

# 极端环境原核微生物培养策略

杨子文<sup>1</sup>, 连政汉<sup>1</sup>, 刘兰<sup>1</sup>, 房保柱<sup>2</sup>, 李文均<sup>1,2</sup>, 焦建宇<sup>1</sup>

<sup>1</sup>中山大学

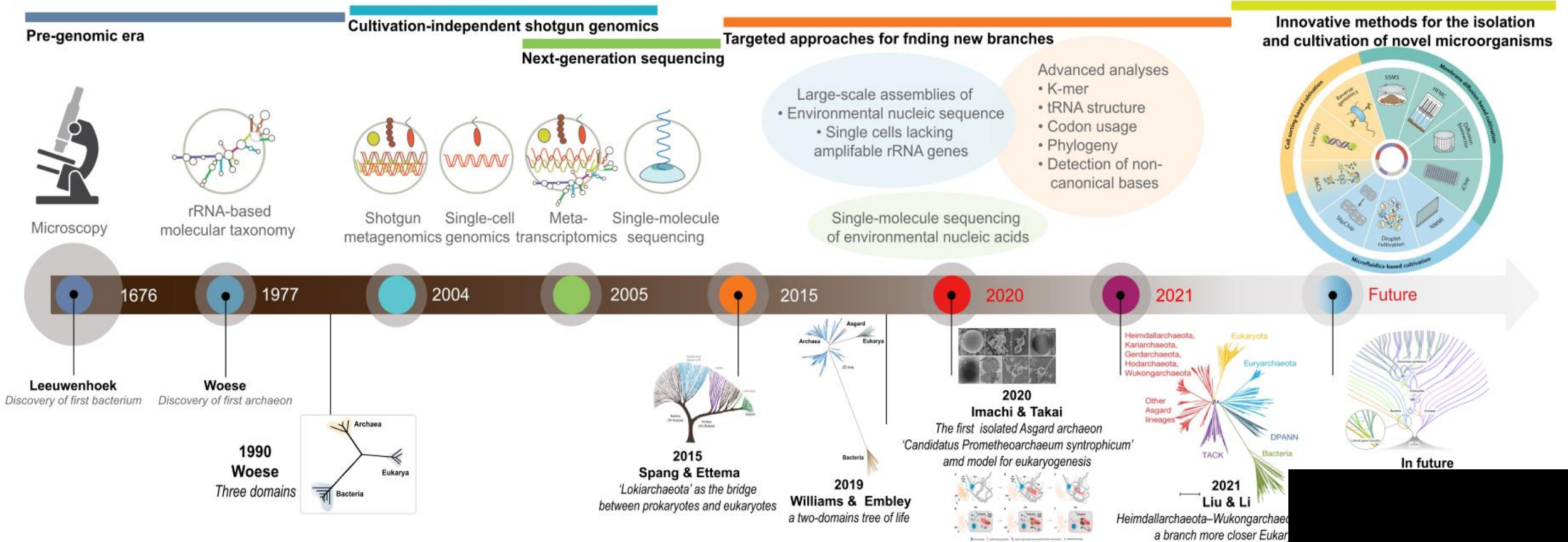
<sup>2</sup>中国科学院新疆生态与地理研究所



Yang, Zi-Wen, Zheng- Han Lian, Lan Liu, Bao-Zhu Fang, Wen-Jun Li, and Jian-Yu Jiao. 2023. C for prokaryotes from extreme environments. *iMeta* e123. <https://doi.org/10.1002/im>

