



志贺菌研究进展

彭俊平, 杨剑, 金奇*

中国医学科学院病原生物学研究所, 病毒基因工程国家重点实验室, 北京 100176

* 联系人, E-mail: zdsys@vip.sina.com

收稿日期: 2009-11-12; 接受日期: 2009-12-20

国家自然科学基金(批准号: 30700033)和国家重点基础研究发展计划(批准号: 2005CB522904 和 2009CB522603)资助项目

摘要 志贺菌是革兰氏阴性、胞内兼性厌氧菌, 它引起的志贺菌病对人类健康造成重大影响。全球每年有 1.6 亿病例, 其中死亡 110 万。志贺菌可分为 4 个血清群: 痢疾志贺菌、福氏志贺菌、鲍氏志贺菌和宋内志贺菌。各血清群代表株全基因组测序工作的完成, 使得相关研究进入了全基因组时代。本文简要总结了志贺菌在基因组学、转录组学、蛋白质组学和结构生物学方面的研究进展。

关键词

志贺菌
基因组学
转录组学
蛋白质组学
结构生物学

志贺菌病(Shigellosis), 也称杆菌性痢疾, 是一种主要由志贺菌(*Shigella* spp.)引起的急性直肠-结肠炎。临床症状表现为水样泻, 黏液脓血便, 里急后重, 部分患者有剧烈头痛、嗜睡、意识模糊、惊厥等神经症状。据统计, 全世界每年的痢疾病例有 1.647 亿, 其中 1.632 亿在发展中国家, 并导致 110 万人死亡^[1], 5 岁以下儿童是主要受害者。最近有研究认为, 痢疾的危害远大于此^[2]。贫穷国家痢疾高发主要是由于缺少洁净饮水、卫生条件差、营养不良和抗生素治疗成本高等原因。此外, 由于临床上多耐药菌株的出现使痢疾的危害更加严重^[3]。因此, 研发有效的疫苗十分重要^[4]。

志贺菌是革兰氏阴性菌, 无荚膜, 无动力, 兼性厌氧, 分为 4 个血清群: A 群为痢疾志贺菌(*Shigella dysenteriae*), 有 15 个血清型; B 群为福氏志贺菌(*Shigella flexneri*), 有 14 个血清型或亚型; C 群为鲍氏志贺菌(*Shigella boydii*), 有 20 个血清型; D 群为宋内志贺菌(*Shigella sonnei*), 只有 1 个血清型。志贺菌一直被视为一个独立的菌属, 但是大量的研究表明, 志贺菌是从多个独立的大肠杆菌(*Escherichia coli*)起源,

并经过趋同进化而形成的^[5-9]。只有少量特征可以将志贺菌从侵袭性大肠杆菌(enteroinvasive *Escherichia coli*), 同样可引起杆菌性痢疾)中分开。Wirth 等人^[10]指出, 所有志贺菌可能来自于侵袭性大肠杆菌序列型(sequence type, ST)270 群或 280 群。

目前, 志贺菌各群代表株的基因组均已被破译^[8,9,11-15], 还有另外 5 个基因组测序计划(包括侵袭性大肠杆菌)正在进行(表 1)。大量基因组数据的获得促使高通量技术(如 DNA 微阵列和质谱)的迅速发展和广泛应用, 从而更加深入研究基因组所包含的信息。在后基因组时代, 功能基因组学, 蛋白质组学和结构生物学研究将在深入探索细胞功能方面发挥巨大作用。之前, 大量优秀的综述系统总结了志贺菌分子致病机制和进化方面的研究进展^[16-23], 本文简要总结一下志贺菌在基因组学、转录组学、蛋白质组学和结构生物学方面的研究进展。

