



病毒辅助代谢基因的研究进展

于航, 徐志伟, 魏云林, 季秀玲*

昆明理工大学生命科学与技术学院, 云南 昆明 650500

于航, 徐志伟, 魏云林, 季秀玲. 病毒辅助代谢基因的研究进展. 微生物学报, 2022, 62(8): 2879–2892.

Yu Hang, Xu Zhiwei, Wei Yunlin, Ji Xiuling. Advances in viral auxiliary metabolic genes. *Acta Microbiologica Sinica*, 2022, 62(8): 2879–2892.

摘要: 病毒通过影响微生物的营养循环、生物多样性和遗传信息传递等, 在全球海洋的生物地球化学循环中发挥关键作用。病毒还可以控制微生物的群落组成、关键代谢过程等, 这些依赖于病毒基因组上的辅助代谢基因(auxiliary metabolic genes, AMG)。AMGs 在病毒感染宿主的过程中表达并参与调控宿主的代谢过程。病毒基因组中的 AMG 包括中央碳代谢、氮代谢、磷和硫循环、核苷酸代谢以及与氧化应激反应相关的基因。AMGs 有利于子代病毒更高效地组装和释放, 对于病毒种群的繁衍具有重要意义, 同时对病毒-宿主相互作用机制的研究产生重要影响。本文针对病毒辅助代谢基因的起源、类别及其重要的生态作用进行简要综述, 以期为进一步阐明病毒在不同生态系统中的功能提供依据。

关键词: 病毒; 辅助代谢基因; 生态学功能; 宿主代谢; 遗传多样性

Advances in viral auxiliary metabolic genes

YU Hang, XU Zhiwei, WEI Yunlin, JI Xiuling*

Faculty of Life Science and Technology, Kunming University of Science and Technology, Kunming 650500, Yunnan, China

Abstract: Viruses play a key role in the biogeochemical cycle of global ocean by influencing the nutrient cycling, biodiversity, and genetic information transfer of microorganisms. Virus-encoded auxiliary metabolic genes (AMGs) can modulate the community composition and key metabolic pathways of microorganisms. Through the expression of AMGs, viruses reprogram the host metabolic

基金项目: 国家自然科学基金(32160294, 31860147)

Supported by the National Natural Science Foundation of China (32160294, 31860147)

*Corresponding author. Tel: +86-871-65920147; E-mail: jixiuling1023@126.com

Received: 24 November 2021; Revised: 17 February 2022; Published online: 22 March 2022

pathways. Virus-encoded AMGs are known to include the genes associated with central carbon metabolism, nitrogen, phosphorus, and sulfur cycling, nucleotide metabolism, and oxidative stress response. AMGs are beneficial to the assembly and release of progeny virus, which is of great significance for virus reproduction and the research on virus-host interaction mechanism. In this paper, we briefly reviewed the origin, classification, and ecological roles of virus-encoded AMGs, aiming to provide reference for illuminating the roles of viruses in different ecosystems.

Keywords: virus; auxiliary metabolic genes; ecological role; host metabolism; genetic diversity

病毒是地球上最丰富的生物，在水生生态系统中扮演重要角色^[1-2]，能够通过裂解宿主细胞影响海洋微生物群落结构和生物多样性，改变食物网中营养物质的能量流动；借助生物间的水平基因转移(horizontal gene transfer, HGT)影响宿主功能，促进病毒与其宿主共进化进程；介导海洋生态系统中有机的再循环，导致每日释放数十亿吨有机碳，驱动海洋生物地球化学循环^[3-4]。然而，病毒对微生物群落及营养物质循环的影响并不仅限于裂解细胞，它们还可以通过辅助代谢基因(auxiliary metabolic genes, AMGs)的表达来干扰感染期间宿主的中心代谢通路，改变生态系统的生产力，进而影响生物地球化学循环^[5-6]。

AMGs 指病毒基因组中携带的一系列与宿主新陈代谢相关的同源基因^[7-8]。病毒与宿主之间长期存在你攻我防、此消彼长的共进化过程。宿主通过获取病毒外源基因进化出防御机制，而病毒则从宿主基因组中获得部分 DNA 片段以改变自身遗传物质结构，逃避宿主免疫机制或提高其生态适应性^[9]。海洋中病毒-宿主之间的相互作用主要存在 2 种模型：病毒 AMGs 源于在祖先感染过程中获得的宿主基因，基于 Pillage and Plunder 模型，AMGs 通常在感染的不同阶段进行表达，调节宿主的关键代谢途径，将能量和底物重新定向到病毒复制的过程，促进病毒粒子的产生；基于 Batten down the hatches 模型，通过增加宿主适应性来提高病毒

适应性或病毒通过 AMGs 增加新陈代谢灵活性，有利于宿主抵抗不良环境，例如增强对抗生素的耐药性、产生毒素和提高对其他病毒的抵抗力或抑制宿主代谢^[10]。许多海洋病毒采取 Batten down the hatches 策略，放弃裂解生命周期，病毒以原噬菌体的形式整合到宿主基因组或作为染色体外的元素将宿主转换为溶原性细菌，通过调控代谢增加宿主适应性^[11-12]。病毒 AMGs 无论是表达还是整合在宿主基因组中均在生态系统中发挥重要作用。病毒通过代谢劫持调控海洋营养物质的循环是生物地球化学循环中一个重要但尚未被系统研究的组成部分。

AMGs 包括一系列能调控宿主代谢和生命过程的基因：例如光合作用以及光合色素的合成、磷酸盐代谢、中央碳代谢、营养物质循环和核苷酸生物合成等^[13-14]。海洋病毒 AMGs 的高丰度和遗传多样性表明，病毒通过对宿主代谢的调控影响宿主的细胞功能，在海洋微生物生态环境中扮演重要角色。为了进一步深入了解海洋病毒 AMGs 的生态意义，本文综述了不同 AMGs 的类别、功能、生态作用以及在海洋环境中的分布，以期探究病毒及其宿主新型相互作用提供新的见解。

1 病毒 AMGs 的起源

病毒和宿主之间的斗争永不停止，经过漫长的斗争，最终的结果是病毒和宿主的基因组

共同进化^[15]。生存压力下, 微生物宿主通过从噬菌体中获取外源核苷酸序列, 进化出多种抗病毒抗性机制, 并整合到宿主基因组, 例如规律成簇间隔的短回文重复序列 (clustered regularly interspaced short palindromic repeats, CRISPR)^[16]。病毒能够在宿主细胞内合成 DNA 的过程中, 从宿主基因组获取某些有利基因, 以获得适应性优势。宿主基因的获取及其在病毒基因组中的整合对病毒种群的进化和多样性作出重要贡献^[17]。病毒全基因组测序发现, 大量与宿主代谢基因同源的片段中, 许多基因编码与细胞代谢相关的重要蛋白质^[18]。越来越多的证据表明, AMG 通常是由病毒通过水平基因转移从病毒基因库或宿主中获得。例如, 对感染海洋聚球藻噬藻体的调查表明, 超过 50% 噬藻体基因组中存在光合作用基因 *psbA*^[19]; 另一项针对光合作用相关基因 *psbA* 和 *psbD* 的调查显示, 88% 噬藻体基因组具有 *psbA*, 且 50% 噬藻体基因组中同时含有 *psbA* 和 *psbD* 基因, 进一步调查发现 *psbA* 基因存在于所有肌尾噬菌体基因组中^[20]。这表明噬藻体获得光合作用基因是一种普遍现象, 通过聚类分析发现噬藻体编码的 *psbA* 基因包含一段 212 bp 的插入片段, 这个片段符合 I 组自剪接内含子的典型特征; 噬藻体 *hli* 基因编码的高光诱导蛋白 (HLIP) 具有蓝藻细胞内同源物 C 末端的高度保守 TGQIIPGF 基因序列, 系统发育树显示这些基因与宿主蓝藻基因聚簇, 表明这些基因来源于蓝藻, 保留了宿主基因组中基因相同特征, 证实噬藻体 AMG 是从宿主蓝藻基因组水平转移获得的^[21]。

