

# 志贺菌基因转移耐多药相关蛋白初步分析

宋春花, 黄志刚, 郝园林, 张梅喜, 段广才

## ■背景资料

近年来, 随着抗生素的广泛使用, 甚至滥用, 造成志贺菌频繁发生变异产生耐药株, 不断给细菌性痢疾的防治带来新的挑战。1996年痢疾志贺菌被WHO认定为给人类带来巨大威胁的耐药性菌株, 因此深入探讨志贺菌的耐多药机制成为目前解决志贺菌耐多药的先决条件。目前, 在向功能基因组学研究过渡中, 蛋白质组学研究成为一种非常有用的工具, 其是解析基因组所表达的真正体现生命活动规律的蛋白质的结构和功能。

宋春花, 郝园林, 张梅喜, 段广才, 郑州大学公共卫生学院流行病学教研室 河南省郑州市 450001

黄志刚, 河北工程大学医学院 河北省邯郸市 056002

宋春花, 在读博士, 主要从事分子流行病学研究。

通讯作者: 段广才, 450001, 河南省郑州市科技大道100号, 郑州大学公共卫生学院流行病学教研室。gcduan@public.zz.ha.cn  
电话: 0371-66969270

收稿日期: 2006-11-07 接受日期: 2007-01-20

## Primary analysis on conjugational transfer multidrug resistance-related proteins of *Shigella flexneri* strain

Chun-Hua Song, Zhi-Gang Huang, Yuan-Lin Xi, Mei-Xi Zhang, Guang-Cai Duan

Chun-Hua Song, Yuan-Lin Xi, Mei-Xi Zhang, Guang-Cai Duan, Department of Epidemiology, College of Public Health, Zhengzhou University, Zhengzhou 450001, He'nan Province, China

Zhi-Gang Huang, Medical College of Hebei Engineering University, Handan 056002, Hebei Province, China

Correspondence to: Medical College of Hebei Engineering University, Handan 056002, Hebei Province, China

Received: 2006-11-07 Accepted: 2007-01-20

## Abstract

**AIM:** To search for the new proteins related to multidrug resistance by comparing the proteomics of whole cellular proteins between sensitive strain and conjugational transfer anti-multidrug strain of *Shigella flexneri*.

**METHODS:** Clinical sensitive *Shigella flexneri* strain was transduced into anti-multidrug strain by conjugational transfer trials. Immobilized pH gradient (IPG) two-dimensional electrophoresis was adopted and the gels were analyzed by Image Master 2D Platinum software. Matrix assisted laser desorption/ionization-time of flight mass spectrometry (MALDI-TOF MS) were used to analyzed differential expression proteins.

**RESULTS:** Conjugational transfer anti-multidrug strain of *Shigella flexneri* was obtained successfully. It was found that there were  $946 \pm 37$  protein spots

in the whole cellular protein 2-DE gels of sensitive strain and  $1013 \pm 157$  protein spots in that of conjugational transfer anti-multidrug strain. A total of 43 differential expression protein spots were found and 5 proteins related to multidrug resistance, including two new proteins (CRISPR-associated protein and heat shock protein chaperone Groel-Groes-Adp7), were identified based on peptide mass fingerprinting. ATP binding cassette transporter protein, cysteine synthase, predicted periplasmic or secreted lipoprotein protein were highly expressed in conjugational transfer anti-multidrug strain.

**CONCLUSION:** Some genes related to multidrug resistance of the donor can be transduced into sensitive strains and expressed highly. Meanwhile, the expression of some important cellular metabolic enzymes is up-regulated, and ATP binding cassette transporter protein plays an significant role in the mechanism of *Shigella flexneri* multidrug resistance.

