

doi: 10.3969/j.issn.0490-6756.2018.06.033

短小芽孢杆菌 BA06 的比较基因组分析

刘云山, 田应明, 李 校

(四川大学生命科学学院 四川省分子生物与生物技术重点实验室, 成都 610065)

摘要: 将短小芽孢杆菌 BA06 与其他 18 个短小芽孢杆菌菌株进行全基因组比较, 鉴定出 BA06 基因组中有包括抗性岛、毒力岛、共生岛在内的 12 个基因组岛或噬菌体序列. 基因家族分析鉴定出 BA06 有 3 个特异性基因家族, 9 个基因家族发生扩张, 3 个基因家族有所收缩. 表明 BA06 在短小芽孢杆菌这一菌种中具有突出的抗药性与运动能力, 并具有除皮革脱毛外更多的生物学特性.

关键词: 短小芽孢杆菌; 比较基因组学; 基因组岛; 基因家族

中图分类号: Q814 **文献标识码:** A **文章编号:** 0490-6756(2018)06-1324-07

Comparative genome analysis of *Bacillus pumilus* BA06

LIU Yun-Shan, TIAN Ying-Ming, LI Xiao

(Sichuan Key Laboratory of Molecular Biology and Biotechnology, College of Life Sciences,
Sichuan University, Chengdu 610065, China)

Abstract: Compared whole genome of BA06 with other 18 *B. pumilus* strains and 12 Genomic islands or prophages were identified, including resistance island, pathogenicity island and symbiotic island. Gene family analysis indicated that BA06 has 3 peculiar gene families, 9 expansive gene families and 3 contractive gene families. Above all of these revealed that BA06 has outstanding drug resistance and moving ability in *B. pumilus* genus. BA06 possibly has more biological characteristics except dehairing activity.

Keywords: *Bacillus pumilus*; Comparative genomic methods; Genomic island; Gene family

1 引言

短小芽孢杆菌(*Bacillus pumilus*)属于芽孢杆菌属, 菌体为杆状, 是一种好氧的革兰氏阳性菌, 能运动. 菌落形态有半透明状和不透明状两种^[1]. 和其他的芽孢杆菌一样, 短小芽孢杆菌产生的孢子通常比营养细胞更能抵抗高温, 缺水, 紫外线, H₂O₂, 和饥饿等逆境^[2].

短小芽孢杆菌能够分泌活性很强的蛋白酶, 纤维素酶、脂肪酶^[3]、木聚糖酶^[4]和果胶裂解酶^[5]等, 有利于降解大分子物质. 曹小红^[6]等发现短小芽孢

杆菌产生的脂肽具有抗菌能力. 姬杨^[7]等报道了短小芽孢杆菌可以生产表面活性素, 有降低表面张力, 抑制细菌、病毒、支原体生长, 有助于原油的生物降解和去除有机污染物和重金属离子等特性^[8]. MS Akhtar^[9]等报道了对鹰嘴豆根部接种短小芽孢杆菌有助于抑制线虫的繁殖以防治根腐病. 因此, 短小芽孢杆菌在环境治理, 工业, 农业, 医学等领域都有广阔的应用前景^[10]. 本实验室之前从成都生活垃圾中分离了一株短小芽孢杆菌 BA06, 该菌株能够分泌碱性蛋白酶, 在皮革工业中利用该蛋白酶进行酶法脱毛效果很好, 对解决皮革的环境污

收稿日期: 2018-01-19

基金项目: 国家自然科学基金(31171204)

作者简介: 刘云山(1993-), 男, 四川乐山人, 硕士研究生, 研究方向为生物信息学. E-mail: geeklys@gmail.com

通讯作者: 李校. E-mail: lix@scu.edu.cn

染问题有着重要的意义^[11]。

随着测序技术的迅速发展,越来越多的微生物完成了全基因组测序,这些数据可以给微生物基因组分析带来极大的便利.利用比较基因组学可以推动例如微生物遗传学、系统进化以及致病性、抗微生物、药物耐药性等研究^[12].BA06 全基因组也已经完成测序^[13],桂俊鸿^[14]等就通过比较基因组预测了短小芽孢杆菌的转录调控网络.后来又有越来越多的短小芽孢杆菌基因组被发表,随之发现了菌株间不同的特性,例如抗逆性、致病性、共生性等^[15-17].然而 BA06 菌株除了分泌碱性蛋白酶这一

功能外其他特性研究还极少.因此,通过其他短小芽孢杆菌基因组数据,使用比较基因组的方法可以帮助发现短小芽孢杆菌新的特性与生物学功能,从而进一步发掘 BA06 菌株的应用价值.

