

# 一种新的 F 型嗜麦芽菌素的特征分析及其基因簇的确定

周 为, 刘泽晖, 李鑫雨, 刘良易, 施柏璋, 吴 晗, 黄玉屏\*

(武汉大学 生命科学学院, 湖北 武汉 430072)

**摘要:** 嗜麦芽寡养单胞菌(*Stenotrophomonas maltophilia*)是一种条件致病菌,其拥有多重耐药性。细菌素是由细菌合成的具有杀菌功能的蛋白质或蛋白聚合物,其中类噬菌体尾部细菌素的形态与肌尾噬菌体或长尾噬菌体的尾部相似,分为 R 型和 F 型。嗜麦芽菌素 F1 是一种新的 F 型类噬菌体尾部细菌素,由嗜麦芽寡养单胞菌 c25 合成。电镜观察显示其形态类似长尾噬菌体的尾部,双层平板法检测其杀菌活性最高达到 64 000 AU/mL,能够裂解 64 株测试菌株中的 32 株。通过序列分析和基因敲除实验确定其基因簇由 18 个基因组成,这些基因的排列与 Lambda 噬菌体尾部结构基因的排列一致。这是首次分离到嗜麦芽寡养单胞菌合成的 F 型类噬菌体尾部细菌素,该细菌素有较强的杀菌能力和较广的杀菌谱,有望代替抗生素用于治疗嗜麦芽寡养单胞菌的感染。

**关键词:** 嗜麦芽寡养单胞菌;类噬菌体尾部细菌素;杀菌活性;基因组分析

**中图分类号:** Q933

**文献标志码:** A

**文章编号:** 2096-3491(2024)05-0437-08

## Characterization of a novel F-type maltocin and identification of its gene cluster

ZHOU Wei, LIU Zehui, LI Xinyu, LIU Liangyi, SHI Bozhang, WU Han, HUANG Yuping\*

(College of Life Sciences, Wuhan University, Wuhan 430072, Hubei, China)

**Abstract:** *Stenotrophomonas maltophilia* is an opportunistic pathogen, with multi-drug resistance. Bacteriocin is a kind of bactericidal protein or protein complex synthesized by bacteria, and the morphology of phage tail-like bacteriocin is similar to the phage tails of *Myoviridae* or *Siphoviridae* and can be divided into R-type and F-type. Maltocin F1 isolated in this study was detected as a new F-type phage tail-like bacteriocin synthesized by *S. maltophilia* c25. Transmission electron microscopy showed that its morphology was similar to the tail of *Siphoviridae*. The bactericidal activity of maltocin F1 was up to 64 000 AU/mL. Thirty-two strains of the 64 tested strains were sensitive to maltocin F1. Sequence analysis and gene knockout experiment predicted that the gene cluster of maltocin F1 was composed of 18 genes, the arrangement of which was consistent with that of the tail structural genes of phage lambda. This is the first time to isolate the F-type phage tail-like bacteriocin synthesized by *S. maltophilia*. Maltocin F1 has strong bactericidal ability and broad bactericidal spectrum, suggesting that it is a potent substitute of antibiotics in the treatment of *S. maltophilia* infections.

**Key words:** *Stenotrophomonas maltophilia*; phage tail-like bacteriocin; bactericidal activity; genomic analysis

## 0 引言

嗜麦芽寡养单胞菌(*Stenotrophomonas maltophilia*),又名嗜麦芽窄食单胞菌,是一种专性需氧的

非发酵型革兰氏阴性菌,因其拥有快速分解麦芽糖的能力而得名<sup>[1]</sup>。该菌分布非常广泛,包括水体、土壤和植物根际等自然环境<sup>[2]</sup>,动物和人类的皮肤、呼吸道、肠胃<sup>[3]</sup>,以及医院的呼吸装置、内窥镜等临床

收稿日期: 2024-03-12 修回日期: 2024-03-22 接受日期: 2024-04-16

作者简介: 周为(1998-),男,硕士生,主要从事嗜麦芽寡养单胞菌噬菌体相关研究。E-mail: 2021202040034@whu.edu.cn

\* 通讯联系人: 黄玉屏(1968-),女,博士,副教授,主要从事微生物遗传学研究。E-mail: yphuang@whu.edu.cn

基金项目: 国家科技基础资源调查专项(2021FY100900);国家大学生创新创业训练计划项目(202110486031)

引用格式: 周为,刘泽晖,李鑫雨,等. 一种新的 F 型嗜麦芽菌素的特征分析及其基因簇的确定[J]. 生物资源, 2024, 46(5): 437-444.

Zhou W, Liu Z H, Li X Y, et al. Characterization of a novel F-type maltocin and identification of its gene cluster [J]. Biotic Resources, 2024, 46(5): 437-444.

