

DOI:10.13350/j.cjpb.230607

• 论著 •

# 一株分离自野鼠鼠疫源地污水中的鼠疫噬菌体特性研究<sup>\*</sup>

杨娇<sup>1,2</sup>, 王紫莹<sup>1,2</sup>, 刘攀<sup>1</sup>, 杨丽华<sup>1</sup>, 钟佑宏<sup>1</sup>, 王磊<sup>2</sup>, 王鹏<sup>1\*\*</sup>

(1. 云南省地方病防治所, 云南省自然疫源性疾病预防控制技术重点实验室, 云南大理 671000; 2. 大理大学公共卫生学院)

**【摘要】** 目的 阐明云南鹤庆野鼠鼠疫源地污水中分离的1株鼠疫噬菌体的表型及基因组特征, 为进一步探究该疫源地鼠疫微生态学提供更多依据。方法 以鼠疫疫苗株 EV76 为宿主菌, 自污水中分离纯化噬菌体, 观察其电镜下的形态、噬菌谱、最适 pH 及温度稳定性、最佳感染复数、一步生长曲线等生物学特性以及基因组特性。结果 从采集的 20 份污水中分离得到 1 株鼠疫噬菌体, 命名为 DMC18。该噬菌体具有二十面体头部和短小的尾部, 头部直径 (40±2) nm, 尾部长 (20.5±1.0) nm, 属短尾噬菌体科。DMC18 除可裂解鼠疫菌外, 37 °C 下还可裂解假结核耶尔森菌 I、II、V、VI 型; pH2~13 及温度 4~37 °C 对其活性无明显影响, 最佳感染复数为 0.1; 一步生长曲线显示其潜伏期为 40 min, 暴发期为 30 min; 其基因组全长为 39 048 bp, G+C 含量为 47.1%, 编码 47 种蛋白, 不编码 tRNA 基因, 未发现抗生素抗性基因和毒力基因。遗传进化分析显示 DMC18 与 YePe2 位于同一分支, 相似度为 99.15%。结论 从云南鹤庆野鼠鼠疫源地污水中分离到 1 株鼠疫烈性噬菌体, 属 T7 噬菌体家族, 该株鼠疫噬菌体环境适应性较强, 值得进一步研究。

**【关键词】** 鼠疫; 鼠疫噬菌体; 生物学特性; 基因组; 污水

**【中图分类号】** R516.8

**【文献标识码】** A

**【文章编号】** 1673-5234(2023)06-0657-05

[Journal of Pathogen Biology. 2023 Jun;18(6):657-661.]

## Study on characteristics of a *Yersinia pestis* phage isolated from sewage of wild rodent plague focus

YANG Jiao<sup>1,2</sup>, WANG Zijian<sup>1,2</sup>, LIU Pan<sup>1</sup>, YANG Lihua<sup>1</sup>, ZHONG Youhong<sup>1</sup>, WANG Lei<sup>2</sup>, WANG Peng<sup>1</sup> (1. Yunnan Key Laboratory for Zoonosis Control and Prevention, Yunnan Institute for Endemic Disease Control and Prevention, Dali 671000, Yunnan, China; 2. School of Public Health, Dali University)

**【Abstract】** **Objective** To elucidate the phenotypic and genomic characteristics of a *Yersinia pestis* phage isolated from sewage in Heqing wild plague focus in Yunnan Province, and to provide more evidence for further exploring the microecology of plague in this focus. **Methods** Plague vaccine strain EV76 was used as the host bacteria, and phages were isolated and purified from sewage. The biological characteristics such as morphology, phage spectrum, optimal pH and temperature stability, optimal multiplicity of infection, one-step growth curve and genomic characteristics were observed. **Results** One strain of *Y. pestis* phage was isolated from 20 parts of sewage collected and named DMC18. The bacteriophage has an icosahedral head and a short tail with a head diameter of (40±2) nm and a tail length of (20.5±1.0) nm, belonging to the *Autographiviridae*. DMC18 can not only lyse *Y. pestis*, but also lyse *Y. pseudotuberculosis* type I, II, V and VI at 37 °C. The pH 2-13 and temperature 4-37 °C had no significant effect on its activity, and the optimum multiplicity of infection was 0.1. The one-step growth curve showed that the incubation period was 40 min and the outbreak period was 30 min. Its genome was 39 048 bp, the G+C content was 47.1%, it encoded 47 proteins, did not encode tRNA genes, and found no antibiotic resistance genes and virulence genes. Genetic evolutionary analysis showed that DMC18 and YePe2 were located in the same branch with 99.15% similarity. **Conclusion** A strain of *Y. pestis* virulent phage was isolated from the sewage of the plague foci in Heqing, Yunnan Province, which belongs to the T7 phage family. The *Y. pestis* phage has strong environmental adaptability and is worthy of further study.

