



# 基于转录组与翻译组的海洋食烷菌(*Alcanivorax*) 烷烃代谢调控研究

王子宁, 位光山, 张希妍, 王万鹏\*, 邵宗泽

自然资源部第三海洋研究所 海洋生物遗传资源重点实验室, 福建 厦门 361005

王子宁, 位光山, 张希妍, 王万鹏, 邵宗泽. 基于转录组与翻译组的海洋食烷菌(*Alcanivorax*)烷烃代谢调控研究[J]. 微生物学报, 2023, 63(12): 4606-4624.

WANG Zining, WEI Guangshan, ZHANG Xiyan, WANG Wanpeng, SHAO Zongze. Regulation of alkane metabolism in *Alcanivorax* based on transcriptome and translatoome[J]. Acta Microbiologica Sinica, 2023, 63(12): 4606-4624.

**摘要:** 【目的】食烷菌是海洋烃类降解优势菌, 其烷烃代谢调控机制有待深入研究。本研究拟从食烷菌转录和翻译水平上认识烷烃降解的调控过程。【方法】分别以乙酸和正十六烷(C16)为唯一碳源与能源, 获取柴油食烷菌(*Alcanivorax dieselolei*) B5 菌株的转录组和翻译组数据, 并整合数据计算得到该菌在 2 种碳源培养条件下基因的翻译效率。采用基因本体论(gene ontology, GO)和京都基因和基因组百科全书(Kyoto encyclopedia of genes and genomes, KEGG)对差异翻译和翻译效率基因进行功能和代谢通路注释。【结果】当以 C16 为唯一碳源与能源时, B5 菌株烷烃代谢途径的关键基因在转录与翻译水平均大量提升, 包括烷烃单加氧酶、细胞色素 P450 氧化酶、醇脱氢酶和醛脱氢酶等。KEGG 富集结果表明, 翻译水平显著上调基因参与了肽聚糖生物合成、脂肪酸降解、氯代烷烃降解、氧化磷酸化和生物膜形成等通路; 翻译效率差异基因主要富集在铁载体非核糖体肽的生物合成、氧化磷酸化和不饱和脂肪酸的生物合成等途径。通过转录组和翻译组学的联合分析显示, 为了适应烷烃氧化, B5 有效地协调了转录与翻译过程; B5 在 2 种碳源培养条件下基因表达水平与翻译效率均呈现负相关性; 全局蛋白调节因子 CsrA 和 sRNAs 参与的转录后调控可能导致了烷烃代谢相关基因的翻译效率差异。【结论】转录组和翻译组数据的联合分析表明转录后调控参与了食烷菌的烷烃代谢过程, 本研究为进一步探究食烷菌烷烃代谢的转录后调控机制奠定了基础。

**关键词:** 柴油食烷菌; 烷烃降解; 转录组; 翻译组; 翻译效率

资助项目: 福建省自然科学基金(2021J02015); 自然资源部第三海洋研究所科研基本业务费专项资金(2023021)  
This work was supported by the Natural Science Foundation of Fujian Province (2021J02015) and the Scientific Research Foundation of Third Institute of Oceanography, Ministry of Natural Resources (2023021).

\*Corresponding author. Tel: +86-592-2195201, E-mail: wangwanpeng@tio.org.cn

Received: 2023-04-16; Accepted: 2023-07-05; Published online: 2023-07-12

# Regulation of alkane metabolism in *Alcanivorax* based on transcriptome and translome

WANG Zining, WEI Guangshan, ZHANG Xiyan, WANG Wanpeng\*, SHAO Zongze

Key Laboratory of Marine Genetic Resources, Third Institute of Oceanography, Ministry of Natural Resources, Xiamen 361005, Fujian, China

**Abstract:** [Objective] *Alcanivorax* is a genus of dominant hydrocarbon-degrading bacteria in the marine environment, and the knowledge about the regulation mechanism of its alkane metabolism is limited. This study aims to decipher the regulation mechanism of alkane degradation by *Alcanivorax* at both transcriptional and translational levels. [Methods] The transcriptome and translome data of *A. dieselolei* B5 grown in the medium with n-hexadecane as the sole carbon and energy source were obtained. The changes in the gene translation efficiency were calculated with sodium acetate as the control. Gene ontology (GO) and Kyoto encyclopedia of genes and genomes (KEGG) enrichment was performed for the differentially translated genes (DTGs) and differential translation efficiency genes (DTEGs). [Results] Both the transcriptional and translational levels of the key genes involved in alkane metabolism were significantly up-regulated when *A. dieselolei* was grown on n-hexadecane. These key genes mainly encoded alkane monooxygenase, cytochrome P450 oxidase, alcohol dehydrogenase, and aldehyde dehydrogenase. KEGG enrichment analysis revealed that the up-regulated DTGs were involved in peptidoglycan biosynthesis, fatty acid degradation, chloroalkane degradation, oxidative phosphorylation, biofilm formation, etc. DTEGs were mainly involved in the biosynthesis of siderophore non-ribosomal peptides, oxidative phosphorylation, biosynthesis of unsaturated fatty acids, etc. The combined analysis of transcriptome and proteome data showed that *A. dieselolei* efficiently coordinated the transcription and translation processes to adapt to alkane oxidation. The gene expression level and translational efficiency showed a negative correlation under both culture conditions. The global protein regulators CsrA and sRNAs may be involved in post-transcriptional regulation of genes involved in alkane metabolism, leading to differences in the translational efficiency. [Conclusion] The combined analysis of transcriptome and translome data suggested that post-transcriptional regulation was involved in the alkane metabolism of *A. dieselolei*. This study underpins further exploration of the post-transcriptional regulatory mechanisms controlling alkane metabolism.

**Keywords:** *Alcanivorax dieselolei*; alkane degradation; transcriptome; translome; translation efficiency

海洋石油污染威胁海洋生态与人类健康<sup>[1]</sup>。烃降解微生物在海洋生境中广泛分布, 其生态功能值得深入研究<sup>[2-3]</sup>。柴油食烷菌(*Alcanivorax dieselolei*) B5 是 *Alcanivorax* 属的一个种, 最初

分离自胜利油田黄河入海口渤海海域油污染的表层海水, 在海洋环境中广泛分布<sup>[4-8]</sup>。菌株 B5 是一株高效石油降解菌, 可降解包括支链烷烃在内以及从 C6-C36 的多种直链烷烃<sup>[5-9]</sup>。烷

烃氧化的一般途径是：烷烃进入细胞后首先通过膜上的单加氧酶先将烷烃羟基化，再通过醇脱氢酶和醛脱氢酶形成脂肪酸，最后脂肪酸进入 $\beta$ 氧化后产生的乙酰辅酶 A 进入 TCA 循环，最终以  $\text{CO}_2$  和  $\text{H}_2\text{O}$  为代谢产物产出<sup>[10]</sup>。

本实验室前期围绕食烷菌烷烃代谢网络及调控机制进行了研究，发现了烷烃感知、趋化、跨膜转运和代谢调控等关键因子<sup>[11]</sup>。其中，OmpT-2 外膜转运蛋白负责转运 C16–C24 中长链烷烃。当烷烃存在时，*ompT-2* 基因上调表达，而基因敲除后 B5 突变株丧失对相关烷烃的代谢能力<sup>[11]</sup>。此外，发现 B5 中存在 3 种烷烃单加氧酶，其中 2 个 AlkB 参与了 C12–C28 烷烃氧化，一个 P450 参与 C8–C16 直链烷烃的降解<sup>[9]</sup>，还有黄素依赖的长链烷烃单加氧酶 Alma 负责长链烷烃的氧化<sup>[7]</sup>。尽管前期对 *A. dieselolei* B5 的烷烃代谢机制开展了较为深入的研究，但对其烷烃代谢的转录和翻译调控机制仍不清楚。最近，通过转录组分析发现，全局蛋白调节因子 CsrA 和 sRNAs 可能直接参与了 B5 菌烷烃代谢途径的调控过程<sup>[12]</sup>。

核糖体图谱测序(ribosome profiling sequencing, Ribo-seq)是一种基于高通量测序检测全基因组水平 RNA 翻译的技术，基于核糖体测序技术的翻译组则可以捕获细胞在特定环境、特定时刻的翻译过程中的 mRNA<sup>[13]</sup>，可以为认识特定蛋白质的功能与环境响应提供参考。Ribo-Seq 通过对核糖体包被的 mRNA 区域又称为 ribosome footprint (RFs)进行深度测序，可以在全基因组范围内监测蛋白质合成效率。RFs 和 mRNA 转录水平之间比率的变化可用于识别感兴趣条件下的翻译调控<sup>[13-15]</sup>。测序数据经过处理获得差异基因后，使用 DESeq2<sup>[16]</sup>进行差异基因分析，并且可以进一步对差异基因进行基因本体论(gene ontology, GO)<sup>[17]</sup>和京都基因和基因组百科

全书(Kyoto encyclopedia of genes and genomes, KEGG)<sup>[18]</sup>富集分析。目前仅有少数几例原核微生物的翻译组研究报告。例如，Song 等<sup>[19]</sup>通过测定一种醋酸原菌异养和自养条件下的差异基因表达和差异翻译水平，揭示了在转录和翻译水平上的系统调控，评估了 2 种不同条件下的翻译调控变化与产乙酸菌 WLP 途径(wood-ljungdahl pathway)和能量保持系统的关系。Shin 等<sup>[20]</sup>通过转录组和翻译组数据系统地分析了木醋杆菌自养和异养生长条件下 WLP 途径和能量代谢基因的翻译效率的变化，发现在不同的生长条件下 5'非翻译区(untranslated regions, UTR)和核糖体结合序列对该途径中基因的翻译效率有差异调节。Bezrukov 等通过 RNA-seq、Ribo-seq 和定量蛋白质组学分析，发现金黄色葡萄球菌内核糖核酸酶毒素 MazF 在全基因组中的作用直接通过切割 mRNAs 来降低翻译，间接通过减少翻译因子和促进核糖体休眠来降低翻译<sup>[21]</sup>。

为进一步揭示细菌烷烃降解的转录和翻译水平上的系统调控过程，本研究通过对柴油食烷菌 B5 在乙酸和 C16 的培养条件下分别进行翻译组分析，并结合转录组结果剖析了烷烃和非烷烃生长条件下典型海洋石油降解菌的基因表达特征，计算得到了基因的翻译效率(translation efficiency, TE)。研究结果将为揭示烷烃代谢过程的转录后调控机制提供新的证据。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验材料

