



近缘细菌细胞间的相互识别与相互作用

龚亚 李越中*

山东大学微生物技术国家重点实验室 微生物技术研究院 山东 青岛 266237

摘要: 亲缘识别是细菌细胞间竞争与合作的前提和基础。细菌通过亲缘识别分辨自我细胞和非自我细胞;非同类的细菌细胞相互分离或被排除,而亲缘种群内的细菌细胞进行群体运动、生物膜和子实体形成等社会性合作行为。细菌的自我识别机制可能有助于不同亲缘类群在混杂的自然系统中的共存。近些年来,细菌亲缘识别及相互作用的机制研究工作成为热点,本文总结了近缘细菌细胞间相互识别和作用机制的研究进展。

关键词: 细菌, 亲缘识别, 菌落融合不兼容

Kin discrimination and interactions between bacterial siblings

GONG Ya LI Yue-Zhong*

State Key Laboratory of Microbial Technology, Institute of Microbial Technology, Shandong University, Qingdao, Shandong 266237, China

Abstract: Kin discrimination provides a means for bacterial individuals to identify self from non-self, and is thus the basis and prerequisite for the competition and cooperation among bacterial cells. By kin discrimination, competitive non-self-neighbors are separated from each other or are eliminated from self-populations, whereas the kin groups perform some exclusive social behaviors, such as social movement, biofilm formation and fruiting-body morphogenesis. Kin discrimination is thus suggested to aid the co-survival of different kin groups in nature. Recently, kin discrimination is becoming a hot spot in bacteriological studies. This review summarizes recent progresses in the mechanisms for bacterial kin discrimination and interactions.

Keywords: Bacteria, Kin discrimination, Colony-merger incompatibility

细菌种类繁多,性质差异显著,是地球生物圈中无处不在的生命体。细菌不但与环境其他生物相互作用和相互依存,同时细菌种间和种内菌株之间也相互协作,相互竞争,形成复杂的社会性群体。细菌种群之间及种群之内的社会性相互作用机制

是我们深入认识和利用细菌的重要基础。近二十年来,组学与大数据等技术发展和创新,为攻克细菌群体复杂性研究提供了机遇和可能,并获得了长足的发展,使得细菌细胞之间的相互作用和相互关系等社会学行为和机制成为现代微生物学研究

Foundation items: National Natural Science Foundation of China (31471183); National Science & Technology Infrastructure Program of China (2017FY100302); Natural Science Foundation of Shandong Province (ZR2016QZ002)

*Corresponding author: Tel: 86-532-58631539; E-mail: lilab@sdu.edu.cn

Received: 07-11-2018; Accepted: 24-12-2018; Published online: 29-12-2018

基金项目: 国家自然科学基金(31471183); 科技基础资源调查专项(2017FY100302); 山东省自然科学基金(ZR2016QZ002)

*通信作者: Tel: 0532-58631539; E-mail: lilab@sdu.edu.cn

收稿日期: 2018-11-07; 接受日期: 2018-12-24; 网络首发日期: 2018-12-29

的热点。

近年来, 研究者们开始关注细菌细胞之间的亲缘识别和相互作用。单细胞的细菌的所有行为均可能涉及社会性, 如不同细菌细胞对公共物资(Public goods)的利用, 细菌产生的酶、毒素、化学信号分子等来进行个体之间的交流, 物种内的基因交流等。亲缘识别(Kin discrimination)是指生物对同类(Self)和非同类(Non-self)个体所做出的不同反应的过程^[1]。细菌细胞在亲缘识别时, 根据邻近细胞的亲缘关系可产生两种不同的应答行为: 同类细胞之间的社会性竞争与合作和非同类细胞之间的竞争与抑制。其中, 同类细胞之间合作行为的分子遗传机制研究较为清晰的是以群体感应为代表的信号分子与细胞表面受体特异性结合从而影响胞内特定基因表达, 调控微生物群体生理特征的过程。而非同类细胞之间的竞争与抑制的分子遗传机制则主要涉及不同类型毒素与免疫蛋白之间的特异性结合而导致的同类细胞存活(有相应免疫蛋白)与非同类细胞死亡(无相应免疫蛋白), 根据毒素输出时是否依赖于细胞之间的直接接触, 又可将细菌亲缘识别分为依赖细胞接触和不依赖细胞接触两种类型。通过亲缘识别, 细菌个体可以帮助同类个体, 伤害或无视非同类个体, 形成一个合作的同类群体^[2]。本文对细菌细胞间的相互识别和相互作用的进展进行综述。

