

DOI: 10.13376/j.cbls/2021005

文章编号: 1004-0374(2021)01-0036-08

噬菌体与细菌相互作用的分子机制研究进展

谢翰楠^{1#}, 安庆宇^{1#}, 刘畅^{1*}, 郭晓奎², 陈倩^{1*}

(1 上海交通大学医学院免疫学与微生物学系, 上海 200025; 2 国家热带病研究中心全球健康学院, 上海 200025)

摘要: 噬菌体与细菌是自然界中存在最广泛的两类微生物, 两者在群体水平、个体水平以及分子水平上均存在复杂的相互作用关系。细菌能够影响溶原性噬菌体的溶原-裂解决策, 而被噬菌体感染的细菌基因表达谱也会受到噬菌体影响, 使宿主菌的代谢、应激、抵抗力、毒性等多种性状发生改变。现从细菌和噬菌体两者的角度, 分别综述细菌抵抗噬菌体感染以及噬菌体对具有抗性的细菌进行再感染的机制。

关键词: 噬菌体; 细菌; 相互作用; 分子机制

中图分类号: Q933; R378; S852.61 **文献标志码:** A

Research progress in the interactions between bacteriophages and bacteria at the molecular level

XIE Han-Nan^{1#}, AN Qing-Yu^{1#}, LIU Chang^{1*}, GUO Xiao-Kui², CHEN Qian^{1*}

(1 Department of Microbiology and Immunology, Shanghai Jiao Tong University School of Medicine, Shanghai 200025, China; 2 School of Global Health, Chinese Center for Tropical Diseases Research, Shanghai 200025, China)

Abstract: Bacteriophages and bacteria are the most numerous biological entities among the microbiota in nature. There are complex interactions between them at the community level, individual level and molecular level. The lysis-lysogeny decisions of lysogenic phages can be affected by their bacterial hosts. Meanwhile, gene expression profiles of the infected bacteria can be modulated by bacteriophages, which could further influence multiple bacterial characteristics including metabolism, stress, resistance, toxicity, etc. In this review, mechanisms of the interactions between bacteriophages and bacteria at the molecular level were summarized respectively, including bacterial anti-phage defense systems and reinfection mechanisms of bacteriophages.

Key words: bacteriophages; bacteria; interaction; molecular mechanisms

在细菌对抗生素不断产生耐药性的局面下, 精准有效的噬菌体疗法再次受到广泛关注。此外, 随着对微生物群认知的不断深入, 通过噬菌体裂解宿主细菌以调控微生物群的作用效果和机制研究也逐渐受到重视。在此背景下, 噬菌体-细菌相互作用的分子机制研究为更好地理解噬菌体在耐药菌株感染防控以及调控微生物群中的作用机制提供基础, 甚至能够为基因工程改造噬菌体提供指导。得益于近年来快速发展的高通量测序技术及相应的分析手段, “组学”方法为微生物群研究开辟了新的途径, 并且使噬菌体-细菌相互作用的分子机制研究得以深入。本课题组长期致力于研究噬菌体-细菌相互作用的分子机制, 具有相关研究基础^[1]。本文

分别从细菌和噬菌体的角度出发, 对两者之间分子水平上的相互作用(包括细菌对噬菌体的作用以及噬菌体对细菌的作用)进行系统性综述, 有助于推动噬菌体在医疗卫生、动物医学等领域更好的应用。

1 细菌对噬菌体的作用

噬菌体和细菌之间存在寄生物-宿主^[2]以及捕食

收稿日期: 2020-05-26; 修回日期: 2020-10-29

*通信作者: E-mail: tiantianlc@sjtu.edu.cn (刘畅);

Xitiruo@sjtu.edu.cn (陈倩)

