

腾冲热海高温酸性热泉类病毒颗粒多样性*

党亚锋¹ 陈波¹ 张琦¹ 黄晓星² 魏云林^{1**} 林连兵^{1**}

(¹昆明理工大学生物工程技术研究中心 昆明 650500)

(²中国科学院微生物研究所, 微生物资源前期开发国家重点实验室 北京 100101)

摘要 为了解云南腾冲热海高温酸性热泉中类病毒颗粒的多样性及特征, 采用电子显微镜、双层平板及DNA限制性酶切分析等方法, 从腾冲热海61~94 °C酸性热泉富集液中分离纯化病毒颗粒, 对病毒形态特征进行分析比较. 结果显示: 腾冲热海不同酸性热泉样品富集培养物中病毒DNA的限制性酶切图谱差异明显; 病毒液中共观察到4种不同类型的病毒状颗粒, 依据其形态特征, 大致可以分为头尾型病毒、丝状病毒、球状病毒、纺锤型病毒; 这些病毒形态与分离自美国、日本、冰岛等地的高温酸性热泉病毒形态基本相似, 多数类似于硫化叶菌已发现的病毒, 可见腾冲热海高温酸性热泉中类病毒颗粒具有一定的多样性. 同时分离获得一株硫化叶菌病毒, 呈纺锤形, 一端有尾, 纺锤形头部的大小为220 nm × 80 nm, 尾部的长度变化很大, 从20~100 nm不等, 平均长度为50 nm左右, 病毒有囊膜, 囊膜的厚度约为10~15 nm, 该病毒的形态特征、形成抑菌斑的大小及宿主菌株的特性与分离自腾冲热海的第一株硫化叶菌病毒STSV1差异显著, 可能为一株新的硫化叶菌病毒, 故命名为STSV2 (*Sulfolobus tengchongensis* spindle-shaped virus 2). 图7参21

关键词 腾冲热海; 病毒; 多样性; 极端环境; 古菌; STSV2 (*Sulfolobus tengchongensis* spindle-shaped virus 2)

CLC Q939.408

Diversity of Virus-like Particles from High-temperature Acidic Hot Springs in Tengchong Rehai, China*

DANG Yafeng¹, CHEN Bo¹, ZHANG Qi¹, HUANG Xiaoxing², WEI Yunlin^{1**} & LIN Lianbing^{1**}

(¹Biotechnology Research Center, Kunming University of Science and Technology, Kunming 650500, Yunnan, China)

(²State Key Laboratory of Microbial Resource, Institute of Microbiology, Chinese Academy of sciences, Beijing 100101, China)

Abstract For exploring and characterizing the diversity of virus particles from high-temperature acidic hot springs in Tengchong Rehai in Yunnan Province, China, by using electronic microscopy, double-layer plate and DNA restriction analysis, virus particles were identified from enriched water samples of acidic hot springs with temperature between 61~94 °C in Tengchong Rehai, and their morphology was further characterized. Four types of virus-like particles, head and tail-shaped virus, linear virus, spherical virus and spindle-shaped virus, were observed in Tengchong Rehai hot springs by their morphological characteristics. These particles were morphologically similar to those isolated from the same environments in the United States, Japan, Iceland, and some other places and most of them were *Sulfolobus* virus. A *Sulfolobus* bacterium virus with an average length of about 50 nm was subsequently isolated, having a spindle head of 220 nm× 80 nm, a tail 20 to 100 nm in length at one end and an envelope about 10~15 nm in thickness. According to its morphological characteristics significantly different from that of *Sulfolobus* virus STSV1, this virus was proposed to be a new *Sulfolobus* virus and designated as STSV2 (*Sulfolobus tengchongensis* spindle-shaped virus 2). Fig 7, Ref 21

Keywords Tengchong Rehai; virus; diversity; extreme environment; Archaea; STSV2 (*Sulfolobus tengchongensis* spindle-shaped virus 2)

CLC Q939.408

收稿日期: 2011-04-05 接受日期: 2011-05-04

*国家自然科学基金项目 (Nos. 31160035, 30960022) 和中国科学院微生物研究所微生物资源前期开发国家重点实验室开放课题 (Nos. SKLMR-080605, 20100605) 资助 Supported by the National Natural Science Foundation of China (Nos. 31160035, 30960022) and the Open Project of the State Key Laboratory of Microbial Resource, Institute of Microbiology, Chinese Academy of Sciences (Nos. SKLMR-080605, 20100605)

