

氮氧饱和和高气压暴露对铜绿假单胞菌 PAO1 基因表达的诱导调节

陈双红* 陈锐勇 徐雄利 李慈 肖卫兵

(中国人民解放军海军医学研究所舰艇卫生研究室 高气压与潜水生理学全军重点实验室 上海 200433)

摘要: 研究氮氧饱和和高气压暴露对铜绿假单胞菌基因表达谱的系统影响, 对急性毒力基因表达的调节。用全基因组 DNA 芯片分析技术比较菌株暴露前后基因表达谱差异; RT-PCR 方法验证部分差异表达基因; 用分光光度法在细胞水平验证弹性蛋白酶含量; 小鼠染毒法观察暴露组细菌毒力在整体动物水平的变化。基因表达谱分析结果表明, 铜绿假单胞菌暴露 12 h 差异表达基因达 243 个、72 h 差异表达基因为 1 168 个。72 h 差异表达基因中与细菌应激响应、蛋白折叠、转录调节、菌毛和鞭毛合成、毒力因子调节与合成、细菌外膜蛋白和抗原合成的基因大量上调; 部分基因的 RT-PCR 验证结果与芯片结果一致; 细胞水平验证结果显示暴露 72 h 细菌毒力表型增强。因此, 氮氧饱和和高气压暴露对铜绿假单胞菌基因表达谱有明显影响, 对急性侵袭性感染毒力因子基因表达水平有正向诱导调节作用。

关键词: 铜绿假单胞菌, 氮氧高气压, 基因芯片, 毒力基因, 调节

Systemic regulation of gene expression in *Pseudomonas aeruginosa* PAO1 under hyperbaric oxyhelium exposure

CHEN Shuang-Hong* CHEN Rui-Yong XU Xiong-Li LI Ci XIAO Wei-Bing

(Department of Ship Sanitation, Army Key Laboratory of Hyperbaric and Diving Physiology, The Institution of Naval Medicine, Shanghai 200433, China)

Abstract: To elucidate the systemic gene expression variation and virulence gene regulation of *Pseudomonas aeruginosa* in hyperbaric oxyhelium exposure environment. The level of differential gene expression was analyzed by PAO1 genomic DNA chip and 5 strikingly up-regulated genes were confirmed by RT-PCR. The level of elastase was detected by spectrophotometric method. Microarrays analysis showed that the expression levels of 243 genes were altered after 12 hours exposure and 1 168 genes altered after 72 hours exposure under the hyperbaric oxyhelium condition. These genes are

基金项目: 上海市自然科学基金项目(No. 09ZR1421000)

* 通讯作者: Tel: 86-21-81883215; 信箱: chen127shh@sina.com

收稿日期: 2011-03-25; 接受日期: 2011-05-19

mainly related to stress-sense/response, protein folding, transcriptional regulation, pili and flagellum metabolism, virulence factors adaptation, membrane proteins or antigens metabolism. The results of RT-PCR showed the same expression trends as in the micro-array. The ability of bacterial infection also increased after 72 hours exposure. Based on the results, we concluded that the hyperbaric oxyhelium environments affected PAO1 genes expression and several virulence-related genes were up-regulated.

Keywords: *Pseudomonas aeruginosa*, Hyperbaric oxyhelium, Gene chip, Virulence gene, Regulation

在援潜救生、深潜勘测任务中都离不开潜水作业, 通常潜水作业周期为7-20 d, 较长可达30 d, 在该作业周期中铜绿假单胞菌所致的急性皮肤黏膜和中耳感染已成为影响人员健康和作业功效的重要原因^[1-2]。本课题组前期对我国不同潜水基地潜水员抽检 113 人次, 结果显示人员中耳铜绿假单胞菌检出率为 85%, 分离菌株中以粘液样慢性生长表型多见; 其中 50%以上潜水员有潜水作业过程中中耳急性感染发作经历。由于潜水作业中中耳感染发作导致的急性症状严重影响作业效率、甚至中断作业进程, 因此, 铜绿假单胞菌在高气压潜水作业人群中的急性转归感染, 已成为威胁该职业人群健康的重要原因。

不同环境中铜绿假单胞菌的广泛存在、高感染是由于其极强的环境适应调节能力。环境信号刺激激活铜绿假单胞菌诸多调节系统进而有序调控目的基因表达, 是实现种内、种间交流并完成生物特异适应性的关键步骤^[3]。研究表明, 铜绿假单胞菌接受环境信号刺激并被激活的因子主要包括: 毒力调节、生物膜形成、鞭毛运动、细菌与宿主间的识别等致病相关的关键因子。细菌通过对这些因子功能的调节, 最终实现利于种群生长、侵袭、定殖、免疫逃避和耐药性产生等有益生长表型^[4-7]。因此, 铜绿假单胞菌基因组在临床急、慢性感染中显现的灵活调节适应性是急慢性转归感染高发的关键。

