

# 单核细胞增生李斯特菌 PrfA 蛋白转录调控 毒力基因表达的分子机制

罗勤<sup>1\*</sup> 张晓莉<sup>1</sup> 李兵<sup>1</sup> 冯爱平<sup>2</sup> 钱跃<sup>2</sup>

(1. 华中师范大学生命科学学院 武汉 430079)  
(2. 华中科技大学附属协和医院皮肤科 武汉 430022)

**摘要:** 单核细胞增生李斯特菌 (*Listeria monocytogenes* LM) 属于典型的细胞内寄生革兰氏阳性菌, 是WHO公布的四大食源性致病菌之一。LM不仅是人畜共患传染病李斯特菌病 (listeriosis) 的主要病原菌, 也是研究胞内感染和细胞介导的免疫应答的模式细菌。绝大多数LM毒力基因的转录表达受到PrfA蛋白的调控。本文简单介绍了LM侵染宿主细胞必需的毒力基因及其产物; 重点对毒力基因调节蛋白PrfA的结构和功能, PrfA调节毒力基因表达的主要方式最新进展进行了综述和讨论。

**关键词:** 单核细胞增生李斯特菌, PrfA蛋白, 毒力基因, 表达调控

## Regulation of PrfA-dependent Virulence Genes Expression in *Listeria monocytogenes*

LUO Qin<sup>1\*</sup> ZHANG Xiao-Li<sup>1</sup> LI Bing<sup>1</sup> FENG Ai-Ping<sup>2</sup> QIAN Yue<sup>2</sup>

(1. College of Life Science, Central China Normal University, Wuhan 430079)  
(2. Department of Dermatology, Union Hospital Tongji Medical College, Huazhong University  
of Science and Technology, Wuhan 430022)

**Abstract:** The gram-positive, facultative intracellular bacterium *Listeria monocytogenes* belongs to one of four severe food-borne pathogens issued by WHO. It is not only a causal agent of listeriosis caused infection of humans and animals, but also an important model system for the study of intracellular pathogens. Most of well-known listerial virulence genes are regulated by PrfA. The LM virulence genes involved in the infectious process and the PrfA-dependent virulence genes expression as well as putative regulative mechanisms were introduced and analyzed in this paper.

**Keywords:** *Listeria monocytogenes*, PrfA, Virulence gene, Regulation

单核细胞增生李斯特菌 (*Listeria monocytogenes*, 以下简称 LM) 是一种短小的革兰氏阳性无芽胞兼性厌氧杆菌, 属于李斯特菌属 (*Listeria*), 是人畜共患

传染病李斯特菌病 (listeriosis) 的主要病原菌, 能引起人和动物脑膜炎、败血症、流产和单核细胞增多等症<sup>[1]</sup>。由于该菌在自然界广泛分布 (土壤、污水、

基金项目: 国家自然科学基金项目 (No.30500025); 教育部 211 重点学科项目资助

\* 通讯作者: Tel: 027-67867221; Fax: 027-67861936; ✉: qinluo@mail.ccnu.edu.cn

收稿日期: 2007-05-23; 接受日期: 2007-08-01

粪便、动物饲料中均有该菌存在),且能在高盐(10% NaCl)、低温(可在4℃繁殖)、长时间干燥、以及pH 4.5–9.0等多种环境条件下生存和繁殖,导致食品容易在加工及运输过程中受其污染,通过摄入污染的食品可引起李斯特菌病的散发和爆发流行<sup>[1]</sup>。临床发病率在美国和欧洲等西方发达国家大约为2例~8例/10万人,死亡率20%–30%或更高,因此在2002年被WHO列为仅次于大肠杆菌O157,沙门氏菌、志贺氏菌后的第四大重要的食源性致病菌<sup>[2]</sup>。到目前为止,我国尚无食源性李斯特菌病爆发流行的报道,但各地食品卫生部门的监测结果显示李斯特菌污染在食品中普遍存在,且有增高趋势,因此有必要加强对该菌的检测、预防和控制工作<sup>[3,4]</sup>。

