

噬菌体 Bp7 蛋白 gp38 的克隆、表达及其受体识别活性分析

麻海澜, 孙虎芝, 任慧英*, 张 灿*

(青岛农业大学动物医学院, 青岛 266109)

摘要: 为了研究噬菌体 Bp7 蛋白 gp38 在噬菌体吸附宿主菌过程中的作用, PCR 扩增 *gp38* 基因, 对 *gp38* 蛋白氨基酸序列特征进行分析和同源性比对, 构建重组表达质粒 pColdTF-*gp38*, 在 *E. coli* BL21 中诱导表达, SDS-PAGE 电泳和 Western blot 检测重组蛋白 gp38 的表达; 亲和层析法纯化蛋白, 制备 gp38 多克隆抗体。免疫电镜检测 gp38 在噬菌体 Bp7 表面的定位, 蛋白竞争试验和抗体阻断试验测定 gp38 及其抗体对噬菌体 Bp7 吸附效率的影响。序列分析结果表明, gp38 蛋白氨基酸序列与 T4 噬菌体无同源性, 与噬菌体 T2、T6 有同源性, C 端序列保守区与高变区间隔排列, 呈现马赛克特征; 构建的重组质粒 pColdTF-*gp38* 在 *E. coli* BL21 实现可溶性表达, 制备的 gp38 多克隆抗体效价达 1 : 16; 免疫电镜检测结果表明, gp38 蛋白抗体能够与长尾丝结合, 引起噬菌体 Bp7 的聚集; 蛋白竞争试验和抗体阻断试验结果表明 gp38 蛋白及其抗体均能完全抑制噬菌体 Bp7 对宿主菌 *E. coli* K12 的吸附。以上研究结果表明, gp38 是噬菌体 Bp7 的尾丝蛋白, 位于长尾丝末端, 作为受体识别蛋白在噬菌体 Bp7 吸附宿主菌过程中具有关键作用, 这为进一步阐明宽宿主谱噬菌体 Bp7 识别受体的机制提供了理论基础。

关键词: 噬菌体 Bp7; gp38 蛋白; 序列分析; 表达; 免疫电镜; 受体识别活性分析

中图分类号: Q939.48

文献标志码: A

文章编号: 0366-6964(2018)11-2461-07

Cloning, Expression and Receptor-Recognizing Activity of Bacteriophage Bp7 Protein gp38

MA Hai-lan, SUN Hu-zhi, REN Hui-ying*, ZHANG Can*

(College of Veterinary Science, Qingdao Agricultural University, Qingdao 266109, China)

Abstract: To identify the role of protein gp38 in the adsorption process of phage Bp7, *gp38* gene was amplified by PCR, and the amino acid sequence was characterized. The recombinant plasmid pColdTF-*gp38* was constructed and expressed in *E. coli* BL21, then identified by SDS-PAGE and Western blot. Protein gp38 was purified by affinity chromatography to prepare polyclonal antibody. Immunoelectron microscopy assay was used to locate gp38 on phage Bp7, protein competition assay and antibody blocking assay were used to determine gp38 and its antibody effects on phage Bp7 adsorption efficiency. Amino acid sequence analysis of phage Bp7 protein gp38 showed that there was no homology with T4 bacteriophage, but shared homology with phage T2 and T6. The conserved regions and variable regions of gp38 C-terminal sequence were arranged at intervals, showing a mosaic characteristics; the recombined plasmid pColdTF-*gp38* was constructed and expressed in *E. coli* BL21, The gp38 polyclonal antibody was prepared with a 1 : 16 titer. The immunoelectron microscopy showed that the gp38 antibody could bind to the long tail fiber

收稿日期: 2018-03-19

基金项目: 国家自然科学基金(31600149); 国家级大学生科技创新项目(201710435008); 青岛农业大学大学生科技创新项目

作者简介: 麻海澜(1996-), 女, 山东临沂人, 本科, 主要从事微生物与免疫研究, E-mail: 17854256346@163.com

* 通信作者: 张 灿, 副教授, E-mail: cleverflame@163.com; 任慧英, 教授, E-mail: renren0228@sina.com

and cause the aggregation of phage Bp7; protein competition test and antibody blocking test showed that gp38 and its antibody could completely inhibit the absorption of phage Bp7 to host strain *E. coli* K12. All of results indicated that gp38 is the tail fiber protein of phage Bp7, located at the end of the long tail fiber, and played a key role as the receptor recognition protein in phage Bp7 adsorption process, which further provided the theoretical foundation to elucidate the receptor recognition mechanism of phage Bp7.

