

研究报告

一株奥奈达希瓦氏菌烈性噬菌体的分离、纯化及鉴定

张春芝^{1,2} 陈贝贝¹ 雷明瑄^{1,3} 郭庆功¹ 陈向东^{1*}

(1. 武汉大学生命科学学院 病毒学国家重点实验室 湖北 武汉 430072)

(2. 宁夏葡萄酒与防沙治沙职业技术学院 宁夏 银川 750199)

(3. 华中科技大学附属中学 湖北 武汉 430074)

摘要:【目的】从环境中分离获得希瓦氏菌烈性噬菌体,并对其性质进行研究。【方法】以4株希瓦氏菌为宿主菌,采用双层平板法从污水样品中分离得到奥奈达希瓦氏菌 MR-1 烈性噬菌体 M1;观察噬菌斑特征;利用超速离心法浓缩 M1 颗粒,进一步用氯化铯密度梯度离心纯化;采用透射电子显微镜观察纯化的 M1 颗粒;提取 M1 核酸,通过核酸酶处理分析其核酸类型及结构;绘制一步生长曲线。【结果】噬菌体 M1 在双层平板上形成圆形的噬菌斑,清晰透明,边缘光滑,直径为 2.3 mm–2.5 mm;经电镜观察,噬菌体 M1 头部呈二十面体,直径约为 55 nm,尾长约为 170 nm,尾部可收缩,属于肌尾噬菌体科(Myoviridae);通过酶切分析表明噬菌体 M1 核酸为线形双链 DNA;一步生长曲线显示该噬菌体感染后完成一个复制循环所需要的时间约为 15–20 min。【结论】噬菌体 M1 属肌尾噬菌体科,研究结果为后续研究病毒在地球微生物成岩过程中所起的作用提供了实验材料。

关键词: 噬菌体, 奥奈达希瓦氏菌 MR-1, 分离纯化, 一步生长曲线

Isolation, purification and identification of a *Shewanella oneidensis* MR-1 lytic phage

ZHANG Chun-Zhi^{1,2} CHEN Bei-Bei¹ LEI Ming-Xuan^{1,3} GUO Qing-Gong¹
CHEN Xiang-Dong^{1*}

(1. State Key Laboratory of Virology, College of Life Sciences, Wuhan University, Wuhan, Hubei 430072, China)

(2. Ningxia Technical College of Wine and Desertification Prevention, Yinchuan, Ningxia 750199, China)

(3. Middle School Attached to HUST, Wuhan, Hubei 430074, China)

Abstract: [Objective] A lytic phage of *Shewanella* was isolated from the sewage and characterized. [Methods] Four strains of *Shewanella* bacteria were used as the hosts for the isolation of lytic phages from the sewage. A lytic phage against *Shewanella oneidensis* MR-1, which we named M1, was isolated by the double-layer agar culture method. The plaque morphology was examined. Phage

Foundation item: National Basic Research Program of China (973 Program) (No. 2011CB808800); Hubei Talent Plan for High School Student

***Corresponding author:** Tel: 86-27-68754533-82; E-mail: xdchen@whu.edu.cn

Received: January 29, 2016; **Accepted:** April 06, 2016; **Published online** (www.cnki.net): May 10, 2016

基金项目: 国家重点基础研究发展规划项目(973 计划) (No. 2011CB808800); 湖北省中学生英才计划

***通讯作者:** Tel: 86-27-68754533-82; E-mail: xdchen@whu.edu.cn

收稿日期: 2016-01-29; **接受日期:** 2016-04-06; **优先数字出版日期**(www.cnki.net): 2016-05-10

particles of M1 were concentrated by ultracentrifugation and purified by CsCl gradient centrifugation. The morphology of M1 particles was examined by transmission electron microscopy. The genome of M1 was extracted and the nucleic acid was analyzed by enzyme digestion. One-step growth curve was measured. **[Results]** The plaques of M1 phage were round and transparent with a diameter of about 2.3 mm–2.5 mm. Transmission electron micrographs showed that M1 had an icosahedral head about 55 nm in diameter and a long contractile tail about 170 nm in length. Phage M1 belongs to the Myoviridae family. Its genome is made of linear double-stranded DNA. The infection cycle of M1 was about 15–20 min as indicated by the one-step growth curve. **[Conclusion]** Bacteriophage M1 belongs to the Myoviridae family. Our results provided materials for the investigation on the roles of bacteriophages in diagenetic process on the earth.

