

肠道沙门氏菌 O-抗原多糖的研究进展

代勤龙^{1,2,3} 孔庆科^{1,2,3} 刘青^{4*} 赵新新^{1,2,3*}

- (1. 四川农业大学动物医学院预防兽医研究所 四川 成都 611130)
- (2. 四川农业大学动物医学院禽病防治中心 四川 成都 611130)
- (3. 四川农业大学动物疫病与人类健康四川省重点实验室 四川 成都 611130)
- (4. 四川农业大学动物医学院生物工程系 四川 成都 611130)

摘要: O-抗原是由多糖重复单元组成的多聚糖,表达于细菌的外膜,具有多样性,是划分沙门菌血清型的重要依据。O-抗原多糖由多基因协同作用而合成,这些基因在沙门菌基因组上成簇存在,形成 O-抗原基因簇。O-抗原多糖也是重要的毒力因子,在沙门菌入侵宿主、体内存活、定殖等致病过程中均发挥着重要的作用。此外,O-抗原还是沙门菌主要的保护性抗原,能激发宿主产生高水平抗体并发挥免疫保护作用,成为疫苗研究的靶点。本文综述 O-抗原多糖的基因结构和合成、生物学功能及其在疫苗研制中的应用与前景。

关键词: 沙门氏菌, O-抗原多糖, 基因结构, 毒力, 疫苗

Research advances in O-antigen polysaccharide of *Salmonella enterica*

DAI Qin-Long^{1,2,3} KONG Qing-Ke^{1,2,3} LIU Qing^{4*} ZHAO Xin-Xin^{1,2,3*}

- (1. Institute of Preventive Veterinary Medicine, College of Veterinary Medicine, Sichuan Agricultural University, Chengdu, Sichuan 611130, China)
- (2. Avian Disease Research Center, College of Veterinary Medicine, Sichuan Agricultural University, Chengdu, Sichuan 611130, China)
- (3. Key Laboratory of Animal Disease and Human Health of Sichuan Province, Sichuan Agricultural University, Chengdu, Sichuan 611130, China)
- (4. Department of Bioengineering, College of Veterinary Medicine, Sichuan Agricultural University, Chengdu, Sichuan 611130, China)

Abstract: O-antigen (O-polysaccharide) is a part of the lipopolysaccharide component of the outer membrane of *Salmonella* and consists of oligosaccharide repeats (O units). It is one of the most

Foundation item: National Natural Science Foundation of China (No. 31502106, 31200697); Applied Basic Research Program of Science and Technology Department of Sichuan Province (No. 2015JY0244)

*Corresponding authors: LIU Qing: E-mail: qing.liu.2@sicau.edu.cn

ZHAO Xin-Xin: Tel: 86-28-86291176; E-mail: xxinzhao@163.com

Received: October 19, 2015; Accepted: December 07, 2015; Published online (www.cnki.net): January 04, 2016

基金项目: 国家自然科学基金项目(No. 31502106, 31200697); 四川省科技厅应用基础计划项目(No. 2015JY0244)

*通讯作者: 刘青: E-mail: qing.liu.2@sicau.edu.cn

赵新新: Tel: 86-28-86291176; E-mail: xxinzhao@163.com

收稿日期: 2015-10-19; 接受日期: 2015-12-07; 优先数字出版日期(www.cnki.net): 2016-01-04

variable cell constituents and the diversity is a common basis for bacterial serotyping. Genes, which are responsible for O-polysaccharide synthesis and translocation, exist in *Salmonella* genome into cluster, called O-antigen gene cluster. The presence of O antigen plays a role in bacterial virulence and is essential for invasion, survival and colonization of bacteria in their natural environment. Besides, O-antigen is also a major protective antigen of *Salmonella*, and it can stimulate the host to produce strong immune responses, which contribute to bacteria elimination. Thus, it has extensively been targeted for vaccine development. This review summarizes O-antigen in terms of gene structures, synthesis, function and its application in vaccine development.