1 志贺菌的基因组

志贺菌由一条环状染色体和一个环状毒力大质

表 1 志贺菌和侵袭性大肠杆菌基因组信息^{a)}

已完成测序工作的志贺菌全基因组信息							
血清型	<i>S.dysenteriae</i> 1	<i>S. flexneri</i> 2a	<i>S. flexneri</i> 2a	<i>S. flexneri</i> 5	<i>S. boydii</i> 4	<i>S. boydii</i> 18	<i>S. sonnei</i>
菌株	Sd197	Sf301	2457T	Sf8401	Sb227	BS512	Ss046
染色体长度(碱基对)	4369232	4607203	4599354	4574284	4519823	4615997	4825265
G+C 含量(%)	51.25	50.89	50.91	50.92	51.21	51	51.01
可读框数目	4557	4434	4456	4316	4353	4246	4434
假基因数目	285	254	372	198	217	537	210
编码区(%)	77.2	80.4	77.2	81	80.5	76	80.5
核糖体 RNA 数目(16S/23S/5S)	7/7/8	7/7/8	7/7/8	7/7/8	7/7/8	7/7/8	7/7/8
转运 RNA 数目	85	97	99	97	91	102	97
插入序列数目(占染色体长度的百分比)	623(12%)	314(7%)	280(7%)	278(6.3%)	403(9%)	无相关数据	394(8%)
毒力大质粒	PSD1_197	PCP301	PINV-2457T	pWR100 [†]	pSB4_227	pBS512_211	pSS_046
长度(碱基对)	182726	221618	~218000	213494	126697	210919	214396
可读框数目	224	267	ND	104 [†]	149	242	241
G+C 含量(%)	44.80	45.77	ND	45.67	47.41	46	45.27
插入序列数目(%)	78(27%)	88(32%)	ND	122(36%)	72(38%)	NA	96(33%)
参考文献	[8]	[9]	[12]	[11,13]	[8]	*	[8,14]
正在进行的基因组测序计划(截止 2009 年 10 月)							
血清型	<i>S.dysenteriae</i> 1	<i>S.dysenteriae</i> 4	<i>S. sonnei</i>	<i>Shigella</i> spp.	EIEC O144		
菌株	M131649	1012	53G	D9	53638		
基因组长度(兆碱基对)	4.9	5.2	5.2	4.7	5.1		
状态	序列拼接	序列拼接	完成	序列拼接	序列拼接		
测序单位	英国桑格测序中心	美国 J. Craig Venter 研究所	英国桑格测序中心	Broad 研究所	美国 J. Craig Venter 研究所		

a) * 数据未发表, GenBank 登录号 CP001063; † pWR100 是 *S. flexneri* 5 菌株 M90T 的毒力大质粒, 仅预测了插入序列之外的可读框

粒组成。已知的志贺菌染色体大小在 4.3~4.8 Mb 之间, GC 含量约 51%(表 1)。尽管志贺菌的染色体通过水平转移分别获得了大量的群特异性、血清型特异性或菌株特异性的基因, 但其仍与大肠杆菌有约 3 Mb 共同的“核心序列”。与大肠杆菌 K-12 相比, 志贺菌染色体有一些大于 5 kb 的基因重排(反转和易位)。在“核心序列”中, 存在大量由于提前终止、移码突变、插入序列插入或截断所造成的假基因。插入序列约占志贺菌染色体的 6%~12%, 占毒力大质粒的 27%~38%。

有毒力的志贺菌都有一个约 220 kb 的大质粒, 由毒力基因、维持基因、插入序列和推测基因组成。所有已测序的毒力大质粒均有几乎一致的复制起点和维持基因。大质粒上一个约 30 kb 的片段(细胞侵袭区), 编码了一个 Mxi-SpaIII 型分泌系统、侵袭相关基因、分子伴侣基因和转录激活因子。所有毒力大质粒的细胞侵袭区均被 IS100 和 IS600 包围, 表明有一个共同的原始毒力大质粒传递到志贺菌所有血清群。

2 比较基因组杂交

随着大量微生物基因组测序工作的完成, 进入了全基因组研究的时代。不过, 大量的证据表明, 绝大多数的细菌在进化过程中表现出意想不到的多样性。由于全基因组测序仍然昂贵且费时费力, 比较基因组杂交成为研究基因组可塑性和多样性的有力工具。事实上, 已有大量研究采用此方法在细菌中研究临床分离株、疫苗株的差别以及物种多样性, 包括大肠杆菌^[24,25]、肠道沙门菌(*Salmonella enterica*)^[26,27]、幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*)^[28]、空肠弯曲菌(*Campylobacter jejuni*)^[29,30]、牛分枝杆菌(*Mycobacterium bovis*)^[31]、流行性脑膜炎球菌(*Neisseria meningitidis*)^[32,33]等。

Fukiya 等人^[34]使用大肠杆菌 K-12 菌株 W3110 的全基因组微阵列在 22 株致病大肠杆菌和志贺菌中进行了比较基因组杂交研究。研究发现, 大肠杆菌的共同骨架序列包含约 2800 个可读框。在全基因组微阵列所包含的 4071 可读框中, 有 1424 个至少在一个研究的致病菌株中缺失。分别有 716, 533 和 613 个可读框在所研究的福氏志贺菌、鲍氏志贺菌和宋内志贺菌中缺失。研究结果发现, 致病菌株由于发生插入和缺失而表现得差异较大。此外, 还发现大肠杆菌 K-12

