

## 蛋白激酶抑制剂 Flavopiridol 对流感病毒复制的体外抑制作用

汪世雄, 张军杰, 叶昕\*

中国科学院微生物研究所, 北京 100101

**摘要:** 【目的】在细胞水平上研究黄酮类化合物 flavopiridol 的抗流感病毒效果, 初步探索了其抗流感病毒的机制。【方法】首先用 Western blot 初步检测了在蛋白激酶抑制剂 flavopiridol 处理下流感病毒 NP 和 M1 蛋白的水平, 然后通过免疫荧光实验观察了宿主细胞中流感病毒 vRNP 的合成, 又利用噬斑实验检测了 flavopiridol 对病毒复制的影响, 最后通过检测 flavopiridol 处理的宿主细胞内 RNA 聚合酶 II 的磷酸化状态和病毒各种 RNA 的合成量, 探究了 flavopiridol 抑制流感病毒复制的机理。【结果】结果表明, flavopiridol 在细胞水平上可以显著抑制流感病毒蛋白质和 vRNP 的合成及病毒的复制, 同时 flavopiridol 也可以抑制宿主 RNA 聚合酶 II 大亚基 CTD 结构域七肽重复序列中的 2 位丝氨酸的磷酸化来抑制聚合酶的转录延伸活性, 显著地减少病毒 vRNA 的合成。【结论】Flavopiridol 可以通过抑制宿主细胞 RNA 聚合酶 II 的转录延伸活性有效地抑制流感病毒的复制。

**关键词:** flavopiridol, 流感病毒, RNA 聚合酶 II

**中图分类号:** R37      **文献标识码:** A      **文章编号:** 0001-6209 (2012) 09-1137-06

流感病毒 (Influenza virus) 属于正粘液病毒科, 是一种负链 RNA 病毒, 包括 A、B 和 C 三种亚型<sup>[1]</sup>。A 型流感病毒 (IAV) 基因组包括八条负链 RNA 片段, 可编码 11 种病毒蛋白质<sup>[2]</sup>。流感病毒一直是人类健康安全的极大威胁, 仅 20 世纪就发生了 4 次流感大流行, 其中 1918 年的西班牙流感造成了最为严重的后果, 2500 – 4000 万人死于此次大流行<sup>[3]</sup>。尽管接种免疫是防治流感病毒最主要的手段, 但仍不是一种完全有效的方法, 高效的抗流感病毒药物的开发具有很重要的意义<sup>[4]</sup>。之前有研究发现 RNA 聚合酶 II 的活性对于流感病毒的复制是必须的, 其必要性不仅仅体现在其可以提供流感病毒转录起始所需要的 5' 末端帽子结构作为引物<sup>[5-6]</sup>, RNA 聚合

酶 II 的转录延伸活性的抑制可以阻断流感病毒 HA、M1 和 NS1 mRNA 的核输出<sup>[7]</sup>。真核生物 RNA 聚合酶 II 的转录延伸活性受到转录因子 P-TEFb (positive transcription elongation factor b) 的调控, P-TEFb 是一种周期蛋白依赖的蛋白激酶复合物, 是由周期蛋白 CyclinT1 和激酶 CDK9 所构成的异二聚体<sup>[8]</sup>。它可以通过磷酸化转录负调控因子和 RNA 聚合酶 II 大亚基 C 末端结构域 (CTD) 上七肽重复序列上的 2 位丝氨酸来激活 RNA 聚合酶 II 的转录延伸活性<sup>[9]</sup>。Flavopiridol 是一种黄酮类化合物, 是一种周期蛋白依赖的蛋白激酶 (CDK) 的抑制剂, 可以抑制 HIV 的复制<sup>[10]</sup>, 并且具有抗肿瘤的功效<sup>[11]</sup>。它可以通过与 CDK 的 ATP 位点结合有效地抑制 P-

**基金项目:** 科技部基金 (2007DFC30240, 2004BA519A64, 2009ZX10004-401, 2008ZX10002-009); 中国科学院创新项目 (KSCX2-YW-R-198, KSCX2-YW-N-054)

