

## 论著·基础研究

## 乙酰化修饰在影响细菌对核糖体靶向抗生素敏感性中的作用

来亚男<sup>1</sup>, 姚玉峰<sup>1</sup>, 郭晓奎<sup>2</sup>, 倪进婧<sup>1</sup>

1. 上海交通大学基础医学院免疫学与微生物学系, 上海 200025; 2. 上海交通大学医学院-国家热带病研究中心全球健康学院, 上海 200025

**[摘要]** **目的**·探究乙酰化修饰在细菌应对核糖体靶向抗生素胁迫下的作用。**方法**·通过肉汤稀释法检测嘌呤霉素、巴龙霉素、四环素和壮观霉素对于鼠伤寒沙门菌 (*Salmonella enterica* serovar Typhimurium, *S. Typhimurium*) 14028S 的最低抑菌浓度 (minimum inhibitory concentration, MIC)。配置浓度低于各抗生素 MIC 的固体培养基。点板实验检测 *S. Typhimurium* 14028S 和 3 种乙酰化修饰相关基因敲除株 [蛋白质乙酰转移酶 (protein acetyltransferase, Pat) 编码基因敲除株  $\Delta pat$ 、烟酰胺腺嘌呤二核苷酸依赖性去乙酰化酶 (NAD<sup>+</sup>-dependent protein deacylase, CobB) 编码基因敲除株  $\Delta cobB$ 、乙酸激酶 (acetate kinase, AckA) 编码基因敲除株  $\Delta ackA$ ] 在不同抗生素浓度的固体培养基上的生长差异。**结果**·乙酰化程度升高 ( $\Delta ackA$ ), 增加 *S. Typhimurium* 对嘌呤霉素的敏感性, 但会减弱 *S. Typhimurium* 对巴龙霉素的敏感性; 而乙酰化程度升高 ( $\Delta ackA$ 、 $\Delta cobB$ ) 或降低 ( $\Delta pat$ ) 均不影响 *S. Typhimurium* 对四环素和壮观霉素的敏感性。**结论**·乙酰化修饰影响细菌对核糖体靶向抗生素的敏感性, 这种改变可能是通过核糖体蛋白的乙酰化修饰来调控的。

**[关键词]** 乙酰化修饰; 核糖体; 核糖体靶向抗生素

**[DOI]** 10.3969/j.issn.1674-8115.2021.03.004 **[中图分类号]** R37 **[文献标志码]** A

## Acetylation involved in bacterial susceptibility to ribosome-targeting antibiotics

LAI Ya-nan<sup>1</sup>, YAO Yu-feng<sup>1</sup>, GUO Xiao-kui<sup>2</sup>, NI Jin-jing<sup>1</sup>

1. Department of Immunology and Microbiology, Shanghai Jiao Tong University College of Basic Medical Sciences, Shanghai 200025, China; 2. School of Global Health, Chinese Center for Tropical Diseases Research, Shanghai Jiao Tong University School of Medicine, Shanghai 200025, China

**[Abstract]** **Objective**·To investigate the effects of acetylation on the bacterial susceptibility to ribosome-targeting antibiotics. **Methods**·The minimum inhibitory concentrations (MICs) of puromycin, paromomycin, tetracycline and spectinomycin for *Salmonella enterica* serovar Typhimurium (*S. Typhimurium*) 14028S were determined by the broth dilution method. The solid mediums with concentration lower than MIC was prepared. The spot dilution assay was employed to determine the susceptibility of *S. Typhimurium* strain 14028S, protein acetyltransferase (*pat*) knockout strain ( $\Delta pat$ ), NAD<sup>+</sup>-dependent protein deacylase (*cobB*) knockout strain ( $\Delta cobB$ ) and acetate kinase (*ackA*) knockout strain ( $\Delta ackA$ ) to four kinds of ribosome-targeting antibiotics. **Results**·Increase of acetylation ( $\Delta ackA$ ) promoted the susceptibility of *S. Typhimurium* to puromycin, but promoted the resistance of *S. Typhimurium* to paromomycin. However, the sensitivity of *S. Typhimurium* to tetracycline and spectinomycin was not affected by the increase of acetylation ( $\Delta ackA$  or  $\Delta cobB$ ) or decrease of acetylation ( $\Delta pat$ ). **Conclusion**·Acetylation is involved in the susceptibility of *S. Typhimurium* to ribosome-targeting antibiotics, suggesting that acetylation of ribosomal proteins may contribute to bacterial antibiotic sensitivity.