近20年来,欧美等发达国家不断加强对LM的检测和研究工作,不仅仅因其是重要的食源性致病菌之一,还在于它有更为重要的医学研究价值:1)由于可在实验室里用啮齿动物模型重现人类李斯特菌病,以及各种细胞系统来研究LM引起的胞内感染,从20世纪60年代末,LM就逐渐成为研究胞内感染和细胞介导的免疫应答的模式细菌<sup>[1]</sup>。2)研究发现,LM具有显著激发强烈的CD<sup>4+</sup>、CD<sup>8+</sup>T细胞免疫反应和较弱的体液反应的能力,因此应用减毒的LM突变株,作为外源性抗原表达载体来构建胞内病原体和肿瘤的疫苗,成为近年来研制新型抗感染药物和生物治疗肿瘤的热点<sup>[5,6]</sup>。

然而,由于LM致病机理还不完全清楚,出于安全性的考虑,目前这方面的研究还未运用于临床。因此,对于LM毒力基因表达调控机制的研究不仅可以加深对LM致病机理的认识,提高食品卫生安全,预防和治疗李斯特菌病,而且对研究和治疗其它病原体引起的疾病以及肿瘤治疗方面都有极其重要的理论和实践意义。本文结合作者在国内外的的工作,对LM毒力基因表达调控机制的研究进展进行综述和讨论。

## 1 LM主要的毒力基因及其编码产物

LM可直接进入吞噬细胞或通过内化素介导进入宿主细胞的吞噬囊泡,并能溶解宿主细胞的吞噬泡膜,逃离吞噬体,进入胞浆,在胞浆中复制繁殖以及在细胞间传递<sup>[7]</sup>。这些决定LM致病性的重要过程都由不同的毒力基因编码的毒力蛋白因子参与:

1) 内化素基因 *inlA-inlB* 操纵子的编码产物 InlA 和 InlB 蛋白分别介导 LM 与宿主细胞不同表面调节。PrfA 是 LM 中迄今为止发现的唯一的一个调节

受体结合并内化进入细胞形成吞噬小体。InlA 的表面受体是 E-钙粘素, LM 也是迄今为止发现的唯一一个利用 E-钙粘素进入哺乳动物细胞的病原菌; InlB 的受体有 3 种: 糖蛋白 gC1qR, 粘多糖和酪氨酸激酶受体 Met<sup>[4]</sup>。除此以外,依赖于 InlA 介导的内化作用可能还需要其它的内化素基因编码的产物参与,如 InlC 和 InlGHE。InlC 由 *inlC* 编码,具体功能未知,但该基因缺失菌株的毒力大大降低,且李斯特菌属中的非致病菌 *L. innocua* 染色体 DNA 不存在该基因序列,显示该基因是 LM 毒力基因之一<sup>[8]</sup>。

2) LM 内化 30 min 后,细胞溶解素酶 O(简称 LLO,由 *hly* 编码)在两种分泌型的磷脂酶 C: PlcA 和 PlcB 的帮助下裂解吞噬泡膜,使 LM 逃离吞噬体,进入胞浆。PlcA 和 PlcB 分别由 *plcA* 和 *plcB* 编码,都与 LM 致病力有关,参与 LLO 溶解宿主细胞吞噬泡膜和 LM 在细胞间运动<sup>[1]</sup>。

3) 一旦进入到细胞胞浆中,LM 立即开始繁殖。有证据表明,LM 可以有效利用宿主细胞的磷酸己糖(HP)作为胞内寄生生活的碳源和能源。HP 的摄取由 6-磷酸葡萄糖转移酶 Hpt 介导完成,缺失该酶编码基因 *hpt* 的菌株的胞内繁殖能力和致病力大大降低,由此,Hpt 成为首个确认与胞内病原菌增殖阶段直接相关的毒力蛋白因子<sup>[9,10]</sup>。

