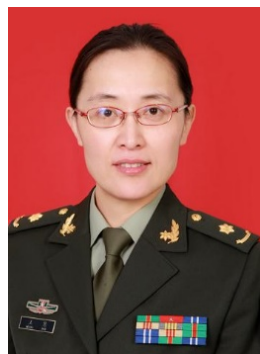


· 细菌耐药机制 ·



王慧 军事医学研究院微生物流行病学研究所研究员, 博士生导师。主要从事病原微生物进化、致病机理与防治基础研究, 先后主持和承担国家传染病重大专项、国家新药创制重大专项、国家 973 计划、国家重点研发计划、国家自然科学基金课题 20 余项。在高致病病原新毒力因子发现、病原菌适应性进化以及感染防治技术方面取得重要进展。研究成果在 *J Infect Dis*、*JCI Insight*、*Sci Reports*、*Arch Toxicol*、*Vaccine*、*Cancer Immuno Immunother* 等国内外学术期刊发表论文 80 余篇。获得中国发明专利 17 项, 获得美国、日本、澳大利亚、欧洲等国际发明专利 5 项。现兼任全军科学技术委员会生物技术专业委员会常委。

细菌毒素-抗毒素系统的功能

何志利, 王慧

军事科学院军事医学研究院 微生物流行病学研究所 病原微生物生物安全国家重点实验室, 北京 100071

何志利, 王慧. 细菌毒素-抗毒素系统的功能. 生物工程学报, 2018, 34(8): 1270-1278.

He ZL, Wang H. Functions of bacterial Toxin-Antitoxin systems. Chin J Biotech, 2018, 34(8): 1270-1278.

摘要: 毒素-抗毒素 (Toxin-Antitoxin, TA) 系统广泛存在于原核生物和古细菌的染色体和质粒中。此系统由 2 个共表达的基因组成, 分别编码稳定的毒素蛋白和易降解的抗毒素, 毒素通常发挥毒性作用抑制细菌生长, 而抗毒素则可中和毒性, 二者相互作用对细菌生长状态起精密调节作用。根据 TA 的组成和抗毒素的性质, 目前已经发现有 6 型 TA, 这些 TA 系统在细菌中发挥的作用一直是近年来学者们研究的热点, 文中对细菌 TA 的功能研究进展进行了综述。

关键词: 毒素-抗毒素系统, 环境适应性, 持留态细胞, 生物被膜, 细菌毒力

Received: December 28, 2017; **Accepted:** March 16, 2018

Supported by: National Basic Research Program of China (973 Program) (No. 2015CB554202).

Corresponding author: Hui Wang. Tel/Fax: +86-10-66948587; E-mail: geno0109@vip.sina.com

国家重点基础研究发展计划 (973 计划) (No. 2015CB554202) 资助。

Functions of bacterial Toxin-Antitoxin systems

Zhili He, and Hui Wang

State Key Laboratory of Pathogen and Biosecurity, Beijing Institute of Microbiology and Epidemiology Academy of Military Medical Sciences, Academy of Military Sciences, Beijing 100071, China

Abstract: TA (Toxin-Antitoxin) systems are widely spread in chromosomes and plasmids of bacteria and archaea. These systems consist of two co-expression genes, encoding stable toxin and sensitive antitoxin, respectively. The toxicity of toxins usually inhibits bacterial growth and antitoxins can neutralize the toxins. Interaction between them would regulate the growth state of bacteria precisely. According to the composition of TA and nature of antitoxin, six types of TA have been found. The role of these TA systems in bacteria has been a hot research topic in recent years. Now, the research status on functions of bacterial TA is reviewed.

Keywords: Toxin-Antitoxin system, environmental adaptability, persisters, biofilm, bacterial virulence

毒素-抗毒素系统最初是作为质粒稳定分子被发现的^[1], 它们广泛分布在原核生物和古细菌中。TA 操纵子编码出一个稳定的毒素和一个易被降解的抗毒素, 其中毒素通常为蛋白质如 RelE, 而抗毒素可以是蛋白质也可以是 RNA。随着进一步研究, 越来越多染色体 TA 分子也被发现^[2-3], 目前认为染色体 TA 与维持质粒稳定性无关, 而主要通过调节代谢和生长状况来对抗不利环境^[4]。质粒 TA 分子被认为只有唯一功能——执行 post-segregational killing (PSK), 杀死不继承父辈 TA 质粒的子代细胞。但是有研究证明质粒编码的一对 TA 中, 毒素 *ccdF* 是一种可持续传代基因^[5]。染色体 TA 分子的功能则表现出多样性, 涉及到调节整体水平对抗不利外界环境^[6]、参与细胞程序性死亡^[7]、对抗质粒编码 TA 介导的 PSK^[8]、参与抗生素下持留态细胞的形成^[10]、参与生物被膜形成^[11]、提高菌株存活率和毒力^[12]、对抗噬菌体以及参与菌株定植^[13]等多个方向。文中着重于阐述 TA 在影响细菌环境适应性方向的研究进展, 以及其探索性应用与展望。

