

基于翻译调控的细菌耐药研究进展

方慧颖, 张弓*

暨南大学生命与健康工程研究院 功能蛋白质广东省普通高校重点实验室, 广东 广州 510632

方慧颖, 张弓. 基于翻译调控的细菌耐药研究进展[J]. 微生物学通报, 2022, 49(7): 2767-2777

Fang Huiying, Zhang Gong. Drug resistance of bacteria based on translation regulation: a review[J]. Microbiology China, 2022, 49(7): 2767-2777

摘要: 由于抗生素的大量使用, 细菌耐药问题凸显, 直接威胁人类生命健康和世界经济发展。过去对于细菌耐药的遗传和分子机制研究较为透彻, 而对应的调控机制研究相对较少。翻译调控作为生命体最重要的调控方式之一, 在细菌耐药研究领域的重要性尚未被学术界充分重视。本文介绍了影响翻译过程的抗生素的主要作用机制, 重点从核糖体的修饰和突变、tRNA 总量的动态调控、tRNA 氨酰化、tRNA 甲基化、核糖体保护蛋白和翻译因子这几个方面概述了基于翻译调控的细菌耐药研究进展, 为研究者们提供了一个基于翻译调控角度研究细菌耐药的新视角, 同时也为开发靶向细菌翻译调控的新型抗生素提供一些新思路。

关键词: 细菌耐药; 翻译调控; 核糖体; tRNA

Drug resistance of bacteria based on translation regulation: a review

FANG Huiying, ZHANG Gong*

Key Laboratory of Functional Protein Research of Guangdong Higher Education Institutes, Institute of Life and Health Engineering, Jinan University, Guangzhou 510632, Guangdong, China

Abstract: Due to the extensive use of antibiotics, the drug resistance of bacteria has become prominent, threatening human health and economy. The genetic and molecular mechanisms of bacterial drug resistance have been intensively investigated, while the corresponding regulatory mechanism has been rarely explored. Translation regulation, one of the most important regulation methods in organisms, has

基金项目: 国家重点研发计划(2018YFC0910202, 2017YFA0505001, 2017YFA0505100); 广东省重点研发项目(2019B020226001)

Supported by: National Key Research and Development Program of China (2018YFC0910202, 2017YFA0505001, 2017YFA0505100); Key Research and Development Program Guangdong Province (2019B020226001)

*Corresponding author: E-mail: zhanggong@jnu.edu.cn

Received: 2021-11-02; Accepted: 2021-12-04; Published online: 2022-01-19

been underestimated in the research on bacterial resistance. This review introduced the main mechanisms of antibiotics affecting the translation process, and systematically summarized the research progress of bacterial resistance based on translation regulation from the aspects of ribosomal modification and mutation, dynamic regulation of total tRNA, tRNA aminoacylation, tRNA methylation, ribosomal protective proteins and translation factors, etc. We hope to provide a new perspective on the bacterial drug resistance, as well as some new ideas for the development of novel translation-targeted antibiotics.

Keywords: antimicrobial resistance; translation regulation; ribosome; tRNA

抗生素用于治疗细菌感染无疑是医学上的重大突破,然而,在经历抗生素发现的井喷时期后,发现或者开发新抗生素的难度越来越大^[1-3]。虽然美国食品药品监督管理局(Food and Drug Administration, FDA)批准的抗生素药物在过去几年呈上升趋势^[4],然而大部分抗生素在投入使用后不久便发现有对应的耐药菌株产生,耐药菌的发展速度已经远超发现及人工合成新抗生素的速度,泛耐药甚至全耐药的细菌也层出不穷^[5-6],人类依然面临无药可医的危机。面对抗生素耐药性问题,全世界科学家都在积极致力于耐药机制的研究以寻找新的治疗细菌感染的方法。

目前普遍认为细菌产生耐药的分子机制主要有 4 大类^[7-8]: (1) 减少渗透性或增加外排使胞内抗生素减少; (2) 水解或修饰酶使抗生素失活; (3) 突变或修饰抗生素的作用靶标使抗生素无法与靶标结合; (4) 改变代谢途径使得抗生素毒性失效。以上耐药机制的产生主要由基因组的改变介导,包含点变异、结构变异和外源基因的水平转移等^[7],可以很好地解释耐药性的可遗传性。然而,细菌基因组水平的改变并非是细菌产生耐药的唯一原因,例如持续的抗生素压力下大肠杆菌要经过 2-5 d 才开始积累基因组点突变和产生突变蛋白,演化出稳定的耐药性^[9]。此外,在抗生素作用下细菌还会表现出耐受性和滞留性^[10],即其基因组无改变也可以在抗生素环境下存活^[11]。说明细菌除了利用基因组层面的改变产生耐药机制之外,还具备

非遗传性抗生素耐药产生的生理基础,有着一整套调控系统“以不变应万变”,用一种相对通用的方式更快速地应对不同种类的抗生素。

细菌的调控系统主要有转录调控和翻译调控。传统认为转录调控在细菌耐药中占主要地位,而翻译调控只占很小的比例,然而,翻译调控是细胞内最重要的调控方式^[12],而且翻译调控的响应速度远快于转录调控^[13]。因此,翻译调控细菌耐药的重要性很可能被低估了。作为细胞内最重要的调控方式,参与翻译调控的元件众多,包含核糖体、核糖体保护蛋白、正在翻译的 mRNA、翻译因子、新生肽、tRNA 及相关的酶,除此之外还包含调控性 RNA (如 miRNA 和 lncRNA) 等^[14],其都可能影响到整个翻译的过程。

由于翻译调控的复杂性及技术的局限性,过去对于翻译调控的全局研究并不多。得益于近年来翻译组学的发展,学术界能够在翻译层面上对细菌耐药的过程有了更深入、更全面的研究,使我们可以从一个全新的角度去研究细菌耐药、耐受及滞留的机制,也为抗生素开发和改造提供了新的视野和策略,具有广阔的前景。

1 影响翻译过程的抗生素的作用机制

基于真核生物和原核生物翻译系统和过程的差异,许多可特异性抑制细菌翻译过程的抗生素被广泛地应用于临床上,如氨基糖苷类、四环素类、大环内酯类和氯霉素等,其作用靶点和机制也各有不同^[3,15-16](图 1)。

