RNA), 而不是自己从头合成核苷酸(核苷酸的补救途径)。

不过, 并非所有 CPR 都只有厌氧发酵一种代谢途径。2017 年, Castelle 等报道了一个 CPR 新成员“*Candidatus Parcunitrobacter nitroensis*”的基因组草图, 其属于俭菌超门(*Parcubacterium*)。该菌基因组编码多种能量代谢相关基因, 包括糖酵解、呼吸作用、氮和脂肪酸代谢, 以及一个完整的电子传输链途径。所有这些基因在 DNA 水平上与其他非 CPR 细菌中的同源基因差异非常大, 可以肯定并不是通过水平基因转移从其他细菌中获

表 2. CPR 细菌基因组概况  
Table 2. The genome information of CPR members

Phylum	Genome number	Average genome size/Mb	Average GC content/%	Average gene number	Average gene region ratio/%
<i>Abawacabacteria</i>	2	0.80	43.68	794	87.79
<i>Absconditabacteria</i>	4	1.13	33.71	1054	87.60
<i>Adlerbacteria</i>	14	0.56	51.91	622	90.04
<i>Amesbacteria</i>	43	0.84	46.95	994	92.72
<i>Andersenbacteria</i>	9	1.01	46.38	1072	87.69
<i>Azambacteria</i>	39	0.61	44.02	661	89.83
<i>Beckwithbacteria</i>	28	0.85	45.74	973	92.95
<i>Berkelbacteria</i>	42	0.64	40.05	694	87.08
<i>Blackburnbacteria</i>	12	0.78	42.02	867	89.98
<i>Brennerbacteria</i>	8	0.58	42.49	623	84.57
<i>Buchananbacteria</i>	11	0.93	40.85	939	83.68
<i>Campbellbacteria</i>	14	0.62	36.07	639	83.11
<i>Chisholmbacteria</i>	6	0.97	49.12	1028	88.94
<i>Collierbacteria</i>	48	0.78	44.27	893	90.59
<i>Colwellbacteria</i>	16	0.48	44.71	535	87.71
CPR1	3	0.56	46.91	648	90.95
CPR2	10	0.97	38.01	1038	85.88
CPR3	8	0.98	35.68	974	88.92
<i>Curtissbacteria</i>	56	0.82	39.94	929	89.06
<i>Daviesbacteria</i>	61	0.89	39.06	1000	91.75
<i>Dojkabacteria</i>	28	0.59	34.81	629	90.95
<i>Doudnabacteria</i>	37	0.82	45.52	913	88.72
<i>Falkowbacteria</i>	77	0.96	39.86	951	86.95
<i>Fertabacteria</i>	1	0.90	37.87	828	90.64
<i>Giovannonibacteria</i>	60	0.72	44.42	827	91.58
<i>Gottesmanbacteria</i>	58	1.10	41.88	1197	90.36
<i>Gottesmanbacteria</i>	17	1.15	37.11	1169	89.73
<i>Gracilibacteria</i>	24	1.21	30.56	1189	89.30
<i>Gribaldobacteria</i>	16	0.57	36.97	612	88.95
<i>Harrisonbacteria</i>	15	0.64	43.07	689	87.49
<i>Howlettbacteria</i>	4	0.76	37.67	818	86.02
<i>Jacksonbacteria</i>	12	1.03	43.57	1020	89.32
<i>Jorgensenbacteria</i>	24	0.57	45.82	638	87.78
<i>Kaiserbacteria</i>	88	0.69	51.50	774	88.61
<i>Katanobacteria</i>	125	0.74	42.43	797	90.36
<i>Kazan</i>	12	0.67	48.47	663	87.11
<i>Kerfeldbacteria</i>	9	1.16	42.40	1116	89.42
<i>Komeilibacteria</i>	10	0.84	45.07	854	86.92
<i>Kuenenbacteria</i>	10	0.67	40.42	686	85.71
<i>Levybacteria</i>	100	0.77	37.81	855	90.87
<i>Liptonbacteria</i>	14	0.63	49.43	684	86.94
<i>Lloydbacteria</i>	15	1.01	50.11	1077	86.26
<i>Magasanikbacteria</i>	88	0.88	40.86	866	88.29

(待续)

(续表 2)

<i>Microgenomates</i>	79	0.77	42.89	880	91.63
<i>Moranbacteria</i>	80	0.88	40.09	915	86.58
<i>Nealsonbacteria</i>	66	0.53	38.15	580	88.02
<i>Niyogibacteria</i>	6	0.74	44.07	790	89.74
<i>Nomurabacteria</i>	165	0.65	39.37	700	89.68
<i>Pacebacteria</i>	20	0.82	39.70	849	92.32
<i>Parcubacteria</i>	418	0.66	41.63	729	88.43
<i>Peregrinibacteria</i>	70	1.09	42.28	1056	90.33
<i>Peribacteria</i>	22	1.17	54.25	1140	89.56
<i>Portnoybacteria</i>	38	0.66	40.75	731	87.02
<i>Roizmanbacteria</i>	136	0.92	37.52	1007	90.41
<i>Ryanbacteria</i>	21	0.83	45.64	883	89.36
<i>Saccharibacteria</i>	50	0.86	44.28	906	89.65
<i>Shapirobacteria</i>	32	0.66	38.29	774	90.04
<i>Spechtbacteria</i>	9	0.62	40.39	631	86.57
<i>Staskawiczbacteria</i>	43	0.73	36.67	787	87.84
<i>Sungbacteria</i>	24	0.91	49.94	992	86.65
<i>Tagabacteria</i>	9	0.51	40.58	553	87.92
<i>Taylorbacteria</i>	42	0.81	45.35	855	85.45
<i>Terrybacteria</i>	11	0.74	45.99	777	88.33
<i>Torokbacteria</i>	2	0.78	38.22	806	82.39
<i>Uhrbacteria</i>	86	0.92	47.22	933	87.92
<i>Veblenbacteria</i>	5	0.70	42.43	730	84.55
<i>Vogelbacteria</i>	12	0.63	46.07	661	86.51
<i>Wildermuthbacteria</i>	28	0.63	47.48	681	90.23
<i>Woesebacteria</i>	171	0.79	39.57	902	91.30
<i>Wolfiebacteria</i>	51	0.59	41.62	649	87.46
<i>Woykebacteria</i>	15	0.72	42.31	806	85.42
<i>Yanofskybacteria</i>	82	0.69	42.80	737	88.11
<i>Yonathbacteria</i>	11	0.72	46.26	768	87.48
<i>Zambryskibacteria</i>	60	0.57	41.83	634	88.72
<i>Brownbacteria</i>	Not available				
<i>Hugbacteria</i>					
<i>Moisslbacteria</i>					
Average	—	0.77	41.85	832	89.13

