·基础医学·

感染多耐药大肠杆菌新噬菌体vB_EcoM_RZ的性质鉴定及基因组学研究

张瑞阳,许　靖,于鑫焱,刘晓秋*

南京医科大学病原生物学系,江苏省现代病原生物学重点实验室,江苏　南京　211166

[摘　要]　**目的:**分离鉴定新型毒性噬菌体并研究其生物学特性,为用于治疗临床多耐药菌感染提供备选方案。**方法:**从南京城区污水中收集废水样本,以临床分离的大肠杆菌多药耐药菌株为宿主,采用双层琼脂法分离纯化新噬菌体,然后采用电镜观察其形态,一步生长曲线确定其潜伏期及爆发量,并通过全基因组测序及质谱分析结合生物信息学分析研究其基因组及编码蛋白。**结果:**成功分离出一种新型大肠杆菌毒性噬菌体命名为vB_EcoM_RZ,其能感染并裂解多株大肠杆菌临床耐药菌株;生物学性质分析表明该噬菌体裂解速度快、宿主范围广、温度稳定性良好;全基因组测序结果表明vB_EcoM_RZ不编码毒素或其他毒力因子基因,溶源周期相关基因及抗性基因;质谱分析发现vB_EcoM_RZ噬菌体颗粒含有43种已知蛋白和一些未知功能的假定蛋白;系统发育树分析表明vB_EcoM_RZ是一株新型噬菌体。**结论:**分离并鉴定出一株新型大肠杆菌毒性噬菌体vB_EcoM_RZ,性质优良,有进一步应用于治疗耐药菌引起感染的潜能。

[关键词]　噬菌体;多耐药菌;基因组学

[中图分类号]　Q789　　[文献标志码]　A　　[文章编号]　1007-4368(2021)08-1109-07

doi:10.7655/NYDXBNS20210801

Characterization and genomic study of phage vB_EcoM_RZ infecting multidrug-resistant *Escherichia coli*

ZHANG Ruiyang, XU Jing, YU Xinyan, LIU Xiaoqiu*

Jiangsu Key Laboratory of Pathogenic Biology, Nanjing Medical University, Nanjing 211166, China

[**Abstract**]　**Objective:** Isolate and identify a new strain of lytic phage and study its biological characteristics, so as to provide an alternative treatment for clinical infection caused by multi-drug resistant bacterial in the future. **Methods:** The new phage named vB_EcoM_RZ was isolated and purified by double layer agar method. The morphology of the new phage was observed by electron microscope. The incubation period and burst size of the new phage were determined by one-step growth curve, the genomic characteristics and encoded proteins of phage vB_EcoM_RZ were studied through the whole genome sequencing and mass spectrometry analysis combined with bioinformatics analysis. **Results:** A new type of *Escherichia coli* virulent bacteriophage was successfully isolated; biological experiments showed that it had fast lytic speed, wide host range, and good temperature stability; genomics studies showed that it did not encode genes related to toxins or other virulence factors; 43 known proteins and some hypothetical proteins with unknown functions were isolated and identified by mass spectrometry. Phylogenetic analysis showed that it was a new type of bacteriophage. **Conclusion:** A new type of *Escherichia coli* virulent bacteriophage named vB_EcoM_RZ has been isolated and identified. It has excellent properties and the potential to be further used in the treatment of infection caused by drug-resistant bacteria.

[**Key words**]　bacteriophage; multi-drug resistance; genomics

[J Nanjing Med Univ, 2021, 41(08): 1109-1114, 1159]

大肠杆菌可以引起多种感染,包括肠道内感染和肠道外感染,肠道内感染主要会引起腹泻,肠道外感染主要引起泌尿道感染、新生儿脑膜炎等[1]。

[基金项目]　国家自然科学基金(81501797)

*通信作者(Corresponding author),E-mail:Xiaoqiuliu2014@126.com

随着多耐药及全耐药大肠杆菌的不断出现，其引起的感染严重威胁着人类的生命健康[2-3]。由于新抗生素的研发周期不断变长，可用于治疗多耐药及全耐药大肠杆菌引起感染的可选抗生素非常有限，给临床治疗带来极大困难[4]，严峻的形势促使人们寻找其他替代或者补充疗法治疗耐药菌引起的感染[5]。噬菌体作为一种简单易获得的天然细菌捕食者，成为替代或者补充抗生素的良好选择[6-7]。

