

前 言

噬菌体是一类能特异性感染细菌的病毒，由法国细菌学家 Félix d'Hérelle 于 1917 年发现并命名。1985 年，美国科学家 George P. Smith 开创了噬菌体展示技术，随后英国科学家 Sir Gregory P. Winter 利用该技术有效地推进了抗体的定向进化研究，并成功研制出新型药物。两人也因在“多肽与抗体的噬菌体展示技术”领域的突出贡献而共同荣获了 2018 年的诺贝尔化学奖。从噬菌体被发现到现在已超过一个世纪。如今，噬菌体已被广泛应用于生物学、化学、材料科学、生物工程、纳米医学及人类健康等多个研究领域。然而，国内尚缺乏有关噬菌体基础知识及其应用的专著，因此，编写此书在当下尤为迫切且意义重大。

噬菌体以细菌为宿主，能特异性侵染其宿主细菌，这一天然特性使其自被发现之初便被应用于细菌感染治疗领域。虽然抗生素的问世与普及曾使噬菌体疗法短暂沉寂，但随着细菌耐药性的出现与泛滥，噬菌体重新受到重视并被寄予厚望，成为可绕过抗生素耐药屏障、有效清除耐药细菌的有力抗菌剂。历经研究者数十年来的深耕，噬菌体抗菌疗法已然成为治疗细菌感染，尤其是耐药菌感染的重要治疗手段，在全球多地获得临床应用。而研究的深入，更将噬菌体疗法的疆域大幅拓展——其应用早已不囿于抗菌本身，还延伸至疾病诊断与检测、药物与基因靶向递送、组织再生促进、肿瘤治疗及疫苗研发等诸多领域。有鉴于此，本书重新定义了噬菌体疗法：将其从狭义的抗菌手段，升华为一种覆盖上述多领域的广义治疗策略。

随着现代生物技术与纳米科技的不断发展，生物材料已成为推动医学、材料科学及相关领域创新的重要研究方向。生物材料是指能够与生物系统相互作用，并用于疾病诊断、治疗及预防用途的一类天然或人工合成材料。其核心特性包括生物相容性、生物功能性及可加工性等，需满足特定医疗场景下的力学、化学及生物学要求。噬菌体作为一种天然的纳米生物材料，其特性在生物材料领域中有着独特的优势和广阔的应用前景，能够克服传统生物材料的局限性。噬菌体具有精确且可控的纳米结构（如丝状噬菌体的纳米纤维状形态及有尾噬菌体的纳米颗粒复杂几何形态），可以作为构建功能性纳米材料的天然模板。通过基因工程改造噬菌体，可以设计出具有特定表面特性和功能的纳米材料，从而推动高性能生物材料的开发，并进一步实现疾病的诊断、治疗及预防。作为构建新型生物材料的天然模板，噬菌体在调控干细胞命运和促进组织再生等医学领域已展现出广泛的

应用潜力，相关研究成果不断涌现。为全面、系统地反映噬菌体生物材料在医学领域的应用进展，并推动相关学科在我国的发展，本书基于作者课题组的研究积累，并整合国内外近年来具有代表性的最新研究成果，将其有机融入各章节内容体系之中。

全书共分为九章，前三章总结了噬菌体技术的理论基础，后六章则对噬菌体的不同应用方向展开介绍。第一章为噬菌体的基本介绍和概述；第二章系统介绍了噬菌体的种类、结构和生命周期等生物学特性；第三章深入探讨了噬菌体基因工程化的基本原理，重点以丝状噬菌体为例，详细介绍了展示系统的组成与构建方法；第四章总结了噬菌体展示文库技术筛选靶向多肽的原理，以及针对多种靶标所获得的靶向肽的具体应用实例；第五章探讨了基于噬菌体的疾病检测技术，包括利用噬菌体检测致病菌、疾病分子标志物、循环肿瘤细胞以及肿瘤成像等方面的应用；第六章介绍了噬菌体作为生物材料在骨、神经、血管等受损组织再生与修复过程中的作用机制及应用前景；第七章和第八章分别总结了噬菌体在药物与基因递送、肿瘤治疗方面的最新进展；第九章则对噬菌体在疫苗和抗生素替代品研制中的应用进行了详细介绍。

作者希望本书能为从事生物学、化学、材料科学、生物工程、医学等相关研究领域的科研人员提供参考，也希望为我国噬菌体相关技术的研究、开发及临床应用提供有益的帮助。鉴于噬菌体研究领域进展迅速，日新月异，加之时间限制及作者水平所限，本书难免存在疏漏与不足。在此，作者诚挚邀请各位专家与读者不吝赐教，提出宝贵意见，以期不断完善与提升。最后，作者衷心感谢研究团队全体成员在本书撰写过程中给予的大力支持和帮助，万分感谢国家重点研发计划“前沿生物技术”重点专项(2025YFC3408405)、深圳市医学研究专项(B2501002)、香港研究资助局 (CRF C4075-24G, GRF 14208723, GRF 14210225, CRS_CUHK401/25)、粤港高校“1+1+1”联合资助计划(2025A0505000063)的大力资助，以及香港赛马会慈善信托基金会对“师法自然精准医学工程”创科实验室的慷慨资助。