1 TA 的分类

在过去的 30 年里根据抗毒素的性质和 TA 的组成, 总共发现六型 TA (Type I 至 Type VI)^[14], 如图 1 所示。

1.1 I 型 TA

在这种类型的 TA 系统, 抗毒素是一种 sRNA, 毒素是蛋白质。抗毒素 sRNA 能结合毒素的 mRNA 促进其降解, 阻碍毒素翻译^[3]。准确地说, I 型毒素是拥有丰富疏水蛋白的小蛋白 (超过 60 个氨基酸)^[15], 而抗毒素编码的 RNA 是毒素的反义链。对于 I 型 TA 胞内靶点我们所知甚少, 而现在被知晓较多的 I 型 TA 是 *hok/sok* (*hok* 为毒素, *sok* 为抗毒素), 有趣的是在这个 TA 系统中被发现存在第 3 种蛋白 *mok* 能协助毒素翻译^[16]。在革兰氏阴性菌中鉴定的第一种 I 型 TA *fst/RNAIL* 也被证明与 *hok/sok* 有同样特点, 而 *fst/RNAIL* 陆续在腐生葡萄球菌质粒上、干酪乳杆菌和单核细胞增生李斯特氏菌中被发现。其他 I 型 TA, 例如大肠杆菌含有 *ldr/Rdl*、*tisB/IstRI*、*bs/Sib*、*shoB/OhsC* 和 *symE/SymR*^[17-18], 枯草芽孢杆菌含有染色体 I 型 TA *txpA/RatA*^[19]。

1.2 II 型 TA

II 型 TA 是现在研究最广泛的 TA 类型, 近期更新的毒素-抗毒素数据库 TADB 2.0 中就收录了 105 对有实验数据支持的 II 型 TA 基因座位, 还提供了在线预测工具 TA finder^[9]。II 型 TA 中毒素和抗毒素都是蛋白质, 相对于稳定的毒素来说, 抗毒素更易被降解表现出不稳定性, 因为抗毒素含

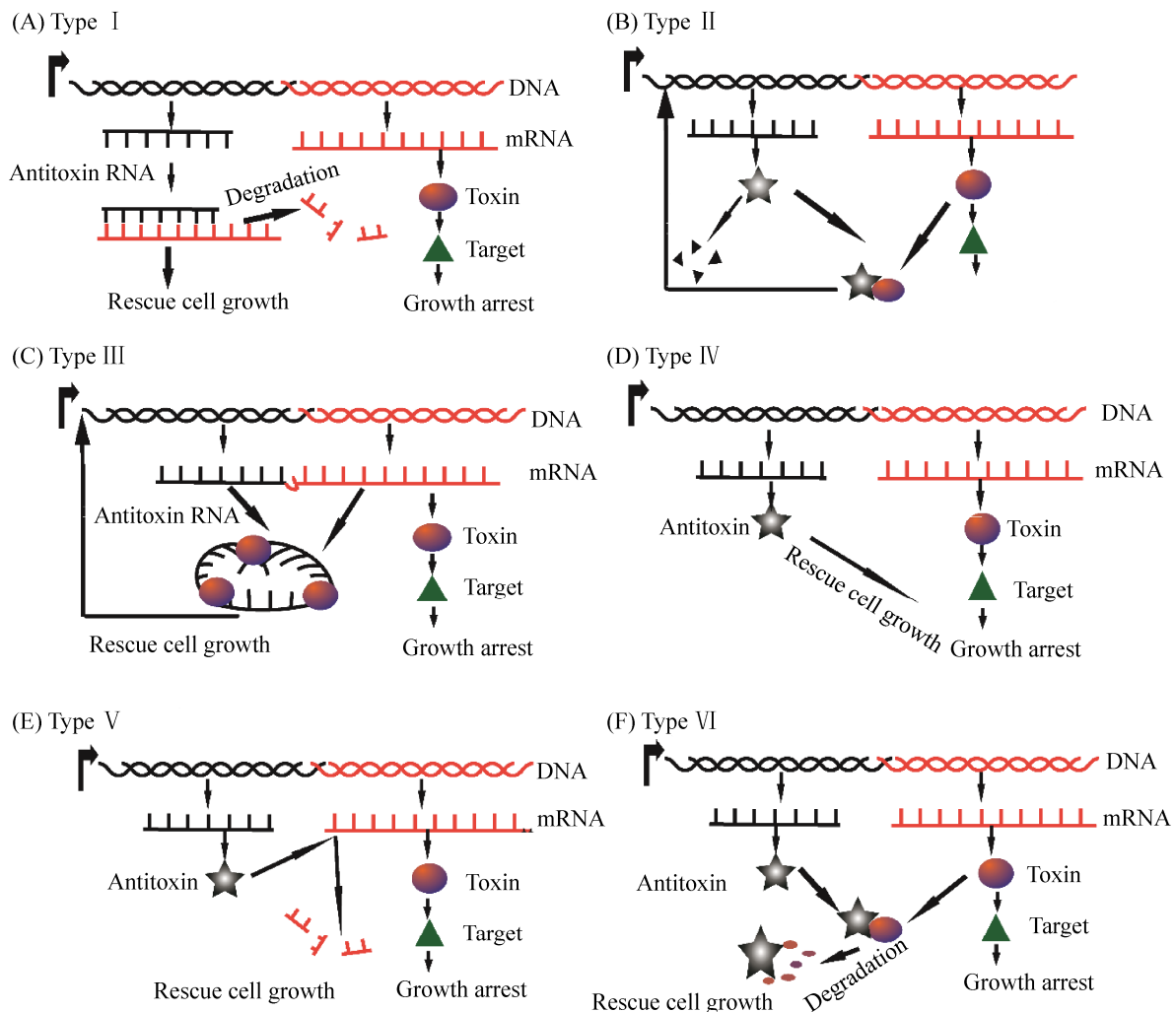


图1 六型 TA 作用模式

Fig. 1 Mode of action of the six classes of Toxin-Antitoxin systems.

