

## 长白山温泉无氧芽孢杆菌的分离鉴定

刘东来, 蔡锦刚, 姚天羽, 王艳平, 孔庆阳, 冯雁\*

(吉林大学分子酶学工程教育部重点实验室, 长春 130023)

**摘要:** 【目的】对长白山温泉中嗜热微生物进行分离鉴定, 并了解其生理生化特性。【方法】采用橄榄油富集培养基, 稀释平板涂布法对长白山温泉样品进行分离得到一株嗜热菌 CBS-5; 在电子和光学显微镜下观察菌体形态和芽孢; 应用生理生化试验、16S rDNA 序列分析以及(G+C)mol%含量等方法对菌株特性进行鉴定。【结果】菌株 CBS-5 为革兰氏阳性菌, 无鞭毛, 产端生芽孢, 最适生长温度为 65℃, 最适 pH7.7 左右, 能以蔗糖、麦芽糖和乳糖等作为唯一碳源生长, 具有酯酶和过氧化氢酶活性, 对卡那霉素、红霉素和硫酸新霉素等抗生素均无抗性。 $T_m$  法测定该菌的(G+C)mol%含量为 41.9%。脂肪酸成分分析表明在 CBS-5 中 iso-15:0 的含量最高, 为 24.20%, 与无氧芽孢杆菌属成员一致。以该菌的 16S rDNA 序列为基础构建了系统发育树; 16S rDNA 序列同源性比对表明该菌与无氧芽孢杆菌属各种之间的同源性在 95.1%-98.5%之间。【结论】菌株 CBS-5(=JCM 15484)是一株嗜热无氧芽孢杆菌, 具有产酶活性, 对于研究和开发化工、食品 and 环境保护方面的工业用酶具有重要价值。

**关键词:** 嗜热微生物; 无氧芽孢杆菌; 脂肪酸成分; 16S rDNA

**中图分类号:** Q939 **文献标识码:** A **文章编号:** 0001-6209 (2008) 10-1285-05

嗜热微生物是指能够在高温环境下生长的极端微生物, 对它的研究在探讨生命起源、生物进化、高温适应机制等方面具有重要的意义。由于嗜热微生物及嗜热功能蛋白质可以在高温条件下生存并行使功能, 具有超常的生物学稳定性, 因此在生物技术领域具有重要的应用潜力。特别是嗜热酶作为酶制剂具有制备成本低, 动力学反应快, 热稳定性好等优点<sup>[1]</sup>, 在轻工、食品、化工等众多领域都得到了广泛应用。

嗜热微生物广泛分布在各种自然和人为的高温生物圈中, 例如温泉、工厂高温废水排放区、火山地、地热区土壤及海底火山附近等处<sup>[2]</sup>。近年来, 嗜热微生物的研究取得了重要进展, 已经有 80 个属 150 种嗜热菌从各种热环境分离出来, 但是对于大自然中丰富的嗜热微生物资源来说, 这个数目还是很小的<sup>[3]</sup>。

我国是世界上温泉最多的国家, 具有丰富的温泉嗜热微生物资源。位于我国东北地区的长白山, 其古老的地质特征、独特的火山地质地貌及其特殊的地理环境决定了长白山温泉微生物资源的特殊性和原始性。然而, 长白山丰富的嗜热微生物资源还没有得到充分的开发利用, 目前为止仅有 5 株菌被报道<sup>[4~8]</sup>。本文报道了从长白山温泉样品中分离的一株产酶嗜热菌 CBS-5, 并对其进行了形态学、生理生化特征、(G+C)mol%含量测定、脂肪酸成分分析及 16S rDNA 序列分析, 鉴定为无氧芽孢杆菌。

### 1 材料和方法

#### 1.1 材料

**1.1.1 样品来源:** 样品采集于中国吉林省长白山 53℃

基金项目: 国家“863 计划”(2006AA020204)

