水生生物学报
ACTA HYDROBIOLOGICA SINICA

蓝藻胞外多聚物生物合成、群体形成与微囊藻水华

邱东茹

BIOSYNTHESIS PATHWAY OF EXTRACELLULAR POLYMERIC SUBSTANCES AND COLONIAL FORMATION OF CYANOBACTERIA UNDERLYING WATER BLOOMS OF *MICROCYSTIS*

QIU Dong-Ru

在线阅读 View online: https://doi.org/10.7541/2020.116

关注微信公众号，获得更多资讯信息

综 述

doi: 10.7541/2020.116

蓝藻胞外多聚物生物合成、群体形成与微囊藻水华

邱东茹
(中国科学院水生生物研究所, 武汉 430072)

摘要: 有毒微囊藻水华在太湖、巢湖和滇池等饮用水源地频繁暴发, 对居民健康和水产养殖等构成严重威胁, 亟需开发新技术加以有效控制和利用。在水华暴发时, 蓝藻大量分泌胞外多聚物而形成细胞群体, 是蓝藻水华发生的关键和前提。蓝藻群体中胶质状胞外多聚物由胞外多糖、蛋白质和其他生物大分子组成, 对其结构、功能和生物合成途径研究了解仍然有限。生物信息学和比较基因组学分析发现微囊藻和其他多种蓝藻中编码大量的具有称之为PEP-CTERM结构域的潜在胞外蛋白质, 这些潜在的蛋白质可能通过特殊的分选系统分泌到细胞表面, 与胞外多糖相互作用形成结构更复杂的胞外多聚物, 介导细胞群体的形成和水华发生。亟需建立微囊藻遗传操作技术, 深入揭示胞外多聚物生物合成和群体形成的分子机制, 寻找控制蓝藻胞外多聚物的组装和分泌及群体形成的关键靶点, 将有助于揭示蓝藻水华形成机理及开发新型控藻技术。

关键词: 蓝藻水华; 群体形成; 胞外多聚物生物合成; 蛋白质分选; 群体感应

中图分类号: X524; Q949.22 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-3207(2020)05-1008-06

随着我国社会经济的迅速发展和城市化进程加速, 大量工业生产废水、城镇生活污水和农业面源污染带来的氮和磷等营养元素进入河流湖泊和近海水体, 水体富营养化进程加速。藻类水华和赤潮频繁发生, 严重影响多个大中城市饮用水供水安全及水产养殖等其他水体功能[1], 污染型缺水问题愈演愈烈。近几年有毒微囊藻(*Microcystis*)水华在江苏太湖、安徽巢湖和昆明滇池的频繁大规模发生引发全社会的关注和政府的高度重视。微囊藻毒素具有肝毒性和致癌性高、稳定性高、可生物积累和生物放大的特性, 对公众健康带来严重的危害和潜在风险。近年来我国学者对微囊藻水华暴发机理进行深入研究, 并试验了一系列控制的物理、化学和生物措施, 取得了可喜的进展, 但形势依然严峻。另一方面, 某些富营养化湖泊如武汉东湖蓝藻水华却突然消失并很少复发。20世纪80年代中期武汉东湖持续10余年的微囊藻水华突然消失, 此后虽然水体污染有增无减, 主体湖区却没有发生大规模蓝藻水华。我所淡水生态学家刘建康院士认为可能归因于东湖大水面放养鲢、鳙等滤食性鱼类。此后刘建康院士和谢平研究员用生态围隔进行实验湖沼学研究, 证实滤食性鱼类的滤食对微囊藻水华的控制作用[2]。蓝藻水华生物防治的可能途径包括生物操纵(Biomanipulation, 如鲢、鳙鱼滤食蓝藻)、利用溶藻细菌(Algicidal bacteria, 或称algae-lysing bacteria)和蓝藻噬藻体(Cyanophage)来控藻等[3, 4]。我们试图基于在活性污泥菌胶团形成菌中的研究结果, 从蓝藻群体形成及其可能的分子机制出发, 探讨微囊藻水华形成的分子机理和防治对策。