Keywords: *Salmonella*, O-antigen polysaccharide, Gene structure, Virulence, Vaccine

沙门菌是兼性厌氧革兰氏阴性细菌,分为邦戈尔沙门氏菌(*Salmonella bongori*)和肠道沙门氏菌(*Salmonella enterica*, *S. enterica*)两个种,后者能够引起人类、哺乳类、鸟类、爬行类等多种动物的食物源性人畜共患病^[1],主要表现为发热、肠炎、败血症等症状,严重威胁着人畜的健康^[2]。本文主要讲述致病性肠道沙门氏菌(*S. enterica*) O-抗原多糖的研究进展。

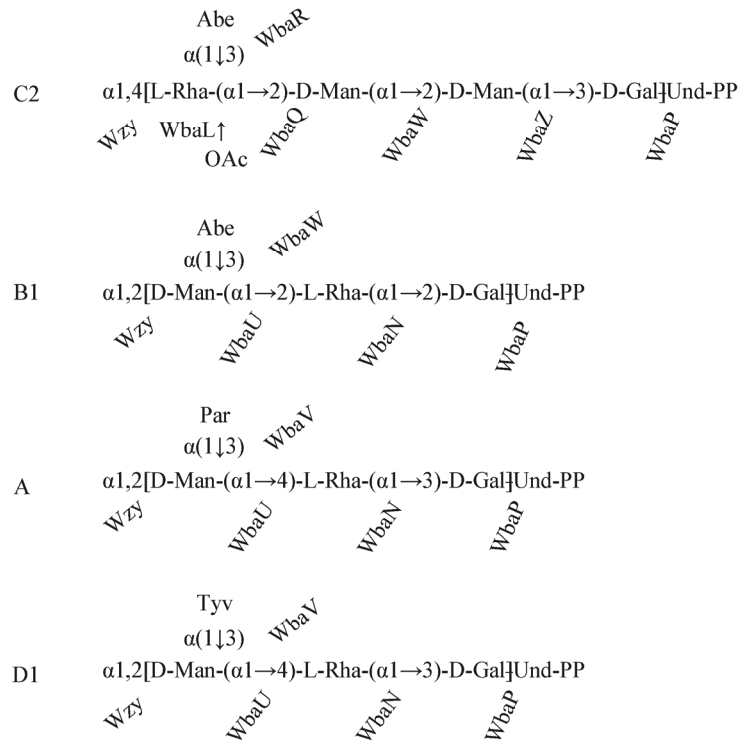
O-抗原多糖是沙门菌脂多糖的重要组成成分,由重复的寡糖单元组成,呈链状结构表达于细胞外膜^[3]。它是沙门菌最多变的细胞组分,其多样性表现为组成的单糖种类、空间结构上的顺序及糖键的不同。O-抗原的多样性是在宿主免疫系统、噬菌体及其他环境因素的长期选择压力下逐步形成的,成为划分血清型的重要依据,同时对沙门菌群体的存活也意义重大^[4-5]。O-抗原与细菌的致病性密切相关,是沙门菌的主要毒力因子^[6],缺乏O-抗原能显著降低细菌的毒力^[7]。研究表明,它参与沙门菌一系列的生物学过程,包括维持细胞外膜的稳定性、信号识别、入侵和定殖及免疫逃避等^[8]。此外,O-抗原多糖具有良好的免疫原性,是一种主要的保护性抗原^[9],其特异性抗体能够有效阻止和清除细菌的入侵与感染,因而已成为研制沙门菌疫苗的重要靶抗原^[10]。本文从O-抗原多糖的合成、参与的生物学过程及其在疫苗研制中的应用三个方面系统阐述O-抗原多糖的研究进展。

1 O-抗原多糖的合成

O-抗原多糖由寡糖重复单位组成(几个到几十个),每个重复单位通常由2到8个单糖组成,

形成有分枝或无分枝的链状结构。以鼠伤寒沙门菌(*Salmonella typhimurium*)为例,其寡糖单位由4个单糖组成,分别为半乳糖、甘露糖、阿比可糖、鼠李糖。WHO沙门菌参考和研究合作中心及巴斯德研究所公布的KW抗原分型系统(Kauffmann-White-Le Minor serotyping scheme)是目前通用的沙门菌血清型分类方法,其中包括46种O-抗原和114种H-抗原,O-抗原以数字或字母表示^[11]。根据O-抗原将沙门菌划分为不同的血清群,在此基础上结合H-抗原再划分为不同的血清型,目前分离鉴定的血清型达2557个^[11]。肠道沙门氏菌(*S. enterica*)分为6个亚种:*S. enterica* subsp. *enterica*, *S. enterica* subsp. *salamae*, *S. enterica* subsp. *arizonae*, *S. enterica* subsp. *diarizonae*, *S. enterica* subsp. *houtenae*, *S. enterica* subsp. *indica*,其中*S. enterica* subsp. *enterica*涵盖约60%的血清型,也是最常见的引发沙门氏菌病的一个重要亚种^[4]。