Key words: bacteriophage Bp7; gp38 protein; sequence analysis; expression; immunoelectron microscopy; receptor-recognizing activity

噬菌体是一种专性寄生于细菌的病毒,作为细菌的天敌,在自然界中广泛存在,其数量达 10^{31} 个^[1]。在 19 世纪初,噬菌体曾广泛用于细菌病的防治,随后抗生素的发现及其广谱抗菌特性导致各国噬菌体的研究工作停滞。然而近年来,细菌耐药情况日益严重,新型抗生素发现和开发进程进展缓慢,人们注意到使用抗生素存在着不可忽视的缺陷^[2-3]。因此,噬菌体作为抗生素替代品又重新引起关注^[4-5]。噬菌体裂解细菌特异性强,且不受细菌耐药性限制,已成为科学研究的热点,广泛应用于病原体检测、食品和环境消毒、细菌性疾病防控等领域^[6-7]。

噬菌体种类繁多,其中 T-even 类(T2、T4、T6 等)噬菌体能够裂解肠杆菌科(Enterobacteriaceae)细菌。目前 GenBank 数据库中已经登录了 300 多种能够裂解大肠杆菌的噬菌体,其中 37 种属于 T4 类噬菌体^[8]。T4 类噬菌体属于有尾噬菌体科,其尾部结构复杂,包括基板、6 个短尾丝和 6 个长尾丝^[9]。在感染宿主菌过程中,T4 类噬菌体长尾丝末端的受体识别蛋白能够识别并吸附宿主菌表面受体,启动噬菌体侵染过程^[10-11]。T4 类噬菌体长尾丝的受体识别蛋白主要有两种:在 T4 噬菌体中,gp37 蛋白位于长尾丝末端,在伴侣分子 gp57 和 gp38 的作用下形成三聚体结构,是识别受体的关键蛋白^[12-13];在 T2 和 T6 噬菌体中,gp38 蛋白作为结构蛋白与 gp37 相邻,位于长尾丝末端,是识别受体的关键蛋白^[14]。

笔者在前期研究工作中分离到一株鸡源大肠杆菌噬菌体 Bp7,基因组测序结果显示其属肌尾噬菌体科 T4 类噬菌体^[15-16]。为了检测噬菌体 Bp7 的 gp38 蛋白在噬菌体吸附宿主菌过程中的作用,本试验在原核系统表达 gp38 蛋白,分析其序列特征,测定其生物学活性,并对其进行噬菌体表面定位,以期明确噬菌体 Bp7 的吸附机制提供理论基础。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 噬菌体及其宿主菌 噬菌体 Bp7 为鸡源大肠杆菌噬菌体,属肌尾噬菌体科,T4 类噬菌体,已完成基因组测序(GenBank 登录号:NC_019500.1),由青岛农业大学微生物实验室保存。宿主菌为 *E. coli* K12,用于噬菌体 Bp7 的增殖,由青岛农业大学微生物实验室保存。

1.1.2 引物及主要试剂 限制性内切酶、T4 DNA 连接酶和 PCR 产物回收试剂盒购自 TaKaRa 公司,质粒提取试剂盒、胶回收试剂盒和 His-Ni 蛋白纯化柱购自康为世纪有限公司。根据噬菌体 Bp7 基因组注释的 gp38 基因序列,设计 gp38 上、下游引物,序列分别如下,gp38F:5'-CAGGAGCTCATGGCAGTAGTAGGAAT-3', gp38R:5'-GGGCTCGAGTTAA-TACTTTCGTATTAT-3'(下划线分别表示限制性酶切位点 *Sac* I 和 *Xho* I),由上海生工生物工程技术服务有限公司合成。