有较少的有序结构，对蛋白水解酶更为敏感^[20]。通常情况下，II型 TA 有着其他 TA 类型没有的特征：1) 编码抗毒素蛋白的基因位于毒素蛋白基因上游；2) 两个基因共转录；3) 两个基因共翻译。在正常生长状况下，毒素和抗毒素以 TA 复合物状态存在，确保毒素不发挥作用使细胞正常生长。抗毒素会结合在 TA 操纵子上游覆盖启动子来抑制操纵子表达，而毒素作为辅助抑制剂与抗毒素结合加强这种抑制作用。所以胞内 TA 复合物的水平受到抗毒素和 TA 复合物共同调控^[10]。一定压力条件下抗毒素被蛋白酶降解后会释放出稳定

的毒素蛋白，同时操纵子的抑制解除，持续表达出的抗毒素被继续降解，以上造成的结果就是毒素的积累，毒性效应启动^[21]。II型 TA 毒素长度大约在 100 个氨基酸^[22]，分为 12 个家族，每个家族的胞内靶点不同，发挥不同的生理作用。van Melderen 等证明 II 型 TA 能确保移动遗传元件的安全稳定维护^[3]，Engelberg-Kulka 等提出了大肠杆菌中 *mazEF* 会激活细胞程序性死亡，这样的利他性死亡能帮助细胞压力环境下应对有限的营养物质^[23]。大肠杆菌中的 *hipAB* 会诱导持留态细胞形成^[24-25]来对抗抗生素压力，因为绝大多数抗生

素都对生长状态的细菌有杀灭作用,而对处于半休眠的持留态细胞束手无策。MqsAR 被证明与生物被膜形成相关^[26],TA 的环境适应性一直是科学家关注的重点。而最近 II 型 TA 与菌株致病性的关系引起了科学家们关注,相关研究也越来越多。

1.3 III型 TA

III型 TA 系统最初是作为抵抗噬菌体感染被发现的^[27],抗毒素是 RNA,能直接作用于毒素蛋白^[28]。鉴定出的第一对III型 TA 分子是 ToxIN (毒素 ToxN,抗毒素 ToxI),它是在腐败果胶杆菌的质粒上被发现的,核糖核酸内切酶是 ToxN 的靶点。ToxN 同源基因在革兰氏阴性菌和革兰氏阳性菌的染色体和质粒上都有发现,且广泛分布于人和动物致病菌、海洋和土壤微生物中^[27]。后来发现的 TenpI-TenpN 和 CptI-CptN 也参与抵抗噬菌体感染^[29]。

1.4 IV、V、VI型 TA

IV型 TA 系统中,毒素和抗毒素都是蛋白,但是毒素不是直接与抗毒素形成复合物,而是阻碍毒素作用靶点来抑制毒性效应。例如 *yeeUV*,抗毒素 YeeU 促进细胞骨架蛋白 MerB 和 FtsZ 聚合,让其免受毒素 YeeV 的抑制作用^[30]。唯一报道的 V 型 TA 是 *ghoST*,毒素蛋白 GhoT 是一个小的疏水性肽,其表达可导致细胞死亡和持留细菌感染,抗毒素蛋白 GhoS 不像传统的抗毒素那样在压力条件下不稳定,也不和毒素蛋白的 DNA 结合抑制转录,而是作为一种序列特异性的核酸内切酶,切割 *ghoT* mRNA,阻止其翻译^[31]。后来发现 *ghoST* 的表达还受另一对 TA *msqAR* 的调控^[32],提示着 TA 家族之间的相互作用呈现多样性。*socAB* 作为新发现的一类 TA 系统——VI型 TA 出现在我们的视野里^[33],抗毒素 SocA 作为毒素蛋白 SocB 的适配器与其连接在一起,与 II 型 TA 不同的是,SocA 并不直接中和 SocB 的毒性,而是通过特定的蛋

白酶促进它的降解。

2 TA 的环境适应性

TA 广泛分布在原核生物和古细菌中,无论在宿主体外还是体内,这些含有 TA 的原核生物都面临各种各样的生存压力和排斥威胁,那么 TA 是怎样帮助适应恶劣环境、保证种族延续的呢?