此外,根据链的长短,一般可粗略地将O-抗原多糖链分为长型(>100个重复糖单位)、中间型(16-35个重复糖单位)和短型(1-15个重复糖单位)^[12-13]。依据起始的糖还可分为N-乙酰葡萄糖胺起始的O-抗原和N-乙酰半乳糖胺起始的O-抗原,而大多数致病性沙门菌的O-抗原属于后一种^[4]。由于构成重复单位的单糖种类和排列顺序、多糖链的空间结构及侧链的有无等存在异质性,因而O-抗原具有高度的多样性(图1)。不同血清型的沙门菌拥有不同的O-抗原结构,而参与合成O-抗原的基因是造成其多样性的决定因素^[14]。图1所示为4种流行性血清群C2、B1、A、D1的O-抗原化学结构,

图 1 肠道沙门氏菌 O-抗原的化学结构^[14]Figure 1 Structures of *Salmonella enterica* O antigens^[14]

注: OAc: O-乙酰基; Abe: 阿比可糖; Gal: 半乳糖; Man: 甘露糖; Par: 泊雷糖; Rha: 鼠李糖; Tyv: 泰威糖.

Note: OAc: O-acetyl group; Abe: Abequose; Gal: Galactose; Man: Mannose; Par: Paratose; Rha: Rhamnose; Tyv: Tyvelose.

中 B1、A、D1 的 O-多糖重复单位的主干糖组成一致, 主要区别在于侧糖不同, 分别为阿比可糖、泊雷糖、泰威糖; 而 C2 的 O-多糖的主干糖由半乳糖-甘露糖-甘露糖-鼠李糖组成, 比其余 3 种 O-多糖多了一个甘露糖。

研究证实, O-抗原多糖的合成是多基因协调作用的结果, 这些基因一般成簇存在, 形成 O-抗原基因簇, 通常位于基因组的 *galF* 和 *gnd* 基因位点之间^[15]。O-抗原基因簇通常由 3 种基因组成: 单糖合成基因、糖基转移基因和寡糖单位处理基因(图 2)^[16]。单糖合成基因通常是保守的, 负责合成仅在 O-抗原中存在的罕见糖, 如甘露糖、鼠李糖, 而 O-抗原中的常见糖, 如葡萄糖、半乳糖、N-乙酰葡萄糖胺等, 则通常由位于基因簇外的其它基因负责合成^[4]。糖基转移基因负责将单糖转移到一个固定在细胞内膜胞质侧的 Undp 脂质载体上, 在内膜的

胞质侧合成寡糖单位^[3,17]。寡糖单位处理基因负责合成 O-抗原转运酶和聚合酶, 完成 O-抗原的加工和转运。沙门菌 O-抗原的合成和转运由 3 种不同的通路所介导, 包括 Wzx/Wzy 途径、ATP-binding cassette (ABC)途径和合酶途径。几乎所有血清型的沙门菌 O-抗原合成由 Wzx/Wzy 途径所介导, 但 O67 和 O54 例外, 分别由 ABC 途径和合酶途径介导^[4,18]。在 Wzx/Wzy 途径中, O-抗原中的寡糖单位通过翻转酶(Wzx)被转移到内膜周质侧, 然后通过聚合酶(Wzy)聚合成多糖, 再在 O-抗原连接酶(WaaL)的作用下, 将多糖连接到一个糖脂分子(类脂 A 和核心寡糖)上形成完整的脂多糖分子^[19-20]。而 ABC 途径中, 转移酶(WecA)催化形成起始的 Undpp-GlcNAc, 在细菌内膜胞质侧通过糖基转移酶连续将糖基转移到延伸的糖链的非还原端而多聚化, 然后组装而成的多糖链在 Wzm 和 Wzt 两个蛋白的作用下, 通

