

高盐环境可培养细菌噬菌体的研究进展

傅超群 白萌 王永霞 李治滢 赖泳红 肖炜* 崔晓龙*

(云南大学生命科学学院 云南省微生物研究所 云南 昆明 650091)

摘要: 病毒广泛存在于各类环境中并担负着重要的生态功能,其中包括高盐环境。对高盐环境病毒的研究已成为极端环境微生物研究领域的新热点,目前已被报道的100多株盐病毒中,90多株感染古菌,仅有14株感染细菌。本文综述了目前已知的14株高盐环境细菌噬菌体的形态特征、盐度响应及基因组学的研究进展,并分析了高盐噬菌体的形态多样性、生存策略以及包含在基因组中的进化和起源信息,分析结果表明:高盐噬菌体以有尾噬菌体为主;它们具有广盐性(Euryhaline)的特征,盐度极大地影响其吸附和增殖;它们与非高盐环境噬菌体可能具有共同的起源。高盐噬菌体虽然历经近30年的研究历程,但仅有14株被分离与培养,所以其分离纯化是今后重要工作之一,且结合免培养技术揭示高盐噬菌体的多样性与生态功能是其研究的发展方向。

关键词: 高盐环境, 噬菌体, 生物学特征, 盐度响应, 基因组学

Advances in bacteriophages isolated from hypersaline environments

FU Chao-Qun BAI Meng WANG Yong-Xia LI Zhi-Ying LAI Yong-Hong
XIAO Wei* CUI Xiao-Long*

(Yunnan Institute of Microbiology, School of Life Sciences, Yunnan University, Kunming, Yunnan 650091, China)

Abstract: Viruses play an important role in ecological systems and widely distribute in various environments, including hypersaline environments. The study of viruses in hypersaline environments has become a new hotspot in the field of extremophiles. To date, around 90 viruses out of more than 100 haloviruses have been described for extremely halophilic archaea, while only 14 viruses are known to infect bacterial halophiles. This article reviews the morphological properties, response to salinity and genomics of 14 bacteriophages isolated from hypersaline environments, and also analyzes their morphological diversity, survival strategies and original and evolutionary information in genomes. It reveals that the Caudovirales are the most abundant viruses in hypersaline environments. These bacteriophages are euryhaline and their adsorption and replication were affected by salinity. They may have common ancestry with those from other environments. Although after

Foundation item: National Natural Science Foundation of China (No. 31200138)

***Corresponding authors:** XIAO Wei: Tel: 86-871-65033543; E-mail: weixiao@ynu.edu.cn

CUI Xiao-Long: Tel: 86-871-65171975; E-mail: xlcui@ynu.edu.cn

Received: May 03, 2016; **Accepted:** August 26, 2016; **Published online** (www.cnki.net): September 05, 2016

基金项目: 国家自然科学基金项目(No. 31200138)

***通讯作者:** 肖炜: Tel: 86-871-65033543; E-mail: weixiao@ynu.edu.cn

崔晓龙: Tel: 86-871-65171975; E-mail: xlcui@ynu.edu.cn

收稿日期: 2016-05-03; 接受日期: 2016-08-26; 优先数字出版日期(www.cnki.net): 2016-09-05

nearly 30 years research, only 14 bacteriophages were isolated from hypersaline environments. Hence, isolation and purification of halophages is one of the important works in the future, and studies combining with culture-independent technology to elucidate their diversity and ecological functions are the future developmental direction.

Keywords: Hypersaline environments, Bacteriophage, Biological characteristics, Response to salinity, Genomics

病毒是一类专性寄生的非细胞生物,广泛分布于各类环境中^[1]。病毒也大量存在于盐浓度高于海水的高盐环境中^[2],如盐湖、晒盐场、盐矿、含盐砂土等^[3-4]。高盐水环境是病毒含量最丰富的水环境之一^[5-6],其中病毒样颗粒含量可高达 10^9 个/mL^[3,5]。目前,将生活于高盐环境中的病毒称为盐病毒(Halovirus)^[7]。截止2016年4月,有100多株盐病毒被报告和描述,其中90多株感染古菌,14株感染细菌,嗜盐真菌和盐生杜氏藻(*Dunaliella salina*)的病毒未见报道^[3]。由于高盐环境类似早期地球环境^[3]和火星环境^[8],该环境中的病毒可能是祖先病毒的残存^[3],因此对盐病毒的研究将有助于了解生命的起源与进化,为火星生命的发现提供借鉴。盐病毒控制着高盐环境中生物群落的数量和构成,参与元素的地球化学循环,介导水平基因转移^[7],因此担负着重要的生态功能。本文综述了目前已知的高盐环境细菌噬菌体的形态、对盐度的响应和基因组信息,以期展现这一独特类群的概貌,为深入研究盐病毒提供新的视角和思路。

1 高盐环境噬菌体的形态等特征

噬菌体(Bacteriophage)是一类侵染细菌的病毒,具有与其他病毒类似的特性,主要由蛋白质和核酸(DNA或RNA)组成,广泛分布于土壤、空气、水和生物体内。从高盐环境分离到的14株细菌噬菌体(表1),包括长尾、肌尾、短尾和无尾4种形态,前3种归属于有尾病毒目(Caudovirales)。有尾噬菌体是地球上最多的病毒种类,大约96%有记录的噬菌体都是这种类型^[9]。本实验室观察到盐矿环境中也以这类噬菌体为主^[6]。相较于其他环境,

