

综述

单核细胞增生李斯特菌的毒力因子

祝仁发¹ 综述 叶长芸² 校

(1. 深圳市计量质量检测研究院, 广东 深圳 518131;

2. 中国疾病预防控制中心传染病预防控制国家重点实验室, 北京 102206)

摘要:目的 单核细胞增生李斯特菌(*Listeria monocytogenes*, *Lm*)属于革兰阳性无芽孢杆菌李斯特菌属,主要通过食物传播。*Lm*的致病性与毒力因子密切相关,研究其毒力因子对认识致病机理有着重要意义。方法 对 *Lm* 重要的毒力因子(溶血素、磷脂酶、内化素、肌动蛋白、P60 蛋白等)进行综述。结果 溶血素是一个多功能的毒力因子,对于 *Lm* 逃离吞噬细胞囊是必需的。*Lm* 能产生两种磷脂酶 C:磷脂酰肌醇磷脂酶 C 和磷脂酰胆碱磷脂酶 C,协助细菌的细胞内复制。肌动蛋白使得 *Lm* 在宿主细胞间能够扩散。内化素与 *Lm* 的侵袭力有关。P60 蛋白是 *Lm* 的主要免疫原性抗原。结论 *Lm* 毒力因子研究的深入对李斯特菌病的防治将带来深远的影响。

关键词: 李斯特氏菌;单核细胞增生;毒力因子;研究

Virulence Factors of *Listeria monocytogenes*

ZHU Ren-fa, YE Chang-yun

(Shenzhen Academy of Metrology and Quality Inspection, Guangdong Shenzhen 518131, China)

Abstract: **Objective** *Listeria monocytogenes* is a gram-positive, no spore, food-borne pathogen which causes listeriosis. This article reviews the significance of the virulence factors of *L. monocytogenes*, which are closely related to its pathogenicity. **Method** Papers relevant to the virulence factors of *L. monocytogenes* (for example, LLO, PLC, Inl, ActA, P60) were reviewed. **Results** LLO is a multi-purpose virulence factor and is essential for escaping from the phagocytic vesicle of the macrophage. *L. monocytogenes* can produce two kinds of PLC: PF-PLC and PC-PLC, which have also evolved for intracellular growth. ActA is required for its unidirectional actin-based motility within an infected host cell. Inl is related to the invasiveness of *L. monocytogenes*. The P60 protein is the main original antigen of *L. monocytogenes*. **Conclusion** A thorough research to the virulence factors will bring about great impact on the treatment and prevention of listeriosis.

Key word: *Listeria monocytogenes*; Virulence Factor; Research

单核细胞增生李斯特菌(*Listeria monocytogenes*, *Lm*)属于革兰阳性无芽孢杆菌李斯特菌属,主要通过食物传播(如:牛奶、乳制品、蔬菜、生肉、肉制品等)。20 世纪 80 年代以来,在欧美国家由 *Lm* 引起的食物中毒事件呈上升趋势,引起了食品与卫生部门的广泛关注。WHO 已将其列为 4 大食源性致病菌之一。

Lm 的致病性与其毒力因子密切相关,研究表明,当 *Lm* 缺少某些重要的毒力因子时,*Lm* 的毒力将大大降低。因此,研究 *Lm* 的毒力因子对认识其致病机理有着重要意义。*Lm* 的毒力因子很多,目前研究较多的主要有溶血素、磷脂酶、内化素、肌动蛋白、P60 蛋白等。

1 单核细胞增生李斯特菌溶血素(Listeriolysin O, LLO)

LLO 是 *Lm* 的重要毒力因子,由 *hly* 基因编码。

1944 年,Harvey 等首次报道了 *Lm* 可产生溶血素,随后人们对其进行了纯化、鉴定、生化特征、克隆表达、细胞毒性等诸多方面研究,表明 LLO 与 *Lm* 的致病性密切相关,有致病性的 *Lm* 具有 LLO,无 LLO 的 *Lm* 无致病性。LLO 属于胆固醇依赖的成孔毒素家族,和其他一些革兰阳性菌的溶细胞素在结构和功能上有很大的相似之处^[1]。

