

学校编码: 10384

分类号_____密级____

学号: 20120051302120

UDC _____

厦 门 大 学

硕 士 学 位 论 文

深海细菌 *Shewanella piezotolerans* WP3 极端环境适应性机理的研究
—脂肪酸系统与深海噬菌体 SW1 在环境适应中的作用和调控

Study of adaptation mechanism of deep sea bacterium *Shewanella piezotolerans*

WP3 to extreme environment—the role and regulation of fatty acid
system and deep sea phage SW1 in various environments

王 峰

指导教师姓名: 肖湘 研究员

专 业 名 称: 生物化学与分子生物学

论文提交日期: 2008 年 4 月 日

论文答辩时间: 2008 年 5 月 日

学位授予日期: 2008 年 6 月 日

答辩委员会主席: 郑天凌

评 阅 人: 陆勇军、宋欣

2008 年 6 月 2 日

厦门大学学位论文原创性声明

兹提交的学位论文，是本人在导师指导下独立完成的研究成果。本人在论文写作中参考的其他个人或集体的研究成果，均在文中以明确方式标明。本人依法享有和承担由此论文而产生的权利和责任。

声明人（签名）：

年 月 日

厦门大学学位论文著作权使用声明

本人完全了解厦门大学有关保留、使用学位论文的规定。厦门大学有权保留并向国家主管部门或其指定机构送交论文的纸质版和电子版，有权将学位论文用于非赢利目的的少量复制并允许论文进入学校图书馆被查阅，有权将学位论文的内容编入有关数据库进行检索，有权将学位论文的标题和摘要汇编出版。保密的学位论文在解密后适用本规定。

本学位论文属于

1、保密（），在_____年解密后适用本授权书。

2、不保密（）

（请在以上相应括号内打“√”）

作者签名：_____ 日期：_____年 月 日

导师签名：_____ 日期：_____年 月 日

目 录

缩略词	I
摘要	1
Abstract	4
第一章 前言	7
1 深海微生物研究的概况	8
2 深海微生物极端环境适应性机理研究进展	10
2.1 深海微生物低温适应性机理的研究	11
2.2 深海微生物高压适应性机理的研究	12
3 脂肪酸系统与环境关系的研究	15
4 丝状噬菌体研究概况	19
4.1 丝状噬菌体的基因结构和功能	19
4.2 丝状噬菌体的生活史	20
4.2.1 丝状噬菌体的感染过程	21
4.2.2 丝状噬菌体 DNA 的复制	21
4.2.3 丝状噬菌体基因的转录和翻译	22
4.2.4 丝状噬菌体的装配	23
4.3 丝状噬菌体诱导机制的研究	25
5 本论文的研究目的和意义	27
第二章 深海细菌 <i>Shewanella piezotolerans</i> WP3 脂肪酸系 统在不同温度和压力下的作用和调控	29
1 材料与方法	29
1.1 材料	29
1.1.1 菌株与质粒	29
1.1.2 引物	29
1.1.3 主要仪器	31
1.1.4 工具软件	31
1.1.5 主要试剂	32
1.1.6 工具酶	32