\* 通信作者。Tel: +86-10-64807508; E-mail: yex@im.ac.cn

**作者简介:** 汪世雄 (1986 -), 男, 辽宁丹东人, 硕士研究生, 主要从事流感病毒与宿主相互作用的研究。E-mail: shixiong@126.com

**收稿日期:** 2012-04-12; **修回日期:** 2012-04-27

TEFb 的活性<sup>[12]</sup>。因此我们推测, flavopiridol 很可能会通过抑制 RNA 聚合酶 II 的延伸活性阻断流感病毒 mRNA 的出核, 从而减少流感病毒的复制。为了研究 flavopiridol 对流感病毒复制的抑制作用, 本实验在细胞水平上检测了其抗流感病毒的功效, 并对其作用机理做了初步的验证。

## 1 材料和方法

### 1.1 材料

**1.1.1 细胞和病毒:** A549 和 MDCK 细胞由本实验室保存, 培养在含有 10% 胎牛血清(购自 PAA 公司)的 DMEM 培养基(购自 invitrogen 公司)中, 流感病毒 A/WSN/33 通过 12 质粒反向遗传学系统包装。

**1.1.2 主要试剂和仪器:** flavopiridol 购自 Sigma 公司, 溶解于 DMSO 中, RNA 聚合酶 II、RNA 聚合酶 II CTD 结构域 2 位磷酸化丝氨酸和 5 位磷酸化丝氨酸抗体购自 Covance 公司,  $\beta$ -actin 抗体购自 Santa Cruze 公司, 流感病毒 NP 蛋白和 M1 蛋白抗体来自微生物所刘文军研究员, MLV 逆转录酶购自 Promega 公司, rTaq DNA 聚合酶购自 TaKaRa 公司。

### 1.2 病毒感染和免疫印迹法检测

将 A549 细胞的培养液吸出, 并用 PBS 清洗 2 遍, 然后把与无血清的 DMEM 培养基预混的流感病毒 A/WSN/33 加入培养皿中, 1 h 后吸出含病毒的培养基, PBS 清洗两遍后加入含有血清的 DMEM 培养基继续培养。感染病毒后加入浓度为  $2 \times 10^{-6}$  mol/L 的 flavopiridol, 将仅加入 DMSO 的细胞作为对照, 染毒后 7h 收取细胞裂解液, SDS-PAGE 后转膜继而对 Western blot 实验。Western blot 实验中, 用抗 NP、M1、actin、RNA 聚合酶 II、RNA 聚合酶 II CTD 结构域 2 位丝氨酸磷酸化和 5 位丝氨酸磷酸化抗体作为一抗, 二抗为辣根过氧化物酶标记抗兔或鼠的 IgG。

### 1.3 免疫荧光染色

将 MDCK 细胞培养于玻片上, 感染病毒并加入浓度为  $2 \times 10^{-6}$  mol/L flavopiridol 或 DMSO, 感染 7 h 后用 PBS 清洗, 然后用 4% 多聚甲醛室温固定 10 min, 固定后的细胞用含有 1% TritonX-100 的 PBS 打孔 1 min, 再以 10% 的山羊血清室温封闭 1 h, 随后一抗 37°C 孵育 1 h, 清洗液清洗 3 遍, 每次

10 min, 荧光二抗避光室温孵育 1 h, 再用清洗液清洗 3 遍, 最后 1 ng/L DAPI 室温染色 5 min 用 PBS 清洗 3 次, 封片并在荧光显微镜下观察。(清洗液为含有 0.5% NP-40 的 PBS, 封闭液、一抗和二抗均配制于清洗液中)

### 1.4 病毒生长曲线的测定

将 A549 细胞在 24 孔板中培养, 感染流感病毒后加入浓度为  $10^{-6}$  mol/L 的 flavopiridol 或 DMSO, 分别在指定时间点收取上清培养基, 然后用收取的上清以不同的稀释度感染培养于 24 孔板中的 MDCK 细胞。将用 PBS 配制的 2% 的低熔点琼脂糖加热融化后冷却至 42°C 和加热至 42°C 无血清无酚红的 DMEM 等体积混合, 将混合好的琼脂糖培养基以每孔 500  $\mu$ L 的用量加入感染过流感病毒的 MDCK 细胞中, 3 d 后进行病毒噬斑计数, 根据稀释度计算出感染培养基上清中的病毒滴度。

