

· 论 著 · doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2018.24.001

基于生物信息学分析肺炎链球菌 LytR 蛋白特征*

吴凯峰¹, 张兢之¹, 查 何¹, 刘 雁¹, 童华波¹, 潘 卫², 王正蓉²

(1. 贵州省遵义市第一人民医院/遵义医学院第三附属医院检验科 563000;

2. 贵州医科大学检验医学院, 贵阳 550004)

[摘要] **目的** 研究肺炎链球菌 spr1759(LytR)蛋白的基本理化性质,初步分析预测该蛋白的结构与功能。**方法** 利用 Bioedit、TMHMM、TargetP 和 ExPASy 等多种生物信息学软件对肺炎链球菌 spr1759 蛋白进行分析,并对其功能预测。利用 TMHMM 软件对比肺炎链球菌 spr1759 蛋白与炭疽芽孢杆菌 BAS5115 蛋白和枯草芽孢杆菌 DJ97_1211 二级结构差异;利用 Megalign 软件分析它们之间的氨基酸序列相似性。**结果** 肺炎链球菌 spr1759 蛋白为一亲水性蛋白,其相对分子质量为 37.56×10^3 ,等电点为 5.11,存在 1 个跨膜区。肺炎链球菌 spr1759 蛋白属于 LytR_cpsA_psr 超家族,可能具有阴离子细胞壁多聚物合成相关酶的功能。与其他细菌蛋白比对发现,该蛋白与炭疽芽孢杆菌 BAS5115 蛋白和枯草芽孢杆菌 DJ97_1211 具有相似的跨膜结构域,均含有 1 跨膜结构;肺炎链球菌 spr1759 蛋白与炭疽芽孢杆菌 BAS5115 蛋白和枯草芽孢杆菌 DJ97_1211 蛋白氨基酸序列具有较高同源性,全长序列相似性分别为 35.7% 和 32.5%。**结论** 肺炎链球菌 LytR 蛋白是具有跨膜结构的亲水性蛋白,可能具有阴离子细胞壁多聚物合成相关酶学功能。

[关键词] 肺炎;链球菌属;肺炎链球菌;LytR 蛋白;生物学信息学分析**[中图分类号]** R378.1+4**[文献标识码]** A**[文章编号]** 1671-8348(2018)24-3125-04

Study on characteristics of Streptococcus pneumoniae LytR protein based on bioinformatics*

WU Kai feng¹, ZHANG Jing zhi¹, ZHA He¹, LIU Yan¹, TONG Huabo¹, PAN Wei², WANG Zhengrong²

(1. Department of Clinical Laboratory, the First People's Hospital of Zunyi/Third Affiliated Hospital of Zunyi Medical University, Zunyi, Guizhou 563000, China; 2. College of Laboratory Medicine, Guizhou Medical University, Guiyang, Guizhou 550004, China)

[Abstract] **Objective** To study the basic physicochemical properties of Streptococcus pneumoniae spr1759 (LytR) protein and to preliminarily analyze its structure and function. **Methods** Streptococcus pneumoniae spr1759 protein was analyzed by using multiple bioinformatic softwares including Bioedit, TMHMM, TargetP and ExPASy, and its functions were predicted. The secondary structure differences were compared between Streptococcus pneumoniae spr1759 protein and Bacillus anthracis BAS5115 protein or Bacillus subtilis DJ97_1211 protein by using the TMHMM software. The amino acid sequence similarity between them was analyzed by using the Megalign software. **Results** Streptococcus pneumoniae spr1759 protein was a hydrophilic protein with a relative molecular weight of 37.56×10^3 , an isoelectric point of 5.11, and one transmembrane region. Streptococcus pneumoniae Spr1759 belonged to the LytR_cpsA_psr superfamily and might have the function of anionic cell wall polymer synthesis related enzyme. Protein structure comparison revealed that this protein had a transmembrane structure domain similar to that of Bacillus anthracis BAS5115 protein and Bacillus subtilis DJ97_1211, and all contained one transmembrane structure. Streptococcus pneumoniae spr1759 protein had higher homology with the amino sequence of Bacillus anthracis BAS5115 protein and Bacillus subtilis DJ97_1211, and the full length sequence similarities were 35.7% and 32.5%, respectively. **Conclusion** Streptococcus pneumoniae LytR protein is a hydrophilic protein with one transmembrane structure, which may have the function of anionic cell wall polymer synthesis related enzyme.