Fas 配体(Fas ligand, FasL)是一种细胞凋亡因子,通过与细胞表面的 Fas 受体(Fas receptor)结合可引起 Fas 表达阳性的细胞凋亡,在机体的免疫调节中担当着重要的角色。Zenewicz 等^[2]发现体外培养的鼠脾细胞和 T 细胞在感染了 *Lm* 后都会增加 FasL 的表达量。随后他们用纯化的 LLO 蛋白处理细胞也产生了同样的结果,表明是 LLO 在发挥作用。那些经 *Lm* 诱导表达了 FasL 的细胞能杀死表面有 Fas 受体的细胞,进而引起机体的免疫反应。Javier 等^[3]证实 LLO 在体内外都能引起 T 淋巴细胞快速凋亡,LLO 能通过依赖半胱天冬酶或非依赖半

作者简介:祝仁发 男 工程师
叶长芸 女 研究员

胱天冬酶的途径引起凋亡。虽然 T 细胞对 LLO 很敏感,但休眠的 T 细胞并不会凋亡。凋亡的顶峰在感染后 48 h,这时免疫反应还没有被全部激活,淋巴细胞群还没分开。这些结果表明 *Lm* 能用毒力因子来调节宿主免疫反应。

LLO 和其他成孔毒素家族成员不同的是他在酸性环境下具有较好的活性。为了证实这种特性的生理学意义,人们通常在 *Lm* 中表达 PFO 蛋白(perfringolysin O)来代替 LLO,PFO 的氨基酸序列与 LLO 很相似。结果发现 *Lm* 在胞浆中分裂繁殖后不久,宿主细胞就透化死亡了。小鼠的毒力实验也表明,表达 PFO 蛋白的菌株失去了毒力。这些结果表明 LLO 具有 PFO 所不具有的特性^[4]。

进一步的研究^[5]发现,LLO 在 NH₂ 端有一个类似 PEST 样的序列(P,Pro;E,Glu;S,Ser;T,Thr),而 PFO 没有,该序列对细菌的毒力和细胞内的定居是必不可少的。缺乏 PEST 序列的突变株进入宿主胞浆后随即透化杀死宿主细胞。具有 PEST 序列的 LLO 在宿主细胞胞浆中累积,证明这个序列能降低 LLO 对宿主细胞的毒性作用,从而有利于细菌在细胞内生存、繁殖。

目前的研究表明 LLO 是一个多功能毒力因子,能引起宿主细胞很多反应,如细胞增殖、黏膜细胞外渗作用、巨噬细胞中细胞因子的表达、树突状细胞的凋亡、磷脂代谢及引起机体产生免疫反应等。

2 磷脂酶(Phospholipases)

Lm 能产生两种磷脂酶 C:磷脂酰肌醇磷脂酶 C(phosphatidylinositol phospholipase C,PI-PLC)和磷脂酰胆碱磷脂酶 C(phosphatidylcholin phospholipase C,PC-PLC)。PI-PLC 由 *plcA* 基因编码,PC-PLC 由 *plcB* 基因编码。

plcA 的突变株表现出对那些有抗李斯特菌属活性的巨噬细胞易感性的增加。而 *plcB* 的突变株没有此反应。而且,在体内 *plcA* 的突变株比野生株能更有效地刺激 T 细胞^[6]。*Lm* 的毒力与他逃离空泡、在细胞间扩散的能力密切相关。在进入宿主细胞后,*Lm* 必须逃离吞噬细胞的泡膜才能在宿主细胞胞浆中复制。*Lm* 能在 2 种不同的空泡代谢区逃避:一个是侵入宿主细胞时形成的单膜空泡,一个是细胞间扩散时形成的双膜空泡。*Lm* 分泌 3 种已知的因子和膜结合:LLO、PI-PLC、PC-PLC。在缺乏 LLO 时,PC-PLC 对于 Henle407 细胞二级双膜空泡的消散是必不可少的,PI-PLC 或其他毒力因子不是必需的。以前的研究表明在缺乏 LLO 时,PC-PLC 促进 Henle407 细胞初级空泡的消散。Grundling

