

刘扬扬,马 勋,康立超,等. 食源性单核细胞增生型李斯特菌 *lmoF2365_0032* 基因克隆及序列分析[J]. 江苏农业科学,2020,48(16):74-79.
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2020.16.012

食源性单核细胞增生型李斯特菌 *lmoF2365_0032* 基因克隆及序列分析

刘扬扬¹, 马 勋¹, 康立超², 李红欢¹, 钱凌霄¹, 江婉琳¹, 阮婷玉¹

(1. 石河子大学动物科技学院, 新疆石河子 832000; 2. 新疆农垦科学院分析测试中心, 新疆石河子 832003)

摘要:对食源性单核细胞增生李斯特菌 LM5567 的 *lmoF2365_0032* 基因进行克隆和序列分析,利用 PCR 方法对 *lmoF2365_0032* 基因进行扩增,将扩增产物连接到 pMD19-T 载体上,筛选阳性菌株进行测序比对分析。结果显示,扩增获得的 *lmoF2365_0032* 基因序列长度为 811 bp,克隆得到 *lmoF2365_0032* 基因的阳性转化子;生物信息学分析表明,*lmoF2365_0032* 蛋白属于跨膜蛋白,无信号肽序列;二级结构中无规则卷曲和延伸链结构占比较大,分别是 37.86% 和 36.89%;序列比对结果表明,LM5567 菌株 *lmoF2365_0032* 基因的核苷酸序列与 02-6680 菌株(4b,奶酪,加拿大)、10-0811 菌株(1/2b,螃蟹,加拿大)的相似性均为 99.7%;与 10-0809 菌株(4b,粪便,加拿大)、81-055 菌株(4b,脑脊髓液,加拿大)、02-1103 菌株、02-1792 菌株(4b,奶酪,加拿大)、81-0861 菌株(4b,卷心菜,加拿大)的相似性均为 99.8%;LM5567 *lmoF2365_0032* 基因编码的氨基酸序列与上述菌株相似性均为 94.7%。试验成功克隆了 *lmoF2365_0032* 基因,可为进一步探究 *lmoF2365_0032* 基因功能奠定基础。

关键词:食源性单核细胞增多李斯特菌;*lmoF2365_0032* 基因;PCR;生物信息学分析

中图分类号: S852.61 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2020)16-0074-05

单核细胞增生李斯特菌 (*Listeria monocytogenes*, LM) 是重要的食源性人兽共患李斯特菌病的胞内寄生菌,与大肠杆菌、沙门氏菌、志贺氏菌并称为世界四大食源性致病菌^[1-2]。LM 可突破宿主的肠道屏障、血脑屏障和血胎屏障,临床上引起人和多种动物的脑炎、脑膜炎、败血症、流产及发热性胃肠炎等^[3]。李斯特菌病具有较高的死亡率,免疫功能不全者、孕妇、新生儿及胎儿都是李斯特菌病的易感群体,该病在动物中主要见于牛、羊、骆驼等反刍动物^[4-5]。因此,它对公共安全和畜牧业发展危害极大。

LM 基因组中存在多个毒力因子基因簇,这些基因簇编码的蛋白在感染机体过程中发挥着重要作用。*arc* 基因由 4 部分组成,分别是 *arcA*、*arcB*、*arcC* 和 *arcD*,它们分别编码精氨酸脱亚胺酶系统 (arginine deiminase system, ADS) 中的精氨酸脱亚胺酶 (ADI)、鸟氨酸转氨甲基酶 (OTC)、氨甲酸激酶

(CK) 和精氨酸鸟氨酸逆向转运体^[6]。*arc* 基因编码的蛋白在 LM 调节酸平衡中发挥重要作用,2016 年 Maury 等对 104 株不同来源的代表性 LM 菌株进行全基因组序列分析,挖掘出 15 个高毒力分离株具备而参考菌株不具备的假定毒力因子基因/基因簇,其中包括精氨酸鸟氨酸逆向转运体基因,但是与以往研究结果不同的是,编码精氨酸鸟氨酸逆向转运体的基因除了 *arcD* 外,还有 3 个未知功能的基因,其中就包括 *lmoF2365_0032* 基因^[7]。为此,对笔者所在实验室保存的 LM 进行了检测,发现 54 株食源性单核细胞增生李斯特菌中只有 19 株可以检测到 *lmoF2365_0032* 基因。*arc* 基因编码的未知功能的蛋白是否与精氨酸代谢、抗酸应激以及毒力有关,目前尚不清楚。