4) LM 在胞浆中复制的同时, *actA* 基因编码的 ActA 蛋白诱导宿主细胞肌动蛋白纤丝聚合在细菌末端,推动细菌向胞浆膜移动,并伸入到临近细胞,最终形成一个两层膜包裹的吞噬小体,然后在磷脂酶 PlcA 和 PlcB、细胞溶解素酶 O 以及金属酶 Mpl(由 *mpl* 编码,参与 PlcB 的成熟)的帮助下,LM 裂解双层膜,逃逸到胞浆中,继续重复它在胞内的侵染和繁殖过程<sup>[7]</sup>。

## 2 LM 毒力基因表达调控

上述所有与 LM 胞内感染生活周期有关的毒力基因的表达都受到 PrfA 蛋白的强烈或部分调控。其中, *hly*、*plcA*、*plcB*、*mpl* 和 *actA*, 与编码 PrfA 蛋白的 *prfA* 基因共同组成 LM 染色体上一个 9 kb 长的基因簇,称为 LM 毒力岛 1(LIPI-1),两侧分别为持家基因 *prs* 和 *ldh*(图 1)。组成毒力岛 1 的 6 个基因的编码产物对于 LM 有效侵染宿主细胞起到至关重要的作用,缺失该基因簇将导致 LM 致病力完全丧失,因此,该基因簇又被称为 LM 毒力基因中心簇(Central virulence gene cluster),其转录表达依赖于 PrfA 蛋白的绝大多数毒力基因转录表达的蛋白<sup>[1,11]</sup>。

### 2.1 PrfA 的结构和功能

PrfA (Positive Regulatory Factor A) 蛋白是由 LM 毒力岛中的 *prfA* 基因编码, 分子量为 27 kD。尽管 PrfA 蛋白初级结构的氨基酸序列与大肠杆菌 cAMP 受体蛋白 Crp (catabolite activator protein, 又称 CAP) 只有 35% 的同源性, 但二者在高级结构和功能上极为相似, 因此, PrfA 毫无争议地被归于 Crp/Fnr 转录调控因子家族的一员<sup>[1]</sup>。迄今为止, 发现的大多数 Crp/Fnr 转录调控因子属于革兰氏阴性菌。在大肠杆菌中, Fnr 主要调节厌氧环境下的细胞生长; Crp 与辅因子 cAMP 结合共同调节糖代谢过程中中间产物的生成。另外, Crp 及 Crp 类似蛋白在调节病原细菌(例如沙门氏菌)毒力基因的表达中起着很重要的作用。

图 2 显示, PrfA 和 Crp 在一些重要结构区域具有共同点:

1) PrfA 和 Crp 具有相似的 N 末端和 C 末端高级结构: Crp 的 N 末端是由一系列反向平行的短小β-片层组成的β-环结构(β-roll structure), C 末端存在一个螺旋-转角-螺旋基序(HTH motif), 二者是 Crp 与辅因子 cAMP 结合形成 Crp-cAMP 复合物的结构区域; PrfA 的 N 末端和 C 末端高级结构同样如此排列, 但 Crp 上与 cAMP 结合所必需的几个保守氨基酸在 PrfA 中并未发现, 而且, 体外实验也证明, cAMP 浓度的变化不影响依赖于 PrfA 的基因转录活性, cAMP 不能结合到 PrfA 上形成 PrfA-cAMP 复合物; 2) PrfA 和 Crp (AR1) 具有相同的 RNA 聚合酶结合的活性区, 且都位于氨基酸残基 156-164 区域; 3) 在氨基酸残基 138-155 的区域, PrfA 具有与 Crp 相同的α-螺旋组成的 D 结构。该结构在 Crp 中介导与辅因子 cAMP 结合相关的立体异构体的变化。例如, 将 Crp 上第 144 位的丙氨酸突变为苏氨酸后, 导致 Crp