Keywords: Phage, *Shewanella oneidensis* MR-1, Isolation and purification, One-step growth curve

奥奈达希瓦氏菌(*Shewanella oneidensis*)为杆状革兰氏阴性的兼性厌氧菌,在淡水沉积物、海湾沉积物和其他各种环境中广泛存在。该类细菌能对硫化汞、铀(U)、砷(As)、2,4-二硝基甲苯、硝酸盐、苏丹红染料等有毒物质进行还原转化,因此在生物修复和环境保护方面具有重要的潜在应用价值^[1-7];此外,该菌具有独特的产电性能^[8],可被用于合成硒纳米棒、Pd-Au 合金等复合纳米材料以及异丁醇等物质^[9-11]。

MR-1 菌株是奥奈达希瓦氏菌的模式菌株^[12],在厌氧条件下可以利用多种电子最终受体完成呼吸作用,例如:Mn(III)、Mn(IV)、Fe(III)、Cr(VI)、U(VI)、延胡索酸、硝酸盐、硫代硫酸盐等^[13]。一些地质学家在实验室条件下利用 MR-1 以 Fe(III)氧化物作为电子最终受体进行厌氧呼吸的这一特性,对自然环境中的蒙脱石形成伊利石的过程(异化铁还原过程)进行模拟研究,研究结果受到广泛的关注,已经成为研究微生物成岩作用的重要模式材料^[14]。

病毒是超显微、没有细胞结构、专性寄生于活细胞的实体,是地球上生命系统的重要成员。并且病毒在细胞中的存在及活动都会对其宿主的生命活动产生多方面的重要影响。如今,包括噬菌体在内的各类病毒在生态系统所起的作用越来越受到人们的关注与重视^[15-16],但是它们是否在地球微生物成岩过程中扮演一定角色却无人探究,这可能是由于缺乏明确的生物标志物以及未建立起合适的研究方法所导致。

全基因组测序结果表明,MR-1 菌株的染色体上存在 3 个潜在的原噬菌体^[17-18],因此有可能开展噬菌体对微生物成岩作用影响的相关研究。但迄今尚无对 MR-1 烈性噬菌体的研究报道。本研究从下水道的污水中分离得到了一株能感染 MR-1 菌株的烈性噬菌体 M1,并对其性质进行了初步研究。M1 的获得为后续研究噬菌体在地球微生物成岩过程中所起的作用提供了实验材料。

1 材料与方法

1.1 菌株

实验用菌株 *Shewanella oneidensis* MR-1、*Shewanella putrefaciens* CN-32 由中国地质大学(武汉)董海良教授赠送^[14],*Shewanella putrefaciens* 6514 购自中国普通微生物菌种保藏管理中心(菌株编号:1.6514),*Shewanella* sp. W3-18-1 由中国科学院水生生物研究所邱东茹研究员赠送。

Shewanella oneidensis MR-1 $\Delta\lambda\Delta\mu_2$,敲除了菌株染色体上两个原噬菌体基因组的突变株,由本实验室构建(未发表的结果)。

1.2 主要试剂和仪器

Cesium chloride,美国 Sigma-Aldrich 公司;琼脂糖,西班牙 Biowest 公司;各种核酸酶,美国 Thermo Scientific 公司;琼脂粉,美国 Becton Dickinson and company 公司;细菌基因组 DNA 提取试剂盒,天根生化科技有限公司;其余试剂均购自国药集团化学试剂有限公司。

透射电子显微镜,日本 JEOL 公司;超速冷冻离心机,美国 Beckman 公司;小型高速离心

机, 德国 Eppendorf 公司; 恒温摇床, 上海智城有限公司; 恒温培养箱, 上海一恒有限公司; 电泳仪, 北京六一仪器厂; 凝胶成像系统, 美国 Syngene; 高压灭菌锅, 日本 HIRAYAMA 公司; 超净工作台, 江苏苏净安泰有限公司。