毛传斌
香港中文大学
2026年2月

目 录

第一章 绪论	1
第一节 噬菌体的历史背景	1
一、噬菌体的发现和分离	1
二、噬菌体在分子生物学中的应用历史	3
三、噬菌体在材料科学中的应用历史	4
四、噬菌体在医学中的应用历史	5
第二节 噬菌体生物材料的应用进展	5
一、噬菌体展示技术	5
二、噬菌体生物淘选	6
三、基于噬菌体的疾病检测	6
四、基于噬菌体的药物和基因递送	7
五、基于噬菌体的干细胞分化调控和组织修复	7
六、基于噬菌体的肿瘤治疗	8
七、基于噬菌体的疫苗和抗生素替代品	8
参考文献	9
第二章 噬菌体简述	13
第一节 噬菌体的种类及结构	13
一、噬菌体的种类	13
二、丝状噬菌体的结构	16
三、有尾噬菌体的结构	18
四、无尾噬菌体的结构	18
第二节 噬菌体的增殖	20
一、噬菌体的侵染	20
二、噬菌体的基因复制和蛋白质合成	22
三、噬菌体的组装	24

第三节 总结	26
参考文献	26
第三章 噬菌体展示	30
第一节 丝状噬菌体展示技术	30
一、丝状噬菌体展示模型和载体	30
二、丝状噬菌体展示方法	45
第二节 有尾噬菌体展示技术	48
一、有尾噬菌体展示模型和载体	48
二、有尾噬菌体展示方法	50
第三节 总结	52
参考文献	52
第四章 基于噬菌体的靶向多肽筛选原理	62
第一节 噬菌体展示文库的分类	62
第二节 噬菌体展示文库筛选技术原理	63
第三节 噬菌体展示文库的研究进展	64
一、以无机纳米材料为靶标的噬菌体展示文库筛选技术	64
二、以蛋白质为靶标的噬菌体展示文库筛选技术	70
三、以细胞为靶标的噬菌体展示文库筛选技术	76
四、以组织为靶标的噬菌体展示文库筛选技术	80
五、以其他物质为靶标的噬菌体展示文库筛选技术	84
第四节 特异性结合多肽验证研究	85
一、特异性结合分析验证实验	86
二、生物相容性检验	89
第五节 噬菌体单链抗体文库的研究进展	91
一、噬菌体单链抗体文库	91
二、噬菌体单链抗体文库筛选的进展	93
第六节 总结与展望	94
参考文献	95
第五章 基于噬菌体的疾病检测	100
第一节 噬菌体检测致病菌	101
一、噬菌体生物扩增法	102
二、基于工程化噬菌体的致病菌检测	103

三、基于噬菌体靶向肽的致病菌检测	108
第二节 噬菌体检测疾病分子标志物	111
一、噬菌体检测肿瘤相关疾病分子标志物	112
二、噬菌体检测其他疾病分子标志物	114
第三节 噬菌体检测循环肿瘤细胞	115
一、循环肿瘤细胞检测的重要性	115
二、基于噬菌体的循环肿瘤细胞检测	116
第四节 噬菌体肿瘤成像	118
一、基于工程化噬菌体的肿瘤成像探针	118
二、基于噬菌体筛选多肽的肿瘤成像探针	121
第五节 总结与展望	126
参考文献	127
第六章 基于噬菌体的干细胞分化调控和组织修复	131
第一节 噬菌体与组织工程	131
一、组织工程学简介	131
二、噬菌体在组织工程领域应用的简述	131
第二节 噬菌体基生物材料的构建及其表面修饰	133
一、噬菌体基生物材料的构建	133
二、噬菌体生物材料的表面修饰方法	136
第三节 噬菌体调控干细胞的黏附、增殖和分化	139
一、调控细胞的黏附和形态	140
二、调控细胞排列	141
三、调控干细胞分化的基质	142
第四节 噬菌体促进体内组织再生与修复	147
一、噬菌体基生物材料在体内的安全性	147
二、骨组织的修复	148
三、血管的修复	149
四、神经组织的修复	150
第五节 总结与展望	152
参考文献	154

第七章 基于噬菌体的药物和基因递送	161
第一节 噬菌体直接递送药物	161
一、噬菌体改性修饰方式	161
二、噬菌体药物载体的靶向治疗	166
第二节 噬菌体筛选的多肽修饰载药纳米颗粒	168
一、药物载体纳米颗粒	168
二、多肽修饰载药纳米颗粒	169
第三节 噬菌体直接递送基因	177
一、噬菌体基因载体	177
二、噬菌体基因载体的应用	178
第四节 噬菌体筛选的多肽修饰载基因纳米颗粒	182
一、基因载体纳米颗粒	182
二、多肽修饰载基因纳米颗粒	185
第五节 总结与展望	188
参考文献	188
第八章 基于噬菌体的肿瘤治疗	193
第一节 引言	193
一、肿瘤简介	193
二、临床治疗肿瘤的方法	193
三、肿瘤的免疫治疗	194
四、肿瘤的基因治疗	196
五、肿瘤的靶向治疗	196
六、噬菌体及展示技术在肿瘤治疗中的应用	197
第二节 噬菌体单独作为抗肿瘤药物	198
一、抗血管生成靶向治疗	198
二、免疫检查点阻断靶向治疗	201
第三节 基于噬菌体的肿瘤疫苗用于肿瘤治疗	203
第四节 基于噬菌体的过继性细胞疗法	205
第五节 基于噬菌体抗体库的肿瘤靶向治疗	206
一、噬菌体展示抗体库技术	206
二、单克隆抗体作为药物	209