**通讯作者 Corresponding author (E-mail: linlb@sohu.com; homework18@163.com)

病毒作为地球上最为丰富和多样的生命形式,能对整个微生物界的进化和发展产生重要影响^[1]。病毒也是细菌之间基因水平转移的重要载体,在细菌基因组的进化、细菌的致病性和耐药性中具有非常关键的作用^[2]。对病毒的研究有助于增加人们对生命起源与进化、生命本质及环境适应策略等的进一步认识^[3]。多种病毒的发现引起了人们对自然界中病毒的生态分布、多样性、起源与进化以及病毒之间相互关系的浓厚兴趣。在由此引发的新的病毒研究热潮中,一些极端高温酸性环境中的古菌病毒受到科学家们的重视。古菌病毒最早是30多年前从嗜盐菌中分离得到的^[4],已知的古菌病毒均属于双链DNA病毒。早期发现的古菌病毒形态多为头尾型,但近期的电镜观察显示,在古菌占优势的高温环境样品中,病毒颗粒呈现出较为丰富的形态多样性,而且很多病毒的形态从未见于细菌病毒,如水滴状和瓶状病毒^[5]。

云南腾冲热海是世界上独特的内陆型火山地热区,水热活动表现最为强烈的热海热田具有沸泉、热水池、喷气孔和喷气地面等多种地热显示类型,热泉温度达50~97℃,与之对应的漫长的微生物生态系统的演化,孕育出现代腾冲热海丰富的极端高温酸性微生物资源。目前,从腾冲热海已分离得到硫化叶菌(*Sulfolobus*)^[6-7]、嗜酸热两面菌(*Acidianus*)^[8]、热变形菌(*Thermoproteus*)等极端嗜酸热古菌及硫化叶菌病毒STSV1^[9]。此外,从美国、意大利、冰岛、日本等国的酸性热泉中也已经分离到硫化叶菌等古菌及大量病毒。从形态上,这些病毒大致可分为纺锤型、瓶状、水滴状、丝状、球状及头尾型6种^[10]。由此可见,高温酸性热泉病毒分布广泛、种类丰富。云南腾冲热海作为我国大陆著名地热区,迄今还未见其高温酸性热泉中病毒的多样性研究报道。研究腾冲热海高温酸性热泉类病毒颗粒多样性,不但可以获得一批高温古菌病毒资源,对阐明高温微生物的嗜酸热机制也有重要意义。

本文报道腾冲热海极端高温酸性热泉中类病毒颗粒多样性,并依据其形态结构进行简单分类,为探索腾冲热海高温酸性热泉病毒的多样性及其地域特征提供依据。

1 材料与方法

1.1 培养基

采用Zillig培养基^[11],调节pH值为3.1,需要加入微量维生素,115℃灭菌30 min。固体培养基中Gelrite的浓度为1%,半固体培养基中Gelrite的浓度为0.25%。

1.2 样品采集及富集培养

采集云南腾冲热海温度在61~94℃、pH值在2.0~6.0之间的酸性热泉或喷气孔的水样或泥土样,置于50 mL灭菌离心管中,密封后于常温保存并运输至实验室。取2~5 mL水样或1~2 g泥土接种至装有100 mL Zillig培养基的250 mL血清瓶中。

于80℃振荡(140 r/min)培养7~10 d,至培养基变得混浊,并进行病毒的初步检测。

1.3 病毒的收集、DNA提取及酶切分析

取酸性温泉富集培养物(Enrichment culture) 25 mL, 7 000 × g, 4℃离心20 min,去除菌体收集上清液。上清液再于25 000 × g, 4℃离心15 min,以尽量除去菌体碎片。离心后小心收集上清液,上清液于120 000 × g, 4℃,离心2 h,离心结束后,将沉淀悬于500 μL TE buffer (pH 8.0)中,作为病毒悬液。

将20 μL蛋白酶K (20 mg/mL)、57 μL SDS (10%, w/V)加入至500 μL经超高速离心得到的病毒悬液,于50℃水浴50 min,用等体积酚/氯仿抽提3次,氯仿1次,加入1/10体积3 mol/L醋酸钠,再加入2倍体积无水乙醇沉淀病毒DNA, 13 000 × g离心10 min,沉淀再用70%乙醇洗涤1次,乙醇挥发干后,病毒DNA溶于200 μL TE buffer (pH 8.0, 含RNA酶),然后用限制性内切酶EcoRI进行酶切,酶切产物通过琼脂糖凝胶电泳分析。如果酶切图谱为一系列清晰的DNA条带,证明对应的富集培养物上清液中可能存在病毒。