2 材料与方法

2.1 材料

从 NCBI 的 Assembly 数据库中下载了 19 个基因组序列已被全测序的短小芽孢杆菌的基因组与蛋白质数据,数据来源见表 1.

表 1 用于比较分析的 19 个短小芽孢杆菌基因组数据来源

Tab. 1 Proposed species names and data sources for 19 *Bacillus pumilus* strains used for comparative analysis

NCBI 登录名	菌株名	更新日期	数据入口
ASM1788v4	SAFR-032	2016/2/5	GCA_000017885.4
ASM59045v1	MTCC B6033	2014/3/12	GCA_000590455.1
ASM97268v1	W3	2015/4/16	GCA_000972685.1
ASM119160v1	GR-8	2015/8/3	GCA_001191605.1
ASM22593v1	S-1	2011/9/15	GCA_000225935.1
ASM82837v1	B4129	2015/1/26	GCA_000828375.1
ASM82839v1	B4107	2015/1/26	GCA_000828395.1
ASM82842v1	B4134	2015/1/26	GCA_000828425.1
ASM82845v1	B4133	2015/1/26	GCA_000828455.1
ASM118352v1	RI06-95	2015/7/20	GCA_001183525.1
ASM17281v1	ATCC 7061	2008/7/9	GCA_000172815.1
BA06 V1.0	BA06	2012/9/27	GCA_000299555.1
<i>B. pumilus</i>	CCMA-560	2013/8/7	GCA_000444805.1
INR7_01	INR7	2013/12/15	GCA_000508145.1
<i>B. pum.</i> Fairview1.0	Fairview	2014/3/28	GCA_000604385.1
ASM69148v2	7P	2016/1/28	GCA_000691485.2
ASM71449v2	3-19	2015/2/26	GCA_000714495.2
BpV2.0	15.1	2015/6/1	GCA_001017485.1
ASM82834v1	B4127	2015/6/23	GCA_000828345.1

2.2 方法

2.2.1 各菌株的比较基因组分析 使用 Perl 等脚本统计 19 个短小芽孢杆菌菌株的基因组信息.以 BA06 菌株为参考基因组,使用 BRIG^[18] 对 19 个菌株的基因组进行比较并进行可视化,结合 Islandviewer4^[19] 和 GIPSY^[20] 软件可以鉴定出 BA06 菌株的特异性片段,即基因组岛(Genomic islands, GEIs).使用 Mauve^[21] 软件对各菌株进行共线性分析.

2.2.2 COG(Cluster of orthologous group)注释直系同源基因家族 使用 NCBI 中 COG 数据库的 cognitor 软件对 19 个菌株的全部蛋白序列进行本

地化 COG 注释,确定每个蛋白所属的 COG cluster,即直系同源基因家族.

2.2.3 短小芽孢杆菌系统发育树建立 先从 COG 直系同源注释结果中挑选 19 个菌株共有的直系同源家族(COG cluster).然后挑选共有直系同源家族中的单拷贝基因,将这些单拷贝直系同源基因连接成 assuming homogeneous gene.然后用 Muscle 软件进行全局比对,使用最大似然模型(Maximum-likelihood, ML)用 RAxML^[22] 软件进行建树.

2.2.4 BA06 特异直系同源家族功能分析 分析 BA06 菌株相对于其他 18 个菌株特异性的基因家

族,扩张与收缩的基因家族,并对关键的基因家族进行 GO 注释,分析 BA06 特异和潜在的生物学特性与功能。

3 结果

3.1 19 个短小芽孢杆菌基因组比较分析

首先统计了 19 个短小芽孢杆菌菌株的基因组基本信息,见表 2。这些菌株平均基因组大小为 3.7M,平均有 3,678 个编码序列(CDS),编码序列总长度平均为 3,255,621bp,占基因组全长 87.44%,基因间区(IGR)平均比例为 12.56%。

