

毒素-抗毒素系统抵抗噬菌体感染研究进展

朱青健¹, 欧阳松应^{1,2}, 王勳荣^{1*}

1 福建师范大学 生命科学学院, 福建 福州

2 福建师范大学, 南方生物医学研究中心, 福建 福州

朱青健, 欧阳松应, 王勳荣. 毒素-抗毒素系统抵抗噬菌体感染研究进展[J]. 微生物学报, 2025, 65(3): 1007-1016.

ZHU Qingjian, OUYANG Songying, WANG Xurong. Toxin-antitoxin system resists phage infection: a review[J]. *Acta Microbiologica Sinica*, 2025, 65(3): 1007-1016.

摘要: 毒素-抗毒素(toxin-antitoxin, TA)系统广泛分布于细菌和古菌中。TA系统通常由一个能够抑制细菌生长的毒素和一个能够中和毒素毒性的抗毒素组成。目前, TA系统分为I-VIII型, 其中II型TA系统的研究最为深入。然而, 近年来也发现了一些非典型TA系统, 如单顺反子TA系统和三组分TA系统等。自20世纪80年代发现首个TA系统(CcdB/CcdA)以来, TA系统被认为在微生物的多种生理过程中发挥重要功能。本文综述了近年来TA系统在抵抗噬菌体感染方面的功能, 特别是TA系统如何特异性感知入侵噬菌体及其分子机制, 旨在为探索未知TA系统的生物功能及调控机制提供参考。

关键词: 毒素-抗毒素; 中和机制; 噬菌体; 模式识别受体

Toxin-antitoxin system resists phage infection: a review

ZHU Qingjian¹, OUYANG Songying^{1,2}, WANG Xurong^{1*}

1 College of Life Science, Fujian Normal University, Fuzhou, Fujian, China

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

Abstract: The toxin-antitoxin (TA) system is ubiquitous in bacteria and archaea. A typical TA system generally consists of a toxin that inhibits bacterial growth and an antitoxin that neutralizes toxin toxicity. At present, TA systems are classified into types I-VIII, of which type II system is the most extensively studied. In addition, researchers have found that there are atypical TA systems

资助项目: 国家自然科学基金(32300035); 福建省自然科学基金(2023J0123)

This work was supported by the National Natural Science Foundation of China (32300035) and the Fujian Provincial Natural Science Foundation (2023J0123).

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

Received: 2024-10-14; Accepted: 2024-11-25; Published online: 2024-12-20

such as monocistronic TA systems and three-component TA systems. After the discovery of the first TA system (CcdB/CcdA) in the 1980s, TA systems have been shown to play a key role in the physiological processes of microorganisms. In this paper, we review the research results about the roles of TA systems in resisting bacteriophage infections in recent years and summarize the neutralization mechanisms. In particular, we brief how TA systems specifically sense the invading bacteriophages and the underlying molecular mechanisms, aiming to provide reference for the research on the roles and regulation mechanisms of unknown TA systems in the future.

Keywords: toxin-antitoxin; neutralization mechanism; bacteriophage; pattern recognition receptor

毒素-抗毒素(toxin-antitoxin, TA)系统广泛存在于原核生物基因组中,特别是在细菌和古菌中,其中毒素能够降低细菌的代谢从而抑制其生长,而抗毒素可以通过精巧的方式解除毒素对细菌生长的抑制,截至目前,根据抗毒素的性质及其中和毒素的方式,TA系统已被分为I-VIII型^[1]。TA系统被认为在细菌的生命活动中的许多方面发挥着重要的功能^[2],尽管其生物学功能在某些方面仍存在争议。目前,TA系统在维持质粒稳定性^[3]和抵御噬菌体感染^[4]方面的功能已得到普遍认可,特别是近年来,多个新颖的TA系统被报道能够直接识别并响应噬菌体感染,这些研究极大地推进了人们对TA系统介导的抗噬菌体感染功能的认识。因此,本文聚焦于TA系统在抗噬菌体功能方面的研究进展,尤其是最新报道的关于TA系统中的识别受体,以一种类似于真核先天免疫系统中“病原体相关分子模式”的方式感知并响应病毒入侵的分子机制。

1 TA系统的分类与功能

TA系统通常由一个毒素和对应的抗毒素组成,人们根据抗毒素的性质(蛋白质或RNA)及毒素被中和的方式,将TA系统分为I-VIII型^[1]。随着研究的深入,还发现了一些非经典的TA系统。

1.1 经典 TA 系统的分类

TA系统被分为I-VIII型^[1]。在I型TA系统中,毒素主要是破坏细菌膜完整性的疏水短肽,这会阻碍膜电位和细胞分裂^[5],而抗毒素是反义RNA,通过与编码毒素的mRNA结合来抑制毒素的转录,从而中和其毒性^[6]。II型TA系统中的毒素和抗毒素都是蛋白质,抗毒素通常与毒素直接形成蛋白质-蛋白质复合物来抑制毒素的毒性;例如,含RES结构域的毒素ParT通过水解细胞内的NAD⁺导致细菌死亡,而抗毒素ParS可以直接与ParT相互作用,抑制其酶活性^[7]。III型TA系统中的毒素一般为核酸内切酶,抗毒素则是RNA^[8]。首个III型TA系统是在植物病原菌黑腐果胶杆菌(*Pectobacterium atrosepticum*)的质粒中发现的^[9]。在IV型TA系统中,抗毒素和毒素均为蛋白质,但它们之间不存在直接相互作用。然而,抗毒素能够通过干扰毒素与底物的结合,来调节毒素的毒性^[10]。GhoT-GhoS是目前唯一报道的V型TA系统,其中毒素GhoT通过破坏细胞膜,使宿主进入生长停滞状态,而抗毒素GhoS能够靶向GhoT的mRNA并进行切割^[11]。在VI型TA系统中,毒素SocB通过抑制DNA复制的延伸来抑制细胞活性,而抗毒素SocA则促使毒素SocB被蛋白酶ClpXP降解^[12]。VII型TA系统中的抗毒素不同于II型TA系统中的转录因子,它具有酶的功能,通过对毒素进行翻译后修饰(如磷酸化、腺

