

假单胞菌噬菌体基因组学研究进展

徐志伟, 魏云林, 季秀玲

昆明理工大学生命科学与技术学院, 昆明 650500

摘要: 假单胞菌属(*Pseudomonas* spp.)是地球上重要的生态菌群之一, 广泛分布于淡水、土壤等生态环境。假单胞菌噬菌体是以假单胞菌为宿主的病毒, 不仅影响宿主的生存状况和进化过程, 而且在生物物质循环和能量流动中扮演着重要角色。随着基因组测序技术的飞速发展, 许多假单胞菌噬菌体的全基因组测序工作已经完成。截至 2020 年 7 月, GenBank 收录的假单胞菌噬菌体基因组数有 247 条, 占全部病毒基因组(10,069 条)的 2.45%。由于假单胞菌噬菌体基因组大小差异较大、遗传含量不同、基因组之间相似性较低, 因此对假单胞菌噬菌体基因组的研究相对较少。本文主要对假单胞菌噬菌体基因组的特点、遗传多样性和功能基因方面的研究进行了综述, 以期理解细菌和噬菌体的对抗性共进化作用以及噬菌体的遗传进化提供参考。

关键词: 假单胞菌噬菌体; 基因组; 遗传多样性; 功能基因

Progress on phage genomics of *Pseudomonas* spp.

Zhiwei Xu, Yunlin Wei, Xiuling Ji

Faculty of Life Science and Technology, Kunming University of Science and Technology, Kunming 650500, China

Abstract: *Pseudomonas* spp. are one of the most important ecological flora on the earth, widely distributed in freshwater, soil and other ecological environments. *Pseudomonas* phages are viruses hosted by *Pseudomonas* spp., which not only affect the survival and evolution of the hosts, but also play important roles in biomass circulation and energy flow. With the rapid development of genome sequencing technologies, the whole genome sequences of many *Pseudomonas* phages have been completed. As of July 2020, 247 *Pseudomonas* phage genomes were deposited in GenBank, accounting for 2.45% of the total 10,069 viral genomes. The genome sizes of *Pseudomonas* bacteriophages and the genetic contents are different, and the similarity between genomes is low, so the study on *Pseudomonas* bacteriophage genomes is relatively less. In this review, we summarize the characteristics, genetic diversity, and functional genes of *Pseudomonas* bacteriophages genomes in order to provide a reference for understanding the antagonistic coevolution of bacteria and phages and the genetic evolution of phages.

Keywords: *Pseudomonas* phage; genome; genetic diversity; functional gene

收稿日期: 2020-04-26; 修回日期: 2020-07-10

基金项目: 国家自然科学基金项目(编号:31860147,31700324)资助[Supported by the National Natural Science Foundation of China (Nos. 31860147, 31700324)]

作者简介: 徐志伟, 在读硕士研究生, 专业方向: 低温微生物。E-mail: 511921187@qq.com

通讯作者: 季秀玲, 博士, 副教授, 研究方向: 低温微生物。E-mail: jixiuling1023@126.com

DOI: 10.16288/j.yczs.19-272

网络出版时间: 2020/7/16 17:35:56

URI: <https://kns.cnki.net/kcms/detail/11.1913.R.20200716.1514.002.html>

假单胞菌属(*Pseudomonas* spp.)是重要的生态菌群之一,包括植物共生体(施氏假单胞菌(*Pseudomonas stutzeri*))和荧光假单胞菌(*Pseudomonas fluorescens*)、植物病原体(丁香假单胞菌(*Pseudomonas syringae*))、人类和动物病原体(铜绿假单胞菌(*Pseudomonas aeruginosa*))和可用于生物修复的恶臭假单胞菌(*Pseudomonas putida*)等。假单胞菌对环境具有极强的适应能力,广泛分布于淡水、土壤等生态环境中^[1]。

噬菌体是微生物群落的重要组成部分,作为细菌的天敌可以入侵破坏宿主细胞的新陈代谢,对地球生物化学循环和生态系统物质循环产生重要影响。作为病毒的一种,噬菌体具有一般病毒体积微小和结构简单等特性,同时因为体内只含有单一核酸,不具备完整的细胞结构,只能寄生在活菌中,对宿主具有严格的特异性;在调节微生物群落结构、促进生物进化方面扮演着重要作用^[2,3]。

假单胞菌噬菌体是以假单胞菌为宿主的病毒,由于其宿主假单胞菌在自然环境中分布广泛,因此易于从自然界中分离得到。对假单胞菌噬菌体基因组的研究揭示了噬菌体基因组的多样性,反映了其宿主假单胞菌的遗传多样性,体现不同假单胞菌噬菌体之间序列的相似性和差异性等。因此,开展假单胞菌噬菌体基因组的研究,对了解噬菌体遗传进化、噬菌体-宿主相互作用的分子机制具有重要的意义^[4,5]。结合近年来该领域相关的研究进展,本文主要对假单胞菌噬菌体基因组特点、遗传多样性和功能基因的研究等方面进行综述,以期为进一步研究假单胞菌噬菌体基因组提供参考。