盐度是影响高盐环境中病毒的生物学特征的主导非生物因子。因此,本文着重综述盐度对高盐环境噬菌体生物学特征的影响。

1.1 长尾噬菌体

目前,全世界分离到的高盐环境细菌噬菌体中有7株属于长尾噬菌体。1988年,Calvo等^[10]分离到的噬菌体F9-11是第一株从*Halomonas halophila*(曾命名为*Deleya halophila*)经过丝裂霉素C(MMC)诱导分离到的高盐环境细菌噬菌体。此后,他们从同类菌株中又分离出另外2株噬菌体,分别命名为F5-4和F12-9^[11]。当盐浓度为5%(质量体积比,下同)时,F9-11可以形成直径为0.5 mm–1.0 mm的噬菌斑(Plaque),F5-4和F12-9能形成直径为0.5 mm–0.8 mm的噬菌斑,但是当盐浓度高于7.5%时,三者均不能形成噬菌斑。F9-11能在盐度为2.5%–15.0%条件下增殖,最佳吸附(Adsorption)盐度为5%,子代噬菌体最大释放量的盐度为10%。F5-4和F12-9分别能在盐度4.5%–15.0%和2.5%–15.0%范围内长期稳定存活,两者在无盐的纯水中也有着较好的稳定性。两者对宿主的吸附不太受盐度的影响,均能在2.5%–25.0%吸附宿主,吸附和增殖的最佳盐度为2.5%–7.5%。阳离子对噬菌体的吸附有不同的影响,当盐度高于20%时,CaCl₂会完全抑制F5-4对宿主的吸附,在25%盐浓度下KCl有利于F5-4的吸附。而对于F12-9,当盐度小于10%时CaCl₂会促进吸附,高于该盐度则不利于吸附。因此,即使3株噬菌体均侵染*Halomonas halophila*的不同菌株,仍然呈现出各自不同的特征,表明同种宿主的不同噬菌体其生存机制也存在着差异。

表 1 高盐环境中分离到的细菌噬菌体
Table 1 Bacteriophages isolated from hypersaline environments

噬菌体 Bacteriophage	来源 Origin	宿主 Host	形态 Morphology	类型 Type	基因组大小 Genome size (kb)	参考文献 References
F9-11	<i>Halomonas halophila</i> F9-11 (Lysogen) from hypersaline soil in Spain	<i>Halomonas halophila</i> G-2	长尾	溶源	ND	[10]
F5-4	<i>Halomonas halophila</i> (Lysogen) from hypersaline soil in Spain	<i>Halomonas halophila</i>	长尾	溶源	ND	[11]
F12-9	<i>Halomonas halophila</i> (Lysogen) from hypersaline soil in Spain	<i>Halomonas halophila</i>	长尾	溶源	ND	[11]
HM-15	Hypersaline soil in Spain	Uncharacterized strain 121	长尾	烈性	ND	[12]
HM-5	Hypersaline soil in Spain	Uncharacterized strain 131	长尾	烈性	ND	[12]
SCTP-I	Salt water in Italy	<i>Salicola</i> sp. PV3	长尾	烈性	ND	[13]
QHHSV-1	Qiaohou salt mine in China	<i>Halomonas ventosae</i> QH52-2	长尾	烈性	37	[14]
Ps-G3	Saltern in Canada	<i>Pseudomonas</i> sp. G3	肌尾	烈性	ND	[15]
UTAK	Saltern in Spain	<i>Salinivibrio costicola</i> sp. B1	肌尾	烈性	80	[16]
ΦgspC	<i>Halomonas</i> sp. 21C (Lysogen) from saline soil in USA	<i>Halomonas</i> sp. 21	肌尾	溶源	340	[17]
SCTP-2	Salt water in Italy	<i>Salicola</i> sp. PV4	肌尾	烈性	ND	[13]
SCTP-3	Salt water in Italy	<i>Salicola</i> sp. S3-1	肌尾	烈性	ND	[2]
CW02	The Great Salt Lake, USA	<i>Salinivibrio</i> sp. SA50	短尾	烈性	49	[18]
SSIP-I	Salt water in Israel	<i>Salisaeta</i> sp. SP9-1	无尾	烈性	44	[2,19]

注：ND：未确定。

Note: ND: Not determined.

1991年, Calvo等^[12]从盐土中分离出2株噬菌体 HM-15 和 HM-5, 头部分别长 57 nm–62 nm 和 62 nm, 尾部分别为 138 nm×15 nm 和 238 nm×12 nm, 宿主均为革兰氏阳性棒状耐盐菌。5%–10%盐度对2株噬菌体吸附均无影响, 但是盐度的改变会影响它们的一步生长曲线。HM-15 和 HM-5 最佳侵染盐度均为 5%, 分别能较好地存活于 10%和 20%盐度中。Kukkaro等^[13]分离的噬菌体 SCTP-1 可侵染宿主(*Salicola* sp. PV3)的 NaCl 浓度为 0–4.5 mol/L (0–26.3%), 吸附率随盐度增加而增加, 并且吸附率在宿主几乎不能存活的盐度下达到最大值, 推测在较高盐度下其宿主细胞表面发生了有利于吸附的改变。

噬菌体 QHHSV-1^[14]由本实验室分离自云南乔后盐矿, 头部直径为 47 nm, 尾长 75 nm, 以 *Halomonas ventosae* QH52-2 为宿主。QHHSV-1 热稳定性良好, CaCl₂ 对其吸附有抑制作用。

QHHSV-1 可以在盐度 2%–20%内增殖, 最佳侵染盐度为 5%, 该盐度下宿主菌细胞裂解率高达 99.37%, 呈现出典型的烈性噬菌体的特征。QHHSV-1 能长时间地比较稳定地存活于 0–30%盐度溶液中。因此, 极强的裂解能力和广泛的盐度耐受性, 使得 QHHSV-1 对环境有很强的适应性。

