

有尾噬菌体的结构及其受体研究进展

李托 李陇平 屈雷

(1. 榆林学院生命科学学院, 榆林 719000; 2. 榆林学院 陕西省陕北绒山羊工程技术研究中心, 榆林 719000)

摘要: 随着“超级耐药”细菌的不断出现和快速传播, 噬菌体(细菌病毒)成为抗生素替代品研究的热点, 是解决抗生素耐药难题、促进养殖业健康发展的新途径。噬菌体能够特异性裂解宿主菌是其发挥治疗功效的关键, 然而噬菌体裂解细菌的特异性又取决于噬菌体受体结合蛋白与受体的识别与吸附。有尾噬菌体利用其受体结合蛋白(尾部纤维、尾钉和基板结构等)识别细菌表面受体(脂多糖、外膜蛋白、荚膜、鞭毛和菌毛等), 最终将细菌裂解。本文综述了有尾噬菌体及其受体结合蛋白的类型和结构, 以及噬菌体受体方面的研究进展, 讨论了基于噬菌体与宿主菌互作研究基础上的噬菌体治疗制剂的选择策略, 为后续深入研究噬菌体与其宿主菌互作机理、改造噬菌体和创制噬菌体生物杀菌制剂提供坚实的理论基础。

关键词: 有尾噬菌体; 结构; 受体结合蛋白; 受体; 噬菌体治疗制剂选择策略

DOI:10.13560/j.cnki.biotech.bull.1985.2022-1329

Research Progress in the Structure of Tailed Bacteriophage and Its Receptors

LI Tuo LI Long-ping QU Lei

(1. College of Life Sciences, Yulin University, Yulin 719000; 2. Shaanxi Province Engineering & Technology Research Center of Cashmere Goat, Yulin University, Yulin 719000)

Abstract: With the emergence and rapid spread of “super drug-resistant” bacteria, phages have become a research hot spot for antibiotic alternatives and a new way to solve the problem of antibiotic resistance and promote the healthy development of the farming industry. The key to the therapeutic role of phages is their ability of specifically lysing their host bacteria, while the specificity of phage lysis of bacteria depends on the recognition and adsorption of phage receptor-binding proteins to the receptor. Tailed bacteriophages use a broad range of receptor-binding proteins, such as tail fiber, tail spikes and the central tail spike, to target their cognate bacterial cell surface receptors lipopolysaccharide, outer membrane protein, capsule, flagella and pili, etc., and finally the bacteria are lysed. In the present review, we systematically summarized the research advances in the types and structures of tailed bacteriophage and its receptors. We also discussed the selection strategies of phage therapeutic agents based on the research foundation of phage-host interaction mechanism. It is aimed to provide a solid theoretical foundation for the further study of the mechanism of interaction between phages and their host bacteria, modification of phages and creation of phage biocidal agents.

Key words: tailed bacteriophage; structure; receptor-binding protein; receptor; selection strategy for phage therapeutic biological agents

超过 95% 的已知噬菌体都属于有尾噬菌体目(Caudovirales), 其典型特征为具有多面体头部和尾巴, 遗传物质为双链 DNA^[1]。传统上, 按

其形态结构可以将其分为 3 种类型: 肌尾病毒科(Myoviridae)、长尾病毒科(Siphoviridae)和短尾病毒科(Podoviridae)。最近几年, 随着测序技术的快

收稿日期: 2022-10-27

基金项目: 陕西省科技厅自然科学基金基础研究计划项目(2022JQ-187)

作者简介: 李托, 女, 硕士, 讲师, 研究方向: 动物营养与健康养殖; E-mail: lituo0105@126.com

通讯作者: 李陇平, 男, 博士, 讲师, 研究方向: 动物营养与牛羊噬菌体; E-mail: llp_315@163.com

速发展和成本降低,关于噬菌体基因组测序及其多样性的研究不断深入,也有学者提出了基于噬菌体基因组系统进化同源性的噬菌体重新分类标准,即将有尾噬菌体目(Caudovirales)修改为有尾噬菌体纲(Caudoviricetes),并按照噬菌体基因组序列之间的同源性将其划分为不同的目(Order)、科(Family)、亚科(Subfamily)、属(Genus)、种(Species)的新型噬菌体分类方法^[2]。但是,不管是传统的有尾噬菌体分类方法,还是基于噬菌体基因组系统进化同源性的噬菌体新型分类方法,以形态学为基础的噬菌体描述将会继续存在且永久使用,诸如肌尾噬菌体(Myophages)、长尾噬菌体(Siphophages)和短尾噬菌体(Podophages)等这些术语及其对噬菌体的描述^[2]。另外,本文主要在阐述有尾噬菌体受体结合蛋白及其受体的基础上,旨在提供一些基于噬菌体与宿主菌互作研究基础上的噬菌体治疗制剂的选择策略。所以,本文仍然采用传统的噬菌体分类方法,对有尾噬菌体形态学结构介绍的基础上,阐述有尾噬菌体及其受体结合蛋白的类型和结构,以及噬菌体受体方面的研究进展,讨论了基于噬菌体与宿主菌互作研究基础上的噬菌体治疗制剂的选择策略,以期理解噬菌体-宿主菌互作机理、改造噬菌体和创制噬菌体生物杀菌剂提供坚实的理论基础。

1 有尾噬菌体形态结构

肌尾科噬菌体(Myophages)具有可收缩的长尾,尾根有6根长的、可收缩的尾部纤维、基板结构、尾钉或中央尾纤维等结构^[3],典型代表有T4和Mu噬菌体等(图1-A)。尾管(tail tube)顶端连接衣壳,尾管底部连接噬菌体的基板结构(baseplate),尾管表面有能使其伸缩的尾鞘(sheath),衣壳和尾管之间由衣领(collar)结构连接。基板结构是肌尾科噬菌体和长尾科噬菌体特有的一种存在于尾根的蛋白质结构,由噬菌体尾根和尾根附属物构成,噬菌体的尾部纤维、尾钉和中央尾针等附着于基板结构^[4]。长尾科噬菌体(Siphophages)具有不可收缩长尾和基板结构,没有尾鞘,典型代表有肠杆菌噬菌体 λ 和T5噬菌体等(图1-B)。短尾科噬菌体(Podophages)具有不可收缩的短尾,没有尾鞘,上半部分直接由一个接合器蛋白(tail adaptor protein)连接短尾和

衣壳,底部喷嘴结构由6或12条尾部纤维或尾钉组成,没有基板结构^[5],典型代表为肠杆菌噬菌体T7和沙门噬菌体P22等(图1-C)。有尾噬菌体的尾部结构决定着噬菌体的特异性和感染过程^[6-7]。噬菌体依靠其尾部的受体结合蛋白(receptor-binding proteins, RBPs),包括尾部纤维(tail fibres)、尾钉(tail spikes)和基板结构(baseplate)等,与细菌表面受体(脂多糖、磷壁酸、菌毛等)相互作用和识别,并发生结合^[4,8],继而注入噬菌体DNA^[9],最终完成子代噬菌体组装和裂菌过程。噬菌体裂解细菌的特异性主要取决于噬菌体受体结合蛋白与其受体的相互识别^[10]。经典的研究证实,T4噬菌体基板结构含有短的(gp12)和长的(gp34-gp37)两种尾部纤维,在与受体相互作用的过程中,6根长的尾部纤维会交替形成折叠和伸展状态的不同结构^[7]。首先,一根伸展的长的尾部纤维可逆地、特异性地识别宿主特定受体(如LPS、OmpC等);紧接着,第二根长的尾部纤维在第一根长的尾部纤维解离之前结合到特定受体的特定位点,通过重复使用不同伸展状态下长的尾部纤维能够使噬菌体不断移动并最终找到合适的作用位点,再由短的尾部纤维进行不可逆地吸附,最终进行基因组注入^[7]。在此过程中,第一步的可逆吸附决定着T4噬菌体的宿主范围。当6根长的尾部纤维中的2根或3根和受体结合后,刺激基板的形态构造发生变化,从而使得一些短的尾部纤维不可逆地结合受体(LPS的外核心寡糖等)。基板进一步变形、变大,最终使其余短的尾部纤维与受体结合,噬菌体尾鞘(sheath)快速收缩,推动尾管(tube)使其穿入细菌膜^[7],最后注入基因组。所以,研究和寻找噬菌体受体结合蛋白及其受体对深入解析噬菌体的作用方式尤为重要。

2 有尾噬菌体受体结合蛋白

有尾噬菌体的受体结合蛋白具有较强的遗传可塑性,随着宿主菌和环境的变化,噬菌体能够进行适当的遗传变化,一定意义上具备持续感染宿主的功能。

2.1 尾钉(tail spikes)