**Key Words:** *Shigella flexneri*; Multidrug resistance; Proteomics; Two-dimensional electrophoresis; Mass spectrum analysis; Differential expression

Song CH, Huang ZG, Xi YL, Zhang MX, Duan GC. Primary analysis on conjugational transfer multidrug resistance-related proteins of *Shigella flexneri* strain. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2007;15(8):838-843

## 摘要

**目的:** 对志贺菌敏感株与基因转移耐多药株全菌蛋白进行蛋白质组学比较, 寻找细菌耐多药相关蛋白。

**方法:** 采用接合基因转移实验对临床分离鉴定志贺菌敏感株进行基因转移耐多药试验, 并对志贺菌敏感株及基因转移耐多药株全菌蛋白进行双向电泳; 电泳图谱采用Image Master 2D Platinum软件分析, 并对差异表达蛋白进行MOLDI TOF-TOF质谱分析。

**结果:** 成功获得志贺菌基因转移耐多药株, 在志贺菌敏感株与耐多药株全菌蛋白质图谱中分别检测出 $946 \pm 37$ 个和 $1013 \pm 157$ 个蛋白质

斑点; 经分析共发现43个差异表达的蛋白点, 初步对其中5个表达量增加的差异蛋白进行质谱鉴定, 基因转移耐多药株中发现两个新出现的耐多药相关蛋白分别为CRISPR 相关蛋白及Hsp60的分子伴侣蛋白(Groel-Groes-Adp7); ABC转运蛋白、胱氨酸合成酶、预测的胞浆脂蛋白表达量上调。

**结论:** 通过对鉴定的5个耐多药相关蛋白分析初步发现供体菌中一些耐多药相关基因通过基因转移方式插入志贺菌敏感株中并大量表达, 同时一些在细胞代谢中起重要作用的酶类表达量上调, ABC转运蛋白在志贺菌基因转移耐多药机制中也起重要作用。

**关键词:** 志贺菌; 耐多药; 蛋白质组学; 双向电泳; 质谱分析; 差异表达

宋春花, 黄志刚, 郗园林, 张梅喜, 段广才. 志贺菌基因转移耐多药相关蛋白初步分析. 世界华人消化杂志 2007;15(8):838-843  
<http://www.wjgnet.com/1009-3079/15/838.asp>

## 0 引言

志贺菌引起的细菌性痢疾发病率居我国传染病发病率的前3位, 近年来随着抗生素的广泛使用, 甚至滥用, 造成志贺菌频繁发生变异产生耐药株, 且耐药率高、耐药产生速度快、耐药范围广泛, 不断给细菌性痢疾的防治带来新的挑战, 1996年痢疾志贺菌被WHO认定为给人类带来巨大威胁的耐药性菌株, 因此深入探讨志贺菌的耐多药机制成为目前解决志贺菌耐多药的先决条件。本课题拟选用对抗生素敏感的一株志贺菌为受体菌, 以一株耐多药埃希氏大肠杆菌为供体菌, 以接合转移方式构建出耐多药菌株, 通过比较敏感株与基因转移耐多药株蛋白质双向电泳图谱, 研究与志贺菌耐多药相关蛋白, 并对表达差异蛋白进行基质辅助激光解吸飞行时间质谱(MOLDI TOF-TOF)分析和数据库检索, 旨在探索其耐多药机制。

## 1 材料和方法

### 1.1 材料

1.1.1 菌株 (1)标准株: 福氏痢疾杆菌标准株, 菌株号51571-9(中国药品生物制品检定所); (2)敏感株及耐多药埃希氏大肠杆菌: 采用改良K-B纸片法<sup>[1]</sup>, 从临床分离鉴定的志贺菌株中, 筛选1株对头孢噻吩(cephalothin, CF)、诺氟沙

星(norfloxacin, NOR)、庆大霉素(gentamycin, GM)、磺胺甲基异恶唑(cotrimoxazole, SMZ)均敏感的福氏志贺菌作为敏感株; 对以上4种抗生素均耐药的致病性大肠杆菌为接合基因转移实验的供体菌, 标准株作对照。

1.1.2 试剂与仪器 头孢噻吩等抗生素均为标准品(中国药品检验中心)。固相pH梯度干胶条(immobiline pH gradient, IPG, pH3-10, L = 24 cm); IPG缓冲液、IPG覆盖液、两性电解质pharmalyte(pH3-10)、3-[(3-胆酰胺丙基)-乙二胺]-1-丙磺酸[3-(3-cholamidopropyl-dimethylammonio)-1-propanesulfonate, CHAPS] (Amersham Pharmacia公司)。丙烯酰胺、尿素(urea)、二硫苏糖醇(DTT)、碘乙酰胺(IAA)、蛋白酶抑制剂丙甲基磺酰氟(PMSF)、亮抑蛋白酶肽(leupeptin)(美国Sigma公司)。固相pH梯度等电聚焦仪IPGphor IEF System, 垂直板电泳仪、ImageScanner光密度扫描仪、图像分析系统(均为Amersham Pharmacia公司)。

