



专论与综述

噬菌体群体感应系统及其分子机理研究进展

张莉萍^{1,2} 甄向凯^{1,2} 欧阳松应^{*1,2}

1 福建师范大学生命科学学院 福建 福州 350117

2 福建师范大学南方生物医学研究中心 福建 福州 350117

摘要: 群体感应(Quorum Sensing, QS)是微生物群体在生长过程中,随着群体密度的增加,其分泌的“信号分子”的浓度达到一定阈值后与微生物体内特定受体结合,从而影响微生物特定基因表达,导致其生理和生化特性的变化,表现出少量菌体或单个菌体所不具备的特征。1994年Fuqua提出群体感应概念后就成为微生物领域的研究热点。然而,群体感应的研究主要集中在细菌中,但近年来群体感应在噬菌体、真菌中也不断被发现,尤其自2017年Erez在多种枯草芽孢杆菌噬菌体中发现群体感应现象,并且揭示噬菌体群体感应主要调控其溶源-裂解途径的转换。近年来的研究又陆续在其他噬菌体中发现了群体感应。本文综述了噬菌体群体感应系统最新研究进展及其相关的基因功能和分子机理。

关键词: 群体感应, 噬菌体, 溶源-裂解途径, AimR-AimP, VqmA_{Phage}-DPO

Research progress of phage quorum sensing system and its molecular mechanism

ZHANG Liping^{1,2} ZHEN Xiangkai^{1,2} OUYANG Songying^{*1,2}

1 College of Life Sciences, Fujian Normal University, Fuzhou, Fujian 350117, China

2 Fujian Normal University Biomedical Research Center of South China, Fuzhou, Fujian 350117, China

Abstract: Quorum sensing is the ability of single-celled bacteria to regulate and synchronize target gene expression among a local population in response to cell density, so that a coordinate response is produced by whole population. Bacteria release signaling molecules called autoinducers that accumulate and increase in concentration according to cell density. The sensing of autoinducers by a bacterial population at a threshold stimulatory concentration leads to change in gene expression by switching the genes on that controlled by quorum sensing. Since Fuqua proposed the concept of quorum sensing in 1994, quorum sensing has become a research hotspot in the field of microbiology. In recent years, quorum sensing has been increasingly discovered in fungi and bacteriophages. Especially since 2017, Professor Erez has found quorum sensing phenomenon in a variety of phages including *Bacillus subtilis* phages, which regulates the lysogeny-lysis pathway conversion. In addition, a number of other studies have found quorum sensing in

Foundation items: National Natural Science Foundation of China (31770948); Natural Science Foundation of Fujian Province (2019J05065)

***Corresponding author:** E-mail: ouyangsy@fjnu.edu.cn

Received: 26-04-2021; **Accepted:** 06-07-2021; **Published online:** 22-07-2021

基金项目: 国家自然科学基金(31770948); 福建省自然科学基金(2019J05065)

***通信作者:** E-mail: ouyangsy@fjnu.edu.cn

收稿日期: 2021-04-26; **接受日期:** 2021-07-06; **网络首发日期:** 2021-07-22

other phages. This paper attempts to summarize the recent development in phage quorum sensing systems and their molecular mechanisms.

Keywords: quorum sensing, phage, lysogeny-lysis pathway, AimR-AimP, VqmA_{phage}-DPO

大量研究表明在微生物群体中存在着细胞与细胞间的“信息交流”的现象, 1994年Fuqua等^[1]首次将这种现象命名为“群体感应”(Quorum Sensing, QS)。群体感应是指细菌在生长过程中会不断产生一些称为“自诱导物”(Autoinducer, AI)的小分子, 这些AI被分泌到生长环境中并随着细菌数量的增加而增加, 当环境中的AI数量达到一定阈值后, 它们会进入细胞内与特定的受体结合, 从而调控细菌胞内信号通路, 在群体水平调控相关基因的表达, 使细菌适应环境的变化。一个典型的QS系统包括3个核心组分: 自诱导物分子、感应受体和下游调控因子。目前的研究表明, QS参与调控微生物许多重要的生命过程, 例如毒力因子、生物膜形成、生物发光、共轭调节、DNA摄取能力、孢子形成和抗噬菌体防御等^[2-5]。

QS自发现以来长期被认为只存在于细菌中, 然而, 近年来在许多真菌, 如白色念珠菌(*Canidia albicans*)^[6]、酿酒酵母菌(*Saccharomyces cerevisiae*)^[7]中发现了QS的现象, 它们在代谢物合成、毒素产生、孢子形成等方面发挥重要功能^[6,8]。此外, 最近有多项研究表明在噬菌体这种非细胞生物中也存在QS现象, 如: 芽孢杆菌属噬菌体(*Bacillus Phages*)^[9]、弧菌属噬菌体(*Vibriophage VP882*)^[10]、肌尾科噬菌体(*Myoviridae Phage*)^[11]、气单胞菌属噬菌体(*Aeromonas sp. ARM81*)^[12]等, 这些研究表明QS现象广泛存在于微生物中并对微生物的生存与进化至关重要, 极大地扩展了我们对QS的认识。噬菌体(Phage)作为地球上最多的生物实体, 是一种可以感染细菌、真菌、放线菌等的病毒总称, 依赖微生物为宿主进行复制和增殖^[13]。噬菌体感染宿主细胞有2种策略: 一种是噬菌体通过特异性感染宿主细胞, 将宿主裂解释

放大量的子代噬菌体, 这种称为裂解性噬菌体(Lytic Phage); 另一种是噬菌体将基因组整合到宿主细胞, 以原噬菌体的方式与宿主保持稳定关系, 即为溶源性噬菌体(Lysogenic Phage)^[14]。目前发现的多种噬菌体QS的功能主要是依赖宿主细胞密度调控噬菌体溶源-裂解周期的转换。在这些已发现的噬菌体QS系统中, 感应受体分别属于革兰氏阳性菌中的RRNPP(Rap、Rgg、NprR、PlcR、PrgX)家族转录因子以及革兰氏阴性菌中经典的LuxR转录因子, 对应的AIs分别为寡肽^[9]以及最新鉴定的3,5-二甲基吡嗪-2-醇(3,5-Dimethylpyrazine-2-Ol, DPO)^[15]。本文系统总结了噬菌体QS系统的研究进展、功能以及分子机理, 以期对相关耐药菌感染性疾病的治疗提供重要理论依据。