昔酸化等)来中和其毒性^[13]。VIII型TA系统中的毒素与抗毒素均为RNA,毒素的活性主要是阻断tRNA或抑制mRNA靶标,而抗毒素则通过抑制毒素的转录来中和其毒性^[14]。

1.2 非经典TA系统

除了如RnlAB、DarTG等二元TA系统外,还发现了一些非经典的TA系统,包括三组分TA系统和单顺反子TA系统^[15]等。例如,属于单顺反子TA系统的CapRel^{SJ46},其N端作为毒素可以利用ATP和GTP合成焦磷酸腺苷(pyrophosphate adenosine, ppApp),导致细胞内ppApp的过度积累并影响蛋白质合成,从而使细菌生长停滞^[16]。三组分TA系统则除了已有的毒素和同源抗毒素外,还附带一个额外的组分。例如, ω - ε - ζ 就是一个典型的三组分TA系统,起初 ε - ζ 被定义为经典的II型TA系统,其中 ζ 作为毒素,是一种蛋白激酶,可以特异性磷酸化细胞壁合成的前体尿苷二磷酸N-乙酰基-D-葡萄糖胺(urine N-acetyl- β -D-glucosaminidase, UNAG),生成尿苷二磷酸N-乙酰葡萄糖胺-3-磷酸(uridine diphosphate N-acetylglucosamine 3-phosphate, UNAG-3P),该产物可作为肽聚糖前体合成酶的竞争性抑制剂,导致肽聚糖的生物合成受损,同时毒素 ζ 也可以抑制磷壁酸的合成^[17]。第3个组分 ω 虽然未直接参与该过程,但 ε 通过阻止毒素 ζ 与ATP的结合来抑制其活性,起到整体调节的作用^[18]。最近,通过分析大肠杆菌HipBA的多样性,发现了HipBST TA系统^[19]。HipT和HipS分别与大肠杆菌毒素HipA的C端和N端约有20%的一致性,然而HipT和HipS却分别作为毒素和抗毒素发挥功能^[20]。

1.3 TA系统的生物学功能

尽管TA系统在生物中广泛存在,但目前对TA系统功能的研究仍不够清晰。一些研究表

明,TA系统在促进微生物抗逆性、维持基因组稳定性、抵抗噬菌体感染^[21]和促进细菌程序性死亡^[22]等方面均发挥作用。然而,除了维持质粒稳定性和抵抗噬菌体感染外,目前对于TA系统的其他功能仍存在争议。例如,最近发现的大肠杆菌MqsR/MqsA TA系统中,敲除mqsRA并未引起转录的显著变化,这挑战了MqsR/MqsATA系统在抗胁迫中作用的传统观点^[23]。因此,本文仅介绍TA系统在维持质粒稳定性和抗噬菌体方面的研究进展。

1.3.1 质粒稳定性的维持

F质粒上的CcdA/CcdB是首个被鉴定的TA系统^[24],它对质粒的稳定性至关重要。CcdA作为一种抗毒素相对不稳定,需要不断重新合成以抑制毒素CcdB的活性。CcdB作为毒素是一种解旋酶抑制剂,而Gyrase是一种促解旋酶。毒素通过抑制该酶进而影响DNA的复制,最终导致细胞死亡^[25]。如果质粒未携带CcdAB,则抗毒素不能持续得到补充,毒素CcdB会从Ccd-AB蛋白复合物中脱离并发挥其毒性^[26]。I型TA系统Hok/Sok也对R1质粒的稳定性起到重要作用^[27]。

1.3.2 TA系统在抗噬菌体中的功能

在生物在进化过程中,细菌产生了许多自我保护和防御机制来抵抗噬菌体感染。除了CRISPR-Cas系统和限制性修饰系统外,近年来还发现了包括TA系统在内的许多新颖的抗噬菌体系统。

尽管早在1996年就已发现TA系统可以抵抗噬菌体感染^[28],但关于TA系统如何感知噬菌体的侵染尚不清楚,最近报道的CapRel^{SJ46}、PARIS等多个TA系统可以直接识别噬菌体的特异成分,在噬菌体感染时激活TA系统来抵御感染,从而将TA系统与抗噬菌体功能直接联系起来。

2 TA 系统介导的抗噬菌体感染及机制进展

2.1 RnlA 通过降解 mRNA 抵抗 T4 噬菌体感染

RnlAB 属于 II 型 TA 系统，其中毒素 RnlA 曾称作为 Rnase LS，具有核糖核酸内切酶功能^[29]，能够靶向并降解编码腺苷酸环化酶的 mRNA，从而降低 *cyaA* 基因的表达^[30]。抗毒素 RnlB 可以与 RnlA 直接结合，解除其毒性^[31]。

最新研究表明，RnlA 是一种高等真核生物和原核生物核苷酸结合 (higher eukaryotes and prokaryotes nucleotide binding, HEPN) 蛋白，包含 N 端结构域 (N-terminal domain, NTD)、N 末端重复结构域 (N-terminal repetitive domain, NRD) 和 C 端负责与 Dmd 识别的结构域 (Dmd-binding domain, DBD)；其中 NTD 对底物的结合至关重要，C 端结构域具有典型的 HEPN 核酸酶折叠，在无底物或无抗毒素 RnlB 结合的情况下，RnlA 以非经典二聚态形式存在，抗毒素 RnlB 结合在 HEPN 二聚体界面，由 1 个 RnlA 二聚体与 2 个单体 RnlB 分子相互作用形成复合物，阻止底物接近 RX4H 的酶活中心，从而抑制 RnlA 的毒性；当噬菌体感染时，抗毒素 RnlB 会快速降解，导致毒素 RnlA 释放，激活核糖核酸内切酶活性，降解噬菌体 mRNA^[32]。

