

微生物学报 *Acta Microbiologica Sinica*  
51(10):1297-1303; 4 October 2011  
ISSN 0001-6209; CN 11-1995/Q  
<http://journals.im.ac.cn/actamicrocn>

## 解析细菌免疫系统

李铁民

辽宁大学生命科学院 沈阳 110036

**摘要:**在细菌与噬菌体之间的生存斗争中,细菌面临噬菌体的威胁,进化了多种免疫机制。在这些免疫机制中,有的采用被动适应,有的采用主动防御的策略,阻止噬菌体 DNA 进入细胞,裂解侵入的 DNA,或以宿主细胞死亡的方式,阻止噬菌体的扩散。各种机制的相互配合,在细菌细胞中构成了一个有效的免疫系统。本文在综述细菌免疫系统最新研究进展基础上,重点分析讨论了细菌免疫系统的作用模式,以及细菌免疫系统与噬菌体之间的进化关系。

**关键词:**细菌,噬菌体,免疫系统,进化

**中图分类号:** Q93 **文献标识码:** A **文章编号:** 0001-6209 (2011) 10-1297-07

在自然界中,噬菌体无处不在,其数量远远超过细菌数量<sup>[1]</sup>,对细菌的生存构成了极大威胁。各种 DNA 遗传元件也可通过转导、转化和结合方式转移 DNA 到细菌细胞中。细菌面临各类 DNA 的侵袭,进化了多种防御机制。有的防御机制在 DNA 进入细胞前起作用,有的防御机制则在 DNA 进入细胞后起作用,尤其在 DNA 进入细胞后细菌通过多种机制对侵入的 DNA 进行干扰,保证了细菌细胞的生理稳定性。

近年,在细菌中新发现了一种免疫防御系统,称为 CRISPR-Cas 系统。该系统的发现不仅揭示了细菌的适应性免疫机制,而且更进一步说明了细菌免疫防御系统的复杂性,对细菌免疫系统的深入研究起到了重要推动作用,也使细菌免疫机制的研究成了目前微生物学研究领域的热点之一。本文在综述细菌各种免疫机制最新研究进展的基础上,重点分析讨论了各种免疫机制之间的作用模式以及免疫系统与噬菌体之间的进化关系。

### 1 限制修饰系统

限制修饰 (Restriction-Modification RM) 系统是最早发现的细菌免疫系统,典型的 RM 系统由限制酶 (REase) 和甲基转移酶 (MTase) 构成,它们通常成对出现,具有相同的 DNA 识别位点。REase 识别并裂解特定的 DNA 序列,同源的 MTase 对同一识别位点上的腺嘌呤或胞嘧啶进行甲基化,保护 DNA 不被 REase 裂解<sup>[2]</sup>。

正常情况下,含有 RM 的细胞在 DNA 复制过程中被甲基化,而外来核酸(如噬菌体和质粒 DNA)的甲基化模式与细菌本身的甲基化模式不一致,就可能被细菌的特定限制酶所降解<sup>[3]</sup>。编码 RM 系统的基因定位在质粒或染色体基因组中。到目前为止,在已测序的细菌和古细菌的基因组中,90% 以上含有 RM 系统<sup>[4]</sup>,在已测序的 1050 种细菌和古细菌的基因组中共发现限制酶基因 4990 种,

基金项目:辽宁省自然科学基金项目(20082501);沈阳市科学技术计划项目(1091187-1-00)

作者简介:李铁民(1960-),男,博士,教授,研究方向为噬菌体与细菌相互作用。Tel: +86-24-62202232; E-mail: tieminli@lnu.edu.cn

收稿日期:2011-03-14;修回日期:2011-04-06

甲基化酶基因 8080 种<sup>[4]</sup>。

目前,根据 RM 系统亚单位组分、识别位点、辅助因子和酶切位点,已将 RM 系统分成 4 种类型,即 I - IV<sup>[5]</sup>,其中,在 I 型中又分为 5 个家族<sup>[6]</sup>,即 I A - I E。在已发现的 RM 系统中,II 型占的比例数量最大。值得一提的是,IV 型限制修饰酶中 REase 只能裂解修饰过的 DNA 底物,如甲基化、羟甲基化或葡糖甲基化的碱基,研究较清楚的是大肠杆菌 K12 株中的 McrBC<sup>[7]</sup>。