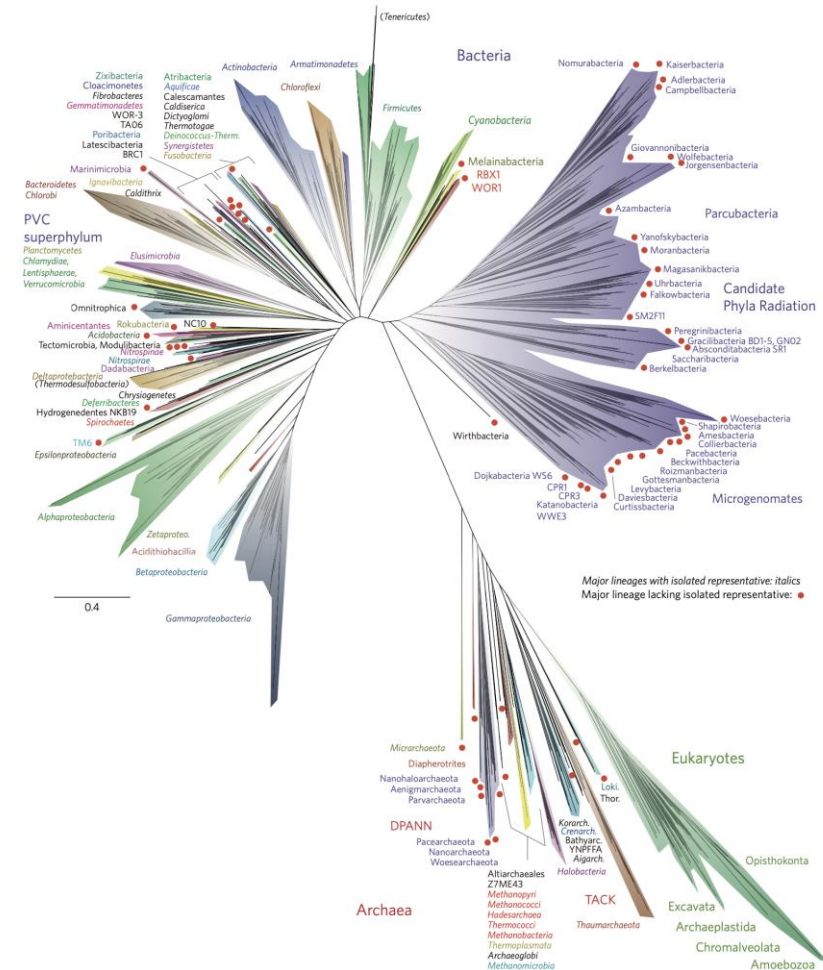
# 背景

- 微生物是分布最广、物种最为丰富、生物量最大的生命形式



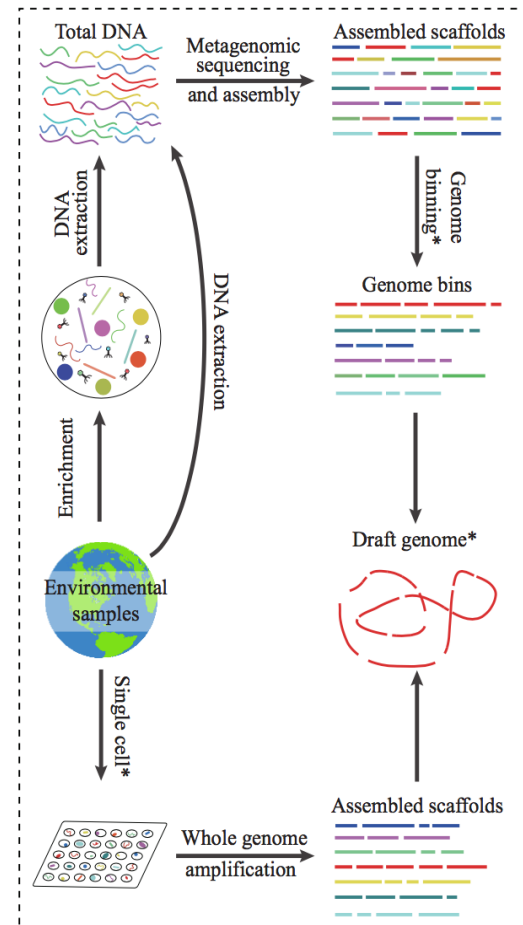
# 背景

➤ 挖掘“微生物暗物质”，获得未/难培养微生物纯培养菌株在新形势下既是机遇也是挑战

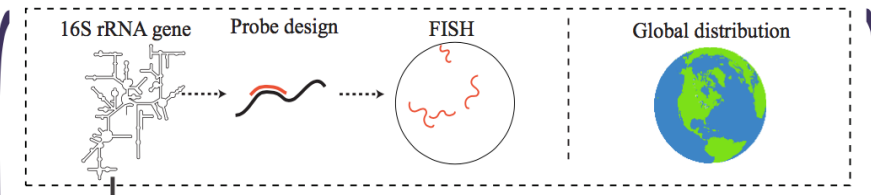