**[Key words]** acetylation; ribosome; ribosome-targeting antibiotics

核糖体是蛋白质的合成机器, 部分临床上常用的抗生素通过阻断细菌核糖体的蛋白质合成来发挥抗菌作用<sup>[1]</sup>。细菌核糖体由 30S 小亚基和 50S 大亚基组成, 包含 3 种核糖体 RNA (ribosomal RNA, rRNA) 和 54 种核糖体蛋白<sup>[2]</sup>。很多已知的抗生素作用于核糖体翻译的延伸阶段, 如氨基糖苷类、大环内酯类、氯霉素类、夫西地酸类和四环素类等<sup>[3]</sup>。细菌为了避免其被药物清除, 可通过一系列限制性行为减少药物对自身的作用。例如, 某些革兰阴性菌通过外膜来阻止抗生素进入细胞<sup>[4]</sup>。除

此之外, 细菌还可对核糖体成分修饰或使其发生突变, 来减弱抗生素与核糖体的结合能力。例如细菌通常会利用甲基转移酶来甲基化修饰 50S 亚基 23S rRNA 或 30S 亚基 16S rRNA, 获得耐药性<sup>[5-6]</sup>; 30S 亚基核糖体蛋白 S12 的突变也被证明可诱导细菌对引起蛋白质错误合成的抗生素如链霉素产生耐药性<sup>[7-8]</sup>。

乙酰化修饰是细菌体内主要的蛋白翻译后修饰类型, 对蛋白质表达和细胞代谢具有多个方面的影响。例如, 乙酰化修饰影响细菌的致病性<sup>[9]</sup>、对外界环境的应答<sup>[10]</sup>

**[基金项目]** 国家自然科学基金 (31700121); 上海市高水平地方高校创新团队 (SSMU-ZLCX20180202)。

**[作者简介]** 来亚男 (1994—), 女, 硕士生; 电子信箱: laiyanan1994@163.com。

**[通信作者]** 倪进婧, 电子信箱: nijinjing45@163.com。

**[Funding Information]** National Natural Science Foundation of China (31700121); Innovative Research Team of High-Level Local Universities in Shanghai (SSMU-ZLCX20180202).

**[Corresponding Author]** NI Jin-jing, E-mail: nijinjing45@163.com.



和代谢过程等<sup>[11]</sup>。在细菌中,蛋白质乙酰转移酶(protein acetyltransferase, Pat)是目前研究较充分的乙酰转移酶<sup>[12]</sup>。乙酰磷酸(acetyl-phosphate, AcP)可直接将其自身的乙酰基团转移到赖氨酸残基ε-氨基上;相比Pat, AcP的底物范围更广,但特异性较低<sup>[13-14]</sup>。AcP的水平取决于磷酸转乙酰酶(phosphotransacetylase, Pta)催化生成乙酰辅酶A的速率,以及被乙酸激酶(acetate kinase, AckA)降解为乙酸的速率。敲除编码AckA的基因*ackA*会导致细胞内AcP含量升高。乙酰化修饰也能被烟酰胺腺嘌呤二核苷酸依赖性去乙酰化酶(NAD<sup>+</sup>-dependent protein deacylase, CobB)进行去乙酰化修饰,它可以去除Pat和AcP 2种修饰途径来源的乙酰基团<sup>[15]</sup>。细菌核糖体是临床常用抗生素的主要靶标。研究<sup>[7-8]</sup>证实核糖体蛋白的突变会影响细菌对抗生素的敏感性。课题组前期通过乙酰化质谱分析,发现鼠伤寒沙门菌(*Salmonella enterica* serovar Typhimurium, *S. Typhimurium*)的核糖体蛋白存在广泛的乙酰化修饰,然而这种普遍的修饰状态是否影响抗生素与细菌的结合还未知。故本研究以3种乙酰化修饰相关基因敲除株(*pat*基因敲除株Δ*pat*、*cobB*基因敲除株Δ*cobB*和*ackA*基因敲除株Δ*ackA*)为研究对象,探究细菌乙酰化修饰对抗生素与细菌结合关系有无影响,从而为寻找解决细菌耐药问题提供新的思路。