### 1.5 RNA 的提取和半定量 RT-PCR

将 A549 细胞培养在 24 孔板中, 感染流感病毒后加入浓度为  $2 \times 10^{-6}$  mol/L flavopiridol 或 DMSO, 在不同时间点用 Trizol 法提取样品 RNA, 并用 MLV 逆转录酶反转录流感病毒的 vRNA、cRNA、mRNA 和细胞的 18S rRNA。其中 vRNA 和 cRNA 使用流感病毒末端保守序列作为引物, mRNA 使用 OligodT, 而 18S rRNA 则是使用随机引物反转录(表 1)。随后取等量的 cDNA 样品对流感病毒的 NP 片段进行扩增, 引物序列为见表 1。PCR 扩增后, 样品经用琼脂糖凝胶电泳检测。

表 1 反转录和 PCR 所用引物

| Primers       | Primer sequence (5'→3') |
|---------------|-------------------------|
| vRNA-1 for RT | AGCGAAAGCAGG            |
| vRNA-2 for RT | AGCAAAAGCAGG            |
| cRNA for RT   | AGTAGAAACAAGG           |
| PCR-NP-F      | TGGCACTCCAATTTGAATGATG  |
| PCR-NP-R      | TCCATTCCTGTGCGAACAAG    |
| PCR-18s-F     | GTAACCCGTTGAACCCATT     |
| PCR-18s-R     | CCATCCAATCGGTAGTAGCG    |

Primers for reverse transcription of mRNA and 18s rRNA were oligo dT and random hexamer respectively.

## 2 结果

### 2.1 Flavopiridol 能有效地抑制流感病毒蛋白的合成

为了检测 flavopiridol 是否可以对流感病毒的

复制具有抑制作用,我们将 A549 细胞感染流感病毒 A/WSN/33 (MOI = 5),同时在培养基中加入浓度为  $2 \times 10^{-6}$  mol/L 的 flavopiridol,感染后六小时裂解细胞收取细胞裂解液上清,用 Western blot 检测病毒蛋白合成情况。如图 1A 所示,流感病毒蛋白的合成受到了很大的抑制,经过 flavopiridol 处理过后 NP 和 M1 蛋白与对照组相

比几乎消失,显示出 flavopiridol 具有很强的抗流感病毒的效果。而后在 MDCK 细胞感染流感病毒 A/WSN/33 (MOI = 1) 同时加入  $2 \times 10^{-6}$  mol/L flavopiridol,染毒 6 h 后固定,用免疫荧光的方法观察流感病毒 NP 蛋白的含量。如图 1-B 所示,免疫荧光实验也验证了 flavopiridol 对流感病毒的抑制作用。

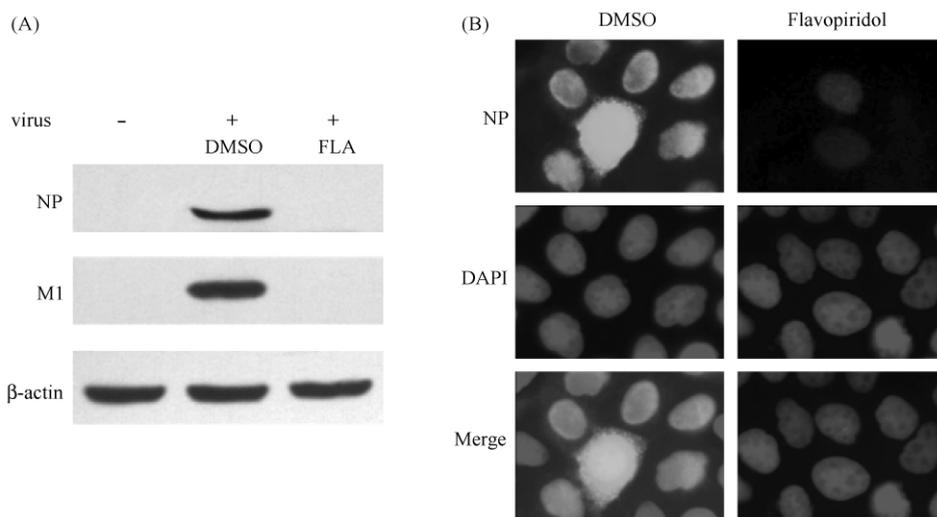


图 1 Flavopiridol 可以显著抑制流感病毒蛋白的合成

Fig. 1 The replication of influenza virus is significantly inhibited by treatment of flavopiridol. A: A549 cells were infected with influenza virus A/WSN/33 for 1 h and treated with flavopiridol (FLA) for 6 h. The cell lysates were harvested for immunoblotting with indicated antibodies. B: MDCK cells were infected with influenza virus A/WSN/33 and treated with flavopiridol or with DMSO as control. The cells were then immunostained with NP antibody (green) and DAPI (blue).