(Hug *et al.*, Nature Microbiology, 2016)

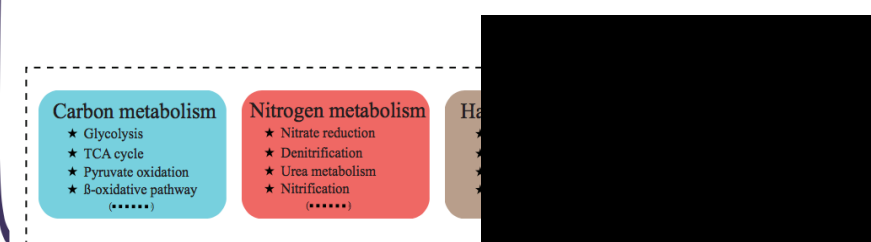
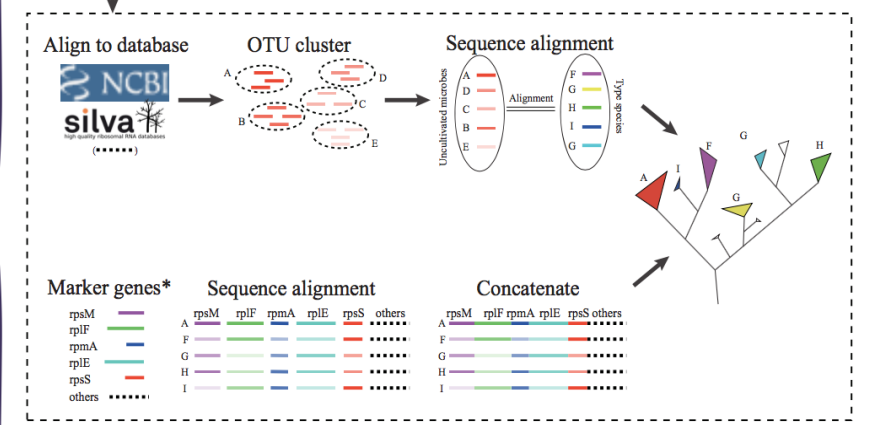
## Recovery of genomes from environmental samples