1.1.7 试剂盒	32
1.1.8 常用溶液、培养基的配制	32
1.2 方法	37
1.2.1 不同条件下的细菌培养	37
1.2.2 细菌总 DNA 的提取	37
1.2.3 WP3 总 RNA 的提取	38
1.2.4 基因组 DNA 的去除及 RNA 的纯化	38
1.2.5 DNA 乙醇沉淀	39
1.2.6 PCR 反应	39
1.2.7 菌落 PCR	40
1.2.8 琼脂糖凝胶上 DNA 片段的回收	40
1.2.9 PCR 产物的回收	41
1.2.10 核酸内切酶酶切反应	41
1.2.11 质粒去磷酸化处理	41
1.2.12 连接反应	41
1.2.13 化学感受态细胞的制备	41
1.2.14 质粒的化学转化	41
1.2.15 质粒提取	42
1.2.16 同源性比对	42
1.2.17 反转录 PCR (RT-PCR)	42
1.2.18 脂肪酸样品的制备与检测	43
1.2.19 缺失突变载体和突变菌株的构建 (双亲杂交)	43
2 结果与分析	47
2.1 希瓦氏菌中与脂肪酸合成相关的基因和途径	47
2.2 WP3 脂肪酸在不同温度和压力下的变化	49
2.3 EPA, 而不是单不饱和脂肪酸是 WP3 低温高压生长所必需的	50
2.3.1 EPA 缺失突变菌株的构建及其脂肪酸成分的分析	50
2.3.2 EPA 对 WP3 低温高压生长的影响	52
2.3.3 浅蓝菌素 (Cerulenin) 处理后 WP3 脂肪酸成分的变化	53
2.3.4 单不饱和脂肪酸含量的降低对 WP3 低温高压生长的影响	53
2.4 EPA 和单不饱和脂肪酸合成的调控	54
2.4.1 脂肪酸相关基因转录水平的分析	54
2.4.2 EPA 合成的调控	55
2.4.2.1 Fis 型转录调控因子 (swp3548) 缺失突变株的构建及其脂肪酸成分的分析	56
2.4.2.2 Fis 突变菌株 EPA 基因转录水平的分析	56
2.4.3 单不饱和脂肪酸合成的调控	58
2.4.3.1 需氧途径在 WP3 单不饱和脂肪酸合成中的作用	58
2.4.3.2 厌氧途径在 WP3 单不饱和脂肪酸合成中的作用	58
2.5 支链脂肪酸的作用和调控	59
2.5.1 支链氨基酸转运系统 (LIV-I) 结构和功能分析	59
2.5.2 LIV-I 突变菌株的构建及其脂肪酸成分的分析	60
2.5.3 支链脂肪酸含量的降低对 WP3 生长的影响	61

2.5.4 同位素示踪实验对 LIV-I 调控作用的验证	62
2.6 LIV-I 系统在希瓦氏细菌中的进化	63
3 讨论	65
4 小结	70
第三章 深海噬菌体 SW1 的分离鉴定及其低温特性的研究	71
1 材料和方法	72
1.1 材料	72
1.1.1 引物序列	72
1.1.2 探针序列	72
1.2 方法	72
1.2.1 丝状噬菌体颗粒的提取	72
1.2.2 质粒形式 (RF) 丝状噬菌体 DNA 的提取	73
1.2.3 单链形式 (SS) 丝状噬菌体 DNA 的提取	73
1.2.4 噬菌体侵染实验	74
1.2.5 噬菌体热稳定性的检测	74
1.2.6 噬菌体宿主范围的检测	74
1.2.7 噬菌体颗粒的透射电镜观察	74
1.2.8 Southern 杂交	75
1.2.9 双向电泳	77
2 结果与分析	81
2.1 SW1 丝状噬菌体基因组结构分析	81
2.2 SW1 丝状噬菌体颗粒的分离及形态的观察	83
2.3 SW1 丝状噬菌体基本性质的测定	83
2.4 SW1 丝状噬菌体宿主范围的检测	86
2.5 SW1 丝状噬菌体低温侵染特性及热稳定性的研究	86
2.6 温度对 SW1 丝状噬菌体表达调控的研究	87
2.7 SW1 丝状噬菌体低温诱导机制的初步研究	90
3 讨论	92
4 小结	95
第四章 总结与展望	96
参考文献	98
附录	106
致谢	

Contents

Abbreviations -----	I
Chinese abstract -----	1
Abstract -----	4
Chapter 1: Introduction -----	7
1 The research process of deep-sea microorganism -----	8
2 The research process of extreme environment adaptive mechanism -----	10
2.1 The research process of low temperature adaptive mechanism -----	11
2.2 The research process of low temperature adaptive mechanism -----	12
3 The relationship between fatty acid system and environment ----	15
4 The research process of filamentous phage -----	19
4.1 The structure and functions of filamentous phage genes -----	20
4.2 The life cycle of filamentous phage -----	20
4.2.1 The infection process of filamentous phage-----	21
4.2.2 The replication of filamentous phage -----	21
4.2.3 The transcription and translation of filamentous phage gene -----	22
4.2.4 The assembly of filamentous phage-----	23
4.3 The inducement mechanism of filamentous phage -----	25
5 Purpose and signification of this thesis -----	27
Chapter 2: The role and regulation of fatty acid biosynthesis in <i>Shewanella piezotolerans</i> WP3 response to different temperatures and pressures -----	29
1 Material and Methods -----	29
1.1 Material -----	29
1.1.1 Strains and plasmids -----	29
1.1.2 Primer -----	29
1.1.3 Instruments -----	31

