

## 自然环境中 T4 型噬菌体 *g23* 基因多样性研究进展

王光华<sup>1</sup>, 刘俊杰<sup>1, 2</sup>, Makoto Kimura<sup>3</sup>

<sup>1</sup>中国科学院黑土区农业生态重点实验室, 中国科学院东北地理与农业生态研究所, 哈尔滨 150081

<sup>2</sup>中国科学院研究生院, 北京 100049

<sup>3</sup>Graduate School of Bioagricultural Sciences, Nagoya University, Furocho, Chikusa, Nagoya 464-8601, Japan

**摘要:**过去的 20 多年, 伴随着分子生物学技术在环境微生物研究中的应用, 环境中细菌和真菌群落基因多样性及与其生存环境间的关系逐渐被揭示, 但对于地球上广泛存在且数量巨大的生命体-噬菌体基因多样性研究还很少。本文以编码 T4 型噬菌体主要壳蛋白基因 *g23* 为目标, 综述了近年来 T4 型噬菌体在海洋、湖泊和稻田中基因多样性的研究进展。研究结果表明 T4 型噬菌体 *g23* 基因分布与其生存环境关系很大, 许多 *g23* 基因按获取环境不同划分为几个新类群。同时文中也指出了针对环境中 T4 型噬菌体 *g23* 基因研究应该注意的几点问题及未来的研究发展趋势。

**关键词:** 噬菌体, T4 型噬菌体, *g23* 基因, 病毒生态, 稻田

**中图分类号:** Q938      **文献标识码:** A      **文章编号:** 0001-6209 (2011)06-0732-08

病毒是地球上数量最多的生命体, 仅在海洋生态系统中就高达  $10^{30}$  个以上<sup>[1]</sup>。细菌病毒, 又称噬菌体, 是指侵染细菌的病毒。噬菌体在数量上一般是细菌的 10 倍左右, 被认为是地球上数量最多的病毒类型<sup>[2]</sup>。尽管噬菌体广泛存在<sup>[3]</sup>, 但与具有细胞结构的微生物相比, 我们对其基因多样性知之甚少。究其原因一方面与传统噬菌体研究依赖于分离培养, 但环境中的细菌大多数尚处于难培养状态<sup>[4]</sup>, 限制了噬菌体的获得; 另一方面也与噬菌体基因中没有发现诸如原核生物 16S rDNA 和真核生物 18S rDNA 中存在共有的保守序列, 用于通用引物设计有关。但最近研究发现, 噬菌体某些家族的结构或功能蛋白质氨基酸片段序列高度保守, 利用这些保守片段氨基酸序列设计引物, 可以直接 PCR 扩增出不同噬菌体家族基因序列, 用于噬菌体生态学研究。这些基因包括编码噬藻体壳组装蛋白的 *g20*

基因<sup>[5]</sup>、T7 型噬菌体的 DNA 合成酶 *pol* 基因<sup>[6]</sup>、噬蓝藻体编码光合蛋白 D1 的 *psbA* 基因<sup>[7]</sup>, 以及编码 T4 型噬菌体主要壳蛋白的 *g23* 基因<sup>[8]</sup>。

### 1 噬菌体基因多样性研究的重要性

微生物基因多样性研究是微生物生态学研究的一个重要内容。解析微生物基因多样性可以明晰生物进化历程, 及微生物在生态系统中的作用。虽然科学界对生命的进化有了一个比较清晰的轮廓, 绘制了生命进化树, 可是在生命进化树中没有确定病毒的位置<sup>[9]</sup>, 病毒遗传基因多样性还处于黑箱状态。最近, 多国海洋微生物学家对海洋噬菌体基因研究非常活跃, 发现海洋噬菌体基因序列中有 65%–95% 与 GenBank 现有的序列不同<sup>[10–12]</sup>, 而对于具有细胞结构的生物而言, 基因序列差异只有

**基金项目:** 国家自然科学基金(41071172); 中国科学院“百人计划”项目

**作者简介:** 王光华 (1966–), 男, 黑龙江海林人, 博士, 研究员, 主要从事微生物生态研究。Tel: +86-451-86602745; Fax: +86-451-86603736; E-mail: [guanghuawang@hotmail.com](mailto:guanghuawang@hotmail.com); [wanggh@neigaeherb.ac.cn](mailto:wanggh@neigaeherb.ac.cn)

**收稿日期:** 2010-11-10; **修回日期:** 2011-01-20

10% 左右<sup>[13-14]</sup>, 这说明在噬菌体中存在巨大的遗传资源。了解噬菌体基因多样性, 对于明确噬菌体在调控生态系统细菌群落结构组成、种群数量变化、物质的生物地球化学循环、以及生物间遗传物质的转移等具有重要的意义<sup>[15]</sup>。

与流动的海洋环境相比, 由于受地域的限制, 陆地生态系统噬菌体基因多样性可能更丰富。但由于受研究手段的局限, 长期以来这一领域的研究一直未引起重视<sup>[16]</sup>。近年来, 环境中噬菌体基因多样性的研究得到了广泛关注, 先后发表一些综述性的文章阐述这一领域的研究进展<sup>[2, 16-18]</sup>。鉴于噬菌体家族的庞大, 本文只针对 T4 型噬菌体基因多样性研究现状进行论述。