1.2 方法

1.2.1 噬菌体 Bp7 蛋白 gp38 序列分析 根据噬菌体 Bp7 全基因组注释信息,获得预测的 gp38 氨基酸序列,与 NCBI 网站 GenBank 中已登录的其他噬菌体尾丝蛋白 gp38 序列进行同源性比对,分析噬菌体 Bp7 蛋白 gp38 与其他噬菌体的亲缘关系;选取相似性较高的 7 个序列及有代表性的 2 个序列,利用 DNAMAN 软件对尾丝蛋白 gp38 的氨基酸序列进行保守区域分析,阐明其序列特征。选取的序列及其 GenBank 登录号分别为 Shf125875(YP_009100789.1)、vB_EcoM_VR5(YP_009205945.1)、RB51(YP_002854204.1)、RB69(NP_861945.1)、PHAPEC2(YP_009056827.1)、JS10(YP_002922591.1)、JS98(YP_001595373.1)、T6(AAC61977.1)、T2(CAA28935.1)。

1.2.2 gp38 基因的克隆及重组表达质粒的构

建以噬菌体 Bp7 基因组 DNA 为模板, PCR 扩增 *gp38* 基因, 预期目的基因大小为 780 bp。PCR 反应条件: 95 °C 预变性 5 min; 94 °C 变性 1 min, 55 °C 退火 1 min, 72 °C 延伸 1 min, 35 个循环; 72 °C 延伸 10 min。1% 琼脂糖凝胶电泳检测 PCR 产物, 送上海生工生物工程技术有限公司测序。将鉴定正确的基因片段插入原核表达载体 pCold-TF 中, 构建原核表达质粒 pColdTF-*gp38*, 分别进行 PCR 和双酶切鉴定, 测序。

1.2.3 重组蛋白 gp38 的表达及抗体制备 鉴定正确的重组质粒 pColdTF-*gp38* 转化大肠杆菌感受态细胞 BL21, 制备可表达 gp38 蛋白的工程菌 pColdTF-*gp38*/BL21。挑取单菌落, 接入 LB 液体培养基中(含 $100 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 氨苄青霉素), 16 °C 条件下振荡培养至对数生长期, 加入 $0.6 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的 IPTG 诱导表达 12 h, $4000 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ 离心 10 min 收集菌体沉淀, PBS 洗涤 3 次, 重悬菌体。超声裂解菌体, 分离上清和沉淀, SDS-PAGE 电泳检测重组蛋白的表达形态, 亲和层析法纯化蛋白, 进行 Western blot 鉴定^[17]。鉴定正确的纯化蛋白 gp38 免疫家兔, 4 免后收集血清, 琼扩试验检测蛋白 gp38 抗体效价。

1.2.4 重组蛋白 gp38 在噬菌体表面的定位分析 $10 \mu\text{L}$ 噬菌体 Bp7 增殖液与 $10 \mu\text{L}$ gp38 抗血清混匀, 4 °C 条件下孵育 4 h。取 $10 \mu\text{L}$ 孵育液滴加于铜网上, 吸附 10 min, PBS 洗涤 3 次。磷钨酸染色 3 min, 自然干燥后, 电镜观察 gp38 蛋白在噬菌体 Bp7 表面的定位。

1.2.5 重组蛋白 gp38 的受体识别活性分析 将 $200 \mu\text{L}$ 过夜培养的宿主菌 *E. coli* K12 与 $200 \mu\text{L}$ 纯化蛋白 gp38($0.2 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$)混匀, 在 37 °C 条件下孵育 10 min, 同时以等量 PBS 代替纯化蛋白作为对照。加入 $100 \mu\text{L}$ 适宜浓度的噬菌体 Bp7 增殖液, 37 °C 条件下作用 5 min, 双层平板法检测噬菌斑生长情况。对照组和试验组各设 3 个重复。根据噬菌斑数量计算噬菌体 Bp7 相对吸附率, 检测尾丝蛋白 gp38 竞争抑制噬菌体 Bp7 吸附宿主菌 *E. coli* K12 作用。

取 $100 \mu\text{L}$ 适宜浓度的噬菌体 Bp7 增殖液, 加入 $100 \mu\text{L}$ gp38 抗血清混匀, 同时设阴性血清为对照, 在 37 °C 条件下孵育 10 min。加入 $200 \mu\text{L}$ 新鲜增殖的 *E. coli* K12 菌液混匀, 37 °C 条件下作用 5 min, 双层平板法检测噬菌斑生长情况。对照组和