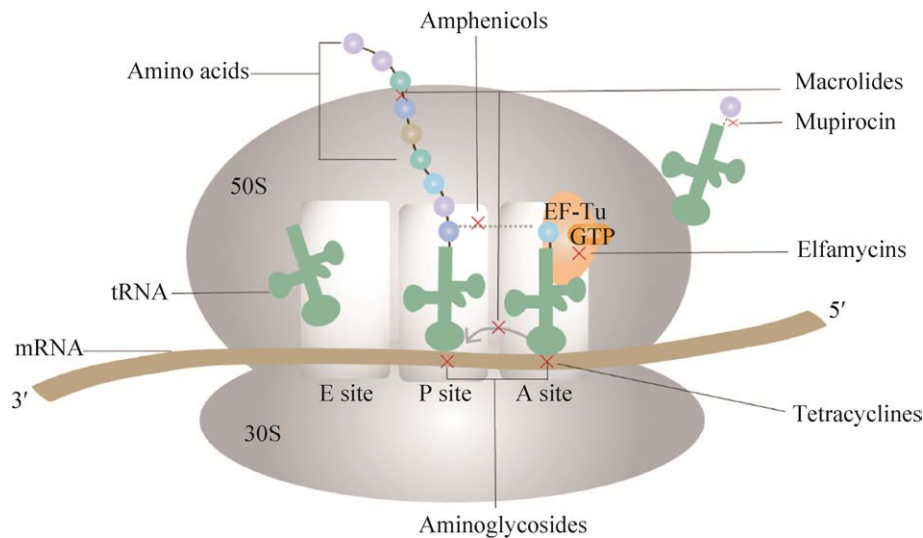


图 1 影响翻译过程的抗生素的主要作用机制

Figure 1 Main mechanisms of antibiotics affecting the translation process.

氨基糖苷类抗生素靶向细菌核糖体 30S 亚基上带正电荷的寡糖, 阻止氨酰 tRNA 在 A 位和 P 位上的正确定位, 诱导 tRNA 与 mRNA 密码子错误匹配, 导致翻译出异常蛋白^[17]; 卡那霉素能够抑制 70S 起始复合体的形成, 阻碍蛋白质合成的起始^[15]; 四环素类抗生素通常靶向核糖体 30S 亚基的 16S rRNA, 阻止氨酰-tRNA 结合在 A 位, 从而抑制肽链的延长; 大环内酯类抗生素靶向 50S 亚基, 阻断氨酰 tRNA 自 A 位至 P 位的转移, 同时也阻碍了氨酰 tRNA 结合在 P 位上, 从而抑制细菌的翻译过程, 导致蛋白质合成受阻; 酰胺醇类抗生素(如氯霉素)作用靶点是 50S 亚基, 抑制肽酰基转移酶活性, 阻止了翻译过程中肽键的形成^[16]; 莫匹罗星则是通过竞争性结合异亮氨酸-tRNA 合成酶, 阻碍氨酰 tRNA 的合成, 也消耗了细胞内的可用于翻译的 tRNA^[18]; 还有的抗生素是通过影响翻译因子的功能而影响翻译过程的, 如 elfamycin 作用靶点为翻译延伸因子 Tu (elongation factor-Tu, EF-Tu)^[19]; 在这些抗生素的作用下, 细菌翻

译过程被抑制, 蛋白质合成迅速停止, 生长严重受限以至死亡^[15-19]。此外, 还有其他抗生素并不直接针对翻译过程的元件, 但依然影响细菌的翻译速度及效率, 例如喹诺酮类抗生素产生氧化自由基, 这种氧化胁迫也会导致细菌的翻译受到影响^[20]。

这些能够抑制翻译、干扰蛋白质合成的抗生素, 过去在临床上治疗细菌感染取得了重大的成功, 但由于不规范使用和细菌本身强大的适应能力, 某些抗生素应用于临床不到 1 年的时间, 细菌就快速发展出了多种相应的耐药机制^[5]。

2 翻译调控细菌耐药机制

2.1 核糖体修饰和突变

核糖体是蛋白质的翻译工厂, 主要由 rRNA 和蛋白质组成。细菌的核糖体由 50S 亚基和 30S 亚基组成, 核糖体修饰是细菌获得耐药性最直接的形式之一, 例如金黄色葡萄球菌在红霉素亚抑菌浓度下, ErmCL 前导肽诱导翻译暂停, 导致 mRNA 二级结构发生改变, 编码 23S rRNA

甲基化酶的 *ermC* 基因的核糖体结合位点 (ribosome binding site, RBS) 和起始密码子暴露出来, 使得原本沉默的 *ermC* 基因被表达^[21]。23S rRNA 在 *ermC* 酶的作用下被甲基化修饰后, 红霉素无法与其作用靶点 50S 亚基中的 23S rRNA 结合, 于是细菌对红霉素产生了耐药^[21]。这种耐药性的获得同时意味着翻译效率的降低, 因此在无抗生素的条件下, 金黄色葡萄球菌野生型菌株与过表达 *ermC* 的菌株相比有生存优势^[22]。

由于核糖体 rRNA 基因在基因组上的拷贝数通常较多, 相比于基因突变, 对核糖体 rRNA 的直接修饰能够更快速、更直接地改变靶标, 阻止抗生素的结合。然而细菌的核糖体蛋白在基因组上往往只有一个拷贝, 因此更容易通过基因突变来获得抗性^[23]。例如 30S 亚基核糖体蛋白 S12 突变已被证明对可造成错误解码的抗生素具有抗性, 尤其是容易引起密码子错误匹配的氨基糖苷类抗生素(如链霉素)^[24-26], S12 的突变体不会阻止抗生素的结合, 而是显著提高了密码子与反密码子匹配的准确性, 从而抵消抗生素引起的误译, 达到耐药的效果, 尽管这种保真度的增加也会降低翻译的延伸速率^[27]。

无论是对核糖体 rRNA 的修饰还是核糖体蛋白的突变, 都不可避免会影响核糖体的活性, 通常会降低翻译速率, 给细菌带来适应成本。然而, 某些耐药菌还会发生补偿性突变以减少适应成本^[28], 因此仅仅依靠敏感菌的竞争优势去消除耐药菌是不够的, 开发新的抗生素依然非常有必要。