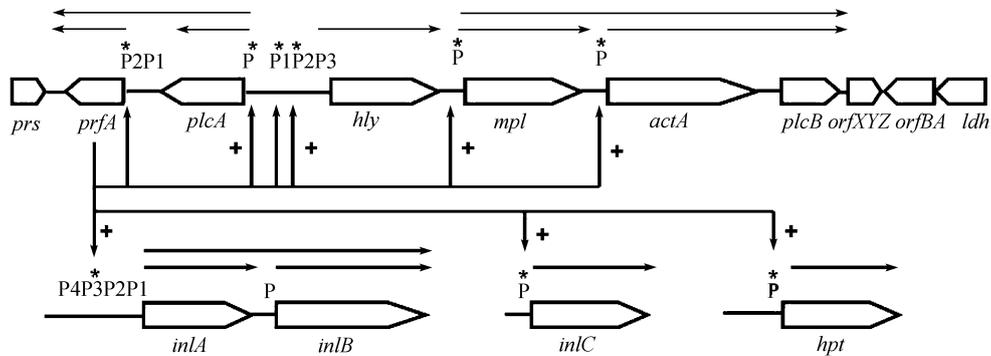


图 1 LM 毒力基因中心簇(LM 毒力岛 1)及其它依赖于 PrfA 蛋白调节的 LM 毒力基因

Fig. 1 The central gene cluster (LIPI-1) and other PrfA-regulated genes (modified from Kreft and Vazquez-Boland, 2001).

P: promoter, an asterisk above means the presence of a PrfA-box within the promoter. Thin arrows above the gene symbols indicate the different transcripts. Arrows below with a (+) or (-) sign indicate transcriptional induction or repression by PrfA.

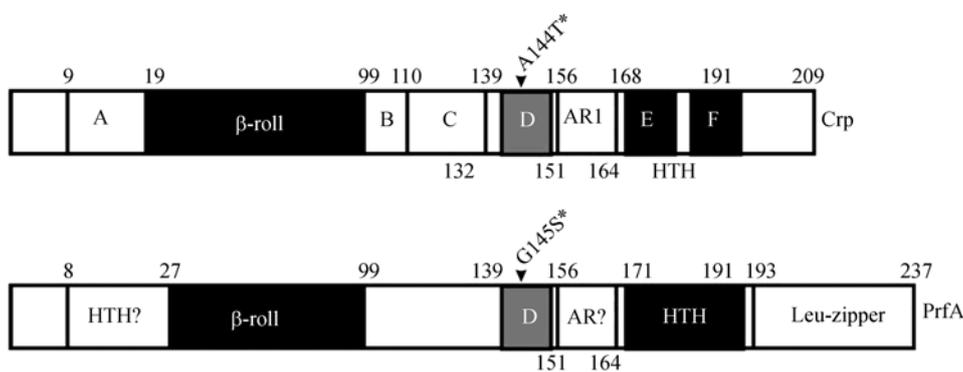


图 2 PrfA 和 Crp 结构域对比

Fig. 2 Schematic comparison of Crp from *E. coli* and PrfA from *L. monocytogenes* (from Vazquez-Boland *et al.*, 2001).

Numbers below indicate the amino acids where the domain starts or ends. HTH: the helix-turn-helix motif; A-D: alpha helices in Crp and PrfA; β-roll structure: antiparallel β-sheets, cAMP-binding region in Crp from *E. coli*, similar structure in PrfA; AR1: activation region in Crp; AR?: domain with similarity to the activation region 1 of Crp from *E. coli*.