柴油食烷菌(*Alcanivorax dieselolei*) B5 是 2005 年从近海表层海水(渤海湾胜利油田黄河码头)中分离的一株石油烃降解菌，保藏在中国海洋微生物菌种保藏管理中心(编号：MCCC 1A00001T=DSM 16502T)。本研究中使用 HLB (high salt luria broth)培养基和人工海水 ASM

(artificial sea water medium)培养基对 B5 菌株进行培养, 最适生长温度为 28 °C。试验所用药品均购于国药集团。

## 1.2 培养基

HLB 培养基(g/L): 胰蛋白胨 10, 酵母提取物, NaCl 30, 琼脂 15 (仅固体培养基添加)。

人工海水培养基(ASM): NaCl 30 g, MgSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O 7 g, NH<sub>4</sub>Cl 1 g, NaNO<sub>3</sub> 1 g, KCl 0.7 g, KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 2 g, Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> 3 g, 加 ddH<sub>2</sub>O 至 1 L, 调 pH 值至 7.4, 121 °C 高压蒸汽灭菌 20 min (注: 为防止沉淀, MgSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O 需单独灭菌); 灭菌后补加微量元素混合液。

1 000×ASM 微量元素混合液: CaCl<sub>2</sub>·2H<sub>2</sub>O 0.1 g, FeSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O 0.1 g, CuSO<sub>4</sub>·5H<sub>2</sub>O 0.05 g, MnSO<sub>4</sub>·2H<sub>2</sub>O 0.5 g, ZnSO<sub>4</sub> 0.1 g, AlK(SO<sub>4</sub>)<sub>2</sub>·12H<sub>2</sub>O 0.01 g, H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub> 0.01 g, Na<sub>2</sub>MoO<sub>4</sub>·2H<sub>2</sub>O 0.01 g, CoCl<sub>2</sub> 0.1 g。取次氨基三乙酸 1.5 g 溶解到 500 mL 的超纯水中, 用 KOH 调整 pH 至 6.5, 然后加入其他试剂, 待其全部溶解后, 补加超纯水定容至 1 L。经 0.22 μm 滤膜过滤除菌, 4 °C 避光保存。

## 1.3 菌株的生长曲线测定

将 B5 菌株保种管从 -80 °C 超低温冰箱中取出置于超净工作台中, 取 15 μL 的保种菌液均匀地涂布在 HLB 平板使其得到活化, 活化培养条件为 28 °C 恒温培养 2 d。2 d 后在超净工作台中从 HLB 平板上挑取菌株 B5 的单菌落, 接种于 200 mL 液态 HLB 培养基中, 28 °C、180 r/min 摇床振荡培养。待菌株 B5 生长到对数期(*OD*<sub>600</sub> 为 0.5–0.6)时, 取出摇瓶, 4 °C、5 000 r/min 离心 10 min 收集菌体, 菌体收集后, 使用灭菌的 ASM 溶液进行 2 次洗涤; 洗涤后的菌体用 50 mL 灭菌 ASM 重悬, 最后将菌体重悬液置于 4 °C 保存待用。按照 1% (体积分数) 的比例将过滤除菌的 NaAc、C16 加入到 200 mL ASM 培养基中, 即以 NaAc、C16 为 B5 菌株培养的唯一碳源,

每 50 mL 接种 1 mL 重悬菌种。28 °C、180 r/min 的摇床中进行振荡培养, 每间隔 12 h 取样分光光度计检测 *OD*<sub>600</sub>, 以不接种菌对应培养基为空白对照。

## 1.4 转录组与翻译组样品制备

按照上一步骤接种要求每 200 mL 接种 5 mL 上一步重悬菌种, 在 28 °C、180 r/min 的摇床中进行振荡培养。转录组样本每组设置 3 个生物学重复, 翻译组样本每组设置 2 个生物学重复。转录组样品在 28 °C、180 r/min 条件下培养至对数生长期(*OD*<sub>600</sub> 为 0.5–0.6), 进行菌体采集。将培养好的菌液适量转入合适的离心管中, 4 °C、10 000 r/min 高速离心 10 min 收集菌体, 弃去上层培养基, 液氮速冻后用封口膜封口暂存于 -80 °C 超低温冰箱。为了阻断翻译延伸, 翻译组样品的收集应培养至对数生长期(*OD*<sub>600</sub> 为 0.5–0.6)后, 向培养基中加入氯霉素至终浓度为 100 μg/mL, 37 °C 孵育 2 min, 将孵育完毕的菌液转移至离心管, 4 °C、4 500 r/min 离心 10 min, 倒弃上清, 然后用 10 mL 4 °C 预冷的洗涤液(10 mmol/L MgCl<sub>2</sub>, 100 mmol/L NH<sub>4</sub>Cl, 20 mmol/L Tris pH 8.0, 1 mmol/L 氯霉素)洗涤细菌一次, 再次 4 °C、4 500 r/min 离心 5 min, 倒弃上清液; 将菌体马上进行液氮速冻。RNA 提取、cDNA 文库构建及翻译组测序文库的构建和测序工作委托广州基迪奥生物科技有限公司完成。

## 1.5 转录组与翻译组数据分析

测序获得的 RNA-seq 原始数据, 首先通过 fastp<sup>[22]</sup> 去除接头序列和低质量读数获得高质量读数(clean reads), 并使用 Bowtie2<sup>[23]</sup> 映射到柴油食烷菌 B5 基因组。用每千碱基转录本每百万映射读数的片段数(fragments per kilobase of transcript per million mapped reads, FPKM)对基因表达水平进行归一化。 $|\log_2 FC|$  (fold change, FC) > 1 且 FDR (false discovery rate) ≤ 0.05 的基因定

义为显著差异表达基因(differentially expression genes, DEGs),以  $\log_2 FC > 1$  定义为显著上调基因,  $\log_2 FC < -1$  定义为显著下调基因<sup>[24]</sup>。

测序获得的 Ribo-seq 原始数据首先使用 fastp 过滤低质量的 reads, 然后去除含有 50% 以上低质量碱基或 10% 以上 N 碱基的原始 reads 和接头序列。进一步使用 Bowtie2 将 reads 映射到 rRNA 数据库、GenBank、Rfam 数据库和 miRBase, 将标记到 rRNAs、tRNA、snRNA、snoRNA 和 miRNA 的 reads 剔除。处理后的 RNA-seq reads 通过 STAR<sup>[25]</sup>与基因组进行比对, 设置去除比对到的经典非编码 RNAs, 然后根据 5'端的位置将剩余的 RFs 分配到不同的基因。为了识别不同样本组之间的差异翻译基因, 使用了 DESeq2 比较中  $|\log_2 FC| > 1$  且  $FDR \leq 0.05$  的基因被定义为显著差异翻译基因(differentially translated genes, DTGs), 以  $\log_2 FC > 1$  定义为显著上调基因,  $\log_2 FC < -1$  定义为显著下调基因。然后对 DTGs 进行 GO 和 KEGG 通路的富集分析, 并将结果显示在 Omicshare 网站(<http://www.omicshare.com/tools>)上。

通过对平行试验的相关分析来评价试验结果的可靠性和稳定性。计算样本之间的相关系数, 以评价样品之间的重复性。相关系数越接近 1, 2 个平行试验之间的重复性越好。

翻译效率是一个基因的翻译 mRNA 与总 mRNA 的比值<sup>[13]</sup>。公式如下:

$$TE = (\text{RPKM in Ribo-seq}) / (\text{FPKM in RNA-seq})$$

计算基因 TE, 并比较样本和组间的差异。

为了分析基因表达水平与翻译效率的关系, 采用 RiboDiff<sup>[26]</sup>对不同样本组间差异翻译效率基因分析进行鉴定, 以比较中  $|\log_2 FC| > 1$  且  $FDR \leq 0.05$  的基因定义为显著差异翻译效率基因(differentially translation efficiency genes, DTEGs)。DTEGs 的 GO 和 KEGG 富集分析同上。

## 2 结果与讨论

### 2.1 转录组和翻译组数据概述

基于 Illumina 测序平台获得了柴油食烷菌 B5 在烷烃环境 C16 和非烷烃环境 NaAc 培养条件下的转录组和翻译组数据。得到的原始数据通过 fastp 去除接头序列和低质量 reads 后, 共获得 6 534 万条 RNA-seq clean reads (表 1)和共 23 039 万条 Ribo-seq clean reads (表 2)。RNA-seq 的 clean reads Q20 和 Q30 分别超过 96%和 92%, 其中 96.88%–98.23%的 clean reads 被定位到 B5 基因组。Ribo-seq 的 clean reads Q20 和 Q30 分别超过 95%和 91%, 其中 87.19%–97.98%的 clean reads 被定位到 B5 基因组。

RNA-seq 和 Ribo-seq 数据的主成分分析(principal component analysis, PCA) (图 1A、1B) 可以很好的区分 NaAc 和 C16 培养的样品, 通过取任意 2 个样品中的翻译丰度, 计算每 2 个样品之间的皮尔森(Pearson)相关系数, 再将这

表 1 食烷菌 B5 在两种碳源下的转录组数据统计

Table 1 Statistic on the RNA-seq data under two carbon sources of *Alcanivorax* B5

Samples	Raw reads	Clean reads (%)	Q20 (%)	Q30 (%)	Mapped reads (%)
NaAc-1	11 611 610	11 513 638 (99.16)	96.54	92.47	96.99
NaAc-2	10 425 322	10 328 884 (99.07)	96.51	92.39	97.05
NaAc-3	11 340 124	11 244 724 (99.16)	96.54	92.57	96.88
C16-1	9 410 582	9 353 550 (99.39)	97.24	93.44	98.23
C16-2	12 602 948	12 526 992 (99.4)	97.11	93.29	97.97
C16-3	10 438 676	10 375 788 (99.4)	97.19	93.45	97.96

表 2 食烷菌 B5 在两种碳源下的翻译组数据统计

Table 2 Statistic on the Ribo-seq data under two carbon sources of *Alcanivorax* B5

Samples	Raw reads	Clean reads (%)	Q20 (%)	Q30 (%)	Mapped reads (%)
NaAc-1	51 220 208	51 102 558 (99.77)	98.32	95.41	96.19
NaAc-2	52 968 115	52 812 708 (99.71)	98.32	95.45	97.98
C16-1	70 937 999	69 902 228 (98.54)	95.06	91.53	94.14
C16-2	57 731 813	56 573 277 (97.99)	95.65	91.99	87.19

Raw reads: Number of reads in raw data; Clean reads (%): The number of effective data reads obtained after filtering low-quality reads and the percentage of raw reads; The Q20 and Q30: The corresponding reads' ratios of the base call accuracy  $\geq 99\%$  and  $\geq 99.9\%$ , respectively; Mapped reads (%): Ratio of reads aligned to the reference genome.