靶向核糖体的抗生素依然是治疗细菌感染的利器, 开发新的抗生素在规避现有耐药机制上展现了巨大的潜力。Pantel 等^[29]发现一种新的靶向核糖体的抗生素 odilorhabdins 对革兰氏阳性和革兰氏阴性病原菌均显示出抗菌活性, 同时在小鼠模型中表现出低毒性。该药物结合位置与已有抗生素靶标不重叠, 这表明 odilorhabdins 有望

成为一种新的治疗药物^[29]。

在现有抗生素基础上进行改良也是应对细菌耐药的方案之一。四环素修饰后的产物氨基甲基环素(omadacycline)抗菌谱扩大, 同时对具有常见四环素耐药机制(如外排泵 TetK 和核糖体保护蛋白 TetM)的菌株仍然有效^[30]。然而有些抗生素经化学修饰后的衍生物具有截然不同的作用机制, 例如氯霉素衍生的烯酮和烯醛类似物可抑制细胞壁生物合成而不是抑制翻译, 当然它们在抑制细菌生长方面仍然非常有效^[31]。由于这些衍生物在哺乳动物细胞系中表现出很高的毒性, 所以用于临床治疗之前还需要更多优化^[31]。

2.2 tRNA 总量的动态调控

传统上认为不同的抗生素具有一种普遍的杀菌机制^[32]: 例如主要的 3 类抗生素(氨基糖苷类、喹诺酮类和 β -内酰胺类)通过依赖于 TCA 循环的电子传递链促使 NADH 氧化, 通过 Fenton 反应形成羟基自由基($\cdot\text{OH}$), 破坏细菌 DNA, 导致细菌死亡。在原核生物中, 对抗氧化自由基主要由 OxyR 和 SoxRS 转录因子调控系统进行调控^[33], 但是抗生素导致的氧化自由基在加药后立即产生^[32], 而从激活 OxyR 和 SoxRS 调控系统到合成出有功能的抗氧化酶的过程需要 20–30 min^[34]。这就很难解释细菌在接触抗生素后能快速地调节生长, 适应生存压力。因此, 在这些转录系统发挥调控功能前, 细菌应存在更迅速的调控方式来应对氧化压力。

研究表明, 在氧化压力下, 细菌细胞内存在 tRNA 介导的翻译调控^[35-37]。在加入氧化剂时, 大肠杆菌内蛋白质的合成立即减慢到几乎停滞, 但细菌翻译起始速率却未受到影响, 胞内蛋白质也无明显的损伤^[38]。通过 tRNA 组定量测序发现, 在氧化应激开始时大部分 tRNA 都立即下调^[38], 暗示细菌可能通过 tRNA 下调介导的翻译延伸速度减慢使得细胞迅速地适应氧化应激^[36]。此

外, 研究人员还发现, 当过氧化氢浓度超过阈值时, 翻译延伸速率慢反而成为了细菌对抗 ROS 的瓶颈^[35], 而人为提高 tRNA 水平可以提高在氧化应激条件下大肠杆菌的翻译延伸速度, 突破对抗 ROS 的瓶颈以耐受更高浓度的环丙沙星^[36,38]。

实际上, 在正常条件下, 过高的 tRNA 水平并不利于细菌的生长。因为在正常条件下翻译时, 核糖体在 mRNA 上的移动并非匀速, 而是在特定区段上存在翻译暂停现象, 其中翻译暂停位点与生产出的蛋白质结构域相对应, 适时暂停有利于蛋白质的正确折叠^[39-40]。过高的 tRNA 水平会减少翻译暂停时间, 导致蛋白质折叠错误率上升, 不利于细菌的生长^[38]。在产生氧化胁迫的抗生素压力下, 细菌胞内 tRNA 水平下降, 增加了翻译暂停时间, 此时虽然细菌整体生长减慢甚至停滞, 但可以通过加强翻译暂停来提高蛋白质折叠的质量, 一定程度上抵消抗生素对翻译的不利影响, 从而利于细菌的存活^[41]。当氧化胁迫超过细菌自身调节的范围时, 细菌不在生长、翻译活动停滞, 此时, 人为提高 tRNA 的水平可以提升翻译延伸速度, 使翻译活动得以继续, 细菌的抗逆能力进一步提高。可见, tRNA 总量的动态调控是细菌应对恶劣环境的重要调控手段。tRNA 的非特异性降解被证明是一种酶促反应^[36], 同时有研究排除了 Poly(A)聚合酶 I 和 RNase E 的可能性^[37]。因此, tRNA 非特异性降解作为细菌耐药的重要调控机制, 还有较大的研究空间。目前暂无相关的酶抑制剂应用于临床, 相信随着机制研究的深入, 必能发现一片新天地。

2.3 tRNA 氨酰化

除 tRNA 总量的调控之外, tRNA 氨酰化反应也在细菌耐药或滞留的形成过程中扮演重要角色。某些 tRNA 氨酰化的异常会增加细菌耐药性^[42-46]。细胞内 tRNA 氨酰化是由多种氨酰 tRNA 合成酶(aaRS)催化完成的。其中谷氨酰

tRNA 合成酶(Gltx)是 Glu-tRNA^{Glu} 合成的关键酶, 而毒素分子 HipA 能够磷酸化 Gltx 活性中心的 Ser239, 导致这一氨酰化反应被抑制, 大量的空载 tRNA^{Glu} 在细胞内累积并结合到核糖体上, 翻译过程立即暂停, 进而引发 RelA 蛋白介导 ppGpp 和 pppGpp 的合成, 触发严紧反应, 细菌停止生长进而进入滞留状态^[43-44], 从而实现短期内在抗生素环境下的存活。最新研究表明, 脱氨酰化 tRNA 积累除了会触发严紧反应外, 还存在其他分子机制促进滞留菌形成^[47-49]。Wood 等证明 PheRS 突变体(A294S)导致大量的空载 tRNA^{Phe} 累积, 促进了滞留菌形成, 但是敲除 RelA 后滞留菌数量反而进一步提高, 说明空载 tRNA^{Phe} 调控大肠杆菌滞留菌形成的机制独立于严紧反应途径^[49]。gatA 是一种酰胺转移酶, 也会引起 tRNA 氨酰化异常。gatA 基因突变导致谷氨酰胺 tRNA 转化为 Glu-tRNA^{Gln}, 天门冬酰胺 tRNA 转化为 Asp-tRNA^{Asn}, 使得 Gln 密码子上的 Glu 和 Asn 密码子上的 Asp 的错配增加。RpoB 中对利福平结合至关重要的 Asn 残基被误译为 Asp, 阻止了利福平结合并使结核分枝杆菌高度耐受利福平^[45-46]。