通过基因组比对鉴定出 BA06 上有 12 个基因组岛或噬菌体序列(GI1-GI12),如图 1A 所示。这些区域共有约 133kb,GC 含量为 36.43%,低于菌株总体 GC 含量(41.34%)。其中 PHAST 软件鉴定出 GI10 为噬菌体序列(prophage),大小为 62.8 kb,包含 57 个蛋白,其中 37 个蛋白可以在噬菌体蛋白数据库中找到注释信息(图 1B)。

GIPSy 软件鉴定出基因岛 GI2 有很强的抗性岛(Resistance Island,RI)特性。GI2 包含 7 个蛋白编码基因,其中基因 *marA* 编码多重抗生素抗性转录因子。并且 GI2 还有较强的共生岛(Symbiotic Island)特性,其中有个与运输相关的预测蛋白 WP_017366498.1 可以在共生岛蛋白数据库中被比到。

GI5 也被鉴定出有抗性岛特征,GI5 区域有 11 个蛋白,其中有一个氯霉素乙酰转移酶(Chloramphenicol acetyltransferase)蛋白和一个大环内酯类 2'-磷酸转移酶(macrolide 2'-phosphotransferase)蛋白被鉴定出有抗生素抗性功能。

GI4 和 GI9 被鉴定出有毒力岛(Pathogenicity Island,PAI)特征。GI4 区域中有 6 个蛋白编码基因,其中三个蛋白编码基因能在毒力蛋白数据库中找到比对,2 个为预测蛋白,1 个是改性甲基化酶 Hae III (Modification methylase Hae III)。GI9 区域中有 7 个蛋白编码基因,其中 *hsdS* 和 *hsdM* 基因分别编码 I 型限制酶 *EcoK* I (Type-I restriction enzyme *EcoK* I) 的 S 和 M 亚基。这两个基因能在毒力蛋白数据库中找到比对。

其他的基因组岛上大多数都是预测蛋白或者一些酶和调控因子,但是 GI3 上有抗毒素 *RnlB* 基因,可能与抗性相关;GI11 上有类噬菌体蛋白 *XkdW* (Phage-like element PBSX protein *XkdW*),此基因组岛可能也和噬菌体侵染所导致的水平基因转移相关。

以无 gap 的 SAFR032 菌株作为参考序列与 BA06 进行共线性分析,可以看到两个菌株共线性区域基本一致(图 2),说明两个菌株基因组较为保守。同样在全部 19 个菌株的共线性分析中也可以看出除菌株 7P 外,其它菌株共线性区域均较为一致,说明短小芽孢杆菌各菌株间在染色体结构上基本都是较为保守的。

3.2 19 个短小芽孢杆菌系统发育分析

由于 19 个菌株都属于短小芽孢杆菌属,其 16S rRNA 序列都极为相似,用 16S rRNA 建树效果并不能很好的反映出菌株间差异^[23](图 3A)。通过 2210 个单拷贝直系同源基因建立的系统发育树如图 3B 所示,可以将 19 个菌株分为三个大的类型。可以看到菌株 3-19 与 7P 最为接近,查阅 NCBI 中菌株信息得知 3-19 是 7P 通过化学诱变得到的菌株。与 BA06 最为接近的菌株有 S1, W3, GR-8, 查阅 NCBI 中基因组信息得知这四个菌株都是在

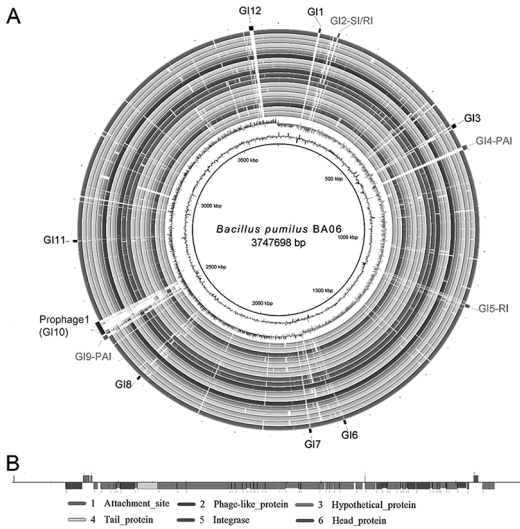


图 1 BA06 与其他 18 个短小芽孢杆菌全基因组比较图

A. 从内到外依次为基因组坐标,GC 含量,GC 偏移,短小芽孢杆菌 3-19、7P、15.1、ATCC7061、B4107、B4127、B4129、B4133、B4134、MTCC B6033、CCMA-560、Fairview、GR-8、INR7、RI06-95、S-1、SAFR-032、W3 中的同源基因。最外为 BA06 的基因组岛或噬菌体序列。B. 噬菌体序列(Prophage1/GI10)的基因结构