1 枯草芽孢杆菌属噬菌体的QS系统

1.1 枯草芽孢杆菌属噬菌体AimR-AimP QS的发现

噬菌体溶源-裂解途径的转换在大肠杆菌 λ 噬菌体中研究得比较清楚, 主要受噬菌体编码的一些具有抗阻遏功能转录调控因子(如CI)等以及与宿主编码蛋白之间的相互作用影响^[16]。噬菌体QS被发现之前, 人们推测, 当细菌受到噬菌体侵染时, 细菌会释放一些信号分子来共同抵御噬菌体的侵染。然而, Erez等^[9]利用不同噬菌体感染枯草芽孢杆菌(*Bacillus subtilis*)后, 用3 kD滤膜除去噬菌体与枯草芽孢杆菌, 再将滤液重新接入含有枯草芽孢杆菌和不同噬菌体的培养基来培育并观察新的细菌的生长状况, 结果发现只有之前被phi3T噬菌体侵染过的枯草芽孢杆菌的培养基能大幅降低phi3T噬菌体的裂解能力。因此, 推测phi3T分泌的某些小分子导致了噬菌体侵染能力下降, 使其处于溶源态^[9]。

随后, 通过对 *phi3T* 噬菌体基因组测序分析, 发现一个 N 端编码 43 个氨基酸的信号肽基因, 该基因具有革兰氏阳性菌 QS 系统寡肽相似的特征^[9]。革兰氏阳性菌的 QS 通常以寡肽作为 AIs, 其受体是一个 RRNPP (Rap、Rgg、NprR、PlcR、PrgX) 家族转录因子^[17]。研究表明 RRNPP 家族转录因子一般包含一个 N 端螺旋-转角-螺旋 (Helix-Turn-Helix, HTH) 型 DNA 结合结构域 (DNA-Binding Domain, DBD) 和 C 端 5-9 个三角形四肽重复 (Tetratricopeptide Repeat, TPR) 结构域, 寡肽通常结合在由 TPR 形成的沟槽内, 与 RRNPP 受体特异识别, 而且寡肽对 RRNPP 的别构调节多种多样^[17]。进一步研究发现噬菌体 QS 中这个前体肽在体外能够被蛋白酶切割成具有 6 个氨基酸的成熟多肽^[9]。对培养基进行质谱分析也发现了该多肽的存在, 并且在培养基中加入人工合成的多肽可以抑制噬菌体的裂解途径, 此过程具有浓度依赖性, 这表明噬菌体中也利用该成熟多肽作为 AI, 最终将该基因称为 *aimP*; 并在 *aimP* 上游发现了一个基因, 其编码蛋白具有 TPR 结构域, 这是革兰氏阳性菌 RRNPP 转录因子的一个典型特征, 该基因被命名为 *aimR*^[9]; 通过微量热泳实验测定两者之间的亲和力高达 100 nmol/L; 因此, AimR-AimP 组成噬菌体一个类似于革兰氏阳性菌的 QS; 通过 RNA-Seq 技术分析了 *phi3T* 噬菌体感染枯草芽孢杆菌时噬菌体基因组转录水平的变化, 发现了一个抑制噬菌体溶源途径的非编码 RNA 可以被 AimR 特异性地激活, 这个调控基因被命名为 *aimX*^[9]。总之, 该研究首次在噬菌体中鉴定了一个与革兰氏阳性菌类似的 QS, 利用寡肽作为 AI, 通过与 RRNPP 家族的转录因子结合, 在噬菌体感染宿主形成大量子代噬菌体后, 使噬菌体由裂解途径进入溶源途径。

1.2 AimR-AimP 系统信号分子的结合机制和生物学功能

虽然 Erez 等发现了噬菌体的 QS, 并且证明噬

菌体 AimR-AimP QS 系统具有调控噬菌体溶源-裂解转换的功能, 但是其分子机理并不清楚^[9]。随后, 多个研究组通过 X 射线晶体学详细解析了 SPbeta 和 *phi3T* 噬菌体 QS 系统中 AimR-AimP 等关键组分的结构, 阐明了噬菌体 QS 系统的工作机制^[18-22]。通过分析发现 SPbeta 和 *phi3T* 的 QS 中 AimR 是一个同源二聚体, 呈现一个扭曲的“梯形”结构 (图 1)。每个 AimR 分子由一个 N 端包含 $\alpha 1-\alpha 4$ 构成的 DNA 结合结构域, 以及 C 端的 9 个 TPR 结构域构成, 这与革兰氏阳性菌 RRNPP 家族蛋白结构上具有相似性^[19]。但是 AimR 二聚化是由 C 末端的最后一个 Helix 通过疏水力介导, 这不同于革兰氏阳性菌其他的 RRNPP 家族转录因子由 N 端和 C 端交叉介导的二聚化; 这种特殊的二聚化结构使 AimR 的 2 个 DNA 结合结构域距离较远, 因此, 每个 AimR DBD 结合 DNA 的回文序列之间可能存在间隔区 (Spacer)^[22]。通过 Footprint 技术发现 AimR 结合的最短序列为 37 nt, 在解析的 SPbeta 噬菌体 AimR-DNA 结构中, 发现其结合的 DNA 具有 2 个 ATCACT 的回文序列, 这 2 个回文序列被 25 bp 的间隔区分开; 解析的 AimR 与 DNA 复合物的结构显示, SPbeta AimR DBD 的 $\alpha 3$ 插入到 DNA 的大沟中, 并由 AimR DBD 的 N30、N32 与 Y35 直接识别 DNA 的 TCA^[23]。AimR-AimP 结构表明, 由 6 个氨基酸构成的成熟的信号分子在 AimR 的 TPR 结构域, AimR 通过高度保守的 N206 和 E300 与 AimP N 端相对不保守的氨基酸的主链结合, 而 AimP 保守的精氨酸通过侧链与 AimR 的 N206 和 D360 特异性结合; AimP 结合到 AimR 上后引起 AimR N 端和 C 端发生一个 0.5 nm 位移, 使 AimR 形成一个更为紧凑的结构, 尤其是使 $\alpha 3$ 远离 DNA 的大沟, 从而阻止 AimR 与 DNA 的结合, 也阻止 AimR 与 AimX 启动子区域结合^[19]。这些结果解释了噬菌体 QS AimR 调控噬菌体裂解途径及 AimP 如何使 AimR 从裂解途径向溶源途径转换的分子机理 (图 1)。