RM 系统是细菌免疫防御的胞内第一道防线。在噬菌体或移动遗传元件尚未复制之前就降解其 DNA 是 RM 系统作用的突出特点之一。

## 2 流产感染系统

流产感染 (Abortive infection Abi) 系统 (也称噬菌体排斥系统) 是在噬菌体的不同发育阶段干扰噬菌体增殖的一种机制<sup>[8]</sup>。在噬菌体感染的过程中,噬菌体的吸附和 DNA 注入正常发生,只是后续发生的噬菌体发育过程被终止。由于噬菌体的侵入,干扰了宿主细胞的正常生理功能,导致了被感染宿主细胞的死亡,进而终止了噬菌体的增殖,被感染细胞的死亡阻止了噬菌体的扩散,为周围细胞的生存提供了保护<sup>[8]</sup>。

Abi 系统多数编码在质粒或前噬菌体上,常常由单一宿主基因所介导。到目前为止,已在许多种类的细菌中发现 Abi 系统。虽然对 Abi 系统的研究已有 50 多年的历史,但由于 Abi 系统的复杂性,以及人们对噬菌体生物学知识还缺乏深入了解,所以,Abi 系统的作用模式仍不完全清楚,其作用机制多种多样。在乳球菌中发现的 Abi 基因较多,研究的也较深入,它们在噬菌体增殖的多个环节中发挥作用<sup>[9]</sup>,有的 Abi 基因干扰噬菌体 DNA 复制和 RNA 转录,有的限制噬菌体主要外壳蛋白的产生,影响噬菌体 DNA 包装。从以下几个典型例子中我们可以了解 Abi 系统的具体免疫机制。

在  $\lambda$  噬菌体溶源性的大肠杆菌中发现的 Rex 系统是目前为止研究最清楚的 Abi 系统<sup>[10]</sup>,这个系统由 2 个蛋白组成—RexA 和 RexB。当噬菌体感染时,产生一个噬菌体蛋白-DNA 复合物,它作为噬菌体复制或重组的中间物,活化 RexA。RexA 是一个胞内感受器,激活膜锚定的 RexB。RexB 是个离子

通道,通过降低膜电势,导致细胞 ATP 水平的降低,因此,减少了生物大分子的合成,终止了细胞的增殖。在这个过程中噬菌体感染也将被流产,因为噬菌体增殖需要 ATP 或 ATP 依赖的细胞组分。

*prcC* 基因是定位在 *E. coli* CT196 染色体的一个隐性遗传元件中。*PrrC* 活性可以被相关的 *prcD* 编码的限制酶 *EcoprrI* 中和,*T4* 噬菌体肽 *Stp* (suppressor of the three-prime phosphatase) 可以改变 *EcoprrI* and *PrrC* 的相互作用,释放激活的 *PrrC* 蛋白,接下来裂解 *tRNA<sup>Lys</sup>* 的反密码子环,在 *T4* 噬菌体中导致蛋白质合成终止,最终导致噬菌体增殖夭折<sup>[11]</sup>。

*PifA* 是个膜相关的蛋白,对毒力噬菌体 *T3*, *T7* 和其它相关噬菌体有抗性<sup>[12]</sup>。在噬菌体感染的含有 *PifA* 系统的细菌中,噬菌体基因的早期转录正常发生,随之,大分子合成严重减少,限制了后期转录。最后,噬菌体 DNA 终止复制,细菌染色体被降解。另外,细胞膜的通透性被改变,导致像 ATP 这样的分子漏出。在细菌死亡的同时,噬菌体的增殖也受到了限制。