本试验克隆分析编码精氨酸/鸟氨酸逆向转运体的 *lmoF2365_0032* 基因,并对其进行生物信息学分析,旨在为进一步探究食源性单核细胞增生李斯特菌精氨酸鸟氨酸逆向转运体基因的功能奠定基础。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 菌株和质粒 单核细胞增生李斯特菌

收稿日期:2019-09-09

基金项目:国家自然科学基金(编号:31860712)。

作者简介:刘扬扬(1994—),男,河南太康人,硕士研究生,主要从事人兽共患致病机制与防控研究。E-mail:2054107629@qq.com。

通信作者:马 勋,博士,教授,主要从事病原微生物分子诊断、致病机理研究。E-mail:maxun779@126.com。

LM5567 菌株分离自新疆农垦科学院;大肠杆菌 (*Escherichia coli*) DH5 α ,购自北京全式金生物技术有限公司。

1.1.2 主要试剂和仪器 PCR Mix、ddH₂O、DL 2 000 DNA Marker,均购自广州东盛生物科技有限公司;脑心浸液培养基(BHI),购自青岛高科技园海博生物技术有限公司;LB 培养基,购自青岛高科技园海博生物技术有限公司;细菌基因组 DNA 提取试剂盒,购自天根生化科技(北京)有限公司;PCR 仪(Bio-Rad MyCycler thermal);电泳系统和凝胶成像系统(BIO-RAD-2000),购自美国 Bio-Rad 公司。

1.1.3 引物设计与合成 根据文献[4]中提供的 Gene (Locus tag),运用 Primer 5.0 软件自行设计编码 LM5567 菌株精氨酸鸟氨酸逆向转运蛋白的 *lmoF2365_0032* 基因的特异性引物,引物序列为 5'-TTTGGACCGACTTGATTG-3'(F)、5'-ACCCA CAAATGCGATAGA-3'(R),预期扩增片段长度为 811 bp,引物由北京六合华大基因科技有限公司合成。

1.2 方法

1.2.1 菌株培养和基因组 DNA 的提取 将 LM5567 菌株从 -80 ℃ 保存条件下取出,接种于 BHI 平板上,37 ℃ 培养 16~18 h,挑取单菌落接种于 BHI 液体培养基中,37 ℃、180 r/min 培养 16~18 h,采用 1.5 mL 试管收集菌体,参考细菌基因组 DNA 提取试剂盒说明书提取 LM5567 菌株的全基因组 DNA,于 -20 ℃ 条件下保存备用。

1.2.2 PCR 检测 PCR 扩增体系:模板 DNA 2 μ L,上下游引物各 1 μ L,2 \times PCR Mix 10 μ L,加 ddH₂O 至体积 20 μ L。PCR 扩增程序:95 ℃ 预变性 5 min;95 ℃ 变性 40 s,50 ℃ 退火 45 s,72 ℃ 延伸 1 min,72 ℃ 再延伸 10 min,共 30 个循环;4 ℃ 保存 60 min。

1.2.3 PCR 扩增产物的检测 PCR 扩增产物的电泳检测:琼脂糖凝胶加溴化乙锭(EB)染色,将 10 μ L PCR 扩增产物及 DL 2 000 marker 上样后进行电泳,电压为 150 V,电流为 50 mA,25 min 后在凝胶成像仪下观察电泳结果。

1.2.4 目的基因克隆及测序 PCR 扩增产物经琼脂糖凝胶电泳检测后,纯化回收目的条带,将回收产物与 pMD19-T 载体过夜连接,采用冷热激法将连接产物转化至大肠杆菌 DH5 α 感受态细胞中,涂

布于含 Amp^r (100 μ g/mL) 的 LB 固体培养基平板上,37 ℃ 培养 12~16 h。筛选出阳性克隆菌,将鉴定的阳性克隆菌送北京六合华大基因科技有限公司测序。