[Key words] pneumoniae; streptococcus; streptococcus pneumoniae; LytR protein; bioinformatic analysis

肺炎链球菌是社区获得性肺炎最常见的细菌性病原菌,其所致的肺炎也是重症社区获得性肺炎入住

重症监护室最常见的原因^[1]。2013 年,全球约有 40 万 6 岁以下儿童死于肺炎链球菌感染^[2]。此外,全球

* 基金项目:国家自然科学基金资助项目(31600115,81560324)。

作者简介:吴凯峰(1985—),副主任医师,博士,主要从事病原微生物致病机制和防治方面的研究。

也正面临较为严峻的肺炎链球菌抗生素耐药,以及 7 价或 13 价肺炎链球菌蛋白结合疫苗在地区之间保护效果不一和保护率有限等问题^[3-4]。为切实提高对肺炎链球菌感染的防治能力,需要深入了解肺炎链球菌的分子致病基础。

磷壁酸是革兰阳性细菌细胞壁重要的多糖分子。在肺炎链球菌中,磷壁酸也是一种极为重要的毒力因子^[5-6],该分子在感染过程中有着与其他细菌磷壁酸相似的生物学功能,且可能具有某些新特征。当细菌磷壁酸显著减少时,相应的肺炎链球菌的生理学功能将严重受损,细菌致病力也将明显降低^[5]。由此可见,研究磷壁酸的合成过程对指导设计新型抗菌药物或疫苗具有重要的理论价值。本课题组前期研究发现 RafX 蛋白参与了磷壁酸的生物合成,体内外研究显示,RafX 蛋白与肺炎链球菌毒力有密切关系,RafX 基因缺陷的肺炎链球菌毒力明显下降^[7]。然而,肺炎链球菌磷壁酸并未因 RafX 蛋白的缺失而完全减少^[7],因此,本课题组猜测还存在替代途径参与磷壁酸的合成。

肺炎链球菌存在一个名为 LytR_cps_psr (LCP) 蛋白家族,该家族蛋白被认为与细菌胞外多糖共价连接至细胞壁肽聚糖有关^[8-9],该家族成员包括 spr1759 (LytR)、Cps2A 和 Psr 等。其中,LytR 蛋白功能尚未完全清楚。闵迅等^[10]前期已利用原核表达方式对肺炎链球菌 LytR 蛋白(肺炎链球菌 R6 菌株即 spr1759)进行过表达,晶体生长及衍射分析,然而由于技术原因,尚未对结构进行解析和功能研究。因此,本研究试图利用生物信息学方法,从美国国立生物技术信息中心(NCBI)数据库中提取肺炎链球菌 R6 标准菌株的 spr1759 基因及其编码蛋白序列,分析其基本理化性质、结构功能特征等,为肺炎链球菌的 LytR 蛋白功能研究及细菌致病机制和防治策略研究奠定基础。

1 材料与方法

1.1 肺炎链球菌 spr1759 基因及其编码氨基酸序列和生物信息学策略

从 NCBI 数据库检索并下载肺炎链球菌 R6 标准菌株 spr1759 及其编码全长氨基酸序列(protein ID 为 NP_359351.1)。本研究主要利用 BioEdit Sequence Alignment Editor、TMHMM、ExPASy、Megalign 等多种软件对 LytR 进行分析。所用在线工具的网址链接参见前期文献报道^[11]。