2.1 TA 影响致病菌的毒力

细菌病原体要承受多重压力,应对宿主定植过程中不断变化的环境,才能成功地感染宿主^[34]。在从外部非宿主环境到进入宿主体内的过程中,入侵的微生物要处理多个宿主防御系统,例如肠道病原体在胃内遇到酸性 pH 值^[35]、与肠道菌群的竞争、肠道内其他重要的宿主防御因子抗菌肽(cAMP)和肠细胞分泌的免疫球蛋白^[36]。而近几年越来越多的研究证明 TA 系统参与细菌病原体感染宿主的过程,提高其致病力。2011 年 Georgiades 等意外发现基因组中的 TA 分子模型与细菌毒力之间存在密切联系^[37]。在许多致病菌中发现 TA 分子广泛分布于可移动遗传元件上,作为毒力岛参与耐药与毒力作用^[38]。TA 分子通过稳定与维持编码毒力质粒来参与致病菌毒力作用,例如富氏志贺菌中 *mvpA-mvpt* (VapBC) 能维持毒力质粒 Pmysh 6000 的稳定^[39],HigBA 帮助普通变形杆菌毒力质粒稳定传代^[40]。在不分型流感嗜血杆菌中敲除 VapBC 后极大减弱了组织毒力损伤,以及动物模型上中耳炎发病率^[41]。2012 年 TA 分子 *ybaJ-hha* 和 *yefM-yoeB* 被证明参与膀胱定植,*pasTI* 参与肾脏定植^[42]。次年,Walker 等发现 *sehAB* TA 分子的缺失能影响老鼠口服途径鼠伤寒沙门氏菌的毒力,但不影响腹腔注射途径感染的毒力,提示 *sehAB* TA 分子在鼠伤寒沙门氏菌感染过程的早期阶段发挥作用^[43]。Pinel 等通过研究 *sprG1/sprF1* TA 分子提出 TA 模型中的分泌毒素能增强金黄色葡萄球菌的毒力^[44]。II 型 TA *mazEF_{Sa}*

早年也被认为与金黄色葡萄球菌致病力相关。MazF_{Sa}毒素能识别特定的核苷酸序列,参与毒力蛋白 SraP 的表达调控,同时促进致病菌与宿主细胞的黏附作用^[45]。最近报道钩端螺旋体属中的 ChpK 和 MazF 毒素能进入宿主细胞质中杀死细胞,同时 $\Delta hpIK$ 和 $\Delta mazEF$ 缺失突变株感染显示感染后期的巨噬细胞中细胞坏死数减少^[46]。虽然 TA 分子调控细菌毒力的具体机制还未完全解释清楚,但 TA 系统的毒素作用已经被科学家们认可。

2.2 TA 参与持留态细胞和生物被膜的形成

“持留态细胞”是指能够在高浓度的抗生素中生存的细菌。这种现象在生长平台期的菌中更为常见^[47]。持留态细胞能使细菌处于半休眠状态,细菌低转录低翻译水平使大部分抗生素对其束手无策。第一对被发现参与持留形成的是 *E. coli* K-12 中的 TA 对 *hipBA*。氨基青霉素处理下野生株呈现 10^{-5} – 10^{-6} 的持留率,而双突变的 *hipA* 菌株 (*hipA7*, 能释放 HipA 毒性) 呈现出 10^{-2} 持留率^[48]。在野生株中过量表达 HipA 毒素也表现出和 *hipA7* 相同的持留率^[49]。HipA 毒素能磷酸化 Ser239, 导致未修饰的 tRNA Glu 积累, 激活和释放 RelA (五磷酸合成酶 pppGpp 信使), 使 pppGpp 升高, 增加持留水平^[50-51]。冗余 TA 可以增加持留态细胞形成的频率, 而随机波动的频率可以自发地打开 TA 引起细胞正常和持久的双稳态^[52]。TA 对与生物被膜的关系现今也被广泛关注, 有学者证明 TA 基因敲除后能降低生物被膜的形成^[10,25,53], 同时又有人提出 TA 分子对生物被膜形成起正向调控作用^[54], 而具体机制我们还不得而知。

2.3 TA 系统调控 GSR

细菌应激反应 (General stress response, GSR) 作为一种可逆状态能帮助细胞在营养匮乏、高氧、强酸和其他不同压力环境下长时间存活。革兰氏阴性菌中 *rpoS* 编码的 σ_s 是 GSR 最关键的调控因子。因此生物膜休眠增强和持留细胞生长率显著

降低, 是生物膜抗生素敏感性降低的主要原因。由于生物被膜的形成, GSR 或许直接参与了慢性感染过程。事实证明 GSR 信号通路确实是在囊性纤维化慢性感染过程中被激活^[55]。TA 系统中的抗毒素 MqsA, 能直接抑制压力调节关键蛋白 RpoS 的表达^[56], 阻碍细胞的 GSR。MqsA 能识别 *rpoS* 和 *csqD* 操纵子上与 *mqsRA* 类似的回文序列^[57] 并与之结合, 而在 *rpoS* 操纵子上删除这样的回文序列会使 MqsA 蛋白无法结合^[56]。在高氧压力下, MqsA 被蛋白酶 Lon 降解, 导致 *rpoS* 去抑制, 细胞 GSR 启动, 反向说明了 MqsA 阻碍细胞的 GSR。这是第一个明确的外部压力如何影响基因调控机制, 并为 TA 系统创造了一个重要的新角色。

2.4 其他压力相关 TA 系统

至今为止发现 *E. coli* 中至少存在 6 种 RNA 酶 (MqsR, MazF, RelE, ChpB, YafQ, YoeB) 降解不同 mRNAs 来应对不同压力。这种假设是根据: 1) 不同压力下激活的 TA 系统不同, 例如 YafNO、HigBA、MqsRA TA 分子在氨基酸匮乏下被激活, YafNO、HigBA、MqsRA 分子在氯霉素 (30 $\mu\text{g}/\text{mL}$) 处理下激活^[58], YafNO、YafQ/DinJ^[59]、TisB/IstR-1^[60]、SymE/SymR^[61] 等分子则参与抗丝裂霉素 C 和 SOS 应激, 而 TisB/IstR-1 在环丙沙星 (0.1 $\mu\text{g}/\text{mL}$) 压力下可被激活^[60]。2) MqsR、MazF、YafQ 和 ChpB 分别酶切 mRNA GCU^[62]、ACA^[63]、AAA^[59] 与 ACY (Y=A 或者 G) 位点, 它们调控不同的基因功能。此外, 有报道证明虽然 MazF 在抗生素压力下会降解大部分 mRNAs, 但是未被降解的 mRNAs 即使含有 ACA 酶切位点也会编码出特殊蛋白, 这些蛋白一部分发挥毒素效应, 一部分用来协助细胞生存^[64]。