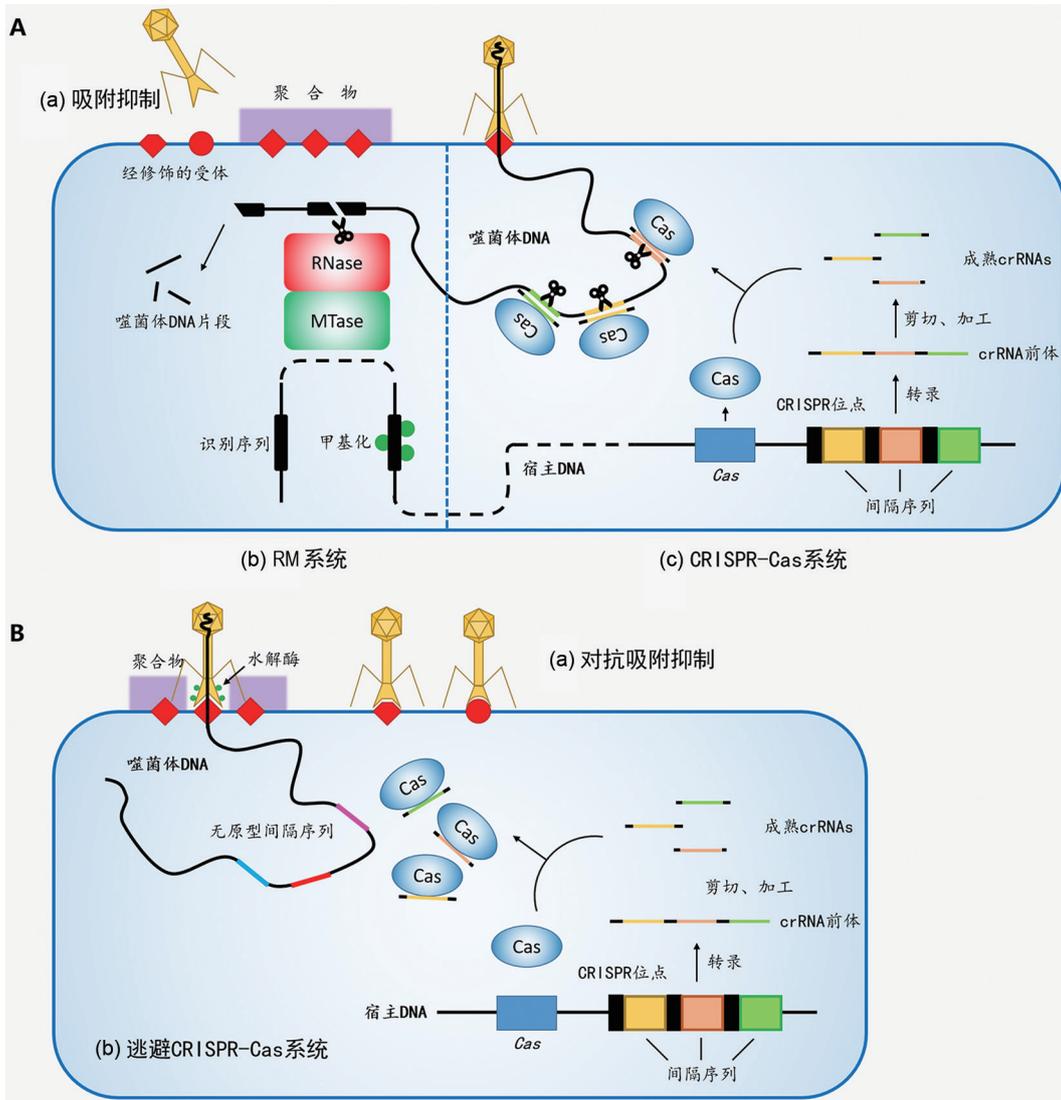
[#]共同第一作者

者-猎物^[3]的关系。前者寄生于后者胞内, 抢夺宿主细菌的营养资源, 并且裂解宿主细菌以释放子代噬菌体, 完成生命周期。在这种生存压力下, 细菌进化出多种抵御噬菌体感染的机制。而对于以前噬菌体(prophage)形式整合于宿主菌基因组上的溶原性噬菌体(lysogenic phage), 宿主菌则能够通过多种调控方式影响噬菌体的溶原-裂解决策。

1.1 抗噬菌体感染的耐受机制

噬菌体裂解周期可分为吸附、穿入、生物合

成、成熟和释放等5个阶段。针对以上环节, 细菌进化出了一系列抵抗噬菌体感染的机制, 主要包括吸附抑制(adsorption inhibition)、CRISPR-Cas系统、限制修饰系统(restriction modification system, RM系统)和流产感染(abortive infection, Abi), 其中吸附抑制在噬菌体侵染细菌的吸附过程发挥作用, CRISPR-Cas系统和RM系统通过降解穿入后的噬菌体DNA抵抗感染, 而Abi则涉及穿入、生物合成、成熟和释放各个环节。前3种机制如图1A所示。



A: 细菌抗噬菌体感染。(a)吸附抑制: 细菌表面受体改变或分泌聚合物掩盖受体, 阻碍噬菌体RBPs识别和结合; (b) RM系统: 噬菌体DNA进入宿主胞内被RNase识别特定序列并切割, 而宿主菌自身DNA由于被MTase甲基化而不受影响; (c) CRISPR-Cas系统: 细菌CRISPR序列经转录、加工得到携带有间隔序列信息的成熟crRNAs, 成熟crRNAs与Cas结合形成复合物, 其中crRNAs识别外源DNA上互补序列, 介导Cas对该序列切割和降解。B: 噬菌体再感染。(a)对抗吸附抑制: 噬菌体RBPs基因的变异使得RBPs结构变化, 从而可能重新识别并结合细菌表面受体; 也可通过分泌水解酶降解细菌表面聚合物, 暴露受体并结合吸附; (b)逃避CRISPR-Cas系统: 噬菌体DNA中不存在与宿主菌CRISPR间隔序列同源的基因序列, 无法被Cas复合物识别和切割。

图1 细菌抗噬菌体感染与噬菌体再感染的分子机制

1.1.1 吸附抑制

吸附是噬菌体感染细菌的第一步,由噬菌体的受体结合蛋白(receptor binding proteins, RBPs)与细菌表面受体的特异性结合介导,为噬菌体识别宿主菌株提供基础,并进而开始后续感染过程^[4]。针对该环节,细菌通过下调或修饰细胞壁上被噬菌体识别的受体,或者分泌物质形成荚膜、黏液层阻止噬菌体与细菌接触,以抵御噬菌体对细菌的吸附。对于前者,许多受体对细菌的正常生理活动具有重要作用,包括转运体蛋白、黏附分子、菌毛蛋白等,它们的修饰往往只会影响噬菌体的吸附而对其本身功能影响很小^[5]。后者例如大肠杆菌(*Escherichia coli*) K1形成荚膜阻碍噬菌体T7的感染,而对*E. coli* K1外层荚膜进行酶解之后, T7能够正常进行吸附及复制,提示荚膜的形成是细菌抗噬菌体感染的机制之一^[6]。

1.1.2 CRISPR-Cas系统

CRISPR-Cas系统是原核生物中唯一已知的适应性免疫系统,其行使功能分为3个阶段:获取间隔序列、crRNA的生物合成和靶向干扰。在第一个阶段,入侵的噬菌体序列被合并到CRISPR序列中,产生一个新的间隔序列,使宿主能够“记住”入侵噬菌体的遗传物质,从而体现出适应性,而Cas1和Cas2两种蛋白质参与了间隔序列的获取过程^[7];在第二个阶段,CRISPR序列被转录成一个长的前体crRNA,并被核糖核酸内切酶Cas6加工成包含已被记忆的入侵噬菌体序列的成熟crRNAs^[8];在第三个阶段,在成熟crRNAs引导下, I~V型CRISPR-Cas系统依赖Cas通过不同的途径与新入侵的同源核酸形成特异碱基配对,对其进行降解^[9]。