等^[7]发现缺乏 LLO 时,PC-PLC 对 Hep-2、HeLa 细胞初级空泡的消散和细菌在细胞间扩散也是必需的,而且 PC-PLC 的活性量直接关系空泡的消散效率。

PC-PLC 有助于细菌逃离二级泡膜,但 PC-PLC 需要 N 端蛋白多肽的解离和 Mpl(一种金属蛋白酶)的参与才能被激活。为了研究 N 端蛋白多肽和 Mpl 对于 PC-PLC 在细胞膜上的迁移所起的作用,Yeung 等^[8]构建了蛋白多肽分解位点的突变株和蛋白多肽缺失突变株,用脉冲追踪实验来观察突变株的细胞内行为。结果表明,PC-PLC 位点突变株虽仍能在细胞膜上有效移位但这依赖于 pH 值和 Mpl,而蛋白多肽缺失株不依赖 Mpl 和 pH 值就能有效进入宿主细胞。这些结果表明 Mpl 调节 PC-PLC 穿过细菌细胞膜,依赖蛋白多肽存在的方式而不依赖蛋白肽裂解位点的存在,而且这种调节也是 pH 敏感的。

目前的研究认为 PI-PLC 毒性相对较小,对细菌在细胞间扩散作用不大,主要是协同 PC-PLC 发挥作用。而 PC-PLC 的功能则较复杂,他使细菌从吞噬泡中逃逸出来,能破坏宿主细胞的信号通路,能调节细胞因子和化学因子的合成,还能通过二酰基甘油、神经酰胺、肌醇磷酸盐等调节细胞的生长、分化、凋亡等。

3 肌动蛋白聚合蛋白(ActA)

细菌的运动性是肌动蛋白聚集在细菌尾部而获得的,单一的菌体蛋白就足以引起肌动蛋白聚集成聚合物,为细菌运动提供动力,这个菌体蛋白就是 ActA。成熟的 ActA 由 610 个氨基酸残基组成,分为 3 个功能区:(1) N 端区域(1~234 位氨基酸残基),这是关键区域,含有肌动蛋白聚集和细菌在细胞内运动的所有信息。(2) 中间区域(235~394 位氨基酸残基)(3) C 端区域(315~610 位氨基酸残基),该区域的 585~606 位氨基酸残基形成一个疏水区,从而将 ActA 蛋白固定在细菌表面。

Lm 的 ActA 由 LIPI-1 致病岛上的 *actA* 基因编码,*actA* 基因突变后,细菌虽然仍能侵入细胞并进入胞浆内,但不能在细胞内运动,不能形成微菌落,也不能在细胞间扩散。这表明 ActA 与 *Lm* 的侵袭力密切相关。

ActA 的表达被严格控制,并且只有在宿主细胞的胞液中才能被强烈诱导表达。由 2 个不同的启动子调节 *actA* 基因的表达,一个在 *actA* 编码序列的上游 198 bp,一个是上游较远的 *mpl* 基因。ActA 蛋白表达的胞内诱导依赖于 ActA 近端的启动子,*mpl* 似

乎对ActA蛋白的胞外表达有促进作用,而对胞内表达水平没有影响。已知ActA近端的启动子是完全依赖 $prfA$ 的活性的^[9]。但Lynne M等^[10]研究发现在ActA启动子内插入一个高亲和性的 $prfA$ 基因连接位点并没有提高ActA的表达, $prfA$ 基因等位基因突变后结果也是如此。表明还有另外的步骤或辅助因子参与调节ActA的胞内表达。

Wong等^[11]研究发现,ActA的胞内诱导表达是由一个单一启动子调节的,该启动子引导一个150 bp 5'非转录区(UTR)的信使RNA的表达。缺失 $actA$ mRNA 5'UTR的细菌突变株大大降低了ActA的表达。这表明 $actA$ 5'UTR对于ActA合成的最大化是必需的,ActA开始的合成水平必须足以使细菌相关的肌动蛋白群转变为运动肌动蛋白。