RnlAB 能够通过流产感染 (abortive infection, Abi) 的方式应对 Dmd 突变的 T4 噬菌体。所谓流产感染，是指噬菌体感染细菌时，诱导细菌“自杀”，使病毒复制被中断或无法继续进行，从而防止噬菌体扩散并感染更多“细菌”^[33]。毒素 RnlA 的活性在 T4 噬菌体感染后增强，它能快速降解 T4 噬菌体晚期基因的 mRNA，阻止这些基因的表达，从而阻止 T4 噬菌体的感染^[34]。当 T4 dmd 突变的噬菌体感染时，抗毒素 RnlB 被

快速 ClpXP 蛋白酶降解，导致毒素 RnlA 激活，而具有核酸内切酶活性的毒素 RnlA 可导致 T4 噬菌体晚期 mRNA 降解，阻止 T4 噬菌体的感染 (图 1)。相比之下，T4 噬菌体可以感染大肠杆菌，是因为噬菌体编码的 Dmd 可作为抗毒素，结合并抑制毒素 RnlA 的活性，这意味着噬菌体可以编码具有抗毒素功能的蛋白质，与宿主的毒素结合，进而有利于噬菌体的感染^[35]。

2.2 ToxIN TA 系统

ToxIN 是一个研究较为清晰的 III 型 TA 系统，其中毒素 ToxN 具有核酸内切酶活性，而抗毒素为一系列短串联重复序列的 RNA^[36]。通过 X-射线晶体学解析的大肠杆菌 ToxN 的结构发现抗毒素 ToxI 是一个 36 nt 的 RNA 假结 (pseudoknot)，并且 3 个抗毒素 ToxI 会与 3 个毒素 ToxN 通过广泛的蛋白质-RNA 相互作用，组装成一个三聚体的 ToxN-ToxI 复合物^[37]。

Fineran 等^[38] 研究结果表明，革兰氏阴性菌胡萝卜软腐坚固杆菌 (*Pectobacterium carotovorum*) 的 toxIN 系统可以通过 Abi 机制为植物病原体提供对噬菌体 Φ A2 和 Φ M1 的有效抗性保护。最近研究发现，大肠杆菌 III 型 TA 系统中的 toxIN 具有抗噬菌体功能，通过 RNA 测序技术发现，毒素 toxN 在 T4 噬菌体生活周

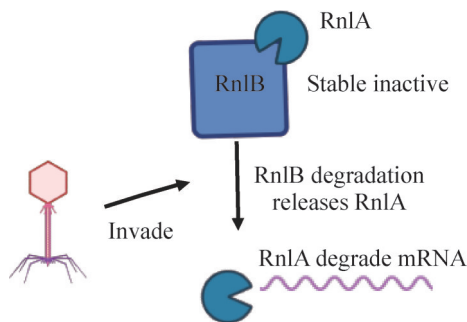


图1 RnlA通过降解mRNA抵抗T4噬菌体
Figure 1 RnlA resists T4 phage infection by degrading mRNA.

期的晚期被激活, ToxN 主要通过直接切割病毒而非宿主的 mRNA 来阻止噬菌体感染; 因此, ToxN 不会像典型的 Abi 系统那样引发细胞死亡, 而是阻断成熟病毒颗粒的产生^[39]。在 T4-like 噬菌体中, 基因 *tifA* 能够阻止 toxIN TA 系统介导的抗噬菌体功能, 最近发现 TifA 能够直接与具有核酸内切酶活性的毒素 ToxN 和抗毒素 RNA 结合, 此外, TifA 可以结合 RNA, 因此将与毒素 ToxN 捕获细胞内的 RNA, 特别是 16S rRNA 基因, 从而形成一个高分子量的蛋白质-RNA 复合物, 并使毒素 ToxN 处于失活状态^[40]。

2.3 DarTG 通过 ADP 核糖基化 DNA 阻断噬菌体 dsDNA 复制

DarTG 是一类在多种微生物中广泛分布的 TA 系统, 首次在结核分枝杆菌中被发现^[41]。其中毒素 DarT 有一个 DUF4433 结构域, 具有 ADP-核糖基转移酶 (ADP-ribosyltransferase, ADPRT) 活性。然而, 与真核细胞中 ART 将 NAD⁺ 上的 ADP-核糖基转移到蛋白质上不同, DarT 毒素以序列特异性的方式对单链 DNA 的胸腺嘧啶进行 ADP-核糖基化修饰, 从而影响 DNA 的复制, 并导致 RecA 水平升高; 抗毒素 DarG 具有一个特殊结构域, 一方面可以与毒素 DarT 直接互作, 另一方面也能够逆转毒素介导的 ADP-核糖基化修饰, 以双重方式中和毒素毒性^[42]。来自大肠埃希氏菌 (*Escherichia coli*) 的 DarTG 与结核的 DarTG 有一定类似之处, 但抗毒素 DarG 以 2 种不同的模式中和毒素的毒性: 一方面通过 N 端结构域去除 DNA 上的 ADP-核糖基, 另一方面还可以通过抗毒素的 C 端将毒素进行物理隔绝^[43]。

最近, 通过生物信息学在微生物基因组的其他防御系统附近发现了与 DarTG 同源的 2 个 TA 系统, 即 DarTG1 和 DarTG2; 这 2 个 TA 系统中, 毒素 DarT 都是 ADP-核糖基转移酶家族

蛋白, 而抗毒素属于不同的蛋白质家族; 其中, DarG1 具有一个 YbiA 家族蛋白, 而 DarG2 的 N 端则有一个 macrodomain 结构域; 研究表明 RB69 和 T5 噬菌体的感染会使毒素 DarT 快速释放, 进而导致噬菌体 DNA 的 ADP-核糖基化修饰, 阻止病毒复制, 进一步影响成熟噬菌体颗粒的产生^[44]。通过对噬菌体感染后的细菌的 DNA 进行深度测序, 发现 70% 被核糖基化修饰的 DNA 来自噬菌体, 并发现毒素 DarT1 能阻止噬菌体的复制和噬菌体新 DNA 的积累^[45]。