1.1.3 RM系统

RM系统由两种具有相反功能的酶组成,分别为识别并切割特异DNA序列的限制性核酸内切酶(restriction endonuclease, REase)和通过甲基化相同DNA序列使其免遭破坏的甲基转移酶(methyltransferase, MTase)。当噬菌体基因进入细菌内部时, REase识别其特定位点而行使切割功能,破坏外源DNA;而宿主DNA的相同位点则通常被MTase甲基化,无法被REase识别和破坏^[5,10]。通过REase对外源DNA的限制作用以及MTase对宿主DNA的修饰作用,细菌阻止了噬菌体感染,这也是RM系统这一名称的由来,然而该系统对于遗传物质为RNA的噬菌体并不具有抵御功能。

1.1.4 Abi

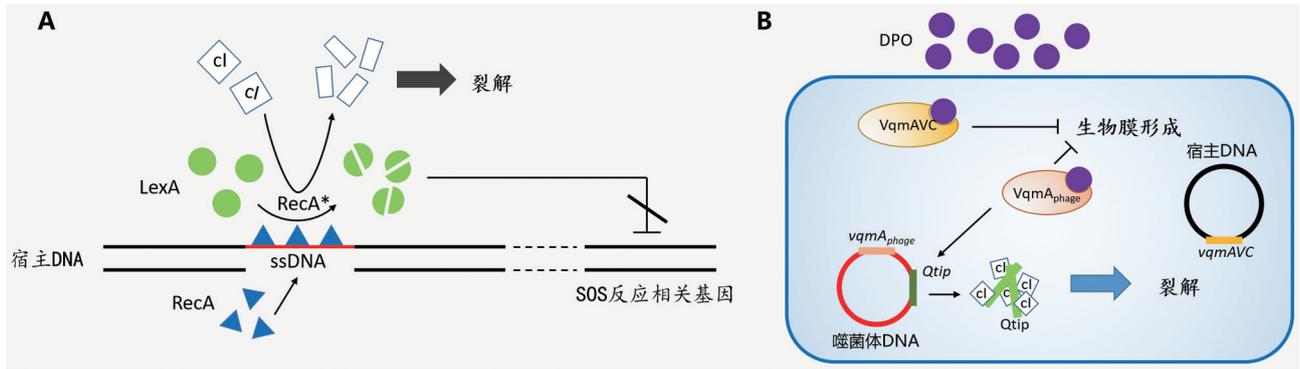
Abi抑制噬菌体复制周期的各个环节,但与其他系统不同的是,它们往往同时导致宿主细胞的死亡,从而使其余未受感染的细菌逃脱噬菌体感染^[11]。Abi系统通常由单个蛋白质或蛋白质复合物组成,一般在可移动遗传元件如前噬菌体和质粒上被发现^[11]。该抗感染系统种类繁多,仅在乳酸乳球菌(*Lactococcus lactis*)中就发现有23种,其中大部分发挥作用的分子机制尚不明确^[11-15]。研究发现, *L. lactis*质粒pNP40可编码AbiE和AbiF来抵抗噬菌体感染,前者在裂解周期晚期作用导致无DNA包装和子代噬菌体释放,后者延缓和阻碍DNA复制^[12,16]。此外, Abi系统还包括毒素-抗毒素系统(toxin-antitoxin system, TA系统)和Rex系统。TA系统由毒素和具有中和毒素作用的抗毒素组成。以II型TA系统为例,正常情况下抗毒素与毒素结合抑制毒素效应,而在噬菌体感染等应激刺激下相对不稳定的抗毒素降解,导致毒素诱导细菌死亡^[11,17]。Rex系统在整合了 λ 噬菌体基因组的*E. coli*中被发现,由RexA和RexB组成。RexA被噬菌体复制和重组中形成的DNA-蛋白质复合物活化后,激活胞膜上的离子通道RexB,引起膜电势降低,导致ATP减少与胞内生物合成受阻,从而抑制细菌生长和噬菌体复制^[18]。

1.2 宿主菌参与溶原性噬菌体的溶原-裂解决策

溶原性噬菌体具有溶原周期和裂解周期两种生活史,在感染宿主细菌后需要根据具体条件选择进入合适的周期,称为溶原-裂解决策。研究发现,宿主菌在这一决策的控制中起到重要作用,表现为特定情况下诱导溶原性噬菌体进入裂解周期。

1.2.1 SOS反应

*E. coli*在大量DNA突然损伤时可通过SOS反应得以存活^[19],而对于含有前噬菌体的*E. coli*, SOS反应同时能够诱导前噬菌体进入裂解周期。cI是 λ 噬菌体发生溶原-裂解转换的关键分子,具有抑制裂解周期相关基因的功能^[20]。当营养缺乏、不适宜的温度和pH、抗生素、过氧化氢、外源DNA、DNA损伤因子等因素诱导细菌产生SOS反应时^[21],在核苷三磷酸存在的情况下, RecA与ssDNA结合形成活性形式RecA*。一方面, RecA*刺激LexA自剪切, LexA失去抑制SOS相关基因表达的作用,启动SOS反应^[19];另一方面, RecA*使阻遏物cI失活,进而启动裂解周期相关基因表达,导致细菌裂解^[20]。相同的过程在噬菌体VP882中也有发现^[22]。SOS反应机制如图2A所示。