由于以往研究主要是针对铜绿假单胞菌在烧伤和肺囊性纤维化等特定的临床生理病理条件下的适应调节机制, 迄今尚未有针对其在氮氧饱和和高气压暴露条件下的响应调节机制研究, 更没有研究涉及铜绿假单胞菌对潜水员这一特定健康人群的适应性侵袭机制。故本研究针对目前该领域研究的不足, 通过研究模拟暴露环境对铜绿假单胞菌基因表达谱

的系统影响, 逐步探索有意义的调节基因, 对进一步揭示氮氧饱和和高气压暴露环境中铜绿假单胞菌急性感染高发机制有重要意义。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 菌株: 铜绿假单胞菌 PAO1 (ATCC15692), 由北京中原公司代理订购。

1.1.2 基因芯片: Agilent 公司定制芯片, 规格为 8×15 K。每张芯片涵盖 PAO1 基因组 5641 个基因, 大部分基因重复 3 次点样。同一待检测样品重复杂交 3 次。

1.1.3 主要试剂: 总 RNA 抽提试剂盒、PCR 试剂盒、反转录酶购自 TaKaRa 公司; 一般培养基、血琼脂和乙酰胺培养基购自上海科玛嘉公司; 刚果红-弹性硬蛋白购自 Sigma 公司; 其他生化试剂均购自国药集团上海分公司及上海生工工程公司。

1.2 细菌氮氧饱和和暴露

用传代活化的 PAO1 菌株 1×10^4 CFU/mL 浓度 50 μ L 铺于 9 cm L-Broth 平板, 置于 4.6×10^3 Pa 高压舱氮氧饱和和暴露, 分别于 12、72 h 取样, 取样细菌用 4 °C PBS 洗 3 次, 1×10^8 CFU/mL 浓度保存于液氮。并以同期常规条件培养细菌作对照。

1.3 样品提取与芯片检测分析

按照试剂盒操作抽提细菌总 RNA, OD_{260}/OD_{280} 比值大于 1.8 为标准判定样品制备合格。委托上海康成生物技术有限公司进行芯片检测服务, 基因测试平台为 Agilent。所获数据用 Agilent Gene-Spring GX V11.0 软件包分析。差异表达基因判定以 Ratio (Test/Control) 变化超过 2 倍和 $P \leq 0.05$ 为标准。数据进一步进行 Scatter Plot 分析、GO 分析和聚类分析。

1.4 差异表达基因 RT-PCR 验证

选取 72 h 暴露组芯片中 5 个差异表达的、与急性感染相关的毒力基因^[8-9]: *pilM* (F: 5'-AACTAA GTCTTCAGCATGAG-3'; R: 5'-GAATGACAGAGAA GTTAACG-3'), *lasB* (F: 5'-CACCCAGCACCAACA ACGTT-3'; R: 5'-ATCTGTTGTTGTTGCTGCTG-3'), *rhlB* (F: 5'-GTATACTGCAATTGAGGTAA-3'; R: 5'-GTTGAGAGTATCGTCACAAT-3'), *flgM* (F: 5'-GT CAACCAAATTTCAAATC-3'; R: 5'-AGTCATTGA TTATATGCCTG-3'), *exoY* (F: 5'-CAAAATGGTGCT GGTGGTCA-3'; R: 5'-GAATTTGTTCCACAAGGTG T-3') 进行 RT-PCR 验证, 以 16S rRNA (F: 5'-GCC AAGCGAGTATAAGCCTG-3'; R: 5'-AGGCCTCACTA AGCCATTCA-3') 做内参。按照试剂盒操作步骤进行。

1.5 暴露细菌毒力表型细胞水平验证

1.5.1 细菌运动能力测定: 分别取 2 μ L 过夜培养 PAO1 菌液点于半固体运动检测培养基表面, 分别于常规和暴露条件下静置培养生长, 观察结果并拍照。

1.5.2 细菌弹性蛋白酶活性测定: 72 h 常规生长和饱和暴露生长的细菌, 以 L-Broth 液基调整浓度至 1×10^8 CFU/mL 后, 取等量体积混悬液离心取上清, 每 1 mL 上清液中加入 20 mg 刚果红-弹性硬蛋白、1 mL Tris-HCl 缓冲液 (pH 7.2, 0.1 mol/L Tris-HCl, 0.1 mmol/L CaCl₂)。该混合物 37 °C 振荡反应 6 h, 加入 0.1 mL 0.12 mol/L 的 EDTA 置于冰上终止反应。离心除去未溶解的刚果红弹性蛋白, 上清液于酶标仪 495 nm 处测光密度值。