1 胞外多聚物与蓝藻群体形成

能形成水华的微囊藻和鱼腥藻等常见蓝藻是原核生物, 又称之为蓝细菌(Cyanobacterium), 其细胞结构属于革兰氏阴性菌型, 即具有细胞外膜(Outer membrane), 由少数肽聚糖层组成的细胞壁位于细胞外膜与细胞质膜(Cytoplasmic membrane, 或称内膜Inner membrane)之间的周质空间内, 受到保护, 不易受到溶菌酶的攻击。与许多革兰氏阴性细菌一样, 蓝细菌(蓝藻)也大量合成胞外多聚物(Extracellular polymeric substance, 缩写为EPS), 主要是胞外多糖, 形成包裹在细胞外的荚膜(Cap-

收稿日期: 2020-05-04; **修订日期:** 2020-08-22
基金项目: 中国科学院百人计划项目资助 [Supported by the “Hundred Talents Program” of the Chinese Academy of Sciences]
通信作者: 邱东茹, E-mail: qiu@ihb.ac.cn

sule)、胶鞘(Sheath)和黏液层(Slime layer), 其中黏液层容易脱落; 荚膜和胶鞘则与细胞紧密相连。许多微囊藻细胞的胞外胶状物质共同形成公共荚膜将多个细胞聚集成团, 即所谓的蓝藻群体(Colonial cells, 或称聚集体, aggregates), 可以有效抵抗原生动物和其他浮游动物的摄食[5, 6], 也可提高对环境胁迫和噬藻体侵染的抗性。摄食压力、细菌及某些环境理化因子则能够促进微囊藻群体的形成和体积增大[7—9]。滤食性的鲢和鳙也因为蓝藻群体外胶质层难以消化藻细胞。基于滤食性鱼类和枝角类滤食作用的生物操纵手段对控制微囊藻水华的效果受到极大的限制[2], 水华蓝藻资源的开发利用也非常困难。更为重要的是, 在微囊藻中, 群体细胞加之细胞中的伪空胞使得细胞成团漂浮、积聚在水面上, 即发生微囊藻水华。群体的形成、增大和形态的持续维持是微囊藻获得种群优势进而形成水华并维持优势的前提之一[10]。如果能够控制蓝藻胞外多聚物的大量合成和蓝藻群体的形成, 就有可能有效控制微囊藻水华的发生和发展。

蓝藻胞外多糖的合成是蓝藻群体形成的关键因素, 蓝藻群体的形成和维持是蓝藻水华发生的前提。蓝藻多糖成分和结构分析以及生物合成途径的了解还不够深入, 至目前为止我们对细菌胞外多糖生物合成了解主要来源大肠杆菌等模式菌、少数工业微生物和假单胞菌等病菌的研究工作。荚膜胞外多糖(K-抗原)的生物合成与脂多糖(LPS)的O-抗原(由多个寡糖重复单位组成多糖链, 是细菌菌体抗原的抗原决定簇)的合成有相似之处。糖基转移酶的催化下寡糖单位在细胞质中合成, 翻转酶的作用翻转穿过细胞质膜(内膜)进入周质空间, 在聚合酶作用下形成多糖链穿过细胞外膜分泌到胞外。对蓝藻胞外多糖的单糖组成、糖链和结构所知甚少。水华微囊藻(*Microcystis flos-aquae*)C3-40株的黏液层多糖的单糖组成为乳糖(重量占比1.5%)、葡萄糖(2.0%)、木糖(3.0%)、甘露糖(5.0%)、鼠李糖(5.5%)和半乳糖醛酸(83%)[11]。聚合形成微囊藻胞外多糖的寡糖单位中包含鼠李糖、岩藻糖和木糖等单糖[12]。蓝藻所合成和分泌的胞外多糖一部分溶于水中, 即所谓的溶解性多糖; 另一部分结合在藻细胞表面, 即结合性多糖, 对于蓝藻群体形成是必需成分[6, 9, 13, 14]。多糖中醛酸含量越高, 其黏附性越大[15]。通常认为二价钙离子通过盐桥作用促进胞外多糖形成黏性胶质, 进而包裹细胞形成群体[16, 17]。组成胞外多聚物的其他生物大分子, 特别是胞外蛋白质, 在蓝藻胶质层(Mucilage)和蓝藻群体形成中也可能具有重要作用, 形成的机制更为复杂。