1 假单胞菌噬菌体基因组基本特点

随着DNA测序技术的不断发展,大量噬菌体全基因组被测序。截止2020年7月,GenBank全基因组数据库中提交的假单胞菌噬菌体基因组序列有247条,占全部病毒组数据库(10,069条)的2.45%。综合来看,假单胞菌噬菌体基因组具有如下特点。

(1)假单胞菌噬菌体基因组具有嵌合基因结构。这种基因组嵌合结构不是噬菌体群体所特有的,在细菌中也广泛存在,随着可供分析的噬菌体基因组的数量增加,这种现象在噬菌体基因组中表现得更加明显^[6]。

噬菌体基因组具有嵌合现象最早可以通过异源双链DNA定位法对核苷酸序列比较分析,随后通过对DNA序列的大量解析,可以在两段相应的DNA序列边缘观察到基因组的嵌合结构^[7]。嵌合基因结构可以通过高频率水平基因转移(horizontal gene transfer, HGT)得到,每个基因组可以被看作一个可交换的模块(这些模块可以是单个的基因或者基因群,也可以是单个蛋白的功能区域),从而使得噬菌体基因组具有更多的机会去获得所需要的基因库^[8]。例如,Amgarten等^[9]从堆肥中分离得到3株假单胞菌噬菌体,对其进行了基因组测序、组装和注释;其中ZC03与ZC08两株噬菌体的基因组比对结果显示:它们的基因组序列相似性高达95%;基因的多重比对显示这些基因之间存在共线性关系,为它们属于远源同源基因提供了证据,同时呈现出镶嵌型基因组特点。Pauline等^[10]从铜绿假单胞菌转座噬菌体中分离得到噬菌体D3112,并对D3112的全基因组进行了测序;基因序列与Mu样噬菌体和前噬菌体具有48%的相似性,同时尾蛋白基因与大肠杆菌(*Escherichia coli*)的原噬菌体和金黄色葡萄球菌(*Staphylococcus aureus*)噬菌体Phi12中的原噬菌体序列高度相似;系统发育分析揭示了假单胞噬菌体D3112基因组的高度镶嵌结构,并证明了遗传物质的水平交换在噬菌体进化中发挥了重要作用。嵌合基因结构是噬菌体在漫长的进化中不断选择或者淘汰重组子的结果,噬菌体基因组的嵌合结构有益于研究基因的进化历程。

(2)假单胞菌噬菌体具有比宿主菌更低的G+C含量,基因组之间遗传差异较大。Denver等^[11]对130个假单胞菌噬菌体基因组进行测序分析,发现这些假单胞菌噬菌体基因组具有多种G+C含量,最低的G+C含量为37%。Wittmann等^[12]从废水处理厂分离得到两株噬菌体JWAlpha和JWDelta,基因组测序分析发现JWAlpha和JWDelta的G+C含量分别为54.4%和54.2%,明显低于宿主菌的G+C含量(65%~66%);其他N4样噬菌体基因组也存在G+C含量明显低于宿主菌的现象。铜绿假单胞菌噬菌体D3112的G+C平均含量为64.34%,而其宿主铜绿假单胞菌的G+C含量为67%(图1)^[10],两者之间含量非常接近;D3112基因组中ORF1与ORF2的G+C含量更低,分别为56%和53%,还有一些ORF的G+C