氨酰 tRNA 合成酶一直以来被认为是抗菌药物发现的重要靶点^[50], IleRS 抑制剂莫匹罗星和 LeuRS 抑制剂 tavaborole 已被 FDA 批准用于临床治疗耐甲氧西林金黄色葡萄球菌(methicillin-resistant staphylococcus aureus, MRSA)和真菌感染的甲真菌病, 证明该类 aaRS 抑制剂作为有前途的抗菌剂具有成功的临床可行性。还有研究发现, 小分子药物 PKZ18 可以靶向 T-box 核酸开关从而调节 tRNA 氨酰化水平, 并且具有较低的耐药性, 与其他抗生素协同效果良好^[51]。在充分了解 aaRS 抑制剂耐药机制的基础上开发新的 aaRS 抑制剂可以减少其耐药性的产生。

2.4 tRNA 的甲基化修饰

tRNA 分子的碱基是被高度修饰的, 目前已发现的修饰有几十种, 而且单个 tRNA 分子往往同时有十几个碱基带有各种修饰。众所周知, 许多 tRNA 的修饰对其功能有重要的作用, 其中 tRNA 的甲基化修饰是介导细菌耐药的重要因素。例如 tRNA 第 46 位鸟嘌呤甲基化 (m^1G37 -tRNA) 通过对开放阅读框开始附近脯氨酸密码子翻译的控制, 促进了大量膜蛋白的合成^[52], 而细菌的多药耐药大多数是由膜屏障和外排活性驱动的。TrmD 是合成 m^1G37 -tRNA 的甲基转移酶, 实验证明敲除 *TrmD* 基因的大肠杆菌和沙门氏菌中 m^1G37 水平降低, 细胞的膜结构被破坏, 膜通透性增加、外排活性降低, 导致细菌对多种抗生素敏感, 无法产生耐药或滞留^[53]。这说明 m^1G37 -tRNA 的甲基化水平对于革兰氏阴性细菌的多重耐药至关重要。Thongdee 等还发现 tRNA 第 46 位鸟嘌呤甲基化 (m^7G46 -tRNA) 可以调控 Phe 和 Asp 密码子的翻译, 使得 KatA 和 KatB 的表达量上升以应对氧化应激, 并且进一步证明了甲基转移酶 TrmB 失活后, tRNA 第 46 位鸟嘌呤无法被甲基化, KatA 和 KatB 蛋白显著下调及过氧化氢酶活性降低, 最终导致细菌对过氧化氢的敏感性增加^[54]。

可见, tRNA 甲基化是参与全局调控细菌耐药的关键因素之一^[52-53], 催化 tRNA 甲基化的酶可作为新的药物靶点。Zhong 等基于 TrmD 的分子结构设计出了几种噻吩并嘧啶酮衍生物, 并证明这些分子能够抑制 TrmD 酶活性, 对革兰氏阳性菌和分枝杆菌均有抗菌活性^[55]。虽然目前没有成功开发的 TrmB 相关抑制剂, 但 TrmB 的结构模型有了新的进展, 这为后续药物的开发提供了分子基础^[56]。

2.5 核糖体保护蛋白和翻译因子

核糖体保护蛋白(ribosomal protective protein,

RPP)的作用方式相比于核糖体和 tRNA 介导的翻译调控机制更加直接。RPP 的保护机制可分为 2 种不同的类型^[57], 一种是 RPP 直接与抗生素竞争性结合靶标。例如 TetM 和 TetO 都是抑制四环素活性的 RPP, 它们与四环素竞争性结合核糖体 30S 亚基, 导致四环素无法起作用, 氨酰-tRNA 得以顺利地结合在 A 位^[58-59], 这是细菌产生四环素耐药最普遍的方式。另一种方式是 RPP 与核糖体结合后, 改变抗生素靶标位点的构象, 导致抗生素脱离。最经典的例子是 ABC-F 蛋白, 这是一个在真核原核生物中广泛存在的蛋白质超家族, 包含 45 个亚家族成员, 可介导对多种 50S 靶向药物的耐药性^[60]。以其中 MsrE 和 VmlR 为例, 它们会直接与 50S 亚基的 E 位点结合, 延伸到肽基转移中心, 诱导核糖体的构象变化, 导致靶向肽基转移酶中心的抗生素(如氯霉素)无法与靶位结合, 从而使此类抗生素失效^[61]。这两种方式都会短暂地影响核糖体活性, 但 RPP 解离后, 核糖体活性就会恢复。靶向 RPP 的药物可作为抗生素佐剂与其他抗生素联合使用以获得更好的治疗效果。

翻译因子是核糖体正常运作不可或缺的因素, 其包含多种翻译起始因子和翻译延伸因子, 例如延伸因子 G (elongation factor-G, EF-G) 是一种必不可少的 GTP 酶, 可通过核糖体催化 tRNA 易位^[62], 是夫西地酸的靶标, 但 EF-G 通过点突变可以很容易地获得夫西地酸抗性^[63]。除了 EF-G, 核糖体还需要另一种必需的 GTPase, 即 EF-Tu。EF-Tu 结合氨酰化 tRNA 并将它们护送到核糖体的 A 位点。密码子配对后, EF-Tu 将水解三磷酸鸟苷(GTP), 释放 aa-tRNA 并与核糖体分离。EF-Tu 的磷酸化虽然降低了其与 GTP 的亲合力, 但能够抑制抗生素 kirromycin 的结合^[64], 同时 Noort 等证明大肠杆菌中 EF-Tu 的甲基化降低 GTP 的水解率并因此