基因组中原噬菌体基因、细胞膜基因、转运基因和调节基因常常在致病菌株中缺失。但不足之处是此研究仅包含了 3 株志贺菌。

为了深入探索志贺菌基因组多样性和毒力进化, Peng 等人^[7]构建了包含大肠杆菌 K-12 菌株 MG1655 所有预测基因和志贺菌染色体特异基因的微阵列, 非冗余的总基因数达 5122。研究中使用了 43 株来自不同血清型的志贺菌菌株。研究结果指出, 志贺菌的共同骨架序列包含约 1900 个可读框, 平均有 726 个大肠杆菌 K-12 菌株 MG1655 的可读框在志贺菌菌株中缺失, 此发现与基因组研究所发现的志贺菌经历了还原进化一致。大肠杆菌基因组中的细胞运动性基因、细胞膜基因、碳水化合物代谢与转运基因等常常在志贺菌菌株中缺失。缺失区域呈现镶嵌分布的形式表明, 插入和缺失现象导致志贺菌的基因组表现出多变性。此研究在一定程度上反映了志贺菌基因组的多样性和单个菌株基因组的进化情况。非常有趣的是, 根据比较基因组杂交结果所做的进化分析指出志贺菌可分为 3 个主要簇和 5 个分支, 这个结果与染色体看家基因序列分析的结果一致^[5,35], 证实志贺菌是从多个独立的大肠杆菌起源, 并经过趋同进化而形成的。同时, 也表明单核苷酸多态性和基因获得与缺失密切相关, 共同作用促进了志贺菌的形成和环境适应。

3 转录组学

志贺菌能够侵袭人和灵长类动物的结肠和直肠上皮细胞。在侵袭过程中志贺菌的基因表达情况一直是研究热点, 完整的志贺菌基因组信息的获得更促进了相关研究。福氏志贺菌侵袭肠上皮细胞、巨噬细胞和树突细胞后, 进入细胞质。为了深入探索志贺菌感染机制, Lucchini 等人^[36]使用‘ShEcoli’微阵列进行了福氏志贺菌感染人上皮 HeLa 细胞和巨噬细胞样细胞——U937 细胞的转录组学研究。通过比较胞内感染和胞外培养的基因表达谱发现, 分别有 929 和 1060 个基因在感染 HeLa 细胞和 U937 细胞时表达上调和下调。特别是毒力大质粒上的与志贺菌侵袭密切相关的 *ipa-mxi-spa* 基因簇在感染两个细胞系时均明显表达下调。这个现象在鼠伤寒沙门氏菌(*Salmonella enterica* serovar Typhimurium)^[37]和大肠杆菌 O157^[38]感染哺乳细胞时也发现过。研究者指出, *ipa-mxi-spa*

簇基因的表达下调也许是肠道病原菌成功感染哺乳细胞后的共同表现, 同时他们也发现表达上调的基因更多地来自于志贺菌岛(*Shigella islands*), 表明这些基因对侵袭后的过程非常重要.

目前认为, 携带基本毒力基因的原始毒力大质粒的获得是志贺菌形成的关键过程. Le Gall 等人^[39]研究了志贺菌野生菌株在培养温度为 30 和 37℃ 的条件下以及 *virF*, *virB*, *mxiE*, *ipaB*, *ipaB mxiE* 和 *orf81* 等基因突变体在 37℃ 培养条件下, 71 个毒力基因的表达情况. 研究发现Ⅲ型分泌系统的作用物可分为分别受控于 VirB 和 MxiE 的以及同时受控于两者的 3 类^[39].

最近还有不同研究小组利用 DNA 微阵列对志贺菌生长于不同条件下的基因表达谱进行了研究, 例如: 药物处理^[40], pH 改变^[41]和功能分析等^[42~46](表 2). 此外, 有研究发现志贺菌和侵袭性大肠杆菌的表达谱相似, 表明选择的压力促使生长于相同细胞内环境的两种细菌表现得相近^[47].

4 蛋白质组学

志贺菌全基因组测序工作完成后, 质谱开始应用于志贺菌蛋白质组学研究, 且大都集中于引起痢疾地方流行的福氏 2a 菌株. Wei 等人^[48]采用优化的方法研究福氏志贺菌的膜蛋白. 他们在研究中鉴定了 666 个蛋白, 包括 159 个整合膜蛋白、35 个外膜蛋白和 114 个推测蛋白. 深入分析后发现, 大部分鉴定的蛋白与细胞膜合成、能量制造与转化相关. 此研究不仅使人们了解了志贺菌福氏 2a 的膜蛋白的全貌, 也

为膜蛋白的功能研究奠定了基础.

利用质谱技术从越来越复杂的混合物中鉴定越来越小的蛋白是蛋白质组学发展的主要推动力. Wei 等人^[49]利用鸟枪蛋白质组学和寡核苷酸微阵列技术进行了鉴定以往基因组注释工作中遗漏的小分子量蛋白质的探索研究. 研究表明, 高通量、‘bottom-up’串连质谱法是鉴定小可读框(<100 个氨基酸)的有力工具. 此研究在福氏 2a 301 株中发现了 4 个没有预测的全新的小可读框. 该方法将有助于进一步进行基因组精确注释工作.

此外, 有部分研究工作着眼于可能成为疫苗研究候选物的免疫膜蛋白^[50~53]. Peng 等人^[50]开展了免疫原相关蛋白研究, 发现了 7 个免疫原性外膜蛋白和 6 个免疫原性可溶蛋白. 在这 13 个蛋白中, 有 12 个是该研究首次报道具有免疫原性. Ying 等人^[52]使用蛋白质组技术和数据库分析的方法研究了福氏 2a 2457T 株的外膜蛋白和胞外蛋白, 并鉴定了 87 个蛋白. 此外发现了 8 个新抗原, 其中部分可能成为疫苗研究的候选蛋白. 最近, Pieper 等人^[54]在研究痢疾志贺菌时发现了一些代谢修饰和侵袭蛋白高表达现象.