1 依赖细胞接触的细菌间识别和相互作用

一个特定环境或者生态系统中的微生物社会群落包括全部微生物细胞群体的种类和数量。在土壤中, 细菌细胞的密度可以达到 10^9 , 而在人类肠道中, 细菌细胞的密度可以高达 10^{12} ^[3-4]。在这些环境中, 细菌种类也非常多样, 1 g 人类肠道内容物中大概有 10^3 - 10^4 种细菌, 1 g 土壤中大概有 10^4 - 10^6 种细菌^[5]。在十分拥挤的环境中, 作为单细胞个体, 细菌细胞与邻近细胞间相互作用^[6]。细菌细胞通过分泌产生大量的胞外组分, 以及个体之间交流和亲缘识别, 形成营养获得、群体运动、毒力保持、离

子吸收、入侵防御、生物膜形成和子实体发育等生存必需的社会性合作行为^[7-10]。

菌落融合不兼容(Colony-merger incompatibility)现象是细菌亲缘识别的一种重要表型。可运动种内不同菌株的两个菌落在扩展过程中相遇, 则进行亲缘识别, 若二者为同类, 其菌落融合, 若二者为非同类, 菌落间形成边界线。在自然环境中, 菌落融合不兼容可能使得同一生境中的不同菌株保持各自的领地而共存, 保护自身领地内的资源不被非同类菌株利用。菌落融合不兼容最早在 20 世纪 40 年代的奇异变形杆菌(*Proteus mirabilis*)中报道, 据此可将奇异变形杆菌分为不同血清型, 这种菌落间界线也被称为 Dienes line^[11-13]。这种亲缘识别表型在铜绿假单胞菌(*Pseudomonas aeruginosa*)、黄色粘球菌(*Myxococcus xanthus*)、枯草芽孢杆菌(*Bacillus subtilis*)的近缘菌株间陆续被观察到^[14-16]。例如, 从一小块土壤中分离得到的 78 株黄色粘球菌菌株, 根据竞争性生孢和菌落融合不兼容表型等特征, 将这些基因型不同的近缘菌株可分为 45 种不兼容型^[15]。类似地, 从两个 1 cm^3 土壤样品中分离出 39 株枯草芽孢杆菌, 基于菌落扩展不兼容表型可以分成 12 种不兼容型^[16]。

1.1 V 型分泌系统介导的亲缘识别和相互作用

2005 年, 研究者对大肠杆菌的研究发现, EC93 菌株的生长活力优于大部分实验室大肠杆菌, 并且在短时间内可以大量降低 K12 菌株的生长能力^[17]。不同于以往报道的扩散性大肠菌素机制, EC93 菌株对于 K12 菌株的抑制作用需要细胞间直接接触, 这种新型的细菌间竞争被命名为接触依赖性生长抑制(Contact-dependent growth inhibition, CDI)。CDI 系统的工作依赖于 CdiB/CdiA 两种蛋白构成的双组分蛋白分泌系统(Two-partner secretion), 属于细菌 V 型分泌系统^[18]。其中, CdiB 蛋白是位于细胞外膜上的 β 桶蛋白, 可以将巨大纤丝状的 CdiA 蛋白(>3 000 aa)输送到细胞表面。大部分 CdiA 蛋白的 N 端被预测为 β 螺旋结构, 可以伸出细胞表面长达几百 Å。不同菌株来源的 CdiA 蛋白的 N 端区域高度

保守, 而 C 端区域(约 300 aa, CdiA-CT)则高度多变, 是细菌的毒素结构域。通过细胞间的直接接触, 位于细胞表面的 CdiA 蛋白识别邻近细胞表面的外膜受体蛋白 BamA 或脂多糖(Lipopolysaccharide, LPS), 蛋白酶裂解释放其 C 端毒素 CdiA-CT 毒素, 进一步将 CdiA-CT 毒素转移到邻近细胞的细胞周质中, 随后 CdiA-CT 毒素在质子动力势作用下跨越内膜进入靶细胞的胞质内^[19]。由于需要识别特殊的细胞表面受体之后进行毒素传递, CdiA-CT 毒素一般在细菌种内传递。CdiA 蛋白释放其 C 端毒素的机制仍未知。已报道的 CdiA-CT 毒素多数具有核酸酶活性, 包括 DNase、tRNAse 和 Nucleases 等, 并且已经通过免疫荧光显微技术或胞内核酸酶活性检测等手段在靶细胞胞质内得到证明^[20-21]。

