

行星保护重点关注微生物资源库的构建

袁俊霞^{1,2}, 张秦^{1,2}, 马玲玲^{1,2}, 党磊^{1,2}, 徐侃彦³, 印红^{1,2}

(1. 航天神舟生物科技集团有限公司, 北京 100086; 2. 中国航天科技集团有限公司 空间生物工程研究中心, 北京 100086;
3. 北京空间飞行器总体设计部, 北京 100094)

摘要: 针对中国后续高等级深空探测任务中实施行星保护的任务需求, 构建中国首个行星保护重点关注微生物资源库。以中国深空探测器在总装集成测试 (Assembly, Integration, and Test, AIT) 阶段分离的微生物菌株为主要对象, 从菌株分布代表性、菌株遗传信息特异性、生物安全性 3 个维度筛选获得 359 株 80 余种保藏入库, 其中产芽孢微生物占比 69.9%。采用计算机数据库技术建立规范化的微生物菌株信息管理及查询软件, 实现行星保护重点关注微生物资源的信息化管理。行星保护重点关注微生物资源库的构建, 是中国行星保护任务从微生物资源收集向行星保护技术开发、功能验证和工程应用方向深入发展的基础和保障。

关键词: 行星保护; 深空探测器; 生物负荷; 产芽孢微生物

中图分类号: V11

文献标识码: A

文章编号: 2096-9287(2024)05-0513-08

DOI: 10.15982/j.issn.2096-9287.2024.20230049

引用格式: 袁俊霞, 张秦, 马玲玲, 等. 行星保护重点关注微生物资源库的构建[J]. 深空探测学报(中英文), 2024, 11(5): 513-520.

Reference format: YUAN J X, ZHANG Q, MA L L, et al. Construction of key microbial resource center for planetary protection[J]. Journal of Deep Space Exploration, 2024, 11(5): 513-520.

引言

在深空探测活动中, 人类的探测目标通常聚焦在一些具有重要天体生物学意义的地外天体上。木卫二、土卫二和火星等天体, 被认为可能在地下海洋(木卫二和土卫二)、表面盐水(火星)和地下冰(火星)中存在液态水, 成为深空探测任务最重要的 3 个目标^[1-2]。微生物由于对极端环境条件具有很高的适应性, 被认为是最有可能在地外天体定植的地球生命体^[3]。因此, 深空探测器表面的微生物可能是造成探测目标, 特别是一些重要的“特殊区域”前向污染的潜在因素。基于此, 行星保护任务成为每一个开展深空探测任务的国家都应遵守的国际化行为。以火星探测中 IVa 类任务为例, 要求探测器表面的微生物密度 ≤ 300 个/ m^2 芽孢, 探测器表面的微生物总量 $\leq 3 \times 10^5$ 个芽孢, 而对于从事地外生命探测的探测器则要求更高^[4]。

以行星保护任务要求为输入, 美国国家航空航天局(National Aeronautics and Space Administration, NASA)采用干热灭菌对“海盗号”(Viking)整器级灭菌, 将芽孢数量从 30 万个(灭菌前)降低至 30 个芽

孢(灭菌后)^[5-6]。当前, 随着深空探测器功能和结构的日趋复杂, 整器级水平灭菌已鲜有实施。因此, 对深空探测器携带微生物的种类、数量进行识别和表征, 将更有助于行星保护任务中关键部组件的微生物检测与有效控制。经过 40 余年的持续积累, NASA 已经形成覆盖“海盗号”“探路者号”(Mars Pathfinder, MPF)、“奥德赛号”(Mars Odyssey)、“漫游者号”(Mars Exploration Rover, MER)、“凤凰号”(Phoenix)、“火星科学实验室”(Mars Science Laboratory, MSL)、“洞察号”(InSight)、“火星 2020”(Mars 2020), 以及喷气推进实验室(Jet Propulsion Laboratory, JPL)和肯尼迪航天中心(Kennedy Space Center, KSC)的行星保护微生物资源库, 囊括了 5 674 株微生物菌株^[7-9]。

基于上述微生物菌株信息, NASA 持续开展下列工作: ①采集微生物菌株的生理生化、遗传信息, 针对性开发微生物快速检测技术, 突破行星保护任务中传统培养法耗时长、精度低的技术局限性^[10]; ②挖掘特异性微生物菌株资源, 用于微生物新型灭菌技术开

收稿日期: 2023-08-30 修回日期: 2023-09-08

基金项目: 天问三号关键技术攻关项目; 五院杰出青年人才基金; 载人空间站工程空间科学与应用项目(SCP03-01-06); 国防科工局“十三五”对外技术合作科研项目“航天器行星保护二次污染防治技术及验证”; 空间站工程航天技术试验领域项目(2019HJ002)