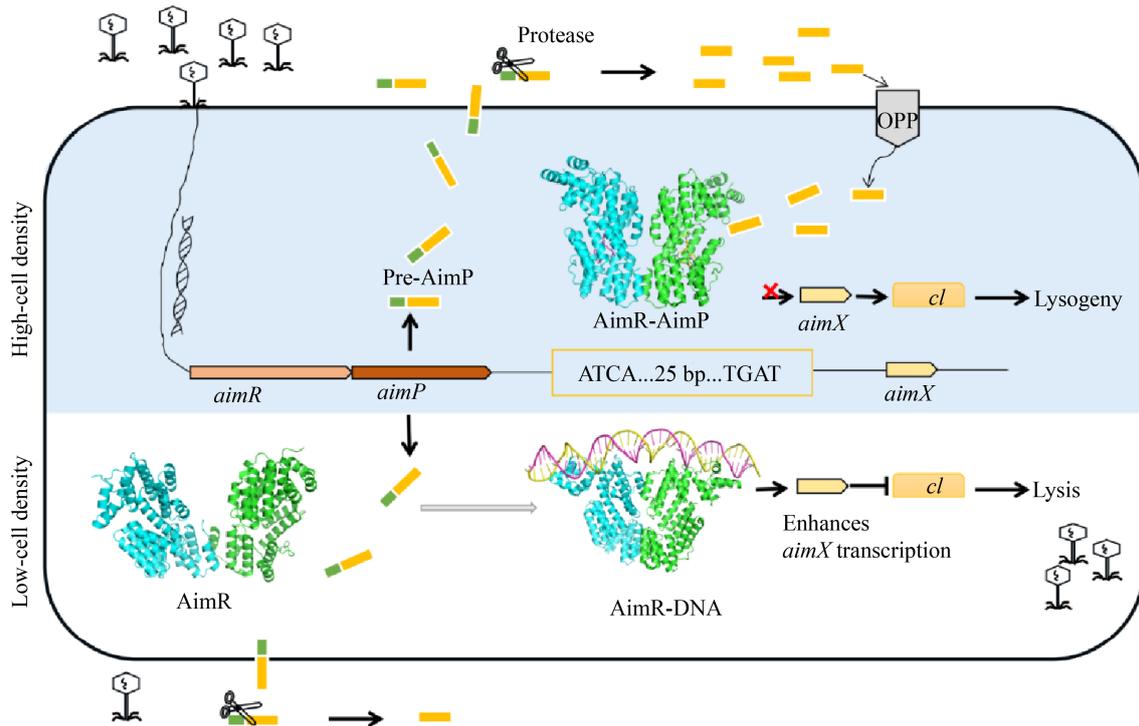


图 1 枯草芽孢杆菌属噬菌体 AimR-AimP QS 模式图

Figure 1 AimR-AimP QS pattern of *Bacillus subtilis* phage

注: OPP: 寡肽渗透酶

Note: OPP: Oligopeptide permease

1.3 其他 AimR-AimP 系统

Stokar-Avihail 等^[11]通过生物信息学对 60 000 多种细菌、古细菌以及病毒的基因组进行分析,发现大约 1 180 种 AimR 的同源蛋白存在于噬菌体或者前噬菌体,这表明 AimR-AimP QS 系统在噬菌体中是普遍存在的。除了枯草芽孢杆菌噬菌体,在感染炭疽杆菌(*Bacillus anthracis*)、蜡样芽孢杆菌(*Bacillus cereus*)、苏云金芽孢杆菌(*Bacillus thuringiensis*)等的噬菌体中均发现 *aimR-aimP* 的同源基因,并且大多数位于调控噬菌体溶源途径的区域^[11]。在这些 QS 系统中,根据 AimR 的进化关系将 AimR 分为 9 个家族,预测成熟的 AimP 同样展现出多样性,其长度有 6–10 个氨基酸,而且与 AimR 结合的亲和力有关(表 1)^[11]。根据已经解析的 AimR-AimP 的结构,推测在这些 QS 系统中 AimR

表 1 AimR-AimP 系统的分类

Table 1 The classification of AimR-AimP system

进化支 Clade	噬菌体 Phage	预测的成熟 AimP Predictions of mature AimP
Clade 1	SPbeta phage	DPRVGM
Clade 2	phi3T phage	GFGRGA
Clade 3	Wbeta phage	ENKPGG
Clade 4	<i>Bacillus thuringiensis</i> pMC95&pBTHD789-3	MMMDPGTLG
Clade 5	–	MMVDPGGGG
Clade 6	Wbeta-like prophage	MMVEPGGS
Clade 7	<i>Bacillus anthracis</i> pXO2	RMXDPGGGMG
Clade 8	–	MMVDPGGGG
Clade 9	Waukesha92-like phage	MMMSPGGGGW

注: –: 该噬菌体无相关文献报道

Note: –: This phage has not related literature report

识别 AimP 的模型可能不同, 例如在其他 AimP 分子中, 并没有保守的 RGA 氨基酸存在^[19], 这表明在这些 QS 系统中, 多肽被相应受体识别的分子机制不完全相同, 噬菌体中其他类型 AimR-AimP 识别的分子机理有待进一步研究。

2 霍乱弧菌噬菌体的 QS 系统

2.1 霍乱弧菌噬菌体 VqmA_{Phage}-DPO QS 的发现

霍乱弧菌(*Vibrio cholerae*)是一种属革兰氏阴性菌的肠道病原体, 可引起传染性胃肠炎^[24]。目前对霍乱弧菌中的 QS 有比较深入的研究, 在霍乱弧菌中发现了 3 种 AIs (CAI-1、AI-2 和 DPO), 调控其毒力因子的产生和生物膜的形成^[25]。CAI-1 [(S)-3-Hydroxytridecan-4-One]是由 CqsA 酶以腺苷甲硫氨酸和癸酰辅酶 A 作为底物合成的一种 α -羟基酮^[26]。AI-2 (Autoinducer-2)由 LuxS 酶合成的一类呋喃酮酰硼酸二酯(Furanosyl Borate Diester), 是一种广泛存在于革兰氏阴性菌和革兰氏阳性菌的保守信号分子^[27]。CAI-1 和 AI-2 分别被膜结合受体 CqsS 和 LuxPQ 识别^[28], 2 个受体结合 AI 后将共同调控下游转录因子 HapR 表达, 进而抑制 *V. cholerae* 毒力因子和生物膜的形成^[29]。然而 VqmA-DPO 是最近在霍乱弧菌中鉴定的一个新的 QS 系统^[15,25], 其中 VqmA 是霍乱弧菌中一个保守的 LuxR 类型的转录因子。VqmA N 端是一个 PAS (Per-ARNT-Sim)结构域, C 端具有一个 DNA 结合结构域^[18]。通常认为具有 PAS 结构域的蛋白能够结合一些特定的配体, 但是 VqmA 相对应的配体一直未被鉴定出来^[15]。将培养过高浓度 CAI-1⁻和 AI-2 的 *V. cholerae* 培养基添加到低浓度的 *V. cholerae* 培养基依然可以使 VqmR 的表达量提高 3 倍, 意味着 *V. cholerae* 中 VqmA 的 AI 是其他某种未知的小分子; 通过 Tn5 基因文库筛选, 发现苏氨酸脱氢酶(Threonine Dehydrogenase, Tdh)是使 VqmR 提高的关键酶, 进一步发现 Tdh 可以