的组成性合成,且不受 cAMP 浓度的影响。同样,实验证明,将 PrfA 上第 145 位的甘氨酸替换为丝氨酸后产生的突变株(PrfA\*)<sup>[12]</sup>,也极大地增强了 PrfA 与靶 DNA 的结合能力,提高了 LM 毒力基因的表达水平。该结果不但表明 D 区域对于 PrfA 与靶 DNA 的结合至关重要,同时也提示 PrfA 可能具有与 Crp 类似的小分子物质介导的活性构象变化调节机制。但到目前为止,还未分离到任何与 PrfA 活性相关的小分子物质<sup>[13]</sup>。

除上述与 Crp 相似的保守区域外,PrfA 还具有两个独特的结构域:功能未知的 N 末端螺旋-转角-螺旋基序(HTH motif)以及 C 末端的亮氨酸拉链区(leucine zipper motif)。缺失 C 末端的亮氨酸拉链基序,会造成 PrfA 的活性丧失,但该结构域的精确功能还有待进一步研究。

## 2.2 PrfA 调节毒力基因表达的分子机制

PrfA 调节毒力基因表达的方式十分复杂,迄今尚不完全清楚。目前公认的调节方式主要表现在以下 3 个方面:

1) 靶基因启动子上顺式作用元件。PrfA 特异性识别并结合到靶 DNA 上一段 14 bp 长的回文序列(TTAACANNTGTTAA, N 代表 TCGA 中任一碱基),即所谓的 PrfA-box。该序列位于依赖于 PrfA 转录调控的毒力基因启动子转录起始点上游约 40 bp 处<sup>[11]</sup>。PrfA 与靶 DNA 亲合性高低被认为与 PrfA-box 的碱基序列的保守性有关,即:靶 DNA 的 PrfA-box 与 TTAACANNTGTTAA 序列相似性高,则 PrfA 与靶 DNA 亲合性就高(如 *hly* 和 *plcA* 共有的 PrfA-box TTAACATTTGTTAA);反之则低(如 *actA* 的 PrfA-box TTAACAAATGTTAG)<sup>[14]</sup>。但是,也有报道指出,将某些毒力基因启动子(如 *PactA*)上的低保守性的 PrfA-box 突变成高保守性的 PrfA-box 后,并没有明显提高毒力基因的转录效率<sup>[15]</sup>;另外,通过计算机分析 LM 全基因组序列,共鉴定出 286 个可能的 PrfA-box 位于 250 多个基因的启动子上,而 LM 中不可能有如此多的受 PrfA 调控的毒力基因,因为其中绝大多数基因同时也存在于李斯特菌属中的非致病菌 *L. innocua* 中<sup>[7, 16]</sup>。这些证据说明:除 PrfA-box 外,受 PrfA 调控的毒力基因启动子还必需具备其它的结构特点。我们近期的研究发现 PrfA 调控的毒力基因启动子具备<sup>[17, 18]</sup>:被 RNA 聚合酶全酶 SigA 因子识别的-10 区(保守序列 TATAAT);-35 区与 PrfA-box 部分重叠,不具有序列保守性;

PrfA-box 与-10 区之间最适距离为 22 (或 23)个碱基。增加或减少 1-2 个碱基都会造成毒力基因依赖于 PrfA 转录调控的活性丧失;转录起始点位于-10 区下游的第 5 至 8 个嘌呤碱基。表 1 列出了受 PrfA 调控的毒力基因启动子的序列结构。

2) PrfA 的活性。通过细胞内的信号因子介导 PrfA 蛋白的构象变化,影响 PrfA 与靶 DNA 以及 RNA 聚合酶结合,从而调节毒力基因的表达。这一调节机制的主要是建立在上面所述的 PrfA 具有与 Crp 蛋白结构和功能相似的基础上。同时,也有很多实验表明,一些影响 LM 毒力基因表达的环境因素,如:铁离子浓度、培养条件等似乎是通过改变 PrfA 的活性的方式来调节毒力基因的表达。比较典型的例子有:当 LM 从营养丰富的脑心浸液培养基(BHI, brain heart infusion)中转移到基本培养基(MEM, minimum essential medium)中,或者在 BHI 中加入活性炭,能显著增强 *hly*、*plcB* 等依赖于 PrfA 的毒力基因的表达;如果在 BHI 中加入纤维二糖,则会降低依赖于 PrfA 的毒力基因的表达,而 PrfA 蛋白本身的浓度并未随培养基成分的改变而改变,暗示 PrfA 蛋白可能存在活性和非活性两种构型<sup>[1, 19, 20]</sup>。