得, 因此该 CPR 新成员与其他 CPR 成员相比, 其可能有着不同的生活方式<sup>[25]</sup>。

### 3.3 绝大多数需要与其他微生物共生

由于 CPR 细菌基因组普遍比较小而且缺少关键的能量代谢基因, 目前普遍接受的观点是其无法单独生活, 需要与其他菌形成生长复合体。CPR 细菌在各类生境中广泛存在, 且遗传变异较大, 是研

究微生物协同作用的理想对象。通过基因组分析, 研究人员也找到了共生的相关证据。2014 年发现的 俭 菌 超 门 分 支 “*Candidatus Sonnebornia yantaiensis*”, 生长在小球藻细胞的藻类膜中; 它不规则地分布在整个宿主细胞质中, 呈现明显的共生现象<sup>[52]</sup>。Luef 等在用低温透射电子显微观察 CPR 细菌的胞内结构时发现, CPR 细菌由于细胞

体积极小,极少数核糖体以毛发状附属物的形式存在于细胞内,推测 CPR 细菌存在与其他菌进行遗传物质交流的可能性<sup>[19]</sup>。Nelson 等在进行泛基因组分析时发现,俭菌超门细菌缺少 DNA 修复酶,但普遍含有粘附蛋白,说明俭菌超门细菌很可能需要粘附其他微生物生长<sup>[47]</sup>。从蛋白结构域角度分析,非 CPR 细菌中广泛存在的核心基因结构域,例如糖磷酸转移酶系统 HPr 结合域(a.4.2)、胆色素原脱氨基酶结构域(d.50.2)和 HPr 类蛋白结构域(d.94.1),在 CPR 细菌中部分缺失(SCOPe 蛋白数据库, <http://scop.berkeley.edu/>)。通过比较细菌、古菌和真核生物基因的蛋白结构域,研究人员发现 CPR 细菌拥有 5 种新的特异蛋白结构域,其中 4 种都与细胞间相互作用有关,从侧面证明 CPR 细菌的共生特性<sup>[48]</sup>。He 等在富集培养 TM7 分支细菌时发现,只有加入放线菌(*Actinomyces odontolyticus*)菌株 XH001, TM7 才能顺利繁殖。作者推测 TM7 生长过程中,有一个寄生的阶段,放线菌可以帮助 TM7 度过该阶段,但成熟后的 TM7 会将 XH001 菌株杀死<sup>[21]</sup>。依赖共生的生活方式导致 CPR 细菌分离培养难度很大,特别是在无法确认共生菌信息的情况下。此外,针对 CPR 细菌基因组偏小也有另一派观点,即 CPR 基因组处于快速进化的阶段,基因组具有精简特性,在保持自己独立生存的情况下丢弃不必要的功能基因<sup>[52]</sup>。我们认为该观点部分正确,可能仅适用于解释少部分快速进化的 CPR 细菌。

我们发现, CPR 细菌在基因组精简的前提下,基因密度却与绝大多数细菌一致,保持在 85%–90%<sup>[53]</sup> (表 2)。2015 年一项针对 50 多种细菌门的基因组研究表明,多数共生微生物的基因密

度显著低于拥有独立生存能力的细菌<sup>[54]</sup>。例如一种蚜虫兼性共生菌(*Serratia symbiotica*)菌株“*Cinara cedri*”的基因密度为 38%,与蚜虫形成一种明确的共生体,其基因组已经并仍在经历大量的基因组缩减,至少包含 58 个假基因<sup>[55]</sup>。*Nostoc azollae* 0708 是一种淡水蕨类植物的共生细菌,正在经历活跃的基因组衰变,约 30%的可识别编码区域是假基因(pseudogenes),其基因密度只有 52%<sup>[56]</sup>。CPR 细菌的基因密度能保持在较高的水平,可能的原因有:(1) CPR 细菌处于活跃的基因数量衰减阶段,预测获得的基因中含有不少功能已经丢失的假基因,这也能顺便解释上文提到的 CPR 细菌基因组中约有 50%的基因功能未知;(2) CPR 细菌由于生境范围非常广泛,因此表现出与普通共生细菌不同的基因组特性,通过保持较高的基因“冗余性”应对各类环境压力;(3) CPR 细菌与宿主存在水平基因转移,在对 2321 个 CPR MAGs 进行的同源基因研究,发现 CPR 细菌存在大量缺失/存在类型的同源基因对,而部分缺失的基因对可以在其他非 CPR 细菌中找到,而部分存在的基因对反而在非 CPR 细菌中消失;而且宿主-CPR 的基因存在相互共生的特性, CPR 可以通过水平基因转移获得宿主基因,维持正常的基因密度<sup>[57]</sup>。

### 3.4 CRP 细菌的防御系统

CRISPR (clustered regularly interspaced short palindromic repeats)-Cas (CRISPR associated)是原核生物特有的一种免疫系统。当外源病毒把自身基因片段整合到原核生物基因组上时,病毒基因可以利用宿主细胞内的原料进行自我复制,而原核生物可以通过 CRISPR-Cas 系统将病毒引入的入侵基因片段清除。在可培养的非 CPR 细菌中,

约有 40% 的细菌都有该系统。然而, 2016 年 Burstein 等意外地发现几乎所有的 CPR 细菌都缺少 CRISPR-Cas 系统, 但 CPR 细菌可以通过水平基因转移的方式获得其他微生物的 CRISPR-Cas 序列<sup>[58]</sup>。其实, 在鉴定一个微生物是否含有 CRISPR-Cas 元件时, 通常会运用同源序列比对的方法将待研究基因组与已知 CRISPR-Cas 序列数据进行比对, 找到符合相似性标准的序列作为对象基因组中的 CRISPR-Cas 元件<sup>[59]</sup>。假设待研究对象中并不存在与已知序列相似的 CRISPR-Cas 元件时, 该方法就会出现无法鉴定到基因元件的情况。Chen 等运用基于隐马尔可夫的蛋白鉴定算法(不依赖于序列相似性、使用蛋白特异结构信息进行的基因元件预测方法)从罗伊兹曼菌门(*Roizmanbacteria*)细菌中鉴定到一类新的 CRISPR-CasY (Cas12d)系统。通过对 CRISPR-Cas 元件序列间区的分析, 发现 Cas12d 可能赋予该菌抵御噬菌体的能力, 与常见的 CRISPR-Cas 元件具有非常类似的功能<sup>[60]</sup>。针对 CRISPR-Cas 基因元件分析的 2 个研究提示, 对于分析 CPR 这类大量基因功能信息缺失的细菌基因组时, 基于序列相似性比较的分析可能无法获得可靠的结果, 更应该考虑在蛋白结构与功能域方面去分析各种感兴趣的基因。