## 2 T4 型噬菌体及其类群划分的分子基础

按照形态特征噬菌体划分为 21 种类型, 其中具有尾部特征的被归为有尾噬菌体目 (*Caudovirales*)<sup>[19-20]</sup>。有尾噬菌体目进一步划分为尾部具有伸缩功能的肌尾噬菌体科 (*Myoviridae*)、尾部不具有伸缩功能但较长的长尾噬菌体科 (*Siphoviridae*) 和尾部很短的短尾噬菌体科 (*Podoviridae*)。在已分离获得的 5000 多株噬菌体中, 96% 以上为有尾噬菌体, 其中肌尾菌科、长尾菌科和短尾菌科的噬菌体数量分别占 25%、61% 和 14%<sup>[20]</sup>。

T4 型噬菌体是一类与 T4 噬菌体形态相似的烈性噬菌体, 属于肌尾噬菌体科。这类噬菌体寄主范围广, 可侵染肠杆菌科的细菌 (*Enterobacteriaceae*), 还可以侵染与肠杆菌科细菌进化关系较远的其它细菌, 如不动杆菌 (*Acinetobacters*)、气单胞菌 (*Aeromonads*)、假单胞菌 (*Pseudomonads*)、弧菌 (*Vibrios*) 和蓝藻细菌 (*Cyanobacteria*) 等<sup>[21-22]</sup>。T4 型噬菌体分布广泛, 从海水、淡水、土壤, 以及哺乳动物的消化道中都可以分离得到, 且不同的 T4 型噬菌体在病毒颗粒和基因组大小上变化很大<sup>[21]</sup>。

T4 型噬菌体中一些编码结构蛋白的基因高度保守, 利用这些基因可以对 T4 型噬菌体基因多样性进行比较<sup>[23]</sup>。2001 年 Tétart 等<sup>[24]</sup>对分离培养的 T4 型噬菌体编码主要壳蛋白基因 *g23*、尾鞘基因 *g18* 和尾管基因 *g19* 的基因序列比较分析后, 将 T4 型噬菌体划分为 3 个类群: T-evens、PseudoT-evens 和 SchizoT-evens; 2003 年 Desplats 和 Krisch<sup>[22]</sup>又增加

了 1 个新的类群 ExoT-evens。2005 年 Filée 等<sup>[8]</sup>比较了 16 株 T4 型噬菌体单以 *g23* 基因与以基因组中 23 个基因组合起来绘制的系统发育树, 发现这 2 种方法构建的结果非常相似, 证明 *g23* 基因可以作为 T4 型噬菌体类群划分的分子基础, 可以较好地表征复杂环境中 T4 型噬菌体基因多样性<sup>[8]</sup>。

## 3 环境中 T4 型噬菌体 *g23* 基因多样性

### 3.1 海洋中 T4 型噬菌体 *g23* 基因多样性

Filée 等<sup>[8]</sup>是研究环境中 T4 型噬菌体基因多样性的开拓者。他们通过比较大肠杆菌噬菌体 T4 (T-even)、*Aeromonas* 噬菌体 Aeh1 (SchizoT-even) 和蓝藻 *Synechococcus* 噬菌体 SPM2 (ExoT-even) 中的 *g23* 基因序列, 设计出兼并性引物 MZIA1Bis (5'-GATATTTGIGGIGTTTCAGCCATGA-3') 和 MZIA6 (5'-CGCGGTTGATTTCAGCATGATTTTC-3'), 对采自不同海洋中海水病毒 DNA 进行 PCR 扩增, 克隆测序获得了 85 条不同序列的 *g23* 基因。BLAST 比对发现, 小部分基因序列与 T4 噬菌体相似度较高 (氨基酸相似度 > 90%), 但绝大部分基因序列相似度低。以 *g23* 基因编码的氨基酸序列构建的系统发育树表明, 13 个克隆划分到 T-evens 和 PseudoT-evens 类群, 17 个克隆归为 ExoT-evens 类群, 其余的克隆划分到新建立的 5 个海洋 T4 型噬菌体类群 (Marine Groups I - V)。结果还发现海洋中 T4 型噬菌体类群分布具有明显的地理特征, Marine Group I 和 II 分布广, 在所有样品中均检测到; 而 Group III 主要存在于采自太平洋的样品中, Group IV 存在于北冰洋和墨西哥湾的样品中; Group V 中的噬菌体也主要存在于墨西哥湾的海水中。不同海洋中 T4 型噬菌体类群分布上的差异, 表明它们的寄主在海洋中的分布可能也具有地理分布上的限制。

### 3.2 稻田生态系统中 T4 型噬菌体 *g23* 基因多样性

2007 年贾仲君博士等<sup>[25]</sup>最先采用 PCR 技术从日本一个稻田生态系统中扩增出了 17 个不同的 *g23* 基因。构建的系统发育树表明, 9 个序列被划分到已知的 T4 型噬菌体类群和海洋类群; 8 个序列被划分为稻田土壤群 (Rice soil cluster) 和水稻秸秆群 (Rice straw cluster), 表明稻田生态系统中存在新的 T4 型噬菌体类群。在此基础上, 2008 年 Fujii 等<sup>[26]</sup>采用 PCR 扩增、变性梯度凝胶电泳 (DGGE) 分离、切胶测序等技术从日本东北部 Omagari 地区水稻土

