



## 专论与综述

## 细菌耐受噬菌体感染的分子机制研究进展

钟卓君 饶贤才\* 乐率\*

陆军军医大学基础医学院微生物学教研室 重庆 400038

**摘要:** 噬菌体是能感染细菌的病毒。为了抵抗噬菌体的感染, 细菌进化出多种抵抗噬菌体感染的机制, 这些机制的阐释极大地促进了基因编辑领域的发展, 同时也为噬菌体治疗的开展奠定了基础。本文就细菌针对噬菌体感染的各个环节所进行的抵抗及其分子机制进行了简要综述, 同时讨论了这些防御系统的存在对细菌自身的影响, 分析了当前细菌耐受噬菌体机制研究存在的局限性, 并对未来研究进行了展望。

**关键词:** 噬菌体耐受, 基因编辑, 超感染排斥, 限制-修饰系统, CRISPR 系统, 流产感染, 噬菌体诱导性染色体岛

## Molecular mechanisms of bacterial resistance to bacteriophage infection: a review

ZHONG Zhuojun RAO Xiancai\* LE Shuai\*

Department of Microbiology, College of Basic Medical Sciences, Army Medical University, Chongqing 400038, China

**Abstract:** Bacteriophage is the virus that infects bacteria. To resist bacteriophage infections, bacteria have evolved various antiviral mechanisms, which significantly promote the development of gene editing and lay down foundations for bacteriophage treatment. This review briefly concludes the molecular resistance mechanisms of host bacteria against bacteriophage infection. Next, the effects of such defense systems on bacteria physiology and ecology are discussed. Then, we summarized the limitations and future directions of bacteriophage resistance research.

**Keywords:** bacteriophage resistance, gene editing, superinfection exclusion, restriction-modification systems, CRISPR systems, abortive infection, phage-inducible chromosomal islands

噬菌体是一种能感染细菌的病毒, 广泛存在于自然环境中, 据估计自然界中的噬菌体数量达 $10^{31}$ 之多, 被认为是地球上最丰富的生物<sup>[1]</sup>。面对数量众多的噬菌体, 作为宿主的细菌进化出了多种抵抗噬菌体感染的机制<sup>[2]</sup>。对细菌耐受噬菌

体感染机制的研究极大地促进了基因编辑技术的发展, 例如限制性核酸内切酶和 CRISPR-Cas9 已成为最为常用的基因编辑工具。此外, 由于噬菌体能高效裂解细菌, 噬菌体治疗已经成为治疗耐药菌感染的重要替代方式之一<sup>[3-4]</sup>。尽管多项临床

**Foundation item:** National Natural Science Foundation of China (31870167)

**\*Corresponding authors:** E-mail: RAO Xiancai: raoxiancai@126.com; LE Shuai: leshuai2004@tmmu.edu.cn

**Received:** 31-05-2021; **Accepted:** 01-07-2021; **Published online:** 24-07-2021

**基金项目:** 国家自然科学基金(31870167)

**\*通信作者:** E-mail: 饶贤才: raoxiancai@126.com; 乐率: leshuai2004@tmmu.edu.cn

**收稿日期:** 2021-05-31; **接受日期:** 2021-07-01; **网络首发日期:** 2021-07-24

实验结果表明噬菌体治疗的有效性,但同样也面临着噬菌体耐受导致治疗失败的问题<sup>[5]</sup>。因此,对细菌耐受噬菌体感染机制的研究,不仅有望发现新的基因编辑工具,也能够更好地指导噬菌体治疗的实践。

噬菌体感染细菌包括吸附、注入、生物合成、组装、释放等环节,根据细菌抵御噬菌体的途径,可将细菌耐受噬菌体感染机制分为 5 种类型:阻止噬菌体的吸附、阻止噬菌体 DNA 的注入、阻止 DNA 的复制、流产感染及阻止噬菌体的组装和释放。

## 1 阻止噬菌体的吸附

噬菌体感染细菌的第一步是利用受体结合蛋白特异性地吸附于细菌表面的受体。细菌表面的菌毛、鞭毛、膜蛋白、脂多糖、荚膜多糖、胞外多糖等都是噬菌体感染常见的受体<sup>[6-8]</sup>,噬菌体的受体结合蛋白与细菌表面受体的结合是高度特异性的,因此,受体的变异可能造成噬菌体无法完成吸附,进而导致感染的失败(图 1)。

### 1.1 受体结构改变

受体的结构改变或丢失都会导致噬菌体无法吸附。铜绿假单胞菌临床分离株 PA1 编码 O-抗原聚合酶的基因 *Wzy* 发生点突变后,导致 LPS 的 O-抗原多糖不能被连续组装成长链,产生截短的 O-抗原,使得以 O-抗原为受体的噬菌体无法吸附<sup>[8-9]</sup>。鲍曼不动杆菌 AB900 编码糖基转移酶的基因 *gtr29*

发生点突变后,导致荚膜多糖无法合成,使得以荚膜多糖为受体的噬菌体  $\Phi$ FG02 无法吸附;由于荚膜的缺失导致该细菌对  $\beta$ -内酰胺类抗生素变得敏感,因此可用噬菌体-抗生素联合治疗的方法治疗这类细菌的感染<sup>[10]</sup>。除了受体编码基因的直接变异,在金黄色葡萄球菌 AB91118 中还发现了一种通过代谢相关基因的变异从而阻止噬菌体吸附的新机制,可能是由于代谢功能影响了噬菌体受体的合成从而抑制了噬菌体 LQ7 的吸附<sup>[11]</sup>。

除了最为常见的点突变,细菌还可通过基因丢失、倒置、插入等方式导致受体编码基因的变异。在铜绿假单胞菌 PAO1 中, MutL 介导的基因组大片段丢失可导致 O-抗原缺失,从而阻止噬菌体吸附<sup>[12]</sup>。空肠弯曲杆菌 HPC5 可通过基因组内重排导致受体变化<sup>[13]</sup>。肺炎克雷伯菌 Kp36 可利用移动遗传元件(*insA* 和 *insB*)插入导致荚膜多糖合成基因 *wcaJ* 被破坏,并抵抗噬菌体吸附<sup>[14]</sup>。

上述变异都是在细菌繁殖过程中自然出现的,导致了细菌群体的异质性,即在一个数量较大的细菌群体中,总存在一定低比例的受体突变细菌,可在遇到噬菌体感染时存活下来。因此,在噬菌体治疗时,仅靠一种噬菌体来杀灭细菌群体中的所有细菌是难以实现的。我们可将多种受体不同的噬菌体做成鸡尾酒式混合制剂,避免噬菌体治疗过程中发生受体结构改变所导致的噬菌体抵抗问题<sup>[4]</sup>。例如铜绿假单胞菌 PAO1 在生长过程

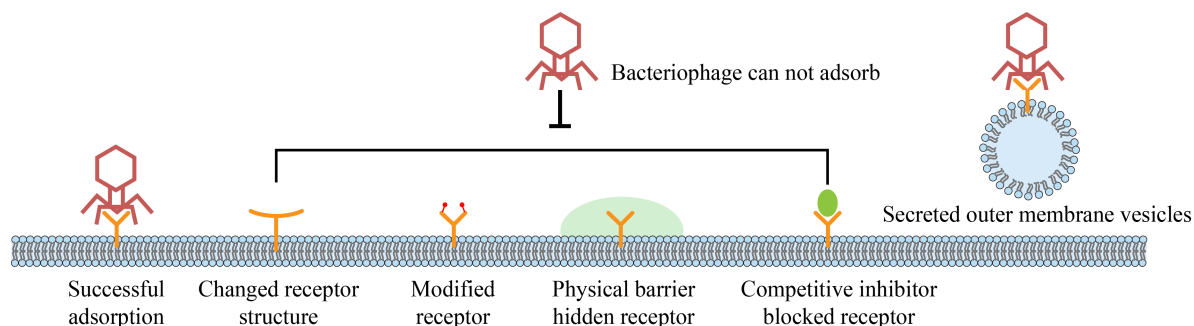


图 1 细菌阻止噬菌体吸附的途径

Figure 1 The pathways of bacteria blocking phage adsorption

中会产生少量 O-抗原发生突变和缺失的突变株, 分离以不同 O-抗原为受体的噬菌体, 组成一个噬菌体鸡尾酒, 可显著抑制噬菌体耐受菌的出现<sup>[15]</sup>。