1.1.4 Softwares -----	31
1.1.5 Reagents -----	32
1.1.6 Enzymes -----	32
1.1.7 Kits -----	32
1.1.8 Medium and solutions-----	32
1.2 Methods -----	37
1.2.1 Cell culture -----	37
1.2.2 Isolation of total DNA -----	37
1.2.3 Isolation of total RNA -----	38
1.2.4 Purification of RNA -----	38
1.2.5 Ethanol precipitation of DNA-----	39
1.2.6 Polymerase chain reaction (PCR) -----	39
1.2.7 Colony PCR -----	40
1.2.8 Reclaim DNA from agarose gel -----	40
1.2.9 Recovery of PCR product -----	41
1.2.10 Endorestriction reaction -----	41
1.2.11 Dephosphorylation of plasmid DNA -----	41
1.2.12 Ligation reaction -----	41
1.2.13 Chemical method for preparation of competent cell-----	41
1.2.14 Method of chemical transformation -----	41
1.2.15 Extraction of plasmid -----	42
1.2.16 BLAST -----	42
1.2.17 Reverse transcription PCR (RT—PCR)-----	42
1.2.18 Preparation of fatty acid sample-----	43
1.2.19 Construction of deletion mutant-----	43
2 Results and analysis -----	47
2.1 Fatty acid synthesis genes and pathways in <i>Shewanella</i>-----	47
2.2 Fatty acid profiles of WP3 at different temperatures and pressures-----	49
2.3 EPA, but not MUFA is required for growth of WP3 at low temperature and high pressure -----	50
2.3.1 Construction of EPA deficient mutant and its fatty acid profile analysis -----	50
2.3.2 The influence of EPA in WP3 low-temperature and high-pressure growth ability -----	52
2.3.3 The changes of WP3 fatty acid profiles after treated with Cerulenin	53
2.3.4 The influence of MUFA in WP3 low-temperature and high-pressure growth ability -----	53
2.4 The regulation of EPA and MUFA synthesis -----	54
2.4.1 The transcription analysis of fatty acid related genes -----	54
2.4.2 The regulation of EPA synthesis -----	55
2.4.2.1 The construction of Fis type transcription regulator deletion mutant and its fatty acid profile analysis -----	56
2.4.2.2 The transcription analysis of EPA genes in Fis mutant -----	56

2.4.3 The regulation of MUFA synthesis -----	58
2.4.3.1 The role of aerobic pathway in MUFA synthesis -----	58
2.4.3.2 The role of anaerobic pathway in MUFA synthesis -----	58
2.5 The role and regulation of BCFA -----	59
2.5.1 The organization and function of LIV-I system-----	59
2.5.2 Construction of LIV-I deletion mutant and its fatty acid profile analysis -----	60
2.5.3 The influence of BCFA in WP3 low-temperature and high-pressure growth ability-----	61
2.5.4 Investigated the LIV-I regulational role by isotopic tracer method --	62
2.6 The evolution of LIV-I in <i>Shewanella</i>-----	63
3 Discussions -----	65
4 Brief summaries -----	70
Chapter 3 Isolation and identification of a novel filamentous phage from a deep-sea bacterium WP3 -----	71
1 Material and Methods-----	72
1.1 Material -----	72
1.1.1 Primers -----	72
1.1.2 Probes -----	72
1.2 Methods -----	72
1.2.1 Extraction of phage particle -----	72
1.2.2 Extraction of RF DNA -----	73
1.2.3 Extraction of ssDNA -----	73
1.2.4 The infection experiment -----	74
1.2.5 SW1 phage temperature stability assay -----	74
1.2.6 Host range assay -----	74
1.2.7 Scanning of the phage particle by TEM -----	74
1.2.8 Southern blot -----	75
1.2.9 Two-dimensional electrophoresis-----	77
2 Results and analysis -----	81
2.1 The genomic organization of SW1 -----	81
2.2 Isolation and scanning of SW1 particle-----	83
2.3 Characterization of SW1 phage-----	83
2.4 Host range test of SW1 phage -----	86
2.5 Study of SW1 low-temperature infection and its temperature stability -----	86
2.6 Study on the regulation of SW1 production by temperature -----	87
2.7 Study of the mechanism of low-temperature inducement -----	90
3 Discussions -----	92

4 Brief summaries -----	95
Chapter 4 Conclusions and prospects -----	96
Reference -----	98
Appendix -----	106
Acknowledgement	