2 病毒 AMG 的类型

病毒基因组中的 AMG 是丰富的、多样的和普遍存在的^[22]。目前 AMG 主要分为 2 类: 第

一类是编码具有中心代谢功能蛋白质的 AMG 们, 出现在 KEGG 代谢途径, 例如核苷酸合成/代谢、碳、氮和硫代谢、光合作用等^[12]。肌尾病毒科的核心光系统 II 基因 *psbA* 和 *psbD* 在维持活性光合电子传输方面发挥重要作用, 为噬菌体的繁殖提供更多的能量, 尤其在高光条件下, 噬藻体 *psbA* 基因上调产生的能量用于提高翻译效率, 缩短裂解周期^[20]。噬藻体感染宿主期间, 光系统 II 中的 *psbA* 和 *psbD* 基因在海洋病毒中普遍存在, 此外在病毒基因组中还发现了光合作用相关基因库, 包括参与电子转移 (*psaA*、*petE*、*petF*、*ptoX*、*speD* 和 *hli*) 和光收集过程 (*hol*、*pcyA*、*pebS* 和 *cpeT*) 的基因, 携带光合系统基因的感染性噬藻体 AMG 在补充光合电子传输的同时, 将能量从碳固定转移到戊糖磷酸途径, 导致病毒裂解量增加, 进而增强噬藻体自身的适应性^[18,21]。作者所在研究团队以病毒辅助代谢基因 *psbA* 作为指针, 对其在纳帕海高原湿地中的分布状况进行初步调查。纳帕海高原湿地 *psbA* 编码的有效氨基酸序列有 49 条, 独有的 *psbA* 克隆即 NT-4 和 NT-7, 而且该地域的 *psbA* 序列可以形成 2 类噬藻体基因群即 PFW-1 和 PFW-2, 表明在高原湿地生态环境中的噬藻体也具有光合作用基因, 与淡水环境中的 *psbA* 基因相对较近, 但与海水中的 *psbA* 基因存在一定差异。Tsiola 等对爱奥尼亚海和南爱琴海的海岸表面水进行宏病毒组研究, 揭示病毒 AMG 参与了非传统能量生产途径 (3-羟丙酸、硫氧化)、Calvin 循环和 TCA 循环^[23]。Coutinho 等对南大西洋微生物组的生态基因组学和代谢潜力进行研究, 发现来自深海的混合营养型细菌利用 Calvin-Benson-Bassham 循环进行碳的固定^[24]。Thompson 等对感染海洋蓝藻原绿球菌和聚球藻的噬藻体进行宏基因组测序研究发现, 测序的噬藻体基因组中具有丰富的光合作

用光反应相关基因,且携带 Calvin 循环抑制基因 *cp12*,能够将宿主细胞中的碳流量从 Calvin 循环导向戊糖磷酸途径(pentose phosphate pathway, PPP)^[7]。噬藻体携带的 AMGs 能够重定向宿主体内的能量流向代谢过程,为噬藻体在宿主体内复制和组装过程提供能量而获得适应性优势。

第二类 AMGs 仅编码具有普遍、无明确代谢作用的蛋白质,或参与组装及膜转运功能的外周蛋白质,并不出现在 KEGG 代谢途径中。因此 AMGs 除了直接参与宿主的新陈代谢外,还可以间接影响宿主代谢反应。例如肌尾病毒科脂肪酸代谢相关的 AMGs 能够调节宿主细胞质或类囊体膜的流动性^[13]。还有一些 AMGs 参与铁硫簇组装、维生素和辅因子的合成、应激反应、细菌的运动和趋化性、抗氧化和翻译后修饰^[25]。此外,还有其他生态系统中涉及的群体感应、致病性、宿主防御和孢子形成相关的 AMGs^[26]。例如,在病毒基因组中发现丰富的脂肪酸代谢和信号基因,脂肪酸代谢亚系统(*fadB* 和 *fadI*)基因及 3-羟丙酸(3HP)循环的组成部分(*Acc*、*PCC*、*Mcm*、*Uccd*、*Sdh*、*Fum*),该结果与海洋中病毒感染期间可以通过脂肪酸氧化产生能量和 TCA 循环中间产物的平衡是一致的。感染原绿球藻的噬藻体携带磷酸盐获取基因 *pstS*,在感染期间能够促进宿主对磷元素的吸收^[27]。Sabri 等发现噬菌体基因组中存在能够重定向宿主蛋白合成的基因 *que*,该基因能够提高宿主的翻译效率,从而更高效地组装子代噬菌体^[28]。这些基因证实病毒与宿主之间复杂的相互作用,因此也说明病毒 AMGs 对大多数微生物的代谢途径产生重要影响。

3 病毒 AMGs 的生态学作用

3.1 病毒 AMGs 可以追溯病毒起源

AMGs 在噬藻体基因组中普遍存在,并且

不同类型的噬藻体所携带的 AMGs 具有显著性差异。AMGs 不属于某一个或某一种噬藻体,是以类进行区分的特殊功能基因。因此 AMGs 常,作为分子遗传标记基因被用来研究噬藻体的种群结构组成和遗传多样性。对病毒光合作用基因的系统发育分析可以为评估病毒起源的生境提供可靠的手段。由于光合作用的重要性,参与光合作用的 AMGs 引起了人们的高度关注。Ruiz-Perez 等对美国查特胡奇河宏病毒组研究表明,淡水生态系统存在大量病毒 *psbA* 基因;大多数 *psbA* 基因序列仍然基于其起源而聚集,并显示出强烈的地域性;几个淡水生境的 *psbA* 序列与海洋群落聚簇,推测噬藻体可能在这 2 种截然不同的栖息地之间转移^[29]。*psbA* 基因广泛分布于海洋和淡水生境,表明携带该基因的病毒具有重要生态作用。此外,用作分子标记的基因还有光合作用基因 *psbD*、编码高光诱导蛋白基因 *hil*^[30]、磷酸盐代谢基因 *phoH* 以及焦磷酸核苷酸水解酶基因 *mazG* 等。

3.2 病毒 AMGs 调控宿主的防御机制

在病毒和宿主的军备竞赛中,宿主细胞已经进化出多种防御机制来抵抗病毒的入侵,包括利用细胞程序性死亡来限制病毒在宿主之间的传播^[31]。病毒的复制依赖于宿主,当宿主的种群密度大幅降低,病毒的复制也会受到影响,数量也会降低。然而病毒也进化出了相应的对策——利用病毒 AMGs。病毒 AMGs 通过 *mazG* 控制四磷酸鸟苷(ppGpp)来躲避宿主的防御机制^[12]。MazG 是一种核苷焦磷酸水解酶,普遍存在于海洋病毒基因组中;也是大肠杆菌程序性细胞死亡的调节因子。当细胞处于饥饿状态时,ppGpp 浓度增加,病毒利用编码的 MazG 降低细胞 ppGpp 浓度,从而抑制核糖核酸内切酶毒素 MazF 的产生。编码 MazG 的病毒可以模拟营养丰富环境中的正常状态,重新激活宿