1 材料与方法

1.1 实验材料

1.1.1 菌株 *S. Typhimurium* 14028S菌株购自美国典型培养物保藏中心(American Type Culture Collection, ATCC)。Δ*pat*、Δ*cobB*、Δ*ackA*是在*S. Typhimurium* 14028S的遗传背景下分别敲除*pat*基因、*cobB*基因、

*ackA*基因获得的菌株,均来自本实验室。  
1.1.2 试剂与仪器 嘌呤霉素(货号A610593)、四环素(货号A100422)、壮观霉素(货号A600901)、巴龙霉素(货号A614181)均购于生工生物工程(上海)股份有限公司。Easyspiral dilute细菌涂布仪购于上海书俊仪器设备有限公司, Synergy 2酶标仪购于美国伯腾仪器有限公司。

1.2 实验方法

1.2.1 细菌生长曲线测定 挑取单克隆菌落于无菌LB培养基(Luria-Bertani medium)中, 37℃过夜培养;用新鲜LB培养基调整菌液在波长600 nm处的吸光度值 $D(600\text{ nm})$ ,待 $D(600\text{ nm})=1$ 后,将菌液按照1:10的比例转接,使起始 $D(600\text{ nm})=0.1$ ,之后每1 h测量1次 $D(600\text{ nm})$ 。以时间为横坐标,  $D(600\text{ nm})$ 为纵坐标,绘制细菌生长曲线。

1.2.2 抗生素梯度稀释液制备 根据Wiegand等<sup>[16]</sup>的方法制备抗生素梯度稀释液。首先配置成浓度为1 280 mg/L的抗生素母液。计算公式为 $W=(C\times V)/P$ ,其中 $W$ =需溶解的抗生素质量(mg),  $V$ =实验需要的体积(mL),  $C$ =最终储存浓度(μg/mL),  $P$ =说明书中显示的抗生素有效含量(μg/mg)。按照表1在无菌试管中用无菌LB培养基制备抗生素稀释液。

1.2.3 菌落形成单位计算 挑取单克隆菌落于新鲜的LB培养基中, 37℃过夜培养,测定过夜培养菌液的 $D(600\text{ nm})$ 。用无菌磷酸盐缓冲液(phosphate buffered saline, PBS)按照1:10的比例倍比稀释菌液直至稀释度达到 $10^{-7}$ ;分别取100 μL  $10^{-4}$ ~ $10^{-7}$ 稀释度的菌液涂布平板, 37℃培养,隔日计数每个平板中的单克隆菌落数。菌落形成单位(colony forming unit, CFU)根据公式 $N=C\times 10^{1+D}$ 计算,其中 $N$ =每毫升菌液的CFU数,  $C$ =每个平板中的单克隆菌落数(100~

表1 抗生素稀释液的配制  
Tab 1 Preparation of antibiotic dilution

Stage	Concentration/(mg·L <sup>-1</sup> )	Source	Antibiotic volume/mL	LB medium volume/mL	Concentration obtained/(mg·L <sup>-1</sup> )	Concentration in test/(mg·L <sup>-1</sup> )
1	1 280	Stock	1	9	128	64
2	128	Stage 1	1	1	64	32
3	128	Stage 1	1	3	32	16
4	128	Stage 1	1	7	16	8
5	16	Stage 4	1	1	8	4
6	16	Stage 4	1	3	4	2
7	16	Stage 4	1	7	2	1
8	2	Stage 7	1	1	1	0.5
9	2	Stage 7	1	3	0.5	0.25
10	2	Stage 7	1	7	0.25	0.125
11	0.25	Stage 10	1	1	0.125	0.062 5
12	0.25	Stage 10	1	3	0.062 5	0.031 25

400个),  $D$ =按照1:10进行稀释的次数。实验重复3次,取平均值。确定 $D(600\text{ nm})$ 与CFU的关系系数。

**1.2.4 肉汤稀释法测定最低抑菌浓度** 根据 $D(600\text{ nm})$ 和CFU的关系系数,调整过夜培养菌液的起始接种量为 $1\times 10^8\text{ CFU/mL}$ 。取96孔板,无菌对照孔加入100  $\mu\text{L}$ 无菌LB培养基,生长对照孔加入50  $\mu\text{L}$ 无菌LB培养基,其他孔加入各稀释度抗生素50  $\mu\text{L}$ 。将 $1\times 10^8\text{ CFU/mL}$ 细菌悬浮液按照1:100稀释,在生长对照孔和加入各稀释度抗生素的孔中加入50  $\mu\text{L}$ 细菌悬液,充分混匀。37  $^{\circ}\text{C}$ 孵育16~20 h,酶标仪测量 $D(600\text{ nm})$ ,同时可通过涂布法确保96孔板中细菌数量约为 $5\times 10^5\text{ CFU/mL}$ 。当某稀释度抗生素对应的孔中与无菌对照孔中菌液的 $D(600\text{ nm})$ 相同,则该稀释度下的抗生素浓度即为最低抑菌浓度(minimum inhibitory concentration, MIC)。