A: SOS反应。宿主菌自身表达RecA和LexA, 后者抑制细菌SOS反应相关基因的表达; 当宿主菌DNA损伤暴露ssDNA时, RecA与ssDNA结合形成具有蛋白酶活性的RecA*; 一方面, 水解LexA导致对SOS反应相关基因表达的抑制作用消失, 另一方面, 水解噬菌体裂解阻遏物cI, 噬菌体进入裂解周期。**B:** QS系统。细菌分泌自诱导物DPO并表达VqmAVC受体, 两者结合抑制细菌生物膜相关基因表达; 噬菌体VP882表达VqmAVC类似物VqmAphage, 与DPO结合形成的复合物, 一方面和VqmAVC-DPO复合物有相同抑制作用, 另一方面诱导噬菌体Qtip表达, 促使裂解阻遏物cI聚合失活, 噬菌体进入裂解周期。

图2 宿主菌控制溶原性噬菌体的溶原-裂解决策

1.2.2 不典型的SOS及其他诱导机制

依赖RecA的SOS反应系统是目前对前噬菌体诱导阐明得最为清楚的机制, 但也存在有其他途径, *tum*是一种由LexA控制的操纵子编码的基因, 表达的蛋白质Tum可以抑制cI的作用, 其表达受宿主LexA控制, 故可视为SOS反应, 与RecA使cI裂解失活不同, Tum的作用是可逆的^[23]。Rozanov等^[24]在其研究中发现了两种与SOS无关且不依赖于RecA的途径, 一种是*cps*操纵子的转录因子RcsA过表达, 通过抑制cI的合成或通过cI和一些其合成介导ResABC系统的蛋白质的相互作用来降低cI的活性; 另一种是Dsr的过表达, Dsr途径在指数期依赖RecA途径, 而在稳定期是一条独立的途径。然而这两条途径对前噬菌体更具体的诱导机制还有待深入研究。Lopez等^[25]研究发现, 氟喹诺酮类药物靶标的拓扑异构酶IV能够诱导肺炎链球菌(*Streptococcus pneumoniae*)的前噬菌体, 其机制可能是拓扑异构酶IV和DNA形成三元复合物或是对拓扑异构酶IV的抑制使DNA的超螺旋化发生改变, 从而调控转录。

1.2.3 群体感应(quorum sensing, QS)与自诱导物(autoinducer, AI)

研究发现, 噬菌体能对宿主菌AI作出反应而激活裂解途径^[26]。霍乱弧菌(*Vibrio cholera*)通过自诱导物DPO和受体VqmAVC构成的QS系统来抑制毒力和生物膜形成相关基因的表达^[27], 而噬菌体VP882也存在*vqmA*基因, 其表达产物VqmAphage同样能与宿主菌分泌的DPO结合。VqmAphage-DPO复合

物可作为转录因子诱导VP882 *qtip*基因的表达, 其产物Qtip使裂解抑制物cI聚合而失去作用, 从而激活噬菌体的裂解途径^[26](图2B)。

与QS系统极为相似的是噬菌体的arbitrium系统。噬菌体感染宿主菌后合成一种称为arbitrium的信号分子并由细菌分泌到胞外, 周围含有前噬菌体的细胞则通过噬菌体编码的受体识别该信号分子, 从而抑制裂解途径^[28-29]。由于该机制并非细菌对噬菌体的作用, 在此仅简要说明。

2 噬菌体对细菌的作用

在共进化的过程中, 噬菌体进化出了一系列机制来对抗细菌的抗感染系统。此外, 无论是溶原性噬菌体还是裂解性噬菌体(lytic phage), 都对宿主细菌基因表达具有调控作用, 且这种调控作用具有时序上的差异性和功能上的复杂性。噬菌体可能通过下调细菌的代谢效率, 接管细菌的代谢系统, 最终导致细菌的裂解, 也可能通过上调应激相关基因、细胞壁合成相关基因和抗性基因的表达提高细菌的适应性, 增高宿主的丰度来为自身的不断增殖提供基础, 甚至可以通过促进生物膜的合成, 减缓噬菌体颗粒的扩散, 防止细菌宿主的过快灭绝。

2.1 噬菌体重新感染的反制机制

针对于细菌宿主的抗感染机制, 噬菌体也进化获得了相应的反制策略, 包括对抗吸附抑制、逃避CRISPR-Cas系统和逃避Abi机制, 使噬菌体重新获得感染的能力, 也有利于细菌和噬菌体的共存与相互制衡。噬菌体再感染的机制如图1B所示。

2.1.1 对抗吸附抑制

针对细菌改变、掩盖、清除噬菌体吸附受体来阻碍噬菌体吸附的防御策略,噬菌体通过改变RBPs可以再次感染宿主。RBPs基因在自然情况下同样会发生变异,进而不同程度地改变RBPs对受体的亲和力,甚至发生RBPs特异性的改变^[30]。 λ 噬菌体cI26是一种专性感染*E. coli*的噬菌体,依赖于噬菌体尾部J蛋白和*E. coli*表面Lamb蛋白的特异性结合,但该噬菌体在共同培养过程中能通过识别*E. coli*表面OmpC介导吸附,进一步研究发现是编码J蛋白末端的基因序列发生突变,使其兼备识别Lamb和OmpC两种受体的能力^[31],说明噬菌体通过部分改变RBPs改变吸附靶点来应对细菌抗性的一种可能性。此外,针对细菌分泌多糖阻碍受体结合,少部分噬菌体可以降解多糖而完成吸附感染^[32]。

2.1.2 逃避CRISPR-Cas系统

研究发现,噬菌体可以逃避CRISPR-Cas系统的干扰降解,并继续感染已获得免疫的细胞,这是由噬菌体原型间隔序列(proto-spacer)发生突变所致。原型间隔序列是间隔在噬菌体基因组中的同源序列区,噬菌体逃脱CRISPR-Cas系统的策略之一是原型间隔序列或下游AGAA区域的核苷酸点突变或缺失^[33],与宿主CRISPR间隔序列无法完全匹配,因而不被清除。此外,噬菌体可以编码Acr蛋白,该蛋白质通过阻断CRISPR-Cas复合物的DNA结合活性或与Cas3解旋酶核酸酶结合,阻止其被招募到已结合DNA的CRISPR-Cas复合物,从而发挥抑制CRISPR-Cas系统的作用^[34]。