### 1.2 方法

1.2.1 志贺菌敏感株与耐多药大肠埃希菌接合转移实验 将志贺菌敏感株作为受体菌, 耐多药大肠埃希菌作为供体菌, 参照文献2的方案进行, 将供、受体菌分别接种于4 mL LB肉汤37℃过夜, 后按10:1比例混合培养过夜。吸取0.1 mL涂布于含约4倍最低抑菌浓度(minimum inhibitory concentration, MIC)的CF, NOR, GM, SMX的S.S.琼脂, 取无色透明菌落在相同琼脂上传代一次, 再于普通琼脂上活化后测其耐药谱。

1.2.2 蛋白质双向电泳 (1)蛋白提取方法: 采用超声兼Urea-CHAPS-DTT-SB<sub>3-10</sub>裂解提取法<sup>[3]</sup>, 略作改进; (2)可溶性总蛋白定量: 应用Bradford法<sup>[4]</sup>对提取的可溶性总蛋白进行定量; (3)第一相固相pH梯度等电聚焦: 按文献[5]的方案, 程序分别为30 V 7 h, 60 V 7 h, 150 V 0.5 h, 300 V 1 h, 600 V 1 h, 8000 V 12 h; (4)平衡: 按文献[5]的方案; (5)第二相垂直板SDS-PAGE电泳: 按文献[3]的方案; (6)染色: 银染按Amersham Bioscience的银染方案稍作改进<sup>[5]</sup>, 考马斯亮蓝染色按Neuhoff *et al*<sup>[6]</sup>的方法进行; (7)图像扫描分析: 用Amersham Bioscience的扫描仪投射扫描, 分辨率为300 dpi。数字化图像文件运用Image Master 2D Platinum软件分析。图像分析过程包括蛋白质斑点的检测、量化、背景扣除、匹配。蛋白质斑点经自动检测后进行手工校对, 匹配之前先选一块胶作为参考凝胶, 其

## ■研究前沿

细菌产生耐药性不仅可以水平传播, 也可以自身诱导产生, 尤其是细菌的耐多药。细菌耐多药是多基因、多蛋白参与的一个复杂过程, 而目前的研究多局限于某一机制的个别基因及蛋白, 不但难以解释细菌耐多药的全部现象, 更不能全面揭示细菌耐多药的分子基础及机制。因此, 细菌的耐药机制亟待解决。

## ■ 相关报道

Liao *et al*曾对志贺菌标准株作过全菌蛋白质双向电泳,共得到488的个蛋白质点。在研究细菌耐药机制方面,陈川 *et al*在研究嗜水气单胞菌耐四环素的蛋白质组学时发现,ABC转运蛋白在耐药株中表达量显著增加,CRISPR作为细胞中的可移动序列,其表达的蛋白质家族能够形成保守的蛋白簇,在宿主的防御机制、基因复制及调节系统中起重要作用。

他凝胶都与之匹配。

**1.2.3 质谱分析** (1)质谱样品制备:比较双向电泳图谱,找到差异蛋白,切下1 mm<sup>3</sup>含差异蛋白点的凝胶,置于1.5 mL的Eppendorf管中,按文献[7]方法处理样品;(2)质谱鉴定:样品按照1:1的比例,与含有 $\alpha$ -氰基-羟基苯丙氨酸的500 g/L乙腈/1 g/L甲酸的溶液混合。所有质谱在4700型MALDI TOF-TOF蛋白质分析系统下获得。选择反射式阳离子捕获方式,质量精确度为50 mg/L;MS光谱质量范围800-4000 Da。

**1.2.4 数据库检索** 光谱在全球蛋白服务工作站(global protein server workstation, GPS)进行处理和分析;搜索在NCBI nr蛋白数据库进行;鉴定GPS可信区间应>95%。搜索参数设置:相对分子质量误差范围为 $\pm 20\%$ ,肽片段相对分子质量误差范围为 $\pm 0.5$  Da,每个肽允许有1个不完全裂解位点,物种选择细菌;蛋白质身份确定:根据搜索结果并结合蛋白质在凝胶上的等电点和相对分子质量进行最终确定;要求肽段覆盖率>15%,匹配肽段至少4个,等电点和相对分子质量与观察值基本相符。