## Where are they?



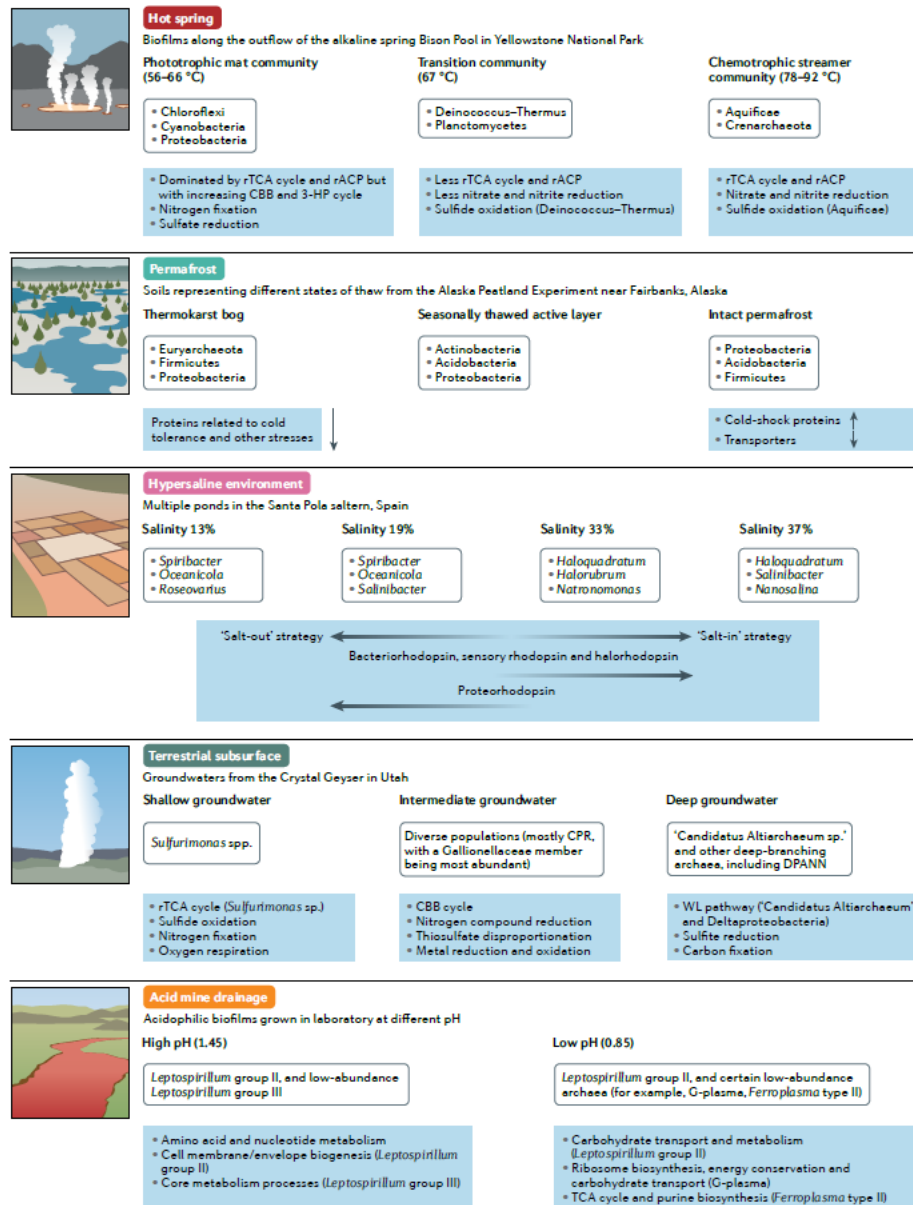
## Who are they?



Design targeted cultivation approach

(Jiao *et al.*, 2021, Nation

# 背景



(Huang et al., 2022, Nature Review Microbiology)