设备<sup>[4]</sup>。嗜麦芽寡养单胞菌是重要的条件致病菌,免疫力低下及危重症患者感染后死亡率较高<sup>[5]</sup>。该菌不仅天然多重耐药<sup>[6-8]</sup>,还能通过种内或种间的基因水平转移获得新的多重耐药性<sup>[9-12]</sup>,极大增加了嗜麦芽寡养单胞菌感染的临床治疗难度。目前,该菌已被世界卫生组织列为全球医院的主要耐药病原体之一<sup>[13]</sup>。

细菌素(bacteriocin)是一类由细菌合成的蛋白质或蛋白复合物,有高效、专一的杀菌能力,但对产生菌具有免疫原性,能使产生菌在种间竞争中处于优势<sup>[14]</sup>。根据细菌素组成的不同,可分为单基因编码的细菌素和多基因编码的细菌素,其中类噬菌体尾部细菌素(phage tail-like bacteriocin, PTLB)是典型的多基因编码的细菌素<sup>[15]</sup>。根据形态可将PTLB分为R型和F型两类。R型PTLB形态类似于肌尾噬菌体(*Myoviridae*)的尾部,可伸缩,结构包含尾管、尾鞘、基板和尾丝等,目前已报道的PTLB大多数为R型<sup>[16]</sup>;F型PTLB形态类似于长尾噬菌体(*Siphoviridae*)的尾部,柔软不可伸缩,结构上有尾管没有尾鞘<sup>[17]</sup>。PTLB在进化过程中与噬菌体有一定的亲缘关系<sup>[15]</sup>,大多数PTLB基因簇上能预测到典型的噬菌体裂解基因,PTLB释放到胞外依赖其自身的裂解系统。研究发现PTLB具有较高的杀菌效率<sup>[18]</sup>,这表明PTLB对于病原菌的防控有着良好的效果,在抗生素滥用的大背景下,PTLB成为了治疗多重耐药性病原菌感染的潜在手段<sup>[19,20]</sup>。

本研究分离到一种由嗜麦芽寡养单胞菌产生的F型PTLB,命名为嗜麦芽菌素F1(maltocin F1),测定了其基本理化特性和杀菌谱,并确定了其基因簇,为探索应对嗜麦芽寡养单胞菌多重耐药性的解决策略提供一定的参考。

## 1 材料与方 法

### 1.1 菌株来源和培养条件

本研究涉及的65株嗜麦芽寡养单胞菌菌株均由本实验室保存,其中嗜麦芽寡养单胞菌c25分离自临床唾液样本,是嗜麦芽菌素的产生菌株。嗜麦芽寡养单胞菌接种至LB液体培养基中,于30℃,200 rpm振荡培养<sup>[21]</sup>。

### 1.2 试剂和引物

胰蛋白胨、酵母提取物购于OXOID公司;氯化钠、EDTA购于国药集团化学试剂有限公司;琼脂粉、Tris、PEG8000购于BioFroxx公司;氨苄青霉素、氯霉素、丝裂霉素C购于北京索莱宝科技有限公司;蛋白酶K购于Thermo Fisher Scientific公司;质粒小提试剂盒购于天根生化科技有限公司;胶回收试剂盒购于OMEGA公司。本实验所用引物见表1。

### 1.3 嗜麦芽菌素的分离纯化

向对数期( $OD_{600\text{nm}} \approx 1.0$ )的嗜麦芽寡养单胞菌菌液中加入1‰( $m/V$ )的起始浓度为0.5 mg/mL的丝裂霉素C,于30℃,200 rpm振荡培养6 h。菌液

表 1 本实验所用引物  
Table 1 Primers used in this study

引物名称	引物序列(5'-3')	用途
TT-LA F	AGATCTTCAACATCACCGGCGTTGCGCC	扩增敲除 <i>gene0230</i> 的上游同源臂
TT-LA R	TGACCTGGAACATCAGGCTGCCATGGTGTATTTTCCT	
TT-RA F	AGGAAATACACCATGGCAGCCTGATGTTCCAGGTCA	扩增敲除 <i>gene0230</i> 的下游同源臂
TT-RA R	CTCGAGACGTTGTAATCCAGCCCCGATCG	
TT L	CTCGAGATGGCACTCAAGCTTCCC'	扩增 <i>gene0230</i> , 连入 pBTP3 构建回补载体
TT R	GGATCCTCAGGCGCCCTCGACCAG	
TT-C L	CAGCCGGTGGCAGAAGTGTG	检测 <i>gene0230</i> 是否敲除成功
TT-C R	CTCATTCCTGTTGCATCTGCTC	
HTC-LA F	AGATCTATGCCATCGAAGATGATC	扩增敲除 <i>gene0227</i> 的上游同源臂
HTC-LA R	CGTTTCATGGCGTTGCTGCGGTCAGCAGGGGCATCGA	
HTC-RA F	TCGATGCCCTGCTGACCGCAGCAACGCCATGAACG	扩增敲除 <i>gene0227</i> 的下游同源臂
HTC-RA R	CTCGAGTCGGGAATGGAACCTTCG	
HTC L	CTCGAGATGCCCTGCTGACCC	扩增 <i>gene0227</i> , 连入 pBTP3 构建回补载体
HTC R	AAGCTTTCATGGCGTTGCTGCC	
HTC-C L	GCCAGAAGCCCATGGTGAAG	检测 <i>gene0227</i> 是否敲除成功
HTC-C R	TGTTGCGGATCAGGGTGTG	

