

病毒介导的海洋球石藻(Coccolithophores)鞘脂类代谢调控

马亚瑞^{1,2} 刘旭宏^{1,2} 蔡艺钦^{1,2} 李健^{1,2} 刘静雯^{1,2*}

(1. 集美大学食品与生物工程学院 福建 厦门 361021)

(2. 福建省高校食品微生物与酶工程研究中心 福建 厦门 361021)

摘要: 海洋球石藻(Coccolithophores)是一种全球广泛分布且具有重要生态功能的真核浮游植物,有些种类是大洋和近岸常见的赤潮种。自然海域中,病毒感染是导致球石藻死亡和赤潮消亡的一个关键因素。基于一株海洋球石藻 *Emiliania huxleyi* 及其特异性裂解病毒全基因组测序注释的结果,研究者们发现病毒可能通过基因横向转移从宿主基因组中获取了一系列与鞘脂类代谢相关的关键酶基因,进而在一定程度上掌控了宿主鞘脂类代谢,大量合成、积累病毒性鞘脂类物质,并最终诱导宿主细胞以凋亡的形式死亡。因此,病毒介导的宿主鞘脂类代谢在调节病毒与宿主间相互作用中具有重要意义。本文着重综述海洋球石藻病毒与宿主间的基因横向转移、病毒介导的宿主鞘脂类代谢特点及其生态学意义,以期深入了解海洋球石藻病毒与宿主间复杂的相互作用关系。

关键词: 海洋球石藻, 海洋球石藻病毒, 基因横向转移, 鞘脂类代谢, 生态学意义

Virus mediated sphingolipid metabolic regulation in marine coccolithophores

MA Ya-Rui^{1,2} LIU Xu-Hong^{1,2} CAI Yi-Qin^{1,2} LI Jian^{1,2} LIU Jing-Wen^{1,2*}

(1. College of Food and Biological Engineering, Jimei University, Xiamen, Fujian 361021, China)

(2. Fujian Provincial Key Laboratory of Food Microbiology and Enzyme Engineering, Xiamen, Fujian 361021, China)

Abstract: Coccolithophores are one of the most widespread groups of unicellular eukaryotic marine phytoplankton and play crucial roles in marine ecosystem. Some coccolithophores are bloom-forming species in ocean and offshore. In natural marine ecosystem, virus infection is one of the major causes of natural mortality and the demise of large oceanic blooms formed by this group. Integrated analysis based on the genomic sequences of *Emiliania huxleyi*, a major species of coccolithophores and its specific lytic virus *E. huxleyi* virus (EhV), has implied that EhV obtained a series of key enzyme genes

Foundation item: National Natural Science Foundation of China (No. 41576166); Chinese Public Science and Technology Research Funds Projects of Ocean (No. 201305027); Key Program of Science and Technology Plan Foundation of Fujian Province (No. 2015Y0039); China Southern Oceanographic Research Center Funds (No. 14GZP71NF35)

*Corresponding author: Tel: 86-592-6181487; E-mail: ljwsbch@163.com

Received: July 21, 2015; Accepted: October 21, 2015; Published online (www.cnki.net): November 06, 2015

基金项目: 国家自然科学基金项目(No. 41576166); 国家海洋公益性行业专项项目(No. 201305027); 福建省科技计划重点项目(No. 2015Y0039); 中国南方海洋研究中心基金项目(No. 14GZP71NF35)

*通讯作者: Tel: 86-592-6181487; E-mail: ljwsbch@163.com

收稿日期: 2015-07-21; 接受日期: 2015-10-21; 优先数字出版日期(www.cnki.net): 2015-11-06

involved in sphingolipids metabolism from host genome by horizontal gene transfer. In some ways, EhV manipulates sphingolipids metabolism of host and triggers biosynthesis and accumulation of infection-derived sphingolipids, resulting in the apoptosis of host cell. Thus, virus-mediated host sphingolipids metabolism plays an important role in virus-host interaction. Here, we describe the horizontal gene transfer between EhV and host, the characteristics of virus-mediated host sphingolipids metabolism and the ecological significance in order to understand the complicated interaction between *E. huxleyi* virus and its host.

Keywords: Coccolithophores, Coccolithoviruses, Horizontal gene transfer, Sphingolipids metabolism, Ecological significance

海洋球石藻(Coccolithophores)是一类单细胞真核微型浮游植物,在分类学上隶属于定鞭藻门(Prymnesiophyta)、定鞭藻纲(Prymnesiophyceae),是广泛分布于世界近海和大洋水域,尤其是亚极地高纬度海区(如北大西洋、北太平洋、白令海峡、挪威海湾、南大洋、阿根廷及南非大陆架、甚至可延伸至 62°S 和 70°N 的南北极浮冰区)的优势种类之一^[1-2]。海洋球石藻 *Emiliania huxleyi* 独特的生物矿化作用和高产二甲基硫化物(DMSP)能力使其成为影响全球碳、硫生物地化循环及气候变化的一个关键物种^[3]。自然海域中 *E. huxleyi* 经常形成大面积赤潮,特异性病毒感染和裂解被确认是终止该藻赤潮的一个重要因素^[4-5]。有趣的是,病毒感染球石藻后,可能通过基因横向转移从宿主基因组中获得了一系列鞘脂类代谢相关的关键酶基因,并在一定程度上掌控了宿主鞘脂类代谢,大量合成并积累病毒特有的鞘脂类物质,并最终诱导宿主细胞凋亡,从而调控自然海域中宿主的种群密度。自然海域中,海洋球石藻病毒与其宿主之间的相互作用复杂而多样化,两者处于激烈的军备竞赛中,病毒试图掌管宿主的死亡途径来完成其子代病毒的复制和增殖,而宿主则试图提前启动死亡程序以避免病毒的扩散和种群的灭绝,通过这种互相竞争及协同进化以防止自身灭亡^[6]。