1.6 暴露细菌毒力动物整体水平验证

30 只 20 ± 2 g 雌性昆明种小鼠, 随机分 3 组, 每组 10 只。72 h 生长对照组细菌和暴露组细菌用 L-Broth 液基调整浓度至 1×10^8 CFU/mL, 每只小鼠腹腔注射细菌混悬液 0.1 mL/10 g 小鼠体重; 同时设置 L-Broth 液基腹腔注射空白对照组。连续 12 d 每天记录并计算小鼠存活率, *t* 检验进行组间差异比较。

2 结果与分析

2.1 氨氧饱和暴露前后 PAO1 基因表达差异

本研究中应用的 cDNA 芯片涵盖了 PAO1 5641 个基因, 代表了铜绿假单胞菌 PAO1 全部基因信息。

氨氧饱和和高气压暴露 12 h、72 h 基因芯片表达谱变化见图 1。芯片检测结果表明(表 1, 表 2), 与同期常压生长菌株基因表达谱比较, (1) 暴露 12 h 差异表达基因为 243 个, 上调表达基因 83 个, 下调表达基因 160 个; 根据 Gene Ontology 分类差异表达基因主要为: 细菌能量代谢、离子转运、氨基酸及衍生物代谢、蛋白折叠、外膜蛋白合成及部分细胞双组份调节因子等。(2) 暴露 72 h 差异表达基因共有 1 168 个, 其中上调基因为 681 个, 下调基因为 487 个; 差异表达基因除细菌能量代谢、离子转运、氨基酸及衍生物代谢外, 主要为细菌应激响应调节、转录调节、外膜蛋白和抗原合成、细胞趋化、毒力因子合成与调节、细菌信号分子合成、菌毛和鞭毛合成及大量功能未知蛋白(Hypothetical protein)。

2.2 PAO1 差异表达基因的 RT-PCR 验证

为了证实芯片表达谱结果的可靠性, 选择氨氧饱和暴露 72 h 后上调表达、与细菌急性致病密切相关的毒力基因进行验证, 主要是: 影响细菌迁移、定殖的鞭毛和菌毛形成基因(*flagM*, *pilM*), 影响细菌对宿主组织侵袭能力的弹性蛋白酶基因(*lasB*)、III型分泌系统基因(*exoY*), 及次级代谢产物鼠李糖形成相关基因(*rhlB*)。验证结果表明, 被检测基因 mRNA 在 72 h 暴露菌株中转录上调, 该结果与基因芯片检测结果趋势一致(图 2)。

2.3 暴露条件对 PAO1 毒力影响的表型验证

根据芯片和 RT-PCR 实验结果, 选择细菌运动能力和弹性蛋白酶分泌能力进行毒力表型验证。在半固体动力培养基上生长的结果显示, 72 h 暴露组细菌的运动能力明显强于对照组细菌(图 3A)。暴露组和对照组细菌细胞外液对刚果红-弹性硬蛋白的分解能力见图 3B, 结果表明相同浓度细菌的细胞外培养液弹性蛋白酶的分解能力不同, 72 h 暴露组细菌细胞外液弹性蛋白酶对底物蛋白的分解能力明显强于实验组($P < 0.05$)。因此饱和暴露条件可能是通过提高细菌弹性蛋白酶的产量或其活性而增强其对底物的分解能力, 达到对周围组织的快速破坏, 以适应快速生长的营养需求。进一步小鼠染毒实验结果显示, 72 h 暴露组细菌染毒小鼠第 2 天存活率为 10%, 染毒第 5 天后存活率为 0; 对照组细菌染毒第