3 TA 的应用与展望

3.1 作为抗菌药

TA 广泛存在于原核细胞和古细菌中而不存在

于真核细胞中,毒素的利用就能让 TA 成为很好的抗菌靶点。II 型 TA 系统似乎是人工激活毒素复合物最可行的目标。最直接的方法就是破坏或是阻碍 TA 复合体的形成,或促进抗毒素的降解来释放毒素。然而释放毒素可能会诱导持留态细胞和生物被膜的形成,所以目的 TA 需谨慎筛选。据报道已有几种肽类能在体外诱导 TA 系统^[65-67]。例如胞外死亡因子 EDF (Extracellular death factor) 能在胞外激活 MazF 诱导大肠杆菌死亡^[68-71]。EDF 是一种 NNWNN 五肽,通过 ClpXP 依赖途径从 6-磷酸葡萄糖脱氢酶上水解下来^[69]并分泌到培养基中。将处于对数生长期的大肠杆菌在富含 EDF 悬浮物的培养基中培养,或者促进 EDF 合成,都可以激活 MazF^[68]和 ChpBK^[70],诱导细胞死亡,这种现象能分别被其抗毒素 MazE 和 ChpBI 抑制。因此 EDF 及其同源肽类为新一类抗菌药的研制提供了重要的研究线索。

3.2 作为抗病毒药

TA 系统另一潜在价值被发现——抗病毒感染。最近含有 *E. coli mazF* 基因的逆转录载体构建成功,而 *mazF* 是被安插在 HIV-1 启动子 TAR 下游并受其调控。HIV 感染循环是以病毒 Tat 蛋白表达开始的,Tat 结合 TAR 序列诱导整个 HIV-1 基因组转录。被感染的 CD4⁺细胞含有 TAR-*mazF* 结构,HIV-1 侵入后表达 Tat 蛋白结合 TAR 序列后诱导 MazF 表达,MazF 发挥毒性酶切病毒 mRNA,阻止 HIV-1 繁殖,实验在体外进行^[72]。另一项研究则在丙型肝炎病毒 HCV (Hepatitis C virus) 领域中同样证明 MazF 具有抗病毒潜力。一种多肽链 MazF+linker+MazEp (MazE 片段) 构建成功,其中 MazF 和 MazEp 是通过含有 NS3 酶切位点的延伸链连接在一起的,而 NS3 是一种病毒丝氨酸蛋白酶,是 HCV 多聚蛋白质必需的加工酶。含有 *mazF-linker-mazEp* 结构的细胞可以正常生长,因为 MazF 的毒性处于被 MazEp 抑制状态。

当细胞被 HCV 感染后病毒产生的 NS3 蛋白酶切断 *mazF-linker-mazEp* 中间的 *linker*,MazF 毒性释放,阻碍蛋白质合成,根除细胞感染^[73]。这种治疗策略也适用于同样依赖蛋白酶的其他病毒,例如 HIV。

3.3 作为抗肿瘤药

2003 年有学者提出来自质粒 R1 的 Kid 毒素能用来研发抗癌复合物^[74],其中一种方法就是利用肿瘤特定启动子直接打开毒素基因的表达,从而作用于癌细胞^[75]。最近,小鼠通过基因工程方法,接入 MazF 毒素基因后实体瘤发生逆转,然而可能是由于毒素的功能丧失,成功逆转率仅为 50%左右^[76]。这些发现为抗肿瘤探索路上打开了一扇新的大门。

然而将毒素作为抗菌或抗病毒药物时,我们不得不考虑,既然毒素能被直接作用于患者体内杀死病原体,那么人体内的共生菌群和正常细胞是否也会收到毒素的攻击。或许在真核生物中研制抗菌药物和抗病毒药物时,MazF 等毒素的活性和剂量需受到严格把控。

REFERENCES

- [1] Gerdes K, Rasmussen PB, Molin S. Unique type of plasmid maintenance function: post segregational killing of plasmid-free cells. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1986, 83(10): 3116-3120.
- [2] Pandey DP, Gerdes K. Toxin-antitoxin loci are highly abundant in free-living but lost-from host-associated prokaryotes. *Nucleic Acids Res*, 2005, 33(3): 966-976.
- [3] van Melderen L, de Bast MS. Bacterial toxin-antitoxin systems: more than selfish entities?. *PLoS Genet*, 2009, 5(3): e1000437.
- [4] Wang XX, Wood TK. Toxin-antitoxin systems influence biofilm and persister cell formation and the general stress response. *Appl Environ Microbiol*, 2011, 77(16): 5577-5583.
- [5] Tripathi A, Dewan PC, Barua B, et al. Additional role for the *ccd* operon of F-plasmid as a transmissible persistence factor. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2012.