1 海洋球石藻及其特异性感染病毒

自然海域中病毒感染、杀死和裂解浮游植物是海洋生态系统中的普遍现象,且病毒感染是导致浮游植物自然死亡的主要因素之一。病毒可以通过减

少宿主种群数量或防止宿主种群数量达到高峰的方式控制浮游植物动力学指标^[4-5]。因此,浮游植物病毒-宿主间的相互作用是海洋环境中群落结构和营养循环重塑的重要生态学及协同进化的驱动力。在250多种球石藻中,只有*E. huxleyi*和*Gephyrocapsa oceanica*是赤潮形成种,而且*E. huxleyi*还是产生DMSP的主要浮游植物类群之一。*E. huxleyi*在形成赤潮时其细胞数目可占球石藻类细胞总数的80%–90%^[7]。现场及实验室研究证实,特异性病毒*E. huxleyi* virus (EhV)感染和裂解是终止*E. huxleyi*赤潮的一个重要因素^[5]。EhVs属于核质大型双链DNA病毒目(Nucleocytoplasmic large DNA virus, NCLDVs)、藻类双链DNA病毒科(Phycodnaviridae)。目前已从全球不同海域分离确定的EhVs株系共有16株,基因组全长约为320–407 kb,但它并不属于藻类病毒科已有的5个属,即*Chlorovirus*、*Prasinovirus*、*Prymnesiovirus*、*Phaeovirus*和*Raphidovirus*。根据球石藻病毒基因组大小、感染特性及寄主范围把它归类为一个新的属——球石藻病毒属(Coccolithoviruses),且均为裂解性病毒^[8]。病毒感染和裂解*E. huxleyi*过程中伴随着大量球石粒CaCO₃和DMSP的释放,特别是其赤潮的瓦解依赖于病毒感染而使其在全球生物地化循环、气候变化过程中起着十分重要的作用。

2 病毒与球石藻宿主间的基因横向转移

基因横向转移现象广泛存在于真核病毒、噬菌体及普通转导粒子(Generalized transducing agents, GTAs)中。病毒能够利用基因横向转移影响宿主的

新陈代谢、免疫力和分布范围^[9]。某些病毒能够通过基因横向转移帮助宿主存活,如在绿叶海蜗牛的细胞核和叶绿体中存在一种反转录病毒,该病毒能够将囊泡藻的光和基因转移到其宿主中,支持宿主进行光合作用^[10]。因此,基因横向转移实质上是病毒与宿主相互作用的结果,促使病毒与宿主协同进化。研究者们对一株 *E. huxleyi* CCMP1516 及其特异性感染病毒株 EhV-86 全基因组测序注释发现, *E. huxleyi* 拥有完整的鞘脂类物质生物合成的全部基因,其细胞内神经酰胺的从头合成途径与其它生物类似^[11]。令人惊奇的是 EhV-86 基因组中存在编码一系列在功能上相互偶联的酶的基因,并预测它们可能参与了宿主鞘脂类合成途径(Sphingolipid biosynthesis pathway, SBP)^[11]。这些基因不存在于其它任何已知的病毒中,却都存在于球石藻宿主基因组中,因此推测,球石藻病毒与宿主基因组间可

能通过基因横向转移而共享这些代谢酶基因。EhV-86 基因组中至少存在 7 种编码鞘脂类从头合成途径的关键酶基因(表 1)^[12]。将病毒(EhV-86)和宿主(*E. huxleyi* CCMP1516)中的 7 个 SBP 相关基因进行相似性比对,结果表明 EhV 和宿主 SBP 相关基因虽然在碱基的替换上有差异,但相似性较高,对应编码的蛋白相似性为 26%–49%^[12-13]。最大似然法构建系统发育树分析结果显示,大于 90%的自展值支持 EhV 与宿主的相应蛋白质序列相似。例如,对 SPT 基因而言,病毒与宿主的 C-末端 LCB1 结构域的相似性高达 96%,而与 N-末端 LCB2 的相似性为 46%,病毒与宿主的二氢神经酰胺合酶、甾醇去饱和酶的相似性高达 100%,病毒与宿主的脂肪酸延长蛋白的相似性为 91%^[12]。此外,研究者们还计算了各 EhV 株系 SBP 酮类鞘胺醇还原酶(3-KSR)的任何同源基因均未出现在 EhV-86 基因组中,因此,

表 1 EhV-86 及其宿主 *E. huxleyi* CCMP1516 在鞘脂类合成过程的酶^[12]
Table 1 Sphingolipid biosynthesis enzymes in the giant virus EhV-86 and its coccolithophore host *E. huxleyi* CCMP1516^[12]

酶 Enzymes	EhV-86 编码序列 ID EhV-86 CDS ID	<i>E. huxleyi</i> 编码序列 ID <i>E. huxleyi</i> CDS ID	<i>E. huxleyi</i> Scaffold ID/scaffold 大小/CDS 位置 <i>E. huxleyi</i> scaffold ID/scaffold size/CDS position
丝氨酸棕榈酰转移酶(SPT) Serine palmitoyltransferase	YP_293804 (ehv050)	432901	Scaff 7/1.4 Mb/1 020 001–1 016 564
3-酮类鞘胺醇还原酶 3-Ketosphinganine reductase	不存在	437991	Scaff 68/604 kb/377 451–376 298
二氢神经酰胺合酶(LAG1) Dihydroceramide synthase	YP_293768 (ehv014)	200862	Scaff 13/1.1 Mb/88 654–89 151
脂肪酸去饱和酶(DSD1) Fatty acid desaturase	YP_293875 (ehv061)	54601	Scaff 675/28 kb/8 222–7 338
脂类磷酸酶(LPP) Lipid phosphate phosphatase	YP_293833 (ehv079)	193908	Scaff 1/3 Mb/540 559–541 506
跨膜脂肪酸伸长蛋白 Transmembrane fatty acid elongation protein	YP_293831 (ehv077)	70214	Scaff 118/428 kb/11 947–12 897
甾醇去饱和酶 Sterol desaturase	YP_293785 (ehv031)	210457	Scaff 43/769 kb/605 740–606 537
假定脂肪去饱和酶(Aco-1) Fatty acid desaturase	YP_294173 (ehv415)	236135	Scaff 16/1.1 Mb/267 821–266 730