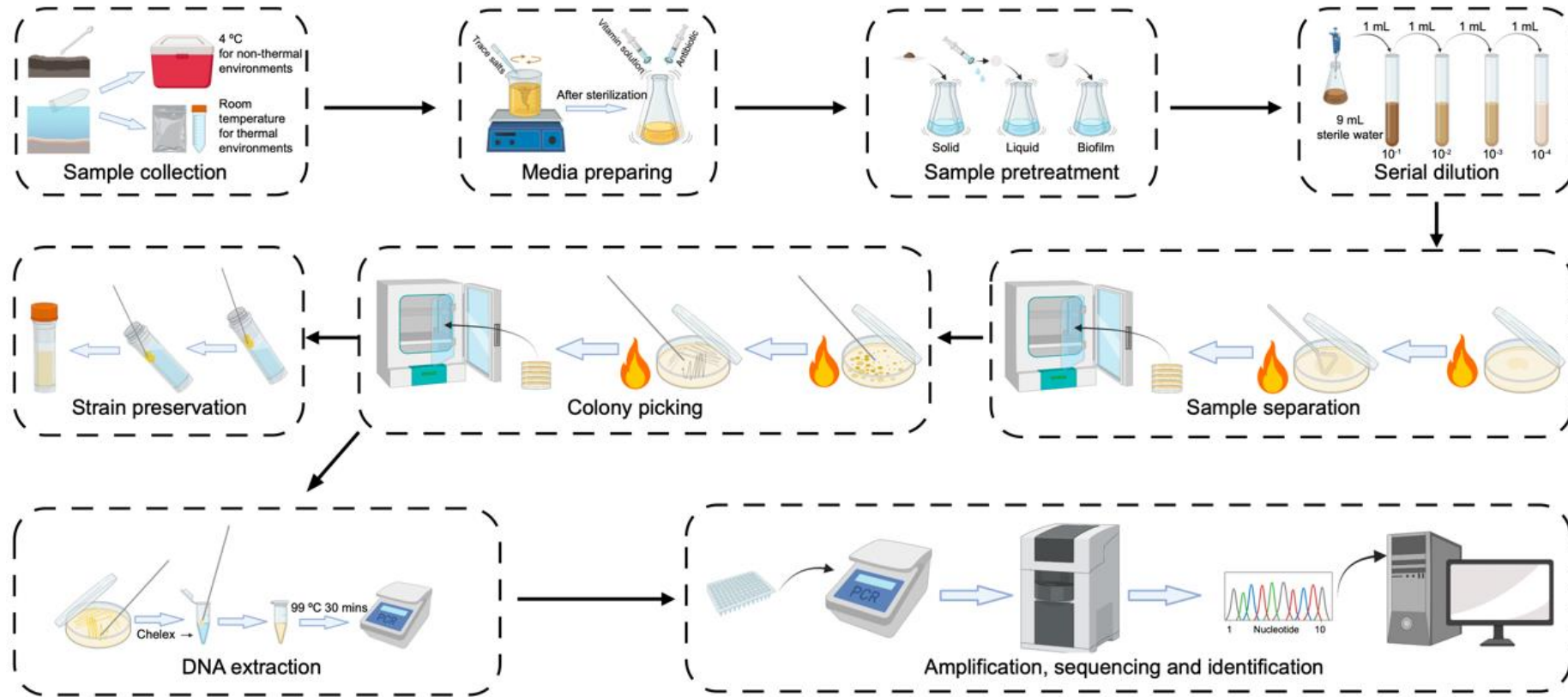
➤ 极端生境是地球上重要的地质形态，它们孕育着各种各样的极端微生物；

➤ 极端环境下的微生物由于它们的特异性适应和代谢，与普通环境的微生物相比更难分离；

➤ 极端微生物不仅可以提供独特的产物（如Taq DNA聚合酶），而且还是研究微生物生态学、进化和环境适应的理想目标；

➤ 极端微生物也被认为是研究生命起源生命的最佳模型

# 极端微生物分离的通用策略



极端微生物分离的通用策略分四个部分：极端环境样品采集；培养基准备与样品预处理；微生物的分离与保存；微生物的初步鉴定

及9个步骤：样品采集；培养基准备；样品预处理；梯度稀释；样品稀释涂布；菌落挑取；微生物保存；DNA提取；DNA扩增、测序及菌株鉴定

# 不同极端微生物分离的特定策略



Hot spring



Hydrothermal vent

## Thermal environments

- Gelrite replace agar
- Keep Petri dish moist when incubation
- Isolation from fresh sample
- Sodium thiosulfate addition
- Both aerobic and anaerobic strains isolation



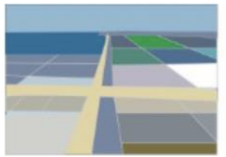
Desert



Yardang landform

## Xeric environments

- Short-time ultrasonication pretreatment
- Appropriate UV-light irradiation pretreatment
- Right amount salt addition
- Suitable antibiotic addition



Saltern



Salinealkali land

## Saline and alkaline environments

- Drying treatment before isolation
- Salts addition based on physicochemical properties
- Chloramphenicol for archaea isolation
- Salt addition when isolation and preservation



Acid mine drainage



Acidic water

## Acidic environments

- Biomass enriched by filter membrane
- Nutrient-rich medium utilization
- Overlay technique utilization
- Sterilized media and coagulant separately
- Gelrite replace agar