## 1.2 受体修饰

受体结构的修饰也可导致细菌对噬菌体耐受。例如, 铜绿假单胞菌可通过对IV型菌毛的糖基化来阻止噬菌体的感染, 由于对受体的修饰不会破坏其结构, 因此对菌毛的糖基化在阻止噬菌体吸附的同时也保留了菌毛的正常生理功能<sup>[16]</sup>。沙门氏菌的 O-抗原是噬菌体 SPC35 的受体, 细菌可通过对其进行  $\alpha$ -1,4-糖基化从而导致噬菌体无法吸附<sup>[17]</sup>。

## 1.3 受体的物理屏障

很多细菌都能够分泌胞外多糖, 将细菌包裹, 导致噬菌体不容易吸附到细菌上。葡萄球菌 698 可产生荚膜, 遮挡噬菌体吸附位点, 阻止噬菌体 U16 的吸附<sup>[18]</sup>。荧光假单胞菌 SBW25 可分泌黏蛋白来阻止噬菌体 phi2 的吸附<sup>[19]</sup>。

## 1.4 产生竞争性抑制剂

细菌可通过产生竞争性抑制剂来阻止噬菌体与正常受体的结合。例如, FhuA 是大肠埃希菌的铁离子转运体, 也是大肠埃希菌噬菌体 T5 的次级受体, 但微球蛋白 J25 同样能与 FhuA 结合, 而且结合能力更强。在营养条件差的时候, 大肠埃希

菌往往会分泌微球蛋白 J25, 并与自身的 FhuA 结合, 保护细菌免受 T5 噬菌体的感染<sup>[20-21]</sup>。

## 1.5 分泌外膜囊泡

革兰氏阴性菌在生长发育各个阶段均能分泌外膜囊泡 (Outer Membrane Vesicles, OMVs), OMVs 膜上常含有外膜蛋白和脂质等, 囊腔内含有可溶性物质<sup>[22-23]</sup>。由于噬菌体的受体往往是外膜蛋白, 因此 OMVs 可以作为一种诱饵来吸附噬菌体, 并最终导致噬菌体无法实现正常复制增殖<sup>[24]</sup>。例如, 将 T4 噬菌体与 OMVs 共孵育后将显著降低其感染大肠埃希菌的效率<sup>[25]</sup>。

## 2 阻止噬菌体 DNA 的注入

超感染排斥 (Superinfection Exclusion, Sie) 系统是一种由前噬菌体编码蛋白介导的阻止其他噬菌体 DNA 进入胞内的防御系统。这些锚定在膜上或与膜成分相关的蛋白可阻止噬菌体 DNA 的注入<sup>[26]</sup>。最具代表性的是 T4 噬菌体 (图 2), 其存在 2 种 Sie 系统: Imm 系统和 Sp 系统<sup>[27]</sup>。Imm 系统通过改变噬菌体注入位点来阻止 DNA 成功注入胞内<sup>[28]</sup>; Sp 系统则通过抑制 T4 溶菌酶的活性使得细胞壁上的肽聚糖不能被降解, 噬菌体 DNA 无法顺利进入<sup>[29-30]</sup>。由于参与防御的蛋白多为前噬菌体所编码, 因此 Sie 系统目前被认为是噬菌体之间的一种竞争方式<sup>[31]</sup>。

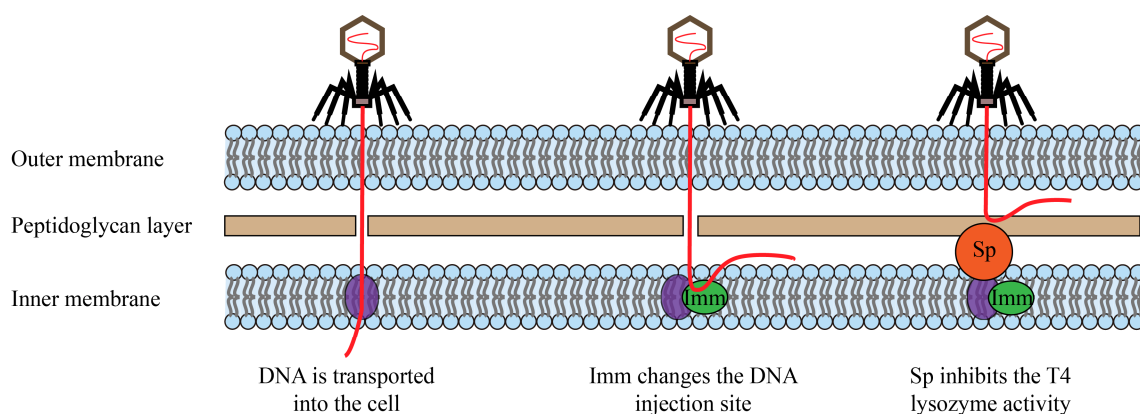


图 2 Sie 阻止噬菌体 DNA 的注入<sup>[26]</sup>

Figure 2 Sie block the injection of phage DNA<sup>[26]</sup>

### 3 阻止噬菌体 DNA 的复制

一旦噬菌体基因组成功注入细菌,裂解性噬菌体便将开始进行基因组复制,此时,细菌有多种途径来阻止噬菌体 DNA 的复制。

#### 3.1 限制-修饰系统

限制-修饰(Restriction-Modification, RM)系统是一种广泛存在于细菌中的抗噬菌体系统<sup>[2]</sup>。RM 系统通过识别 DNA 特殊位点的修饰来区分细菌自身和外源 DNA,并最终切割噬菌体所注入的 DNA,具体功能的执行主要需要 2 种成分:修饰酶(主要为甲基转移酶)和限制内切酶,修饰酶能够对细菌 DNA 进行甲基化等修饰,而限制内切酶将会切割未被修饰的噬菌体基因组,阻止噬菌体 DNA 复制<sup>[24]</sup>。

根据亚基组成和作用机制的不同可将 RM 系统分为 4 种类型, I 型 RM 系统通常识别一段不对称的序列,如 *EcoKI* 的识别位点为 AACNNNNNGTGC (N 为任意的 ATCG),当其成功识别到 2 个未被修饰的位点后,将在 2 个位点之间剪切导致 DNA 双链断裂; II 型 RM 系统主要识别 4-8 bp 的回文序列,即一条链上按 5'→3'读取的序列与其互补链上按 5'→3'读取的序列一致的序列,如 *EcoRI* 的识别位点为 GAATTC;当成功识别未被修饰的位点后,限制内切酶将在识别位点上或者旁边进行切割导致 DNA 双链断裂; III 型识别位点为 5-6 bp 的不对称序列,但与 I 型和 II 型不同的是, III 型修饰酶只会对 DNA 双链中的一条链进行甲基化,成功识别未被修饰的位点后将距离识别位点 25-27 bp 的位置发生剪切; IV 型缺乏修饰酶,只含有限制性内切酶,仅能剪切修饰的 DNA,主要针对已存在修饰的噬菌体 DNA<sup>[24,32]</sup>。

#### 3.2 噬菌体生长限制系统

噬菌体生长限制 (Bacteriophage Growth Limitation, Pgl)系统首先在天蓝色链球菌中被发现,同样能够修饰和切割 DNA<sup>[33-34]</sup>,但其作用机制恰好与 RM 系统相反,主要通过修饰噬菌体