1.2 肌尾噬菌体

目前, 从高盐环境中分离到 5 株肌尾噬菌体。噬菌体 Ps-G3^[15]头部直径 55 nm–60 nm, 颈长 5 nm, 总长 165 nm, 能在宿主存活的所有 NaCl 浓度 0.15–3.00 mol/L (0.8%–17.6%) 或 Na₂SO₄ 浓度 0.10–0.50 mol/L (1.4%–7.1%) 侵染宿主。Ps-G3 能够在 0.1 mol/L (0.6%) NaCl 和 10 mmol/L (0.1%) Na₂SO₄ 溶液却不能在纯水中存活 3 个月。当宿主增长速率最大时, 加入 Na₂SO₄ 会使子代噬菌体的释放量达到最大。Ps-G3 具有较宽的宿主域, 能感染 *Pseudomonas* sp. G3、*Vibrio costicola* 及 2 株尚

未鉴定的菌株。UTAK^[16]分离自盐田, 宿主域较窄, 不能侵染除宿主以外的细菌。其头部直径 44 nm–86 nm, 尾长 100 nm, 基板 20 nm×2 nm, 尾钉 10 nm×3 nm。UTAK 稳定性与 Ps-G3 相似, 能长时间稳定存活于各种盐浓度中, 包括纯水。盐度对吸附的影响很小, 但是极大地影响裂解量 (Burst size)。溶液中的 NaCl 和 MgSO₄ 有稳定 UTAK 的作用。Seaman 等^[17]共分离出 ΦgspA–ΦgspE 5 株噬菌体, 并详细描述了 ΦgspC。ΦgspC 是第一株感染 *Halomonas* 属的肌尾噬菌体, 其最大的特征是具有 340 kb 的基因组。它有着较广的宿主域, 能侵染 2 株不同的 *Halomonas* spp.。ΦgspC 能耐高温盐度, 但不耐纯水, 低浓度的 CaCl₂ 有微弱地促进吸附的作用。ΦgspC 在盐度为 5%–15% 时侵染力较高。当 ΦgspC 同时处在温度 30 °C 以上和 pH 为 8.0–9.0 的环境中, 或者当盐度达到 20% 的时候, 会呈现出“Lysis-from-without”现象, 即 ΦgspC 裂解细胞但本身不复制的状态^[20]。SCTP-2^[13]与 SCTP-1 不同, 是一株肌尾噬菌体, 在 0–4.5 mol/L (0–26.3%) 盐度范围保持着侵染性, 且在 3–4 mol/L (17.5%–23.4%) 盐度之间有最高的吸附率。SCTP-2 有很快的吸附速率, 其吸附率常数 (Adsorption rate constants) 达 1.2×10^{-9} mL/min, 比最低者高出了

4 个数量级。Atanasova 等^[2]分离获得 SCTP-3, 但遗憾的是并未对其进行细致的研究。尽管 SCTP-1、SCTP-2 和 SCTP-3 的宿主均为 *Salicola* spp., 但 3 株噬菌体呈现出长尾和肌尾两种形态, 表明长尾噬菌体和肌尾噬菌体在宿主识别功能上可能具有同源性。

1.3 短尾噬菌体

噬菌体 CW02^[18]因其含有类 T7 噬菌体相关的结构基因模块, 因此被归类为类 T7 噬菌体超级群 (T7-like supergroup)。通过冷冻电镜和三维重构技术, 更加清晰地看到噬菌体更细微的构造 (图 1)。其头部的三角剖分数 $T=7$, 由 60 个六邻体和 12 个五邻体构成。直径在 5、3 和 2 倍对称轴上分别为 691、627 和 585 Å。衣壳顶点有着高于衣壳表面 40 Å 的塔状突出 (Turret-like) 结构是其最明显的特征, 三维重构显示该结构与衣壳没有直接连接。这一结构在其他极端环境病毒, 如泉古菌病毒 STIV 中也存在, 可能是这类病毒独特的适应结果^[21]。其作用可能与吸附宿主^[21]和病毒 DNA 注入有关^[22–23]。遗憾的是, 尽管电镜和冷冻电镜呈现出该噬菌体有一个短尾, 但是由于高盐度下对比度的原因^[24], 三维重构技术并未将短尾描绘出来。CW02 的塔状突出结构可能与噬菌体尾部共同发

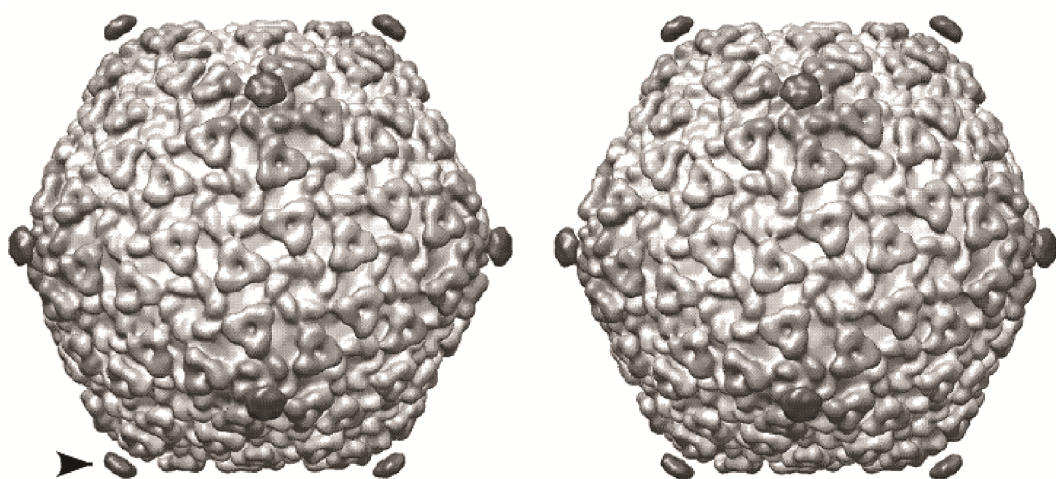


图 1 冷冻电镜三维重构后的 CW02 衣壳表面图^[18]