1.2.5 生物信息学分析 利用 ProtParam 软件 (<http://web.expasy.org/protparam/>) 分析基因序列的基本理化性质,利用 SignalP 4.1 Server 软件 (<http://www.cbs.dtu.dk/services/SignalP/>) 预测蛋白质的信号肽;利用 TMHMM 软件 (<http://www.cbs.dtu.dk/services/TMHMM-2.0/>) 在线分析蛋白质跨膜结构;利用 SOPMA 软件 (https://npsa-prabi.ibcp.fr/cgi-bin/npsa_automat.pl?page=npsa_sopma.html) 和 SWISS-MODEL 软件 (<http://swissmodel.expasy.org/>) 分别预测蛋白质二级结构和三级结构。

2 结果与分析

2.1 *lmoF2365_0032* 基因 PCR 扩增和克隆测序

利用特异性引物扩增 *lmoF2365_0032* 基因,PCR 产物经 1% 琼脂糖凝胶电泳检测,在 811 bp 处有单一清晰条带,与 *lmoF2365_0032* 基因扩增产物预期大小一致(图 1)。经克隆转化后,将验证为阳性菌的质粒提取物送至北京六合华大基因科技有限公司测序,经测序进一步验证,成功获得序列长度为 811 bp 的 *lmoF2365_0032* 基因阳性转化子。

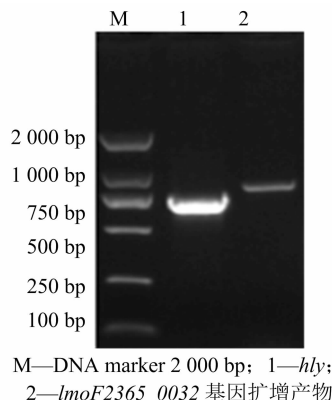


图1 LM5567 *lmoF2365_0032* 基因 PCR 扩增结果

2.2 *lmoF2365_0032* 编码蛋白的理化性质分析

利用 ExPASy 在线软件中编码 ProtParam 工具分析 LM5567 *lmoF2365_0032* 基因编码蛋白的理化性质,得出该蛋白理论等电点为 8.51,分子量为 22 973.62,原子组成是 C₁₀₅₀ H₁₆₈₅ N₂₅₃ O₃₁₄ S₃,脂肪系数是 101.75,总疏水性平均数是 -0.124,负电荷氨基酸残基(Asp + Glu) 22 个,正电荷氨基酸残基

(Arg + Lys)24 个,不稳定系数是 23.31 (<40 为稳定蛋白),属于稳定蛋白。

2.3 *lmoF2365_0032* 编码蛋白信号肽和跨膜区分析

利用 SignalP 4.1 Server 软件(<http://www.cbs.dtu.dk/services/SignalP/>)预测 *lmoF2365_0032* 蛋

白质的信号肽,结果(图 2)表明,*lmoF2365_0032* 蛋白无信号肽,属于非分泌蛋白。利用 TMHMM 软件(<http://www.cbs.dtu.dk/services/TMHMM-2.0/>)分析蛋白质跨膜结构,结果(图 3)显示,*lmoF2365_0032* 为跨膜蛋白,跨膜区位于 7~29 氨基酸处。