发与验证^[11-12]；③评估微生物菌株在地外环境中的存活率，预测在深空探测任务中发生微生物污染风险的概率^[13-14]。更重要的是，这些菌株信息也构成未来地外生命探测的“对照信息”，有助于更加客观地对照解析地外探测对象的真实特征。

当前，中国“天问一号”火星探测器成功发射，在完成了既定科学探测任务的同时，也牵引了中国后续高等级火星探测任务的行星保护需求。本文在对中国“天问”“嫦娥”系列探测器总装集成测试(Assembly, Integration, and Test, AIT)阶段的微生物完成普查的基础上，构建中国首个行星保护重点关注微生物资源库，并对设计输入、构建方法与构建结果进行介绍，以期推动中国行星保护重点关注微生物资源的高效利用，及菌株资源的收集、整理、保藏的标准化、规范化、信息化管理。

1 目标分析与设计输入

行星保护重点关注微生物资源库的构建目标是对中国深空探测器AIT阶段的重点微生物进行收集、整理、保藏与管理，为中国后续行星保护技术开发、功能验证和工程应用提供基础和保障。任何能够在深空探测器结构材料、火星土壤模拟物和其它地外环境介质中生存的微生物都是行星保护重点关注的微生物^[15]。行星保护重点关注微生物资源库需具备如下能力：

1) 行星保护重点关注微生物资源库是中国行星保护任务的科技样本资源，能够实现对目标微生物菌株实物资源、菌株数据资源的管理。

2) 菌株实物资源的广泛代表性：菌株实物资源能够充分体现中国探测器研制任务的系统性、连续性，以及中国不同AIT阶段的地区分布特色。在对“天问一号”“嫦娥”系列任务开展微生物普查的基础上，从数千株微生物中筛选出目标菌株纳入管理，确保目标菌株在行星保护技术领域的代表性。

3) 菌株数据资源的可追溯性：菌株数据资源主要实现对微生物菌株实物的收集、管理、统计、传播和共享等功能，能够充分体现菌株信息的一致性、完整性、可追溯性。菌株数据资源管理的功能应包括菌株信息管理软件、菌株遗传信息库、菌株的常态管理等。

2 构建方法

2.1 菌株实物资源

2.1.1 菌株来源

行星保护重点关注的微生物资源库中的菌株应具备以下特征：①在AIT阶段存在于深空探测器硬件结

构中；②能够承受针对深空探测器硬件的清洁、灭菌实施；③能够适应极端的的地外环境条件。

2018—2020年期间，对中国北京、海南、天津AIT环境及探测器表面共进行9次环境微生物采样，具体方法见^[16]。通过大规模分离培养，共获得5 880株细菌培养物。采样位点覆盖中国“嫦娥”“天问”探测器研制的不同AIT阶段、AIT洁净室环境表面、探测器硬件表面、工装、设备、热真空罐表面等，具有广泛的代表性。

1) 传统培养法

基于传统培养法主要获得大量的中温细菌。采集到的环境样品在实验室条件下置于无菌三角瓶中，并加入含0.02% (V/V) 吐温-80的去离子水，充分震荡5~10 s，超声2 min。超声后的洗脱液热激处理，条件为80 °C，15 min。利用涂布、划线的方法获得微生物纯培养株。

2) 选择培养法

基于微生物菌株的特殊营养要求或理化抗性设计选择培养基，设置5类不同培养特征的微生物选择培养，分别是耐辐射、耐盐、耐旱、耐冷、耐热微生物。具体步骤是：以获得的洗脱液样品为对象，R2A为基础培养基，设置不同的培养参数进行微生物选择培养，具体的参数见表1。通过初筛和复筛获得的具有不同选择性培养特征的微生物纯培养株。

表1 微生物选择培养参数

Table 1 Microbial culture parameters

微生物类型	选择条件	培养温度/°C	培养时间/d
耐辐射微生物	UVC ₂₅₄ , 2 W/m ²	32	3
耐盐微生物	15%、20%NaCl	32	3
耐旱微生物	20%、40%PEG	32	3
耐冷微生物	0 °C, 4 °C	0, 4	7
耐热微生物	65 °C	65	1

2.1.2 菌株分析

采用革兰氏染色法观察菌株细胞的大小、形状、和细胞排列特征；采用16SrRNA基因和看家基因序列(*gyrA*、*rpoB*、*rpoD*、*mutL*、*mutS*、*purH*、*trpB*)联用对菌株纯培养物进行精准鉴定和种属组成分析^[17]；采用多元统计分析对批次采样的环境微生物进行统计分析，获得微生物菌株丰度、分布频数；采用MEGA 5.1软件^[18]比较分析批次采样的环境微生物多样性；采用邻接法(NJ)构建微生物菌株的系统发育树，分析微生物菌株的进化谱系、地理谱系关系。微生物菌株频数、谱系关系、分布规律、遗传特征是判别菌株是否纳入行星保护重点关注微生物资源库的重要依据。