## 3 毒素-抗毒素系统

毒素-抗毒素 (Toxin-Antitoxin TA) 系统是个小的遗传模块,又称 TA 位点,基因产物通常由 2 个组分构成,一个是稳定的毒素,另一个是不稳定的抗毒素。毒素是蛋白,而抗毒素或是蛋白,或是 RNA<sup>[13]</sup>。

在已测序的原核生物中发现有数百个 TA 位点,隶属于几个典型的 TA 基因家族。如, *ccdAB*, *relBE*, *MazEF* 等<sup>[13]</sup>。在一个基因组中 TA 位点可有数十拷贝,最多可达 50 余个拷贝<sup>[14]</sup>。专性寄生的微生物,如支原体和立克次体等,几乎不含 TA 系统<sup>[15]</sup>。在单一基因组中还经常有多个类型的 TA 系统共存,互不干扰<sup>[16-17]</sup>。

根据抗毒素的性质和作用模式,已将 TA 系统分为 3 种类型<sup>[18]</sup>。虽然在细菌免疫系统研究中,对 TA 系统的免疫防御功能研究的比较少,但已发现 3 种类型 TA 系统均参与宿主对噬菌体的防御。

当大肠杆菌表达含有 I 型 TA 系统 *hok/sok* 基因的高拷贝质粒,用 *T4* 噬菌体感染这些细胞时,细胞数量却没有减少,而不含 *hok/sok* 基因的大肠杆

菌细胞数量明显减少,表明 TA 系统 *hok/sok* 基因具有噬菌体排斥功能<sup>[19]</sup>。

II 型 TA 系统 *mazEF* 存在于染色体上,在细菌细胞中介导程序性细胞死亡 (CDC)<sup>[20]</sup>,但也发现它具有在细胞群体中阻止噬菌体扩散的功能<sup>[21]</sup>。当噬菌体感染宿主菌时,它作为一种应激因子激活 *mazEF* 系统,在转录或翻译水平上干扰 *mazE* 的表达,促进 *mazF* 的表达,通过 *mazF* 蛋白的毒性作用导致菌体死亡<sup>[21]</sup>。

最近,在 *Pectobacterium atrosepticum* 的隐形质粒上发现了一个新的 TA 系统 *toxIN*<sup>[22]</sup>。研究发现,它的毒素蛋白 (ToxN) 与 *Abi* 蛋白相同,可以引起噬菌体感染的细胞死亡<sup>[22]</sup>,作用机制尚不清楚,很可能与阻止噬菌体颗粒的形成有关<sup>[23]</sup>。

## 4 CRISPR-Cas 系统

CRISPR (clustered regularly interspaced short palindromic repeats) 是一个特殊的 DNA 重复序列家族,广泛分布于细菌和古细菌基因组中<sup>[24]</sup>。CRISPR 位点通常由短的高度保守的重复序列 (repeats) 组成,重复序列的长度通常 21 - 48 bp,重复次数最高可达 250 次。重复序列之间常被 26 - 72 bp 间隔序列 (spacer) 隔开,间隔序列长度与细菌种类和 CRISPR 位点有关。CRISPR 位点通常定位在细菌染色体上,个别出现在质粒中。CRISPR 的间隔序列与噬菌体或质粒序列存在有同源性<sup>[25-26]</sup>。在 CRISPR 位点附近,存在一系列 CRISPR 相关 (CRISPR-associated, Cas) 基因。*cas* 基因根据其保守程度可分为核心 *cas* 基因,亚型特异性 *cas* 基因和 RAMP (repeat-associated mysterious proteins) 组件基因<sup>[27-28]</sup>。*cas* 基因定位在 CRISPR 位点附近,是一个较大的多态性家族,编码的蛋白具有核酸相关的功能域,目前发现有 6 个核心 *cas* 基因<sup>[29]</sup>,它们分别编码核酸内切酶 (endonuclease)、核酸外切酶 (exonucleases) 和解旋酶 (helicase) 等。另外,在 CRISPR 位点的第一个重复序列的上游定位有 CRISPR 前导序列 (leader sequence),其功能是作为启动子<sup>[30]</sup>。基于 CRISPR 间隔序列与噬菌体或质粒序列的同源性<sup>[25-26]</sup>,已证实 CRISPR 和 Cas 蛋白构成的 CRISPR-Cas 系统赋予宿主细胞针对外源 DNA 免疫<sup>[31-32]</sup>。