厦门大学博硕士论文摘要库

缩写词表

2-ME	β -mercaptoethanol β -巯基乙醇
APS	ammonium persulfate 过硫酸铵
BSA	bovine albumin serum 牛血清白蛋白
DDW	double distilled water 双蒸水
DEPC	diethylpyrocarbonate 焦碳酸二乙脂
DMSO	dimethyl sulfoxide 二甲亚砜
DMF	N, N-dimethylformamide N, N-二甲基甲酰胺
DNA	deoxyribonucleic acid 脱氧核糖核酸
dNTP	deoxyribonucleoside triphosphate 脱氧核苷三磷酸
DTT	dithiothreitol 二硫苏糖醇
<i>E.coli</i>	<i>Escherichia coli</i> 大肠杆菌
EDTA	ethylene diamine tetraacetic acid 乙二胺四乙酸
IPTG	isopropylthio-D-galactoside 异丙基--D-半乳糖苷
LB	Luria Borth medium 肉汤培养基
OD	optical density 光密度
PAGE	polyacrylamide gel electrophoresis 聚丙烯酰胺凝胶电泳
PCR	polymerase chain reaction 聚合酶链式反应
BCFA	branched chain fatty acid 支链脂肪酸
MUFA	monounsaturated fatty acid 单不饱和脂肪酸
PUFA	polyunsaturated fatty acid 多不饱和脂肪酸
PNP	p-Nitrophenyl 对硝基苯基
RNA	ribonucleic acid 核糖核酸
SDS	sodium dodecyl sulfate 十二烷基磺酸钠
TAE	Tris/acetate electrophoresis buffer Tris/醋酸电泳缓冲液
TE Tris/EDTA	Tris/EDTA 缓冲盐溶液

摘 要

深海是一个特殊的生态环境,这里有着永久的低温、高压和黑暗。生活在这些环境下的极端微生物必然有特殊的生理代谢途径来适应这种极端环境。对深海微生物的研究不仅有助于了解生命的起源,而且可以了解各种极端微生物的生活特性,有助于对深海微生物资源的开发利用。极端条件下的生命和生态现象研究将可能揭示生命适应逆境、演化自身的能力,为人类健康开辟新的途径。

本文所研究的深海细菌分离自西太平洋 1914 米的深海沉积物中。菌种鉴定为 *Shewanella piezotolerans* WP3,它既是耐压菌,又是低温菌,现在已经完成其全基因组序列的测定,是研究极端微生物适应极端环境的理想材料。本文用 WP3 作为实验材料,通过模拟深海低温高压极端生存条件,并结合各种分子生物学手段,对脂肪酸系统在深海极端环境中的作用,及其表达和调控进行了全面地分析,使我们对极端微生物的极端环境适应性机理有了更为深入的了解。此外,我们成功的从 WP3 中分离出了世界上第一株深海丝状噬菌体 SW1,这也是由希瓦氏细菌中分离出来的第一株丝状噬菌体,在对它的性质进行研究时,我们发现了它与深海低温环境相关的一系列低温性质,这为研究深海噬菌体在深海环境中的作用奠定了一定的基础。

希瓦氏细菌广泛的分布在各种环境中,它们能够合成多种低熔点脂肪酸,是研究脂肪酸系统与细胞环境适应性关系的理想材料。通过对 15 株已完成全基因组测序的希瓦氏细菌的基因组序列进行比较后,我们构建出了希瓦氏细菌的 II 型脂肪酸合成途径和 EPA 合成途径。此外还发现所有的希瓦氏细菌都包含了完整的 EPA 合成基因簇,但是只有其中少数的希瓦氏细菌被报道能够合成 EPA。我们选用 *Shewanella piezotolerans* WP3 为模型,对脂肪酸系统在希瓦氏细菌中的作用和调控进行了更为全面和深入的研究。通过 GC-MS 对 WP3 脂肪酸成分进行的分析显示,WP3 能够合成支链脂肪酸,单不饱和脂肪酸和多不饱和脂肪酸 EPA 三种低熔点脂肪酸。随着培养温度的降低和压力的升高,其中的支链脂肪酸和多不饱和脂肪酸含量都出现了明显增加。与其它绝大多数细菌的情况不一样,单不饱和脂肪酸在低温高压环境中的含量不但没有增加,反而出现了一定程度上的下降。随后通过一系列的基因敲除实验,以及浅蓝菌素 (Cerulein) 抑制单不饱和脂肪酸