## 2.2 Flavopiridol 抑制流感病毒的复制

由于 flavopiridol 是一种细胞自身转录的抑制剂,可能具有一定的细胞毒性,因此我们将 A549 细胞培养在不同浓度的 flavopiridol 中,观察其对细胞是否具有毒性。我们发现在浓度为  $10^{-6}$  mol/L 的 flavopiridol 中生长的细胞在 36 h 后状态依然较好。然后将 A549 细胞感染流感病毒 A/WSN/33 (MOI = 0.01) 并加入  $10^{-6}$  mol/L flavopiridol,分别在 0, 12, 24 和 36 h 收取感染后的细胞上清,如图 2 所示,噬斑实验检测上清中的病毒滴度显示 flavopiridol 对流感病毒的复制具有明显的抑制作用。

## 2.3 Flavopiridol 的处理可以降低细胞内 RNA 聚合酶 II 的延伸活性,使流感病毒复制受到抑制

为了检测 flavopiridol 是否可以通过抑制 CDK9 的活性从而抑制 RNA 聚合酶 II 的延伸活性,我们将 A549 细胞感染病毒 (MOI = 5) 后在培养基中加入浓

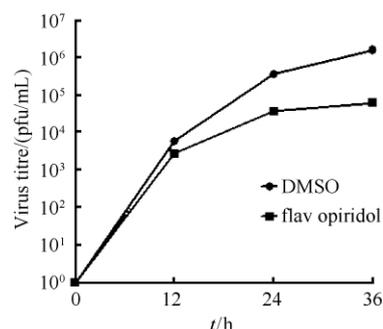


图 2 Flavopiridol 的处理可以减少子代流感病的复制

Fig. 2 Flavopiridol inhibits the replication of influenza virus. A549 cells were infected with influenza virus A/WSN/33 and treated with or without flavopiridol. The medium were harvested at different time points and the virus titers were measured by plaque assay.

度为  $2 \times 10^{-6}$  mol/L flavopiridol 或 DMSO,同时用已知 RNA 聚合酶 II 的活性抑制剂 DRB 作为阳性对照,感染 6h 后收取细胞裂解液, Western blot 检测流感病毒复制情况以及 RNA 聚合酶 II 及其 CTD 结构

域的磷酸化状态。RNA 聚合酶 II CTD 结构域 7 肽重复序列中的 2 位和 5 位丝氨酸的磷酸化状态可以代表 RNA 聚合酶 II 所处的功能状态。其中 5 丝氨酸的磷酸化是转录起始活性的标志,而 2 位丝氨酸的磷酸化是转录延伸活性的标志。如图 3 所示, DRB 和 flavopiridol 的处理均可以抑制流感病毒在细胞内的复制,而且 flavopiridol 的抑制效果更好。DRB 和 flavopiridol 对 RNA 聚合酶 II CTD 结构域 5 位磷酸化基本无影响,而 flavopiridol 对 CTD 结构域 2 位丝氨酸磷酸化的抑制效果较之 DRB 更为明显。RNA 磷酸化状态的改变表明 flavopiridol 很可能通过抑制 RNA 聚合酶 II 的活性来抑制流感病毒在宿主中的复制。

