微生物学通报
Microbiology China
tongbao@im.ac.cn

Jan. 20, 2014, 41(1): 130−135
© 2014 by Institute of Microbiology, CAS
DOI: 10.13344/j.microbiol.china.130055

专论与综述

温泉微生物多样性与酶类分析

于新娟　王莉莉　贾盛佼　董全江*

(青岛市市立医院 中心实验室消化内科　山东 青岛　266071)

摘　要：温泉微生物多样性包括物种多样性、遗传多样性、生理多样性和生态多样性。温泉微生物多样性受地理位置、温度和酸碱度、水化学成分(硫、硼、铁、砷等离子和化合物)及氧气和光照等生态因子的影响。目前已经从温泉微生物中筛选出了许多具有热稳定性的酶。本文分析了温泉微生物多样性及其影响因素，并讨论了具有广泛应用价值的温泉微生物酶，为拓展我国温泉微生物多样性研究、深入认识和开发温泉微生物资源提供基础。

关键词：温泉，微生物多样性，影响因素，热稳定酶

Microbial diversity and enzymes of hot springs

YU Xin-Juan　WANG Li-Li　JIA Sheng-Jiao　DONG Quan-Jiang*

(*Central Laboratory & Department of Gastroenterology*, *Qingdao Municipal Hospital*, *Qingdao*, *Shandong* 266071, *China*)

Abstract: Microbial diversity of hot springs includes species diversity, genetic diversity, physiological diversity and ecological diversity. It is influenced by geographical position, temperature, pH value, chemical composition (sulfur, boron, iron, arsenic ions and compounds), oxygen and light. Many thermophilic enzymes have been isolated from thermophilic microorganisms in hot springs. This paper summarizes the microbial diversity of hot springs and its influencing factors, discusses the widely used microbial enzymes produced by microorganisms from hot springs. This would promote the research of hot springs' microbial diversity, and benefit for the exploitation of hot springs' microbial resources.

Keywords: Hot springs, Microbial diversity, Influencing factors, Thermophilic enzymes

微生物是生物中一群重要的分解代谢类群，其生物多样性在维持生物圈和为人类提供广泛而大量的未开发资源方面起着主要的作用。温泉的独特理化特征促进了特殊微生物群体的形成，嗜热等适合极端环境条件生存的微生物聚集于温泉环境。传统上微生物的研究是应用分离培养的方法[1-3]。由于温泉微生物的最适生长条件极大的区别于常见微生物，因而温泉微生物的研究受到了限制。在过去的二十多年里，分子生物学技术，尤其16S rRNA基因技术已经广泛应用于鉴定未知菌的研究中，逐步建立起了以分子系统发育分析为基础的现代微生物分子生态学的研究方法，如PCR-RFLP、PCR-RAPD、FISH、PCR-DGGE/TGGE、基因芯片等[4-9]。近年来，随着高通量测序技术的发展和宏

*通讯作者：Tel: 86-532-88905289; ✉: jiangacer@126.com
收稿日期：2013-01-24；接受日期：2013-03-19；优先数字出版日期(www.cnki.net)：2013-10-11

基因组学方法的出现,温泉微生物群体多样性和功能基因分析受到关注[10]。以454焦磷酸测序为代表的高通量测序技术能够更完全覆盖环境微生物群落,并能发现罕见的少数温泉微生物,使人类可以更清晰地研究和了解温泉微生物多样性和基因多态性。温泉微生物多样性研究有助于认识高温环境中的微生物遗传多样性与功能多样性,揭示温泉中嗜热菌的多样性及其与环境的关系,对认识生命的起源和进化具有十分深远的意义。研究温泉微生物多样性还有助于筛选出能产生具有独特理化特性酶类的菌株,在工业、分子生物学、医学等领域有重要的应用,具有良好的应用前景。

1 温泉微生物多样性

温泉微生物多样性包括温泉中所有微生物的生命形式、生态系统和生态过程以及有关微生物在遗传、分类和生态系统水平上的知识概念,除物种多样性外,还包括遗传多样性、生理多样性和生态多样性。

