# 沙门氏菌噬菌体 ΦSHDA-1 生物学特性及基因组学初步研究

温 慧， 刘 婷， 陈忠军， 满都拉， 孙子羽*
（内蒙古农业大学 食品科学与工程学院，内蒙古 呼和浩特 010018）

**摘要**：以鼠伤寒沙门氏菌(CMCC50115)为宿主菌，采用双层平板的方法从污水中分离得到一株裂解性噬菌体，命名为 ΦSHDA-1，并对其生物学特性及基因组进行了初步研究。结果表明：ΦSHDA-1 噬菌斑透亮且边缘清晰，无晕圈；透射电镜观察 ΦSHDA-1 头部直径为(53±8) nm，尾部长(112±12) nm，属于长尾噬菌体科；最佳感染复数为 0.000 01；一步生长曲线结果显示潜伏期为 25 min，爆发期为 30 min，平均裂解量为 36.52 PFU/cell；在 30~50 ℃和 pH 为 2~10 条件下稳定；且裂解曲线表明，其对鼠伤寒沙门氏菌有良好的裂解效果。全基因组测序共得到 6 个重叠群，总长度为 40 523 bp，GC 含量为 51%。通过 Prokka 注释，共得到 59 个编码序列，不含 tRNA 及 rRNA，含有一个裂解酶基因，通过对开放阅读框与 CARD 以及 VFDB 进行分析，未发现携带耐药基因和毒力基因。

**关键词**：沙门氏菌；噬菌体；生物学特性；全基因组；裂解酶
**中图分类号**：Q 939.48　**文章编号**：1673-1689(2020)11-0096-08　**DOI**：10.3969/j.issn. 1673-1689.2020.11.013

# A Preliminary Study on the Characteristics and Genomics Analysis of *Salmonella* Phage ΦSHDA-1

*WEN Hui*, *LIU Ting*, *CHEN Zhongjun*, *Mandlaa*, *SUN Ziyu**
(College of Food Science and Engineering, Inner Mongolia Agricultural University, Hohhot 010018, China)

**Abstract**: A virulent phage, named as ΦSHDA-1, was isolated from sewage by a double-layer plate method using *Salmonella* typhimurium (CMCC50115) as the host strain. The preliminary study of its biological characteristics and genome was conducted. The results showed that ΦSHDA-1 plaque was bright and the edge was clear. The transmission electron microscopy showed that ΦSHDA-1 had a head diameter of (53±8) nm and a tail length of (112±12) nm which belong to the Siphoviridae family. The best multiplicity of infection was 0.00001. The one-step growth curve showed the latent period was 25 min and the burst period was 30 min with an average lysis amount of 36.52 PFU/cell. ΦSHDA-1 was stable at 30~50 ℃ and pH 2~10, exhibiting a good lysis effect on *Salmonella* typhimurium. A total of 6 coutig with length of 40 523 bp and 51% of GC were obtained by whole-genome sequence. A total of 59 coding sequences were obtained by Prokka annotation, which

**收稿日期**：2019-11-16
**基金项目**：内蒙古科技计划项目（201702078）；草原英才“内蒙古自治区农业微生物发酵产业创新人才团队”支持基金项目。
* **通信作者**：孙子羽（1985—），男，博士，讲师，主要从事食品生物技术和食源性致病菌防控方面的研究。E-mail：abcde_sun@163.com

contained an lysin gene without tRNA and rRNA. Through the open reading frame and the analysis of CARD and VFDB, no drug resistance genes and virulence genes were detected.
**Keywords:** *Salmonella*, phage, biological characteristics, whole genome, lysin

沙门氏菌(*Salmonella*)是世界上最常见的食源性致病菌之一[1],在美国每年约有 150 万例沙门氏菌感染,每 10 万人中就有 17.6 人发病,是死亡率最高(39%)的食源性病原体[2]。2015 年欧洲报告了 94 625 例沙门氏菌病,占欧洲所有报告的食源性疾病的 28%,与 2014 年相比增加了 1.9%[3]。沙门氏菌经常导致人类胃肠不适,如恶心、呕吐和腹泻(症状统称为沙门氏菌病),如不及时治疗,可能会引起危及生命的肾和肝并发症,最终导致死亡[4]。沙门氏菌的污染可以发生在从农场到消费者的任何地方,例如生产、收获、加工、储存、运输、零售等[5]。已经从世界各地的不同动物源性食品中分离出耐药性沙门氏菌,这主要归因于抗菌剂的不当使用,而耐药性沙门氏菌会导致食源性传染病发病率的提高[6],因此必须开发替代方法来控制这些病原体。

噬菌体(bacteriophage,phage)是感染细菌、真菌等微生物的病毒,广泛存在于环境和各种食物中。噬菌体具有特异性强、易于分离、研发成本低、对人体无害等特点,并且可以消除与化学抗生素相关的副作用[7-9],所有这些特征使得噬菌体有希望成为食品中细菌病原体的新型生物控制剂。