有尾噬菌体的尾钉结构存在于尾根结构(基板或尾部纤维组成)的中央,也称为中央尾纤维(central

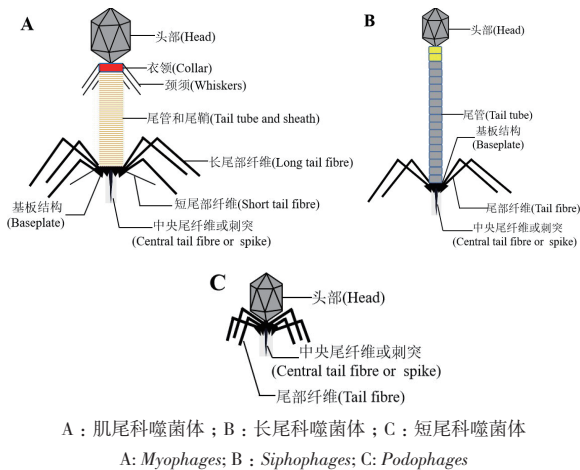


图1 有尾噬菌体的3种典型代表结构

Fig. 1 Three typical representative structures of tailed bacteriophages

tail fibre)^[4]。噬菌体 P22 的 gp22 蛋白结构是研究较为透彻的一个尾钉蛋白。它由一个 3 聚体结构组成, 每一个亚基蛋白有 3 个结构域。N (氨基) 末端颗粒结合结构域 (particle-binding domain) 附着于噬菌体尾巴^[11], C (羧基) 末端受体结合结构域介导 O-抗原的附着, 并具有糖苷酶活性, 切割 O-抗原并使其暴露于外膜^[12]。颗粒结合结构域与受体结合结构域 (receptor-binding domain) 通过一个构象高度可变的连接短肽 (short linker peptide) 连接在一起。当连接肽的构象改变信号传递到颗粒结合域引发 DNA 注入^[11]。一般地, P22 类噬菌体具有保守的颗粒结合域和可变的受体结合域^[13]。然而, 一些 p22 类噬菌体, 如 sp6 含有和 P22 一样的受体结合结构域, 而有着其他噬菌体的颗粒结合结构域^[14]。短尾噬菌体 SP6 (感染沙门氏菌) 和肌尾噬菌体 Det7 分别具有相似的尾钉蛋白 gp49 和 gp207, 暗示不同类型噬菌体之间存在受体结合区之间的信息交流^[15]。假单胞菌噬菌体 LKA1 尾钉蛋白含有 O5 血清型特异性多糖裂解酶^[16]。VI 类噬菌体 (感染沙门氏菌) 具有类似于短尾噬菌体 p22 样尾钉结构^[15, 17], 其尾钉结构中含有识别胞外多糖和去乙酰化的结构域, 能够识别含有 Vi 抗原的荚膜 (Vi 荚膜) 和没有 Vi 荚膜的细菌^[18]。总之, 尾钉结构较为保守, 但是其受体结合结构域的变化赋予噬菌体识别宿主的特异性。此

外, 尾钉蛋白还通常携带降解细胞壁和促进 DNA 注入的一些酶类。

2.2 尾部纤维 (tail fibres)

与尾钉不同, 尾部纤维通常没有酶的功能。T4 噬菌体尾部长纤维研究最为深入, 由 4 种不同蛋白质组成, 呈铰接式腿状 (articulated leg-like shape) 结构^[19]。近端段 (“大腿”) 由 gp34 蛋白同型三聚体组成, 远端段 (“小腿”) 由 gp36 蛋白三聚体和 gp37 蛋白三聚体组成, 两者由 gp35 单体构成的铰链 (“膝”) 连接在一起。其中, 蛋白三聚体的形成和组装需要噬菌体编码的伴侣蛋白参与^[20]。gp37 的受体结合区域是一个复杂的、三聚体相互交织的结构, 分为球状衣领结构域 (globular collar domain)、细长针状结构域 (elongated needle domain) 和头部结构域 (head domain)。球状衣领结构域是一个三聚体结构, 其中每个单体包括两个反向平行 β 折叠片和一个 α 螺旋。相反, 针状结构域是一个长的反向平行的 β 桶状蛋白, 由 3 个多肽组成。铁离子把这些不同的蛋白片段链连接在一起, 成为交织的核心, 头部结构域包含与宿主结合的残基^[21]。有研究表明头部结构域垂直结合到 Omp C 多聚体结构的中心, 其侧面在多个位点与孔蛋白的胞外环相互作用^[22]。

另外, T4 噬菌体的短尾纤维有一个简单的三股 β 螺旋结构^[23], 由 gp12 蛋白形成同型三聚体^[24]。同源三聚体的 N 末端部分附着在基板上, 而 C 末端部分与宿主受体结合^[23]。C 末端结构域含有金属锌离子结合位点^[23], 此结构域的正确折叠需要伴侣蛋白参与^[25]。短尾纤维与隐藏在基板中的受体结合区域连接, 在结构蛋白 gp10 帮助下实现旋转和伸展^[26], 并最终与受体结合。与 T4 噬菌体不同, 关于长尾噬菌体和短尾噬菌体尾部纤维结构的研究不多。长尾噬菌体 T5 的 L 型 pb1 纤维是由一个具有子弹状的 β 螺旋远端结构域和一个近端结构域组成的多聚体^[27]。短尾噬菌体 T7 的尾部纤维是拉长的 gp17 蛋白同型三聚体, 折叠不需要噬菌体伴侣蛋白, 颗粒结合结构域相对保守^[28], 受体结合结构域则各不相同, 用以识别不同的宿主^[29]。

总体来说, 有尾噬菌体尾部纤维具有与尾钉相似的模块化结构 (颗粒结合结构域和受体结合结构

域)。然而,尾部纤维在结构上通常比尾钉复杂,且需要伴侣分子才能正确折叠、发挥功能。与尾钉一样,尾部纤维也具有高度可变的受体结合结构域,参与可逆和/或不可逆吸附。虽然在尾部纤维基因中也发现了编码解聚酶的区域,但它们没有酶活^[30]。尾部纤维触发噬菌体一系列的构象变化,最终使噬菌体衣壳中的DNA注入宿主菌。

2.3 透膜蛋白(membrane-penetrating proteins)

噬菌体尾巴尖端需要穿透革兰氏阳性菌厚厚的肽聚糖和内膜结构,以及革兰氏阴性菌较薄的细胞壁和内、外细胞膜屏障。对于革兰氏阴性菌外膜蛋白的结构及功能研究较多,但对于噬菌体是如何穿透细菌内膜结构的机制尚不清楚,但可能涉及gp27或卷尺测量蛋白(tape measure protein)gp29。pb2和HK97分别是肠杆菌长尾噬菌体T5和HK97的卷尺测量蛋白,形成连接宿主细胞外膜和内膜的通道。pb2有3个结构域:一个横跨尾巴的卷曲螺旋结构域,作为触发和打开头-尾连接器通道的传感器;一个由两个 α 螺旋构成的跨膜结构域;和一个金属肽酶基序^[31],跨膜结构域和金属肽酶结构域位于由pb5形成的纤维内。pb5与宿主受体FhuA的结合引起pb2构象发生变化,导致噬菌体衣壳DNA释放。同时,pb2金属肽酶降解肽聚糖,使外膜和内膜融合,形成DNA转移孔^[31]。目前还不清楚pb2是如何使膜融合的,相比之下,其他长尾噬菌体(如噬菌体HK97)需要宿主蛋白才能穿透膜。遗传研究表明,HK97进入细胞质,并在宿主伴侣分子FkpA协助下,组装成导管。HK97随后与内膜葡萄糖转运蛋白PtsG相互作用,并锚定在外膜和内膜表面,从而使噬菌体DNA进入细菌胞质^[32]。短尾噬菌体P22针状蛋白gp26是一种同型三聚体的扭曲纤维,针头的N端结构域是由疏水分子和 α 螺旋形成,其功能是门脉蛋白通道的塞子^[33]。C端包含3个 β 螺旋和一个 α 螺旋结构域,介导细胞膜的穿透^[34]。芳香族酪氨酸残基位于gp26针头的末端,通过侵入外膜,启动与宿主的接触,从而使膜发生融合并触发构象变化。与P22一样,芽孢杆菌短尾噬菌体 ϕ 29有一个能穿透细胞的尾端,但是这个尾尖是gp9和gp13蛋白形成的一个“球状突出物”结构^[35]。gp9是一

个圆柱形的、类似管状的检测器,它有一个 β 桶状蛋白N端域,一个由 α/β 和一个中间 β 结构域组成的中心管,以及顶端的另一个 β 结构域;一个疏水的长环(L环)从靠近尖端 β 结构域的内壁突出,并填充了大部分管的内部;在脱离管时,L环形成一个圆锥状的尖端,穿透膜并形成通道,以便DNA释放到细胞中^[36]。此外,该复合物含有gp13蛋白酶活性用来降解肽聚糖^[35]。

透膜蛋白在结构和功能上有别于噬菌体尾部纤维和尾钉结构。主要功能是突破细胞边界。此外,一些膜穿透蛋白还参与吸附宿主受体,决定着噬菌体的宿主谱范围,比如像 λ 噬菌体的gpJ透膜蛋白^[37]。