三、抗体修饰药物或药物载体	209
四、临床研究和应用	212
第六节 基于噬菌体多肽库的肿瘤靶向治疗	214
一、肿瘤靶向肽筛选	214
二、多肽作为药物	220
三、多肽偶联药物	222
四、多肽修饰药物载体	226
五、临床研究和应用	231
六、各种肿瘤靶向肽网上资源	233
参考文献	233
第九章 基于噬菌体的疫苗与抗生素替代品	245
第一节 基于噬菌体的疫苗	245
一、噬菌体疫苗的工作原理	245
二、噬菌体疫苗的设计与评估	248
三、噬菌体疫苗的优势	249
四、噬菌体疫苗的应用	249
五、噬菌体疫苗的分类	254
第二节 噬菌体与抗生素替代品	257
一、噬菌体治疗的发展历史	258
二、噬菌体作为抗生素替代品的作用机理	259
三、基于噬菌体的抗生素替代品	260
四、噬菌体治疗在我国临床应用现状	264
五、噬菌体治疗与抗生素治疗的比较	265
第三节 总结	266
参考文献	267

第一章 绪 论

噬菌体 (bacteriophage, 简称 phage) 是一类专一感染细菌的病毒。与动物病毒和植物病毒不同, 噬菌体以细菌为宿主, 通常不感染人类、动物或植物细胞, 因而不会对其产生直接危害^[1]。正是基于这种天然的专一侵染特性, 噬菌体自发现之初便被用作抗菌剂引入临床, 用于治疗细菌感染。然而, 抗生素的相继问世与广泛应用, 使噬菌体抗菌疗法在临床中一度黯然失色; 直至细菌耐药性不断加剧、抗生素疗效大幅下降, 研究者们才将目光重新投向噬菌体。凭借能够绕过抗生素耐药屏障并特异性裂解细菌的独特优势, 噬菌体在近几十年间重放异彩, 成为抗菌领域, 尤其是耐药菌感染治疗中备受瞩目的前沿力量。也正因此, 噬菌体疗法的内涵在很长一段时间内被窄化为狭义的应用, 即仅利用噬菌体实现细菌的清除。然而亟须关注的是, 伴随现代生物技术的跨越式发展, 噬菌体的应用场景已在多个学科交叉衍生, 其在生物学、医学、化学、材料科学以及工程学领域皆已展示出重要的潜在应用价值。鉴于传统定义已难以全面概括前沿的研究进展, 本书打破固有局限, 对噬菌体疗法进行重新定义, 拓展其内涵: 将其从单一的抗菌策略, 拓展为把噬菌体作为生物材料用于疾病诊断检测、靶向药物与基因递送、促进组织再生、肿瘤治疗及疫苗研发等多领域的广义治疗策略。不同于以往偏重抗菌综述的著作, 本书系统阐述噬菌体作为一种新型生物材料在医学中的各种应用现状和前景。图 1.1 展示了噬菌体历史上的里程碑事件和在医学、分子生物学和材料科学领域的发展和应用实例。图中噬菌体在材料科学中的应用, 本书各章节均有对应论述。

第一节 噬菌体的历史背景

一、噬菌体的发现和分离

1896 年, 英国细菌学家欧内斯特·汉金 (Ernest Hankin) 在印度亚穆纳河与恒河的水中发现了一种新物质, 这种物质可通过细菌不能透过的过滤装置并杀灭霍乱菌^[2]。但当时人们并不清楚该物质具体是什么, 这一发现被认为是人类与噬菌体的首次正面接触。1915 年, 英国细菌学家弗雷德里克·图尔特 (Frederick Twort) 在培养葡萄球菌时, 发现菌落上出现透明斑, 他将透明斑中的物质稀释 100 万倍