**1.2.5 稀释点板实验** 将过夜培养菌液按照1:100转接至新鲜的LB培养基中,培养至 $D(600\text{ nm})=1$ 。取1 mL菌液3 000 $\times g$ 离心8 min,无菌PBS洗涤,调整 $D(600\text{ nm})$ 至0.1。按照1:10的比例倍比稀释至 $10^{-4}$ 稀释度。取各稀释度( $10^0$ 、 $10^{-1}$ 、 $10^{-2}$ 、 $10^{-3}$ 、 $10^{-4}$ )菌液2  $\mu\text{L}$ 依次点板,37  $^{\circ}\text{C}$ 培养16 h,观察细菌的生长状态。

## 2 结果

### 2.1 乙酰化修饰对细菌生长状态的影响

为了排除乙酰化修饰对细菌生长状态的影响,首先测量了*S. Typhimurium* 14028S及3种乙酰化修饰相关基因敲除株 $\Delta pat$ 、 $\Delta cobB$ 和 $\Delta ackA$ 的生长曲线。由于点板稀释实验设置的初始 $D(600\text{ nm})=0.1$ ,故以 $D(600\text{ nm})=0.1$ 作为起始 $D(600\text{ nm})$ 连续监测。图1显示,随着培养时间的增加,*S. Typhimurium* 14028S和3种乙酰化修饰相关基因敲除株的生长曲线较为吻合,表明乙酰化和去乙酰化修饰不影响细菌的生长状态。此外,在 $D(600\text{ nm})$ 都为0.1的情况下,通过稀释涂布法确定的3种乙酰化修饰相关基因敲除株和*S. Typhimurium* 14028S活菌数量也没有明显差异。

### 2.2 *S. Typhimurium* 14028S的MIC测定

为了探究乙酰化修饰是否影响细菌对核糖体靶向抗生素的敏感性,我们选择4种核糖体靶向抗生素——嘌呤霉素、巴龙霉素、四环素和壮观霉素,通过肉汤稀释法检测其对*S. Typhimurium* 14028S的MIC。结果显示:嘌呤霉素的MIC为256 mg/L,巴龙霉素的MIC为32 mg/L,四环素的MIC为4 mg/L,壮观霉素的MIC为128 mg/L。

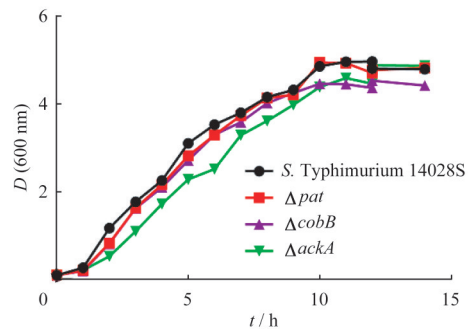


图1 *S. Typhimurium* 14028S和各乙酰化修饰相关基因敲除株的生长曲线

Fig 1 Growth curves of *S. Typhimurium* 14028S and acetylation related gene mutants

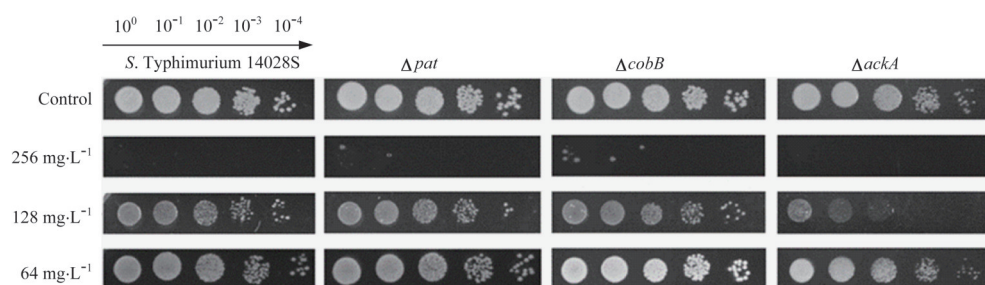
### 2.3 乙酰化修饰相关基因敲除株对核糖体靶向抗生素的敏感性

根据上述MIC测定结果,制备浓度低于相关抗生素MIC的含抗生素平板培养基。培养*S. Typhimurium* 14028S和3种乙酰化修饰相关基因敲除株单克隆,调整 $D(600\text{ nm})=0.1$ ;将菌液按照1:10的比例倍比稀释至 $10^{-4}$ 稀释度,取 $10^{-4}$ ~ $10^0$ 稀释度的菌液分别点板。