噬菌体是地球上最丰富的物种之一，对维持自然界生态平衡起到了巨大的作用[8]。同时噬菌体作为细菌的病毒，能够感染裂解特定种类的宿主菌，可用于特异性治疗由敏感细菌引起的感染。已有大量研究表明对于由多耐药菌引起的感染[9]，噬菌体疗法可作为抗生素的有效辅助甚至替代治疗手段之一[10]。例如，噬菌体干粉制剂对多耐药铜绿假单胞菌菌株引起的肺部感染小鼠具有良好的治疗效果[11]；在酒精性肝炎患者体内，噬菌体可以专门针对杀灭溶细胞的粪肠球菌，是精确编辑肠道菌群的有效方法[12]。目前一些国家正在开展有关噬菌体治疗安全性和有效性的临床试验[13]，噬菌体宿主范围狭窄，而且细菌会对噬菌体产生抗性[14]，通过把多种噬菌体混合在一起组成鸡尾酒制剂能有效克服噬菌体治疗的上述缺点[15]。因此，有必要分离更多新的噬菌体并阐明其基因组序列，以累积足够数量的噬菌体储备用于制备针对特定临床耐药菌的噬菌体鸡尾酒制剂，为噬菌体治疗临床多耐药菌及全耐药菌引起的感染奠定基础。

1 材料和方法

1.1 材料

硫酸镁、硝酸银、乙醇、乙酸（中国国药集团）；甘氨酸、氯化铯（Sigma公司，美国）；磷钨酸（北京中镜科仪）；硫代硫酸钠、碳酸钠（上海凌峰化学）；乙酸钠（南京生兴生物）；甲醛（广东西陇科学）；琼脂粉（上海翊圣）。

1.2 方法

1.2.1 噬菌体的分离纯化

从南京城区污水中收集废水样本，用0.45 μm孔径的过滤器过滤污水样品以去除细菌。把滤液添加到对数早期的大肠杆菌395J2培养液中，37 ℃下培养24 h以富集噬菌体。将培养物在4 ℃ 14 000 *g*离心10 min以去除大肠杆菌菌体。以大肠杆菌395J2为宿主菌，采用双层琼脂平板法检测培养中的噬菌体。在37 ℃下孵育过夜，观察噬菌斑并挑取噬菌斑，重复感染周期直到形成的噬菌斑大小均一。随后，将纯化后的噬菌斑在纯水中稀释并在4 ℃保存。

挑取噬菌斑接种于50 mL处于对数期的宿主菌395J2的培养液中培养2 h，取菌液以4 ℃ 14 000 *g*离心10 min以去除大肠杆菌菌体，采用超高速氯化铯密度梯度离心法分离纯化菌液中噬菌体。

1.2.2 噬菌体形态观察

将密度梯度离心法纯化的噬菌体vB_EcoM_RZ溶液铺于带有碳膜的铜网上吸附2 min，并用2%（w/v）的磷钨酸进行负染2 min并立即用滤纸吸干。在80 kV的FEI Tecnai G2 Spirit Bio TWIN透射电子显微镜下拍摄噬菌体的显微照片。

1.2.3 噬菌体一步生长曲线

将大肠杆菌395J2培养至对数早期（1×10^8 CFU/mL）。加入噬菌体vB_EcoM_RZ感染复数（multiplicity of infection，MOI）为10（MOI=10），37 ℃共培养10 min。14 000 *g*离心1 min收集菌体。菌体用新鲜的LB培养基洗涤2次后，重悬于50 mL的新鲜LB培养基中于37℃振荡培养。每隔5 min取菌液，采用双层琼脂平板法检测菌液上清中噬菌体的数量。生长曲线可以帮助确定该噬菌体的潜伏期和爆发期及爆发量。

1.2.4 噬菌体温度稳定性

通过恒温水浴法测定噬菌体在不同温度（4、25、37、45、50、55、60、65 ℃）下处理60 min后的存活率：将1 mL噬菌体（10^7 PFU/mL）置于上述温度下，取60 min后样品测定噬菌体滴度。

1.2.5 噬菌体宿主范围及生物学特性

通过斑点法检测该噬菌体对不同大肠杆菌菌株的感染裂解能力。将每种测试细菌的100 μL过夜培养的菌液添加到3.5 mL融化的LB琼脂（0.6%琼脂）中。然后将混合物覆盖在LB琼脂平板上。将板在室温下干燥30 min，然后将2 μL逐滴稀释的系列噬菌体裂解液滴在板表面，然后在37 ℃下孵育过夜。检查平板的菌体清除区以评估细菌裂解程度。