**【Key words】** *Yersinia pestis*; bacteriophage; biological characteristics; genome; sewage

\*\*\*鼠疫是由鼠疫耶尔森菌引起的一种自然疫源性疾病, 在历史上曾发生 3 次大流行, 造成数百万人死亡。进入 21 世纪, 全球每年有 2 000~4 000 例人鼠疫病例, 而且这一数字还在增加<sup>[1]</sup>。WHO 将鼠疫归为一种重新出现的传染病, 鼠疫仍然是一个严重的公共卫生问题<sup>[2-3]</sup>。鼠疫作为一种自然疫源性疾病, 实质是

\* **【基金项目】** 国家自然科学基金项目 (No. 31660043, 32260039); 云南省高层次卫生健康技术人才培养专项经费项目 (No. L-2019001, H-2019003)。

\*\* **【通讯作者】** 王鹏, E-mail: wp030801@126.com

**【作者简介】** 杨娇 (1998-), 女, 云南大理人, 硕士研究生, 主要从事鼠疫病原学和鼠疫噬菌体的相关研究。  
E-mail: 2572656607@qq.com

一种生态学现象,鼠疫微生态是鼠疫生态中的重要组成部分,而鼠疫噬菌体在鼠疫微生态中又扮演十分重要的角色,研究鼠疫噬菌体对探究鼠疫微生态,进而探究鼠疫生态具有十分重要的意义<sup>[4]</sup>。

噬菌体是地球上最丰富的生物,可以与很多细菌宿主相互作用。噬菌体最早由 Twort 于 1915 年、Felix d'Herelle 于 1917 年独立发现<sup>[5]</sup>。噬菌体被广泛发现于土壤、海洋、动物肠道等充满细菌群落的地方<sup>[6]</sup>。目前,鼠疫噬菌体分离来源主要是动物肠道,包括主要宿主动物(鼠类、旱獭等)、次要宿主动物(松鼠等)、指示动物(犬、猫等)。从土壤、污水中分离出鼠疫噬菌体的报道甚少,尤其是从野鼠鼠疫源地的污水中分离的报道微乎其微。本研究从鹤庆野鼠鼠疫源地的污水中分离鼠疫噬菌体,并进行生物学及基因组学特性观察,旨在阐明该鼠疫噬菌体的表型及基因组特征,为进一步探究该疫源地鼠疫微生态学提供更多依据。

## 材料与方法

### 1 宿主菌及裂解实验菌株

本研究涉及到的宿主包括用于分离鼠疫噬菌体的宿主菌 EV76(1 株)以及用于裂解谱研究的 54 株菌株,其中包括 15 株鼠疫耶尔森菌(野鼠鼠疫疫源地 2 株: HQ21、HQ161; 家鼠鼠疫疫源地 13 株: 2552、1751、1677、2036、2167、2237、2210、2054、2468、1318、2037、1672、1595)、6 株假结核耶尔森菌、2 株小肠结肠炎耶尔森菌、志贺菌属 12 株、4 株大肠埃希菌、6 株粘质沙雷菌、2 株金黄色葡萄球菌以及阴沟肠杆菌、伤口埃希菌、表皮葡萄球菌、鲍曼不动杆菌、伤寒伤门菌、肺炎克雷伯菌、铜绿假单胞菌 16 号、乡间布丘菌各 1 株。以上菌株均由云南省地方病防治所中心保存。

### 2 方法

**2.1 污水采集及处理** 采集自云南省鹤庆县大马厂的 20 份污水样品各 500 mL,用纱布过滤其中的杂质后置于 4 °C 冰箱中待检。

**2.2 噬菌体的分离纯化** 取 10 mL 污水加入 500 μL 宿主菌 EV76、5 mL SM 液(NaCl、MgSO<sub>4</sub> · 7H<sub>2</sub>O、1 mol/L Tris(Cl、2%明胶)、10 mL LB 液体培养基,置于 28 °C、220 r/min 气域振荡培养箱中培养 18 h。然后用带有 0.22 μm 滤膜的注射器过滤培养物,采用双层琼脂平板法观察是否出现噬菌斑,若出现噬菌斑则挑取边缘规则、清晰、透亮的噬菌斑进行单斑增殖纯化,重复纯化 5 次后将滤液置于 4 °C 冰箱中备用。