合成的实验,我们证明多不饱和脂肪酸 EPA 的缺失能够抑制 WP3 在低温和高压下的生长,支链脂肪酸的减少也会降低 WP3 在低温下的生长能力,但是单不饱和脂肪酸含量的大量降低却对 WP3 的低温高压生长并没有造成影响,这证明了支链脂肪酸和多不饱和脂肪酸是 WP3 低温高压生长所必需的,而单不饱和脂肪酸是非必需的。

利用已构建好的 WP3 全基因组基因芯片进行芯片杂交实验,用以分析 WP3 在不同温度(4°C 和 20°C)和压力(0.1Mpa 和 20Mpa)条件下基因的表达差异变化。发现在低温条件下,支链氨基酸转运系统的所有基因都呈现出上调趋势,并用实时荧光定量 PCR 方法对芯片结果进行了验证。随后,利用 DNA 同源重组的方法对支链氨基酸转运系统中唯一的底物结合蛋白(swp3487)进行了缺失突变,与 WP3 野生菌株支链脂肪酸含量在低温和高压条件下大量增加不同,所得到的突变子 WP3^{ΔLIV-1}在不同温度和压力下支链脂肪酸含量变化很小,显示了支链氨基酸转运系统对 WP3 支链脂肪酸的含量具有重要的调节能力。随后,通过在野生菌株和突变菌株的培养基中添加 ¹³C 标记的外源亮氨酸,我们进一步证明了低温下支链脂肪酸含量的增加主要是由于支链氨基酸转运系统在低温下为支链脂肪酸的合成转运了更多的外源底物所致。

通过对 WP3 全基因组序列进行分析,我们发现其中可能包含了一株具有活性的丝状噬菌体,并将其命名为 SW1。SW1 基因组 DNA 长 7718bp,包含了 9 个开放性阅读框(ORF),其中绝大部分 ORF 都与已知的一些丝状噬菌体基因显示出了最大的同源性。通过双向电泳(2D-PAGE),我们发现噬菌体中的单链 DNA 结合蛋白在 4°C 下呈现出高表达。考虑到单链 DNA 结合蛋白决定了噬菌体组装的起始,因此我们判断大量成熟的 SW1 噬菌体在 4°C 被诱导合成,根据这一线索我们成功地在 4°C 条件下分离出了具有活性的 SW1 噬菌体颗粒。随后,利用希瓦氏菌属四个菌株(*Shewanella oneidensis*, *Shewanella marinaci*, *Shewanella violacea* 和 *Shewanella sp.* WP2)加上大肠杆菌共 5 株菌来作为测试菌,检测 SW1 噬菌体的宿主范围。最后发现,只有与 WP3 从同一地点分离出来的 WP2 能够被 SW1 侵染并形成噬菌斑。而且,只有当培养温度低于或等于 15°C 时才能观察到噬菌斑的形成。随后的实验证明,当温度高于 15°C 时噬菌体能够正常侵染 WP2,但是只有当温度下降到 15°C 或以下时,噬菌体才在 WP2 中大量合成并最终导致噬菌

斑的产生,这暗示了噬菌体可能存在低温诱导特性。对 SW1 的热稳定性分析发现,70°C 处理 10 分钟就能让 SW1 噬菌体完全失活,比一般丝状噬菌体的最高耐受温度足足低了 10°C,这也再一次显示了 SW1 的低温特性。利用实时荧光定量 PCR 方法对噬菌体主要基因在 4°C 和 20°C 下的转录水平进行了分析,发现在 4°C 下这些主要基因,包括噬菌体自身抑制子基因 *orf116* 都出现了 3-12 倍不同程度的高表达。随后的噬菌体滴度实验进一步发现,只有当培养温度低于或等于 15°C 时才能分离出具有活性的 SW1 噬菌体颗粒,并且随着温度的降低噬菌体的滴度不断增加。这进一步证明了低温能够诱导 SW1 噬菌体的合成和释放。

在对 SW1 噬菌体低温诱导机制进行的初步研究中发现,利用紫外线 (UV) 和丝裂霉素 C 这些能够引起细胞 SOS 反应的因素处理 WP3,同样能够诱导 SW1 的大量表达。这说明与其它噬菌体一样,SW1 的合成也受到 SOS 途径的调控。但是,与低温诱导现象不同的是噬菌体的自身抑制子基因 *orf116* 在受到紫外线和丝裂霉素 C 处理后的表达量并没有出现增高,这说明低温诱导机制与 SOS 诱导机制并不完全一样,很可能在 WP3 中还存在着一条有别于 SOS 途径的噬菌体诱导途径。

关键词: *Shewanella piezotolerans* WP3 脂肪酸 支链氨基酸转运系统
丝状噬菌体 SOS 反应

Abstract

Deep-sea is a special ecosystem for its permanent coldness, high pressure and darkness. The study towards the deep-sea microbes will be helpful to the understanding of the origin of life, the character of biodiversity and to the exploitation of microbial resources in deep sea. The metabolic and ecological study of life on extreme conditions will give some insights on evolution and adaptation mechanism of extremophiles in response to stress conditions and will pave a new way for the development of anti-stress agricultural and animal husbandry products and for health of human beings.