1.2 方法

1.2.1 肺炎链球菌 LytR 蛋白的理化性质预测

利用 Bioedit Sequence Alignment Editor 软件对 spr1759 蛋白氨基酸组成进行分析。从 NCBI 数据库 Protein 数据字库搜索 NP_359351.1 获得 FASTA 格式的全长蛋白序列,使用 Bioedit 软件打开 spr1759 蛋白序列文件,点击 Sequence,找到 Protein,再选择 Amino Acid Composition,获得蛋白构成信息。利用

ProtParam 预测相关 spr1759 蛋白原子组成、等电点、不稳定系数进行预测。进入 ExPASy ProtParam 网站,输入 spr1759 蛋白序列,点击 Compute parameters,即可获取相关参数,其中,GRAVY 值为正,提示疏水性强;GRAVY 为负,提示亲水性强。此外,再利用 ProtScale 预测 spr1759 蛋白的疏水性/亲水性,进入 ExPASy ProtScale 网站,输入 spr1759 蛋白序列,选择 Kyte & Doolittle,点击 Submit,获得 Kyte 和 Doolittle 疏水分析信息,预测值为正,表明疏水性强;反之,负值表示亲水性强。

1.2.2 肺炎链球菌 spr1759 蛋白的结构功能预测

分别利用 Tmpred 和 TMHMM 对 spr1759 蛋白进行跨膜螺旋结构预测。进入 ExPASy Tmpred 网站,输入 spr1759 蛋白序列,点击 Run Tmpred;进入 TMHMM Server V. 2.0,输入 spr1759 蛋白序列,点击 Submit,获得跨膜螺旋结构信息。利用 SignalP 预测其信号肽;进入 SignalIP 4.1 Server,输入 spr1759 蛋白序列,点击 Submit,获得信号肽信息。利用 InterProScan 和 SMART 对 spr1759 蛋白的功能域进行分析。进入 EMBL-EBI InterPro 网站,输入 spr1759 蛋白序列,点击 Submit,获得功能域信息;进入 SMART 主页,输入 spr1759 蛋白序列,点击 Sequence SMART,获得功能域信息。利用 SOPMA 和 Predict-protein 预测蛋白质长 spr1759 蛋白的 2 级结构。进入 SOPMA 的 2 级结构预测网站,输入 spr1759 蛋白序列,点击 Submit,获得 α -螺旋、 β -折叠、 β -转角和无规则卷曲比例。进入 Predictprotein 网站,输入 spr1759 蛋白序列,点击 PredictProtein,登录获得二级结构信息。将来源不同细菌的序列输入 Megalign 软件进行序列间比对。