**2.3.1 乙酰化修饰相关基因敲除株对嘌呤霉素的敏感性** 在无抗生素的平板培养基上,4种菌株的生长状态相似且生长状态均正常(图2)。在含128 mg/L嘌呤霉素的平板培养基上,*S. Typhimurium* 14028S、 $\Delta pat$ 和 $\Delta cobB$ 的生长状态正常, $\Delta ackA$ (胞内AcP含量增加,乙酰化程度升高)显示生长缺陷,表明在AcP的调控下,细菌对结合在50S亚基上的嘌呤霉素的敏感性提高。*cobB*基因敲除后( $\Delta cobB$ ),虽然整体乙酰化程度升高,但 $\Delta cobB$ 在点板稀释实验中并没有明显表型,表明去乙酰化酶CobB不参与调控*S. Typhimurium*对嘌呤霉素的敏感性。

**2.3.2 乙酰化修饰相关基因敲除株对巴龙霉素的敏感性** 在含8 mg/L巴龙霉素的平板培养基上,*S. Typhimurium* 14028S、 $\Delta cobB$ 和 $\Delta ackA$ 的生长状态较为正常,但 $\Delta pat$ 已经出现明显的生长缺陷;在含16 mg/L巴龙霉素的平板培养基上, $10^{-4}$ ~ $10^0$ 稀释度的 $\Delta ackA$ 仍然可以生长,而 $10^{-3}$ 和 $10^{-4}$ 稀释度的*S. Typhimurium* 14028S和 $\Delta cobB$ 的生长受到明显抑制(图3)。这一结果表明乙酰化程度降低( $\Delta pat$ ),*S. Typhimurium*对巴龙霉素的敏感性增加;而乙酰化程度升高( $\Delta ackA$ ),*S. Typhimurium*对巴龙霉素的敏感性降低。巴龙霉素可引起细菌翻译错误率升高。相比*S. Typhimurium* 14028S, $\Delta pat$ 呈现明显的生长缺陷表型,表明乙酰化修饰对于细菌维持正常的翻译保真度至关重要。

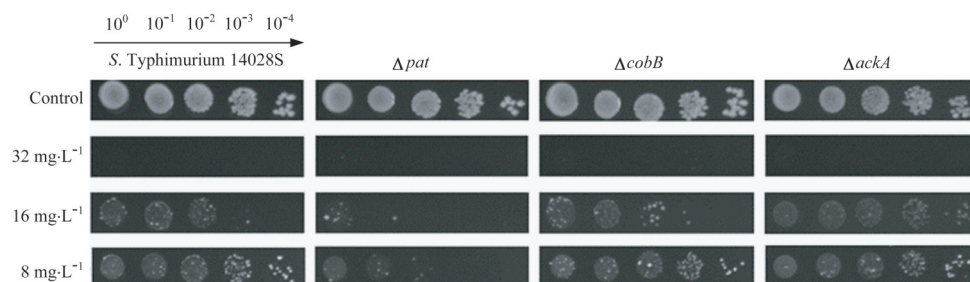




**Note:** The  $10^{-4}$ – $10^0$  dilutions of *S. Typhimurium* 14028S and three mutant strains were spotted onto 256, 128 and  $64 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  puromycin-containing plates. The plate medium without puromycin was used as control.