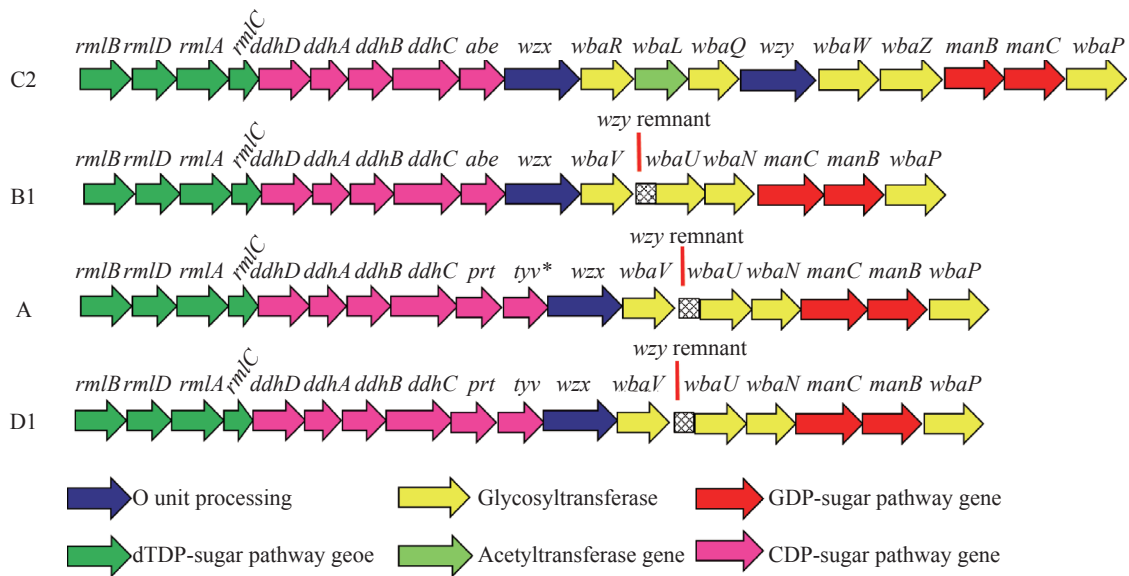


图2 流行性肠道沙门氏菌血清群的 O-抗原基因簇^[4]

Figure 2 The O-antigen gene clusters of *Salmonella enterica*^[4]

注: 箭头代表基因的位置和方向; *: A 血清群的 *tyv* 基因发生了移码突变, 不能正常行使相应功能。

Note: Open arrows represent the location and orientation of putative genes; *: The *tyv* gene in the O-antigen gene cluster of group A is nonfunctional due to a frame shift mutation.

过 ABC 转运系统转到膜外。合酶途径则由转移酶 (WecA) 催化形成起始的 Undpp-GlcNAc, 然后由糖基转移酶 (WbbF 和 WbbE) 催化多聚体的延伸, 由于 WbbF 具有糖基转移酶和转运输出的双重功能, 因而它还负责将合成的 O-抗原转移至内膜外侧进行组装^[4]。

2 O-抗原多糖的生物学功能

O-抗原是沙门菌重要的致病因子, 在沙门菌粘附与入侵^[21]、肠道定殖^[22]、免疫逃避^[14]及体内存活, 如血清敏感性^[23]、对吞噬细胞的抵抗能力^[24]、泳动能力^[25]等诸多生物学过程中发挥显著作用。研究表明, 粗糙型沙门菌(缺乏 O-抗原链或 O-抗原链减少)的泳动能力和定殖能力减弱, 对血清补体和抗生素更加敏感, 对吞噬细胞的抵抗能力也显著下降^[7,26-27]。链的长短对沙门菌的生物学特性也有一定的影响, 缩短 O-抗原链的长度可提升沙门菌对肠道上皮细胞的侵染能力, 其机制可能是细菌表面多糖缺失或多糖链缩短使得细菌更容易接触细胞表面的粘附蛋白, 从而增加了细菌对细胞粘附和入

侵^[7,28]; 长型和中间型 O-抗原链则有助于沙门菌抵抗机体内的极度恶劣环境, 包括有机酸、胆酸盐(如 Deoxycholate)、抗菌肽(如多粘菌素 B), 使细菌更容易定殖于肠道^[29-31]; 同时, 拥有中间型 O-多糖糖链的细菌能够有效抵抗补体和吞噬细胞的杀灭作用^[31-32]; 缺乏长型糖链对细菌抵抗补体和吞噬细胞的抵抗作用则影响不显著^[33], 但能优化荚膜多糖(Vi 多糖)的免疫逃避机制, 这可能是伤寒沙门菌 (*Salmonella Typhi*) 在长期的生存选择中失去长型 O-抗原糖链的原因^[34]。此外, O-抗原糖链分枝结构的有无对沙门菌的生物学特性也有重要影响, 当缺失 O-抗原侧链时, 细菌对血清补体和抗菌肽的敏感性增加, 泳动能力和肠道定殖能力也显著下降^[35]。因此, O-抗原糖链的有无、长短及分支结构均对沙门菌的生物学特性具有重要影响, 可见 O-抗原在沙门菌完成其生活史过程中具有不可替代的重要作用。

3 O-抗原多糖的免疫原性及其相关疫苗研究

研究表明, O-抗原具有良好的免疫原性, 也是沙门菌主要的保护性抗原^[36], 其特异性抗体与免疫

保护息息相关^[10]。野生型鼠伤寒沙门菌灭活苗免疫动物后, 能够为小鼠和兔子提供保护力, 且能产生高水平的 O-抗原特异性抗体, 而缺乏 O-抗原的沙门菌灭活疫苗则无法提供保护^[37]; O-抗原特异性 IgA 单克隆抗体(Sal4), 能够通过抑制鞭毛的功能而降低细菌的运动力、破坏细菌外膜的完整性, 通过抑制毒力岛III型分泌系统而降低细菌的侵染力, 保护小鼠免受大剂量鼠伤寒沙门氏菌强毒株的感染^[38]。