2 结果

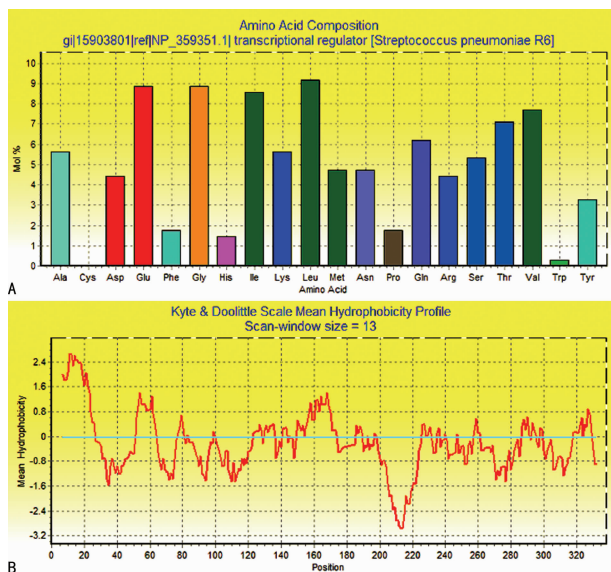
2.1 spr1759 蛋白的理化特征

肺炎链球菌 spr1759 蛋白理论等电点为 5.11,相对分子质量为 37.56×10^3 ,由 338 个氨基酸残基构成,包含 31 个 Leu (9.2%),30 个 Glu (8.9%),30 个 Gly (8.9%),29 个 Ile (8.6%);该蛋白碱性氨基酸和酸性氨基酸总数分别为 39 个 (11.5%) 和 45 个 (13.3%) (图 1A)。全长 spr1759 蛋白氨基酸脂肪指数 97.16, GRAVY 值为 -0.218,稳定指数为 44.95,属于不稳定蛋白。从图 1B 可见,全长 spr1759 蛋白肽链,亲水性氨基酸多于疏水性氨基酸,第 214 位氨基酸残基分值最低 (-3.000),第 10 位氨基酸残基分值最高 (2.700)。

2.2 一级结构中所含结构和功能域特征序列分析

InterProScan 分析结果显示,spr1759 蛋白仅含有 1 个结构功能域,属于细胞壁相关转录衰减因子(图 2A)。另外,用 NCBI 网站分析软件对全长 spr1759 蛋白进行了保守结构域的分析,发现 *S. pneumoniae* spr1759 蛋白属于 LytR_cpsA_psr 超家族蛋白(图 2B),其 E 值为 $1.24e^{-93}$,提示一种阴离子细胞壁多聚