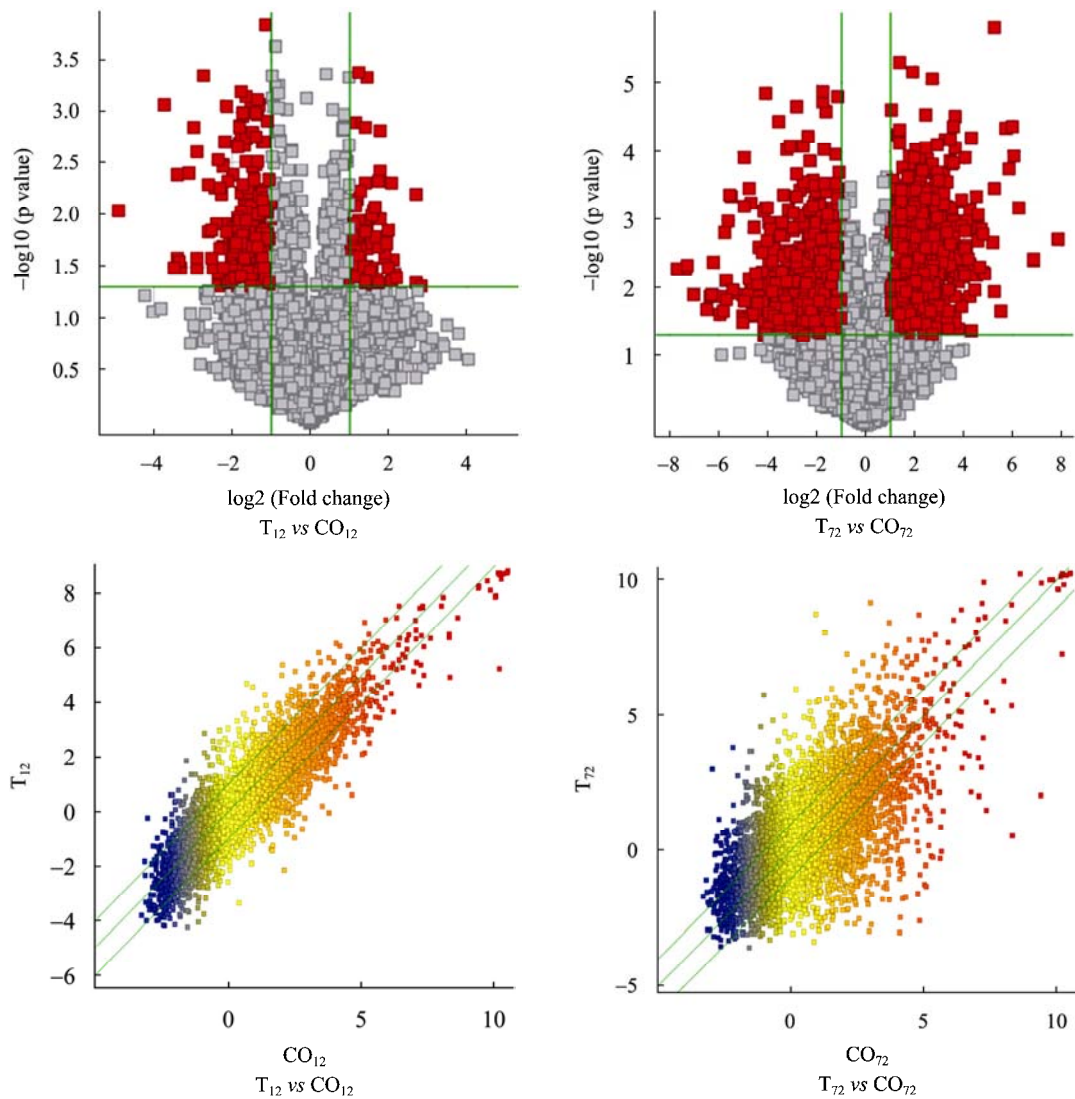


图 1 PAO1 基因芯片杂交火山图和散点图

Fig. 1 The volcano plot and scatter plot of hybridization results of PAO1 genes

表 1 不同暴露条件下 PAO1 差异表达基因统计

Table 1 Effect of different exposure times and modes on gene expression in PAO1

Group	Up-regulation gene	Down-regulation gene	Total
T ₁₂ vs CO ₁₂	83	160	243
T ₇₂ vs CO ₇₂	681	487	1 168

表 2 暴露条件下部分与毒力相关的上调基因

Table 2 The up-regulated virulence-related genes under hyperbaric oxyhelium exposure

PA number	Gene name	Comments	T ₁₂ Vs CO ₁₂ (Ratios)	T ₇₂ Vs CO ₇₂ (Ratios)
PA5360	<i>phoB</i>	Two-component response regulator	3.90	—
PA4493	—	Putative two-component response regulator	—	2.01
PA2657	—	Putative two-component response regulator	—	2.02
PA4101	—	Two-component response regulator	—	6.71
PA1437	—	Two-component response regulator	—	4.90 (待续)