作者从环境污水中分离获得 1 株沙门氏菌裂解性噬菌体 ΦSHDA-1,对其生物学特性和基因组进行了初步研究,以期为噬菌体控制食品中沙门氏菌污染奠定基础。

## 1 材料与方法

### 1.1 实验材料

**1.1.1 菌株和样品** 沙门氏菌:鼠伤寒沙门氏菌标准株(CMCC50115);噬菌体 ΦSHDA-1:分离自呼和浩特市某下水道污水。

**1.1.2 仪器与设备** 恒温振荡培养箱 THZ-98C:上海一恒科学仪器有限公司;立式压力蒸汽灭菌器 YXQ-LS-100SII:上海博讯实业有限公司医疗设备厂;双人单面垂直净化工作台 SW-CJ-2FD:苏州安泰空气技术有限公司;酶标仪 SYNERGY H1:美国伯腾仪器有限公司;高速冷冻离心机 SIGMA 3-18KS:赛维斯科技(北京)有限公司;小型台式高速冷冻离心机 5424R:德国艾本德股份公司。

### 1.2 噬菌体的分离和纯化

**1.2.1 宿主菌株的复苏与培养** 挑取鼠伤寒沙门氏菌 CMCC50115 单菌落接种于 5 mL LB 液体培养基中,120 r/min、37 ℃摇床中培养 6 h 至对数生长早期,备用。

**1.2.2 噬菌体的分离纯化** 参照 Jamalludeen N等[10]的方法进行改进,采用双层平板法分离噬菌体。取来自内蒙古呼和浩特市某下水道的污水,使用 8 层纱布粗滤,离心取上清液 10 mL 加入到 30 mL 2× LB 液体培养基中,并加入 1 mL 处于对数早期的沙门氏菌培养过夜。培养液经 8 000 r/min、4 ℃离心 10 min,上清液经 0.22 μm 微孔滤膜过滤后即得到噬菌体原液。采用双层平板法纯化噬菌体,用 SM 缓冲液对噬菌体原液适当稀释,取适宜稀释度各 100 μL 与 100 μL 对数早期宿主菌悬液混合,加入 5 mL 半固体 LB 培养基,充分混匀后倒于预先制备好的 LB 营养琼脂固体平板上,待其凝固后于 37 ℃培养过夜。观察平板上噬菌斑情况,挑取直径大、生长均匀的单斑于 SM 缓冲液中,振荡 3 h 后用 0.22 μm 滤膜过滤,滤液适当稀释后按以上操作进行纯化,重复 5 次后即得到纯化的噬菌体。

### 1.3 噬菌体的生物学特性

**1.3.1 噬菌体形态观察** 采用磷钨酸负染色法,取 20 μL 高效价(>$10^9$ PFU/mL)噬菌体液滴在铜网上,自然沉淀 10~15 min,用滤纸从侧面吸去多余的噬菌体液。再将铜网置于磷钨酸染料中染色 10 min,吸去多余液体,自然干燥后在透射电镜(transmission electron microscopy,TEM)下观察噬菌体形态,此试验由中国科学院微生物研究院进行。

**1.3.2 噬菌体最佳感染复数** 感染复数(Multiplicity of Infection,MOI)是指初始感染时噬菌体的数量与宿主菌数量的比值。按一定的 MOI 值(0.000 001、0.000 01、0.000 1、0.001、0.01、0.1、1、10、100)将噬菌体与宿主菌混合,37 ℃培养 4 h,10 000 r/min 离心 10 min,用双层平板法测定不同 MOI 值样品中上清

液的噬菌体效价[11]。试验重复 3 次,每次设 2 个平行。

**1.3.3 噬菌体一步生长曲线** 将噬菌体与宿主菌按最佳 MOI 值混合,37 ℃ 温育 15 min 左右,使噬菌体吸附于细菌上,于 4 ℃、10 000 r/min 离心 10 min,弃上清液,用等体积 LB 重悬,重复 2 次,以除去未吸附的噬菌体。加入 15 mL LB 液体培养基悬浮沉淀并充分混匀,迅速置于 37 ℃培养箱于 120 r/min 振荡培养。前 45 分钟每隔 5 分钟取样,45~115 min 每隔 10 分钟取样,8 000 r/min 离心 2 min,采用双层平板法测定上清液中噬菌体的效价[12]。试验重复 3 次,每次设 2 个平行。

**1.3.4 噬菌体热稳定性** 取已知效价的噬菌体悬液($10^8$ PFU/mL)分装于 1.5 mL 无菌 EP 管中,将 EP 管分别放置在 30、40、50、60、70、80 ℃ 的恒温水浴锅中,1 h 后测定各管中噬菌体的效价[13]。试验重复 3 次,每次设 2 个平行。

**1.3.5 噬菌体 pH 稳定性** 取已知效价的噬菌体悬液($10^8$ PFU/mL)100 μL 加入到 900 μL 不同 pH 值(1~12)的 SM 缓冲液中,将其置于 37 ℃ 恒温水浴锅 1 h,测定各 EP 管中噬菌体的效价[14]。试验重复 3 次,每次设 2 个平行。