1.3 培养基

改良 LB 液体培养基(g/L): 酵母提取物 5、胰蛋白胨 10、氯化钠 5。

改良 LB 半固体培养基(g/L): 酵母提取物 5、胰蛋白胨 10、氯化钠 5、琼脂 6。

改良 LB 固体培养基(g/L): 酵母提取物 5、胰蛋白胨 10、氯化钠 5、琼脂 15。

1.4 样品采集

8 份样品分别采集于武汉大学枫园周边的地表及下水道的污水, 分别记号为 1、2、3、4、5、6、7、8。

1.5 噬菌体富集

对数期宿主菌制备: 将 4 °C 保藏的 MR-1、CN-32、6514、W3-18-1 菌株分别挑取单菌落接种于 5 mL 液体培养基中, 于 30 °C、200 r/min 培养过夜。次日, 分别取 50 μ L 菌液接种于 5 mL 新鲜液体培养基中, 培养 3 h 至对数期。

样品处理: 将 8 份样品经过 12 000 r/min 离心 5 min 去除杂质, 上清以 0.22 μ m 微孔滤器过滤除菌, 于 4 °C 保存。

噬菌体的富集: 分别取 8 份样品的滤液 1 mL 加入到 5 mL 对数期宿主菌的菌液中, 于 30 °C、200 r/min 振荡培养 5–6 h, 12 000 r/min 离心 5 min 收集上清并过滤, 如此重复 3 次对环境样品进行富集。

1.6 裂菌性的测定

分别取 50 μ L 宿主菌 MR-1、CN-32、6514、W3-18-1 与 4 mL 半固体培养基混合后倒双层平板, 凝固后, 分别吸取 5 μ L 已富集的 8 份样品的滤液点在双层平板上, 30 °C 条件下培养过夜。次日, 观察有无噬菌斑。

1.7 噬菌体的分离

用无菌牙签沾取获得的噬菌斑于 1 mL 无菌液体

培养基中, 在涡旋振荡仪上混合均匀, 即为原液, 进行 10 倍梯度稀释至 10^{-4} , 分别取 10^{-3} 和 10^{-4} 梯度稀释液 100 μ L 与 MR-1 宿主菌 50 μ L 混合倒双层平板, 30 °C 条件下培养过夜, 重复 3 次, 直至在同一双层平板上得到的噬菌斑大小与形态基本一致。

1.8 噬菌体扩增及效价的测定

将分离到的噬菌体接种到 5 mL 对数期 MR-1 菌液中, 于 30 °C、200 r/min 振荡培养 5–6 h 后, 收集培养液并以 12 000 r/min 离心 5 min, 再以 0.22 μ m 微孔滤器过滤。取滤液 500 μ L 加入到 50 mL 对数期的宿主菌中培养 5–6 h, 将培养液转移到 50 mL 离心管中, 以 10 000 r/min 离心 5 min, 再以 0.22 μ m 微孔滤器过滤, 取滤液 50 μ L 进行 10 倍梯度稀释后, 测定噬菌体效价, 30 °C 条件下培养 12 h 并计数。

1.9 纯化噬菌体及效价的测定

由于宿主菌 MR-1 是含有 λ_{so} 和 μ_{so_2} 原噬菌体的溶源菌, 正常培养过程中 MR-1 会不断释放 λ_{so} 和 μ_{so_2} 噬菌体颗粒。为了除去 λ_{so} 和 μ_{so_2} 原噬菌体对烈性噬菌体性质研究的影响, 我们将得到的烈性噬菌体在敲除了 λ_{so} 、 μ_{so_2} 原噬菌体的 MR-1 菌株(MR-1 $\Delta\lambda\Delta\mu_2$)中进行了进一步纯化。先将噬菌体上清与 MR-1 菌株混合倒双层平板, 30 °C 条件下培养 5–6 h, 用牙签沾取大而透明的单噬菌斑, 以新鲜的液体培养基重悬, 并进行 10 倍梯度稀释, 再以 MR-1 $\Delta\lambda\Delta\mu_2$ 为宿主菌倒双层平板, 30 °C 条件下培养 12 h, 重复挑噬菌斑以 MR-1 $\Delta\lambda\Delta\mu_2$ 为宿主菌倒双层平板, 直到噬菌斑形态单一。

将纯化后的噬菌体扩增培养并测定其效价。

1.10 噬菌体电镜观察

噬菌体颗粒的纯化: 取经 0.22 μ m 微孔滤器过滤过的噬菌体滤液 26 mL, 45 000 r/min 离心 1 h, 弃去上清, 将沉淀用 1 mL SM Buffer 重悬过夜, 至沉淀完全溶解后, 再进行 CsCl 密度梯度离心 (1.50 g/mL), 22 000 r/min 离心 18 h 后分层取样, 再将样品层以 45 000 r/min 离心 3 h, 弃去上清, 将沉淀用 50 μ L SM Buffer 重悬。