**2.3 电镜观察噬菌体形态** 参考袁月等<sup>[7]</sup>的方法进行噬菌体的富集。富集的噬菌体液经 2% 的磷钨酸(PTA)染色后在日立 HT7700 透射电镜下观察其形

态。

**2.4 裂解谱分析** 采用点滴法对 54 株受试菌株进行裂解谱试验,分别置于 21、28、37 °C 培养箱中观察结果。

**2.5 噬菌体对 pH、温度的稳定性测定** 参考赵丹妮等<sup>[8]</sup>方法测定噬菌体温度稳定性及不同 pH 条件下噬菌体的酸碱稳定性,以温度、pH 值为横坐标,以噬菌体的效价为纵坐标分别作图。

**2.6 最佳感染复数(multiplicity of infection, MOI)及一步生长曲线测定** 参考文献<sup>[7-9]</sup>方法进行。调整噬菌体效价,将 MOI 为 0.0001、0.001、0.01、0.1、1、10 的噬菌体与宿主菌混合培养 8 h,测定效价。以 MOI=0.1 的比例在菌液中加入噬菌体,吸附 10~15 min 后离心,取沉淀,清洗 3~4 次后重悬至 20 mL LB 液体培养基中充分混匀,进行 0 时刻取样,迅速置于 28 °C 摇床中振荡培养。0~110 min 内每 10 min 取一次样,测定噬菌体效价。

**2.7 噬菌体基因组的比较与分析** 采用 λ 噬菌体 DNA 提取试剂盒(购于北京艾比根生物技术有限公司)的步骤提取鼠疫噬菌体 DNA,委托六合华大基因有限公司采用 Illumina HiSeq 进行全基因组测序,全基因组序列用 RAST2.0 进行基因功能预测。对预测的基因通过 NCBI BlastP 进行手动验证,然后使用 CLC Genomics Workbench 24.0.2 绘制基因功能注释图,用 MEGA11 构建系统发育树。

## 结果

### 1 噬菌体的分离与鉴定

从鹤庆县大马厂污水中分离到 1 株鼠疫噬菌体,命名为 DMC18。该噬菌体经过多次增殖纯化后,双层琼脂平板上可见大小均一、清晰透亮的噬菌斑(图 1A)。透射电子显微镜观察 DMC18 呈现蝌蚪型(图 1B),头部长(54±2)nm,宽(40±2)nm,尾部长(20.5±1)nm。根据国际病毒分类委员会标准<sup>[10]</sup>,DMC18 符合自复制短尾噬菌体科的特征。

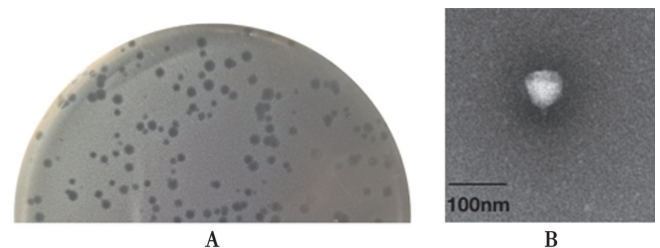


图 1 DMC18 在双层琼脂平板上形成的噬斑(A)及透射电镜下的形态(B)

Fig. 1 Phage spots formed by DMC18 on double-layer agar plates (A) and morphology under transmission electron microscopy (B)

### 2 DMC18 裂解谱

测定 DMC18 对 54 株受试菌株的裂解情况,结果如图 2。受试的来自野鼠鼠疫源地鼠疫耶尔森菌(以图 2 中编号为 HQ21 为例)、家鼠鼠疫源地鼠疫耶尔森菌(以图 2 中编号为 2552 为例)共 15 株菌株均能在 21、28、37 °C 条件下被 DMC18 裂解;受试的 6 株假结核耶尔森菌其中假结核耶尔森菌 V 型在 28 °C 被裂解,假结核耶尔森菌 V 型、VI 型在 37 °C 被裂解,假结核耶尔森菌 I、II 型在 37 °C 被裂解,但裂解能力较弱,噬菌斑较模糊。其他受试菌株均不能被 DMC18 裂解。表明 DMC18 除了能特异性裂解受试的鼠疫耶尔森菌外,还能裂解受试的部分假结核耶尔森菌,显示该噬菌体具有一定的裂解宽度,但对部分耶尔森菌属菌株特异性较强。