DNA 起到标记作用,使得暂未被感染的细菌能够在遭到感染时迅速识别修饰并完成对噬菌体 DNA 的切割<sup>[24]</sup>。Pgl 系统的功能发挥分 3 个阶段,需要 4 个功能基因(*pglW*、*pglX*、*pglY* 和 *pglZ*)参与。

噬菌体在感染了含有 Pgl 系统的细菌后,噬菌体的 DNA 被甲基化修饰,当被释放后再次感染同种细菌时,被修饰的 DNA 将会被切割<sup>[33-34]</sup>。因此,尽管最初遭到感染的细菌并未能在噬菌体感染后存活下来,但却对噬菌体 DNA 进行了标记,使得周围的细菌更容易存活下来。

#### 3.3 噬菌体排斥系统

噬菌体排斥(Bacteriophage Exclusion, BREX)是一种新型的防御系统,为一段由 *brxA*、*brxB*、*brxC*、*brxL*、*pglX* 和 *pglZ* 共 6 个基因组成的基因簇;其作用原理同样是阻止噬菌体 DNA 的复制,但与限制-修饰系统不同的是,其不会剪切或降解噬菌体 DNA,而是以另外一种目前尚不明确的机制阻止噬菌体 DNA 的复制<sup>[35]</sup>。目前在革兰氏阳性菌和阴性菌中均有报道,枯草芽孢杆菌和大肠埃希菌中的 BREX 系统将分别对自身 DNA 中 TAGGAG 和 GGTAAG 位点上的第 5 号位上的腺嘌呤进行甲基化修饰,而来自噬菌体的外源 DNA 由于缺少该修饰将会受到 BREX 系统的抑制,无法顺利完成复制<sup>[35-36]</sup>。

#### 3.4 限制-修饰相关的防御岛系统

限制-修饰相关的防御岛(Defence Island System Associated with Restriction-Modification, DISARM)系统同样是一种新型防御系统,广泛存在于细菌和古菌中,包含 3 个核心基因(*drmA*、*drmB* 和 *drmC*)、1 个甲基转移酶基因(*drmMI* 或 *drmMII*)和 1 个额外的基因(*drmD* 或 *drmE*),目前认为除了 *drmC* 外的另外 4 个基因对于 DISARM 系统都是必需的, *drmC* 只在针对部分噬菌体的防御时发挥功能;根据其组成的不同可将该系统分为 2 种类型, I 型由 *drmA*、*drmB*、*drmC*、*drmMI* 和 *drmD* 组成, II 型由 *drmA*、*drmB*、*drmC*、*drmMII* 和 *drmE* 组

成; 目前认为 DISARM 系统是通过甲基转移酶对自身 DNA 上 CCWGG (W 为 A 或 T) 位点上的第 2 号位上的胞嘧啶进行甲基化从而区分自己和外源 DNA, 随后该系统的其他成分将会对非甲基化的 CCWGG 位点进行攻击; 但进一步的研究发现, 即使噬菌体基因组上的 CCWGG 位点存在甲基化修饰或不含有 CCWGG 位点, DISARM 系统仍然能够针对噬菌体感染提供很有效的防护, 因此除了识别 CCWGG 序列以外 DISARM 系统可能还存在其他未知的识别外源 DNA 的机制<sup>[37]</sup>。

### 3.5 CRISPR 系统

成簇的规律间隔的短回文重复序列(Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeat, CRISPR)系统是目前在细菌中报道的唯一的适应性免疫系统, 由 CRISPR 序列和 Cas (CRISPR-

Associated) 蛋白共同组成。细菌能从噬菌体基因组上获得短的序列即前间隔序列(Protospacers), 并最终作为间隔序列(Spacers)整合在自身 CRISPR 序列中, 从而获得了免疫记忆<sup>[38]</sup>。当外源 DNA 再次入侵时, 该系统将依靠 Spacer 与外源序列的碱基互补配对, 从而完成准确的识别并最终实现对外源 DNA 的清除<sup>[39]</sup>。基于 Cas 蛋白的组成, 可将 CRISPR 系统分为 6 种类型<sup>[40]</sup>。CRISPR-Cas 系统的功能实施分为 3 个阶段: 适应、表达和成熟、干扰<sup>[39,41]</sup>(图 3)。

适应(Adaptation)是指将外源基因的一段短序列作为新的 Spacer 并整合到细菌 CRISPR 序列中的过程, 这一过程在 6 种类型的 CRISPR 中几乎都是相同的<sup>[41]</sup>。CRISPR 系统通常使用宿主的 DNA 修复机制(革兰氏阳性菌通过 AddAB<sup>[42]</sup>, 革兰氏