1.2.6 噬菌体的细菌挑战试验

大肠杆菌395J2的过夜培养物分别接种于不同培养瓶中的50 mL新鲜LB肉汤中，在37 ℃ 200 r/min培养至吸光度值*D*(600 nm)=0.3。然后在不同培养瓶中分别加入不同浓度vB_EcoM_RZ噬菌体液（MOI=0.1，MOI=1，MOI=10）。通过测量不同时间点的*D*(600 nm)来监测细菌生长情况。作为阴性对照，用SM缓冲液代替vB_EcoM_RZ噬菌体液。每隔15 min测定*D*(600 nm)。

1.2.7　噬菌体vB_EcoM_RZ的基因组提取及测序

将纯化的噬菌体样品用DNase I和RNase A在37 ℃下处理2 h，以消化污染的细菌DNA和RNA。然后在55 ℃下用蛋白酶K处理15 min。用TIANamp Bacteria DNA Kit（北京天根生物）进一步制备噬菌体基因组DNA。使用Illumina HiSeq 2500测序仪对VB_EcoM_RZ基因组DNA进行测序，并使用ABySS v2.0.2软件和GapCloserv1.12将测序结果拼接组装成基因组。

1.2.8　噬菌体vB_EcoM_RZ的基因组分析

使用artemis和Glimmer3软件预测vB_EcoM_RZ的基因组编码的开放阅读框（open reading frame，ORF）。使用NCBI上的BLAST工具对蛋白主序列功能注释。使用ExPASy Compute pI/Mw工具计算推定蛋白质的分子量和等电点。采用EMBL-EBI的EMBOSS Needle工具进行蛋白质氨基酸序列的整体比对。采用EasyFig比对vB_EcoM_RZ及其亲缘关系近的噬菌体的氨基酸序列。采用MEGA7对vB_EcoM_RZ及其相似噬菌体基因组之间的系统发生关系进行分析。

1.2.9　噬菌体vB_EcoM_RZ的结构蛋白分析

采用12%十二烷基硫酸钠聚丙烯酰胺凝胶电泳（SDS - polyacrylamide gel electrophoresis，SDS - PAGE）分离鉴定噬菌体颗粒中含有的蛋白质并银染凝胶。同时，噬菌体颗粒加热变性后，通过液相色谱-质谱联用技术（high performance liquid chromatography-mass spectrometry，HPLC-MS）分离蛋白质，以胰蛋白酶进一步消化后通过Q Exactive质谱仪分析胰蛋白酶肽。使用MASCOT引擎分析鉴定vB_EcoM_RZ病毒颗粒中含有的蛋白质。

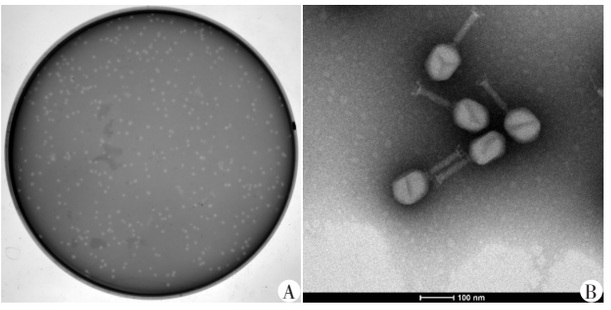
1.2.10　噬菌体vB_EcoM_RZ的基因组核苷酸序列登录号

vB_EcoM_RZ的基因组序列已上传到GenBank，登录号为MW598459。

2　结　果

2.1　噬菌体vB_EcoM_RZ形态结构

噬菌体在大肠杆菌395J2宿主菌平板上37 ℃过夜培养可形成清晰的圆形噬菌斑（直径约0.5 mm）（图1A）。在透射电子显微镜下观察纯化的噬菌体颗粒，可见其具有典型的二十面体的头部和带有可收缩尾鞘的长尾，表明该噬菌体属于肌尾噬菌体科。该噬菌体的二十面体头部的平均直径为100 nm，而尾大约长为120 nm（图1B）。按照噬菌体命名法则[16]该噬菌体正式命名为vB_EcoM_RZ。



A：噬菌体vB_EcoM_RZ的噬菌斑形态；B：噬菌体vB_EcoM_RZ电镜下形态结构（× 150 000）。

图1　噬菌体vB_EcoM_RZ的噬菌斑及形态结构

Figure 1　Plaque and morphology of phage vB_ EcoM_RZ

2.2　噬菌体vB_EcoM_RZ生物学特性

采用一步生长实验以评估vB_EcoM_RZ的种群动力学（图2A）。vB_EcoM_RZ的潜伏期约为10 min。感染后30 min所有噬菌体均已释放（图2A），该噬菌体的爆发量大约为平均每个菌体释放1.14×10^9个噬菌体颗粒。