DarT 家族被证明在细胞中进行过表达可以使单链 DNA (single-stranded DNA, ssDNA) 发生腺苷核糖基化修饰; DarT 作为一种毒素, 具有 ADP 核糖转移酶活性, 在激活后可以通过将细胞内的 DNA 进行 ADP 核糖基化, 阻断噬菌体双链 DNA (double-stranded DNA, dsDNA) 的复制^[46]。Gros Lambert 等^[47]研究表明, DarT 毒素不是在 DNA 复制的起始阶段发挥作用, 而是在延伸过程中抑制 DNA 的复制, 而 DarG 作为抗毒素, 具有 ADP-水解酶活性, 可以将毒素 DarT 对底物的修饰进行逆转, 类似于磷酸化修饰与去磷酸化修饰乙酰化修饰、去乙酰化修饰等。

2.4 CapRel^{SJ46} 通过积累 ppApp 影响蛋白质合成抵抗噬菌体感染

虽然上述 TA 系统被证明在抵御噬菌体感染过程中发挥重要功能, 但对于这些 TA 系统如何感知噬菌体的入侵并导致 TA 系统的激活(毒素从复合物的释放)尚不清楚。CapRel^{SJ46} 是首个报道的能够直接以类似真核生物病原体相关分子模式 (pathogen-associated molecular patterns, PAMPs) 方式识别噬菌体编码的主要衣壳蛋白 (major capsid protein, MCP) 的 TA 系统^[48]。CapRel^{SJ46} 属于近年来新发现的一类 toxSAS 毒素-抗毒素系统, 在 toxSAS TA 系统中毒素是

RHS 家族蛋白，具有一个合成“报警信号”(alarmone)的结构域，它可以通过消耗 ATP，合成 ppApp 抑制细菌生长^[49]；毒素也可以将 ATP 的焦磷酸转移到 tRNA 上，对其进行焦磷酸化修饰，这将导致蛋白质翻译功能的抑制。已报道的几个 toxSAS TA 系统中，翻译抑制介导的 toxSAS TA 系统中，抗毒素 ATfaRel2 的 ZFP 结构域能够阻止 ATP 进入 FaRel2 毒素的焦磷酸盐供体位点；而产生 ppApp 报警信号的 toxSAS TA 系统中，Tis1 抗毒素占据了焦磷酸盐受体结合位点^[50]。

CapRel^{SJ46} 由单个开放阅读框编码的系统组成，是一个毒素与抗毒素融合形式的 TA 系统，CapRel^{SJ46} 的晶体结构解析表明，其 N 端是一个保守的核苷酸焦磷酸激酶结构域，该结构域存在于 alarmone 合成酶和 tRNA-焦磷酸转移酶中，发挥毒素作用；而 C 端起到抗毒素的功能，并且与细菌信号素分子合成酶(bacterial alarmone synthetase, SAS)具有同源性，进而合成 alarmone ppApp，这类蛋白是最近新发现的一类广泛存在的 TA 系统，其中毒素能够将 ATP 上

的焦磷酸转移到 tRNA 的 3'-CCA^[51]，从而抑制 tRNA 的氨基酰化和核糖体相关 RSH-RelA 对细胞氨基酸饥饿的感知，抑制蛋白质的合成(图 2)。

CapRel^{SJ46} 除了能够与 SEC027 噬菌体编码的 MCP 结合、解除 C 端抗毒素的抑制之外，来自同一个实验室的最新研究发现，Bas11 噬菌体具有 2 个 trigger，可以激活 CapRel^{SJ46}，CapRel^{SJ46} 能够通过相互重叠但又不完全相同的 sensor 区域直接结合和感知与 MCP 完全不相关、功能和结构完全不同的噬菌体的 Gp54^[52]。

2.5 TAC 系统抗噬菌体功能

毒素-抗毒素-分子伴侣(toxin-antitoxin-chaperone, TAC)系统由一个 HigBA 类型的 II 型 TA 系统和一个分子伴侣 SecB 组成，在该系统中，毒素 HigB 是一个核糖体依赖的核糖核酸酶(ribonuclease)，能够切割核糖体 A 位点结合的 mRNA，从而抑制蛋白质合成，而抗毒素的中和作用则依赖于 HigBA 和 SecB 的共同作用^[53]。最近，研究发现了属于 TAC 系统的具有抗噬菌体功能的 TA 系统，在无噬菌体感染时，分子伴侣 SecB 能够维持抗毒素的稳定性，从而抑制毒

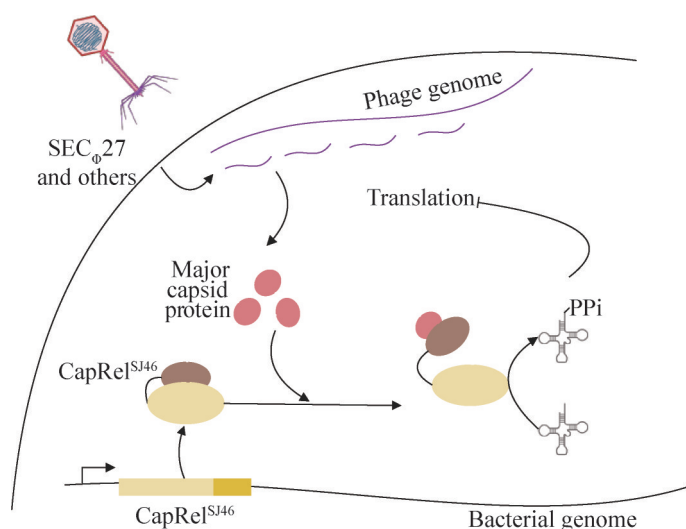


图2 CapRel^{SJ46}通过积累ppApp影响蛋白质合成抵抗噬菌体感染

Figure 2 CapRel^{SJ46} affects protein synthesis to resist phage infection by accumulating ppApp.