Barrangou 等人<sup>[31]</sup>通过基因工程手段改变间隔序列的碱基序列,证实了间隔序列的掺入能够提供宿主新的噬菌体抗性,相反,删除间隔序列能使噬菌体抗性丢失,同时发现 Cas 蛋白也与噬菌体抗性的获得有关。间隔序列干扰质粒结合和转化的证据在表皮葡萄球菌 (*S. epidermidis*) 中也得到了实验证实<sup>[33]</sup>。

到目前为止,虽然对 CRISPR-Cas 系统的详细作用机制尚未得到完全阐明,但已基本明确了它的作用机制的整个过程<sup>[34-35]</sup>。在噬菌体侵入的起始阶段,Cas 蛋白复合物靶向并裂解噬菌体基因组中短的原型间隔序列 (proto-spacer) (与 CRISPR 间隔序列同源的噬菌体基因序列),这些原型间隔序列接下来整合到宿主基因组中的 CRISPR 位点的 5'。然后这些短的掺入的间隔序列被转录成 crRNAs (CRISPR RNAs),在 crRNAs 中除含有间隔序列转录物外,还含有间隔序列两侧重复序列的部分转录产物。最后阶段是靶向和干扰侵入的噬菌体 DNA 序列,这个过程仍需 Cas 蛋白复合物参与。当宿主再被噬菌体感染时,crRNAs 作为模板靶向噬菌体的原型间隔序列,通过碱基配对结合后,降解靶向的 DNA。与此同时,crRNAs 可以区分来自噬菌体的原型间隔序列和 CRISPR 序列中与原型间隔序列同源的间隔序列<sup>[36]</sup>。

## 5 分析和展望

在细菌免疫系统中,各种免疫机制相互配合,共同维持细胞生存稳定 (表 1)。在这些免疫机制中,有的采用被动适应,有的采用主动防御的策略,限制噬菌体的繁殖或阻止噬菌体的扩散。被动适应涉及细菌阻断外源 DNA 侵入胞内,如阻止噬菌体吸附,阻止 DNA 进入等机制<sup>[9]</sup>,主动防御过程则包括上述 4 类免疫机制。

RM 系统和 CRISPR-Cas 系统构成了防御噬菌体感染的胞内第一道防线,他们通过降解进入细胞的 DNA,阻止噬菌体繁殖,保护单个细胞不被感染。但细菌细胞存在有 RM 系统和 CRISPR-Cas 系统两种降解外源 DNA 的机制,我认为可能主要为满足应对噬菌体基因组的高度变异性的需求。因为噬菌体在面临这两种免疫限制机制情况下,能够修饰自身 DNA 序列,例如,改变被靶向的 DNA

序列中的碱基,减少限制酶的识别位点数量,改变限制识别位点等<sup>[37-38]</sup>。有的噬菌体则通过瞬间

封闭限制位点或干扰限制活性等方式,逃避免疫机制的限制<sup>[37]</sup>。

表 1 细菌免疫机制概览

Table 1 A summary of bacterial immune mechanisms

Defense type	Mechanism	Property
<b>Passive adaptation</b>		
Physical barrier	Preventing phage adsorption and phage DNA entry.	Blocking the entry of phage DNA into host cells.
<b>Active defense</b>		
RM system	The restriction enzyme cleaves specific patterns in the incoming foreign DNA, while the modification enzyme protects host DNA from cleavage.	Degradation of foreign DNA.
Abi system	Premature cellular death occurs upon phage entry.	Limitation phage spreading by host cell death.
TA system	A toxic molecule is produced by the cell and neutralized by the antitoxin product. When phages infect bacteria cell, the balance is disrupted, the toxin is released and the bacterium dies.	Limitation phage spreading by host cell death.
CRISPR-Cas system	Fragments of phage DNA are integrated into CRISPR loci, which are then transcribed and processed into short non-coding RNAs. These RNAs, along with the associated Cas proteins, interfere with the phage nucleic acids.	Degradation of foreign DNA with acquired adaptive immunity.