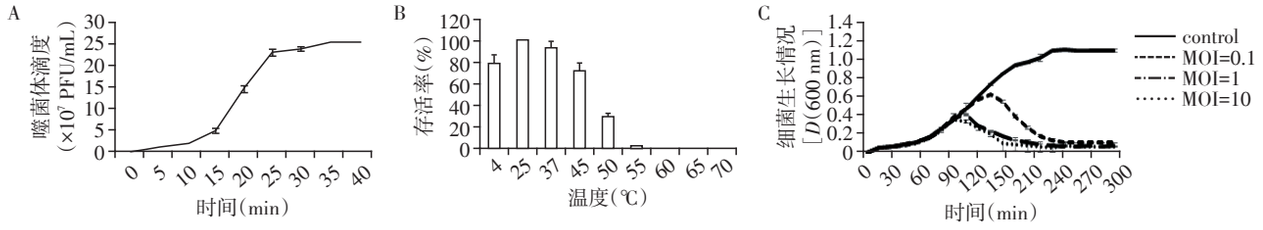
噬菌体vB_EcoM_RZ放置于不同温度（4、25、37、45、50、55、60、65 ℃）下60 min后测定噬菌体的滴度变化（图2B）。结果表明，噬菌体vB_EcoM_RZ的生物学活性在4~45 ℃的温度范围内比较稳定，但是当温度升高至45 ℃以上时噬菌体的滴度迅速下降，表明该噬菌体在一定温度（4~45 ℃）下可保持良好的热稳定性，因此易于保存。

通过标准斑点试验测定该vB_EcoM_RZ噬菌体感染并裂解不同大肠杆菌菌株的能力。结果显示该噬菌体对38种大肠杆菌中的13株多重耐药性（multiple drug resistance，MDR）大肠杆菌菌株都具有裂解效果，从而表明vB_EcoM_RZ具有相对较广的宿主谱，并提示该噬菌体可作为生物防治剂，有巨大的潜在应用价值。

在MOI=10的条件下测试了vB_EcoM_RZ对菌株395J2的裂解效果。结果显示vB_EcoM_RZ可以在感染2 h后有效裂解大肠杆菌395J2（图2C）。总之，上述这些结果均提示了vB_EcoM_RZ具有较广宿主范围和较强的溶菌能力，使得该噬菌体有作为生物制剂用于控制感染的巨大潜力。

2.3　噬菌体vB_EcoM_RZ基因组的基本特征

vB_EcoM_RZ的完整基因组由长度为170 318 bp的环状双链DNA组成，GC含量为40.146%。平均基因长度为554 bp，大小范围为26~1 318个核苷酸。在vB_EcoM_RZ的完整基因组中预测到了292个推



A：噬菌体vB_EcoM_RZ的生长曲线，每个实验重复3次；B：噬菌体vB_EcoM_RZ在不同温度下的存活率，每个实验重复3次；C：噬菌体vB_EcoM_RZ的杀菌试验，每个实验重复3次。

图2　噬菌体vB_EcoM_RZ生物学特性

Figure 2　Biological characteristics of phage vB_ EcoM_ RZ

定的ORF。在噬菌体基因组的正向链中有45个ORF，在互补链中有247个ORF(图3)。确定有125个ORF编码已知功能的蛋白质(蓝色基因)，而167个ORF编码的蛋白功能未知为假定蛋白(黑色基因，图3)。另外，在vB_EcoM_RZ基因组中未发现编码阻遏蛋白、整合酶(温带噬菌体的标记)等溶源性周期相关基因。由此认为vB_EcoM_RZ噬菌体为毒性噬菌体。基因组分析还表明，噬菌体vB_EcoM_RZ不编码与毒素或其他毒力因子相关的基因。vB_EcoM_RZ作为毒性噬菌体特性但同时没有携带可能的毒性基因，使其成为治疗应用的潜在优良候选者。

2.4　噬菌体vB_EcoM_RZ的结构蛋白

为了分析vB_EcoM_RZ的结构蛋白，将纯化的噬菌体颗粒煮沸进行变性后通过SDS-PAGE电泳分离。在SDS-PAGE凝胶中观察到至少9个不同的蛋白条带，分子量范围为5.8~143.0 kDa(图4)。在质谱中鉴定出43个蛋白质，包括34种已知的蛋白，此