5 结构生物学

毒力相关蛋白的原子结构信息可以增进人们对志贺菌发病机制的了解. 许多革兰氏阴性病原体(包括志贺菌)利用Ⅲ型分泌系统将毒力蛋白注入人体细胞. Lario 等人^[55]率先鉴定了分泌物先导蛋白 MxiM 的晶体结构, 该蛋白在多个细菌分泌系统均有

表 2 使用 DNA 微阵列研究志贺菌在不同条件下的基因表达情况

微阵列类型	菌株	研究目的	参考文献
cDNA	福氏志贺菌 2a 菌株 301	研究福氏志贺菌侵袭人上皮 HeLa 细胞和巨噬细胞样细胞——U937 细胞时基因表达情况	[36]
cDNA	福氏志贺菌菌株 M90T-Sm 和部分基因突变体	研究毒力大质粒上毒力基因表达情况	[39]
cDNA	福氏志贺菌 2a 菌株 301	研究呋喃唑酮作用于福氏志贺菌的情况	[40]
cDNA	福氏志贺菌 2a 菌株 301	研究福氏志贺菌在 pH 改变的条件下的基因表达情况	[41]
cDNA	痢疾志贺菌 A1 菌株 197	研究铁转运相关基因 <i>iroN</i> 和 <i>shuA</i> 的功能	[42]
cDNA	福氏志贺菌 2a 菌株 301 和 <i>sitC</i> 突变体	研究福氏志贺菌在铁缺乏环境下的基因表达情况	[43]
寡核苷酸和 cDNA	20 株大肠杆菌和志贺菌菌株	研究福氏志贺菌中 Fur 所调控基因的功能	[44]
寡核苷酸	野生型福氏志贺菌菌株 M90T 和 <i>shiA</i> 突变体	研究志贺菌中毒力因子 <i>shiA</i> 的功能	[45]
寡核苷酸	痢疾志贺菌菌株	研究痢疾志贺菌中小 RNA <i>ryhB</i> 的功能	[46]
寡核苷酸	10 株大肠杆菌和志贺菌菌株	研究转录组多样性在细菌环境适应性方面的作用	[47]

直系同源蛋白。他们使用多波长反常散射法(multi-wavelength anomalous diffraction, MAD)解析硒代甲硫氨酸标记的单晶体,发现 MxiM 呈圆锥形,尺寸为 40×30×30 Å。在新发现的‘cracked barrel’中观察到一个深的疏水腔,提供了一个细菌脂类酰基链的特异性结合区域。此研究为探索分泌物先导蛋白在分泌复合物组装过程中的作用奠定了基础。多个研究小组在志贺菌III型分泌系统组成部分的晶体结构方面做了大量工作,鉴定了部分蛋白的结构(表 3),包括 MxiH^[56], MxiD-MxiM 复合物^[57], MxiC^[58], VirA^[59,60], IpaD^[61], IpaH^[62], IpaH3^[63], IpgC^[64], Spa15^[65] 和 Spa40^[66]等。

此外,III型分泌系统之外的一些蛋白质的结构也有报道,例如 DsbA(氧化还原酶)^[67], Tgt(tRNA-鸟嘌呤葡萄糖基转移酶)^[68], DEBP(细胞质 1-天冬氨酸/1-谷氨酸结合蛋白)^[69], O 抗原片段^[70], CutCm(铜原子内环境稳定蛋白)^[71], 二腺苷四磷酸水解酶^[72]和推测蛋白 YfiH^[73]等。

6 展望

在将来的研究中,基因组精确注释,致病机制,流行病学调查,疫苗研发,分子进化等可能成为研究热点。

基因组测序工作完成之后的基因组注释工作对最大限度地挖掘基因组信息十分重要。目前,大量的实验方法和计算方法被用来进行基因的注释工作。但那些小可读框由于难以预测和筛选而往往被遗漏。

因此完成对基因组进行完整而精确的注释工作还任重而道远。近年来,小非编码 RNA(small non-coding RNA)作为一种普遍存在的调控子而引起广泛兴趣。在细菌中,这些小非编码 RNA 又称为小 RNA(small RNA, sRNA)。由于小 RNA 不编码蛋白,且较小,从而经常在注释工作中被遗漏。目前有多个研究小组在进行相关研究。