利用苏氨酸和丙氨酸生成 DPO^[15]。VqmA 可以被 DPO 激活, 进而促进一个具有抑制霍乱弧菌生物膜形成、毒性等功能的小的调节功能 RNA VqmR 的表达, 并且能够在细菌浓度高的时候激活 HapR 的表达^[30], 最终证实了 DPO 是 VqmA 的配体^[15]。

目前在霍乱弧菌噬菌体 VP882 中研究发现了一个与 VqmA 具有 41%相似性的蛋白 VqmA_{Phage}, 不过噬菌体中并没有合成 DPO 的基因 *Tdh*^[10]。然而, 细菌的种群密度高低可以影响噬菌体的裂解-溶源途径转换, 如研究证实 VqmA_{Phage} 只可以与宿主产生的 DPO 结合, 随着霍乱弧菌数量的增加, 其产生的 DPO 浓度越来越高^[10]。DPO 进入噬菌体激活 VqmA_{Phage}, 可以启动噬菌体一个抗阻遏物 *qtip* 基因的表达, *Qtip* 进一步与 VP882 噬菌体中一个具有抑制裂解功能的蛋白 Cl 结合, 使 Cl 聚集, 阻止其功能表达, 从而促进噬菌体的裂解^[31]。与之相反, 噬菌体会处于溶源状态(图 2)。VqmA_{Phage} 结合 DPO 后同样可以激活霍乱弧菌中 VqmR 的表达, 而 VqmA 则不能替代 VqmA_{Phage} 的功能识别 *qtip*^[10]。因此, 噬菌体的 VqmA_{Phage} 通过利用宿主的 QS 中的 AI, 可以“窃听”宿主的群体交流; 使得噬菌体像细菌一样有群体交流机制, 进而根据宿主的群体数量调整自身最佳的溶源-裂解途径转换周期^[10,32]。噬菌体与宿主之间由 QS 介导的生态学关系研究为噬菌体临床新型抗菌药物的开发提供了理论基础。

2.2 VqmA_{Phage} 识别 DPO 的分子机理

目前, 虽然 VqmA_{Phage}-DPO 的结构尚未有报道, 但是最近通过 X-射线晶体学解析了霍乱弧菌 QS 系统中 VqmA-DPO 以及 VqmA-DPO-DNA 的结构, 揭示了 VqmA 识别 DPO 的分子机理, 也能为 VqmA_{Phage} 识别 DPO 机制提供一些参考^[18,33]。VqmA 的结构信息显示是一个同源二聚体转录因子, 并且 2 个单体之间存在一个由 C134 构成的二硫键^[34]。研究表明当细菌体内处于厌氧

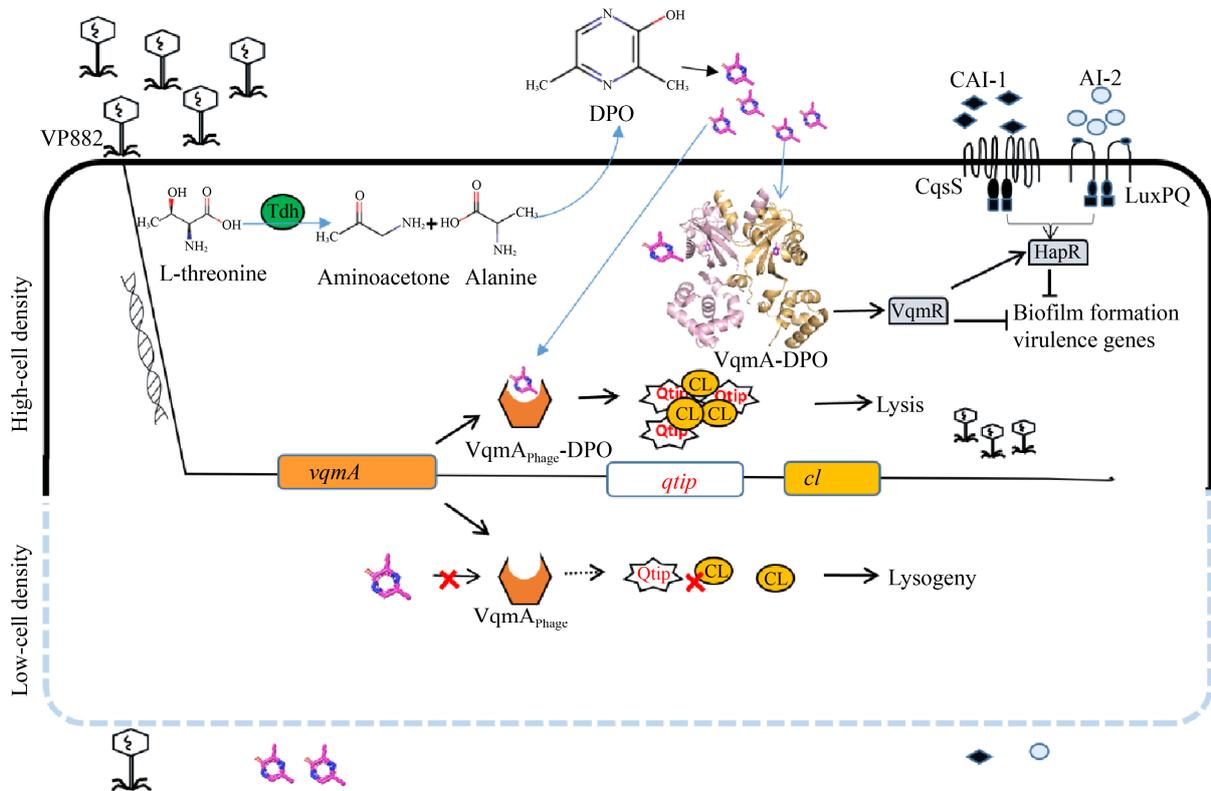


图2 霍乱弧菌噬菌体 QS 系统模式图

Figure 2 Quorum sensing pattern of *V. cholerae* phage

注: Tdh 催化苏氨酸氧化脱羧生成氨基丙酮, 氨基丙酮和丙氨酸作用合成 DPO。当细菌处于高密度时释放更多的 DPO, 随后进入胞内与二聚体 VqmA 以蛋白质:配体为 1:1 的比例形成 VqmA-DPO 复合物