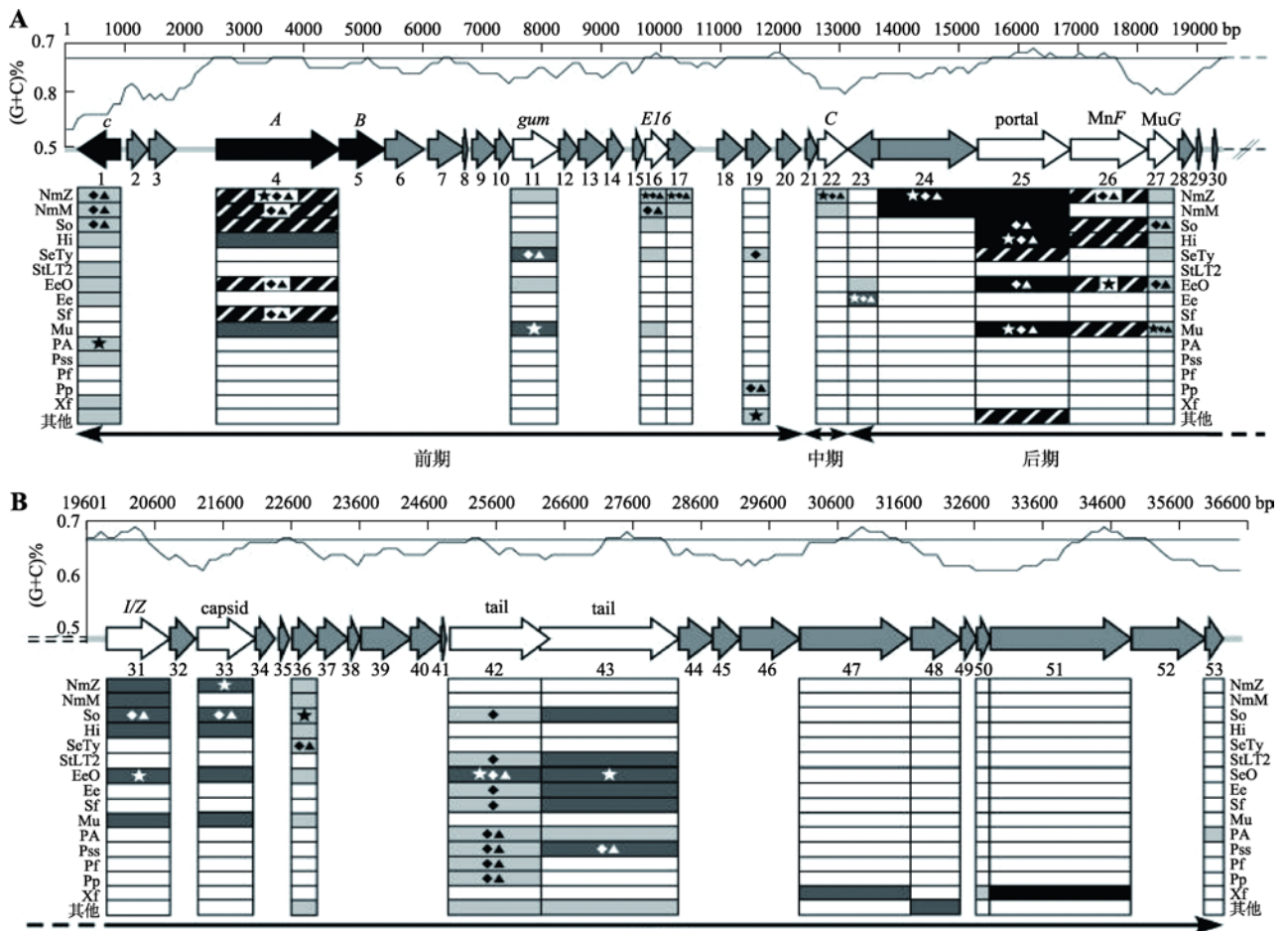


图 1 铜绿假单胞菌与噬菌体 D3112 的遗传图谱

Fig. 1 Genetic maps of *Pseudomonas aeruginosa* and bacteriophage D3112

A: 铜绿假单胞菌遗传图; B: 噬菌体 D3112 遗传图。遗传图谱上方是 G+C 含量的图形表示, 与基因图谱按比例绘制。中间部分显示了 D3112 预测的 ORF 及其方向, 由实心箭头表示。每个箭头下方的数字对应于 ORF 编号, 每个箭头上方名称标识具有高度相似性的已知蛋白质。黑色箭头 A、B、c 表示 3 个先前测序的基因, 白色箭头表示与已知蛋白质相似的 ORF, 灰色箭头表示未知的 ORF。左侧方框表示与噬菌体 D3112 宿主高度相似的细菌, 阴影表示不同程度的相似性。NmZ: 脑膜炎奈瑟球菌 Z2491; NmM: 脑膜炎奈瑟球菌 MC58; So: *S. oneidensis*; Hi: 流感嗜血杆菌; SeTy: 肠炎沙门氏菌; StLT2: 肠炎链球菌 LT2; EcO: 大肠杆菌 O157:H7; Ec: 大肠杆菌; Sf: 弗氏志贺菌; Mu: 肠噬菌体 Mu; PA: 铜绿假单胞菌; Pss: 丁香属; Pf: 荧光假单胞菌; Pp: 恶臭假单胞菌; Xf: *X. fastidiosa*。框内的星号表示基于期望值与 D3112 ORF 具有最高相似性的物种, 菱形显示通过贝叶斯方法与 D3112 ORF 最密切相关的物种, 而三角形显示通过邻点连接法与 D3112 ORF 最密切相关的物种。

含量在 60% 左右; 表明这些基因来自于低 G+C 含量的生物, 揭示了噬菌体从其他细菌宿主中转移的现象, 导致假单胞菌噬菌体的基因组在遗传进化过程中差异性较大。假单胞菌噬菌体基因组中低水平的 G+C 含量, 也是宿主菌长期适应不同环境而产生的一种进化。

(3) 假单胞菌噬菌体基因组密度大、非编码区域少。假单胞菌噬菌体基因组中, 平均每 600 bp 长度含有一个假定基因^[13]。从基因密度来看: 编码区堆

积紧密, 基因之间的间隙少, 编码潜力很高。例如, 假单胞菌噬菌体 PaP1 基因组由 91,715 个碱基对(bp) 组成, G+C 含量为 49.36%。基因组中总共预测到 541 个 ORF, 只有约 13.8% 属于非编码区^[14]。从噬菌体 PaP1 (GenBank ID: HQ832595) 的基因组注释结果来看(图 2), 由于 ORF 之间紧密地结合在一起, 导致基因之间的间隔很小, 显示编码区的基因密度很高。18 株铜绿假单胞菌噬菌体基因组图谱分析表明: 基因组中编码区排列紧凑, 功能基因之间间隙较少;