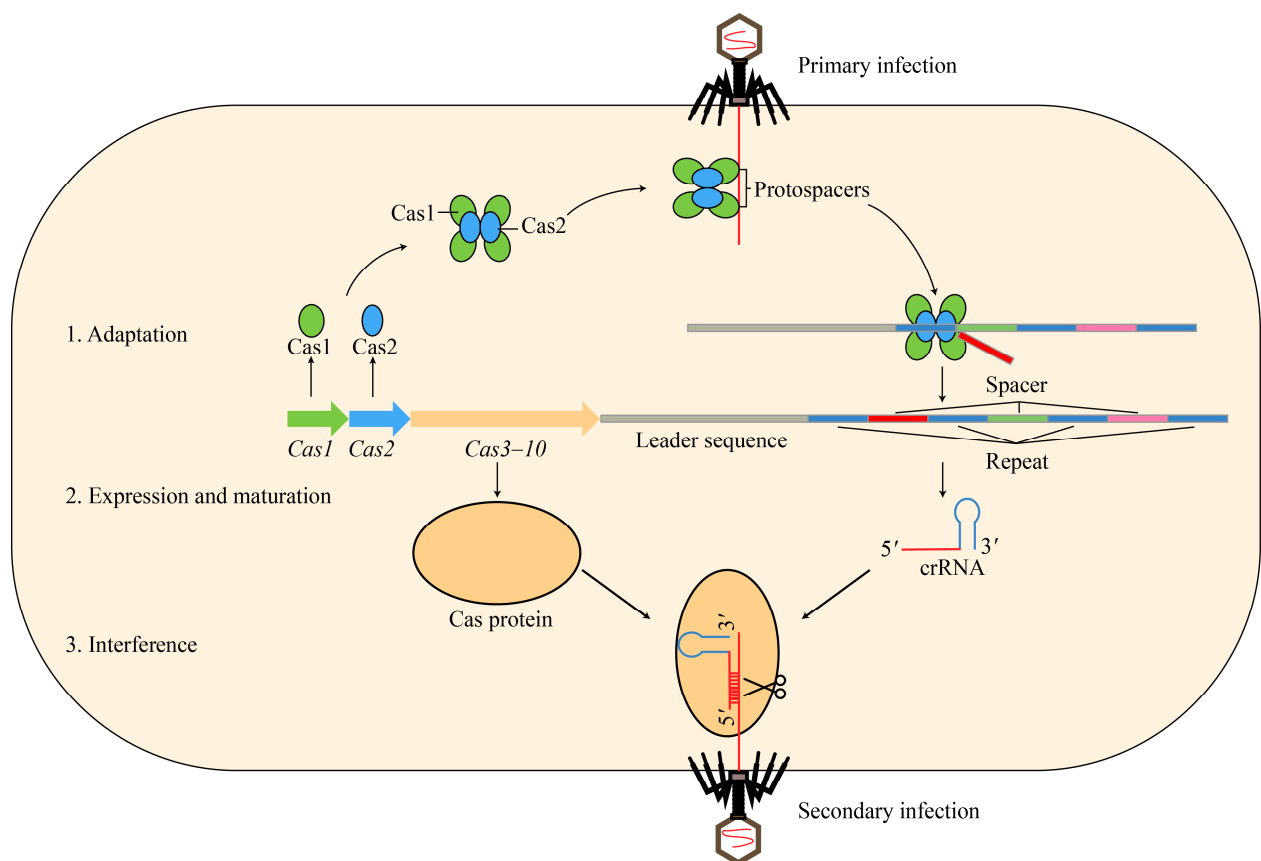


图 3 CRISPR 系统作用机制

Figure 3 The working mechanism of CRISPR systems



阴性菌通过 RecBCD<sup>[43-44]</sup>来产生 Spacer。以 RecBCD 为例,在同源重组过程中 RecBCD 通过结合 dsDNA 的末端并开始切除,切割后的短序列可作为 Spacer;但这种剪切并不是无休止的,其会受到 *chi* 位点的限制;*chi* 位点是一段 8 个核苷酸的序列,当 RecBCD 识别到该位点后活性将极大减弱;而事实上 *chi* 位点在细菌染色体上出现的频率远大于在噬菌体或质粒 DNA 上出现的频率,因此细菌更不容易从自身基因组上获得 Spacer<sup>[44]</sup>。此外,由于细菌染色体本身是环状的,一般情况下不会产生游离的 DNA 末端,而 dsDNA 噬菌体在完成基因注入后,其 DNA 通常为线性,具有游离末端,这将更容易被 CRISPR 系统所识别从而被 RecBCD 捕获,进而更加迅速地产生免疫防御<sup>[42]</sup>。除了 DNA 本身的特性外,细菌自身同样存在一些调控 CRISPR-Cas 系统活性的途径,如在铜绿假单胞菌中发现 CdpR 可抑制 CRISPR-Cas 系统的活性,这虽然导致了抗噬菌体能力减弱,但同时也减少了自身免疫的发生<sup>[45]</sup>。上述特征极大地降低了细菌自身序列被捕获为 Spacer 的可能性,有效地避免了自身免疫的发生。然而当 Spacer 产生后,需要被整合到细菌染色体上,这一过程需要 Cas1-Cas2 蛋白复合物的参与。由 4 个 Cas1 和 2 个 Cas2 蛋白组成的蛋白复合物具有整合酶的作用<sup>[46]</sup>,其上含有 2 个 DNA 结合区域,一个结合 Protospacer,另一个结合 CRISPR 序列<sup>[41]</sup>,最终将新的 Spacer 成功插入到 CRISPR 序列的第一个重复序列(Repeat)之后<sup>[39]</sup>。

在表达(Expression)和成熟(Maturation)阶段,CRISPR 序列将被转录,然后被加工成为成熟的 crRNAs,每个 crRNA 上都包含了 Spacer 和 Repeat,随后 crRNA 将与 Cas 蛋白形成复合物<sup>[39]</sup>。

在干扰(Interference)阶段,crRNA-Cas 蛋白复合物将在胞内寻找能与 crRNA 上的 Spacer 碱基互补配对的 DNA 序列,这段序列往往是噬菌体注入的 DNA,匹配成功后 Cas 蛋白将发挥作用进行剪切,实现对入侵 DNA 的干扰<sup>[39]</sup>。

### 3.6 化学防御

目前报道的细菌耐受噬菌体机制几乎都是由蛋白质或蛋白质-RNA 复合物介导的,但化学防御(Chemical Defense)有所不同,其通过细菌分泌的小分子来抑制噬菌体的复制<sup>[47]</sup>。自然界的细菌会产生多种生物活性小分子<sup>[48]</sup>,赋予细菌在某些特殊环境下具备更强的生存能力<sup>[49]</sup>。部分小分子具有帮助细菌抵御噬菌体的功能,在阻止噬菌体复制的同时,也不影响细菌的正常生长繁殖<sup>[47]</sup>。

目前发现的几种具有抗噬菌体作用的小分子,包括阿霉素和柔红霉素,都是由链霉菌分泌;在对柔红霉素抑制噬菌体的研究中发现,该分子并不能阻止噬菌体 DNA 的注入,也不能抑制已整合在基因组上的前噬菌体的正常复制、合成、组装和释放,却可以阻止新注入噬菌体 DNA 的复制;同时由于噬菌体基因组是线性和非超螺旋的,不受 DNA 结合蛋白所保护,因此在这一阶段,低水平的柔红霉素可插入噬菌体 DNA 中,导致 DNA 的复制和转录无法完成,从而抑制噬菌体增殖;然而细菌的基因组是环状的,而且受到 DNA 结合蛋白的保护,柔红霉素无法插入其中,因此细菌的生长不会受到影响<sup>[47]</sup>。

## 4 流产感染

流产感染(Abortive Infection, Abi)是指在细菌感知到噬菌体感染后,在噬菌体完成复制前通过休眠或程序性细胞死亡来使得噬菌体无法形成子代噬菌体颗粒,从而无法再继续感染新的细菌的过程<sup>[50]</sup>。这是细菌在多种防御系统都失效后所选择的一种免疫策略,以阻止噬菌体的进一步扩散(图 4)。由于噬菌体的感染通常具有高度的特异性,因此这样的策略往往是为了保护相同种群的细菌。由于 Abi 系统会导致细菌本身的休眠或程序性细胞死亡,因此如果噬菌体在感染早期便被细菌的其他防御系统清除,那么 Abi 将不会被启动,只有当进入感染的晚期时,Abi 系统才会被当作最后的防御手段得以激活<sup>[50]</sup>。

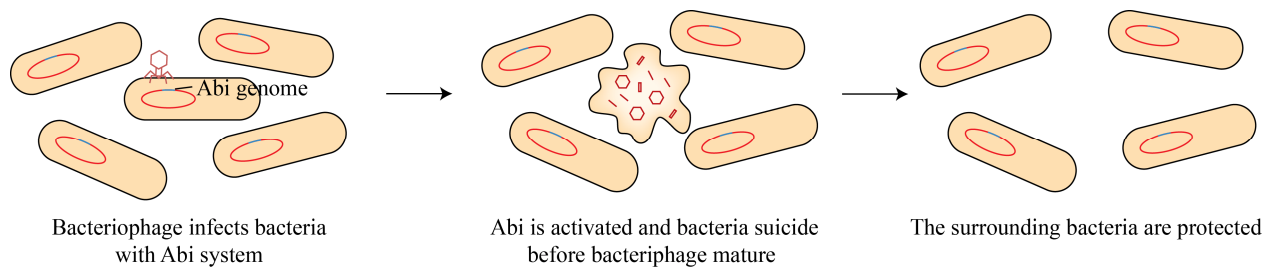


图4 流产感染阻止了噬菌体的扩散

Figure 4 Abortive infection prevents the spread of phage

目前认为, Abi 系统至少需要包含 2 种功能模块: 感知噬菌体入侵和完成休眠或自杀的模块。在正常情况下, 启动休眠或程序性细胞死亡的模块受到严格的抑制以保证细菌的正常生长<sup>[24]</sup>。当感知到噬菌体感染后, 该模块将在噬菌体成熟前引起细菌休眠或细胞死亡。

根据作用方式的不同可将 Abi 分为 2 个大类, 即经典的 Abi 系统(包括了 *rexAB*、*Lit*、*PrrC*、*AbiD1*、*AbiZ* 和 *ToxIN* 等系统)和最近报道的基于环寡核苷酸的抗噬菌体信号系统(Cyclic Oligonucleotide-Based Antiphage Signaling System, CBASS)<sup>[50]</sup>。

最早报道的 Abi 为 *rexAB* 系统, 其中 *RexA* 是一种胞内蛋白, 可以激活膜锚定蛋白 *RexB*<sup>[51]</sup>。当入侵的噬菌体 DNA 在复制时会形成 DNA-蛋白质复合物, 这能被胞内的 *RexA* 所感应而后激活 *RexB*, 继而在细菌细胞膜上形成一个铁离子通道, 导致细胞膜的去极化而死亡<sup>[51]</sup>。