RM 系统和 CRISPR-Cas 系统的配合大大增加了宿主对噬菌体 DNA 和像质粒这样的移动遗传元件限制的有效性。如果噬菌体逃避了 RM 系统的限制,可能 CRISPR-Cas 系统对它起限制性作用,因为到目前为止还未见到有关一株噬菌体既抗 RM 系统又抗 CRISPR-Cas 系统的报道。但如果噬菌体突破了宿主防御的第一道防线,可能 Abi 系统和 TA 系统通过诱发宿主细胞死亡,中断噬菌体繁殖过程,限制噬菌体扩散,以保护群体不被灭绝。然而,Abi 和 TA 两个系统最终的免疫结果都是通过诱发宿主细胞死亡,阻止噬菌体扩散。从作用形式上看,两个系统似乎相同的,而且,最近在 TA 系统 toxIN 中发现,毒素蛋白(ToxN)与 Abi 蛋白相同<sup>[22]</sup>,所以,有人将 TA 系统看作是 Abi 系统的一个亚型<sup>[39]</sup>。Abi 和 TA 两个系统的关系如何,还有待进一步研究证实。

人们对细菌免疫系统的研究还处在刚刚起步阶段,对各类免疫机制的细节了解仍然较少,尤其对各类免疫机制之间的关系了解则更少。当噬菌体侵入宿主细胞时,各类免疫机制是单独起作用,还是与其它免疫机制联合起作用?哪个机制先起作用,哪个机制后起作用,哪个机制对哪类噬菌体或 DNA 元件起限制作用?对这些问题现在仍不清楚。相信随着被测细菌和噬菌体数量的增加,研究技术和研究方法的进步,人们一定会对细菌各类免疫机制的研究更加深入,将会逐渐澄清目前尚不能解释的那些问题。

总之,细菌利用免疫系统防御噬菌体的攻击,而噬菌体也进化其相应策略逃避宿主的防御,这样就产生了细菌和噬菌体之间永不休止的战争。上述的各类免疫机制都是针对双股 DNA 噬菌体的,然而,自然界中还有单股 DNA,双股 RNA 和单股 RNA 噬菌体,细菌面对这些噬菌体,必然要进化多种免疫机制,因此,可以推断,细菌可能还存在尚未被发现的其它种类的免疫机制。

对细菌免疫系统的深入广泛研究,有力地促进了其应用研究的开展。近年来,RM 系统已被应用到噬菌体污染控制研究中<sup>[40-41]</sup>。在乳酸菌中,编码在质粒上的不同 RM 系统可在种间表达噬菌体抗性<sup>[40]</sup>,为乳品生产中菌株轮换控制噬菌体污染提供了有利条件。最近,我们利用谷氨酸棒杆菌染色体编码的 *cglI* 基因复合体构建了抗噬菌体重组钝齿棒杆菌<sup>[41]</sup>,研究结果表明,携带 *cglI* 基因复合体的重组钝齿棒杆菌显示了很强的抗噬菌体功能活性,并具有广谱噬菌体抗性,这一研究成果为解决谷氨酸发酵生产中的噬菌体污染问题开辟了一条新途径。新近,我们的研究还发现,CRISPR-Cas 系统在工程构建广谱噬菌体抗性菌株中具有独特优越性,可以避免利用 RM 系统构建噬菌体抗性菌株中存在的某些局限性(未发表)。由于 CRISPR-Cas 系统的适应性免疫特性和可遗传性,利用 CRISPR-Cas 系统工程噬菌体抗性菌株可能将会更加方便有效。