1.1 温泉微生物物种多样性

微生物物种多样性主要指微生物物种构成、数量的丰富性,而物种的差异主要体现在遗传物质和生理特征的差异上,所以对物种多样性的研究必须以遗传和生理多样性的研究为基础。温泉沉积物、菌席或泉华中微生物总量大约为10^8–10^9细胞/g。Sun P.等[11]构建云南洱源牛街温泉细菌和古菌的基因文库,通过测序和序列相似性比对以及聚类分析发现,该温泉原核微生物以细菌为主,包括变形菌门、硬壁菌门、梭杆菌门等在内的约10个细菌类群,其中变形菌门中的β-变形菌纲为优势菌群,其次为拟杆菌门和绿菌门;古菌的生物量和丰度较细菌少,分属广古菌和泉古菌两个类群,以广古菌为优势类群。Ruckmani A.等[12]研究印度高止山脉西部温泉细菌构成,显示优势菌为蓝藻门(60%),随后是变形菌门(19.5%)、拟杆菌门(6.67%)、放线菌门(4.4%)、硬壁菌门(2.2%)和绿藻门(2.2%)。Bohorquez L. C.等[13]研究哥伦比亚安迪斯山脉的El Coquito酸性温泉的微生物群落发现主要菌群是变形菌门、硬壁菌门、浮霉菌门及与亚铁循环和含硫矿物质有关的化学营养菌、光养生物等。肖凯等[14]对广东金山温泉微生物多样性进行分析,发现原核类群G的14个优势克隆中7个都属于蛭弧菌属,原核类群X的4个序列主要属于蓝藻细菌类群,其中JS-X2与在美国黄石公园温泉发现的Uncultured *Cyanobacterium* (L35331)有95%的相似性,并且与已经全基因组测序的嗜热蓝细菌聚球藻BP-1 (47118315)有89%的相似性。真核类群Z有3个类群,分别是*Penicillium* sp.,*Lodderomyces* sp.和*Gloeotinia* sp.。总之,世界各地温泉的微生物物种非常丰富,包括细菌、古菌和真菌。其中细菌种类比较多,主要分布在蓝藻门、变形菌门、拟杆菌门、硬壁菌门、放线菌门、绿藻门、产水菌门、绿弯菌门、异常球菌-栖热菌门等,优势菌群多为蓝藻门、变形菌门和产水菌门。古菌主要是广古菌和泉古菌。

1.2 温泉微生物遗传多样性

温泉微生物遗传多样性是指温泉微生物在基因水平上所携带的各类遗传信息和遗传物质的总和。不同种群微生物间的遗传物质和基因表达具有很大差异。除了组成核酸分子碱基数量的巨大性和排列顺序的多样性外,DNA复制中出现的碱基对变化、双链/单链DNA、双链/单链RNA等多种遗传形式的存在,转导、转化和接合等微生物特有的基因重组现象,使微生物遗传多样性大大扩展。该水平上微生物多样性的研究要求高质量地获得生物大分子,对生物大分子进行基因层面的操作并进行精细的程序化检测。大部分研究采用16S rRNA基因或16S-23S rRNA ITS (转录间隔区序列)分析法比较温泉微生物之间的基因差异性[15-16]。由于16S rRNA基因和16S-23S rRNA ITS无法鉴别出所有的遗传差异,有研究采用某些蛋白编码位点,如*rbsK* (编码核糖激酶)、*aroA* (编码3-磷酸莽草酸1-羧乙烯基转移酶)、*apcAB* (编码别藻蓝蛋白α和β亚单位)等