**1.3.6 噬菌体的紫外稳定性** 取已知效价的噬菌体悬液($10^8$ PFU/mL,4 mL)均匀平铺于直径 90 mm 的无菌培养皿中,放到灭菌后的超净工作台上,使培养皿距离紫外灯(功率为 14 W)2 cm,打开紫外灯后分别在 0、30、60、90、120 s 和 5、10、30 min 时取 300 μL 噬菌体,室温静置至少 30 min。取 100 μL 用 SM 缓冲液适当稀释后,双层平板法测定效价[15]。试验重复 3 次,每次设 2 个平行。

**1.3.7 噬菌体对宿主菌的裂解曲线** 噬菌体分别按照 MOI=10、1、0.1、0.01、0.001、0.000 1、0.000 01,各取 100 μL 加入到 96 孔板中,并加入 100 μL $10^8$ CFU/mL 的沙门氏菌菌液。另设空白组(Blank)加入 200 μL LB 培养基;对照组(Control)加入 100 μL $10^8$ CFU/mL 的沙门氏菌菌液和 100 μL LB 培养基[16]。每隔 1 小时测定 600 nm 处的吸光值,共测定 12 h。

### 1.4 噬菌体基因组学初步研究

**1.4.1 全基因组测序** 噬菌体基因组 DNA 由上海生工生物工程技术服务有限公司测序,构建文库类型为 PE 文库。利用 Illumina 公司 Hiseq 平台进行 2×150 bp 测序。获得的原始测序数据,经过预处理去除接头、引物及低质量数据后,优化参数 Kmer 值,通过 FastQC 进行质量评估、通过 Trimmomatic 对 Illumina 测序数据进行质量剪切,得到相对准确的有效数据。使用 SPAdes 拼接二代测序数据,采用 GapFiller 对拼接得到的重叠群补 GAP。使用 Prokka 预测基因元件:基因、tRNA、rRNA 等,采用 Repeat Masker 鉴定基因组上的重复序列。利用 PrInSeS-G 进行序列矫正,修正拼接过程中的剪辑错误及小片段的插入缺失。获得噬菌体 ΦSHDA-1 最好的 DNA 序列拼接结果。利用 TMHMM 进行跨膜蛋白预测分析,SignalP 进行信号肽预测分析,LipoP 进行脂蛋白预测分析。同时,采用 CG View (http://stothard.afns.ualberta.ca/cgview_server/index.html) 方法绘制出噬菌体的基因组图谱。

**1.4.2 噬菌体 ΦSHDA-1 裂解酶的蛋白质结构预测分析** 使用 ProtParam 在线软件对裂解酶蛋白进行理化性质分析,同时使用 PredictProtein (https://www.proforprotein.org/home)预测裂解酶蛋白质的二级结构。

## 2 结果与分析

### 2.1 噬菌体的分离纯化

本研究是以鼠伤寒沙门氏菌为宿主菌从下水道污水中分离得到一株噬菌体,命名为 ΦSHDA-1。通过双层平板法经过 5 次纯化后,噬菌体 ΦSHDA-1 所形成的噬菌斑形态和大小保持均匀一致,呈圆形透明状态,直径约为 3 mm,见图 1。

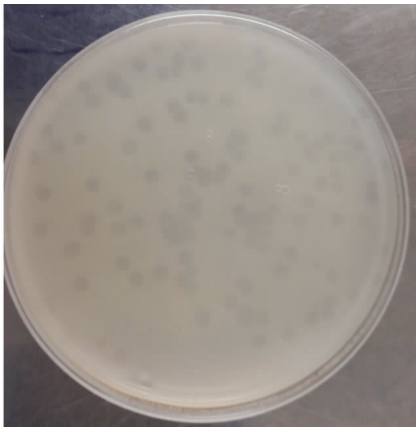


**图 1 噬菌体 ΦSHDA-1 的噬菌斑形态**

**Fig. 1 Bacteriophage plaques of ΦSHDA-1**

## 2.2 噬菌体生物学特性

**2.2.1 噬菌体形态观察** 噬菌体 ΦSHDA-1 高浓度裂解液经过 TEM 观察得到的噬菌体形态见图 2。该噬菌体具有直径为(53±8) nm 的二十面体头部,长(112±12) nm 的非收缩性尾部,符合长尾噬菌体科(Siphoviridae)特征,因此鉴定噬菌体 ΦSHDA-1 为长尾噬菌体。