2.1.3 纳入标准

微生物菌株纳入行星保护重点关注微生物资源库的目的是: 依据行星保护任务需求, 保障微生物菌株的特征可以外推至行星保护科学、技术、工程应用。明确菌株的纳入标准可在一定程度上保障资源库中菌株的代表性。本研究的纳入标准将从3个维度考量: 菌株分布代表性、菌株遗传信息特异性、生物安全性。

1) 菌株分布代表性

菌株分布代表性涉及微生物菌株的任务来源、地区来源、分布位置、分布特征、检出频次、多样性水平等。纳入菌株主要遵循如下标准: ① 芽孢杆菌、类芽孢杆菌属等相对含量总和超过60%~80%优势产芽孢微生物重点采集与收集; ② 在AIT环境与探测器硬件表面检出的同一微生物, 纳入探测器硬件表面分布菌株; ③ 在北京、海南、天津等AIT检出的同一种菌株, 分别选取一株代表性菌株纳入; ④ 对同一种属微生物, 菌株形态、细胞形态、*16SrRNA*基因型一致性>97%的选择其中一株代表性菌株纳入; ⑤ 低频次(<0.5%)的其它产芽孢微生物。

2) 菌株遗传信息特异性

菌株遗传信息特异性通常涉及微生物菌株对地外环境的适应能力, 主要遵循如下标准: ① 菌株对地外主要环境因子(辐射、冷、干旱等)的适应能力经科

学试验表征和验证; ② 菌株预期的用途具有科学性。

3) 生物安全性

菌株生物安全性须参考符合GB 19489《实验室生物安全通用要求》^[19]和《病原微生物实验室生物安全管理条例》的相关规定, 纳入菌株为生物危害三类(BSL2)和四类(BSL1)的微生物。

2.2 菌株数据资源

利用Visual Basic 6.0和Microsoft office Access 2010实现了微生物菌株信息管理。菌株数据资源管理包括4个子模块: 系统管理、基础资料管理、试验数据管理、微生物信息查询, 支持入库微生物菌株信息的采集、查询、统计、基础生物学特征、重点关注特征、培养、保藏等各类信息数据的建立和维护, 并且根据实际工作不断更新。

3 结果与讨论

3.1 菌株实物资源

3.1.1 微生物菌株组成

行星保护重点关注微生物资源库共保藏微生物菌株359株, 隶属于24科38属80余种, 生物多样性丰富。从来源看, 分离自探测器表面的微生物菌株占比51.5%; 分离自海南AIT阶段的微生物菌株占比74.4%, 北京AIT阶段占比17.8% (图1)。

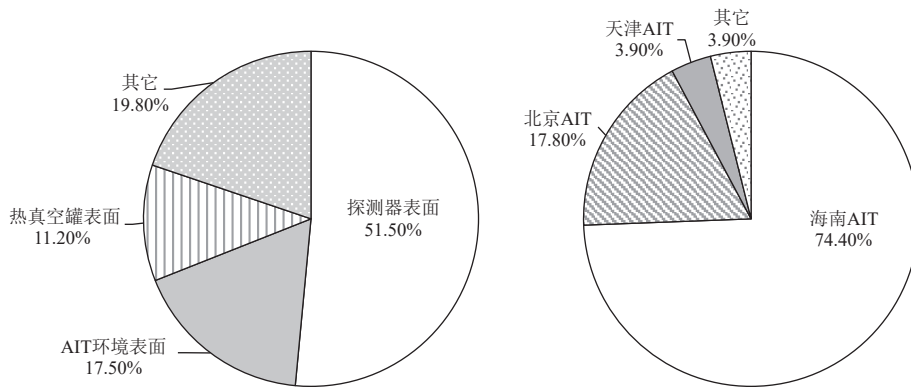


图1 微生物菌株的来源

Fig. 1 Source of microbial strains

从组成看, 芽孢杆菌属作为优势微生物, 共获得201株。国内外多项分析已证明产芽孢微生物是探测器表面生物负荷的优势组成^[15,20]。芽孢是产芽孢菌在营养条件缺乏时形成的圆形或椭圆形休眠体结构, 由于其含水量低、含有耐热的小分子酶类、富含大量特殊的吡啶二羧酸钙和带有二硫键的蛋白质以及具有多层次厚而致密的芽孢壁等原因, 芽孢对环境压力变化(如干燥、极端温度、辐照等)具有很高的抵抗力^[21],