温度 (°C)	耶尔森菌属						志贺菌属										大肠杆菌							
	鼠疫耶尔森菌		假结核耶尔森菌				小肠结肠炎耶尔森菌		福氏志贺				痢疾志贺菌		宋内志贺菌									
	EY76	HQ21	2552	I	II	III	IV	V	VI	52202	52301	1a	2a	3a	4a	IV	X	I	II	I	II	e号	55218	
21°C	深绿	深绿	深绿	浅绿	浅绿	浅绿	浅绿	浅绿	浅绿	浅黄	浅黄	浅黄	浅黄	浅黄	浅黄	浅黄	浅黄	浅黄	浅黄	浅黄	浅黄	浅黄	浅黄	浅黄
28°C	深绿	深绿	深绿	浅绿	浅绿	浅绿	浅绿	浅绿	浅绿	浅黄	浅黄	浅黄	浅黄	浅黄	浅黄	浅黄	浅黄	浅黄	浅黄	浅黄	浅黄	浅黄	浅黄	浅黄
37°C	深绿	深绿	深绿	浅绿	浅绿	浅绿	浅绿	浅绿	浅绿	浅黄	浅黄	浅黄	浅黄	浅黄	浅黄	浅黄	浅黄	浅黄	浅黄	浅黄	浅黄	浅黄	浅黄	浅黄

注:深绿为 DMC18 完全裂解受试菌株; 浅绿为 DMC18 能裂解的受试菌株,但裂解能力较弱; 浅黄为 DMC18 不能裂解的受试菌株。

图 2 DMC18 对部分受试菌的裂解能力

Notes:Darke green DMC18 complete lysis of the tested strains; Light green Test strains that DMC18 could lyse,but the lysis ability was weak; Light yellow DMC18 cannot be lysed by the test strains

Fig. 2 The lytic ability of Yersinia phage DMC18 to the some tested bacteria

### 3 DMC18 的生物学特性

测定 DMC18 的生物学特性,结果如图 3A-D。当 pH 值为 2~13 之间时,DMC18 的效价保持相对稳定;pH<2 或 pH>13 时,DMC18 失去存活能力。表明该株噬菌体具有一定的耐酸耐碱能力。温度在 4~37 °C 时,DMC18 的效价保持相对稳定;温度>37 °C 时,DMC18 的存活能力逐渐降低,直至 70 °C 时完全失去存活能力。当噬菌体与细菌以 1:10 的比例混合时效价最高,即 DMC18 的 MOI 为 0.1。一步生长曲线显示 DMC18 的效价在 40 min 内波动较小,即潜伏期为 40 min;40~70 min 效价呈急速上升的趋势,70 min 后趋于稳定,即暴发期为 30 min。

### 4 DMC18 基因组分析

4.1 DMC18 基因组一般特征 全基因组测序显示,DMC18 的基因组为双链 DNA,基因组大小为 39 048 bp,G+C 含量为 47.1%,编码 47 种蛋白。在预测的 47 个开放阅读框(ORFs)中有 39 个 ORFs 与已知功能蛋白匹配,其余均为假定蛋白。

4.2 DMC18 的基因功能分类 DMC18 的基因功能预测分为 5 个模块:结构模块(Morphogenesis)、DNA 包装模块(DNA packaging)、裂解模块(Host Lysis)、核酸复制代谢模块(Nucleotide metabolism and replication)及一些未知功能的假定蛋白模块

(hypothetical protein)。结构模块主要包括尾部相关蛋白(Gp12、Gp11、Gp8、Gp7、Gp17)、衣壳蛋白(capsid、Gp10、Gp9)及一些组装蛋白,这些蛋白共同组成噬菌体的头部和尾部;DNA 包装模块主要包括末端酶大亚基和末端酶小亚基(terminase large subunit,terminase small subunit),主要与通道蛋白一起参与噬菌体 DNA 组装的过程;裂解模块主要存在一些噬菌体裂解宿主细菌的裂解蛋白,如穿孔素(Holin、Endolysin)即内溶素,是噬菌体编码的一类能水解细菌细胞壁的酶,主要在噬菌体感染细菌的后期发挥作用,帮助子代噬菌体释放到胞外<sup>[11]</sup>;核酸复制代谢与调节模块主要包括一些参与噬菌体与宿主细菌相互作用的酶(核酸内切酶 exonuclease 和 endonuclease 等,DNA 聚合酶,RNA 聚合酶如 DNA Polymerase 和 RNA polymerase 等)。通过抗生素耐药基因网站(The Comprehensive Antibiotic Resistance Database (mcmaster. ca)与毒力与抗毒力基因网站(VFDB: Virulence Factors of Bacterial Pathogens (mgc. ac. cn))对 DMC18 基因组中的毒力基因与抗生素耐药基因进行检测,未发现存在相关的抗生素耐药基因及毒力基因。在其基因组中未发现 tRNA 基因,说明 DMC18 的复制高度依赖宿主的翻译机制。也未发现编码整合酶的基因,表明 DMC18 是一株严格的裂解性鼠疫噬菌体。提示 DMC18 或许是噬菌体治疗的良好候选者。DMC18 基因功能预测注释如图 4。