Note: Tdh catalyzes oxidative decarboxylation of threonine to aminoacetone, and aminoacetone reacts with alanine to synthesize DPO, which is secreted to the cell when the bacteria are in high density, the accumulated DPO then enters the cell to form a VqmA-DPO complex with 1:1 ration

环境时, VqmA 能够抑制毒力因子和生物膜基因的转录, 这可能与 C134-C134 形成分子间二硫键有关, 然而 VqmA_{phage} 134 位是缬氨酸而非半胱氨酸, 说明霍乱弧菌噬菌体的 VqmA_{phage} 活性可能不受氧气的影响^[35]。DPO 结合在 VqmA PAS 结构域的一个疏水口袋, 与几个高度保守的氨基酸 Y36、K101、Q70 特异性地形成氢键^[18,33], 此外 F99 与 F67 和 DPO 的环之间形成一个三明治结构, 进一步加强了 DPO 与 VqmA 之间的互作^[18]。VqmA 结合 DPO 之后, 通过其 C 端的 DNA 结合结构域特异性地结合在一个具有 (G)₆TTT(C)₆ 基序的回文序列, VqmA 结合 DNA 后, 引起 $\alpha 8$ 的构象发生较大变化, 2 个 $\alpha 8$ 的距离由 4.1 nm 拉近

到 3.1 nm^[33]。

VqmA_{phage} 与 VqmA 具有较高的相似性, 尤其是结合 DPO 的关键氨基酸是保守的, 这些说明 VqmA_{phage} 也是通过这些保守的氨基酸特异性地识别 DPO。但是仍有许多机制尚不清楚, 例如 VqmA_{phage} 和 VqmA 被 DPO 激活后, 两者对 DNA 的结合表现出不对称性, VqmA_{phage}-DPO 能够结合在 VqmR 和 *qtip* 的启动子并将其激活, 而 VqmA 结合 DPO 后却不能激活噬菌体的裂解^[10]。最近 Duddy 等在研究 VqmA 和 VqmA_{phage} 对 DNA 的这种非对称性结合的过程中, 发现 VqmA_{phage} 的 E194 对 *qtip* 启动子区的 DNA 选择性具有决定性影响, 通过随机突变发现 VqmA_{phage} 的

G201、A202、E207 和 M211 残基是识别 *qtip* 的关键; 而 VqmA 的 HTH 和 C 端的 25 个氨基酸一起限制了 VqmA 结合在 *qtip* 的启动子^[36]。这些现象还需要通过解析 VqmA_{Phage}-DPO 以及 VqmA_{Phage}-DPO-DNA 结构才能得以解释。

3 噬菌体中的其他 QS 系统

最近, 研究者在 phi3T 噬菌体中鉴定了第 2 个 QS 系统并命名为 Rap ϕ -Phr ϕ , 这个 QS 和芽孢杆菌属细菌 Rap-Phr 具有一定同源性, 因此, phi3T 噬菌体是第一个发现存在 2 种 QS 的噬菌体; Rap ϕ -Phr ϕ 处于同一个操纵子下, Rap ϕ 是一个具有 379 个氨基酸的蛋白质, 含有 TPR 结构域, 并且与 Rap 家族蛋白 RapC 具有 48% 相似性^[37]。Phr ϕ 编码一个由 58 个氨基酸组成的具有 Phr 的前肽特征的蛋白; 通过在 NCBI 数据库中进行分析, 找到了 2 360 个 Rap ϕ -Phr ϕ 同源蛋白, 其中 333 个存在于原噬菌体; 该噬菌体 QS 系统的具体功能还不清楚, 推测其可能在噬菌体感染过程中, 当噬菌体数量低而宿主数量高时, 通过 Rap ϕ -Phr ϕ 下调宿主的免疫反应进而有利于噬菌体的感染^[37]。

4 噬菌体与细菌对各自 QS 的影响

噬菌体与细菌的“军备竞赛”导致细菌进化出多种抗噬菌体防御策略, 而噬菌体同样利用多种途径抵抗其防御系统, 它们各自之间 QS 的相互影响, 在噬菌体-细菌共同进化中发挥关键作用^[38]。革兰氏阴性菌为了逃避噬菌体侵染可以通过 AHL 下调噬菌体受体表达或增加 CRISPR-Cas 对外源 DNA 的靶向性切割活性激活细胞免疫^[39]。噬菌体菌体内发现有编码革兰氏阳性菌 QS 成分的 *arg* 基因^[40], 说明了噬菌体与细菌的 QS 系统之间建立了复杂的交流通路。细菌 QS 产生的信号分子能诱导原噬菌体裂解, 导致细胞裂解和子代噬菌体产生。例如侵染大肠杆菌 ATCC15144 的前噬菌体 T1 裂解基因受到宿主 QS 信号分子 AI-2 的诱导^[41]。高浓度的 AI-2 可以加速粪肠球菌 (*Enterococcus*

faecalis) 噬菌体的裂解, 使子代噬菌体更易侵染周围的细菌; 然而宿主 AI-2 如何驱动噬菌体诱导裂解机制目前尚不清楚, 噬菌体 T1 和粪肠球菌噬菌体基因组都没发现 AI-2 受体^[41]。此外, Laganenka 等^[42]研究大肠杆菌噬菌体 T1, 发现细菌 QS 产生 cAMP (Cyclic AMP) 和 AI-2 一起参与抑制噬菌体裂解基因的表达, 并提出噬菌体编码一种诱导前噬菌体裂解的转录调节因子 (Prophage Induction Regulator, Pir) 和宿主的 CRP (cAMP Receptor Protein, CRP) 相互作用机制, 即 cAMP-CRP 结合抑制了 Pir 的表达; 而关于噬菌体阻遏基因 *cl* 和 *pir* 基因的关系目前还不清楚。Tan 等^[43]研究鳗弧菌 (*Vibrio anguillarum*) 时发现细菌在低密度情况下合成 AIs 激活 QS 系统, 促进生物膜形成; 相反, 当细菌处于高密度时 QS 却可以抑制 Φ H20 类前噬菌体的裂解并增强其溶源性, 同时抑制鳗弧菌的生物膜形成。表明细菌已进化到在处于高密度时依旧可以让入侵的噬菌体维持溶源性, 这与之前研究认为的高密度细菌 QS 一般诱导噬菌体裂解相反, 此类新的 QS 机制有待深入研究^[43]。