12 000 rpm 离心 10 min, 收集上清, 重复两次, 得到嗜麦芽菌素粗液<sup>[22]</sup>。取 50 mL 嗜麦芽菌素粗液, 使用 0.22  $\mu\text{m}$  滤膜过滤, 向滤液中加入 4% (m/V) 的 PEG8000 和 3% (m/V) 的 NaCl<sup>[23]</sup>, 充分混匀, 12 000 rpm 离心 30 min, 弃上清, 用 1 mL TE 缓冲液孵育沉淀 12 h, 12 000 rpm 离心 10 min 后的上清液为浓缩的细菌素, 通过氯化铯密度梯度离心<sup>[24]</sup>, 得到纯化的嗜麦芽菌素样品。

#### 1.4 电镜观察嗜麦芽菌素

取 1  $\mu\text{L}$  纯化的嗜麦芽菌素样品, 滴在铜网上, 用 2% 的醋酸双氧铀负染, 干燥后通过透射电镜观察嗜麦芽菌素形态<sup>[21]</sup>。

#### 1.5 嗜麦芽菌素的杀菌活性检测

采用双层平板法检测细菌素的杀菌活性<sup>[22]</sup>。首先, 取 50  $\mu\text{L}$  指示菌菌液和 4 mL 熔化的 LB 半固体培养基, 混匀, 倒在 LB 平板上, 制备双层平板; 然后, 将嗜麦芽菌素样品作 2 倍梯度稀释, 取 2  $\mu\text{L}$  稀释液滴加到平板表面, 置于 30  $^{\circ}\text{C}$  培养过夜, 观察有无抑菌圈, 并计算杀菌活性。

#### 1.6 同源重组基因敲除

使用自杀质粒 pDM4 构建敲除载体<sup>[25]</sup>。以嗜麦芽寡养单胞菌 c25 基因组 DNA 为模板, 用 TT-LA F/R 和 TT-RA F/R 引物, 通过 PCR 分别扩增上下游同源臂, 并通过重叠 PCR 将上、下游同源臂连接到一起<sup>[22]</sup>, 再将整个同源臂插入 pDM4, 构建敲除 *gene0230* 的载体 pDM4-TT; 用 HTC-LA F/R 和 HTC-RA F/R 引物, 采取相同方法构建敲除 *gene0227* 的载体 pDM4-HTC。通过接合法<sup>[26]</sup>, 将敲除载体转入嗜麦芽寡养单胞菌 c25, 多次传代培养后, 用蔗糖培养基筛选获得目的基因缺失的菌株, 后通过 PCR 反应和测序验证目的基因是否敲除成功。

#### 1.7 基因回补

使用质粒 pBTP3 构建回补载体<sup>[21]</sup>。以嗜麦芽寡养单胞菌 c25 基因组 DNA 为模板, 用 TT F/R 引物和 HTC F/R 引物, PCR 扩增目的基因 *gene0230* 和 *gene0227*, 并将其分别插入质粒 pBTP3 的 P3 启动子之后, 通过接合法<sup>[26]</sup> 将回补载体分别转入嗜麦芽寡养单胞菌 c25 缺失菌株内。

## 2 结果与分析

### 2.1 嗜麦芽菌素的形态观察

在透射电子显微镜下观察纯化嗜麦芽菌素的形态(图 1)。嗜麦芽菌素形状类似于长尾噬菌体的尾部, 长约 120 nm, 宽约 7.5 nm, 属于 F 型 PTLB, 将其

命名为嗜麦芽菌素 F1。

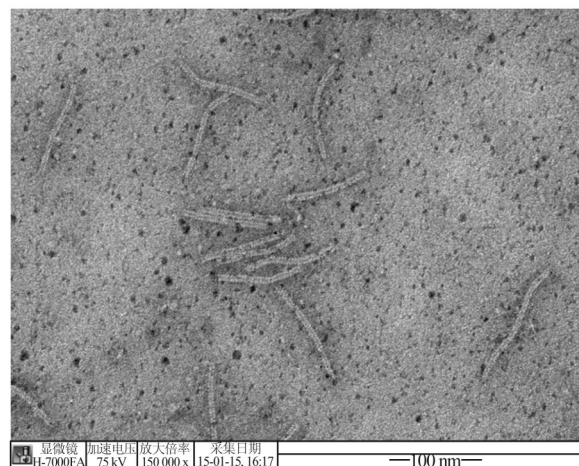


图 1 嗜麦芽菌素 F1 在透射电子显微镜下的形态

Fig. 1 Morphology of maltocin F1 under transmission electron microscopy

### 2.2 嗜麦芽菌素 F1 的杀菌谱

双层平板法检测发现嗜麦芽菌素 F1 对供试的 64 株嗜麦芽寡养单胞菌的 32 株能够形成抑菌圈, 其中对 20 株菌的抑菌圈是透明的, 对 12 株菌的抑菌圈是不透明的(图 2)。以这 32 株嗜麦芽寡养单胞菌作为指示菌, 检测嗜麦芽菌素 F1 的杀菌活性(表 2)。结果表明, 嗜麦芽菌素 F1 对其中 6 株菌杀菌活性最高, 达到 64 000 AU/mL。后面的实验选择从土壤样品中分离到的嗜麦芽寡养单胞菌 25 作为嗜麦芽菌素 F1 的指示菌。