被认为是行星保护重点关注的微生物种类。芽孢数量也被用于表征探测器的微生物污染程度。此外, 葡萄球菌属作为非产芽孢微生物中的优势组成, 共获得25株(表2), 这些非产芽孢菌也被认为能够适应AIT洁净室的温度、湿度、人员流动、清洁和灭菌等环节严格控制洁净环境, 并抵抗多种极端条件^[22]。

3.1.2 产芽孢微生物多样性

产芽孢微生物是中国探测器在AIT阶段生物负荷

表2 行星保护重点关注微生物资源库菌株组成
Table 2 Key strain composition of microbial resource center for planetary protection

属名	拉丁名	培养物数量
芽孢杆菌属*	<i>Bacillus</i>	201
类芽孢杆菌属*	<i>Paenibacillus</i>	32
葡萄球菌属	<i>Staphylococcus</i>	25
考克氏菌属	<i>Kocuria</i>	11
假单胞菌属	<i>Pseudomonas</i>	9
微小杆菌属	<i>Exiguobacterium</i>	6
微杆菌属	<i>Microbacterium</i>	6
微球菌属	<i>Micrococcus</i>	6
枝芽孢杆菌属*	<i>Virgibacillus</i>	6
纤维微细菌属	<i>Cellulosimicrobium</i>	5
棒杆菌属	<i>Corynebacterium</i>	4
赖氨酸芽孢杆菌属*	<i>Lysinibacillus</i>	4
海洋芽孢杆菌属*	<i>Oceanobacillus</i>	4
不动杆菌属	<i>Acinetobacter</i>	4
短波单胞菌属	<i>Brevundimonas</i>	3
泛菌属	<i>Pantoea</i>	4
埃希氏菌属	<i>Escherichia</i>	3
短杆菌属	<i>Brevibacterium</i>	2
纤维单胞菌属	<i>Cellulomonas</i>	2
皮生球菌属	<i>Dermacoccus</i>	2
盖球菌属	<i>Kytococcus</i>	2
寡养单胞菌属	<i>Stenotrophomonas</i>	2
布哈加瓦氏菌属	<i>Bhargavaea</i>	1
显核菌属	<i>Caryophanon</i>	1
皮杆菌属	<i>Dermabacter</i>	1
亮杆菌属	<i>Leucobacter</i>	1
巨大球菌属	<i>Macrococcus</i>	1
莫拉氏菌属	<i>Moraxella</i>	1
鸟氨酸微菌属	<i>Ornithinimicrobium</i>	1
游动球菌属	<i>Planomicrobium</i>	1
假柠檬酸杆菌属	<i>Pseudocitrobacter</i>	1
玫瑰单胞菌属	<i>Roseomonas</i>	1
鞘氨醇单胞菌属	<i>Sphingomonas</i>	1
土地芽孢杆菌属*	<i>Terribacillus</i>	1
嗜冷芽孢杆菌属*	<i>Psychrobacillus</i>	1
薄壁芽孢杆菌属*	<i>Gracilibacillus</i>	1
短芽孢杆菌属*	<i>Brevibacillus</i>	1
异常球菌属	<i>Deinococcus</i>	1
总计		359

注: *为产芽孢微生物。

的优势组成,共获得产芽孢微生物9属共251株,包括芽孢杆菌属、类芽孢杆菌属、枝芽孢杆菌属、赖氨酸芽孢杆菌属、土地芽孢杆菌属、嗜冷芽孢杆菌属、薄壁芽孢杆菌属、短芽孢杆菌属、海洋芽孢杆菌属,其中,薄壁芽孢杆菌属、短芽孢杆菌属、海洋芽孢杆菌属等菌株仅在海南AIT阶段检出。

基于邻接法(NJ)构建产芽孢微生物菌株的进化

谱系,结果如图2所示。枯草芽孢杆菌复合体(*Bacillus subtilis* Complex)和蜡状芽孢杆菌(*B. cereus*)为主的微生物聚为1支,两者分别占有所有产芽孢微生物的37.8%和12%,枯草芽孢杆菌复合体微生物作为中国AIT阶段检出最多的一类产芽孢微生物,主要包括4个亚组^[23],枯草芽孢杆菌*B. subtilis*亚组、解淀粉芽孢杆菌*B. amyloliquefaciens*亚组、短小芽孢杆菌*B. pumilus*亚组、地衣芽孢杆菌*B. licheniformis*亚组。本研究中,它们在所有产芽孢微生物中的占比分别是:7.6%、15.9%、12.7%、1.6%。枯草芽孢杆菌通常广泛分布在土壤及腐败的有机物中,在生长环境恶劣、营养物质缺乏等不适宜的环境下进入休眠期,形成具有极强抗逆作用、在高温、酸碱等极性环境下亦可生存的芽胞。基