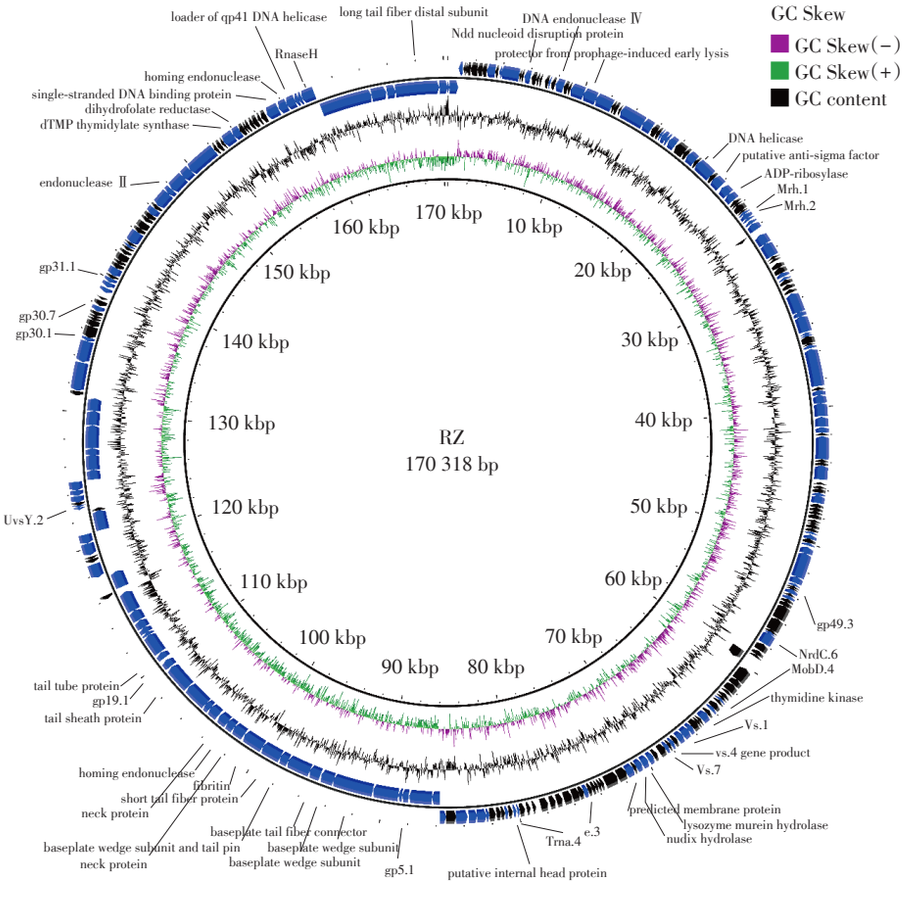


图3　噬菌体vB_EcoM_RZ的基因排布

Figure 3　Gene arrangement of phage VB_ EcoM_RZ

外还鉴定了一些假设的蛋白，这些假定蛋白可能是一些未知的结构蛋白，深入研究并揭示这些蛋白的功能，可能对进一步了解该噬菌体的形态结构有帮助。

2.5　噬菌体vB_EcoM_RZ比较基因组分析

为了确定噬菌体的确切分类学位置，根据BLAST分析的结果，将vB_EcoM_RZ的基因组序列与从世界不同地区分离的9个噬菌体进行系统发育分析，并使用MEGA7程序绘制系统发育树（图5）。结果表明在这些噬菌体之间存在复杂的进化关系。系统进化树分析表明，vB_EcoM_RZ是一株新型噬菌体，与噬菌体T4、VR26、VR20、VR25、VR7、SP18、DK13、UPEC01及CJ20有亲缘关系。比较基因组分析的结果扩展了对vB_EcoM_RZ及其噬菌体亲戚之间进化和关系的理解。

vB_EcoM_RZ编码的大多数蛋白质和其他相关噬菌体编码的相应蛋白同源性较高，但是有少数蛋白和其他噬菌体的相应蛋白明显不同（空白区域）（图6）。同时，噬菌体vB_EcoM_RZ和T4噬菌体存在一定的发育关系，基因组序列比较分析发现两者