获得更准确的翻译^[65]。

翻译因子的缺失可导致细菌多种表型的异常, 最明显的是细菌生长速度减慢甚至停滞, 还有对抗生素等胁迫条件的免疫力降低及毒性降低等^[66]。例如翻译延伸因子 P (elongation factor-P, EF-P) 缺失的大肠杆菌对碳青霉烯类和 β -内酰胺类抗生素敏感性增加, 说明 EF-P 在耐药性上有重要功能^[67]。翻译因子一直被当成是开发有效抗生素的潜在靶标, 但目前发现的靶向 EF-Tu 的药物通常具有低溶解度和低渗透性的特点, 暂不适合临床使用^[68]。当然, 这些药物可通过改善其药代动力学特性进一步优化, 有较大的机会能够用于临床。

2.6 总结

翻译调控是细菌快速应对压力的重要机制^[69], 如图 2 所示, 核糖体的修饰和突变、tRNA 总量的动态调控、tRNA 氨酰化异常、tRNA 甲基化修饰、核糖体保护蛋白和翻译因子的调控在细菌耐

药性产生过程中都起到了重要作用。

由此可以总结出基于翻译调控的细菌耐药的三大特征:

(1) 反应速度快。无论是核糖体直接介导的耐药、核糖体保护蛋白和翻译因子的保护、还是 tRNA 的调控都显示出对抗生素反应的及时性, 做到分钟级响应速度, 既能使得细菌快速适应不利环境, 又给细菌的转录调控和耐药基因突变累积提供了反应时间。

(2) 具有普遍性。细菌的基因点突变一般只能特异性地针对某一种或某一小类抗生素产生的耐药性, 而翻译调控则介导细菌在一开始就普遍性地适应多种抗生素。这一特征在 tRNA 介导的翻译调控上表现得最为明显: 1) tRNA 总量的调控不仅仅只发生在某一种抗生素作用下, 而是参与到几乎所有产生氧化胁迫的抗生素的适应过程; 2) tRNA 甲基化是细菌能同时抵抗多种抗生素的全局影响因素之一; 3) tRNA

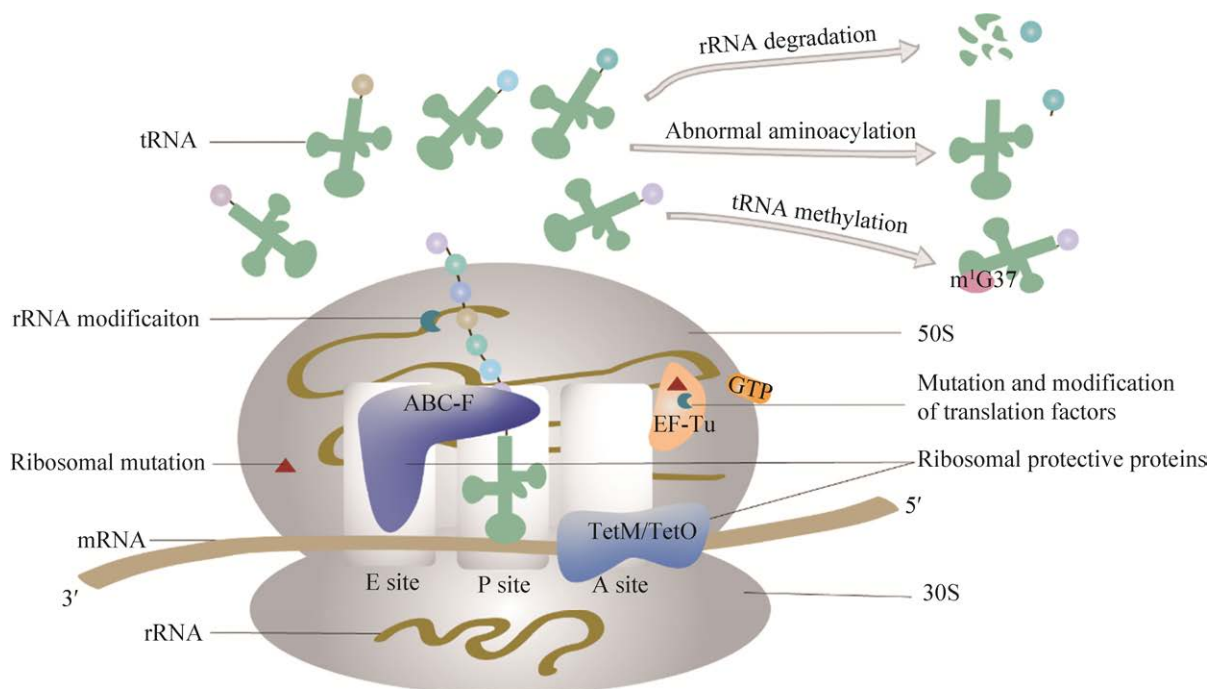


图 2 翻译调控细菌耐药的主要方式

Figure 2 Main ways of bacterial drug-resistance based on translation regulation.

氨酰化异常能介导细菌进入持留状态, 抵抗大部分的抗生素。这使得细菌不必保有多套应对机制, 大大减轻了调控负担, 从而使基因组很小的细菌足以应对各种不可预知的抗生素而生存下来。

(3) 适应性与抗性的平衡。除了核糖体蛋白的保护作用对核糖体活性基本没有影响之外, 核糖体的突变或修饰均会直接影响核糖体活性, 减慢翻译速度; tRNA 总量的动态调控和 tRNA 的氨酰化水平均能调节翻译延伸速度; 翻译因子同样会影响翻译的起始和延伸。可见在抗生素压力下, 翻译调控一方面能快速响应不利环境、促进耐药形成, 另一方面会影响细菌正常的生命活动, 带来适应成本。然而对于细菌群体来说, 适应成本带来的损失远不及无法抵抗药物而死亡的损失, 因此, “两权相害取其轻”是细菌在药物胁迫下的重要生存策略。

3 展望

鉴于靶向翻译过程的抗生素在临床上取得的成功, 目前正在开发的抗生素药物中大约有 1/3 是针对翻译过程的^[70], 多种改良后的抗生素被证明能够规避现有的耐药机制^[71-72]。虽然一些致病菌对新开发的靶向翻译过程的抗生素仍有可能产生新的耐药机制从而耐药, 但是早期巨大的适应成本能够大大降低致病菌后期产生耐药的概率, 而且新的抗生素与其他类型的抗生素联用对新药的适用性和有效性也能起到弥补作用。