2　PEP-CTERM蛋白质的翻译后加工和分选

除了胞外多糖, 蓝藻群体胞外胶质层中还存在蛋白质和其他生物大分子。例如, 江和龙实验室发现蓝藻胞外多聚物中水溶性、与细胞松散相连的成分多为蛋白质, 胞外多糖则与藻细胞紧密相连[18]。20世纪90年代末发现在革兰氏阳性菌(无细胞外膜)中, 蛋白分选酶(Sortase)可将拥有C端LPXTG基序的表面蛋白和菌毛通过共价键锚定到细胞壁的肽聚糖分子上[19]。经过对大量细菌基因组的生物信息学分析在革兰氏阴性细菌(包括蓝藻)中也鉴别出类似的分选酶同源基因, 这个分选酶基因(以前称之为*epsH*)和推测的表面蛋白基因通常与胞外多糖合成基因簇相互关联, 所鉴别的表面蛋白中通常具有C端的PEP基序, 而且富含可与糖基相连的丝氨酸和苏氨酸(O-linked)和天冬酰胺(N-linked)残基, 因此将这种蛋白分选系统称为PEP-CTERM/Exosortase (Exo意指胞外多糖)系统[20]。Exosortase (EpsH)为八次穿膜的膜蛋白, 可能与革兰氏阳性的分选酶相似具有转肽酶功能。PEP-CTERM基因的表达可能受到邻近的RpoN(或称Sigma 54)依赖的二组分系统PrsK/PrsR的调节。此外, 研究发现某些环境细菌中长链N-酰基氨基酸合成酶(酰基转移酶)基因也多与PEP-CTERM/Exosortase分选系统基因连锁, 因此长链N-酰基氨基酸有可能是组氨酸激酶PrsK的活化信号, 这类酰基转移酶被称为ExoAT[21]。

我们在活性污泥微生物喜树脂动胶菌(*Zoogloea resiniphila*)MMB株中成功构建转座子插入突变株库, 筛选多个与菌胶团形成相关的突变株, 鉴定出一些与胞外多糖生物合成与组装及菌胶团形成相关基因, 包括一个约40千碱基(KB)的大型基因簇, 并发现该基因簇中糖基转移酶基因组成上存在种间和种内差异。还发现其中两个编码天冬酰胺合成酶的旁系同源基因在菌胶团形成过程中具有重要功能, 这2个基因突变或敲除后能够阻断或推迟菌胶团的形成[22]。我们还鉴定出另外一个由7个基因组成、参与菌胶团形成的基因簇, 其中3个基因(糖基转移酶基因*epsB*2、脂蛋白基因*prsT*和参与合成甘露糖的尿苷二磷酸-N-乙酰-D-氨基葡萄糖胺脱氢酶基因*ugd*)插入失活或者敲除后基本检测不到胞外多糖, 说明其参与多糖中的单糖成分合成或者胞外多糖的生物合成和分泌。敲除编码二组分系统(Two-component system)的感受器组氨酸激酶(Sensor histidine kinase)基因*prsK*或者响应调节

蛋白(Response regulator)基因*prsR*后, 胞外多糖的合成依然存在, 所合成的大量胞外多糖被分泌和溶解到培养基中, 不能包裹细菌细胞群形成菌胶团。我们进一步的研究表明一些PEP-CTERM蛋白质基因参与喜树脂动胶菌的菌胶团形成, 其中2个基因*pepA*和*pepE*转录水平高, 并且受到RpoN、PrsK和PrsR的调节[23]。在*prsK*或者*prsR*基因敲除突变株中过量表达*pepA*基因可以恢复菌胶团形成表型, 胞外多糖也不再溶解到培养基中而是包裹到细胞团上。PepA蛋白质的氨基(氮)端具有典型的分泌信号肽, 首先通过II型分泌系统到周质空间, 其羧基(碳)端肽段也被切割下来形成成熟肽, 切割位点位于PEP基序下游, 其进一步分选和修饰则有待进一步研究[23, 24]。