## 参考文献

- [ 1 ] Chibani-Chennoufi S , Bruttin A , Dillmann ML , Brüssow H. Phage-host interaction: an ecological perspective. *Journal of Bacteriology* , 2004 , 186(12) : 3677-3686.
- [ 2 ] Pingoud A , Jeltsch A. Structure and function of type II restriction endonucleases. *Nucleic Acids Research* , 2000 , 29(18) : 3705-3727.
- [ 3 ] Kobayashi I. Behavior of restriction-modification systems as selfish mobile elements and their impact on genome evolution. *Nucleic Acids Research* , 2001 , 29 ( 18 ) : 3742-3756.
- [ 4 ] Roberts RJ , Vincze T , Posfai J , Macelis D. REBASE—a database for DNA restriction and modification: enzymes , genes and genomes. *Nucleic Acids Research* , 2010 , 38 ( suppl 1 ) : D234-236.
- [ 5 ] Roberts RJ , Belfort M , Bestor T , Bhagwat AS , Bickle TA , Bitinaite J , Blumenthal RM , Degtyarev SKh , Dryden DT , Dybvig K , Firman K , Gromova ES , Gumpert RI , Halford SE , Hattman S , Heitman J , Hornby DP , Janulaitis A , Jeltsch A , Josephsen J , Kiss A , Klaenhammer TR , Kobayashi I , Kong H , Krüger DH , Lacks S , Marinus MG , Miyahara M , Morgan RD , Murray NE , Nagaraja V , Piekarowicz A , Pingoud A , Raleigh E , Rao DN , Reich N , Repin VE , Selker EU , Shaw PC , Stein DC , Stoddard BL , Szybalski W , Trautner TA , Van Etten JL , Vitor JM , Wilson GG , Xu SY. A nomenclature for restriction enzymes , DNA methyltransferases , homing endonucleases and their genes. *Nucleic Acids Research* , 2003 , 31 ( 7 ) : 1805-1812.
- [ 6 ] Chin V , Valinluck V , Magaki S , Ryu J: KpnBI is the prototype of a new family ( IE ) of bacterial type I restriction-modification system. *Nucleic Acids Research* , 2004 , 32(18) : e138.
- [ 7 ] Stewart FJ , Panne D , Bickle TA , Raleigh EA. Methyl-specific DNA binding by McrBC , a modification-dependent restriction enzyme. *Journal of Molecular Biology* , 2000 , 298(4) : 611-622.
- [ 8 ] Chopin MC , Chopin A , Bidnenko E. Phage abortive infection in lactococci: variations on a theme. *Current Opinion in Microbiology* , 2005 , 8(4) : 473-479.
- [ 9 ] Labrie SJ , Samson JE , Moineau S. Bacteriophage resistance mechanisms. *Nature Reviews Microbiology* , 2010 , 8: 317-327.
- [10] Molineux IJ. Host-parasite interactions: recent developments in the genetics of abortive phage infections. *The New Biologist* , 1991 , 3(3) : 230-236.
- [11] Snyder L. Phage-exclusion enzymes: a bonanza of biochemical and cell biology reagents? *Molecular Microbiology* , 1995 , 15(3) : 415-420.
- [12] Cheng X , Wang W , Molineux IJ. F exclusion of bacteriophage T7 occurs at the cell membrane. *Virology* , 2004 , 326(2) , 340-352.
- [13] Gerdes K , Christensen SK , Lobner-Olesen A. Prokaryotic toxin-antitoxin stress response loci. *Nature Reviews Microbiology* , 2005 , 3: 371-382.
- [14] Makarova KS , Wolf YI , Koonin EV. Comprehensive comparative genomic analysis of type 2 toxin-antitoxin systems and related mobile stress response systems in prokaryotes. *Biology Direct* , 2009 , 4: 19.
- [15] Pandey DP , Gerdes K. Toxin-antitoxin loci are highly abundant in free-living but lost from host-associated prokaryotes. *Nucleic Acids Research* , 2005 , 33(3) : 966-976.
- [16] Christensen-Dalsgaard M , Gerdes K. Two higBA loci in the *Vibrio cholerae* superintegron encode mRNA cleaving enzymes and can stabilize plasmids. *Molecular Microbiology* , 2006 , 62(2) : 397-411.
- [17] Fiebig A , Castro Rojas CM , Siegal-Gaskins D , Crosson S. Interaction specificity , toxicity and regulation of a paralogous set of ParE/RelE-family toxin-antitoxin systems. *Molecular Microbiology* , 2010 , 77(1) : 236-251.
- [18] Van Melderen L. Toxin-antitoxin systems: why so many , what for? *Current Opinion in Microbiology* , 2010 , 13(6) : 781-785
- [19] Pecota DC , Wood TK. Exclusion of T4 phage by the hok/sok killer locus from plasmid R1. *Journal of Bacteriology* , 1996 , 178(7) : 2044-2050.
- [20] Engelberg-Kulka H , Amitai S , Kolodkin-Gal I , Hazan R. Bacterial programmed cell death and multicellular behavior in bacteria. *PLoS Genetics* , 2006 , 2(10) : e135.
- [21] Hazan R , Engelberg-Kulka H. *Escherichia coli* mazEF-mediated cell death as a defense mechanism that inhibits the spread of phage P1. *Molecular Genetics and Genomics* , 2004 , 272(2) : 227-234.
- [22] Fineran PC , Blower TR , Foulds IJ , Humphreys DP , Lilley KS , Salmond GP. The phage abortive infection system , ToxIN , functions as a protein-RNA toxin-antitoxin pair.