## 2 结果

**2.1 接合转移耐多药结果** 志贺菌出发菌株的MIC分别为头孢噻吩(CF) 32 mg/L、诺氟沙星(NOR)0.5 mg/L、庆大霉素(GM)2 mg/L、磺胺甲基异恶唑(SMZ)512 mg/L,经与耐多药大肠杆菌接合转移实验后, MIC分别是头孢噻吩256 mg/L、诺氟沙星4.0 mg/L、庆大霉素20 mg/L、磺胺甲基异恶唑5120 mg/L的基因转移耐多药志贺菌。将基因转移后耐多药的志贺菌作药敏试验,结果4种药物的抑菌环直径均为0 cm(标准株主要用于在药敏实验时的质控菌,故其结果未在此列出)。

**2.2 蛋白质双向电泳图谱比较** (1)敏感株:相同实验条件及参数设置情况下,对志贺菌可溶性总蛋白重复3次进行双向电泳分离,发现3次双向电泳图谱非常相似,蛋白质上样量为100  $\mu$ g, pH3-10, 24 cm线性干胶条通过Image Master 2D Platinum分析软件对其进行点检测,获得946 $\pm$ 37个蛋白质斑点(图1A);(2)志贺菌基因转移耐多药株:对志贺菌基因转移耐多药株可溶性总蛋白重复3次进行双向电泳分离,获得3块凝胶的平均蛋白质点数为1013 $\pm$ 157(图1B)。经过背景消减后,将其中一块胶作为参考凝胶进行匹

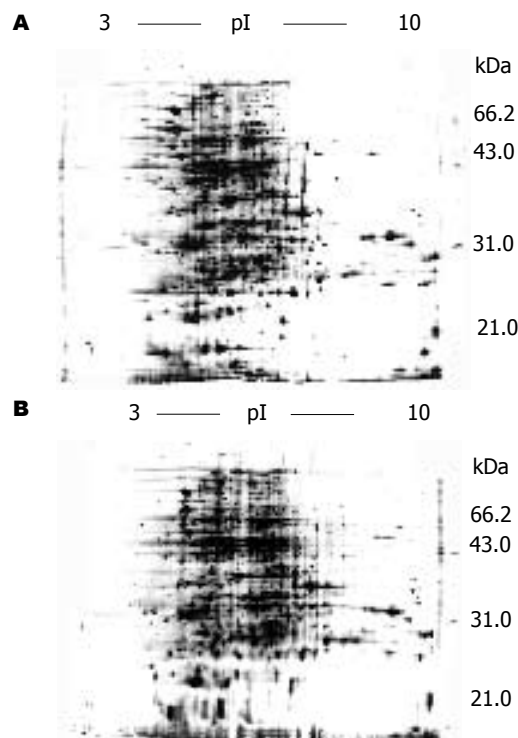


图1 蛋白质双向电泳图谱。A: 志贺菌敏感株蛋白质; B: 志贺菌基因转移耐多药株蛋白质。蛋白质上样量100  $\mu$ g; 第一向pI3-10, 24 cm线性干胶条; 第二向应用125 g/L聚丙烯酰胺凝胶(银染)。

配,匹配点数为998 $\pm$ 24,其匹配率为98.52%。

**2.3 2种菌株蛋白质差异表达谱分析** 以基因转移耐多药株双向凝胶图谱为参考凝胶,与敏感株双向凝胶图谱进行匹配,匹配蛋白质点数为640 $\pm$ 19,匹配率为65.12%,共发现43个差异表达的蛋白点,其中8个蛋白点只存在于基因转移耐多药株中,6个蛋白点只存在于敏感株中,还有29个蛋白点在两株菌株中表达量相差5倍以上,其中22个蛋白点随着志贺菌由敏感株向耐多药株转变而表达量增加,7个蛋白点表达量下降(图2-3)。