目前靶向核糖体的新药正在不断地开发过程中: 靶向 aaRSs 的药物被证明有临床可行性^[50]; 已有相关酶抑制剂针对 tRNA 甲基化过程^[55]; 靶向翻译因子和核糖体蛋白的药物有待进一步优化; tRNA 总量的调控还需进一步探索调控过程中的关键酶, 以针对性地设计药物。充分研究翻

译调控细菌耐药的各种机制, 不仅能够更全面、更系统地了解细菌产生耐药的过程, 还能为开发新型靶向翻译的抗生素提供新的切入点及更好的改良策略。

REFERENCES

- [1] Courtemanche G, Wadanamby R, Kiran A, Toro-Alzate LF, Diggle M, Chakraborty D, Blocker A, Van Dongen M. Looking for solutions to the pitfalls of developing novel antibacterials in an economically challenging system[J]. *Microbiology Research*, 2021, 12(1): 173-185
- [2] Dhingra S, Rahman NAA, Peile E, Rahman M, Sartelli M, Hassali MA, Islam T, Islam S, Haque M. Microbial resistance movements: an overview of global public health threats posed by antimicrobial resistance, and how best to counter[J]. *Frontiers in Public Health*, 2020, 8: 535668
- [3] Hutchings MI, Truman AW, Wilkinson B. Antibiotics: past, present and future[J]. *Current Opinion in Microbiology*, 2019, 51: 72-80
- [4] Andrei S, Droc G, Stefan G. FDA approved antibacterial drugs: 2018–2019[J]. *Discoveries: Craiova, Romania*, 2019, 7(4): e102
- [5] CDC. Antibiotic resistance threats in the United States, 2019[R]. Centers for Disease Control and Prevention (U.S.), 2019
- [6] Zaman SB, Hussain MA, Nye R, Mehta V, Mamun KT, Hossain N. A review on antibiotic resistance: alarm bells are ringing[J]. *Cureus*, 2017, 9(6): e1403
- [7] Yelin I, Kishony R. Antibiotic resistance[J]. *Cell*, 2018, 172(5): 1136
- [8] Blair JMA, Webber MA, Baylay AJ, Ogbolu DO, Piddock LJV. Molecular mechanisms of antibiotic resistance[J]. *Nature Reviews Microbiology*, 2015, 13(1): 42-51
- [9] Toprak E, Veres A, Michel JB, Chait R, Hartl DL, Kishony R. Evolutionary paths to antibiotic resistance under dynamically sustained drug selection[J]. *Nature Genetics*, 2012, 44(1): 101-105
- [10] Brauner A, Fridman O, Gefen O, Balaban NQ. Distinguishing between resistance, tolerance and persistence to antibiotic treatment[J]. *Nature Reviews Microbiology*, 2016, 14(5): 320-330
- [11] Pontes MH, Groisman EA. A physiological basis for nonheritable antibiotic resistance[J]. *mBio*, 2020, 11(3): 00817-20

- [12] Schwanhäusser B, Busse D, Li N, Dittmar G, Schuchhardt J, Wolf J, Chen W, Selbach M. Global quantification of mammalian gene expression control[J]. *Nature*, 2011, 473(7347): 337-342
- [13] De Nadal E, Ammerer G, Posas F. Controlling gene expression in response to stress[J]. *Nature Reviews Genetics*, 2011, 12(12): 833-845
- [14] Zhao J, Qin B, Nikolay R, Spahn CMT, Zhang G. Translatomics: the global view of translation[J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2019, 20(1): 212
- [15] Arenz S, Wilson DN. Bacterial protein synthesis as a target for antibiotic inhibition[J]. *Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine*, 2016, 6(9): a025361
- [16] Champney WS. Antibiotics targeting bacterial ribosomal subunit biogenesis[J]. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 2020, 75(4): 787-806
- [17] Wohlgemuth I, Garofalo R, Samatova E, Güneç AN, Lenz C, Urlaub H, Rodnina MV. Translation error clusters induced by aminoglycoside antibiotics[J]. *Nature Communications*, 2021, 12: 1830
- [18] Yanagisawa T, Lee JT, Wu HC, Kawakami M. Relationship of protein structure of isoleucyl-tRNA synthetase with pseudomonic acid resistance of *Escherichia coli*. A proposed mode of action of pseudomonic acid as an inhibitor of isoleucyl-tRNA synthetase[J]. *Journal of Biological Chemistry*, 1994, 269(39): 24304-24309
- [19] Yarlagadda V, Medina R, Johnson TA, Koteva KP, Cox G, Thaker MN, Wright GD. Resistance-guided discovery of elfamycin antibiotic producers with antigonococcal activity[J]. *ACS Infectious Diseases*, 2020, 6(12): 3163-3173
- [20] Leiva LE, Pincheira A, Elgamil S, Kienast SD, Bravo V, Leufken J, Gutiérrez D, Leidel SA, Ibba M, Katz A. Modulation of *Escherichia coli* translation by the specific inactivation of tRNA^{Gly} under oxidative stress[J]. *Frontiers in Genetics*, 2020, 11: 856
- [21] Arenz S, Meydan S, Starosta AL, Berninghausen O, Beckmann R, Vázquez-Laslop N, Wilson DN. Drug sensing by the ribosome induces translational arrest via active site perturbation[J]. *Molecular Cell*, 2014, 56(3): 446-452
- [22] Gupta P, Sothiselvam S, Vázquez-Laslop N, Mankin AS. Deregulation of translation due to post-transcriptional modification of rRNA explains why *erm* genes are inducible[J]. *Nature Communications*, 2013, 4: 1984
- [23] Wilson DN. Ribosome-targeting antibiotics and mechanisms of bacterial resistance[J]. *Nature Reviews Microbiology*, 2014, 12(1): 35-48
- [24] Traub P, Nomura M. Streptomycin resistance mutation in *Escherichia coli*: altered ribosomal protein[J]. *Science*, 1968, 160(3824): 198-199
- [25] Gregory ST, Cate JHD, Dahlberg AE. Streptomycin-resistant and streptomycin-dependent mutants of the extreme thermophile *Thermus thermophilus*[J]. *Journal of Molecular Biology*, 2001, 309(2): 333-338
- [26] Valenzuela M, Méndez V, Montenegro I, Besoain X, Seeger M. Streptomycin resistance in *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* strains from Chile is related to an *rpsL* gene mutation[J]. *Plant Pathology*, 2019, 68(3): 426-433
- [27] Sharma D, Cukras AR, Rogers EJ, Southworth DR, Green R. Mutational analysis of S12 protein and implications for the accuracy of decoding by the ribosome[J]. *Journal of Molecular Biology*, 2007, 374(4): 1065-1076
- [28] Hernando-Amado S, Sanz-García F, Blanco P, Martínez JL. Fitness costs associated with the acquisition of antibiotic resistance[J]. *Essays in Biochemistry*, 2017, 61(1): 37-48
- [29] Pantel L, Florin T, Dobosz-Bartoszek M, Racine E, Sarciaux M, Serri M, Houard J, Campagne JM, De Figueiredo RM, Midrier C, et al. Odilorhabdins, antibacterial agents that cause miscoding by binding at a new ribosomal site[J]. *Molecular Cell*, 2018, 70(1): 83-94
- [30] Zhanel GG, Esquivel J, Zelenitsky S, Lawrence CK, Adam HJ, Golden A, Hink R, Berry L, Schweizer F, Zhanel MA, et al. Omadacycline: a novel oral and intravenous aminomethylcycline antibiotic agent[J]. *Drugs*, 2020, 80(3): 285-313
- [31] Louzoun Zada S, Green KD, Shrestha SK, Herzog IM, Garneau-Tsodikova S, Fridman M. Derivatives of ribosome-inhibiting antibiotic chloramphenicol inhibit the biosynthesis of bacterial cell wall[J]. *ACS Infectious Diseases*, 2018, 4(7): 1121-1129
- [32] Kohanski MA, Dwyer DJ, Hayete B, Lawrence CA, Collins JJ. A common mechanism of cellular death induced by bactericidal antibiotics[J]. *Cell*, 2007, 130(5): 797-810
- [33] Zheng M, Doan B, Schneider TD, Storz G. OxyR and SoxRS regulation of fur[J]. *Journal of Bacteriology*, 1999, 181(15): 4639-4643
- [34] Jozefczuk S, Klie S, Catchpole G, Szymanski J, Cuadros-Inostroza A, Steinhäuser D, Selbig J,