试验组各设 3 个重复。根据噬菌斑数量计算噬菌体 Bp7 相对吸附率, 检测 gp38 蛋白抗体阻断噬菌体 Bp7 吸附宿主菌 *E. coli* K12 作用。

噬菌体相对吸附率 = 试验组噬菌斑数/对照组噬菌斑数 $\times 100\%$ 。

2 结果

2.1 噬菌体 Bp7 蛋白 gp38 序列分析

噬菌体 Bp7 蛋白 gp38 氨基酸序列与 GenBank 数据库中其他噬菌体的 gp38 序列进行相似性比对, 结果显示噬菌体 Bp7 尾丝蛋白 gp38 序列与 T4 类噬菌体尾丝蛋白序列相似性高, 其中与噬菌体 Shf125875 的尾丝蛋白氨基酸序列相似性最高(97%), 与噬菌体 T6、T2 的相似性较低(59%、33.9%), 与 T4 噬菌体无同源性。根据相似性比对结果, 选取相似性较高的序列, 对噬菌体 Bp7 尾丝蛋白 gp38 进行进化分析, 结果见图 1。噬菌体 Bp7 尾丝蛋白 gp38 与其他 7 株噬菌体亲缘关系较近, 同属一个进化分支, 与另外 4 个分支的噬菌体遗传距离较远。

用 DNAMAN 软件对噬菌体 Bp7 尾丝蛋白 gp38 及其亲缘关系较近的 7 株噬菌体 gp38 蛋白序列以及有代表性的 T2、T6 噬菌体 gp38 蛋白序列进行比对, 结果见图 2。由图 2 可知, gp38 蛋白 N 端序列保守性相对较强, C 端序列高度变异。在 C 端存在 4 个高度保守的富甘氨酸保守区(glycine-rich motifs, GRM), 将 C 端序列分割成五个高变区(hyper-variable segments, HVS), 呈现出马赛克特征。

2.2 *gp38* 基因的克隆及重组表达质粒的构建

以噬菌体 Bp7 的基因组序列为模板, 设计引物, PCR 扩增目的基因 *gp38*, 测序结果表明获得了正确的 *gp38* 基因产物。将鉴定正确的 *gp38* 基因片段插入原核表达载体 pColdTF 中构建原核表达质粒 pColdTF-*gp38*, 进行 PCR 和双酶切鉴定, 结果见图 3。由图可知, 在大约 780 bp 处出现目的条带, 与预期片段大小相同。

2.3 重组蛋白 gp38 的表达及鉴定

重组质粒 pColdTF-*gp38* 转入大肠杆菌 BL21 中, IPTG 低温诱导, 进行 SDS-PAGE 电泳检测和 Western blot 鉴定, 结果见图 4。由图 4 可知, 在 85 ku 左右出现预期目的条带, 蛋白在上清中表达量较高, 为可溶性表达。亲和层析法纯化蛋白后, 免疫家兔, 4 免后采血, 检测血清中抗体效价达 1:16。