此前, 我们在另一株菌胶团(絮团)形成菌解叔丁醇水居菌(*Aquincola tertiaricarbonis*)RN12株中, 大量筛选絮状物形成缺失的突变株, 鉴定到一个类似的胞外多糖合成基因簇以及一些其他基因, rpoN1 sigma因子(σ^{54})基因, 利用遗传互补分析确定RpoN1是菌胶团形成的主要调控基因之一。有趣的是, 该基因插入突变株中所合成的大量胞外多糖也被分泌和溶解到培养基中, 不能包裹细菌细胞群形成菌胶团。分析发现RpoN1并不影响胞外多糖合成基因的转录, 说明RpoN1所调控的基因在表达后也可能通过调节PEP-CTERM蛋白质的表达和分选机制使胞外多糖链紧密地结合在细菌群体的表面以形成菌胶团, 而不是直接调控胞外多糖的合成。RN12菌株有*rpoN*1、*rpoN*2、*rpoN*3和*rpoN*4等4个旁系同源基因, 但只有RpoN1能调控菌胶团的形成, 并且RpoN1调节该菌株的群集运动(Swarming motility)和生物被膜形成(Biofilm formation)[25]。由于拥有4个*rpoN*基因, *rpoN*1的敲除并没有造成象动胶菌*rpoN*敲除突变株那样生长缓慢, 也几乎检测不到胞外多糖[23]。无独有偶, 该菌基因组拥有数十个编码PEP-CTERM蛋白质的基因。这些结果说明动胶菌和水居菌等Beta变形菌形成菌胶团(或称絮状物)的机理非常相似。我们进一步揭示这些基因和基因簇在其他的菌胶团形成菌包括解壳聚糖松江菌(*Mitsuaria chitosanitabida*)和*Pseudoduganella eburnean*中也发挥同样的功能[26, 27]。胞外多糖和PEP-CTERM结构域蛋白质共同介导的菌胶团/絮团形成是多种微生物所共同拥有的一个普遍现象, 蓝藻极可能也是如此。

除原绿球藻(*Prochlorococcus*)外, 微囊藻等大多数蓝藻中均存在类似的PEP/Exosortase分选酶系统[28]。蓝藻中的分选酶分为2个亚族, 命名为蓝藻外分选酶A(Cyanoexosortase A, 简称CrtA)和B(cyanoexosortase B, 简称CrtB)[28]。微囊藻中拥有CrtB, 在我所已完成基因组测序的太湖和滇池微囊藻藻株中也发现*crtB*基因[29]。我们从产微囊藻毒素的铜绿微囊藻(*Microcytis aeruginosa*)NIES-843株基因组中可初步鉴定出33个编码PEP-CTERM结构域蛋白质的基因[30]。而不产毒的*Microcytis* sp. MC19株基因组中也编码45个PEP-CTERM结构域蛋白质[31]。从太湖梅梁湾分离的片状微囊藻(*Microcystis paniformis*)FACHB1757株基因组中也编码32个PEP-CTERM蛋白质[32]。鱼腥藻(*Anabaena variabilis* ATCC 29413)和念珠藻(*Nostoc* sp. PCC 7120)中分别拥有36和42个PEP-CTERM蛋白质编码基因。Daniel H. Haft还从一些蓝藻(包括*Cyanothece*, *Nostoc*, *Trichodesmium*, *Lyngbya*, *Arthospira*)中鉴定出一个亚类, 称之为cyano_PEP(TIGR04155), 在CTERM的跨膜区有典型的GXXXXGXG(X指任意氨基酸残基)基序。这些PEP-CTERM家族基因所编码的蛋白质可能分泌和锚定到细胞表面, 其功能完全未知。这些PEP-CTERM基因大概占许多蓝藻基因组基因总数的1/20强, 绝非偶然现象。我们有理由推测这些PEP-CTERM蛋白质可能通过特殊的分选系统分泌到细胞表面, 与胞外多糖通过糖基化作用形成结构更复杂的胞外多聚物, 介导细胞群体的形成和水华发生。