- Willmitzer L. Metabolomic and transcriptomic stress response of *Escherichia coli*[J]. *Molecular Systems Biology*, 2010, 6: 364
- [35] Zhu ML, Dai XF. Maintenance of translational elongation rate underlies the survival of *Escherichia coli* during oxidative stress[J]. *Nucleic Acids Research*, 2019, 47(14): 7592-7604
- [36] Zhong JY, Xiao CL, Gu W, Du GF, Sun XS, He QY, Zhang G. Transfer RNAs mediate the rapid adaptation of *Escherichia coli* to oxidative stress[J]. *PLoS Genetics*, 2015, 11(6): e1005302
- [37] Sørensen MA, Fehler AO, Lo Svenningsen S. Transfer RNA instability as a stress response in *Escherichia coli*: rapid dynamics of the tRNA pool as a function of demand[J]. *RNA Biology*, 2018, 15(4/5): 586-593
- [38] 赵晶, 张弓. 翻译组学: 方法及应用[J]. *生命的化学*, 2017, 37(1): 70-79
- Zhao J, Zhang G. Translatomics: methods and applications[J]. *Chemistry of Life*, 2017, 37(1): 70-79 (in Chinese)
- [39] Pedersen S. *Escherichia coli* ribosomes translate *in vivo* with variable rate[J]. *The EMBO Journal*, 1984, 3(12): 2895-2898
- [40] Zhang G, Hubalewska M, Ignatova Z. Transient ribosomal attenuation coordinates protein synthesis and co-translational folding[J]. *Nature Structural & Molecular Biology*, 2009, 16(3): 274-280
- [41] Vazquez-Laslop N, Thum C, Mankin AS. Molecular mechanism of drug-dependent ribosome stalling[J]. *Molecular Cell*, 2008, 30(2): 190-202
- [42] Garoff L, Huseby DL, Praski Alzrigat L, Hughes D. Effect of aminoacyl-tRNA synthetase mutations on susceptibility to ciprofloxacin in *Escherichia coli*[J]. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 2018, 73(12): 3285-3292
- [43] Kaspy I, Rotem E, Weiss N, Ronin I, Balaban NQ, Glaser G. HipA-mediated antibiotic persistence via phosphorylation of the glutamyl-tRNA-synthetase[J]. *Nature Communications*, 2013, 4: 3001
- [44] Germain E, Castro-Roa D, Zenkin N, Gerdes K. Molecular mechanism of bacterial persistence by HipA[J]. *Molecular Cell*, 2013, 52(2): 248-254
- [45] Su HW, Zhu JH, Li H, Cai RJ, Ealand C, Wang X, Chen YX, Kayani MUR, Zhu TF, Moradigaravand D, et al. The essential mycobacterial amidotransferase GatCAB is a modulator of specific translational fidelity[J]. *Nature Microbiology*, 2016, 1: 16147
- [46] Javid B, Sorrentino F, Toosky M, Zheng W, Pinkham JT, Jain N, Pan M, Deighan P, Rubin EJ. Mycobacterial mistranslation is necessary and sufficient for rifampicin phenotypic resistance[J]. *PNAS*, 2014, 111(3): 1132-1137
- [47] Khare A, Tavazoie S. Extreme antibiotic persistence via heterogeneity-generating mutations targeting translation[J]. *mSystems*, 2020, 5(1): e00847-19
- [48] Hatch ND, Ouellette SP. Inhibition of tRNA synthetases induces persistence in *Chlamydia*[J]. *Infection and Immunity*, 2020, 88(4): e00943-19
- [49] Wood WN, Mohler K, Rinehart J, Ibba M. Deacylated tRNA accumulation is a trigger for bacterial antibiotic persistence independent of the stringent response[J]. *mBio*, 2021, 12(3): e0113221
- [50] Pang LP, Weeks SD, Van Aerschot A. Aminoacyl-tRNA synthetases as valuable targets for antimicrobial drug discovery[J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2021, 22(4): 1750
- [51] Väre VYP, Schneider RF, Kim H, Lasek-Nesselquist E, McDonough KA, Agris PF. Small-molecule antibiotics inhibiting tRNA-regulated gene expression is a viable strategy for targeting Gram-positive bacteria[J]. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 2020, 65(1): e01247-20
- [52] Hou YM, Masuda I, Foster LJ. tRNA methylation: an unexpected link to bacterial resistance and persistence to antibiotics and beyond[J]. *Wiley Interdisciplinary Reviews RNA*, 2020, 11(6): e1609
- [53] Masuda I, Matsubara R, Christian T, Rojas ER, Yadavalli SS, Zhang LS, Goulian M, Foster LJ, Huang KC, Hou YM. tRNA methylation is a global determinant of bacterial multi-drug resistance[J]. *Cell Systems*, 2019, 8(4): 302-314
- [54] Thongdee N, Jaroensuk J, Atichartpongkul S, Chittrakonwong J, Chooyoung K, Srimahaeak T, Chaiyen P, Vattanaviboon P, Mongkolsuk S, Fuangthong M. TrmB, a tRNA m7G46 methyltransferase, plays a role in hydrogen peroxide resistance and positively modulates the translation of *KatA* and *KatB* mRNAs in *Pseudomonas aeruginosa*[J]. *Nucleic Acids Research*, 2019, 47(17): 9271-9281
- [55] Zhong WH, Pasunooti KK, Balamkundu S, Wong YH, Nah Q, Gadi V, Gnanakalai S, Chionh YH, McBee ME, Gopal P, et al. Thienopyrimidinone derivatives that inhibit bacterial tRNA (guanine37-N₁)-methyltransferase (TrmD) by restructuring the active site with a tyrosine-flipping mechanism[J]. *Journal of Medicinal Chemistry*, 2019, 62(17): 7788-7805
- [56] Blerch KF, Burchert JP, August SC, Welp L, Neumann