EhV要编码合成鞘脂基因的非同义突变频率(K_a)和同义突变频率(K_s), 结果显示 K_a/K_s 值远远小于1^[12], 这表明SBP基因的同义突变远大于非同义突变, 同时评估了SBP基因相对于EhV-86和EhV-163中其他基因的进化速率, 最终得出: EhV-SBP基因的差异性主要源于自然选择, 这反映了该病毒对环境的适应性^[12]。以上结果表明鞘脂类生物合成的7个相关基因确实在病毒和宿主间发生了基因横向转移。

EhV-86基因组中参与鞘脂类从头合成途径的4种核心酶包括: 丝氨酸棕榈酰转移酶(SPT, ehv050) (是催化SBP途径的第一限速酶)、二氢神经酰胺合成酶(长寿保障基因LAG1类蛋白, ehv014)、脂肪酸去饱和酶(DSD1, ehv061)和神经鞘胺醇-1-磷酸磷酸酶(脂类磷酸酶LPP, ehv079), 此外还有甾醇去饱和酶(ehv031)、糖基转移酶(ehv230)、跨膜脂肪酸伸长蛋白(ehv077)和假定脂肪去饱和酶(Aco-1, ehv415)等, 以上这些酶参与了几乎整个鞘脂类的从头合成途径^[12]。但催化SBP合成途径第二步的3-酮类鞘胺醇还原酶(3-KSR)的任何同源基因均未出现在EhV-86基因组中, 因此, EhV要编码合成鞘脂类物质必需借助宿主细胞基因组内相关基因作为补充^[12]。另外, ehv061和ehv031编码的去饱和酶将双键加在了脂肪酸链的 $\Delta 8$ 位置而非常规的 $\Delta 4$ 位置。迄今为止, 上述几种酶中仅对SPT (ehv050)的生化特性及功能进行了相关研究^[11,14], 其他5种酶在鞘脂类代谢途径中的确切位置尚有待确定, 而ehv79和ehv415具体在哪个环节起作用目前仍未明确。真核微藻细胞的遗传转化是指将外源基因通过载体转入宿主基因中, 从而使一个单细胞的遗传物质发生改变的过程。遗传转化是进行同源重组的有效工具, 为证实特定基因的功能提供有力的证据。目前, 我们已成功构建了海洋球石藻*E. huxleyi* BOF92真核表达载体, 建立其遗传转化系统^[15]。在此基础上利用分子生物学和基因工程等手段(如目标基因的过表达和RNA干扰等), 可以确定病毒基因组中鞘脂类代谢相关的各种酶在宿主鞘脂类代谢途径中

的确切位置及其功能环节, 从而深入了解病毒介导的宿主鞘脂类代谢机制。例如, 我们已将病毒EhV99B1基因组中神经酰胺合成第一限速酶, 即丝氨酸棕榈酰转移酶(SPT)催化亚基LCB2基因亚克隆入上述构建的表达载体, 通过电击转化将其导入球石藻细胞中, 获得球石藻基因工程藻株, 并采用高效液相色谱法检测LCB2基因对宿主细胞神经酰胺合成的影响, 结果表明病毒基因组中LCB2基因的过表达能够促进宿主细胞神经酰胺合成(待发表数据)。另外, 该真核表达系统也为进一步开发功能获得型突变藻株(如病毒基因组中能够促进宿主细胞神经酰胺合成的基因)或基因敲除突变体藻株(如敲除神经酰胺水解酶基因)提供技术工具。

尽管SBP相关的基因能够在宿主和病毒中进行横向转移, 但转移的方向尚不确定。“古病毒学说”认为, SBP基因由病毒转移至宿主, 在病毒感染过程中, 将SBP基因“丢失”在宿主细胞内, 最终与宿主基因发生重组^[12]。该理论预示着*E. huxleyi*的同系物可能保留着病毒同系物的特性, 也意味着鞘脂类生物合成基因存在于一些被远古病毒感染的真核生物的细胞中。而另一学说“基因窃取论”则认为, SBP基因由宿主转移至病毒, 病毒在进行DNA复制时会把宿主基因包裹到子代病毒中, 但是并不是一次就将所有基因带入, 而是先带入某个基因, 使其成为优势种, 从而进化为现代的基因型^[12]。不管病毒和宿主在SBP基因横向转移上方向如何, 通过比较病毒与所有生物该基因的同源性, 发现该基因仅与宿主同源, 因此证实SBP基因必然在病毒和真核生物之间进行着基因横向转移^[12]。EhVs作为潜在的基因库和天然载体, 不仅介导着基因在宿主间的横向转移、影响宿主细胞的新陈代谢、免疫力和分布范围, 更可以携带基因随着洋流在海洋生态系统中流动, 促进了不同生态系统的基因交流。

3 病毒介导的鞘脂类代谢

鞘脂类是一类以鞘氨醇或二氢鞘氨醇为骨架的复杂化合物, 其一分子脂肪酸以酰胺键与鞘氨醇

的氨基相连, 主要分为鞘磷脂、神经酰胺和鞘糖脂三类。鞘磷脂主要存在于细胞膜、脂蛋白等生物组织中, 可调节生长因子受体的活动, 并为一些病毒、生物毒素提供结合位点^[16]; 神经酰胺又称神经鞘脂类, 以氢代替磷酸胆碱, 是鞘脂类的一种特殊结构, 对于细胞的生长、分化、凋亡发挥着重要的作用^[17]; 鞘糖脂由糖基、脂肪酸、鞘氨醇构成, 可分为酸性鞘糖脂和中性鞘糖脂两类。鞘糖脂对于细胞的黏附、信号转导等基本活动有重要的作用, 也是细胞膜的重要组成成分^[18]。鞘脂类从头合成途径通常是在内质网上由丝氨酸与棕榈酰辅酶 A 在丝氨酸棕榈酰转移酶的催化作用下生成 3-酮基二氢鞘氨醇, 随后被还原成鞘氨醇开始的, 然后在二氢神经酰胺还原酶的作用下形成二氢神经酰胺, 再经去饱和酶催化形成神经酰胺; 或者随后再由神经酰胺转运蛋白(CERT)将其转运到高尔基体后加上一些不同极性头基团而形成更加复杂的鞘脂类^[19], 再由高尔基体将最终的鞘脂类物质转运到其它细胞器上, 发挥相应的作用^[20]。鞘脂类的分解代谢则主要发生在溶酶体内, 在溶酶体内, 鞘脂类被水解生成鞘氨醇, 这些鞘氨醇可进入到细胞质中通过补救途径重新合成神经酰胺。另外, 鞘氨醇激酶又可催化鞘氨醇形成鞘氨醇-1-磷酸。但是在病毒与宿主这一系统中, 虽然病毒与宿主具有非常相似的鞘脂类代谢调控系统, 但病毒与宿主基因组中同源基因表达的酶在鞘脂类代谢途径中并不具有完全同源的功能, 这可能是由于宿主 SBP 与病毒 SBP 生产的鞘脂类代谢产物具有截然不同的结构和功能(图 1)^[11]。如, EhV 参与鞘脂类代谢形成的神经酰胺及鞘糖脂具有独特新颖的结构, 其中神经酰胺的 C16 脂肪酸长链上带有 3 个羟基和 1 个简单的双键。其不寻常结构的鞘脂主要体现在其羟基基团的数目和不饱和键的位置, 即位于 C3、C4、C6 的 3 个羟基以及位于 C8-C9 的 1 个不饱和键(图 1)^[11], 这种高度羟基化的神经酰胺脂肪酸长链在自然界极其罕见。自然界中, 该结构类似物的 3 个羟基分别位于 C3、C4