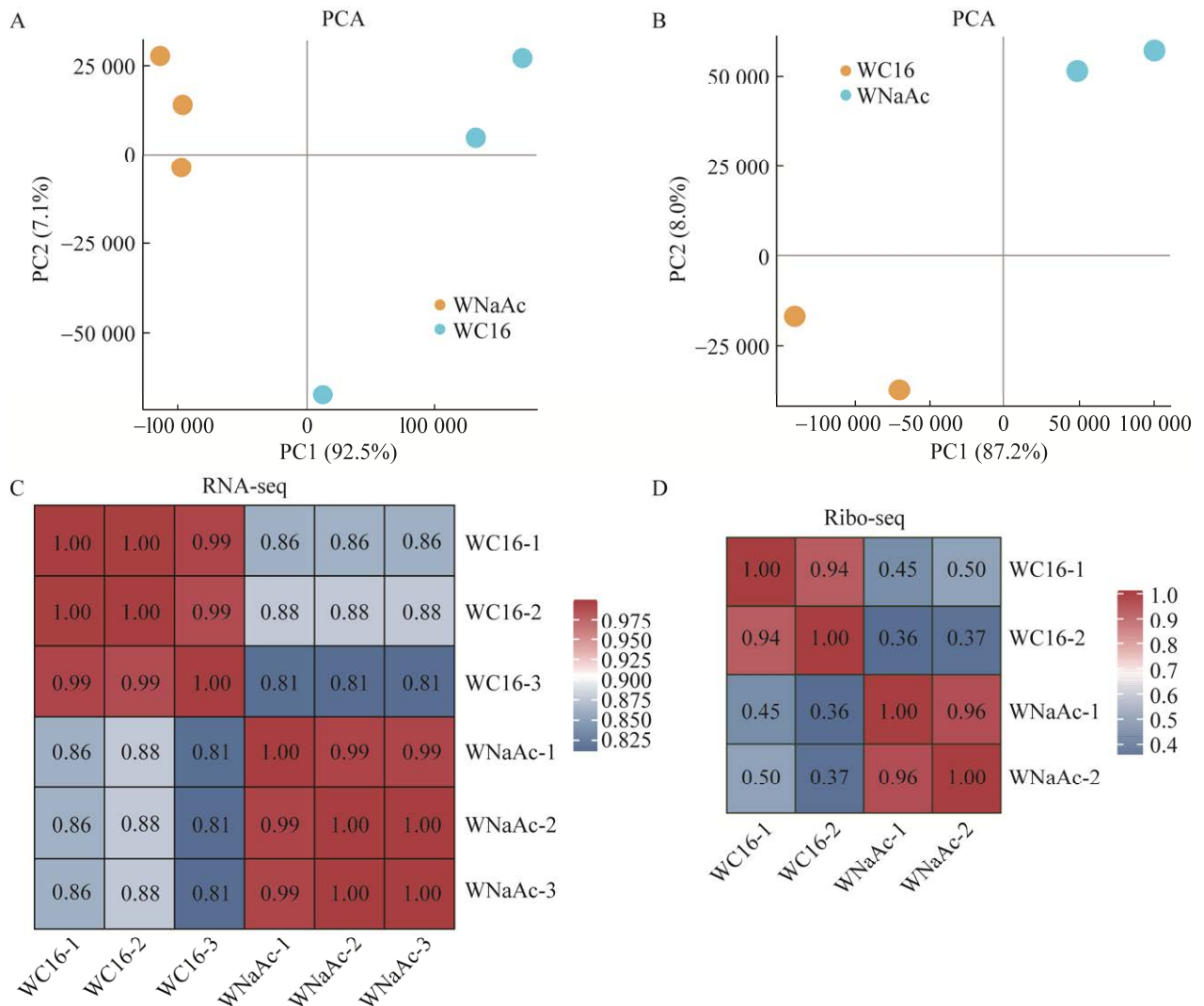


图 1 RNA-seq 和 Ribo-seq 数据主成分分析和皮尔森相关性

Figure 1 Principal component analysis and Pearson correlation for RNA-seq and Ribo-seq data. A: Principal component analysis of RNA-seq data for NaAc and C16 samples. B: Principal component analysis of Ribo-seq data for NaAc and C16 samples. C: Correlation analysis of RNA-seq data of NaAc and C16 samples. D: Correlation analysis of Ribo-seq data of NaAc and C16 samples.

些相关系数以热图形式直观地展示任意 2 个样品之间的相关性,可以考察组内重复样本之间的重复性。结果显示 NaAc 和 C16 组的生物学重复高度相关( $R>0.94$ , 图 1C、1D)。结果表明转录组与翻译组数据具有较高的可靠性和重复性。

## 2.2 翻译与翻译效率差异基因分析

分别测定了食烷菌 B5 在乙酸钠(NaAc)和正十六烷(C16)为唯一能源和碳源下的生长曲线,结果显示(图 2A),初始接种量相同的条件下,B5 在 C16 为唯一碳源与能源的培养条件下的延滞期要比 NaAc 长约 12 h,同时 C16 条件下的生长曲线斜率较小,说明在 C16 的生长速率相对较慢。这些结果显示了 B5 利用烷烃和非烷烃的响应时间与代谢速率的差异,这说明食烷菌 B5 存在着不同的碳代谢调控。以 $|\log_2 FC|>1$ 且  $FDR\leq 0.05$  为标准,在转录水平共得到 736 个 DEGs,其中包括 489 个显著上调基因和 247 个显著下调基因,在翻译水平共得到 709 个 DTGs,包括 287 个显著上调基因和 422 个显著

下调基因(图 2B)。发现在转录水平上上调的基因数量大于翻译水平上上调的基因数量,然而在转录水平上下调的基因数量却小于翻译水平上下调的基因数量,说明 B5 在降解烷烃的过程中存在着基因的负调控作用。

翻译过程是高度动态的,mRNA 分子中的遗传信息通过这个过程转化为执行特定功能的蛋白质<sup>[27]</sup>。然而,mRNA 丰度和相应蛋白质的水平并不总是相关的,其中翻译调控是一种更快、更直接地响应环境条件和维持稳态的方法<sup>[28]</sup>,通过计算组内的基因翻译表达量与转录本丰度的皮尔森相关系数,并绘制散点图来表示翻译和转录水平两组学之间的相关性高低。结果发现与 NaAc 组相比,C16 培养条件下基因转录和翻译水平之间的皮尔森相关系数从 0.748 8 增加到 0.945 3 (图 3A、3B),说明以烷烃为唯一碳源与能源的培养条件影响了 B5 的转录和转录后的翻译调控过程,为了适应烷烃环境 B5 更有效的协调转录与翻译过程。

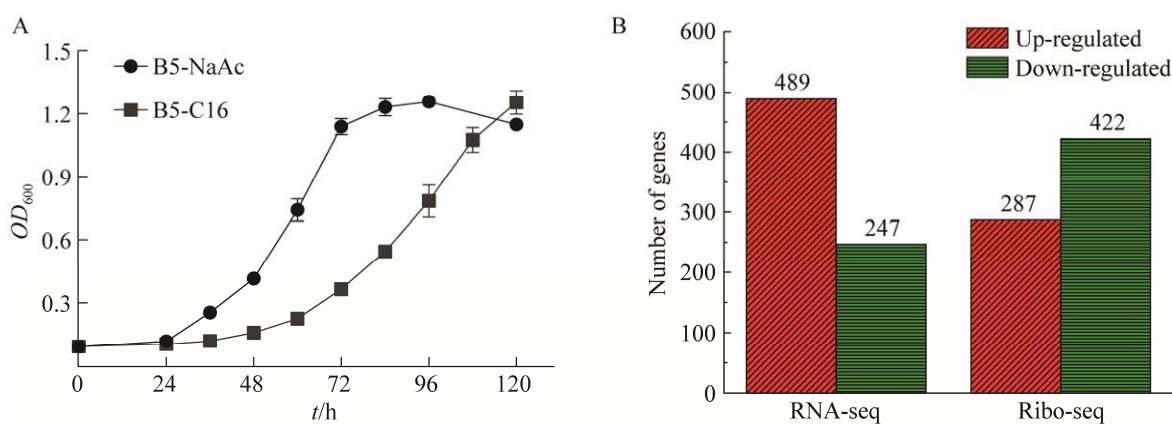


图 2 不同碳源下菌株 B5 的生长曲线(A)与差异基因统计图(B)

Figure 2 Growth curves (A) and statistical maps of differential genes (B) of strain B5 under different carbon sources. A: Growth curves of strain B5 cultured with NaAc or hexadecane (C16) as the sole carbon source. Error lines represent the standard deviation of three sets of biological replicate samples. B: Number of genes differentially expressed at the transcription or translation level under different carbon sources. The red histogram represents the number of up-regulated genes, and the green histogram represents the number of down-regulated genes.

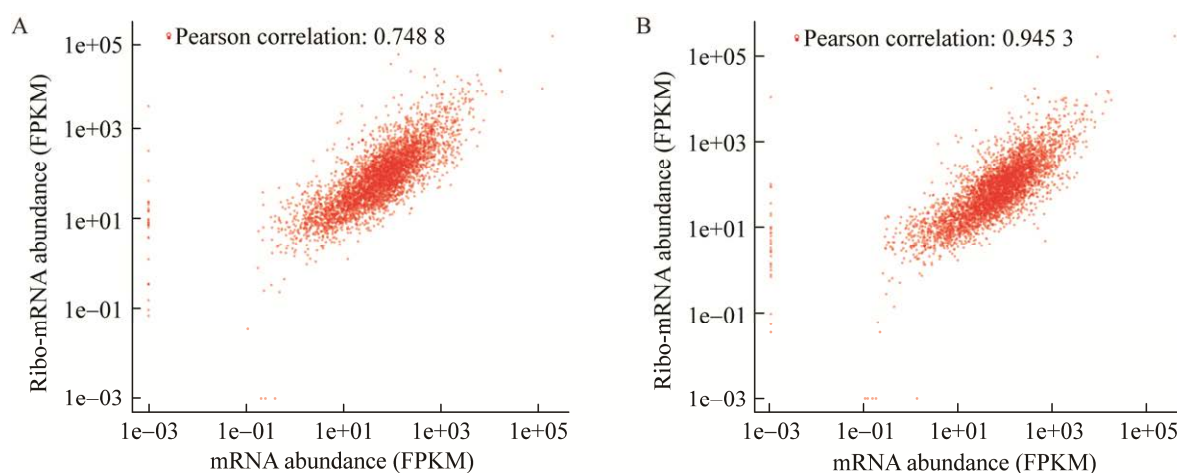


图 3 不同碳源下菌株 B5 RNA-seq 和 Ribo-seq 相关性图

Figure 3 Correlation plots of RNA-seq and Ribo-seq under different carbon sources of strain B5. A: Correlation analysis between RNA-seq and Ribo-seq data of NaAc samples. B: Correlation analysis between RNA-seq and Ribo-seq data of C16 samples.