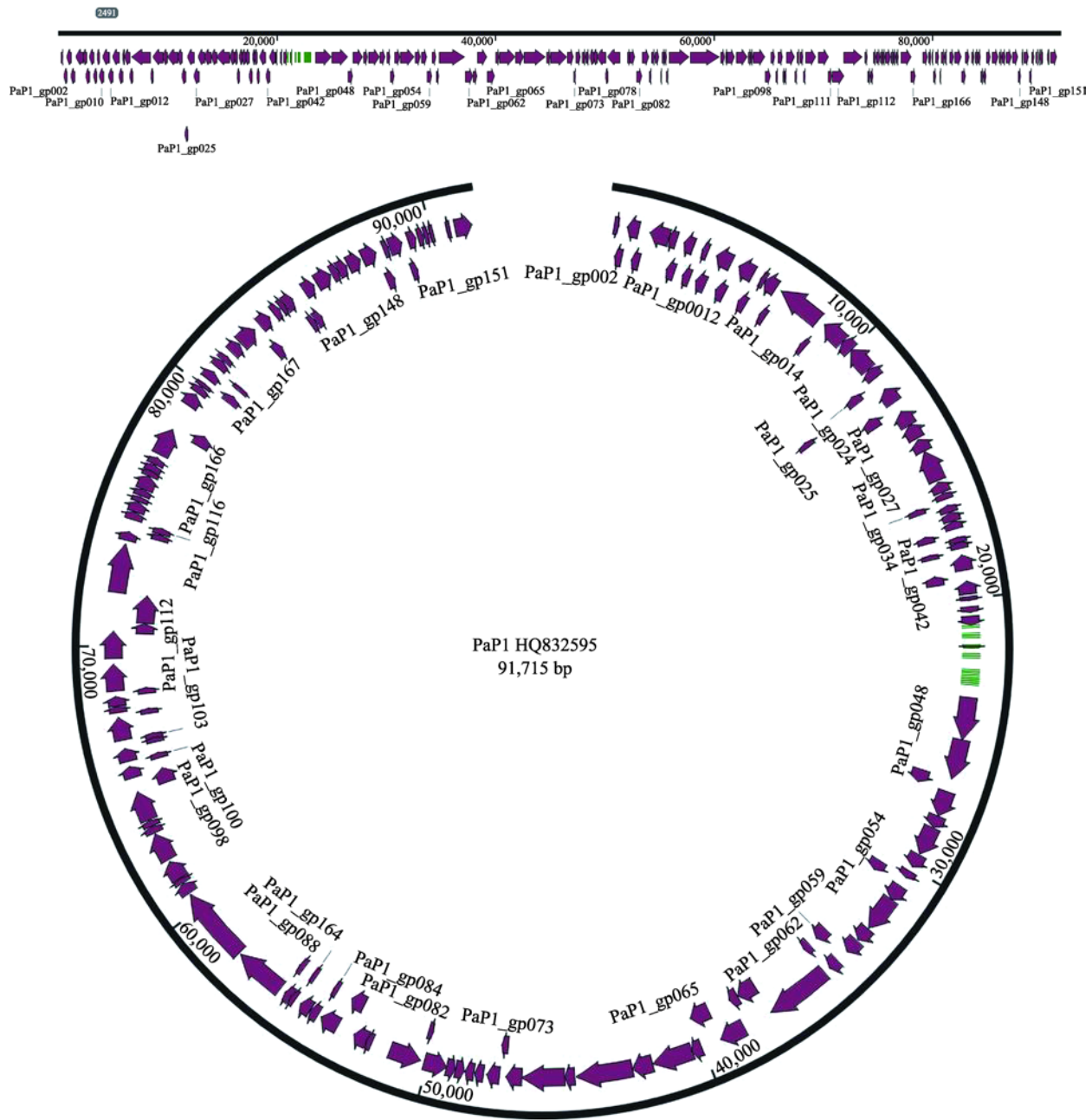


图 2 假单胞菌噬菌体 PaP1 基因组
Fig. 2 Genome of *Pseudomonas* phage PaP1
基因组细节可参考文献[14]。

每个铜绿假单胞菌噬菌体基因组的平均基因编码潜力为 93.0%，每 1 kb 约有 1.5 个基因^[15]。对于 PB1 样假单胞菌噬菌体，其基因组的密度很大，完整基因组中包含九个重叠群，长度范围从 65,762 bp 到 66,283 bp，每个基因组包含了 85~89 个注释基因^[16]。假单胞菌噬菌体 PFP1 的基因组总长度为 40,914 bp，包含 45 个预测的 ORF (图 3)，ORF 长度在 117~

3996 bp 之间，功能区之间排列紧凑，平均约 900 bp 序列含有一个基因；说明噬菌体对基因组的利用很充分，非编码区域很少^[17]。假单胞菌噬菌体 PaP3 的基因组中平均约 600 bp 分布一个基因，而在真核生物大麦基因组中平均每 20 kb 序列含有一个基因；拟南芥(*Arabidopsis thaliana*)基因组中平均每 4.8 kb 片段含有一个基因；人类基因组共 30 亿碱基对，编