## 4 CPR 细菌在元素循环中的作用

CPR 细菌基因组较小, 大部分缺少氨基酸合成、脂多糖合成、糖酵解等途径中相关基因, 且没有完整的三羧酸循环体系, 但是基于 CPR 细菌在各种生境中普遍存在的事实, 其可能在寡营养环境的元素循环中发挥作用。

### 4.1 碳循环

CPR 细菌具有固定 CO<sub>2</sub> 与水解碳水化合物能力。固定二氧化碳(CO<sub>2</sub>)在自然界是个非常重要的过程, 也是碳循环反应的第一步。常见的生物固碳主要依赖于卡尔文循环(Calvin cycle), 其中核酮糖-1,5-二磷酸羧化酶/加氧酶(Ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase/oxygenase, 通常简写为 RuBisCO)是一种决定碳同化速率的关键酶。自然界中的 RubisCO 有四种主要的形式, 即 I、II、II/III 和 III 类型。其中类型 I 和 II 主要存在于植物、藻类、光养和化能自养型微生物, 类型 II/III 和 III 主要存在于古菌中<sup>[61-63]</sup>。多个研究发现 CPR 细菌的 RubisCO 基因与古菌非常类似, 属于 II/III 类型和 bacterial-like III 类型<sup>[64-65]</sup>。Wrighton 等通过 PCR 扩增异域菌门(*Peregrinibacteria*)的 RubisCO 基因并转移到宿主中进行体外表达, 证实其具有通过 II/III 类型 RubisCO 固定 CO<sub>2</sub> 的活性<sup>[64]</sup>。2018 年, Castelle 等还发现已知细菌中只有 CPR 含有类型为 II/III 或 III 的 RubisCO 基因, 这一结果也证明 CPR 细菌在判断细菌-古菌域遗传差异方面的重要作用<sup>[18]</sup>。除了固碳能力, CPR 细菌也存在碳水化合物的水解能力。Danczak 等对 4 个地下水井持续 2 年采样, 通过宏基因组方法得到 71 个 MAGs。碳水化合物活性酶分析(carbohydrate-active enzymes, CAZyme)显示 71 个 MAGs 中有 135 种不同类型的糖苷水解酶(glycoside hydrolases, GH), 这些基因的功能比较广泛, 可以水解直链淀粉、纤维素和半纤维素等。将这些 GH 基因与 2000 多个其他微生物基因组进行比较研究, 发现相同水解功能的 GH 基因在 CPR 细菌中更为复杂多变, 例如小基因组菌超门中的细菌成员拥有显著偏多的 GH 基因, 显示出更为广泛的碳元素循

循环利用能力<sup>[27]</sup>。Geesink 等对罗伊兹曼菌门 (*Roizmanbacteria*) 中一个编号为 ADI133 的 MAGs 进行碳水化合物基因分析, 发现其含有 85 种不同类型的碳水化合物活性酶, 其中包含纤维素降解基因, 由于这类基因的存在, 作者推测 ADI133 可以通过降解宿主的细胞壁, 从而粘附于宿主进行生存<sup>[66]</sup>。

## 4.2 氮循环

部分 CPR 细菌具有反硝化能力和完整的含氮呼吸链体系。反硝化作用, 一般由反硝化微生物驱动完成, 是生态系统氮逸散的重要途径, 也是产生温室气体  $N_2O$  的重要过程。*nirK* 基因是反硝化微生物的重要生物标志, Danczak 等在 CPR 的 *Kaiserbacteria* 和 *Harrisonbacteria* 两个门的 MAGs 中发现, 由于缺少电子传递链体系, *Kaiserbacteria* 的 MAGs 中 *nirK* 基因依靠一种特殊的铜氧还蛋白 (cupredoxins protein) 进行电子传递, 而 *Harrisonbacteria* MAGs 中的反硝化反应的电子传递机制还不清楚<sup>[27,67]</sup>。2017 年, Castelle 等发现的 “*Candidatus Parcunitrobacter nitroensis*” 包含亚硝酸盐还原酶、羟胺氧化还原酶和一氧化氮还原酶, 可以参与含氮的呼吸作用<sup>[18,25]</sup>。

## 4.3 硫循环

部分 CPR 细菌具有硫还原能力。Wighton 等对 MAGs 进行系统性代谢分析时发现所有 MAGs 全部缺失三羧酸(TCA)循环相关基因、还原型烟酰胺腺嘌呤二核苷酸(NADH)脱氢酶亚基和绝大部分的电子传递链复合体末端氧化酶, 但是可以找到 3 种铁氢酶(Fe-hydrogenases)和 23 种镍铁氢酶(NiFe-hydrogenases)。其中, 17 种镍铁氢酶与古菌热球菌目(*Thermococcales*)中类型 III 的细胞质氢酶序列非常相似, 推测可能参与硫化合物( $SO_4^{2-}$ 、

$SO_3^{2-}$  和  $S_2O_3^{2-}$ ) 的还原反应, 通过厌氧发酵方式产生氢气或者硫化氢的同时提供能量<sup>[32,51]</sup>。Zhou 等在热泉沉积物中获得 4 个古菌 MAGs (*Hydrothermarchaeota*), 发现这 4 个古菌竟然与 CPR 细菌具有类似的特征, 即在基因组中缺少末端电子受体基因, 作者推测其无法通过呼吸作用参与氧化硫化合物( $SO_4^{2-}$ 、 $SO_3^{2-}$  和  $S_2O_3^{2-}$ ) 和硝酸盐/亚硝酸盐的还原反应产生能量, 只能通过严格厌氧的发酵方式获得能量<sup>[68]</sup>。

# 5 CPR 细菌的研究方法

对于 CPR 这类暂时无法培养的微生物, 早期通过 PCR 扩增 16S rDNA 序列结合 Sanger 测序技术也获得了部分环境序列, 但直到高通量测序技术, 尤其是宏基因组测序和单细胞测序技术的大规模使用, 才促成其研究的飞速发展<sup>[69]</sup>。

## 5.1 宏基因组测序

早期 CPR 细菌的研究对象主要来源于 16S rDNA 的 Sanger 测序数据, 并不能从整体上揭开 CPR 的神秘面纱<sup>[22-24,34,70-71]</sup>。2005 年以后, 基于二代高通量测序(next generation sequencing, NGS) 技术的宏基因组学(metagenomics)研究方法在环境微生物研究中得到广泛的应用<sup>[72-74]</sup>。通过基于 PCR 扩增的宏基因组技术(amplicon-based metagenomics sequencing), WWE3、Kazan 和 SM2F11 分支被鉴定出来<sup>[35,73,75-77]</sup>。然而, 该方法存在明显的技术缺陷——通用引物覆盖度不足, 即使通过精巧的分子生物学手段提升了引物覆盖度, 但扩增效果仍不理想<sup>[8,27,78]</sup>。近年来, 对微生物所有遗传信息进行测定的鸟枪法宏基因组技术(shotgun metagenomics sequencing)在 CPR 细菌研究中逐渐流行, 其可以获得环境样品中所有的 DNA 序列,