主代谢, 作出转录应答, 进而劫持宿主进行病毒复制, 最终促进病毒粒子的产生。Bryan 等根据 *mazG* 基因对噬藻体及其宿主构建系统发育树, 结果表明噬藻体 *mazG* 基因不是源于宿主菌, 可能源于不同噬藻体之间的水平基因转移^[32]。目前作者所在研究团队从纳帕海高原湿地中得到 39 条去引物拼接的 *mazG* 序列, 系统发育分析表明纳帕海高原湿地 *mazG* 序列分属 5 簇, 其中 3 簇为该区域独有; 并且 UniFrac 分析表明, 其中 12 条 *mazG* 序列与其他细菌及病毒序列距离较近, 而其他 27 条序列距离较远且分散, 属于纳帕海湿地独有类群^[33]。另外, Erez 等发现噬菌体还可以利用 AMGs 逃避宿主的群体感应, 来削弱宿主对噬菌体的抵抗力, 噬菌体入侵宿主后产生一种寡肽信号分子来控制宿主的裂解-溶原开关^[34]。目前, 对病毒 AMGs 调控宿主的防御机制的报道相对较少, 病毒和宿主之间的相互作用需要从环境中复杂的微生物群落中分离目标物, 然后分析转录产物、蛋白质组等在病毒感染宿主过程中如何变化, 从而系统地开展病毒-宿主之间复杂的代谢和调控研究。

3.3 病毒 AMGs 调控宿主代谢

在病毒感染期间, 特别在营养有限的深海生态环境中, 病毒会通过自身基因组上的 AMGs 调控宿主的代谢, 有的病毒更多地依赖宿主代谢机制和资源; 有的病毒则通过重组宿主 RNA 聚合酶, 以启动自身的转录机制^[31,35-36]。目前作者所在研究团队对纳帕海高原湿地中调控宿主碳、氮、磷和硫代谢的相关基因展开了研究。纳帕海高原湿地中, 调控宿主中心代谢的 AMGs 主要包括与碳代谢相关基因 *pfk*、*pgk*、*tpiA*、*pyk*, 与氮代谢相关基因 *nifU*、*nifR*, 与磷代谢相关基因 *phoH*、*pstS* 以及与硫代谢相关

基因 *tus*、*moa*、*thiS*、*thiF*、*nifS*。

病毒 AMGs 调控宿主的碳代谢机制。Tsiola 等对沿海病毒 AMGs 研究表明, 在生态质量较差站点发现参与 Calvin 和 TCA 循环的 AMGs, 通过改变宿主能量供应支持病毒裂解, 证实病毒在沿海生态系统中扮演关键角色; 参与中心碳代谢的 *pgk*、*pfk*、*tpiA* 基因和修饰 Calvin 循环的 *pyk* 基因在生态质量较差站点显著增多, 而 *cp12*、*zwf*、*talc*、*gpm* 和 *gap* 也具有较高发生率, 其中 *cp12* 和 *talc* 抑制 Calvin 循环, 积累 ATP、NADPH 和 Ru5P, 有利于合成核苷酸, 将宿主碳代谢重新定向至戊糖磷酸途径, 进而产生大量病毒粒子, 快速裂解宿主^[23]。Coutinho 等对地球上最大淡水湖——贝加尔湖宏病毒组分析表明, 感染亚硝化螺旋菌的噬菌体中存在大量 AMGs, 并通过还原性 TCA 循环固定碳, 阐明了病毒利用 AMGs 调控宿主代谢的新策略, 通过黑暗条件下碳固定影响生态相关过程, 揭示了病毒影响淡水环境碳循环的新方式^[24]。Hurwitz 等基于一项海洋宏基因组的调查发现, 海洋病毒 AMGs 能够重定向宿主体内碳代谢, 并提出了噬菌体在感染过程中对宿主碳代谢重新编程的模型(图 1)^[22]。在该模型中, 噬菌体利用淀粉合酶(GlgA)将葡萄糖(G6P)转化成糖原关闭宿主的糖酵解过程, 从而诱导宿主细胞饥饿状态, 并且通过 *tkl*、*rpe*、*rpi*、*prs* 激活 GAP 和 F6P 到 R5P 的代谢过程, 合成 dNTP。6-磷酸甘露糖异构酶(ManA)将 6-磷酸甘露糖(M6P)转化成 F6P, 以提供 Calvin 循环中的碳骨架和 3-磷酸甘油醛(GAP)。在 TCA 循环中增加丙酮酸(Pyr)到乙酰基乙酰辅酶 A (ACoA)的代谢通量, 从而增加能量的产生并将能量更多地用于病毒复制过程。

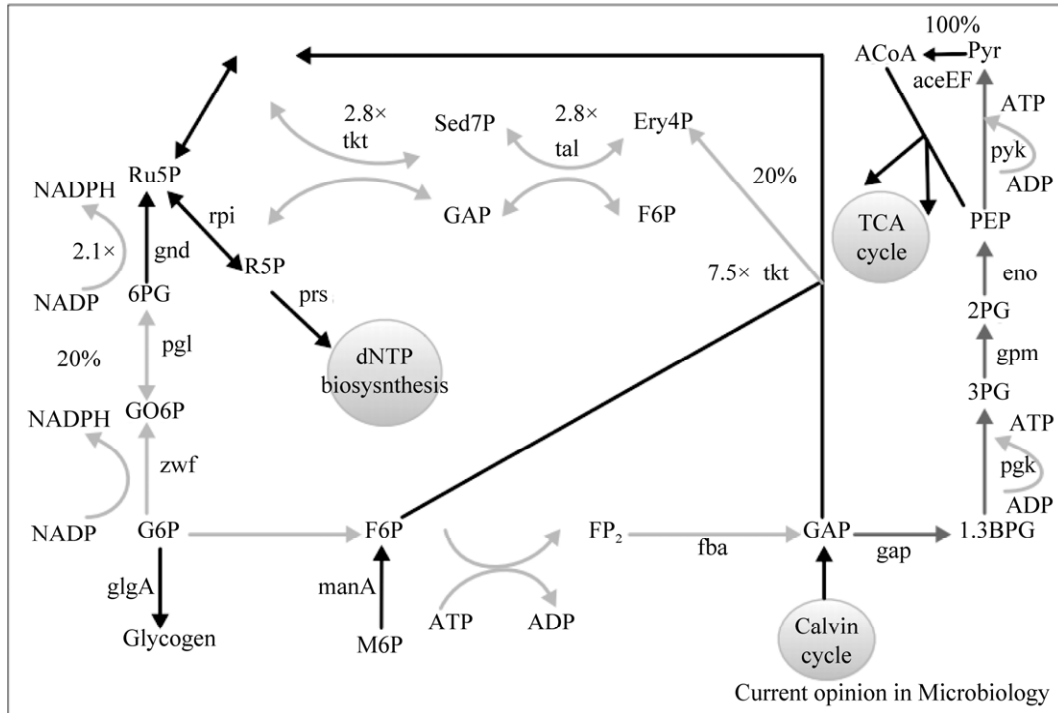


图 1 海洋病毒 AMG 在感染过程中重定向宿主碳代谢模型^[22]

Figure 1 Marine virus AMG redirects host carbon metabolism model during infection^[22].