分析温泉微生物的遗传多样性[17]。

1.3 温泉微生物生理多样性

微生物生理多样性可分为生理结构和生理功能的多样性。微生物的细胞组分和形态结构有广泛差异，体现了其生理结构的多样性、微生物细胞的生化组成成分或其细胞外分泌产物具有类属特异性。而生理功能多样性则包括代谢类型和功能活性等的多样性。该水平上微生物多样性的研究依赖于在特定条件下对微生物的观察、对细胞组分的分析以及对生化反应的程度、底物、位置等的测定以及宏转录组学的应用[18]。微生物有着许多独特的代谢方式，如自养细菌的化能合成作用，厌氧生活，不释放氧的光合作用，生物固氮作用，对复杂有机物的生物转化能力，分解氰、酚、多氯联苯等有毒物质的能力，以及抵抗热、冷、酸、碱、高渗、高压、高辐射剂量等极端环境的能力。温泉微生物产生的代谢产物种类多，所产酶的种类也极其丰富，分子生物学实验广泛使用的 *Taq* DNA 聚合酶就是首先从温泉微生物中得到的，此外还能产生限制性内切酶、脂肪酶、蛋白酶、淀粉酶、木聚糖酶等很多酶类。

1.4 温泉微生物生态多样性

微生物生态多样性可分为生态结构以及生态功能多样性。前者包括生态环境分布广泛性和种群、群落结构的多样性，后者主要指微生物与其他生物和非生物环境间的关系。该层面常需要研究微生物在特定时空和介质中的形态、结构、代谢和种群分布等，即微生物在特定环境中的生态多样性，对原位检测有特别要求。Miller S. R.等[19]在研究美国黄石国家公园温泉微生物多样性过程中发现蓝藻细菌与绿弯菌呈很强的负相关，猜测两种细菌共同竞争某种有限的资源。Kubo K.等[8]研究日本安昙野市温泉橄榄绿菌席的微生物群落，CARD-FISH 法表明 *Sulfurihydrogenibium* 是菌席表层的优势菌(占 50%)，而绿弯菌是菌席深层的优势菌(占 64%)。体外监测硫化物浓度变化的生理实验表明在缺氧-黑暗环境里硫酸盐还原细菌产生少量硫化物，在缺氧-明亮环境里光合作用菌消耗硫化物，在有氧-黑暗环境下产水菌的无机化能营养成员具有很强的硫化物氧化作用。因此猜测 *Sulfurihydrogenibium* 能够强效清除温泉水的氧气，从而为深层的绿弯菌与热脱硫杆菌创造了适宜的缺氧环境。

2 温泉微生物多样性的影响因素

温泉微生物多样性的影响因素包括温泉所处的地理位置，温泉的温度和酸碱度，硫、硼、铁、砷等水化学成分及氧气、光照等生态因子等。这些因素独立或协同影响温泉微生物的多样性。

2.1 地理位置

已有的研究表明地理位置不同的各个温泉其细菌和古菌的群落组成不同，虽然也有部分克隆与地理位置遥远的温泉的某些克隆在基因序列上相似度很高，但总体群落结构各异。Stout L. M.等[20]采用16S rRNA基因文库研究萨尔弗斯普林斯温泉时发现，其微生物构成与同样含硫的黄石温泉明显不同，但是与附近小安的列斯群岛的微生物构成很相似。Huang Q.等[21]对西藏高原(海拔>4 600 m)中部和中东部10处温泉(26−81 °C，pH中性)微生物多样性的分析发现82种细菌和41种古菌。奇古菌是西藏温泉的优势古菌，这与其它地区的温泉是不同的。

2.2 温度和酸碱度

温泉的温度、pH等会对群落中微生物的物种组成有很大影响。Miller S. R.等[19]采用高通量测序法比较了美国黄石国家公园两处碱性温泉不同温度梯度样品的微生物多样性，发现细菌群落相似性随着温度差异的增大呈指数下降，但与样品的物理距离仅弱相关；菌群多样性随着温度的升高而降低，但与其他环境变量没有相关性。Valverde A.等[22]采用非米多维量表法分析16S rRNA基因T-RFLP比较了赞比亚、中国、新西兰和肯尼亚温泉的放线菌，温度介于44.5−86.5 °C，pH介于