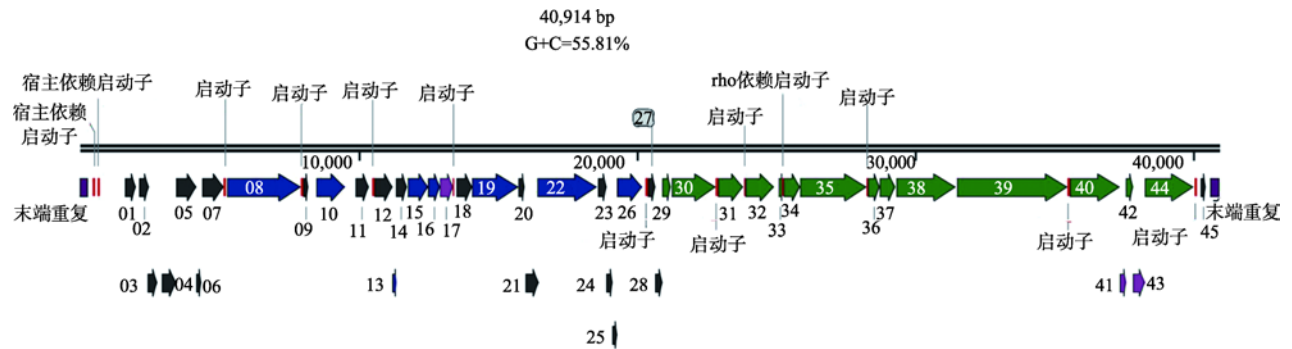


图 3 假单胞菌噬菌体 PFP1 的基因组图

Fig. 3 Genomic map of the *Pseudomonas* phage PFP1

图上的数字代表 45 个预测的 ORF, 不同的颜色代表预测功能。黑色: 功能未知的蛋白质; 蓝色: 核苷酸代谢基因组复制蛋白; 绿色: 结构蛋白; 粉色: 裂解蛋白; 红色线: 推测的启动子和终止子; 紫色块: 冗余的终端重复区域。基因组中显示的序列徽标代表噬菌体特异性启动子的序列。

码蛋白的碱基仅约 3~5 万个左右, 即平均约 60 kb 序列存在一个基因^[18]。因此, 物种进化越高级, 其基因密度越小, 非编码序列越多。例如, 人类基因组约 95% 的序列都属于非编码序列, 表明噬菌体作为古老的生物在基因序列上具有更强的利用能力。

2 假单胞菌噬菌体基因组遗传多样性

噬菌体是迄今为止生物圈中最丰富的生命实体, 包含大量的、新的遗传信息。假单胞菌噬菌体种群具有显著的遗传多样性, 然而这些噬菌体基因组之间的序列相似性却很小^[19]。例如, 新发现的一株铜绿假单胞菌噬菌体 Podovirus04, 其基因组序列与目前已报道的 Podovirus 噬菌体相比, 相似性都很低^[20]。Carson 等^[21]对 6 种铜绿假单胞菌基因组进行测序分析, 并与已知的铜绿假单胞菌双链 DNA 噬菌体的基因组序列进行比较, 表明这 6 种铜绿假单胞菌噬菌体基因组序列差异较大, 相似性极低。Kwan 等^[15]对 18 株铜绿假单胞菌噬菌体基因组进行分析, 揭示了编码蛋白质组相关基因的多样性; 通过序列比较分析和 ORF 图谱分析表明: 宿主菌同属, 大多数噬菌体基因组之间相似性很低。但是, 基因组测序也发现: 相同宿主菌的噬菌体之间, 基因组具有潜在相似性。例如, 铜绿假单胞菌噬菌体 ZC03 和 ZC08 的宿主菌相同, 均为铜绿假单胞菌; 噬菌体 ZC03 和 ZC08 的基因组很相似, 不但具有 36 个相似性极

高的同源基因, 还均携带特殊的 tRNA 基因^[9]。铜绿假单胞菌噬菌体 PA11 与噬菌体 04, 基因组序列相似性为 95%; 噬菌体 04 基因组编码 55 种 ORF, 与噬菌体 PA11 中的 48 个蛋白质基因有 40%~100% 的相似性, 与另外 7 个蛋白质基因有 27%~40% 的相似性^[22]。徐彬等^[23]从环境污水中分离到一株铜绿假单胞菌噬菌体 D204, 基因组测序和比对发现 D204 基因组与铜绿假单胞菌噬菌体 PA11 的基因组具有 83% 的序列相似性; 在 D204 基因组片段上, 一些特殊位置的编码基因还与铜绿假单胞菌噬菌体 PaeP、PaP3 及 PaP4 的编码基因类似。假单胞菌噬菌体基因组之间具有多样性, 同时各基因组之间又存在潜在相似性, 从而导致假单胞菌噬菌体种群之间具有显著的遗传多样性。

3 假单胞菌噬菌体基因组中功能基因分析

假单胞菌噬菌体基因组上常见的功能基因包括编码裂解蛋白、调节蛋白、尾部蛋白、衣壳蛋白、DNA 聚合酶和 DNA 解旋酶等。随着对假单胞菌噬菌体基因组研究的不断深入, 可以把功能基因分为以下几类:

第一类: 与噬菌体 DNA 复制相关的酶。噬菌体 C11 的基因组中发现了与噬菌体 DNA 复制有关的酶, 包括 ORF 101、ORF 102、ORF 109、ORF 123、ORF 125、ORF 126。ORF 101 和 ORF 102 分别编码 DNA

解旋酶(DNA primase/helicase)和 DNA 聚合酶(DNA polymerase)^[19]。噬菌体 ZC01 与 YuA 具有直系同源性。因此 DNA 解旋酶、RecD 样蛋白脱氧腺苷酸羟甲基转移酶和 DNA 聚合酶 A 存在于多个直系同源基因中^[9,24]。