2 | 噬菌体生物材料

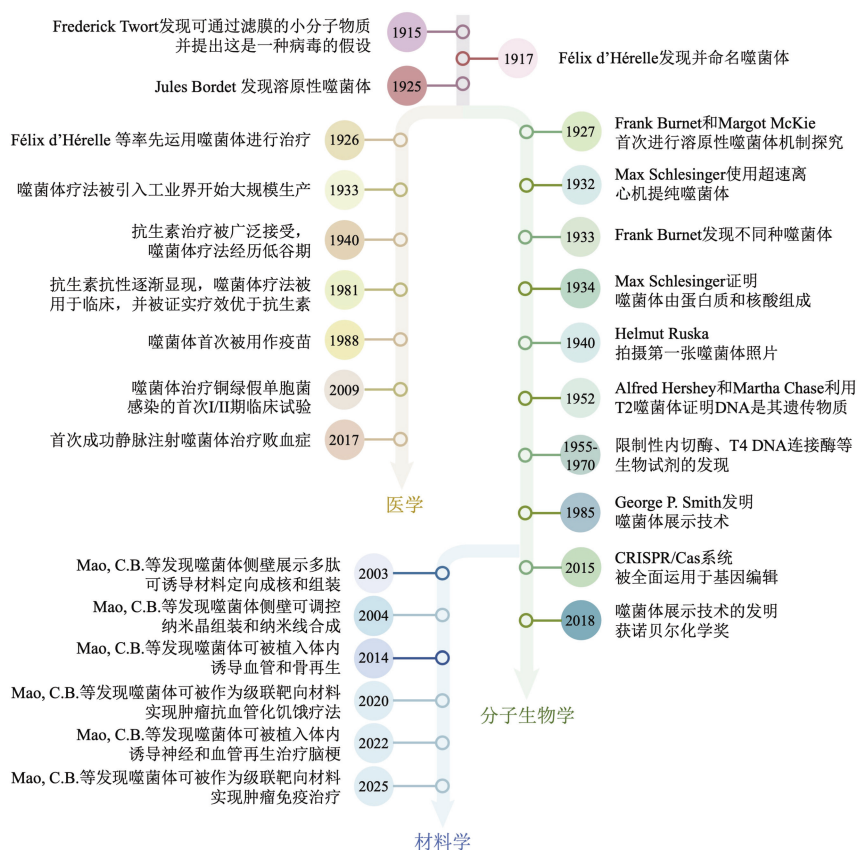


图 1.1 噬菌体的发展示意图

后使用过滤器过滤，发现这种物质仍然能杀死细菌，使正常菌落透明化。同时他还发现该物质对侵染的宿主有一定的特异性，并在 60℃时丧失杀菌功能。Twort 根据当时的知识体系对该物质提出了以下推测^[3]：①这种物质可能是一种极其微小的细菌种属；②这种物质可能是小型的阿米巴原虫，且能寄生在其他的生物上；③这种物质可能是一种活的原生质或具有复制能力的酶；④这种物质也可能是一种尚未被发现的病毒。随后由于第一次世界大战的爆发，Twort 被迫中断该研究。

两年后，法国微生物学家费利克斯·德雷勒（Félix d'Hérelle）将痢疾患者的粪便悬液过滤后与痢疾杆菌一同培养，偶然观察到培养基上出现清晰的圆点，上面没有任何细菌，他将这种可以裂解痢疾杆菌的物质命名为噬菌体（bacteriophage 或 phage）。噬菌体这个名字是由英文单词 bacteria（细菌）和希腊词汇 phagein（吞噬）构成，意思是可以吞噬细菌的物质。d'Hérelle 指出，噬菌体只能生长在有痢疾杆菌的地方；若是将痢疾杆菌灭活，则噬菌体也不能生存和繁殖。同时，他还否定了噬菌体是非生物的化学物质的说法^[4]。上述三位科学家的研究工作让噬菌

体这种病毒进入人们的视野。噬菌体的发现为后来分子生物学、遗传学和材料科学等学科的发展提供了一个完美的模式生物。

将噬菌体从众多混合物中分离出来是解析噬菌体的结构和功能的基础。目前分离噬菌体的方法主要分为两种：一种是用特定孔径的滤膜进行分离；另一种是用超速离心的方法进行分离。1932 年，埃尔福德 (Elford) 和安德鲁斯 (Andrewes) 用孔径渐变的火棉胶膜分离出了直径为 20~90 nm 的不同种类噬菌体。在同一时间，海因里希·贝希霍德 (Heinrich Bechhold) 和施莱辛格 (Schlesinger) 用超速离心沉降法也分离出了不同种类的噬菌体^[5]。目前，超速离心法分离噬菌体已成为分离噬菌体的最优方案，这也为之后对噬菌体结构的解析奠定了基础。1934 年，Schlesinger 首次对大肠杆菌噬菌体进行了成分分析，他发现大肠杆菌噬菌体中有 13.2% 的氮元素和 3.7% 的磷元素，据此他提出了噬菌体是由核蛋白 (nucleoprotein) 组成的概念^[6-9]。这一概念的提出，标志着人们在噬菌体结构解析上迈出了一大步。

随着科学技术的发展，电子显微镜技术在噬菌体研究领域发挥了至关重要的作用。1940 年赫尔穆特·鲁斯卡 (Helmut Ruska) 通过电子显微镜成功拍摄了首张噬菌体的图像 (图 1.2)^[10]。一年之后，卢里亚 (Luria) 和安德森 (Anderson) 在电镜下看到了另一种噬菌体。他们将噬菌体形态总结为含有一个圆形头部和细长尾部的类似精子结构 “sperm-shaped”^[11]。

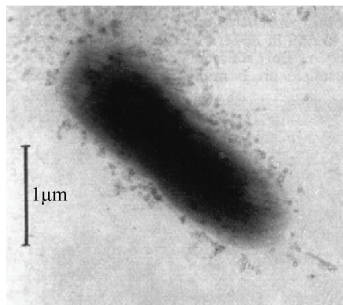


图 1.2 世界上第一张噬菌体电镜图：细菌周围的噬菌体正在侵染细菌^[10]

二、噬菌体在分子生物学中的应用历史

噬菌体的研究历程同分子生物学的发展密切相关。1952 年，赫尔希 (Hershey) 和蔡斯 (Chase) 以 T2 噬菌体为研究对象，利用放射性同位素标记技术，开展了“噬菌体侵染细菌的实验”。实验发现，噬菌体在侵染过程中，将 DNA 注入细菌内，而蛋白质外壳被遗留在细菌外部，证实了 DNA 是遗传物质而非蛋白质^[12]。Hershey 也因该项研究而荣获 1969 年的诺贝尔生理学或医学奖。此后，基于噬菌体的研究取得了诸多重要成果，包括 DNA 复制机理的阐明、转录的终止作用、