				(续表 2)
PA4843	–	Putative two-component response regulator	–	2.48
PA4726	<i>cbrB</i>	Two-component response regulator	–	2.25
PA1179	<i>phop</i>	Two-component response regulator	–	19.89
PA2881	–	Putative two-component response regulator	–	2.68
PA1180	<i>phoQ</i>	Two-component sensor PhoQ	–	13.57
PA5361	<i>phoR</i>	Two-component sensor PhoR	–	2.13
PA1438	–	Putative two-component sensor	–	3.81
PA4197	–	Two-component sensor	–	6.24
PA2809	<i>copR</i>	Two-component response regulator, CopR	–	4.65
PA4544	<i>rluD</i>	Pseudouridine synthase	–	2.17
PA5200	<i>ompR</i>	Osmolarity response regulator	–	2.76
PA3161	<i>ihfB</i>	Integration host factor subunit beta	–	5.25
PA4309	<i>pctA</i>	Chemotactic transducer PctA	–	7.16
PA1092	<i>fliC</i>	Flagellin type B	–	6.11
PA3351	<i>flgM</i>	Flagellin type M	–	15.30
PA5044	<i>pilM</i>	Type 4 fimbrial biogenesis protein PilM	–	4.78
PA2960	<i>pilZ</i>	Type 4 fimbrial biogenesis protein PilZ	–	2.97
PA5040	<i>pilQ</i>	type 4 fimbrial biogenesis protein PilQ	–	2.04
PA1095	<i>fliS</i>	Flagellar protein FliS	–	2.86
PA4763	<i>recN</i>	DNA repair protein RecN	–	14.91
PA1097	<i>fleQ</i>	Transcriptional regulator FleQ	–	3.17
PA4310	<i>pctB</i>	Chemotactic transducer PctB	–	7.49
PA1103	<i>fliH</i>	Flagellar assembly protein H	–	4.65
PA2673	–	Type II secretion system protein	–	2.31
PA2672	–	Type II secretion system protein	–	4.60
PA2676	–	Type II secretion system protein	–	2.60
PA1382	–	Type II secretion system protein	–	5.02
PA0585	–	Putative type II secretion system protein	–	8.61
PA2738	<i>ihfA</i>	Integration host factor subunit alpha	3.73	9.01
PA1094	<i>fliD</i>	Flagellar capping protein FliD	–	2.21
PA1004	<i>nadA</i>	Quinolinate synthetase	–	2.97
PA4315	<i>mvaT</i>	Transcriptional regulator MvaT	2.27	2.90
PA1100	<i>fliE</i>	Flagellar hook-basal body protein FliE	–	9.72
PA3385	<i>amrZ</i>	Alginate and motility regulator Z	2.21	3.57
PA1444	<i>fliN</i>	Flagellar motor switch protein	–	3.71
PA0928	<i>gacS</i>	Sensor/response regulator hybrid	–	2.26
PA3478	<i>rhlB</i>	Rhamnosyltransferase chain B	–	42.99
PA3476	<i>rhlI</i>	Autoinducer synthesis protein RhlI	–	3.44
PA3724	<i>lasB</i>	Elastase LasB	–	7.53
PA3477	<i>rhlR</i>	Transcriptional regulator RhlR	–	3.94
PA2587	<i>pqsH</i>	Putative FAD-dependent monooxygenase	–	2.87
PA1693	<i>pscR</i>	Type III secretion system protein	–	3.93
PA1706	<i>pcrV</i>	Type III secretion protein PcrV	–	5.24
PA1692	–	Translocation protein in type III secretion	–	3.19
PA0527.1	<i>rsmY</i>	Regulatory RNA RsmY	–	4.35
PA3153	<i>wzx</i>	O-antigen translocase	3.99	5.12
PA2191	<i>exoY</i>	Adenylate cyclase ExoY	2.28	2.58
PA1901	<i>phzC</i>	Phenazine biosynthesis protein PhzC	–	2.62

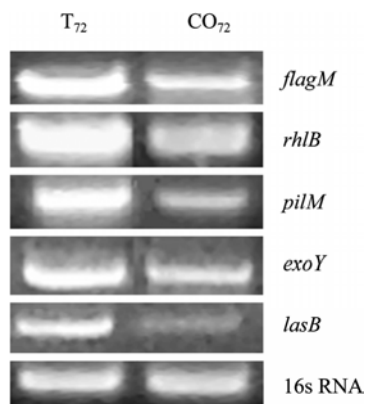


图2 PAO1 部分毒力基因表达的 RT-PCR 验证
Fig. 2 RT-PCR confirmation of selected virulence genes

注: 16S rRNA 基因作对照内参。

Note: 16S rRNA gene was performed as an internal control.