致病机制研究一直是研究的热点。志贺菌侵袭人和灵长类动物的肠上皮细胞,在细胞内繁殖并在细胞内和细胞间散,导致急性黏膜炎症。大量新技术的应用将极大促进本领域的研究。

志贺菌病对贫穷国家影响重大,因此需要最新的、可靠的流行病学数据来指导防控工作。准确鉴别病原体是传染病流行病学监测的关键。目前有多种鉴定志贺菌的新方法成为传统方法的有力补充,包括一些基于 PCR 原理的方法^[74~76], DNA 微阵列方法^[77~79]和蛋白微阵列方法^[80]。不过,这些方法的可行性和可靠性还有待于进一步评价。

目前,结合疫苗、减毒活疫苗,亚单位疫苗等多种疫苗正在开发,但是仍没有有效的预防志贺菌病的疫苗。临床上大量耐药菌株的出现使得疫苗开发刻不容缓^[4]。

大量的证据表明志贺菌和侵袭性大肠杆菌起源于多个大肠杆菌祖先,两者组成一个致病变型(pathovar)。不过,在大肠杆菌进化研究方面有多个理论,彼此缺乏一致性。因此只有在大量的大肠杆菌(包括志贺菌)基因组被破译后,采用严谨的比较基因组分析才能解决这一问题。

表 3 志贺菌III型分泌系统中结构已测定的蛋白

蛋白质	蛋白质数据库编号	实验方法	参考文献	在III型分泌系统中的作用
MxiM	1Y9L, 1Y9T	X 射线衍射	[55]	先导蛋白, 指导基体外膜环的插入和稳定过程
MxiH	2CA5	X 射线衍射	[56]	III型分泌系统针状亚单位
MxiM-MxiD 复合物	2JW1	核磁共振	[57]	先导蛋白——分泌物复合物
Spa40	2VT1	X 射线衍射	[66]	基体成分
MxiC	2VIX, 2VJ4, 2VJ5	X 射线衍射	[58]	控制底物特异性
VirA	3EE1, 3EB8	X 射线衍射	[59,60]	效应物, 半胱氨酸蛋白酶
IpaD	2J0O, 2J0N	X 射线衍射	[61]	效应物, 侵袭蛋白
IpaH	3CKD	X 射线衍射	[62]	效应物, E3 泛素连接酶
IpaH3	3CVR	X 射线衍射	[63]	效应物, E3 泛素连接酶
OspF	3I0U	X 射线衍射	未发表	效应物
IpgC	3GYZ, 3GZ1	X 射线衍射	[64]	伴侣分子
Spa15	1RY9	X 射线衍射	[65]	伴侣分子

参考文献

- 1 Kotloff K L, Winickoff J P, Ivanoff B, et al. Global burden of *Shigella* infections: implications for vaccine development and implementation of control strategies. *Bull World Health Organ*, 1999, 77: 651—666
- 2 von Seidlein L, Kim D R, Ali M, et al. A multicentre study of *Shigella diarrhoea* in six Asian countries: disease burden, clinical manifestations, and microbiology. *PLoS Med*, 2006, 3: e353
- 3 Ashkenazi S, Levy I, Kazaronovski V, et al. Growing antimicrobial resistance of *Shigella isolates*. *J Antimicrob Chemother*, 2003, 51: 427—429
- 4 Sansonetti P J. Shigellosis: an old disease in new clothes? *PLoS Med*, 2006, 3: e354
- 5 Pupo G M, Lan R, Reeves P R. Multiple independent origins of *Shigella* clones of *Escherichia coli* and convergent evolution of many of their characteristics. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2000, 97: 10567—10572
- 6 Pupo G M, Karaolis D K, Lan R, et al. Evolutionary relationships among pathogenic and nonpathogenic *Escherichia coli* strains inferred from multilocus enzyme electrophoresis and *mdh* sequence studies. *Infect Immun*, 1997, 65: 2685—2692
- 7 Peng J, Zhang X, Yang J, et al. The use of comparative genomic hybridization to characterize genome dynamics and diversity among the serotypes of *Shigella*. *BMC Genomics*, 2006, 7: 218
- 8 Yang F, Yang J, Zhang X, et al. Genome dynamics and diversity of *Shigella* species, the etiologic agents of bacillary dysentery. *Nucleic Acids Res*, 2005, 33: 6445—6458
- 9 Jin Q, Yuan Z, Xu J, et al. Genome sequence of *Shigella flexneri* 2a: insights into pathogenicity through comparison with genomes of *Escherichia coli* K12 and O157. *Nucleic Acids Res*, 2002, 30: 4432—4441
- 10 Wirth T, Falush D, Lan R, et al. Sex and virulence in *Escherichia coli*: an evolutionary perspective. *Mol Microbiol*, 2006, 60: 1136—1151
- 11 Buchrieser C, Glaser P, Rusniok C, et al. The virulence plasmid pWR100 and the repertoire of proteins secreted by the type III secretion apparatus of *Shigella flexneri*. *Mol Microbiol*, 2000, 38: 760—771
- 12 Wei J, Goldberg M B, Burland V, et al. Complete genome sequence and comparative genomics of *Shigella flexneri* serotype 2a strain 2457T. *Infect Immun*, 2003, 71: 2775—2786
- 13 Nie H, Yang F, Zhang X, et al. Complete genome sequence of *Shigella flexneri* 5b and comparison with *Shigella flexneri* 2a. *BMC Genomics*, 2006, 7: 173
- 14 Jiang Y, Yang F, Zhang X, et al. The complete sequence and analysis of the large virulence plasmid pSS of *Shigella sonnei*. *Plasmid*, 2005, 54: 149—159
- 15 Venkatesan M M, Goldberg M B, Rose D J, et al. Complete DNA sequence and analysis of the large virulence plasmid of *Shigella flexneri*. *Infect Immun*, 2001, 69: 3271—3285
- 16 Jennison A V, Verma N K. *Shigella flexneri* infection: pathogenesis and vaccine development. *FEMS Microbiol Rev*, 2004, 28: 43—58
- 17 Lan R, Reeves P R. *Escherichia coli* in disguise: molecular origins of *Shigella*. *Microbes Infect*, 2002, 4: 1125—1132
- 18 Sansonetti P J. Rupture, invasion and inflammatory destruction of the intestinal barrier by *Shigella*, making sense of prokaryote-eukaryote cross-talks. *FEMS Microbiol Rev*, 2001, 25: 3—14
- 19 Schroeder G N, Hilbi H. Molecular pathogenesis of *Shigella* spp.: controlling host cell signaling, invasion, and death by type III secretion. *Clin Microbiol Rev*, 2008, 21: 134—156
- 20 Parsot C. *Shigella* type III secretion effectors: how, where, when, for what purposes? *Curr Opin Microbiol*, 2009, 12: 110—116
- 21 Peng J, Yang J, Jin Q. The molecular evolutionary history of *Shigella* spp. and enteroinvasive *Escherichia coli*. *Infect Genet Evol*, 2009, 9: 147—152
- 22 Ray K, Marteyn B, Sansonetti P J, et al. Life on the inside: the intracellular lifestyle of cytosolic bacteria. *Nat Rev Microbiol*, 2009, 7: 333—340
- 23 Galluzzi L, Kroemer G. *Shigella* targets the mitochondrial checkpoint of programmed necrosis. *Cell Host Microbe*, 2009, 5: 107—109
- 24 Dobrindt U, Agerer F, Michaelis K, et al. Analysis of genome plasticity in pathogenic and commensal *Escherichia coli* isolates by use of DNA arrays. *J Bacteriol*, 2003, 185: 1831—1840
- 25 Ogura Y, Ooka T, Asadulghani, et al. Extensive genomic diversity and selective conservation of virulence-determinants in