细菌启动 QS 抵御噬菌体侵染的同时, 噬菌体也可以影响细菌的 QS。Shah 等^[44]研究发现 DMS3 噬菌体编码的 Aqs1 可以与铜绿假单胞菌 (*Pseudomonas aeruginosa*) QS 中的 LasR 结合, 抑制其 QS; 酿脓链球菌 (*Streptococcus pyogenes*) 噬菌体通过一个保守的 Prx 蛋白, 结合在酿脓链球菌 QS 中感应受体 ComR 的 DNA 结合结构域, 阻止 ComR 被 Xip 激活^[45]。Carey 等^[46]研究含有前噬菌体 HK022 的大肠杆菌发现, 噬菌体在整合宿主基因时可以通过噬菌体启动子控制宿主信号转导蛋白转录。细菌利用 CRISPR-Cas 适应性免疫系统防止噬菌体侵染, 而噬菌体为了维持自身群体数量通过 QS 增加产生 Acrs (Anti-CRISPRs) 蛋白浓度, 使细菌细胞 CRISPR-Cas 核酸酶失活^[47]。噬菌体的侵染可以改变细菌的环境感知能力和 QS 相关基因的表达。Song 等^[48]通过观察到不同的游泳

大肠杆菌菌株间出现的分界线, 提出被 T1 类型裂解噬菌体 SW1 侵染的大肠杆菌可以利用噬菌体进行自我识别, 进而识别周围细菌是否感染噬菌体; 这类细菌能够超越竞争者, 抵御其他噬菌体侵染。Chatterjee 等^[49]研究表明噬菌体 VPE25 侵染粪便杆菌(*E. faecalis*)会抑制细菌 QS 系统 *fsr* 基因的表达, *fsr* 基因表达有利于生物膜的形成; 噬菌体 VPE25 感染宿主过程中减弱生物膜形成, 促进噬菌体持续侵染邻近浮游细胞, 而 VPE25 的裂解又依赖于宿主的碳水化合物代谢。此外, 噬菌体入侵细菌时根据宿主群体密度, 启动 QS 机制决策前噬菌体溶源-裂解途径的转换对于维持自身种群数量有着重要的意义^[50]。Silpe 等^[10]研究发现霍乱弧菌噬菌体利用宿主产生的 DPO 和受体 VqmA_{phage} 组成的 QS 系统可介导其裂解-溶源决策。然而噬菌体根据宿主的信号分子和细胞密度作出溶源决定, 噬菌体 VP882 的 VqmA_{phage} 可以替代宿主的 VqmA 发挥功能, 使得噬菌体能够操纵宿主的群体行为; 噬菌体通过该机制不仅可以获取有关感染可用宿主的信息, 还可以决定裂解宿主并释放子代噬菌体的最佳时机^[31,51]。虽然已经知道一些噬菌体能够利用宿主的 AIs 作为自身 QS 信号分子, 但是相信还有更多类似的噬菌体 QS 机制值得进一步探索。尤其是噬菌体与宿主之间 QS 交流在控制两者种群数量平衡关系上有着重要的研究意义。

5 展望

随着抗生素大量使用, 细菌耐药性是人类 21 世纪面临的一个严峻问题。噬菌体能够专一性感染细菌、真菌等微生物, 其感染细菌具有专一性高、增殖性强、对环境和人基本无毒等特点。噬菌体疗法逐渐成为适合治疗抗生素耐药性的潜在手段之一^[52]。但在长期的进化过程中, 细菌与噬菌体之间存在精妙的军备竞赛关系。细菌进化出许多免疫机制来应对噬菌体的侵染, 例如细菌可以通过 QS 抵御噬菌体侵染^[53], 噬菌体同样可

以通过 QS 逃避细菌强大的 CRISPR 免疫系统^[44], 并且噬菌体可以“窃听”宿主的 QS 调控溶源-裂解途径的转换, 维持自身群体数量等生态学关系。这些发现拓展了人们对于噬菌体 QS 的认识, 同时也为应用噬菌体对细菌的裂解来治疗细菌感染提供了新的方向, 噬菌体疗法、噬菌体裂解酶等方式运用在治疗细菌耐药性方面具备独特优势, 吸引了科学家的高度关注。

学习病毒间相互作用背后的语言可以为新生物技术工具的开发、设计治疗癌症和超级耐药菌的新治疗方法提供信息^[54]。尽管 QS 信号在噬菌体-细菌相互作用和进化中的关键作用方面研究取得了重大进展, 但目前仅仅完成了少数噬菌体-细菌的表征, 对 QS 信号生物学意义的研究仍处于起步阶段^[55]。噬菌体间的交流和合作仍是一个未被探索的领域, 噬菌体中 QS 的研究还比较少, 与细菌之间交流的研究有限。目前主要发现噬菌体 QS 调控噬菌体的溶源-裂解周期, 噬菌体中是否有类似于细菌中的其他类型的 QS 或者特有的 QS, 以及噬菌体 QS 其他的生物学功能等还需要大量研究。

REFERENCES

- [1] Fuqua WC, Winans SC, Greenberg EP. Quorum sensing in bacteria: the LuxR-LuxI family of cell density-responsive transcriptional regulators[J]. *Journal of Bacteriology*, 1994, 176(2): 269-275
- [2] Abisado RG, Benomar S, Klaus JR, Dandekar AA, Chandler JR. Bacterial quorum sensing and microbial community interactions[J]. *mBio*, 2018, 9(5): e02331-17
- [3] Haque S, Yadav DK, Bisht SC, Yadav N, Singh V, Dubey KK, Jawed A, Wahid M, Dar SA. Quorum sensing pathways in Gram-positive and -negative bacteria: potential of their interruption in abating drug resistance[J]. *Journal of Chemotherapy*, 2019, 31(4): 161-187
- [4] Banerjee G, Ray AK. Quorum-sensing network-associated gene regulation in Gram-positive bacteria[J]. *Acta Microbiologica et Immunologica Hungarica*, 2017, 64(4): 439-453
- [5] Chen YQ, Bandyopadhyay A, Kozłowicz BK, Haemig HAH, Tai A, Hu WS, Dunny GM. Mechanisms of peptide sex pheromone regulation of conjugation in *Enterococcus faecalis*[J]. *MicrobiologyOpen*, 2017, 6(4): e00492