1.4 病毒电镜检查

酸性温泉富集培养物培养至对数生长期后期(10 d, 80℃)后,22℃静止放置2 d,取富集培养物10 mL, 6 000 × g离心10 min,去除细菌和较大颗粒,上清液再于25 000 × g, 4℃离心15 min,以尽量除去菌体及其碎片。上清液于120 000 × g, 4℃,离心2 h,离心结束后,将沉淀悬于200 μL ddH₂O中,然后再于6 000 × g, 4℃离心15 min以除去杂质,收集上清。用2% (w/V)的醋酸双氧铀染色,染好的铜网于透射电子显微镜(Hitachi H-600A)下观察病毒的形态。

1.5 病毒的分离、纯化及形态观察

将可能含有病毒的富集培养物(其制备的病毒悬液经过DNA酶切图谱分析有清晰的DNA条带出现,且透射电镜下可见典型类病毒状颗粒)于13 000 × g离心2 min,经0.22 μm滤膜过滤,取滤液2~4 μL分别滴在长有腾冲硫化叶菌RT8-4、DGG2-2、HB5-9和H5-2铺制菌苔的平板上,于80℃温箱倒置培养4~5 d。待浑浊的抑菌斑出现时,用牙签挑出单个抑菌斑再次感染其宿主细胞,经3~5次重复后,获得纯化的病毒,然后将含有抑菌斑的胶块捣碎后于少量无菌水中浸泡1 h,浸出液经染色后用电子显微镜观察纯化病毒的形态。

2 结果与分析

2.1 病毒的富集及DNA酶切

在云南腾冲热海采集的样品接种至Zillig液体培养基,并于80℃振荡培养1~2周,直至培养液变浑浊。对10份富集培养液的上清液进行超高速离心,并提取DNA进行限制性内切酶酶切,结果如图1所示。10份病毒悬液抽提的DNA经

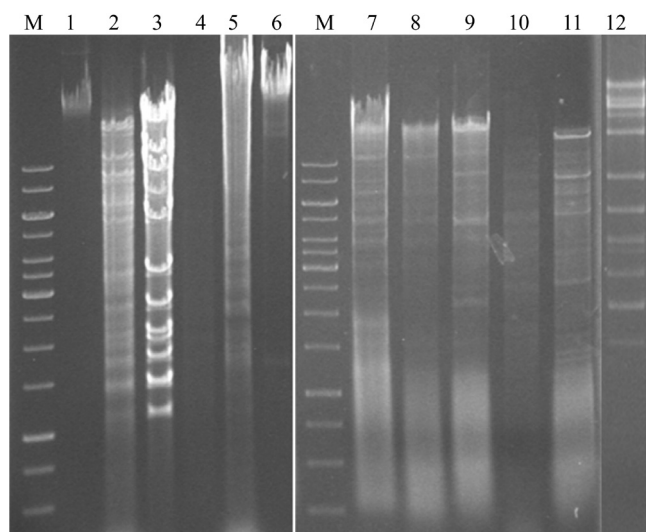


图1 培养液上清中病毒DNA的EcoRI酶切分析

Fig. 1 Restrictive analysis of virus DNA in culture filtrate by *EcoRI*

Lane M: Marker; Lane 1: 未经酶切的DNA; Lane 2~11: 不同样品培养液上清DNA采用EcoRI酶切图谱(黄瓜菁、大滚锅附近、热海体验区、小河边、热田科考区1[#]、热田科考区4[#]、蛤蟆嘴边5[#]、蛤蟆嘴边9[#]、地热表面、珍珠泉边); Lane 12: 纯化病毒STSV2基因组经EcoRI酶切图谱

Lane M: Marker; Lane 1: DNA of each sample which is not restricted; Lane 2~11: Restrictive analysis of virus DNA in culture filtrate of each sample by *EcoRI* (HGJ, DGG, TYQ, XHB, KKQ1[#], KKQ4[#], HMZ5[#], HMZ9[#], DRB, ZZQ); Lane 12: Restrictive analysis of STSV2 DNA by *EcoRI*

Marker size (from top to bottom): 10.0 kb, 8.0 kb, 6.0 kb, 5.0 kb, 4.0 kb, 3.5 kb, 3.0 kb, 2.5 kb, 2.0 kb, 1.5 kb, 1.0 kb, 750 bp, 500 bp, 250 bp