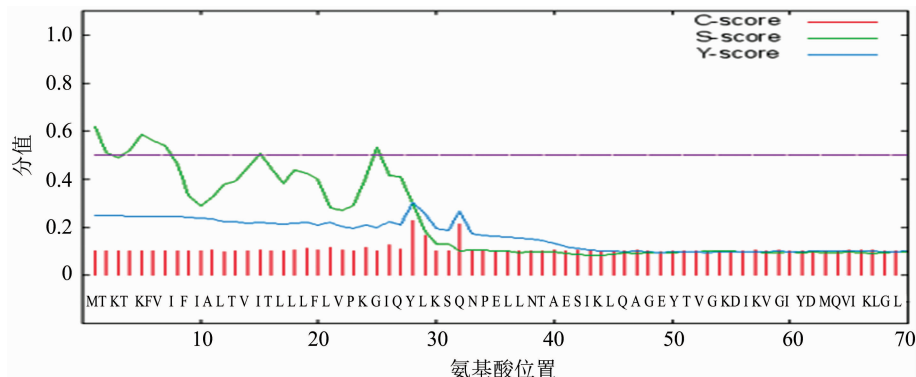


图2 *lmoF2365_0032* 蛋白的信号肽分析

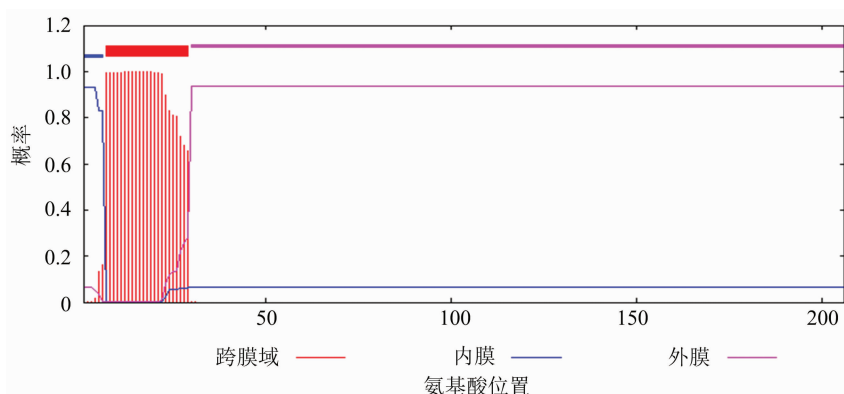


图3 *lmoF2365_0032* 蛋白跨膜区域分析

2.4 *lmoF2365_0032* 基因核苷酸序列同源性比对

将测序得到的结果进行序列拼接,得到 LM5567 菌株的 *lmoF2365_0032* 基因的核苷酸序列,将其与 GenBank 上公布的 6 株不同来源的 *lmoF2365_0032* 基因的核苷酸序列进行同源性比对,结果(图 4)显示,LM5567 菌株的 *lmoF2365_0032* 基因的核苷酸序列与 02-6680 菌株(4b, 奶酪, 加拿大)、10-0811 菌株(1/2b, 螃蟹, 加拿大)相似性均为 99.7%;与 10-0809 菌株(4b, 粪便, 加拿大)、81-055 菌株(4b, 脑脊髓液, 加拿大)、02-1103 菌株、02-1792 菌株(4b, 奶酪, 加拿大)、81-0861 菌株(4b, 卷心菜, 加拿大)的相似性为 99.8%。

2.5 *lmoF2365_0032* 基因序列编码氨基酸同源性比对

利用 DNSstar 软件推导出的 LM5567 菌株

lmoF2365_0032 基因编码的氨基酸序列与 GenBank 上公布的 6 株不同来源的 *lmoF2365_0032* 基因编码的氨基酸序列进行同源性比对,结果(图 5)显示,LM5567 菌株 *lmoF2365_0032* 基因编码的氨基酸序列与 02-6680 菌株(4b, 奶酪, 加拿大)、10-0811 菌株(1/2b, 螃蟹, 加拿大)、10-0809 菌株(4b, 粪便, 加拿大)、81-055 菌株(4b, 脑脊髓液, 加拿大)、02-1103 菌株、02-1792 菌株(4b, 奶酪, 加拿大)、81-0861 菌株(4b, 卷心菜, 加拿大)的相似性均为 94.7%。

2.6 *lmoF2365_0032* 蛋白的二级和三级结构预测

通过 SOPMA 软件对 LM5567 菌株 *lmoF2365_0032* 蛋白的二级结构进行预测,结果(图 6)发现,*lmoF2365_0032* 蛋白的二级结构包含 15.53% 的 α -螺旋(含 32 个氨基酸),37.86% 的无规则卷曲(含