*Lit* 和 *PrrC* 是另外 2 种通过抑制翻译来阻止噬菌体感染的 Abi 系统。*Lit* 能剪切延伸因子 *Tu*, 噬菌体主要衣壳蛋白 *Gp23* 可激活 *Lit*, 后者剪切 *Tu* 而导致胞内蛋白质合成受阻<sup>[52-55]</sup>; *PrrC* 是一种内啡肽酶, 可切割 *tRNA<sup>Lys</sup>*。正常情况下 *PrrC* 受到 I 型 RM 系统 *EcoprrI* 的抑制, 但 T4 噬菌体编码的多肽 *Stp* 可解除 *EcoprrI* 的抑制, 激活 *PrrC*, 导致 *tRNA<sup>Lys</sup>* 被剪切, 细菌胞内的蛋白质合成受阻<sup>[55-59]</sup>。

*AbiD1* 是在乳酸乳球菌中发现的一种 Abi 系

统, 在正常情况下细菌转录的 *abiD1* mRNA 处于不稳定状态, 因此无法翻译形成 *AbiD1* 蛋白, 但一种噬菌体中间蛋白 ORF1 能够稳定 *abiD1* mRNA, 使得 *AbiD1* 蛋白得以合成, 而 *AbiD1* 蛋白又能够抑制噬菌体编码的 *RuvC* 样核酸酶, 导致噬菌体无法成熟和包装<sup>[55,60-63]</sup>。

*AbiZ* 通过与噬菌体编码的穿孔素(Holin)和裂解酶(Lysin)相互作用, 促使细菌在噬菌体未成熟之前便遭到裂解, 限制了噬菌体扩散<sup>[55,64]</sup>。

*ToxIN* 是 III 型毒素-抗毒素(Toxin-Antitoxin, TA)系统的一种, *ToxN* 是一种细胞毒性内切核糖核酸酶, 在正常情况下会被非编码 RNA *ToxI* 中和<sup>[55,65-66]</sup>。但 *ToxI* 不稳定, 推测可能在噬菌体感染时优先降解, 导致游离的 *ToxN* 通过降解噬菌体和宿主的 RNA 从而引起细胞毒性, 噬菌体的增殖也受到抑制<sup>[55,66-67]</sup>。

CBASS 是最近报道的一种新的 Abi 系统, 与经典的 Abi 系统不同, 其感知噬菌体入侵的模块和导致休眠或程序性死亡的模块之间并没有直接的相互作用, 而是通过一些信号分子来实现信息的传递和功能的发挥<sup>[68]</sup>。该系统由寡核苷酸环化酶(cGAS)和效应基因组成, 当遭受噬菌体感染时, cGAS 将被激活而产生环状寡核苷酸(cGAMP), 而 cGAMP 随后将结合并激活同源磷脂酶蛋白, 导致细菌细胞膜遭到降解而死亡<sup>[68]</sup>。与经典的 Abi 系统相比, CBASS 系统使用第二信使来传递感染信号的策略显得更加有效。当检测到噬菌体感染后, cGAS 被激活随后迅速放大感染信号,

使得几条细菌细胞自杀通路同时被激活,大大缩短了 Abi 开始启动到完成自杀所需的时间,也减少了噬菌体在此期间完成复制的机会<sup>[50]</sup>。

## 5 阻止噬菌体的组装和释放

噬菌体诱导性染色体岛 (Phage-Inducible Chromosomal Islands, PICIs)广泛存在于革兰氏阳性菌<sup>[69]</sup>和革兰氏阴性菌<sup>[70]</sup>中,是一段整合在基因组上的 10–15 kb 的片段。PICIs 的作用机制与某些温和性噬菌体(辅助噬菌体)密切相关。在遭受辅助噬菌体的感染后,细菌 PICIs 会被激活,并利用噬菌体的结构蛋白进行包装。由于 PICIs 往往只有辅助噬菌体基因组的 1/3 大小,用于组装的衣壳蛋白也更小,包装效率更高,导致辅助噬菌体基因组无法完成组装(图 5)。金黄色葡萄球菌致病岛(*Staphylococcus aureus* Pathogenicity Islands, SaPIs)即是经典的 PICIs,辅助噬菌体表达的 StI 的分子可以诱导金葡菌 SaPIs 的启动,随后产生一个

较小的衣壳,只能将 SaPIs 成功包装<sup>[71]</sup>。最终,细菌遭到裂解但主要释放包装了 SaPIs 的噬菌体。

PICIs 的存在有效地阻止了辅助噬菌体的复制,然而尽管其抑制作用非常强大,但始终不能完全抑制辅助噬菌体的复制增殖<sup>[72]</sup>。目前认为,其中的原因可能是由于不完全的抑制可以保证少量辅助噬菌体始终存在,便于 PICIs 在细菌群体中更好地实现转移<sup>[73]</sup>。

## 6 不同防御系统的传播和协作

只依赖单一的防御系统无法将噬菌体全部清除,因此细菌需要同时编码多种防御系统。尽管各种防御系统的存在使得细菌具备更强的抵抗噬菌体的能力,但事实上这些防御系统本身会对细菌的生存带来极大的负担,其中最主要缺点是容易造成自身免疫同时带来能量负担,这可能会导致细菌休眠或死亡,在没有感染压力的情况下,细菌往往会丢掉这些防御系统以避免其对自身造

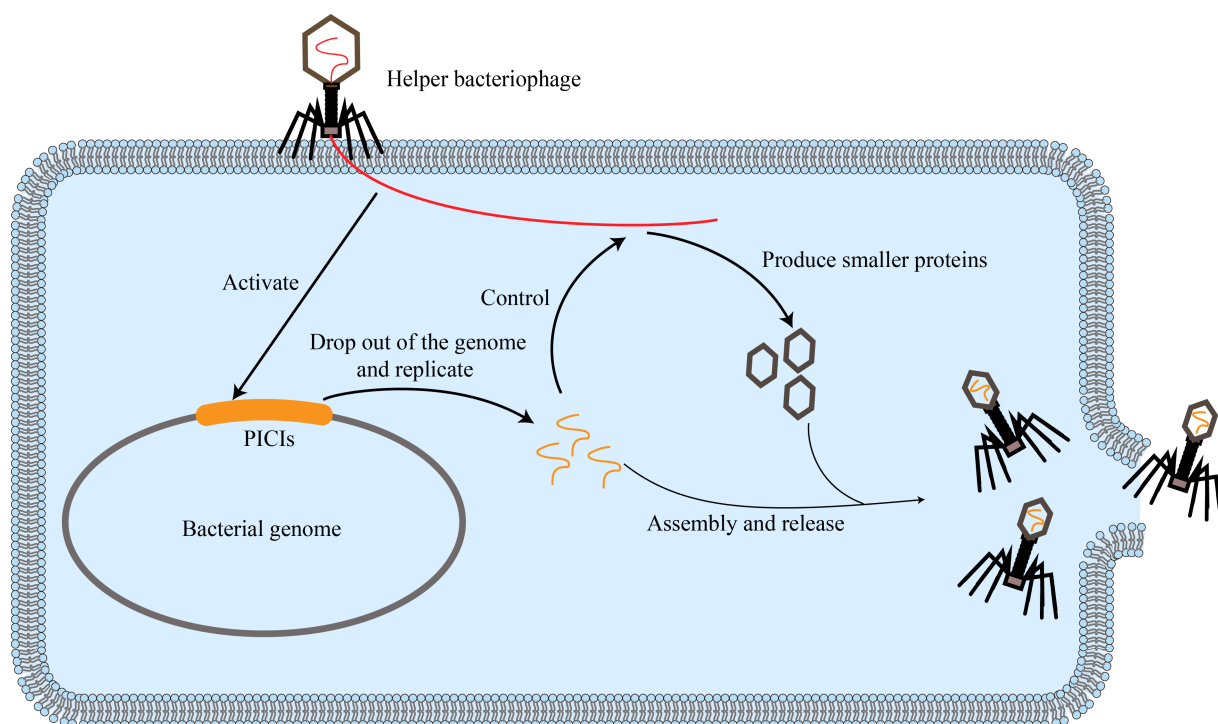


图 5 PICIs 的作用机制

Figure 5 The working mechanism of PICIs



成不利影响<sup>[74-75]</sup>。因此, 有研究者认为细菌中的防御系统并非某个细胞单独享有的, 而是作为一种共享的资源存在于细菌群体当中, 噬菌体选择性压力和水平基因转移将促进防御系统在群体中的转移, 以此适应更多样化的外界挑战<sup>[76]</sup>。