2.1.3 逃避Abi机制

噬菌体存在多种规避Abi的机制。T4噬菌体感染的*E. coli*表达反密码子核酸酶导致蛋白质合成和DNA复制受阻,引发Abi。但T4能通过表达多聚核苷酸激酶和RNA连接酶修复损伤的tRNA^[35]。对于TA系统,肌尾噬菌体 ϕ TE能编码抗毒素类似物中和毒素作用,终止Abi^[36]。Blower等^[37]研究发现,在编码M1-23蛋白的基因上发生突变的 ϕ M1突变株能抑制早期TA反应而有机会复制增殖,这可能是突变的M1-23蛋白不能与DNA修复蛋白UvrA发生作用,使得细菌短时间内通过SOS应答修复DNA,这提示了一种SOS应答相关的噬菌体规避Abi机制。

2.2 噬菌体感染引起宿主菌基因表达变化及生理状态差异

RNA-seq等高通量测序技术和生物信息分析技术提供了一种在特定时间和条件下研究群落中微生物

基因表达水平的方法^[38]。通过对感染噬菌体的细菌转录组的研究,人们发现宿主菌在感染过程中确实存在基因表达水平的变化,这种变化较为复杂,并随研究对象的改变而有明显的差异,差异表达的基因涉及宿主菌生理的各个方面^[39]。

2.2.1 噬菌体感染导致宿主菌基因表达差异时序上缺乏共性

早期关于噬菌体-细菌相互作用的转录组研究发现,噬菌体感染后的宿主菌的大量基因表达下调。近年来,多项研究表明噬菌体感染过程中宿主菌差异基因表达上调的现象也是广泛存在的,推测可能是噬菌体需要利用这些表达产物^[40-43]。此外,感染噬菌体的宿主菌的基因表达变化在时序上缺乏共性,即在不同噬菌体-细菌的感染组合中差异基因的上调和下调或者某一类基因发生变化表达的时期并不一致。例如,在 ϕ R1-37感染小肠结肠炎耶尔森菌(*Yersinia enterocolitica*)过程中,基因表达下调主要发生在感染早期,并随着感染时间的推移差异基因表达相对上调^[40];而在PaP3感染铜绿假单胞菌(*Pseudomonas aeruginosa*)时,差异基因表达的上调和下调均主要发生在感染中期,即生物合成期^[41]。在 ϕ R1-37感染*Y. enterocolitica*时,细菌基因组中应激反应相关基因在感染晚期表达上调^[40],但在 ϕ Abp1感染鲍曼不动杆菌(*Acinetobacter baumannii*)时,应激相关基因主要在感染潜伏期表达上调^[42]。

2.2.2 基因表达变化引起宿主菌生理多方面发生改变

噬菌体感染细菌过程中,可导致宿主菌多种生理过程相关基因表达水平发生改变,主要表现为代谢普遍抑制和应激反应增强,但在细胞壁合成、毒力和生物膜形成上缺乏共性。

2.2.2.1 代谢

被噬菌体感染的细菌通常表现为代谢相关基因的表达下调,使宿主菌正常物质和能量代谢活动受到抑制且影响范围广泛,包括糖类、脂质、蛋白质等;个别例子出现代谢相关基因表达上调。PaP3感染*P. aeruginosa*的最早期和stx噬菌体作为前噬菌体存在的过程中,细菌丙酮酸代谢受到明显抑制^[41]。噬菌体c2感染*L. lactis* IL1403过程中,参与脂质代谢、糖代谢、辅因子代谢、蛋白质和氨基酸代谢的基因均下调^[44]。PRR1、PaP3、 λ 噬菌体和stx前噬菌体感染使宿主菌大量呼吸链相关酶基因下调,对宿主能量代谢产生强烈抑制^[41,45],导致宿主趋化性和鞭毛装配能力受到显著影响^[41]。以上研究提示了噬菌体感染对宿主菌代谢的广泛抑制作用,但 ϕ R1-37感染*Y. enterocolitica*早期使宿主菌甘

油脱氢酶基因上调^[40], 说明噬菌体感染可能加强宿主菌代谢, 但类似研究结果少见, 推测属于个别情况。

2.2.2.2 应激 被噬菌体感染的细菌, 其应激相关基因也通常上调表达, 为细菌提供应激保护或进一步调节代谢。对 λ 噬菌体的研究发现, lambda-cIII可以间接诱导热休克调节子的表达, 热休克调节子中数个基因的转录在诱导后40 min显著增强, 60 min时被抑制; 同时, λ 噬菌体还可以介导宿主一般应激反应通路, 包括Arc和CPx双组分系统以及总调节因子crp和Irp^[46]。在 ϕ R1-37和*Y. enterocolitica*相互作用的研究中发现应激相关基因上调^[40]。在双链RNA噬菌体phiYY感染*P. aeruginosa*的过程中, 4个抗氧化应激基因的表达上调, 同时保护宿主菌和噬菌体RNA免受氧化损伤, 保证了噬菌体感染周期的完成^[1]。此外, 在噬菌体c2感染*L. lactis*的过程中也有和细胞壁应激反应相关基因的上调^[44]。