壤中获得 39 条 *g23* 基因。BLAST 比对表明,这些基因序列与已知的 T4 型噬菌体 *g23* 序列在氨基酸水平上的相似度为 27% - 99%;发现施肥种类和生长季节对稻田土壤中 *g23* 基因分布影响不明显;依据绘制的系统发育树,将稻田土壤中获得的大部分 *g23* 基因建立了 6 个新类群 (Paddy Groups I - VI)。这一划分结果的合理性进一步被 Nakayama 博士等<sup>[27]</sup>对稻田可培养噬菌体和笔者<sup>[28]</sup>对日本北部、中部和南部 3 个地点稻田土壤样品的研究结果所证实。

日本不同地点稻田土壤 *g23* 基因分布差异不明显,可能与不同地点细菌群落结构差异不显著<sup>[29]</sup>和 *g23* 基因的水平移动有关<sup>[27-28]</sup>。我国东北与日本被海洋隔开,噬菌体 *g23* 基因水平移动可能很难发生,为此笔者<sup>[30]</sup>从我国东北 5 种土壤类型 15 个样点的稻田土壤中克隆获得了 53 条 *g23* 基因。发现我国东北稻田中 T4 型噬菌体分布与日本稻田相比较既有相同的类群,也有不同的类群。在原有的 6 个稻田 T4 型噬菌体类群基础上<sup>[26]</sup>,又增加了 3 个新类群<sup>[30]</sup>,其中 Paddy Groups I、V、VIII 和 IX 为日本和我国东北稻田土壤共有类群;Groups II、III、IV 和 VI 在我国东北稻田未检出,而 Group VII 为我国东北稻田特有类群,在日本稻田未发现 (图 1)。

不同深度土壤剖面的微生物群落结构差异较大<sup>[31]</sup>。然而笔者<sup>[32]</sup>对 2 个不同质地稻田 1 米深土壤剖面中 *g23* 基因研究发现,该基因分布仅在有根系土层 (Rooting layers) 和无根系的下层土壤 (Subsoil layers) 间差异较大,Rooting layers 中的 *g23* 基因多样性高于 Subsoil layers,而在 Rooting layers 或 Subsoil layers 内不同层间分布没有差异;*g23* 基因分布在两个不同质地土壤间未发现明显的差异。这一结果暗示水稻根系的存在可能对 T4 型噬菌体 *g23* 基因分布有影响,使得 *g23* 基因多样性更丰富。然而这一推断与最近 Fujihara 等<sup>[33]</sup>发表的研究结果相悖,他们发现不同腐解阶段水稻秸秆和不同生长期水稻根系上的 T4 型噬菌体 *g23* 基因多样性明显低于其在稻田土壤中的多样性,采样时期对 *g23* 基因分布没有影响。

绝大部分稻田土壤 *g23* 基因被划分到 9 个稻田类群中,但也有个别基因被归结到 T-evens、PseudoT-evens、ExoT-evens 和海洋类群中,此外还有一些基因在构建的系统发育树上位置不稳定,这些基因的归属未明确<sup>[26, 28, 30, 32]</sup>。总之,稻田生态环境中 T4 型噬菌体 *g23* 基因类群与海洋中明显不同,稻田中

*g23* 基因比海洋中分布更广,多样性也更丰富 (图 1)。

### 3.3 湖泊中 T4 型噬菌体 *g23* 基因多样性

最近 T4 型噬菌体在湖泊淡水中的分布情况得到了研究者的重视。2009 年 López-Bueno 等<sup>[34]</sup>从南极一个淡水中获得了 30 条不同的 *g23* 基因,发现多数基因编码氨基酸序列与已知序列的相似性小于 80%,但该文没有对这些 *g23* 基因的类群划分给予明确的界定。2010 年 Butina 等<sup>[35]</sup>从贝加尔湖中的获得了 41 个 *g23* 基因克隆,其中 4 个被划分到 Marine group III 和 IV,7 个被划分到 Paddy groups III, VI 和 VII,10 个被划分到 ExoT-evens,18 个被划分为独立的 5 个贝加尔湖类群 (B2, B6 - B9)。另外还有 1 个克隆 S0508/1-1 与笔者<sup>[28]</sup>从稻田获得的 2 个地位未归属的克隆 KuCf-Jun12-17 和 ChCf-Sep22-11 聚为一类。这 3 个克隆有一个共同的特点,即在 MZIA6 引物编码的氨基酸序列前面缺失了 8 个保守的氨基酸片段,所以笔者认为这 3 个克隆应该是一个新类群。贝加尔湖中 *g23* 基因一部分属于 ExoT-evens、海洋类群和稻田类群,另一部分属于贝加尔湖独特类群的结果,表明了湖泊淡水生态系统中的 T4 型噬菌体基因多样性也非常丰富,T4 型噬菌体群落结构在湖泊、海洋和稻田环境中具有较大的差异。