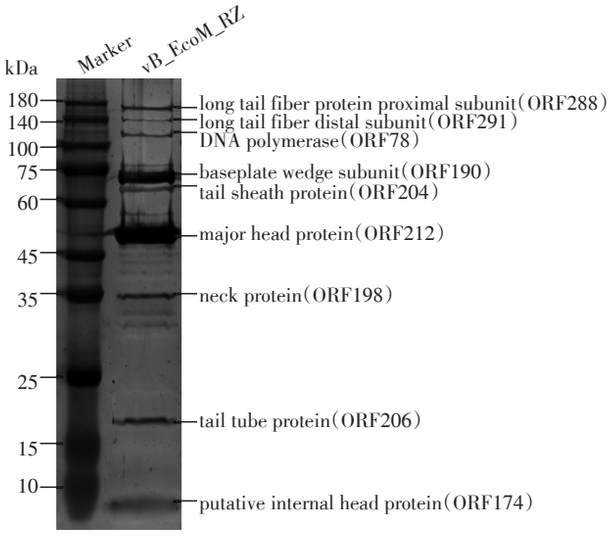


图4　噬菌体vB_EcoM_RZ的基因排布

Figure 4　Gene arrangement of phage vB_ EcoM_RZ

有94.14%的相似性。分析vB_EcoM_RZ与T4噬菌体的溶菌酶、穿孔素和长尾纤维蛋白氨基酸序列，发现分别有69.14%、53.24%和34.07%的相似性。

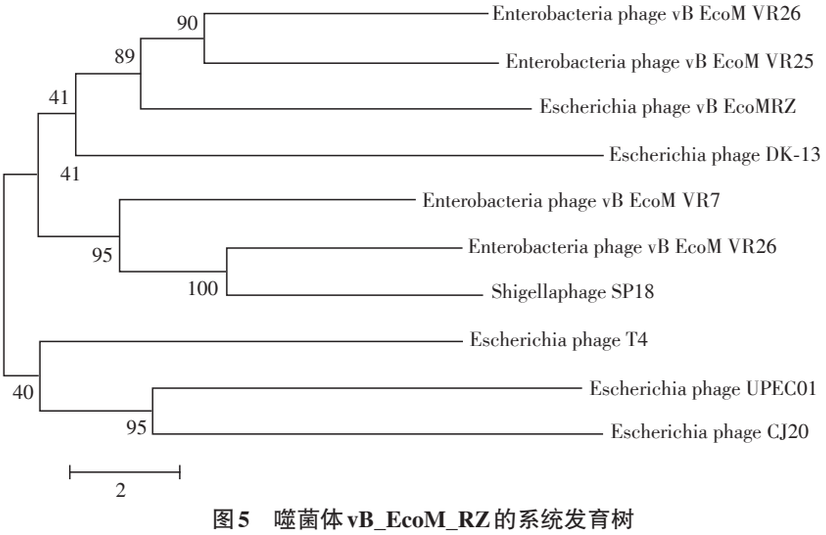


图5　噬菌体vB_EcoM_RZ的系统发育树

Figure 5　Phylogenetic tree of phage vB_ EcoM_ RZ

而噬菌体尾蛋白被认为参与宿主的识别功能，并赋予噬菌体宿主范围特异性。

vB_EcoM_RZ和9个相近噬菌体的蛋白质序列多重比对显示，大多数区域在蛋白质水平上高度同源，但它还可以观察到一些空白区域（图6）。vB_EcoM_RZ作为一种有尾噬菌体，可在不同选择压力下发生基因重排，与宿主共同进化并更具有多样性。此外，有尾噬菌体是双链DNA病毒中数量种类最多的一组，容易发生基因丢失、获取和交换，并且不共享通用基因，其进化非常复杂。基因的重排交换和丢失获取都可能影响噬菌体基因组的组织，并影响vB_EcoM_RZ结构组装和蛋白活性表达。

3　讨　论

本研究分离并鉴定了一株新的噬菌体vB_EcoM_RZ。因为该噬菌体基因组存在裂解基因，如溶菌酶、穿孔素等，而没有编码整合酶、阻遏蛋白等溶源相关基因，因此认为vB_EcoM_RZ是毒性噬菌体。vB_EcoM_RZ的基因组序列分析发现其