图2 嘌呤霉素的点板稀释实验结果

Fig 2 Spot dilution assay of puromycin



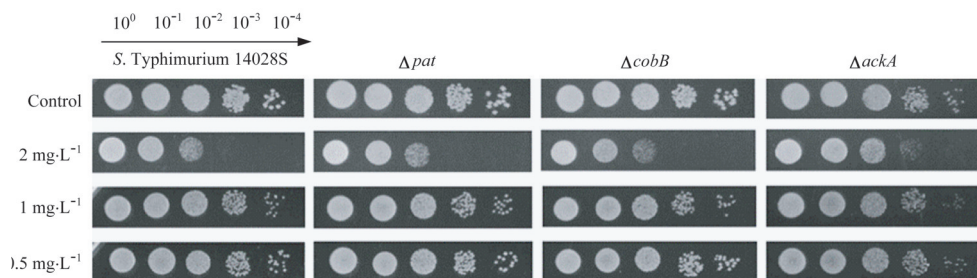
**Note:** The  $10^{-4}$ – $10^0$  dilutions of *S. Typhimurium* 14028S and three mutant strains were spotted onto 32, 16 and  $8 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  paromomycin-containing plates. The plate medium without paromomycin was used as control.

图3 巴龙霉素的点板稀释实验结果

Fig 3 Spot dilution assay of paromomycin

**2.3.3 乙酰化修饰相关基因敲除株对四环素和壮观霉素的敏感性** 3种乙酰化修饰相关基因敲除株在同一四环素和壮观霉素浓度下, 生长状态和生长受到抑制的程度与

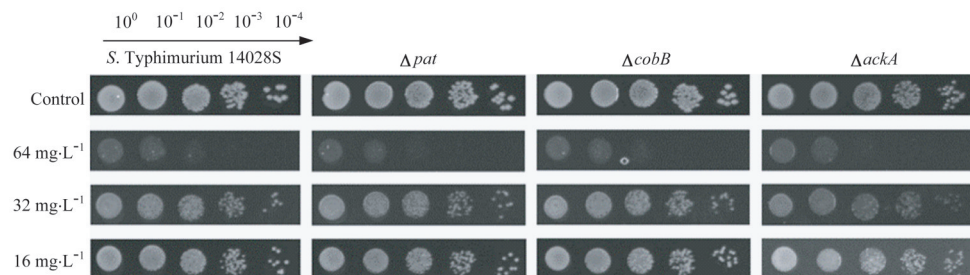
*S. Typhimurium* 14028S相同(图4、5), 表明乙酰化程度增高( $\Delta cobB$ 、 $\Delta ackA$ )或降低( $\Delta pat$ ), *S. Typhimurium*对四环素和壮观霉素的敏感性没有受到影响。



**Note:** The  $10^{-4}$ – $10^0$  dilutions of *S. Typhimurium* 14028S and three mutant strains were spotted onto 2, 1 and  $0.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  tetracycline-containing plates. The plate medium without tetracycline was used as control.

图4 四环素点板稀释实验

Fig 4 Spot dilution assay of tetracycline



**Note:** The  $10^{-4}$ – $10^0$  dilutions of *S. Typhimurium* 14028S and three mutant strains were spotted onto 64, 32 and  $16 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  spectinomycin-containing plates. The plate medium without spectinomycin was used as control.

图5 壮观霉素点板稀释实验结果

Fig 5 Spot dilution assay of spectinomycin

### 3 讨论

蛋白质是所有生物体生存的物质基础。真核生物和原核生物的蛋白质翻译过程存在明显差异,一些抗生素的开发正是利用了这一差异<sup>[17]</sup>。本实验室前期的乙酰化质谱分析显示 *S. Typhimurium* 的核糖体蛋白存在广泛的乙酰化修饰,并且受 AcP 和 Pat 共同调控。核糖体蛋白的氨基酸突变会影响细菌对抗生素的敏感性<sup>[18]</sup>,但核糖体蛋白翻译后修饰在其中的作用尚不清楚。本研究以3种乙酰化修饰相关基因敲除株为研究对象,并选择4种核糖体靶向抗生素,来探究细菌核糖体蛋白的乙酰化修饰在应对抗生素的作用时所扮演的角色。

嘌呤霉素因为其分子结构类似于氨酰转运 RNA (aminoacyl transfer RNA, aa-tRNA) 而被掺入肽链的合成,从而导致肽链合成提前终止,其作用位点位于肽酰转移酶活性中心<sup>[19]</sup>。我们发现 *ackA* 基因敲除后,即乙酰化程度升高, *S. Typhimurium* 对嘌呤霉素的敏感性增加。通常嘌呤霉素掺入导致细菌蛋白质翻译终止的原因是肽酰转移酶对其的识别和催化,但在乙酰化程度升高的情况下, *S. Typhimurium* 对嘌呤霉素的敏感性增加,我们猜测乙酰化修饰可能会增加肽酰转移酶的活性从而导致更多嘌呤霉素的掺入。