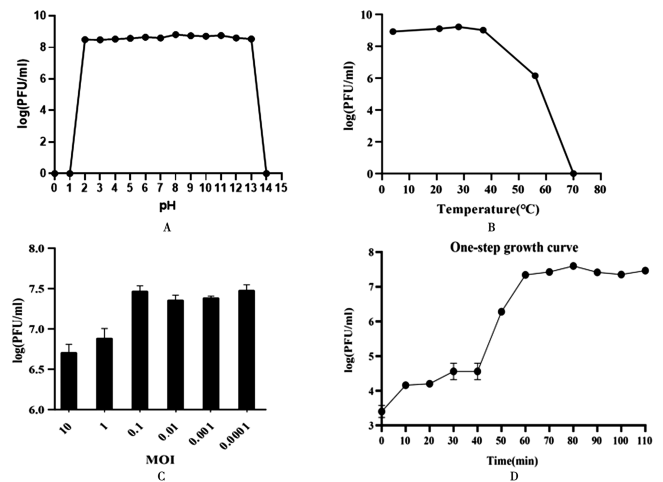


图 3 DMC18 的生物学特性

A pH stability B Temperature stability C optimal multiplicity of infection D One-step growth curve

Fig. 3 Biological characteristics of Yersinia phage DMC18

4.3 DMC18 系统发育树分析 选取鼠疫噬菌体 DMC18 的末端酶大亚基基因序列在 NCBI 上进行对比,与其他鼠疫噬菌体末端酶大亚基同源性较高的序

列利用 MEGA11 采用邻接法构建系统发育树,结果如图 5 所示。鼠疫噬菌体 DMC18 与鼠疫噬菌体 PYPS50、YpPT3、YePe2 在同一簇,且与 YePe2 在同一分支(NCBI 比对相似度为 99.15%),说明 DMC18 与 YePe2 的亲缘关系最近,这与在 NCBI 上的比对结果相近,而且 PYPS50、YpPT3、YePe2 三株噬菌体在分类上都属于自复制短尾噬菌体科,因此,鼠疫噬菌体 DMC18 在分类上应归为尾噬菌体目自复制短尾噬菌体科。

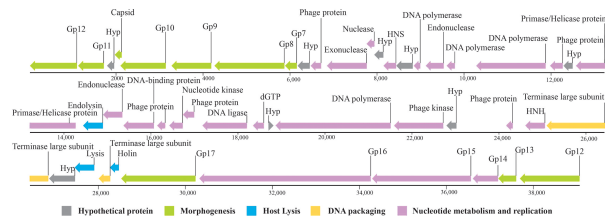


图 4 DMC18 的基因功能注释

Fig. 4 Gene function annotation of *Yersinia* phage DMC18

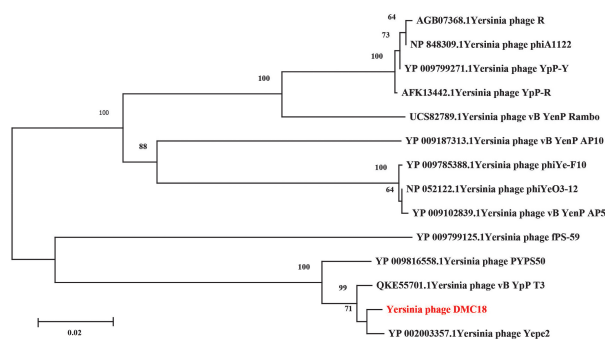


图 5 鼠疫噬菌体 DMC18 的系统发育树(依据末端酶大亚基构建)  
Fig. 5 Phylogenetic tree of *Yersinia* phage DMC18 (based on terminase large subunit)