- [6] Whiteley M, Diggle SP, Greenberg EP. Progress in and promise of bacterial quorum sensing research[J]. *Nature*, 2017, 551(7680): 313-320
- [7] Avbelj M, Zupan JR, Raspor P. Quorum-sensing in yeast and its potential in wine making[J]. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 2016, 100(18): 7841-7852
- [8] Padder SA, Prasad R, Shah AH. Quorum sensing: a less known mode of communication among fungi[J]. *Microbiological Research*, 2018, 210: 51-58
- [9] Erez Z, Steinberger-Levy I, Shamir M, Doron S, Stokar-Avihail A, Peleg Y, Melamed S, Leavitt A, Savidor A, Albeck S, et al. Communication between viruses guides lysis-lysogeny decisions[J]. *Nature*, 2017, 541(7638): 488-493
- [10] Silpe JE, Bassler BL. A host-produced quorum-sensing autoinducer controls a phage lysis-lysogeny decision[J]. *Cell*, 2019, 176(1/2): 268-280
- [11] Stokar-Avihail A, Tal N, Erez Z, Lopatina A, Sorek R. Widespread utilization of peptide communication in phages infecting soil and pathogenic bacteria[J]. *Cell Host & Microbe*, 2019, 25(5): 746-755
- [12] Silpe JE, Bassler BL. Phage-encoded LuxR-type receptors responsive to host-produced bacterial quorum-sensing autoinducers[J]. *mBio*, 2019, 10(2): e00638-19
- [13] Mirzaei MK, Maurice CF. Ménage à trois in the human gut: interactions between host, bacteria and phages[J]. *Nature Reviews Microbiology*, 2017, 15(7): 397-408
- [14] Howard-Varona C, Hargreaves KR, Abedon ST, Sullivan MB. Lysogeny in nature: mechanisms, impact and ecology of temperate phages[J]. *The ISME Journal*, 2017, 11(7): 1511-1520
- [15] Papenfort K, Silpe JE, Schramma KR, Cong JP, Seyedsayamdost MR, Bassler BL. A *Vibrio cholerae* autoinducer-receptor pair that controls biofilm formation[J]. *Nature Chemical Biology*, 2017, 13(5): 551-557
- [16] Oppenheim AB, Kobiler O, Stavans J, Court DL, Adhya S. Switches in bacteriophage lambda development[J]. *Annual Review of Genetics*, 2005, 39: 409-429
- [17] Neiditch MB, Capodagli GC, Prehna G, Federle MJ. Genetic and structural analyses of RRNPP intercellular peptide signaling of gram-positive bacteria[J]. *Annual Review of Genetics*, 2017, 51: 311-333
- [18] Huang XL, Duddy OP, Silpe JE, Paczkowski JE, Cong JP, Henke BR, Bassler BL. Mechanism underlying autoinducer recognition in the *Vibrio cholerae* DPO-VqmA quorum-sensing pathway[J]. *Journal of Biological Chemistry*, 2020, 295(10): 2916-2931
- [19] Gallego Del Sol F, Penadés JR, Marina A. Deciphering the molecular mechanism underpinning phage arbitrium communication systems[J]. *Molecular Cell*, 2019, 74(1): 59-72
- [20] Wang Q, Guan ZY, Pei K, Wang J, Liu Z, Yin P, Peng DH, Zou TT. Structural basis of the arbitrium peptide-AimR communication system in the phage lysis-lysogeny decision[J]. *Nature Microbiology*, 2018, 3(11): 1266-1273
- [21] Dou C, Xiong J, Gu YJ, Yin K, Wang JJ, Hu YH, Zhou D, Fu XH, Qi SQ, Zhu XF, et al. Structural and functional insights into the regulation of the lysis-lysogeny decision in viral communities[J]. *Nature Microbiology*, 2018, 3(11): 1285-1294
- [22] Zhen XK, Zhou H, Ding W, Zhou B, Xu XL, Perčulija V, Chen CJ, Chang MX, Choudhary MI, Ouyang SY. Structural basis of AimP signaling molecule recognition by AimR in Spbeta group of bacteriophages[J]. *Protein & Cell*, 2019, 10(2): 131-136
- [23] Guan ZY, Pei K, Wang J, Cui YQ, Zhu X, Su X, Zhou YB, Zhang DL, Tang C, Yin P, et al. Structural insights into DNA recognition by AimR of the arbitrium communication system in the SPbeta phage[J]. *Cell Discovery*, 2019, 5: 29
- [24] León-Barúa R, Recavarren-Arce S, Chinga-Alayo E, Rodríguez-Ulloa C, Taylor DN, Gotuzzo E, Kosek M, Eza D, Gilman RH. Helicobacter pylori-associated chronic atrophic gastritis involving the gastric body and severe disease by *Vibrio cholerae*[J]. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, 2006, 100(6): 567-572
- [25] Herzog R, Peschek N, Fröhlich KS, Schumacher K, Papenfort K. Three autoinducer molecules act in concert to control virulence gene expression in *Vibrio cholerae*[J]. *Nucleic Acids Research*, 2019, 47(6): 3171-3183
- [26] Wei YZ, Perez LJ, Ng WL, Semmelhack MF, Bassler BL. Mechanism of *Vibrio cholerae* autoinducer-1 biosynthesis[J]. *ACS Chemical Biology*, 2011, 6(4): 356-365
- [27] Buck BL, Azcarate-Peril MA, Klaenhammer TR. Role of autoinducer-2 on the adhesion ability of *Lactobacillus acidophilus*[J]. *Journal of Applied Microbiology*, 2009, 107(1): 269-279
- [28] Higgins DA, Pomianek ME, Kraml CM, Taylor RK, Semmelhack MF, Bassler BL. The major *Vibrio cholerae* autoinducer and its role in virulence factor production[J]. *Nature*, 2007, 450(7171): 883-886
- [29] Rutherford ST, Van Kessel JC, Shao Y, Bassler BL. AphA and LuxR/HapR reciprocally control quorum sensing in vibrios[J]. *Genes & Development*, 2011, 25(4): 397-408
- [30] Liu Z, Hsiao A, Joelsson A, Zhu J. The transcriptional regulator VqmA increases expression of the quorum-sensing activator HapR in *Vibrio cholerae*[J]. *Journal of Bacteriology*, 2006, 188(7): 2446-2453
- [31] Silpe JE, Bridges AA, Huang XL, Coronado DR, Duddy OP, Bassler BL. Separating functions of the phage-encoded quorum-sensing-activated antirepressor Qtip[J]. *Cell Host & Microbe*, 2020, 27(4): 629-641
- [32] Duddy OP, Bassler BL. Quorum sensing across bacterial and viral domains[J]. *PLoS Pathogens*, 2021, 17(1): e1009074
- [33] Wu H, Li MJ, Guo HJ, Zhou H, Li B, Xu Q, Xu CY, Yu F, He JH. Crystal structure of the *Vibrio cholerae* VqmA-ligand-DNA complex provides insight into