不同噬菌体防御系统之间还可以相互配合、动态调控。例如在 RM 系统存在下 CRISPR-Cas 系统获得 Spacer 的能力会被增强<sup>[77]</sup>; III型和IV型 CRISPR-Cas 系统可以导致 Abi 的发生, 主要通过 crRNA-Cas 复合物与噬菌体转录的 RNA 相结合并完成剪切, 随后激活非特异性 RNA 酶, 使得胞内 RNA 广泛遭到降解, 最终导致细菌休眠或死亡<sup>[78-80]</sup>。

## 7 展望

自然界的细菌-噬菌体在进行着长期的斗争, 蕴含着多种细菌耐受噬菌体感染的机制, 为基因编辑工具的开发、噬菌体治疗临床试验的开展奠定了基础。然而目前对细菌耐受噬菌体感染机制的研究还存在局限性。

首先, 研究对象比较局限。大多细菌耐受噬菌体感染机制的发现都源于少量的模式细菌, 而自然界还有大量不可培养细菌, 其中蕴含着大量新的噬菌体耐受元件亟待发掘。另一方面, 虽然自然界中噬菌体数量庞大, 但是目前分离鉴定的噬菌体大多是 dsDNA 噬菌体, 而 ssDNA、ssRNA 和 dsRNA 噬菌体的分离相对较少<sup>[81]</sup>。尤其是细菌抵抗 RNA 噬菌体的分子机制, 有望成为 RNA 编辑的重要工具。

其次, 研究技术比较局限。对于发现和研究细菌耐受噬菌体感染的机制, 传统的方法是通过分离得到耐受噬菌体的细菌, 并通过测序、建立转座子文库等手段来确定突变位点, 进而确定相关基因并最终明确细菌耐受噬菌体的机制。近年来, 基于细菌基因组上参与防御的基因往往聚集在一起形成防御岛的现象<sup>[76,82]</sup>, 一些研究人员开始利用生物信息学的方法探究数据库中已知防御基因周围的未知基因功能, 研究其是否参与对噬

菌体的抵抗, 并通过实验室方法进行验证<sup>[83-84]</sup>。因此, 大数据和“组学”等前沿技术的应用将有望带来细菌耐受噬菌体感染分子机制的新发现。

## REFERENCES

- [1] Fortier LC, Sekulovic O. Importance of prophages to evolution and virulence of bacterial pathogens[J]. Virulence, 2013, 4(5): 354-365
- [2] Hampton HG, Watson BNJ, Fineran PC. The arms race between bacteria and their phage foes[J]. Nature, 2020, 577(7790): 327-336
- [3] Bao J, Wu NN, Zeng YG, Chen LG, Li LL, Yang L, Zhang YY, Guo MQ, Li LS, Li J, et al. Non-active antibiotic and bacteriophage synergism to successfully treat recurrent urinary tract infection caused by extensively drug-resistant *Klebsiella pneumoniae*[J]. Emerging Microbes & Infections, 2020, 9(1): 771-774
- [4] Kortright KE, Chan BK, Koff JL, Turner PE. Phage therapy: a renewed approach to combat antibiotic-resistant bacteria[J]. Cell Host & Microbe, 2019, 25(2): 219-232
- [5] El Haddad L, Harb CP, Gebara MA, Stibich MA, Chemaly RF. A systematic and critical review of bacteriophage therapy against multidrug-resistant ESKAPE organisms in humans[J]. Clinical Infectious Diseases, 2019, 69(1): 167-178
- [6] Christen M, Beusch C, Bösch Y, Cerletti D, Flores-Tinoco CE, Del Medico L, Tschan F, Christen B. Quantitative selection analysis of bacteriophage  $\phi$ CbK susceptibility in *Caulobacter crescentus*[J]. Journal of Molecular Biology, 2016, 428(2): 419-430
- [7] Chibeu A, Ceyssens PJ, Hertveldt K, Volckaert G, Cornelis P, Matthijs S, Lavigne R. The adsorption of *Pseudomonas aeruginosa* bacteriophage  $\phi$ KMV is dependent on expression regulation of type IV pili genes[J]. FEMS Microbiology Letters, 2009, 296(2): 210-218
- [8] Le S, He XS, Tan YL, Huang GT, Zhang L, Lux R, Shi WY, Hu FQ. Mapping the tail fiber as the receptor binding protein responsible for differential host specificity of *Pseudomonas aeruginosa* bacteriophages PaP<sub>1</sub> and JG004[J]. PLoS One, 2013, 8(7): e68562
- [9] Li G, Shen MY, Yang YH, Le S, Li M, Wang J, Zhao Y, Tan YL, Hu FQ, Lu SG. Adaptation of *Pseudomonas aeruginosa* to phage PaP<sub>1</sub> predation via O-antigen polymerase mutation[J]. Frontiers in Microbiology, 2018, 9: 1170
- [10] Altamirano FG, Forsyth JH, Patwa R, Kostoulas X, Trim M, Subedi D, Archer SK, Morris FC, Oliveira C, Kielty L, et al. Bacteriophage-resistant *Acinetobacter baumannii* are resensitized to antimicrobials[J]. Nature Microbiology, 2021, 6(2): 157-161
- [11] Zhang XX, Xiong DY, Yu J, Yang HP, He P, Wei HP. Genetic polymorphism drives susceptibility between