- enterohemorrhagic *Escherichia coli* strains of O157 and non-O157 serotypes. *Genome Biol*, 2007, 8: R138
- 26 Chan K, Baker S, Kim C C, et al. Genomic comparison of *Salmonella enterica* serovars and *Salmonella bongori* by use of an *S. enterica* serovar typhimurium DNA microarray. *J Bacteriol*, 2003, 185: 553—563
- 27 Porwollik S, Wong R M, McClelland M. Evolutionary genomics of *Salmonella*: gene acquisitions revealed by microarray analysis. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2002, 99: 8956—8961
- 28 Salama N, Guillemin K, McDaniel T K, et al. A whole-genome microarray reveals genetic diversity among *Helicobacter pylori* strains. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2000, 97: 14668—14673
- 29 Dorrell N, Mangan J A, Laing K G, et al. Whole genome comparison of *Campylobacter jejuni* human isolates using a low-cost microarray reveals extensive genetic diversity. *Genome Res*, 2001, 11: 1706—1715
- 30 Taboada E N, Acedillo R R, Carrillo C D, et al. Large-scale comparative genomics meta-analysis of *Campylobacter jejuni* isolates reveals low level of genome plasticity. *J Clin Microbiol*, 2004, 42: 4566—4576
- 31 Behr M A, Wilson M A, Gill W P, et al. Comparative genomics of BCG vaccines by whole-genome DNA microarray. *Science*, 1999, 284: 1520—1523
- 32 Peng J, Yang L, Yang F, et al. Characterization of ST-4821 complex, a unique *Neisseria meningitidis* clone. *Genomics*, 2008, 91: 78—87
- 33 Peng J, Zhang X, Shao Z, et al. Characterization of a new *Neisseria meningitidis* serogroup C clone from China. *Scan J Infect Dis*, 2008, 40: 63—66
- 34 Fukiya S, Mizoguchi H, Tobe T, et al. Extensive genomic diversity in pathogenic *Escherichia coli* and *Shigella* strains revealed by comparative genomic hybridization microarray. *J Bacteriol*, 2004, 186: 3911—3921
- 35 Yang J, Nie H, Chen L, et al. Revisiting the molecular evolutionary history of *Shigella* spp. *J Mol Evol*, 2007, 64: 71—79
- 36 Lucchini S, Liu H, Jin Q, et al. Transcriptional adaptation of *Shigella flexneri* during infection of macrophages and epithelial cells: insights into the strategies of a cytosolic bacterial pathogen. *Infect Immun*, 2005, 73: 88—102
- 37 Eriksson S, Bjorkman J, Borg S, et al. *Salmonella typhimurium* mutants that downregulate phagocyte nitric oxide production. *Cell Microbiol*, 2000, 2: 239—250
- 38 Dahan S, Knutton S, Shaw R K, et al. Transcriptome of enterohemorrhagic *Escherichia coli* O157 adhering to eukaryotic plasma membranes. *Infect Immun*, 2004, 72: 5452—5459
- 39 Le Gall T, Mavris M, Martino M C, et al. Analysis of virulence plasmid gene expression defines three classes of effectors in the type III secretion system of *Shigella flexneri*. *Microbiology*, 2005, 151: 951—962
- 40 Fu H, Leng W, Wang J, et al. Transcriptional profile induced by furazolidone treatment of *Shigella flexneri*. *Appl Microbiol Biotechnol*, 2007, 77: 657—667
- 41 Cheng F, Wang J, Peng J, et al. Gene expression profiling of the pH response in *Shigella flexneri* 2a. *FEMS Microbiol Lett*, 2007, 270: 12—20
- 42 宾文, 刘墨青, 彭俊平, 等. 痢疾志贺菌 A1 型 IroN, ShuA 单、双突变体的构建及功能分析. *中国科学 C 辑: 生命科学*, 2006, 36: 255—260
- 43 刘墨青, 刘红, 孙立连, 等. 福氏 2a 志贺氏菌 sitC 插入突变体的构建、检测及微阵列分析. *中国科学 C 辑: 生命科学*, 2005, 35: 68—76
- 44 Oglesby A G, Murphy E R, Iyer V R, et al. Fur regulates acid resistance in *Shigella flexneri* via RyhB and ydeP. *Mol Microbiol*, 2005, 58: 1354—1367
- 45 Ingersoll M A, Zychlinsky A. ShiA abrogates the innate T-cell response to *Shigella flexneri* infection. *Infect Immun*, 2006, 74: 2317—2327
- 46 Murphy E R, Payne S M. RyhB, an iron-responsive small RNA molecule, regulates *Shigella dysenteriae* virulence. *Infect Immun*, 2007, 75: 3470—3477
- 47 Le Gall T, Darlu P, Escobar-Paramo P, et al. Selection-driven transcriptome polymorphism in *Escherichia coli/Shigella species*. *Genome Res*, 2005, 15: 260—268
- 48 Wei C, Yang J, Zhu J, et al. Comprehensive proteomic analysis of *Shigella flexneri* 2a membrane proteins. *J Proteome Res*, 2006, 5: 1860—1865
- 49 Wei C, Peng J, Xiong Z, et al. Subproteomic tools to increase genome annotation complexity. *Proteomics*, 2008, 8: 4209—4213