有效解决扩增子测序中引物覆盖度不足的问题。Parks 等采用多种生物信息方法重新分析了公共数据库中已经发表的超过 1500 个宏基因组数据, 重构了将近 8000 个 MAGs, 其中有 245 个属于 CPR 细菌<sup>[79]</sup>。Sanchez 等开展 CPR 细菌基因组中参与 DNA 损伤修复途径(SOS)的基因研究, 首先鉴定到参与 SOS 途径的转录阻遏蛋白(LEXA)的 DNA 结合域(banding motif for LEXA)。通过比较基因组分析发现酸杆菌(*Acidobacteria*)的 LEXA 与 CPR 细菌的 LEXA 存在高度的序列相似性, 推测 CPR 细菌可能与酸杆菌(*Acidobacteria*)存在非常类似的 DNA 损伤修复途径<sup>[80]</sup>。

## 5.2 单细胞基因组测序

单细胞基因组技术被《自然-方法》评为 2013 年度技术, 其分为单细胞获取、全基因组扩增、全基因组测序与分析等步骤, 可以从个体水平阐释微生物生理特征、能量物质代谢以及生态功能, 有效弥补宏基因组技术的不足<sup>[69,81]</sup>。单细胞基因组测序技术自出现以来在无法培养微生物研究领域中获得非常广泛的应用<sup>[82-84]</sup>。Rinke 等利用荧光标记的流式细胞分选从 9 种环境样本(包括海水、淡水、热液以及沉积物等)中分离得到 9600 个单细胞, 运用单细胞多重置换扩增技术获得其中 3330 个单细胞的 DNA, 最后测序分析后得到 201 个单细胞(菌)基因组数据, 其中有 22 个(约占 11%)细胞物种信息并不明确, 且在系统进化分析中遗传距离非常接近。根据目前的分类标准, 这 22 个单细胞属于 CPR 细菌, 包括 1 株异域菌门(*Peregrinibacteria*), 2 株属于纤细菌门(*Gracilibacteria*)、10 株属于小基因组超门(*Microgenomates*)和 9 株俭菌超门(*Parcubacteria*)。基因组分析发现这 22 个 CPR 细菌都缺少电子传

递链基因以及与细胞呼吸过程相关的基因, 属于典型的厌氧发酵微生物<sup>[15]</sup>。

## 5.3 分离培养

CPR 细菌目前仅有一株纯培养的菌株。TM7 分支中的一种系统发育型细菌(TM7 phylotype)是目前已知最早获得富集培养的 CPR 细菌。具体过程为: 首先使用加卡那霉素(100  $\mu\text{g/mL}$ )的 FAB 培养基(苛养厌氧菌肉汤)严格厌氧 37  $^{\circ}\text{C}$  培养 48 h, 然后将样品继代培养到不加抗生素的 FAB 培养基中培养 1 周, 接着将培养物接种到 FAA 培养基(苛养厌氧菌琼脂)平板上严格厌氧培养 1 周, 最后在获得的混合细菌中找到了 TM7。虽然 TM7 被成功培养在已知的培养基中, 但是本质上并没有获得严格意义上的纯培养, 因为在 Soro 等最终的富集培养物中并不只有 TM7, 还有梭杆菌(*Fusobacterium*)、中间普氏菌(*Prevotella intermedia*)、牙龈卟啉单胞菌(*Porphyromonas gingivalis*)和口腔放线菌(*Actinomyces oris*)等细菌<sup>[20]</sup>。He 等使用加入链霉素(100  $\mu\text{g/mL}$ )的施氏培养基(SHI)富集培养 TM7, 最终发现只有在放线菌(*Actinomyces odontolyticus*)菌株 XH001 存在时 TM7 才能顺利培养。Lemos 等基于 CPR 细菌共生的特性, 假设 CPR 与其对应的共生菌在不同环境中的丰度变化相同, 结合扩增子测序与共现分析(co-occurrence analysis)方法对酸性矿井水体中的单糖菌门(*Saccharibacteria*)细菌进行研究, 发现单糖菌门物种的丰度与 *Chitinophagaceae* (尤其是 *Hydrotalea* 和 *Sediminibacterium*) 和 *Leeiaceae* (*Betaproteobacteriales*)微生物的丰度具有显著的相关性, 很有可能形成共生体系<sup>[85]</sup>。虽然 Lemos 等并没有报道利用这些疑似的共生关系进行富集培养的时间, 但是这种思路不失为一种高通量寻

找共生体系,且能为富集培养提供有效信息的技术方法。

纯培养菌株对于研究 CPR 细菌极其重要。首先,运用生物信息学工具或单细胞技术尽管可以直接获得 CPR 细菌的基因组草图,但是这些结果可能存在系统性问题,比如基因组序列不完整、基因组中可能存在其他物种基因片段的污染、不同分析软件得到的结果存在差异等,引起基因功能研究的明显偏差<sup>[86–87]</sup>。其次,利用已知基因的注释信息推断 CPR 细菌的基因功能,往往无法获得有效的信息。CPR 中俭菌超门微生物经常在富硫环境中被检测到,指示其可能参与了硫的元素循环,但俭菌超门微生物基因组中并未找到任何与已知硫代谢相关的基因,极有可能存在全新的硫代谢途径<sup>[32–33,88–89]</sup>。然而,由于缺乏足够多的单菌培养物,基因功能的实验验证无从展开,严重限制了对新基因功能的挖掘。

## 6 总结

近来,对无法培养微生物的研究成为生命科学的热点,CPR 细菌是其中重要的组成部分。系统进化研究发现 CPR 细菌在判定生命系统“二域”或“三域”假说中可能起到非常重要的作用,对深入研究微生物的系统进化至关重要。目前对 CPR 细菌的生活史了解有限,人类还无法大规模地从环境中获得 CPR 细菌的单菌株,极大地限制了对自然界“隐匿的”生物多样性的认识。考虑到 CPR 细菌的普遍存在性、共生特性以及各类生境中不可忽视的数量,有必要对其开展系统性的研究,揭示 CPR 细菌独特的生态位,同时 CPR 细菌的共生特性也为研究环境微生物协同作用提供了典型的研究对象。