素毒性；遇到噬菌体感染后，SecB 会通过降解抗毒素来激发毒素的活性，从而阻止噬菌体的繁殖^[54]。最近的研究揭示了 *E. coli* NT1F31 中的 HigBAC TA 系统发挥抗噬菌体感染的分子机制，与 MtbTAC 中的 MtbSecB 分子伴侣类似，HigBAC 中的 SecB 通过芳香族特异性识别模式来识别用于稳定抗毒素的“分子伴侣成瘾”区域(chaperone addiction, ChAD)，该区域位于抗毒素的 C 端^[55]。当受到噬菌体感染时，HigBAC 系统可以识别噬菌体的主要尾部蛋白 gpV，由于分子伴侣 HigC 以相似的方式结合 gpV 与 ChAD，噬菌体的 gpV 会竞争性地结合抗毒素的 ChAD，导致抗毒素不能与分子伴侣 HigC 结合，从而发生降解，这一过程会激活 HigB 毒素的活性，通过影响翻译来阻碍噬菌体的繁殖(图 3)^[56]。

除了 HigBAC 之外，CmdTAC 也属于 TAC 系统。来自大肠杆菌 ECOR22 的 CmdTAC (也称 PD-T4-9)中，毒素 CmdT 是一个具有 HYE 家族 ADP-核糖基转移酶功能的效应蛋白，而抗毒素为 CmdA，在该 TA 系统中，分子伴侣样的 CmdC 作为感知噬菌体衣壳蛋白的感应器，当噬菌体感染发生时，新合成的 T4 噬菌体的衣壳蛋白会被 CmdC 感知，从而触发 CmdC 从 CmdTAC 中分离出来，导致该 TA 系统的不稳定和抗毒素 CmdA 的降解，最终导致具有 ADP-核糖基转移酶活性的毒素的释放^[57]。

2.6 AriB 通过切割宿主 tRNA^{Lys} 抵抗噬菌体感染

细菌噬菌体抗限制诱导系统(phage anti-restriction-induced system, PARIS)是最近被鉴定的位于细菌基因组的防御岛的抗噬菌体系统，它存在于整合到宿主大肠杆菌基因组中的 P4 样噬菌体卫星位点；PARIS 包含 1 个 SMC 家族 ATPase 蛋白 AriA 和 1 个金属依赖的 TOPRIM/OLD 家族核酸酶，先前的研究表明，

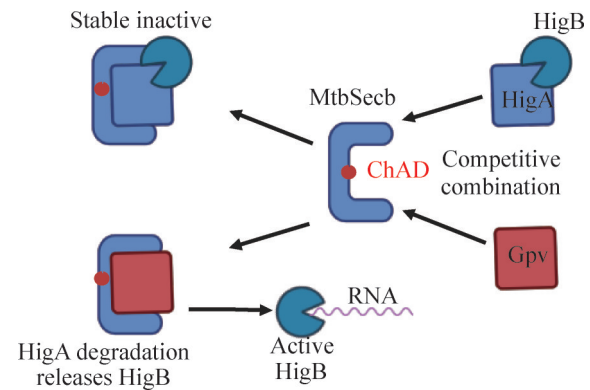


图3 噬菌体主要尾部蛋白GpV激活HigBAC，抵御噬菌体感染

Figure 3 The HigBAC can resist phage infection by recognizing the GpV tail protein of phage.

T7 噬菌体的 Ocr 的错义突变可以使其逃逸细菌的 PARIS 免疫系统^[58]。最新的研究结果表明，PARIS 能被 T7 噬菌体编码的蛋白质 Ocr 激活，Ocr 富含带负电荷的氨基酸，已被证明能够模拟 DNA，在 I 型限制修饰系统和 BREX 防御系统中，Ocr 可以抑制它们的抗噬菌体功能^[59]。PARIS 中的 AriA 和 AriB 对于其抗噬菌体功能都是必需的，通过 Pull-down 实验发现，AriA 的 ATPase 活性对于 AriA 和 AriB 的组装至关重要，而对于 AriB 的分离则无影响；AriA 与 Ocr 的结合会极大地降低其 ATPase 活性，但如果 AriA 结合 ATP 的 Walker A 发生突变，则会影响 AriA 与 Ocr 的结合^[60]。

最近的研究还发现，PARIS 属于 II 型 TA 系统，其中 AriA 作为抗毒素，而 AriB 则充当毒素的角色，在未受到噬菌体感染时，由于 AriA 的结合，毒素 AriB 处于无活性状态，研究人员通过冷冻电镜解析了 PARIS 系统的结构，发现单独的 AriA 以六聚体形式存在，而 AriA 和 AriB 会组装成一个比例为 6:3 的类似水母状的复合物，从而维持其无活性状态；与 AriA 分离的毒素 AriB 可降解宿主赖氨酸 tRNA (tRNA^{Lys})，

从而阻断蛋白质翻译过程，导致细菌生长停滞或细胞死亡^[61]。另外，T5噬菌体却可以表达一个 tRNA^{Lys} 的突变体，因此这个突变体不被 PARIS 切割，从而能够逃避 PARIS TA 系统提供的免疫保护^[62]。

3 总结与展望

研究发现，TA 系统在致病微生物中的分布较为广泛，且与微生物的致病性密切相关，这一特性引起了众多微生物学家及医药学界的广泛关注。特别是本文重点阐述的 TA 系统，能够直接感知并响应噬菌体的存在，从而发挥强大的抗噬菌体功能。噬菌体能够特异性杀死细菌，而不引起细菌的耐药性的产生，被视为抗生素的一个替代方案。然而，细菌体内所携带的如 TA 系统、CRISPR-Cas 等免疫系统，会对噬菌体产生显著影响，可以被用于工业上，开发防止噬菌体感染的发酵菌株^[63]。因此，对 TA 系统机制进行深入研究，不仅有助于进一步理解细菌的防御机制，还可为设计高效的噬菌体制剂提供理论基础和新思路，同时为解决工业上的噬菌体污染等问题开辟新的途径。