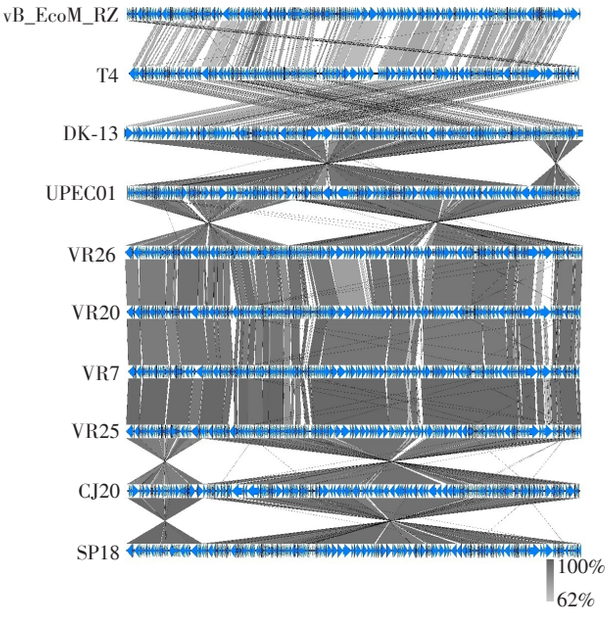


图6 噬菌体vB_EcoM_RZ与相近噬菌体的蛋白质序列多重比对

Figure 6 Multiple alignment of protein sequences between phage vB_ EcoM_RZ and similar bacteriophages

不编码潜在毒力因子或抗生素抗性基因[17]。斑点试验证明其能对十几株MDR大肠杆菌临床分离株有裂解活性[18],同时该噬菌体具有较短的生命周期和巨大的爆发量,表明该噬菌体具有作为有效抗菌制剂的优良特征,因此,vB_EcoM_RZ是对抗耐药大肠杆菌的噬菌体鸡尾酒制剂的优良候选者[19]。

同时在vB_EcoM_RZ病毒颗粒中鉴定到43种蛋白,再次证实该噬菌体不携带毒性蛋白质,其是能感染大肠杆菌的一种新的毒性噬菌体。基因组和蛋白质组分析证实了vB_EcoM_RZ的裂解性质。比较基因组分析揭示了这些噬菌体基因组进化变化的机制,并且与T4噬菌体存在一定的亲缘关系,这可能解释vB_EcoM_RZ为什么有较广的宿主范围和良好的裂解能力[20]。本结果表明噬菌体vB_EcoM_RZ的基因排布和基因组结构与其噬菌体亲属的基因排布和基因组结构有所不同,并且宿主的裂解范围与亲属噬菌体也有所不同,这可能与噬菌体与宿主菌动态共进化相关[21]。总之,我们的所有结果均提示,vB_EcoM_RZ噬菌体是一种新型并具有潜在临床应用价值的噬菌体,与T4噬菌体存在复杂的进化关系,需要进行更深入的研究以更好地阐述这一问题。

[参考文献]

[1] BRAZ V S, MELCHIOR K, MOREIRA C G. *Escherichia coli* as a multifaceted pathogenic and versatile bacterium [J]. Front Cell Infect Microbiol, 2020, 10: 548492

[2] MISHRA M, ARUKHA A P, PATEL A K, et al. Multi-drug resistant coliform: water sanitary standards and health hazards[J]. Front Pharmacol, 2018, 9: 311

[3] KIM H J, OH T, BAEK S Y. Multidrug resistance, biofilm formation, and virulence of *Escherichia coli* isolates from commercial meat and vegetable products [J]. Foodborne Pathog Dis, 2018, doi: 10.1089/fpd, 2018, 2448

[4] PAITAN Y. Current trends in antimicrobial resistance of *Escherichia coli*[J]. Curr Top Microbiol Immunol, 2018, 416: 181-211

[5] HESSE S, ADHYA S. Phage therapy in the twenty-first century: facing the decline of the antibiotic era; is it finally time for the age of the phage?[J]. Annu Rev Microbiol, 2019, 73: 155-174

[6] BATEMAN R M, SHARPE M D, JAGGER J E, et al. 36th International symposium on Intensive care and emergency medicine : Brussels, Belgium. 15-18 March 2016[J]. Crit Care, 2016, 20(Suppl 2): 94

[7] TORRES-BARCELÓ C. The disparate effects of bacteriophages on antibiotic-resistant bacteria [J]. Emerg Microbes Infect, 2018, 7(1): 168

[8] ABEDON S T, GARCÍA P, MULLANY P, et al. Editorial: phage therapy: past, present and future[J]. Front Microbiol, 2017, 8: 981

[9] 吴远帆,刘成成,范 坤,等. 2016—2019年老年医学科重症监护室患者血流感染病原菌的分布与耐药性分析[J]. 南京医科大学学报(自然科学版), 2021, 41(4): 586-592

[10] ASLAM S, COURTWRIGHT A M, KOVAL C, et al. Early clinical experience of bacteriophage therapy in 3 lung transplant recipients[J]. Am J Transplant, 2019, 19(9): 2631-2639