- P, Köster S, Urlaub H, Ficner R. Structural model of the M7G46 methyltransferase TrmB in complex with tRNA[J]. *RNA Biology*, 2021, 18(12): 2466-2479
- [57] Wilson DN, Hauryliuk V, Atkinson GC, O'Neill AJ. Target protection as a key antibiotic resistance mechanism[J]. *Nature Reviews Microbiology*, 2020, 18(11): 637-648
- [58] Li W, Atkinson GC, Thakor NS, Allas Ü, Lu CC, Chan KY, Tenson T, Schulten K, Wilson KS, Hauryliuk V, et al. Mechanism of tetracycline resistance by ribosomal protection protein Tet(O)[J]. *Nature Communications*, 2013, 4: 1477
- [59] Dönhöfer A, Franckenberg S, Wickles S, Berninghausen O, Beckmann R, Wilson DN. Structural basis for TetM-mediated tetracycline resistance[J]. *PNAS*, 2012, 109(42): 16900-16905
- [60] Murina V, Kasari M, Takada H, Hinno M, Saha CK, Grimshaw JW, Seki T, Reith M, Putrinš M, Tenson T, et al. ABCF ATPases involved in protein synthesis, ribosome assembly and antibiotic resistance: structural and functional diversification across the tree of life[J]. *Journal of Molecular Biology*, 2019, 431(18): 3568-3590
- [61] Ero R, Kumar V, Su WX, Gao YG. Ribosome protection by ABC-F proteins—molecular mechanism and potential drug design[J]. *Protein Science*, 2019, 28(4): 684-693
- [62] Peng BZ, Bock LV, Belardinelli R, Peske F, Grubmüller H, Rodnina MV. Active role of elongation factor G in maintaining the mRNA reading frame during translation[J]. *Science Advances*, 2019, 5(12): eaax8030
- [63] Besier S, Ludwig A, Brade V, Wichelhaus TA. Molecular analysis of fusidic acid resistance in *Staphylococcus aureus*[J]. *Molecular Microbiology*, 2003, 47(2): 463-469
- [64] Sajid A, Arora G, Gupta M, Singhal A, Chakraborty K, Nandicoori VK, Singh Y. Interaction of *Mycobacterium tuberculosis* elongation factor Tu with GTP is regulated by phosphorylation[J]. *Journal of Bacteriology*, 2011, 193(19): 5347-5358
- [65] Noort JM, Kraal B, Sinjorgo KMC, Persoon NLM, Johans ESD, Bosch L. Methylation *in vivo* of elongation factor EF-Tu at lysine-56 decreases the rate of tRNA-dependent GTP hydrolysis[J]. *European Journal of Biochemistry*, 1986, 160(3): 557-561
- [66] Harvey KL, Jarocki VM, Charles IG, Djordjevic SP. The diverse functional roles of elongation factor Tu (EF-Tu) in microbial pathogenesis[J]. *Frontiers in Microbiology*, 2019, 10: 2351
- [67] Woodford J. The threat of antibiotic resistant bacteria: the role of EF-P and EpmA in antibiotic resistant *E. coli*[D]. Ohio Dominican University, 2021. <http://rave.ohiolink.edu/etdc/view?acc-num=oduhonorsl620140308432787>
- [68] Prezioso SM, Brown NE, Goldberg JB. Elfamycins: inhibitors of elongation factor-Tu[J]. *Molecular Microbiology*, 2017, 106(1): 22-34
- [69] Zhu ML, Dai XF. Bacterial stress defense: the crucial role of ribosome speed[J]. *Cellular and Molecular Life Sciences*, 2020, 77(5): 853-858
- [70] Antibiotics Currently in Global Clinical Development [EB/OL]. The Pew Charitable Trusts, 2021. <https://www.pewtrusts.org/en/research-and-analysis/data-visualization/s/2014/antibiotics-currently-in-clinical-development>
- [71] Falagas ME, Skolidis T, Vardakas KZ, Voulgaris GL, Papanikolaou G, Legakis N. Activity of TP-6076 against carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii* isolates collected from inpatients in Greek hospitals[J]. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 2018, 52(2): 269-271
- [72] Scott LJ. Eravacycline: a review in complicated intra-abdominal infections[J]. *Drugs*, 2019, 79(3): 315-324