电镜样品的制备: 取 10 μ L 上述噬菌体滴于封

口膜上,将铜网(具有膜的一面朝液滴)置于噬菌体液滴上,2 min 后将铜网取下,用滤纸从铜网侧面将多余液体吸干。取 10 μL 2%磷钨酸负染液滴于封口膜上,将沾有噬菌体的铜网置于磷钨酸液滴上,1 min 后取下,用滤纸从铜网侧面吸干多余负染液,将铜网放在滤纸上自然干燥后用透射电镜观察噬菌体形态并拍照。

1.11 基因组提取、核酸类型鉴定及限制性片段多态性分析

取 500 μL 噬菌体滤液,加入 5 μL DNase I, 5 μL RNase A 和 10 μL DNase I Buffer,在 37 $^{\circ}\text{C}$ 水浴锅中孵育 4 h,利用离心柱形细菌基因组 DNA 提取试剂盒提取噬菌体基因组,经 1%琼脂糖凝胶电泳检测,120 V,40 min。

取噬菌体基因组 5 μL ,分别加入 0.5 μL DNase I 和 RNase A,37 $^{\circ}\text{C}$ 温育 1 h。检测基因组被消化情况,确定其核酸类型。

取噬菌体基因组 5 μL ,加入 0.5 μL Exonuclease III,37 $^{\circ}\text{C}$ 温育 1 h。检测基因组被消化的情况,确定其基因组结构。

分别用限制性内切酶 *Stu* I、*Nde* I 和 *Msc* I 对噬菌体基因组进行酶切处理 2 h,酶切产物经 1%琼脂糖凝胶电泳检测进行分析。

1.12 一步生长曲线的绘制

将宿主菌 MR-1 $\Delta\lambda\Delta\mu_2$ 活化培养过夜后,取 50 μL 加入到 5 mL 新鲜的液体培养基中,于 30 $^{\circ}\text{C}$ 、200 r/min 振荡培养 3 h 至对数期。之后将其加入到 45 mL 新鲜液体培养基中进行稀释,并以 10 000 r/min 进行 4 $^{\circ}\text{C}$ 冷冻离心 5 min,弃去上清,沉淀用 45 mL 液体培养基重悬,此时取 50 μL 菌液稀释涂布测定其活菌量。向上述菌液中加入 5 mL 噬菌体(MOI 值约为 12),静置吸附 5 min 后,立即以 10 000 r/min 进行 4 $^{\circ}\text{C}$ 冷冻离心 5 min,弃去上清,沉淀用 50 mL 液体培养基重悬,记为 0 时刻,每隔 5 min 取样,检测胞外噬菌体效价。以取样时间为横坐标,噬菌体效价为纵坐标,绘制一步生长曲线,估算出噬菌体的潜伏期和裂解量。实验设置 3 个平行。

2 结果与分析

2.1 噬菌体分离

根据结果观察发现只有第 7 号样品在以 MR-1 为宿主的双层平板上形成了噬菌斑(7 号样品取自下水道,有臭味),将其命名为 M1。

经双层平板法分离纯化获得的噬菌斑是透明的、边缘清晰、无晕环的圆形噬菌斑,直径约为 2.3 mm–2.5 mm(图 1A)。经分离后以 MR-1 菌株为宿主测定的噬菌体效价约为 4.9×10^9 PFU/mL。

2.2 噬菌体的纯化

生物信息学分析显示,菌株 MR-1 染色体上整合有 3 个潜在的原噬菌体。我们已经证实其中的 λ_{so} 和 μ_{so_2} 是功能完整的溶原噬菌体,它们可以感染敲除这两个原噬菌体的突变株 MR-1 $\Delta\lambda\Delta\mu_2$,形成噬菌斑(未发表的结果)。由于 λ_{so} 和 μ_{so_2} 在 MR-1 菌株正常生长条件下也可以不断释放,为消除它们对 M1 相关生物学性质研究的影响,将前面得到的含噬菌体 M1 的滤液以 MR-1 $\Delta\lambda\Delta\mu_2$ 为宿主进行纯化。如图 1B 所示,在以 MR-1 $\Delta\lambda\Delta\mu_2$ 为宿主制备的双层平板上,除可以观察到与图 1A 类似的噬菌斑外,还出现了一些较小的噬菌斑,说明滤液中确实混有溶原性噬菌体颗粒。挑单噬菌斑以 MR-1 $\Delta\lambda\Delta\mu_2$ 为宿主进行多次纯化,直至在以 MR-1 $\Delta\lambda\Delta\mu_2$ 为宿主的平板上观察不到较小的噬菌斑。纯化后的 M1 感染 MR-1 $\Delta\lambda\Delta\mu_2$ 的效价无明显变化,约为 5.5×10^9 PFU/mL。