核酸一致性									
	1	2	3	4	5	6	7	8	
误差	1		99.7	99.7	99.8	99.8	99.8	99.8	1
	2	0.3		100.0	99.8	99.8	99.8	99.8	2
	3	0.3	0.0		99.8	99.8	99.8	99.8	3
	4	0.2	0.2	0.2		100.0	100.0	100.0	4
	5	0.2	0.2	0.2	0.0		100.0	100.0	5
	6	0.2	0.2	0.2	0.0	0.0		100.0	6
	7	0.2	0.2	0.2	0.0	0.0	0.0		7
	8	0.2	0.2	0.2	0.0	0.0	0.0	0.0	8
	1	2	3	4	5	6	7	8	

L. monocytogenes 5567.sep
L. monocytogenes 02-6680.sep
L. monocytogenes 10-0811.seq
L. monocytogenes serotype 10-0809
L. monocytogenes serotype 81-055
L. monocytogenes serotype 02-1103
L. monocytogenes serotype 02-1792
L. monocytogenes serotype 81-0861

图4 不同菌株 *lmoF2365_0032* 基因核苷酸序列同源性比对

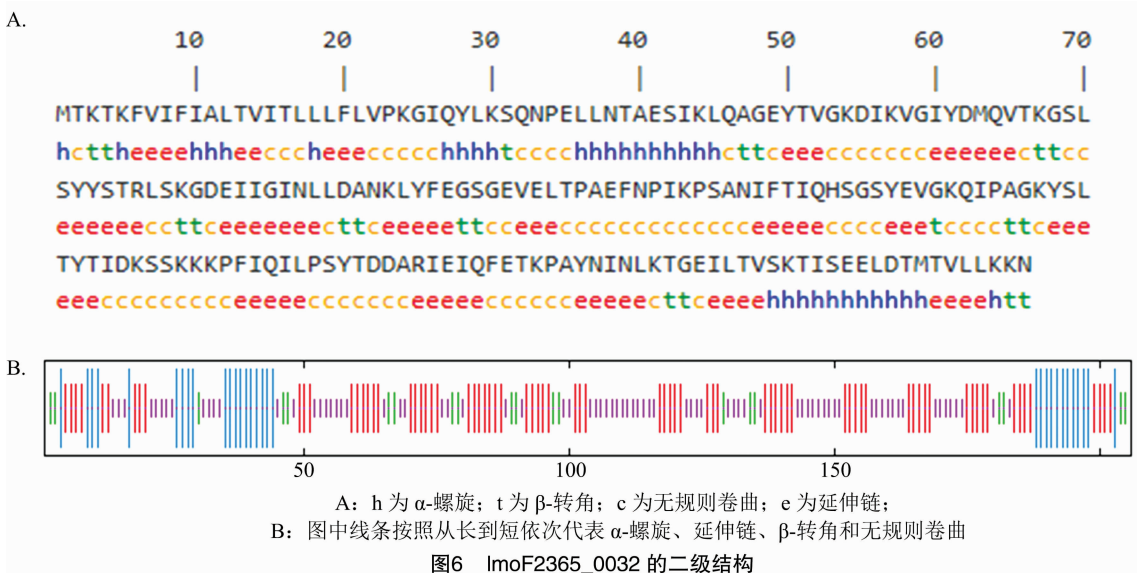
氨基酸一致性									
	1	2	3	4	5	6	7	8	
误差	1		94.7	94.7	94.7	94.7	94.7	94.7	1
	2	0.5		95.7	95.2	95.2	95.2	95.2	2
	3	0.5	0.0		95.2	95.2	95.2	95.2	3
	4	0.5	0.0	0.0		95.2	95.2	95.2	4
	5	0.5	0.0	0.0	0.0		95.2	95.2	5
	6	0.5	0.0	0.0	0.0	0.0		95.2	6
	7	0.5	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0		7
	8	0.5	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	8
	1	2	3	4	5	6	7	8	

L. monocytogenes 5567.sep
L. monocytogenes 02-6680.sep
L. monocytogenes 10-0811.seq
L. monocytogenes serotype 10-0809
L. monocytogenes serotype 81-055
L. monocytogenes serotype 02-1103
L. monocytogenes serotype 02-1792
L. monocytogenes serotype 81-0861