5.0−10.0，显示放线菌的群落组成受pH和温度影响，温度是群落构成最重要的独立影响因子。Pagaling E.等[23]研究中国云南腾冲地区两处温泉微生物的多样性，系统进化分析显示，Langpu (LP)温泉(60−65 °C，pH 8.5)的细菌种类比较多，主要分布在蓝藻门、绿弯菌门、绿菌门、硝孢菌门、异常球菌-栖热菌门、变形菌门(α、β、δ亚群)、硬壁菌门、拟杆菌门和放线菌门，古菌主要是产甲烷广古菌和泉古菌；而Tengchong (TC)温泉(72 °C，pH 6.5)优势细菌是产水菌门，古菌除了有泉古菌和产甲烷广古菌外，还有初古菌。Song Z. Q.等[24]采用高通量测序检测中国云南、西藏pH介于3.2−8.6、温度介于47−96 °C的16处温度、酸碱度以及主要地质化学参数等方面具有明显差异的温泉微生物多样性，发现产水菌门、变形菌门、硬壁菌门、恐球菌-栖热菌门和拟杆菌门是酸性温泉细菌的主要类群，非酸性温泉的细菌类群比酸性温泉更为多样。除硫球菌目和泉古菌门构成了非酸性温泉系统的古菌主要类群，而酸性温泉的古菌群落相对简单，主要是除硫球菌目和热原体纲。

2.3 水化学成分

水化学成分是温泉生态系统中重要的生态因子，直接影响温泉的群落结构和物种组成。水化学成分包括硫、硼、铁、砷等离子和化合物。美国得克萨斯州萨尔弗斯普林斯的温泉高温、低 pH、富含硫酸盐和硼，Stout L. M.等[20]选择了 6 处代表不同地理化学特征的温泉，采用 16S rRNA 基因文库研究微生物多样性。离子浓度低的池水其微生物多样性也比较低，绝大多数池水的优势菌群是产水菌目。古菌只有酸菌属，并且含不同离子的水池古菌不变。硼和硫酸盐浓度高的池水只探测到了古菌序列，没有检测到细菌。Mathur J.等[25]研究美国黄石国家公园酸性温泉非生物因素对微生物多样性的影响发现，细菌群落结构与温泉的矿物化学成分具有强相关性，其次与温度梯度明显相关。例如含硫丰富的沉积物里含有多样性很高的氢杆菌属，而含铁丰富的沉积物的优势细菌是革兰氏阳性专性铁氧化细菌。Purcell D.等[26]研究泰国北部温泉的细菌和古菌多样性，发现温度、硫化物协同影响温泉微生物多样性，温度和硫化物浓度越高，微生物多样性越低。

2.4 氧气、光照等生态因子

一些生态因子如氧气、光照条件等也影响温泉微生物多样性。Handley K. M.等[27]研究希腊圣托里尼富含砷、铁的浅海温泉沉积物微生物结构，发现沉积物内部次氧-缺氧过渡区含有大量铁、硫酸盐还原 δ-变形菌，而沉积物的表面有氧区的优势细菌是铁氧化 ζ-变形菌。Roeselers G.等[28]考察了格陵兰东海岸 3 处温泉的微生态系统，发现与其他地区的温泉相比较，非需氧的光能利用菌的多样性很低，这可能与北极地区光照制度造成的光化学条件有关，北极地区光照时间短，因此光养菌多样性低。

3 温泉微生物产生的热稳定酶

在温泉微生物中，嗜热微生物最受关注，已经从这些嗜热菌中筛选出很多具有热稳定性的酶，包括 DNA 聚合酶、限制性内切酶、外切核酸酶、转座酶、淀粉酶、蛋白酶、葡萄糖苷酶、木聚糖酶、果胶裂解酶、海藻糖合成酶、胆盐水解酶、普鲁士兰酶、环糊精葡萄糖基转移酶、甘油激酶、凝胶糖分解酶、壳多糖酶、甘露聚糖酶、延胡索酸酶、丝氨酸乙酰基转移酶、磷酸二酯酶、天冬氨酸转氨酶、大肠杆菌烯醇酶、过氧化物岐化酶等等。这些酶在 75−100 °C 之间具有良好的热稳定性。酶解过程在高温下进行，能增加难溶物质如淀粉类、纤维素类、多芳香类和脂类等的溶解性和可利用性，降低有机化合物的黏度而利于物质的扩散和混合。温泉嗜热微生物及其产生的嗜热酶在分子生物学、食品、化工、制药和环保等方面有着广阔的应用前景。