3 有尾噬菌体受体

噬菌体与细菌相互作用的特异性不仅依赖于噬菌体受体结合蛋白,而且决定于宿主菌表面的受体类型及结构。目前研究确认的受体几乎都被定位在细菌结构中。革兰氏阴性菌由两层膜包围:内膜和外膜。内膜由磷脂组成;外膜内侧是磷脂,外侧是由O抗原、核心多糖和脂质A组成脂多糖(lipopolysaccharide, LPS);外膜上还镶嵌有大量的外膜蛋白。细菌的外膜蛋白和脂多糖是革兰氏阴性菌(如志贺菌、埃希菌属、霍乱弧菌属等)噬菌体最重要和最广泛的受体(表1)。然而,对于革兰氏阳性菌,细菌的肽聚糖结构、磷壁酸及细菌的附属结构都可以作为噬菌体受体(表2)。

3.1 革兰氏阴性菌噬菌体主要受体

脂多糖是革兰氏阴性菌最常见的噬菌体受体,如裂解鼠疫耶尔森氏菌和结核耶尔森氏菌的phiA1122^[68],裂解小肠结肠炎耶尔森氏菌的Phi-YeO3-12^[69],裂解鼠伤寒沙门氏菌的P22^[70],以及裂解铜绿假单胞菌的PaP1等^[71]都以宿主LPS作为其受体。有些噬菌体通过识别核心寡糖感染宿主菌^[22],而有些是通过识别O抗原吸附到细菌表面^[72]。尽管LPS核心多糖结构保守,但是O-抗原的存在会阻止噬菌体与LPS核心多糖的结合^[73]。噬菌体可以利用尾部纤维识别并水解O-抗原^[16],短尾噬菌体T7和长尾噬菌体SSU5分别利用尾部纤维gp17和gp22结合志贺氏菌、埃希氏菌和沙门氏菌的脂多糖^[6,43]。同一种噬菌体与不同种属的细菌相互

表 1 革兰氏阴性菌噬菌体受体结合蛋白与受体类型

Table 1 Gram-negative bacteria-specific bacteriophage receptor binding proteins and receptors						
噬菌体类型	特征	噬菌体	宿主细菌	噬菌体受体结合蛋白	受体	参考文献
Phage type	Features	Phage species	Host bacterium	Receptor-binding protein	Receptor	References
肌尾科噬菌体 <i>Myoviridae</i>	具有长的可收缩尾巴 Long contractile tail	T2、T4	大肠杆菌 <i>Escherichia coli</i>	尾部纤维	OmpC、OmpF	[22, 38]
		SPN3US	沙门氏菌 <i>Salmonella enterica</i>	尾部纤维	鞭毛	[39]
		MAM1	沙雷氏菌属、克鲁维菌属 <i>Enterobacterial genera Serratia and Kluyvera</i>	尾钉	荚膜	[40]
		Det7	沙门氏菌 <i>S. enterica</i>	尾钉	脂多糖	[15]
		JG004	铜绿假单胞菌 <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	-	脂多糖	[41]
长尾科噬菌体 <i>Siphoviridae</i>	具有长的不可收缩尾巴 Long non-contractile tail	T5	大肠杆菌 <i>E. coli</i>	尾部纤维	脂多糖 O 抗原	[42]
		SSU5	沙门氏菌 <i>S. enterica</i>	尾部纤维	脂多糖核心多糖	[43]
		λ、TLS、H8、 phi2013	大肠杆菌 <i>E. coli</i>	尾部纤维	LamB、TolC、 FepA、FhuA	[44–47]
		iEPS5	沙门氏菌 <i>S. enterica</i>	尾部纤维	鞭毛	[48]
		DMS3	铜绿假单胞菌 <i>P. aeruginosa</i>	尾部纤维	菌毛	[49]
		Vi-II	沙门氏菌 <i>S. enterica</i>	尾钉	荚膜	[18]
		9NA	沙门氏菌 <i>S. enterica</i>	尾钉	脂多糖	[33]
		phiChi13、phiCbK	<i>Caulobacter crescentus</i>	衣壳	鞭毛	[50]
		SPC35	沙门氏菌 <i>S. enterica</i>	尾部纤维	BtuB	[51]
		SPN7C、9C、10H、 12C、14、17T、18	沙门氏菌 <i>S. enterica</i>	-	鞭毛 Flagella、 BtuB、脂多糖 O 抗原	[52]
		T3、T4、T7	大肠杆菌 <i>E. coli</i>	尾部纤维	LPS, OmpC	[6, 53–54]
		Bp7	大肠杆菌 <i>E. coli</i>	-	LamB、OmpC、 HepI	[55]
短尾科噬菌体 <i>Podoviridae</i>	具有短的可收缩尾巴 Short contractile tail	Yep-phi	鼠疫耶尔氏菌 <i>Yersinia pestis</i>	尾部纤维	Ail、OmpF	[56]
		MPK7	铜绿假单胞菌 <i>P. aeruginosa</i>	尾部纤维	IV 型菌毛	[57]
		phiK1-K5	大肠杆菌 <i>E. coli</i>	尾钉	荚膜	[58]
		P22	沙门氏菌 <i>S. enterica</i>	尾钉	脂多糖 O 抗原	[59]
		Sf6	志贺氏杆菌 <i>Shigella flexneri</i>	尾钉	OmpA	[60]

作用，可以识别和结合脂多糖核心多糖的不同结构，并且结合难易程度决定着噬菌体裂菌谱范围^[74]。

另外，有些噬菌体结合细菌的外膜蛋白，像维生素 B₁₂ 摄取蛋白 BtuB^[51]、离子泵蛋白 TolC^[75]、铁运输蛋白 FhuA^[76]、TonB^[44]、OmpC^[55] 和 OmpF^[56] 等。很多大肠杆菌的外膜蛋白都是噬菌体受体，噬菌体 Sf6 以外膜蛋白 OmpA 表面环和 OmpC 为受体^[77]，外膜蛋白 OmpW 是霍乱弧菌噬菌体 VP5 的受体^[78]。除此之外，不同噬菌体吸附细菌表面受体不同，可能是单一受体也可能是多个受体，单一

受体如 λ 噬菌体受体^[79]，而外膜蛋白 Ail 和 OmpF 共同介导噬菌体 Yep-phi 的特异性^[56]。噬菌体 Sf6（短尾噬菌体）与宿主菌相互作用的过程中，LPS 充当一级受体介导初始的、可逆的结合^[80]，随后 OmpA 或 OmpC 充当二级受体，介导不可逆的相互作用^[60]。对噬菌体 Bp7 的研究表明，大肠杆菌 K-12 表面的 LamB 和 OmpC 蛋白是 Bp7 第一步可逆吸附的特定受体，多糖内核 HepI 作为噬菌体 Bp7 识别的第二个受体，对噬菌体 Bp7 的感染至关重要^[55]。肌尾科噬菌体 T4 也能够同时以 OmpC 和脂多糖为受

表 2 革兰氏阳性菌噬菌体受体结合蛋白与受体类型

Table 1 Gram-positive bacteria-specific bacteriophage receptor-binding proteins and receptor types						
噬菌体类型	特征	噬菌体	宿主细菌	噬菌体受体结合蛋白	受体	参考文献
Phage type	Features	Phage species	Host bacterium	Receptor-binding protein	Receptor	References
肌尾科噬菌体	具有长的可收缩尾巴	γ	炭疽杆菌 <i>Bacillus anthracis</i>	尾部纤维	GamR	[61]
		A511	李斯特菌 <i>Listeria monocytogenes</i>	尾部纤维	磷壁酸, 肽聚糖	[62]
		ϕ 812、 ϕ K	金黄色葡萄球菌 <i>Staphylococcus aureus</i>	-	磷壁酸	[63]
长尾科噬菌体	具有长的不可收缩尾巴	IL-H	德氏乳酸杆菌	尾部纤维	磷壁酸	[64]
		SPP1	枯草芽孢杆菌 <i>B. subtilis</i>	尾钉	YueB	[65]
		ϕ SLT	金黄色葡萄球菌 <i>Staphylococcus aureus</i>	中央尾尖	磷壁酸	[66]
短尾科噬菌体	具有短的可收缩尾巴	phi29	枯草芽孢杆菌 <i>B. subtilis</i>	尾钉	磷壁酸	[35]
		P2	乳酸乳球菌 <i>Lactococcus lactis</i>	尾部纤维	细胞壁	[67]

体进行吸附^[22]。由于已经鉴定出很多外膜蛋白都可以作为噬菌体受体（OmpA、OmpF、OmpC、Ail、LamB、FepA、TolC、TonB、BtuB等）^[4]，并且它们结构上具有一定的相似性^[81]，推测这些不同外膜蛋白的同源区域对于噬菌体发挥作用具有重要意义。