若邻近细胞是同类细胞, 细胞内含有相应的免疫蛋白 CdiI 而免受 CdiA-CT 毒素的毒害; 若邻近细胞是非同类细胞, 则生长受到抑制, 细胞被杀死^[22]。在不同细菌或同一细菌的不同菌株中, CdiA-CT/CdiI 序列高度多变^[20]。例如, 大肠杆菌的不同菌株中包含至少 20 种 CdiA-CT/CdiI 序列组合, 每一对 CdiA-CT/CdiI 的序列与其他任何一对都不同, 并且每一对 CdiA-CT/CdiI 之间特异性结合。因为 CdiI 蛋白仅能特异性免疫相应的 CdiA-CT 毒素, 不能免疫其他 CdiA-CT 毒素, 所以 CDI 系统可以介导细菌的亲缘识别, 将同类细胞和非同类细胞区分开。

CDI 系统广泛分布在 α -、 β -、 γ -变形杆菌等革兰氏阴性细菌中, 并且在厚壁菌门等革兰氏阳性细菌的基因组中也发现了 *cdi* 基因簇的存在^[19]。在不同细菌基因组中, *cdi* 基因簇的遗传组成有所不同。最简单的 *cdi* 基因簇仅包含 3 个基因: *cdiB*、*cdiA*、*cdiI*。许多情况下, CDI 系统还会包含额外的毒素/免疫蛋白编码基因, 可能是水平基因转移产生的, 被成为“Orphans”。这种“Orphans”毒素/免疫蛋白一般与 CdiA-CT/CdiI 具有较高的序列相似性, 而这类毒素编码基因较小, 可被输出到细胞表面。CDI 系统通常位于基因组岛或毒力岛, 可能整个 CDI 系统会在细菌间发生水平基因转移。

1.2 VI 型分泌系统介导的亲缘识别和相互作用

在奇异变形杆菌中, 利用转座子随机插入构建突变文库, 研究者们发现菌落间界线的形成需要 VI 型分泌系统(Type VI secretion system, T6SS)介导的致死作用、依赖 T6SS 的效应物蛋白和免疫蛋白的参与^[23]。利用转座子插入, 得到了一株 9C1 菌株, 与野生型 HI4320 之间形成菌落边界线; 在 9C1 菌株中继续进行突变, 获得了 12 个突变株, 与 9C1 菌株的菌落融合。所有的插入位点集中在一个 33.5 kb 的区域, 包含 T6SS 编码基因簇和一个可能编码 Hcp-VrgG-效应物-免疫蛋白的 *pef* 基因簇。当两个细胞相遇时, 它们均利用 T6SS 向对方细胞中输入效应物 *pefD* 蛋白, 若是同类细胞, 胞内含有相应的免疫蛋白 *pefE*, 可以存活; 若是非同类细胞, 胞内无相应的免疫蛋白, 则被杀死。在发挥识别功能的过程中, 不仅效应物-免疫蛋白参与, *pef* 基因簇编码的其他蛋白也都参与^[24]。将一个新的 *pef* 基因簇转入一个菌株中, 所得菌株与来源菌株间产生界线, 成为非同类菌株。同时, 免疫蛋白 *pefE* 的少数氨基酸变化就会使其失去免疫作用。另一研究团队也开展了许多奇异变形杆菌中菌落融合不兼容机制的研究, 获得了一些类似的发现^[13,25]。

在黄色粘球菌 *Myxococcus xanthus* DK1622 中, 利用转座子随机插入构建突变文库, 从 3 392 个突变株中筛选得到 11 株异己识别突变株^[26]。这些突变株与 *M. xanthus* DK1622 野生型之间形成菌落界线, 成为非同类细胞。突变株自身具有正常的生长、运动、子实体发育和生孢能力, 但是突变株与野生型等量混合共发育/共培养时, 展示出不同的竞争能力。这些突变株的插入基因位点分散分布在 *M. xanthus* DK1622 基因组中, 大多为未知功能的假定蛋白。针对其中一个突变株进行深入分析得知, 菌落融合不兼容的表型是由一对新型核酸酶毒素-免疫蛋白与 PAAR 蛋白-VI 型分泌系统(T6SS)联合发挥作用而产生的^[27]。在 *M. xanthus* DK1622 基因组中包含一个完整的 *t6ss* 基因簇, 也观察到能够使功能的 T6SS^[28-29]。PAAR 蛋白携带一种新型核酸酶