作者贡献声明

朱青健：负责论文的撰写与修改；欧阳松应：对论文进行了审阅；王勖荣：负责绘图工作并汇总了相关文献。

作者利益冲突公开声明

作者声明不存在任何可能会影响本文所报告工作的已知经济利益或个人关系。

参考文献

- [1] JURÉNAS D, FRAIKIN N, GOORMAGHTIGH F, van MELDEREN L. Biology and evolution of bacterial toxin-antitoxin systems[J]. *Nature Reviews Microbiology*, 2022, 20(6): 335-350.
- [2] SONG S, WOOD TK. A primary physiological role of toxin/antitoxin systems is phage inhibition[J]. *Frontiers in Microbiology*, 2020, 11: 1895.
- [3] OGURA T, HIRAGA S. Mini-F plasmid genes that couple host cell division to plasmid proliferation[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 1983, 80(15): 4784-4788.
- [4] NAKA KT, QI D, YONESAKI T, OTSUKA Y. RnlB antitoxin of the *Escherichia coli* RnlA-RnlB toxin-antitoxin module requires RNase HI for inhibition of RnlA toxin activity[J]. *Toxins*, 2017, 9(1): 29.
- [5] BRIELLE R, PINEL-MARIE ML, FELDEN B. Linking bacterial type I toxins with their actions[J]. *Current Opinion in Microbiology*, 2016, 30: 114-121.
- [6] GERDES K. The parB (hok/sok) locus of plasmid R1: a general purpose plasmid stabilization system[J]. *Bio/Technology*, 1988, 6: 1402-1405.
- [7] JIANG Y, POGLIANO J, HELINSKI DR, KONIECZNY I. ParE toxin encoded by the broad-host-range plasmid RK2 is an inhibitor of *Escherichia coli* gyrase[J]. *Molecular Microbiology*, 2002, 44(4): 971-979.
- [8] BLOWER TR, SHORT FL, RAO F, MIZUGUCHI K, PEI XY, FINERAN PC, LUISI BF, SALMOND GP. Identification and classification of bacterial type III toxin-antitoxin systems encoded in chromosomal and plasmid genomes. *Nucleic Acids Research*, 2012, 40(13): 6158-6173.
- [9] BLOWER TR, FINERAN PC, JOHNSON MJ, TOTH IK, HUMPHREYS DP, SALMOND GPC. Mutagenesis and functional characterization of the RNA and protein components of the toxIN abortive infection and toxin-antitoxin locus of *Erwinia*[J]. *Journal of Bacteriology*, 2009, 191(19): 6029-6039.
- [10] MASUDA H, TAN Q, AWANO N, WU KP, INOUE M. YeeU enhances the bundling of cytoskeletal polymers of MreB and FtsZ, antagonizing the CbtA (YeeV) toxicity in *Escherichia coli*[J]. *Molecular Microbiology*, 2012, 84(5): 979-989.
- [11] CHENG HY, SOO VWC, ISLAM S, McANULTY MJ, BENEDIK MJ, WOOD TK. Toxin GhoT of the GhoT/GhoS toxin/antitoxin system damages the cell membrane to reduce adenosine triphosphate and to reduce growth under stress[J]. *Environmental Microbiology*, 2014, 16(6): 1741-1754.
- [12] MARKOVSKI M, WICKNER S. Preventing bacterial suicide: a novel toxin-antitoxin strategy[J]. *Molecular Cell*, 2013, 52(5): 611-612.
- [13] YAO JY, ZHEN XK, TANG KH, LIU TL, XU XL, CHEN Z, GUO YX, LIU XX, WOOD TK, OUYANG SY, WANG XX. Novel polyadenylation-dependent neutralization mechanism of the HEPN/MNT toxin/antitoxin system[J]. *Nucleic Acids Research*, 2020, 48(19): 11054-11067.
- [14] CHOI JS, KIM W, SUK S, PARK H, BAK G, YOON J, LEE Y. The small RNA, SdsR, acts as a novel type of toxin in *Escherichia coli*[J]. *RNA Biology*, 2018, 15(10): 1319-1335.
- [15] WANG XX, YAO JY, SUN YC, WOOD TK. Type VII toxin/antitoxin classification system for antitoxins that enzymatically neutralize toxins[J]. *Trends in Microbiology*,