2.2.2.3 细胞壁 根据对噬菌体c2与宿主*L. lactis*、噬菌体phiIPLA-RODI与宿主金黄色葡萄球菌(*Staphylococcus aureus*)两种特定组合的研究, 发现噬菌体感染后细菌的细胞壁相关基因表达上调。*L. lactis*的ddl、dltA、dltB、dltC、dltD表达上调使细胞壁磷壁酸的D-丙氨酸化增强; *S. aureus*还存在编码天冬氨酸-半醛脱氢酶的基因上调, 使二氨基戊酸盐形成增多, 该物质对细菌细胞壁的形成起到重要的作用。以上变化推测与宿主细菌抵抗噬菌体感染有关, 但也可能是已经侵入的噬菌体防止其他噬菌体感染同一宿主的竞争策略^[44,47]。

2.2.2.4 抵抗性 在现有研究中发现, 噬菌体感染可诱导细菌抗性基因表达上调。Veses-Garcia等^[45]发现MC1061 (ϕ 24B)噬菌体感染后宿主菌的耐酸性高于野生株3倍, 其机制在于通过cII和cIII维持gadC的高水平表达, 后者与细菌耐酸性的形成直接相关。相对更为常见的是噬菌体对细菌耐药性的诱导, 例如噬菌体 ϕ Abp1感染*A. baumannii* 20 min时, 3个外排泵相关基因上调超过1.5倍^[42], 有利于抗菌药物的主动排出。这提示了噬菌体疗法可能存在的一种负面作用。

2.2.2.5 毒力 噬菌体既可能降低宿主菌致病性, 也可能增强其毒力。噬菌体 ϕ Abp1感染*A. baumannii*, 以及噬菌体phiIPLA-RODI感染*S. aureus*过程中的转录组分析发现, 被噬菌体感染后, 细菌毒力相关基因表达下调, 包括*A. baumannii*孔蛋白和菌毛相关基因^[42]以及*S. aureus*脂肪酶、 γ 溶血素、

金属蛋白酶和 δ 溶血素的编码基因^[47]。在噬菌体JD032感染艰难梭菌(*Clostridioides difficile*)晚期, 参与细菌黏附和毒素A合成的细胞表面蛋白基因cwp2与芽孢形成相关基因发生下调, 导致致病性降低^[1]。另一方面, 溶原性噬菌体以前噬菌体的形式整合至宿主菌基因组时, 能表达特定基因来赋予宿主菌毒力因子, 增强致病性。例如, 白喉棒状杆菌(*Corynebacterium diphtheria*)与溃疡棒状杆菌(*Corynebacterium ulcerans*)的白喉毒素实质上是棒状杆菌噬菌体的tox基因的表达产物^[48], 而 λ 噬菌体的lom和bor基因表达产物能够分别增强*E. coli*对人体口腔上皮细胞的吸附和在血清中的生存^[49-50]。

2.2.2.6 生物膜形成 噬菌体感染对细菌生物膜合成具有截然不同的作用。一方面, 通过影响curli结构蛋白的生成, 噬菌体可以抑制宿主菌细菌生物膜形成^[51], 利于感染以及子代噬菌体的释放; 另一方面, 被噬菌体感染的细菌也存在生物膜形成增强的情况, 对噬菌体的生存和增殖同样具有积极意义。研究发现, 低滴度噬菌体phiIPLA-RODI感染*S. aureus*的过程中, 宿主菌编码自噬素AtIA的表达上调, 导致细菌裂解, 促进环境DNA在细胞外基质中的累积, 最终形成富含DNA的生物膜, 进而保护细菌免受其他外部来源的压力, 减缓噬菌体扩散, 从而避免细菌的完全灭绝, 维持噬菌体与细菌的共存与平衡^[47]。

3 结语

细菌宿主和噬菌体能够在抵抗与再感染的过程中反复循环, 噬菌体可以选择蛰伏在宿主细胞内和宿主共存, 也可以选择进入裂解周期, 进行增殖。无论在自然环境中还是在肠道内, 噬菌体-细菌的相互作用均涉及复杂分子机制。本文系统性回顾了两者相互作用的分子机制, 重点阐述了细菌抗噬菌体感染和噬菌体再感染机制, 并对细菌参与溶原性噬菌体溶原-裂解决策机制和噬菌体感染对宿主细菌基因表达的调控进行说明。当然, 除了分子水平上的相互作用之外, 噬菌体与细菌两者还存在复杂的动力学关系, 在群体水平上被描述为多种动力学模型, 包括ARD (arm race dynamics)模型^[3]、FSD (fluctuating selection dynamics)模型^[3]、KtW (kill-the-winner)模型^[52]以及PtW (piggyback-the-winner)模型^[3,53]。而研究噬菌体与细菌的动态变化有助于阐明两者的宏观变化规律, 能够为更好地实现噬菌体在医疗、畜牧等产业中的应用打下基础。

本文就此不做赘述。

有关噬菌体和宿主菌感染-抗感染相互作用, 尽管目前越来越多的新机制被发现, 单一机制的研究也愈发深入, 但尚缺乏对于具备多种抗感染手段的宿主菌在噬菌体感染时各机制作用时序性的研究。这一过程可能与不同机制产生抗感染的“成本”、有效性和时效性有关, 而多时相的单核苷酸多态性研究可能在一定程度上可以回答该问题。另外, 噬菌体既可以增强宿主菌的毒力, 也可以降低其致病性。将可以降低病原菌致病性的噬菌体应用于肠道感染等情况, 可能将高致病性细菌“驯化”为低致病性细菌, 同时低致病性细菌与高致病性细菌的竞争也可能降低宿主菌发生抗感染的频率, 这将成为噬菌体疗法的一种新思路。目前已有研究基于组学数据库通过机器学习的方式实现噬菌体宿主配对以及预测噬菌体抗CRISPR序列^[54-56]。随着人工智能技术的迅猛进展, 在未来基于对单个噬菌体-宿主对之间相互作用的研究, 可以借助人工智能等手段对单个噬菌体-宿主对之间作用发生的可能性及参数进行设置, 从而对群体变化结果进行模拟, 并对比不同时间节点的实际数据来优化算法; 在出现难以解释的异常数据时, 甚至可以帮助人们逆向推测未发现的新机制。