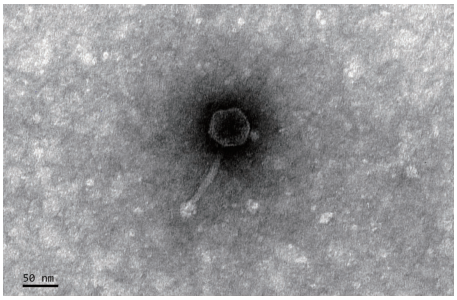



图 2 噬菌体 ΦSHDA-1 的电镜观察图

Fig. 2 TEM micrograph of ΦSHDA-1

**2.2.2 噬菌体最佳感染复数** 由表 1 可知,噬菌体 ΦSHDA-1 在 MOI=0.000 01 时,噬菌体效价最高为 $6.0\times10^{10}$ PFU/mL,因此噬菌体 ΦSHDA-1 的最佳 MOI 为 0.000 01

表 1 噬菌体 ΦSHDA-1 的最佳感染复数的测定

Table 1 Determination of optimal multiplicity of infection (MOI)

| 组号 | 噬菌体数/(PFU/mL) | 细菌数/(CFU/mL) | 感染复数(MOI) | 噬菌体效价/(PFU/mL) |
|---|---|---|---|---|
| 1 | $1\times10^{10}$ | $1\times10^{8}$ | 100 | $2.0\times10^{8}$ |
| 2 | $1\times10^{9}$ | $1\times10^{8}$ | 10 | $3.3\times10^{9}$ |
| 3 | $1\times10^{8}$ | $1\times10^{8}$ | 1 | $6.3\times10^{9}$ |
| 4 | $1\times10^{7}$ | $1\times10^{8}$ | 0.1 | $1.2\times10^{10}$ |
| 5 | $1\times10^{6}$ | $1\times10^{8}$ | 0.01 | $1.4\times10^{10}$ |
| 6 | $1\times10^{5}$ | $1\times10^{8}$ | 0.001 | $2.1\times10^{10}$ |
| 7 | $1\times10^{4}$ | $1\times10^{8}$ | 0.000 1 | $4.2\times10^{10}$ |
| 8 | $1\times10^{3}$ | $1\times10^{8}$ | 0.000 01 | $6.0\times10^{10}$ |
| 9 | $1\times10^{2}$ | $1\times10^{8}$ | 0.000 001 | $4.8\times10^{10}$ |

**2.2.3 噬菌体一步生长曲线** 由图 3 可知,噬菌体 ΦSHDA-1 在前 25 分钟曲线趋势保持平稳,即判断噬菌体 ΦSHDA-1 的潜伏期为 25 min,之后噬菌体的效价急剧增加,在 55 min 之后逐渐保持平稳,即判断噬菌体爆发期为 30 min。

$$裂解量=\frac{裂解末期噬菌体效价}{感染初期宿主菌菌量}$$

噬菌体 ΦSHDA-1 的裂解量为 36.52 PFU/cell。

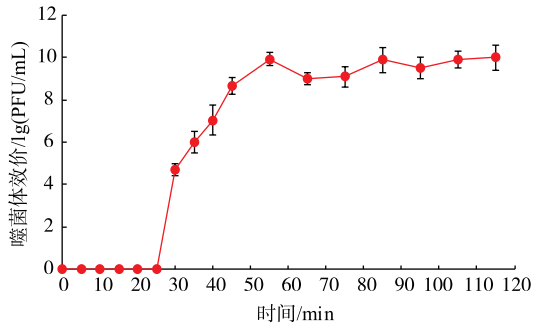



图 3 噬菌体 ΦSHDA-1 的一步生长曲线

Fig. 3 One step growth curve of phage ΦSHDA-1

**2.2.4 噬菌体热稳定性** 由图 4 可知,噬菌体在 30~60 ℃以内活性保持稳定,在 70 ℃ 时噬菌体 ΦSHDA-1 活性大约降低 4 个对数值,在高温 80 ℃ 时基本失活。由此可知,噬菌体 ΦSHDA-1 对温度有较强耐受性,适合在 60 ℃ 及以下环境中生存。

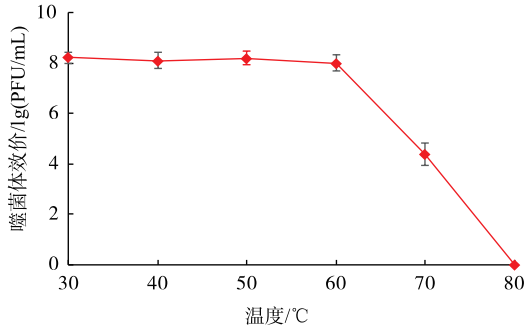



图 4 噬菌体的热稳定性

Fig. 4 Heat sensitivity of phage ΦSHDA-1

**2.2.5 噬菌体 pH 稳定性** 由图 5 可知,噬菌体 ΦSHDA-1 在 pH 值 2~10 范围内活性保持稳定,说明该噬菌体对酸碱的耐受力较强;而 pH 低于 2 或者大于 10 时噬菌体基本失活。由此可知,噬菌体 ΦSHDA-1 的最适 pH 范围为 2~10。