- ligand-binding mechanisms relevant for drug design[J]. *Journal of Biological Chemistry*, 2019, 294(8): 2580-5171
- [34] Wu H, Li MJ, Peng C, Yin Y, Guo HJ, Wang WW, Xu Q, Zhou H, Xu CY, Yu F, et al. Large conformation shifts of *Vibrio cholerae* VqmA dimer in the absence of target DNA provide insight into DNA-binding mechanisms of LuxR-type receptors[J]. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 2019, 520(2): 399-405
- [35] Mashruwala AA, Bassler BL. The *Vibrio cholerae* quorum-sensing protein VqmA integrates cell density, environmental, and host-derived cues into the control of virulence[J]. *mBio*, 2020, 11(4): e01572-20
- [36] Duddy OP, Huang XL, Silpe JE, Bassler BL. Mechanism underlying the DNA-binding preferences of the *Vibrio cholerae* and vibriophage VP882 VqmA quorum-sensing receptors[J]. *PLoS Genetics*, 2021, 17(7): e1009550
- [37] Bernard C, Li YY, Lopez P, Bapteste E. Beyond arbitrium: identification of a second communication system in *Bacillus* phage phi3T that may regulate host defense mechanisms[J]. *The ISME Journal*, 2021, 15(2): 545-549
- [38] Dedrick RM, Jacobs-Sera D, Guerrero Bustamante CA, Garlena RA, Mavrich TN, Pope WH, Cervantes Reyes JC, Russell DA, Adair T, Alvey R, et al. Prophage-mediated defense against viral attack and viral counter-defence[J]. *Nature Microbiology*, 2017, 2(3): 16251
- [39] Høyland-Kroghsbo NM, Paczkowski J, Mukherjee S, Broniewski J, Westra E, Bondy-Denomy J, Bassler BL. Quorum sensing controls the *Pseudomonas aeruginosa* CRISPR-Cas adaptive immune system[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2017, 114(1): 131-135
- [40] Hargreaves KR, Kropinski AM, Clokie MRJ. What does the talking?: quorum sensing signalling genes discovered in a bacteriophage genome[J]. *PLoS One*, 2014, 9(1): e85131
- [41] Rossmann FS, Racek T, Wobser D, Puchalka J, Rabener EM, Reiger M, Hendrickx APA, Diederich AK, Jung K, Klein C, et al. Phage-mediated dispersal of biofilm and distribution of bacterial virulence genes is induced by quorum sensing[J]. *PLoS Pathogens*, 2015, 11(2): e1004653
- [42] Laganenka L, Sander T, Lagonenko A, Chen Y, Link H, Sourjik V. Quorum sensing and metabolic state of the host control lysogeny-lysis switch of bacteriophage T1[J]. *mBio*, 2019, 10(5): e01884-19
- [43] Tan DM, Hansen MF, De Carvalho LN, Røder HL, Burmølle M, Middelboe M, Svenningsen SL. High cell densities favor lysogeny: induction of an H2O prophage is repressed by quorum sensing and enhances biofilm formation in *Vibrio anguillarum*[J]. *The ISME Journal*, 2020, 14(7): 1731-1742
- [44] Shah M, Taylor VL, Bona DE, Tsao Y, Stanley SY, Pimentel-Elardo SM, McCallum M, Bondy-Denomy J, Howell PL, Nodwell JR, et al. A phage-encoded anti-activator inhibits quorum sensing in *Pseudomonas aeruginosa*[J]. *Molecular Cell*, 2021, 81(3): 571-583
- [45] Rutbeek NR, Rezasoltani H, Patel TR, Khajehpour M, Pehna G. Molecular mechanism of quorum sensing inhibition in *Streptococcus* by the phage protein paratox[J]. *bioRxiv*, 2021. DOI: 10.1101/2021.06.03.446943
- [46] Carey JN, Mettert EL, Fishman-engel DR, Roggiani M, Kiley PJ, Goulian M. Phage integration alters the respiratory strategy of its host[J]. *Elife*, 2019, 8: e49081
- [47] Borges AL, Zhang JY, Rollins MF, Osuna BA, Wiedenheft B, Bondy-Denomy J. Bacteriophage cooperation suppresses CRISPR-Cas3 and Cas9 immunity[J]. *Cell*, 2018, 174(4): 917-925
- [48] Song S, Guo YX, Kim JS, Wang XX, Wood TK. Phages mediate bacterial self-recognition[J]. *Cell Reports*, 2019, 27(3): 737-749
- [49] Chatterjee A, Willett JLE, Nguyen UT, Monogue B, Palmer KL, Dunny GM, Duerkop BA. Parallel genomics uncover novel enterococcal-bacteriophage interactions[J]. *mBio*, 2020, 11(2): e03120-19
- [50] Harms A, Diard M. Crowd controlled-host quorum sensing drives phage decision[J]. *Cell Host & Microbe*, 2019, 25(2): 179-181
- [51] Iglér C, Abedon ST. Commentary: a host-produced quorum-sensing autoinducer controls a phage lysis-lysogeny decision[J]. *Frontiers in Microbiology*, 2019, 10: 1171
- [52] Dedrick RM, Guerrero-Bustamante CA, Garlena RA, Russell DA, Ford K, Harris K, Gilmour KC, Sothill J, Jacobs-Sera D, Schooley RT, et al. Engineered bacteriophages for treatment of a patient with a disseminated drug-resistant *Mycobacterium abscessus*[J]. *Nature Medicine*, 2019, 25(5): 730-733
- [53] Høyland-Kroghsbo NM, Maerkedahl RB, Svenningsen SL. A quorum-sensing-induced bacteriophage defense mechanism[J]. *mBio*, 2013, 4(1): e00362-12
- [54] Dolgin E. The secret social lives of viruses[J]. *Nature*, 2019, 570(7761): 290-292
- [55] León-Félix J, Villicaña C. The impact of quorum sensing on the modulation of phage-host interactions[J]. *Journal of Bacteriology*, 2021, 203(11): e00687-20