[参 考 文 献]

- [1] Li T, Zhang Y, Dong K, et al. Isolation and characterization of the novel phage JD032 and global transcriptomic response during JD032 infection of *Clostridioides difficile* ribotype 078. *mSystems*, 2020, 5: e00017-20
- [2] Hall AR, Scanlan PD, Morgan AD, et al. Host-parasite coevolutionary arms races give way to fluctuating selection. *Ecol Lett*, 2011, 14: 635-42
- [3] Mirzaei MK, Maurice CF. Ménage à trois in the human gut: interactions between host, bacteria and phages. *Nat Rev Microbiol*, 2017, 15: 397-408
- [4] Bertozzi Silva J, Storms Z, Sauvageau D. Host receptors for bacteriophage adsorption. *FEMS Microbiol Lett*, 2016, 363: fnw002
- [5] Hyman P, Abedon ST. Bacteriophage host range and bacterial resistance. *Adv Appl Microbiol*, 2010, 70: 217-48
- [6] Scholl D, Adhya S, Merrill C. *Escherichia coli* K1's capsule is a barrier to bacteriophage T7. *Appl Environ Microbiol*, 2005, 71: 4872-4
- [7] Nuñez JK, Kranzusch PJ, Noeske J, et al. Cas1-Cas2 complex formation mediates spacer acquisition during CRISPR-Cas adaptive immunity. *Nat Struct Mol Biol*, 2014, 21: 528-34
- [8] Carte J, Wang R, Li H, et al. Cas6 is an endoribonuclease that generates guide RNAs for invader defense in prokaryotes. *Genes Dev*, 2008, 22: 3489-96
- [9] Hille F, Charpentier E. CRISPR-Cas: biology, mechanisms and relevance. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci*, 2016, 371: 20150496
- [10] Tock MR, Dryden DT. The biology of restriction and anti-restriction. *Curr Opin Microbiol*, 2005, 8: 466-72
- [11] Samson JE, Magadán AH, Sabri M, et al. Revenge of the phages: defeating bacterial defences. *Nat Rev Microbiol*, 2013, 11: 675-87
- [12] Chopin MC, Chopin A, Bidnenko E. Phage abortive infection in lactococci: variations on a theme. *Curr Opin Microbiol*, 2005, 8: 473-9
- [13] Durmaz E, Klaenhammer TR. Abortive phage resistance mechanism AbiZ speeds the lysis clock to cause premature lysis of phage-infected *Lactococcus lactis*. *J Bacteriol*, 2007, 189: 1417-25
- [14] Holubová J, Josephsen J. Potential of AbiS as defence mechanism determined by conductivity measurement. *J Appl Microbiol*, 2007, 103: 2382-91
- [15] Haaber J, Moineau S, Fortier LC, et al. AbiV, a novel antiphage abortive infection mechanism on the chromosome of *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris* MG1363. *Appl Environ Microbiol*, 2008, 74: 6528-37
- [16] Garvey P, Fitzgerald GF, Hill C. Cloning and DNA sequence analysis of two abortive infection phage resistance determinants from the lactococcal plasmid pNP40. *Appl Environ Microbiol*, 1995, 61: 4321-8
- [17] Hall AM, Gollan B, Helaine S. Toxin-antitoxin systems: reversible toxicity. *Curr Opin Microbiol*, 2017, 36: 102-10
- [18] Snyder L. Phage-exclusion enzymes: a bonanza of biochemical and cell biology reagents? *Mol Microbiol*, 1995, 15: 415-20
- [19] Maslowska KH, Makiela-Dzubska K, Fijalkowska IJ. The SOS system: a complex and tightly regulated response to DNA damage. *Environ Mol Mutagen*, 2019, 60: 368-84
- [20] Rokney A, Kobiler O, Amir A, et al. Host responses influence on the induction of lambda prophage. *Mol Microbiol*, 2008, 68: 29-36
- [21] Howard-Varona C, Hargreaves KR, Abedon ST, et al. Lysogeny in nature: mechanisms, impact and ecology of temperate phages. *ISME J*, 2017, 11: 1511-20
- [22] Maxwell KL. Phages tune in to host cell quorum sensing. *Cell*, 2019, 176: 7-8
- [23] Shearwin KE, Brumby AM, Egan JB. The Tum protein of coliphage 186 is an antirepressor. *J Biol Chem*, 1998, 273: 5708-15
- [24] Rozanov DV, D'Ari R, Sineoky SP. RecA-independent pathways of lambdaoid prophage induction in *Escherichia coli*. *J Bacteriol*, 1998, 180: 6306-15
- [25] Lopez E, Domenech A, Ferrandiz MJ, et al. Induction of prophages by fluoroquinolones in *Streptococcus pneumoniae*: implications for emergence of resistance in genetically-related clones. *PLoS One*, 2014, 9: e94358
- [26] Silpe JE, Bassler BL. A host-produced quorum-sensing autoinducer controls a phage lysis-lysogeny decision. *Cell*, 2019, 176: 268-80
- [27] Papenfort K, Silpe JE, Schramma KR, et al. A *Vibrio*