2.3 噬菌体形态

经透射电镜观察,噬菌体 M1 头部呈二十面体,头部直径约为 55 nm,尾长约为 170 nm,尾部可收缩(图 2)。按照国际病毒分类委员会分类标准^[19],其属于肌尾噬菌体科(Myoviridae)。

2.4 噬菌体 M1 基因组的核酸类型

将提取的 M1 基因组经 DNase I 和 RNase A 酶切,发现其仅能被 DNase I 消化,而对 RNase A 具有抗性,表明该噬菌体核酸类型为 DNA(图 3A)。此外,选用的 3 种限制性内切酶均可对噬菌体基因组酶切,说明其遗传物质是双链 DNA(dsDNA)。据估算,M1 基因组大小约为 50 kb(图 3B)。

将提取的 M1 基因组经外切酶 Exonuclease III 酶切,发现其能被消化,表明该噬菌体基因组结构为线形(图 3C)。

2.5 噬菌体 M1 的一步生长曲线

预实验测定的结果显示,只有在 MOI 值约为 10 时,宿主菌 MR-1 $\Delta\lambda\Delta\mu_2$ 的存活率才能下降到 10% 以内(结果未显示),因此确定在这个感染复数条件

下进行一步生长曲线测定。由图 4 可见,在 10 min 之内噬菌体 M1 的数量变化不大,10–20 min 期间其效价迅速升高,之后效价趋于稳定。由此可以得出,M1 感染宿主菌 MR-1 $\Delta\lambda\Delta\mu_2$ 后完成整个复制循环所需时间约为 15–20 min。裂解期的曲线比较平

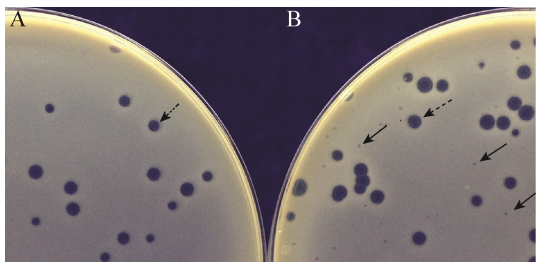


图 1 M1 的噬菌斑形态

Figure 1 Plaques of phage M1

注:A:噬菌体 M1 感染 MR-1 宿主所形成的噬菌斑;B:未纯化 M1 制备物感染 MR-1 $\Delta\lambda\Delta\mu_2$ 所形成的噬菌斑。实线箭头为溶原性噬菌斑;虚线箭头为烈性噬菌斑。

Note: A: Plaques of phage M1 against MR-1; B: Plaques of unpurified M1 against MR-1 $\Delta\lambda\Delta\mu_2$. Solid arrows for lysogenic plaques; Dashed arrows for lytic plaques.

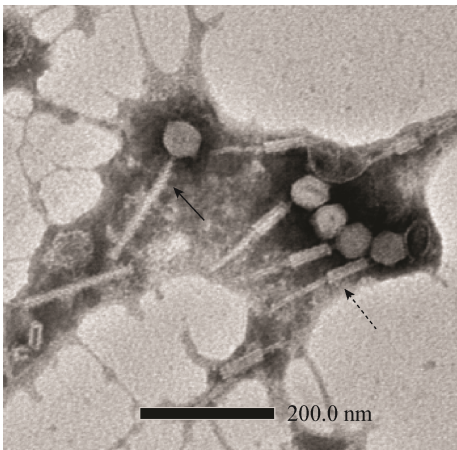


图 2 噬菌体 M1 的电镜照片

Figure 2 Electron microscope of bacteriophage M1

注:实线箭头所指为未收缩尾鞘;虚线箭头所指为收缩尾鞘。

Note: Solid arrow for non-contractile tail; Dashed arrow for contractile tail.