EcoRI酶切及电泳分析,可见不同病毒悬液抽提的DNA酶切产物中DNA条带大小、带数、亮度等方面均差异较大,初步表明腾冲热海酸性热泉病毒可能具有一定的多样性。

2.2 腾冲热海酸性热泉类似病毒颗粒电镜观察

电镜观察表明,在腾冲热海极端高温酸性环境样品中,病毒颗粒呈现出较为丰富的形态多样性,而且,有些病毒的形态与细菌病毒的形态有很大的差异。

从腾冲热海酸性温泉富集培养液中,共观察到4种不同类型的类病毒颗粒。从形态上,这些病毒状颗粒大致可以分为头尾型病毒、丝状病毒、球状病毒、纺锤型病毒。

2.2.1 头尾型病毒 (Head-tail viruses) 从云南腾冲热海酸性热泉中我们首次观察到头尾型病毒,如图2所示。该病毒头部呈二十面体结构,大小约为50 nm,具有螺旋状尾丝,长约60 nm,宽约20 nm,易脱落,在富集培养液中并不是很普遍。在内陆型热海高温酸性环境中,头尾型病毒迄今尚未见报道过。

2.2.2 线状病毒 (Linear viruses) 从腾冲热海酸性热泉样品富集培养液中观察到第二类病毒颗粒呈线状或丝状,如图3所示。病毒结构比较柔韧、易弯曲、易粘连,有时也会断裂,外有囊膜包被。病毒颗粒长短不一,推测与病毒基因组的大小有关,其中绝大多数病毒长度保持在400~900 nm之间,宽度约15 nm,高温酸性热泉富集培养物中线状病毒

普遍存在。线状病毒在细菌域和古菌域宿主中均较为常见,其中古菌域主要是泉古菌中的硫化叶菌属、*Acidianus*属和*Thermoproteus*属。依其形态特征,线状病毒可分为二科,即Rudiviridae和Lipothrixviridae。腾冲热海线状病毒的形态类似于硫化叶菌病毒Lipothrixviridae科病毒SIFV^[12](分离至冰岛硫化叶菌HVE11/2)。

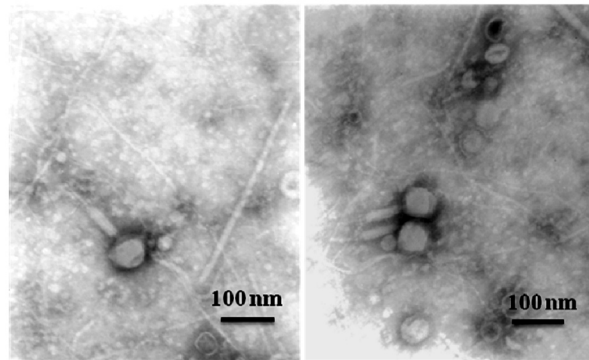


图2 腾冲热海头尾型病毒颗粒

Fig. 2 Head-tail virus particles isolated from Tengchong Rehai

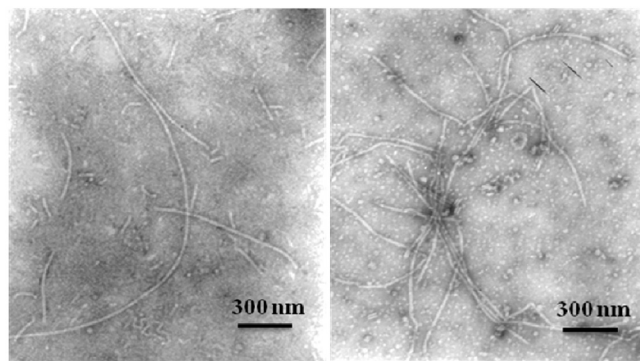


图3 腾冲热海线状病毒颗粒

Fig. 3 Linear virus particles isolated from Tengchong Rehai

2.2.3 球状病毒 (Spherical viruses) 腾冲热海富集培养液中,球状病毒颗粒较为普遍,有些分散存在,有些呈念珠状聚集存在,直径从25~80 nm不等,如图4所示。从3个富集液中,观察到3种类型的球状病毒颗粒:a(图4-A),类二十面体结构的球状病毒颗粒,直径约70~80 nm,该类病毒颗粒类似美国黄石公园分离得到的硫化叶菌病毒STIV^[13],病毒STIV是分离出的第一个结构为二十面体的古菌病毒;b(图4-B),球状或椭球状病毒颗粒,直径约45 nm,富集液中还经常可以观察到纺锤形病毒;c(图4-C),不规则球状病毒颗粒,一般分散存在,偶尔串联聚集存在,直径约25~30 nm。