- 50 Peng X, Ye X, Wang S. Identification of novel immunogenic proteins of *Shigella flexneri* 2a by proteomic methodologies. *Vaccine*, 2004, 22: 2750—2756
- 51 Ying T, Wang J, Wang H, et al. Immunoproteomics of membrane proteins of *Shigella flexneri* 2a 2457T. *World J Gastroenterol*, 2005, 11: 6880—6883
- 52 Ying T, Wang H, Li M, et al. Immunoproteomics of outer membrane proteins and extracellular proteins of *Shigella flexneri* 2a 2457T. *Proteomics*, 2005, 5: 4777—4793
- 53 Jennison A V, Raqib R, Verma N K. Immunoproteome analysis of soluble and membrane proteins of *Shigella flexneri* 2457T. *World J Gastroenterol*, 2006, 12: 6683—6688
- 54 Pieper R, Zhang Q, Parmar P P, et al. The *Shigella dysenteriae* serotype 1 proteome, profiled in the host intestinal environment, reveals major metabolic modifications and increased expression of invasive proteins. *Proteomics*, 2009, 9: 5029—5045
- 55 Lario P I, Pfuetzner R A, Frey E A, et al. Structure and biochemical analysis of a secretin pilot protein. *EMBO J*, 2005, 24: 1111—1121
- 56 Deane J E, Roversi P, Cordes F S, et al. Molecular model of a type III secretion system needle: implications for host-cell sensing. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2006, 103: 12529—12533
- 57 Okon M, Moraes T F, Lario P I, et al. Structural characterization of the type-III pilot-secretin complex from *Shigella flexneri*. *Structure*, 2008, 16: 1544—1554
- 58 Deane J E, Roversi P, King C, et al. Structures of the *Shigella flexneri* type 3 secretion system protein MxiC reveal conformational variability amongst homologues. *J Mol Biol*, 2008, 377: 985—992
- 59 Davis J, Wang J, Tropea J E, et al. Novel fold of VirA, a type III secretion system effector protein from *Shigella flexneri*. *Protein Sci*, 2008, 17: 2167—2173
- 60 Germane K L, Ohi R, Goldberg M B, et al. Structural and functional studies indicate that *Shigella* VirA is not a protease and does not directly destabilize microtubules. *Biochemistry*, 2008, 47: 10241—10243
- 61 Johnson S, Roversi P, Espina M, et al. Self-chaperoning of the type III secretion system needle tip proteins IpaD and BipD. *J Biol Chem*, 2007, 282: 4035—4044
- 62 Singer A U, Rohde J R, Lam R, et al. Structure of the *Shigella* T3SS effector IpaH defines a new class of E3 ubiquitin ligases. *Nat Struct Mol Biol*, 2008, 15: 1293—1301
- 63 Zhu Y, Li H, Hu L, et al. Structure of a *Shigella* effector reveals a new class of ubiquitin ligases. *Nat Struct Mol Biol*, 2008, 15: 1302—1308
- 64 Lunelli M, Lokareddy R K, Zychlinsky A, et al. IpaB-IpgC interaction defines binding motif for type III secretion translocator. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2009, 106: 9661—9666
- 65 van Eerde A, Hamiaux C, Perez J, et al. Structure of Spa15, a type III secretion chaperone from *Shigella flexneri* with broad specificity. *EMBO Rep*, 2004, 5: 477—483
- 66 Deane J E, Graham S C, Mitchell E P, et al. Crystal structure of Spa40, the specificity switch for the *Shigella flexneri* type III secretion system. *Mol Microbiol*, 2008, 69: 267—276
- 67 Paxman J J, Borg N A, Horne J, et al. The structure of the bacterial oxidoreductase enzyme DsbA in complex with a peptide reveals a basis for substrate specificity in the catalytic cycle of DsbA enzymes. *J Biol Chem*, 2009, 284: 17835—17845
- 68 Ritschel T, Atmanene C, Reuter K, et al. An integrative approach combining noncovalent mass spectrometry, enzyme kinetics and X-ray crystallography to decipher Tgt protein-protein and protein-RNA interaction. *J Mol Biol*, 2009, 393: 833—847
- 69 Hu Y, Fan C, Fu G, et al. Crystal structure of a glutamate/aspartate binding protein complexed with a glutamate molecule: structural basis of ligand specificity at atomic resolution. *J Mol Biol*, 2008, 382: 99—111
- 70 Vulliez-Le Normand B, Saul F A, Phalipon A, et al. Structures of synthetic O-antigen fragments from serotype 2a *Shigella flexneri* in complex with a protective monoclonal antibody. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2008, 105: 9976—9981
- 71 Zhu D, Zhu Y, Huang R, et al. Crystal structure of the copper homeostasis protein (CutCm) from *Shigella flexneri* at 1.7 Å resolution: the first structure of a new sequence family of TIM barrels. *Proteins*, 2005, 58: 764—768
- 72 Wang Q, Hu W, Gao W, et al. Crystal structure of the diadenosine tetraphosphate hydrolase from *Shigella flexneri* 2a. *Proteins*, 2006, 65: 1032—1035