通过计算 B5 在不同碳源培养条件下基因的翻译效率(translation efficiency, TE)来探究 B5 对烷烃代谢的响应方式, 对比分析了 NaAc 和 C16 样品的差异翻译效率基因(differentially translation efficiency genes, DTEGs), 共检测到 142 个 TE 显著升高的基因和 211 个 TE 显著降低的基因, 并绘制火山图(图 4A)。火山图直观展示 2 种不同碳源的培养条件下差异翻译效率基因的差异程度, 火山图中越靠近 X 轴两端的基因, 基因的翻译效率差异程度越大。分别计算了 2 种碳源培养条件下的基因翻译效率与转录丰度的皮尔森相关系数, 并绘制散点图, 可分析基因翻译效率与转录丰度之间的相关性高低, 翻译效率与转录水平的相关系数分别为 $-0.0141$  和 $-0.008$  (图 4B、4C)。这些结果表明随着基因转录表达量的提高, 基因的翻译效率逐渐降低。mRNA 的翻译效率与核糖体量直接相关, 高表达基因的翻译效率降低可能是由于核糖体与起始密码子结合机会减少引起的<sup>[29]</sup>。这种翻译缓冲<sup>[30]</sup>机制通过动态基因表达调控, 有助于细胞快速响应环境变化与刺激

应激。

### 2.3 烷烃降解相关基因的差异分析

C16 的存在改变了 B5 烷烃利用相关基因的表达和翻译水平(表 3)。对比 2 种碳源培养条件下 B5 烷烃摄取相关基因的转录和翻译水平发现, 与 NaAc 相比, 参与烷烃转运的基因 *ompT-2* 的转录与翻译均显著上调, 这也与前期的研究食烷菌 B5 中 *OmpT-2* 在转运 C16–C24 中长链烷烃中起重要作用的结果一致<sup>[11]</sup>。同时发现了 3 个注释为外膜转运蛋白的基因 B5T\_00290、B5T\_02536 和 B5T\_02604 在转录水平上分别提升 4.05、40.30 和 26.48 倍; 同样, 它们在翻译水平上分别上升 8.37、12.25 和 17.13 倍。这些在翻译水平显著上调的外膜转运蛋白可能在食烷菌 B5 烷烃代谢相关物质的转运过程发挥着重要作用。

对参与烷烃氧化第一步关键酶 P450 烷烃羟化酶与 AlkB 烷烃单加氧酶的表达与翻译分析发现, 当 B5 以 C16 为唯一碳源与能源时, 细胞色素 P450 烷烃羟化酶 *cyp136* (B5T\_02349) 在转录水平上调 11.04 倍, 在翻译上提升 5.24 倍。



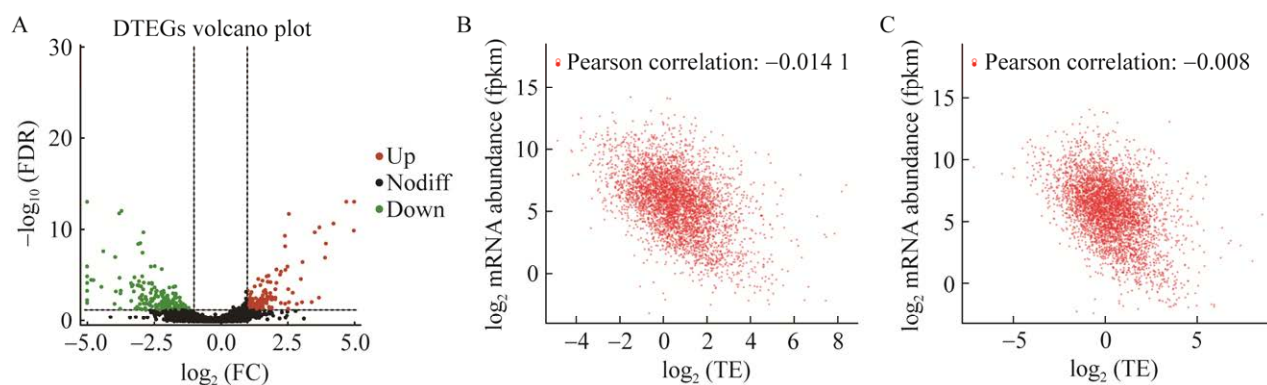


图 4 菌株 B5 DTEGs 火山图以及不同碳源下的基因 TE 与转录水平的相关性

Figure 4 Volcano plot of DTEGs and correlation between TE and transcript levels under different carbon sources of strain B5. A: Volcano plot of the DTEGs. The red dots represent significantly up-regulated genes, green dots represent significantly down-regulated genes, and black dots represent insignificant genes. B: Pearson correlation coefficient between TE and transcript levels for NaAc samples genes. C: Pearson correlation coefficient between TE and transcript levels for C16 samples genes.

3 个烷烃单加氧酶 *alkB1* (B5T\_00721)、*alkB2* (B5T\_00103)和 *alkB* (B5T\_04393)在转录水平分别提升 3.70、20.21 和 7.93 倍,在翻译水平上分别提升 11.58、5.29 和 4.79 倍(表 3)。同时,醇脱氢酶等关键基因在转录和翻译上展现了不同的表达水平;其中,锌结合醇脱氢酶家族蛋白 *butB* (B5T\_00308)、*adhP1* (B5T\_01645)在转录水平分别上调 11.66 倍和 2.77 倍,在翻译水平分别上调 9.31 倍和 9.15 倍;*adhP1* 的翻译效率从 NaAc 处理的 0.79 提升到 C16 中的 2.61。同时发现了高翻译效率基因辅酶 PQQ (pyrroloquinoline quinone)合成蛋白 *pqqB* (B5T\_02548)的翻译效率从 NaAc 的 6.12 提升到 C16 中的 32.61;然而, *pqqB* 的转录水平差异不大,而翻译水平则上调了 3.02 倍。与之对应的依赖 PQQ 的醇脱氢酶 *exaA* (B5T\_01640),其转录和翻译分别提升 2.21 倍和 4.46 倍,翻译效率也从 NaAc 的 2.29 提升到 C16 中的 4.62 (表 3)。这在以往烃降解菌研究中是未曾发现的。高翻译水平的 *pqqB* 可能正向调控了 *exaA* 的翻译过程,促进了烷烃从醇到醛的氧化。此外,还检测到了 2 个醛脱氢酶

*aldH1* (B5T\_00039)和 *aldH2* (B5T\_01644)的转录与翻译状况,其中 *aldH1* 的转录和翻译分别上调了 8.90 倍和 15.50 倍, *aldH2* 的转录水平差异较小,但是翻译水平提升 7.27 倍(表 3),它们的高表达应该促进了从烷醛到烷酸的氧化。

通过分析 B5 烷烃代谢相关基因的翻译趋势,发现许多在 C16 中高转录丰度的基因并没有展现出较高的翻译效率。例如,细胞色素 P450 烷烃羟化酶 *cyp136* 以及烷烃单加氧酶 *alkB2*、*alkB* 在 C16 样本中的翻译效率要低于 NaAc 样本中的翻译效率(表 3)。原核生物的翻译过程可分为起始、延伸和终止 3 个阶段,其中翻译起始阶段被认为是翻译速率的主要限速步骤<sup>[31-32]</sup>。先前的研究<sup>[12]</sup>表明 B5 菌株的全局蛋白调节因子 CsrA (B5T\_03095)可能参与了烷烃代谢相关基因的转录后调控,sRNAs 直接参与烷烃代谢过程导致更活跃的全局转录、RNA 加工和胁迫缓解,其中 *alkB2* 的表达可能受到 sRNA761554、sRNA761638 的负调控。全局蛋白调节因子 CsrA 和 sRNAs 可能通过调控基因转录后的翻译起始阶段导致了这些基因的差异翻译效率。