## 参考文献

- [1] Zablen LB, Kissil MS, Woese CR, Buetow DE. Phylogenetic origin of the chloroplast and prokaryotic nature of its ribosomal RNA. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 1975, 72(6): 2418–2422.
- [2] Bonen L, Cunningham RS, Gray MW, Doolittle WF. Wheat embryo mitochondrial 18S ribosomal RNA: evidence for its prokaryotic nature. *Nucleic Acids Research*, 1977, 4(3): 663–671.
- [3] Woese CR, Fox GE. Phylogenetic structure of the prokaryotic domain: The primary kingdoms. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 1977, 74(11): 5088–5090.
- [4] Rochette NC, Céline BA, Manolo G. Phylogenomic test of the hypotheses for the evolutionary origin of Eukaryotes. *Molecular Biology & Evolution*, 2014, 4(4): 832–845.
- [5] Williams TA, Foster PG, Cox CJ, Embley TM. An archaeal origin of eukaryotes supports only two primary domains of life. *Nature*, 2013, 504(7479): 231–236.
- [6] Spang A, Saw JH, Jørgensen SL, Zaremba-Niedzwiedzka K, Martijn J, Lind AE, van Eijk R, Schleper C, Guy L, Ettema TJG. Complex archaea that bridge the gap between prokaryotes and eukaryotes. *Nature*, 2015, 521(7551): 173–179.
- [7] Yarza P, Yilmaz P, Pruesse E, Glöckner FO, Ludwig W, Schleifer KH, Whitman WB, Euzéby J, Amann R, Rosselló-Móra R. Uniting the classification of cultured and uncultured bacteria and archaea using 16S rRNA gene sequences. *Nature Reviews Microbiology*, 2014, 12(9): 635–645.
- [8] Brown CT, Hug LA, Thomas BC, Sharon I, Castelle CJ, Singh A, Wilkins MJ, Wrighton KC, Williams KH, Banfield JF. Unusual biology across a group comprising more than 15% of domain Bacteria. *Nature*, 2015, 523(7559): 208–211.
- [9] Hug LA, Baker BJ, Anantharaman K, Brown CT, Probst AJ, Castelle CJ, Butterfield CN, Hernsdorf AW, Amano Y, Ise K, Suzuki Y, Dudek N, Relman DA, Finstad KM, Amundson R, Thomas BC, Banfield JF. A new view of the tree of life. *Nature Microbiology*, 2016, 1(5): 16048.
- [10] Zhu Q, Mai U, Pfeiffer W, Janssen S, Asnicar F, Sanders JG, Belda-Ferre P, Al-Ghalith GA, Kopylova E, McDonald D, Kosciółek T, Yin JB, Huang S, Salam N, Jiao JY, Wu Z, Xu ZZ, Cantrell K, Yang Y, Sayyari E. Phylogenomics of 10,575 genomes reveals evolutionary proximity between domains

- Bacteria and Archaea. *Nature Communications*, 2019, 10(1): 5477.
- [11] Zaremba-Niedzwiedzka K, Caceres EF, Saw JH, Bäckström D, Juzokaite L, Vancaester E, Seitz KW, Anantharaman K, Starnawski P, Kjeldsen KU, Stott MB, Nunoura T, Banfield JF, Schramm A, Baker BJ, Spang A, Ettema TJG. Asgard archaea illuminate the origin of eukaryotic cellular complexity. *Nature*, 2017, 541(7637): 353–358.
- [12] Castelle CJ, Banfield JF. Major new microbial groups expand diversity and alter our understanding of the tree of life. *Cell*, 2018, 172(6): 1181–1197.
- [13] Imachi H, Nobu MK, Nakahara N, Morono Y, Ogawara M, Takaki Y, Takano Y, Uematsu K, Ikuta T, Ito M, Matsui Y, Miyazaki M, Murata K, Saito Y, Sakai S, Song C, Tasumi E, Yamanaka Y, Yamaguchi T, Kamagata Y. Isolation of an archaeon at the prokaryote-eukaryote interface. *Nature*, 2020, 577: 519–525.
- [14] Williams TA, Cox CJ, Foster PG, Szollosi GJ, Embley TM. Phylogenomics provides robust support for a two-domains tree of life. *Nature Ecology Evolution*, 2020, 4(1): 138–147.
- [15] Rinke C, Schwientek P, Sczyrba A, Ivanova NN, Anderson IJ, Cheng J-F, Darling A, Malfatti S, Swan BK, Gies EA, Dodsworth JA, Hedlund BP, Tsiamis G, Sievert SM, Liu W-T, Eisen JA, Hallam SJ, Kyrpides NC, Stepanauskas R, Rubin EM. Insights into the phylogeny and coding potential of microbial dark matter. *Nature*, 2013, 499(7459): 431–437.
- [16] Anantharaman K, Brown CT, Hug LA, Sharon I, Castelle CJ, Probst AJ, Thomas BC, Singh A, Wilkins MJ, Karaoz U, Brodie EL, Williams KH, Hubbard SS, Banfield JF. Thousands of microbial genomes shed light on interconnected biogeochemical processes in an aquifer system. *Nature Communications*, 2016, 7(1): 13219.
- [17] Schulz F, Elie-Fadrosh EA, Bowers RM, Jarett J, Nielsen T, Ivanova NN, Kyrpides NC, Woyke T. Towards a balanced view of the bacterial tree of life. *Microbiome*, 2017, 5(140).
- [18] Castelle CJ, Brown CT, Anantharaman K, Probst AJ, Huang RH, Banfield JF. Biosynthetic capacity, metabolic variety and unusual biology in the CPR and DPANN radiations. *Nature Review Microbiol*, 2018, 16(10): 629–645.
- [19] Luef B, Frischkorn KR, Wrighton KC, Holman HYN, Birarda G, Thomas BC, Singh A, Williams KH, Siegerist CE, Tringe SG, Downing KH, Comolli LR, Banfield JF. Diverse uncultivated ultra-small bacterial cells in groundwater. *Nature Communications*, 2015, 6(1): 6372.
- [20] Soro V, Dutton LC, Sprague SV, Nobbs AH, Ireland AJ, Sandy JR, Jepson MA, Micaroni M, Splatt PR, Dymock D, Jenkinson HF. Axenic culture of a candidate division TM7 bacterium from the human oral cavity and biofilm interactions with other oral bacteria. *Applied and Environmental Microbiology*, 2014, 80(20): 6480–6489.
- [21] He X, McLean JS, Edlund A, Yooseph S, Hall AP, Liu S-Y, Dorrestein PC, Esquenazi E, Hunter RC, Cheng G. Cultivation of a human-associated TM7 phylotype reveals a reduced genome and epibiotic parasitic lifestyle. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2015, 112(1): 244–249.
- [22] Rheims H, Rainey FA, Stackebrandt E. A molecular approach to search for diversity among bacteria in the environment. *Journal of Industrial Microbiology*, 1996, 17(3): 159–169.
- [23] Hugenholtz P, Goebel BM, Pace NR. Impact of culture-independent studies on the emerging phylogenetic view of bacterial diversity. *Journal of Bacteriology*, 1998, 180(18): 4765–4774.
- [24] Hugenholtz P, Pitulle C, Hershberger KL, Pace NR. Novel division level bacterial diversity in a Yellowstone Hot Spring. *Journal of Bacteriology*, 1998, 180(2): 366–376.
- [25] Castelle CJ, Brown CT, Thomas BC, Williams KH, Banfield JF. Unusual respiratory capacity and nitrogen metabolism in a Parcubacterium (OD1) of the Candidate Phyla Radiation. *Scientific Reports*, 2017, 7(1).
- [26] Parks DH, Chuvochina M, Waite DW, Rinke C, Skarshewski A, Chaumeil P-A, Hugenholtz P. A standardized bacterial taxonomy based on genome phylogeny substantially revises the tree of life. *Nature Biotechnology*, 2018, 36: 996–1004.
- [27] Danczak RE, Johnston MD, Kenah C, Slattery M, Wrighton KC, Wilkins MJ. Members of the Candidate Phyla Radiation are functionally differentiated by carbon- and nitrogen-cycling capabilities. *Microbiome*, 2017, 5(1): 112.
- [28] Dudek NK, Sun CL, Burstein D, Kantor RS, Aliaga Goltsman DS, Bik EM, Thomas BC, Banfield JF, Relman DA. Novel microbial diversity and functional potential in the marine mammal oral microbiome. *Current Biology*, 2017, 27(24): 3752–3762.
- [29] Narowe A, Miller CS, Lozupone C. Microbial biodiversity: straight from the Dolphin's mouth. *Current Biology*, 2017, 27(24): 1305–1329.
- [30] Kantor RS, Wrighton KC, Handley KM, Sharon I, Hug LA, Castelle CJ, Thomas BC, Banfield JF. Small genomes and sparse metabolisms of sediment-associated bacteria from four candidate phyla. *mBio*, 2013, 4(5): e00708-13.