图5 不同菌株 *lmoF2365_0032* 基因编码的氨基酸序列同源性比对

78 个氨基酸), 36.89% 的延伸链结构(含 76 个氨基酸)和 9.71% 的 β -转角(含 20 个氨基酸)(图 6)。

通过 SWISS-MODEL 分析平台预测该蛋白的三级结构(图 7), 进一步验证了二级结构的预测。

图6 *lmoF2365_0032* 的二级结构

3 讨论

单核细胞增生李斯特菌广泛存于自然界、食品加工各环节,能够耐受高盐、高渗、高温、酸性和碱性环境。其中,在酸性环境中的存活尤为关键,*LM* 经污染的饲草料和食品等进入人和动物机体后,首

先遭遇的就是胃肠道的低 pH 值环境,被巨噬细胞吞噬后,吞噬体内也有一个酸化过程,过酸环境不利于该细菌的存活,因此单核细胞增生李斯特菌必须具备有效维持 pH 值平衡的机制,以保证其在酸性环境中存活^[8]。*arc* 基因编码的精氨酸脱亚胺酶系统(ADS)中的蛋白在 *LM* 调节酸平衡中发挥重

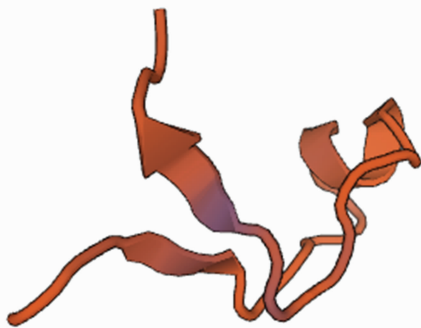


图7 LM5567 lmoF2365_0032 蛋白的三级结构预测

要作用^[9]。*lmoF2365_0032* 基因是编码精氨酸鸟氨酸逆向转运蛋白的基因之一,因此推测其有助于细菌在酸性条件下存活。

ADS 存在于革兰阳性菌和革兰阴性菌中。ADS 作用的发挥需要一个转运蛋白和 3 个酶,首先由 *arcD* 编码的精氨酸鸟氨酸逆向转运蛋白从细胞外摄取精氨酸进入细胞内,接着由 *arcA* 编码的精氨酸脱亚氨酶(ADI)将精氨酸分解为鸟氨酸和氨,鸟氨酸在 *arcB* 编码的鸟氨酸转氨甲酰基酶的作用下生成鸟苷和氨甲酰磷酸盐,然后由 *arcC* 编码的氨甲酰激酶将氨甲酰磷酸盐的磷酸基团转移给二磷酸腺苷(ADP)产生能量腺嘌呤核苷三磷酸(ATP)^[10]。由此可见,一方面细菌可通过 ADS 摄取胞外的精氨酸产生 ATP,促进细菌生长繁殖,另一方面当细菌处于酸性环境时,ADS 产生的氨可与细胞质中的氢离子结合为铵离子,从而提高细胞质中的 pH 值,在一定程度上减轻酸应激的伤害。

ADS 除了在抗酸应激中发挥重要作用外,在许多细菌的致病性中也具有重要作用。Evans 等的沙门菌生长动力学试验表明,*arcA* 参与鞭毛的生物合成、趋化因子的基因表达调控^[11]。Ma 等在禽大肠杆菌(APEC)雏鸭模型中发现,APEC 野毒株致死率高于 *arcA* 缺失株;与野毒株相比,*arcA* 缺失株脑组织的载菌量大幅度下降,说明 *arcA* 基因的缺失可显著降低 APEC 在雏鸭模型中的毒力^[12]。Thao 等通过血清杀伤试验表明,*arcA* 是嗜血杆菌抗血清和逃避补体的必要条件^[13]。Gupta 等发现,肺炎链球菌 *arcD* 的缺失增强了 A549 细胞和巨噬细胞的吞噬能力,且免疫荧光检测发现,该突变体还表现出荚膜受损,表明 *arcD* 不仅可能在抗吞噬中发挥作用,而且可能参与荚膜的形成^[14]。陈健舜等构建了李斯特菌 10403 的 *arcA*、*arcB*、*arcD* 缺失株,发现缺失株对 Hela 细胞的黏附和侵袭没有影响,但是会降低小