和 C5 位上, 并且该类似物具有显著的抗病毒活性^[21]。如此微妙的结构变化可能暗示着 EhV 基因中存在能够将 C5 位上的羟基转移到 C6 位上的催化酶基因, 进而丢失了其抗病毒活性, 反而赋予其促凋亡活性^[11]; 而宿主为了对抗病毒, 诱导合成羟基位于 C3、C4 和 C5 位上的鞘糖脂, 利用该结构的抗病毒活性抑制病毒的增殖。

研究表明 EhV-86 外壳蛋白由一层脂膜(含有大量病毒特有的鞘糖脂)包裹, 在 EhV-86 感染 *E. huxleyi* 的早期, 宿主的脂肪酸成分从多元不饱和脂肪酸转变为单一不饱和脂肪酸和饱和脂肪酸; 在感染后期, 宿主自身含量较高的饱和脂肪酸最终并入病毒粒子中, 作为病毒外膜的一部分, 对于子代病毒颗粒增殖、释放具有重要作用^[22]。比较病毒感染和未感染藻细胞中脂类组成发现, 未感染的藻细胞中存在着基于棕榈酰辅酶 A 的羟基鞘磷脂结构的鞘糖脂, 这些宿主鞘磷脂基被预测是宿主 SPT 催化的产物, 即宿主 SPT 可以利用棕榈酰辅酶 A, 这些宿主来源的鞘脂可能涉及参与宿主细胞的生物活性脂类信号途径, 最终促使部分细胞进行减数分裂形成单倍体(单倍体阶段的球石藻具有鞭毛可以游动), 从而逃离病毒的侵染; 而病毒感染的藻细胞中脂类具有一些独一无二的鞘糖脂离子碎片, 质谱检测表明这些多羟基的鞘磷脂基源于豆蔻酰辅酶 A, 这些鞘磷脂基被推测是由病毒的 SPT 产生, 病毒该酶具有豆蔻酰辅酶 A 的底物偏好性特征^[23-24]。可见, 病毒性的 SPT 与宿主性 SPT 存在着底物偏好性, 即病毒性 SPT 对豆蔻酰辅酶 A 具有独一无二的生化底物偏好性, 而宿主 SPT 则偏好利用棕榈酰辅酶 A。病毒编码的该基因产物能够催化豆蔻酰辅酶 A 或棕榈酰辅酶 A 和 L-丝氨酸形成 3-酮基鞘氨醇, 弥补了宿主 SPT 只能催化棕榈酰辅酶 A 这一不足, 由此推断, 在感染状态下, 宿主鞘脂类代谢的关键中间产物神经酰胺的合成可能很大程度上依赖于病毒 SPT 基因的调控。许多研究已经强调了病毒作为高等浮游藻类的主要调控者的地位, 该进