巴龙霉素结合在细菌核糖体 30S 亚基的解码中心,引起其构象变化,从而影响 A 位点上 mRNA 和 aa-tRNA 密码子反密码子螺旋的形成<sup>[20]</sup>。我们发现  $\Delta ackA$  菌株对巴龙霉素的敏感性降低,这一结果提示乙酰化修饰可能会影响 30S 亚基解码中心结构域的构象,从而影响巴龙霉素的结合。细菌核糖体蛋白的氨基酸突变,造成核糖体蛋白侧链结构改变,影响抗生素结合位点的空间构型,从而影响细菌对抗生素的敏感性<sup>[18]</sup>。我们猜测乙酰化修饰

降低 *S. Typhimurium* 对巴龙霉素的敏感性,可能是核糖体蛋白的乙酰化修饰所致。核糖体蛋白的赖氨酸发生乙酰化修饰,会中和生理条件下核糖体蛋白赖氨酸所带的正电荷;同时乙酰基团的掺入会使蛋白质侧链结构发生变化;这2种改变都可能会削弱核糖体蛋白与 rRNA 的结合,影响核糖体结构,从而导致巴龙霉素在核糖体上结合位点的空间构型发生改变。但乙酰化修饰影响 *S. Typhimurium* 对巴龙霉素敏感性的具体调节机制仍需要进一步研究。

四环素阻止 aa-tRNA 结合到 30S 亚基 A 位点<sup>[21]</sup>,使其被 16S rRNA 完全包围,与核糖体蛋白没有任何接触。壮观霉素抑制 tRNA-mRNA 的易位过程,除了与 16S rRNA 的螺旋 34 (helix 34) 相互作用外,与核糖体蛋白 S5 的第 25 位赖氨酸也存在相互作用<sup>[21]</sup>。我们发现乙酰化修饰程度改变不影响 *S. Typhimurium* 对这2种抗生素的敏感性,表明乙酰化修饰不影响抗生素结合位点的空间构型。但不能认为核糖体蛋白的乙酰化修饰在其中没有发挥作用,因为乙酰化修饰是对核糖体蛋白整体的功能调控,并非对某一核糖体蛋白的单一调控。一个比较经典的例子是核糖体蛋白 S12 和 S4 之间的关系。有研究<sup>[22]</sup>发现 S12 突变后会减弱 *S. Typhimurium* 的毒力,但在 S12 突变株中会出现高频率的 S4 突变株来回补毒力。同理,乙酰化修饰也是一种全局性调控,影响核糖体蛋白与 rRNA、tRNA 等组分之间的相互作用,从而保证细菌在应对各种胁迫环境下依然能够生存。

本研究发现乙酰化修饰会影响细菌对核糖体靶向抗生素的敏感性,这种影响可能是通过核糖体蛋白的乙酰化修饰来调控的。探究乙酰化修饰与细菌对抗生素敏感性的关系对于解决临床上日益严重的耐药问题以及新药的研制具有重要的意义。

### 参·考·文·献

- [1] Wilson DN. Ribosome-targeting antibiotics and mechanisms of bacterial resistance[J]. Nat Rev Microbiol, 2014, 12(1): 35-48.
- [2] Arenz S, Wilson DN. Bacterial protein synthesis as a target for antibiotic inhibition[J]. Cold Spring Harb Perspect Med, 2016, 6(9): a025361.
- [3] Walsh C. Where will new antibiotics come from? [J] Nat Rev Microbiol, 2003, 1(1): 65-70.
- [4] Lu M, Symersky J, Radchenko M, et al. Structures of a Na<sup>+</sup>-coupled, substrate-bound MATE multidrug transporter [J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2013, 110(6): 2099-2104.
- [5] Doi Y, Wachino JI, Arakawa Y. Aminoglycoside resistance: the emergence of acquired 16S ribosomal RNA methyltransferases[J]. Infect Dis Clin North Am, 2016, 30(2): 523-537.
- [6] Weisblum B. Erythromycin resistance by ribosome modification[J]. Antimicrob Agents Chemother, 1995, 39(3): 577-585.
- [7] Traub P, Nomura M. Streptomycin resistance mutation in *Escherichia coli*: altered ribosomal protein[J]. Science, 1968, 160(3824): 198-199.
- [8] Gregory ST, Cate JH, Dahlberg AE. Streptomycin-resistant and streptomycin-dependent mutants of the extreme thermophile *Thermus thermophilus*[J]. J Mol Biol, 2001, 309(2): 333-338.
- [9] Ren J, Sang Y, Tan Y, et al. Acetylation of lysine 201 inhibits the DNA-binding ability of PhoP to regulate *Salmonella* virulence[J]. PLoS Pathog, 2016, 12(3): e1005458.
- [10] Ren J, Sang Y, Ni J, et al. Acetylation regulates survival of *Salmonella enterica* Serovar Typhimurium under acid stress[J]. Appl Environ Microbiol, 2015, 81(17): 5675-5682.
- [11] Zhang K, Zheng S, Yang JS, et al. Comprehensive profiling of protein lysine acetylation in *Escherichia coli*[J]. J Proteome Res, 2013, 12(2): 844-851.
- [12] Starai VJ, Escalante-Semerena JC. Identification of the protein acetyltransferase (Pat) enzyme that acetylates acetyl-CoA synthetase in *Salmonella enterica*[J]. J Mol Biol, 2004, 340(5): 1005-1012.
- [13] Verdin E, Ott M. Acetylphosphate: a novel link between lysine acetylation