**2.4 质谱鉴定结果** 在考马斯亮蓝染色的凝胶上选取5个在基因转移耐多药株表达量增加的差异点进行肽指纹图谱鉴定,其中Z202和Z204为新出现蛋白,Z200,Z201及Z98号点表达量增加(表1)。

## 3 讨论

Liao *et al*<sup>[8]</sup>曾对志贺菌标准株作过全菌蛋白质双向电泳,共得到488的个蛋白质点,Ying *et al*<sup>[9]</sup>及Jennison *et al*<sup>[10]</sup>也分别对其外膜蛋白进行双向电泳,但临床分离志贺菌全菌蛋白质双向电泳图谱尚无文献报导,本研究成功构建了志贺

表 1 志贺菌基因转移耐多药株表达量上调蛋白质谱鉴定结果

蛋白 序号	SWISS-PROT 登陆序列号	最高分	分子量 等电点	序列 覆盖率(%)	蛋白质 (分类)
Z98	NCBI nr gi 75242664	178	59 255 5.96	30	ABC-type dipeptide transport system, periplasmic (Escherichia coli F11)
Z204	NCBI nr gi 76795666	80	34 906 5.23	29	CRISPR-associated protein TM1801 [Thermoanaerobacter ethanolicus ATCC 33223]
Z202	NCBI nr gi 61679964	211	55 124 4.87	49	Chain N, Groel-Groes-Adp7 (Escherichia coli )
Z200	NCBI nr gi 75187168	209	34 484 5.83	71	Cysteine synthase [Escherichia coli E24377A]
Z201	NCBI nr gi 75176024,	84	19 388 5.43	42	Predicted periplasmic or secreted lipoprotein [Shigella boydii BS512]

## ■ 创新盘点

从全蛋白组出发,较全面深入揭示志贺菌耐多药的分子基础,首次构建来自同一临床分离志贺菌敏感株的基因转移耐多药株,排除了非同源差异。通过本研究,初步获得志贺菌基因转移耐多药机制的部分相关蛋白质,其中有一些可能为新发现的耐多药相关蛋白。

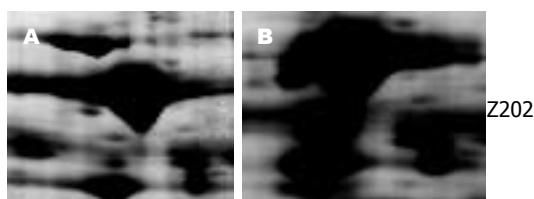


图 2 Z202号蛋白点只存在于基因转移耐多药株。A: 敏感株; B: 基因转移耐多药株。

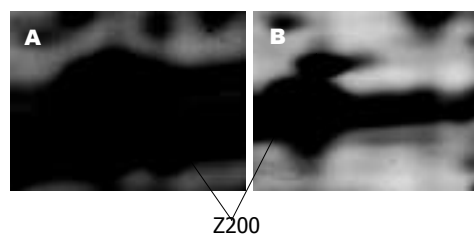


图 3 表达量有差别的蛋白点。Z200号蛋白在基因转移耐多药中表达量增加。A: 基因转移耐多药株; B: 敏感株。

菌的全菌蛋白图谱, 由于我们改进了全菌蛋白提取方法及电泳染色方案, 分别获得946及1013个蛋白质斑点, 远高于Liao *et al*<sup>[8]</sup>报导的488个蛋白质斑点。

Jansen *et al*<sup>[11]</sup>于2002年发现一个新的主要在原核细胞中出现的规律的成簇插入的DNA重复序列(clustered regularly interspaced short palindromic repeats, CRISPR), 片段大小约为21-37 bp, 此可移动重复序列与先前在细菌与古细菌之间发现的横向基因转移成分<sup>[12]</sup>一样, 存在于半数以上的原核生物基因组中, 在基因组上大多有两个以上CRISPR位点, 这些CRISPR与DNA的新陈代谢及基因的表达有关<sup>[11]</sup>。CRISPR作为细胞中的可移动序列, 其表达的蛋白质家族能够形成保守的蛋白簇<sup>[13]</sup>, 在宿主的防御机制<sup>[14-15]</sup>、基因复制及调节系统中<sup>[16-17]</sup>起重要作用。本研究通过对敏感株与基因转移耐多药株双向电泳图谱分析发现, CRISPR相关蛋白为在基因转移耐多药株中新出现蛋白, 可见此短片段DNA重复序列是在基因转移耐多药过程中从供体菌转移入受体菌中, 并在受体菌中表达, 可能为一种新的耐多药相关蛋白, 推测其在耐多药机制中起调节作用, 能增强一些耐多药基因的表达, 从而导致细菌出现耐多药。