## 4 环境中 T4 型噬菌体 *g23* 基因研究需要注意的几个问题

由于 T4 型噬菌体 DNA 只占提取环境样品 DNA 的很小一部分,样品 DNA 纯度高直接低影响到 PCR 效果。对于无法获得 PCR 产物的环境样品 DNA,可通过 DNA 纯化、调整模板用量和 PCR 循环数的方法解决。研究发现所用引物专一性不强,环境中一些非 *g23* 基因的 DNA 片段也可能被扩增出来<sup>[25, 30, 33]</sup>。剔除这些非 *g23* 基因的方法可采用看是否可以翻译成氨基酸序列,以及氨基酸序列通过 BLAST 比对看是否是 T4 型噬菌体 *g23* 基因来解决。

噬蓝藻体的 *g20* 和 *psbA* 等基因的 PCR 产物长度变幅很小<sup>[5, 7]</sup>,但 T4 型噬菌体 *g23* 基因的 PCR 产物长度变幅却很大<sup>[26, 28]</sup>。目前发现,扩增出的 *g23* 基因片断最长可编码 198 个氨基酸,最短的只有 103 个氨基酸,绝大部分集中在 120 - 150 个氨基酸之间<sup>[28]</sup>。根据笔者的经验,小于 300 bp 和大于

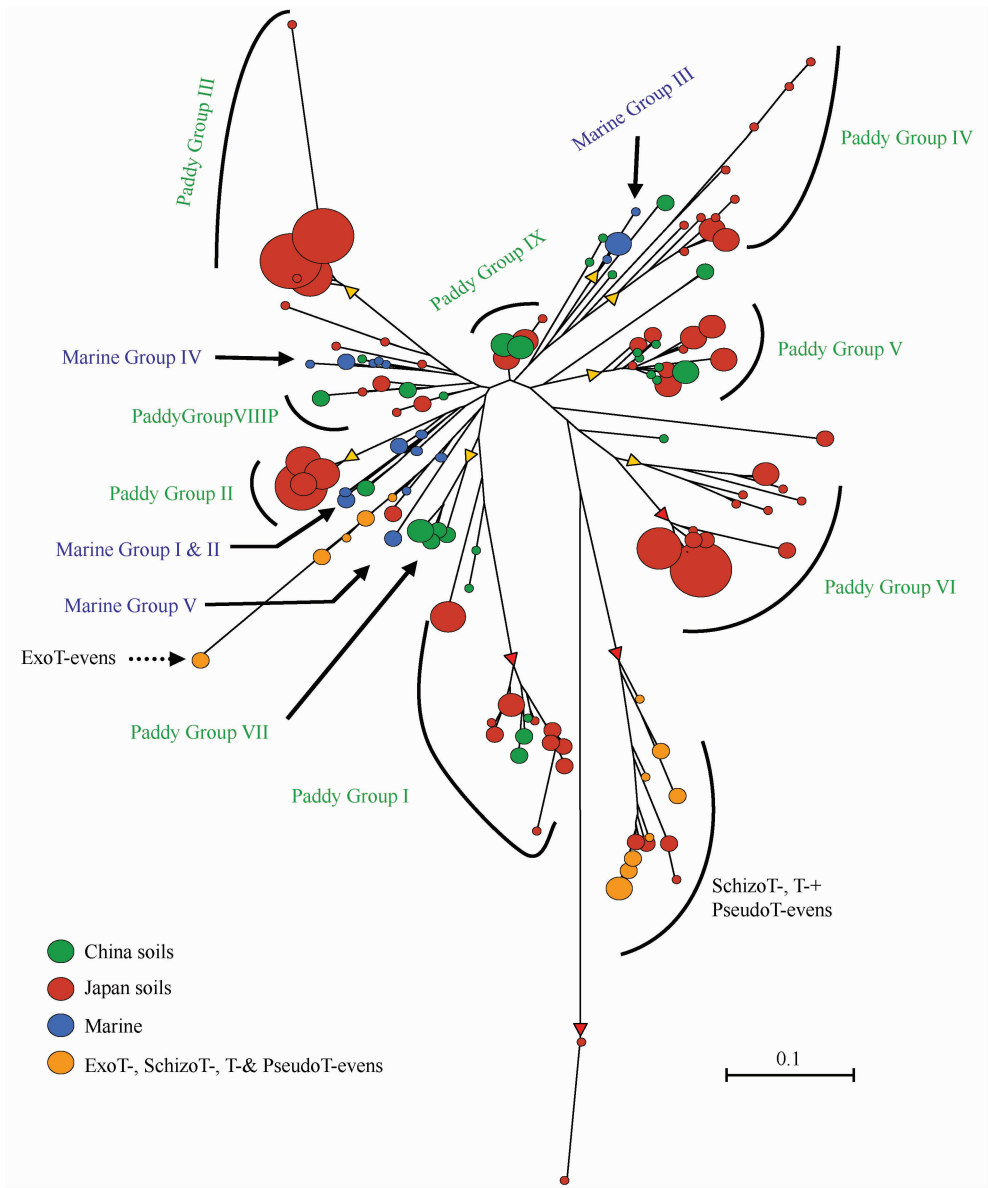


图 1 来自中国东北稻田、日本稻田及海洋中的 T4 型噬菌体 *g23* 基因编码氨基酸序列与 T4 型噬菌体类群 T-evens、PseudoT-evens、SchizoT-evens 和 ExoT-evens 构建的发育树。

Fig. 1 Unrooted phylogenetic tree comparing *g23* amino acid sequences obtained from paddy field soils of Northeast China and Japan with those of T-evens, PseudoT-evens, SchizoT-evens, ExoT-evens and marine origins. The size of circles is proportional to the number of *g23*, and the smallest and largest circles represent 1 and 7 *g23*, respectively. The yellow and red triangles at internal nodes indicate the bootstrap values more than 50% and 90% support, respectively.