Fig. 1 Whole genome map of *B. pumilus* BA06 compared with other 18 strains

A. From the inner to outer circles; GC content plot, GC skew plot, orthologous genes found in *Bacillus pumilus* 3-19, 7P, 15.1, ATCC 7061, B4107, B4127, B4129, B4133, B4134, MTCC B6033, CCMA-560, Fairview, GR-8, INR7, RI06-95, S-1, SAFR-032, W3. Genomic island or phage-like regions in BA06 are indicated on the outermost circle. B. Structure of phage-like region (Prophage1/GI10)

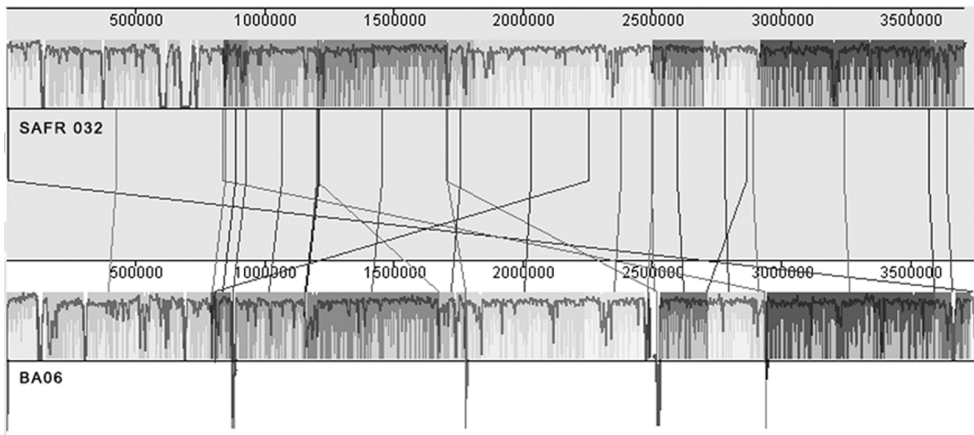


图 2 菌株 SAFR-032 与 BA06 的基因组共线性分析
Fig. 2 Genome synteny analysis of strains SAFR-032 and BA06

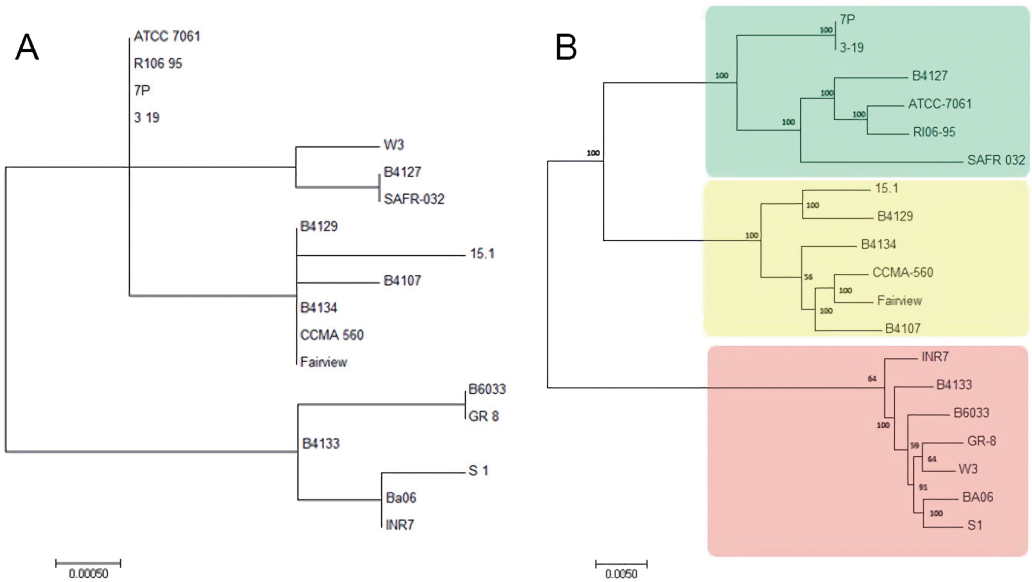


图 3 19 个短小芽孢杆菌系统发育树
A. 由 16S rRNA 序列建立的最大似然树; B. 由 2210 个单拷贝直系同源蛋白序列连接起来所建立的最大似然树
Fig. 3 Phylogenetic analysis of 19 *Bacillus pumilus* strains
A. A 16S rRNA gene-based maximum-likelihood tree
B. Maximum-likelihood tree based on the concatenated amino acid sequences of 2210 single copy COG proteins

国所分离出来的,其他差别较大的菌株则来自其他国家.由此可见,建立的系统发育树是较为准确的,并且可以推测短小芽孢杆菌的系统发育可能和地理位置有所关联.