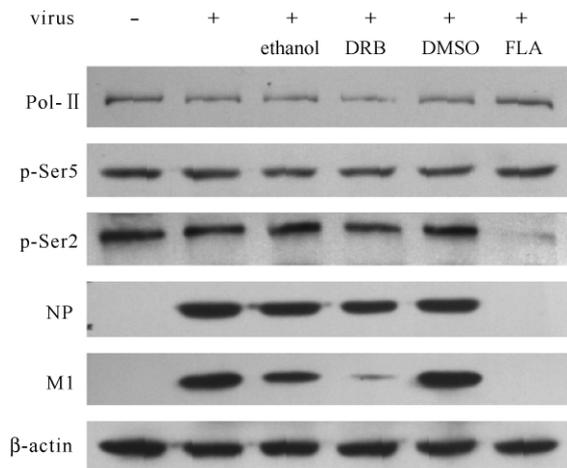


图 3 Flavopiridol 可以抑制细胞内 RNA 聚合酶 II 的延伸活性

Fig. 3 Flavopiridol reduces the phosphorylation of Ser2 in RNA polymerase II CTD heptad repeat sequence. A549 cells were infected with influenza virus A/WSN/33 and treated with ethanol, DRB, DMSO or flavopiridol. The cell lysates were harvested for immunoblotting with indicated antibodies. Pol-II: RNA polymerase II; p-Ser5: phosphorylated Ser-5 in heptad repeat sequence of RNA polymerase II CTD domain; p-Ser2: phosphorylated Ser-2 in heptad repeat sequence of RNA polymerase II CTD domain.

#### 2.4 Flavopiridol 抑制流感病毒 mRNA 和 vRNA 的合成,但对 cRNA 无显著影响

为了验证 flavopiridol 对病毒基因组复制的影响,我们将 A549 细胞感染流感病毒 A/WSN/33 (MOI = 5),分别在 4 h、5 h 和 7 h 三个时间点收取细胞提取病毒 RNA 并进行反转录,将得到的 cDNA 进行半定量 PCR,检测 mRNA、vRNA 和 cRNA 的含量,18 s rRNA 作为内参。如图 4 所示,在不同时间

点上,加入 flavopiridol 以后病毒 cRNA 的减少量并不明显而 mRNA 和 vRNA 则明显下降,而且相比之下 vRNA 合成量的下降更为显著。上述结果表明 flavopiridol 可以影响病毒基因组的合成,同时也可以降低随之而来的 mRNA 转录,而对于以 vRNA 作为模板的病毒早期转录以及 cRNA 合成的影响不是很大。

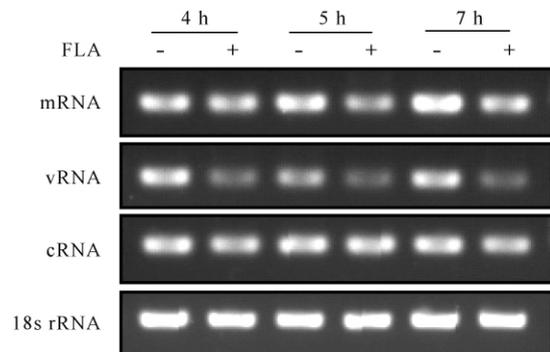


图 4 Flavopiridol 对病毒 RNA 合成的抑制效果

Fig. 4 The inhibition effect of flavopiridol on the expression of viral RNA. A549 cells were infected with influenza virus A/WSN/33 and treated with or without flavopiridol. At indicated time point, the total RNA were extracted and subjected to RT-PCR with primers specific for viral RNA NP segment.

### 3 讨论

由于流感病毒对人类健康的巨大威胁,抗流感病毒化合物的开发具有重要的意义。为了研究黄酮类化合物 flavopiridol 对于流感病毒的抑制作用,本实验直接对感染病毒的细胞施用 flavopiridol,用 Western blot 的方法检测宿主细胞内流感病毒的 NP 和 M1 蛋白合成量。NP 蛋白与病毒的 vRNA 以及聚合酶复合体一同组成病毒的 vRNP 复合体,而 M1 蛋白是流感病毒中最为丰富的蛋白,因此这两种蛋白的含量一般可以作为检测病毒含量的标志,可以真实地反映流感病毒的复制情况。

目前主要使用的抗流感病毒化合物主要包括两大类,一类是干扰病毒去包被与宿主细胞融合过程的金刚烷胺类药物,另一类是针对病毒从宿主细胞表面释放过程的流感病毒神经氨酸酶(NA)抑制剂,包括扎那米韦和奥司他韦等,上述两类抗流感病毒药物作用靶点都是病毒蛋白,并且均出现了具有抗药性的毒株<sup>[13-14]</sup>,而本研究使用的 flavopiridol 作