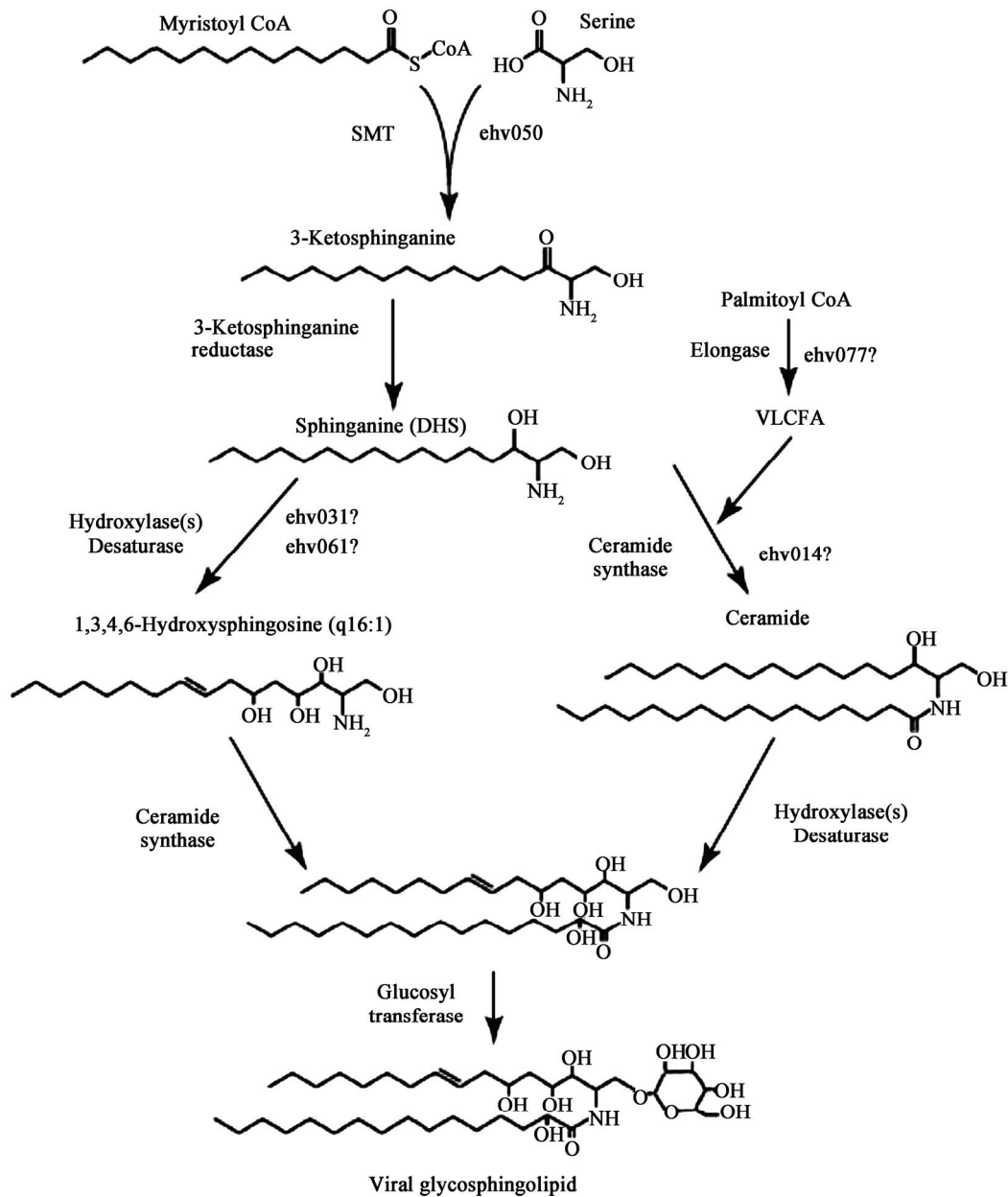


图1 病毒与宿主共编码调控的鞘脂类合成途径^[11]

Figure 1 Sphingolipid biosynthesis pathway of virus and *E. huxleyi* co-encoded biosynthesis of infection-derived sphingolipids in *E. huxleyi*^[11]

程被定义为“病毒性转轨(*trans-domain*)”，并认为在感染进程中病毒 SBP 可能完全接管了宿主的 SBP 途径^[25]。

研究表明神经酰胺合成仅在某一水平时才具有凋亡激活性，换句话说，病毒合成的神经酰胺过

低或过高积累很可能使细胞凋亡进程发生改变，这将不利于病毒的感染。迄今，尚未发现除球石藻病毒外其它海洋微藻类病毒感染能够诱导宿主细胞凋亡的现象。另外，最新研究发现，EhV 外壳的包膜除了含有大量鞘糖脂外，还具有少量极性甘油糖

脂, 极性脂类能促进病毒附着在宿主细胞表面, 而病毒性的鞘糖脂则可能与病毒的识别有直接的关系^[26-27]。

4 病毒与宿主的相互作用

目前, 关于病毒与宿主相互作用关系的阐释存在3种学说: (1) 脂质筏理论; (2) “Red Queen”学说; (3) “Cheshire Cat”学说。迄今为止无任何研究报道证明两者的相互作用主要符合哪种理论, 3种理论各具特色, 并从不同角度揭示了球石藻病毒与宿主间复杂的相互作用关系。脂质筏理论主要阐述病毒利用自身外围包裹的脂质膜(含有丰富的病毒性鞘糖脂), 通过与宿主细胞膜相融合的方式将整个病毒颗粒注入宿主细胞, 导致宿主细胞膜结构和功能的紊乱, 最终引发宿主细胞凋亡。“Red Queen”学说则阐述了病毒和宿主之间处于激烈的军备竞赛, 病毒通过促进诱导合成病毒性鞘糖脂引起凋亡蛋白活性的提高, 从而使宿主凋亡, 而宿主也会通过调控相关酶的活性提前启动凋亡程序来避免病毒的扩散和种群的灭绝。“Cheshire Cat”学说则是从宿主自身生长周期中的两个不同的表型来阐述它们之间的相互作用, 在感染过程中, 二倍体宿主通过转变为单倍体, 从而逃避病毒的感染。

“脂质筏理论”: 脂质筏是富含鞘磷脂、胆固醇的一种特殊膜结构, 其形成的膜微区具有更低的膜流动性, 呈现有序液相^[28]。脂质筏参与了包括物质内吞、跨膜信号转导、脂质及蛋白定向分选在内的多种重要的细胞生物学过程。EhV-SPT被预测为一种具有独特的拓扑学特性内质网膜蛋白, 该蛋白如同一台泵一样驱动棕榈酰物质由细胞质进入内质网中合成神经酰胺类物质, 再通过细胞质和高尔基体之间以膜泡运输途径将神经酰胺转移到细胞膜上, 在神经鞘磷脂酶作用下, 细胞膜表面形成神经酰胺富集的膜结构, 这个结构逐渐扩大形成一个平台, 最终形成膜筏^[26]。在真核生物中鞘糖脂是膜脂质和脂质筏的重要组成部分, EhV-86外壳包裹着丰富的脂膜, 推测其主要是病毒性鞘糖脂^[23]。病毒利

用这种新颖的脂筏通过内吞作用或与宿主细胞质膜融合进入宿主细胞, 导致宿主细胞膜结构和功能的紊乱, 最终引发宿主细胞凋亡, 促进子代病毒的增殖和释放^[22], 而这一过程可能涉及到宿主细胞周期调控的异常^[29]。然而, 对于其它核质大型DNA病毒家族成员的研究发现, 几乎所有该家族的病毒都趋向于抑制宿主凋亡进程的发生。EhV能够利用SPT基因去驱动宿主凋亡是目前SPT家族的例外和令人惊奇的发现。