毒素,并结合在 T6SS 的顶端转移到邻近细胞中。野生型细胞含有相应的免疫蛋白,因此不被另一野生型细胞输入的核酸酶毒素所伤害。而免疫蛋白缺失的细胞被邻近细胞输入的核酸酶毒素杀伤。因此,免疫蛋白缺失突变株与野生型混合共培养时,免疫蛋白缺失突变株被野生型杀死;免疫蛋白缺失突变株与野生型邻近培养时,二者菌落相遇处由于免疫蛋白缺失细胞被杀死而形成菌落界线。而核酸酶毒素编码基因缺失突变株中不含有核酸酶毒素,不能伤害免疫蛋白缺失突变株,二者可以共存,菌落融合。PAAR 蛋白或 T6SS 缺失菌株不能输出核酸酶毒素,它们也可以与免疫蛋白缺失突变株共存,菌落融合。显然,相应免疫蛋白的缺失会使得突变株与野生型不相识,而毒素或毒素输出相关蛋白的缺失,也会造成免疫蛋白缺失突变株不能被辨别。

T6SS 是 2006 年被发现的一种新型细菌蛋白分泌系统,由十多种结构蛋白组成,可以跨越细菌细胞内外膜,并且依赖细胞间接触^[30]。T6SS 广泛分布于革兰氏阴性细菌中,与噬菌体高度同源^[31]。除了 T6SS 结构本身,T6SS 携带的多种毒素效应物在细菌种内及种间相互作用和致病性等方面受到广泛的关注和研究。在 Hcp、VgrG 和 PAAR 三种结构蛋白的帮助下,T6SS 可以将多种不同活性的毒素转移至邻近的原核或真核细胞中^[32]。毒素种类多样,包括靶向细胞壁的酰胺酶、糖苷水解酶、溶菌酶,靶向细胞膜的磷脂酶、成孔蛋白,靶向细胞内部的核酸酶、NADH 脱氢酶等等。T6SS 发挥作用时,无需靶细胞表面受体或其他蛋白存在^[33]。与 CDI 系统类似,产生 T6SS 毒素的细菌通过产生免疫蛋白使自身免受相应毒素的毒害作用。

基因变异引起菌落融合不兼容,而菌落融合不兼容又可以反过来保护突变株生存。在黄色粘球菌中,野生菌株与突变株之间表现出明显的生存竞争能力的差异,有时强势菌株能够彻底消灭与其混合的弱势菌株^[26-27]。而菌落界线可以隔开强势菌株,使弱势菌株仅需付出边界处少量细胞死亡的代价即可换取大部分细胞幸存。因此,黄色粘球菌中这

种通过遗传信息改变产生菌落隔离的现象,可以大大增加种群的遗传多样性。而遗传多样性的增加又可以帮助种群更好地应对环境变化,最终增强了整个种群的环境适应性。

1.3 外膜交换介导的亲缘识别和相互作用

在黄色粘球菌中,还发现一种外膜交换(Outer membrane exchange, OME)机制介导亲缘识别。OME 是在粘球菌中发现的一种细菌细胞外膜瞬时融合并交换的过程,可交换的外膜组分包括脂蛋白、磷脂、脂多糖等^[34]。当固体平面上的两个细胞接触时,OME 被起始;随后两个细胞可以稳定地交换各自的外膜组分;由于大量的外膜组分被交换,因此 OME 可以修复细胞外膜的缺陷。例如,一种细菌细胞缺少运动必需的外膜蛋白,它可以与另一种拥有此类外膜蛋白的细菌细胞发生外膜交换,运动能力得到恢复。类似地,若一种细胞的外膜上缺少脂多糖 LPS,通过与拥有 LPS 的细胞间进行外膜交换就可以修复这种缺陷。