- Proceedings of the National Academy of Sciences USA*, 2009, 106(3): 894-899.
- [23] Blower TR, Fineran PC, Johnson MJ, Toth IK, Humphreys DP, Salmond GP. Mutagenesis and functional characterization of the RNA and protein components of the toxIN abortive infection and toxin-antitoxin locus of *Erwinia*. *Journal of Bacteriology*, 2009, 191(19): 6029-6039.
- [24] Grissa I, Vergnaud G, Pourcel C. The CRISPRdb database and tools to display CRISPRs and to generate dictionaries of spacers and repeats. *BMC Bioinformatics*, 2007, 8(1): 172.
- [25] Bolotin A, Quinquis B, Sorokin A, Ehrlich SD. Clustered regularly interspaced short palindrome repeats (CRISPRs) have spacers of extrachromosomal origin. *Microbiology*, 2005, 151(8): 2551-2561.
- [26] Mojica FJ, Diez-Villasenor C, Garcia-Martinez J, Soria E. Intervening sequences of regularly spaced prokaryotic repeats derive from foreign genetic elements. *Journal of Molecular Evolution*, 2005, 60(2): 174-182.
- [27] Haft DH, Selengut J, Mongodin EF, Nelson KE. A guild of 45 CRISPR-associated (Cas) protein families and multiple CRISPR/Cas subtypes exist in prokaryotic genomes. *PLoS Computational Biology*, 2005, 1(6): e60.
- [28] Makarova KS, Grishin NV, Shabalina SA, Wolf YI, Koonin EV. A putative RNA-interference-based immune system in prokaryotes: computational analysis of the predicted enzymatic machinery, functional analogies with eukaryotic RNAi, and hypothetical mechanisms of action. *Biology Direct*, 2006, 1: 7.
- [29] Godde JS, Bickerton A. The repetitive DNA elements called CRISPRs and their associated genes: evidence of horizontal transfer among prokaryotes. *Journal of Molecular Evolution*, 2006, 62(6): 718-729.
- [30] Lillestøl RK, Redder P, Garrett RA, Brugger K. A putative viral defence mechanism in archaeal cells. *Archaea*, 2006, 2(1): 59-72.
- [31] Barrangou R, Fremaux C, Deveau H, Richards M, Boyaval P, Moineau S, Romero DA, Horvath P. CRISPR provides acquired resistance against viruses in prokaryotes. *Science*, 2007, 315(5819): 1709-1712.
- [32] Deveau H, Barrangou R, Garneau JE, Labonte J, Fremaux C, Boyaval P, Romero DA, Horvath P, Moineau S. Phage response to CRISPR-encoded resistance in *Streptococcus thermophilus*. *Journal of Bacteriology*, 2008, 190(4): 1390-1400.
- [33] Marraffini LA, Sontheimer EJ. CRISPR interference limits horizontal gene transfer in staphylococci by targeting DNA. *Science*, 2008, 322(5909): 1843-1845.
- [34] Garneau JE, Dupuis M, Villion M, Romero DA, Barrangou R, Boyaval P, Fremaux C, Horvath P, Magadán AH, Moineau S. The CRISPR/Cas bacterial immune system cleaves bacteriophage and plasmid DNA. *Nature*, 2010, 468(7320): 67-71.
- [35] Horvath P, Barrangou R. CRISPR/Cas, the immune system of bacteria and archaea. *Science*, 2010, 327(5962): 167-170.
- [36] Marraffini LA, Sontheimer EJ. Self versus non-self discrimination during CRISPR RNA-directed immunity. *Nature*, 2010, 463(7280): 568-571.
- [37] Tock MR and Dryden DT. The biology of restriction and anti-restriction. *Current Opinion in Microbiology*, 2005, 8(4): 466-472.
- [38] 李铁民, 杜波. CRISPR-Cas 系统与细菌和噬菌体的共进化. *遗传(Hereditas)*, 2011, 33(3): 213-218.
- [39] Stern A, Sorek R. The phage-host arms race: shaping the evolution of microbes. *BioEssays*, 2011, 33(1): 43-51.
- [40] Sturino JM, Klaenhammer TR. Engineered bacteriophage-defence system in bioprocessing. *Nature Review Microbiology*, 2006, 4(1): 395-404.
- [41] 胡永飞, 李铁民, 杨智勇, 张博, 李玉. 限制修饰系统 *cgII* 赋予钝齿棒杆菌抗噬菌体功能活性. *生物工程学报(Chinese Journal of Biotechnology)*, 2008, 24(5): 760-765.