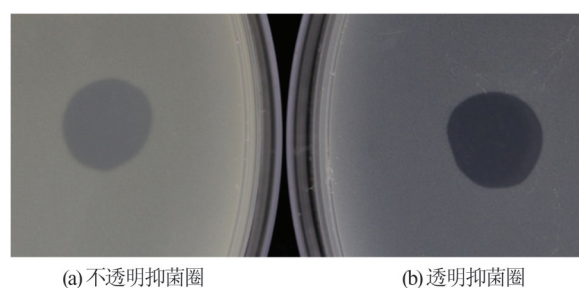


图 2 嗜麦芽菌素 F1 点样在指示菌平板上形成不同透明度的抑菌圈

Fig. 2 Maltocin F1 spot samples form plaques of different transparency on indicator plates

### 2.3 嗜麦芽菌素 F1 的敏感性

将嗜麦芽菌素 F1 在不同温度下水浴 10 min, 迅速冰浴冷却, 用双层平板法检测其杀菌活性(表 3)。结果表明, 温度在 30~60  $^{\circ}\text{C}$  时, 嗜麦芽菌素 F1 能够维持较高的杀菌活性; 温度高于 60  $^{\circ}\text{C}$  时活性迅速降低, 65  $^{\circ}\text{C}$  已完全失活。

表 2 嗜麦芽菌素 F1 对不同嗜麦芽寡养单胞菌菌株的杀菌活性

Table 2 Bactericidal activity of maltocin F1 against *Stenotrophomonas maltophilia* strains

菌株编号	杀菌活性/(AU·mL <sup>-1</sup> )
c20	1 000
B, c9, c10	2 000
R, 18, 20, c13, c14	4 000
H, 19, c4	8 000
L, O, 5, 9, 10, 14, 17	16 000
1, 11, 12, 15, 21, c5, c8	32 000
N, 22, 25, 28, 31, c18	64 000

表 3 嗜麦芽菌素 F1 的温度敏感性

Table 3 Temperature sensitivity of maltocin F1

温度/°C	杀菌活性/(AU·mL <sup>-1</sup> )
30	64 000
35	64 000
40	64 000
45	64 000
50	64 000
55	32 000
60	16 000
65	0

嗜麦芽菌素 F1 悬液中加入终浓度为 100 μg/

mL 的蛋白酶 K, 50 °C 水浴 20 min 后, 双层平板法未检测到抑菌活性, 说明嗜麦芽菌素 F1 的主要成分是蛋白质。

2.4 嗜麦芽菌素 F1 的基因簇定位和分析

实验室前期已经完成了嗜麦芽寡养单胞菌 c25 的全基因组测序 (GenBank No. CP129112), 序列分析发现 c25 菌的基因组上有两个预测的前噬菌体区域, 其中一个区域与该菌产生的短尾噬菌体序列完全一致, 说明 c25 菌含有一个溶原噬菌体; 另一个区域全长 16 465 bp, GC 含量为 65%, 包含从 *gene0227* 到 *gene0244* 共 18 个预测的基因。以 *gene0227* 的起始密码子 ATG 的 A 为起始, 对各个预测基因编码的蛋白 BLASTp 分析比较结果见表 4。BLASTp 对比发现 10 个基因预测到编码功能蛋白, 这些基因的排列与 Lambda 噬菌体尾部结构基因的排列一致。其中, *gene0230* 编码的蛋白含有噬菌体尾管蛋白特有的保守结构域 Phage\_tail\_3, 尾管蛋白是噬菌体尾部的主要结构蛋白<sup>[27]</sup>。同时, 在 *gene0227* 的上游和 *gene0244* 的下游均没有检测到与噬菌体头部结构和组装相关的基因。因此, 推测 *gene0227* 到 *gene0244* 区域是合成嗜麦芽菌素 F1 的基因簇。

为进一步确定该区域为嗜麦芽菌素 F1 的基因簇, 通过同源重组基因敲除法, 缺失了 c25 菌株的 *gene0230*。分别以嗜麦芽寡养单胞菌 c25 和缺失菌株作为模板, 用 TT-C L/R 引物进行 PCR 检测, c25