表 3 烷烃代谢相关基因差异  
Table 3 Alkane metabolism-related genes

Function	Gene ID	Gene name	Data of RNA-seq			Data of Ribo-seq			TE		Production		
			NaAc(FPKM)	Cl6(FPKM)	FC	P value	NaAc(FPKM)	Cl6(FPKM)	FC	P value		NaAc	Cl6
Alkane transportation	B5T_00290	<i>aupA</i>	138.55	561.57	4.05	3.97E-16	53.32	446.36	8.37	2.29E-40	0.38	0.79	Putative outer membrane transporters
	B5T_02536	<i>aupA</i>	2.21	89.20	40.30	3.11E-22	23.51	287.92	12.25	2.61E-57	10.62	3.23	Putative outer membrane transporters
	B5T_02580	<i>ompT-2</i>	1.56	6.89	4.41	0.008408	6.25	19.32	3.09	8.30E-10	4.01	2.80	Alkane uptake protein
	B5T_02604	<i>aupA</i>	6.90	182.77	26.48	2.92E-43	28.80	493.32	17.13	3.64E-61	4.17	2.70	Putative outer membrane transporters
Alkane hydroxylation	B5T_00103	<i>alkB2</i>	320.00	6468.98	20.22	6.86E-43	920.40	4868.07	5.29	2.33E-06	2.88	0.75	Integral-membrane alkane monooxygenase
	B5T_00721	<i>alkB1</i>	1115.69	4129.16	3.70	1.36E-13	369.97	4283.68	11.58	9.30E-16	0.33	1.04	Flavin-binding family monooxygenase
	B5T_02349	<i>cyp136</i>	4.33	47.84	11.04	6.95E-17	22.07	115.75	5.24	1.14E-10	5.09	2.42	Integral-membrane alkane monooxygenase
	B5T_04393	<i>alkB</i>	132.21	1047.83	7.93	4.69E-23	123.76	592.95	4.79	2.43E-08	0.94	0.57	Flavin-binding family monooxygenase
Alcohol dehydrogen	B5T_00308	<i>butB</i>	10.70	124.71	11.66	3.74E-10	19.21	178.81	9.31	1.53E-24	1.80	1.43	Zinc-binding alcohol dehydrogenase protein
	B5T_01640	<i>exaA</i>	9.68	21.41	2.21	0.000230	22.17	98.80	4.46	1.82E-08	2.29	4.62	PQQ-dependent dehydrogenase, family
	B5T_01645	<i>adhP1</i>	41.49	115.08	2.77	4.85E-09	32.79	299.87	9.15	8.94E-14	0.79	2.61	Zinc-binding alcohol dehydrogenase protein
	B5T_03006	<i>adh1</i>	132.47	150.88	1.14	0.430778	87.43	228.24	2.61	2.41E-05	0.66	1.51	Alcohol dehydrogenase, iron-containing
Aldehyde dehydrogen	B5T_00039	<i>aldH1</i>	149.05	1326.18	8.90	5.59E-31	86.48	1340.46	15.50	1.42E-14	0.58	1.01	Aldehyde dehydrogenase
	B5T_01644	<i>aldH2</i>	64.24	58.19	0.91	0.636465	179.83	1308.22	7.27	3.11E-08	2.80	22.48	Aldehyde dehydrogenase
Co-enzyme factor	B5T_02548	<i>pqqB</i>	49.26	27.86	0.57	0.009263	301.27	908.50	3.02	0.003199	6.12	32.61	Coenzyme PQQ synthesis protein

(待续)

(续表 3)

Function	Gene ID	Gene name	Data of RNA-seq			Data of Ribo-seq			TE		Production		
			NaAc <sub>(FPKM)</sub>	C16 <sub>(FPKM)</sub>	FC	P value	NaAc <sub>(FPKM)</sub>	C16 <sub>(FPKM)</sub>	FC	P value		NaAc	C16
Nitrogenous metabolism	B5T_01320	<i>aniA</i>	20.33	329.39	16.20	1.09E-24	17.35	254.59	14.5	0.006 329	0.85	0.77	Nitrite reductase, copper-containing
	B5T_03059	<i>narG</i>	39.59	600.87	15.18	4.13E-35	14.57	85.85	5.90	0.007 632	0.37	0.14	Nitrate reductase subunit $\alpha$
	B5T_03060	<i>narY</i>	36.90	721.51	19.55	2.67E-43	16.61	46.44	2.79	3.67E-05	0.45	0.06	Nitrate reductase subunit $\beta$
Siderophore nonribosomal peptide synthesis	B5T_03073	<i>norBC</i>	1 088.27	3 061.17	2.81	9.56E-05	5 758.09	1 204.06	0.21	8.08E-07	5.29	0.39	Nitric-oxide reductase large subunit
	B5T_02503	<i>dhbE</i>	2 273.04	1 071.58	0.47	1.93E-05	391.29	673.55	1.55	0.003 44	0.17	0.63	2,3-dihydroxybenzoate-AMP ligase
	B5T_02505	<i>pchR</i>	1 323.51	910.5	0.69	0.026 058	176.34	272.54	1.61	0.008 811	0.13	0.30	Gfo/Idh/MocA family oxidoreductase
Oxidative phosphorylation	B5T_02512	<i>irp2</i>	2 282.51	1 612.71	0.71	0.033 651	384.57	658.44	0.94	0.006 132	0.17	0.41	Non-ribosomal peptide synthetase
	B5T_00991	<i>cyoB</i>	388.11	274.57	0.71	0.027 941	250.355	527.28	2.11	0.018 141	0.65	1.92	Cytochrome o ubiquinol oxidase subunit I
	B5T_01135	<i>coxC</i>	98.89	87.06	0.88	0.536 348	44.21	110.46	2.50	7.98E-15	0.45	1.27	Cytochrome c oxidase subunit III
	B5T_02282	<i>ccoP</i>	43.18	589.31	13.65	1.66E-18	22.50	39.86	1.77	0.018 53	0.52	0.07	Cytochrome c oxidase cbb3-type subunit III
	B5T_02284	<i>ccoO</i>	68.82	862.73	12.54	8.98E-21	25.69	45.51	1.77	0.020 91	0.37	0.05	Cytochrome c oxidase cbb3-type subunit II
	B5T_02285	<i>ccoN</i>	45.58	562.20	12.33	2.96E-18	59.04	159.12	2.70	3.20E-05	1.30	0.28	Cytochrome c oxidase cbb3-type subunit I
	B5T_02686	<i>sdhD</i>	111.43	139.60	1.25	0.282 351	1 120.84	218.44	0.19	2.34E-11	10.06	1.56	Succinate dehydrogenase

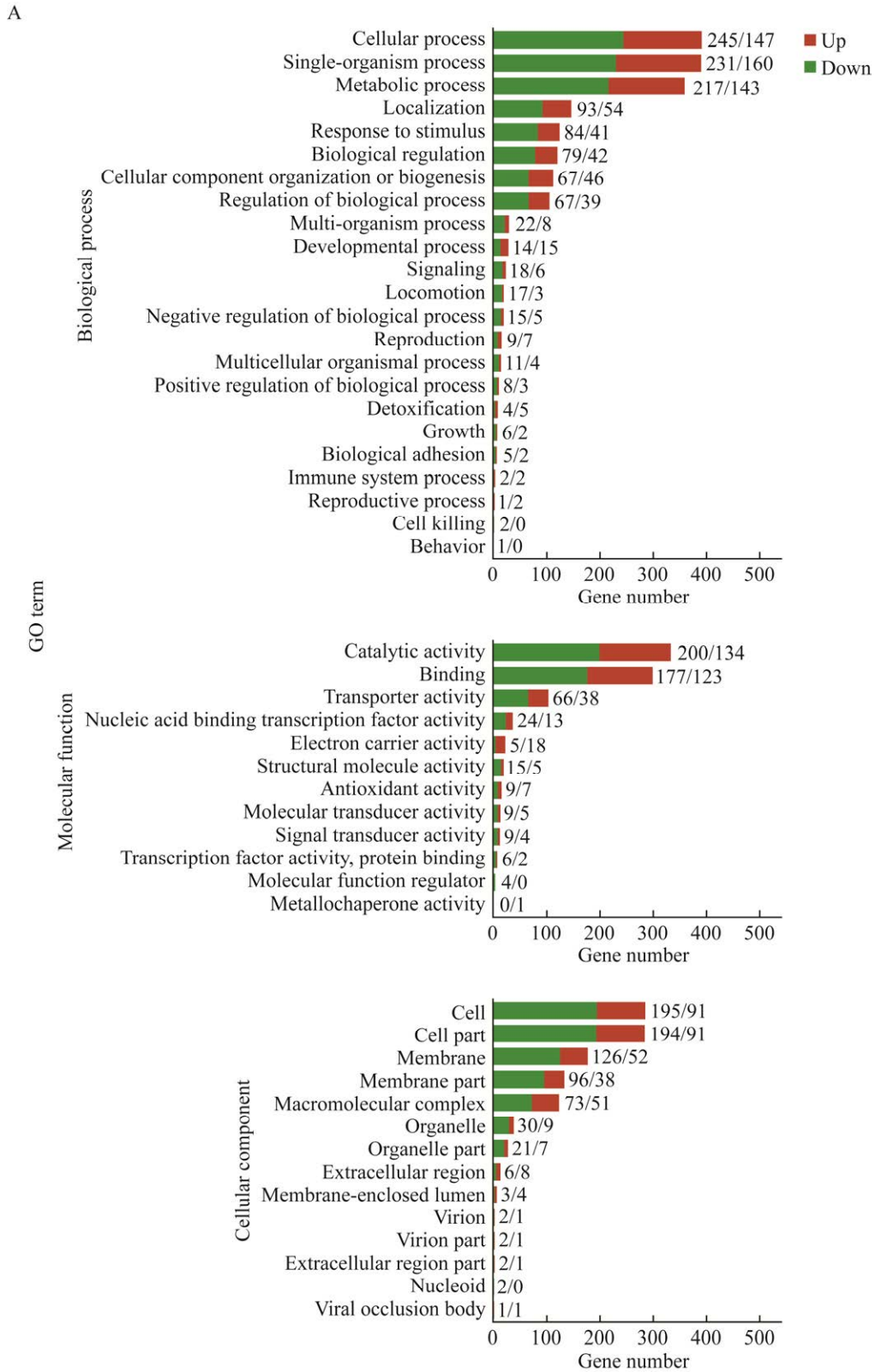
## 2.4 翻译差异基因 GO 和 KEGG 分析

为了分析烷烃代谢过程中显著翻译差异基因(differentially translated genes, DTGs)的生物学功能,对 B5 菌在 2 种碳源生长条件下差异翻译基因进行了 GO 富集和 KEGG 途径富集。结果表明(图 5A),大多数 DTGs 的生物学过程的 GO 富集主要涉及细胞过程、单个有机体和新陈代谢过程,在 C16 中显著上调的 DTGs 涉及到金属离子的响应、糖酵解、前体代谢物和能量产生过程。在分子功能方面,DTGs 的 GO 注释主要与催化、结合和转运体活性有关,在 C16 显著上调的 DTGs 多为血红素结合、单加氧酶活性、氧化还原酶活性和乙酰辅酶 A 羧化酶活性。在细胞组分类别中的 DTGs 涉及细胞、细胞组分、细胞膜和大分子复合体,在 C16 中显著上调 DTGs 主要功能为乙酰辅酶 A 羧化酶、氧化还原酶复合物、细胞色素复合物和脱氢酶复合物。翻译差异基因的 KEGG 途径分析结果表明(图 5B),显著上调的 DTGs 主要涉及到肽聚糖生物合成、脂肪酸降解、氯代烷烃降解、氧化磷酸化、生物膜形成等途径。其中肽聚糖的生物合成、脂肪酸降解以及氯代烷烃降解通路与 B5 烷烃代谢高度相关。烷烃由于其本身的疏水性限制了被细菌摄取的过程,早期的研究表明,细菌通过产生由亲脂和亲水部分组成的表面活性剂可以有效提高碳氢化合物的利用率<sup>[33]</sup>;同时细菌为了增强对烷烃的吸附作用会改变膜的组成,Naether 等<sup>[34]</sup>的研究表明泊库岛食烷菌(*Alcanivorax borkumensis*) SK2 可以使细胞膜可能变得更具亲脂性,Barbato 等<sup>[35]</sup>的研究表明柴油食烷菌(*Alcanivorax dieselolei*) KS 293 的膜形态从整齐变化为锯齿状以增强对疏水性烷烃的粘附,但是由于烷烃因本身具有亲脂的性质可以和细胞膜的双磷脂结合可能会导致细胞膜的破裂。因此为了协调代谢过程中细菌对烷烃的