Permafrost



Glacier

## Cryogenic environments

- Biomass enriched by filter membrane
- Medium dilution
- Moderate temperature isolation
- Extension incubation time when isolation
- Right amount salt addition

不同极端环境由于其独特的限制因素而具有独特的微生物群落因而需要特定的分离策略和注意事项：

➤ 高温环境微生物分离主要需要注意培养基状态的保持；

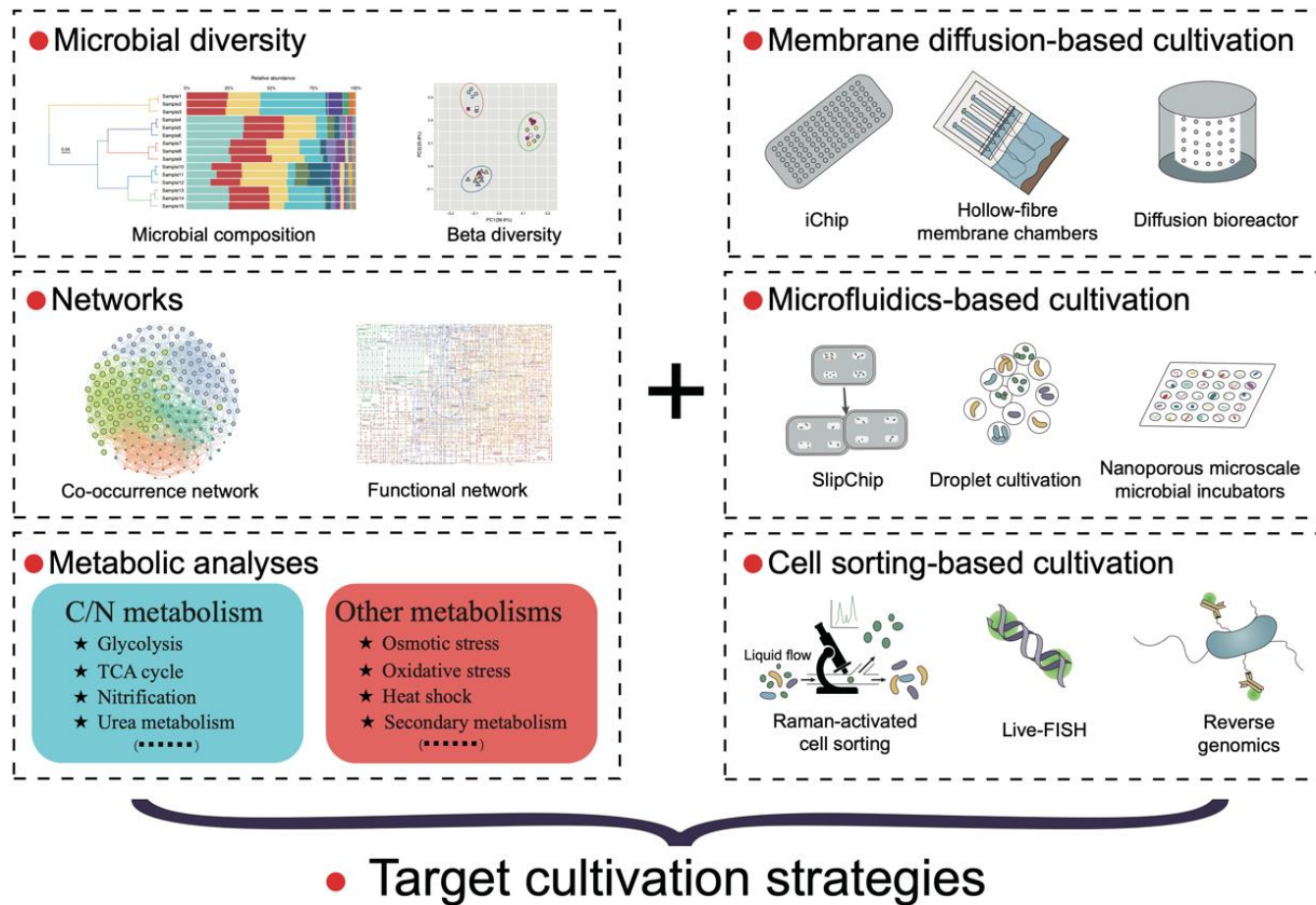
➤ 干旱环境有着相比于其他极端环境更丰富的微生物，可以采取较为激进的样品预处理策略；