病毒 AMG 调控宿主的氮代谢机制。海洋中许多原核生物病毒的多样性尚未被探究，病毒 AMG 不仅影响海洋微生物的氮代谢过程，而且对全球海洋氮循环具有重要贡献。Ahlgren 等利用病毒宏基因组学在海洋中发现了 15 个新的奇古菌病毒种群，这些病毒基因组中均包含氨单加氧酶基因 *amoC*，并且病毒 *amoC* AMG 有时占宿主细胞基因组中 *amoC* DNA 拷贝总数的一半，突显出病毒对于海洋中氮循环的潜在影响^[37]。Vik 等对热带南太平洋东部 (ETSP) OMZs 病毒宏基因组分析发现 6 个与反硝化、硝化、同化硝酸盐还原和亚硝酸盐转运相关的 N-循环 AMG (图 2A)，这些基因调节 ETSP OMZs 内的氮循环过程，并可能导致全球海洋中的 N 流失^[38]。在可培养病毒-宿主系统中，病毒基因组编码许多蛋白质控制 2-酮戊二酸的浓度，从而通过启动子 NtcA 调节细胞的氮限制反应(图 2B)^[39-40]。除了可培养的体系外，

在一些免培养环境中，病毒 AMG 控制宿主细胞的氮代谢反应。Roux 等开展了一项全球病毒宏基因组学研究，发现了 243 个可能的病毒 AMG，包含铵盐转运基因 *amt* 和氨单加氧酶基因 *amoC* 等^[41]；在深海热液喷口病毒基因组中也发现了硝酸还原酶基因 *nar*，这些基因能够促进宿主细胞对硝酸盐的转运吸收，有利于新病毒的产生。

病毒 AMG 调控宿主的磷代谢机制。磷元素是 DNA 复制和核苷酸生物合成所必需的元素，自然条件下海洋和淡水湖泊等环境中磷元素含量很低，是限制水体中微生物生长的重要因素之一^[13]。噬菌体基因组中发现一些磷元素获取基因，例如 *pstS* 和 *phoH* 以及碱性磷酸酶合成基因 *phoA* 等，有利于宿主细胞在低磷环境下增强磷元素的吸收与运输。Kelly 等从低磷寡营养水体中分离出几株噬菌体，测序后发现其基因组中包含磷酸盐结合转运基因 *pstS*，通过增

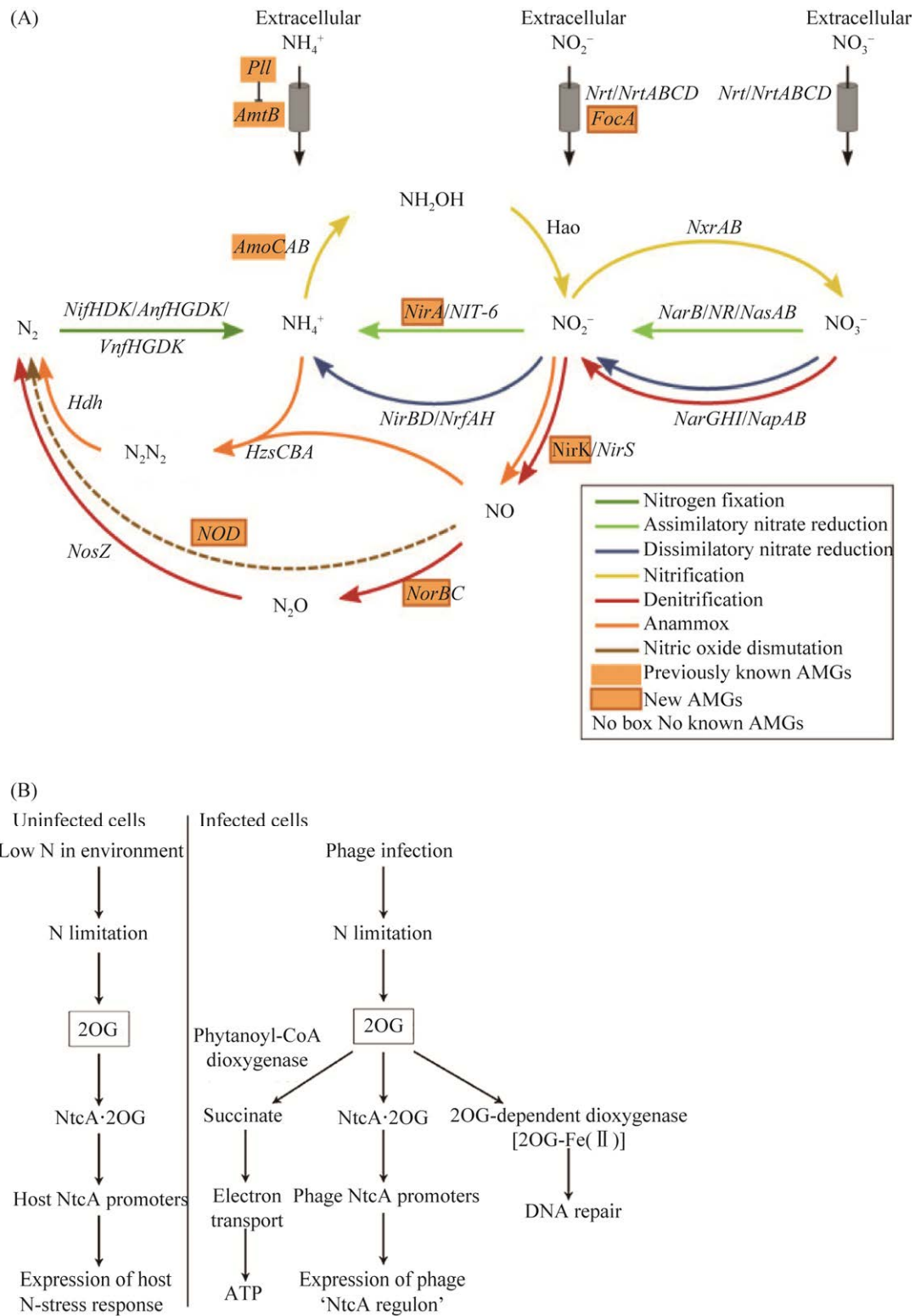


图 2 病毒 AMGs 对氮代谢潜在影响^[38-40]

Figure 2 Potential effects of viral AMGs on nitrogen metabolism^[38-40].

加宿主细胞内磷酸盐利用率以增强噬菌体的感染周期^[42]。T4 样噬菌体 S-SM1 和 S-SM2 的基因组包含一种编码碱性磷酸酶的 AMGs, 能够从有机磷源中分离出磷酸盐, 使得宿主在磷元素贫乏的环境下能够最大限度地吸收^[40]。Zheng 等利用宏转录组对病毒-宿主系统模型研究发现, 病毒编码 AMGs 中的 *pstS* 和 *phoA* 基因表达在感染宿主期间均发生上调^[43]。*pstS* 和 *phoA* 基因在北大西洋亚热带环流病毒基因组中含量很高, 相比于环境磷元素浓度较高的北太平洋亚热带, *phoA* 基因在病毒基因组中含量要低得多, 说明不同营养限制的生态环境其对应的 AMGs 丰度特征也不相同^[42,44]。病毒编码的 *phoH* 基因具体功能目前仍不清楚。在磷酸盐含量有限的环境下, 不同宿主之间 *phoH* 表达也不相同。磷酸调节蛋白相关基因 *phoH* 在病毒基因组普遍存在, 是衡量噬菌体遗传多样性的标志基因。