- 2021, 29(5): 388-393.
- [16] AHMAD S, WANG B, WALKER MD, TRAN HR, STOGIOS PJ, SAVCHENKO A, GRANT RA, MCARTHUR AG, LAUB MT, WHITNEY JC. An interbacterial toxin inhibits target cell growth by synthesizing (p)ppApp[J]. *Nature*, 2019, 575(7784): 674-678.
- [17] SWOBODA JG, CAMPBELL J, MEREDITH TC, WALKER S. Wall teichoic acid function, biosynthesis, and inhibition[J]. *ChemBioChem*, 2010, 11(1): 35-45.
- [18] SCHUSTER CF, BERTRAM R. Toxin-antitoxin systems of *Staphylococcus aureus*[J]. *Toxins*, 2016, 8(5): 140.
- [19] VANG NIELSEN S, TURNBULL KJ, ROGHANIAN M, BÆRENTSEN R, SEMANJSKI M, BRODERSEN DE, MACEK B, GERDES K. Serine-threonine kinases encoded by split *hipA* homologs inhibit tryptophanyl-tRNA synthetase[J]. *mBio*, 2019, 10(3): e01138-19.
- [20] BÆRENTSEN RL, NIELSEN SV, SKJERNING RB, LYNGSØ J, BISIACK F, PEDERSEN JS, GERDES K, SØRENSEN MA, BRODERSEN DE. Structural basis for kinase inhibition in the tripartite *E. coli* HipBST toxin-antitoxin system[J]. *eLife*, 2023, 12: RP90400.
- [21] GERMAIN E, CASTRO-ROA D, ZENKIN N, GERDES K. Molecular mechanism of bacterial persistence by HipA[J]. *Molecular Cell*, 2013, 52(2): 248-254.
- [22] SAT B, RECHES M, ENGELBERG-KULKHA H. The *Escherichia coli* mazEF suicide module mediates thymineless death[J]. *Journal of Bacteriology*, 2003, 185(6): 1803-1807.
- [23] FRAIKIN N, ROUSSEAU CJ, GOEDERS N, van MELDEREN L. Reassessing the role of the type II MqsRA toxin-antitoxin system in stress response and biofilm formation: *mqsA* is transcriptionally uncoupled from *mqsR*[J]. *mBio*, 2019, 10(6): e02678-19.
- [24] MORI H, OGURA T, HIRAGA S. Prophage lambda induction caused by mini-F plasmid genes[J]. *Molecular and General Genetics*, 1984, 196(2): 185-193.
- [25] AFIF H, ALLALI N, COUTURIER M, van MELDEREN L. The ratio between CcdA and CcdB modulates the transcriptional repression of the *ccd* poison-antidote system[J]. *Molecular Microbiology*, 2001, 41(1): 73-82.
- [26] TAM JE, KLINE BC. The F plasmid *ccd* autorepressor is a complex of CcdA and CcdB proteins[J]. *Molecular & General Genetics*, 1989, 219(1/2): 26-32.
- [27] WOZNIAK RAF, WALDOR MK. A toxin-antitoxin system promotes the maintenance of an integrative conjugative element[J]. *PLoS Genetics*, 2009, 5(3): e1000439.
- [28] KAI T, SELICK HE, YONESAKI T. Destabilization of bacteriophage T4 mRNAs by a mutation of gene 61.5[J]. *Genetics*, 1996, 144(1): 7-14.
- [29] OTSUKA Y, YONESAKI T. A novel endoribonuclease, RNase LS, in *Escherichia coli*[J]. *Genetics*, 2005, 169(1): 13-20.
- [30] IWAMOTO A, LEMIRE S, YONESAKI T. Post-transcriptional control of Crp-cAMP by RNase LS in *Escherichia coli*[J]. *Molecular Microbiology*, 2008, 70(6): 1570-1578.
- [31] KOGA M, OTSUKA Y, LEMIRE S, YONESAKI T. *Escherichia coli* rnlA and rnlB compose a novel toxin-antitoxin system[J]. *Genetics*, 2011, 187(1): 123-130.
- [32] GARCIA-RODRIGUEZ G, CHARLIER D, WILMAERTS D, MICHIELS J, LORIS R. Alternative dimerization is required for activity and inhibition of the HEPN ribonuclease RnlA[J]. *Nucleic Acids Research*, 2021, 49(12): 7164-7178.
- [33] OTSUKA Y, YONESAKI T. Dmd of bacteriophage T4 functions as an antitoxin against *Escherichia coli* LsoA and RnlA toxins[J]. *Molecular Microbiology*, 2012, 83(4): 669-681.
- [34] UENO H, YONESAKI T. Recognition and specific degradation of bacteriophage T4 mRNAs[J]. *Genetics*, 2001, 158(1): 7-17.
- [35] WEI Y, GAO ZQ, ZHANG H, DONG YH. Structural characterizations of phage antitoxin Dmd and its interactions with bacterial toxin RnlA[J]. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 2016, 472(4): 592-597.
- [36] SHORT FL, AKUSOBI C, BROADHURST WR, SALMOND GPC. The bacterial Type III toxin-antitoxin system, ToxIN, is a dynamic protein-RNA complex with stability-dependent antiviral abortive infection activity[J]. *Scientific Reports*, 2018, 8(1): 1013.
- [37] BLOWER TR, PEI XY, SHORT FL, FINERAN PC, HUMPHREYS DP, LUISI BF, SALMOND GPC. A processed noncoding RNA regulates an altruistic bacterial antiviral system[J]. *Nature Structural & Molecular Biology*, 2011, 18(2): 185-190.
- [38] FINERAN PC, BLOWER TR, FOULDS IJ, HUMPHREYS DP, LILLEY KS, SALMOND GPC. The phage abortive infection system, ToxIN, functions as a protein-RNA toxin-antitoxin pair[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2009, 106(3): 894-899.
- [39] GUEGLER CK, LAUB MT. Shutoff of host transcription triggers a toxin-antitoxin system to cleave phage RNA and abort infection[J]. *Molecular Cell*, 2021, 81(11): 2361-2373.e9.
- [40] GUEGLER CK, TEODORO GIC, SRIKANT S, CHETLAPALLI K, DOERING CR, GHOSE DA, LAUB MT. A phage-encoded RNA-binding protein inhibits the antiviral activity of a toxin-antitoxin system[J]. *Nucleic Acids Research*, 2024, 52(3): 1298-1312.
- [41] Sundaram K, Vajravelu LK, Paul AJ. Functional characterization of toxin-antitoxin system in *Mycobacterium tuberculosis*[J]. *Indian Journal of Tuberculosis*, 2023, 70(2): 149-157.
- [42] SCHULLER M, BUTLER RE, ARIZA A, TROMANSCOIA C, JANKEVICIUS G, CLARIDGE TDW, KENDALL SL, GOH S, STEWART GR, AHEL I. Molecular basis for DarT ADP-ribosylation of a DNA base[J]. *Nature*, 2021, 596(7873): 597-602.
- [43] LAWARÉE E, JANKEVICIUS G, COOPER C, AHEL I, UPHOFF S, TANG CM. DNA ADP-ribosylation stalls replication and is reversed by RecF-mediated homologous recombination and nucleotide excision repair[J]. *Cell Reports*, 2020, 30(5): 1373-1384.e4.
- [44] LeROUX M, SRIKANT S, TEODORO GIC, ZHANG T, LITTLEHALE ML, DORON S, BADIOE M, LEUNG