- [31] Probst AJ, Ladd B, Jarett JK, Geller-McGrath DE, Sieber CMK, Emerson JB, Anantharaman K, Thomas BC, Malmstrom RR, Stieglmeier M, Klingl A, Woyke T, Ryan MC, Banfield JF. Differential depth distribution of microbial function and putative symbionts through sediment-hosted aquifers in the deep terrestrial subsurface. *Nature Microbiology*, 2018, 3(3): 328–336.
- [32] Wrighton KC, Thomas BC, Sharon I, Miller CS, Castelle CJ, VerBerkmoes NC, Wilkins MJ, Hettich RL, Lipton MS, Williams KH, Long PE, Banfield JF. Fermentation, hydrogen, and sulfur metabolism in multiple uncultivated bacterial phyla. *Science*, 2012, 337(6102): 1661–1665.
- [33] Youssef NH, Blainey PC, Quake SR, Elshahed MS. Partial genome assembly for a candidate division op11 single cell from an anoxic spring (Zodletone Spring, Oklahoma). *Applied and Environmental Microbiology*, 2011, 77(21): 7804–7814.
- [34] Dojka MA, Harris JK, Pace NR. Expanding the known diversity and environmental distribution of an uncultured phylogenetic division of bacteria. *Applied and Environmental Microbiology*, 2000, 66(4): 1617–1621.
- [35] Portillo MC, Anderson SP, Fierer N. Temporal variability in the diversity and composition of stream bacterioplankton communities. *Environmental Microbiology*, 2012, 14(9): 2417–2428.
- [36] Gu S, Chen D, Zhang JN, Lv X, Wang K, Duan LP, Nie Y, Wu XL. Bacterial community mapping of the mouse gastrointestinal tract. *PLoS One*, 2013, 8(10): e74957.
- [37] Zhou B, Sun C, Huang J, Xia M, Guo E, Li N, Lu H, Shan W, Wu Y, Li Y, Xu X, Weng D, Meng L, Hu J, Gao Q, Ma D, Chen G. The biodiversity composition of microbiome in ovarian carcinoma patients. *Scientific Reports*, 2019, 9(1): 1691.
- [38] Bor B, Bedree JK, Shi W, McLean JS, He X. Saccharibacteria (TM7) in the human oral microbiome. *Journal of Dental Research*, 2019, 98(5): 500–509.
- [39] Vigneron A, Cruaud P, Langlois V, Lovejoy C, Culley AI, Vincent WF. Ultra-small and abundant: Candidate phyla radiation bacteria are potential catalysts of carbon transformation in a thermokarst lake ecosystem. *Limnology and Oceanography Letters*, 2019, 2378–2242.
- [40] Herrmann M, Wegner C-E, Taubert M, Geesink P, Lehmann K, Yan L, Lehmann R, Totsche KU, Küsel K. Predominance of cand. Patescibacteria in groundwater is caused by their preferential mobilization from soils and flourishing under oligotrophic conditions. *Frontiers in Microbiology*, 2019, 10(1407).
- [41] Cabello-Yeves PJ, Zemskaya TI, Zakharenko AS, Sakirko MV, Ivanov VG, Ghai R, Rodriguez-Valera F. Microbiome of the deep Lake Baikal, a unique oxic bathypelagic habitat. *Limnology and Oceanography*, 2019, 0024–3590.
- [42] Koch AL. What size should a bacterium be? A question of scale. *Annual Review of Microbiology*, 1997, 50: 317–348.
- [43] Psenner R, Loferer M. Nannobacteria: Size limits and evidence. *Science*, 1997, 276(5320): 1776–1777.
- [44] Schut F, Prins RA, Gottschal JC. Oligotrophy and pelagic marine bacteria: facts and fiction. *Aquatic Microbial Ecology*, 1997, 12: 177–202.
- [45] Manioff J. Nannobacteria: size limits and evidence. *Science*, 1997, 276(5320): 1773–1776.
- [46] Velimirov B. Nanobacteria, Ultramicrobacteria and starvation forms: A search for the smallest metabolizing bacterium. *Microbes and Environments*, 2001, 16(2): 67–77.
- [47] Nelson WC, Stegen JC. The reduced genomes of Parcubacteria (OD1) contain signatures of a symbiotic lifestyle. *Frontiers in Microbiology*, 2015, 6: 713.
- [48] Bokhari RH, Amirjan N, Jeong H, Kim KM, Caetano-Anollés G, Nasir A. Bacterial origin and reductive evolution of the CPR group. *Genome Biology and Evolution*, 2020, evaa024.
- [49] Castelle CJ, Hug LA, Wrighton KC, Thomas BC, Williams KH, Wu D, Tringe SG, Singer SW, Eisen JA, Banfield JF. Extraordinary phylogenetic diversity and metabolic versatility in aquifer sediment. *Nature Communications*, 2013, 4(1): 2120.
- [50] Sieber CMK, Paul BG, Castelle CJ, Hu P, Tringe SG, Valentine DL, Andersen GL, Banfield JF, Relman DA. Unusual metabolism and hypervariation in the genome of a gracilibacterium (BD1-5) from an oil-degrading community. *mBio*, 2019, 10(6).
- [51] Wrighton KC, Castelle CJ, Wilkins MJ, Hug LA, Sharon I, Thomas BC, Handley KM, Mullin SW, Nicora CD, Singh A, Lipton MS, Long PE, Williams KH, Banfield JF. Metabolic interdependencies between phylogenetically novel fermenters and respiratory organisms in an unconfined aquifer. *The ISME Journal*, 2014, 8(7): 1452–1463.
- [52] Gong J, Qing Y, Guo X, Warren A. “*Candidatus Sonnebornia yantaiensis*”, a member of candidate division OD1, as intracellular bacteria of the ciliated protist *Paramecium bursaria* (Ciliophora, Oligohymenophorea). *Systematic and Applied Microbiology*, 2014, 37(1): 35–41.
- [53] Mccutcheon JP, Moran NA. Extreme genome reduction in