700 bp 的 PCR 产物均不是 *g23* 基因,可以在研究中不予考虑。

Filée 等<sup>[8]</sup>指出,*g23* 基因编码的氨基酸序列由高度保守区域和非保守区域组成,对 *g23* 基因类群的划分应采用高度保守区域的氨基酸序列,并认为采用非保守区域氨基酸序列构建的系统树可能会影响到 T4 型噬菌体原有归属。然而 Fujii 等<sup>[26]</sup>比较

了采用 *g23* 基因全部氨基酸序列和只采用保守区域氨基酸序列,即引物 MZIA1Bis 后编码的 12 个氨基酸和引物 MZIA6 前编码的 47 个氨基酸序列,共计 59 个氨基酸序列构建的系统发育树后发现,这 2 种方法得到的 T4 型噬菌体类群划分结果非常相似。所以最近一些环境中 *g23* 基因研究也采用全部氨基酸序列构建系统发育树的方法<sup>[27, 33, 35]</sup>。高度保守

区域 59 个氨基酸的排列决定了 T4 型噬菌体类群划分是值得注意的现象,最近有文章指出<sup>[36]</sup>,在病毒的进化过程中,病毒基因中有一些是从其祖先继承而来,是病毒固有的,如 *g23* 基因高度保守区域;也有一些基因是病毒为了生存,从其它病毒或寄主中获得的。基于此,我们推测 *g23* 基因中非保守区域氨基酸序列的变化没有影响到 T4 型噬菌体类群的划分,可能与 T4 型噬菌体为适应不同生存环境,感染更广泛的寄主而发生基因变化有关,但这种变化并未改变其固有的归属。

## 5 研究展望

T4 型噬菌体广泛地分布于各种环境中<sup>[21]</sup>,但到目前为止,采用 PCR 技术直接扩增环境中的 *g23* 基因的研究仅限于海洋<sup>[8]</sup>、湖泊<sup>[34-35]</sup>和稻田生态系统<sup>[25-28, 30, 32-33]</sup>。国外有研究组<sup>[18]</sup>曾试图采用该技术从旱地土壤中获得 *g23* 基因,但没有成功。他们认为在稻田土壤中扩增出 *g23* 基因可能与稻田长期处于水淹状态,与水体环境有相似的特点有关。而旱地土壤(指不含水层)环境则不同,可能 T4 型噬菌体基因差异更大,引物 MZIA1Bis 和 MZIA6 不适合扩增旱地土壤中的 *g23* 基因。这种观点是否正确、是否还有覆盖度更广的引物扩增出新的 T4 型噬菌体基因 *g23* 基因有待研究。

已有的研究表明,环境中的噬菌体基因多样性非常丰富<sup>[1, 37]</sup>。不仅 T4 型噬菌体 *g23* 基因<sup>[8, 28, 35]</sup>,而且噬蓝藻体 *g20* 基因<sup>[38]</sup>和 *psbA* 基因<sup>[39]</sup>在海洋、淡水湖泊和稻田生态系统中分布均有显著差异,我们对决定噬菌体基因分布随环境不同而产生差异的根本原因尚不清楚。另外,关于噬菌体基因的进化有两种假说,一种是起源于一个共同的祖先基因,然后这个基因在不同生态环境下逐渐进化成不同的类群,而另一种是由多个不同基因起始于不同环境中。现有的数据表明<sup>[8, 25-28, 35]</sup>,所有的来自不同环境中的 *g23* 基因都有高度的保守区域,预示着 T4 型噬菌体 *g23* 基因起源于一个共同的原始基因。倘若最初生命起源于海洋和这种假设成立,那么在陆地生态系统中的局部区域,如盐湖,其 *g23* 基因组成如何,分布是否与海洋生态系统中的关系较近有待探讨。

大尺度条件下不同生态环境 T4 型噬菌体 *g23* 基因组成差异已得到证实,但在小尺度(如不同的处理和采样时间)和微观尺度(如根际和非根际)

上,*g23* 基因分布状况如何还不明晰。最近, Vos 等<sup>[40]</sup>证明了噬菌体更容易感染来自同一块土壤的细菌,而对其他土壤中的细菌感染能力弱。他们将噬菌体的这一现象称为“局部适应性(Local adaptation)”。依据这一研究结果,笔者推测在小尺度和微观尺度上 T4 型噬菌体 *g23* 基因分布也可能存在一定的差异,但这种差异不是基于 *g23* 基因类群的划分,可能更多地归结于相同 T4 型噬菌体类群内部 *g23* 基因序列的差异。