3) PrfA 的转录表达。编码 PrfA 蛋白的 *prfA* 基因的转录有以下两种方式:

a) 直接从位于 *prfA* 基因上游的两个启动子 P1 和 P2 分别低水平转录出 0.8 kb 和 0.9 kb 的单顺反子产物。转录水平受到 PrfA 的负调控<sup>[21]</sup>;

b) 从位于 *prfA-plcA* 前的依赖 PrfA 的启动子高水平转录出双顺反子产物 PrfA 和 PlcA。该转录水平受到 PrfA 正调控,是 PrfA 主要的转录方式<sup>[2]</sup>。另外,2002 年 Johansson 等人发现,从 *prfA* 启动子 P1 转录生成的 mRNA 非翻译 5 端(untranslated 5-region)在温度低于 30 °C 时可折叠形成二级结构,改变了核糖体结合位点(SD 区域)的构型,阻碍了核糖体亚基与模板 mRNA 的结合,从而影响了 PrfA 的翻译合成。而当环境温度高于 30 °C 时(如常见的宿主细胞内温度 37 °C),二级结构则不会形成,PrfA 可以正常合成<sup>[22]</sup>。该实验在一定程度上阐明了 LM 侵染宿主细胞前后,不同基因选择性表达调控的机制,显示出温度这个环境因素可以通过影响 PrfA 的转录后水平达到调节毒力基因表达的目的。

## 2.3 其它可能影响 LM 毒力基因表达的机制

2003 年, Milohanic 和他的小组运用基因芯片生

表 1 依赖于 PrfA 转录调控的 LM 毒力基因启动子的序列结构

Table 1 DNA sequences of PrfA-dependent promoters from *L. monocytogenes* (*mpl\**: The PrfA-dependent *in vitro* transcription of *mpl* gene requires high concentration of GTP<sup>[17]</sup>). Minor case letters indicate deviation from the consensus sequence of the PrfA-box

	PrfA-box(-40)	interspace	-10 box	+1	Description
	TTAACANNTGTTAA				
		23bp			
<i>hly</i> :	AGGCATTAACATTGTAA	CGACGATAAAGGGACAGCAGGACT	TAGAAT	AAAAGCTATAAAGCA	Listeriolysin O
		22bp			
<i>plcA</i> :	CGTCGTTAACAAATGTTAA	TGCCTCAACATAAAAGTCACTT	TAAGAT	AGGAATACTACTAATC	Lecithinase
		22bp			
<i>mpl*</i> :	AAGAA	TTAACAAATGTaAA	AGAATATCTGACTGTTTATCCA	TATAATATAAGCATATCCCAA	Metalloprotease
		23bp			
<i>actA</i> :	ACTGATTAACAAATGTTAg	AGAAAAATTAATTCTCCAAGTGA	TATTCT	TAAAAATAATTCATG	Actin-assembly Inducing protein
		23bp			
<i>inlC</i> :	TATTATTAACgCTTGTAA	TTTAAACATCTCTATTTTTGCT	TAACAT	TATAAGTATACAAAGG	Internalin C
		23bp			
<i>hpt</i> :	GCATGaTAACAAGTGTAA	TGACGGAAAGAGAGTATCTGGTT	TATATT	TTTATCAGCGCAA	Hexose phosphate transport protein
		22bp			
<i>inlAP3</i> :	AGAGGaTAACATAaGTTAA	TTCTTTTTTTGGAAAAATAGT	TATTAT	TATTTAATGGGCTTT	Internalin A