### 讨论

鼠疫杆菌是鼠疫的病原体,该菌起源于 3 000 年前的肠病原 O:1b 的假结核耶尔森菌,通过失去许多基因和水平遗传获得<sup>[12]</sup>。据正式文字记载,鹤庆县在 1773-1956 年曾有多次鼠疫流行<sup>[13]</sup>,其后呈现出散发的状态。本研究从鹤庆野鼠疫源地的污水中分离到 1 株鼠疫噬菌体,命名为 DMC18。鼠疫噬菌体作为特异性裂解鼠疫菌的病毒,在鼠疫流行与静息过程中应该发挥重要作用。

观察 DMC18 的生物学特性,其在温度为 4、21、28、37 °C 时均能保持良好的稳定性。4 °C 为噬菌体常用的保存温度之一,21 °C 为鼠蚤最适温度,28 °C 为鼠疫菌生长的最适温度,37 °C 为宿主动物的体温。说明 DMC18 在该疫源地可稳定存在。另外该噬菌体对 pH 也表现出较强的耐受性,在 pH 值为 2~13 时活性稳定,表明其适应环境能力较强。裂解谱分析显示,DMC18 在 21、28、37 °C 对鼠疫耶尔森菌有较强的裂解

能力,表明该株噬菌体为鼠疫烈性噬菌体<sup>[14]</sup>。另外,DMC18 在不同的温度下对假结核耶尔森菌具有不同的裂解能力,推测该株噬菌体在不同温度下对耶尔森菌属细菌可能存在不同的作用机制。噬菌体宿主范围的分子机制是复杂的,并且涉及噬菌体生命周期的每个阶段,有待进一步研究<sup>[15-16]</sup>。

DMC18 的基因组共有 47 个 ORF,该噬菌体除了具有大部分噬菌体都有的衣壳蛋白、尾部相关蛋白等结构蛋白外,还具有许多与核酸复制代谢的相关蛋白,如核酸内切酶(exonuclease)和 HNH 归巢内切酶(HNH homing endonuclease)等。内切酶主要作用是破坏宿主 DNA,这些内切酶的存在很可能作为攻击宿主菌的“武器”。RNA 聚合酶(RNA polymerase)的存在意味着 DMC18 依赖其自身的 RNA 聚合酶而非宿主的 RNA 聚合酶进行转录<sup>[16]</sup>。在裂解模块中存在噬菌体裂解宿主菌的两个关键基因,即 Holin(穿孔素)和 Endolysin(内溶素)。穿孔素可在细菌内膜上形成一个孔使内溶素进入,当噬菌体与宿主菌结合时,位于底板的内溶素就可以通过这个孔进入宿主菌引起宿主菌裂解<sup>[9,17]</sup>。依据 DMC18 基因组中的末端酶大亚基构建的系统发育树显示,DMC18 与 YePe2 在同一分支,为 T7 类噬菌体。YePe2 是 1929 年 Pokrovskaya 从金花鼠感染组织中分离的一株烈性鼠疫噬菌体,被认为是特异性较高的鼠疫噬菌体,可裂解 98%~100% 的鼠疫菌及 19%~27% 假结核耶尔森菌<sup>[18]</sup>。DMC18 的噬菌谱与其相符合。结合基因组比对分析,DMC18 属于尾噬菌体目,自复制短尾噬菌体科。从目前云南省分离到的鼠疫噬菌体来看,基本都是属于肌尾噬菌体科<sup>[7,19]</sup>,自复制短尾噬菌体科的鼠疫噬菌体较少见。另外,DMC18 的基因组中未发现毒力基因和抗生素抗性基因,不存在 tRNA 与整合酶基因。

本研究成功分离出 DMC18,并观察了该噬菌体的生物特性,丰富了云南省鼠疫噬菌体库,为利用鼠疫噬菌体防控鼠疫提供了理论依据和技术支撑。此外,DMC18 是从野鼠疫源地的污水中分离到的,钟佑宏等<sup>[20]</sup>的研究指出,有鼠疫菌存在的地方很大可能会有鼠疫噬菌体的存在。因此认为从污水中分离到鼠疫噬菌体或许会对鼠疫菌的发现及鼠疫的监测提供良好的指示性作用,也为探索鼠疫菌在自然界的保存机制或鼠疫噬菌体与鼠疫菌相互作用机制提供了理论依据。

### 【参考文献】

[1] Butler T. Plague into the 21st Century[J]. Clin Infect Dis, 2009, 49(5):736-742.  
[2] Filippov AA, Sergueev KV, He Y, et al. Bacteriophage-resistant mutants in *Yersinia pestis*: identification of phage receptors and