噬菌体的生态学功能在于控制寄主细菌群落种群大小、结构组成与多样性,促进细菌间遗传物质的传递与协同进化、以及参与地球物质循环过程等<sup>[2, 41]</sup>。虽然对几种环境下 T4 型噬菌体 *g23* 基因有了一定的了解,但我们对 *g23* 基因多样性的生态学功能还不明确,还没有建立起细菌群落结构演替与 *g23* 基因多样性变化之间的互动关系。鉴于 T4 型噬菌体及其侵染的细菌只占环境中很小的一部分,所以采用稳定性同位素标记细菌 DNA 技术(DNA-SIP)<sup>[42]</sup>,分析环境中含有标记物的噬菌体 *g23* 基因序列,可能有助于揭示两者间的互动关系。

从上述对 T4 型噬菌体 *g23* 基因多样性研究进展可以看出,环境中的噬菌体基因组成是非常复杂和多样的。随着对不同生态环境下噬菌体基因多样性及与其生存环境之间关系的不断明晰,噬菌体在生物进化中的作用,以及在复杂生态系统中的功能将会越来越引起研究者的重视,从而促进噬菌体生态学的发展。

## 参考文献

- [1] Suttle CA. Viruses in the sea. *Nature*, 2005, 437 (7057):356-361.
- [2] Weinbauer MG. Ecology of prokaryotic viruses. *FEMS Microbiology Reviews*, 2004, 28(2):127-181.
- [3] Breitbart M, Rohwer F. Here a virus, there a virus, everywhere the same virus? *Trends in Microbiology*, 2005, 13(6):278-284.
- [4] Ward DM, Weller R, Bateson MM. 16S rRNA sequences reveal numerous uncultured microorganisms in a nature community. *Nature*, 1990, 345(6270):63-65.
- [5] Zhong Y, Chen F, Wilhelm SW, Poorvin L, Hodson RE. Phylogenetic diversity of marine cyanophage isolates and natural virus communities as revealed by sequences of viral capsid assembly protein gene *g20*. *Applied of Environmental Microbiology*, 2002, 68(4):1576-1584.

- [ 6 ] Breitbart M, Miyake JH, Rohwer F. Global distribution of nearly identical phage-encoded DNA sequences. *FEMS Microbiology Letters*, 2004, 236(2): 249-256.
- [ 7 ] Chénard C, Suttle CA. Phylogenetic Diversity of sequences of cyanophage photosynthetic gene *psbA* in marine and freshwaters. *Applied and Environmental Microbiology*, 2008, 74(17): 5317-5324.
- [ 8 ] Filée J, Tétart F, Suttle CA, Krisch HM. Marine T4 type bacteriophages, a ubiquitous component of the dark matter of the biosphere. *Proceeding National Academy of Sciences of United States of American*, 2005, 102(35): 12471-12476.
- [ 9 ] Ford DW, Eric B. Pattern pluralism and the tree of life hypothesis. *Proceeding National Academy of Sciences of United States of American*, 2007, 104(7): 2043-2049.
- [ 10 ] Angly FE, Felts B, Breitbart M, Salamon P, Edwards RA, Carlson C, Chan AM, Haynes M, Kelley S, Liu H, Mahaffy JM, Mueller JE, Nulton J, Olson R, Parsons R, Rayhawk S, Suttle CA, Rohwer F. The marine viromes of four oceanic regions. *PLoS Biology*, 2006, 4(11): e368.
- [ 11 ] Breitbart M, Felts B, Kelley S, Mahaffy JM, Nulton J, Salamon P, Rohwer F. Diversity and population structure of a nearshore marine sediment viral community. *Proceedings of the Royal Society B*, 2004, 271(1539): 565-574.
- [ 12 ] Culley AI, Lang AS, Suttle CA. Metagenomic analysis of coastal RNA virus communities. *Science*, 2006, 312(5781): 1795-1798.
- [ 13 ] Tyson GW, Chapman J, Hugenholtz P, Allen EE, Ram RJ, Richardson PM, Solovyev VV, Rubin EM, Rokhsar DS, Banfield JF. Community structure and metabolism through reconstruction of microbial genomes from the environment. *Nature*, 2004, 428(6978): 37-43.
- [ 14 ] Venter JC, Remington K, Heidelberg JF, Halpern AL, Rusch D, Eisen JA, Wu D, Paulsen I, Nelson KE, Nelson W, Fouts DE, Levy S, Knap AH, Lomas MW, Nealson K, White O, Peterson J, Hoffman J, Parsons R, Baden-Tillson H, Pfannkoch C, Rogers YH, Smith HO. Environmental genome shotgun sequencing of the Sargasso Sea. *Science*, 2004, 304(5667): 66-74.
- [ 15 ] 王慧, 柏仕杰, 蔡雯蔚, 郑天凌. 海洋病毒-海洋生态系统结构与功能的重要调控者. *微生物学报 (Acta Microbiologica Sinica)*, 2009, 49(5): 551-559.
- [ 16 ] Kimura M, Jia Z, Nakayama N, Asakawa S. Viral ecology in soil: past, present, and future perspectives. *Soil Science and Plant Nutrition*, 2008, 54(1): 1-32.
- [ 17 ] Wommack KR, Colwell RR. Virioplankton: viruses in aquatic ecosystems. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 2000, 64(1): 69-114.
- [ 18 ] Srinivasiah S, Bhavsar J, Thapar K, Liles M, Schoenfeld T, Wommack KE. Phages across the biosphere: contrasts of viruses in soil and aquatic environments. *Research in Microbiology*, 2008, 159(5): 349-357.
- [ 19 ] Ackermann HK. Frequency of morphological phage descriptions in the year 2000. *Archives of Virology*, 2001, 146(5): 843-857.
- [ 20 ] Ackermann HW. Bacteriophage observation and evolution. *Research in Microbiology*, 2003, 154(4): 245-251.
- [ 21 ] Ackermann HW, Krisch HM. A catalogue of T4-type bacteriophages. *Archives of Virology*, 1997, 142(2): 2329-2345.
- [ 22 ] Desplats C, Krisch HM. The diversity and evolution of the T4-type bacteriophages. *Research in Microbiology*, 2003, 154(4): 259-267.
- [ 23 ] Hambly E, Tétart F, Desplats C, Wilson WH, Krisch HM, Mann NH. A conserved genetic module that encodes the major virion components in both the coliphage T4 and the marine cyanophage S-PM2. *Proceeding National Academy of Sciences of United States of American*, 2001, 98(20): 14111-14116.
- [ 24 ] Tétart F, Desplats C, Kutateladze M, Monod C, Ackermann H-W, Krisch HM. Phylogeny of the major head and tail genes of the wide-ranging T4-type bacteriophages. *Journal of Bacteriology*, 2001, 183(1): 358-366.
- [ 25 ] Jia Z, Ishihara R, Nakajima Y, Asakawa S, Kimura M. Molecular characterization of T4-type bacteriophages in a rice field. *Environmental Microbiology*, 2007, 9(4): 1091-1096.
- [ 26 ] Fujii T, Nakayama N, Nishida M, Sekiya H, Kato N, Asakawa S, Kimura M. Novel capsid genes (*g23*) of T4-type bacteriophages in a Japanese paddy field. *Soil Biology and Biochemistry*, 2008, 40(5): 1049-1059.
- [ 27 ] Nakayama N, Asakawa S, Kimura M. Comparison of *g23* gene sequence diversity between *Novosphingobium* and *Sphingomonas* phages and phage communities in the floodwater of a Japanese paddy field. *Soil Biology and Biochemistry*, 2009, 41(2): 179-185.
- [ 28 ] Wang G, Hayashi M, Saito M, Tsuchiya K, Asakawa S, Kimura M. Diversity of major capsid genes (*g23*) of T4-