\*通讯作者。Tel /Fax: +86-431-88987975; E-mail: yfeng@mail.jlu.edu.cn

作者简介: 刘东来(1986-), 男, 辽宁营口人, 本科生, 主要从事嗜热微生物及嗜热蛋白质研究。E-mail: ldl198653@126.com

收稿日期: 2008-05-21; 修回日期: 2008-08-18

硫磺火山温泉, 主要由温泉底部淤泥、温泉水和泉口周围土壤组成, 运抵实验室后 4℃ 长期密闭保存。

**1.1.2 培养基:** ① 橄榄油富集培养基: 每升含橄榄油 20 g, 酵母粉 0.2 g,  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  20 g,  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  1.5 g,  $\text{MgSO}_4$  0.5 g,  $\text{NaCl}$  0.5 g, pH 7.5。② 2YT 培养基: 每升含胰化蛋白胨 16 g, 酵母粉 10 g,  $\text{NaCl}$  5 g, pH 7.0。以上培养基于  $1.034 \times 10^5$  Pa 高压下, 115℃ 蒸汽灭菌 15 min。

**1.1.3 主要试剂和仪器:** 胰化蛋白胨 (Tryptone)、酵母粉 (Yeast extract) 和琼脂糖 (Agarose) 购自英国 Oxoid 公司; Cary 50 紫外可见分光光度计购自美国 VARIAN 公司; HZ-9612K 高温振荡培养箱购自太仓市科教器材厂; Alpha 1-2 冻干机与离心浓缩仪购自德国 CHRIST 公司; PCR 仪购自德国 Eppendorf 公司。

## 1.2 样品富集培养及菌株分离

将样品充分混匀, 取 3 mL 加入 100 mL 橄榄油富集培养基中, 65℃ 进行富集培养。取 50  $\mu\text{L}$  富集培养液涂布于固体橄榄油富集培养基, 2 d 后挑取单菌落于 2YT 培养基中纯化培养, 并命名为 CBS-5。

## 1.3 形态特征

革兰氏法染色, 光学显微镜下观察菌体形态、大小; 孔雀绿染色, 番红复染, 光学显微镜下观察芽孢形态、位置; 磷钨酸钠染色, 透射电子显微镜下观察鞭毛; 2YT 液体培养基, 65℃ 培养, 观察 10 h 菌龄的菌落形态。

## 1.4 生理生化特性

**1.4.1 生长特性:** 在 40℃ ~ 75℃ 范围内测定 CBS-5 在各个温度下的比生长速率 ( $\mu/\text{h}$ ), 以各个温度下的比生长速率对温度作图, 得到生长温度曲线; 在最适生长温度下, 测定 CBS-5 在不同 pH 缓冲液 (pH 5-9) 中的比生长速率, 得到生长 pH 曲线; 在最适生长温度和 pH 条件下, 测定不同浓度的  $\text{NaCl}$  对 CBS-5 生长的影响。

**1.4.2 碳源利用:** 在酵母粉含量 0.1% 的 2YT 液体培养基中加入 10 g/L 待测的糖, 于 65℃ 震荡培养 (180 r/min) 24 h 后测定  $OD_{600}$ , 与空白对照 (不加待测成分) 相比, 光吸收值大于 2 倍, 为阳性; 介于 1 到 2 倍之间, 为微弱利用; 其余为阴性。测定的碳源包括: 甘露糖、淀粉、糊精、阿拉伯糖、乳糖、鼠李糖、麦芽糖、半乳糖、蔗糖、CM 纤维素钠。

**1.4.3 酶学特征:** 鉴定 CBS-5 的酶学特征。参照文献 [19], 以 Tween 80 为底物鉴定其酯酶活性; 以可溶

性淀粉为底物鉴定其淀粉酶活性; 以明胶为底物鉴定其蛋白酶的活性; 用过氧化氢鉴定其过氧化氢酶活性。

**1.4.4 抗生素抗性:** 用无菌水配制抗生素溶液, 过滤灭菌后加入 2YT 液体培养基中, 于 65℃ 震荡培养 (180 r/min) 菌株, 24 h 后观察结果。所用抗生素包括: 卡那霉素、红霉素、硫酸新霉素、盐酸四环素、硫酸链霉素、氯霉素、羧苄青霉素和氨苄青霉素。每种抗生素分别配成终浓度为 10  $\mu\text{g}/\text{mL}$  和 100  $\mu\text{g}/\text{mL}$  的两种溶液。