# Analysis of bacterial immune system—A review

Tiemin Li\*

School of Life Science, Liaoning University, Shenyang 110036, China

**Abstract:** In the battle to phages, bacteria have evolved many immune mechanisms involved in the prevention of phage DNA entry, the degradation of entered DNA, and the limitation of the phage spreading at the cost of host cell death. An immune system in bacteria is formed by the collaboration of multiple immune mechanisms. In this paper, we reviewed the latest research progress of bacterial immune system and focused on the analysis of the operation mode of bacterial immune system and the evolution relationship between this system and phages.

**Keywords:** bacterium, phage, immune system, evolution

(本文责编: 王晋芳)

Supported by the Natural Science Foundation of Liaoning Province in China (20082501) and by the Planned Science and Technology Project of Shenyang in China (1091187-4-00)

\* Corresponding author. Tel/ Fax: +86-24-62202232; E-mail: tieminli@lnu.edu.cn

Received: 14 March 2011 / Revised: 6 April 2011

## 1953 年创刊以来所有文章全文上网

从 2008 年 1 月开始《微生物学报》的所有文章开始全文上网了。欢迎广大读者登陆本刊主页 (<http://journals.im.ac.cn/actamicrocn>) 浏览、查询、免费下载全文! 由于《微生物学报》历史久远, 为方便读者查阅, 将刊期变化作以下统计。

### 《微生物学报》刊、期统计表

2011 年 10 月统计

时间	刊期	卷号	期号
1953 - 1956	半年刊	1 - 4	1 - 2
1957 - 1958	季刊	5 - 6	1 - 4
1959	季刊	7	1 - 2
1959 - 1962	停刊 3 年		
1962	季刊	8	3 - 4
1963 - 1965	季刊	9 - 11	1 - 4
1966	季刊	12	1 - 2
1966 - 1972	停刊 6 年半		
1973 - 1988	季刊	13 - 28	1 - 4
1989 - 2007	双月刊	29 - 47	1 - 6
2008	月刊	48	1 - 12
2009	月刊	49	1 - 12
2010	月刊	50	1 - 12
2011	月刊	51	1 - 10