Figure 1 Cryo-EM-based reconstruction of CW02 capsid surface^[18]

挥吸附和 DNA 注入功能。

1.4 无尾噬菌体

Atanasova 等^[2]分离到的噬菌体 SSIP-1 除了宿主 *Salisaeta* sp. SP9-1 外,不能在 *S. longa*、*Salisaeta* sp. SP10-1 和 *Salinibacter* spp.中产生噬菌斑。SSIP-1 能存活于高盐环境却不能存活于纯水,侵染能力随盐度下降而降低,盐度一旦低于 19%就不能产生噬菌斑,尽管 SSIP-1 仍然保有侵染力。根据主要衣壳蛋白的折叠类型和颗粒结构,将 SSIP-1 归为类 PRD1 (PRD1-like)病毒。它是一株正二十面体带有内膜的双链 DNA 噬菌体。冷冻电镜三维重构显示(图 2A),其衣壳三角剖分数 $T=49$,长度从顶点到顶点为 106 nm,面到面为 97 nm,棱到棱为 95 nm。衣壳内包裹着脂质双层膜,内膜包裹着 DNA,薄层色谱分析显示膜内的脂质是从宿主细胞获得的。脂双层和衣壳之间充斥着外周蛋白或内在膜蛋白(图 2B)^[19]。SSIP-1 衣壳上有 3 个钉状(Spike)结构,该结构在嗜盐古菌病毒 SH1 中也存在,其功能与吸附宿主有关^[24]。由于钉状(Spike)结构和 CW02 中的塔状突出(Turret-like)结构在结构和功能上具有相似性,表明编码两者的基因可能具有同源性,也有人认为是同一类结构^[21]。

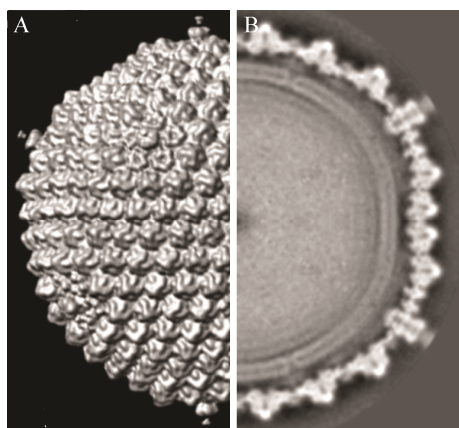


图 2 冷冻电镜三维重构 SSIP-1 衣壳表面(A)及中央切片(B) (修改自参考文献[19])

Figure 2 Cryo-EM-based reconstruction of SSIP-1 capsid surface and central slice through an icosahedral reconstruction (modified from reference [19])

2 高盐环境细菌噬菌体基因组学研究

目前,已确定核酸类型的高盐环境细菌噬菌体基因组均为双链 DNA。早期发现病毒的研究主要集中在理化性质上,而最近 10 年来才对分离出的噬菌体进行了比较详细的分子生物学研究。其中噬菌体 UTAK 是通过薄层色谱分析得到基因组大小为 80 kb^[16],随着测序技术的发展,噬菌体 Φ gspC、SSIP-I 和 CW02 先后被测序,并进行了比较详细的生物信息学分析。

最引人注目的是噬菌体 Φ gspC^[17],其基因组异常庞大,达 340 kb。据笔者统计,截止 2016 年 6 月,NCBI 上 80%以上噬菌体的基因组大小都小于 100 kb。有学者指出生命体要完成生命活动,基因组至少要有 320 kb^[25],而作为没有细胞结构的噬菌体 Φ gspC 而言,拥有如此巨大的基因组,令人称奇。显而易见,病毒拥有大基因组有着一些不利的影响。首先,衣壳内的 DNA 容量过大,会增加 DNA 密度 ρ_{pack} (Density of the packaged DNA),导致对渗透压更加敏感^[26-27]。此外,大的基因组更容易受到紫外线的损伤。尽管如此,大基因组并非百害而无一利。有研究表明,基因组较大的噬菌体相比于基因组较小的噬菌体,可能会拥有更高的适应度 (Fitness)。因此,他们预测有着大基因组的噬菌体 Φ gspC,可能编码着许多环境相关的基因 (Environmentally relevant genes, ERGs),这些基因可能不是噬菌体生命循环所必需的,但是对于宿主及噬菌体的生存是必要的^[17]。有研究表明,蓝藻噬菌体带有与光合作用相关的 ERGs,并在侵染宿主时得到表达^[28-29]。因此,噬菌体 Φ gspC 基因组可能不仅仅编码与生命循环必需的基因,还编码噬菌体与宿主共存相关的环境基因。因此从进化的角度来看,增加适应度不仅仅是减少基因组大小的结果,增加基因组的大小同样可以增加适应度^[17]。

噬菌体 CW02^[20]基因组为 49 391 bp,为线状双链 DNA, G+C%含量为 47.67%。序列分析显示其基因组至少含有 77 个 ORFs (Open reading frames) 和 1 个 tRNA,其中 36 个 ORFs 是 CW02 特有的。