细胞表面蛋白 TraA 和 TraB 同时在两个细胞表面存在时,这两个细胞间才会发生 OME。TraA/B 可以起始细胞外膜的融合,但具体如何启动外膜融合还是未知的。其中,细胞表面受体 TraA 蛋白是识别决定因子。只有两种细胞表面的 TraA 蛋白是相同或非常相似的,识别才会发生。TraA 蛋白的多态性和特异性是 TraA 蛋白介导识别的分子基础,同时也限制了 OME 可以发生的范围,但是仅 *traA* 不足以完成亲缘识别的过程。最近的研究发现,OME 发生时,细胞间也会交换毒素,非同类菌株的细胞内缺少相应的免疫蛋白,则被杀死^[35-36]。毒素在同类细胞间交换后,可以继续进行交流,在种群内传播。已报道的 3 种毒素均为脂蛋白,N 端包含 OM 脂蛋白信号肽,C 端为核酸酶毒素结构域。

除了上述的 3 种亲缘识别机制外,在革兰氏阳性细菌枯草芽孢杆菌中,研究者借助遗传、转录和生物信息学等方法比较分析菌落融合不兼容菌株间差异,寻找菌落融合不兼容的遗传决定因素^[37]。基于转座子随机插入,在枯草芽孢杆菌 NCIB 3610

中筛选到一些相关基因,包括 *wapAI* (接触依赖性生长抑制的毒素与免疫蛋白编码基因)、*tuaD* (负责合成细胞外表面的磷壁酸,而磷壁酸是一些抗生素和自溶素的受体,也是噬菌体的结合位点)、一些响应环境变化的调控基因。总的来说,在枯草芽孢杆菌中菌落融合不兼容的分子遗传基础是这些抗微生物攻击和防御相关基因的综合作用。若在不同枯草芽孢杆菌中分析这些基因的功能,则发现不同菌株中识别相关基因也是不同的,但均是与抗微生物攻击和防御相关的基因。若两个菌株间形成界线,界线处一个菌株相关基因的转录水平会发生剧烈变化,另一个菌株的转录水平仅有微弱变化。此外,在枯草芽孢杆菌近缘菌株的基因组中,识别相关基因也是高度不保守的。

2 不依赖细胞接触的细菌间相互作用

2.1 细菌素

细菌素是广泛分布于细菌中的一种不依赖细胞接触而进行分泌的毒素分子,其中最为人熟知的是大肠杆菌素(Colicins)^[38-39]。可产生大肠杆菌素的大肠杆菌大多分离自人体肠道,暗示大肠杆菌及大肠杆菌素在维持肠道菌群稳态中具有重要作用^[40]。大肠杆菌素的编码基因位于质粒上,包含一个编码毒素、免疫蛋白和毒素分泌相关蛋白的操纵子。细菌素基因一般情况下不表达,当细胞密度较大时,在群体感应信号分子调控下激活表达,从而调节群体密度。大肠杆菌素的靶细胞范围较窄,一般针对近缘或同种的不同菌株。目前已报道的大肠杆菌素多为核酸酶或者破坏细胞壁的蛋白,包括大肠杆菌素 E3、E4、E6 等 rRNase,大肠杆菌素 E5、D 等 tRNase,大肠杆菌素 E2、E7、E8、E9 等 DNase,大肠杆菌素 A、B、E1、Ia、Ib 等成孔蛋白。大肠杆菌素分子量一般较大,包含 3 种结构域: N 端运输结构域(负责把大肠杆菌素转运进靶细胞)、中段受体结合结构域(负责与靶细胞特异受体相结合)、C 端毒性结构域。这种结构域模块特点暗示大肠杆菌素的多样性进化可能是结构域模块交换或杂合所产生的,不同大肠杆菌素的结构域之间具有相似

性。若靶细胞内包含相应的免疫蛋白,则存活;若细胞内无相应免疫蛋白,则被杀死;从而识别是否为同类细胞。

2.2 群体感应

在同类细胞之间的社会性合作中,群体感应(Quorum sensing)是研究的较为清晰的一种信号分子与细胞表面受体特异性结合,进一步诱导细胞间合作的一种分子遗传机制。利用群体感应,许多细菌可以识别生存微环境中细胞亲缘关系和群体密度。来自同类细胞的扩散性信号分子可以诱导调控细胞间的许多合作行为,包括生物发光、竞争、毒力、运动、生物膜和子实体形成等。这种信号分子介导的亲缘识别的优点是范围广,一个细胞分泌的信号可以传递给生存微环境中的多个细胞,引发多个同类细胞间的合作行为,缺点是不能直接识别邻近细胞是否为同类。