2.2.4 纺锤型病毒 (Spindle-shaped viruses) 从富集培养液中,观察到了两种类型的纺锤型病毒颗粒:a(如图5),大小及形态与硫化叶菌病毒SSV^[14-16]系列相似,长度约110 nm,宽度约60 nm,一端或两端有尾,尾部长约15 nm;b(如图6),与分离至腾冲热海的硫化叶菌病毒STSV1十分类似,长度约

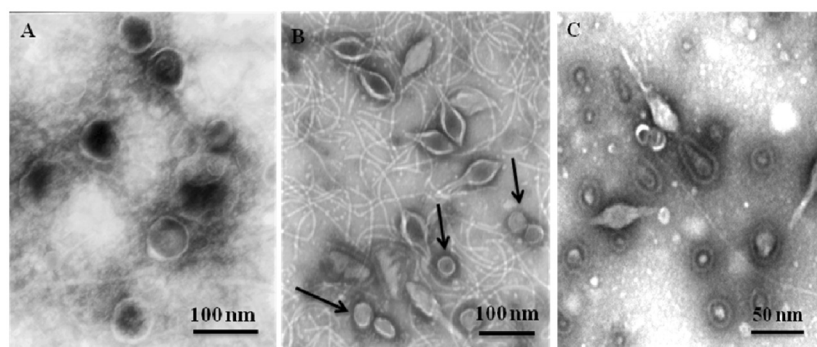


图4 腾冲热海球状病毒颗粒

Fig. 4 Spherical virus particles isolated from Tengchong Rehai

250 nm, 宽约110 nm, 一端有尾, 且尾部的长度有一定的变化. 在腾冲热海高温酸性环境样品当中, 纺锤型病毒最为常见.

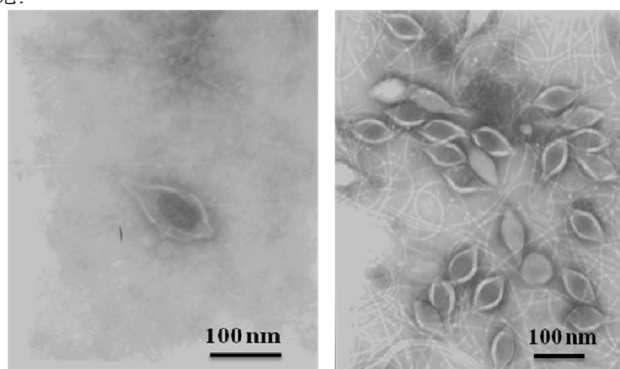


图5 大小约为110 nm × 60 nm的小纺锤型病毒颗粒

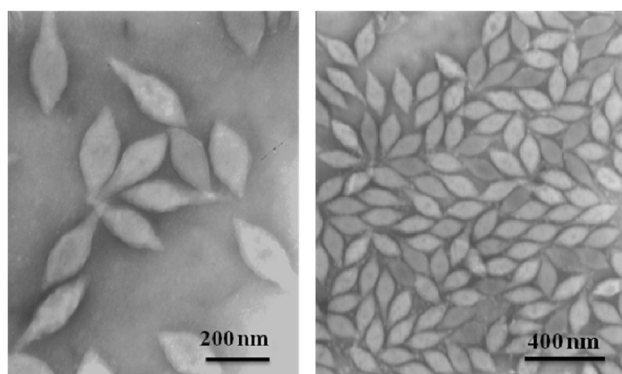
Fig. 5 Small spindle virus similar to SSV particles
(110 nm × 60 nm)

图6 大小约为250 nm × 110 nm的大纺锤型病毒颗粒

Fig. 6 Large spindle virus similar to SSV particles
(250 nm × 110 nm)

2.3 硫化叶菌病毒STSV2的分离纯化及形态分析

从腾冲热海高温酸性热泉富集样中观察到多种不同形态的病毒状颗粒, 采用双层平板法对电镜检查到的纺锤型病毒状颗粒进行分离纯化, 获得一株纺锤型病毒. 该病毒在双层平板上能形成边缘清晰、透明的抑菌斑, 经72 h培养,

抑菌斑直径可达1.5~3 mm. 其宿主菌株H5-2的16S rRNA基因序列 (Accession Number: FJ489507) 与*Sulfolobus*属菌株的最大相似度达99%, 将宿主菌鉴定为*Sulfolobus*属菌株*Sulfolobus* sp. H5-2, 因此, 该病毒为硫化叶菌纺锤型病毒. 由于其形态特征、形成抑菌斑的大小及宿主菌株的特性与分离自腾冲热海的第一株硫化叶菌病毒STSV1差异显著, 故命名为STSV2 (*Sulfolobus tengchongensis* spindle-shaped virus 2).