表 4 嗜麦芽菌素 F1 序列分析

Table 4 Gene sequence analysis of maltocin F1

基因	位置(5'-3')	大小	预测功能	噬菌体名称	GenBank No.	覆盖度/%	相似度/%	E 值
0227	1-513	170	噬菌体头尾连接蛋白	Yong-L1-251	UPT53223.1	95	27.27	9×10 <sup>-8</sup>
0228	510-860	116	噬菌体头尾接头蛋白	Silvanus	QYW02482.1	96	30.09	4×10 <sup>-9</sup>
0229	884-1 240	118	假定蛋白	L522	WBK39709.1	97	31.90	6×10 <sup>-16</sup>
0230	1 312-1 971	219	噬菌体尾管蛋白	BUCT603	QVW29540.1	100	54.91	8×10 <sup>-81</sup>
0231	1 971-2 279	102	噬菌体尾部装配分子伴侣	Silvanus	QYW02486.1	100	30.84	9×10 <sup>-9</sup>
0232	2 330-2 587	85	假定蛋白	Fayden	WCD55528.1	83	45.07	1×10 <sup>-15</sup>
0233	2 699-4 027	442	噬菌体尾部卷尺蛋白	PSTRCR 117lys	QQK88358.1	46	39.25	1×10 <sup>-39</sup>
0234	4 024-4 353	109	噬菌体尾部蛋白 M	Kintu	WWA79509.1	100	51.82	8×10 <sup>-37</sup>
0235	4 362-5 528	388	假定蛋白	RP13	BCG50056.1	68	35.42	1×10 <sup>-37</sup>
0236	5 646-6 797	383	假定蛋白	BUCT608	QXN67284.1	84	35.09	3×10 <sup>-35</sup>
0237	6 829-7 950	373	假定蛋白	RP13	BCG50056.1	75	34.72	1×10 <sup>-41</sup>
0238	7 952-8 404	150	假定蛋白	vB mSmaM Bhz51	WVW77080.1	94	47.50	4×10 <sup>-42</sup>
0239	8 417-9 556	379	假定蛋白	BUCT608	QXN67284.1	69	39.85	8×10 <sup>-54</sup>
0240	9 597-10 733	378	假定蛋白	RP13	BCG50056.1	70	37.76	2×10 <sup>-46</sup>
0241	10 886-11 581	231	噬菌体尾部蛋白 L	CUB19	UWJ04741.1	99	67.39	1×10 <sup>-121</sup>
0242	11 645-12 385	246	肽酶	BUCTxx99	WPH68488.1	99	52.65	1×10 <sup>-89</sup>
0243	12 378-12 980	200	噬菌体尾部蛋白 I	ZQG1	WID42047.1	99	54.77	1×10 <sup>-73</sup>
0244	12 977-16 465	1 162	噬菌体尾丝蛋白	Kintu	UWJ04746.1	97	56.93	0.0

菌的PCR条带应为1992 bp,缺失菌株的PCR条带大小应为1344 bp,电泳结果与预期相符,将缺失菌株命名为c25ΔTT,见图3(a)。对c25菌和c25ΔTT菌进行丝裂霉素(MMC)诱导,取离心后的上清液滴加在双层平板上,c25菌的样品出现抑菌圈而c25ΔTT菌的样品无抑菌圈,见图3(b)。说明*gene0230*的缺失导致嗜麦芽菌素F1无法被合成。构建*gene0230*的回补载体pBTP3-TT,通过接合法转入c25ΔTT,回补菌株命名为c25ΔTT/*gene0230*。将c25ΔTT/*gene0230*的菌液进行MMC诱导,取离心后的上清液滴加在双层平板上,未检测到抑菌活性,见图3(b)。由于嗜麦芽菌素F1类似于Lambda噬菌体尾部,而尾管蛋白在Lambda噬菌体尾部组装过程中非常重要<sup>[27]</sup>,且尾管蛋白是尾部的主要结构蛋白,通过回补载体合成的尾管蛋白可能在空间位置上距离其他尾部蛋白很远,导致其无法完成尾部组装过程中的被招募和招募过程,敲除尾管基因后回补也无法恢复嗜麦芽菌素F1的合成。

紧接着缺失了c25菌株的*gene0227*。分别以嗜麦芽寡养单胞菌c25和缺失菌株的基因组DNA作

为模板,用HTC-C L/R引物进行PCR检测,c25菌的PCR条带应为1762 bp,缺失菌株的PCR条带大小应为1279 bp,电泳结果与预期相符,将缺失菌株命名为c25ΔHTC,见图3(c)。对c25菌和c25ΔHTC菌进行MMC诱导,取离心后的上清液滴加在双层平板上,发现c25ΔHTC菌的样品的抑菌活性对比c25菌的样品显著减弱,见图3(d),说明*gene0227*的缺失导致嗜麦芽菌素F1的功能出现异常。构建*gene0227*的回补载体pBTP3-HTC,通过接合法转入c25ΔHTC,回补菌株命名为c25ΔHTC/*gene0227*。将c25ΔHTC/*gene0227*的菌液进行MMC诱导,取离心后的上清液滴加在双层平板上,其抑菌活性恢复至正常水平,见图3(d)。

### 3 讨论

嗜麦芽寡养单胞菌是一种能够引起严重感染的条件致病菌,临床症状包括肺炎、菌血症、皮肤病和泌尿系统感染等<sup>[28-32]</sup>。嗜麦芽寡养单胞菌对大多数抗生素耐药,除去固有耐药性以外,还拥有强大的获得性耐药性<sup>[33-39]</sup>。因此,治疗嗜麦芽寡养单胞菌的