群体感应机制最初在革兰氏阴性细菌中发现,主要的群体感应信号分子是酰基高丝氨酸内酯(*N*-acyl homoserine lactones, AHL),随后发现革兰氏阳性细菌中发挥类似功能的感应信号是寡肽类分子(Oligopeptides)^[41-42]。这种机制的亲缘识别主要体现在同类细胞表面的受体特异性与群体感应信号分子结合,随后产生一系列胞内反应。例如,根据酰基链的长度和修饰,AHL 信号分子的化学结构具有多种形式,那么对应的细胞表面受体也多种多样,信号分子与表面受体间的特异性结合确保了同类细胞间的信号传递^[43]。在霍乱弧菌和铜绿假单胞菌中各自包含 2-3 种群体感应信号分子,这些信号分子联合发挥作用,保证了亲缘识别的复杂性和特异性,进一步调控各自相关基因的应答控制同类细胞间的合作行为。

在革兰氏阳性细菌中也包含多种特异性的群体感应信号和相应的细胞表面受体^[41]。例如,在金黄色葡萄球菌(*Staphylococcus aureus*)的不同菌株中,4 种群体感应信号分子 AgrD 及共进化的受体 AgrC 具有同源性,但每一对之间具有高度特异性结合能力,单个氨基酸突变即可改变这种特异性。如一个

菌株细胞表面的 AgrC 受体接收到非相应的另一种 AgrD 信号分子, 该菌株中的 *agr* 毒力因子的表达则被阻断。这种调控作用确保一个感染性群落中不会被另一种金黄色葡萄球菌菌株侵入。类似的特异性群体感应信号分子与受体调控机制在枯草芽孢杆菌、肺炎链球菌、肠球菌中也被观察到^[44-45]。

此外, 群体感应信号调控 T6SS 等攻击武器分泌毒素保护自身的现象在铜绿假单胞菌中被发现^[46]。一个细胞受到非同类细胞的攻击后被杀死, 细胞裂解过程中会向周围环境中释放群体感应信号分子。这种信号分子被其他同类细胞表面的 RetS/GacS/A 等受体捕获, 促使同类细胞启动 T6SS 攻击非同类细胞。

3 总结与展望

细菌及其他微生物过去被认为独立生存, 彼此之间不存在合作行为。这种个体之间合作的利他行为似乎与自然选择理论相悖, 曾被称为达尔文的“利他主义难题”。汉密尔顿于 1964 年提出了一种解释利他行为存在的社会性进化理论: 具有利他行为的个体的损失能够被其他同类个体存活或繁衍的收益所弥补, 那么这种利他行为就具有进化优势, 在进化过程中被保存下来^[47-48]。这种理论被广泛应用于解释社会性合作行为。大量的组学数据为我们提供了认识微生物社会组成的可能, 但深入地了解 and 认识微生物实施功能的基础仍需要开展机制的研究。

通过亲缘识别, 同类细胞中含有免疫蛋白而免受毒素的毒害, 非同类细胞缺少免疫蛋白被毒素杀伤。多样性的毒素与免疫蛋白之间的特异性结合能力为细菌细胞亲缘识别提供巨大的遗传信息保障, 进一步与多种毒素输出机制相结合, 构成了种类多样的细菌亲缘识别机制。在排除非同类细胞的基础上, 同类细胞间在信号分子的诱导下进行社会性合作, 赋予细菌细胞单个细胞所没有的诸多特性和生长优势。通过细菌的亲缘识别行为, 细菌细胞之间的功能相互协同, 不但可以形成更强的耐药性而成

为传染性疾病难以治愈的主要原因, 也是环境物质有效降解利用的前提。细菌之间的相互作用是细菌适应生存的重要基础, 也是组成和构建多样性微生物群落的基础。同时微生物之间的相互关系和作用也影响宿主健康和生理代谢, 环境物质降解利用和驱动元素循环等。目前有关微生物相互识别和相互作用的遗传机制和生化基础仍大量处于空白状态。这些未知的机制和功能的阐明是我们更好地利用微生物的前提。