鼠的脾内载菌数,使半数致死剂量(LD₅₀)高于亲本株,说明 *arcA*、*arcB* 和 *arcD* 与细菌毒力相关^[15]。但食源性单核细胞增生李斯特菌 lmoF2365_0032 蛋白的功能未见相关报道。

本研究采用 PCR 方法从食源性单核细胞增生李斯特菌 LM5567 菌株中克隆了 *lmoF2365_0032* 基因,经测序、拼接、分析比对得到,*lmoF2365_0032* 基因的全长序列为 811 bp。同源性比对分析显示,LM5567 菌株 *lmoF2365_0032* 基因的核苷酸序列与 4b 血清型菌株相似性较高,为 99.8%,其次与 1/2b 血清型菌株相似性为 99.7%,其编码的氨基酸序列相似性为 94.7%。LM5567 菌株 lmoF2365_0032 蛋白的理化性质分析显示,该蛋白是一种偏碱性(等电点理论值为 8.51)、稳定(不稳定指数为 23.31 < 40.00,为稳定性蛋白)、亲水性蛋白质。lmoF2365_0032 蛋白结构域分析显示,该蛋白为跨膜蛋白,无信号肽区域,属于非分泌蛋白;lmoF2365_0032 蛋白的二级结构预测结果显示,lmoF2365_0032 蛋白的二级结构包含 15.53% 的 α -螺旋(含 32 个氨基酸),37.86% 的无规则卷曲(含 78 个氨基酸),36.89% 的延伸链结构(含 76 个氨基酸)和 9.71% 的 β -转角(含 20 个氨基酸),其中以无规则卷曲和延伸链结构为主;lmoF2365_0032 蛋白具有高度亲水性,由此推断该蛋白与抗酸应激有关。

本研究首次克隆了 *lmoF2365_0032* 基因,并利用生物学软件对其结构和功能进行预测,为今后研究该蛋白与 LM5567 菌株致病作用的关系提供了理论基础。

参考文献:

- [1] 丘增萍,谢强,况伟,等. 2013 年梅州市餐饮业自制食品微生物污染检测与分析[J]. 中国药事,2015,29(4):353-356.
- [2] 马微,潘秀霞,李苏龙,等. 进口俄罗斯食品中食源性微生物的检测分析[J]. 食品安全质量检测学报,2016,7(12):5069-5073.
- [3] Swaminathan B, Gerner - Smidt P. The epidemiology of human listeriosis[J]. Microbes and Infection,2007,9:1236-1243.
- [4] 张春琳,张家国. 单增李斯特菌增殖的影响因素研究[J]. 食品研究与开发,2011,32(7):48-53.
- [5] 吴学林,曹树珠,马勋. 单核细胞增生性李斯特菌 *srtA* 基因的克隆与原核表达[J]. 石河子大学学报(自然科学版),2015,33(2):196-200.
- [6] Sakanaka A, Kuboniwa M, Takeuchi H, et al. Arginine - ornithine antiporter *arcD* controls arginine metabolism and interspecies biofilm development of *Streptococcus gordonii* [J]. Journal of Biological Chemistry,2015,290(35):21185-21198.

赵园园,孟金柱. SCF 在绵羊黑色素细胞中的表达研究[J]. 江苏农业科学,2020,48(16):79-81.
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2020.16.013

SCF 在绵羊黑色素细胞中的表达研究

赵园园, 孟金柱

(铜仁学院农林工程与规划学院, 贵州铜仁 554300)

摘要:表皮内干细胞因子(stem cell factor, 简称 SCF)是由角化细胞合成并分泌到细胞间隙,参与黑色素细胞存活、增殖和黑色素生成。为确定黑色素细胞能否合成 SCF,分离培养绵羊的皮肤黑色素细胞,并运用免疫荧光技术对黑色素细胞内 SCF 进行检测,结果显示,分离培养的黑色素细胞特征明显,且在黑色素细胞中检测到存在 SCF 蛋白。据此可以推测黑色素细胞也能合成 SCF,它在黑色素细胞存活、增殖和黑色素生成中发挥重要作用。