物合成相关酶的功能。SMART 分析进一步支持了上述分析结果, spr1759 蛋白该结构域属于 LytR_cps_psr 结构域。

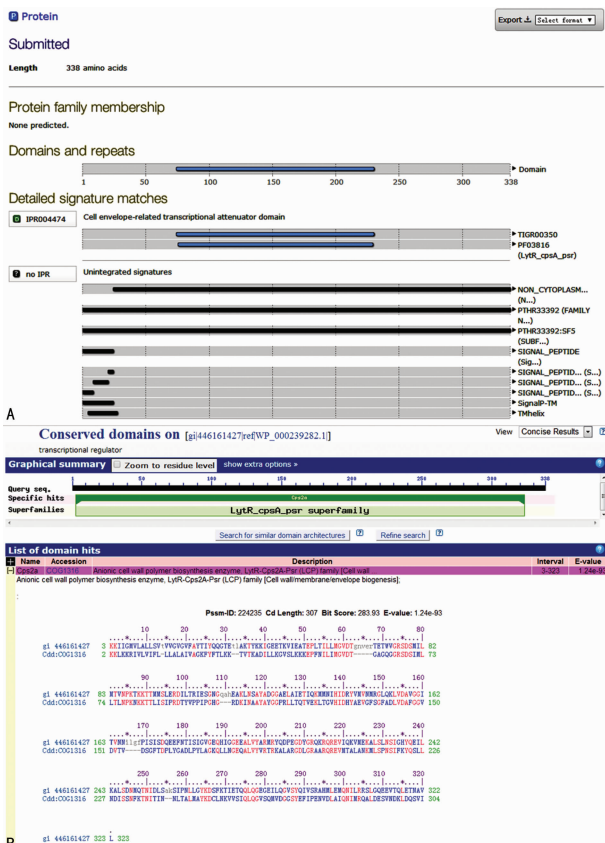


A: spr1759 氨基酸组成; B: Kyte 和 Doolittle 疏水性分析

图 1 肺炎链球菌 spr1759 蛋白氨基酸组成分布和疏水性

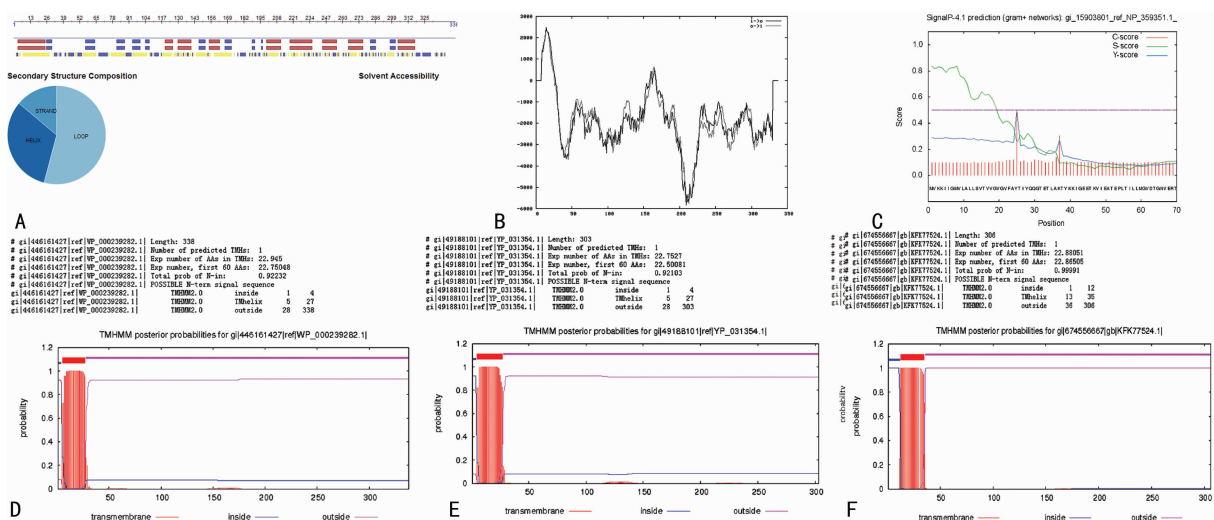
2.3 2 级结构特征 spr1759 蛋白 SOPMA 预测结果显示, 该蛋白 α -螺旋占 48.52%, β -折叠占 17.16%, β -转角占 7.40%, 无规则卷曲占 26.92%。Predict-protein 预测结果与 SOPMA 基本一致, 从图 3A 可见, α -螺旋和 β -折叠散在分布蛋白中, 作为整个蛋白的刚性支撑结构, α -螺旋占 31.95%, β -折叠 13.91%; 无规则卷曲结构为蛋白的柔性区域, 占 54.14%。Tm-pred 预测跨膜结构提示, 该蛋白总分值大于 0, 最高值达 2500, 在氨基端具有跨膜结构(图 3B)。LytR 蛋白进行信号肽分析发现, 该蛋白存在信号肽切割位点, 位于蛋白第 24 和第 25 位氨基酸之间, cut-off 值为

0.420(图 3C), InterProScan 分析结果进一步证实了 SignalP 和 Tmpred 的预测结果。利用 TMHMM 软件对 *S. pneumoniae* spr1759 蛋白(图 3D)与 LytR 家族蛋白成员 *B. anthracis* BAS5115(图 3E)和 *B. subtilis* DJ97_1211(图 3F)进行了 2 级结构跨膜区域的比较, 发现 3 者均含有 1 个跨膜结构(TM)和胞外结构。



A: InterProScan 预测肺炎链球菌 R6 spr1759 蛋白一级结构中的保守功能域; B: NCBI 蛋白保守结构域分析

图 2 生物信息学分析肺炎链球菌 spr1759 的保守结构域



A: 以 Predictprotein 预测蛋白结构; B: 使用 Tmpred 预测蛋白跨膜结构; C: SignalP 预测信号肽, 利用 TMHMM 分析; D: Streptococcus pneumoniae spr1759 跨膜结构; E: Bacillus anthracis BAS5115 跨膜结构; F: Bacillus subtilis DJ97_1211 跨膜结构

图 3 肺炎链球菌 R6 LytR 的拓扑结构、二级结构特征

2.4 系列比对 为了进一步明确肺炎链球菌 spr1759 蛋白的功能,本研究将其与 LytR-Cps-Psr 家族其他成员的一级结构进行比对,结果显示,Streptococcus pneumoniae LytR vs. Bacillus anthracis BAS5115, Streptococcus pneumoniae LytR vs. Bacillus subtilis DJ97_1211 蛋白序列一级结构比对 spr1759 与 BAS5115 和 DJ97_1211 序列相似性分别为 35.7% 和 32.5% (图 4),相似性超过 30.0%。