鉴于 O-抗原在免疫保护中的重要作用, O-抗原成为亚单位疫苗研究领域的重要靶抗原, 被认为可用于研制沙门菌多糖疫苗^[39]。然而初期的研究表明, O-抗原单独存在时是一种半抗原, 不能像伤寒沙门菌 Vi 多糖一样被单独制作成多糖疫苗, 原因可能是 O-抗原多糖相对于 Vi 多糖的分子量较低^[39]。因而人们通过化学方法将 O-多糖与载体蛋白共价结合, 制备多糖-蛋白结合疫苗^[40-41]。研究证实, 通过化学方法 1-Cyano-4-dimethylaminopyridinium tetrafluoroborate (CDAP)将鞭毛蛋白与 O-多糖连接而制备的多糖-蛋白结合疫苗能激发 BALB/c 小鼠和 CD-1 小鼠产生高水平的 IgG 抗体, 能够抵抗超大剂量的肠炎沙门菌(*Salmonella enteritidis*)强毒株的感染, 证明其具有良好的免疫保护效果^[42]。同样, 通过 Adipic acid dihydrazide (ADH)等化学方法, 将鼠伤寒沙门菌的 O-抗原多糖分别连接到新型蛋白载体白喉类毒素(Diphtheria toxoid, DT)和破伤风类毒素(Tetanus toxoid, TT)上制成的多糖-蛋白结合疫苗也被证实具有理想的免疫保护效果^[43-44]。其它载体蛋白的发现, 包括白喉毒素突变体交叉反应物质 197 (Cross reacting material 197, CRM197)、B 群脑膜炎球菌外膜蛋白(Group B meningococcal outer membrane protein, MenBOMP)、流感嗜血杆菌 D 蛋白、绿脓杆菌外毒素 A (*Pseudomonas aeruginosa* exotoxin A, PEA)等^[45]。虽然这些载体蛋白与 O-抗原多糖结合的效果还不知道, 但为 O-抗原多糖疫苗的研制提供了更多可能性。这些结果预示着 O-抗原多糖-蛋白结合疫苗具有广阔的应用前景。

4 问题与展望

O-抗原多糖是沙门菌细胞膜的重要组成成分, 研究其基因结构和功能对剖析沙门菌这一重要人畜共患病原的致病机理具有重要推动作用。分析了解沙门氏菌 O-抗原的分子基础、化学组成及合成过程, 有利于揭示 O-抗原多样性产生的机制, 也有利于通过分子生物学的方法改变沙门菌 O-抗原糖重复单位的结构或者 O-抗原的大小, 掌握 O-抗原结构与细菌致病性之间的关系。随着测序及质谱技术的发展, 大多数致病性沙门氏菌的 O-抗原基因簇和化学组成已被揭示, 这对血清型划分和流行病学调查具有重要意义^[14]。然而, O-抗原多样性与细菌致病性之间的关系, 即 O-抗原结构或化学组成的不同对沙门菌毒力、定殖等生物学特性的影响还远远没有研究清楚。虽然现在已阐明 O-多糖的有无、链的长短、分支结构等均影响着细菌的入侵、定殖等生物学特性, 但此部分研究尚处于初始阶段, 且仅局限在少数几种 O-抗原上, 具体的作用机制也还不清楚^[4], 这需要以多种 O-抗原为研究对象进行更广泛而深入的研究。此外, 鉴于 O-抗原具有免疫保护性, 因而, 如何精细调控 O-多糖的结构使得细菌减毒的同时又保持其免疫保护性也应成为未来的重要研究内容。

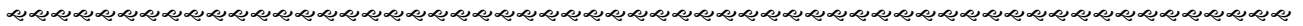
疫苗是控制疾病发展最有效、最经济的手段。沙门菌对人类及动物的严重危害凸显了疫苗研究的紧迫性, 伤寒沙门菌 Vi-多糖疫苗的商品化证明多糖疫苗具有广阔的应用前景。目前关于 O-抗原多糖-蛋白结合疫苗的研究也证实 O-多糖有望像 Vi-多糖一样成为预防沙门菌的重要武器。然而, 研制此种疫苗无法忽视的问题之一是蛋白载体的选择与使用。虽然蛋白载体能显著提高 O-多糖抗原的免疫原性, 但是同一载体蛋白的重复应用会出现争夺体内有限的载体特异性 T 淋巴细胞的现象, 以及免疫产生的载体蛋白特异性抗体会结合接种抗原, 从而影响免疫效果。同时, 目前多糖-蛋白结合疫苗使用的载体蛋白含量较大, 可能会引起超负荷或免