序列比对结果显示其与另一株类 T7 噬菌体 PA11 有 22 个同源 ORFs。同时 PSI-BLAST 分析, CW02 基因组内含有类 T7 噬菌体的 DNA 聚合酶, 表明 CW02 与类 T7 噬菌体有着共同的进化关系。生物信息学分析显示, CW02 与其他 VpV262 样噬菌体 (VpV262^[30]和 Pf-WMP3^[31]) 有相同的基因组排布, 具体表现为保守终止酶(gp52)、门户蛋白(gp51)、支架蛋白(gp49)和衣壳蛋白(gp48)连续成簇排列 (图 3)。因此, CW02 很可能是属于类 T7 噬菌体超级群内类 VpV262 (VpV262-like) 簇的一员。

SSIP-1^[19]基因组是非甲基化的环状双链 DNA, 长度为 43 788 bp, G+C% 含量为 57.2%, 预测 ORFs 共 57 个。SSIP-1 基因组内存在 Moron-like 区域, 即近期新增加的基因组片段^[32-33], 其特点是该区域的 G+C 含量要低于相邻 ORFs 的 G+C 含量, 而且该区域周围存在着串联重复序列, 表明有发生重组的倾向。大部分的 Moron-like 区域以单独 ORF 的形式出现在编码非结构蛋白的基因组片段中。这些区域的发现表明, 近期连续发生过的重组事件重塑了整个基因组, 并选择性地使 SSIP-1 受益^[19]。比对结果显示, SSIP-1 大部分的 ORFs 为孤儿基因(ORFans, orphan genes), 在数据库里找不到任何与之序列相似的基因^[34-35]。随着越来越多的病毒基因组被测

序, 孤儿基因存在于病毒中似乎成为了一个规律, 而不是特例^[35]。有证据表明病毒中存在很多孤儿基因^[19,36]。孤儿基因实际上可能代表着病毒起源的基因, 而病毒可能是宿主进化的主要驱动力^[37]。SSIP-1 基因组内的 gp43 蛋白(262 kD)含有多个不同的结构域, 具有类似 DNA 甲基化酶、特异性位点 DNA 酶 I、核酸分割蛋白 ParB 的功能, 表明 SSIP-1 有参与 DNA 和 RNA 代谢的能力。由于 gp43 比基因组内任意一个 ORF 都大, 因此它可能是通过水平基因转移而来的。由于基因组内没有发现 DNA 聚合酶和 RNA 聚合酶, gp43 可能是一个具有复制或转录功能的复杂分子元件。有趣的是, 尽管 SSIP-1 严格遵循着烈性噬菌体的生命活动, 但是基因组内含有阻遏物、抗阻遏物、整合酶以及位点特异性整合酶, 这些酶可能会与其他未确定的组分共同行使将病毒整合到宿主基因组的功能, 不过也有可能由于重组引起突变使 SSIP-1 不再具有整合功能^[19]。

本实验室分离的噬菌体 QHHSV-1 基因组为双链 DNA, 长度 37 270 bp, G+C% 含量为 66.8%, 不含 RNA, 预测有 69 个 ORFs。与噬菌体 SSIP-1 类似, QHHSV-1 基因组内同时发现了裂解酶基因和整合酶基因, 而且在最佳侵染盐度 5% 下, 呈现出极强的烈性噬菌体的状态, 但在盐浓度 2% 和

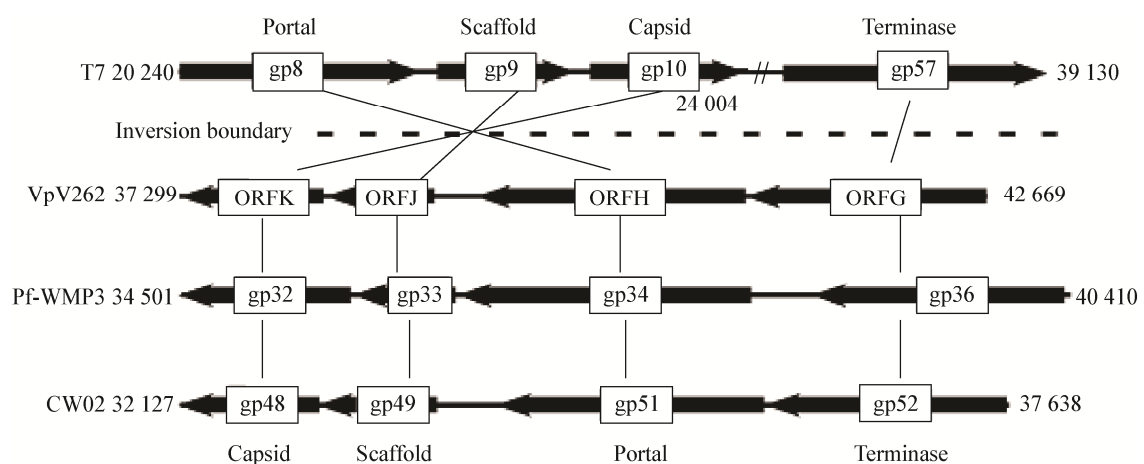


图 3 类 T7 噬菌体超级群基因组保守结构模块图^[18]

Figure 3 The conserved structure module arrangement of the T7-like supergroup^[18]

10%时,通过 PCR 方法可检测到部分宿主菌内存在噬菌体 DNA,表明在非最佳侵染盐度下 QHHSV-1 可能发生溶源。因此,QHHSV-1 在不同盐浓度下,可以调控裂解和溶源相关基因的表达,这种生存策略大大增加了噬菌体的生存几率。