STSV2的形状非常特殊, 头部为纺锤形, 一端有尾. 纺锤形头部的大小为220 nm × 80 nm, 尾部的长度变化很大, 从20~100 nm不等, 平均长度为50 nm左右. 大部分的病毒颗粒都有尾巴, 但没有尾巴的病毒颗粒也能观察到. 电子显微镜观察显示病毒有囊膜, 囊膜的厚度约为10~15 nm. 该病毒的形状与SSV1类似, 但比SSV1大很多, SSV1的大小仅为90 nm × 60 nm. STSV2与腾冲热海分离到的病毒STSV1更为相似, 但略小于STSV1 (230 nm × 107 nm). 病毒颗粒大多单个分散, 不成簇, 但在宿主周围, 往往会有大量病毒颗粒存在, 并有部分病毒吸附于宿主表面 (图7).

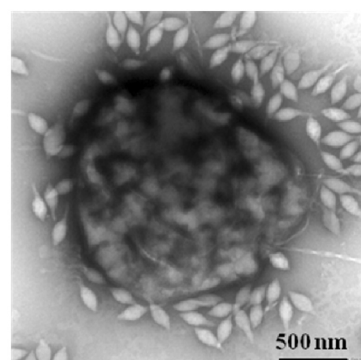
图7 大小约为220 nm × 80 nm的大纺锤型病毒
STSV2及其宿主细胞

Fig. 7 Spindle virus STSV2 (220 nm × 80 nm) and its host cell

3 讨论

对10份从腾冲热海酸性热泉采集的水/泥土样品, 通过富集培养, 超速离心收集病毒液, 并进行病毒DNA酶切分

析,可以看到多数样品中具有明显的DNA酶切条带。进一步电镜观察表明,这些样品中可以观察到典型的类病毒颗粒,而在未观察到明显的DNA酶切条带的样品中,未能观察到典型的病毒样颗粒,两者具有一定的相关性。可见,此方法可以作为病毒初步检测的方法。病毒粗提液DNA的EcoRI酶切图谱差异较大,表明腾冲热海酸性热泉病毒有一定的多样性。

从培养上清液中观察到了4种不同类型的病毒状颗粒。这些病毒状颗粒可以分成4种类型:①头尾型类病毒,在极端嗜热古菌生存的高温环境中,头尾型病毒极为少见,此类病毒仅发现于广古菌,其宿主为嗜温或中度嗜热的嗜盐菌和产甲烷菌,在分类上属于Myoviridae和Siphoviridae这两个科^[17],但嗜盐菌病毒His1和His2^[18]以及*Methanococcus voltae*的一种病毒例外^[19];②丝状类病毒,形态类似于硫化叶菌病毒SIFV;③球状类病毒,类似于硫化叶菌病毒STIV;④纺锤型类病毒,其形态类似于硫化叶菌病毒SSV家族。纺锤型病毒广泛存在于古菌(包括泉古菌界和广古菌界)中,但在细菌和真核生物中未见报道。纺锤型病毒的宿主包括极端嗜热古菌、嗜盐菌以及厌氧产甲烷菌。在硫化叶菌病毒中,纺锤型病毒最为普遍。在此高温酸性环境样品当中,早期已分离获得大量的硫化叶菌及高温芽孢杆菌。系统进化分析表明,腾冲热海硫化叶菌具有多样性^[20]。可见,多样性的菌株为病毒多样性的存在提供了前提。除头尾型之外,其它3种形态的病毒颗粒与目前已分离到的硫化叶菌病毒十分类似,可能为硫化叶菌病毒。纺锤型病毒通过分离纯化已得到印证。头尾型病毒则很可能为高温芽孢杆菌病毒。本研究首次初步分析了云南腾冲热海酸性热泉富集培养物中类病毒颗粒的多样性,并且发现了其中存在几种病毒颗粒类型,为进一步研究腾冲热海病毒多样性奠定了基础。