The deep sea bacteria used in this study was isolated from deep-sea sediments of 1914m depth in west Pacific. The phylogenetic analysis and molecular study shows that the bacterium is a psychrophilic and piezotolerant microbe with the term as *Shewanella piezotolerans* WP3, which will be an ideal material to study the adaptation mechanism of extremophiles to the extreme environments. The aim of this study is to investigate the role and regulation of fatty acid system in *Shewanella* response to different growth conditions. Additionally, we have isolated and identified a novel filamentous phage SW1 from WP3, which is the first filamentous phage isolated from *Shewanella* genus. Furthermore, we have found this phage can be induced by low temperature and some other low temperature related characters, which will give the basis for investigating the role of phage in deep-sea environment.

Shewanella inhabits in various environments and it is the most microbes isolated from deep sea. The *Shewanella* genus is capable of synthesis various types of low melting fatty acids, so it is the ideal material for investigating the role and regulation of fatty acid system in adaptation of deep-sea environment. The genome sequences of 15 *Shewanella* strains were searched and compared for genes involved in fatty acid synthesis. All genes supposed to be involved in typical type II fatty acid biosynthesis pathway could be easily identified from the genomes and the type II fatty acid biosynthesis pathway of *Shewanella* genus was constructed. Complete EPA synthesis

gene cluster was found in all of the *Shewanella* genomes although only few of them were found to produce EPA. The roles and regulation of fatty acids synthesis in *Shewanella* was further elucidated in *Shewanella piezotolerans* WP3 response to different temperatures and pressures. WP3 increased significantly the contents of EPA and BCFA when grown under low temperature and /or high pressure. EPA, but not MUFA was determined to be crucial for its growth at low temperature and high pressure.

The microarray of WP3 was used to do the transcriptome analysis of WP3 in response to different growth temperatures (4°C and 20°C) and pressures (0.1Mpa and 20Mpa). Among the genes involved in the fatty acid synthesis, only a gene cluster for branched chain amino acid ABC transporter (swp3487-3492, LIV-I) was up regulated by low temperature. Quantitative RT-PCR clearly verified the induction of these transporter genes by low temperature. To determine if this gene cluster is responsible for the BCFA increment at low temperature, mutations were constructed on orfswp3487, which encodes the only putative substrate-binding protein of this ABC transporter as described in the materials and methods. The LIV-I deficient mutant was named WP3^{ΔLIV}. The fatty acid profiles of WP3^{ΔLIV} grown under different conditions were characterized. Interestingly, its fatty acid profile was very similar with that of the wild type strain when they grown at 20°C and 0.1Mpa. However, the mutant strain WP3^{ΔLIV} almost lost the low-temperature and high-pressure dependent BCFA regulation ability. By using the isotopic tracer method, we further verified that the regulation of BCFA synthesis is controlled by the transporter efficiency.

Genome sequencing of the deep-sea bacterium *Shewanella piezotolerans* WP3 suggests that it may harbor a functional filamentous phage (named as SW1). SW1 has 7718 nucleotides, contains 9 open reading frames (ORFs) encoding putative proteins which are homologous to that of previously known filamentous phages. Interestingly, a putative ssDNA binding protein (ORF104) of the phage, which is determinant protein for phage particle assembly, was found over-expressed at 4°C versus 25°C by two-dimensional polyacrylamide gel electrophoresis (2D-PAGE). According to this clue, the active phage particles were isolated from WP3; it has a single-stranded DNA

Degree papers are in the "[Xiamen University Electronic Theses and Dissertations Database](#)". Full texts are available in the following ways:

1. If your library is a CALIS member libraries, please log on <http://etd.calis.edu.cn/> and submit requests online, or consult the interlibrary loan department in your library.
2. For users of non-CALIS member libraries, please mail to etd@xmu.edu.cn for delivery details.

厦门大学博硕士论文摘要库