- 109(31): 12497–12502.
- [6] Christensen SK, Mikkelsen M, Pedersen K, et al. RelE, a global inhibitor of translation, is activated during nutritional stress. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2001, 98(25): 14328–14333.
- [7] Engelberg-Kulka H, Glaser G. Addiction modules and programmed cell death and anti death in bacterial cultures. *Annu Rev Microbiol*, 1999, 53(1): 43–70.
- [8] de Bast MS, Mine N, van Melder L. Chromosomal toxin antitoxin systems may act as antiaddiction modules. *J Bacteriol*, 2008, 190(13): 4603–4609.
- [9] Xie YZ, Wei YQ, Shen Y, et al. TADB 2.0: an updated database of bacterial type II toxin-antitoxin loci. *Nucl Acids Res*, 2018, 46(D1): D749–D753.
- [10] Gerdes K, Maisonneuve E. Bacterial persistence and toxin antitoxin loci. *Annu Rev Microbiol*, 2012, 66(1): 103–123.
- [11] Kolodkin-Gal I, Verdiger R, Shlosberg-Fedida A, et al. A differential effect of *E. coli* toxin-antitoxin systems on cell death in liquid media and biofilm formation. *PLoS ONE*, 2009, 4(8): e6785.
- [12] Ren D, Walker A, Daines DA. Toxin-antitoxin loci vapBC-1 and vapXD contribute to survival and virulence in nontypeable *Haemophilus influenzae*. *BMC Microbiol*, 2012, 12: 263.
- [13] Norton JP, Mulvey MA. Toxin-antitoxin systems are important for niche-specific colonization and stress resistance of uropathogenic *Escherichia coli*. *PLoS Pathog*, 2012, 8(10): e1002954.
- [14] Page R, Peti W. Toxin-antitoxin systems in bacterial growth arrest and persistence. *Nat Chem Biol*, 2016, 12(4): 208–214.
- [15] Hayes F. Toxins-antitoxins: plasmid maintenance, programmed cell death, and cell cycle arrest. *Science*, 2003, 301(5639): 1496–1499.
- [16] Fozo EM, Makarova KS, Shabalina SA, et al. Abundance of type I toxin-antitoxin systems in bacteria: searches for new candidates and discovery of nove families. *Nucleic Acids Res*, 2010, 38(11): 3743–3759.
- [17] Kawano M. Divergently overlapping cis-encoded antisense RNA regulating toxin-antitoxin systems from *E. coli*: hok/sok, ldr/rdl, symE/symR. *RNA Biol*, 2012, 9(12): 1520–1527.
- [18] Fozo EM. New type I toxin-antitoxin families from “wild” and laboratory strains of *E. coli*: Ibs-Sib, ShoBOhsC and Zor-Orz. *RNA Biol*, 2012, 9(12): 1504–1512.
- [19] Durand S, Jahn N, Condon C, et al. Type I toxin-antitoxin systems in *Bacillus subtilis*. *RNA Biol*, 2012, 9(12): 1491–1497.
- [20] Yamaguchi Y, Park JH, Inouye M. Toxinantitoxin systems in bacteria and archaea. *Ann Rev Genet*, 2011, 45(1): 61–79.
- [21] Schuster CF, Bertram R. Toxin-antitoxin systems are ubiquitous and versatile modulators of prokaryotic cell fate. *FEMS Microbiol Lett*, 2013, 340(2): 73–85.
- [22] Fozo EM, Hemm MR, Storz G. Small toxic proteins and the antisense RNAs that repress them. *Microbiol Mol Bio Rev*, 2008, 72(4): 579–589.
- [23] Engelberg-Kulka H, Amitai S, Kolodkin-Gal I, et al. Bacterial programmed cell death and multicellular behavior in bacteria. *PLoS Genet*, 2006, 2(10): e135.
- [24] Correia FF, D’Onofrio A, Rejtar T, et al. Kinase activity of over expressed HipA is required for growth arrest and multidrug tolerance in *Escherichia coli*. *J Bacteriol*, 2006, 188(24): 8360–8367.
- [25] Korch SB, Henderson TA, Hill TM. Characterization of the *hipA7* allele of *Escherichia coli* and evidence that high persistence is governed by (p)ppGpp synthesis. *Mol Microbiol*, 2003, 50(4): 1199–1213.
- [26] Sala A, Bordes P, Genevaux P. Multiple toxin-antitoxin systems in *Mycobacterium tuberculosis*. *Toxins*, 2014, 6(3): 1002–1020.
- [27] Fineran PC, Blower TR, Foulds IJ, et al. The phage abortive infection system, ToxIN, functions as a protein-RNA toxin-antitoxin pair. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2009, 106(3): 894–899.
- [28] Blower TR, Pei XY, Short FL, et al. A processed noncoding RNA regulates an altruistic bacterial antiviral system. *Nat Struct Mol Biol*, 2011, 18(2): 185–190.
- [29] Blower TR, Short FL, Rao F, et al. Identification and classification of bacterial Type III toxin-antitoxin systems encoded in chromosomal and plasmid genomes. *Nucleic Acids Res*, 2012, 40(13): 6158–6173.
- [30] Masuda H, Tan Q, Awano N, et al. YeeU enhances the bundling of cytoskeletal polymers of MreB and FtsZ, antagonizing the CbtA (YeeV) toxicity in *Escherichia coli*. *Mol Microbiol*, 2012, 84(5): 979–989.
- [31] Wang XX, Lord DM, Cheng HY, et al. A new type V toxin-antitoxin system where mRNA for toxin GhoT is