“Red Queen”学说认为, 在自然环境中, 病毒和宿主进行激烈的军备竞赛, 病毒试图接管宿主的凋亡途径来完成其子代病毒的复制和增殖, 而宿主则试图提前启动凋亡程序以避免病毒的扩散和种群的灭绝^[30]。在这一过程中, 脂膜、病毒性鞘糖脂、细胞程序性死亡都扮演着重要的角色。不同于宿主SPT以棕榈酰辅酶A为底物, 病毒SPT偏好利用豆蔻酰辅酶A为底物从而产生独特、新颖的病毒性鞘糖脂, 在*E. huxleyi*病毒感染宿主的过程中, 病毒性鞘糖脂含量明显升高并同时伴随着宿主活性氧的产生^[31], 凋亡特征蛋白酶Caspase活性提高了200倍^[32], 而宿主Metacaspase的活性受到抑制时, 将导致病毒感染的停止^[33]。

“Cheshire Cat”学说认为*E. huxleyi*在生长周期中存在两个不同的表型: 即具有鞭毛可游动的单倍体和覆盖球石粒的二倍体, 并且二倍体是*E. huxleyi*的主要表型^[34]。当EhV感染时, *E. huxleyi*通过减数分裂形成有鞭毛、可以游动的单倍体, 从而避免感染。具有抵抗作用的单倍体宿主细胞通过减数分裂逃避策略, 以保证二倍体基因在无病毒的环境下传递到下一代^[35]。EhV编码的SBP途径能够合成鞘脂类物质, 该物质被认为参与了细胞减数分裂的进程, 从而控制了其宿主的减数分裂, 使某些宿主一直保留在二倍体世代中, 保证病毒的感染和增殖^[34,36]。“Cheshire Cat”假说揭示了病毒和宿主的共进化过程, 有利于*E. huxleyi*细胞和EhV在自然环境中共同达到最适增长率。另外, 病毒感染宿主过程中也通

过产生一些化学物质,比如活性氧及有生物活性的鞘脂类等(它们都是两性生活转变的诱导子)来诱导减数分裂,从而逃避病毒感染和限制病毒增殖^[35]。宿主SBP与病毒SBP生产的鞘脂类具有截然不同的结构和功能,宿主来源的鞘脂类会涉及到宿主细胞活性脂类的信号途径,最终会促进部分宿主细胞进入减数分裂避免病毒的感染;而病毒性鞘脂类会促进细胞膜中脂筏的形成,促进病毒粒子或者凋亡小体的释放,引起细胞程序性死亡,这样病毒将会完全接管和控制SBP途径,从而大量释放病毒粒子裂解宿主^[24]。

最新研究表明,在EhV感染*E. huxleyi*的过程中,病毒性鞘脂类的积累会引起宿主中的自噬基因(ATG基因)上调,诱导宿主发生自我吞噬,从而释放病毒粒子^[37]。宿主的自噬过程是病毒复制循环周期的必要过程,对于病毒粒子的构建必不可少。在EhV感染*E. huxleyi*过程中,自我吞噬、鞘脂类代谢、细胞凋亡这3个过程有着密切的联系。

5 生态学意义

EhV感染宿主后,两者在鞘脂类代谢途径的各个环节展开了激烈的竞争,病毒的感染和宿主的防御机制在分子水平上体现为两者在基因传递与表达、信号转导及代谢调控等方面的变化。对于海洋球石藻及其病毒而言,在病毒感染宿主的过程中,病毒来源的鞘脂类作为病毒膜的重要组成部分,促进了病毒的附着、子代病毒的增殖和释放,从而裂解宿主细胞死亡;而宿主来源的鞘脂类代谢途径通过产生大量的神经酰胺,提前启动凋亡程序以避免病毒的扩散和种群的灭绝。它们通过协同调控鞘脂类代谢途径中不同鞘脂间的相对水平,并通过这些信号分子控制细胞内的信号和其它生物学进程,实现“和平共存”。病毒性鞘糖脂作为一种新型的鞘糖脂,可作为一种独特的鞘脂类生物标记分子追踪EhV,间接诊断宿主-病毒之间的动力学关系、评估病毒在海洋中的生态和生物地球化学作用^[38],同时由于其在宿主-病毒的识别过程中有高度的特异性,

对揭示宿主的生命周期有着非常重要的意义。病毒感染主要依赖于宿主细胞与特异性病毒相遇的几率,在赤潮暴发过程中藻细胞数量增加,几率增大,病毒飞速增长,大量病毒的感染加速了上述调控过程的进程,最终当大量病毒组装完成后,积累丰富的神经酰胺将启动宿主细胞凋亡,释放出病毒颗粒,从而终止赤潮。

6 研究展望

在宿主-病毒感染系统中,以球石藻为特异宿主的EhV能够调控宿主的鞘脂类代谢途径,驱动宿主细胞发生程序性死亡。尽管如此,对于病毒介导的微藻死亡及其分子机制的研究还认识甚少。例如,在病毒介导的鞘脂类代谢途径中,除SPT外,其余6个酶的生化特性及其功能尚不清楚。病毒与宿主基因横向转移的方向到底如何?在病毒感染宿主的过程中,病毒复制周期的细胞机理是怎样的?脂质筏在病毒组装、增殖过程中的确切作用是什么?病毒感染诱导宿主细胞凋亡的分子途径如何?等等。另外,虽然我们对病毒-宿主相互作用有了初步了解,但是这些数据都是基于实验室条件的,对于自然环境中病毒与宿主的相互作用还缺乏实验数据。笔者认为,关于病毒-宿主相互作用的研究过程中,研究人员应该从以下几个方面着手:(1)利用分子生物学和基因工程等手段(如RNA干扰技术和微藻遗传转化系统),确定病毒基因组中鞘脂类代谢相关的各种酶在宿主鞘脂类代谢途径中的确切位置及其功能环节,从而深入了解病毒介导的宿主鞘脂类代谢机制;(2)Bcl-2蛋白家族、Caspases等蛋白家族,这些在哺乳动物中典型的凋亡蛋白,在光合作用的微生物中却找不到它们的同源基因。因此,探讨病毒介导的鞘脂类代谢产物诱导宿主细胞死亡的信号途径将可能有助于我们揭示单细胞生物目前未知的细胞程序性死亡的分子机制;(3)病毒感染宿主后可通过独特的代谢途径在宿主细胞表面形成新颖的脂筏结构,导致宿主细胞膜结构和功能的紊乱,并最终可能引发宿主细胞凋亡。探讨