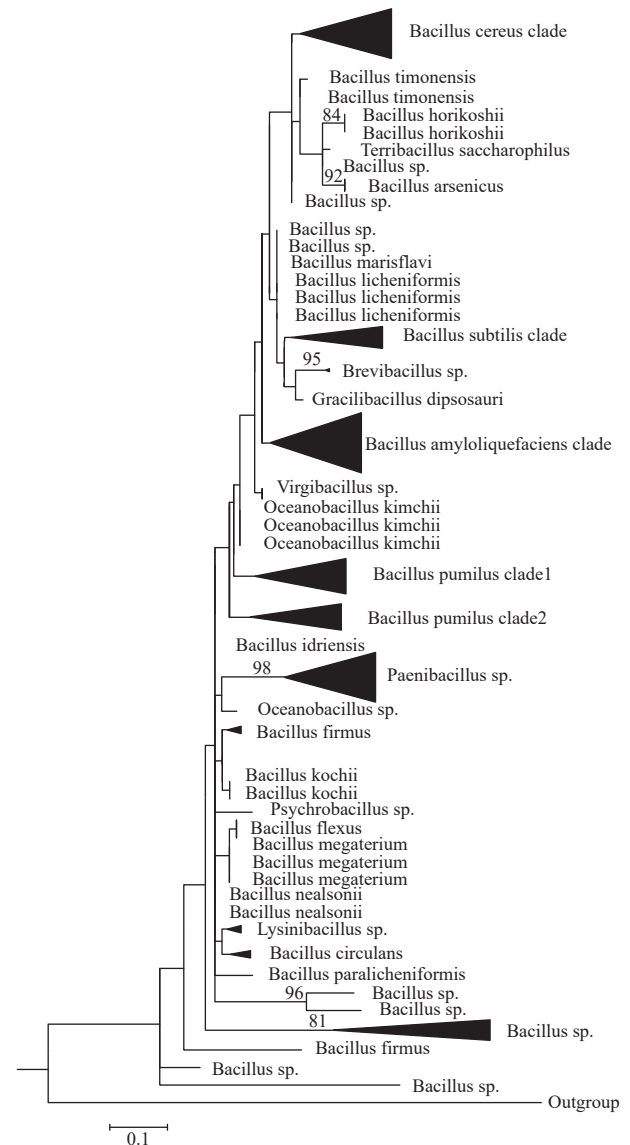


图2 基于16S rRNA基因的产芽孢微生物系统发育树

Fig. 2 Phylogenetic tree of spore-producing microorganisms based on 16S rRNA gene

于选择培养法筛选分离的微生物菌株也多来自于该类群^[24]。因此, 枯草芽孢杆菌复合体是中国行星保护任务中应重点关注的首要目标微生物。

类芽孢杆菌属菌株 (*Paenibacillus* sp.) 占比12.7%, 单独聚为1支 (图2)。目前, 针对类芽孢杆菌属类群整体研究开展较少, 最具代表性的菌株是从“凤凰号”着陆器组装洁净室中分离的凤凰类芽孢杆菌*Paenibacillus phoenicis*, 该菌株的芽孢可抵抗高达 500 J/m² 的紫外线辐射, 还可以在 21 °C~50 °C、pH 7~9条件下存活^[25], 中国在后续行星保护任务中应对类芽孢杆菌类群也予以关注。

针对上述纳入行星保护重点关注微生物资源库的产芽孢微生物的菌落见图3, 图上微生物依次为:

(a) 解淀粉芽孢杆菌*B. amyloliquefaciens*; (b) 地衣芽孢杆菌*B. licheniformis*; (c) 副地衣芽孢杆菌*B. paralicheniformis*; (d) 蜡状芽孢杆菌*B. cereus*; (e) 莫海威芽孢杆菌*B. mojavenensis*; (f) 萎缩芽孢杆菌*B. atrophaeus*; (g) 贝莱斯芽孢杆菌*B. velezensis*; (h) 沙福芽孢杆菌*B. safensis*; (i) 巨大芽孢杆菌*B. megaterium*; (j) 黄海芽孢杆菌*B. marisflavi*; (k) 短小芽孢杆菌*B. pumilus*; (l) 芽孢杆菌*Bacillus* sp.; (m) 赖氨酸芽孢杆菌*Lysinibacillus* sp.; (n) 赖氨酸芽孢杆菌*Lysinibacillus* sp.; (o) 类芽孢杆菌*Paenibacillus* sp.; (p) 类芽孢杆菌*Paenibacillus* sp.; 上述微生物相应的细胞形态多样性图4。