- type bacteriophages in Japanese paddy field soils. *Soil Biology and Biochemistry*, 2009, 41(1):13-20.
- [29] Watanabe T, Kimura M, Asakawa S. Community structure of methanogenic archaea in paddy field soil under double cropping (rice-wheat). *Soil Biology and Biochemistry*, 2006, 38(6):1264-1274.
- [30] Wang G, Jin J, Asakawa S, Kimura M. Survey of major capsid genes (*g23*) of T4-type bacteriophages in rice fields in Northeast China. *Soil Biology and Biochemistry*, 2009, 41(2):423-427.
- [31] Fierer N, Schimel JP, Holden PA. Variations in microbial community composition through two soil depth profiles. *Soil Biology and Biochemistry*, 2003, 35(1):167-176.
- [32] Wang G, Murase J, Taki K, Ohashi Y, Yoshikawa N, Asakawa S, Kimura M. Changes in major capsid genes (*g23*) of T4-type bacteriophages with soil depth in two Japanese rice fields. *Biology and Fertility of Soils*, 2009, 45(5):521-529.
- [33] Fujihara S, Murase J, Tun CC, Matsuyama T, Ikenaga M, Asakawa S, Kimura M. Low diversity of T4-type bacteriophages in applied rice straw, plant residues and rice roots in Japanese rice soils: estimation from major capsid gene (*g23*) composition. *Soil Science and Plant Nutrition*, 2010, 56(6):800-812.
- [34] López-Bueno A, Tamames J, Velázquez D, Moya A, Quesada A, Alcamí A. High diversity of the viral community from an Antarctic lake. *Science*, 2009, 326(5954):858-861.
- [35] Butina TV, Belykh OI, Maksimenko SY, Belikov SI. Phylogenetic diversity of T4-like bacteriophages in Lake Baikal. *FEMS Microbiology Letter*, 2010, 309(2):122-129.
- [36] Krupović M, Bamford DH. Putative prophages related to lytic tailed marine dsDNA phage PM2 are widespread in the genomes of aquatic bacteria. *BMC Genomics*, 2007, 8:236.
- [37] Paul JH, Sullivan MB. Marine phage genomics: what have we learned? *Current Opinion in Biotechnology*, 2005, 16(3):299-307.
- [38] Wang G, Murase J, Asakawa S, Kimura M. Unique viral capsid assembly protein gene (*g20*) of cyanophages in the floodwater of a Japanese paddy field. *Biology and Fertility of Soils*, 2010, 46(2):93-102.
- [39] Wang G, Murase J, Asakawa S, Kimura M. Novel cyanophage photosynthetic gene *psbA* in the floodwater of a Japanese rice field. *FEMS Microbiology Ecology*, 2009, 70(1):79-86.
- [40] Vos M, Birkett PJ, Birch E, Griffiths RI, Buckling A. Local adaptation of bacteriophages to their bacterial hosts in soil. *Science*, 2009, 325(5942):833.
- [41] Mann NH. The third age of phage. *PLoS Biology*, 2005, 3(5):e182.
- [42] Radajewski S, McDonald IR, Murrell JC. Stable-isotope probing of nucleic acids: a window to the function of uncultured microorganisms. *Current Opinion in Biotechnology*, 2003, 14(3):296-302.