3.3 19 个短小芽孢杆菌 COG 家族鉴定结果

19 个短小芽孢杆菌菌株的 COG 注释情况见表 2.基因组编码蛋白数量平均有 3640 个,能在 COG 数据库中找到注释信息的平均有 2954 个,占全部蛋白的 81.16%,平均每个菌株有 1716 个 COG 基因家族(COG cluster).其中有 1542 个直系同源基因家族是 19 个菌株所共有的,因此可以认为这 1542 个基因家族是短小芽孢杆菌的核心基

因家族.

3.4 直系同源基因家族功能分析

19 个菌株中的直系同源蛋白可以按 COG 的功能分类方法分成 23 类,每个菌株的基因在各项功能的分布规律上较为一致,平均每个菌株在各个功能分类中的蛋白数量如图 4 所示.除了未知功能(S)与一般的预测功能(R)外,短小芽孢杆菌在氨基酸代谢运输(E)、转录(K)、糖代谢与运输(G)这三大类功能中的直系同源蛋白数量要显著高于其他功能中的直系同源蛋白数量,这在一定程度上反应了短小芽孢杆菌具有较强的分解、转化与分泌物质的能力.

表 2 19 个短小芽孢杆菌 COG 注释信息

Tab. 2 COG annotation information of 19 *Bacillus pumilus* strains

菌株名	基因组大小(bp)	编码序列(CDS)总长(bp)	比例(%)	编码蛋白数量	COG 直系同源蛋白数量	比例(%)	基因家族数量
3. 19	3,572,739	3,163,368	88.54	3432	2835	82.60	1684
7P	3,582,806	3,169,225	88.46	3461	2871	82.95	1695
15. 1	3,795,691	3,341,498	88.03	3762	3029	80.52	1723
ATCC 7061	3,833,998	3,372,707	87.97	3707	2937	79.23	1701
B4107	3,650,234	3,220,646	88.23	3574	2940	82.26	1714
B4127	3,887,138	3,417,955	87.93	3842	2976	77.46	1735
B4129	3,671,348	3,249,777	88.52	3622	2941	81.20	1707
B4133	3,719,496	3,278,182	88.14	3644	2978	81.72	1729
B4134	3,681,784	3,253,998	88.38	3606	2954	81.92	1711
MTCC B6033	3,763,493	3,291,136	87.45	3655	2981	81.56	1719
BA06	3,747,698	3,287,342	87.72	3670	2990	81.47	1729
CMAA-560	3,844,811	3,384,253	88.02	3815	2989	78.35	1726
Fairview	3,826,487	3,384,440	88.45	3720	3048	81.94	1737
GR-8	3,681,784	3,215,733	87.34	3607	2944	81.62	1716
INR7	3,681,709	3,243,869	88.11	3627	2954	81.44	1732
R106-95	3,643,624	3,219,326	88.36	3554	2922	82.22	1699
S1	3,692,856	3,259,321	88.26	3627	2952	81.39	1722
SAFR_032	3,704,465	3,216,327	86.82	3540	2894	81.75	1698
W3	3,745,123	3,277,148	87.50	3690	2991	81.06	1725
平均值	3,722,489	3,276,118	88.01	3640	2954	81.16	1716