5 天存活率为 90%, 染毒 7 d 后存活率为 70%; L-Broth 液基空白对照组在观察期无死亡(图 4)。因此, 动物染毒实验结果表明氮氧饱和和高压暴露诱导后细菌毒力表型增强。

3 讨论

饱和潜水作业环境与普通环境差异大, 常规潜水作业压力范围为 0.6×10^3 – 4.6×10^3 Pa, 远远超出普通细菌生长的 0.1×10^3 Pa。资料显示, 2.0×10^3 Pa 以下的压力对普通细菌的生长和分化已产生明显影响, 50×10^3 Pa 压力将使耐压菌的生长分化完全抑制。暴露条件下细菌主要通过调整细胞膜结构、膜

蛋白成分、骨架结构、细胞内酶活性、关键基因的表达水平以及 DNA 应答水平等功能以适应特殊环境下的生存压力^[10]。外界环境选择压力激活铜绿假单胞菌生存适应表型, 实现种群存活的最优化是其临床高感染的基础。因此, 铜绿假单胞菌基因组对环境信号刺激的适应性调节是临床急慢性感染发病机制研究的热点^[3-7]。

细菌双组分应答调节系统(Two-component systems, TCS)和密度感知调节系统(Quorum sensing, QS)在毒力调节中占有重要作用^[3-7,11]。Gac、Rsm、Pho 等双组分通路接受环境刺激一方面可直接激活急慢性感染毒力调节, 另一方面还序贯调节 QS 系统功能, 实现对毒力因子的有序精细调控; 而 QS 系统则是铜绿假单胞菌 Sense/Response 调节的中心环节^[3,12-13]。研究表明, 接受这些通路调控的急性毒力因子主要有与侵袭相关的 I–III 型分泌系统、与迁移定殖相关 IV 型菌毛和鞭毛系统、细胞外多糖(表多糖、脂多糖等)、细胞次级代谢产物(鼠李糖、绿脓菌素等)和自感应信号分子(高丝氨酸内酯等等), 这些毒力因子在铜绿假单胞菌急性侵袭性感染发作中起决定性作用。因此, 本研究中在对铜绿假单胞菌暴露后基因表达谱进行全面研究的同时, 重点分析暴露环境对急性感染毒力因子表达的影响。暴露 72 h 与 12 h 的芯片表达谱结果显示, 大量与细菌应激响应、转录调节和细菌毒力调节相关因子基因的上调表达是在细菌暴露生长 12 h 以后出现。暴

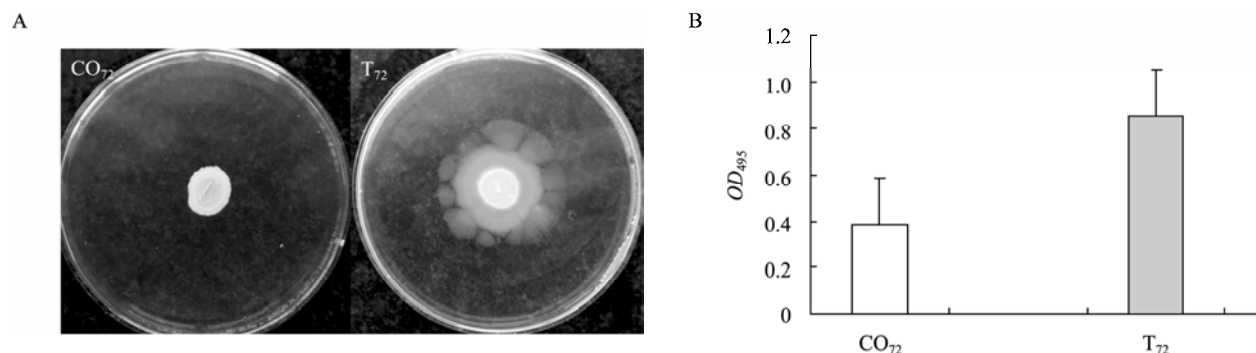


图3 PAO1 菌株氮氧饱和和暴露不同阶段毒力表型验证

Fig. 3 The confirmation of virulence phenotype of different hyperbaric oxyhelium exposure PAO1 strains

注: A: 细菌运动能力检测; B: 细菌弹性蛋白酶活性检测。

Note: A: The mortality of different stains; B: The activity of elastic in different strains.

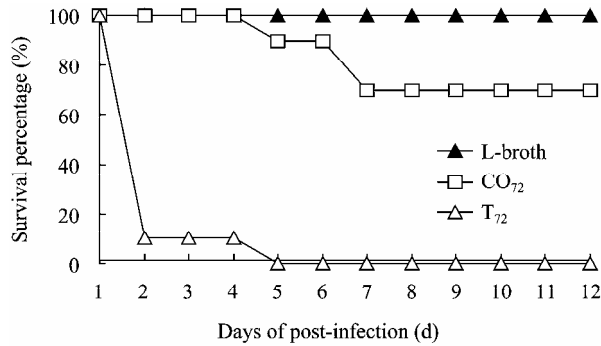


图4 氮氧饱和暴露 PAO1 菌小鼠染毒后存活率
Fig. 4 Survival ratios of mice infected with PAO1 strains by hyperbaric oxyhelium exposure