脂筏的形成对病毒感染、组装及增殖的作用具有重要的科学意义; (4) 在感染过程中, 病毒性鞘脂类的积累会引起宿主自噬基因上调, 诱导宿主发生自我吞噬。研究宿主启动自噬程序对子代病毒粒子复制释放的调控过程, 将有助于了解病毒感染诱导的宿主鞘脂类代谢、宿主细胞自噬及细胞凋亡等 3 个过程间的内在关系; (5) 二倍体的 *E. huxleyi* 具有矿化能力, 细胞分泌大量碳酸钙到细胞表面, 形成典型的球石粒并可以形成大面积的赤潮, 因此在全球气候调节中具有主要作用; 而运动的、不具钙化能力的单倍体 *E. huxleyi* 很难用传统的显微镜技术对其进行确定, 从而被生物学家所忽视。单倍体 *E. huxleyi* 的生态学作用及自然环境中球石藻这种有性/无性表型循环的重要性尚不清楚。因此, 深入了解海洋原生物病原体抗性及其与倍性相关表型分化的基因组调控机制, 对于评估和预测其对生物地化循环的影响具有重大意义。

参 考 文 献

- [1] Tsuji Y, Yamazaki M, Suzuki I, et al. Quantitative analysis of carbon flow into photosynthetic products functioning as carbon storage in the marine Coccolithophore, *Emiliania huxleyi*[J]. Marine Biotechnology, 2015, 17(4): 428-440
- [2] Hagino K, Bendif EM, Young JR, et al. New evidence for morphological and genetic variation in the cosmopolitan coccolithophore *Emiliana huxleyi* (Prymnesiophyceae) from the *cox1b-ATP4* genes[J]. Journal of Phycology, 2011, 47(5): 1164-1176
- [3] Martínez JM, Schroeder DC, Wilson WH. Dynamics and genotypic composition of *Emiliania huxleyi* and their co-occurring viruses during a coccolithophore bloom in the North Sea[J]. FEMS Microbiology Ecology, 2012, 81(2): 315-323
- [4] Liu JW, Dong SL, Zhang ZL, et al. Microecological relationship between microalgal virus and host[J]. Journal of Ocean University of China, 2009, 39(1): 26-34 (in Chinese)
刘静雯, 董双林, 张稚兰, 等. 微藻类病毒与宿主之间微生态关系[J]. 中国海洋大学学报, 2009, 39(1): 26-34
- [5] Brussaard CPD. Viral control of phytoplankton populations—a review[J]. Journal of Eukaryotic Microbiology, 2004, 51(2): 125-138
- [6] Liu JW, Xu MM, Zheng TL. A minireview of marine algal virus-Coccolithoviruses[J]. Journal of Ocean University of China, 2015, 14(2): 293-300
- [7] Iglesias-Rodríguez MD, Brown CW, Doney SC, et al. Representing key phytoplankton function groups in ocean carbon cycle models: Coccolithophorids[J]. Global Biogeochemical Cycles, 2002, 16(4): 1100
- [8] Coolen MJL. 7000 Years of *Emiliania huxleyi* viruses in the Black Sea[J]. Science, 2011, 333(6041): 451-452
- [9] Rohwer F, Thurber RV. Viruses manipulate the marine environment[J]. Nature, 2009, 459(7244): 207-212
- [10] Mujer CV, Andrews DL, Manhart JR, et al. Chloroplast genes are expressed during intracellular symbiotic association of *Vaucheria litorea* plastids with the sea slug *Elysia chlorotica*[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 1996, 93(22): 12333-12338
- [11] Michaelson LV, Dunn TM, Napier A. Viral *trans*-dominant manipulation of algal sphingolipids[J]. Trends in Plant Science, 2010, 15(12): 651-655
- [12] Moonier A, Pagarete A, de Vargas C, et al. Horizontal gene transfer of an entire metabolic pathway between a eukaryotic alga and its DNA virus[J]. Genome Research, 2009, 19(8): 1441-1449
- [13] Liu XH, Zheng TL, Cai YX, et al. Cloning, expression and characterization of serine palmitoyltransferase (SPT)-like gene subunit (LCB2) from marine *Emiliania huxleyi* virus (*Coccolithovirus*)[J]. Acta Oceanologica Sinica, 2012, 31(6): 127-138
- [14] Wilson WH, Schroeder DC, Allen MJ, et al. Complete genome sequence and lytic phase transcription profile of a *Coccolithovirus*[J]. Science, 2005, 309(5737): 1090-1092
- [15] Liu JW, Cai HN, Cai YQ. Construction of an expression vector for *Emiliania huxleyi*: China, CN103642831A[P]. 2014.03.19 (in Chinese)
刘静雯, 蔡慧农, 蔡艺钦. 海洋球石藻真核表达载体的构建方法: 中国, CN103642831A[P]. 2014.03.19
- [16] Liu SH, Gou P. Progress in sphingolipids research[J]. Biotechnology, 2009, 19(2): 96-97 (in Chinese)
刘圣红, 苟萍. 鞘脂类的研究进展[J]. 生物技术, 2009, 19(2): 96-97
- [17] Iwayama H, Ueda N. Role of mitochondrial Bax, caspases and MAPKs for ceramide-induced apoptosis in renal proximal tubular cells[J]. Molecular and Cellular Biochemistry, 2013, 379(1/2): 37-42
- [18] Wang YP, Wang Z, Zhu J, et al. Progress in study of glycosphingolipids[J]. Chinese Bulletin of Life Sciences, 2011, 23(6): 583-591 (in Chinese)
王艳萍, 王征, 朱健, 等. 鞘糖脂研究进展[J]. 生命科学, 2011, 23(6): 583-591
- [19] Hanada K, Kumagai K, Yasuda S, et al. Molecular machinery for non-vesicular trafficking of ceramide[J]. Nature, 2003, 426(6968): 803-809
- [20] Mullen TD, Hannun YA, Obeid LM. Ceramide synthases at the centre of sphingolipid metabolism and biology[J]. Biochemical Journal, 2012, 441(3): 789-802
- [21] Garg HS, Sharma M, Bhakuni DS, et al. An antiviral sphingosine derivative from the green alga *Ulva fasciata*[J]. Tetrahedron Letters, 1992, 33(12): 1641-1644
- [22] Claire E, David WP, William HW. Changes in *Emiliania huxleyi* fatty acid profiles during infection with *E. huxleyi* virus 86: physiological and ecological implications[J]. Aquatic Microbial Ecology, 2009, 55(3): 219-228
- [23] Vardi A, van Mooy BAS, Fredricks HF, et al. Viral glycosphingolipids induce lytic infection and cell death in marine phytoplankton[J]. Science, 2009, 326(5954): 861-865
- [24] Rosenwasser S, Mausz MA, Schatz D, et al. Rewiring host lipid metabolism by large viruses determines the fate of *Emiliania huxleyi*, a Bloom-Forming Alga in the Ocean[J]. The Plant Cell, 2014, 26(6): 2689-2707
- [25] Wilhelm SW, Suttle CA. Viruses and nutrient cycles in the sea[J]. BioScience, 1999, 49(10): 781-788
- [26] Rose SL, Fulton JM, Brown CM, et al. Isolation and characterization of lipid rafts in *Emiliania huxleyi*: a role for membrane microdomains in host-virus interactions[J]. Environmental Microbiology, 2014, 16(4): 1150-1166
- [27] Fulton JM, Fredricks HF, Bidle KD, et al. Novel molecular determinants of viral susceptibility and resistance in the lipidome of *Emiliania huxleyi*[J]. Environmental Microbiology,