目前,科学家们已经从美国、日本、冰岛等地的不同性质的热泉中分离到不同形状的类病毒颗粒,其中大部分与我们分离得到的病毒颗粒形状相似,但也有一些形状非常特殊的病毒,如有的为拉链状,有的具有箭状的头部(130~150 nm × 56~70 nm)和螺旋状的尾巴(260~760 nm × 23 nm),还有的为中间是一个椭圆形的主体(180 nm × 125 nm),两头或一头有突起(100~620 nm × 24 nm)。但目前对这些病毒的了解也仅限于形态观察^[21]。因此,对腾冲热海酸性热泉类病毒颗粒多样性的研究,积极探索不同地域病毒多样性及其特征,不仅有助于进一步分离纯化更多的高温病毒资源,也有助于增加我们对生命起源与进化、生命本质及环境适应策略等的进一步认识。

致谢 本研究部分工作在中国科学院微生物研究所微生物资源前期开发国家重点实验室完成,感谢黄力研究员的指导,文中

部分照片由边延庆老师协助拍摄。

References

- 1 Wommack KE, Colwell RR. Virioplankton: Viruses in aquatic ecosystems. *Microbiol & Mol Biol Rev*, 2000, **64** (1): 69~114
- 2 Zhou GQ. Species evolution by horizontal gene transfer. *J Huzhou Teachers Coll*, 2003, **25** (3): 66~70
- 3 Balter M. Evolution on life's fringes. *Science*, 2000, **289**: 1866~1867
- 4 Toursvik T, Dundas ID. Bacteriophage of halo bacterium salinarium. *Nature*, 1974, **248**: 680~681
- 5 Haring M, Rachel R, Peng X, Garrett RA, Prangishvili D. Viral diversity in hot springs of Pozzuoli, Italy, and characterization of a unique archaeal virus, *Acidianus* bottle-shaped virus, from a new family, the *Ampullaviridae*. *J Virol*, 2005, **79**: 9904~9911
- 6 Chen B (陈波), Wei YL (魏云林), Jing SR (井申荣), Ji XL (季秀玲), Lu YQ (陆月情), Lin LB (林连兵). Identification of a thermoacidophilic *Sulfolobus* sp. isolated from a hot spring in Tengchong Rehai. *Microbiol (微生物学通报)*, 2008, **35** (12): 1868~1872
- 7 Xiang X, Dong X, Huang L. *Sulfolobus tengchongensis* sp. Nov., a novel thermoacidophilic archaeon isolated from a hot spring in Tengchong, China. *Extremophiles*, 2003, **7** (6): 493~498
- 8 Hong W (洪伟), Han J (韩剑), Dai X (戴欣), Ji XL (季秀玲), Wei YL (魏云林), Lin LB (林连兵). Isolation and characterization of a *Thermus* lytic bacteriophage from Tengchong Rehai hot spring. *Acta Microbiol Sin (微生物学报)*, 2010, **50** (3): 322~327
- 9 Xiang XY, Chen LM, Huang XX, Luo YM, She QX, Huang L. The *Sulfolobus tengchongensis* spindle-shaped virus STSV1: Virus-host interactions and genomic features. *J Virol*, 2005, **79** (14): 8677~8686
- 10 Huang XX (黄晓星), Huang L (黄力). Archaeal viruses. *Front Sci (前沿科学)*, 2007, **3** (3): 67~74
- 11 Zillig W, Kletzin A, Schleper C, Holz I, Janekovic D, Hain D, Lanzendofer M, Kristjansson J. Screening for *Sulfolobales*, their plasmids and their viruses in *Icelandic solfataras*. *Syst & Appl Microbiol*, 1994, **16**: 609~628
- 12 Arnold HP, Zillig W, Ziese U, Holz I, Crosby M, Utterback T, Weidmann JF, Kristjansson JK, Klenk HP, Nelson KE, Fraser CM. A novel lipothrixvirus, SIFV, of the extremely thermophilic crenarchaeon *Sulfolobus*. *Virology*, 2000, **267**: 252~266
- 13 Maaty WS, Ortmann AC, Dlaki M, Schulstad K, Hilmer JK, Liepold L, Weidenheft B, Khayat R, Douglas T, Young M J, Bothner B. Characterization of the archaeal thermophilic *Sulfolobus* turreted icosahedral virus validates an evolutionary link among double-stranded DNA viruses from all domains of life. *J Virol*, 2006, **80**: 7625~7635
- 14 Schleper C, Kubo K, Zillig W. The particle SSV1 from the extremely thermophilic archaeon *Sulfolobus* is a virus: Demonstration of infectivity and of transfection with viral DNA. *Proc Nat Acad Sci USA*, 1992, **89** (16): 7645~7649
- 15 Rice G, Stedman K, Snyder J, Wiedenheft B, Willits D, Brumfield S, McDermott T, Young MJ. Viruses from extreme thermal environments. *Proc Nat Acad Sci USA*, 2001, **98** (23): 13341~13345