- attenuation for mice[J]. PLoS One, 2011, 6(9): e25486.
- [3] Filippov AA, Sergueev KV, Nikolich MP. Can phage effectively treat multidrug-resistant plague? [J]. Bacteriophage, 2012, 2(3): 186-189.
- [4] Barbieri R, Signoli M, Cheve D, et al. *Yersinia pestis*: the natural history of plague [J]. Clin Microbiol Rev, 2020, 34(1): e00044-19.
- [5] Cisek AA, Dbrowska I, Gregorczyk KP, et al. Phage therapy in bacterial infections treatment: One hundred years after the discovery of Bacteriophages [J]. Curr Microbiol. 2017, 74(2): 277-283.
- [6] Abdelsattar A, Dawoud A, Makky S, et al. Bacteriophages: from Isolation to Application [J]. Curr Pharm Biotechnol, 2022, 23(3): 337-360.
- [7] 袁月. 一株分离自剑川鼠疫疫源地中鼠噬菌体生物学及基因组学特性的研究[D]. 昆明医科大学, 2020.
- [8] 赵丹妮. 三株分离自云南松鼠中的鼠噬菌体生物学特性及基因组学研究[D]. 大理大学, 2021.
- [9] 张志宏, 杨娇, 王鹏, 等. 一株金黄色葡萄球菌噬菌体的裂解谱特异性及分子分类研究[J]. 微生物学报, 2021, 61(7): 2043-2052.
- [9] Prevelige PE Jr, Cortines JR. Phage assembly and the special role of the portal protein [J]. Curr Opin Virol, 2018(31): 66-73.
- [10] 陈躬浩, 付汉清, 童桂香, 等. 一株新型溶藻弧菌噬菌体  $\phi$ V039C 的生物学特性和全基因组分析 [J]. 集美大学学报(自然科学版), 2021, 26(5): 398-407.
- [11] Liang J, Qin S, Duan R, et al. A lytic *Yersinia pestis* bacteriophage obtained from the bone marrow of *Marmota himalayana* in a plague-focus area in China [J]. Front Cell Infect Microbiol, 2021(11): 700322.
- [12] Walch P, Selkirk J, Knodler LA, et al. Global mapping of *Salmonella* enterica-host protein-protein interactions during infection [J]. Cell Host Microbe, 2021(29): 1316-1332. e12.
- [13] Correia SS, Bischler T, Westermann AJ, et al. MAPS integrates regulation of actin-targeting effector SteC into the virulence control network of *Salmonella* small RNA PinT [J]. Cell Rep, 2021(34): 108722.
- [14] 杨银龙, 岳盈盈, 宋楠楠, 等. 鼠伤寒沙门菌 AvrA 蛋白的原核表达及纯化 [J]. 中国病原生物学杂志, 2018, 13(12): 1305-1309.
- [15] Kinoshita E, Kinoshita-Kikuta E, Koike T. History of Phos-tag technology for phosphoproteomics [J]. J Proteomics, 2022(252): 104432.
- [16] Nagy Z, Comer S, Smolenski A. Analysis of protein phosphorylation using Phos-Tag Gels [J]. Curr Protoc Protein Sci, 2018(93): e64.
- [17] 李阳, 李玉红. Phos-tag 技术在磷酸化蛋白质组学中的应用 [J]. 生命的化学, 2010, 30(1): 145-148.
- [18] Markandran K, Xuan JVLE, Yu H, et al. Mn<sup>2+</sup>-Phos-Tag polyacrylamide for the quantification of protein phosphorylation levels [J]. Curr Protoc, 2021(1): e221.
- [19] 高昆. 大肠杆菌蛋白激酶 YihE 的作用靶标及参与的细胞途径 [D]. 云南大学, 2020.
- [12] 叶玲玲. 鹤庆野鼠鼠疫疫源地犬中噬菌体的分离鉴定、生物学特性及基因组研究 [D]. 大理大学, 2020.
- [13] Xiang Y, Li W, Song F, et al. Biological characteristics and whole-genome analysis of the *Enterococcus faecalis* phage PEf771 [J]. Can J Microbiol, 2020, 66(9): 505-520.
- [14] Xu J, Zhang R, Yu X, et al. Molecular characteristics of novel phage vB<sub>ShiP</sub>-A7 infecting multidrug-resistant *Shigella flexneri* and *Escherichia coli*, and its bactericidal effect *in vitro* and *in vivo* [J]. Front Microbiol, 2021(12): 698962.