REFERENCES

- [1] West SA, Griffin AS, Gardner A, et al. Social evolution theory for microorganisms[J]. *Nature Reviews Microbiology*, 2006, 4(8): 597-607
- [2] Strassmann JE, Gilbert OM, Queller DC. Kin discrimination and cooperation in microbes[J]. *Annual Review of Microbiology*, 2011, 65: 349-367
- [3] Gans J, Wolinsky M, Dunbar J. Computational improvements reveal great bacterial diversity and high metal toxicity in soil[J]. *Science*, 2005, 309(5739): 1387-1390
- [4] Hooper LV, Gordon JI. Commensal host-bacterial relationships in the gut[J]. *Science*, 2001, 292(5519): 1115-1118
- [5] Roesch LFW, Fulthorpe RR, Riva A, et al. Pyrosequencing enumerates and contrasts soil microbial diversity[J]. *The ISME Journal*, 2007, 1(4): 283-290
- [6] Achtman M, Wagner M. Microbial diversity and the genetic nature of microbial species[J]. *Nature Reviews Microbiology*, 2008, 6(6): 431-440
- [7] Brown SP, Buckling A. A social life for discerning microbes[J]. *Cell*, 2008, 135(4): 600-603
- [8] Foster KR, Parkinson K, Thompson CRL. What can microbial genetics teach sociobiology?[J]. *Trends in Genetics*, 2007, 23(2): 74-80
- [9] Keller L, Surette MG. Communication in bacteria: an ecological and evolutionary perspective[J]. *Nature Reviews Microbiology*, 2006, 4(4): 249-258
- [10] Velicer GJ, Vos M. Sociobiology of the myxobacteria[J]. *Annual Review of Microbiology*, 2009, 63: 599-623
- [11] Dienes L. Reproductive processes in *Proteus cultures*[J]. *Experimental Biology and Medicine*, 1946, 63(2): 265-270
- [12] Pfaller MA, Mujeeb I, Hollis RJ, et al. Evaluation of the discriminatory powers of the Dienes test and ribotyping as typing methods for *Proteus mirabilis*[J]. *Journal of Clinical Microbiology*, 2000, 38(3): 1077-1080
- [13] Gibbs KA, Urbanowski ML, Greenberg EP. Genetic determinants of self identity and social recognition in bacteria[J]. *Science*, 2008, 321(5886): 256-259
- [14] Munson EL, Pfaller MA, Doern GV. Modification of dienes mutual inhibition test for epidemiological characterization of *Pseudomonas aeruginosa* isolates[J]. *Journal of Clinical Microbiology*, 2002, 40(11): 4285-4288
- [15] Vos M, Velicer GJ. Social conflict in centimeter-and global-scale populations of the bacterium *Myxococcus xanthus*[J]. *Current Biology*, 2009, 19(20): 1763-1767
- [16] Stefanic P, Kraigher B, Lyons NA, et al. Kin discrimination between sympatric *Bacillus subtilis* isolates[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2015, 112(45): 14042-14047
- [17] Aoki SK, Pamma R, Hernday AD, et al. Contact-dependent inhibition of growth in *Escherichia coli*[J]. *Science*, 2005,