病毒 AMGs 操纵宿主的硫代谢机制。硫元素循环是地球元素和能量循环的重要组成部分, 微生物能够利用硫化物在不同氧化还原状态进行转换获得能量, 病毒 AMGs 对海洋深层地下生物圈以及硫循环具有重要意义^[45]。Vik 等对 22 个海洋病毒群落的宏基因组研究发现 543 个病毒 AMGs, 包括与硫还原相关的基因 *dsr* 和硫氧化相关基因 *sox*^[38]。Roux 等从感染化学自养型细菌 γ -蛋白细菌 SUP05 的病毒基因组中发现了编码异化亚硫酸盐还原酶复合体 *dsrC* 基因, γ -蛋白细菌 SUP05 是硫循环的重要参与者, 且在 SUP05 丰度最高的时期其基因组中病毒编码的 *dsrC* 基因丰度达到峰值, 表明病毒编码的 *dsrC* 基因可能参与 SUP05 的硫循环过程并调节其电子转移过程^[41,46]。Kieft 等鉴定了用于硫和硫代硫酸盐氧化的病毒 AMGs (*dsrA*、*dsrC/tusE*、*soxC*、*soxD*、*soxYZ*), 为了更好地

理解 AMG 在感染期间控制宿主细胞中的硫转化, 构建了未感染和感染宿主中硫氧化 (*dsrAMGs*) 和硫代硫酸盐 (*soxAMGs*) 氧化/歧化概念图(图 3)^[47]。Hurwitz 等对太平洋深海层进行大规模定量病毒宏基因组测序分析, 发现 32 个新的 AMGs, 其中 9 个 AMGs 编码与铁硫簇(Fe-S)相关的蛋白质^[48]。铁硫簇蛋白参与非常广泛且重要的生理途径, 包括电子传递、催化反应和生理调节等过程。光带病毒群落中具有调控铁硫簇蛋白合成和降解的能力可能是一种重要的手段, 能够在减少宿主压力的同时保留受环境限制的铁元素, 合成铁硫簇, 有利于子代病毒的产生^[49]。

病毒感染宿主期间, 病毒利用 AMGs 调控宿主的碳代谢、氮代谢、磷代谢以及硫代谢, 而不同环境下, 参与代谢调控的病毒 AMGs 种类可能不同。因此, 针对海洋、淡水湖泊和纳帕海高原湿地等不同环境中病毒 AMGs 做了简单的总结(表 1)。不同环境中病毒 AMGs 存在差异, 但部分病毒 AMGs 存在重叠。例如, *pgk*、*pfk*、*tpiA* 和 *pyk* 基因无论是在海洋环境、淡水湖泊或者纳帕海高原湿地都存在, 表明这部分 AMGs 对病毒非常重要, 无论处在何种环境中的病毒, 都可以利用 *pgk*、*pfk*、*tpiA* 和 *pyk* 基因来调控宿主的碳代谢。

3.4 病毒 AMGs 增强宿主群落环境适应性

从病毒适应性的角度来看, 病毒不只是通过侵染裂解宿主细胞, 释放出子代病毒才有生存优势; 也可以侵染宿主并通过 AMGs 调控宿主的能量和代谢来维持子代病毒的组装和释放。为了利于产生子代病毒, 在一些营养匮乏极端的生存环境下, 病毒通过 AMGs 提高宿主群落的适应性。Yu 等从北极冰海中观察到, 受噬菌体感染的假单胞菌生长速度和细胞密度高于未感染的假单胞菌, 且对 NaCl 和活性氧的耐

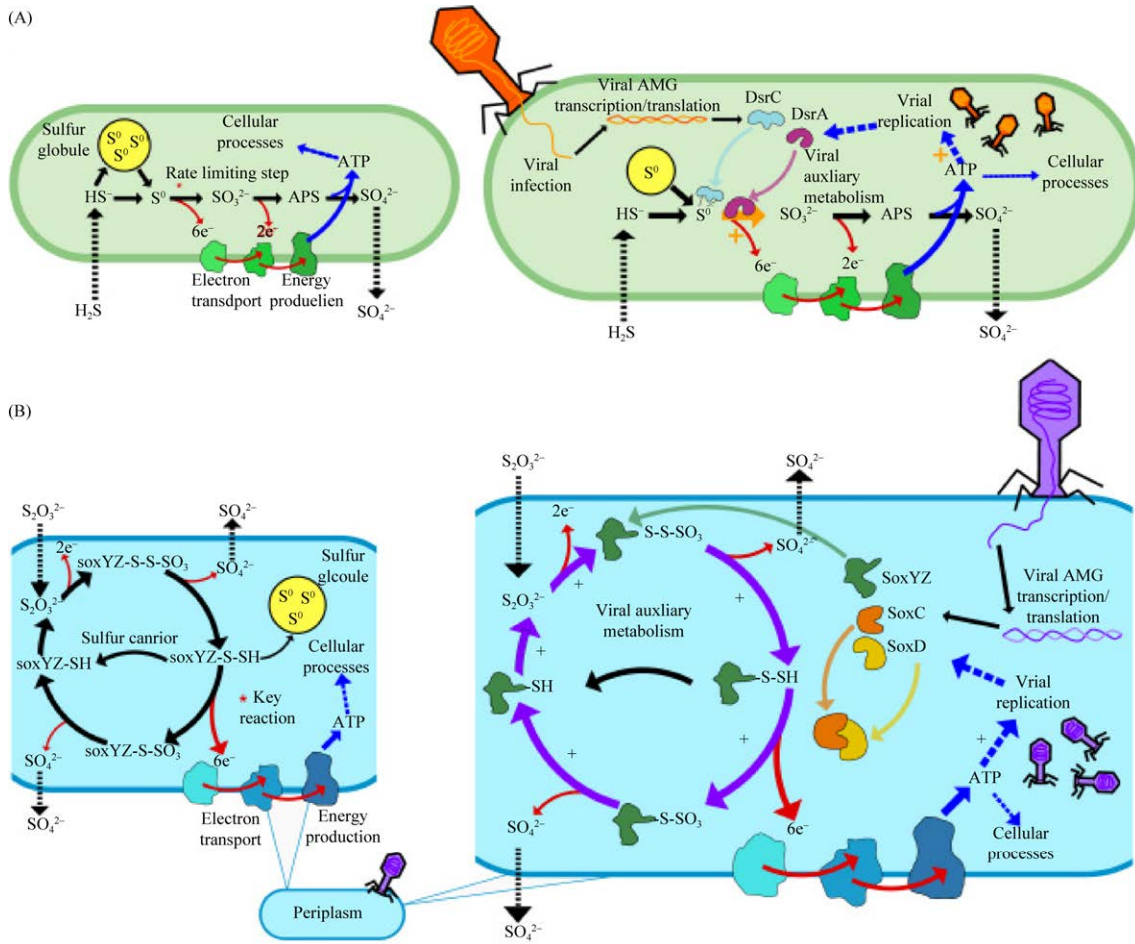


图 3 未感染(A)和感染(B)宿主中硫(*dsrAMGs*)氧化和硫代硫酸盐(*soxAMGs*)氧化的概念图^[47]

Figure 3 Conceptual diagram of sulfur oxidation (*dsrAMGs*) and thiosulfate (*soxAMGs*) oxidation in uninfected (A) and infected (B) hosts^[47].