- 73 Kim Y, Maltseva N, Dementieva I, et al. Crystal structure of hypothetical protein YfiH from *Shigella flexneri* at 2Å resolution. *Proteins*, 2006, 63: 1097—1101
- 74 Aranda K R, Fagundes-Neto U, Scaletsky I C. Evaluation of multiplex PCRs for diagnosis of infection with diarrheagenic *Escherichia coli* and *Shigella* spp. *J Clin Microbiol*, 2004, 42: 5849—5853
- 75 Brandal L T, Lindstedt B A, Aas L, et al. Octaplex PCR and fluorescence-based capillary electrophoresis for identification of human diarrheagenic *Escherichia coli* and *Shigella* spp. *J Microbiol Methods*, 2007, 68: 331—341
- 76 Yang Y, Song M, Park S J, et al. Direct detection of *Shigella flexneri* and *Salmonella typhimurium* in human feces by real-time PCR. *J Microbiol Biotechnol*, 2007, 17: 1616—1621
- 77 Li Y, Liu D, Cao B, et al. Development of a serotype-specific DNA microarray for identification of some *Shigella* and pathogenic *Escherichia coli* strains. *J Clin Microbiol*, 2006, 44: 4376—4383
- 78 Jin D, Qi H, Chen S, et al. Simultaneous detection of six human diarrheal pathogens by using DNA microarray combined with tyramide signal amplification. *J Microbiol Methods*, 2008, 75: 365—368
- 79 Li Y, Cao B, Liu B, et al. Molecular detection of all 34 distinct O-antigen forms of *Shigella*. *J Microbiol Methods*, 2009, 58: 69—81
- 80 Keasey S L, Schmid K E, Lee M S, et al. Extensive antibody cross-reactivity among infectious gram-negative bacteria revealed by proteome microarray analysis. *Mol Cell Proteomics*, 2009, 8: 924—935