- 16 Stedman KM, She Q, Phan H, Arnold HP, Holz I, Garrett RA, Zillig W. Relationships between fuselloviruses infecting the extremely thermophilic archaeon *Sulfolobus*: SSV1 and SSV2. *Res Microbiol*, 2003, **154** (4): 295~302
- 17 Snyder JC, Stedman K, Rice G, Wiedenheft B, Spuhler J, Young MJ. Viruses of hyperthermophilic Archaea. *Res Microbiol*, 2003, **154**: 474~482
- 18 Bath C, Dyall-Smith ML. His1, an Archaeal virus of the Fuselloviridae family that infects *Haloarcula hispanica*. *J Virol*, 1998, **72**: 9392~9395
- 19 Wood AG, Whitman WB, and Konisky J. Isolation and characterization of an archaeobacterial virus-like particle from *Methanococcus voltae* A3. *J Bacteriol*, 1989, **141**: 93~98
- 20 Han J (韩剑), Chen B (陈波), Dai X (戴欣), Hong W (洪伟), Ji XL (季秀玲), Wei YL (魏云林), Lin LB (林连兵). Diversity of thermoacidophilic *Sulfolobus* in hot springs in Tengchong of Yunnan, China. *Chin J Appl Environ Biol* (应用与环境生物学报), 2010, **16** (5): 692~696
- 21 Rachel R, Bettstetter M, Hedlund BP, Haring M, Kessler A, Stetter KO, Prangishvili D. Remarkable morphological diversity of viruses and virus-like particles in hot terrestrial environments. *Arch Virol*, 2002, **147** (12): 2419~2429



元基因组学：方法和步骤（影印版）——生命科学前沿

出版时间：2012年3月 书号：978-7-03-033858-7 装帧：平装 开本：16开 定价：¥80.00

内容简介

本书涵盖了元基因组文库的构建、元基因组文库的筛选技术和针对不同活性目标产物的筛选方法，并且提供了详细实用的实验操作方法，可以帮助希望从事元基因组学研究的科技人员尽快建立相关的实验平台。

该书由Humana press出版，作者长期从事元基因组学的研究，Rolf Daniel还是国际上权威杂志Applied and Environmental Microbiology的编委之一。

元基因组技术是目前研究微生物的一种热门技术，以用于挖掘新的功能基因（簇）资源，而这些资源可能应用于环境治理、工业生物技术、新药开发等行业，其应用性非常广泛。本书偏重实用性，包括了元基因组文库的构建，元基因组文库的筛选技术和针对不同活性目标产物的筛选方法，以期帮助从事元基因组学研究的科技人员尽快建立相关的实验平台。

基因组学：核心实验方法——新生物学丛书

于军 译 出版时间：2012年3月 书号：978-7-03-033378-0 装帧：平装 开本：16开 定价：¥75.00

内容简介

近些年基因组学研究取得了重大进展。在本书中，国际著名科学家组成的团队与读者一同分享在基因组学领域的最新信息。这几年基因组学研究逐渐把重点从基因识别转移到功能基因组学和对基因及其产物描述等方面。本书以广阔的视角向读者解读这个复杂的主题，通过集中讨论如数据分析等系列关键问题，并对基因组学和与之相关的领域做出重要的概述。无论是现在还是将来，本书都是一本全面的研究指南，它既描述了关键性的新技术也讲解了传统的经典方法。每一章都对不同方法的优点和局限性做出讨论，同时给出可信的实验流程以及大量实际可行的建议，以供读者直接使用。

由于基因组学的影响力日益扩大，新技术不断产生，海量数据迅速积累，基因组学的核心实验方法已经被应用到生命科学研究的各个领域当中。因此，本书非常适合于从事基因组学及其在生命科学领域的各个衍生学科研究的研究生和青年学者阅读。他们不仅可以在这里了解到实验技术的详细步骤，还可以掌握实验技术的根本思想和原理，有助于进一步提出其他的替代方法。（于军）

科学出版社 科学销售中心 联系人：周文宇 电话：010-64022646 010-64017321

网址：<http://www.lifescience.com.cn/>; <http://shop.sciencepress.cn/>

E-mail: zhouwenyu@mail.sciencepress.com

购书网站：

学士书店：<http://www.xueshi.com.cn/>; 当当网：<http://www.dangdang.com/>; 亚马逊：<http://www.Amazon.cn/>;

京东图书：<http://book.360buy.com/>