- symbiotic bacteria. *Nature Reviews Microbiology*, 2012, 10: 13–26.
- [54] Land M, Hauser L, Jun SR, Nookaew I, Leuze MR, Ahn TH, Karpinets T, Lund O, Kora G, Wassenaar T, Poudel S, Ussery DW. Insights from 20 years of bacterial genome sequencing. *Functional & Integrative Genomics*, 2015, 15(2): 141–161.
- [55] Lamelas A, Gosalbes MJ, Manzano-Marín A, Peretó J, Moya A, Latorre A. *Serratia symbiotica* from the Aphid *Cinara cedri*: A missing link from facultative to obligate insect endosymbiont. *PLoS Genetics*, 2011, 7(11): e1002357.
- [56] Ran L, Larsson J, Vigil-Stenman T, Nylander JAA, Ininbergs K, Zheng WW, Lapidus A, Lowry S, Haselkorn R, Bergman B. Genome erosion in a nitrogen-fixing vertically transmitted endosymbiotic multicellular cyanobacterium. *PLoS One*, 2010, 5(7).
- [57] Meheust R, Burstein D, Castelle CJ, Banfield JF. The distinction of CPR bacteria from other bacteria based on protein family content. *Nature Communications*, 2019, 10(1): 4173.
- [58] Burstein D, Sun CL, Brown CT, Sharon I, Anantharaman K, Probst AJ, Thomas BC, Banfield JF. Major bacterial lineages are essentially devoid of CRISPR-Cas viral defence systems. *Nature Communications*, 2016, 7: 10613.
- [59] Grissa I, Bouchon P, Pourcel C, Vergnaud G. On-line resources for bacterial micro-evolution studies using MLVA or CRISPR typing. *Biochimie*, 2008, 90(4): 660–668.
- [60] Chen LX, Al-Shayeb B, Meheust R, Li WJ, Doudna JA, Banfield JF. Candidate phyla radiation roizmanbacteria from hot Springs Have novel and unexpectedly abundant CRISPR-Cas systems. *Frontiers in Microbiology*, 2019, 10: 928.
- [61] Sato T, Atomi H, Imanaka T. Archaeal type III RuBisCOs function in a pathway for AMP metabolism. *Science*, 2007, 315(5814): 1003–1006.
- [62] Tabita FR, Hanson TE, Li H, Satagopan S, Chan S. Function, structure, and evolution of the RubisCO-like proteins and their RubisCO homologs. *Microbiology & Molecular Biology Reviews*, 2008, 71(4): 576–599.
- [63] Alonso H, Blayney MJ, Beck JL, Whitney SM. Substrate-induced assembly of methanococcoides burtonii D-ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase/oxygenase dimers into decamers. *Journal of Biological Chemistry*, 2009, 284(49): 33876–33882.
- [64] Wrighton KC, Castelle CJ, Varaljay VA, Satagopan S, Brown CT, Wilkins MJ, Thomas BC, Sharon I, Williams KH, Tabita FR, Banfield JF. RubisCO of a nucleoside pathway known from Archaea is found in diverse uncultivated phyla in bacteria. *The ISME Journal*, 2016, 10(11): 2702–2714.
- [65] Jaffe AL, Castelle CJ, Dupont CL, Banfield JF. Lateral gene transfer shapes the distribution of RuBisCO among candidate phyla radiation bacteria and DPANN archaea. *Molecular Biology and Evolution*, 2019, 36(3): 435–446.
- [66] Geesink P, Wegner CE, Probst AJ, Herrmann M, Dam HT, Kaster AK, Kusel K. Genome-inferred spatio-temporal resolution of an uncultivated Roizmanbacterium reveals its ecological preferences in groundwater. *Environmental Microbiology*, 2019, 22(2): 726–737.
- [67] Anantharaman K, Brown CT, Burstein D, Castelle CJ, Probst AJ, Thomas BC, Williams KH, Banfield JF. Analysis of five complete genome sequences for members of the class Peribacteria in the recently recognized Peregrinibacteria bacterial phylum. *PeerJ*, 2016, 4: e1607.
- [68] Zhou Z, Liu Y, Xu W, Pan J, Luo ZH, Li M. Genome- and community-level interaction insights into carbon utilization and element cycling functions of *Hydrothermarchaeota* in hydrothermal sediment. *mSystems*, 2020, 5(1).
- [69] Lasken RS. Genomic sequencing of uncultured microorganisms from single cells. *Nature Review Microbiol*, 2012, 10(9): 631–640.
- [70] Harris JK, Kelley ST, Pace NR. New Perspective on uncultured bacterial phylogenetic division OP11. *Applied and Environmental Microbiology*, 2004, 70(2): 845–849.
- [71] Dalevi D, Hugenholtz P, Blackall LL. A multiple-outgroup approach to resolving division-level phylogenetic relationships using 16S rDNA data. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 2001, 51(2): 385–391.
- [72] Handelsman J. Metagenomics: Application of genomics to uncultured microorganisms. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 2005, 69(1): 669–685.
- [73] Klindworth A, Pruesse E, Schweer T, Peplies J, Quast C, Horn M, Glöckner FO. Evaluation of general 16S ribosomal RNA gene PCR primers for classical and next-generation sequencing-based diversity studies. *Nucleic Acids Research*, 2013, 41(1): e1.
- [74] Youssef NH, Couger MB, McCully AL, Criado AE, Elshahed MS. Assessing the global phylum level diversity within the bacterial domain: A review. *Journal of Advanced Research*, 2015, 6(3): 269–282.
- [75] Guermazi S, Daegelen P, Dauga C, Rivière D, Bouchez T,