表 1 不同环境下病毒 AMG 种类

Table 1 Types of virus AMG in different environments

Metabolic types	Environment	Type of AMGs
Carbon metabolism	Ocean	<i>pgk, pfk, tpiA, pyk, cp12, zwf, talC, gpm, gap, glgA, manA, eno</i>
	Freshwater lake	<i>pgk, pfk, tpiA, pyk, zwf</i>
	Wetlands	<i>pgk, pfk, tpiA, pyk</i>
Nitrogen metabolism	Ocean	<i>NorB, NOD, AmoC, AmtB, FocA, nar, Nrt, NifHDK, AnfHGDK, VnfHGDK, NxrAB, NAB, NirA, Hao, NasAB, NarGHI, NapAB, NirBD, NnfAH, NirK, NirS, NosZ, NorBC, HzsCBA, Hdh, NrtABCD, AmoCAB, DraG, DraT, RnfI</i>
	Freshwater lake	<i>napA, narG, nxrA, NirK, NirS, amoA, nif, amo</i>
	Wetlands	<i>nifU, nifR</i>
Phosphorus metabolism	Ocean	<i>phoH, pstS, phoA, phoU</i>
	Freshwater lake	<i>phoH</i>
	Wetlands	<i>phoH, pstS</i>
Sulfur metabolism	Ocean	<i>DsrA, DsrC, DsrAB, DsrEFH, DsrMKJOP, DsrN, DsrL, SoxXA, SoxB, SoxC, SoxD, SoxYZ, TusA, TusB, TusC, TusD, TusE, Moa, ThiS, ThiF, nifS, IscS</i>
	Freshwater lake	<i>DsrA, DsrC, aprAB, DsrAB, sox</i>
	Wetlands	<i>TusA, TusB, TusC, TusD, TusE, Moa, ThiS, ThiF, nifS</i>

受性增强；转录组分析显示琥珀酰辅酶 A 合成酶和琥珀酸脱氢酶下调，表明病毒 AMGs 抑制了宿主中央碳代谢途径^[50]。噬菌体在营养贫乏的极地冬季，通过减缓宿主的新陈代谢并增强宿主寻找新的营养来源的能力，来提高宿主对环境的适应性。Brum 等利用宏基因组分析南极低营养环境下的噬菌体种群，发现噬菌体基因组存在一种 *cl* 基因，该基因编码的蛋白质能够将草酰乙酸酯转化为磷酸烯醇式丙酮酸，并抑制宿主磷酸烯醇丙酮酸羧激酶 *pckA* 基因的表达，降低宿主的生长速度，并在贫营养环境下增强宿主选择性优势^[51-52]。Coutinho 等基于宏病毒组对整个海洋病毒丰度模式进行分析，揭示了海洋病毒群体 AMGs 组成和多样性，并根据温度、季节和光照条件适应其宿主的代谢过程^[24]。Mills 等发现病毒基因组中编码 UDP-磺喹啉合酶的基因 *UDP-SQ*，该基因控制 N-糖基化过程，且与宿主细胞内蛋白质的稳定性相关。N-糖基化是一种常见的翻译后修饰过程，通过增加宿主蛋白的稳定性或促进中间底物的产生来增强宿主的环境适应能力。因此，推测在加勒比海 900 m 深的盆地，宿主依赖病毒 AMGs 提高蛋白质的稳定性以适应高压环境^[53]。Mara 等对卡利亚科盆地病毒研究发现，几乎所有深度采样的病毒基因组中都包含编码半胱氨酸脱硫酶的基因 *nifS*，其在低氧化还原环境中非常重要，可以增强电子传递、影响蛋白质的活性，从而促进宿主新陈代谢和环境适应性^[54]。研究表明蓝藻可能起源于淡水环境；淡水病毒可以在海洋生物中进行传播。然而在淡水病毒中并未检测到与海洋病毒光合作用有关的 AMGs，因此，与海洋病毒相比，淡水蓝藻及其病毒可能采取不同的生态策略。不同环境中病毒 AMGs 的发生不同，可能反映其宿主对环境的不同适应性。不同生态系统中 AMGs 的分布和

多样性各不相同，因此 AMGs 编码的分子功能库也会随着宿主在不同生态系统中面临的代谢限制而发生变化。

随着生物技术的飞速发展，测序技术已经能够大范围地对环境中的病毒基因组进行测序。宏病毒组(viromics)以环境中所有病毒的遗传物质作为研究对象，能够快速、准确地鉴定出环境中所有病毒的组成。在过去的 10 年间，宏病毒组揭示了未开发病毒的多样性及在海洋生态系统中的重要作用，同时也获得了大量的海洋病毒 AMGs 的信息，加速了海洋病毒与宿主相互作用机制的研究。宏病毒组为今后 AMGs 的研究提供了一个新的平台，有助于研究病毒的生理生态学功能。

4 结语与展望

目前，基于已知蛋白质的病毒 AMGs 在不同环境中的研究工作已经取得了很大进展。然而，在不同生态条件下，还需要更多的工作来表征病毒中 AMGs 的时空特征。此外，考虑到病毒中未知蛋白质范围，需要新的无参考方法来发现各种环境中有助于宿主-噬菌体相互作用的新共享蛋白质。随着该领域的不断发展，还必须开发出用于区分病毒 AMGs 和宿主污染的可靠计算方法。病毒基因组中若含有细胞基因污染，会错误地导致病毒和细胞功能谱之间存在人为相关性。目前，验证病毒 AMGs 的方法是在培养或单细胞基因组中从受感染宿主获得的噬菌体基因中发现 AMGs，或者通过检测含有其他已知病毒基因的纯化病毒重叠群上的 AMGs。未来的工作可能有助于更好地理解病毒赋予宿主的适应性因素，以及病毒基因库导致宿主基因组可塑性的程度，解决主要以溶原性编码的 AMGs 与裂解噬菌体 AMGs 之间的差异。最后，研究重点还是在于理解病毒-宿主共

同进化的机制, 以及病毒影响宿主驱动的气候和生态过程。

目前对病毒 AMGs 的研究相对有限, 即使 AMGs 广泛存在于病毒基因组中, 但能够获得的病毒全基因组序列仍然较少, 对环境中病毒遗传多样性的认识还不够全面。伴随着病毒宏基因组(viromics)测序技术的发展, 人们将逐步克服这一难点, 并通过综合运用各种分子生物学技术, 充分了解病毒基因组和辅助代谢基因的生物学功能。这将为我们提供更加全面可靠的病毒遗传多样性信息, 深化对病毒种群结构和生态功能的认识, 为研究病毒-宿主相互作用提供分子基础。

迄今为止, 大部分已知的病毒 AMGs 除了参与碳、氮、磷、硫代谢调控之外, 还参与宿主的光合作用、戊糖磷酸途径以及核苷酸合成等代谢活动。针对参与这些代谢活动的 AMGs 的鉴定, 除了通过宏基因组和宏病毒组的检测之外, 目前并无特别有效的鉴定方法, 而且通过宏基因组和宏病毒组检测 AMGs 的方法存在弊端, 即检测到的 AMGs 库的种类不丰富, 因此, 存在少数基因, 虽然已知它们发挥辅助代谢基因的作用, 却无法通过宏基因组和宏病毒组的检测来证实它们属于 AMGs, 这对 AMGs 的研究工作造成阻碍。不过随着分子生物学技术的不断发展以及宏基因组和宏病毒组测序技术的不断改进, 今后一定可以完善检测病毒 AMGs 的方法, 甚至找到其他高效的方法, 从而有利于 AMGs 的研究, 为探究生物地球化学循环提供保证。

当前对病毒 AMGs 的研究虽然取得了一定进展, 但更多的是研究海洋环境的病毒 AMGs, 相对于其他环境, 如稻田、湿地, 尤其是高原湿地中的病毒 AMGs, 研究相对较少。因此, 在之后的研究中可能会增加其他环境病毒 AMGs 的关注, 使其研究工作更加深入、全面。