3.2 革兰氏阳性菌噬菌体主要受体

革兰氏阳性菌细胞壁的主要成分是由 N-乙酰氨基葡萄糖、N-乙酰胞壁酸与 4-5 个氨基酸短肽聚合而成的多层网状大分子肽聚糖结构。N-乙酰氨基葡萄糖和 N-乙酰胞壁酸重复交替排列构成肽聚糖的骨架，短肽通过羟基附着在 N-乙酰胞壁酸上。除此之外，革兰氏阳性菌细胞壁还含有由核糖醇或甘油经磷酸二键连接而成的磷壁酸。对于金黄色葡萄球菌，长尾科噬菌体优先结合到细胞壁的支链及其取代基，而肌尾科噬菌体更倾向于结合肽骨架^[63]。磷壁酸能够作为金黄色葡萄球菌噬菌体的受体^[63]。但是，金黄色葡萄球菌噬菌体对磷壁酸是可逆性吸附，不可逆的吸附需要肽聚糖的四肽短链^[74]或者肽聚糖胞壁酸 O-乙酰基^[82]。除此之外，噬菌体还可以识别革兰氏阳性菌的一些蛋白质，比如炭疽杆菌细胞壁 GamB 蛋白、枯草芽孢杆菌 YueB^[83]、乳酸菌噬菌体侵染蛋白 Pip^[84]。噬菌体还可以结合乳球菌一种独特的细胞壁多糖结构 - 细菌薄膜，膜的半保守核心基序促进了噬菌体的初始结合，其余膜聚合物之间的差异决定其特异性^[85]。另外，细菌可以通过交换细胞表面成分，改变它们对噬菌体的敏感性，如

YueB 蛋白介导的枯草芽孢杆菌细胞表面物质交换使得噬菌体 SPP1 能够感染以前不敏感的菌株^[86]。到目前为止，革兰阳性细菌中发现的噬菌体受体比革兰阴性菌要少很多，造成这种差异的主要原因是革兰氏阳性菌致密的细胞壁和鉴定这些受体面临技术上的一些限制。随着科学技术的进步和研究噬菌体手段的革新，比如冷冻电镜技术的应用和发展，将有望探秘更多革兰氏阳性菌噬菌体受体。

3.3 细菌的附属结构作为噬菌体受体

3.3.1 鞭毛和菌毛作为噬菌体受体 细菌的附属结构鞭毛^[87]和菌毛^[57, 88]也能够作为噬菌体受体。如沙门氏菌 Ieps5^[48]、柄杆菌噬菌体 phiCbK^[50]、芽孢杆菌噬菌体 PBS1^[89]通过其尾部纤维结合细菌鞭毛蛋白 FliC、FliCB 和 FliK，随着鞭毛的运动最终将噬菌体传递到它们的最终受体^[90]。长尾噬菌体 AcM4 和 AcMS2 特异性地利用尾巴与鞭毛结合，尾部末梢则吸附细菌表面^[91]。另外，假单胞菌有尾噬菌体常利用细菌菌毛为其识别受体，噬菌体 phiKMV^[92]和 MPK7^[57]特异性地结合 IV 型菌毛。此外，铜绿假单胞菌还可通过糖基化 IV 菌毛的方式阻断噬菌体吸附^[93]。噬菌体与细菌附属结构的有效结合，也增加了噬菌体对细菌附着和侵染的概率^[50]。

3.3.2 荚膜和黏液层作为噬菌体受体 有些细菌产生多糖荚膜或 / 和黏液层。这些结构可以阻止噬菌体进入并结合细胞壁受体，但同时也是噬菌体吸附的受体^[94]。沙门氏菌和大肠杆菌的荚膜含有 Vi 抗

原,沙门氏菌噬菌体 ViO1^[17]和肺炎克雷伯氏菌肌尾噬菌体 o507-KN2-1^[95]能够与 Vi 抗原结合。其中,荚膜发挥一级受体的功能,而细胞壁介导不可逆结合^[96]。

4 基于噬菌体-宿主菌互作机理研究的噬菌体治疗制剂选择策略

理解噬菌体受体结合蛋白及其受体的具体位置、功能及其互作机理能够为革新和创新噬菌体治疗方法打开一扇大门。噬菌体治疗的最大优势是它的多样性和多功能性,众所周知,自然界中的噬菌体数量几乎是无限的,可以通过设计噬菌体鸡尾酒制剂,寻找新型噬菌体衍生抗菌剂,以及利用噬菌体抗性突变等途径,为噬菌体及其生物制剂的研发和应用提供选择策略。

4.1 噬菌体鸡尾酒制剂

细菌具有快速进化出噬菌体抗性表型的特征^[97],为了提高裂菌效果和克服噬菌体抗性突变的产生,多种不同噬菌体混合后制成噬菌体鸡尾酒制剂无疑是一个不错的选择。但是,噬菌体鸡尾酒制剂并不是各种不同噬菌体的随机混合,而是通过理论上的优选或排除等优化设计,基于科学试验得出的不同噬菌体混合物^[98]。噬菌体鸡尾酒中的噬菌体越多,其药代动力学、药效学 and 安全性就越难预测,生产也越发复杂^[99]。所以,可以利用噬菌体受体结合蛋白及其受体的类型作为优化鸡尾酒的标准。例如,可以优先考虑针对相同宿主菌不同受体的噬菌体之间的组合,以减少产生噬菌体抗性的可能性和噬菌体之间潜在拮抗作用。Yang 等^[100]设计针对铜绿假单胞菌的噬菌体鸡尾酒制剂中含有针对 O 抗原的噬菌体,以及能够对 O 抗原产生抗性以后发挥作用的 O 抗原截短体的第二噬菌体。Tanji 等^[101]将针对两种不同受体的噬菌体结合起来,与单噬菌体治疗相比,成功延迟了大肠杆菌 O157:H7 噬菌体的抗性表型出现的时间。Gu 等^[102]设计了一种针对肺炎克雷伯菌的噬菌体鸡尾酒,用 3 种噬菌体靶向 3 种不同的受体,取得了较好的治疗效果。除此之外,还可以通过分离可以结合一种以上不同受体或可以与同一受体的不同构象结合的噬菌体,实现噬菌体制剂的研发。Takeuchi 等^[103]研究了葡萄球菌 Twort

样噬菌体利用细胞壁中的磷壁酸作为其受体,而宿主的糖基化修饰并不影响噬菌体受体的功能,使其成为噬菌体鸡尾酒制剂的理想成分。使用基于优化受体的噬菌体鸡尾酒,可以最大限度地发挥其裂菌作用范围,同时可以有效降低噬菌体抗性产生的几率。

4.2 新型噬菌体衍生抗菌剂

对于某些噬菌体来说,到达位于细胞膜深层的受体需要突破诸如生物膜、荚膜或脂多糖等生物屏障,还有的噬菌体与受体的结合过程需要对受体本身进行一些必要的酶解^[104]。在这种情况下,成功吸附到受体需要噬菌体进行一些精确的酶切,以避免噬菌体在自身遗传物质复制完成之前对细菌的生存能力造成致命的损伤。噬菌体基因组编码许多能够执行这些功能的酶,这些蛋白质位于噬菌体的尾部纤维、尾钉或基板结构中,也包括一些噬菌体透膜蛋白,其中许多酶都能独立地表现出一些抗菌特性^[105]。例如,革兰氏阴性菌和革兰氏阳性菌的有尾噬菌体通常均含有肽聚糖降解酶,包括内肽酶^[106]、N-乙酰胞壁酰-L-丙氨酸酰胺酶^[107]、N-乙酰葡萄糖胺酶^[108-109]、溶菌酶^[110]、糖基转移酶^[111]等。N-乙酰-β-D-葡萄糖胺酶和 N-乙酰-β-D-胞壁酸酶都能作用于细菌细胞壁上的多糖;内肽酶水解肽链和交联桥之间的氨基或肽键连接体;N-乙酰胞壁酰-L-丙氨酸酰胺酶能够水解连接糖链和肽基的酰胺键。虽然这些酶不是噬菌体感染细菌所必须,但是它们具有局部降解肽聚糖或使肽聚糖层结构发生变化的功能^[112],在特定的条件,能够为噬菌体有效侵染细菌提供便利。有些噬菌体尾钉蛋白中的果胶裂解酶能够作用于糖苷键,从而使细菌毒力减弱^[113]。不同类群 Vi 噬菌体的乙酰酯酶能够作用于多糖结构中的乙酰基^[18]。感染具有荚膜细菌的噬菌体通常编码一些针对细菌生物膜活性的酶类^[114]。有研究证实,解聚酶被噬菌体用来接触多糖隐藏的受体,或者在多糖链是受体的情况下,解聚酶将其自身裂解,从而起到稳定附着的作用^[115]。Born 等^[116]对 *Erwinia amylovora* 噬菌体的研究证实,噬菌体衍生蛋白(包括解聚酶)可以用来揭开深层噬菌体受体的面纱,继而引发对宿主细菌的感染。另外,大多数

有尾噬菌体具有裂解酶-穿孔素裂菌系统,可以通过克隆、表达噬菌体裂解酶和穿孔素蛋白,或通过分子设计和表达一些裂菌模块蛋白^[117],都能发挥理想的裂菌功效。所以,理解噬菌体受体结合蛋白及其受体的位置和结构,以及噬菌体与宿主菌互作过程,有助于发现或设计新的噬菌体衍生抗菌物质。