3 群体感应、微囊藻毒素与蓝藻群体形成

蓝藻群体和微生物菌胶团(絮团)是一种微生物细胞的群体行为, 可以被认为是一种特殊的生物被膜, 只不过不需要附着在物理和生物表面而已。群体感应(Quorum sensing, 缩写为QS)是微生物细胞间信息交流的一种方式, 可根据种群密度阈值(Quorum)来调节基因的表达。细菌可感知自身合成的自诱导分子(Autoinducer, 简称AI)的浓度(反映细胞密度)变化, 当信号分子浓度达到临界阈值后, QS系统可调控特定基因表达过程。革兰氏阴性菌主要利用不同的长链N-酰基高丝氨酸内酯(*N*-acyl-homoserine lactones, 简称AHLs)作为群体感应系统的AI分子(AI-1)。QS可调控多种生理过程如生物发光、质粒接合转移、感受态与孢子形成、抗生素合成、胞外酶和毒素产生、生物被膜形成和细胞分化等。人工干扰细菌QS有助于控制病菌的感染, 同理可能控制微囊藻水华的形成和微囊藻毒素的产生。蓝藻中群体感应现象研究较少。在附着生长的黏杆藻(*Gloeothece*)无菌株PCC6909中存在C8 N-酰基高丝氨酸内酯[33], C8-AHL的积累可以调

节糖代谢、氨基酸代谢和生物被膜形成。在固氮丝状藻鱼腥藻PCC 7120中存在一个具有AHL分解功能的酯酶基因(*aiiC*), 该酶可以分解一系列的AHL分子, 可能淬灭QS信号(Quorum quenching, 群体感应淬灭)[34]。多种AHL分子可以抑制鱼腥藻的固氮反应[35]。微囊藻中是否存在QS尚无定论, 南京大学学者在微囊藻无菌株PCC-7820代谢产物中检测到AHL信号分子[36]。群体感应是否参与蓝藻群体形成也无定论。

我所研究人员发现产毒微囊藻细胞在生长过程中释放到胞外的微囊藻毒素(MCs)可能具有信号物质的功能, 可激活产毒及非产毒微囊藻细胞中某些与多糖合成相关基因的表达和诱导胞外多糖产物的释放, 进而促进微囊藻群体的聚集。如果及时、持续地清除释放到胞外的微囊藻毒素分子, 微囊藻群体的尺寸则会显著减小。微囊藻毒素在微囊藻群体形态的维持中可能具有重要作用[10]。有趣的是, 蓝藻中并无sigma^{54}家族的RpoN sigma因子(表 1)。微囊藻中作为信号分子的微囊藻毒素所结合的受体分子应该与其他拥有RpoN的革兰氏阴性细菌有所不同, 需要进一步研究加以揭示。

表 1　水华蓝藻铜绿微囊藻和菌胶团形成菌喜树脂动胶菌胞外多聚生物合成与蓝藻群体/细菌菌胶团形成相关基因比较

Tab. 1　Comparison of between bloom-forming cyanobacterium *Microcystis aeruginosa* NIES-842 and floc-forming proteobacterium *Zoogloea resiniphila* MMB strain

胞外多聚生物合成与蓝藻群体/细菌菌胶团形成相关基因Extracellular polymeric substance biosynthesis and colony/floc-formation genes	喜树脂动胶菌(菌胶团形成细菌)*Zoogloea resiniphila* MMB	铜绿微囊藻(水华蓝藻)*Microcystis aeruginosa* NIES-842
胞外多糖合成与分泌相关基因	以大型基因簇形式集中分布于染色体上	以多个小型基因簇形式散布于染色体上
编码含有PEP-CTERM结构域的蛋白质基因	约20个	33个
调节PEP-CTERM基因转录的PrsK-PrsR二组分系统	有	无
介导PEP-CTERM基因转录的Sigma^{54}因子(RpoN)	有	无
群体感应	未知	未知

4　展望

微囊藻的分子遗传操作非常困难, 迄今为止只有一项报道在微囊藻成功进行基因失活的研究[37]。这极大地限制了微囊藻遗传分析和基因功能的鉴定, 某些遗传分析不得不在集胞藻(*Synechocystis*)中进行[38]。尽管如此, 面对国家需求, 为阐明微囊藻水华发生机制, 我国学者已作出极大的努力, 在微囊藻基因组学、微囊藻越冬机制和微囊藻群体形成和维持机理方面取得了显著进展。希望在不久的将来, 建立微囊藻遗传操作方法和系统, 特别是CRISPR-Cas9基因技术在蓝藻中的应用, 深入开展微囊藻胞外多聚物生物合成、表面蛋白分选、群体感应和水华发生机制相关分子遗传和功能基因组学研究, 揭示蓝藻群体形成的分子机制, 探索控制微囊藻水华发生的新型途径。

参考文献:

[1] Kong F X, Gao G. Hypothesis on cyanobacteria bloom-forming mechanism in large shallow eutrophic lakes [J]. *Acta Ecologica Sinica*, 2005, **25**(3): 589-595. [孔繁祥, 高光. 大型浅水富营养化湖泊中蓝藻水华形成机理的思考 [J]. 生态学报, 2005, **25**(3): 589-595.]