物技术, 对不同培养条件下(加入活性碳或者纤维二糖)来自野生型 LM 株、*prfA* 等位基因缺失突变株及组成型表达 PrfA 野生突变株的转录产物进行了全基因转录组比较发现, PrfA 与 SigB 因子可能在调控 LM 毒力基因转录表达中存在某些联系<sup>[23]</sup>。我们的体外转录结果则直接显示 *prfA* 基因第 2 个启动子上(P2)存在 1 个 SigB 因子的结合位点, 该位点可与携带有 SigB 因子的 RNA 聚合酶全酶结合, 诱发依赖于 SigB 因子的转录表达<sup>[24]</sup>。即, 该启动子的转录活性随 SigB 浓度的升高而增强。表明 SigB 因子可能通过影响 *prfA* 的转录而直接或间接影响毒力基因的表达。

### 3 结语

综上所述, 尽管过去几十年人们对病原菌单核细胞增生李斯特菌进行了大量的研究, 取得了很多成果, 但是, 对于该菌与宿主细胞相互作用的致病机制, 尤其是毒力基因的表达调节方面的认识仍十分有限, 更多深入的研究将有助于对 LM 毒力基因复杂的表达调控机制的理解, 为阐明 LM 致病机理, 预防和治疗李斯特菌病及其它胞内病原体感染和生物治疗肿瘤等方面均有重要意义。

### 参 考 文 献

[1] Vazquez-Boland JA, Kuhn M, Berche P, et al. *Listeria*

pathogenesis and molecular virulence determinant. *Clin Microbiol Rev*, 2001, **14** (3): 584-640.

- [2] 骆学农, 曹晓瑜, 才学鹏. 李氏杆菌研究进展. *动物医学进展*, 2004, **25** (1): 28-31.
- [3] 沈晓盛, 郑国兴, 李 庆, 等. 食品中单核细胞增生李斯特菌的危害及其检测. *食品与发酵工业*, 2004, **30** (8): 87-91.
- [4] 殷月兰, 董 慧, 焦新安, 等. 产单核细胞李斯特菌 *actA* 基因在大肠杆菌中的表达及其单克隆抗体的研制. *微生物学报*, 2006, **46** (6): 999-1002.
- [5] Brockstedt DG, Giedlin MA, Leong ML, et al. *Listeria*-based cancer vaccines that segregate immunogenicity from toxicity. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2004, **101** (38): 13832-13837.
- [6] 石辛甫, 高杰英. 减毒活细菌在肿瘤治疗中的作用. *国外医学肿瘤学分册*, 2003, **30** (1): 64-67.
- [7] Cossart P, Pizarro-Cerda J, Lecuit M. Invasion of mammalian cells by *Listeria monocytogenes*: functional mimicry to subvert cellular functions. *Trends Cell Biol*, 2003, **13** (1): 23-31.
- [8] Glaser P, Frangeul L, Buchrieser C, et al. Comparative genomics of *Listeria* species. *Science*, 2001, **294** (5543): 849-852.
- [9] Chico-Calero I, Suarez M, Gonzalez-Zorn B, et al. Hpt, a bacterial homolog of the microsomal glucose-6-phosphate translocase, mediates rapid intracellular proliferation in *Listeria*. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2002, **99** (1): 431-436.
- [10] Luo Qin, Zhou Qingchun, Deng Lingfu, et al. *In vitro*