## 1.5 脂肪酸成分测定

细胞脂肪酸成分测定委托中国军事科学院微生物流行病学研究所测定。

## 1.6 基因组 DNA 的 (G+C) mol% 含量测定

基因组 DNA 的提取参照文献 [9] 所述方法进行, (G+C) mol% 含量测定采用热变性温度法 ( $T_m$  值法) [10], 按照经验公式  $0.1 \times \text{SSC}(\text{G} + \text{C}) \text{mol}\% = 2.08 \times T_m - 106.4$  计算。参照菌株为 *Fervidobacterium islandicum* H21<sup>T</sup>。

## 1.7 16S rDNA 序列分析

采用通用细菌引物 27F (5'-AGAGTTTGATCATGGCTCAG-3') 和 1541R (5'-AAGGAGGTGATCCAGCCGCA-3') 进行 16S rDNA 的 PCR 扩增。PCR 扩增条件: 94℃ 5 min; 94℃ 1 min, 55℃ 45 s, 72℃ 2 min, 30 个循环; 72℃ 10 min。

扩增产物经纯化后, 送上海生工生物技术有限公司测序。所测序列用 BLAST 软件与 GenBank 和 RDP 数据库进行相似性分析, 并与相关的亲近物种用 MEGA 3.0 软件包中的 Neighbor-Joining 法构建系统进化树。使用 Kimura 2-parameter 法, 重复抽样 1000 次分析系统树各分枝的置信度。

# 2 结果

## 2.1 菌株分离及形态学特征

为获得产高温脂肪酶活性的菌株, 本文通过橄榄油培养基富集培养样品, 65℃ 培养 3 d 后发现培养液变混浊, 最终 pH 值为 6.7 左右。进一步利用橄榄油固体培养基平板分离得到多个单菌落, 挑取单个优势菌落, 获得纯培养的 CBS-5 菌株。CBS-5 为短杆状 (图 1-A), 2 ~ 3  $\mu\text{m} \times 0.5 \mu\text{m} \sim 0.6 \mu\text{m}$ , 无鞭毛, 革兰氏染色阳性。在橄榄油固体培养基上 65℃ 培养 2 d 后可形成 2 mm 菌落, 呈圆形, 表面凸起, 光滑, 较粘稠, 易挑起, 边缘整齐。80℃ 水浴中加热 30 min 可以促使菌株在端部产生圆形芽孢, 孢径略大于杆菌直径 (图 1-B)。

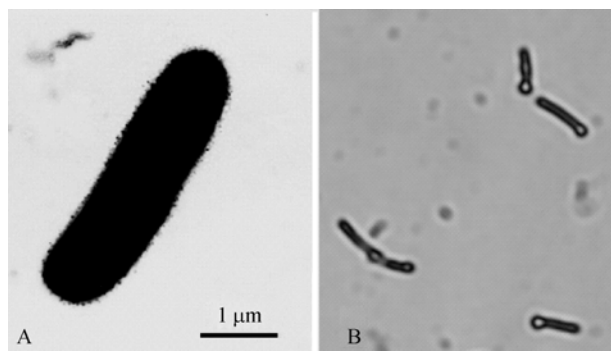


图1 菌株 CBS-5 的形态

Fig. 1 The strain CBS-5 cell morphology. A: under trans-electron microscope (25000 $\times$ ); B: Spores of strain CBS-5 under optical-microscope(100 $\times$ )

## 2.2 生理生化特征

CBS-5 形态学和生理生化特征见表 1。与其他五种菌株比较, CBS-5 能以蔗糖、麦芽糖、乳糖和鼠李糖作为唯一碳源生长, 并发酵产酸; 该菌能在 48 $^{\circ}\text{C}$ ~70 $^{\circ}\text{C}$  范围内生长 (图 2A), 最适生长温度为 65 $^{\circ}\text{C}$ ; 生长 pH 范围在 pH6.5~8.5 内 (图 2B), 最适生长为 7.7 左右; 最适生长的 NaCl 浓度为 0~0.4%, 当 NaCl 浓度大于 0.5% 时, 生长被抑制。能水解 Tween 80 和过氧化氢, 表明 CBS-5 具有酯酶和过氧化氢酶活性,