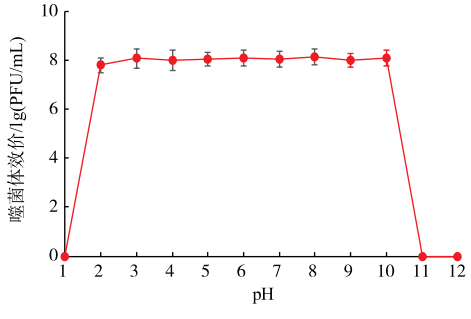



图 5 噬菌体的 pH 稳定性

Fig. 5 pH sensitivity of phage ΦSHDA-1

**2.2.6 噬菌体的紫外稳定性** 由图 6 可知,噬菌体 ΦSHDA-1 在紫外线下照射 60 s 时效价降低约 4 个对数值,在紫外线照射 120 s 后完全失活,说明该噬菌体对紫外线的耐受力较弱。

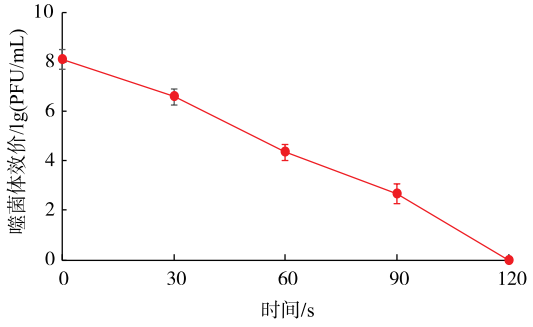



**图 6 噬菌体的紫外稳定性**

**Fig. 6 UV sensitivity of phage ΦSHDA-1**

由图 7 可知,与未加噬菌体 ΦSHDA-1 的阳性对照相比,噬菌体 ΦSHDA-1 在 12 h 内不同 MOI 值下都可以抑制鼠伤寒沙门氏菌的生长,并且阳性对照组曲线与沙门菌正常的生长曲线相符。实验结果表明,噬菌体 ΦSHDA-1 对宿主菌有较强裂解作用。

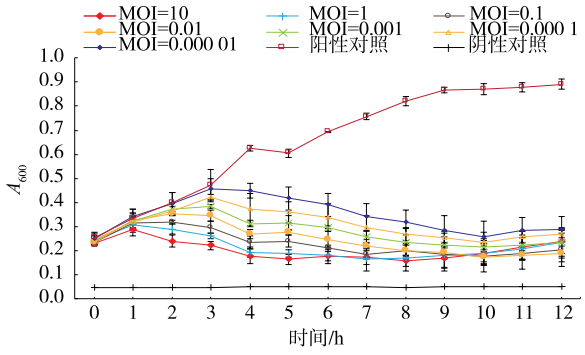



**图 7 噬菌体 ΦSHDA-1 在不同 MOI 值下裂解宿主菌的曲线**

**Fig. 7 Curves of lysed host strain by the phage ΦSHDA-1 in different MOI**

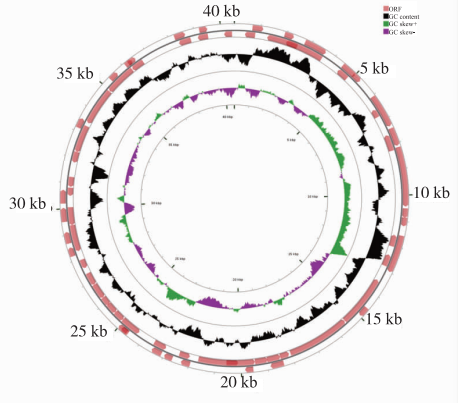
## 2.3 噬菌体基因组学初步研究

**2.3.1 ΦSHDA-1 基因组序列分析** 序列组装完成后共得到 6 个重叠群,长度分别为:22 458、7 543、7 224、1 430、1 086、782 bp,共 40 523 bp,见表 2。G+C 含量为 51%,编码 59 个 CDS,其中未发现 tRNA 和 rRNA。将噬菌体 ΦSHDA-1 的序列在 NCBI 中对比,其与噬菌体 Salmonella phage vB_SenS_SE1(登录号为 MK479295.1)相似度最高,覆盖率为 97%,以 Salmonella phage vB_SenS_SE1 噬菌体基因组序列为参考,对噬菌体 ΦSHDA-1 的 6 个重叠群进行排序,并使用 CGview server 对其绘制基因组圈图,见图 8。为了进一步了解 ΦSHDA-1 与其他噬菌体的进化关系,选取具有进化意义且保守的噬菌体 DNA 聚合酶氨基酸序列构建系统进化树[17]。通过 blastp 比对,找到同源性高的噬菌体,在此基础之上,利用进化树软件 MEGA-X 进行进化分析,采用最大似然法(Maximum likelihood,ML)构建的进化树,见图 9。由图 9 可知,ΦSHDA-1 与 Salmonella phage vB_SenS_SE1 (登录号为 MK479295.1)亲缘关系相对较近。通过 blastp 比对结果可知,噬菌体基因编码的保守序列具有已知的相关功能,其中包括裂解酶、终止酶、尾部相关蛋白质等,但未发现穿孔素。通过对开放阅读框与 CARD 以及 VFDB 进行分析,未发现携带耐药基因和毒力基因。