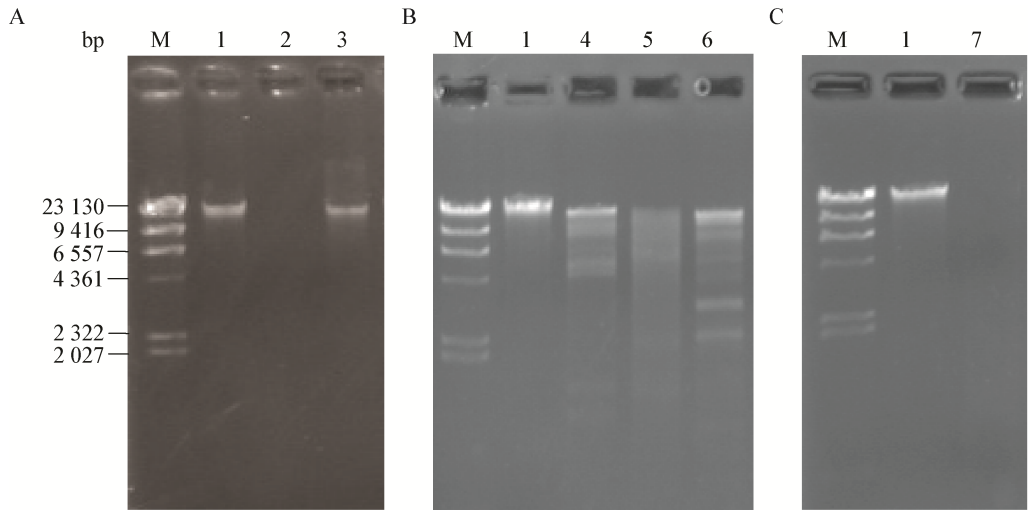


图 3 噬菌体 M1 核酸类型分析

Figure 3 Analysis of the nucleic acid type of M1

注:A:M: λ /Hind III DNA marker; 1:未处理基因组;2:DNA 酶酶切;3:RNA 酶酶切。B:4:*Stu* I 酶酶切;5:*Nde* I 酶酶切;6:*Msc* I 酶酶切。C:7:Exonuclease III 酶酶切。

Note: A: M: λ /Hind III DNA marker; 1: Untreated genome; 2: DNA enzyme digestion; 3: RNA enzyme digestion. B: 4: *Stu* I enzyme digestion; 5: *Nde* I enzyme digestion; 6: *Msc* I enzyme digestion. C: 7: Exonuclease III enzyme digestion.

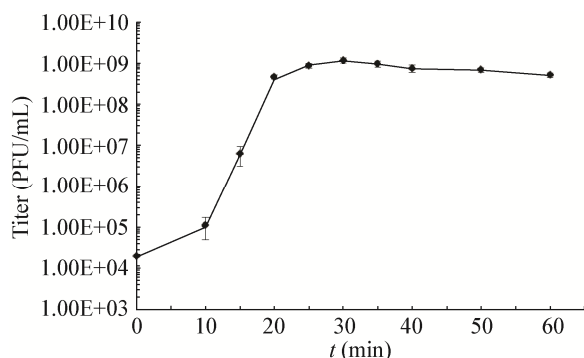


图4 噬菌体 M1 的一步生长曲线

Figure 4 One-step growth curve of phage M1

缓,说明可能存在感染不同步的情况。根据暴发末期噬菌体滴度/感染初期宿主菌浓度计算的裂解量仅为 10 左右。

3 讨论

迄今为止对希瓦氏菌属噬菌体的研究报道并不多。2007 年, Wang 等^[20]和 Jian 等^[21]对深海细菌 *Shewanella piezotolerans* WP3 携带的丝状溶原噬菌体 SW1 进行了系统研究。该噬菌体基因组大小为 7 718 bp 的单链 DNA,可感染 WP2 菌株形成噬菌斑,但只有培养温度低于或等于 15 °C 时才能观察到噬菌斑,并且随着温度的降低噬菌体的滴度不断增加;70 °C 处理 10 min 完全失活;在 4 °C 下主要基因能够高表达。这些性质都与其所处深海低温环境相关。2012 年,孔令红^[22]以腐败希瓦氏菌 Sp225 为宿主菌,从污水中分离得到一株烈性噬菌体 Spp001,噬菌斑直径为 1 mm,电镜观察其形态为蝌蚪形,长约 200 nm,有较好的热稳定性,耐碱不耐酸,潜伏期约为 10 min,暴发期约为 20 min,裂解量为 98。