不能水解淀粉和明胶, 表明 CBS-5 不具有淀粉酶和蛋白酶活性。抗生素试验表明 CBS-5 对卡那霉素、红霉素、硫酸新霉素、盐酸四环素、硫酸链霉素、氯霉素、羧苄青霉素和氨苄青霉素 8 种抗生素都没有抗性。

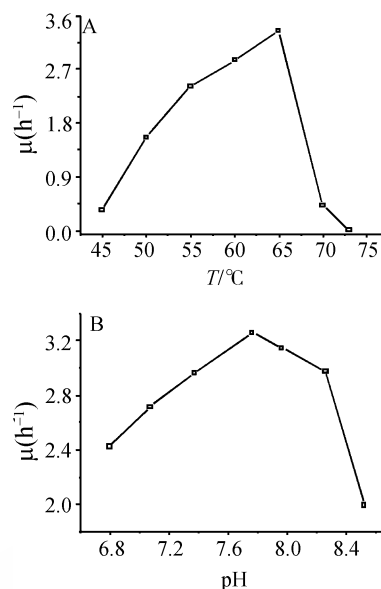


图2 温度(A)、pH(B)对菌株 CBS-5 生长速率的影响

Fig. 2 Influence of temperature (A) and pH (B) on growth of strain CBS-5.

表1 菌株 CBS-5 与亲缘关系密切的细菌的特征比较

Table 1 Phenotypic characteristics of strain CBS-5 and the related strains

Characteristic	Strains designations					
	1	2	3	4	5	6
Size (um)	0.5~0.6 $\times$ 2~3	1.0 $\times$ 2.5~8.8	0.65 $\times$ 4.75	0.7~1.0 $\times$ 4~10	0.4~0.5 $\times$ 2.5~3.0	0.85 $\times$ 2.3~7.1
Motility	-	+	+	+	-	+
Spore shape	Spherical	Oval	Spherical	Spherical	Spherical	ND
Temperature for growth ( $^{\circ}\text{C}$ )						
Range	48~70	37~66	40~70	40~60	37~66	30~72
Optimum	65	67~62	50~55	50	62	60
pH for growth						
Range	6.5~8.5	5.7~9.9	6.0~10.5	6.0~10.0	4.0~10.0	5.5~9.0
Optimum	7.7	6.8~8.5	7.5~8.5	7.5~8.0	7.0	ND
Catalase	+	-	+	+	-	+
Oxidase	ND	-	+	+	ND	+
Gelatin hydrolysis	-	- (-)	-	+	-	-
Casein hydrolysis	-	ND	+	+	+	+
Substrates used*						
Mannose	-	- (-)	+	+	ND	+
Arabinose	-	- (-)	-	+	(-)	+
Galactose	-	+( -)	ND	+	(-)	+
Sucrose	+	+(+)	+	+	(+)	+
Maltose	+	+(+)	+	+	ND	+
Lactose	+	- (-)	-	-	(-)	ND
Rhamnose	+	ND	-	-	(-)	+
Starch	-	- (-)	+	-	(+)	+

Strains designations: 1, CBS-5; 2, *A. kamchatkensis* JW/VK- KG4<sup>T</sup> (Kevbrin et al. 2005); 3, *A. kestanbolensis* K4<sup>T</sup> (Dulger et al. 2004); 4, *A. cantaminans* sp.nov. (Clerck et al. 2004); 5, *A. pushchinoensis* K1<sup>T</sup> (Pikuta et al. 2000); 6, *A. flavithermus* DSM 2641<sup>T</sup> (Heinen et al. 1982). All strains grow on glucose.\* Aerobic and anaerobic substrate utilization tests are given without or within brackets, respectively.+ positive, - negative, ND not determined.