3 总结与展望

迄今为止,分离得到的 14 株高盐环境细菌噬菌体中,只有 SSIP-1 属于无尾噬菌体^[19],其他均为有尾噬菌体,有尾噬菌体也是其他环境中丰度最高的一类噬菌体^[9],表明盐环境和其他环境的噬菌体可能有着共同的起源。与其他环境来源的长尾噬菌体不同,QHHSV-1 具有极窄的宿主域,既不能感染与宿主同属的其他菌株,也不能感染同种的其他菌株^[14]。但 QHHSV-1 具有极高的裂解率,并同时具有裂解和溶源两种复制模式,大大提高了该噬菌体的生存几率。

除宿主域和复制模式外,高盐环境细菌噬菌体还具有其他适应方式,如具有广盐性(Euryhaline),能够适应不同的盐度,有的甚至能存活于纯水中,而嗜盐古菌病毒一般只能存活于高盐环境中,一旦脱离盐环境会迅速失活^[15-16],因此高盐环境中的细菌噬菌体比古菌病毒有更广泛的盐度适应范围。但无论是感染细菌还是古菌的盐病毒,都比宿主有更广泛的盐度适应性^[13]。这些特征保证了盐病毒在盐度波动的环境中得以存活。另外,盐度极大地影响着盐病毒的增殖,但不同盐病毒的吸附对盐度变化的响应有差异,这可能是由于不同病毒通过不同的机制吸附宿主^[13],而低盐度会改变与噬菌体进出相关的细胞结构,如宿主细胞膜的生物物理性质或酶的功能^[19]。对于高盐环境细菌噬菌体,要完成生命活动,需要低盐浓度保证相关的酶发挥作用。因此,在细胞外,噬菌体会尽可能快地吸附并入侵宿主,在低盐度的细胞内进行增殖^[15]。一般认为,噬菌体倾向于侵染最适生长条件下的宿主,吸附能力也是最高的,但对于高盐环境噬菌体,一般会在低于或高于宿主最适生长盐度下吸附并增殖。因此,蒸发和降水引起的盐度和其他理化因子

的变化会促进噬菌体的增殖^[16],体现了高盐环境噬菌体对盐度波动有着较强的适应性,也表明环境中的病毒-宿主相互关系是非常复杂的^[13]。因此,有关盐度在宿主-噬菌体侵染过程中的作用还有待进一步的研究。

目前,高盐环境噬菌体基因组学的研究还处于起步阶段,预测出的大部分 ORFs 仍然功能未知,而已知的功能一般只涉及到结构基因、装配基因、复制和调控基因,以及裂解或溶源性基因等模块,而且这些基因大部分均参考自非高盐环境中的 λ 噬菌体、T 类噬菌体等模式噬菌体的功能^[38-39]。高盐环境噬菌体可能有着一套独特的调控生命活动的基因体系。因此,高盐环境噬菌体的基因组学及相关基因的分子生物学亟需投入更多的研究。

环境中的大部分微生物无法人工培养,目前纯培养获得的高盐环境噬菌体仅有 14 株,大部分病毒及其宿主仍然未知^[9]。因此,加强对盐病毒的分离与纯化是今后的重要工作之一,这将为研究病毒-宿主相互作用、盐病毒生理生化特征等提供实验材料,也有助于新基因和新酶类的发现。近年来,宏基因组学、宏转录组学等免培养技术也应用到高盐环境病毒的研究中^[40-42],大大拓展了研究者们对盐病毒的认识,也为盐病毒的分离培养提供了很好的借鉴。但获得环境中全面完整的病毒核酸成为这类方法的主要限制因素^[43]。此外,将计算机三维重构与冷冻电镜技术相结合而产生的冷冻电镜单颗粒分析技术,已经成为研究病毒(特别是具有多面体对称性的病毒)结构的重要手段之一^[18-19,44]。但是高盐度会影响电镜的对比度^[21],而且不能分辨出病毒和非病毒囊泡(Non-viral membrane vesicles),同时也无法辨别非正常形态的粒子是否属于病毒^[9]。因此,结合多种研究手段和技术才能更完整地了解到高盐环境中盐病毒的特征。同时,随着越来越多盐病毒基因组的测序和解析,以及组学分析的不断深入,有望在将来找到合适的盐病毒标记基因或其他标记物,这将极大方便研究者的工作。

纵观高盐环境噬菌体的研究历史,早期噬菌体

的研究主要集中在理化性质的研究上,特别是盐度对噬菌体及其宿主的影响。近年来则集中在分子生物学的研究和病毒-宿主间的互作关系。高盐环境中原核生物的猎食者很少,病毒俨然成为了最主要的猎食者^[3],但目前对高盐环境中病毒生态功能的研究较少。所以今后的研究工作应加强盐病毒在调控生物群落、介导基因转移、参与物质循环等方面的工作。