本实验选用 4 株希瓦氏菌作为宿主菌,但是只从环境中分离获得一株奥奈达希瓦氏菌 MR-1 的烈性噬菌体 M1。MR-1 菌株在 1988 年首次报道时曾被归为腐败希瓦氏菌^[23],直到 1999 年才确定为奥奈达希瓦氏菌的模式菌株,说明它与腐败希瓦氏菌具有较高的相似性。但我们分离得到的 M1 并不能感染其它 2 株腐败希瓦氏菌 CN-32 菌株和 6514

菌株,也不能感染另一株未定种的希瓦氏菌 W3-18-1 菌株,表明该噬菌体对宿主具有高度专一性。电镜观察其形态为蝌蚪形,全长约 225 nm,属于肌尾噬菌体科,基因组大小为 50 kb 左右,为线性双链 DNA,与噬菌体 Spp001 相似。噬菌体 M1 形成的噬菌斑直径约为 2.3 mm–2.5 mm。一步生长曲线测定实验显示,噬菌体 M1 完成复制循环只需要 15–20 min,但裂解量仅为 10,明显低于 Spp001。实际上,在日常进行 M1 扩增实验时,得到的效价始终只能维持在 10⁹ 水平,明显低于实验室操作的其它噬菌体,这可能与其裂解量较低有关。

自然环境中分布着种类和数量都极其丰富的各类病毒,其对生态结构及生态关系影响的研究具有重要意义^[15-16,24]。M1 是迄今为止被报道的第一株能感染奥奈达希瓦氏菌 MR-1 的烈性噬菌体,它的发现为系统研究温和噬菌体和烈性噬菌体对该菌异化铁还原过程的影响,了解病毒在地球微生物成岩过程中的可能角度奠定了实验材料基础。

参考文献

- [1] Chen Y, Wang H, Si YB. Research on the bioaccessibility of HgS by *Shewanella oneidensis* MR-1[J]. Environmental Science, 2013, 34(11): 4466-4472 (in Chinese)
陈艳,王卉,司友斌. *Shewanella oneidensis* MR-1 对硫化汞的生物利用性研究[J]. 环境科学, 2013, 34(11): 4466-4472
- [2] Si YB, Sun L, Wang H. Effects of dissimilatory reduction of goethite on mercury methylation by *Shewanella oneidensis* MR-1[J]. Environmental Science, 2015, 36(6): 2252-2258 (in Chinese)
司友斌,孙林,王卉. *Shewanella oneidensis* MR-1 对针铁矿的还原与汞的生物甲基化[J]. 环境科学, 2015, 36(6): 2252-2258
- [3] Sheng L, Fein JB. Uranium reduction by *Shewanella oneidensis* MR-1 as a function of NaHCO₃ concentration: surface complexation control of reduction kinetics[J]. Environmental Science & Technology, 2014, 48(7): 3768-3775
- [4] Wang J, Wu MY, Lu G, et al. Biotransformation and biomethylation of arsenic by *Shewanella oneidensis* MR-1[J]. Chemosphere, 2016, 145: 329-335
- [5] Huang JX, Chen X, Li FL, et al. Reductive biotransformation of 2,4-dinitrotoluene by *Shewanella oneidensis* MR-1 under anaerobic conditions[J]. Microbiology China, 2013, 40(9): 1734-1741 (in Chinese)
黄杰勋,陈星,李非里,等. 厌氧条件下 *Shewanella oneidensis* MR-1 对 2,4-二硝基甲苯的还原转化[J]. 微生物学通报, 2013, 40(9): 1734-1741
- [6] Dong YY, Wang JX, Fu HH, et al. A Crp-dependent two-component system regulates nitrate and nitrite respiration in *Shewanella oneidensis*[J]. PLoS One, 2012, 7(12): e51643