第二类: 与噬菌体核衣壳蛋白形成相关的酶。如在噬菌体 Ardmore 中, ORF115 (卷尺蛋白)可决定噬菌体尾部的长度, Che8 噬菌体的 GP116 与 TM4 噬菌体的 GP119 和 Che9d 噬菌体的 GP119, 是尾部亚基的组成部分。此外, 还有与噬菌体 DNA 包装相关的基因, 如 Ardmore 噬菌体的 ORF11 和 ORF12, 其中 ORF12 编码末端酶^[25]。

第三类: 转录调节功能因子。铜绿假单胞菌基因组中的前噬菌体预测显示, 前噬菌体存在于少数假单胞菌菌株中, 如 NCGM2.S1 和 VRFA04 噬菌体。在前噬菌体中鉴定出了编码毒力相关蛋白和转录调节因子的几种基因, 如 ACG 06-06430^[26]。

除了上述常见的功能基因外, 假单胞菌噬菌体基因组上还存在抗 CRISPR-Cas 基因。CRISPR-Cas 系统是原核生物中最广泛的噬菌体抗性机制之一, 它是成簇的、有规律间隔的短回文重复序列, 可以对外来入侵的噬菌体基因进行切割^[27,28]。April 等^[29]发现铜绿假单胞菌噬菌体基因组中存在抗 CRISPR 基因, 编码铜绿假单胞菌 IF CRISPR-CAS 系统的蛋白抑制剂, 为进一步探究噬菌体与宿主菌之间对抗性共进化机制提供了新的研究思路。

假单胞菌噬菌体影响假单胞菌致病性有 3 个关键因素: 生物膜的形成、毒力和抗生素抗性。据报道溶源性噬菌体 Pf4 在释放细胞外 DNA(eDNA)过程中扮演重要作用, 该酶稳定了生物膜基质并降低其对抗生素的渗透性。另一种溶源性噬菌体 D3112 可以阻止细菌菌毛的形成, 导致细菌粘附力下降, 抑制生物膜形成^[30]。相反, 噬菌体抗性突变体通常是由于假单胞菌的脂多糖(LPS)的改变引起的, 这些与生物膜的形成和毒力的变化有关。噬菌体还可以通过产生特定的毒力因子来增加毒力, 例如外毒素(如霍乱毒素)和多糖(如藻酸盐); 因此噬菌体对环境假单胞菌的致病性具有复杂的影响作用^[31,32]。假单胞菌噬菌体基因组包含许多未确定的功能基因, 并且大部分由功能基因预测的蛋白质生物学功能也无法确定, 目前尚无能够进行匹配的数据库, 因此假单胞

菌噬菌体基因组中有很多尚未发现的新功能基因。

4 结语与展望

近年来, 噬菌体基因组学研究取得了巨大进展。高通量测序技术的快速发展为获得更多新噬菌体基因组带来了极大的便利, 促进了噬菌体基因组学相关研究的不断发展。噬菌体是宿主遗传进化的主要动力, 直接影响致病性假单胞菌宿主在生态环境中的作用^[33]。

假单胞菌及其噬菌体同时也是研究病毒与宿主之间相互作用分子机制的理想模型。对噬菌体与假单胞菌相互作用的研究体现了这些生物实体在生物技术应用方面的潜力。噬菌体蛋白在感染周期的每个阶段都具有潜在的生物技术应用, 病毒相关宿主受体的特异性使它们成为快速鉴定病原体的理想工具。一些噬菌体转录或复制相关的酶, 也已经成为分子实验室中常用的工具^[34]。假单胞菌噬菌体还可以作为控制细菌感染的新手段, 将假单胞菌噬菌体作为抗生素替代品或者直接利用噬菌体产生的裂解酶作为抗菌剂。此外, 假单胞菌噬菌体基因组功能区的注释, 有利于形成一套新的基因工具, 为合成生物学家提供了新思路。随着对假单胞菌噬菌体基因组的不断研究, 利用其与宿主菌的共同进化作用开发新型药物, 为抗生素耐药菌的治疗带来希望。因此, 开展假单胞菌噬菌体基因组的研究将具有非常重要的现实意义, 不仅有助于拓展我们对噬菌体生物学的了解, 而且有助于优化并利用这些宝贵的生物有机体。

参考文献(References):

- [1] Silby MW, Winstanley C, Godfrey SA, Levy SB, Jackson RW. *Pseudomonas* genomes: diverse and adaptable. *FEMS Microbiol Rev*, 2011, 35(4): 652–680. [DOI]
- [2] Czajkowski R, Ozymko Z, de Jager V, Siwinska J, Smolarska A, Ossowski A, Narajczyk M, Lojewska E. Genomic, proteomic and morphological characterization of two novel broad host lytic bacteriophages ΦPD10.3 and ΦPD23.1 infecting pectinolytic *Pectobacterium* spp. and *Dickeya* spp. *PLoS ONE*, 2015, 10(3): 1–23. [DOI]
- [3] Olszak T, Latka A, Roszniowski B, Valvano MA, Drulis-