吸附作用与烷烃本身对细胞造成的膜损伤,食烷菌 B5 的肽聚糖生物合成与生物膜形成途径相关基因的翻译水平显著上调,这也反映了食烷菌 B5 对烷烃代谢环境的适应策略。通过 KEGG 分析还发现,氮代谢过程中的 3 个硝酸盐还原酶 B5T\_01320、B5T\_03059 和 B5T\_03060 在转录和翻译水平均显著提升(表 3),这表明 B5 的烷烃降解过程加强了异化硝酸盐还原过程;但由于 NO 还原酶 *norBC* (B5T\_03073)的翻译下调,可能会导致 NO 的产生。

## 2.5 翻译效率差异基因的 GO 和 KEGG 分析

为了分析 B5 烷烃代谢过程中显著差异翻译效率基因(differentially translation efficiency genes, DTEGs)行使的生物学功能,对 DTEGs 进行了 GO 富集和 KEGG 途径富集分析。如图 6A 所示,大多数 DTEGs 的生物学过程的 GO 富集主要涉及细胞过程、单个有机体过程、代谢过程,其中显著上调的 DTEGs 涉及到对次级代谢产物分解代谢过程、维持 DNA 重复元件、细胞成分组织和化合物运输过程。在分子功能层次下 DTEGs 的 GO 注释主要与催化、结合以及转运体活性有关,在 C16 显著上调的分子功能多为氧化还原酶活性、跨膜转运蛋白活性、ATP 转运酶活性和水解酶活性。在细胞组分类别中,DTEGs 涉及细胞部分、细胞膜和大分子复合体形成,这些在 C16 显著上调的 DTEGs 涉及膜蛋白复合体、ATP 酶复合物、跨膜转运复合物和催化络合物的形成。这说明烷烃代谢过程存在系统的翻译调控来促进 B5 对烷烃的高效利用。进一步对 DTEGs 进行 KEGG 途径富集,结果表明,DTEGs 主要与铁载体非核糖体肽的生物合成、氧化磷酸化和不同环境中的微生物代谢、不饱和脂肪酸的生物合成等途径有关(图 6B)。先前的研究表明,B5 可以产生表面活性脂肽<sup>[36]</sup>,铁载体非核糖体肽的生物合成途径中的非核糖



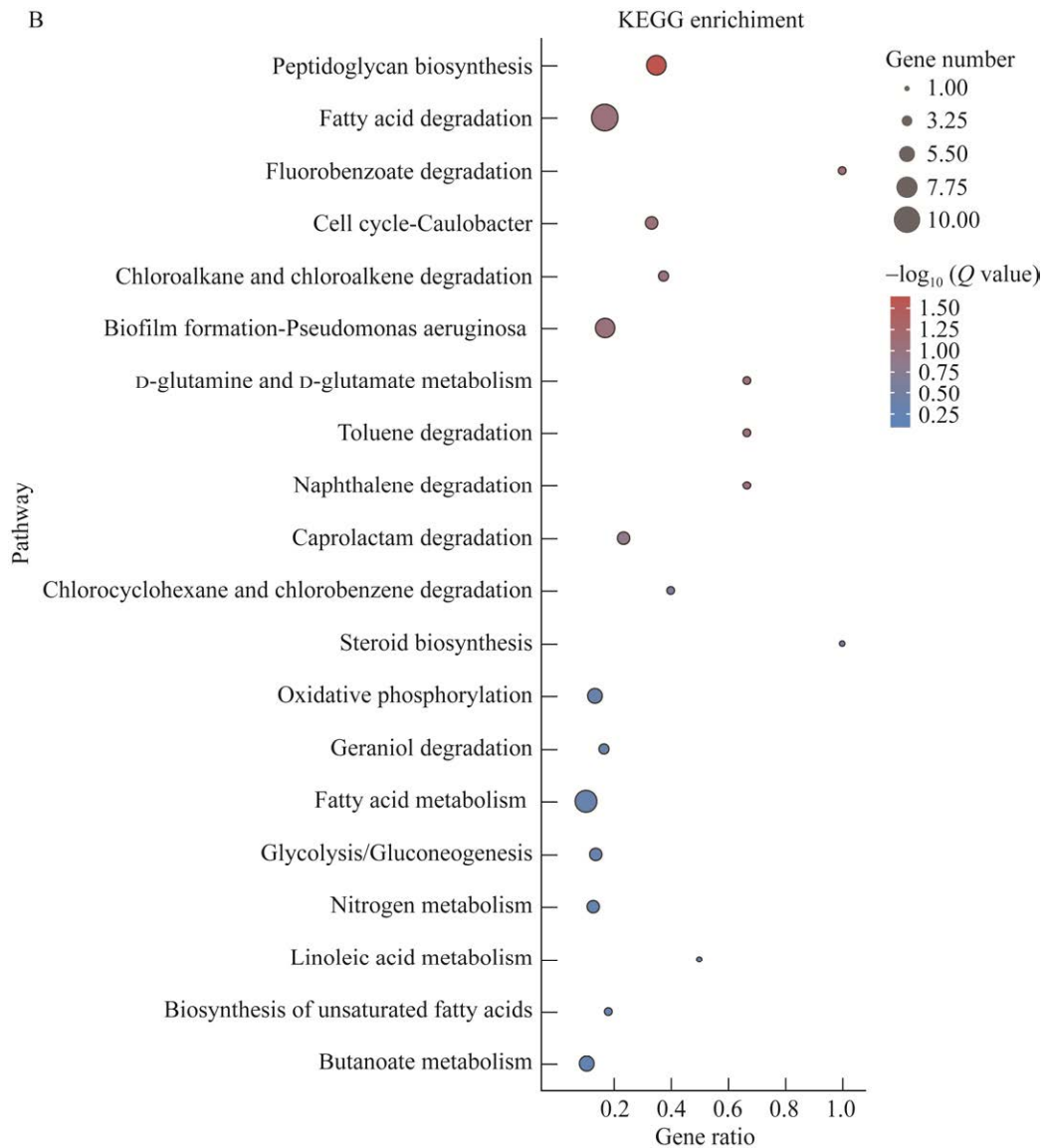
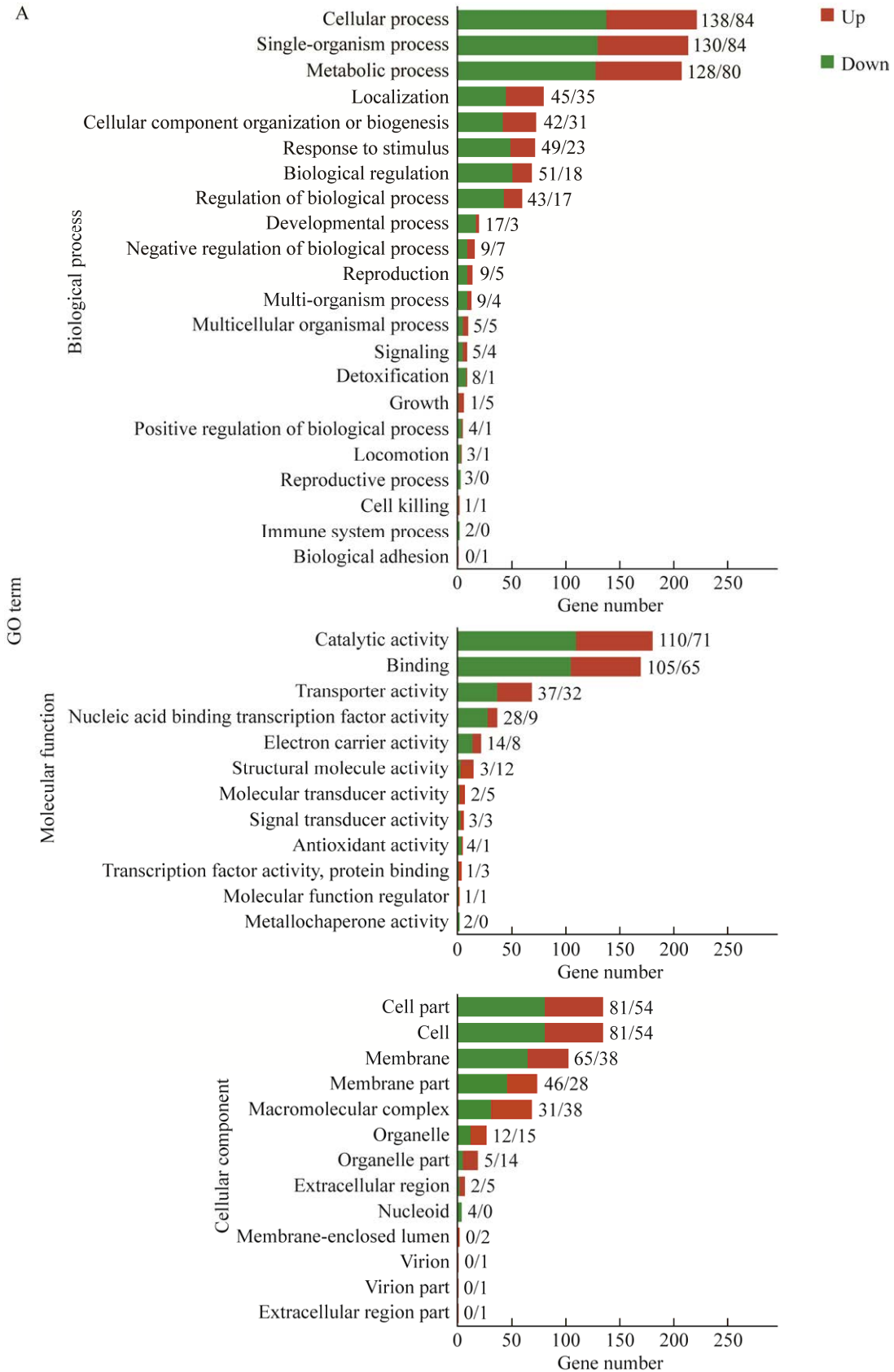


图 5 B5 菌在两种碳源生长条件下 DTGs 的 GO 注释(A)和显著上调 DTGs 的 KEGG 富集(B)

Figure 5 GO enrichment analysis (A) for all DTGs and KEGG pathway enrichment analysis (B) for significant up-regulated DTGs under the growth of two carbon sources for strain B5. A: GO annotation of the DEGs in the Ribo-seq data of the C16 compared to NaAc conditions. The red histogram represents the number of up-regulated genes, and the green histogram represents the number of down-regulated genes. B: KEGG pathway enrichment of significantly upregulated DEGs in the Ribo-seq data of the C16 compared to NaAc conditions.