Z202号蛋白Hsp60的分子伴侣蛋白(Groel-Groes-Adp7): 分子伴侣蛋白为在生物大分子的折叠、组装、转运及降解等过程中起协助作用, 参与协助抗原的呈递和遗传物质的复制、转录及构象的确立; 参与细胞周期调控、抗衰老、凋亡调控等, 但自身并不发生任何变化的一大类广泛存在于生物体内的蛋白质分子<sup>[18]</sup>。Hartl *et al*<sup>[19]</sup>研究发现, 分子伴侣与新生肽链结合, 阻止新生肽链折叠成天然构象或聚集, 使其保持能够跨膜转运出去的分子构象, 利于跨膜转运。我国杨运桂 *et al*<sup>[20]</sup>研究发现, 在过量表达GroEL的宿主菌中, 周质分泌蛋白总量较对照组提高了约52%, 同时也增加了靶蛋白的溶解性。在本次研究中, 我们发现, 出发菌株志贺菌敏感株并未分离出此蛋白, 但经与耐多药大肠杆菌接合基因转移后, 此蛋白不但出现, 而且表达量很高, 推测在大剂量药物冲击这个应激条件刺激下, 首先编码GroEL的基因通过接合基因转移整合入志贺菌敏感株基因组中, 或通过质粒传递进入敏感株中, 并且在新宿主菌中大量表达, 防止新生的耐多药相关蛋白质发生聚集或折叠, 保证他们的正确构象, 增强耐多药相关蛋白质活性, 籍此适应新的宿主环境。

### ■应用要点

通过本项研究,可以同时获得志贺菌基因转移耐多药机制的相关蛋白质,对阐明细菌耐多药的分子机制、进行耐药监测及控制、开展药物研制都具有重要价值。

ABC外排系统为细菌多重耐药主动流出机制之一,肿瘤细胞膜上此蛋白过量表达,以便药物顺利进入细胞也会很快被泵出,形成多样抗药性<sup>[21-23]</sup>。Jessup *et al*<sup>[24]</sup>发现,ABC转运系统可以把胆固醇从巨噬细胞中排出,陈川 *et al*<sup>[25]</sup>在研究嗜水气单胞菌耐四环素的蛋白质组学时发现ABC转运蛋白在耐药株中表达量显著增加,Loiseau *et al*<sup>[26]</sup>发现,ABC转运系统在利什曼原虫的抗药性中起重要作用。Sipos *et al*<sup>[27]</sup>也发现,ABC转运子在真菌的多药耐受性中起重要作用。此前我们关于志贺菌多重耐药机制研究发现另一主动外排系统acrAB-tolC多重耐药泵在临床多重耐药志贺菌中广泛存在<sup>[28]</sup>,本文结果显示,98号ABC转运蛋白(ATP binding cassette transporter protein)在志贺菌基因转移耐多药株中表达量上调,表明虽然ABC转运蛋白也存在于志贺菌敏感株中,但在志贺菌基因转移耐多药株中表达量明显增加,将结构不同药物泵出胞外,导致胞内药物达不到有效浓度而导致细菌耐多药,可见此蛋白在志贺菌的耐多药机制中也起重要作用。

我们发现,在接合转移耐多药株中Z200号胱氨酸合成酶(cysteine synthase)表达量显著增加:胱氨酸合成酶是生物体内合成胱氨酸的主要酶,有研究表明枯草芽孢杆菌胱氨酸合成酶是与硫同化相关基因表达的一个通用负调控子<sup>[29]</sup>,但胱氨酸合成酶在志贺菌耐多药中的作用机制尚无报导,推测此酶在耐多药机制中起着调控子的作用。质谱分析结果表明201号蛋白为一种预测的胞质脂蛋白,分子量较小为19388 Da,在接合转移株表达量显著增加,说明此胞质脂蛋白在志贺菌接合转移耐多药中起一定作用,可能与药物的转运及多重耐药信号的传导有关,但其与耐多药相关功能尚需进一步作N端或C端测序。