### 2.3 脂肪酸成分分析

利用气相色谱方法测定了菌株 CBS-5 的细胞脂肪酸成分, 结果表明 CBS-5 的脂肪酸由 18 种饱和脂肪酸和 6 种不饱和脂肪酸组成, 其中饱和脂肪酸含量占脂肪酸总含量的 82.39%, 不饱和脂肪酸占 17.61%。4 种饱和脂肪酸 Iso-C<sub>15:0</sub> (24.20%)、C<sub>16:0</sub> (20.45%)、Iso-C<sub>17:0</sub> (17.42%) 和 Anteiso-C<sub>17:0</sub> (10.85%) 构成了 CBS-5 的主要脂肪酸。

### 2.4 G+C 含量测定

由热扫描曲线得出菌株 CBS-5 的  $T_m$  值为 71.3℃, 由公式计算得 DNA 中的“G + C mol %”值为 41.9 mol%, 符

合 *Anoxybacillus* 属的“(G + C)mol%”值(39~44 mol%)特征。

### 2.5 16S rDNA 序列及系统发育学分析

以 CBS-5 基因组 DNA 为模板, 用引物 27F 和 1541R 进行 PCR 扩增, 得到约 1.5 kb 的 PCR 产物, 菌株 CBS-5 的 16S rDNA 序列 GenBank 登录号( accession number: EF222231)。将 CBS-5 菌株的 16S rDNA 序列与 GenBank 中的序列进行比对, CBS-5 与 *Anoxybacillus* 属成员具有较高的序列同源性, 在 95.1%~98.5% 之间。用 Neighbor-Joining 方法构建的系统发育树(图 3), 结果表明 CBS-5 在该属中形成相对独立的分支, 与 *A. flavithermus* 进化关系密切, 同源性达到了 98.5%。

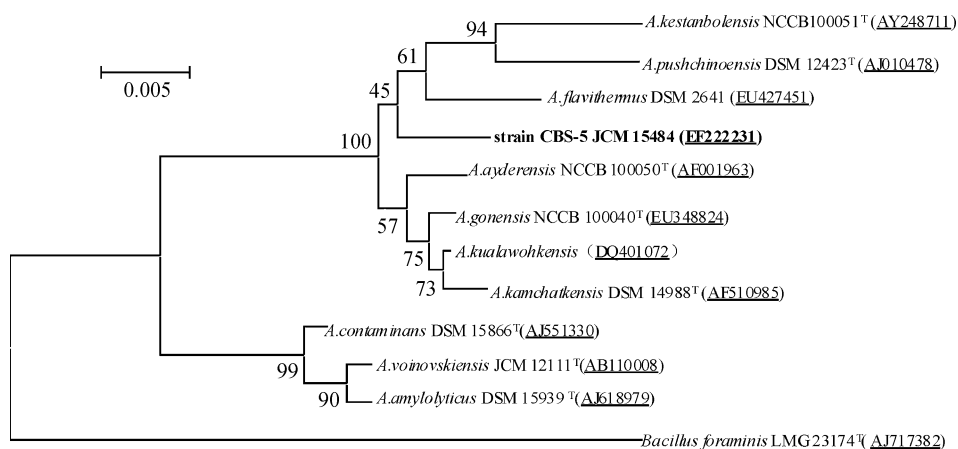


图 3 基于 16S rDNA 序列构建的包括菌株 CBS-5 在内的无氧芽孢杆菌系统发育树

Fig. 3 Phylogenetic tree based on the 16S rDNA sequences from strain CBS-5. The phylogenetic tree was constructed by using the neighbor-joining method and Jukes-Cantor evolutionary distance matrix data was obtained from a comparison 1,300 unambiguous nucleotides as implemented in MEGA 3.1 software. The sequences used in the analysis were obtained from the GenBank Database. The number at each branch point represents the percentage bootstrap support. (Bar, 0.5% sequence divergence; T, type strain).