关键词:绵羊;黑色素;形态特征;干细胞因子(SCF);表达定位

中图分类号:S826.1 **文献标志码:**A **文章编号:**1002-1302(2020)16-0079-03

干细胞因子(stem cell factor, 简称 SCF)又被称为肥大细胞因子或 c-kit 配体,是一种膜锚定的非共价结合二聚体,通过与 c-kit 受体结合进行信号转导,是造血干细胞、生殖细胞、黑色素细胞和肥大细胞迁移、存活和增殖所必需的^[1]。SCF mRNA 通过选择性剪接形成 2 个不同的跨膜前体,可对细胞表面蛋白酶的敏感性进行区分。较大的剪接变体(SCF-M1)包含 1 个蛋白水解位点,可迅速产生

可溶性 SCF 蛋白(S-SCF),而较小的剪接变体(SCF-M2)缺乏这个蛋白水解位点,可形成膜结合形式 SCF 蛋白(M-SCF)。然而,较小的剪接变异体的替代水解位点也会被加工,但效率很低。S-SCF 调控黑色素前体细胞的迁移,相对地,M-SCF 向表皮黑色素细胞传递导向、存活和增殖信号^[2]。

先前的研究表明,表皮 SCF 是由角化细胞衍生形成的,通过与黑色素细胞膜上的 c-kit 结合影响黑色素细胞的存活、迁移和增殖以及黑色素合成^[3]。为明确 SCF 在黑色素细胞中的表达部位,本研究分离培养绵羊黑色素细胞,并用免疫荧光对绵羊皮肤黑色素细胞中的 SCF 蛋白的表达进行定位研究,以期为进一步研究其在黑色素细胞存活、增殖及色素生成中的作用提供基础。

收稿日期:2019-11-11

基金项目:铜仁学院博士启动基金(编号:trxyDH1601);铜仁市科技计划(编号:铜市科研[2017]39号、铜市科研[2016]18号-1)。

作者简介:赵园园(1987—),女,河北邢台人,博士,副教授,主要从事动物遗传育种与繁殖研究。E-mail:84840293@163.com。

通信作者:孟金柱,硕士,讲师,主要从事动物遗传育种与繁殖研究。E-mail:mjz122021@126.com。

[7]Maury M M, Tsai Y H, Charlier C, et al. Uncovering listeria monocytogenes hypervirulence by harnessing its biodiversity [J]. Nature Genetics, 2016, 6(48):308-311.

[8]Cotter P D, Hill C. Surviving the acid test: responses of gram-positive bacteria to low pH [J]. Microbiology & Molecular Biology Reviews Mmbr, 2003, 67(3):429-453.

[9]Wong S M S, Michael F S, Cox A, et al. ArcA-regulated glycosyltransferase lic2B promotes complement evasion and pathogenesis of nontypeable *Haemophilus influenzae* [J]. Infection & Immunity, 2011, 79(5):1971-1983.

[10]叶保国,滕士勇,李新白,等. Arc 基因表达及甲基化与幼龄鼠和成年鼠空间记忆形成的相关性[J]. 中国生物制品学杂志, 2013, 26(3):363-367.

[11]Evans M R, Fink R C, Vazquez-Torres A, et al. Analysis of the ArcA regulon in anaerobically grown *Salmonella enterica* sv.

typhimurium [J]. BMC Microbiology, 2011, 11(1):58.

[12]Ma J L, An C X, Jiang F W, et al. Extraintestinal pathogenic *Escherichia coli* increase extracytoplasmic polysaccharide biosynthesis for serum resistance in response to bloodstream signals [J]. Molecular Microbiology, 2018, 110(5):689-706.

[13]Thao S, Brandl M T, Cater M Q. Enhanced formation of shiga toxin-producing *Escherichia coli* persister variants in environments relevant to leafy greens production [J]. Food Microbiology, 2019, 84:103241.

[14]Gupta R, Yang J, Dong Y M, et al. Deletion of *arcD* in *Streptococcus pneumoniae* D39 impairs its capsule and attenuates virulence [J]. Infection and Immunity, 2013, 81(10):3903-3911.

[15]陈健舜,方维焕,张才乔. 精氨酸亚胺酶系统对单增李斯特菌致病力的影响及其分子作用机制[C]//2010 中国博士后生命科学学术论坛, 2010.