- cleaved by antitoxin GhoS. *Nat Chem Biol*, 2012, 8(10): 855–861.
- [32] Wang XX, Lord DM, Hong SH, et al. Type II toxin/antitoxin MqsR/MqsA controls type V toxin/antitoxin GhoT/GhoS. *Environ Microbiol*, 2013, 15(6): 1734–1744.
- [33] Aakre CD, Phung TN, Huang D, et al. A bacterial toxin inhibits DNA replication elongation through a direct interaction with the beta sliding clamp. *Mol Cell*, 2013, 52(5): 617–628.
- [34] Ribet D, Cossart P. How bacterial pathogens colonize their hosts and invade deeper tissues. *Microbes Infect*, 2015, 17(3): 173–183.
- [35] De Biase D, Lund PA. The *Escherichia coli* acid stress response and its significance for pathogenesis. *Adv Appl Microbiol*, 2015, 92: 49–88.
- [36] Santaolalla R, Abreu MT. Innate immunity in the small intestine. *Curr Opin Gastroenterol*, 2012, 28(2): 124–129.
- [37] Georgiades K, Raoult D. Genomes of the most dangerous epidemic bacteria have a virulence repertoire characterized by fewer genes but more toxin-antitoxin modules. *PLoS ONE*, 2011, 6(3): e17962.
- [38] Ma Z, Geng JN, Yi L, et al. Insight into the specific virulence related genes and toxin-antitoxin virulent pathogenicity islands in swine streptococcosis pathogen *Streptococcus equi* ssp. zooepidemicus strain ATCC35246. *BMC Genomics*, 2013, 14: 377.
- [39] Sayeed S, Reaves L, Radnedge L, et al. The stability region of the large virulence plasmid of *Shigella flexnerii* codes an efficient post segregational killing system. *J Bacteriol*, 2000, 182(9): 2416–2421.
- [40] Hurley JM, Woychik N. Bacterial toxin HigB associates with ribosomes and mediates translation-dependent mRNA cleavage at A-rich sites. *J Biol Chem*, 2009, 284(28): 18605–18613.
- [41] Ren D, Walker AN, Daines DA. Toxin-antitoxin loci vapBC-1 and vapXD contribute to survival and virulence in nontypeable *Haemophilus influenzae*. *BMC Microbiol*, 2012, 12: 263.
- [42] Norton JP, Mulvey MA. Toxin-antitoxin systems are important for niche-specific colonization and stress resistance of uropathogenic *Escherichia coli*. *PLoS Pathog*, 2012, 8(10): e1002954.
- [43] de la Cruz MA, Zhao WD, Farenc C, et al. A toxin-antitoxin module of *Salmonella* promotes virulence in mice. *PLoS Pathog*, 2013, 9(12): e1003827.
- [44] Pinel-Marie ML, Brielle R, Felden B. Dual toxic-peptide-coding *Staphylococcus aureus* RNA under antisense regulation targets host cells and bacterial rivals unequally. *Cell Rep*, 2014, 7(2): 424–435.
- [45] Zhu L, Inoue K, Yoshizumi S, et al. *Staphylococcus aureus* MazF specifically cleaves a pentad sequence, UACAU, which is unusually abundant in the mRNA for pathogenic adhesive factor SraP. *J Bacteriol*, 2009, 191(10): 3248–3255.
- [46] Komi KK, Ge YM, Xin XY, et al. ChpK and MazF of the toxin antitoxin modules are involved in the virulence of *Leptospira interrogans* during infection. *Microbes Infect*, 2015, 17(1): 34–47.
- [47] Harrison JJ, Wade WD, Akierman S, et al. The chromosomal toxin gene yafQ is a determinant of multidrug tolerance for *Escherichia coli* growing in a biofilm. *Antimicrob Agents Chemother*, 2009, 53(6): 2253–2258.
- [48] Moyed HS, Bertrand KP. hipA, a newly recognized gene of *Escherichia coli* K-12 that affects frequency of persistence after inhibition of murein synthesis. *J Bacteriol*, 1983, 155(2): 768–275.
- [49] Korch SB, Hill TM. Ectopic overexpression of wild-type and mutant hipA genes in *Escherichia coli*: effects on macromolecular synthesis and persister formation. *J Bacteriol*, 2006, 188(11): 3826–3836.
- [50] Germain E, Castro-Roa D, Zenkin N, et al. Molecular mechanism of bacterial persistence by HipA. *Mol Cell*, 2013, 52(2): 248–254.
- [51] Maisonneuve E, Castro-Camargo M, Gerdes K. (p)ppGpp controls bacterial persistence by stochastic induction of toxin antitoxin activity. *Cell*, 2013, 154(5): 1140–1150.
- [52] Fasani RA, Savageau MA. Molecular mechanisms of multiple toxin-antitoxin systems are coordinated to govern the persister phenotype. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2013, 110(7): E2528–E2537.
- [53] Wen YR, Behiels E, Devreese B. Toxin-Antitoxin systems: their role in persistence, biofilm formation and pathogenicity. *Pathog Dis*, 2014, 70(3): 240–249.
- [54] Mitchell HL, Dashper SG, Catmull DV, et al. *Treponema denticola* biofilm-induced expression of a bacteriophage, toxin-antitoxin systems and transposases. *Microbiology*,