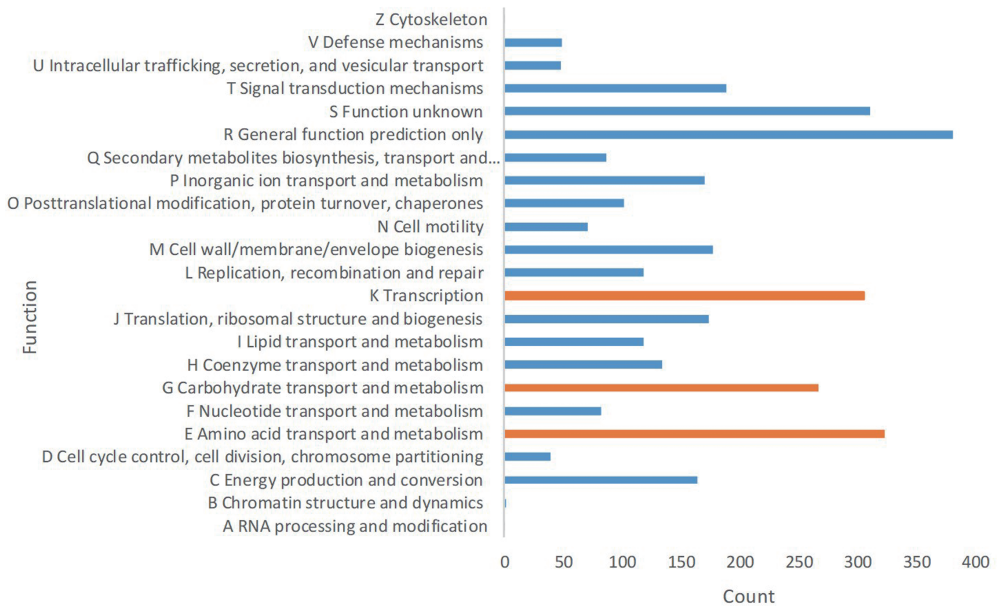


图 4 19 个短小芽孢杆菌直系同源蛋白功能分类
Fig. 4 COG function classes of proteins of 19 *Bacillus pumilus* strains

3.5 BA06 菌株特异性基因家族分析

较之其他 18 个菌株,BA06 有 3 个独有的基因家族 COG4278、COG4637、COG4938,但是编码的蛋白均为预测蛋白,具体功能尚不明确。

统计得出 BA06 菌株有 9 个基因家族发生了扩张,即包含的基因数量显著大于其他菌株。在 9

个扩张的基因家族中包含 86 个基因,这些基因的 GO 功能注释分析如图 5 所示。可以看出大多数基因都和转录调控有关;其次是 COG1344 中有 6 个鞭毛相关蛋白,和运动相关;然后有 4 个蛋白和跨膜运输相关;其他扩张的基因家族大多数是一般的酶类。发生扩张的 COG0596 家族有 11 个酶,大多

数为 α/β 水解酶、蛋白酶和脂肪酶,并且其中一个 α/β 水解酶位于基因组岛 GI2 上,可能与抗性相关.同样发生扩张的 COG2211 家族有 13 个基因,其中 4 个是 MFS 超家族转运蛋白,并且有一个基因

EmrY 编码多重抗药性蛋白 EmrY.此外 BA06 菌株有 3 个基因家族包含的基因数量小于其他菌株,其中 COG2271 家族与碳代谢有关,COG1028 家族主要为脱氢酶,COG1020 主要和转运、代谢相关.