体肽合酶被认为是可以以特定的方式(如激活、修饰和缩合)将单个氨基酸结合到伸长的肽链中复杂的分子机器<sup>[37-38]</sup>。在早期的研究中这种分子机器被报道参与了表面活性脂肽的产生<sup>[37,39-40]</sup>。铁

载体是大多数微生物的铁摄取过程起着关键作用的天然产物,其生物合成过程依赖于非核糖体肽合成酶<sup>[41]</sup>。微生物铁载体促进了微生物对铁的获取从而间接地参与了石油烃的生物降解过



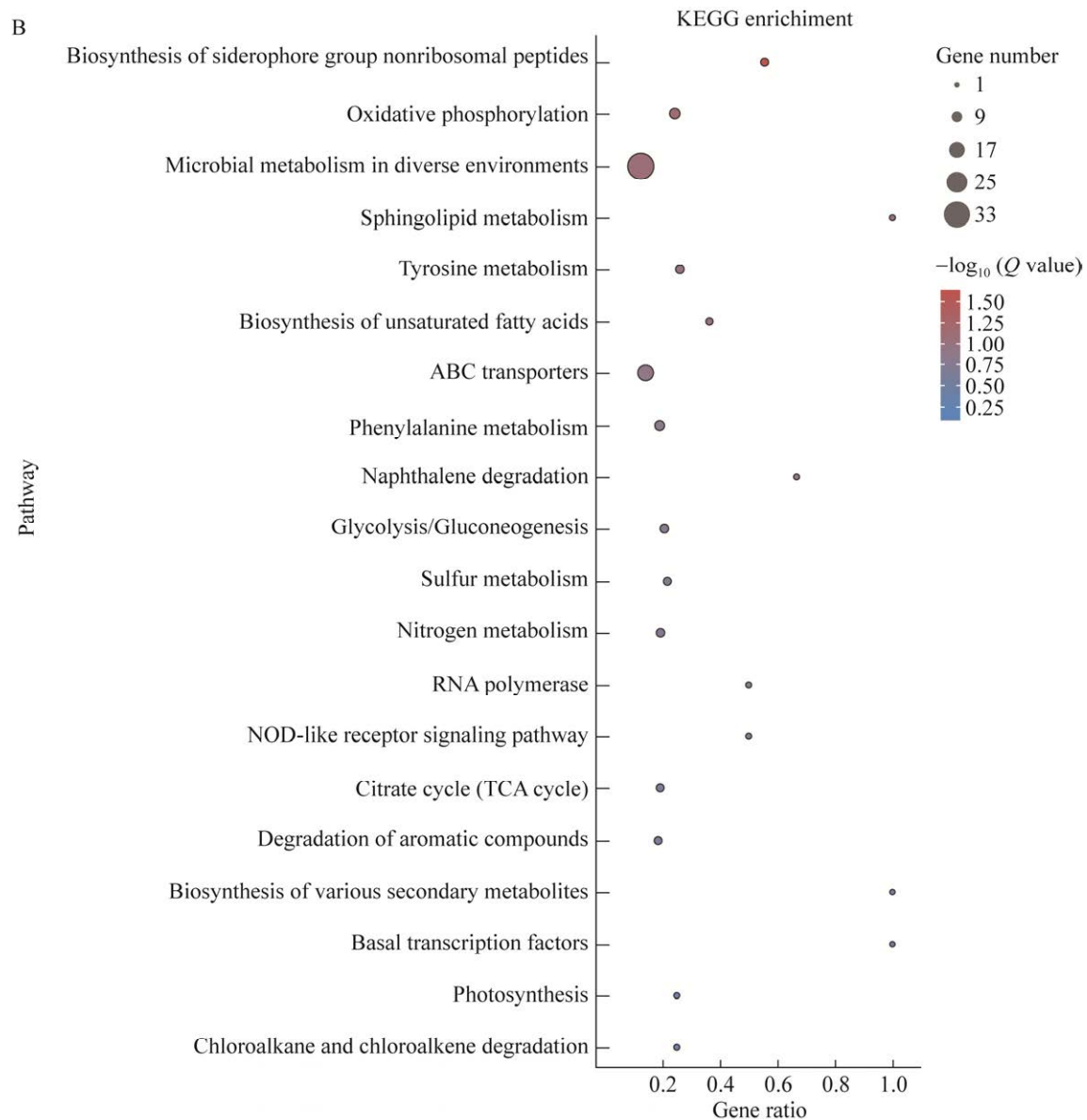


图 6 B5 菌在两种碳源生长条件下 DTEGs 的 GO 注释(A)与 KEGG 富集(B)

Figure 6 GO annotation (A) and KEGG enrichment (B) of DTEGs under the growth of two carbon sources for strain B5. A: GO annotation analysis in the DTEGs of the C16 compared to NaAc conditions. The red histogram represents the number of up-regulated genes, and the green histogram represents the number of down-regulated genes. B: KEGG pathway enrichment analysis in the DTEGs of the C16 compared to NaAc conditions.

程, 这种现象在其他烃降解菌中也有报道。例如, Denaro 等<sup>[42]</sup>于泊库岛食烷菌(*Alcanivorax borkumensis*) SK2 分离的铁载体 amphibactin 可以使细菌在铁限制的培养条件下维持烃降解的

效率, Gauglitz 等<sup>[43]</sup>分离自弧菌 *Vibrio* sp. S4BW 产生的两亲性柠檬酸基铁载体 ochrobactins-OH 可以促进细胞铁吸收以及烃的乳化。食烷菌 B5 中许多用于烃降解的酶需要铁的参与, 特别是



氧化正构烷烃的非血红素铁单加氧酶 AlkB, 因此为了满足生物在烷烃利用中对铁的代谢需求, 食烷菌 B5 需要表达更多的铁载体。高翻译效率的铁载体非核糖体肽的生物合成途径可能是食烷菌 B5 利用烷烃的良好策略。此外, 氧化磷酸化、糖酵解等途径相关基因的差异翻译效率表明转录后调控影响了 B5 在 2 种碳源培养条件下的能量代谢过程。

### 3 结论

本研究首次对高效烷烃降解菌食烷菌进行了转录组与翻译组分析, 发现了多个参与烷烃代谢的重要功能基因的表达特征, 为认识食烷菌烷烃代谢调控过程提供了重要依据。

(1) 烷烃为唯一碳源与能源的培养条件影响了 B5 的转录和转录后的翻译调控过程, B5 为了适应烷烃环境更有效的协调了转录与翻译过程。B5 的翻译效率与转录丰度之间的负相关表明随着基因表达水平的提高, 基因的翻译效率逐渐降低。

(2) B5 烷烃利用的转录和翻译水平分析发现, 有 3 个可能在烷烃代谢过程发挥重要作用的外膜转运蛋白 B5T\_00290、B5T\_02536 和 B5T\_02604, 以及可能正向调控了烷醇脱氢基因 *exaA* 翻译过程的辅酶 PQQ 合成蛋白。全局蛋白调节因子 CsrA 和 sRNAs 可能通过调控基因转录后的翻译起始阶段导致了烷烃代谢途径关键基因的差异翻译效率。

(3) GO 富集分析揭示了 B5 烷烃代谢条件下翻译与翻译效率差异基因参与的生物学过程、分子功能和细胞组分。翻译水平显著上调基因 KEGG 富集分析显示了与 B5 烷烃代谢高度相关的代谢途径, 翻译效率差异基因 KEGG 富集显示了 B5 不同碳源培养条件转录后调控的代谢通路。

总之, 这些信息为研究柴油食烷菌 B5 在烷烃代谢的转录后调控过程提供了重要的参考, 通过结合基因组、转录组和翻译组等多种组学数据分析有助于进一步探究烷烃降解菌的烷烃降解机制。

### 参考文献

- [1] READMAN JW, FOWLER SW, VILLENEUVE JP, CATTINI C, OREGIONI B, MEE LD. Oil and combustion-product contamination of the Gulf marine environment following the war[J]. *Nature*, 1992, 358(6388): 662-665.
- [2] 高晓攀, 杜显元, 李兴春, 张洪志, 聂世军, 杨斌. 石油降解菌处理污染土壤的研究进展[J]. *当代化工*, 2015, 44(12): 2814-2817.  
GAO XP, DU XY, LI XC, ZHANG HZ, NIE SJ, YANG B. Research progress of treating contaminated soil with oil-degrading bacteria[J]. *Contemporary Chemical Industry*, 2015, 44(12): 2814-2817 (in Chinese).
- [3] 唐景春, 吕宏虹, 刘庆龙, 朱文英. 石油烃污染及修复过程中的微生物分子生态学研究进展[J]. *微生物学通报*, 2015, 42(5): 944-955.  
TANG JC, LV HH, LIU QL, ZHU WY. Recent review on the microbial molecular ecology during contamination and remediation of petroleum hydrocarbons[J]. *Microbiology China*, 2015, 42(5): 944-955 (in Chinese).
- [4] KOSTKA JE, PRAKASH O, OVERHOLT WA, GREEN SJ, FREYER G, CANION A, DELGARDIO J, NORTON N, HAZEN TC, HUETTEL M. Hydrocarbon-degrading bacteria and the bacterial community response in gulf of Mexico beach sands impacted by the deepwater horizon oil spill[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2011, 77(22): 7962-7974.
- [5] LIU CL, SHAO ZZ. *Alcanivorax dieselolei* sp. nov., a novel alkane-degrading bacterium isolated from sea water and deep-sea sediment[J]. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 2005, 55(3): 1181-1186.
- [6] WANG LP, WANG WP, LAI QL, SHAO ZZ. Gene diversity of CYP153A and AlkB alkane hydroxylases in oil-degrading bacteria isolated from the Atlantic Ocean[J]. *Environmental Microbiology*, 2010, 12(5): 1230-1242.