疫抑制等问题^[46]。因此,为满足疫苗需求,筛选新颖的、更高效及更安全的载体蛋白也是研制沙门菌 O-抗原多糖疫苗需解决的关键科学问题。

参 考 文 献

- [1] Coburn B, Grassl GA, Finlay BB. *Salmonella*, the host and disease: a brief review[J]. Immunology and Cell Biology, 2007, 85(2): 112-118
- [2] Althouse C, Patterson S, Fedorka-Cray P, et al. Type 1 fimbriae of *Salmonella enterica* serovar Typhimurium bind to enterocytes and contribute to colonization of swine in vivo[J]. Infection and Immunity, 2003, 71(11): 6446-6452
- [3] Erridge C, Bennett-Guerrero E, Poxton IR. Structure and function of lipopolysaccharides[J]. Microbes and Infection, 2002, 4(8): 837-851
- [4] Liu B, Knirel YA, Feng L, et al. Structural diversity in *Salmonella* O antigens and its genetic basis[J]. FEMS Microbiology Reviews, 2014, 38(1): 56-89
- [5] Butela K, Lawrence J. Population genetics of *Salmonella*: selection for antigenic diversity[A]. //Robinson DA, Falush D, Feil EJ. Bacterial Population Genetics in Infectious Disease[M]. Hoboken, New Jersey: John Wiley & Sons, Inc., 2010: 287-319
- [6] Duerr CU, Zenk SF, Chassin C, et al. O-antigen delays lipopolysaccharide recognition and impairs antibacterial host defense in murine intestinal epithelial cells[J]. PLoS Pathogens, 2009, 5(9): e1000567
- [7] Kong QK, Yang J, Liu Q, et al. Effect of deletion of genes involved in lipopolysaccharide core and O-antigen synthesis on virulence and immunogenicity of *Salmonella enterica* serovar typhimurium[J]. Infection and Immunity, 2011, 79(10): 4227-4239
- [8] Lerouge I, Vanderleyden J. O-antigen structural variation: mechanisms and possible roles in animal/plant-microbe interactions[J]. FEMS Microbiology Reviews, 2002, 26(1): 17-47
- [9] Mahan MJ, Heithoff DM, House JK. *Salmonella* cross-protective vaccines: fast-forward to the next generation of food safety[J]. Future Microbiology, 2012, 7(7): 805-808
- [10] Kong QK, Liu Q, Jansen AM, et al. Regulated delayed expression of *rfc* enhances the immunogenicity and protective efficacy of a heterologous antigen delivered by live attenuated *Salmonella enterica* vaccines[J]. Vaccine, 2010, 28(37): 6094-6103
- [11] Guibourdenche M, Roggentin P, Mikoleit M, et al. Supplement 2003-2007 (No. 47) to the White-Kauffmann-Le Minor scheme[J]. Research in Microbiology, 2010, 161(1): 26-29
- [12] Batchelor RA, Alifano P, Biffali E, et al. Nucleotide sequences of the genes regulating O-polysaccharide antigen chain length (*rol*) from *Escherichia coli* and *Salmonella typhimurium*: protein homology and functional complementation[J]. Journal of Bacteriology, 1992, 174(16): 5228-5236
- [13] Kenyon JJ, Reeves PR. The Wzy O-antigen polymerase of *Yersinia pseudotuberculosis* O: 2a has a dependence on the Wzz chain-length determinant for efficient polymerization[J]. FEMS Microbiology Letters, 2013, 349(2): 163-170
- [14] Reeves PR, Cunneen M M, Liu B, et al. Genetics and evolution of the *Salmonella* galactose-initiated set of O antigens[J]. PLoS One, 2013, 8(7): e69306
- [15] Wang XY, Quinn P J. Lipopolysaccharide: biosynthetic pathway and structure modification[J]. Progress in Lipid Research, 2010, 49(2): 97-107
- [16] Reeves PR, Hobbs M, Valvano MA, et al. Bacterial polysaccharide synthesis and gene nomenclature[J]. Trends in Microbiology, 1996, 4(12): 495-503
- [17] van Kranenburg R, vos HR, Van Swam II, et al. Functional analysis of glycosyltransferase genes from *Lactococcus lactis* and other gram-positive cocci: complementation, expression, and diversity[J]. Journal of Bacteriology, 1999, 181(20): 6347-6353