T7 启动子的发现、DNA 限制性内切酶及 T4 DNA 连接酶等工具酶的应用和噬菌体载体的构建等。目前在分子生物学领域已广泛应用的 CRISPR/Cas9 [clustered regularly interspaced short palindromic repeats/CRISPR-associated protein 9 (Cas9)] 基因编辑技术, 其开发也是基于细菌应对噬菌体侵袭的天然免疫机制研究^[13,14]。1985 年, 乔治·史密斯 (George P. Smith) 首次将外源蛋白融合在丝状噬菌体衣壳蛋白上, 标志着噬菌体在分子生物学应用中的又一里程碑, 开创了噬菌体展示技术的先河。随后, 英国科学家格雷戈里·温特爵士 (Sir Gregory P. Winter) 利用该技术, 成功推进了抗体定向进化的研究, 并据此研发出新型人源化抗体药物。该研究将噬菌体与分子生物学紧密结合起来, 两人也因在“多肽与抗体的噬菌体展示技术”领域的突出贡献而获得 2018 年的诺贝尔化学奖^[15]。

三、噬菌体在材料科学中的应用历史

毛传斌 (Chuanbin Mao) 等于 2003 年发现, 丝状噬菌体侧壁可以通过展示材料结合肽而诱导半导体纳米颗粒的取向成核^[16], 并于次年进一步发现丝状噬菌体侧壁可调控半导体和磁性纳米线的合成^[17], 这是首次实现通过对噬菌体进行基因改造而调控材料的合成, 标志着噬菌体真正被运用到材料科学领域, 从而引起了材料学家对噬菌体的关注, 并为噬菌体在材料学领域的应用打开了一扇崭新的大门 (图 1.1)。此后, 科研人员通过噬菌体表面展示外源肽或对噬菌体衣壳蛋白进行定点氨基酸残基修饰等策略, 实现了对无机及有机材料合成过程的精确调控, 成功制备噬菌体和多种无机或有机材料的复合材料^[18,19]。当纳米材料在噬菌体上合成时, 所获得的生物材料就会兼具噬菌体的靶向 (如肿瘤靶向) 和纳米材料的特性 (如模拟酶的催化性能), 实现有效的疾病靶向治疗^[20]。噬菌体也被作为模板构建了二维 (2D) 和三维 (3D) 支架, 实现这种新型生物材料在组织工程中的应用^[21,22]。2014 年, 毛传斌团队将噬菌体作为 3D 支架植入骨缺损大鼠模型, 发现其可以诱导血管和骨组织的再生, 实现骨缺损修复, 并在动物实验中首次验证了噬菌体作为组织工程生物材料的可行性^[22]。2025 年, 毛传斌团队将丝状噬菌体用于先筛选肿瘤靶向肽和程序性死亡受体配体 1 (PD-L1) 结合肽, 并通过基因工程技术将它们分别展示在噬菌体的头部和侧壁, 从而使噬菌体可以先靶向到肿瘤然后结合 PD-L1 阻断免疫检查点, 首次实现使用完整的噬菌体单独进行免疫治疗^[23]。此外, 噬菌体还能通过静电吸附、化学偶联或其他机制, 与传统的纳米载体进行组装, 形成功能强大的新型复合材料, 用作疾病标志物的检测探针或靶向治疗的药物^[20,24-26]。随着噬菌体展示技术的广泛应用, 噬菌体还被用于各种与蛋白质有关的研究^[27], 如分离抗体^[28,29]、优化结合蛋白^[30]等。这些内容会在本书之后的章节中作详细介绍。

四、噬菌体在医学中的应用历史

自噬菌体被发现以来,人们一直在探索将噬菌体投入疾病治疗中的可能性。1926年,d'Hérelle领导的团队率先使用噬菌体对霍乱、伤寒和痢疾进行治疗^[31,32],其中针对霍乱的噬菌体疗法取得了显著成效,进而推动了治疗性噬菌体在工业界的规模化生产^[33,34]。许多知名企业,如礼来、雅培和百时美施贵宝等,开始销售商业化的噬菌体药物^[35]。值得一提的是,由乔治·叶利亚瓦(George Eliava)创建的叶利亚瓦研究所(Eliava Institute)利用噬菌体疗法挽回了成千上万人的性命^[35]。此外,噬菌体治疗在俄罗斯和波兰也非常盛行。第二次世界大战初期,军队广泛采用噬菌体疗法解决细菌引起的伤口感染问题。然而,随着后来抗生素的发现(1928年)和大规模生产(1940年),噬菌体疗法逐渐淡出市场。

然而,之前的抗生素滥用引发了日益严重的细菌耐药性问题。此外,威廉斯·史密斯(Williams Smith)和哈金斯(Huggins)等通过一系列动物实验证明了噬菌体治疗在某些情况下比抗生素治疗更有效^[36,37],噬菌体疗法又重回大众视野。自1981年起,波兰弗罗茨瓦夫免疫学与实验治疗研究所率先将噬菌体疗法全面运用于医学领域,成功治愈了超过1300位病人^[38]。除此之外,英国药品与保健品管理局和波兰希尔兹菲尔德研究所等机构也相继对噬菌体疗法展开了深入调研并应用于临床,实验结果显示,噬菌体疗法在治疗抗生素失效的感染方面,成功率高达50%^[39],这再次彰显了噬菌体疗法相对于抗生素疗法的优越性。2009年,首项关于治疗性噬菌体制剂的临床试验得以实施,结果证实了噬菌体在应对抗生素耐药性铜绿假单胞菌引起的慢性中耳炎方面的有效性与安全性^[40]。此外,介入式噬菌体疗法在人体中的应用也取得了实质性进展。静脉注射噬菌体疗法于2017年被首次使用,成功治愈了一名遭受鲍曼不动杆菌感染的胰腺假性囊肿患者,并使其完全康复^[41]。