- [15] Pan L, Li D, Sun Z, et al. First characterization of a hafia phage reveals extraordinarily large burst size and unusual plaque polymorphism [J]. Front Microbiol, 2022(12): 754331.
- [16] Roy A, Bhardwaj A, Datta P, et al. Small terminase couples viral DNA binding to genome-packaging ATPase activity [J]. Structure, 2012, 20(8): 1403-1413.
- [17] Filippov AA, Sergueev KV, He Y, et al. Bacteriophages capable of lysing *Yersinia pestis* and *Yersinia pseudotuberculosis*: efficiency of plating tests and identification of receptors in *Escherichia coli* K-12 [J]. Adv Exp Med Biol, 2012, 95(4): 123-134.
- [18] 王波. 鹤庆野鼠鼠疫疫源地鼠噬菌体的分离、生物学特性及基因组研究 [D]. 昆明医科大学, 2019.
- [19] 钟佑宏, 苏超, 吴鹤松, 等. 云南家鼠鼠疫疫源地指示动物中鼠噬菌体分离及其流行病学意义 [J]. 中华地方病学杂志, 2019(11): 861-867.
- [20] 钟佑宏, 赵丹妮, 段存娟, 等. 一株分离自丽江野鼠鼠疫疫源地鼠噬菌体裂解特性的研究 [J]. 中国病原生物学杂志, 2018, 13(08): 839-842.
- 【收稿日期】 2022-12-20 【修回日期】 2023-03-11
- 
- (上接 656 页)
- [12] Walch P, Selkirk J, Knodler LA, et al. Global mapping of *Salmonella* enterica-host protein-protein interactions during infection [J]. Cell Host Microbe, 2021(29): 1316-1332. e12.
- [13] Correia SS, Bischler T, Westermann AJ, et al. MAPS integrates regulation of actin-targeting effector SteC into the virulence control network of *Salmonella* small RNA PinT [J]. Cell Rep, 2021(34): 108722.
- [14] 杨银龙, 岳盈盈, 宋楠楠, 等. 鼠伤寒沙门菌 AvrA 蛋白的原核表达及纯化 [J]. 中国病原生物学杂志, 2018, 13(12): 1305-1309.
- [15] Kinoshita E, Kinoshita-Kikuta E, Koike T. History of Phos-tag technology for phosphoproteomics [J]. J Proteomics, 2022(252): 104432.
- [16] Nagy Z, Comer S, Smolenski A. Analysis of protein phosphorylation using Phos-Tag Gels [J]. Curr Protoc Protein Sci, 2018(93): e64.
- [17] 李阳, 李玉红. Phos-tag 技术在磷酸化蛋白质组学中的应用 [J]. 生命的化学, 2010, 30(1): 145-148.
- [18] Markandran K, Xuan JVLE, Yu H, et al. Mn<sup>2+</sup>-Phos-Tag polyacrylamide for the quantification of protein phosphorylation levels [J]. Curr Protoc, 2021(1): e221.
- [19] 高昆. 大肠杆菌蛋白激酶 YihE 的作用靶标及参与的细胞途径 [D]. 云南大学, 2020.
- [20] Kubori T, Matsushima Y, Nakamura D, et al. Supramolecular structure of the *Salmonella* typhimurium type III protein secretion system [J]. Science, 1998; 280(5363): 602-605
- [21] Gal n JE, Lara-Tejero M, Marlovits TC, et al. Bacterial type III secretion systems: specialized nanomachines for protein delivery into target cells [J]. Annu Rev Microbiol, 2014(68): 415-438.
- [22] Jennings E, Thurston TLM, Holden DW. *Salmonella* SPI-2 Type III secretion system effectors: molecular mechanisms and physiological consequences [J]. Cell Host Microbe, 2017, 22(2): 217-231.
- [23] Zhang A, Pompeo F, Galinier A. Overview of protein phosphorylation in bacteria with a main focus on unusual protein kinases in *Bacillus subtilis* [J]. Res Microbiol. 2021, 172(7-8): 103871.
- [24] Buckner MM, Croxen MA, Arena ET, Finlay BB. A comprehensive study of the contribution of *Salmonella* enterica serovar *Typhimurium* SPI2 effectors to bacterial colonization, survival, and replication in typhoid fever, macrophage, and epithelial cell infection models [J]. Virulence, 2011; 2(3): 208-216.
- 【收稿日期】 2022-12-11 【修回日期】 2023-03-01