## 3 讨论

高温微生物是各种工业用酶的重要来源。本文分离的 CBS-5 菌株来自我国吉林省长白山天池附近的 74℃ 温泉, 根据其形态学和生理生化特征, 初步确定它是无氧芽孢杆菌 (*Anoxybacillus*)。无氧芽孢杆菌属是枯草杆菌 (*Bacillaceae*) 科的分支。目前无氧芽孢杆菌属已有十个种被报道<sup>[11-18]</sup>, 他们大多数从陆地温泉样品中分离。脂肪酸是脂和脂多糖主要组成部分, 不同种类细胞不仅在脂肪酸含量上存在差异, 而且在脂肪酸碳链长度、双键位置和取代基团等方面也存在差异, 因此脂肪酸含量分析可以用于细菌分类学研究。无氧芽孢杆菌属中各种的主要脂肪酸是 iso-C<sub>15:0</sub>, 如 *A. kestanbolensis* 中 iso-C<sub>15:0</sub> 含量为 68.62%<sup>[18]</sup>, *A. flavithermus* 中为 54.85%<sup>[12]</sup>, *A. pushchinoensis* 中为 38.7%<sup>[12]</sup>, *A. contaminans* 中为 52%<sup>[11]</sup>; 对 CBS-5

的脂肪酸成分进行分析, 结果显示它的主要脂肪酸也是 iso-C<sub>15:0</sub>, 含量为 24.20%, 这与 *Anoxybacillus* 属的特征一致, 进一步证明了 CBS-5 与无氧芽孢杆菌属关系密切。16S rRNA 是核糖体 RNA 的一种, 所含的遗传信息丰富, 在结构上分为保守区和可变区, 保守区能反映生物物种的亲缘关系, 可变区具有能揭示生物物种的特征核酸序列等特点, 被认为是最适细菌系统发育和分类鉴定的指标<sup>[20]</sup>。我们基于 CBS-5 的 16S rDNA 基因序列构建了系统发育树, 结果显示 CBS-5 和无氧芽孢杆菌属中各成员的 16S rDNA 序列相似性介于 95.1%~98.5% 之间, 从而在分子生物学水平确切鉴定 CBS-5 为无氧芽孢杆菌。对该菌酶学性质的初步分析表明, 它不仅具有脂肪酶活力, 还具有酯酶和过氧化氢酶活性, 这对于研究和开发化工、食品和环境保护方面的工业酶具有重要价值。高温酶基因的鉴定、分子克隆和表达工作正在进行中。