- [7] Ji QY, Liu GF, Zhou JT, et al. Removal of water-insoluble Sudan dyes by *Shewanella oneidensis* MR-1[J]. Bioresource Technology, 2012, 114: 144-148
- [8] Bretschger O, Obraztsova A, Sturm CA, et al. Current production and metal oxide-reduction by *Shewanella oneidensis* MR-1 wild type and mutants[J]. Applied and Environmental Microbiology, 2007, 73(21): 7003-7012
- [9] Deng H, Zheng ZY, Zhao F. Biosynthesis of selenium nanobars by *Shewanella oneidensis* MR-1[J]. Acta Microbiologica Sinica, 2015, 55(8): 1074-1078 (in Chinese)
邓欢, 郑志勇, 赵峰. 希瓦氏菌 *Shewanella oneidensis* MR-1 合成硒纳米棒[J]. 微生物学报, 2015, 55(8): 1074-1078
- [10] de Corte S, Hennebel T, Fitts JP, et al. Biosupported bimetallic Pd-Au nanocatalysts for dechlorination of environmental contaminants[J]. Environmental Science & Technology, 2011, 45(19): 8506-8513
- [11] Jeon JM, Park H, Seo HM, et al. Isobutanol production from an engineered *Shewanella oneidensis* MR-1[J]. Bioprocess and Biosystems Engineering, 2015, 38(11): 2147-2154
- [12] Venkateswaran K, Moser DP, Dollhopf ME, et al. Polyphasic taxonomy of the genus *Shewanella* and description of *Shewanella oneidensis* sp. nov.[J]. International Journal of Systematic Bacteriology, 1999, 49(2): 705-724
- [13] Shi L, Squier TC, Zachara JM, et al. Respiration of metal (hydr) oxides by *Shewanella* and *Geobacter*: a key role for multihaem c-type cytochromes[J]. Molecular Microbiology, 2007, 65(1): 12-20
- [14] Kim J, Dong HL, Seabaugh J, et al. Role of microbes in the smectite-to-illite reaction[J]. Science, 2004, 303(5659): 830-832
- [15] Koskella B, Brockhurst MA. Bacteria-phage coevolution as a driver of ecological and evolutionary processes in microbial communities[J]. FEMS Microbiology Reviews, 2014, 38(5): 916-931
- [16] Muniesa M, Imamovic L, Jofre J. Bacteriophages and genetic mobilization in sewage and faecally polluted environments[J]. Microbial Biotechnology, 2011, 4(6): 725-734
- [17] Gödeke J, Paul K, Lassak J, et al. Phage-induced lysis enhances biofilm formation in *Shewanella oneidensis* MR-1[J]. The ISME Journal, 2011, 5(4): 613-626
- [18] Heidelberg JF, Paulsen IT, Nelson KE, et al. Genome sequence of the dissimilatory metal ion-reducing bacterium *Shewanella oneidensis*[J]. Nature Biotechnology, 2002, 20(11): 1118-1123
- [19] Feng Y, Liu J, Sun Y, et al. An introduction to current classification and nomenclature of bacterial viruses[J]. Chinese Journal of Veterinary Science, 2013, 33(12): 1954-1958 (in Chinese)
冯烨, 刘军, 孙洋, 等. 噬菌体最新分类与命名[J]. 中国兽医学报, 2013, 33(12): 1954-1958
- [20] Wang F, Wang FP, Li Q, et al. A novel filamentous phage from the deep-sea bacterium *Shewanella piezotolerans* WP3 is induced at low temperature[J]. Journal of Bacteriology, 2007, 189(19): 7151-7153
- [21] Jian HH, Xiao X, Wang FP. Role of filamentous phage SW1 in regulating the lateral flagella of *Shewanella piezotolerans* strain WP3 at low temperatures[J]. Applied Environmental Microbiology, 2013, 79(22): 7101-7109
- [22] Kong LH. Properties of Bacteriophage of *Shewanella putrefaciens* and its application on fresh keeping effects[D]. Qingdao: Master's Thesis of Ocean University of China, 2012 (in Chinese)
孔令红. 腐败希瓦氏菌噬菌体的性质和防腐应用研究[D]. 青岛: 中国海洋大学硕士学位论文, 2012
- [23] Myers CR, Nealson KH. Bacterial manganese reduction and growth with manganese oxide as the sole electron acceptor[J]. Science, 1988, 240(4857): 1319-1321
- [24] Paction M, Wacey D, Corinaldesi C, et al. Viruses as new agents of organomineralization in the geological record[J]. Nature Communications, 2014, 5: 4298