- cholerae* autoinducer-receptor pair that controls biofilm formation. *Nat Chem Biol*, 2017, 13: 551-7
- [28] Gallego Del Sol F, Penadés JR, Marina A. Deciphering the molecular mechanism underpinning phage arbitrium communication systems. *Mol Cell*, 2019, 74: 59-72
- [29] Erez Z, Steinberger-Levy I, Shamir M, et al. Communication between viruses guides lysis-lysogeny decisions. *Nature*, 2017, 541: 488-93
- [30] Letarov AV, Kulikov EE. Adsorption of bacteriophages on bacterial cells. *Biochemistry (Mosc)*, 2017, 82: 1632-58
- [31] Meyer JR, Dobias DT, Weitz JS, et al. Repeatability and contingency in the evolution of a key innovation in phage lambda. *Science*, 2012, 335: 428-32
- [32] Fernandes S, São-José C. Enzymes and mechanisms employed by tailed bacteriophages to breach the bacterial cell barriers. *Viruses*, 2018, 10: 396
- [33] Deveau H, Barrangou R, Garneau JE, et al. Phage response to CRISPR-encoded resistance in *Streptococcus thermophilus*. *J Bacteriol*, 2008, 190: 1390-400
- [34] Bondy-Denomy J, Garcia B, Strum S, et al. Multiple mechanisms for CRISPR-Cas inhibition by anti-CRISPR proteins. *Nature*, 2015, 526: 136-9
- [35] Amitsur M, Levitz R, Kaufmann G. Bacteriophage T4 anticodon nuclease, polynucleotide kinase and RNA ligase reprocess the host lysine tRNA. *EMBO J*, 1987, 6: 2499-503
- [36] Blower TR, Evans TJ, Przybilski R, et al. Viral evasion of a bacterial suicide system by RNA-based molecular mimicry enables infectious altruism. *PLoS Genet*, 2012, 8: e1003023
- [37] Blower TR, Chai R, Przybilski R, et al. Evolution of *Pectobacterium* bacteriophage Φ M1 to escape two bifunctional type III toxin-antitoxin and abortive infection systems through mutations in a single viral gene. *Appl Environ Microbiol*, 2017, 83: e03229-16
- [38] Parmar KM, Gaikwad SL, Dhakephalkar PK, et al. Intriguing interaction of bacteriophage-host association: an understanding in the era of omics. *Front Microbiol*, 2017, 8: 559
- [39] Fernandez L, Rodriguez A, Garcia P. Phage or foe: an insight into the impact of viral predation on microbial communities. *ISME J*, 2018, 12: 1171-9
- [40] Leskinen K, Blasdel BG, Lavigne R, et al. RNA-sequencing reveals the progression of phage-host interactions between ϕ R1-37 and *Yersinia enterocolitica*. *Viruses*, 2016, 8: 111
- [41] Zhao X, Chen C, Shen W, et al. Global transcriptomic analysis of interactions between *Pseudomonas aeruginosa* and bacteriophage PaP3. *Sci Rep*, 2016, 6: 19237
- [42] Yang Z, Yin S, Li G, et al. Global transcriptomic analysis of the interactions between phage ϕ Abp1 and extensively drug-resistant *Acinetobacter baumannii*. *mSystems*, 2019, 4: e00068-19
- [43] Zhong Q, Yang L, Li L, et al. Transcriptomic analysis reveals the dependency of *Pseudomonas aeruginosa* genes for double-stranded RNA bacteriophage phiYY infection cycle. *iScience*, 2020, 23: 101437
- [44] Fallico V, Ross RP, Fitzgerald GF, et al. Genetic response to bacteriophage infection in *Lactococcus lactis* reveals a four-strand approach involving induction of membrane stress proteins, D-alanylation of the cell wall, maintenance of proton motive force, and energy conservation. *J Virol*, 2011, 85: 12032-42
- [45] Veses-Garcia M, Liu X, Rigden DJ, et al. Transcriptomic analysis of Shiga-toxigenic bacteriophage carriage reveals a profound regulatory effect on acid resistance in *Escherichia coli*. *Appl Environ Microbiol*, 2015, 81: 8118-25
- [46] Osterhout RE, Figueroa IA, Keasling JD, et al. Global analysis of host response to induction of a latent bacteriophage. *BMC Microbiol*, 2007, 7: 82
- [47] Fernández L, González S, Campelo AB, et al. Low-level predation by lytic phage phiIPLA-RODI promotes biofilm formation and triggers the stringent response in *Staphylococcus aureus*. *Sci Rep*, 2017, 7: 40965
- [48] Sekizuka T, Yamamoto A, Komiya T, et al. *Corynebacterium ulcerans* 0102 carries the gene encoding diphtheria toxin on a prophage different from the *C. diphtheriae* NCTC 13129 prophage. *BMC Microbiol*, 2012, 12: 72
- [49] Vica Pacheco S, García González O, Paniagua Contreras GL. The lom gene of bacteriophage lambda is involved in *Escherichia coli* K12 adhesion to human buccal epithelial cells. *FEMS Microbiol Lett*, 1997, 156: 129-32
- [50] Barondess JJ, Beckwith J. A bacterial virulence determinant encoded by lysogenic coliphage lambda. *Nature*, 1990, 346: 871-4
- [51] Uhlich GA, Chen CY, Cottrell BJ, et al. Stx1 prophage excision in *Escherichia coli* strain PA20 confers strong curli and biofilm formation by restoring native mlrA. *FEMS Microbiol Lett*, 2016, 363: fnw123
- [52] Lim ES, Zhou Y, Zhao G, et al. Early life dynamics of the human gut virome and bacterial microbiome in infants. *Nat Med*, 2015, 21: 1228-34
- [53] Shkorporov AN, Hill C. Bacteriophages of the human gut: the “known unknown” of the microbiome. *Cell Host Microbe*, 2019, 25: 195-209
- [54] Leite DMC, Brochet X, Resch G, et al. Computational prediction of inter-species relationships through omics data analysis and machine learning. *BMC Bioinform*, 2018, 19: 420
- [55] Eitzinger S, Asif A, Watters KE, et al. Machine learning predicts new anti-CRISPR proteins. *Nucleic Acids Res*, 2020, 48: 4698-708
- [56] Young F, Rogers S, Robertson DL. Predicting host taxonomic information from viral genomes: a comparison of feature representations. *PLoS Comput Biol*, 2020, 16: e1007894