4.3 认识和利用噬菌体抗性突变

在致病菌中,多数噬菌体受体是具有重要作用和功能的毒力因子,这些受体包括荚膜多糖、黏附素、侵袭因子和LPS的不同成分等。这些重要结构的改变或丢失均会导致噬菌体抗性突变的发生,同时影响了细菌毒力和生理功能^[118-119]。因此,这也是噬菌体治疗的一个优点。铜绿假单胞菌噬菌体OMKO1的受体是药物外排泵的膜成分,随着该受体功能的丧失,噬菌体出现抗性突变,在没有外排泵的情况下,耐药菌株的抗生素敏感性也得到了恢复^[120]。Filippov等^[121]在鼠疫耶尔森菌脂多糖(LPS)的不同部位为8种噬菌体鉴定出了6种受体。然后,他们研究了噬菌体耐药性与LPS生物合成不同酶的突变体之间的关系,发现LPS分子的不同截短体影响了细菌毒性的强弱。Capparelli等^[122]确定噬菌体M^{Sa}使用细胞壁的N-乙酰氨基葡萄糖作为其受体,受体一旦丢失或被破坏,噬菌体抗性突变体表现出生长下降和基因表达失调。Gordillo Altamirano等^[123]发现,鲍曼不动杆菌噬菌体利用细菌荚膜作为其受体,破坏细菌荚膜物合成的基因后,噬菌体无法完成吸附过程而产生抗性。鲍曼不动杆菌在失去荚膜后,无法形成生物膜,在小鼠菌血症模型中失去了毒性,并且易受多种抗菌剂的影响。或者,使用纯化的噬菌体解聚酶也可以获得和细菌荚膜丢失类似的临床效果^[124-125]。另外, Kim等^[126]研究发现,噬菌体SPC35能够裂解大肠杆菌和肠道沙门氏菌,其发挥裂菌作用的受体为参与维生素B₁₂摄取的膜蛋白BtuB。虽然通过破坏受体而产生的这种噬菌体抗体突变体的毒力降低不会受到多大影响^[127],但是通过细菌营养素的调控作用可能对细菌的生长等产生重要影响。综上所述,基于受体改变或丧失的噬菌体抗性突变的应用是噬菌体治疗制剂选择的可行策略。Capparelli等^[122]建议将对噬菌体产生抗性

突变的菌株用作疫苗。Gordillo Altamirano等^[123]研发了一种针对鲍曼不动杆菌的噬菌体治疗模型,该模型利用了通过细菌荚膜丢失而出现的抗菌药物再敏化现象,该模型在鲍曼不动杆菌败血症的临床案例研究中得到了很好的应用^[128]。

5 总结与展望

虽然关于噬菌体与宿主相互作用的机制研究报道较多,但是,由于噬菌体及其受体结合蛋白的结构复杂多样、作用方式千变万化,所以很多机理性问题还有待于进一步探索。虽然噬菌体受体结合蛋白结构很难预测,但其模块化的结构(如C端结构域的变化改变着其识别宿主的范围)为噬菌体的功能研究提供了可行的思路和方法。噬菌体受体的结构多样性揭示了噬菌体与细菌共同进化的过程和噬菌体宿主特异性的形成。此外,同一株噬菌体可能具有感染和裂解除宿主菌之外的其他种属的细菌,在这个过程中往往识别的是不同的受体。所以,研究宿主受体与噬菌体特异性仍然面临着诸多挑战。理解噬菌体与宿主相互作用的机制将为噬菌体的人工改造、噬菌体鸡尾酒制剂的研制和新型噬菌体抗菌制剂的研制提供坚实的理论基础和科学依据。

噬菌体治疗本身并不能解决抗生素耐药性危机,但是噬菌体治疗为寻找替抗产品提供了非常重要的选择。深入认识和理解噬菌体受体结合蛋白和受体,能够优化和设计噬菌体鸡尾酒制剂,加快发现新的噬菌体衍生抗菌素,并实现噬菌体源生物杀菌制剂的创制和应用。展望未来,能够利用基因组学、宏基因组学、宏转录组学、代谢组学和合成生物学等新技术研究、预测和设计噬菌体-宿主识别蛋白。特别是,高通量测序技术的发展和测序成本的降低将进一步丰富现有数据库中具有完整基因组的噬菌体数量^[129]。从这些序列中,识别和挖掘与噬菌体-宿主相互作用的关键基因和蛋白,包括尾纤维、尾钉、基板或能够识别宿主其他位点的一些蛋白,并据此研究这些蛋白的结构和功能。随着对噬菌体受体结合蛋白、受体及受体回补株的功能研究和知识积累,未来甚至可以使用机器学习的算法来识别噬菌体受体结合蛋白-受体之间识别的不同模式、结构域和三维结构,从而更加全面地认识任何噬菌体的受体

结合蛋白、受体和宿主范围^[130]。另外,还可以通过合成生物学手段对噬菌体尾纤维蛋白进行靶向改造和研究。无论采取何种方法,新的测序平台、自动化和机器学习等技术,有望在设计和鉴定噬菌体受体结合蛋白和受体所需的时间、工作程序和成本等方面发挥作用。

参考文献

- [1] Ackermann HW. 5500 Phages examined in the electron microscope [J]. *Arch Virol*, 2007, 152 (2): 227-243.
- [2] Turner D, Kropinski AM, Adriaenssens EM. A roadmap for genome-based phage taxonomy [J]. *Viruses*, 2021, 13 (3): 506.
- [3] Leiman PG, Shneider MM. Contractile tail machines of bacteriophages [J]. *Adv Exp Med Biol*, 2012, 726: 93-114.
- [4] Nobrega FL, Vlot M, de Jonge PA, et al. Targeting mechanisms of tailed bacteriophages [J]. *Nat Rev Microbiol*, 2018, 16 (12): 760-773.
- [5] Cuervo A, Pulido-Cid M, Chagoyen M, et al. Structural characterization of the bacteriophage T7 tail machinery [J]. *J Biol Chem*, 2013, 288 (36): 26290-26299.
- [6] González-García VA, Pulido-Cid M, García-Doval C, et al. Conformational changes leading to T7 DNA delivery upon interaction with the bacterial receptor [J]. *J Biol Chem*, 2015, 290 (16): 10038-10044.
- [7] Hu B, Margolin W, Molineux IJ, et al. Structural remodeling of bacteriophage T4 and host membranes during infection initiation [J]. *PNAS*, 2015, 112 (35): E4919-4928.
- [8] Gordillo Altamirano FL, Barr JJ. Unlocking the next generation of phage therapy: the key is in the receptors [J]. *Curr Opin Biotechnol*, 2021, 68: 115-123.
- [9] Trojet SN, Caumont-Sarcos A, Perrody E, et al. The gp38 adhesins of the T4 superfamily: a complex modular determinant of the phage's host specificity [J]. *Genome Biol Evol*, 2011, 3: 674-686.
- [10] Letarov AV, Kulikov EE. Adsorption of bacteriophages on bacterial cells [J]. *Biochemistry (Mosc)*, 2017, 82 (13): 1632-1658.
- [11] Steinbacher S, Miller S, Baxa U, et al. Phage P22 tailspike protein: crystal structure of the head-binding domain at 2.3 Å, fully refined structure of the endorhamnosidase at 1.56 Å resolution, and the molecular basis of O-antigen recognition and cleavage [J]. *J Mol Biol*, 1997, 267 (4): 865-880.
- [12] Andres D, Hanke C, Baxa U, et al. Tailspike interactions with lipopolysaccharide effect DNA ejection from phage P22 particles *in vitro* [J]. *J Biol Chem*, 2010, 285 (47): 36768-36775.
- [13] Barbirz S, Müller JJ, Uetrecht C, et al. Crystal structure of *Escherichia coli* phage HK620 tailspike: podoviral tailspike endoglycosidase modules are evolutionarily related [J]. *Mol Microbiol*, 2008, 69 (2): 303-316.
- [14] Dobbins AT, George M Jr, Basham DA, et al. Complete genomic sequence of the virulent *Salmonella* bacteriophage SP6 [J]. *J Bacteriol*, 2004, 186 (7): 1933-1944.
- [15] Walter M, Fiedler C, Grassl R, et al. Structure of the receptor-binding protein of bacteriophage det7: a podoviral tail spike in a myovirus [J]. *J Virol*, 2008, 82 (5): 2265-2273.
- [16] Olszak T, Shneider MM, Latka A, et al. The O-specific polysaccharide lyase from the phage LKA1 tailspike reduces *Pseudomonas* virulence [J]. *Sci Rep*, 2017, 7 (1): 16302.
- [17] Kuter EM, Skutt-Kakaria K, Blasdel B, et al. Characterization of a Vi-like phage specific to *Escherichia coli* O157: H7 [J]. *Virol J*, 2011, 8: 430.
- [18] Pickard D, Toribio AL, Petty NK, et al. A conserved acetyl esterase domain targets diverse bacteriophages to the Vi capsular receptor of *Salmonella enterica* serovar Typhi [J]. *J Bacteriol*, 2010, 192(21): 5746-5754.
- [19] Cerritelli ME, Wall JS, Simon MN, et al. Stoichiometry and domain organization of the long tail-fiber of bacteriophage T4: a hinged viral adhesin [J]. *J Mol Biol*, 1996, 260 (5): 767-780.
- [20] Hashemolhosseini S, Stierhof YD, Hindennach I, et al. Characterization of the helper proteins for the assembly of tail fibers of coliphages T4 and lambda [J]. *J Bacteriol*, 1996, 178 (21): 6258-6265.
- [21] Bartual SG, Otero JM, Garcia-Doval C, et al. Structure of the bacteriophage T4 long tail fiber receptor-binding tip [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2010, 107 (47): 20287-20292.
- [22] Washizaki A, Yonesaki T, Otsuka Y. Characterization of the interactions between *Escherichia coli* receptors, LPS and OmpC, and bacteriophage T4 long tail fibers [J]. *MicrobiologyOpen*, 2016, 5 (6): 1003-1015.
- [23] van Raaij MJ, Schoehn G, Burda MR, et al. Crystal structure of a heat and protease-stable part of the bacteriophage T4 short tail fibre [J]. *J Mol Biol*, 2001, 314 (5): 1137-1146.