露 12 h 细菌主要是能量代谢、物质转运、细胞代谢及细胞膜结构相关基因发生调节改变为主,部分毒力及毒力调节相关基因表达上调,部分毒力相关基因出现表达抑制调节,如:双组分调节系统的 PA2809、PA1437、PA4843、QS 系统的 *rhlR* 基因,II 分泌系统的 PA2673、PA0585,III 分泌系统的 PA1692,鞭毛形成相关的 PA1100。而在暴露 72 h 表达谱芯片中细菌 18 组双组分调节因子被激活,其中多数参与铜绿假单胞菌环境应激响应和系统功能调节,如: *gacS*、*rsmY*、*pho* 系列基因等;细菌 I-III 型分泌系统基因簇表达活跃;IV 型鞭毛系统基因簇中活跃表达基因数量明显增多;与 QS 系统信号分子合成相关的基因转移和合成酶类基因表达增多;细菌次级代谢毒力因子弹性蛋白酶、鼠李糖等基因上调表达;其次还出现宿主整合因子、细菌基因组突变及错配修复因子基因的上调表达。部分基因的 RT-PCR 和细胞水平毒力表型验证趋势与芯片结果一致。小鼠染毒实验进一步证实了芯片的分析结果。因此,氮氧饱和暴露环境对铜绿假单胞菌基因表达谱有明显的诱导调节作用,对部分急性毒力基因有正向诱导调节能力;潜水作业中铜绿假单胞菌急性职业感染高发与暴露条件下细菌出现基因型、表型生理性适应调节密切相关,这应是该环境中铜绿假单胞菌职业化高感染率发生的关键。

研究表明高压潜水作业环境下铜绿假单胞菌致病率极高,资料显示潜水员中耳炎、皮肤粘膜感

染几乎都因为铜绿假单胞菌,极少伴有其它致病菌的合并感染;铜绿假单胞菌在潜水人群中广泛存在、并在高压潜水作业中极易急性转归发作感染,中耳感染急性发作后产生的剧烈疼痛,影响作业效率乃至中断作业进程,严重影响职业潜水人员的健康和作业功效。然而,由于氮氧饱和和高压暴露对细菌生理学影响研究所涉及领域专业属性较强,同时由于实验平台条件限制国内诸多实验室开展相关研究,迄今铜绿假单胞菌在该暴露条件下致病力调节机制研究鲜有报道。故本文的研究结果对进一步深入阐明氮氧饱和和高压暴露对铜绿假单胞菌毒力的适应调节机制提供了重要基础。

参考文献

- [1] Ahlen C, Mandal LH, Iversen OJ. An in-field demonstration of the true relationship between skin infections and their sources in occupational diving systems in the North Sea[J]. *Ann Occup Hyg*, 2003, 47(3): 227-233.
- [2] 徐雄利, 巴剑波, 陈锐勇, 等. 氮氧饱和和暴露对 2 种菌株生长增殖的影响[J]. *职业与健康*, 2010, 26(4): 404-407.
- [3] Williams P, Cámara M. Quorum sensing and environmental adaptation in *Pseudomonas aeruginosa*: a tale of regulatory networks and multifunctional signal molecules[J]. *Current Opinion in Microbiology*, 2009, 12(2): 182-191.
- [4] Mathee K, Narasimhan G, Valdes C, et al. Dynamics of *Pseudomonas aeruginosa* genome evolution[J]. *PNAS*, 2008, 105(8): 3100-3105.
- [5] Köhler T, Buckling A, van Delden C. Cooperation and virulence of clinical *Pseudomonas aeruginosa* populations[J]. *PNAS*, 2009, 106(15): 6339-6344.
- [6] Diggle SP, Griffin AS, Campbell GS, et al. Cooperation and conflict in quorum-sensing bacterial populations[J]. *Nature*, 2007, 450(7168): 411-414.
- [7] Fredrik-Inglis R, Gardner A, Cornelid P, et al. Spite and virulence in the bacterium *Pseudomonas aeruginosa*[J]. *PNAS*, 2009, 106(14): 5703-5707.
- [8] Goodman AL, Kulasekara B, Rietsch A, et al. A signaling network reciprocally regulates genes associated with acute infection and chronic persistence in *Pseudomonas aeruginosa*[J]. *Developmental Cell*, 2004, 7(5): 745-754.
- [9] Nguyen D, Singh PK. Evolving stealth: genetic adaptation