[2] Liu J K, Xie P. Unraveling the engima of the disappearance of water bloom from the East Lake (Lake Donghu) of Wuhan [J]. *Resources and Environment in the Yangtze Basin*, 1999, **8**(3): 312-319. [刘建康, 谢平. 揭开武汉东湖蓝藻水华消失之谜 [J]. 长江流域资源与环境, 1999, **8**(3): 312-319.]

[3] Zhao Y J, Liu Y D. Possible microbial control on the adverse impacts of algae-Information about the relationship between algae and microbes [J]. *Acta Hydrobiologica Sinica*, 1996, **20**(2): 173-181. [赵以军, 刘永定. 有害藻类及其微生物防治基础—菌藻关系的研究动态 [J]. 水生生物学报, 1996, **20**(2): 173-181.]

[4] Sigee D C, Glenn R, Andrews M J. Biological control of cyanobacteria: principles and possibility [J]. *Hydrobiologia*, 1999(**395/396**): 161-172.

[5] Lynch M, Shapiro J. Predation, enrichment, and phytoplankton community structure [J]. *Limnology and Oceanography*, 1981, **26**(1): 86-102.

[6] Yang Z, Kong F X, Shi X L, *et al*. Changes in the morphology and polysaccharide content of *Microcystis aeruginosa* (Cyanobacteria) during *Flagellate* grazing [J]. *Journal of Phycology*, 2008, **44**(3): 716-720.

[7] Shen H, Niu Y, Xie P, *et al*. Morphological and physiological changes in *Microcystis aeruginosa* as a result of interactions with heterotrophic bacteria [J]. *Freshwater Biology*, 2011, **56**(6): 1065-1080.

[8] Wang W J, Shen H, Shi P L, *et al*. Experimental evidence for the role of heterotrophic bacteria in the formation of *Microcystis* colonies [J]. *Journal of Applied Phycology*, 2015(28): 1111-1123.

[9] Xu F, Zhu W, Xiao M, *et al*. Interspecific variation in extracellular polysaccharide content and colony formation of *Microcystis* spp. cultured under different light intensities and temperatures [J]. *Journal of Applied Phycology*, 2016, **28**(3): 1533-1541.

[10] Gan N Q, Xiao Y, Zhu L, *et al*. The role of microcystins in maintaining colonies of bloom-forming *Microcystis*

spp [J]. *Environmental Microbiology*, 2012, **14**(3): 730-742.

[11] Plude J L, Parker D L, Schommer O J, *et al*. Chemical characterization of polysaccharide from the slime layer of the cyanobacterium *Microcystis flos-aquae* C3-40 [J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 1991, **57**(6): 1696-1700.

[12] Forni C, Telo' F R, Caiola M G. Comparative analysis of the polysaccharides produced by different species of *Microcystis* (Chroococcales, Cyanophyta) [J]. *Phycologia*, 1997, **36**(3): 181-185.

[13] Wu Z X, Song L R. Physiological comparison between colonial and unicellular forms of *Microcystis aeruginosa* Kütz. (*Cyanobacteria*) [J]. *Phycologia*, 2008, **47**(1): 98-104.

[14] Li M, Zhu W, Gao L, *et al*. Changes in extracellular polysaccharide content and morphology of *Microcystis aeruginosa* at different specific growth rates [J]. *Journal of Applied Phycology*, 2013(25): 1023-1030.

[15] Verspagen J M H, Visser P M, Huisman J. Aggregation with clay causes sedimentation of the buoyant cyanobacteria *Microcystis* spp. [J]. *Aquatic Microbial Ecology*, 2006, **44**(1): 165-174.

[16] Wang Y W, Zhao J, Li J H, *et al*. Effects of calcium levels on colonial aggregation and buoyancy of *Microcystis aeruginosa* [J]. *Current Microbiology*, 2011, **62**(2): 679-683.