- [24] Mason WS. Product of T4 gene 12 [J]. J Mol Biol, 1972, 66 (3): 445-469.
- [25] Burda MR, Miller S. Folding of coliphage T4 short tail fiber *in vitro*. Analysing the role of a bacteriophage-encoded chaperone [J]. Eur J Biochem, 1999, 265 (2): 771-778.
- [26] Leiman PG, Shneider MM, Mesyanzhinov VV, et al. Evolution of bacteriophage tails: structure of T4 gene product 10 [J]. J Mol Biol, 2006, 358 (3): 912-921.
- [27] Garcia-Doval C, Luque D, Castón JR, et al. Crystallization of the C-terminal domain of the bacteriophage T5 L-shaped fibre [J]. Acta Crystallogr Sect F Struct Biol Cryst Commun, 2013, 69 (Pt 12): 1363-1367.
- [28] Garcia-Doval C, van Raaij MJ. Structure of the receptor-binding carboxy-terminal domain of bacteriophage T7 tail fibers [J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2012, 109 (24): 9390-9395.
- [29] Veesler D, Cambillau C. A common evolutionary origin for tailed-bacteriophage functional modules and bacterial machineries [J]. Microbiol Mol Biol Rev, 2011, 75 (3): 423-433.
- [30] Pires DP, Oliveira H, Melo LDR, et al. Bacteriophage-encoded depolymerases: their diversity and biotechnological applications [J]. Appl Microbiol Biotechnol, 2016, 100 (5): 2141-2151.
- [31] Boulanger P, Jacquot P, Plançon L, et al. Phage T5 straight tail fiber is a multifunctional protein acting as a tape measure and carrying fusogenic and muralytic activities [J]. J Biol Chem, 2008, 283 (20): 13556-13564.
- [32] Cumby N, Reimer K, Mengin-Lecreux D, et al. The phage tail tape measure protein, an inner membrane protein and a periplasmic chaperone play connected roles in the genome injection process of *E. coli* phage HK97 [J]. Mol Microbiol, 2015, 96 (3): 437-447.
- [33] Bhardwaj A, Olia AS, Walker-Kopp N, et al. Domain organization and polarity of tail needle GP26 in the portal vertex structure of bacteriophage P22 [J]. J Mol Biol, 2007, 371 (2): 374-387.
- [34] Olia AS, Casjens S, Cingolani G. Structure of phage P22 cell envelope-penetrating needle [J]. Nat Struct Mol Biol, 2007, 14 (12): 1221-1226.
- [35] Xiang Y, Morais MC, Cohen DN, et al. Crystal and cryoEM structural studies of a cell wall degrading enzyme in the bacteriophage phi29 tail [J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2008, 105 (28): 9552-9557.
- [36] Xu JW, Gui M, Wang DH, et al. The bacteriophage ϕ 29 tail possesses a pore-forming loop for cell membrane penetration [J]. Nature, 2016, 534 (7608): 544-547.
- [37] Berkane E, Orlik F, Stegmeier JF, et al. Interaction of bacteriophage lambda with its cell surface receptor: an *in vitro* study of binding of the viral tail protein gpJ to LamB (Maltoporin) [J]. Biochemistry, 2006, 45 (8): 2708-2720.
- [38] Yoichi M, Abe M, Miyana K, et al. Alteration of tail fiber protein gp38 enables T2 phage to infect *Escherichia coli* O157: H7 [J]. J Biotechnol, 2005, 115 (1): 101-107.
- [39] Lee JH, Shin H, Kim H, et al. Complete genome sequence of *Salmonella* bacteriophage SPN3US [J]. J Virol, 2011, 85 (24): 13470-13471.
- [40] Matilla MA, Salmond GPC. Bacteriophage ϕ MAM1, a *Viunlike-virus*, is a broad-host-range, high-efficiency generalized transducer that infects environmental and clinical isolates of the enterobacterial genera *Serratia* and *Kluyvera* [J]. Appl Environ Microbiol, 2014, 80 (20): 6446-6457.
- [41] Garbe J, Bunk B, Rohde M, et al. Sequencing and characterization of *Pseudomonas aeruginosa* phage JG004 [J]. BMC Microbiol, 2011, 11: 102.
- [42] Heller K, Braun V. Accelerated adsorption of bacteriophage T5 to *Escherichia coli* F, resulting from reversible tail fiber-lipopolysaccharide binding [J]. J Bacteriol, 1979, 139 (1): 32-38.
- [43] Kim M, Kim S, Park B, et al. Core lipopolysaccharide-specific phage SSU5 as an auxiliary component of a phage cocktail for *Salmonella* biocontrol [J]. Appl Environ Microbiol, 2014, 80 (3): 1026-1034.
- [44] Rabsch W, Ma L, Wiley G, et al. FepA- and TonB-dependent bacteriophage H8: receptor binding and genomic sequence [J]. J Bacteriol, 2007, 189 (15): 5658-5674.
- [45] Wang J, Hofnung M, Charbit A. The C-terminal portion of the tail fiber protein of bacteriophage lambda is responsible for binding to LamB, its receptor at the surface of *Escherichia coli* K-12 [J]. J Bacteriol, 2000, 182 (2): 508-512.
- [46] German GJ, Misra R. The TolC protein of *Escherichia coli* serves as a cell-surface receptor for the newly characterized TLS bacteriophage [J]. J Mol Biol, 2001, 308 (4): 579-585.
- [47] Li DH, Zhang ZQ, Li YY, et al. *Escherichia coli* phage phi2013:

- genomic analysis and receptor identification [J]. *Arch Virol*, 2022, 167 (12) : 2689-2702.
- [48] Choi Y, Shin H, Lee JH, et al. Identification and characterization of a novel flagellum-dependent *Salmonella*-infecting bacteriophage, ϕ EPS₅ [J]. *Appl Environ Microbiol*, 2013, 79 (16) : 4829-4837.
- [49] Budzik JM, Rosche WA, Rietsch A, et al. Isolation and characterization of a generalized transducing phage for *Pseudomonas aeruginosa* strains PAO1 and PA14 [J]. *J Bacteriol*, 2004, 186 (10) : 3270-3273.
- [50] Guerrero-Ferreira RC, Viollier PH, Ely B, et al. Alternative mechanism for bacteriophage adsorption to the motile bacterium *Caulobacter crescentus* [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2011, 108 (24) : 9963-9968.
- [51] Kim M, Ryu S. Spontaneous and transient defence against bacteriophage by phase-variable glucosylation of O-antigen in *Salmonella enterica* serovar Typhimurium [J]. *Mol Microbiol*, 2012, 86 (2) : 411-425.
- [52] Shin H, Lee JH, Kim H, et al. Receptor diversity and host interaction of bacteriophages infecting *Salmonella enterica* serovar Typhimurium [J]. *PLoS One*, 2012, 7 (8) : e43392.
- [53] Prehm P, Jann B, Jann K, et al. On a bacteriophage T3 and T4 receptor region within the cell wall lipopolysaccharide of *Escherichia coli* B [J]. *J Mol Biol*, 1976, 101 (2) : 277-281.
- [54] Suga A, Kawaguchi M, Yonesaki T, et al. Manipulating interactions between T4 phage long tail fibers and *Escherichia coli* receptors [J]. *Appl Environ Microbiol*, 2021, 87 (13) : e0042321.
- [55] Chen PP, Sun HZ, Ren HY, et al. LamB, OmpC, and the core lipopolysaccharide of *Escherichia coli* K-12 function as receptors of bacteriophage Bp7 [J]. *J Virol*, 2020, 94 (12) : e00325-e00320.
- [56] Zhao XN, Cui YJ, Yan YF, et al. Outer membrane proteins ail and OmpF of *Yersinia pestis* are involved in the adsorption of T7-related bacteriophage Yep-phi [J]. *J Virol*, 2013, 87 (22) : 12260-12269.
- [57] Bae HW, Cho YH. Complete genome sequence of *Pseudomonas aeruginosa* podophage MPK7, which requires type IV pili for infection [J]. *Genome Announc*, 2013, 1 (5) : e00744-e00713.
- [58] Scholl D, Rogers S, Adhya S, et al. Bacteriophage K1-5 encodes two different tail fiber proteins, allowing it to infect and replicate on both K1 and K5 strains of *Escherichia coli* [J]. *J Virol*, 2001, 75 (6) : 2509-2515.
- [59] Perez GL, Huynh B, Slater M, et al. Transport of phage P22 DNA across the cytoplasmic membrane [J]. *J Bacteriol*, 2009, 191 (1) : 135-140.
- [60] Parent KN, Erb ML, Cardone G, et al. OmpA and OmpC are critical host factors for bacteriophage Sf6 entry in *Shigella* [J]. *Mol Microbiol*, 2014, 92 (1) : 47-60.
- [61] Davison S, Couture-Tosi E, Candela T, et al. Identification of the *Bacillus anthracis* (gamma) phage receptor [J]. *J Bacteriol*, 2005, 187 (19) : 6742-6749.
- [62] Habann M, Leiman PG, Vandersteegen K, et al. *Listeria* phage A511, a model for the contractile tail machineries of SPO1-related bacteriophages [J]. *Mol Microbiol*, 2014, 92 (1) : 84-99.
- [63] Xia GQ, Corrigan RM, Winstel V, et al. Wall teichoic acid-dependent adsorption of staphylococcal siphovirus and myovirus [J]. *J Bacteriol*, 2011, 193 (15) : 4006-4009.
- [64] Munsch-Alatossava P, Alatossava T. The extracellular phage-host interactions involved in the bacteriophage LL-H infection of *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *lactis* ATCC 15808 [J]. *Front Microbiol*, 2013, 4: 408.
- [65] Baptista C, Santos MA, São-José C. Phage SPP1 reversible adsorption to *Bacillus subtilis* cell wall teichoic acids accelerates virus recognition of membrane receptor YueB [J]. *J Bacteriol*, 2008, 190 (14) : 4989-4996.
- [66] Kaneko J, Narita-Yamada S, Wakabayashi Y, et al. Identification of ORF636 in phage ϕ SLT carrying Pantone-Valentine leukocidin genes, acting as an adhesion protein for a poly (glycerophosphate) chain of lipoteichoic acid on the cell surface of *Staphylococcus aureus* [J]. *J Bacteriol*, 2009, 191 (14) : 4674-4680.
- [67] Bebeacua C, Tremblay D, Farenc C, et al. Structure, adsorption to host, and infection mechanism of virulent lactococcal phage p2 [J]. *J Virol*, 2013, 87 (22) : 12302-12312.
- [68] Kiljunen S, Datta N, Dentovskaya SV, et al. Identification of the lipopolysaccharide core of *Yersinia pestis* and *Yersinia pseudotuberculosis* as the receptor for bacteriophage ϕ A1122 [J]. *J Bacteriol*, 2011, 193 (18) : 4963-4972.
- [69] Pajunen M, Kiljunen S, Skurnik M. Bacteriophage phiYeO3-12, specific for *Yersinia enterocolitica* serotype O: 3, is related to coliphages T3 and T7 [J]. *J Bacteriol*, 2000, 182 (18) : 5114-

- 5120.
- [70] Bohm K, Porwollik S, Chu WP, et al. Genes affecting progression of bacteriophage P22 infection in *Salmonella* identified by transposon and single gene deletion screens [J] . Mol Microbiol, 2018, 108 (3) : 288-305.
- [71] Le S, Yao XY, Lu SG, et al. Chromosomal DNA deletion confers phage resistance to *Pseudomonas aeruginosa* [J]. Sci Rep, 2014, 4: 4738.
- [72] Xu JL, Zhang JY, Lu X, et al. O antigen is the receptor of *Vibrio cholerae* serogroup O1 El Tor typing phage VP4 [J] . J Bacteriol, 2013, 195 (4) : 798-806.
- [73] Köhler T, Donner V, van Delden C. Lipopolysaccharide as shield and receptor for R-pyocin-mediated killing in *Pseudomonas aeruginosa* [J] . J Bacteriol, 2010, 192 (7) : 1921-1928.
- [74] Rakhuba DV, Kolomiets EI, Dey ES, et al. Bacteriophage receptors, mechanisms of phage adsorption and penetration into host cell [J] . Pol J Microbiol, 2010, 59 (3) : 145-155.
- [75] Ricci V, Piddock LJV. Exploiting the role of TolC in pathogenicity: identification of a bacteriophage for eradication of *Salmonella* serovars from poultry [J] . Appl Environ Microbiol, 2010, 76 (5) : 1704-1706.
- [76] Breyton C, Flayhan A, Gabel F, et al. Assessing the conformational changes of Pb5, the receptor-binding protein of phage T5, upon binding to its *Escherichia coli* receptor FhuA [J] . J Biol Chem, 2013, 288 (42) : 30763-30772.
- [77] Porcek NB, Parent KN. Key residues of *S. flexneri* OmpA mediate infection by bacteriophage Sf6 [J] . J Mol Biol, 2015, 427 (10) : 1964-1976.
- [78] Xu DL, Zhang JY, Liu J, et al. Outer membrane protein OmpW is the receptor for typing phage VP5 in the *Vibrio cholerae* O1 El Tor biotype [J] . J Virol, 2014, 88 (12) : 7109-7111.
- [79] Meyer JR, Dobias DT, Weitz JS, et al. Repeatability and contingency in the evolution of a key innovation in phage lambda [J] . Science, 2012, 335 (6067) : 428-432.
- [80] Müller JJ, Barbirz S, Heinle K, et al. An intersubunit active site between supercoiled parallel beta helices in the trimeric tailspike endorhamnosidase of *Shigella flexneri* Phage Sf6 [J] . Structure, 2008, 16 (5) : 766-775.
- [81] Koebnik R, Locher KP, van Gelder P. Structure and function of bacterial outer membrane proteins: barrels in a nutshell [J] . Mol Microbiol, 2000, 37 (2) : 239-253.
- [82] Li XH, Koç C, Kühner P, et al. An essential role for the baseplate protein Gp45 in phage adsorption to *Staphylococcus aureus* [J] . Sci Rep, 2016, 6: 26455.
- [83] São-José C, Lhuillier S, Lurz R, et al. The ectodomain of the viral receptor YueB forms a fiber that triggers ejection of bacteriophage SPP1 DNA [J] . J Biol Chem, 2006, 281 (17) : 11464-11470.
- [84] Monteville MR, Ardestani B, Geller BL. Lactococcal bacteriophages require a host cell wall carbohydrate and a plasma membrane protein for adsorption and ejection of DNA [J] . Appl Environ Microbiol, 1994, 60 (9) : 3204-3211.
- [85] Farenc C, Spinelli S, Vinogradov E, et al. Molecular insights on the recognition of a *Lactococcus lactis* cell wall pellicle by the phage 1358 receptor binding protein [J] . J Virol, 2014, 88 (12) : 7005-7015.
- [86] Tzipilevich E, Habusha M, Ben-Yehuda S. Acquisition of phage sensitivity by bacteria through exchange of phage receptors [J] . Cell, 2017, 168 (1/2) : 186-199.e12.
- [87] Yen JY, Broadway KM, Scharf BE. Minimum requirements of flagellation and motility for infection of *Agrobacterium* sp. strain H13-3 by flagellotropic bacteriophage 7-7-1 [J] . Appl Environ Microbiol, 2012, 78 (20) : 7216-7222.
- [88] Kim S, Rahman M, Seol SY, et al. *Pseudomonas aeruginosa* bacteriophage PA1Ø requires type IV pili for infection and shows broad bactericidal and biofilm removal activities [J] . Appl Environ Microbiol, 2012, 78 (17) : 6380-6385.
- [89] Raimondo LM, Lundh NP, Martinez RJ. Primary adsorption site of phage PBS1: the flagellum of *Bacillus subtilis* [J] . J Virol, 1968, 2 (3) : 256-264.
- [90] Evans TJ, Crow MA, Williamson NR, et al. Characterization of a broad-host-range flagellum-dependent phage that mediates high-efficiency generalized transduction in, and between, *Serratia* and *Pantoea* [J] . Microbiology (Reading) , 2010, 156 (Pt 1) : 240-247.
- [91] Pate JL, Petzold SJ, Umbreit TH. Two flagellotropic phages and one *Pilus*-specific phage active against *Asticcacaulis* biprosthecum [J] . Virology, 1979, 94 (1) : 24-37.
- [92] Chibeu A, Ceysens PJ, Hertveldt K, et al. The adsorption of *Pseudomonas aeruginosa* bacteriophage phiKMV is dependent on expression regulation of type IV pili genes [J] . FEMS Microbiol