- [7] WANG WP, SHAO ZZ. Diversity of flavin-binding monooxygenase genes (AlmA) in marine bacteria capable of degradation long-chain alkanes[J]. FEMS Microbiology Ecology, 2012, 80(3): 523-533.
- [8] WANG WP, WANG LP, SHAO ZZ. Diversity and abundance of oil-degrading bacteria and alkane hydroxylase (*alkB*) genes in the subtropical seawater of Xiamen Island[J]. Microbial Ecology, 2010, 60(2): 429-439.
- [9] LIU CL, WANG WP, WU YH, ZHOU ZW, LAI QL, SHAO ZZ. Multiple alkane hydroxylase systems in a marine alkane degrader, *Alcanivorax dieselolei* B-5[J]. Environmental Microbiology, 2011, 13(5): 1168-1178.
- [10] DUTTA TK, HARAYAMA S. Biodegradation of *n*-alkylcycloalkanes and *n*-alkylbenzenes via new pathways in *Alcanivorax* sp. strain MBIC 4326[J]. Applied and Environmental Microbiology, 2001, 67(4): 1970-1974.
- [11] WANG WP, SHAO ZZ. The long-chain alkane metabolism network of *Alcanivorax dieselolei*[J]. Nature Communications, 2014, 5: 5755.
- [12] WEI GS, LI SJ, YE SD, WANG ZN, ZARRINGHALAM K, HE JG, WANG WP, SHAO ZZ. High-resolution small RNAs landscape provides insights into alkane adaptation in the marine alkane-degrader *Alcanivorax dieselolei* B-5[J]. International Journal of Molecular Sciences, 2022, 23(24): 15995.
- [13] INGOLIA NT, GHAEMMAGHAMI S, NEWMAN JRS, WEISSMAN JS. Genome-wide analysis *in vivo* of translation with nucleotide resolution using ribosome profiling[J]. Science, 2009, 324(5924): 218-223.
- [14] LI GW, BURKHARDT D, GROSS C, WEISSMAN JS. Quantifying absolute protein synthesis rates reveals principles underlying allocation of cellular resources[J]. Cell, 2014, 157(3): 624-635.
- [15] WEINBERG DE, SHAH P, EICHHORN SW, HUSSMANN JA, PLOTKIN JB, BARTEL DP. Improved ribosome-footprint and mRNA measurements provide insights into dynamics and regulation of yeast translation[J]. Cell Reports, 2016, 14(7): 1787-1799.
- [16] LOVE MI, HUBER W, ANDERS S. Moderated estimation of fold change and dispersion for RNA-seq data with DESeq2[J]. Genome Biology, 2014, 15(12): 550.
- [17] ASHBURNER M, BALL CA, BLAKE JA, BOTSTEIN D, BUTLER H, CHERRY JM, DAVIS AP, DOLINSKI K, DWIGHT SS, EPPIG JT, HARRIS MA, HILL DP, ISSEL-TARVER L, KASARSKIS A, LEWIS S, MATESE JC, RICHARDSON JE, RINGWALD M, RUBIN GM, SHERLOCK G. Gene ontology: tool for the unification of biology[J]. Nature Genetics, 2000, 25(1): 25-29.
- [18] KANEHISA M, GOTO S. KEGG: Kyoto encyclopedia of genes and genomes[J]. Nucleic Acids Research, 2000, 28(1): 27-30.
- [19] SONG Y, SHIN J, JIN S, LEE JK, KIM DR, KIM SC, CHO S, CHO BK. Genome-scale analysis of syngas fermenting acetogenic bacteria reveals the translational regulation for its autotrophic growth[J]. BMC Genomics, 2018, 19(1): 1-15.
- [20] SHIN J, SONG Y, KANG S, JIN S, LEE JK, KIM DR, CHO S, MÜLLER V, CHO BK. Genome-scale analysis of *Acetobacterium woodii* identifies translational regulation of acetogenesis[J]. mSystems, 2021, 6(4): e00696-21.
- [21] BEZRUKOV F, PRADOS J, RENZONI A, PANASENKO OO. MazF toxin causes alterations in *Staphylococcus aureus* transcriptome, translome and proteome that underlie bacterial dormancy[J]. Nucleic Acids Research, 2021, 49(4): 2085-2101.
- [22] CHEN SF, ZHOU YQ, CHEN YR, GU J. Fastp: an ultra-fast all-in-one FASTQ preprocessor[J]. Bioinformatics, 2018, 34(17): i884-i890.
- [23] LANGMEAD B, SALZBERG SL. Fast gapped-read alignment with bowtie 2[J]. Nature Methods, 2012, 9(4): 357-359.
- [24] PERTEA M, KIM D, PERTEA GM, LEEK JT, SALZBERG SL. Transcript-level expression analysis of RNA-seq experiments with HISAT, StringTie and Ballgown[J]. Nature Protocols, 2016, 11(9): 1650-1667.
- [25] DOBIN A, DAVIS CA, SCHLESINGER F, DRENKOW J, ZALESKI C, JHA S, BATUT P, CHAISSON M, GINGERAS TR. STAR: ultrafast universal RNA-seq aligner[J]. Bioinformatics, 2013, 29(1): 15-21.
- [26] ZHONG Y, KARALETSOS T, DREWE P, SREEDHARAN VT, KUO D, SINGH K, WENDEL HG, RÄTSCH G. RiboDiff: detecting changes of mRNA translation efficiency from ribosome footprints[J]. Bioinformatics, 2017, 33(1): 139-141.
- [27] KAGE U, POWELL JJ, GARDINER DM, KAZAN K. Ribosome profiling in plants: what is not lost in translation?[J]. Journal of Experimental Botany, 2020,

- 71(18): 5323-5332.
- [28] SONENBERG N, HINNEBUSCH AG. Regulation of translation initiation in eukaryotes: mechanisms and biological targets[J]. *Cell*, 2009, 136(4): 731-745.
- [29] KUSNADI EP, TIMPONE C, TOPISIROVIC I, LARSSON O, FURIC L. Regulation of gene expression via translational buffering[J]. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular Cell Research*, 2022, 1869(1): 119140.
- [30] MCMANUS CJ, MAY GE, SPEALMAN P, SHTEYMAN A. Ribosome profiling reveals post-transcriptional buffering of divergent gene expression in yeast[J]. *Genome Research*, 2014, 24(3): 422-430.
- [31] MALYS N, McCARTHY JEG. Translation initiation: variations in the mechanism can be anticipated[J]. *Cellular and Molecular Life Sciences*, 2011, 68(6): 991-1003.
- [32] 郑超星, 马小凤, 张永华, 李洪杰, 张根发. 真核生物 mRNA 翻译起始机制研究进展[J]. *遗传*, 2018, 40(8): 607-619.
- ZHENG CX, MA XF, ZHANG YH, LI HJ, ZHANG GF. Research progress in the mechanism of translation initiation of eukaryotic mRNAs[J]. *Hereditas*, 2018, 40(8): 607-619 (in Chinese).
- [33] BANAT IM, FRANZETTI A, GANDOLFI I, BESTETTI G, MARTINOTTI MG, FRACCHIA L, SMYTH TJ, MARCHANT R. Microbial biosurfactants production, applications and future potential[J]. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 2010, 87(2): 427-444.
- [34] NAETHER DJ, SLAWTSCHEW S, STASIK S, ENGEL M, OLZOG M, WICK LY, TIMMIS KN, HEIPIEPER HJ. Adaptation of the hydrocarbonoclastic bacterium *Alcanivorax borkumensis* SK2 to alkanes and toxic organic compounds: a physiological and transcriptomic approach[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2013, 79(14): 4282-4293.
- [35] BARBATO M, SCOMA A, MAPELLI F, de SMET R, BANAT IM, DAFFONCHIO D, BOON N, BORIN S. Hydrocarbonoclastic *Alcanivorax* isolates exhibit different physiological and expression responses to n-dodecane[J]. *Frontiers in Microbiology*, 2016, 7: 2056.
- [36] QIAO N, SHAO ZZ. Isolation and characterization of a novel biosurfactant produced by hydrocarbon-degrading bacterium *Alcanivorax dieselolei* B-5[J]. *Journal of Applied Microbiology*, 2010, 108(4): 1207-1216.
- [37] DONADIO S, MONCIARDINI P, SOSIO M. Polyketide synthases and nonribosomal peptide synthetases: the emerging view from bacterial genomics[J]. *Natural Product Reports*, 2007, 24(5): 1073-1109.
- [38] HUO LJ, HUG JJ, FU CZ, BIAN XY, ZHANG YM, MÜLLER R. Heterologous expression of bacterial natural product biosynthetic pathways[J]. *Natural Product Reports*, 2019, 36(10): 1412-1436.
- [39] HABIB S, AHMAD SA, WAN JOHARI WL, ABD SHUKOR MY, ALIAS SA, SMYKLA J, SARUNI NH, ABDUL RAZAK NS, YASID NA. Production of lipopeptide biosurfactant by a hydrocarbon-degrading Antarctic *Rhodococcus*[J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2020, 21(17): 6138.
- [40] ROONGSAWANG N, WASHIO K, MORIKAWA M. Diversity of nonribosomal peptide synthetases involved in the biosynthesis of lipopeptide biosurfactants[J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2010, 12(1): 141-172.
- [41] KADI N, CHALLIS GL. Chapter 17. Siderophore biosynthesis a substrate specificity assay for nonribosomal peptide synthetase-independent siderophore synthetases involving trapping of acyl-adenylate intermediates with hydroxylamine[J]. *Methods in Enzymology*, 2009, 458: 431-457.
- [42] DENARO R, CRISAFI F, RUSSO D, GENOVESE M, MESSINA E, GENOVESE L, CARBONE M, CIAVATTA ML, FERRER M, GOLYSHIN P, YAKIMOV MM. *Alcanivorax borkumensis* produces an extracellular siderophore in iron-limitation condition maintaining the hydrocarbon-degradation efficiency[J]. *Marine Genomics*, 2014, 17: 43-52.
- [43] GAUGLITZ JM, ZHOU HJ, BUTLER A. A suite of citrate-derived siderophores from a marine *Vibrio* species isolated following the Deepwater Horizon oil spill[J]. *Journal of Inorganic Biochemistry*, 2012, 107(1): 90-95.