- Kawa Z. Phage life cycles behind bacterial biodiversity. *Curr Med Chem*, 2017, 24(36): 3987–4001. [DOI]
- [4] Alseth EO, Pursey E, Luján AM, McLeod I, Rollie C, Westra ER. Bacterial biodiversity drives the evolution of CRISPR-based phage resistance. *Nature*, 2019, 574(7779): 549–552. [DOI]
- [5] Li TM, Du B. CRISPR-Cas system and coevolution of bacteria and phages. *Hereditas(Beijing)*, 2011, 33(3): 213–218.
李铁民, 杜波. CRISPR-Cas 系统与细菌和噬菌体的共进化. 遗传, 2011, 33(3): 213–218. [DOI]
- [6] Ceyssens PJ, Hertveldt K, Ackermann HW, Noben JP, Demeke M, Volckaert G, Lavigne R. The intron-containing genome of the lytic *Pseudomonas* phage LUZ24 resembles the temperate phage PaP3. *Virology*, 2008, 377(2): 233–238. [DOI]
- [7] Ceyssens PJ, Mesyanzhinov V, Sykilinda N, Briers Y, Roucourt B, Lavigne R, Robben J, Domashin A, Miroshnikov K, Volckaert G, Hertveldt K. The genome and structural proteome of YuA, a new *Pseudomonas aeruginosa* phage resembling M6. *Journal of bacteriology*, 2007, 190(4): 1429–1435. [DOI]
- [8] Hatfull GF, Pedulla ML, Jacobs-Sera D, Cichon PM, Foley A, Ford ME, Gonda RM, Houtz JM, Hryckowian AJ, Kelchner VA, Namburi S, Pajcini KV, Popovich MG, Schleicher DT, Simanek BZ, Smith AL, Zdanowicz GM, Kumar V, Peebles CL, Jacobs WR Jr, Lawrence JG, Hendrix RW. Exploring the mycobacteriophage metaproteome: phage genomics as an educational platform. *PLoS Genet*, 2006, 2(6): e92. [DOI]
- [9] Amgarten D, Martins LF, Lombardi KC, Antunes LP, de Souza APS, Nicastro GG, Kitajima EW, Quaggio RB, Upton C, Setubal JC, da Silva AM. Three novel *Pseudomonas* phages isolated from composting provide insights into the evolution and diversity of tailed phages. *BMC Genomics*, 2017, 18(1): 346–363. [DOI]
- [10] Wang PW, Chu LD, Guttman DS. Complete sequence and evolutionary genomic analysis of the *pseudomonas aeruginosa* transposable bacteriophage D3112. *J Bacteriol*, 2004, 186(2): 400–410. [DOI]
- [11] Ha AD, Denver DR. Comparative genomic analysis of 130 bacteriophages infecting bacteria in the genus *Pseudomonas*. *Front Microbiol*, 2018, 9: 1456. [DOI]
- [12] Wittmann J, Dreiseikelmann B, Rohde M, Meier-Kolthoff JP, Bunk B, Rohde C. First genome sequences of *Achromobacter* phages reveal new members of the N4 family. *Viol J*, 2014, 11(1): 2–15. [DOI]
- [13] Sillankorva S, Kluskens LD, Lingohr EJ, Kropinski AM, Neubauer P, Azeredo J. Complete genome sequence of the lytic *Pseudomonas fluorescens* phage ϕ IBB-PF7A. *Viol J*, 2011, 8: 142. [DOI]
- [14] Lu SG, Le S, Tan YL, Zhu JM, Li M, Rao XC, Zou LY, Li S, Wang J, Jin XL, Huang GT, Zhang L, Zhao X, Hu FQ. Genomic and proteomic analyses of the terminally redundant genome of the *Pseudomonas aeruginosa* phage PaP1: establishment of genus PaP1-like phages. *PLoS One*, 2013, 8(5): e62933. [DOI]
- [15] Kwan T, Liu J, Dubow M, Gros P, Pelletier J. Comparative genomic analysis of 18 *Pseudomonas aeruginosa* bacteriophages. *J Bacteriol*, 2006, 188(3): 1184–1187. [DOI]
- [16] Watkins SC, Sible E, Putonti C. *Pseudomonas* PB1-Like phages: whole genomes from metagenomes offer insight into an abundant group of bacteriophages. *Viruses*, 2018, 10(1): 331–344. [DOI]
- [17] Li M, Chen XR, Ma YS, Li ZB, Zhao QC. Complete genome sequence of PFP1, a novel T7-like *Pseudomonas fluorescens* bacteriophage. *Arch Virol*, 2018, 163(1): 3423–3426. [DOI]
- [18] Lu SG, Le S, Tan YL, Li M, Liu C, Zhang KB, Huang JJ, Chen HM, Rao XC, Zhu JM, Zou LY, Ni QS, Li S, Wang J, Jin XL, Hu QW, Yao XY, Zhao X, Zhang L, Huang GT, Hu FQ. Unlocking the mystery of the hard-to-sequence phage genome: PaP1 methylome and bacterial immunity. *BMC Genomics*, 2014, 15(1): 803–815. [DOI]
- [19] Aparicio T, de Lorenzo V, Martínez-García E. Improved thermotolerance of genome-reduced *Pseudomonas putida* EM42 enables effective functioning of the PL/cI857 system. *Biotechnol J*, 2019, 14(1): 1800483. [DOI]
- [20] Zhang FJ, Huang KC, Yang XJ, Sun L, You JJ, Pan XW, Cui XL, Yang HJ. Characterization of a novel lytic podovirus O4 of *Pseudomonas aeruginosa*. *Arch Virol*, 2018, 163(1): 2377–2383. [DOI]
- [21] Carson S, Bruff E, DeFoor W, Dums J, Groth A, Hatfield T, Iyer A, Joshi K, McAdams S, Miles D, Miller D, Oufkir A, Raynor B, Riley S, Roland S, Rozier H, Talley S, Miller ES. Genome sequences of six *paenibacillus* larvae *Siphoviridae* Phages. *Genome Announc*, 2015, 3(3): 101–115. [DOI]
- [22] Tang CF, Deng CJ, Zhang Y, Xiao C, Wang J, Rao XC, Hu FQ, Lu SG. Characterization and genomic analyses of *Pseudomonas aeruginosa* podovirus TC6: establishment of genus Pa11virus. *Front Microbiol*, 2018, 9: 2561. [DOI]
- [23] Xu B, GAO J, GUO XK, Qin JH. Study on the biological