- [18] Keenleyside WJ, Whitfield C. A novel pathway for O-polysaccharide biosynthesis in *Salmonella enterica* serovar Borreze[J]. The Journal of Biological Chemistry, 1996, 271(45): 28581-28592
- [19] Woodward R, Yi W, Li L, et al. *In vitro* bacterial polysaccharide biosynthesis: defining the functions of Wzy and Wzz[J]. Nature Chemical Biology, 2010, 6(6): 418-423
- [20] Liu M A, Stent T L, Hong Y, et al. Inefficient translocation of a truncated O unit by a *Salmonella* Wzx affects both O-antigen production and cell growth[J]. FEMS Microbiology Letters, 2015, 362(9): fnv053
- [21] Nagy G, Danino V, Dobrindt U, et al. Down-regulation of key virulence factors makes the *Salmonella enterica* serovar Typhimurium *rfaH* mutant a promising live-attenuated vaccine candidate[J]. Infection and Immunity, 2006, 74(10): 5914-5925
- [22] Coward C, Sait L, Cogan T, et al. O-antigen repeat number in *Salmonella enterica* serovar Enteritidis is important for egg contamination, colonisation of the chicken reproductive tract and survival in egg albumen[J]. FEMS Microbiology Letters, 2013, 343(2): 169-176
- [23] Osawa K, Shigemura K, Iguchi A, et al. Modulation of O antigen chain length by the *wzz* gene in *Escherichia coli* O157 influences its sensitivities to serum complement[J]. Microbiology and Immunology, 2013, 57(9): 616-623
- [24] Shimada M, Kadowaki T, Taniguchi Y, et al. The involvement of O-antigen polysaccharide in lipopolysaccharide in macrophage activation[J]. Anticancer Research, 2012, 32(6): 2337-2341
- [25] Toguchi A, Siano M, Burkart M, et al. Genetics of swarming motility in *Salmonella enterica* serovar Typhimurium: critical role for lipopolysaccharide[J]. Journal of Bacteriology, 2000, 182(22): 6308-6321
- [26] Thomsen LE, Chadfield MS, Bispham J, et al. Reduced amounts of LPS affect both stress tolerance and virulence of *Salmonella enterica* serovar Dublin[J]. FEMS Microbiology Letters, 2003, 228(2): 225-231
- [27] Yethon JA, Gunn JS, Ernst RK, et al. *Salmonella enterica* serovar Typhimurium *waaP* mutants show increased susceptibility to polymyxin and loss of virulence *in vivo*[J]. Infection and Immunity, 2000, 68(8): 4485-4491
- [28] West NP, Sansonetti P, Mounier J, et al. Optimization of virulence functions through glucosylation of *Shigella* LPS[J]. Science, 2005, 307(5713): 1313-1317
- [29] Barua S, Yamashino T, Hasegawa T, et al. Involvement of surface polysaccharides in the organic acid resistance of Shiga Toxin-producing *Escherichia coli* O157: H7[J]. Molecular Microbiology, 2002, 43(3): 629-640
- [30] Crawford RW, Keestra AM, Winter SE, et al. Very long O-antigen chains enhance fitness during *Salmonella*-induced colitis by increasing bile resistance[J]. PLoS Pathogens, 2012, 8(9): e1002918
- [31] Hölzer SU, Schlumberger MC, Jäckel D, et al. Effect of the O-antigen length of lipopolysaccharide on the functions of Type III secretion systems in *Salmonella enterica*[J]. Infection and Immunity, 2009, 77(12): 5458-5470
- [32] Murray GL, Attridge SR, Morona R. Regulation of *Salmonella typhimurium* lipopolysaccharide O antigen chain length is required for virulence; identification of FepE as a second Wzz[J]. Molecular Microbiology, 2003, 47(5): 1395-1406
- [33] Murray GL, Attridge SR, Morona R. Inducible serum resistance in *Salmonella typhimurium* is dependent on *wzz fepE*-regulated very long O antigen chains[J]. Microbes and Infection, 2005, 7(13): 1296-1304