- AKL, SOREK R, LAUB MT. The DarTG toxin-antitoxin system provides phage defence by ADP-ribosylating viral DNA[J]. *Nature Microbiology*, 2022, 7(7): 1028-1040.
- [45] JANKEVICIUS G, ARIZA A, AHEL M, AHEL I. The toxin-antitoxin system DarTG catalyzes reversible ADP-ribosylation of DNA[J]. *Molecular Cell*, 2016, 64: 1109-1116.
- [46] DEEP A, SINGH L, KAUR J, VELUSAMY M, BHARDWAJ P, SINGH R, THAKUR KG. Structural insights into DarT toxin neutralization by cognate DarG antitoxin: ssDNA mimicry by DarG C-terminal domain keeps the DarT toxin inhibited[J]. *Structure*, 2023, 31(7): 780-789.e4.
- [47] GROSLAMBERT J, PROKHOROVA E, AHEL I. ADP-ribosylation of DNA and RNA[J]. *DNA Repair*, 2021, 105: 103144.
- [48] GACA AO, KUDRIN P, COLOMER-WINTER C, BELJANTSEVA J, LIU K, ANDERSON B, WANG JD, REJMAN D, POTRYKUS K, CASHEL M, HAURYLIUK V, LEMOS JA. From (p)ppGpp to (pp) pGpp: characterization of regulatory effects of pGpp Synthesized by the small alarmone synthetase of *Enterococcus faecalis*[J]. *Journal of Bacteriology*, 2015, 197(18): 2908-2919.
- [49] JIMMY S, SAHA CK, KURATA T, STAVROPOULOS C, OLIVEIRA SRA, KOH A, CEPASKAS A, TAKADA H, REJMAN D, TENSION T, STRAHL H, GARCIA-PINO A, HAURYLIUK V, ATKINSON GC. A widespread toxin-antitoxin system exploiting growth control via alarmone signaling[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2020, 117: 10500-10510.
- [50] DOMINGUEZ-MOLINA L, KURATA T, CEPASKAS A, EHEMENDIA-BLANCO D, ZEDEK S, TALAVERA-PEREZ A, ATKINSON GC, HAURYLIUK V, GARCIA-PINO A. Mechanisms of neutralization of toxSAS from toxin-antitoxin modules[J]. *Nature Chemical Biology*, 2024, 32(7): 1059-1073.
- [51] KURATA T, BRODIAZHENKO T, ALVES OLIVEIRA SR, ROGHANIAN M, SAKAGUCHI Y, TURNBULL KJ, BULVAS O, TAKADA H, TAMMAN H, AINELO A, POHL R, REJMAN D, TENSION T, SUZUKI T, GARCIA-PINO A, ATKINSON GC, HAURYLIUK V. RelA-SpoT homolog toxins pyrophosphorylate the CCA end of tRNA to inhibit protein synthesis[J]. *Molecular Cell*, 2021, 81(15): 3160-3170.
- [52] ZHANG T, CEPASKAS A, NADIEINA A, THUREAU A, WALLANT KC, MARTENS C, LIM DC, GARCIA-PINO A, LAUB MT. A bacterial immunity protein directly senses two disparate phage proteins[J]. *Nature*, 2024, 635(8039): 728-735.
- [53] BORDES P, CIRINESI AM, UMMELS R, SALA A, SAKR S, BITTER W, GENEVAUX P. SecB-like chaperone controls a toxin-antitoxin stress-responsive system in *Mycobacterium tuberculosis*[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2011, 108(20): 8438-8443.
- [54] SCHURECK MA, MAEHIGASHI T, MILES SJ, MARQUEZ J, DUNHAM CM. mRNA bound to the 30S subunit is a HigB toxin substrate[J]. *RNA*, 2016, 22(8): 1261-1270.
- [55] TEXIER P, BORDES P, NAGPAL J, SALA AJ, MANSOUR M, CIRINESI AM, XU XB, DOUGAN DA, GENEVAUX P. ClpXP-mediated degradation of the TAC antitoxin is neutralized by the SecB-like chaperone in *Mycobacterium tuberculosis*[J]. *Journal of Molecular Biology*, 2021, 433(5): 166815.
- [56] METS T, KURATA T, ERNITS K, JOHANSSON MJO, CRAIG SZ, EVORA GM, BUTTRESS JA, ODAI R, WALLANT KC, NAKAMOTO JA, SHYROKOVA L, EGOROV AA, DOERING CR, BRODIAZHENKO T, LAUB MT, TENSION T, STRAHL H, MARTENS C, HARMS A, GARCIA-PINO A, et al. Mechanism of phage sensing and restriction by toxin-antitoxin-chaperone systems[J]. *Cell Host & Microbe*, 2024, 32(7): 1059-1073.e8.
- [57] VASSALLO CN, DOERING CR, LITTLEHALE ML, TEODORO GIC, LAUB MT. A functional selection reveals previously undetected anti-phage defence systems in the *E. coli* pangenome[J]. *Nature Microbiology*, 2022, 7(10): 1568-1579.
- [58] ROUSSET F, DEPARDIEU F, MIELE S, DOWDING J, LAVAL AL, LIEBERMAN E, GARRY D, ROCHA EPC, BERNHEIM A, BIKARD D. Phages and their satellites encode hotspots of antiviral systems[J]. *Cell Host & Microbe*, 2022, 30(5): 740-753.e5.
- [59] ATANASIU C, SU TJ, STURROCK SS, DRYDEN DTF. Interaction of the ocr gene 0.3 protein of bacteriophage T7 with EcoKI restriction/modification enzyme[J]. *Nucleic Acids Research*, 2002, 30(18): 3936-3944.
- [60] HOPFNER KP, TAINER JA. Rad50/SMC proteins and ABC transporters: unifying concepts from high-resolution structures[J]. *Current Opinion in Structural Biology*, 2003, 13(2): 249-255.
- [61] DEEP A, LIANG QS, ENUSTUN E, POGLIANO J, CORBETT KD. Architecture and activation mechanism of the bacterial PARIS defence system[J]. *Nature*, 2024, 634(8033): 432-439.
- [62] BURMAN N, BELUKHINA S, DEPARDIEU F, WILKINSON RA, SKUTEL M, SANTIAGO-FRANGOS A, GRAHAM AB, LIVENSKYI A, CHECHENINA A, MOROZOVA N, ZAHL T, HENRIQUES WS, BUYUKYORUK M, ROUILLON C, SAUDEMONT B, SHYROKOVA L, KURATA T, HAURYLIUK V, SEVERINOV K, GROSEILLE J, et al. A virally encoded tRNA neutralizes the PARIS antiviral defence system[J]. *Nature*, 2024, 634(8033): 424-431.
- [63] ZOU X, XIAO XH, MO ZR, GE YS, JIANG X, HUANG RL, LI MX, DENG ZX, CHEN S, WANG LR, LEE SY. Systematic strategies for developing phage resistant *Escherichia coli* strains[J]. *Nature Communications*, 2022, 13(1): 4491.