➤ 盐碱环境主要需要注意不同类型的无机盐的添加以及高浓度的无机盐对培养基地影响；

➤ 酸性环境可能需要对样品进行富集处理以及选择合适的培养基凝固剂；

➤ 低温环境主要需要注意分离温度的选择以及不同样品理化和营养条件的差异。

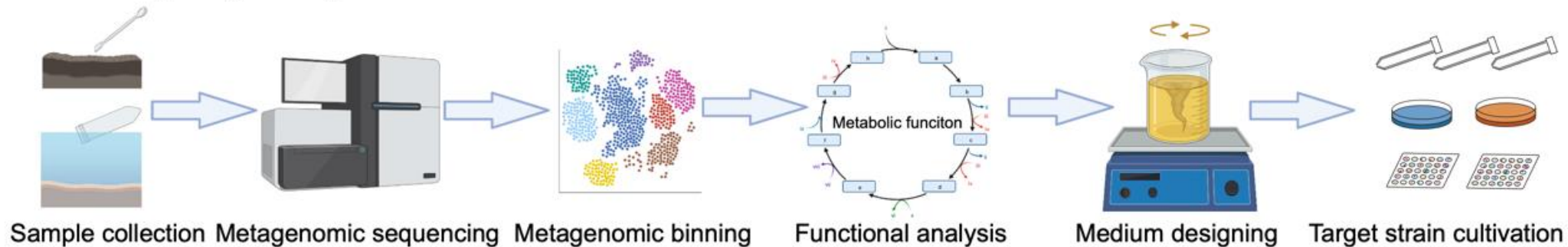
# 多组学指导下的微生物纯培养



来自各种组学技术的信息可以与其他技术（放射自显影技术、荧光原位杂交、质谱、拉曼光谱等）和创新培养方法（膜扩散/细胞分选/微流控）相结合，为合理设计靶向培养策略提供必要的框架

# 多组学指导下的微生物纯培养

## A. Function guiding microorganisms cultivation



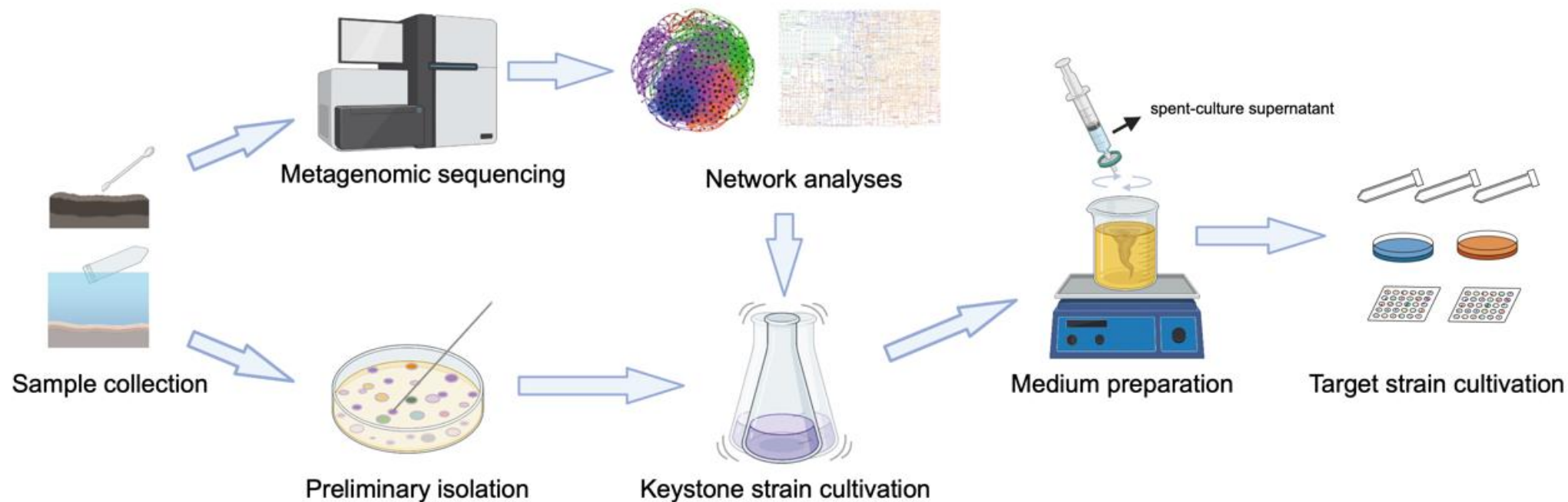
分析宏基因组数据  
发现潜在的同型产  
乙酸菌 *Ca.*  
*Geothermincola*