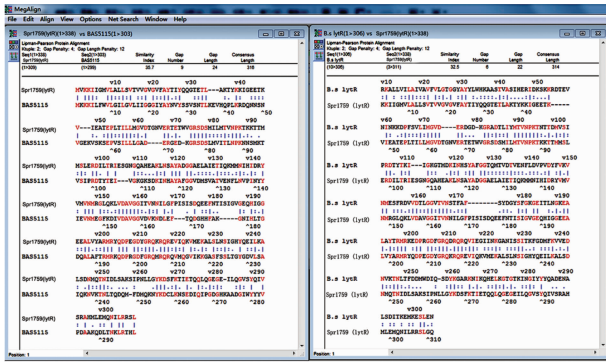


图 4 LytR 家族蛋白成员一级结构对比

3 讨论

任何一种抗菌药的使用总是伴随着耐药菌的逐渐增加而失去功效,例如,我国肺炎链球菌临床分离株对红霉素几乎全部耐药^[12]。因此,为能长期有效控制细菌感染,人类需要不断研发与原有抗菌药物无交叉耐药性的新抗菌药,这就需要不断挖掘新的作用靶点。

LCP 蛋白家族在很多阳性细菌中具有重要作用,主要参与细胞壁合成^[8,13]。通过系列分析本课题组发现肺炎链球菌也存在类似蛋白, LytR 蛋白就是其中之一。为了探究其可能的生物学功能,本研究利用生物信息学软件对蛋白进行分析,结果发现该蛋白预测相对分子质量为 37.56×10^3 ,具有跨膜结构,脂溶性差,亲水性好,这一预测结果与闵迅等^[10]前期研究是吻合的。闵迅等利用原核表达系统对蛋白进行过表达,结果发现带有跨膜结构(信号肽部分片段)无法实现蛋白游离表达,而将跨膜结构(氨基端 30 氨基酸)去除后,成功实现了蛋白的可溶表达,一方面证实了该蛋白具有跨膜结构,位于氨基端;另一方面也提示使用 TMHMM 和 Tmpred 等生物信息学软件分析蛋白跨膜结构域是一种快速、简便和正确的方式。

使用 InterProScan 和 SMART 对 LytR 蛋白结构域进行分析发现,该蛋白具有 Lcp 蛋白家族功能结构域,属于细胞壁代谢相关转录衰减因子,然而从细胞定位分析和跨膜结果预测并不支持其作为转录因子的功能,此外,EBERHARDT 等^[14]已经利用 GFP 蛋白示踪的方法显示肺炎链球菌 LytR 蛋白(spr1759)位于细菌细胞膜,因此,该蛋白是一种转录因子的可

能性较小。序列比对分析结果显示,肺炎链球菌 LytR 蛋白与炭疽杆菌的 BAS5115 二级结构相似,都含有 1 个跨膜结构域和 1 个功能结构域;二者一级结构相似性超过 30%,说明二者具有较高的同源性。查阅文献发现,炭疽杆菌 BAS5115 具有酶学功能^[15],因此,本课题组认为 spr1759 可能也具有酶学的功能。那么,肺炎链球菌 spr1759 蛋白功能究竟如何,仍需进一步研究。

综上所述,本课题组利用生物信息学对肺炎链球菌 LytR 蛋白的理化性质,跨膜结构和功能进行了分析,结果提示 LytR 蛋白可能参与肺炎链球菌细胞壁多糖的组装连接过程。目前,通过抑制 LytR 蛋白发挥抗菌作用的药物尚未见报道,本研究提示 LytR 可能具有这一重要酶学功能,将为后续 LytR 蛋白的定位和功能实验室研究奠定基础,也将为未来针对 LytR 蛋白靶点药物的开发铺垫。