本文从全蛋白组角度探讨志贺菌的基因转移耐多药机制,并且在实验中使用一株出发菌株通过基因转移产生耐多药,排除菌株不同而导致的差异,可比性较高。我们的后续研究将会发现更多与志贺菌基因转移耐多药相关蛋白,从而为志贺菌耐多药分子机制及新型抗菌药物开发研制提供基础资料。

### 4 参考文献

- 1 张朝武,周宜开. 现代卫生检验. 第1版. 北京: 人民卫生出版社, 2005: 762-780
- 2 刘志远,许淑珍,马纪平. 高耐庆大霉素粪肠球菌质

粒接合转移试验的方法探讨. 中华医院感染学杂志 2005; 15: 12-14

- 3 贾继辉,于修平,郭辉玉,张茂修,陈春燕,王红艳. 幽门螺杆菌蛋白质组双向电泳图谱的构建及其相关技术体系的建立. 山东大学学报(医学版) 2003; 41: 225-227
- 4 Marshak DR, Kadonaga JT, Burgess RR, et al. 蛋白质纯化与鉴定实验指南. 朱厚础译. 第1版. 北京: 科学出版社, 2000: 158-159
- 5 Berkelman T, Stensted T. 2-D electrophoresis using immobilized pH gradients: principles & Methods. Amersham Pharmacia Biotech Inc Press, 1998: 14-35
- 6 Neuhoff V, Arold N, Taube D, Ehrhardt W. Improved staining of proteins in polyacrylamide gels including isoelectric focusing gels with clear background at nanogram sensitivity using Coomassie Brilliant Blue G-250 and R-250. Electrophoresis 1988; 9: 255-262
- 7 Shevchenko A, Wilm M, Vorm O, Mann M. Mass spectrometric sequencing of proteins silver-stained polyacrylamide gels. Anal Chem 1996; 68: 850-858
- 8 Liao X, Ying T, Wang H, Wang J, Shi Z, Feng E, Wei K, Wang Y, Zhang X, Huang L, Su G, Huang P. A two-dimensional proteome map of *Shigella flexneri*. Electrophoresis 2003; 24: 2864-2882
- 9 Ying TY, Wang JJ, Wang HL, Feng EL, Wei KH, Huang LY, Huang PT, Huang CF. Immunoproteomics of membrane proteins of *Shigella flexneri* 2a 2457T. World J Gastroenterol 2005; 11: 6880-6883
- 10 Jennison AV, Raqib R, Verma NK. Immunoproteome analysis of soluble and membrane proteins of *Shigella flexneri* 2457T. World J Gastroenterol 2006; 12: 6683-6688
- 11 Jansen R, Embden JD, Gaastra W, Schouls LM. Identification of genes that are associated with DNA repeats in prokaryotes. Mol Microbiol 2002; 43: 1565-1575
- 12 Nelson KE, Clayton RA, Gill SR, Gwinn ML, Dodson RJ, Haft DH, Hickey EK, Peterson JD, Nelson WC, Ketchum KA, McDonald L, Utterback TR, Malek JA, Linher KD, Garrett MM, Stewart AM, Cotton MD, Pratt MS, Phillips CA, Richardson D, Heidelberg J, Sutton GG, Fleischmann RD, Eisen JA, White O, Salzberg SL, Smith HO, Venter JC, Fraser CM. Evidence for lateral gene transfer between Archaea and bacteria from genome sequence of *Thermotoga maritima*. Nature 1999; 399: 323-329
- 13 Haft DH, Selengut J, Mongodin EF, Nelson KE. A guild of 45 CRISPR-associated (Cas) protein families and multiple CRISPR/Cas subtypes exist in prokaryotic genomes. PLoS Comput Biol 2005; 1: e60
- 14 Mojica FJ, Diez-Villasenor C, Garcia-Martinez J, Soria E. Intervening sequences of regularly spaced prokaryotic repeats derive from foreign genetic elements. J Mol Evol 2005; 60: 174-182
- 15 Pourcel C, Salvignol G, Vergnaud G. CRISPR elements in *Yersinia pestis* acquire new repeats by preferential uptake of bacteriophage DNA, and provide additional tools for evolutionary studies. Microbiology 2005; 151: 653-663
- 16 Boysen A, Ellehaug E, Julien B, Sogaard-Andersen L. The DevT protein stimulates synthesis of FruA, a signal transduction protein required for fruiting body morphogenesis in *Myxococcus xanthus*. J Bacteriol 2002; 184: 1540-1546
- 17 Thony-Meyer L, Kaiser D. devRS, an autoregulated and essential genetic locus for fruiting body