ActA蛋白在无害李斯特菌(*Listeria innocua*)的表达能充分引起这个没有侵袭力的菌种侵入上皮细胞系,说明ActA引导一个对上皮细胞特异的内化通路。对已感染的Caco-2细胞进行电子显微扫描发现这个通路笼罩着微绒毛。微绒毛在噬菌作用时起着积极的作用,而ActA对于微绒毛重组能调节细菌摄取的伪足是必需的。可见ActA是个多功能的毒力因子,主要表现为以肌动蛋白为基础的运动、对宿主细胞的趋向与入侵^[12]。

4 内化素(Internalins, Inl)

内化素是 Lm 毒力相关基因编码的一个蛋白质家族,功能与侵袭素相似,介导细菌侵入无吞噬能力的上皮细胞。在内化素家族的N端都有个富含亮氨酸的重复区域。Inl家族的命名一般以发现先后顺序分别命名为A、B、C、D、E。Gaillard等^[13]首次报道发现 $inlA$,并证实 $inlA$ 由800个氨基酸残基组成,富含苏氨酸和丝氨酸,有A和B两个重复区,C端和革兰阳性球菌的表面蛋白很相似。把 $inlA$ 基因插入无害李斯特菌,后者获得侵袭力,从而能侵入细胞。

Engelbrecht等^[14]鉴定了InlC,他是一个含297个氨基酸残基的分泌蛋白,和InlA、InlB有同源性。 $inlC$ 基因的表达完全依赖于 $prfA$ 基因的表达,而 $inlA$ 、 $inlB$ 的表达只部分依赖于 $prfA$ 。 $inlC$ 蛋白的功能目前还不是很清楚,可能在 Lm 感染后期起作用。随后,Drams等^[15]鉴定出InlC2、InlD、InlE、及InlF。他们分别由548、567、499和821个氨基酸残基组成。 $inlC2$ 、 $inlD$ 及 $inlE$ 3个基因在 Lm EGD株的染色体的相邻位置,而 $inlF$ 在另一个区域。他们都有1个信号序列、2个重复区域(LRR和B重复)和1个含有LPXTG的细胞壁锚定序列。通过构建突变株发

现, $inlC2$ 、 $inlD$ 、 $inlE$ 及 $inlF$ 的突变株侵入细胞系的能力和没受影响,说明这些基因并不在侵袭过程起作用。

为了解Inl家族之间的关系,Bergmann等^[16]分别构建了 $inlA$ 、 $inlB$ 、 $inlC$ 、 $inlE$ 、 $inlG$ 和 $inlH$ 的突变株。结果表明,缺失 $inlGHE$ 基因簇或者其中的任何一个, Lm 对微脉管内皮细胞HBMEC细胞系的内化能力都增强了2~4倍。缺少InlB将完全不能侵袭HBMEC。InlB依赖的内化不需要其他内化素的存在,而InlA依赖的内化(在缺少InlB时)要求InlC和InlGHE的辅助。把这些相应的Inl突变株通过显微注射进Caco-2细胞显示,这些内化素似乎没有一个对 Lm 的细胞间传播是必要的。

5 P60蛋白

Kuhn用SDS-PAGE鉴定了 Lm 的一个60 kDa的胞外蛋白,命名为P60蛋白。P60合成量降低的 Lm 突变株在平板上生长为粗糙型菌落,并成长链状,对小鼠的毒力明显减弱^[17]。用纯化的P60蛋白处理突变株可使菌落恢复到正常链状水平并恢复毒力^[18]。P60还参与 Lm 对某些真核细胞的黏附及内化。

P60蛋白由*iap*基因编码,由484个氨基酸残基组成。P60蛋白有清晰的结构域:N端为2个高度保守区,C端大约有100~120个氨基酸残基,中间是高变区,含有一个苏氨酸-天冬酰胺的重复区。P60是胞壁水解酶,对细胞的裂解是必需的。李斯特菌属所有6个种都发现了和P60蛋白高度相关的蛋白^[19]。

P60蛋白具有很强的免疫原性,Yu KY等^[20]构建了两个单抗:P60和P6017,前者识别 Lm ,后者识别李斯特菌属。并依据此建立了ELISA系统,可以鉴定 Lm 和李斯特菌属。