用靶点是宿主因子 P-TEFb。P-TEFb 是细胞内转录的正调控因子,可以磷酸化包括 RNA 聚合酶 II 等一系列转录因子从而促进转录的延伸。本研究通过检测 RNA 聚合酶 II 大亚基 CTD 结构域七肽重复序列中 2 位丝氨酸磷酸化的下降,验证了 flavopiridol 可以抑制宿主细胞 RNA 聚合酶 II 的转录延伸活性,且与对流感病毒的抑制效果相吻合。

之前的研究表明 RNA 聚合酶 II 延伸活性的抑制并不会阻断流感病毒的转录,但可以导致流感病毒 mRNA 的出核受到抑制,从而抑制流感病毒的复制。本实验通过半定量 PCR 的方法发现 flavopiridol 并没有阻断病毒的转录,而且病毒 cRNA 的复制并未受到影响,但 vRNA 的产量却有极大的下降。根据结果推测这种现象很可能是由于转录出的病毒 mRNA 没能成功翻译成病毒蛋白,使得病毒无法复制出其子代基因组所致。对于 flavopiridol 作用机理的进一步深究,需要对流感病毒 mRNA 的核质分布情况进行进一步的分析。本实验利用 18 s rRNA 作为 PCR 的内参是因为 P-TEFb 活性的抑制可以影响宿主细胞内的转录过程,因此无法使用持家基因的 mRNA 作为内参。

本研究在细胞水平上证实了黄酮类化合物 flavopiridol 可以显著地抑制流感病毒的复制,为抗流感病毒化合物的开发开辟了另一条途径。但其在活体动物上的效果尚需进一步证明和研究。

## 参考文献

- [1] Nicholson K, Wood J, Zambon M. Influenza. *Lancet*, 2003, 362 (9397): 1733-1745.
- [2] Cheung T, Poon L. Biology of Influenza A Virus. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 2007, 1102: 1-25.
- [3] Palese P. Influenza: old and new threats. *Nature Medicine*, 2004, 10 (12): S82-S87.
- [4] Moscona A. Neuraminidase Inhibitors for Influenza. *The New England Journal of Medicine*, 2005, 353: 1363-73.
- [5] Plotch SJ, Bouloy M, Krug RM. Transfer of 50-terminal cap of globin mRNA to influenza viral complementary RNA during transcription in vitro. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 1979, 76 (4): 1618-1622.
- [6] Plotch SJ, Bouloy M, Ulmanen I, Krug RM. A unique cap (m7GpppXm)-dependent influenza virion endonuclease cleaves capped RNAs to generate the primers that initiate viral RNA transcription. *Cell*, 1981, 23 (3): 847-858.
- [7] Amorim MJ, Read EK, Dalton RM, Medcalf L, Digard P. Nuclear Export of Influenza A Virus mRNAs Requires Ongoing RNA Polymerase II Activity. *Traffic*, 2007, 8 (1): 1-11.
- [8] Garriga J, Graña X. Cellular control of gene expression by T-type cyclin/CDK9 complexes. *Gene*, 2004, 337: 15-23.
- [9] Peterlin M, Price D. Controlling the Elongation Phase of Transcription with P-TEFb. *Molecular Cell*, 2006, 23 (3): 297-305.
- [10] Chao SH, Fujinaga K, Marioi J, Taube R, Sausville E, Senderowicz A, Peterlin B, Price D. Flavopiridol Inhibits P-TEFb and Blocks HIV-1 Replication. *The Journal of Biological Chemistry*, 2000, 275 (37): 28345-28348.
- [11] Senderowicz AM. The Cell Cycle as a Target for Cancer Therapy: Basic and Clinical Findings with the Small Molecule Inhibitors Flavopiridol and UCN-01. *The Oncologist*, 2002, 7 (suppl 3): 12-19.
- [12] Baumli S, Lolli G, Lowe ED, Troiani S, Rusconi L, Bullock AN, Debreczeni J, Knapp S, Johnson LN. The structure of P-TEFb (CDK9/cyclin T1), its complex with flavopiridol and regulation by phosphorylation. *The EMBO Journal*, 2008, 27 (13): 1907-1918.
- [13] Baranovich T, Webster G, Govorkova EA. Fitness of neuraminidase inhibitor-resistant influenza A viruses. *Current Opinion in Virology*, 2011, 1 (6): 574-581.
- [14] Hurt AC, Ho HT, Barr I. Resistance to anti-influenza drugs: adamantanes and neuraminidase inhibitors. *Expert Review of anti-infective therapy*, 2006, 4 (5): 795-805.