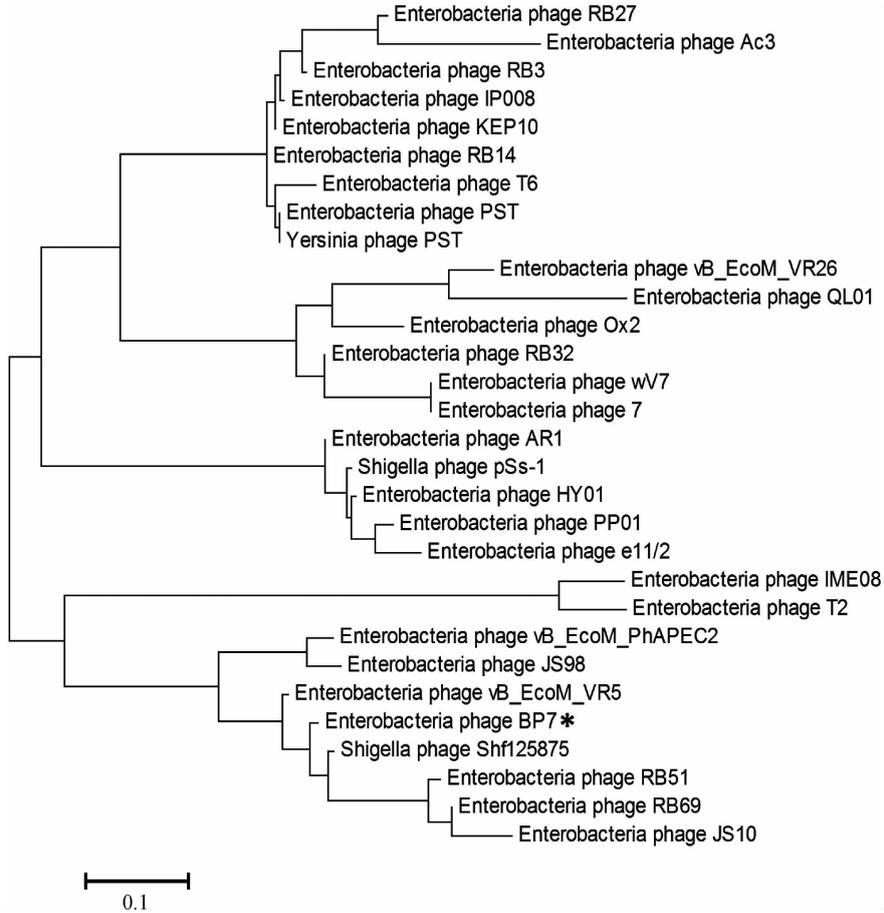


图 1 尾丝蛋白 gp38 序列同源性分析
Fig. 1 Homology analysis of gp38 amino acid sequence

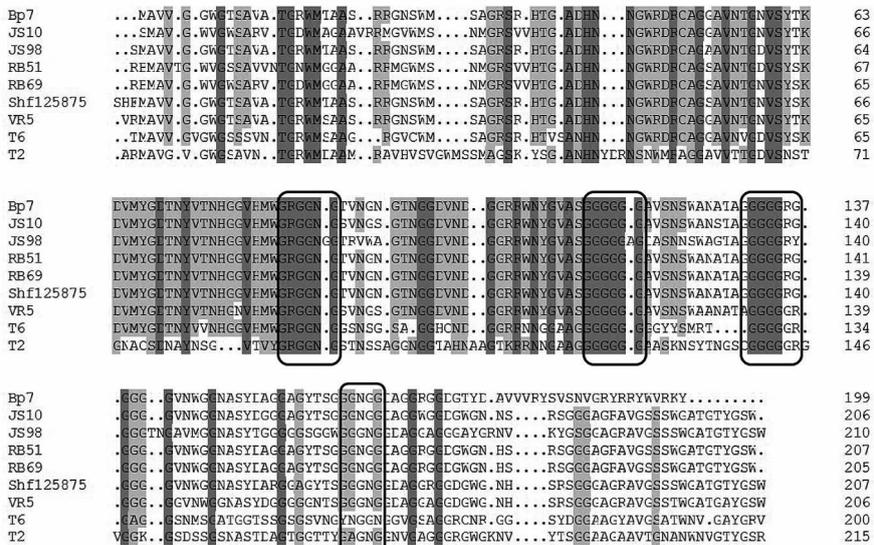
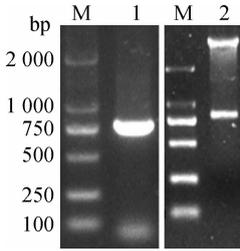


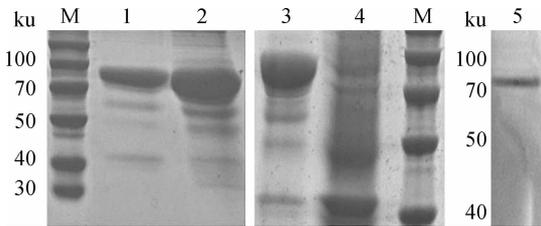
图 2 尾丝蛋白 gp38 氨基酸序列特征分析
Fig. 2 Character analysis of gp38 amino acid sequence



M. DNA 相对分子质量标准 (DL2000); 1. pColdTF-gp38 PCR 扩增; 2. pColdTF-gp38 双酶切鉴定

M. DNA marker (DL2000); 1. PCR product of pColdTF-gp38; 2. Double enzyme digestion product of pColdTF-gp38

图 3 pColdTF-gp38 的 PCR 与双酶切鉴定
Fig. 3 PCR and double enzyme digestion products of recombinant plasmid pColdTF-gp38