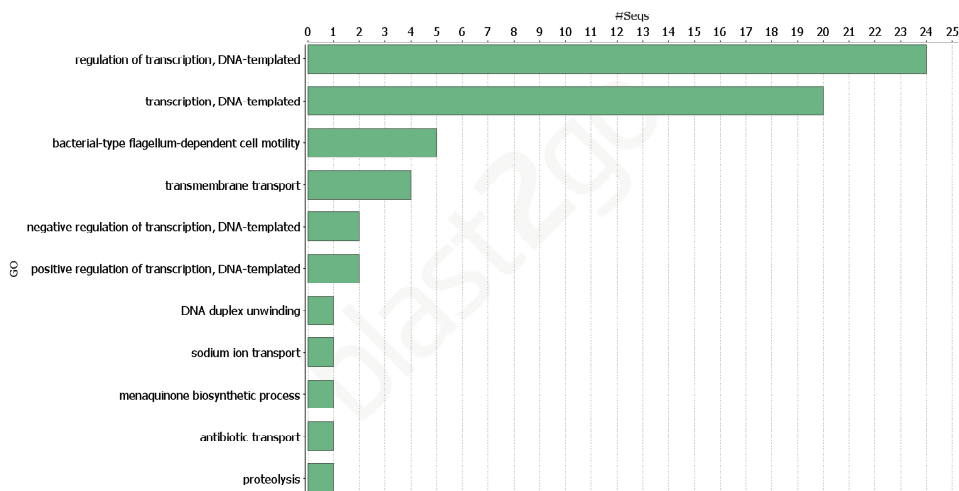


图 5 BA06 扩张基因家族 GO 功能注释

Fig. 5 GO annotation of BA06 expansion gene families

4 讨论

短小芽孢杆菌常存在于土壤环境中,已有研究已经阐述过短小芽孢杆菌的抗逆性,对人和动植物的致病性和共生性.例如 SAFR-032 具有很强的抗紫外线和过氧化氢能力^[24];GR-8 具有对生姜的致病性^[17];15.1 能分泌对无脊椎动物有毒性的蛋白^[15];Bonn 被发现可能和人类皮肤感染有关^[16].通过比较短小芽孢杆菌 BA06 与其他 18 个短小芽孢杆菌的基因组,发现了 BA06 上特异性的 12 个基因组岛,并且鉴定出有些基因组岛具有抗药、毒力和共生特性.这说明 BA06 应该同样具备也具备这些特性,有待于进一步挖掘.

通过分析 BA06 菌株的特异性基因家族,可以发现 BA06 中 α/β 水解酶超家族和 MFS 转运蛋白超家族发生了扩张. α/β 水解酶超家族是一个有 60000 余个不同成员的庞大家族,可以催化多种底物,具有很多不同功能^[25]. BA06 的 α/β 水解酶超家族中就包括肽酶、脂肪酶等不同酶类,可能与 BA06 降解蛋白质能力有所关联.并且其中一个 α/β 水解酶位于抗性岛上,可能与抗逆性有关. MFS 转运蛋白超家族是目前已知最大的跨膜转运蛋白家族之一,其中就包括药物抗性蛋白等^[26].而 BA06 发生扩张的 MFS 超家族中就含有编码多重抗药性蛋白基因 EmrY.这些都说明 BA06 在短小芽孢杆菌中可能有较为突出的抗生素抗性.

综上所述,通过对 18 个短小芽孢杆菌与 BA06 菌株的基因组进行比较,可以发现 BA06 可能具有较为突出的抗生素抗性和运动能力.并且 BA06 除了具有已知的降解蛋白功能外,在致病能力和共生能力等方面都具有进一步探索的价值.

参考文献:

- [1] Holt J G, Krieg N R, Sneath P H A, *et al.* Bergey's manual of determinative bacteriology [J]. J Am Med Assoc, 2000, 15: 408.
- [2] Vaishampayan P A, Rabbow E, Horneck G, *et al.* Survival of *Bacillus pumilus* spores for a prolonged period of time in real space conditions [J]. Astrobiology, 2012, 12: 487.
- [3] Zhang H, Zhang F, Li Z. Gene analysis, optimized production and property of marine lipase from *Bacillus pumilus*, B106 associated with South China Sea sponge *Halichondria rugosa* [J]. World J Microbiol Biotechnol, 2009, 25: 1267.
- [4] Kapoor M, Nair L M, Kuhad R C. Cost-effective xylanase production from free and immobilized *Bacillus pumilus* strain MK001 and its application in saccharification of *Prosopis juliflora* [J]. Biochem Eng J, 2008, 38: 88.
- [5] Basu S, Saha M N, Chattopadhyay D, *et al.* Large-scale degumming of ramie fibre using a newly isolated *Bacillus pumilus*, DKS1 with high pectate lyase