- Godon JJ, Gyapay G, Sghir A, Pelletier E, Weissenbach J, Le Paslier D. Discovery and characterization of a new bacterial candidate division by an anaerobic sludge digester metagenomic approach. *Environmental Microbiology*, 2008, 10(8): 2111–2123.
- [76] Kormas KA, Meziti A, Dählmann A, Lange GJD, Lykousis V. Characterization of methanogenic and prokaryotic assemblages based on *mcrA* and 16S rRNA gene diversity in sediments of the Kazan mud volcano (Mediterranean Sea). *Geobiology*, 2008, 6(5): 450–460.
- [77] Ntougias S, Polkowska Z, Nikolaki S, Dionyssopoulou E, Stathopoulou P, Doudoumis V, Ruman M, Kozak K, Namieśnik J, Tsiamis G. Bacterial community structures in freshwater polar environments of Svalbard. *Microbes and Environments*, 2016, 31(4): 401–409.
- [78] Karst SM, Dueholm MS, McIlroy SJ, Kirkegaard RH, Nielsen PH, Albertsen M. Retrieval of a million high-quality, full-length microbial 16S and 18S rRNA gene sequences without primer bias. *Nature Biotechnology*, 2018, 36(2): 190–195.
- [79] Parks DH, Rinke C, Chuvochina M, Chaumeil P-A, Woodcroft BJ, Evans PN, Hugenholtz P, Tyson GW. Recovery of nearly 8,000 metagenome-assembled genomes substantially expands the tree of life. *Nature Microbiology*, 2017, 2(11): 1533–1542.
- [80] Sanchez-Osuna M, Barbe J, Erill I. Comparative genomics of the DNA damage-inducible network in the *Patescibacteria*. *Environmental Microbiology*, 2017, 19(9): 3465–3474.
- [81] Blainey PC. The future is now: single-cell genomics of bacteria and archaea. *FEMS Microbiology Reviews*, 2013, 37(3): 407–427.
- [82] Roggensack KN, Rodrigue SE, Thompson S, Biller JW, Coe SJ, Ding A, Martinen H, Malmstrom P, Stocker RR, Follows R, Stepanauskas MJ, Chisholm RSW. Single-cell genomics reveals hundreds of coexisting subpopulations in wild *Prochlorococcus*. *Science*, 2014, 344(6182): 416–420.
- [83] Becraft ED, Woyke T, Jarett J, Ivanova N, Godoy-Vitorino F, Poulton N, Brown JM, Brown J, Lau MCY, Onstott T, Eisen JA, Moser D, Stepanauskas R. Rokubacteria: Genomic giants among the uncultured bacterial phyla. *Frontiers in Microbiology*, 2017, 8: 2264.
- [84] Pachiadaki MG, Brown JM, Brown J, Bezuidt O, Berube PM, Biller SJ, Poulton NJ, Burkart MD, La Clair JJ, Chisholm SW, Stepanauskas R. Charting the complexity of the marine microbiome through single-cell genomics. *Cell*, 2019, 179(7): 1623–1635.
- [85] Lemos LN, Medeiros JD, Dini-Andreote F, Fernandes GR, Varani AM, Oliveira G, Pylro VS. Genomic signatures and co-occurrence patterns of the ultra-small *Saccharimonadia* (phylum CPR/*Patescibacteria*) suggest a symbiotic lifestyle. *Molecular Ecology*, 2019, 28(18): 4259–4271.
- [86] Sangwan N, Xia F, Gilbert JA. Recovering complete and draft population genomes from metagenome datasets. *Microbiome*, 2016, 4(1): 8.
- [87] Johannes Alneberg, Christofer MG, Karlsson, Anna-Maria Divne, Claudia Bergin, Felix Homa, Markus V. Lindh, Luisa W. Hugerth, Thijs J. G. Ettema, Stefan Bertilsson, Anders F. Andersson, Jarone Pinhassi. Genomes from uncultivated prokaryotes: A comparison of metagenome-assembled and single-amplified genomes. *Microbiome*, 2018, 6(1): 173.
- [88] Peura S, Eiler A, Bertilsson S, Nykänen H, Tirola M, Jones RI. Distinct and diverse anaerobic bacterial communities in boreal lakes dominated by candidate division OD1. *The ISME Journal*, 2012, 6(9): 1640–1652.
- [89] Elshahed MS, Najar FZ, Aycok M, Qu C, Roe BA, Krumholz LR. Metagenomic analysis of the microbial community at Zodletone Spring (Oklahoma): Insights into the genome of a member of the novel candidate division OD1. *Applied and Environmental Microbiology*, 2005, 71(11): 7598–7602.

# Progress in candidate phyla radiation (CPR) research

Ye Tao<sup>1,2</sup>, Peng Xing<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup> State Key Laboratory of Lake Science and Environment, Nanjing Institute of Geography and Limnology, Chinese Academy of Sciences, Nanjing 210008, Jiangsu Province, China

<sup>2</sup> University of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049, China

**Abstract:** The Candidate Phyla Radiation (CPR) is a proposed subdivision within the bacterial domain comprising of many candidate phyla which are widespread in multiple kinds of environments. CPR microorganisms are ideal objects to explore bacteria evolution and symbiotic lifestyle. CPR has several unique characteristics, such as small genome size, extreme small physical sizes, hard to cultivate, lacking of several metabolic enzymes including electron transport chain components and tricarboxylic acid cycle, and deep branches within the bacterial subtree of life. Most of CPR members are identified by metagenome sequencing technology and TM7 isolate UB2523 from human oral cavity was the first cultivated CPR member. In this review, we summarized the CPR discovery process, morphological and genomic characteristics, recognized roles in carbon, nitrogen and sulfur cycling, and the cultivation-independent strategies in CPR research area. As well, future expectations for CPR-driven element cycling in ecosystem and CPR-Host symbionts are indicated.

**Keywords:** candidate phyla radiation, tree of life, two domain hypothesis, three domain hypothesis, symbiont, metagenome

(本文责编: 李磊)

Supported by the National Natural Science Foundation of China (31722008, 91751111), by the Science & Technology Basic Resources Investigation Program of China (2017FY100300), and by the Youth Innovation Promotion Association of CAS (2014273)

\*Corresponding author. Tel: +86-25-86882112; Fax: +86-25-57714759; E-mail: pxing@niglas.ac.cn

Received: 28 February 2020; Revised: 11 April 2020; Published online: 26 April 2020

邢鹏, 中国科学院南京地理与湖泊研究所, 研究员。研究方向为水域微生物生态学, 重点开展湖泊微生物驱动的元素循环过程和机制研究。先后主持基金委优秀青年科学基金项目、科技部基础资源调查专项课题、国家自然科学基金面上项目、基金委重大研究计划培育项目等。在国际期刊上发表论文 40 余篇, 他引 1000 余次。2018 年获得中国科学院青年创新促进会优秀会员, 入选江苏省“333 工程”培养对象(第三层次)。