参 考 文 献

- [1] Suttle CA. Viruses in the sea[J]. *Nature*, 2005, 437(7057): 356-361
- [2] Atanasova NS, Roine E, Oren A, et al. Global network of specific virus-host interactions in hypersaline environments[J]. *Environmental Microbiology*, 2012, 14(2): 426-440
- [3] Atanasova NS, Oksanen HM, Bamford DH. Haloviruses of archaea, bacteria, and eukaryotes[J]. *Current Opinion in Microbiology*, 2015, 25: 40-48
- [4] Oren A. Diversity of halophilic microorganisms: environments, phylogeny, physiology, and applications[J]. *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology*, 2002, 28(1): 56-63
- [5] Guixa-Boixareu N, Calderón-Paz JI, Heldal M, et al. Viral lysis and bacterivory as prokaryotic loss factors along a salinity gradient[J]. *Aquatic Microbial Ecology*, 1996, 11(3): 215-227
- [6] Zhao Q, Ren PK, Wang YX, et al. Diversity of virus-like particles from salt mines in Yunnan, China[J]. *Acta Microbiologica Sinica*, 2015, 55(10): 1327-1335 (in Chinese) 赵琴, 任鹏康, 王永霞, 等. 云南盐矿中病毒样颗粒的多样性[J]. *微生物学报*, 2015, 55(10): 1327-1335
- [7] Atanasova NS, Bamford DH, Oksanen HM. Virus-host interplay in high salt environments[J]. *Environmental Microbiology Reports*, 2016, 8(4): 431-444, DOI: 10.1111/1758-2229.12385
- [8] Parro V, de Diego-Castilla G, Moreno-Paz M, et al. A microbial oasis in the hypersaline Atacama subsurface discovered by a life detector chip: implications for the search for life on Mars[J]. *Astrobiology*, 2011, 11(10): 969-996
- [9] Atanasova NS, Bamford DH, Oksanen HM. Haloarchaeal virus morphotypes[J]. *Biochimie*, 2015, 118: 333-343
- [10] Calvo C, de La Paz AG, Bejar V, et al. Isolation and characterization of phage F9-11 from a lysogenic *Deleya halophila* strain[J]. *Current Microbiology*, 1988, 17(1): 49-53
- [11] Calvo C, de La Paz AG, Martínez-Checa F, et al. Behaviour of two *D. halophila* bacteriophages with respect to salt concentrations and other environmental factors[J]. *Toxicological & Environmental Chemistry*, 1994, 43(1/2): 85-93
- [12] Calvo C, de La Paz AG, Pérez-Martínez A, et al. Isolation of phages HM5 and HM15 from hypersaline soil[J]. *Toxicological & Environmental Chemistry*, 1991, 34(1): 29-37
- [13] Kukkaro P, Bamford DH. Virus-host interactions in environments with a wide range of ionic strengths[J]. *Environmental Microbiology Reports*, 2009, 1(1): 71-77
- [14] Fu CQ, Zhao Q, Li ZY, et al. A novel *Halomonas ventosae*-specific virulent halovirus isolated from the Qiaohou salt mine in Yunnan, Southwest China[J]. *Extremophiles*, 2016, 20(1): 101-110
- [15] Kauri T, Ackermann HW, Goel U, et al. A bacteriophage of a moderately halophilic bacterium[J]. *Archives of Microbiology*, 1991, 156(6): 435-438
- [16] Goel U, Kauri T, Kushner DJ, et al. A moderately halophilic *Vibrio* from a Spanish saltern and its lytic bacteriophage[J]. *Canadian Journal of Microbiology*, 1996, 42(10): 1015-1023
- [17] Seaman PF, Day MJ. Isolation and characterization of a bacteriophage with an unusually large genome from the Great Salt Plains National Wildlife Refuge, Oklahoma, USA[J]. *FEMS Microbiology Ecology*, 2007, 60(1): 1-13
- [18] Shen PS, Domek MJ, Sanz-García E, et al. Sequence and structural characterization of great salt lake bacteriophage CW02, a member of the T7-like supergroup[J]. *Journal of Virology*, 2012, 86(15): 7907-7917
- [19] Aalto AP, Bitto D, Ravantti JJ, et al. Snapshot of virus evolution in hypersaline environments from the characterization of a membrane-containing *Salisaeta* icosahedral phage 1[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2012, 109(18): 7079-7084
- [20] Delbrück M. The growth of bacteriophage and lysis of the host[J]. *The Journal of General Physiology*, 1940, 23(5): 643-660
- [21] Brumfield SK, Ortmann AC, Ruigrok V, et al. Particle assembly and ultrastructural features associated with replication of the lytic archaeal virus *Sulfolobus turreted* icosahedral virus[J]. *Journal of Virology*, 2009, 83(12): 5964-5970
- [22] Gowen B, Bamford JKH, Bamford DH, et al. The tailless icosahedral membrane virus PRD1 localizes the proteins involved in genome packaging and injection at a unique vertex[J]. *Journal of Virology*, 2003, 77(14): 7863-7871
- [23] Strömsten NJ, Bamford DH, Bamford JKH. *In vitro* DNA packaging of PRD1: a common mechanism for internal-membrane viruses[J]. *Journal of Molecular Biology*, 2005, 348(3): 617-629
- [24] Jäälinoja HT, Roine E, Laurinmäki P, et al. Structure and host-cell interaction of SH1, a membrane-containing, halophilic euryarchaeal virus[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2008, 105(23): 8008-8013
- [25] Itaya M. An estimation of minimal genome size required for life[J]. *FEBS Letters*, 1995, 362(3): 257-260
- [26] Purohit PK, Inamdar MM, Grayson PD, et al. Forces during bacteriophage DNA packaging and ejection[J]. *Biophysical Journal*, 2005, 88(2): 851-866
- [27] de Paepe M, Taddei F. Viruses' life history: towards a mechanistic basis of a trade-off between survival and reproduction among phages[J]. *PLoS Biology*, 2006, 4(7): e193
- [28] Lindell D, Jaffe JD, Johnson ZI, et al. Photosynthesis genes in marine viruses yield proteins during host infection[J]. *Nature*, 2005, 438(7064): 86-89
- [29] Sullivan MB, Lindell D, Lee JA, et al. Prevalence and evolution of core photosystem II genes in marine cyanobacterial viruses and their hosts[J]. *PLoS Biology*, 2006, 4(8): e234
- [30] Hardies SC, Comeau AM, Serwer P, et al. The complete sequence of marine bacteriophage VpV262 infecting *Vibrio parahaemolyticus* indicates that an ancestral component of a T7 viral supergroup is widespread in the marine environment[J]. *Virology*, 2003, 310(2): 359-371
- [31] Liu XY, Kong SL, Shi M, et al. Genomic analysis of freshwater cyanophage Pf-WMP3 infecting cyanobacterium *Phormidium foveolarum*: the conserved elements for a phage[J]. *Microbial Ecology*, 2008, 56(4): 671-680
- [32] Hendrix RW, Lawrence JG, Hatfull GF, et al. The origins and ongoing evolution of viruses[J]. *Trends in Microbiology*, 2000, 8(11): 504-508
- [33] Juhala RJ, Ford ME, Duda RL, et al. Genomic sequences of bacteriophages HK97 and HK022: pervasive genetic mosaicism in the lambdoid bacteriophages[J]. *Journal of Molecular Biology*, 2000, 299(1): 27-51
- [34] Fischer D, Eisenberg D. Finding families for genomic ORFans[J]. *Bioinformatics*, 1999, 15(9): 759-762
- [35] Comeau AM, Hatfull GF, Krusch HM, et al. Exploring the