- activity[J]. *J Ind Microbiol Biotechnol*, 2009, 36: 239.
- [6] 曹小红, 廖振宇, 王春玲, 等. *Bacillus natto* TK-1 产脂肽的纯化、抑菌活性及其表面活性剂特性[J]. *中国生物工程杂志*, 2008, 28: 44.
- [7] 姬杨, 冯红. 短小芽孢杆菌 BA06 产表面活性素培养基组分的优化[J]. *四川大学学报: 自然科学版*, 2016, 53: 925.
- [8] De C F S S R, Almeida D G, Rufino R D, *et al.* Applications of biosurfactants in the petroleum industry and the remediation of oil spills [J]. *Int J Mol Sci*, 2014, 15: 12523.
- [9] Akhtar M S, Siddiqui Z A. *Glomus intraradices*, *Pseudomonas alcaligenes*, and *Bacillus pumilus*: effective agents for the control of root-rot disease complex of chickpea (*Cicer arietinum* L.) [J]. *J Gen Plant Pathol*, 2008, 74: 53.
- [10] 孔高飞, 金敏, 朱莲莲, 等. 一种短小芽孢杆菌分离鉴定及培养条件研究[J]. *浙江理工大学学报*, 2014, 31: 467.
- [11] 黄庆, 潘皎, 彭勇, 等. 短小芽孢杆菌 (*Bacillus pumilus*) 脱毛蛋白酶基因的克隆与序列分析[J]. *高技术通讯*, 2004, 14: 31.
- [12] Edwards D J, Holt K E. Beginner's guide to comparative bacterial genome analysis using next-generation sequence data [J]. *Microb Inform Exp*, 2013, 3: 1.
- [13] Zhao C W, Wang H Y, Zhang Y Z, *et al.* Draft Genome Sequence of *Bacillus pumilus* BA06, a Producer of Alkaline Serine Protease with Leather-Dehairing Function [J]. *J Bacteriol*, 2012, 194: 6668.
- [14] 桂俊鸿, 李校, 赵培虎, 等. 利用比较基因组学方法预测短小芽孢杆菌转录调控网络[J]. *四川大学学报: 自然科学版*, 2012, 49: 230.
- [15] Garcia-Ramon D C, Berry C, Tse C, *et al.* The paraspore crystals of *Bacillus pumilus* strain 15. 1: a potential virulence factor? [J]. *Microb Biotechnol*, 2018, 11: 302.
- [16] Grass G, Bierbaum G, Molitor E, *et al.* Genome sequence of *Bacillus pumilus* Strain Bonn, isolated from an Anthrax-Like necrotic skin infection site of a child [J]. *Genome Announc*, 2016, 4: e01741.
- [17] Yuan Y, Gao M. Genomic analysis of a ginger pathogen *Bacillus pumilus* providing the understanding to the pathogenesis and the novel control strategy [J]. *Sci Rep*, 2015, 5: 10259.
- [18] Alikhan N F, Petty N K, Zakour N L B, *et al.* BLAST Ring Image Generator (BRIG): simple prokaryote genome comparisons [J]. *BMC Genomics*, 2011, 12(1): 402.
- [19] Bertelli C, Laird M R, Williams K P, *et al.* IslandViewer 4: expanded prediction of genomic islands for larger-scale datasets [J]. *Nucleic Acids Res*, 2017, 45: W30.
- [20] Soares S C, Geyik H, Ramos R T J, *et al.* GIPSY: Genomic island prediction software [J]. *J Biotechnol*, 2016, 232: 2.
- [21] Darling A C E, Mau B, Blattner F R, *et al.* Mauve: Multiple Alignment of Conserved Genomic Sequence With Rearrangements [J]. *Genome Res*, 2004, 14: 1394.
- [22] Stamatakis A. RAxML version 8: a tool for phylogenetic analysis and post-analysis of large phylogenies [J]. *Bioinformatics*, 2014, 30: 1312.
- [23] Espariz M, Zuljan F A, Esteban L, *et al.* Taxonomic identity resolution of highly phylogenetically related strains and selection of phylogenetic markers by using Genome-Scale methods: the *Bacillus pumilus* group case [J]. *PloS One*, 2016, 11: e0163098.
- [24] Stepanov V G, Tirumalai M R, Saied M, *et al.* *Bacillus pumilus* SAFR-032 genome revisited: sequence update and Re-Annotation: [J]. *PloS One*, 2016, 11: e0157331.
- [25] Zheng Q, Wang S, Duan P, *et al.* An α/β -hydrolyase fold protein in the biosynthesis of thioStrepton exhibits a dual activity for endopeptidyl hydrolysis and epoxide ring opening/macrocyclization [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2016, 113: 14318.
- [26] Yan N. Structural advances for the major facilitator superfamily (MFS) transporters [J]. *Trends in Biochem Sci*, 2013, 38: 151.

引用本文格式:

中文: 刘云山, 田应明, 李校. 短小芽孢杆菌 BA06 的比较基因组探究[J]. *四川大学学报: 自然科学版*, 2018, 55: 1324.

英文: Liu Y S, Tian Y M, Li X. Comparative genome analysis of *Bacillus pumilus* BA06 [J]. *J Sichuan Univ: Nat Sci Ed*, 2018, 55: 1324.