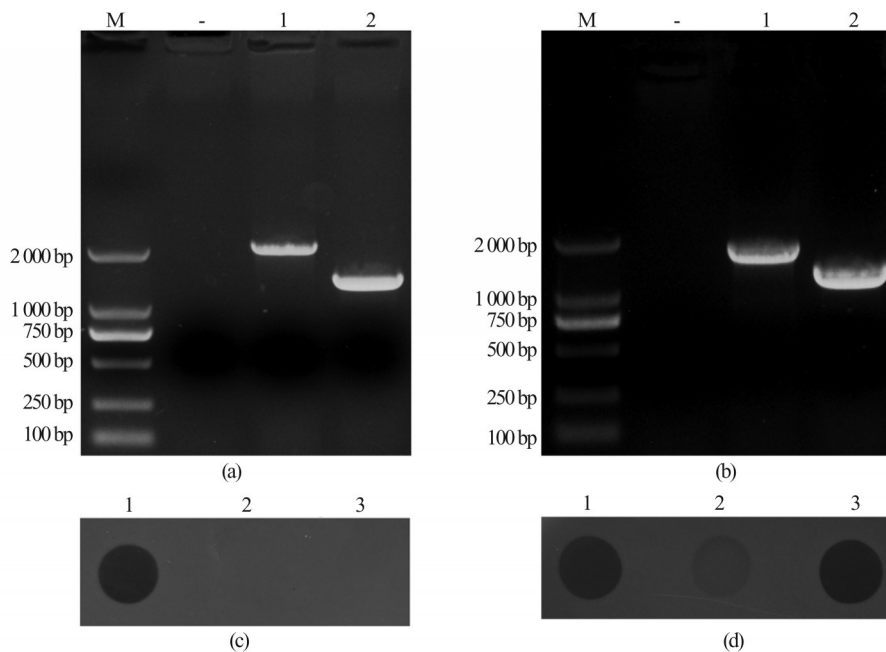


图3 *gene0230*和*gene0227*的敲除与回补

Fig. 3 Gene knockout and supplement of *gene0230* and *gene0227*

(a), PCR检测*gene0230*敲除: M, DL 2000 DNA marker; -, 无模板; 1, c25菌液; 2, c25ΔTT菌液; (b), 双层平板法检测菌液上清的抑菌活性: 1, c25菌液; 2, c25ΔTT菌液; 3, c25ΔTT/*gene0230*菌液; (c), PCR检测*gene0227*敲除: M, DL 2000 DNA marker; -, 无模板; 1, c25菌液; 2, c25ΔHTC菌液; (d), 双层平板法检测菌液上清的抑菌活性: 1, c25菌液; 2, c25ΔHTC菌液; 3, c25ΔHTC/*gene0227*菌液

(a), detection of *gene0230* knockout by PCR: M, DL 2000 DNA marker; -, no template; 1, c25; 2, c25ΔTTB; (b), detection of bactericidal activity by double-layer plate method: 1, c25; 2, c25ΔTT; 3, c25ΔTT/*gene0230*; (c), detection of *gene0227* knockout by PCR: M, DL 2000 DNA marker; -, no template; 1, c25; 2, c25ΔHTC; (d), detection of bactericidal activity by double-layer plate method: 1, c25; 2, c25ΔHTC; 3, c25ΔHTC/*gene0227*

感染非常困难,造成其较高的死亡率,寻找高效的治疗药物迫在眉睫。PTLB与烈性噬菌体一样具有杀菌活性,可用于治疗多重耐药菌的感染,而且PTLB比噬菌体稳定,其制备和保存也更为容易。目前已有PTLB治疗病原菌感染动物的报道,如利用R型脓菌素治愈感染铜绿假单胞菌的小鼠<sup>[40]</sup>;也有实验证实通过定向改造PTLB的尾丝基因,能使PTLB具有特定的杀菌谱,如将F型单核菌素的尾丝基因和李斯特菌噬菌体A118的尾丝基因融合,使F型单核菌素具有了噬菌体A118的杀菌谱<sup>[41,42]</sup>。这些研究表明PTLB作为抗菌制剂的潜力和应用价值。

嗜麦芽菌素F1是一种F型PTLB,这是首次分离到嗜麦芽寡养单胞菌产生的F型PTLB。序列分析表明F1基因簇含有18个预测的基因,结合BLASTp对比将其中10个基因编码的蛋白预测为有功能的蛋白。将F1基因簇与GenBank数据库中的嗜麦芽寡养单胞菌基因组进行BLASTn对比,发现有8个基因组中对应区域的序列相似度大于80%,说明这类F型PTLB基因簇在嗜麦芽寡养单胞菌中高度保守。大多数PTLB基因簇上能预测到典型的噬菌体裂解基因,这些基因编码的蛋白在PTLB组装完成后裂解细菌,使PTLB释放到胞外<sup>[22]</sup>;然而在c25菌基因组中嗜麦芽菌素F1基因簇的上下游均没有发现与噬菌体裂解相关的基因,由于c25菌中的溶原噬菌体有裂解基因,并能将合成的噬菌体释放到胞外。因此,推测嗜麦芽菌素F1的释放可能依赖c25菌溶原噬菌体的裂解系统。虽然目前没有检测到c25菌溶原噬菌体的敏感菌,但是嗜麦芽菌素F1能够裂解64株嗜麦芽寡养单胞菌中的一半菌株,并对部分菌株表现出很高的杀菌活性,而且在60℃以下的环境中一直保持较高的稳定性,以上结果表明,嗜麦芽菌素F1有较强的杀菌活性和较广的裂解谱,并且热稳定性强,有较好的应用潜力。