M. 蛋白质相对分子质量标准; 1. pColdTF-gp38/BL21 菌体裂解沉淀; 2. pColdTF-gp38/BL21 菌体裂解上清; 3. 重组质粒 pColdTF-gp38 的诱导表达; 4. 空载体质粒 pColdTF 的诱导表达; 5. gp38 蛋白 Western blot 检测

M. Protein marker; 1. The precipitation of pColdTF-gp38/BL21; 2. The supernatant of pColdTF-gp38/BL21; 3. The expression of recombinant plasmid pColdTF-gp38; 4. The expression of plasmid pColdTF; 5. Western blot of gp38 protein

图 4 重组蛋白 gp38 的 SDS-PAGE 及 Western blot 鉴定
Fig. 4 SDS-PAGE and Western blot analysis of recombinant protein gp38

2.4 重组蛋白 gp38 在噬菌体表面的定位

利用尾丝蛋白 gp38 制备的抗血清与噬菌体 Bp7 相互作用后,进行免疫电镜观察,结果见图 5。由图 5 可知,加入 gp38 蛋白的抗血清后,噬菌体 Bp7 的长尾丝相对,聚集在一起,说明 gp38 蛋白的抗血清能够与噬菌体 Bp7 的长尾丝结合,引起噬菌体的聚集,表明蛋白 gp38 位于噬菌体 Bp7 的尾丝末端,是尾丝蛋白的组成部分。

2.5 重组蛋白 gp38 的受体识别活性分析

gp38 蛋白与 *E. coli* K12 孵育后,加入噬菌体 Bp7,检测噬菌体 Bp7 吸附宿主菌 *E. coli* K12 的效果,结果见图 6。由图 6 可知,gp38 蛋白组噬菌体 Bp7 相对吸附率为 0,说明 gp38 蛋白能够与 *E. coli* K12 表面受体结合,使噬菌体 Bp7 不能结合到宿主

菌表面受体,完全竞争抑制噬菌体 Bp7 对宿主菌 *E. coli* K12 的吸附。

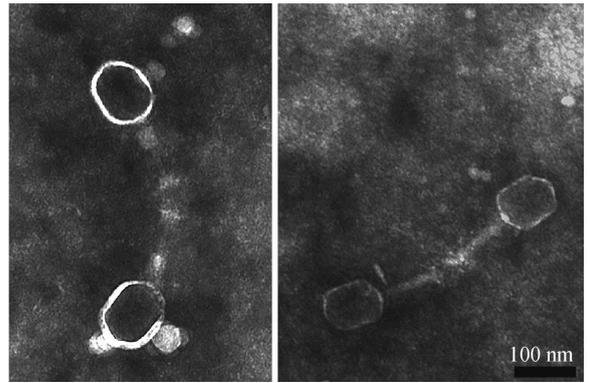


图 5 重组蛋白 gp38 免疫电镜观察

Fig. 5 Immuno-electron microscope observation of recombinant protein gp38

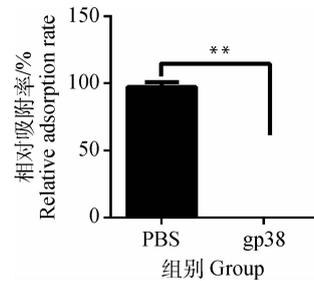


图 6 gp38 蛋白抑制噬菌体 Bp7 吸附作用

Fig. 6 gp38 protein inhibits the adsorption of phage Bp7

gp38 抗血清与噬菌体 Bp7 孵育后,加入宿主菌 *E. coli* K12,检测噬菌体 Bp7 吸附效果,结果见图 7。由图 7 可知,gp38 抗血清组噬菌体 Bp7 相对吸附率为 0,说明 gp38 抗血清能够与噬菌体 Bp7 的蛋白 gp38 特异性结合,从而对噬菌体起到封闭作用,使噬菌体尾丝蛋白无法识别宿主菌的受体,完全阻断噬菌体 Bp7 对宿主菌 *E. coli* K12 的吸附。