无机培养基中添加  
一定比例的 $N_2$ 、 $H_2$   
和 $CO_2$ 进行富集

120天的富集后，  
扩增子测序检测  
群落结构发现，  
目标放线菌的比  
例急剧增加

# 多组学指导下的微生物纯培养

## B. Network guiding microorganisms cultivation



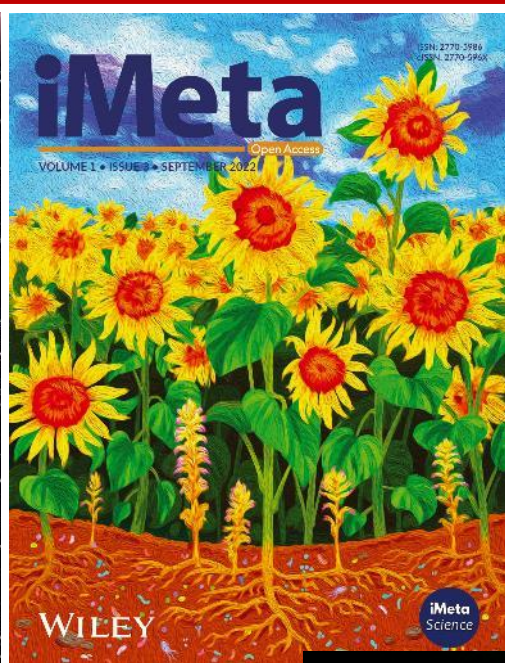
温单胞菌具有高度中心性，绿弯菌形成了外围节点并与温单胞菌有促进作用

将10%温单胞菌发酵上清液加入R2A培养基进行绿弯菌的分离

分离到绿弯菌门36个潜在新种和1个潜在新纲

# 总结

- 本文提供了一个直接且简便的通用方案来有效地分离极端环境微生物;
- 本文针对不同极端微生物的分离提出了不同的分离策略和注意事项;
- 本文提出了使用多组学指导的微生物培养方法来培养那些尚未培养的微生物, 并提供了两个案例, 希望以此来突破传统微生物分离方法的瓶



“iMeta”是由威立、肠菌分会和本领域数百位华人科学家合作出版的开放获取刘双江研究员和荷兰格罗宁根大学傅静远教授共同担任。目的是发表原创研究组学、微生物组和生物信息学发展。目标是发表前10%(IF > 15)的高影响力论可重复分析、图片打磨、青年编委、前3年免出版费、50万用户的社交媒体宣九月期已正式在线出版发行!

微生物所  
进宏基因  
频投稿、  
、六月和



主页: <http://www.imeta.science>

出版社: <https://wileyonlinelibrary.com/journal/imeta>



投稿: <https://mc.manuscriptcentral.com/imeta>



[office@imeta.science](mailto:office@imeta.science)



[iMeta](#)

[宣传片](#)