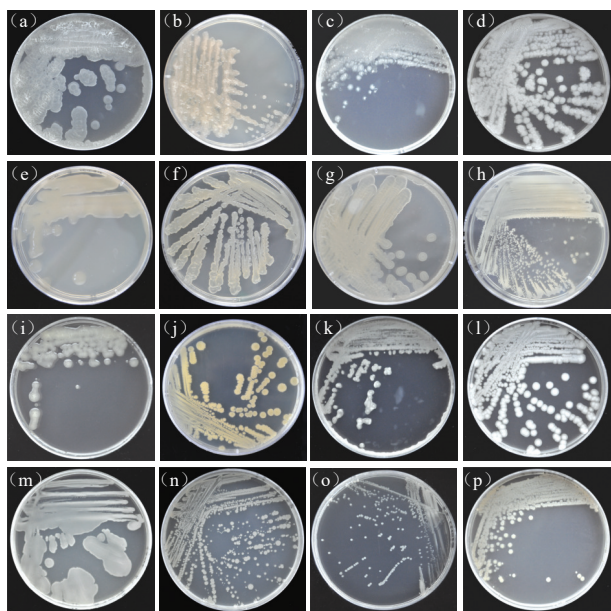


图3 产芽孢微生物的菌落形态多样性 (NA培养基)
Fig. 3 Colony diversity of spore-forming microorganisms (Nutrient Agar medium)

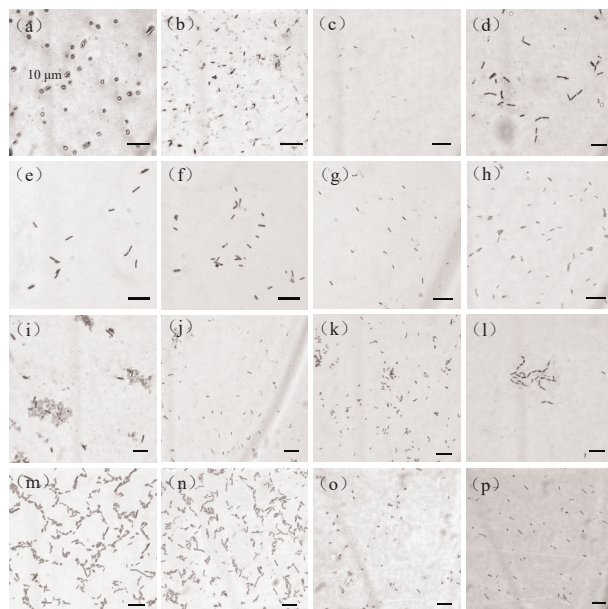


图4 产芽孢微生物的细胞形态多样性 (标尺 = 10 µm)
Fig. 4 Cell diversity of spore-forming microorganisms (Bar = 10 µm)

3.2 菌株数据资源

菌株数据资源的组成包括: ①信息管理软件; ②菌株信息库, 包括菌株样本采集、生物学性状、基因信息、菌株特殊的环境适应性信息等; ③菌株的常态管理信息, 包括菌株的收集、保藏与使用、菌株质量控制、菌株分类、分目标信息查询和统计、生物安全管理等 (图5)。

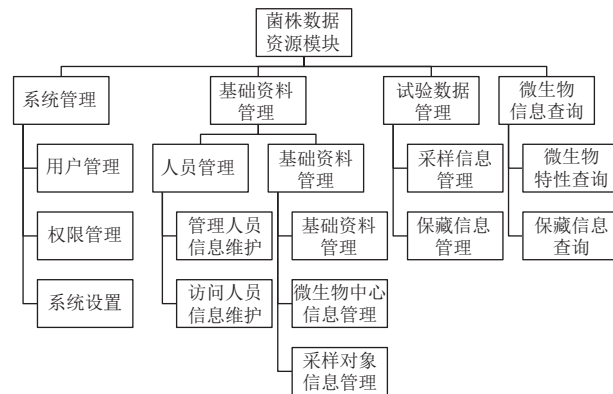


图5 菌株数据资源组成
Fig. 5 Composition of strain data resource

如表3所示, 对每株入库微生物分别完成24项信息条目的采集, 共生成8 616条数据信息, 保证了微生物菌株数据信息的完整性。对于每株微生物采用二维码方式管理, 通过扫描枪实现菌株样本的快速定位和信息查询, 根据任一样本信息进行多条件的检索与统计, 实现行星保护重点关注微生物资源库智能化的信息管理。

表3 行星保护重点关注微生物资源库菌株信息采集
Table 3 Collection of information on key bacterial strains in microbial resource center for planetary protection