参考文献

- [1] Pascelli C, Laffy PW, Botté E, Kupresanin M, Rattei T, Lurgi M, Ravasi T, Webster NS. Viral ecogenomics across the *Porifera*. *Microbiome*, 2020, 8(1): 144.
- [2] Li Z, Pan D, Wei G, Pi W, Zhang C, Wang JH, Peng Y, Zhang L, Wang Y, Hubert CRJ, Dong X. Deep sea sediments associated with cold seeps are a subsurface reservoir of viral diversity. *The ISME Journal*, 2021, 15(8): 2366–2378.
- [3] Cobián Güemes AG, Youle M, Cantú VA, Felts B, Nulton J, Rohwer F. Viruses as winners in the game of life. *Annual Review of Virology*, 2016, 3(1): 197–214.
- [4] Suttle CA. Marine viruses—major players in the global ecosystem. *Nature Reviews Microbiology*, 2007, 5(10): 801–812.
- [5] Gao EB, Huang YH, Ning DG. Metabolic genes within cyanophage genomes: implications for diversity and evolution. *Genes*, 2016, 7(10): 80.
- [6] Coutinho FH, Gregoracci GB, Walter JM, Thompson CC, Thompson FL. Metagenomics sheds light on the ecology of marine microbes and their viruses. *Trends in Microbiology*, 2018, 26(11): 955–965.
- [7] Thompson LR, Zeng QL, Kelly L, Huang KH, Singer AU, Stubbe J, Chisholm SW. Phage auxiliary metabolic genes and the redirection of cyanobacterial host carbon metabolism. *PNAS*, 2011, 108(39): E757–E764.
- [8] Huang XY, Jiao NZ, Zhang R. The genomic content and context of auxiliary metabolic genes in roseophages. *Environmental Microbiology*, 2021, 23(7): 3743–3757.
- [9] 高恶斌, 宁德刚. 噬藻体辅助代谢基因(AMGs)研究进展. *微生物学通报*, 2014, 41(8): 1667–1674.
Gao EB, Ning DG. Advances in researches on cyanophage auxiliary metabolic genes. *Microbiology China*, 2014, 41(8): 1667–1674. (in Chinese)
- [10] Warwick-Dugdale J, Buchholz HH, Allen MJ, Temperton B. Host-hijacking and planktonic piracy: how phages command the microbial high seas. *Virology Journal*, 2019, 16(1): 15.
- [11] Emerson JB, Roux S, Brum JR, Bolduc B, Woodcroft BJ, Jang HB, Singleton CM, Solden LM, Naas AE, Boyd JA, Hodgkins SB, Wilson RM, Trubl G, Li C, Frolking S, Pope PB, Wrighton KC, Crill PM, Chanton JP, Saleska SR, Tyson GW, Rich VI, Sullivan MB. Host-linked soil viral ecology along a permafrost thaw

- gradient. *Nature Microbiology*, 2018, 3(8): 870–880.
- [12] Focardi A, Ostrowski M, Goossen K, Brown MV, Paulsen I. Investigating the diversity of marine bacteriophage in contrasting water masses associated with the east Australian Current (EAC) system. *Viruses*, 2020, 12(3): 317.
- [13] Crummett LT, Puxty RJ, Weihe C, Marston MF, Martiny JBH. The genomic content and context of auxiliary metabolic genes in marine cyanomyoviruses. *Virology*, 2016, 499: 219–229.
- [14] Weynberg KD, Laffy PW, Wood-Charlson EM, Turaev D, Rattei T, Webster NS, Van Oppen MJH. Coral-associated viral communities show high levels of diversity and host auxiliary functions. *PeerJ*, 2017, 5: e4054.
- [15] Harrison E, Brockhurst MA. Ecological and evolutionary benefits of temperate phage: what does or doesn't kill you makes you stronger. *BioEssays*, 2017, 39(12): 1700112.
- [16] Laanto E, Hoikkala V, Ravantti J, Sundberg LR. Long-term genomic coevolution of host-parasite interaction in the natural environment. *Nature Communications*, 2017, 8: 111.
- [17] Scanlan PD. Bacteria-bacteriophage coevolution in the human gut: implications for microbial diversity and functionality. *Trends in Microbiology*, 2017, 25(8): 614–623.
- [18] Jiang T, Guo C, Wang M, Wang MW, You SY, Liu YD, Zhang XR, Liu HB, Jiang Y, Shao HB, Liang YT, McMinn A. Isolation and complete genome sequence of a novel cyanophage, S-B05, infecting an estuarine *Synechococcus* strain: insights into environmental adaptation. *Archives of Virology*, 2020, 165(6): 1397–1407.
- [19] Gasper R, Schwach J, Hartmann J, Holtkamp A, Wiethaus J, Riedel N, Hofmann E, Frankenberg-Dinkel N. Distinct features of cyanophage-encoded t-type phycobiliprotein lyase ϕ cpet: the role of auxiliary metabolic genes. *The Journal of Biological Chemistry*, 2017, 292(8): 3089–3098.
- [20] 高恶斌, 董一鸣. 噬藻体遗传多样性及其分子生态学研究现状与展望. *生态科学*, 2016, 35(2): 166–173. Gao EB, Dong YM. Advances in researches on cyanophage genetic diversity and molecular ecology. *Ecological Science*, 2016, 35(2): 166–173. (in Chinese)
- [21] Puxty RJ, Millard AD, Evans DJ, Scanlan DJ. Shedding new light on viral photosynthesis. *Photosynthesis Research*, 2015, 126(1): 71–97.
- [22] Hurwitz BL, U'Ren JM. Viral metabolic reprogramming in marine ecosystems. *Current Opinion in Microbiology*, 2016, 31: 161–168.
- [23] Tsiola A, Michoud G, Fodelianakis S, Karakassis I, Kotoulas G, Pavlidou A, Pavloundi C, Pitta P, Simboura N, Daffonchio D, Tsapakis M. Viral metagenomic content reflects seawater ecological quality in the coastal zone. *Viruses*, 2020, 12(8): 806.
- [24] Coutinho FH, Cabello-Yeves PJ, Gonzalez-Serrano R, Rosselli R, López-Pérez M, Zemskaia TI, Zakharenko AS, Ivanov VG, Rodriguez-Valera F. New viral biogeochemical roles revealed through metagenomic analysis of Lake Baikal. *Microbiome*, 2020, 8(1): 163.
- [25] Anderson CL, Sullivan MB, Fernando SC. Dietary energy drives the dynamic response of bovine rumen viral communities. *Microbiome*, 2017, 5(1): 155.
- [26] Khot V, Strous M, Hawley AK. Computational approaches in viral ecology. *Computational and Structural Biotechnology Journal*, 2020, 18: 1605–1612.
- [27] Shaffer M, Borton MA, McGivern BB, Zayed AA, La Rosa SL, Solden LM, Liu PF, Narrowe AB, Rodríguez-Ramos J, Bolduc B, Gazitúa MC, Daly RA, Smith GJ, Vik DR, Pope PB, Sullivan MB, Roux S, Wrighton KC. DRAM for distilling microbial metabolism to automate the curation of microbiome function. *Nucleic Acids Research*, 2020, 48(16): 8883–8900.
- [28] Sabri M, Häuser R, Ouellette M, Liu J, Dehbi M, Moeck G, García E, Titz B, Uetz P, Moineau S. Genome annotation and intraviral interactome for the *Streptococcus pneumoniae* virulent phage dp-1. *Journal of Bacteriology*, 2011, 193(2): 551–562.
- [29] Ruiz-Perez CA, Tsementzi D, Hatt JK, Sullivan MB, Konstantinidis KT. Prevalence of viral photosynthesis genes along a freshwater to saltwater transect in Southeast USA. *Environmental Microbiology Reports*, 2019, 11(5): 672–689.
- [30] Jiang T, Guo C, Wang M, Wang MW, Zhang XR, Liu YD, Liang YT, Jiang Y, He H, Shao HB, McMinn A. Genome analysis of two novel *Synechococcus* phages that lack common auxiliary metabolic genes: possible