## 参 考 文 献

- [1] 曹军卫, 沈萍, 李朝阳. 嗜极微生物. 武汉: 武汉大学出版社, 2004.
- [2] Setter KO, Huber G, Segerer A. Hyperthermophilic microorganisms. *FEMS Microbiology Rev*, 1990, 75: 117–124.
- [3] Streit WR, Schmitz RA. Metagenomics—the key to the uncultured microbes. *Current Opinion in Microbiology*, 2004, 7: 492–498.
- [4] Cai JG, Wang YP, Liu DB, et al. *Fervidobacterium changbaicum* sp. nov., a novel thermophilic anaerobic bacterium isolated from hot spring of Changbai Mountains of China. *Int J Syst Evol Microbiol*, 2007, 57: 2333–2336.
- [5] 荣绍丰, 徐骥, 张海平, 等. 一株转化淀粉或麦芽寡糖生成海藻糖的菌株 D-97 鉴定. 微生物学通报(*Microbiology*), 2003, 30(2): 57–60.
- [6] 胡耀辉, 于寒松, 王欢. 水生栖热菌 FL-03 海藻糖合酶的分纯化及特性研究. 吉林农业大学学报(*Journal of Jilin Agricultural University*), 2006, 28(1): 27–30.
- [7] 尚宏丽, 陈红漫. 一株产海藻糖合成酶嗜中温芽孢杆菌的鉴定及其酶学性质. 食品与生物技术学报(*Journal of Food Science and Biotechnology*), 2006, 25(6): 34–36, 40.
- [8] Gao C, Meng Q, Lu J, et al. A novel thermophilic bacterium isolated from a hot spring in Changbai Mountains and its characteristic of morphology. *Journal of Jilin University*, 2005, 43(4): 530–535.
- [9] Osborn F, Blinder R, Justin RE, et al. 精编分子生物学实验指南. 颜子颖, 王海林, 译. 第一版. 北京: 科学出版社, 2001, pp39–40.
- [10] Marmur J, Doty P. Determination of the base composition of deoxyribonucleic acid from its thermal denaturation temperature. *J Mol Biol*, 1962, 5: 109–118.
- [11] De Clerck E, Rodríguez-díaz M, Vanhoutte T, et al. *Anoxybacillus contaminans* sp. nov. and *Bacillus gelatini* sp. nov., isolated from contaminated gelatin batches. *Int J Syst Evol Microbiol*, 2004, 54: 941–946.
- [12] Pikuta E, Lysenko A, Chuvilskaya N, et al. *Anoxybacillus pushchinensis* gen. nov., sp. nov., a novel anaerobic alkaliphilic, moderately thermophilic bacterium from manure, and description of *Anoxybacillus flavithermus* comb. nov. *Int J Syst Evol Microbiol*, 2000, 50: 2109–2117.
- [13] Belduz AO, Dulger S, Demirbag Z, et al. *Anoxybacillus gonensis* sp. nov., a moderately thermophilic, xylose-utilizing, endospore-forming bacterium. *Int J Syst Evol Microbiol*, 2003, 53: 1315–1320.
- [14] Kevbrin VV, Zengler K, Lysenko AM et al. *Anoxybacillus kamchatkensis* sp. nov., a novel thermophilic facultative aerobic bacterium with a broad pH optimum from the Geyser valley, Kamchatka. *Extremophiles*, 2005, 9: 391–398.
- [15] Yumoto I, Hirota K, Kawahara T, et al. *Anoxybacillus voinovskiensis* sp. nov., a moderately thermophilic bacterium from a hot spring in Kamchatka. *Int J Syst Evol Microbiol*, 2004, 54: 1239–1242.
- [16] Dereková A, Sjöholm C, Mandeva R, et al. *Anoxybacillus rupiensis* sp. nov., a novel thermophilic bacterium isolated from Rupi basin (Bulgaria). *Extremophiles*, 2007, 11: 577–583.
- [17] Poli A, Esposito E, Lama L, et al. *Anoxybacillus amylolyticus* sp. nov., a thermophilic amylase producing bacterium isolated from Mount Rittmann (Antarctica). *Syst Appl Microbiol*, 2006, 29: 300–307.
- [18] Dulger S, Demirbag Z, Belduz AO, *Anoxybacillus ayderensis* sp. nov. and *Anoxybacillus kestanbolensis* sp. nov. *Int J Syst Evol Microbiol*, 2004, 54: 1499–1503.
- [19] 东秀珠, 蔡妙英. 常见细菌系统鉴定手册. 北京: 科学出版社, 2001.
- [20] 陈文新. 细菌系统发育. 微生物学报(*Acta Microbiologica Sinica*), 1998, 38(3): 240–243.

## Isolation and identification of a thermophilic bacterium from hot springs in Changbai Mountains

Donglai Liu, Jingang Cai, Tianyu Yao, Yanping Wang, Qingyang Kong, Yan Feng\*

(Key Laboratory for Molecular Enzymology and Engineering of the Ministry of Education, Jilin University, Changchun 130023, China)

**Abstract:** [Objective] We studied physiological and biochemical properties of a thermophilic bacterium isolated from hot springs in Changbai Mountain. [Methods] The strain CBS-5 (=JCM 15484) from hot springs in Changbai Mountains was isolated by plating and screening on Olive-rich medium. It was characterized by the physiological and biochemical analysis, 16S rDNA sequencing and determination of (G+C)mol% contents. [Results] The cells were Gram-positive, non-motile rods, spore-forming and generally occurred singly or in pairs. The growth temperature ranges from 48°C to 70°C, optimum at 65°C; growth pH ranges from 6.5 to 8.5, optimum at 7.7. The strain used glucose, sucrose, maltose, lactose and rhamnose as carbon and energy sources. The G+C content of DNA was 41.9 mol%. The major cellular fatty acids were iso-C<sub>15:0</sub>, C<sub>16:0</sub> and iso-C<sub>17:0</sub>, respectively representing about 24.20%, 20.45% and 17.42% of total fatty acids. The 16S rDNA sequence analysis showed that the strain belonged to the *Anoxybacillus* genus, for the sequence similarity was 95.1%–98.5% to other known species of *Anoxybacillus*. [Conclusion] Strain CBS-5 was a member of *Anoxybacillus*.

**Keywords:** Thermophilic bacterium; *Anoxybacillus*; fatty acid profiles; 16S rDNA