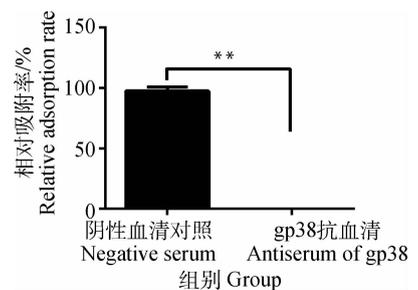


图 7 gp38 抗血清阻断噬菌体 Bp7 吸附作用

Fig. 7 Antiserum of gp38 protein blocks the adsorption of phage Bp7

3 讨论

噬菌体作为细菌的天敌,具有潜在的开发价值和广阔的应用前景,近年来备受关注^[18-19]。有尾噬菌体 gp38 蛋白在不同的噬菌体中具有不同的作用。在 T4 噬菌体中, gp38 作为伴侣分子,保证受体识别蛋白 gp37 形成正确的三聚体空间构象,而在 T2、T6 噬菌体中, gp38 是关键的受体识别蛋白^[20]。本试验对噬菌体 Bp7 的 gp38 蛋白开展研究,明确其在噬菌体 Bp7 吸附过程中的作用。

噬菌体 Bp7 是一株从鸡场分离的大肠杆菌噬菌体,具有宽宿主谱的特征,属于肌尾噬菌体科、T4 类噬菌体,与 T4 噬菌体全基因组序列相似性达 76.56%^[15]。但是,本试验噬菌体 Bp7 蛋白 gp38 氨基酸序列比对分析发现其与 T4 噬菌体 gp38 蛋白几乎没有同源性,而与 T2、T6 噬菌体的亲缘关系较近。对其序列特征进一步分析发现, gp38 蛋白序列 C 端变异程度高,4 个 GRM 区与 5 个 HVS 区间隔排列,呈现出马赛克特征,这与之前对 gp38 序列报道结果一致^[20]。因此,可以推测噬菌体 Bp7 蛋白 gp38 与 T2、T6 噬菌体的 gp38 蛋白相似,可能作为受体识别蛋白在噬菌体吸附宿主菌过程中具有关键作用。本试验在原核系统中可溶性表达了噬菌体 Bp7 蛋白 gp38,并制备了相应多克隆抗体。gp38 蛋白竞争抑制试验及抗体阻断试验证实,两者均能完全阻止噬菌体 Bp7 的吸附过程,这表明 gp38 蛋白在噬菌体 Bp7 吸附过程中具有关键作用。同时,通过免疫电镜观察, gp38 抗体能够与噬菌体 Bp7 长尾丝结合,引发噬菌体聚集,说明 gp38 蛋白位于噬菌体 Bp7 的长尾丝末端,这表明噬菌体 Bp7 蛋白 gp38 与 T2 噬菌体尾丝蛋白 gp38 功能相似,是噬菌体 Bp7 关键的受体识别蛋白。

本试验证实尾丝蛋白 gp38 在噬菌体 Bp7 识别宿主菌过程中具有重要作用, gp38 蛋白特征决定了其能够吸附宿主菌受体的种类,进而决定了噬菌体 Bp7 的宿主谱。Drexler 等^[21]推测 GRM 构成 gp38 蛋白的结构核心, HVS 形成 Ω 环,识别宿主菌表面受体。对不同噬菌体 gp38 的序列比对发现与 HVS 序列相似的噬菌体其宿主范围相同,利用同源重组替换 HVS 序列可以改变噬菌体宿主谱,这进一步证实了 HVS 序列是 gp38 的受体结合区域^[20]。因此,尾丝蛋白 gp38 的 HVS 结构特征决定了噬菌体 Bp7 识别受体的种类,进而决定了噬菌体 Bp7 宽宿

主谱的特征,但是 gp38 蛋白的 HVS 识别受体的作用机制尚不明确,将在后续工作中进行深入研究。

4 结论

噬菌体 Bp7 蛋白 gp38 位于长尾丝末端,是噬菌体的受体识别蛋白,在噬菌体识别与吸附宿主菌 *E. coli* K12 表面受体过程中具有关键作用,这为后期阐明宽宿主谱噬菌体 Bp7 识别受体的作用机制提供了理论基础。

参考文献 (References):