第二节 噬菌体生物材料的应用进展

一、噬菌体展示技术

1985年,George P. Smith首次提出了噬菌体展示的概念^[42]。噬菌体展示技术是一种先进的基因工程技术,它通过将外源多肽或蛋白质的DNA序列插入到噬菌体外壳蛋白结构基因的适当位置,使得这些外源肽或蛋白质能够与外壳蛋白融合表达。在噬菌体的复制和组装过程中,这些融合蛋白将会被展示在噬菌体的表面^[43]。噬菌体展示技术具有广泛的应用前景,包括但不限于靶向分子筛选、抗原

表位确定、多肽和蛋白质药物开发、蛋白受体-配体和蛋白质-DNA 相互作用的探究以及利用抗原呈递制备抗体等多种领域。该部分内容将在本书的第三章中进行详细讲解。

二、噬菌体生物淘选

噬菌体生物淘选 (biopanning) 是基于噬菌体展示技术的一项延伸应用。噬菌体生物淘选的第一步是构建噬菌体文库。这种噬菌体文库是利用 George P. Smith 提出的外壳蛋白展示的方法, 将长度相等的随机多肽或蛋白质展示于噬菌体表面, 赋予文库极高的序列多样性^[42]。噬菌体生物淘选的核心机制在于利用展示在噬菌体表面的多肽与靶标之间的特异性结合, 从噬菌体多肽文库中筛选出高特异性的多肽序列^[24]。噬菌体生物淘选大致步骤如下: 首先, 将这种具有高度序列多样性的噬菌体文库与靶标进行孵育, 使两者结合。然后, 通过多次洗涤步骤将结合力弱的噬菌体剔除, 仅保留与靶向目标物紧密结合的噬菌体。接下来, 将这些具有高亲和力的噬菌体收集并扩增, 得到的扩增产物作为下一轮生物淘选的起始材料, 继续筛选。一般情况下, 经 3~5 轮的筛选后, 展示高亲和力多肽的噬菌体会被富集, 并淘汰结合力较弱的噬菌体。最终, 富集得到的噬菌体含有与靶标特异性结合的多肽, 随后可对这些噬菌体的相关 DNA 序列进行测序, 从而解析所展示多肽的氨基酸序列。

噬菌体生物淘选技术的优势在于, 它对靶标的表面结构没有限制, 靶标可以是蛋白质^[23]、细胞^[44]或组织^[45]等有机组成, 也可以是无机材料^[46]。这一技术为针对任意目标物的特异性结合多肽或蛋白质提供了高效的筛选手段, 为靶向分子的研发开辟了新思路。

三、基于噬菌体的疾病检测

随着科技的发展, 人们更多地聚焦于疾病预防, 使得疾病检测领域的研究成为未来发展的重要趋势。目前, 疾病检测主要依赖于血液及代谢物化验、细胞培养、仪器影像学诊断等。然而, 这些传统方法受限于检测技术和材料, 往往在特异性和灵敏性方面存在不足, 耗时较长并且假阳性率较高。噬菌体凭借其优异的工程化能力和短生长周期等特点, 展现出突破现有疾病检测瓶颈的巨大潜力, 因此备受关注。

噬菌体检测主要包括以下几个方面: 噬菌体检测致病菌、基于噬菌体的分子成像, 以及噬菌体检测疾病分子标志物和细胞。在致病菌检测方面, 噬菌体利用其与宿主间的专一性, 实现对致病菌的精准识别与检测。该方法不仅能够快速鉴

定致病菌种类,缩短检测周期,还可结合工程化噬菌体实现检测与治疗的联用,解决了致病菌对抗生素有抗性、试剂盒检测周期长和假阳性率较高等问题^[47]。在分子成像方面,噬菌体同样展现出其独特的优势。作为纳米级材料,噬菌体可以通过工程化准确识别靶向目标并进行荧光标记^[48],其低免疫原性为噬菌体在体内成像的应用奠定了基础。此外,噬菌体还被用于疾病标志物的检测。凭借其高靶向性、级联放大与快速扩增能力,噬菌体能高效富集并检测含量极低的疾病标志物^[49],为疾病检测提供了一种新的研究手段。

四、基于噬菌体的药物和基因递送

药物和基因递送系统指的是一类能够有效地携带(偶联或封装)治疗性物质的纳米材料,这类材料通过一定的途径将治疗性物质运送至特定治疗点,并在适当时间释放携带的药物和基因。目前可用于药物和基因递送的纳米材料主要有磷脂^[50,51]、无机材料^[52,53]和聚合物^[54,55]等。噬菌体作为一种新型药物和基因递送的材料,近十年来受到了广泛的关注。基于噬菌体的新型药物和基因递送纳米材料相较于传统纳米材料主要有以下两个优点:①可通过噬菌体展示技术使噬菌体材料具有靶向性;②有良好的生物相容性与较低的免疫原性。

噬菌体介导的药物和基因递送策略主要分为以下两类:①直接将药物或基因偶联到噬菌体上,利用噬菌体自身作为载体进行药物和基因递送;②利用噬菌体生物淘选技术筛选出能够特异性靶向识别目标分子的多肽,进而将这种特异性多肽修饰于纳米颗粒的表面,实现靶向性递送。相较于第一种策略,第二种策略在降低免疫原性、不受目标基因尺寸限制以及成本控制等方面展现出更大的优势,在未来医疗应用中的前景更为广阔。