- bacteria and bacteriophages[J]. *Frontiers in Microbiology*, 2021, 12: 627897
- [12] Shen MY, Zhang HD, Shen W, Zou ZY, Lu SG, Li G, He XS, Agnello M, Shi WY, Hu FQ, et al. *Pseudomonas aeruginosa* MutL promotes large chromosomal deletions through non-homologous end joining to prevent bacteriophage predation[J]. *Nucleic Acids Research*, 2018, 46(9): 4505-4514
- [13] Scott AE, Timms AR, Connerton PL, Loc Carrillo C, Adzfa Radzum K, Connerton IF. Genome dynamics of *Campylobacter jejuni* in response to bacteriophage predation[J]. *PLoS Pathogens*, 2007, 3(8): e119
- [14] Tan DM, Zhang YY, Qin JH, Le S, Gu JM, Chen LK, Guo XK, Zhu TY. A frameshift mutation in *wcaJ* associated with phage resistance in *Klebsiella pneumoniae*[J]. *Microorganisms*, 2020, 8(3): 378
- [15] Yang YH, Shen W, Zhong Q, Chen Q, He XS, Baker JL, Xiong K, Jin XL, Wang J, Hu FQ, et al. Development of a bacteriophage cocktail to constrain the emergence of phage-resistant *Pseudomonas aeruginosa*[J]. *Frontiers in Microbiology*, 2020, 11: 327
- [16] Harvey H, Bondy-Denomy J, Marquis H, Sztanko KM, Davidson AR, Burrows LL. *Pseudomonas aeruginosa* defends against phages through type IV *Pilus* glycosylation[J]. *Nature Microbiology*, 2018, 3(1): 47-52
- [17] Kim M, Ryu S. Spontaneous and transient defence against bacteriophage by phase-variable glucosylation of O-antigen in *Salmonella enterica* serovar Typhimurium[J]. *Molecular Microbiology*, 2012, 86(2): 411-425
- [18] Ohshima Y, Schumacher-Perdreau F, Peters G, Pulverer G. The role of capsule as a barrier to bacteriophage adsorption in an encapsulated *Staphylococcus simulans* strain[J]. *Medical Microbiology and Immunology*, 1988, 177(4): 229-233
- [19] Scanlan PD, Buckling A. Co-evolution with lytic phage selects for the mucoid phenotype of *Pseudomonas fluorescens* SBW25[J]. *The ISME Journal*, 2012, 6(6): 1148-1158
- [20] Plançon L, Janmot C, Le Maire M, Desmadril M, Bonhivers M, Letellier L, Boulanger P. Characterization of a high-affinity complex between the bacterial outer membrane protein FhuA and the phage T5 protein pb5[J]. *Journal of Molecular Biology*, 2002, 318(2): 557-569
- [21] Destoumieux-Garzón D, Duquesne S, Peduzzi J, Goulard C, Desmadril M, Letellier L, Rebuffat S, Boulanger P. The iron-siderophore transporter FhuA is the receptor for the antimicrobial peptide microcin J25: role of the microcin Val11-Pro16 beta-hairpin region in the recognition mechanism[J]. *Biochemical Journal*, 2005, 389(3): 869-876
- [22] Kulp A, Kuehn MJ. Biological functions and biogenesis of secreted bacterial outer membrane vesicles[J]. *Annual Review of Microbiology*, 2010, 64(1): 163-184
- [23] Ellis TN, Kuehn MJ. Virulence and immunomodulatory roles of bacterial outer membrane vesicles[J]. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 2010, 74(1): 81-94
- [24] Rostøl JT, Marraffini L. (ph)ighting phages: how bacteria resist their parasites[J]. *Cell Host & Microbe*, 2019, 25(2): 184-194
- [25] Manning AJ, Kuehn MJ. Contribution of bacterial outer membrane vesicles to innate bacterial defense[J]. *BMC Microbiology*, 2011, 11(1): 258
- [26] Labrie SJ, Samson JE, Moineau S. Bacteriophage resistance mechanisms[J]. *Nature Reviews Microbiology*, 2010, 8(5): 317-327
- [27] Lu MJ, Henning U. Superinfection exclusion by T-even-type coliphages[J]. *Trends in Microbiology*, 1994, 2(4): 137-139
- [28] Lu MJ, Stierhof YD, Henning U. Location and unusual membrane topology of the immunity protein of the *Escherichia coli* phage T4[J]. *Journal of Virology*, 1993, 67(8): 4905-4913
- [29] Kao SH, McClain WH. Baseplate protein of bacteriophage T4 with both structural and lytic functions[J]. *Journal of Virology*, 1980, 34(1): 95-103
- [30] Kao SH, McClain WH. Roles of bacteriophage T4 gene 5 and gene 5 products in cell lysis[J]. *Journal of Virology*, 1980, 34(1): 104-107
- [31] Domingo-Calap P, Mora-Quilis L, Sanjuán R. Social bacteriophages[J]. *Microorganisms*, 2020, 8(4): 533
- [32] Tock MR, Dryden DT. The biology of restriction and anti-restriction[J]. *Current Opinion in Microbiology*, 2005, 8(4): 466-472
- [33] Hoskisson PA, Sumby P, Smith MCM. The phage growth limitation system in *Streptomyces coelicolor* A(3)<sub>2</sub> is a toxin/antitoxin system, comprising enzymes with DNA methyltransferase, protein kinase and ATPase activity[J]. *Virology*, 2015, 477: 100-109
- [34] Sumby P, Smith MCM. Genetics of the phage growth limitation (Pgl) system of *Streptomyces coelicolor* A3(2)[J]. *Molecular Microbiology*, 2002, 44(2): 489-500
- [35] Goldfarb T, Sberro H, Weinstock E, Cohen O, Doron S, Charpak-Amikam Y, Afik S, Ofir G, Sorek R. BREX is a novel phage resistance system widespread in microbial genomes[J]. *The EMBO Journal*, 2015, 34(2): 169-183
- [36] Gordeeva J, Morozova N, Sierro N, Isaev A, Sinkunas T, Tsvetkova K, Matlashov M, Truncaite L, Morgan RD, Ivanov NV, et al. BREX system of *Escherichia coli* distinguishes self from non-self by methylation of a specific DNA site[J]. *Nucleic Acids Research*, 2019, 47(1): 253-265
- [37] Ofir G, Melamed S, Sberro H, Mukamel Z, Silverman S, Yaakov G, Doron S, Sorek R. DISARM is a widespread bacterial defence system with broad anti-phage activities[J]. *Nature Microbiology*, 2018, 3(1): 90-98
- [38] Barrangou R, Fremaux C, Deveau H, Richards M, Boyaval P, Moineau S, Romero DA, Horvath P. CRISPR provides acquired resistance against viruses in prokaryotes[J]. *Science*, 2007, 315(5819): 1709-1712
- [39] Amitai G, Sorek R. CRISPR-Cas adaptation: insights into