- reasons and ecological insights by comparative analysis of cyanomyoviruses. *Viruses*, 2020, 12(8): 800.
- [31] Weissman JL, Holmes R, Barrangou R, Moineau S, Fagan WF, Levin B, Johnson PLF. Immune loss as a driver of coexistence during host-phage coevolution. *The ISME Journal*, 2018, 12(2): 585–597.
- [32] Bryan MJ, Burroughs NJ, Spence EM, Clokie MRJ, Mann NH, Bryan SJ. Evidence for the intense exchange of MazG in marine cyanophages by horizontal gene transfer. *PLoS One*, 2008, 3(4): e2048.
- [33] 崔自红, 李珊, 秦堃豪, 张琦, 魏云林, 唐兵, 季秀玲. 纳帕海高原湿地 *mazG* 遗传多样性初步研究. 基因组学与应用生物学, 2020, 39(5): 2148–2153.
Cui ZH, Li S, Qin KH, Zhang Q, Wei YL, Tang B, Ji XL. Preliminary study on genetic diversity of *mazG* in the napahai plateau wetland. *Genomics and Applied Biology*, 2020, 39(5): 2148–2153. (in Chinese)
- [34] Erez Z, Steinberger-Levy I, Shamir M, Doron S, Stokar-Avihail A, Peleg Y, Melamed S, Leavitt A, Savidor A, Albeck S, Amitai G, Sorek R. Communication between viruses guides lysis-lysogeny decisions. *Nature*, 2017, 541(7638): 488–493.
- [35] De Sordi L, Lourenço M, Debarbieux L. The battle within: interactions of bacteriophages and bacteria in the gastrointestinal tract. *Cell Host & Microbe*, 2019, 25(2): 210–218.
- [36] Dunne M, Hupfeld M, Klumpp J, Loessner MJ. Molecular basis of bacterial host interactions by Gram-positive targeting bacteriophages. *Viruses*, 2018, 10(8): 397.
- [37] Ahlgren NA, Fuchsman CA, Rocap G, Fuhrman JA. Discovery of several novel, widespread, and ecologically distinct marine *Thaumarchaeota* viruses that encode *amoC* nitrification genes. *The ISME Journal*, 2019, 13(3): 618–631.
- [38] Vik D, Gazitúa MC, Sun CL, Zayed AA, Aldunate M, Mulholland MR, Ulloa O, Sullivan MB. Genome-resolved viral ecology in a marine oxygen minimum zone. *Environmental Microbiology*, 2021, 23(6): 2858–2874.
- [39] Diamond S, Andeer PF, Li Z, Crits-Christoph A, Burstein D, Anantharaman K, Lane KR, Thomas BC, Pan C, Northen TR, Banfield JF. Mediterranean grassland soil C-N compound turnover is dependent on rainfall and depth, and is mediated by genomically divergent microorganisms. *Nature Microbiology*, 2019, 4(8): 1356–1367.
- [40] Sullivan MB, Huang KH, Ignacio-Espinoza JC, Berlin AM, Kelly L, Weigele PR, DeFrancesco AS, Kern SE, Thompson LR, Young S, Yandava C, Fu R, Krastins B, Chase M, Sarracino D, Osburne MS, Henn MR, Chisholm SW. Genomic analysis of oceanic cyanobacterial myoviruses compared with T4-like myoviruses from diverse hosts and environments. *Environmental Microbiology*, 2010, 12(11): 3035–3056.
- [41] Roux S, Hawley AK, Torres Beltran M, Scofield M, Schwientek P, Stepanauskas R, Woyke T, Hallam SJ, Sullivan MB. Ecology and evolution of viruses infecting uncultivated SUP05 bacteria as revealed by single-cell- and meta-genomics. *eLife*, 2014, 3: e03125.
- [42] Kelly L, Ding H, Huang KH, Osburne MS, Chisholm SW. Genetic diversity in cultured and wild marine cyanomyoviruses reveals phosphorus stress as a strong selective agent. *The ISME Journal*, 2013, 7(9): 1827–1841.
- [43] Zheng XW, Liu W, Dai X, Zhu YX, Wang JF, Zhu YQ, Zheng HJ, Huang Y, Dong ZY, Du WB, Zhao FQ, Huang L. Extraordinary diversity of viruses in deep-sea sediments as revealed by metagenomics without prior virion separation. *Environmental Microbiology*, 2021, 23(2): 728–743.
- [44] Behrenfeld MJ, O'Malley RT, Siegel DA, McClain CR, Sarmiento JL, Feldman GC, Milligan AJ, Falkowski PG, Letelier RM, Boss ES. Climate-driven trends in contemporary ocean productivity. *Nature*, 2006, 444(7120): 752–755.
- [45] Wegner CE, Gaspar M, Geesink P, Herrmann M, Marz M, Küsel K. Biogeochemical regimes in shallow aquifers reflect the metabolic coupling of the elements nitrogen, sulfur, and carbon. *Applied and Environmental Microbiology*, 2019, 85(5): e02346–e02318.
- [46] Anantharaman K, Duhaime MB, Breier JA, Wendt KA, Toner BM, Dick GJ. Sulfur oxidation genes in diverse deep-sea viruses. *Science*, 2014, 344(6185): 757–760.
- [47] Kieft K, Zhou Z, Anderson RE, Buchan A, Campbell BJ, Hallam SJ, Hess M, Sullivan MB, Walsh DA, Roux S, Anantharaman K. Ecology of inorganic sulfur

auxiliary metabolism in widespread bacteriophages. *Nature Communications*, 2021, 12: 3503.

- [48] Hurwitz BL, Brum JR, Sullivan MB. Depth-stratified functional and taxonomic niche specialization in the ‘core’ and ‘flexible’ Pacific Ocean virome. *The ISME Journal*, 2015, 9(2): 472–484.
- [49] Wasmund K, Mußmann M, Loy A. The life sulfuric: microbial ecology of sulfur cycling in marine sediments. *Environmental Microbiology Reports*, 2017, 9(4): 323–344.
- [50] Yu ZC, Chen XL, Shen QT, Zhao DL, Tang BL, Su HN, Wu ZY, Qin QL, Xie BB, Zhang XY, Yu Y, Zhou BC, Chen B, Zhang YZ. Filamentous phages prevalent in *Pseudoalteromonas* spp. confer properties advantageous to host survival in Arctic Sea ice. *The ISME Journal*, 2015, 9(4): 871–881.
- [51] Brum JR, Hurwitz BL, Schofield O, Ducklow HW, Sullivan MB. Seasonal time bombs: dominant temperate viruses affect Southern Ocean microbial dynamics. *The ISME Journal*, 2016, 10(2): 437–449.
- [52] Chen Y, Golding I, Sawai S, Guo L, Cox EC. Population fitness and the regulation of *Escherichia coli* genes by bacterial viruses. *PLoS Biology*, 2005, 3(7): e229.
- [53] Mills DC, Jervis AJ, Abouelhadid S, Yates LE, Cuccui J, Linton D, Wren BW. Functional analysis of N-linking oligosaccharyl transferase enzymes encoded by deep-sea vent proteobacteria. *Glycobiology*, 2015, 26(4): 398–409.
- [54] Mara P, Vik D, Pachiadaki MG, Suter EA, Poulos B, Taylor GT, Sullivan MB, Edgcomb VP. Viral elements and their potential influence on microbial processes along the permanently stratified Cariaco Basin redoxcline. *The ISME Journal*, 2020, 14(12): 3079–3092.

(本文责编 李磊)