- [1] HATFULL G F, HENDRIX R W. Bacteriophages and their genomes[J]. *Current Opin Virol*, 2011, 1(4):298-303.
- [2] FISCHBACH M A, WALSH C T. Antibiotics for emerging pathogens[J]. *Science*, 2009, 325(5944):1089-1093.
- [3] HARDS K, COOK G M. Targeting bacterial energetics to produce new antimicrobials[J]. *Drug Resist Updat*, 2018, 36:1-12.
- [4] REARDON S. Phage therapy gets revitalized; The rise of antibiotic resistance rekindles interest in a century-old virus treatment[J]. *Nature*, 2014, 510(7503):15-16.
- [5] CRISCUOLO E, SPADINI S, LAMANNA J, et al. Bacteriophages and their immunological applications against infectious threats[J]. *J Immunol Res*, 2017, 2017:3780697.
- [6] XU Y Q, LIU Y, LIU Y, et al. Bacteriophage therapy against *Enterobacteriaceae*[J]. *Virol Sin*, 2015, 30(1):11-18.
- [7] OFIR G, SOREK R. Contemporary phage biology: From classic models to new insights[J]. *Cell*, 2018, 172(6):1260-1270.
- [8] BARTUAL S G, OTERO J M, GARCIA-DOVAL C, et al. Structure of the bacteriophage T4 long tail fiber receptor-binding tip[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2010, 107(47):20287-20292.
- [9] LEIMAN P G, ARISAKA F, VAN RAAIJ M J, et al. Morphogenesis of the T4 tail and tail fibers[J]. *Virol J*, 2010, 7:355.
- [10] STORMS Z J, SAUVAGEAU D. Modeling tailed bacteriophage adsorption; Insight into mechanisms[J]. *Virology*, 2015, 485:355-362.
- [11] HU B, MARGOLIN W, MOLINEUX I J, et al. The bacteriophage T7 virion undergoes extensive structural remodeling during infection[J]. *Science*, 2013,

- 339(6119):576-579.
- [12] MONTAG D, HASHEMOLHOSSEINI S, HENNING U. Receptor-recognizing proteins of T-even type bacteriophages. The receptor-recognizing area of proteins 37 of phages T4 TuIa and TuIb[J]. *J Mol Biol*, 1990, 216(2):327-334.
- [13] YAP M L, ROSSMANN M G. Structure and function of bacteriophage T4 [J]. *Future Microbiol*, 2014, 9(12):1319-1327.
- [14] RIEDE I, DREXLER K, SCHWARZ H, et al. T-even-type bacteriophages use an adhesin for recognition of cellular receptors [J]. *J Mol Biol*, 1987, 194(1):23-30.
- [15] ZHANG C, LI W L, LIU W H, et al. T4-like phage Bp7, a potential antimicrobial agent for controlling drug-resistant *Escherichia coli* in chickens[J]. *Appl Environ Microbiol*, 2013, 79(18):5559-5565.
- [16] ZHANG C, LI W H, REN H Y. Complete genome sequence of Bp7, an *Escherichia coli* bacteriophage with a wide host range[J]. *J Virol*, 2012, 86(24):13832.
- [17] 齐 心,陈培培,邹 玲,等. 噬菌体 Bp7 穿孔素 holin 的克隆、表达及其活性分析[J]. 畜牧兽医学报, 2017, 48(12):2392-2398.
- QI X, CHEN P P, ZOU L, et al. Cloning, expression and activity analysis of phage Bp7 holin[J]. *Acta Veterinaria et Zootechnica Sinica*, 2017, 48(12):2392-2398. (in Chinese)
- [18] PIRES D P, MELO L, VILAS BOAS D, et al. Phage therapy as an alternative or complementary strategy to prevent and control biofilm-related infections[J]. *Curr Opin Microbiol*, 2017, 39:48-56.
- [19] LIN D M, KOSKELLA B, LIN H C. Phage therapy: An alternative to antibiotics in the age of multi-drug resistance[J]. *World J Gastrointest Pharmacol Ther*, 2017, 8(3):162-173.
- [20] TROJET S N, CAUMONT-SARCOS A, PERRODY E, et al. The gp38 adhesins of the T4 Superfamily: A complex modular determinant of the phage's host specificity[J]. *Genome Biol Evol*, 2011, 3:674-686.
- [21] DREXLER K, RIEDE I, MONTAG D, et al. Receptor specificity of the *Escherichia coli* T-even type phage Ox2: Mutational alterations in host range mutants[J]. *J Mol Biol*, 1989, 207(4):797-803.

(编辑 白永平)