- the mechanism of action[J]. *Nature Reviews Microbiology*, 2016, 14(2): 67-76
- [40] Koonin EV, Makarova KS, Zhang F. Diversity, classification and evolution of CRISPR-Cas systems[J]. *Current Opinion in Microbiology*, 2017, 37: 67-78
- [41] McGinn J, Marraffini LA. Molecular mechanisms of CRISPR-Cas spacer acquisition[J]. *Nature Reviews Microbiology*, 2019, 17(1): 7-12
- [42] Modell JW, Jiang WY, Marraffini LA. CRISPR-Cas systems exploit viral DNA injection to establish and maintain adaptive immunity[J]. *Nature*, 2017, 544(7648): 101-104
- [43] Arslan Z, Hermanns V, Wurm R, Wagner R, Pul Ü. Detection and characterization of spacer integration intermediates in type I-E CRISPR-Cas system[J]. *Nucleic Acids Research*, 2014, 42(12): 7884-7893
- [44] Levy A, Goren MG, Yosef I, Auster O, Manor M, Amitai G, Edgar R, Qimron U, Sorek R. CRISPR adaptation biases explain preference for acquisition of foreign DNA[J]. *Nature*, 2015, 520(7548): 505-510
- [45] Lin P, Pu QQ, Shen GW, Li RP, Guo K, Zhou CM, Liang HH, Jiang JX, Wu M. CdpR inhibits CRISPR-cas adaptive immunity to lower anti-viral defense while avoiding self-reactivity[J]. *iScience*, 2019, 13: 55-68
- [46] Nuñez JK, Kranzusch PJ, Noeske J, Wright AV, Davies CW, Doudna JA. Cas1-Cas2 complex formation mediates spacer acquisition during CRISPR-Cas adaptive immunity[J]. *Nature Structural & Molecular Biology*, 2014, 21(6): 528-534
- [47] Kronheim S, Daniel-Ivad M, Duan Z, Hwang S, Wong AI, Mantel I, Nodwell JR, Maxwell KL. A chemical defence against phage infection[J]. *Nature*, 2018, 564(7735): 283-286
- [48] Davies J. Specialized microbial metabolites: functions and origins[J]. *The Journal of Antibiotics*, 2013, 66(7): 361-364
- [49] Vetsigian K, Jajoo R, Kishony R. Structure and evolution of *Streptomyces* interaction networks in soil and *in silico*[J]. *PLoS Biology*, 2011, 9(10): e1001184
- [50] Lopatina A, Tal N, Sorek R. Abortive infection: bacterial suicide as an antiviral immune strategy[J]. *Annual Review of Virology*, 2020, 7(1): 371-384
- [51] Parma DH, Snyder M, Sobolevski S, Nawroz M, Brody E, Gold L. The Rex system of bacteriophage lambda: tolerance and altruistic cell death[J]. *Genes & Development*, 1992, 6(3): 497-510
- [52] Kao C, Snyder L. The lit gene product which blocks bacteriophage T4 late gene expression is a membrane protein encoded by a cryptic DNA element, e14[J]. *Journal of Bacteriology*, 1988, 170(5): 2056-2062
- [53] Georgiou T, Yu YN, Ekunwe S, Buttner MJ, Zuurmond A, Kraal B, Kleanthous C, Snyder L. Specific peptide-activated proteolytic cleavage of *Escherichia coli* elongation factor Tu[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 1998, 95(6): 2891-2895
- [54] Yu YT, Snyder L. Translation elongation factor Tu cleaved by a phage-exclusion system[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 1994, 91(2): 802-806
- [55] Dy RL, Richter C, Salmond GPC, Fineran PC. Remarkable mechanisms in microbes to resist phage infections[J]. *Annual Review of Virology*, 2014, 1(1): 307-331
- [56] Levitz R, Chapman D, Amitsur M, Green R, Snyder L, Kaufmann G. The optional *E. coli* prr locus encodes a latent form of phage T4-induced anticodon nuclease[J]. *The EMBO Journal*, 1990, 9(5): 1383-1389
- [57] Amitsur M, Morad I, Chapman-Shimshoni D, Kaufmann G. HSD restriction-modification proteins partake in latent anticodon nuclease[J]. *The EMBO Journal*, 1992, 11(8): 3129-3134
- [58] Snyder L. Phage-exclusion enzymes: a bonanza of biochemical and cell biology reagents?[J]. *Molecular Microbiology*, 1995, 15(3): 415-420
- [59] Chapman D, Morad I, Kaufmann G, Gait MJ, Jorissen L, Snyder L. Nucleotide and deduced amino acid sequence of stp: the bacteriophage T4 anticodon nuclease gene[J]. *Journal of Molecular Biology*, 1988, 199(2): 373-377
- [60] Anba J, Bidnenko E, Hillier A, Ehrlich D, Chopin MC. Characterization of the lactococcal abiD1 gene coding for phage abortive infection[J]. *Journal of Bacteriology*, 1995, 177(13): 3818-3823
- [61] Bidnenko E, Chopin A, Ehrlich SD, Chopin MC. Activation of mRNA translation by phage protein and low temperature: the case of *Lactococcus lactis* abortive infection system AbiD1[J]. *BMC Molecular Biology*, 2009, 10: 4
- [62] Bidnenko E, Chopin MC, Ehrlich SD, Anba J. *Lactococcus lactis* AbiD1 abortive infection efficiency is drastically increased by a phage protein[J]. *FEMS Microbiology Letters*, 2002, 214(2): 283-287
- [63] Bidnenko E, Ehrlich SD, Chopin MC. *Lactococcus lactis* phage operon coding for an endonuclease homologous to RuvC[J]. *Molecular Microbiology*, 1998, 28(4): 823-834
- [64] Scaltriti E, Launay H, Genois MM, Bron P, Rivetti C, Grolli S, Ploquin M, Campanacci V, Tegoni M, Cambillau C, et al. Lactococcal phage p2 ORF35-Sak3 is an ATPase involved in DNA recombination and AbiK mechanism[J]. *Molecular Microbiology*, 2011, 80(1): 102-116
- [65] Blower TR, Pei XY, Short FL, Fineran PC, Humphreys DP, Luisi BF, Salmond GPC. A processed noncoding RNA regulates an altruistic bacterial antiviral system[J]. *Nature Structural & Molecular Biology*, 2011, 18(2): 185-190
- [66] Fineran PC, Blower TR, Foulds IJ, Humphreys DP, Lilley KS, Salmond GPC. The phage abortive infection system, ToxIN, functions as a protein-RNA toxin-antitoxin pair[J]. *PNAS*, 2009, 106(3): 894-899
- [67] Blower TR, Fineran PC, Johnson MJ, Toth IK, Humphreys DP, Salmond GPC. Mutagenesis and functional characterization of the RNA and protein components of the toxIN abortive infection and toxin-antitoxin locus of

- Erwinia*[J]. Journal of Bacteriology, 2009, 191(19): 6029-6039
- [68] Cohen D, Melamed S, Millman A, Shulman G, Oppenheimer-Shaanan Y, Kacen A, Doron S, Amitai G, Sorek R. Cyclic GMP-AMP signalling protects bacteria against viral infection[J]. Nature, 2019, 574(7780): 691-695
- [69] Martínez-Rubio R, Quiles-Puchalt N, Martí M, Humphrey S, Ram G, Smyth D, Chen J, Novick RP, Penadés JR. Phage-inducible islands in the Gram-positive cocci[J]. The ISME Journal, 2017, 11(4): 1029-1042
- [70] Fillol-Salom A, Martínez-Rubio R, Abdulrahman RF, Chen J, Davies R, Penadés JR. Phage-inducible chromosomal Islands are ubiquitous within the bacterial universe[J]. The ISME Journal, 2018, 12(9): 2114-2128
- [71] Tormo-Más MÁ, Mir I, Shrestha A, Tallent SM, Campoy S, Lasa I, Barbé J, Novick RP, Christie GE, Penadés JR. Moonlighting bacteriophage proteins derepress staphylococcal pathogenicity Islands[J]. Nature, 2010, 465(7299): 779-782
- [72] Ubeda C, Maiques E, Tormo MA, Campoy S, Lasa I, Barbé J, Novick RP, Penadés JR. SaPI operon I is required for SaPI packaging and is controlled by LexA[J]. Molecular Microbiology, 2007, 65(1): 41-50
- [73] Fillol-Salom A, Miguel-Romero L, Marina A, Chen J, Penadés JR. Beyond the CRISPR-Cas safeguard: PICI-encoded innate immune systems protect bacteria from bacteriophage predation[J]. Current Opinion in Microbiology, 2020, 56: 52-58
- [74] Koonin EV, Makarova KS, Wolf YI. Evolutionary genomics of defense systems in Archaea and bacteria[J]. Annual Review of Microbiology, 2017, 71: 233-261
- [75] Van Houte S, Buckling A, Westra ER. Evolutionary ecology of prokaryotic immune mechanisms[J]. Microbiology and Molecular Biology Reviews, 2016, 80(3): 745-763
- [76] Bernheim A, Sorek R. The *Pan*-immune system of bacteria: antiviral defence as a community resource[J]. Nature Reviews Microbiology, 2020, 18(2): 113-119
- [77] Hynes AP, Villion M, Moineau S. Adaptation in bacterial CRISPR-Cas immunity can be driven by defective phages[J]. Nature Communications, 2014, 5: 4399
- [78] Niewoehner O, Garcia-Doval C, Rostøl JT, Berk C, Schwede F, Bigler L, Hall J, Marraffini LA, Jinek M. Type III CRISPR-Cas systems produce cyclic oligoadenylate second messengers[J]. Nature, 2017, 548(7669): 543-548
- [79] Kazlauskienė M, Kostiuik G, Venclovas Č, Tamulaitis G, Siksnys V. A cyclic oligonucleotide signaling pathway in type III CRISPR-Cas systems[J]. Science, 2017, 357(6351): 605-609
- [80] Meeske AJ, Nakandakari-Higa S, Marraffini LA. Cas13-induced cellular dormancy prevents the rise of CRISPR-resistant bacteriophage[J]. Nature, 2019, 570(7760): 241-245
- [81] Dion MB, Oechslin F, Moineau S. Phage diversity, genomics and phylogeny[J]. Nature Reviews Microbiology, 2020, 18(3): 125-138
- [82] Makarova KS, Wolf YI, Snir S, Koonin EV. Defense islands in bacterial and archaeal genomes and prediction of novel defense systems[J]. Journal of Bacteriology, 2011, 193(21): 6039-6056
- [83] Doron S, Melamed S, Ofir G, Leavitt A, Lopatina A, Mai KR, Amitai G, Sorek R. Systematic discovery of antiphage defense systems in the microbial pangenome[J]. Science, 2018, 359(6379): eaar4120
- [84] Gao LY, Altae-Tran H, Böhning F, Makarova KS, Segel M, Schmid-Burgk JL, Koob J, Wolf YI, Koonin EV, Zhang F. Diverse enzymatic activities mediate antiviral immunity in prokaryotes[J]. Science, 2020, 369(6507): 1077-1084