# Genetic diversity of major capsid genes (*g23*) of T4-type bacteriophages in natural environments—A review

Guanghua Wang<sup>1\*</sup>, Junjie Liu<sup>1,2</sup>, Makoto Kimura<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Key Laboratory of Mollisols Agroecology, Northeast Institute of Geography and Agroecology, Chinese Academy of Sciences, Harbin 150081, China

<sup>2</sup>Graduate University of Chinese Academy of Science, Beijing 100049, China

<sup>3</sup>Graduate School of Bioagricultural Sciences, Nagoya University, Furocho, Chikusa, Nagoya 464-8601, Japan

**Abstract:** During the past two decades, the genetic diversities of bacterial and fungal communities and their relationship

Supported by the National Natural Science Foundation of China (41071172) and by the Hundred Talents Program of Chinese Academy of Science

\* Corresponding author. Tel: +86-451-86602745; Fax: +86-451-86603736; E-mail: guanghuawang@hotmail.com, wanggh@neigae.hrb.an.cn

Received: 10 November 2010/Revised: 20 January 2011

with the inhabited environments were intensively studied with the development of molecular biological techniques. However, although bacteriophages are ubiquitous and more abundant than their hosts in biosphere, their diversity is still little known. In this paper, we targeted the major capsid genes (*g23*) of T4-type bacteriophages and reviewed the recent progress on their genetic diversity. The distribution of *g23* of T4-type bacteriophages was distinctly different among natural environments of marines, lakes and paddy fields, and the majority of *g23* were grouped into several novel clusters according to their obtained environments. In addition, several research tips and future research tendencies for the study of environmental *g23* were also addressed.

**Keywords:** phage, T4-type bacteriophage, *g23* gene, virus ecology, paddy field

(本文责编:张晓丽)

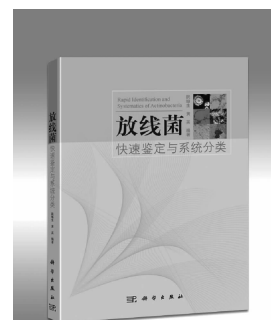
### 科学出版社新书推介

#### 放线菌快速鉴定与系统分类

阮继生 黄英 编著;ISBN: 978-7-03-030536-7;2011 年 4 月出版;定价:85.00

**内容简介:**中国科学院微生物研究所阮继生和黄英研究员以国际放线菌分类学最新研究进展与成果为基础,并根据当前国际学术动态和我们几十年的科研工作经验,着力编写了《放线菌快速鉴定与系统分类》一书。该书受到中国科学院科学出版基金资助,共分 8 章。第 1 章概括介绍了放线菌的基本特点。第 2 章针对用于开发的放线菌热点资源,主要介绍了极端环境放线菌、植物内生放线菌及海洋放线菌的多样性及应用。第 3 章介绍了行之有效的分离方法,特别是从自然界中分离上述三类放线菌资源的方法。第 4 章介绍了国际通用的分类鉴定方法。第 5 章介绍了我们按形态识别属的经验,可在菌种分离早期挑选目的菌株;继之用 DNA 探针快速鉴定至不同属,几天时间就可决定菌种的取舍,经济快捷。第 6 章为放线菌分类研究入门,介绍了按我们多年经验建立的分类流程,使初学者有章可循、少走弯路。第 7 章介绍了放线菌门、放线菌纲、5 个亚纲、9 个目、13 个亚目、54 个科、245 个属的表观特征、化学分类特征及分子分类特征,并附有形态图及典型种的描述。对于物种数量最多的链霉菌属,用我们最近建立的多位点序列分析方法可有效区分该属的不同种,弥补了当前 16S rRNA 基因对链霉菌的种间分辨率明显不足、DNA 指纹图谱方法又难以国际通用的缺点。除链霉菌科外,在拟诺卡氏菌科、链孢囊菌科、小单孢菌科、高温单孢菌科、弗兰克氏菌科、放线多孢菌科及假诺卡氏菌科中也引入了不同作者最新的研究成果。第 8 章介绍了厚壁菌门中高温放线菌的新进展。总之,这是一本内容丰富新颖、理论与实际经验相结合、具有较高学术水平和实用价值的参考书,既有系统分类又有快速鉴定,更有助于放线菌资源的研究与开发。

该书适用于高等院校和科研单位的微生物学、生态学、药理学及相关专业的老师、研究生、本科生及各级科研工作者们参考。



欢迎各界人士邮购科学出版社各类图书

邮购地址:北京东黄城根北街 16 号 科学出版社科学销售中心 邮编:100717

联系人:周文宇

电话:010-64031535

E-mail: zhouwenyu@mail.sciencep.com

网上订购: www.dangdang.com www.amazon.cn

更多精彩图书请登陆网站 www.lifescience.com.cn, 欢迎致电索要书目

E-mail: lifescience@mail.sciencep.com