3.1 分子生物学用酶

分子生物学技术常用的酶有*Taq* DNA聚合酶、限制性内切酶等。*Taq* DNA聚合酶是应用最成功的热稳定酶，它从根本上改变了分子生物学方法。其

主要活性是催化DNA的合成(在具备模板、引物、dNTPs等的情况下)及其相辅的活性。众所周知*Taq* DNA聚合酶最早从美国黄石国家公园蘑菇泉中得到的栖热水生菌*Thermus aquaticus*中分离，最近Moser M. J.等[29]从温泉得到的病毒宏基因组中分离到了耐热的*Taq* DNA聚合酶。

3.2 工业用酶

目前工业上常用的热稳定酶有 α-淀粉酶、纤维素酶等。自 1973 年第一个高温 α-淀粉酶问世以来，已在制糖工业、啤酒和酒精发酵工业、纺织业和食品工业等领域产生了极大的经济效益。目前工业生产中使用的高温淀粉酶主要是由中温型细菌地衣芽孢杆菌及其突变株产生的，它们的耐热性能较好，其最适反应温度为 90−95 °C。极端耐热淀粉酶主要是从焦球菌属 *Pyrococcus woesei*、火球菌属 *Pyrococcus furiosus*、热球菌属 *Thermococcus profundus* 等古细菌中分离。它们的最适作用温度分别为 100、100 和 80 °C。Kikani B. A.等[30]从印度古吉拉特邦 Tulsi Shyam 温泉分离的 *Bacillus amyloliquifaciens* TSWK1-1 中分离到一种不依赖于钙离子的热稳定 α-淀粉酶。Asoodeh A.等[31]从伊朗 Ferdows 温泉新发现的嗜热菌 *Bacillus* sp. *Ferdowsicous* 中分离出一种耐热、嗜酸的 α-淀粉酶。

3.3 药物用酶

临床上用尿酸氧化酶来治疗痛风症和高尿酸血症。尿酸氧化酶促进尿酸的分解形成尿囊素和二氧化碳，化学反应式为：尿酸+O_2+H_2O→5′-羟基异尿酸+H_2O_2→尿囊素+CO_2。多种微生物基因组中含有编码尿酸氧化酶的基因。目前用于临床的尿酸氧化酶来源于*Asperigellas flavus*。尽管疗效显著，但是由于热稳定性差、半衰期短和强抗原性引起的副作用而限制了使用。多种微生物表达尿酸氧化酶，包括 *Sacharopolyspora* sp.、*Candida utilis*、*Lysobacter* sp.、*Bacillus fastidiosus*、*Klebsiella pneumoniae*等[32-34]。温泉微生物群体分析表明以上多种微生物在温泉环境内生长。温泉微生物编码的尿酸氧化酶具有更大的潜在药用价值。

4 结语

对温泉微生物多样性的研究不仅是探索生命的重要手段，同时也为许多超常物质的研究开发提供了丰富的资源。生物技术在温泉微生物研究中的应用使许多热稳定酶合成相关基因的筛选和克隆成为现实。而高通量测序技术和宏基因组、宏转录组等新方法的发展，不仅促进了对温泉中不可培养微生物的研究，而且对探求微生物与温泉环境之间的关系，发掘和研究新的具有特定功能的基因具有深远意义。温泉微生物作为巨大的基因资源库，其丰富的基因内涵已经表现出巨大潜力，对它的认识、研究和开发，无疑将给人类带来巨大的经济效益和社会效益。

参 考 文 献

[1] Brock TD, Freeze H. *Thermus aquaticus* gen. n. and sp. n., a nonsporulating extreme thermophile[J]. Journal of Bacteriology, 1969, 98(1): 289-297.