- [34] Crawford RW, Wangdi T, Spees AM, et al. Loss of very-long O-antigen chains optimizes capsule-mediated immune evasion by *Salmonella enterica* serovar Typhi[J]. MBio, 2013, 4(4): e00232-13
- [35] Ilg K, Endt K, Misselwitz B, et al. O-antigen-negative *Salmonella enterica* serovar Typhimurium is attenuated in intestinal colonization but elicits colitis in streptomycin-treated mice[J]. Infection and Immunity, 2009, 77(6): 2568-2575
- [36] Kong QK, Liu Q, Roland KL, et al. Regulated delayed expression of rfaH in an attenuated *Salmonella enterica* serovar Typhimurium vaccine enhances immunogenicity of outer membrane proteins and a heterologous antigen[J]. Infection and Immunity, 2009, 77(12): 5572-5582
- [37] Rondini S, Lanzilao L, Necchi F, et al. Invasive African *Salmonella typhimurium* induces bactericidal antibodies against O-antigens[J]. Microbial Pathogenesis, 2013, 63: 19-23
- [38] Forbes SJ, Martinelli D, Hsieh C, et al. Association of a protective monoclonal IgA with the O antigen of *Salmonella enterica* serovar Typhimurium impacts type 3 secretion and outer membrane integrity[J]. Infection and Immunity, 2012, 80(7): 2454-2463
- [39] Pakkanen S H, Kantele J M, Savolainen L E, et al. Specific and cross-reactive immune response to oral *Salmonella* Typhi Ty21a and parenteral Vi capsular polysaccharide typhoid vaccines administered concomitantly[J]. Vaccine, 2015, 33(3): 451-458
- [40] Blanchard-Rohner G, Pollard A J. Long-term protection after immunization with protein-polysaccharide conjugate vaccines in infancy[J]. Expert Review Vaccines, 2011, 10(5): 673-684
- [41] Pollard AJ, Perrett KP, Beverley PC. Maintaining protection against invasive bacteria with protein-polysaccharide conjugate vaccines[J]. Nature Reviews Immunology, 2009, 9(3): 213-220
- [42] Simon R, Tennant SM, Wang JY, et al. *Salmonella enterica* serovar Enteritidis core O polysaccharide conjugated to H: g, m flagellin as a candidate vaccine for protection against invasive infection with *S. enteritidis*[J]. Infection and Immunity, 2011, 79(10): 4240-4249
- [43] Ali A, An SJ, Cui CF, et al. Preparation and evaluation of immunogenic conjugates of *Salmonella enterica* serovar Typhi O-specific polysaccharides with diphtheria toxoid[J]. Human Vaccines & Immunotherapeutics, 2012, 8(2): 189-193
- [44] Muthukkumar S, Stein KE. Immunization with meningococcal polysaccharide-tetanus toxoid conjugate induces polysaccharide-reactive T cells in mice[J]. Vaccine, 2004, 22(9/10): 1290-1299
- [45] Robbins JB, Schneerson R, Szu SC, et al. Polysaccharide-protein conjugate vaccines[A]/Plotkin SA. History of Vaccine Development[M]. New York: Springer, 2011: 91-102
- [46] Dagan R, Poolman J, Siegrist CA. Glycoconjugate vaccines and immune interference: a review[J]. Vaccine, 2010, 28(34): 5513-5523



稿件书写规范

高校教改纵横栏目简介及撰稿要求

“高校教改纵横”栏目，是中国微生物学会主办的科技期刊中唯一的教學类栏目，也是中国自然科学核心期刊中为数不多的教學栏目。该栏目专为微生物学及其相关学科领域高校教师开辟，一方面为高校微生物学科的教师提供一个发表論文的平台，同时微生物关联学科的一部分确实优秀的論文也可以在此发表，是微生物学及相关领域教学研究、交流、提高的园地。

本栏目的文章有别于其他实验类研究报告，特色非常鲜明。要求作者来自教学第一线，撰写的稿件内容必须要有新意、要实用，不是泛泛地叙述教学设计与过程，而是确实有感而发，是教学工作中的创新体会，或者在教学中碰到的值得商榷的、可以与同行讨论的有价值的论题。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，注意将国内外新的科技成果和教学理念贯穿到教学之中，只有这样才能真正起到教与学的互动，促进高校生物学教学的发展，更多更好地培养出国家需要的高科技创新人才。这也是本栏目的目的所在。

同时，为了给全国生物学领域的教学工作者提供一个更广阔更高层次的交流平台，本栏目还开辟了“名课讲堂”版块，邀约相关生命科学领域，如微生物学、分子生物学、生物医学、传染病学、环境科学等的教学名师、知名科学家就教学和学生培养发表观点，推荐在教学改革、教学研究、引进先进教学手段或模式以及学生能力培养等方面有突出成绩的优秀論文，为高校教师以及硕士、博士研究生导师提供一个可资交流和学习平台，促进高校教学和人才培养水平的提高。

欢迎投稿！欢迎对本栏目多提宝贵意见！