参考文献

- [1] WUNDERINK R, WATERER G. Clinical practice. Community-acquired pneumonia[J]. N Engl J Med, 2014, 370(6):543-551.
- [2] WALKER C, RUDAN I, LIU L, et al. Global burden of childhood pneumonia and diarrhoea[J]. Lancet, 2013, 381(9875):1405-1416.
- [3] SHEN M, YAO R, YUE H, et al. Serotype prevalence and antibiotic susceptibility patterns of pneumococcal isolates in Zunyi city, China[J]. Saudi Med J, 2017, 38(12):1243-1249.
- [4] KANG L, LIU M, XU W, et al. Molecular epidemiology of pneumococcal isolates from children in China[J]. Saudi Med J, 2016, 37(4):403-413.
- [5] XU H, WANG L, HUANG J, et al. Pneumococcal wall teichoic acid is required for the pathogenesis of Streptococcus pneumoniae in murine models[J]. J Microbiol, 2015, 53(2):147-154.
- [6] HESS N, WALDOW F, KOHLER T P, et al. Lipoteichoic acid deficiency permits normal growth but impairs virulence of Streptococcus pneumoniae [J]. Nat Commun, 2017, 8(1):2093.
- [7] WU K, HUANG J, ZHANG Y, et al. A novel protein, RafX, is important for common cell wall polysaccharide biosynthesis in Streptococcus pneumoniae: implications for bacterial virulence [J]. J Bacteriol, 2014, 196(18):3324-3334.
- [8] KAWAI Y, MARLES-WRIGHT J, CLEVERLEY R, et al. A widespread family of bacterial cell wall assembly proteins[J]. EMBO J, 2011, 30(24):4931-4941.
- [9] MALM S, MAASS S, SCHAIBLE U, et al. In vivo virulence of Mycobacterium tuberculosis depends(下转第 3133 页)

显改善 PD 小鼠的运动障碍,促进脑组织中受损的 TH 阳性神经元细胞再生,修复神经纤维,提高胃肠道蠕动,改善胃肠道功能障碍。但是其具体机制尚不清楚,还需要进行进一步的分子生物学研究。

参考文献

- [1] RINALDUZZI S, TROMPETTO C, MARINELLI L, et al. Balance dysfunction in Parkinson's disease[J]. *Biomed Res Int*, 2015; 434683.
- [2] 王思, 刘菲. 胶质细胞源性神经营养因子治疗帕金森病研究进展[J]. *国际神经病学神经外科学杂志*, 2015, 42(1): 89-92.
- [3] LE GRAND J N, GONZALEZ-CANO L, PAVLOU M A, et al. Neural stem cells in Parkinson's disease; a role for neurogenesis defects in onset and progression[J]. *Cell Mol Life Sci*, 2015, 72(4): 773-797.
- [4] BIJU K, ZHOU Q, LI G M, et al. Macrophage-mediated GDNF delivery protects against dopaminergic neurodegeneration: a therapeutic strategy for Parkinson's disease[J]. *Mol Ther*, 2010, 18(8): 1536-1544.
- [5] HE W J, QIANG M, MA W Q, et al. Development of a synthetic promoter for macrophage gene therapy[J]. *Hum Gene Ther*, 2006, 17(9): 949-959.
- [6] 谢金鹿, 耿希文, 何婷婷, 等. 高效帕金森病大鼠模型建立方法的研究[J]. *济南大学学报(自然科学版)*, 2017, 31(2): 159-163.
- [7] 马成猛, 王训, 杨任民. 帕金森病患者胃肠功能障碍研究进展[J]. *中国实用神经疾病杂志*, 2014, 17(8): 122-125.
- [8] 杨晓帆, 韩鹏飞, 臧兆萍, 等. 人胶质细胞源性神经营养因子转染大鼠神经干细胞移植对老年帕金森病大鼠的作用[J]. *中国老年学杂志*, 2015, 35(22): 6339-6341.
- [9] TERESHCHENKO J, MADDALENA A, BHR M, et al.