[17] Sato M, Amano Y, Machida, M, *et al*. Colony formation of highly dispersed *Microcystis aeruginosa* by controlling extracellular polysaccharides and calcium ion concentrations in aquatic solution [J]. *Limnology*, 2016, **18**(1): 111-119.

[18] Xu H C, Yu G H, Jiang H L. Investigation on extracellular polymeric substances from mucilaginous cyanobacterial blooms in eutrophic freshwater lakes [J]. *Chemosphere*, 2013, **93**(1): 75-81.

[19] Mazmanian S K, Liu G, Ton-That H, *et al*. *Staphylococcus aureus* sortase, an enzyme that anchors surface proteins to the cell wall [J]. *Science*, 1999, **284**(5428): 760-763.

[20] Haft D H, Paulsen I T, Ward N, *et al*. Exopolysaccharide-associated protein sorting in environmental organisms: the PEP-CTERM/EpsH system. Application of a novel phylogenetic profiling heuristic [J]. *BMC Biology*, 2006(4): 29.

[21] Craig J W, Cherry M A, Brady S F. Long-chain N-acyl amino acid synthases are linked to the putative PEP-CTERM/exosortase protein-sorting system in Gram-negative bacteria [J]. *Journal of Bacteriology*, 2011, **193**(20): 5707-5715.

[22] An W X, Guo F, Song Y L, *et al*. Comparative genomics analyses on EPS biosynthesis genes required for floc formation of *Zoogloea resiniphila* and other activated sludge bacteria [J]. *Water Research*, 2016, **102**(1): 494-504.

[23] Gao N, Xia M, Dai J C, *et al*. Both widespread PEP-CTERM proteins and exopolysaccharides are required for floc formation of *Zoogloea resiniphila* and other activated sludge bacteria [J]. *Environmental Microbiology*, 2018, **20**(5): 1677-1692.

[24] Qiu D R, Gao N, An W X, *et al*. Biosynthesis pathway of extracellular polymeric substance and regulatory mechanism underlying floc formation of activated sludge bacteria [J]. *Microbiology China*, 2019, **46**(8): 2080-2089. [邱东茹, 高娜, 安卫星, 等. 活性污泥微生物胞外多聚物生物合成途径与菌胶团形成的调控机制 [J]. 微生物学通报, 2019, **46**(8): 2080-2089.]

[25] Yu D Z, Xia M, Zhang L P, *et al*. RpoN (σ54) is required for floc formation but not for extracellular polysaccharide biosynthesis in a floc-forming *Aquincola tertiaricarbonis* strain [J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2017, **83**(14): e00709-717.

[26] Wang J, Gao N, Liu S Y, *et al*. Identification and analysis of a large gene cluster involved in floc formation of activated sludge bacterium *Mitsuaria chitosanitabida* [J]. *Microbiology China*, 2019, **46**(8): 1946-1953. [王晶, 高娜, 刘双元, 等. 活性污泥微生物解壳聚糖松江菌中菌胶团形成相关大型基因簇的鉴定和分析 [J]. 微生物学通报, 2019, **46**(8): 1946-1953.]

[27] Liu Y Q, Liu S Y, Gao N, *et al*. Isolation, identification and genomics analysis of activated sludge floc/biofloc forming *Pseudoduganella eburnean* strains [J]. *Acta Hydrobiologica Sinica*, 2020, **44**(3): 655-662. [刘亚琦, 刘双元, 高娜, 等. 活性污泥菌胶团/生物絮团形成菌*Pseudoduganella eburnean*的分离鉴定及基因组分析 [J]. 水生生物学报, 2020, **44**(3): 655-662.]

[28] Haft D H, Payne S H, Selengut J D. Archaeosortases and exosortases are widely distributed systems linking membrane transit with posttranslational modification [J]. *Journal of Bacteriology*, 2012, **194**(1): 36-48.

[29] Yang C, Zhang W, Ren M, *et al*. Whole-genome sequence of *Microcystis aeruginosa* TAIHU98, a nontoxic bloom-forming strain isolated from Taihu Lake, China [J]. *Genome Announcement*, 2013, **1**(3): e00333-413.

[30] Kaneko T, Nakajima N, Okamoto S, *et al*. Complete genomic structure of the bloom-forming toxic cyanobacterium *Microcystis aeruginosa* NIES-843 [J]. *DNA Research*, 2007, **14**(6): 247-256.