Sabine等^[21]构建了*iap*基因突变株,发现突变株对小鼠模型的感染能力显著降低了。高剂量静脉注射 Lm 突变株,小鼠模型仍表现健康的外表,而同样剂量的野生株造成小鼠的严重病态。突变株毒力的显著下降最可能的原因就是突变株在细胞间扩散的能力下降了。在上皮细胞、巨噬细胞、肝细胞中都观察到了这种扩散能力的减弱。进一步的研究发现,虽然在*iap*突变株中ActA蛋白的表达量没改变,但很少观察到典型的聚合肌动蛋白鞭毛。ActA的不对称分布是形成肌动蛋白尾的关键,缺乏P60蛋白虽然不会直接导致ActA缺少极性,但在隔膜形成后缺少细胞分裂将造成ActA在隔膜形成点沿着鞭毛聚集。由于高浓度的ActA没有聚集在鞭毛尾

部,从而不能形成 F-肌动蛋白尾,也就造成了毒力的下降。Sabine 还据此建议把 Iap (invasion-associated protein) 改名为 cwhA (cell wall hydrolase A)。

6 其他毒力因子

随着研究的深入,近年来又发现了一些新的毒力因子。Schubert K 等^[22]发现了 P45 蛋白,该蛋白由 402 个氨基酸残基组成,分子量约为 42.7 kDa,有一个由 27 个氨基酸残基组成的信号肽。蛋白数据库检索显示该蛋白与 *Lm* 的 P60 有 55 % 的相似性,有 38 % 的同源性。P45 有肽聚糖溶解活性,因此编码基因命名为 *spl* (secreted protein with lytic property)。

Glaser 等^[23]通过比较基因组学发现了 *lmo0394* 和 *lmo1104* 基因编码的蛋白和 P60 具有同源性,其功能目前不清楚。

Lenz 等^[24]鉴定了 *secA2* 基因,该基因参与菌落光滑-粗糙表型的变化,并有助于细菌毒力。全长 *secA2* 的表达能促进 P60 和一些其他 *Lm* 蛋白的分泌。推测 *secA2* 可能对细菌在环境与宿主表面的定殖起一定作用。*fbpA* 是新发现的 *Lm* 一种多功能毒力因子^[25]。*fbpA* 蛋白由 570 个氨基酸残基组成,与非典型纤维结合蛋白有很高的同源性。*fbpA* 蛋白以依赖剂量和可饱和的方式黏附在固定的人纤维结合蛋白上,并在外源性纤维蛋白存在的情况下提高野生型 *Lm* 对 Hep-2 细胞的黏附。值得注意的是 *fbpA* 的表达影响了另外 2 种毒力因子 LLO、InlB 的水平,但对 *inlA*、ActA 没影响。此外,*fbpA* 蛋白还能与 LLO、*inlB* 发生免疫共沉淀反应,是这 2 种重要毒力因子的蛋白伴侣。

Cabanes 等^[26]通过比较基因组学鉴定了一个 *Lm* 编码 LPXTG 表面蛋白的基因 *vip*。*vip* 基因受 *prfA* 调控。*Vip* 蛋白通过分选酶 A (sortase A) 锚定在 *Lm* 细胞壁上,对侵入一些哺乳细胞是必需的。*Vip* 的细胞受体是内质网上的一个分子伴侣 Qp96。*Vip* 与 Qp96 共同作用对 *Lm* 的细胞侵袭和干扰宿主免疫反应等方面发挥作用。

对 *Lm* 毒力因子的研究有助于人们了解该病原菌的致病机制,对于该病的诊断、预防、疫苗的研制等都有重要意义。目前国外对 *Lm* 的毒力因子的研究主要集中在 2 个方向:一方面利用基因突变、细胞实验等技术研究已知毒力因子的功能、作用机制、毒力因子之间的相互作用;另一方面则通过比较基因组学、蛋白质组学等方法来探索新的毒力因子。随着研究的深入,将会发现更多的毒力因子,并进一步了解他们的功能从而对李斯特菌病的防治带来深远的影响。