信息类型	信息条目
编码信息	原始编号
	保藏编号
采样信息	采样环境
	采样位置
	采样方法
	采样时间
种属分类	采集人
	学名
	中文名
基本生物学信息	形态信息
	显微信息
	基因信息
重点关注特征	条件致病性
	材料腐蚀性
	环境耐受性
标记信息	资源归类编码
	生物危害等级
培养信息	培养基
	培养条件
	保藏形式与数量
保藏操作	保藏位置
	菌种鉴定人
	保藏操作人
	保藏日期

4 结论

行星保护重点关注微生物资源库的构建是在对中国深空探测器AIT阶段微生物全面普查基础上完成的,也是中国首个针对深空探测任务的微生物资源库,在后续高等级行星保护任务应用中具有很高的科技价值。未来,行星保护重点关注微生物资源库可从菌株资源扩容、组学大数据分析、知识产权占有、增强国际合作等方面完成有效整合,助力中国行星保护技术研究的实质性发展。

参 考 文 献

- [1] CHECINSKA-SIELA A, SMITH S A. Habitability of Mars: how welcoming are the surface and subsurface to life on the red planet?[J]. *Geosciences*, 2019, 9(9): 361.
- [2] BERNARD D E, ABELSON R D, JOHANNESSEN J R, et al. Europa planetary protection for Juno Jupiter orbiter[J]. *Advances in Space Research*, 2013, 52(3): 15-19.
- [3] LA DUC M T, VENKATESWARAN K, Conley C A. A genetic inventory of spacecraft and associated surfaces[J]. *Astrobiology*, 2014, 14(1): 15-23.
- [4] 徐佩彦, 马玲玲, 印红, 等. 火星无人探测与行星保护[J]. *深空探测学报(中英文)*, 2019, 6(1): 9-15.
XU K Y, MA L L, YIN H, et al. Mars robotic exploration and planetary protection[J]. *Journal of Deep Space Exploration*, 2019, 6(1): 9-15.
- [5] SPRY J A. Bioburden assay and sterilization[EB/OL]. [2023-8-11]. <http://pposs.org/wp-content/uploads/2017/03/4.-PPOSS-Bioburden-Assay-Sterilization-A.-Spry.pdf>
- [6] 袁俊霞, 邹乐洋, 孙振业, 等. AIT阶段微生物灭菌技术在行星保护任务中的应用与发展[J]. *航天器环境工程*, 2021, 38(6): 707-714.
YUAN J X, ZOU L Y, SUN Z Y, et al. Application and development of microbial reduction technology in the AIT stage for planetary protection[J]. *Spacecraft Environment Engineering*, 2021, 38(6): 707-714.
- [7] PULEO J R, FIELDS N D, BERGSTROM S L, et al. Microbiological profiles of the Viking spacecraft[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 1977, 33(2): 379-384.
- [8] HENDRICKSON R, KAZARIANS G, YEARICKS S, et al. Planetary protection implementation of the Insight mission launch vehicle and associated ground support hardware[J]. *Astrobiology*, 2020, 20(10): 8-12.
- [9] NASA. NASA planetary protection[EB/OL]. [2023-8-11]. <https://www.nasa.gov/content/data-and-biospecimen-resources>.
- [10] BENARDINI J N, VENKATESWARAN K. Application of the ATP assay to rapidly assess cleanliness of spacecraft surfaces: a path to set a standard for future missions[J]. *AMB Express*, 2016, 6: 113.
- [11] 党磊, 邹乐洋, 袁俊霞, 等. 行星保护任务中干热灭菌生物指示剂应用及筛选分析[J]. *航天器环境工程*, 2023, 40(3): 289-295.
DANG L, ZOU L Y, YUAN J X, et al. Analysis of application and screening of biological indicator for DHMR in planetary protection missions[J]. *Spacecraft Environment Engineering*, 2023, 40(3): 289-295.
- [12] DEAN Z S, DINICOLA M, KLONICK E, et al. Establishing sterility assurance for *Bacillus canaveraius* 29669 spores under high heat exposure[J]. *Frontiers in Microbiology*, 2022, 13: 909997.
- [13] BEAUDET R A. The statistical treatment implemented to obtain the planetary protection bioburdens for the Mars Science Laboratory mission[J]. *Advances in Space Research*, 2013, 51(12): 2261-2268.
- [14] PANITZ C, FROSLER J, WINGENDER J, et al. Tolerances of *Deinococcus geothermalis* biofilms and planktonic cells exposed to space and simulated martian conditions in low earth orbit for almost two years[J]. *Astrobiology*, 2019, 19(7): 1913.
- [15] CORTESAO M, FUCHS F M, COMMICHAU F M, et al. *Bacillus subtilis* spore resistance to simulated Mars surface conditions[J]. *Frontiers in Microbiology*, 2019, 10: 333.
- [16] 陈宏博, 张兰涛, 袁俊霞, 等. 深空探测器表面采样技术适应性研究[J]. *航天器环境工程*, 2022, 39(2): 200-204.