- and genomic characteristics of *Pseudomonas aeruginosa* phage D204. *J Shanghai Jiaotong Univ*, 2016, 36(1): 1–5.
- 徐彬, 高晶, 郭晓奎, 秦金红. 铜绿假单胞菌噬菌体 D204 的生物学特性和基因组学研究. 上海交通大学学报, 2016, 36(1): 1–5. [DOI]
- [24] Cui XL. Screening of genes related to pseudomonas aeruginosa response to multiple strains of phage infection and functional annotation of phage C11 genome [Dissertation]. *Sci Tech of Tianjin Univ*, 2016.
- 崔晓莉. 铜绿假单胞菌应答多株噬菌体感染相关基因的筛选及噬菌体 C11 基因组的功能注释[学位论文]. 天津科技大学, 2016. [DOI]
- [25] Sharma S, Chatterjee S, Datta S, Prasad R, Dubey D, Prasad RK, Vairale MG. Bacteriophages and its applications: an overview. *Folia Microbiol (Praha)*, 2017, 62(1): 17–55. [DOI]
- [26] Cao HL, Lai Y, Bougouffa S, Xu ZL, Yan AX. Comparative genome and transcriptome analysis reveals distinctive surface characteristics and unique physiological potentials of *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853. *BMC Genomics*, 2017, 18(1): 459–475. [DOI]
- [27] De Smet J, Hendrix H, Blasdel BG, Danis-Wlodarczyk K, Lavigne R. *Pseudomonas* predators: understanding and exploiting phage-host interactions. *Nat Rev Microbiol*, 2017, 15(9): 517–530. [DOI]
- [28] Liang CJ, Meng FM, Ai YC. CRISPR/Cas systems in genome engineering of bacteriophages. *Hereditas(Beijing)*, 2018, 40(5): 378–389.
- 梁彩娇, 孟繁梅, 艾云灿. 基于 CRISPR/Cas 系统的噬菌体基因组编辑. 遗传, 2018, 40(5): 378–389. [DOI]
- [29] Pawluk A, Bondy-Denomy J, Cheung VH, Maxwell KL, Davidson AR. A new group of phage anti-CRISPR genes inhibits the type I-E CRISPR-Cas system of *Pseudomonas aeruginosa*. *mBio*, 2014, 5(2): e00896. [DOI]
- [30] Habusha M, Tzipilevich E, Fiyaksel O, Ben-Yehuda S. A mutant bacteriophage evolved to infect resistant bacteria gained a broader host range. *Mol Microbiol*, 2019, 111(6): 1463–1475. [DOI]
- [31] Holguín AV, Cárdenas P, Prada-Peñaranda C, Rabelo Leite L, Buitrago C, Clavijo V, Oliveira G, Leekitcharoenphon P, Møller Aarestrup F, Vives MJ. Host resistance, genomics and population dynamics in a salmonella Eenteritidis and phage system. *Viruses*, 2019, 11(2): 188. [DOI]
- [32] Li M, Cheng FY, Gong LY, Xiang H. Systematic discovery of novel prokaryotic defense systems: progress and prospects. *Hereditas(Beijing)*, 2018, 40(4): 259–265.
- 李明, 程飞跃, 龚路遥, 向华. 微生物新型防御系统的系统性发现与展望. 遗传, 2018, 40(4): 259–265. [DOI]
- [33] Gao SH, Yu HY, Wu SY, Wang S, Geng JN, Luo YF, Hu SN. Advances of sequencing and assembling technologies for complex genomes. *Hereditas(Beijing)*, 2018, 40(11): 944–963.
- 高胜寒, 禹海英, 吴双阳, 王森, 耿佳宁, 骆迎峰, 胡松年. 复杂基因组测序技术研究进展. 遗传, 2018, 40(11): 944–963. [DOI]
- [34] Sternberg SH, Richter H, Charpentier E, Qimron U. Adaptation in CRISPR-Cas systems. *Mol Cell*, 2016, 61(6): 797–808. [DOI]

(责任编辑: 谢建平)