## 参考文献

- [1] Brooke J S. *Stenotrophomonas maltophilia*: an emerging global opportunistic pathogen [J]. *Clinical Microbiology Reviews*, 2012, 25(1): 2-41.
- [2] Majumdar R, Karthikeyan H, Senthilnathan V, et al. Review on *Stenotrophomonas maltophilia*: an emerging multidrug-resistant opportunistic pathogen [J]. *Recent Pat Biotechnol*, 2022, 16(4): 329-354.
- [3] Brooke J S. Advances in the microbiology of *Stenotrophomonas maltophilia* [J]. *Clinical Microbiology Reviews*, 2021, 34(3): e0003019.
- [4] Looney W J. Role of *Stenotrophomonas maltophilia* in hospital-acquired infection [J]. *British Journal of Biomedical Science*, 2005, 62(3): 145-154.
- [5] Insuwanno W, Kiratisin P, Jitmuang A. *Stenotrophomonas maltophilia* infections: clinical characteristics and factors associated with mortality of hospitalized patients [J]. *Infection and Drug Resistance*, 2020, 13: 1559-1566.
- [6] Xun M, Zhang Y, Li B L, et al. Clinical characteristics and risk factors of infections caused by *Stenotrophomonas maltophilia* in a hospital in northwest China [J]. *The Journal of Infection in Developing*, 2014, 8(8): 1000-1005.
- [7] Cai B, Tillotson G, Benjumea D, et al. The burden of bloodstream infections due to *Stenotrophomonas maltophilia* in the United States: a large, retrospective database study [J]. *Open Forum Infectious Diseases*, 2020, 7(5): ofaa141.
- [8] Banar M, Sattari-Maraji A, Bayatinejad G, et al. Global prevalence and antibiotic resistance in clinical isolates of *Stenotrophomonas maltophilia*: a systematic review and meta-analysis [J]. *Frontiers of Medicine*, 2023, 10: 1163439.
- [9] Dulyayangkul P, Calvopiña K, Heesom K J, et al. Novel mechanisms of efflux-mediated levofloxacin resistance and reduced amikacin susceptibility in *Stenotrophomonas maltophilia* [J]. *Antimicrob Agents Chemother*, 2020, 65(1): e01284-e01220.
- [10] Elsheredy A, Elsheikh A, Ghazal A, et al. Prevalence of trimethoprim/sulfamethoxazole resistance genes among *Stenotrophomonas maltophilia* clinical isolates in Egypt [J]. *Acta Microbiologica et Immunologica Hungarica: A*, 2022, 69(1): 56-60.
- [11] Blanco P, Corona F, Martinez J L. Mechanisms and phenotypic consequences of acquisition of tigecycline resistance by *Stenotrophomonas maltophilia* [J]. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 2019, 74(11): 3221-3230.
- [12] Chatree Y, Charoenlap N, Vanitshavit V, et al. Induction of antimicrobial resistance of *Stenotrophomonas maltophilia* by exposure to nonlethal levels of antibiotics [J]. *Microbial Drug Resistance*, 2023, 29(4): 115-126.
- [13] Gil-Gil T, Martínez J L, Blanco P. Mechanisms of antimicrobial resistance in *Stenotrophomonas maltophilia*: a review of current knowledge [J]. *Analysis and Applications*, 2020, 18(4): 335-347.
- [14] Chikindas M L, Weeks R, Drider D, et al. Functions and emerging applications of bacteriocins [J]. *Current Opinion in Biotechnology*, 2018, 49: 23-28.
- [15] Scholl D. Phage tail-like bacteriocins [J]. *Annu Rev Vi-*