**表 2 噬菌体 ΦSHDA-1 基因组框架图信息**

**Table 2 Genome framework map of ΦSHDA-1**

| 属性 | 值 |
|---|---|
| 基因组大小/bp | 40 523 |
| 重叠群 | 6 |
| G+C 百分数 | 51 |
| 编码序列 | 59 |
| 转运 RNA | 0 |
| 核糖体 RNA | 0 |
| 信号肽基因 | 1 |
| 跨膜基因 | 3 |
| 脂蛋白基因 | 2 |




从外到里分别是:最外侧代表基因组正向阅读框,其次内侧代表负向阅读框;黑色代表(G+C)%,向外表示含量大于全基因组平均(G+C)%,向内表示含量低于平均(G+C)%;最里面圈代表 G+C 偏嗜性 G-C/G+C,向外代表大 0,向内代表小于 0。

**图 8 ΦSHDA-1 基因组圈图**

**Fig. 8 Genome map of ΦSHDA-1**

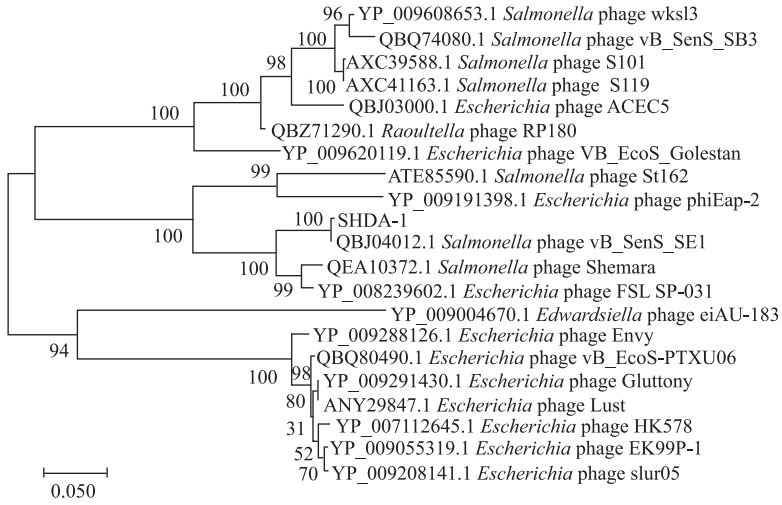



**图 9　ΦSHDA-1 DNA 聚合酶系统进化树**

**Fig. 9　Phylogenetic tree formed by DNA polymerase protein of ΦSHDA-1**

**2.3.2　噬菌体 ΦSHDA-1 裂解酶的蛋白质结构预测分析**　将获得的 59 个编码基因的氨基酸序列采用 blast 程序逐个进行检索分析，发现一个裂解酶（LysSHDA-1）的编码区。使用 ProtParam 在线软件对 LysSHDA-1 蛋白进行理化性质分析，同时使用 PredictProtein 预测其二级结构。结果表明：该蛋白质由 160 个氨基酸组成，相对分子质量为 17 300，等电点为 9.99，其亲水性平均系数为-0.271，因此属于亲水性蛋白质，不稳定指数为 23.52，因此属于稳定蛋白质。其二级结构中，α-螺旋、β-折叠、无规则卷曲分别占氨基酸总数的 54.38%、5.62%、40%，不包含任何核定位信号，为非球状蛋白质。TMHMM 和 SignalP 的结果分析表明，其不含跨膜结构及信号肽。

## 3　结　语

目前用于防治食品中病原菌的手段各有缺陷，且随着抗生素长期大量和不当使用，出现了越来越多的沙门氏菌耐药株，因此迫切需要找到一种相对环保且高效的方法来控制这种病原体。噬菌体不仅能够安全有效抑制病源微生物，而且不会对食品的外观、营养及风味造成影响。目前美国、欧洲、加拿大和澳大利亚等多个国家已将商业噬菌体制剂（例如 ListShield，LMP -102，Listex P100，EcoShield 和 SalmoFresh）应用于食品工业中[18]。因此噬菌体成为一种有吸引力的替代品，用于控制食品和食品加工及储存环境中污染的沙门氏菌。

本研究以鼠伤寒沙门氏菌为宿主菌，从环境污水中分离到一株裂解性噬菌体，命名为 ΦSHDA-1，其噬菌斑边缘清晰透亮，具有典型裂解性噬菌体的特性。噬菌体 ΦSHDA-1 的头部呈多面体立体对称，头部直径约为（53±8）nm，尾长约（112±12）nm。根据噬菌体分类方法，本研究分离的沙门噬菌体 ΦSHDA -1 属于有尾病毒目、长尾噬菌体（Siphoviridae）科。通过温度和 pH 耐受实验发现，ΦSHDA-1 具有良好的酸碱稳定性及较强的温度适应能力，且 ΦSHDA-1 对沙门氏菌的裂解曲线表明，其具有较好的抑菌能力，这些特征为噬菌体制剂的制备、保存及应用提供了可靠保证。