[31] Jeong H, Chun S J, Srivastava A, *et al*. Genome sequences of two cyanobacterial strains, toxic green *Microcystis aeruginosa* KW (KCTC 18162P) and nontoxic brown *Microcystis* sp. strain MC19, under xenic culture conditions [J]. *Genome Announcement*, 2018(6): e00378-418.

[32] Zhang J Y, Guan R, Zhang H J, *et al*. Complete genome sequence and genomic characterization of *Microcystis*

panniformis FACHB 1757 by third-generation sequencing [J]. *Standards in Genomic Sciences*, 2016, **11**(1): 11.

[33] Sharif D I, Gallon J, Smith C J, *et al*. Quorum sensing in cyanobacteria: *N*-octanoyl-homoserine lactone release and response, by the epilithic colonial cyanobacterium *Gloeothece* PCC6909 [J]. *The ISME Journal*, 2008, **2**(12): 1171-1182.

[34] Romero M, Diggle S P, Heeb S, *et al*. Quorum quenching activity in *Anabaena* sp. PCC 7120: identification of AiiC, a novel AHL-acylase [J]. *FEMS Microbiology Letters*, 2008, **280**(1): 73-80.

[35] Romero M, Muro-Pastor A M, Otero A. Quorum sensing N-acyl homoserine lactone signals affect nitrogen fixation in the cyanobacterium *Anabaena* sp. PCC7120 [J]. *FEMS Microbiol Letters*, 2011, **315**(2): 101-108.

[36] Zhai C M, Zhang P, Shen F, *et al*. Does *Microcystis aeruginosa* have quorum sensing [J]? *FEMS Microbiology Letters*, 2012, **336**(1): 38-44.

[37] Dittmann E, Neilan B A, Erhard M, *et al*. Insertional mutagenesis of a peptide synthetase gene that is responsible for hepatotoxin production in the cyanobacterium *Microcystis aeruginosa* PCC 7806 [J]. *Molecular Microbiology*, 1997, **26**(4): 779-787.

[38] Tan X M, Zhu T, Shen S, *et al*. Role of Rbp1 in the acquired chill-light tolerance of cyanobacteria [J]. *Journal of Bacteriology*, 2011, **193**(11): 2675-2683.

BIOSYNTHESIS PATHWAY OF EXTRACELLULAR POLYMERIC SUBSTANCES AND COLONIAL FORMATION OF CYANOBACTERIA UNDERLYING WATER BLOOMS OF *MICROCYSTIS*

QIU Dong-Ru

(*Institute of Hydrobiology*, *Chinese Academy of Sciences*, *Wuhan* 430072, *China*)

Abstract: The harmful algal blooms (HABs) of *Microcystis* have frequently occurred in the drinking water sources such as Lake Taihu, Chaohu, and Dianchi, posing a severe risk to public health and aquaculture. A series of physical, chemical, and biological measures have been performed for controlling *Microcystis* blooms in recent years. The secretion of extracellular polymeric substances (EPS) are required for cyanobacterial colonial formation, survival and bloom-forming. Little is known about the biosynthesis pathways of EPS and colonial formation. Previously it has been revealed that multiple putative PEP-CTERM domain-containing proteins are encoded in the genome of *Microsytis* species and many other cyanobacteria. More recently, we have demonstrated that the PEP-CTERM proteins are required for the floc-formation of *Zoogloea resiniphila*, a proteobacterium isolated from activated sludge. More interestingly, *Microcystis* and many other cyanobacteria also encoded a subfamily of PEP-CTERM domain, termed cyano-PEP. It is strongly suggested that such the recently found PEP-CTERM/Cyanoexosortase systems might play a central role in the colonial formation of cyanobacteria. It remains elusive whether the quorum sensing (QS) systems are encoded in cyanobacterial genome and whether the QS is involved in the formation of *Microcystis* blooms. It is urgent to develop the genetic manipulation in *Microcystis* and other bloom-forming cyanobacteria for identification of relevant genes and mechanisms underlying colonial formation and for development of *Microcystis* bloom-controlling techniques.

Key words: Cyanobacterial blooms; Colony formation; Extracellular polymeric substances biosynthesis; Protein sorting; Quorum sensing