- prokaryotic virosphere[J]. Research in Microbiology, 2008, 159(5): 306-313
- [36] Senčilo A, Roine E. A glimpse of the genomic diversity of haloarchaeal tailed viruses[J]. Frontiers in Microbiology, 2014, 5: 84
- [37] Forterre P, Prangishvili D. The origin of viruses[J]. Research in Microbiology, 2009, 160(7): 466-472
- [38] Mobberley JM, Authement RN, Segall AM, et al. The temperate marine phage ΦHAP-1 of *Halomonas aquamarina* possesses a linear plasmid-like prophage genome[J]. Journal of Virology, 2008, 82(13): 6618-6630
- [39] Wang DB, Sun MQ, Shao HB, et al. Characterization and genome sequencing of a novel bacteriophage PH101 infecting *Pseudoalteromonas marina* BH101 from the Yellow Sea of China[J]. Current Microbiology, 2015, 71(5): 594-600
- [40] Santos F, Meyerdieks A, Peña A, et al. Metagenomic approach to the study of halophages: the environmental halophage 1[J]. Environmental Microbiology, 2007, 9(7): 1711-1723
- [41] Santos F, Moreno-paz M, Meseguer I, et al. Metatranscriptomic analysis of extremely halophilic viral communities[J]. The ISME Journal, 2011, 5(10): 1621-1633
- [42] Adriaenssens EM, Van Zyl LJ, Cowan DA, et al. Metaviromics of namib desert salt pans: a novel lineage of haloarchaeal salterproviruses and a rich source of ssDNA viruses[J]. Viruses, 2016, 8(1): 14
- [43] Thurber RV, Haynes M, Breitbart M, et al. Laboratory procedures to generate viral metagenomes[J]. Nature Protocols, 2009, 4(4): 470-483
- [44] de Rosier DJ. Who needs crystals anyway?[J]. Nature, 1997, 386(6620): 26-27

(上接 p.844)

征 稿 简 则

3.3 摘要写作注意事项

3.3.1 英文摘要：1) 建议使用第一人称，以此可区分研究结果是引用文献还是作者得出的；2) 建议用主动语态，被动语态表达拖拉模糊，尽量不用，这样可以避免长句，以求简单清晰；3) 建议使用过去时态，要求语法正确，句子通顺；4) 英文摘要的内容应与中文摘要一致，但可比中文摘要更详尽，写完后务必请英文较好且专业知识强的专家审阅定稿后再返回编辑部。5) 摘要中不要使用缩写语，除非是人人皆知的，如：DNA，ATP 等；6) 在英文摘要中，不要使用中文字体标点符号。

3.3.2 关键词：应明确、具体，一些模糊、笼统的词语最好不用，如基因、表达……

4 特别说明

4.1 关于测序类论文

凡涉及测定 DNA、RNA 或蛋白质序列的论文，请先通过国际基因库 EMBL (欧洲)或 GenBank (美国)或 DDBJ (日本)，申请得到国际基因库登录号 (Accession No.)后再投来。

4.2 关于版权

4.2.1 本刊只接受未公开发表的文章，请勿一稿两投。

4.2.2 凡在本刊通过审稿、同意刊出的文章，所有形式的(即各种文字、各种介质的)版权均属本刊编辑部所有。作者如有异议，敬请事先声明。

4.2.3 对录用的稿件编辑部有权进行文字加工，但如涉及内容的大量改动，将请作者过目同意。

4.2.4 文责自负。作者必须保证论文的真实性，因抄袭剽窃、弄虚作假等行为引发的一切后果，由作者自负。

4.3 审稿程序及提前发表

4.3.1 来稿刊登与否由编委会最后审定。对不录用的稿件，一般在收稿 2 个月之内通过 E-mail 说明原因，作者登陆我刊系统也可查看。稿件经过初审、终审通过后，作者根据编辑部返回的退修意见进行修改补充，然后以投稿时的用户名和密码登陆我刊系统上传修改稿，待编辑部复审后将给作者发稿件录用通知单，稿件按照投稿先后排队发表。

4.3.2 对投稿的个人和单位一视同仁。坚持文稿质量为唯一标准，对稿件采取择优先登的原则。

5 发表费及稿费

论文一经录用，将在发表前根据版面收取一定的发表费并酌付稿酬、赠送样刊。

6 联系方式

地址：北京市朝阳区北辰西路 1 号院 3 号中国科学院微生物研究所《微生物学通报》编辑部(100101)

Tel：010-64807511；E-mail：tongbao@im.ac.cn；网址：http://journals.im.ac.cn/wwxtbcn