Pharmacologically controlled, discontinuous GDNF gene therapy restores motor function in a rat model of Parkinson's disease[J]. *Neurobiol Dis*, 2014, 65(4): 35-42.

- [10] 杜向东, 范雁. 慢病毒载体介导的帕金森病基因治疗新进展[J/CD]. *中华脑科疾病与康复杂志(电子版)*, 2015, 5(3): 188-191.
- [11] 胡雅岑, 徐倩, 郭纪峰, 等. MPTP 诱导的帕金森病小鼠模型黑质脑组织 DNA 甲基化研究[J]. *生物化学与生物物理进展*, 2015, 42(3): 277-285.
- [12] 张阳, 张志坚, 俞晓岚, 等. 慢病毒介导新型 Tet-On 系统调控大鼠 GDNF 和 TH 双基因表达对帕金森病大鼠的实验研究[J]. *中国药理学通报*, 2015, 31(2): 251-256.
- [13] RENGMARK A, PIHLSTROM L, LINDER J, et al. Low frequency of GCH1 and TH mutations in Parkinson's disease[J]. *Parkinsonism Relat Disord*, 2016, 29(4): 109-111.
- [14] HOANG Q Q. Pathway for parkinson disease[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2014, 111(7): 2402-2403.
- [15] 段奎甲, 王向鹏, 杨智勇, 等. GDNF 基因修饰神经干细胞移植治疗大鼠帕金森病[J]. *南方医科大学学报*, 2016, 36(1): 32-38.
- [16] 李静, 陈为安, 张旭, 等. 早期与中晚期帕金森病患者非运动症状的比较研究[J]. *中国全科医学*, 2016, 19(34): 4201-4204.
- [17] 赵振向, 李晔, 刘怡琳, 等. 帕金森病肠道起源的研究进展[J]. *山东医药*, 2017, 57(12): 107-109.
- [18] PFEIFFER R F. Non-motor symptoms in Parkinson's disease[J]. *Parkinsonism Relat Disord*, 2016, 22(1): 119-122.

(收稿日期: 2018-02-22 修回日期: 2018-05-10)

(上接第 3128 页)

- on a single homologue of the LytR-CpsA-Psr proteins[J]. *Sci Rep*, 2018, 8(1): 3936.
- [10] 闵迅, 钟文, 赵沙沙, 等. 肺炎链球菌假想转录因子 LytR 的表达, 纯化, 晶体生长及优化[J]. *生物医学工程学报*, 2013, 30(4): 6.
- [11] 刘洪波, 阳广菲, 欧维琳, 等. 柯萨奇病毒 A6 型 VP1 蛋白的生物信息学分析[J]. *中国免疫学杂志*, 2016, 32(4): 536-541.
- [12] LIU Y, WANG H, CHEN M, et al. Serotype distribution and antimicrobial resistance patterns of *Streptococcus pneumoniae* isolated from children in China younger than 5 years[J]. *Diagn Microbiol Infect Dis*, 2008, 61(3): 256-263.

- [13] CHAN Y, KIM H, SCHNEEWIND O, et al. The capsular polysaccharide of *Staphylococcus aureus* is attached to peptidoglycan by the LytR-CpsA-Psr (LCP) family of enzymes[J]. *J Biol Chem*, 2014, 289(22): 15680-15690.
- [14] EBERHARDT A, HOYLAND C N, VOLLMER D, et al. Attachment of capsular polysaccharide to the cell wall in *Streptococcus pneumoniae*[J]. *Microb Drug Resist*, 2012, 18(3): 240-255.
- [15] LISZEWSKIZ, CHAN Y, LUNDERBERG J. LytR-CpsA-Psr enzymes as determinants of *Bacillus anthracis* secondary cell wall polysaccharide assembly[J]. *J Bacteriol*, 2015, 197(2): 343-353.

(收稿日期: 2018-02-23 修回日期: 2018-05-08)