- rol, 2017, 4(1): 453-467.
- [16] Lucas-Elio P, ElAlami T, Martínez A, *et al.* *Mari-nomonas mediterranea* synthesizes an R-type bacteriocin [J]. Applied and Environmental Microbiology, 2024, 90(1): e0127323.
- [17] Saha S, Ojobor C D, Li A S C, *et al.* F-type pyocins are diverse noncontractile phage tail-like weapons for killing *Pseudomonas aeruginosa* [J]. Journal of Bacteriology, 2023, 205(6): e0002923.
- [18] Scholl D, Martin D W. Antibacterial efficacy of R-type pyocins towards *Pseudomonas aeruginosa* in a murine peritonitis model [J]. Antimicrobial Agents & Chemotherapy, 2008, 52(5): 1647-1652.
- [19] Huang F Q, Teng K L, Liu Y Y, *et al.* Bacteriocins: potential for human health [J]. Oxidative Medicine Cellular Longevity, 2021, 2021: 5518825.
- [20] Bhattacharjee R, Nandi A, Sinha A, *et al.* Phage-tail-like bacteriocins as a biomedical platform to counter antimicrobial resistant pathogens [J]. Biomedicine & Pharmacotherapy, 2022, 155: 113720.
- [21] Wu H M, Zhang Y C, Jiang Y, *et al.* Characterization and genomic analysis of  $\phi$ SHP3, a new transposable bacteriophage infecting *Stenotrophomonas maltophilia* [J]. Journal of Virology, 2021, 95(9): e00019-e00021.
- [22] Sun W, Liang X W, Zhu C Y, *et al.* Regulation of maltocin synthesis in *Stenotrophomonas maltophilia* by positive and negative regulators [J]. Research in Microbiology, 2022, 173(6/7): 103956.
- [23] Soleimani-Delfan A, Bouzari M, Wang R. A rapid competitive method for bacteriophage genomic DNA extraction [J]. Journal of Virological Methods, 2021, 293: 114148.
- [24] Nasukawa T, Uchiyama J, Taharaguchi S, *et al.* Virus purification by CsCl density gradient using general centrifugation [J]. Archives of Virology, 2017, 162(11): 3523-3528.
- [25] Lau T T V, Pua H S M, Tan J A M A, *et al.* Flagellar motility mediates biofilm formation in *Aeromonas dhakensis* [J]. Microbial Pathogenesis, 2023, 177: 106059.
- [26] Chen J, Zhu Y, Yin M, *et al.* Characterization of maltocin S16, a phage tail-like bacteriocin with antibacterial activity against *Stenotrophomonas maltophilia* and *Escherichia coli* [J]. Journal of Applied Microbiology, 2019, 127(1): 78-87.
- [27] Rajagopala S V, Casjens S, Uetz P. The protein interaction map of bacteriophage lambda [J]. BMC Microbiology, 2011, 11: 213.
- [28] Zhong L Z, Li H M, Zhang J Z. Disseminated *Stenotrophomonas maltophilia* skin infection [J]. Journal of the European Academy of Dermatology and Venereology: JEADV, 2023, 37(6): e806-e807.
- [29] Umar Z, Ashfaq S, Parikh A, *et al.* *Stenotrophomonas maltophilia* and urinary tract infections: a systematic review [J]. Cureus, 2022, 14(6): e26184.
- [30] Husain U, Gupta V. Liver abscess caused by multi-drug-resistant pathogen *Stenotrophomonas maltophilia*: a rare case report [J]. Journal of Family Medicine and Primary Care, 2023, 12(1): 174-176.
- [31] Osawa K, Shigemura K, Kitagawa K, *et al.* Risk factors for death from *Stenotrophomonas maltophilia* bacteremia [J]. Journal of Infection & Chemotherapy, 2018, 24(8): 632-636.
- [32] Mojica M F, Humphries R, Lipuma J J, *et al.* Clinical challenges treating *Stenotrophomonas maltophilia* infections: an update [J]. JAC Antimicrobial Resistance, 2022, 4(3): dlac040.
- [33] García G, Girón J A, Yañez J A, *et al.* *Stenotrophomonas maltophilia* and its ability to form biofilms [J]. Microbiological Research, 2022, 14(1): 1-20.
- [34] Denny B, West P, Panigrahi D. Effects of permeabilizers on antimicrobial susceptibility of *Stenotrophomonas maltophilia* and *Acinetobacter* spp [J]. Journal of Microbiology, Immunology, and Infection, 2003, 36(1): 72-76.
- [35] Alcaraz E, Ghiglione B, Pineda M V, *et al.* AmpR is a dual regulator in *Stenotrophomonas maltophilia* with a positive role in  $\beta$ -lactam resistance and a negative role in virulence, biofilm and DSF production [J]. Research in Microbiology, 2022, 173(3): 103917.
- [36] Huang H H, Lin Y T, Chen P Y, *et al.* ClpA and HtpX proteases are involved in intrinsic aminoglycoside resistance of *Stenotrophomonas maltophilia* and are potential aminoglycoside adjuvant targets [J]. Antimicrobial Agents & Chemotherapy, 2018, 62(8): e00554-e00518.
- [37] Lin Y T, Huang Y W, Liou R S, *et al.* MacABCsm, an ABC-type tripartite efflux pump of *Stenotrophomonas maltophilia* involved in drug resistance, oxidative and envelope stress tolerances and biofilm formation [J]. The Journal of Antimicrobial Chemotherapy, 2014, 69(12): 3221-3226.
- [38] Wu C J, Lu H F, Lin Y T, *et al.* Substantial contribution of SmeDEF, SmeVWX, SmQnr, and jeat shock response to fluoroquinolone resistance in clinical isolates of *Stenotrophomonas maltophilia* [J]. Frontiers in Microbiology, 2019, 10: 822.
- [39] Chauviat A, Meyer T, Favre-Bonté S. Versatility of *Stenotrophomonas maltophilia*: ecological roles of RND efflux pumps [J]. Heliyon, 2023, 9(4): e14639.
- [40] Redero M, Aznar J, Prieto A I. Antibacterial efficacy

- of R-type pyocins against *Pseudomonas aeruginosa* on biofilms and in a murine model of acute lung infection [J]. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 2020: dkaa121.
- [41] Gebhart D, Lok S, Clare S, *et al.* A modified R-type bacteriocin specifically targeting *Clostridium difficile* prevents colonization of mice without affecting gut microbiota diversity [J]. *mBio*, 2015, 6(2): e02368-e02314.
- [42] Lee G, Chakraborty U, Gebhart D, *et al.* F-type bacteriocins of *Listeria monocytogenes*: a new class of phage tail-like structures reveals broad parallel coevolution between tailed bacteriophages and high-molecular-weight bacteriocins [J]. *Journal of Bacteriology*, 2016, 198(20): 2784-2793.

□

(编辑: 杨晓翠)