[2] Xiang X, Dong X, Huang L. *Sulfolobus tengchongensis* sp. Nov., a novel thermoacidophilic archaeon isolated from a hot spring in Tengchong, China[J]. Extremophiles, 2003, 7(6): 493-498.

[3] Vésteinsdóttir H, Reynisdóttir DB, Orlygsson J. *Hydrogenophilus islandicus* sp. nov., a thermophilic hydrogen-oxidizing bacterium isolated from an Icelandic hot spring[J]. International Journal of Systematic Evolutionary Microbiology, 2011, 61(Pt 2): 290-294.

[4] Reigstad LJ, Jorgensen SL, Schleper C. Diversity and abundance of Korarchaeota in terrestrial hot springs of Iceland and Kamchatka[J]. The ISME Journal, 2010, 4(3): 346-356.

[5] 李沁元, 崔晓龙, 张东华, 等. 云南腾冲热海三热泉细菌多样性的研究[J]. 微生物学通报, 2004, 31(5): 49-54.

[6] 张东华, 李沁元, 刘杨, 等. 腾冲热海眼镜泉菌藻席细菌 ARDRA 指纹图谱分析[J]. 生物学杂志, 2004, 21(3): 12-14.

[7] Kanokratana P, Chanapan S, Pootanakit K, et al. Diversity and abundance of bacteria and archaea in the Bor Khlueng Hot Spring in Thailand[J]. Journal of Basic Microbiology, 2004, 44(6): 430-444.

[8] Kubo K, Knittel K, Amann R, et al. Sulfur-metabolizing bacterial populations in microbial mats of the Nakabusa hot spring, Japan[J]. Systematic and Applied Microbiology, 2011, 34(4): 293-302.

[9] Everroad RC, Otaki H, Matsuura K, et al. Diversification of bacterial community composition along a temperature gradient at a thermal spring[J]. Microbes and Environments, 2012, 27(4): 374-381.

[10] Jiménez DJ, Andreote FD, Chaves D, et al. Structural and

functional insights from the metagenome of an acidic hot spring microbial planktonic community in the colombian andes[J]. PLoS One, 2012, 7(12): e52069.

[11] Sun P, Gu C, Ren F, et al. Prokaryotic microbial phylogenetic diversity of "Eryuan Niujie" hot spring in Yunnan province[J]. Acta Microbiologica Sinica, 2010, 50(11): 1510-1518.

[12] Ruckmani A, Chakrabarti T. Analysis of bacterial community composition of a spring water from the Western Ghats, India using culture dependent and molecular approaches[J]. Current Protocols in Microbiology, 2011, 62(1): 7-15.

[13] Bohorquez LC, Delgado-Serrano L, López G, et al. In-depth characterization via complementing culture-independent approaches of the microbial community in an acidic hot spring of the Colombian Andes[J]. Microbial Ecology, 2012, 63(1): 103-115.

[14] 肖凯, 曹理想, 陆勇军, 等. 广东金山温泉沉积物中原核与真核微生物多样性初步分析[J]. 微生物学报, 2008, 48(6): 717-724.

[15] Allewalt JP, Bateson MM, Revsbech NP, et al. Effect of temperature and light on growth of and photosynthesis by *Synechococcus* isolates typical of those predominating in the octopus spring microbial mat community of Yellowstone National Park[J]. Applied and Environmental Microbiology, 2006, 72(1): 544-550.

[16] Coman C, Bica A, Drugă B, et al. Methodological constraints in the molecular biodiversity study of a thermomineral spring cyanobacterial mat: a case study[J]. Antonie Van Leeuwenhoek, 2011, 99(2): 271-281.

[17] Melendrez MC, Lange RK, Cohan FM, et al. Influence of molecular resolution on sequence-based discovery of ecological diversity among *Synechococcus* populations in an alkaline siliceous hot spring microbial mat[J]. Applied and Environmental Microbiology, 2011, 77(4): 1359-1367.

[18] Liu Z, Klatt CG, Wood JM, et al. Metatranscriptomic analyses of chlorophototrophs of a hot-spring microbial mat[J]. The ISME Journal, 2011, 5(8): 1279-1290.