- Lett, 2009, 296 (2) : 210-218.
- [93] Harvey H, Bondy-Denomy J, Marquis H, et al. *Pseudomonas aeruginosa* defends against phages through type IV *Pilus* glycosylation [J] . Nat Microbiol, 2018, 3 (1) : 47-52.
- [94] Sørensen MC, van Alphen LB, Harboe A, et al. Bacteriophage F336 recognizes the capsular phosphoramidate modification of *Campylobacter jejuni* NCTC11168 [J] . J Bacteriol, 2011, 193 (23) : 6742-6749.
- [95] Hsu CR, Lin TL, Pan YJ, et al. Isolation of a bacteriophage specific for a new capsular type of *Klebsiella pneumoniae* and characterization of its polysaccharide depolymerase [J] . PLoS One, 2013, 8 (8) : e70092.
- [96] Scholl D, Adhya S, Merrill C. Escherichia coli K1's capsule is a barrier to bacteriophage T7 [J] . Appl Environ Microbiol, 2005, 71 (8) : 4872-4874.
- [97] Oechslin F. Resistance development to bacteriophages occurring during bacteriophage therapy [J] . Viruses, 2018, 10 (7) : 351.
- [98] Merabishvili M, Pirnay J-P, De Vos D. Guidelines to compose an ideal bacteriophage cocktail [J] . Bacteriophage Therapy, 2017, 1693: 99-110.
- [99] Chan BK, Abedon ST, Loc-Carrillo C. Phage cocktails and the future of phage therapy [J] . Future Microbiol, 2013, 8 (6) : 769-783.
- [100] Yang YH, Shen W, Zhong Q, et al. Development of a bacteriophage cocktail to constrain the emergence of phage-resistant *Pseudomonas aeruginosa* [J] . Front Microbiol, 2020, 11: 327.
- [101] Tanji Y, Shimada T, Yoichi M, et al. Toward rational control of *Escherichia coli* O157: H7 by a phage cocktail [J] . Appl Microbiol Biotechnol, 2004, 64 (2) : 270-274.
- [102] Gu JM, Liu XH, Li Y, et al. A method for generation phage cocktail with great therapeutic potential [J] . PLoS One, 2012, 7 (3) : e31698.
- [103] Takeuchi I, Osada K, Azam AH, et al. The presence of two receptor-binding proteins contributes to the wide host range of staphylococcal twort-like phages [J] . Appl Environ Microbiol, 2016, 82 (19) : 5763-5774.
- [104] Bertozzi Silva J, Storms Z, Sauvageau D. Host receptors for bacteriophage adsorption [J] . FEMS Microbiol Lett, 2016, 363 (4) : fnw002.
- [105] Fernandes S, São-José C. Enzymes and mechanisms employed by tailed bacteriophages to breach the bacterial cell barriers [J] . Viruses, 2018, 10 (8) : 396.
- [106] Stockdale SR, Mahony J, Courtin P, et al. The lactococcal phages Tuc2009 and TP901-1 incorporate two alternate forms of their tail fiber into their virions for infection specialization [J] . J Biol Chem, 2013, 288 (8) : 5581-5590.
- [107] Stamereilers C, LeBlanc L, Yost D, et al. Comparative genomics of 9 novel *Paenibacillus larvae* bacteriophages [J] . Bacteriophage, 2016, 6 (3) : e1220349.
- [108] Ceysens PJ, Miroshnikov K, Mattheus W, et al. Comparative analysis of the widespread and conserved PB1-like viruses infecting *Pseudomonas aeruginosa* [J] . Environ Microbiol, 2009, 11 (11) : 2874-2883.
- [109] Garbe J, Wesche A, Bunk B, et al. Characterization of JG024, a *Pseudomonas aeruginosa* PB1-like broad host range phage under simulated infection conditions [J] . BMC Microbiol, 2010, 10: 301.
- [110] Li L, Shukla S, Meilleur F, et al. Neutron crystallographic studies of T4 lysozyme at cryogenic temperature [J] . Protein Sci, 2017, 26 (10) : 2098-2104.
- [111] Oliveira H, Pinto G, Oliveira A, et al. Characterization and genomic analyses of two newly isolated *Morganella* phages define distant members among Tevenvirinae and Autographivirinae sub-families [J] . Sci Rep, 2017, 7: 46157.
- [112] Koraimann G. Lytic transglycosylases in macromolecular transport systems of Gram-negative bacteria [J] . Cell Mol Life Sci, 2003, 60 (11) : 2371-2388.
- [113] Majkowska-Skrobek G, Łątka A, Berisio R, et al. Capsule-targeting depolymerase, derived from *Klebsiella* KP36 phage, as a tool for the development of anti-virulent strategy [J] . Viruses, 2016, 8 (12) : 324.
- [114] Gutiérrez D, Briers Y, Rodríguez-Rubio L, et al. Role of the pre-neck appendage protein (Dpo7) from phage vB_SepiS-phl-PLA7 as an anti-biofilm agent in staphylococcal species [J] . Front Microbiol, 2015, 6: 1315.
- [115] Knecht LE, Veljkovic M, Fieseler L. Diversity and function of phage encoded depolymerases [J] . Front Microbiol, 2020, 10: 2949.
- [116] Born Y, Fieseler L, Klumpp J, et al. The tail-associated depolymerase of *Erwinia amylovora* phage L1 mediates host cell

- adsorption and enzymatic capsule removal, which can enhance infection by other phage [J]. *Environ Microbiol*, 2014, 16 (7): 2168-2180.
- [117] Gontijo MTP, Jorge GP, Brocchi M. Current status of endolysin-based treatments against gram-negative bacteria [J]. *Antibiotics (Basel)*, 2021, 10 (10): 1143.
- [118] Seed KD, Yen M, Shapiro BJ, et al. Evolutionary consequences of intra-patient phage predation on microbial populations [J]. *eLife*, 2014, 3: e03497.
- [119] Yen M, Cairns LS, Camilli A. A cocktail of three virulent bacteriophages prevents *Vibrio cholerae* infection in animal models [J]. *Nat Commun*, 2017, 8: 14187.
- [120] Chan BK, Siström M, Wertz JE, et al. Phage selection restores antibiotic sensitivity in MDR *Pseudomonas aeruginosa* [J]. *Sci Rep*, 2016, 6: 26717.
- [121] Filippov AA, Sergueev KV, He YX, et al. Bacteriophage-resistant mutants in *Yersinia pestis*: identification of phage receptors and attenuation for mice [J]. *PLoS One*, 2011, 6 (9): e25486.
- [122] Capparelli R, Nocerino N, Lanzetta R, et al. Bacteriophage-resistant *Staphylococcus aureus* mutant confers broad immunity against staphylococcal infection in mice [J]. *PLoS One*, 2010, 5 (7): e11720.
- [123] Gordillo Altamirano F, Forsyth JH, Patwa R, et al. Bacteriophage-resistant *Acinetobacter baumannii* are resensitized to antimicrobials [J]. *Nat Microbiol*, 2021, 6 (2): 157-161.
- [124] Lin H, Paff ML, Molineux JJ, et al. Therapeutic application of phage capsule depolymerases against K1, K5, and K30 capsulated *E. coli* in mice [J]. *Front Microbiol*, 2017, 8: 2257.
- [125] Majkowska-Skrobek G, Latka A, Berisio R, et al. Phage-borne depolymerases decrease *Klebsiella pneumoniae* resistance to innate defense mechanisms [J]. *Front Microbiol*, 2018, 9: 2517.
- [126] Kim M, Ryu S. Characterization of a T5-like coliphage, SPC35, and differential development of resistance to SPC35 in *Salmonella enterica* serovar typhimurium and *Escherichia coli* [J]. *Appl Environ Microbiol*, 2011, 77 (6): 2042-2050.
- [127] Sampson BA, Gotschlich EC. Elimination of the vitamin B12 uptake or synthesis pathway does not diminish the virulence of *Escherichia coli* K1 or *Salmonella typhimurium* in three model systems [J]. *Infect Immun*, 1992, 60 (9): 3518-3522.
- [128] Schooley RT, Biswas B, Gill JJ, et al. Development and use of personalized bacteriophage-based therapeutic cocktails to treat a patient with a disseminated resistant *Acinetobacter baumannii* infection [J]. *Antimicrob Agents Chemother*, 2017, 61 (10): e00954-e00917.
- [129] Philipson CW, Voegtly LJ, Lueder MR, et al. Characterizing phage genomes for therapeutic applications [J]. *Viruses*, 2018, 10 (4): 188.
- [130] Leite DMC, Brochet X, Resch G, et al. Computational prediction of inter-species relationships through omics data analysis and machine learning [J]. *BMC Bioinform*, 2018, 19 (S14): 420.

(责任编辑 朱琳峰)