开展噬菌体基因组学研究，不仅能够提高我们对于噬菌体基因序列丰富多样性程度的认识，为进一步了解噬菌体提供可靠的信息，还可以为噬菌体应用或是开发新型的抗菌剂奠定科学基础。噬菌体及其裂解酶作为抗生素替代品近年来备受关注，对耐药菌的防治具有潜在的应用价值。噬菌体裂解酶是多数噬菌体在侵染后期编码的一类肽聚糖水解酶，其主要功能是降解细菌细胞壁的肽聚糖成分，从而促使细菌裂解并释放出子代噬菌体[19]。噬菌体裂解酶具有与细菌共同进化的选择优势和高效的裂解活性，其作用不受细菌耐药性的影响，不易诱导细菌产生新的抗性，而且易于人工设计和基因工程改造，因此成为噬菌体抗菌研究的关键基因[20]。国内外已有很多文献报道指出，裂解酶能够被用来防控和检测食品中的食源性致病菌[21-25]。裂解酶与其他的抑菌剂相比，它的宿主特异性较强，能选择性

地杀死致病菌而不会引起食品中其他天然有益菌群的改变,因此成为一种全新的抗菌剂[26]。通过blastp对比可知,ΦSHDA-1基因组含有一裂解酶基因。LysSHDA-1蛋白质不存在跨膜结构域,同时其缺乏信号肽序列,不属于分泌蛋白质。上述结果表明,LysSHDA-1与大部分噬菌体的裂解酶一样,不能够直接穿透宿主菌的细胞膜,必须借助噬菌体编码的穿孔素蛋白的辅助作用才能够穿过宿主细胞膜,从而发挥其裂菌作用[27]。

在噬菌体投入到实际应用之前必须全面深入了解其基因组信息,有研究表明,噬菌体含有编码某些毒力因子合成的基因,在进入宿主菌细胞之后便合成毒力因子,对人体造成危害,噬菌体还可能是耐药菌之间耐药基因水平传播的介质[28]。通过对本试验筛选的噬菌体的开放阅读框与CARD以及VFDB进行分析,噬菌体ΦSHDA-1未发现携带耐药基因和毒力基因,保证了其作为抗菌剂用于防治食品中沙门氏菌污染的安全性。总之,噬菌体ΦSHDA-1的生物学特性及基因组学分析表明,其有作为抑菌剂用于防控食品中沙门氏菌污染的潜力。

## 参考文献:

[1] ALEJANDRO G M,PABLO F,SARAH A,et al. Specific detection of viable *Salmonella enteritidis* by phage amplification combined with qPCR (PAA-qPCR) in spiked chicken meat samples[J]. **Food Control**,2019,99:79-83.

[2] BARTON B C ,JONES T F ,VUGIA D J ,et al. Deaths associated with bacterial pathogens transmitted commonly through food: foodborne diseases active surveillance network (FoodNet),1996-2005[J]. **Journal of Infectious Diseases**,2011,204(2):263-267.

[3] European Food Safety Authoerity. The European Union summary report on trends and sources of zoonoses,zoonotic agents and food-borne outbreaks in 2015[J]. **EFSA Journal**,2016,14(12):222-231.

[4] GUENTHER S,HERZIG O,FIESELER L,et al. Biocontrol of *Salmonella typhimurium* in RTE foods with the virulent bacteriophage FO1-E2[J]. **International Journal of Food Microbiology**,2012,154(1-2):66-72.

[5] OLAIMAT A N ,HOLLEY R A. Factors influencing the microbial safety of fresh produce:a review[J]. **Food Microbiology**,2012,32(1):1-19.

[6] BAJPAI V K,BAEK K H,KANG S C,et al. Control of *Salmonella* in foods by using essential oils:a review[J]. **Food Research International**,2012,45(2):722-734.

[7] LU Z,BREIDT F. *Escherichia coli* O157:H7 bacteriophage Φ241 isolated from an industrial cucumber fermentation at high acidity and salinity[J]. **Frontiers in Microbiology**,2015,6(2):67-76.

[8] MAURA D,DEBARBIEUX L. Bacteriophages as twenty-first century antibacterial tools for food and medicine[J]. **Applied Microbiology and Biotechnology**,2011,90(3):851-859.

[9] ATTERBURY R J. Bacteriophage biocontrol in animals and meat products[J]. **Microbial Biotechnology**,2009,2(6):601-612.

[10] JAMALLUDEEN N,JOHNSON R P,FRIENDSHIP R,et al. Isolation and characterization of nine bacteriophages that lyse O149 enterotoxigenic *Escherichia coli*[J]. **Veterinary Microbiology**,2007,124(1-2):47-57.