五、基于噬菌体的干细胞分化调控和组织修复

组织工程学作为生物医学工程领域新兴且高度交叉的学科,其核心在于通过模拟细胞外基质(extracellular matrix, ECM)的结构和组成,在体外环境中整合活体细胞、生长因子以及支架材料,设计、构建并培养具有生物学功能的活体组织替代物。随后将这些复合物植入病理部位,旨在实现组织乃至器官修复和再生^[56,57]。其中,利用噬菌体这一创新手段调控干细胞的分化和组织修复的策略尤其引人注目,该策略利用噬菌体材料模拟ECM,以促进干细胞增殖、分化并形成组织,达到组织再生的目的。噬菌体材料可初步分为二维(2D)与三维(3D)两大类。噬菌体2D材料主要是利用噬菌体的自组装能力,形成噬菌体膜。在2D应用中,细胞在噬菌体膜上生长时,可以沿着噬菌体排列的方向定向拉伸。此外,

利用噬菌体展示技术，噬菌体上的展示肽在成膜后会与细胞大面积接触，从而对细胞产生调控作用。噬菌体 3D 材料是利用噬菌体和其他材料结合形成 3D 立体支架结构，细胞会被种入 3D 材料的孔洞结构之中，其生长过程受到材料结构和化学组成的影响与调控^[22]。

噬菌体是一种可塑性很强的生物材料，噬菌体本身的拓扑结构、自组装能力以及与其他材料结合时在空间范围内的可塑性都为噬菌体在组织工程中的应用奠定了基础。

六、基于噬菌体的肿瘤治疗

肿瘤治疗一直是医学界亟待攻克的重大难题。尽管当前临床实践中已广泛采用手术治疗、放射治疗、化学药物治疗以及免疫治疗等多种治疗手段，但都难以达到彻底治愈肿瘤的目的。因此，发掘具有高度特异性的肿瘤靶向抗体、多肽及肿瘤标志物，对提高肿瘤检测的敏感性和实现高效、精准的治疗至关重要。在这一点上，噬菌体及噬菌体展示技术在肿瘤的早期诊断和靶向治疗方面显示出其特有的优势：①噬菌体本身具有抗肿瘤活性^[58]；②噬菌体展示的多肽具有免疫原性，可与免疫系统相互作用，实现抗肿瘤的目的^[23]；③噬菌体生物淘选技术可简单高效地筛选出肿瘤及其标志物的靶向识别肽；④噬菌体多肽库的容量大，且制备成本低；⑤噬菌体展示技术不仅能筛选抗原表位，还能展示其模拟表位，刺激机体产生针对靶分子的抗体，进而可用于抗肿瘤疫苗的制备^[59,60]。

七、基于噬菌体的疫苗和抗生素替代品

噬菌体疫苗是一种利用噬菌体作为载体的疫苗，其借助基因工程技术使噬菌体携带针对特定病原体的免疫原性表位，旨在激发机体产生特异性免疫应答。噬菌体疫苗将编码抗原的 DNA 序列整合至噬菌体外壳蛋白基因中，随着噬菌体自身外壳蛋白的表达，抗原也融合表达在噬菌体表面。许多研究表明，即使在较低剂量下，噬菌体 DNA 疫苗仍可诱导更强烈且持久的抗体应答反应。

此外，噬菌体还被广泛应用于替代抗生素进行杀菌消炎。相较于传统抗生素，噬菌体的优势体现在多个方面。①致病菌对噬菌体产生抗性的概率较低。②噬菌体具备进化能力，一旦致病菌产生抗性，可以迅速通过筛选新的噬菌体来更新治疗方案，然而抗生素更新则需要耗费较长的研究周期。③噬菌体具有高度的靶向性，能精准识别并感染特定宿主细菌，不影响其他菌群生态平衡^[61]。而医用抗生素多为广谱性，在杀死致病菌的同时可能破坏正常菌群。④噬菌体治疗所需剂量小，得益于其自我复制和增殖能力，小剂量即可达到治疗效果。⑤噬菌体副作用

小^[62,63]。噬菌体由核酸和蛋白质组成,作为人体内的基本组成物质,相比于外源抗生素更为安全。⑥噬菌体能够清理生物膜^[64,65]。生物膜对抗生素具有非常强的抗性,一般利用抗生素很难清除生物膜,而噬菌体则可通过其生命周期中的裂解作用,轻松地破坏宿主细菌,有效去除生物膜。

在对噬菌体发展历程的阐述中我们已经提到,噬菌体作为抗生素的替代选项不仅可行,而且在多方面展现出优越性。噬菌体通过其裂解细菌的天然特性,为解决抗生素滥用导致的细菌耐药性问题提供了新思路。相比于抗生素,噬菌体更容易改造且具有靶向性,并能够通过噬菌体展示技术进一步编辑,以提高噬菌体治疗效果。