- of *Pseudomonas aeruginosa* during cystic fibrosis infections[J]. PNAS, 2006, 103(22): 8305–8306.
- [10] Simonato F, Campanaro S, Lauro FM, et al. Piezophilic adaptation: a genomic point of view[J]. Journal of Biotechnology, 2006, 126(1): 11–25.
- [11] Beier D, Gross R. Regulation of bacterial virulence by two-component systems[J]. Current Opinion in Microbiology, 2006, 9(2): 143–152.
- [12] Schuster M, Greenberg EP. A network of networks: quorum-sensing gene regulation in *Pseudomonas aeruginosa*[J]. International Journal of Medical Microbiology, 2006, 296(2/3): 73–81.
- [13] Siehnel R, Traxler B, An DD, et al. A unique regulator controls the activation threshold of quorum-regulated genes in *Pseudomonas aeruginosa*[J]. PNAS, 2010, 107(17): 7916–7921.

征订启事

2011 年部分生物、农林类学术期刊联合征订表

刊物名称	邮发代号	刊 期	年价(元)	网 址	E-mail
癌变·畸·突变	80-285	双月刊	60	www.egh.net.cn	cemsctm@stu.edu.cn
动物学研究	64-20	双月刊	150	www.zoores.ac.cn	zoores@mail.kiz.ac.cn
动物学杂志	2-422	双月刊	360	http://dwxzz.ioz.ac.cn	journal@ioz.ac.cn
分子植物育种	84-23	双月刊	240	www.molplantbreed.org	mpb@hibio.org
国际遗传学杂志	14-55	双月刊	90	www.cma.org.cn	genetics@ems.hrbmu.edu.cn
激光生物学报	42-194	双月刊	150	www.jgswxb.net	jgswxb@hunnu.edu.cn
菌物学报	2-499	双月刊	480	http://journals.im.ac.cn/jwxtcn	jwxt@im.ac.cn
昆虫知识	2-151	双月刊	360	www.ent-bull.com.cn	entom@ioz.ac.cn
林业科学	82-6	月 刊	300	www.linyekexue.net	linyxx@forestry.ac.cn
农业生物技术学报	2-367	双月刊	240	www.jabiotech.org.cn/	nsjxb@cau.edu.cn
人类学学报	2-384	季 刊	100	www.ivpp.ac.cn	acta@ivpp.ac.cn
生命科学	4-628	月 刊	480	www.lifescience.net.cn	cbls@sibs.ac.cn
生命科学研究	42-172	双月刊	108	http://smky.chinajournal.net.cn	life@hunnu.edu.cn
生物工程学报	82-13	月 刊	780	http://journals.im.ac.cn/cjbcn	cjb@im.ac.cn
生物化学与生物物理进展	2-816	月 刊	720	www.pibb.ac.cn	prog@sun5.ibp.ac.cn
生物技术通报	18-92	月 刊	300		biotech@mail.caas.net.cn
生物技术通讯	82-196	双月刊	150	http://swtx.chinajournal.net.cn	swtx@263.net
微生物学通报	2-817	月 刊	576	http://journals.im.ac.cn/wswxtbcn	tongbao@im.ac.cn
微生物学报	2-504	月 刊	660	http://journals.im.ac.cn/actamicrocn/	actamicro@im.ac.cn
武汉植物学研究	38-103	双月刊	180	http://whzwxjy.cn	editor@rose.whiob.ac.cn
畜牧兽医学报	82-453	月 刊	360	www.xmsyxb.com	xmsyxb@263.net
遗传	2-810	月 刊	600	www.chinagene.cn	yczz@genetics.ac.cn
遗传学报	2-819	月 刊	600	www.jgenetgenomics.org	jgg@genetics.ac.cn
云南植物研究	64-11	双月刊	150	http://journal.kib.ac.cn	bianji@mail.kib.ac.cn
植物遗传资源学报	82-643	双月刊	120	www.zwyczy.cn	zwyczyxb2003@163.com
植物学报	2-967	双月刊	480	www.chinbullbotany.com	cbb@ibcas.ac.cn
中国实验动物学报	2-748	双月刊	120	www.calas.org.cn	A67761337@126.com
中国生态农业学报	82-973	双月刊	210	www.ecoagri.ac.cn	editor@sjziam.ac.cn
中国生物工程杂志	82-673	月 刊	960	www.biotech.ac.cn	biotech@mail.las.ac.cn
中国水产科学	18-250	双月刊	180	www.fishscichina.com	zgsckx@cafs.ac.cn
中国水稻科学	32-94	双月刊	120	www.ricesci.cn	cjrs@263.net
作物学报	82-336	月 刊	600	www.chinacrops.org/zwx	xbzw@chinajournal.net.cn