- and intermediary metabolism in bacteria [J]. Mol Cell, 2013, 51(2): 132-134.
- [14] Kuhn ML, Zemaitaitis B, Hu LI, et al. Structural, kinetic and proteomic characterization of acetyl phosphate-dependent bacterial protein acetylation[J]. PLoS One, 2014, 9(4): e94816.
- [15] AbouElfetouh A, Kuhn ML, Hu LI, et al. The *E. coli* sirtuin CobB shows no preference for enzymatic and nonenzymatic lysine acetylation substrate sites[J]. Microbiologyopen, 2015, 4(1): 66-83.
- [16] Wiegand I, Hilpert K, Hancock REW. Agar and broth dilution methods to determine the minimal inhibitory concentration (MIC) of antimicrobial substances[J]. Nat Protoc, 2008, 3(2): 163-175.
- [17] Witzky A, Tollerson R 2nd, Ibba M. Translational control of antibiotic resistance [J]. Open Biol, 2019, 9(7): 190051.
- [18] Björkman J, Samuelsson P, Andersson DI, et al. Novel ribosomal mutations affecting translational accuracy, antibiotic resistance and virulence of *Salmonella typhimurium*[J]. Mol Microbiol, 1999, 31(1): 53-58.
- [19] Wilson DN. The A-Z of bacterial translation inhibitors[J]. Crit Rev Biochem Mol Biol, 2009, 44(6): 393-433.
- [20] Kamita M, Kimura Y, Ino Y, et al. N<sup>ε</sup>-acetylation of yeast ribosomal proteins and its effect on protein synthesis[J]. J Proteomics, 2011, 74(4): 431-441.
- [21] Kehrenberg C, Schwarz S. Mutations in 16S rRNA and ribosomal protein S5 associated with high-level spectinomycin resistance in *Pasteurella multocida*[J]. Antimicrob Agents Chemother, 2007, 51(6): 2244-2246.
- [22] Björkman J, Hughes D, Andersson DI. Virulence of antibiotic-resistant *Salmonella typhimurium*[J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 1998, 95(7): 3949-3953.

[收稿日期] 2020-04-05

[本文编辑] 崔黎明

## 学术快讯

### 上海交通大学医学院上海市免疫学研究所 苏冰教授课题组发现新型肠道间质细胞

2021年3月4日,国际学术期刊 *Nature* 在线发表了上海交通大学医学院上海市免疫学研究所苏冰教授课题组的研究成果“MAP3K2-regulated intestinal stromal cells define a distinct stem cell niche”。该研究首次发现肠道干细胞底部存在一类被称为 MRISC 的新型肠道间质细胞。该研究结合单细胞测序、ATAC 测序 (Assay for Transposase-Accessible Chromatin with high throughput sequencing, ATAC-seq)、报告基因小鼠、体外肠道类器官共培养体系以及肠道间质细胞原位注射等技术,系统揭示了 MRISC 细胞在肠道炎症和损伤过程中通过特异调控肠道干细胞微环境的 Rspo1-Wnt 信号参与肠道上皮组织损伤修复的作用和机制,为肠道的修复、再生以及疾病临床研究提供了新思路。