[19] Miller SR, Strong AL, Jones KL, et al. Bar-coded pyrosequencing reveals shared bacterial community properties along the temperature gradients of two alkaline hot springs in Yellowstone National Park[J]. Applied and Environmental Microbiology, 2009, 75(13): 4565-4672.

[20] Stout LM, Blake RE, Greenwood JP. Microbial diversity of boron-rich volcanic hot springs of St. Lucia, Lesser Antilles[J]. FEMS Microbiology Ecology, 2009, 70(3): 402-412.

[21] Huang Q, Dong CZ, Dong RM, et al. Archaeal and bacterial diversity in hot springs on the Tibetan Plateau, China[J]. Extremophiles, 2011, 15(5): 549-563.

[22] Valverde A, Tuffin M, Cowan DA. Biogeography of bacterial communities in hot springs: a focus on the actinobacteria[J]. Extremophiles, 2012, 16(4): 669-679.

[23] Pagaling E, Grant WD, Cowan DA, et al. Bacterial and archaeal diversity in two hot spring microbial mats from the geothermal region of Tengchong, China[J]. Extremophiles, 2012, 16(4): 607-618.

[24] Song ZQ, Wang FP, Zhi XY, et al. Bacterial and archaeal diversities in Yunnan and Tibetan hot springs, China[J]. Environmental Microbiology, 2012. [Epub ahead of print]

[25] Mathur J, Bizzoco RW, Ellis DG, et al. Effects of abiotic factors on the phylogenetic diversity of bacterial communities in acidic thermal springs[J]. Applied and Environmental Microbiology, 2007, 73(8): 2612-2623.

[26] Purcell D, Sompong U, Yim LC, et al. The effects of temperature, pH and sulphide on the community structure of hyperthermophilic streamers in hot springs of northern Thailand[J]. FEMS Microbiology Ecology, 2007, 60(3): 456-466.

[27] Handley KM, Boothman C, Mills RA, et al. Functional diversity of bacteria in a ferruginous hydrothermal sediment[J]. The ISME Journal, 2010, 4(9): 1193-1205.

[28] Roeselers G, Norris TB, Castenholz RW, et al. Diversity of phototrophic bacteria in microbial mats from Arctic hot springs (Greenland)[J]. Environmental Microbiology, 2007, 9(1): 26-38.

[29] Moser MJ, DiFrancesco RA, Gowda K, et al. Thermostable DNA polymerase from a viral metagenome is a potent RT-PCR enzyme[J]. PLoS One, 2012, 7(6): e38371.

[30] Kikani BA, Singh SP. Single step purification and characterization of a thermostable and calcium independent α-amylase from *Bacillus amyloliquifaciens* TSWK1-1 isolated from Tulsi Shyam hot spring reservoir, Gujarat (India)[J]. Extremophiles, 2011, 15(3): 441-450.

[31] Asoodeh A, Chamani J, Lagzian M. A novel thermostable, acidophilic alpha-amylase from a new thermophilic "*Bacillus* sp. *Ferdowsicous*" isolated from Ferdows hot mineral spring in Iran: Purification and biochemical characterization[J]. Iranian Journal of Microbiology, 2010, 2(1): 46-50.

[32] Khucharoenphaisan K, Sinma K. Production and partial characterization of uric acid degrading enzyme from new source *Saccharopolyspora* sp. PNR11[J]. Pakistan Journal of Biological Sciences, 2011, 14(3): 226-231.

[33] Tamaki H, Matsuoka T, Yasuda Y, et al. A novel laccase with urate oxidation activity from *Lysobacter* sp. T-15[J]. Journal of Biochemistry, 2010, 148(4): 481-489.

[34] O'Leary SE, Hicks KA, Ealick SE, et al. Biochemical characterization of the HpxO enzyme from *Klebsiella pneumoniae*, a novel FAD-dependent urate oxidase[J]. Biochemistry, 2009, 48(14): 3033-3035.