- CHEN H B, ZHANG L T, YUAN J X, et al. Study on adaptability of surface sampling technology for deep space detector[J]. *Spacecraft Environment Engineering*, 2023, 39 (2): 200-204.
- [17] PORWAL S, LAL S, CHEEMA S, et al. Phylogeny in aid of the present and novel microbial lineages: Diversity in *Bacillus*[J]. *PLoS ONE*, 2009, 4(2): e4438.
- [18] TAMURA K, PETERSON D, PETERSON N, et al. MEGA5: Molecular evolutionary genetics analysis using maximum likelihood, evolutionary distance, and maximum parsimony method[J]. *Molecular Biology and Evolution*, 2011, 28: 2731-2739.
- [19] 中华人民共和国国家质量监督检验检疫总局, 国家标准化管理委员会. GB 19489-2008, 实验室生物安全通用要求[S]. 北京: 中国标准出版社, 2008.
- [20] 袁俊霞, 印红, 赵彪, 等. 航天器AIT中心微生物多样性分析[J]. *空间科学学报*, 2017, 37(2): 185-191.
- YUAN J X, YIN H, ZHAO B, et al. Microbial diversity analysis in spaceflight AIT center[J]. *Chinese Journal of Space Science*, 2017, 37(2): 185-191.
- [21] TEHRI N, KUMAR N, RAGHU H V, et al. Biomarkers of bacterial spore germination[J]. *Annals of Microbiology*, 2018, 68: 513-523.
- [22] HENDRICKSON R, URBANIAK C, MINICH J J, et al. Clean room microbiome complexity impacts planetary protection bioburden[J]. *Microbiome*, 2021, 9: 238-246.
- [23] CAULIER S, NANNAN C, GILLIS A, et al. Overview of the antimicrobial compounds produced by members of the *Bacillus subtilis* group[J]. *Frontiers in Microbiology*, 2019, 10: 302-310.
- [24] 张文德, 王艳发, 马 珺, 等. 航天器AIT厂房环境中嗜极微生物的筛选与鉴定[J]. *应用与环境生物学报*, 2020, 26(4): 766-774.
- ZHANG W D, WANG Y F, MA J, et al. Characterizing extremotolerant bacteria in the spacecraft assembly, integration, and test center[J]. *Chinese Journal of Applied and Environmental Biology*, 2020, 26(4): 766-774.
- [25] BENARDINI J N, VAISHAMPAYAN P A, SCHWENDNER P, et al. *Paenibacillus phoenicis* sp. nov., isolated from the Phoenix Lander assembly facility and a subsurface molybdenum mine[J]. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 2011, 61, 1338-1343.

作者简介:

袁俊霞(1983-), 女, 高级工程师, 主要研究方向: 空间微生物防控技术。

通信地址: 北京市海淀区知春路82号院(100086)

E-mail: junxia83@163.com

Construction of Key Microbial Resource Center for Planetary Protection

YUAN Junxia^{1,2}, ZHANG Qin^{1,2}, MA Lingling^{1,2}, DANG Lei^{1,2}, XU Kanyan³, YIN Hong^{1,2}

(1. Shenzhou Space Biotechnology Group, Beijing 100086, China;

2. China Space Biology R & D Center, China Aerospace Science & Technology Corporation Ltd., Beijing 100086, China;

3. Beijing Institute of Space System Engineering, Beijing 100094, China)

Abstract: To meet the demand of planetary protection during subsequent high-level deep space exploration missions, the first microbial resource center for planetary protection was constructed. The microbial strains isolated from the surface of the deep space probe in the AIT stage were selected as the main objects. Based on three aspects of distribution representativeness, genetic information specificity and biosafety, 359 microbial strains belonging to 80+ species were selected and preserved, among which spore-forming bacteria accounted for 69.9%. In addition, the standardized microbial strain information management and query system was established for the information management of microbial strain resources for planetary protection. The microbial resource center for planetary protection is very important for ensuring the development of planetary protection missions from the collection of microbial resources to technology development, function verification and engineering application in our country.

Keywords: planetary protection; deep space probe; bioburden; spore-forming bacteria

Highlights:

- The first microbial resource center for planetary protection in China is constructed.
- The composition of microbial strains reflects the universality and representativeness of microbiota in the development stage of deep space probe in China.
- Information data management system of microbial strains is established.

[责任编辑: 高莎, 英文审校: 宋利辉]