- development in *Myxococcus xanthus*. *J Bacteriol* 1993; 175: 7450-7462
- 18 Girshovich AS, Bochkareva ES, Todd MJ, Lorimer GH. On the distribution of ligands within the asymmetric chaperonin complex, GroEL14.ADP7. GroES7. *FEBS Lett* 1995; 366: 17-20
- 19 Hartl FU, Hayer-Hartl M. Molecular chaperones in the cytosol: from nascent chain to folded protein. *Science* 2002; 295: 1852-1858
- 20 杨运桂, 童芹, 郑卫东, 钱友存, 杨胜利, 龚毅. 分子伴侣过量表达对蛋白质分泌及可溶性的影响. *中国生物化学与分子生物学报* 2000; 16: 382-387
- 21 Johnstone RW, Ruefli AA, Smyth MJ. Multiple physiological functions for multidrug transporter P-glycoprotein? *Trends Biochem Sci* 2000; 25: 1-6
- 22 Kim RB. Transporters and xenobiotic disposition. *Toxicology* 2002; 181-182: 291-297
- 23 Ding S, Gong BD, Yu J, Gu J, Zhang HY, Shang ZB, Fei Q, Wang P, Zhu JD. Methylation profile of the promoter CpG islands of 14 "drug-resistance" genes in hepatocellular carcinoma. *World J Gastroenterol* 2004; 10: 3433-3440
- 24 Jessup W, Gelissen IC, Gaus K, Kritharides L. Roles of ATP binding cassette transporters A1 and G1, scavenger receptor BI and membrane lipid domains in cholesterol export from macrophages. *Curr Opin Lipidol* 2006; 17: 247-257
- 25 陈川, 王三英, 彭宣宪. 嗜水气单胞菌耐四环素的蛋白质组学初步研究. *微生物学报* 2004; 44: 396-398
- 26 Loiseau PM, Bories C. Mechanisms of drug action and drug resistance in *Leishmania* as basis for therapeutic target identification and design of antileishmanial modulators. *Curr Top Med Chem* 2006; 6: 539-550
- 27 Sipos G, Kuchler K. Fungal ATP-binding cassette (ABC) transporters in drug resistance & detoxification. *Curr Drug Targets* 2006; 7: 471-481
- 28 杨海燕, 段广才, 郝园林. 主动外排系统acrAB在志贺菌中的分布和表达. *中国公共卫生* 2005; 21: 685-688
- 29 Albanesi D, Mansilla MC, Schujman GE, de Mendoza D. *Bacillus subtilis* cysteine synthetase is a global regulator of the expression of genes involved in sulfur assimilation. *J Bacteriol* 2005; 187: 7631-7638

**■同行评价**

本文初步分析了志贺菌基因转移耐多药相关蛋白, 文章撰写较流畅, 目的明确, 具有一定的指导意义。

电编 李琪 编辑 王晓瑜

ISSN 1009-3079 CN 14-1260/R 2007年版权归世界胃肠病学杂志社

**• 消息 •**

## 中国科学技术信息研究所情报方法研究中心关于 2005年世界华人消化杂志指标检索报告

本刊讯 2005年度《世界华人消化杂志》的总被引频次为2079, 位居全部1652种中国科技论文统计源期刊的第51位, 内科医学类28种期刊的第4位. 2005年《世界华人消化杂志》的影响因子为0.485, 位居全部1652种中国科技论文统计源期刊的第449位, 内科医学类28种期刊的第14位. 《世界华人消化杂志》的即年指标0.070, 他引率0.66, 地区分布数26, 基金论文比0.43, 国际论文比0.02, 学科影响指标0.46. (世界胃肠病学杂志社2007-02-28)