- 309(5738): 1245-1248
- [18] Guérin J, Bigot S, Schneider R, et al. Two-partner secretion: combining efficiency and simplicity in the secretion of large proteins for bacteria-host and bacteria-bacteria interactions[J]. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, 2017, 7: 148
- [19] Willett JLE, Ruhe ZC, Goulding CW, et al. Contact-dependent growth inhibition (CDI) and cdib/cdia two-partner secretion proteins[J]. *Journal of Molecular Biology*, 2015, 427(23): 3754-3765
- [20] Aoki SK, Diner EJ, de Roodenbeke CT, et al. A widespread family of polymorphic contact-dependent toxin delivery systems in bacteria[J]. *Nature*, 2010, 468(7322): 439-442
- [21] Zhang DP, Iyer LM, Aravind L. A novel immunity system for bacterial nucleic acid degrading toxins and its recruitment in various eukaryotic and DNA viral systems[J]. *Nucleic Acids Research*, 2011, 39(11): 4532-4552
- [22] Ruhe ZC, Low DA, Hayes CS. Bacterial contact-dependent growth inhibition[J]. *Trends in Microbiology*, 2013, 21(5): 230-237
- [23] Alteri CJ, Himpf SD, Pickens SR, et al. Multicellular bacteria deploy the type VI secretion system to preemptively strike neighboring cells[J]. *PLoS Pathogens*, 2013, 9(9): e1003608
- [24] Alteri CJ, Himpf SD, Zhu KW, et al. Subtle variation within conserved effector operon gene products contributes to T6SS-mediated killing and immunity[J]. *PLoS Pathogens*, 2017, 13(11): e1006729
- [25] Wenren LM, Sullivan NL, Cardarelli L, et al. Two independent pathways for self-recognition in *Proteus mirabilis* are linked by type VI-dependent export[J]. *mBio*, 2013, 4(4): e00374-13
- [26] Gong Y, Zhang Z, Zhou XW, et al. Competitive interactions between incompatible mutants of the social bacterium *Myxococcus xanthus* DK1622[J]. *Frontiers in Microbiology*, 2018, 9: 1200
- [27] Gong Y, Zhang Z, Liu Y, et al. A nuclease-toxin and immunity system for kin discrimination in *Myxococcus xanthus*[J]. *Environmental Microbiology*, 2018, 20(7): 2552-2567
- [28] Chang YW, Chen SY, Tocheva EI, et al. Correlated cryogenic photoactivated localization microscopy and cryo-electron tomography[J]. *Nature Methods*, 2014, 11(7): 737-739
- [29] Chang YW, Rettberg LA, Ortega DR, et al. *In vivo* structures of an intact type VI secretion system revealed by electron cryotomography[J]. *EMBO Reports*, 2017, 18(7): 1090-1099
- [30] Ho BT, Dong TG, Mekalanos JJ. A view to a kill: the bacterial type VI secretion system[J]. *Cell Host & Microbe*, 2014, 15(1): 9-21
- [31] Galán JE, Waksman G. Protein-injection machines in bacteria[J]. *Cell*, 2018, 172(6): 1306-1318
- [32] Russell AB, Peterson SB, Mougous JD. Type VI secretion system effectors: poisons with a purpose[J]. *Nature Reviews Microbiology*, 2014, 12(2): 137-148
- [33] Garcia EC. Contact-dependent interbacterial toxins deliver a message[J]. *Current Opinion in Microbiology*, 2018, 42: 40-46
- [34] Wall D. Kin recognition in bacteria[J]. *Annual Review of Microbiology*, 2016, 70: 143-160
- [35] Vassallo CN, Cao PB, Conklin A, et al. Infectious polymorphic toxins delivered by outer membrane exchange discriminate kin in myxobacteria[J]. *eLife*, 2017, 6: e29397
- [36] Dey A, Vassallo CN, Conklin AC, et al. Sibling rivalry in *Myxococcus xanthus* is mediated by kin recognition and a polyploid prophage[J]. *Journal of Bacteriology*, 2016, 198(6): 994-1004
- [37] Lyons NA, Kraigher B, Stefanic P, et al. A combinatorial kin discrimination system in *Bacillus subtilis*[J]. *Current Biology*, 2016, 26(6): 733-742
- [38] Cascales E, Buchanan SK, Duché D, et al. Colicin biology[J]. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 2007, 71(1): 158-229
- [39] Ghequire MGK, de Mot R. Turning over a new leaf: bacteriocins going green[J]. *Trends in Microbiology*, 2018, 26(1): 1-2
- [40] Jamet A, Nassif X. New players in the toxin field: polymorphic toxin systems in bacteria[J]. *mBio*, 2015, 6(3): e00285-15
- [41] Novick RP, Geisinger E. Quorum sensing in staphylococci[J]. *Annual Review of Genetics*, 2008, 42: 541-564
- [42] Rutherford ST, Bassler BL. Bacterial quorum sensing: its role in virulence and possibilities for its control[J]. *Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine*, 2012, 2(11): a012427
- [43] Tashiro Y, Yawata Y, Toyofuku M, et al. Interspecies interaction between *Pseudomonas aeruginosa* and other microorganisms[J]. *Microbes and Environments*, 2013, 28(1): 13-24
- [44] Cook LC, Federle MJ. Peptide pheromone signaling in *Streptococcus* and *Enterococcus*[J]. *FEMS Microbiology Reviews*, 2014, 38(3): 473-492
- [45] Ansaldi M, Marolt D, Stebe T, et al. Specific activation of the *Bacillus* quorum-sensing systems by isoprenylated pheromone variants[J]. *Molecular Microbiology*, 2002, 44(6): 1561-1573
- [46] LeRoux M, Kirkpatrick RL, Montauti EI, et al. Kin cell lysis is a danger signal that activates antibacterial pathways of *Pseudomonas aeruginosa*[J]. *eLife*, 2015, 4: e05701
- [47] Hamilton WD. The genetical evolution of social behaviour. I[J]. *Journal of Theoretical Biology*, 1964, 7(1): 1-16
- [48] Hamilton WD. The genetical evolution of social behaviour. II[J]. *Journal of Theoretical Biology*, 1964, 7(1): 17-52