- 2014, 16(4): 1137-1149
- [28] Zhou YR, Song JG. Lipid raft-a gateway for passing through the cell membrane for pathogens[J]. Chinese Bulletin of Life Sciences, 2004, 16(3): 144-147 (in Chinese)
周一然, 宋建国. 脂质筏-病原微生物出入细胞的一种门户[J]. 生命科学, 2004, 16(3): 144-147
- [29] Liu JW, Bratbak G, Zheng TL, et al. Effects of virus infection on expression of cell cycle regulatory proteins in the unicellular marine algae *Emiliana huxleyi*[J]. Acta Oceanologica Sinica, 2011, 30(4): 89-95
- [30] Bidle KD, Vardi A. A chemical arms race at sea mediates algal host-virus interactions[J]. Current Opinion in Microbiology, 2011, 14(4): 449-457
- [31] Evans C, Malin G, Mills GP, et al. Viral infection of *Emiliana huxleyi* (Prymnesiophyceae) leads to elevated production of reactive oxygen species[J]. Journal of Phycology, 2006, 42(5): 1040-1047
- [32] Bidle KD, Haramaty L, Ramos JB, et al. Viral activation and recruitment of metacaspases in the unicellular coccolithophore, *Emiliana huxleyi*[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 2007, 104(14): 6049-6054
- [33] Bidle KD, Kwityn CJ. Assessing the role of caspase activity and metacaspase expression on viral susceptibility of the coccolithophore, *Emiliana huxleyi* (haptophyta)[J]. Journal of Phycology, 2012, 48(5): 1079-1089
- [34] Frada M, Probert I, Allen MJ, et al. The “Cheshire Cat” escape strategy of the coccolithophore *Emiliana huxleyi* in response to viral infection[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 2008, 105(41): 15944-15949
- [35] Frada MJ, Bidle KD, Probert I, et al. *In situ* survey of life cycle phases of the coccolithophore *Emiliana huxleyi* (Haptophyta)[J]. Environmental Microbiology, 2012, 14(6): 1558-1569
- [36] Yang J, Yu YN, Sun SY, et al. Ceramide and other sphingolipids in cellular responses[J]. Cell Biochemistry and Biophysics, 2004, 40(3): 323-350
- [37] Schatz D, Shemi A, Rosenwasser S, et al. Hijacking of an autophagy-like process is critical for the life cycle of a DNA virus infecting oceanic algal blooms[J]. New Phytologist, 2014, 204(4): 854-863
- [38] Vardi A, Haramaty L, van Mooy BAS, et al. Host-virus dynamics and subcellular controls of cell fate in a natural coccolithophore population[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 2012, 109(47): 19327-19332

2016 年中国微生物学会及各专业委员会学术活动计划表(2-1)

序号	会议名称	主办/协办单位	时间	人数	地点	联系方式
1	鼠疫菌生态与遗传研讨会	中国微生物学会分析微生物学专业委员会	3月	100	北京	
2	2016年全国微生物毒素与急危重症学术会议	中国微生物学会微生物毒素专业委员会	4月	400	上海	陈德昌 13901674318
3	生物过程优化与放大研讨会	中国微生物学会生化工程模型化与控制专业委员会	4月	260	湖北宜昌	尤舸浩 13908607687
4	第四届全国食用昆虫与微生物转化废弃物及高效利用研讨会	中国微生物学会农业微生物学专业委员会	5月 13-15日	120	湖北武汉	吴悦 027-87287254
5	第二届噬菌体学术研讨会	中国微生物学会医学微生物学与免疫学专业委员会	5月	150	湖北武汉	童贻刚 133611272813
6	第二届合成微生物学与生物制造学术研讨会	中国微生物学会分子微生物学与生物工程专业委员会	6月	200	浙江杭州	李永泉 13735591622
7	第七届传染病基础与技术论坛	中国微生物学会分析微生物学专业委员会	6月	400	待定	吕相征 lvxz@cma.org.cn
8	酿造食品的营养化学学术研讨会	中国微生物学会酿造分会	6月	120	浙江杭州	张秀梅 13503213265
9	第十届全国海洋生物技术与创新药物学术讨论会	中国微生物学会海洋微生物学专业委员会	8月	250	江苏南京	王梁华 13386271017
10	工业企业微生物安全控制技术与实践研讨会	中国微生物学会工业微生物学专业委员会	8月	200	北京	010-53218310
11	第八届全国微生物资源学术暨国家微生物资源平台运行服务研讨会	中国微生物学会微生物资源专业委员会	8月 22-25日	400	内蒙古 呼和浩特	阮志勇 13001101231
12	第二届真菌感染与宿主免疫学术研讨会	中国微生物学会真菌学专业委员会	9月	200	浙江宁波	李祥 13811495603