参 考 文 献

- [1] Principi N, Silvestri E, Esposito S. Advantages and limitations of bacteriophages for the treatment of bacterial infections. *Frontiers in Pharmacology*, 2019, 10: 513.
- [2] Hankin E. L'action bactericide des eaux de la jumna et du gange sur le vibron du cholera. *Annales de l'Institut Pasteur*, 1896, 10: 511-523.
- [3] Twort F W. An investigation on the nature of ultra-microscopic viruses. *The Lancet*, 1915, 186(4814): 1241-1243.
- [4] d'Hérelles F. Sur un microbe invisible antagoniste des bacilles dysentériques. *Comptes Rendus de l'Académie des Sciences de Paris*, 1917, 165: 373-375.
- [5] Northrop J H. Concentration and purification of bacteriophage. *Journal of General Physiology*, 1938, 21(3): 335-366.
- [6] Elford W J, Andrewes C H. Filtration of vaccinia virus through gradocol membranes. *British Journal of Experimental Pathology*, 1932, 13(1): 36-42.
- [7] Elford W J. A new series of graded collodion membranes suitable for general bacteriological use, especially in filterable virus studies. *The Journal of Pathology and Bacteriology*, 1931, 34(4): 505-521.
- [8] Elford W J, Andrewes C H. The sizes of different bacteriophages. *British Journal of Experimental Pathology*, 1932, 13(5): 446-456.
- [9] Schlesinger M. The feulgen reaction of the bacteriophage substance. *Nature*, 1936, 138: 508-509.
- [10] Ruska H. Die sichtbarmachung der bakterioophagen lyse im Übermikroskop. *Naturwissenschaften*, 1940, 28(3): 45-46.
- [11] Luria S E, Anderson T F. The identification and characterization of bacteriophages with the electron microscope. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 1942, 28(4): 127-130.1.
- [12] Hershey A D, Chase M. Independent functions of viral protein and nucleic acid in growth of bacteriophage. *Journal of General Physiology*, 1952, 36(1): 39-56.
- [13] Rohwer F, Segall A M. In retrospect: A century of phage lessons. *Nature*, 2015, 528(7580): 46-47.
- [14] Salmond G P C, Fineran P C. A century of the phage: Past, present and future. *Nature Reviews Microbiology*, 2015, 13(12): 777-786.

- [15] Barderas R, Benito-Peña E. The 2018 Nobel Prize in Chemistry: Phage display of peptides and antibodies. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 2019, 411(12): 2475-2479.
- [16] Mao C B, Flynn C E, Hayhurst A, et al. Viral assembly of oriented quantum dot nanowires. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2003, 100(12): 6946-6951.
- [17] Mao C B, Solis D J, Reiss B D, et al. Virus-based toolkit for the directed synthesis of magnetic and semiconducting nanowires. *Science*, 2004, 303(5655): 213-217.
- [18] Jeong C K, Kim I, Park K I, et al. Virus-directed design of a flexible BaTiO₃ nanogenerator. *ACS Nano*, 2013, 7(12): 11016-11025.
- [19] Lamboy J A, Arter J A, Knopp K A, et al. Phage wrapping with cationic polymers eliminates non-specific binding between M13 phage and high pI target proteins. *Journal of the American Chemical Society*, 2009, 131(45): 16454-16460.
- [20] Yang T, Zhang Q, Miao Y, et al. Tumor-homing phage nanofibers for nanozyme-enhanced targeted breast cancer therapy. *Advanced Materials*, 2025, 37(2): 2403756.
- [21] Wang J, Wang L, Yang M, et al. Untangling the effects of peptide sequences and nanotopographies in a biomimetic niche for directed differentiation of iPSCs by assemblies of genetically engineered viral nanofibers. *Nano Letters*, 2014, 14(12): 6850-6856.
- [22] Wang J, Yang M, Zhu Y, et al. Phage nanofibers induce vascularized osteogenesis in 3D printed bone scaffolds. *Advanced Materials*, 2014, 26(29): 4961-4966.
- [23] Yue H, Li Y, Yang T, et al. Filamentous phages as tumour-targeting immunotherapeutic bionanofibres. *Nature Nanotechnology*, 2025, 20: 167-176.
- [24] Jiang H, Li Y, Cosnier S, et al. Exploring phage engineering to advance nanobiotechnology. *Materials Today Nano*, 2022, 19: 100229.
- [25] Zhou X, Cao P, Zhu Y, et al. Phage-mediated counting by the naked eye of miRNA molecules at attomolar concentrations in a Petri dish. *Nature Materials*, 2015, 14(10): 1058-1064.
- [26] Li H D, Chen Y Q, Li Y, et al. Harnessing virus flexibility to selectively capture and profile rare circulating target cells for precise cancer subtyping. *Nature Communications*, 2024, 15(1): 5849.
- [27] Bradbury A R, Marks J D. Antibodies from phage antibody libraries. *Journal of Immunological Methods*, 2004, 290(1-2): 29-49.
- [28] Alfaleh M A, Alsaab H O, Mahmoud A B, et al. Phage display derived monoclonal antibodies: From bench to bedside. *Sec Vaccines and Molecular Therapeutics*, 2020, 11: 1986.
- [29] Huie M A, Cheung M C, Muench M O, et al. Antibodies to human fetal erythroid cells from a nonimmune phage antibody library. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2001, 98(5): 2682-2687.
- [30] Lowman H B, Wells J A. Affinity maturation of human growth hormone by monovalent phage display. *Journal of Molecular Biology*, 1993, 234(3): 564-578.
- [31] d'Hérelle F S, Smith G H. *The Bacteriophage and Its Behavior*. Baltimore: The Williams & Wilkins Company, 1926.
- [32] Davison W C. The bacteriolysant therapy of bacillary dysentery in children: Therapeutic application of bacteriolysants; d'Hérelle's phenomenon. *American Journal of Diseases of Children*, 1922, 23(6): 531-534.
- [33] Morison J. Bacteriophage in the treatment and prevention of cholera. *Journal of the American Medical Association*, 1933, 100(19): 1560-1561.
- [34] Summers W C. *Félix d'Hérelle and the Origins of Molecular Biology*. New Haven: Yale University Press, 1999.
- [35] Straub M E, Applebaum M. Studies on commercial bacteriophage products. *Journal of the*