# Protein kinase inhibitor flavopiridol inhibits the replication of influenza virus in vitro

Shixiong Wang, Junjie Zhang, Xin Ye\*

Institute of Microbiology, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100101, China

**Abstract:** [Objective] To investigate the antiviral effect of the flavonoid compound flavopiridol on influenza A virus and explore its antiviral mechanism. [Methods] The A549 or Madin-Darby canine kidney (MDCK) cells were infected with influenza A virus A/WSN/33 and treated with flavopiridol. The viral proteins were determined by immunoblotting and immunofluorescence. The virus titer was measured by plaque assay. To verify whether the activity of host RNA polymerase II was affected by flavopiridol, the phosphorylation status of RNA polymerase II CTD domain was analyzed by immunoblotting with phosphor-specific antibody. The amount of viral mRNA, vRNA and cRNA was measured by reverse transcription and PCR. [Results] The amount of viral proteins was significantly decreased and the titer of virus was greatly reduced in cells treated with flavopiridol. Further analysis showed that the phosphorylation of Ser-2 in the heptad repeat of the CTD domain in RNA polymerase II was decreased in flavopiridol treated cell. This result indicated that the transcription elongation activity of RNA pol II was impaired upon treatment with flavopiridol. Then we found that the amount of viral vRNA was significantly decreased in flavopiridol treated cells while only moderate decrease of mRNA was observed and almost no reduction of cRNA was detected. [Conclusion] Flavopiridol can greatly suppress the replication of influenza virus. We propose that the inhibition of the transcription elongation activity of host RNA polymerase II would cause the decrease of viral mRNA transcription.

**Keywords:** flavopiridol, influenza virus, RNA polymerase II

(本文责编:张晓丽)

Supported by Grants from the Ministry of Science and Technology of China (2007DFC30240, 2004BA519A64, 2009ZX10004-101, 2008ZX10002-009) and the Chinese Academy of Sciences Innovation Projects (KSCX2-YW-R-198, KSCX2-YW-N-054)

\* Corresponding author. Tel: +86-10-64807508; E-mail: yex@im.ac.cn

Received: 12 April 2012 /Revised: 27 April 2012

## 关于细菌中 spore 的中文名称

本刊编委、华中农业大学生命科学技术学院教授孙明博士对“细菌 spore 的中文名称”有着深刻的了解、并为这个名词在我国微生物学领域的规范化使用做了很多的工作。以下内容节选自孙明教授近日为本刊撰写的一组内容,利于更多的研究人员规范使用微生物学名词。

1. 在全国科学技术名词审定委员会、微生物学名词审定委员会编辑出版的《微生物学名词》(1988, 科学出版社)中,关于细菌 spore 这一名词的中文名称,使用的是“芽胞”。理由是“孢”指真菌和放线菌中的“孢子”,是指繁殖体;而细菌中的“芽胞”是指分化体,不是繁殖体,二者有本质的区别,其差异是有科学意义的。就像中文当中有一词多意的现象一样,spore 也可一词多意。

2. 2006年4月成立了以中国科学院微生物研究所程光胜为主任的新一届微生物学名词审定委员会,该委员会在2006年10月的工作会议上决定维持1988年版《微生物学名词》中关于芽胞的命名方式。

3. 在我国,越来越多的使用“芽胞”二字,证明生物工作者有意识的在更正和推广“芽胞”来替代以前使用的“芽孢”。如:许多教材、书籍在依据《微生物学名词》使用“芽胞”;部分学术期刊在使用“芽胞”;在网上搜索的电子教案、教学资料或试卷中,找到许多使用“芽胞”的例子;在因特网如 google (www.google.com) 和百度 (www.baidu.com) 上输入“芽胞”进行搜索,可发现海量的使用“芽胞”例子。