- transcription of two groups of newly identified and putatively *in vivo* PrfA-regulated genes of *Listeria monocytogenes*. *J Medical Molecular Biology*, 2006, **3**(5): 331–338.
- [11] Kreft J, Vazquez-Boland JA. Regulation of virulence genes in *Listeria*. *Int J Med Microbiol*, 2001, **291** (2): 145–157.
- [12] Vega Y, Rauch M, Banfield MJ. New *Listeria monocytogenes* *prfA*\* mutants, transcriptional properties of PrfA\* proteins and structure-function of the virulence regulator PrfA. *Mol Microbiol*, 2004, **52** (6): 1553–1565.
- [13] Boeckmann R, Dickneite C, Goebel W, *et al.* PrfA mediates specific binding to RNA polymerase of *Listeria monocytogenes* to PrfA-dependent virulence gene promoters resulting in a transcriptionally active complex. *Mol Microbiol*, 2000, **36** (2): 487–497.
- [14] Bohne J, Kestler H, Uebele C, *et al.* Differential regulation of the virulence genes of *Listeria monocytogenes*. *Mol Microbiol*, 1996, **20** (2): 1189–1198.
- [15] Williams JR, Thayyullathil C, Freitag NE. Sequence variations within PrfA DNA binding sites and effects on *Listeria monocytogenes* virulence gene expression. *J Bacteriol*, 2000, **182** (3): 837–841.
- [16] Luo Q, Herler M, Müller-Altrock S, *et al.* Supportive and inhibitory elements of a putative PrfA-dependent promoter in *Listeria monocytogenes*. *Mol Microbiol*, 2005, **55** (4): 986–997.
- [17] Luo Q, Rauch M, Marr AK. *et al.* *In vitro* transcription of the *Listeria monocytogenes* virulence genes *inlC* and *mpl* reveals overlapping PrfA-dependent and-independent promoters which are differentially activated by GTP. *Mol Microbiol*, 2004, **52** (1): 39–52.
- [18] Luo Qin, Zhou Qingchun, Deng Lingfu, *et al.* Some essential elements on the *inlC* promoter for PrfA-dependent regulation in *Listeria monocytogenes*. *Acta Microbiologica Sinica*, 2007, **47** (1): 22–28.
- [19] Ripio MT, Domínguez-Bernal G, Lara M, *et al.* A Gly145Ser substitution in the transcriptional activator PrfA causes constitutive overexpression of virulence factors in *Listeria monocytogenes*. *J Bacteriol*, 1997, **179** (5): 1533–1540.
- [20] Sheehan B, Klarsfeld A, Msadek T, *et al.* Differential activation of virulence gene expression by PrfA, the *Listeria monocytogenes* virulence regulator. *J Bacteriol*, 1995, **177** (22): 6469–6476.
- [21] Freitag NE, Portnoy DA. Dual promoters of the *Listeria monocytogenes* *prfA* transcriptional activator appear essential *in vitro* but are redundant *in vivo*. *Mol Microbiol*, 1994, **12** (5): 845–853.
- [22] Johansson J, Mandin P, Renzoni A, *et al.* An RNA thermosensor controls expression of virulence genes in *Listeria monocytogenes*. *Cell*, 2002, **110** (5): 551–561.
- [23] Milohanic E, Glaser P, Coppee JY, *et al.* Transcriptome analysis of *Listeria monocytogenes* identifies three groups of genes differently regulated by PrfA. *Mol Microbiol*, 2003, **47** (6): 1613–1625.
- [24] Rauch M, Luo Q, Müller-Altrock S, *et al.* SigB-dependent *in vitro* transcription of *prfA* and some newly identified genes of *Listeria monocytogenes* whose expression is affected by PrfA *in vivo*. *J Bacteriol*, 2005, **187** (2): 800–804.



## 稿件规范化与标准化

### 高等院校教学论文的撰写要点

“高等院校教学”是中国微生物学会主办的科技期刊中唯一的教学栏目。该栏目是专门为高等院校教师开辟的教学交流、切磋、提高的园地，栏目特色非常突出。因此，要求作者撰写的内容必须有新意，绝不是泛泛地谈体会和叙述教学安排与过程。在内容选材上应该有鲜明的特点和针对性，做到主题明确、重点突出、层次分明、语言流畅。教师的教学思路应与时俱进，及时将国内外新的科技成果贯穿到教学始终，只有这样才能真正起到教与学的互动，提高高科技创新人才培养的水平。同时，稿件的录用率也能得到提高。