[11] CHANG R Y K, CHEN K, WANG J, et al. Proof-of-principle study in a murine lung infection model of antipseudomonal activity of phage PEV20 in a dry-powder formulation [J]. Antimicrob Agents Chemothe, 2018, 62(2): e01714-17

[12] DUAN Y, LLORENTE C, LANG S, et al. Bacteriophage targeting of gut bacterium attenuates alcoholic liver disease[J]. Nature, 2019, 575(7783): 505-511

[13] ROSE T, VERBEKEN G, VOS D D, et al. Experimental phage therapy of burn wound infection: difficult first steps [J]. Int J Burns Trauma, 2014, 4(2): 66-73

[14] REGEIMBAL J M, JACOBS A C, COREY B W, et al. Personalized therapeutic cocktail of wild environmental phages rescues mice from acinetobacter baumannii wound infections [J]. Antimicrob Agents Chemother, 2016, 60

(下转第1159页)

ization of ovarian cancer serum and the identification of tumor suppressive peptide ZYX36-58[J]. Ann Transl Med,2020,8(15):925

[10] DAI X,SONG X,RUI C,et al. Peptidome analysis of human serum from normal and preeclamptic pregnancies [J]. J Cell Biochem,2017,118(12):4341-4348

[11] KONONIKHIN A S,STARODUBTSEVA N L,BUGROVA A E,et al. An untargeted approach for the analysis of the urine peptidome of women with preeclampsia[J]. J Protemics,2016,149:38-43

[12] QIAN Y,ZHANG L,RUI C,et al. Peptidome analysis of amniotic fluid from pregnancies with preeclampsia[J]. Mol Med Rep,2017,16(5):7337-7344

[13] BOULLET H,BENTOT F,HEQUET A,et al. Small antimicrobial peptide with *in vivo* activity against sepsis[J]. Molecules,2019,24(9):1702

[14] BHATT M P,LEE Y J,JUNG S H,et al. C-peptide protects against hyperglycemic memory and vascular endothelial cell apoptosis[J]. J Endocrinol,2016,231(1):97-108

[15] BUHIMSCHI I A,ZHAO G,FUNAI E F,et al. Proteomic profiling of urine identifies specific fragments of SERPINA1 and albumin as biomarkers of preeclampsia[J]. Am J Obstet Gynecol,2008,199(5):551

[16] LI W,MATA K M,MAZZUCA M Q,et al. Altered matrix metalloproteinase-2 and -9 expression/activity links placental ischemia and anti-angiogenic sFlt-1 to uteroplacental and vascular remodeling and collagen deposition in hypertensive pregnancy[J]. Biochem Pharmacol,2014,89(3):370-385

[17] MAZZUCA M Q,LI W,RESLAN O M,et al. Downregulation of microvascular endothelial type B endothelin receptor is a central vascular mechanism in hypertensive pregnancy[J]. Hypertension,2014,64(3):632-643

[收稿日期] 2021-01-19

(上接第1114页)

(10):5806-5816

[15] BOURDIN G,NAVARRO A,SARKER S A,et al. Coverage of diarrhoea-associated *Escherichia coli* isolates from different origins with two types of phage cocktails[J]. Microb Biotechnol,2014,7(2):165-176

[16] KROPINSKI A M,PRANGISHVILI D,LAVIGNE R. Position paper: the creation of a rational scheme for the nomenclature of viruses of *Bacteria* and *Archaea*[J]. Environ Microbiol,2009,11(11):2775-2777

[17] PHILIPSON C W,VOEGTLY L J,LUEDER M R,et al. Characterizing phage genomes for therapeutic applications [J]. Viruses,2018,10(4):188

[18] HAMDI S,ROUSSEAU G M,LABRIE S J,et al. Characterization of two polyvalent phages infecting *Enterobacteriaceae*[J]. Sci Rep,2017,7:40349

[19] YU L,WANG S,GUO Z,et al. A guard-killer phage cocktail effectively lyses the host and inhibits the development of phage-resistant strains of *Escherichia coli*[J]. Appl Microbiol Biotechnol,2018,102(2):971-983

[20] KUTTER E,BRYAN D,RAY G,et al. From host to phage metabolism: hot tales of phage T4's Takeover of *E. coli* [J]. Viruses,2018,10(7):387

[21] HATFULL G F,HENDRIX R W. Bacteriophages and their genomes[J]. Curr Opin Virol,2011,1(4):298-303

[收稿日期] 2021-04-25