[11] SRITHA K S,BHAT S G. Genomics of *Salmonella* phage ΦStp1:candidate bacteriophage for biocontrol[J]. **Virus Genes**,2018,54(2):1-8.

[12] 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]. **Applied Microbiology & Biotechnology**,2017,102(2):971-983.

[13] ZHANG H,WANG R,BAO H,et al,et al. Phage inactivation of foodborne *Shigella* on ready-to-eat spiced chicken[J]. **Poultry Science**,2013,92(1):211-217.

[14] CAPRA M L,QUIBERONI A,REINHEIMER J,et al. Phages of *Lactobacillus casei/paracasei*:response to environmental factors and interaction with collection and commercial strains[J]. **Journal of Applied Microbiology**,2006,100(2):334-342.

[15] PREETHI B P,JUDITH M N,SANDEEP K B,et al. Characterization of a new virulent phage MC1 specific to microbulbifer strain CMC-5[J]. **Virus Research**,2018,257(9):7-13.

[16] KATARZYNA L,HENNI T,ANU W,et al. Characterization of vB_SauM-fRuSau02,a twort-like bacteriophage isolated from a therapeutic phage cocktail[J]. **Viruses**,2017,9(9):258-276.

[17] YANG M,LIANG Y,SU R,et al. Genome characterization of the novel lytic *Vibrio parahaemolyticus* phage vB_VpP_BA6[J].

**Archives of Virology**,2019,164(12):2627-2630.

[18] YANG S,SADEKUZZAMAN M,HA S D. Reduction of,*Listeria monocytogenes*,on chicken breasts by combined treatment with UV-C light and bacteriophage list shield[J]. **LWT – Food Science and Technology**,2017,86:193-200.

[19] SCHMELCHER M,LOESSNER M J. Bacteriophage endolysins:applications for food safety[J]. **Curr Opin Biotechnol**,2016,37(25):76-87.

[20] KRUPOVIC M,BAMFORD D H. Holin of bacteriophage lambda:structural insights into a membrane lesion[J]. **Mol Microbiol**,2008,69(4):781-783.

[21] LUIS A IBARRA S,MAXWELL L Van Tassell,Michael J Miller. Antimicrobial behavior of phage endolysin PlyP100 and its synergy with nisin to control *Listeria monocytogenes* in Queso Fresco[J]. **Food Microbiology**,2018,72:128-134.

[22] PARK J,YUN J,LIM J A,et al. Characterization of an endolysin,Lys BPS13,from a *Bacillus cereus* bacteriophage[J]. **FEMS Microbiol Lett**,2012,332(1):76-83.

[23] CHA Y,SON B,RYU S,et al. Effective removal of staphylococcal biofilms on various food contact surfaces by *Staphylococcus aureus* phage endolysin LysCSA13[J]. **Food Microbiology**,2019,84(12):1032451-1032458.

[24] SCHUCH R,PELZEK A J,NELSON D C,et al. The PlyB endolysin of bacteriophage vB_BanS_Bcp1 exhibits broad-spectrum bactericidal activity against *Bacillus cereus sensulato* isolates[J]. **Applied and Environmental Microbiology**,2019,85(9):3-19.

[25] HAN H,LI X M,ZHANG T T,et al. Bioinformatic analyses of a potential salmonella-virus-FelixO1 biocontrol phage BPS15S6 and the characterisation and anti-enterobacteriaceae-pathogen activity of its endolysin LyS15S6.[J]. **Antonie Van Leeuwenhoek**,2019,112(11):1577-1592.

[26] SCHMELCHER M,DONOVAN D M,LOESSNER M J,et al. Bacteriophage endolysins as novel antimicrobials[J]. **Future Microbiol**,2012,7(10):1147-1171.

[27] YOUNG R. Bacteriophage holins:deadly diversity[J]. **J Mol Microbiol Biotechnol**,2002,4(1):21-36.

[28] CHEN M,XU J,YAO H,et al. Isolation,genome sequencing and functional analysis of two T7-like coliphages of avian pathogenic *Escherichia coli*[J]. **Gene**,2016,582(1):47-58.

## 科 技 信 息

**欧盟评估一种 α-环糊精葡萄糖基转移酶的安全性**

2020 年 10 月 1 日,欧盟食品安全局就一种 α-环糊精葡萄糖基转移酶(α-cyclodextrin glucanotransferase)的安全性评价发布意见。

据了解,这种食品酶是由 Wacker Chemie GmbH 公司用转基因大肠肝菌(*Escherichia coli*)菌株 WCM105xpCM703 生产的。由于缺乏关于这种 α-环糊精葡萄糖基转移酶与已知过敏原的序列同源性的信息,专家小组无法完成对这种食物酶过敏原性的评估。因此该食品酶不能被认为是安全的。

[信息来源] 食品伙伴网. 欧盟评估一种 α-环糊精葡萄糖基转移酶的安全性 [EB/OL]. (2020-10-12).http://news.foodmate.net/2020/10/573848.html