- 2009, 156(3): 774–788.
- [55] Foley I, Marsh P, Wellington EM, et al. Brown. General stress response master regulator *rpoS* is expressed in human infection: a possible role in chronicity. *J Antimicrob Chemother*, 1999, 43(1): 164–165.
- [56] Wang X, Kim Y, Hong SH, et al. Antitoxin MqsA helps mediate the bacterial general stress response. *Nat Chem Biol*, 2011, 7(6): 359–366.
- [57] Brown BL, Wood TK, Peti W, et al. Structure of the *Escherichia coli* antitoxin MqsA (YgiT/b3021) bound to its gene promoter reveals extensive domain rearrangements and the specificity of transcriptional regulation. *J Biol Chem*, 2011, 286(3): 2285–2296.
- [58] Christensen-Dalsgaard M, Jørgensen MG, Gerdes K. Three new RelE-homologous mRNA interferases of *Escherichia coli* differentially induced by environmental stresses. *Mol Microbiol*, 2010, 75(2): 333–348.
- [59] Prysak MH, Mozdziejcz CJ, Cook AM, et al. Bacterial toxin YafQ is an endoribonuclease that associates with the ribosome and blocks translation elongation through sequence-specific and frame-dependent mRNA cleavage. *Mol Microbiol*, 2009, 71(5): 1071–1087.
- [60] Dörr, T, Vulić M, Lewis K. Ciprofloxacin causes persister formation by inducing the TisB toxin in *Escherichia coli*. *PLoS Biol*, 2010, 8(2): e1000317.
- [61] Kawano M, Aravind L, Storz G. An antisense RNA controls synthesis of an SOS-induced toxin evolved from an antitoxin. *Mol Microbiol*, 2007, 64(3): 738–754.
- [62] Yamaguchi Y, Park JH, Inouye M. MqsR, a crucial regulator for quorum sensing and biofilm formation, is a GCU-specific mRNA interferase in *Escherichia coli*. *J Biol Chem*, 2009, 284(42): 28746–28753.
- [63] Zhang YL, Zhang JJ, Hoeflich KP, et al. MazF cleaves cellular mRNAs specifically at ACA to block protein synthesis in *Escherichia coli*. *Mol Cell*, 2003, 12(4): 913–923.
- [64] Amitai S, Kolodkin-Gal I, Hananya-Meltabashi M, et al. *Escherichia coli* MazF leads to the simultaneous selective synthesis of both “death proteins” and “survival proteins”. *PLoS Genet*, 2009, 5(3): e1000390.
- [65] Liroy VS, Rey O, Balsa D, et al. A toxin-antitoxin module as a target for Antimicrobial development. *Plasmid*, 2010, 63(1): 31–39.
- [66] Agarwal S, Mishra NK, Bhatnagar S, et al. PemK toxin of *Bacillus anthracis* a ribonuclease: an insight into its active site, structure, and function. *J Biol Chem*, 2010, 285(10): 7254–7270.
- [67] Chopra N, Agarwal S, Verma S, et al. Modeling of the structure and interactions of the *B. anthracis* antitoxin, MoxX: deletion mutant studies highlight its modular structure and repressor function. *J Comput Aided Mol Des*, 2011, 25(3): 275–291.
- [68] Kolodkin-Gal I, Hazan R, Gaathon A, et al. A linear pentapeptide is a quorum-sensing factor required for mazEF-mediated cell death in *Escherichia coli*. *Science*, 2007, 318(5850): 652–655.
- [69] Kolodkin-Gal I, Engelberg-Kulka H. The extracellular death factor: physiological and genetic factors influencing its production and response in *Escherichia coli*. *J Bacteriol*, 2008, 190(9): 3169–3175.
- [70] Belitsky M, Avshalom H, Erental A, et al. The *Escherichia coli* extracellular death factor EDF induces the endoribonucleolytic activities of the toxins MazF and ChpBK. *Mol Cell*, 2011, 41(6): 625–635.
- [71] Erental A, Sharon I, Engelberg-Kulka H. Two programmed cell death systems in *Escherichia coli*: an apoptotic-like death is inhibited by the mazEF-mediated death pathway. *PLoS Biol*, 2012, 10(3): e1001281.
- [72] Chono H, Matsumoto K, Tsuda H, et al. Acquisition of HIV-1 resistance in T lymphocytes using an ACA-specific *E. coli* mRNA interferase. *Hum Gene Ther*, 2011, 22(1): 35–43.
- [73] Shapira A, Shapira S, Gal-Tanamy M, et al. Removal of hepatitis C virus infected cells by a zymogenized bacterial toxin. *PLoS ONE*, 2012, 7(2): e32320.
- [74] de La Cueva Méndez G, Mills AD, et al. Regulatable killing of eukaryotic cells by the prokaryotic proteins Kid and Kis. *EMBO J*, 2003, 22(2): 246–251.
- [75] Yang L, Cao Z, Li F, et al. Tumor-specific gene expression using the survivin promoter is further increased by hypoxia. *Gene Ther*, 2004, 11(15): 1215–1223.
- [76] Shimazu T, Mirochnitchenko O, Phadtare S, et al. Regression of solid tumors by induction of MazF, a bacterial mRNA endoribonuclease. *J Mol Microb Biotechnol*, 2014, 24(4): 228–233.

(本文责编 陈宏宇)