参考文献

- [1] PALMER M. The family of thiol-activated, cholesterol-binding cytolytins[J]. *Toxicon*, 2001, 39(11): 1681-1689.
- [2] ZENEWICZ L A, SKINNER J A, GOLDFINE H, et al. *Listeria monocytogenes* virulence proteins induce surface expression of Fas ligand on T lymphocytes[J]. *Mol Microbiol*, 2004, 51(5): 1483-1492.
- [3] JAVIER A, CARRERO, BORIS C, et al. Listeriolysin O from *Listeria monocytogenes* is a lymphocyte apoptogenic molecule[J]. *The Journal of immunology*, 2004, 172: 4866-4874.
- [4] SHAYNOOR D, PASCALE C. Listeriolysin O: a genuine cytolytin optimized for an intracellular parasite[J]. *The Journal of Cell Biology*, 2002, 156(6): 943-946.
- [5] AMYL, DECATUR, DANIEL A, et al. A PEST-Like Sequence in Listeriolysin O Essential for *Listeria monocytogenes* Pathogenicity[J]. *Science*, 2000, 3: 992-995.
- [6] RUDNICKA W, KACZMAREK M, SZELIGA J, et al. The host response to *Listeria monocytogenes* mutants defective in genes encoding phospholipases C (*plcA*, *plcB*) and actin assembly (*actA*) [J]. *Microbiol Immunol*, 1997, 41(11): 847-853.
- [7] GRUNDLING A, GONZALEZ M D, HIGGINS D E. Requirement of the *Listeria monocytogenes* broad-range phospholipase PC-PLC during infection of human epithelial cells[J]. *J Bacteriol*, 2003, 185(21): 6295-6307.
- [8] YEUNG P S, ZAGORSKI N, MARQUIS H. The metalloprotease of *Listeria monocytogenes* controls cell wall translocation of the broad-range phospholipase C[J]. *J Bacteriol*, 2005, 187(8): 2601-2608.
- [9] BOCKMANN R, DICKNEITE C, GOEBEL W. PrfA mediates specific binding of RNA polymerase of *Listeria monocytogenes* to PrfA-dependent virulence gene promoters resulting in a transcriptionally active complex[J]. *Mol Microbiol*, 2000, 36(2): 487-497.
- [10] LYNNE M, SHETRON-RAMA, HELENE MARQUIS, et al. Intracellular Induction of *Listeria monocytogenes actA* Expression[J]. *Infect Immun*, 2002, 70(3): 1087-1096.
- [11] WONG K K, BOUWER H G, FREITAG N E. Evidence implicating the 5' untranslated region of *Listeria monocytogenes actA* in the regulation of bacterial actin-based motility[J]. *Cell Microbiol*, 2004, 6(2): 155-166.
- [12] SUAREZ M, GONZALEZ-ZORN B, VEGA Y, et al. A role for ActA in epithelial cell invasion by *Listeria monocytogenes* [J]. *Cell Microbiol*, 2001, 3(12): 853-864.
- [13] GAILLARD J L, BERCHE P, FREHEL C, et al. Entry of *L. monocytogenes* into cells is mediated by internalin, a repeat protein reminiscent of surface antigens from gram-positive cocci[J]. *Cell*, 1991, 65(7): 1127-1141.
- [14] ENGELBRECHT F, CHUN S-K, OCHS C, et al. A new PrfA-regulated gene of *Listeria monocytogenes* encoding a small, secreted protein which belongs to the family of internalins[J]. *Mol Microbiol*, 1996, 21: 823-837.
- [15] DRAMSI S, DEHOUX P, LEBRUN M, et al. Identification of four new members of the internalin multigene family of *Listeria monocytogenes* EGD[J]. *Infect Immun*, 1997, 65(5): 1615-1625.
- [16] BERGMANN B, RAFFELSBauer D, KUHN M, et al. InlA- but not InlB-mediated internalization of *Listeria monocytogenes* by non-phagocytic mammalian cells needs the support of other internalins[J]. *Mol Microbiol*, 2002, 43(3): 557-570.

综述

食品安全新概念

戴瑞彤 周伟伟 陈霞

(中国农业大学食品科学与营养工程学院,北京 100083)

摘要: 在食品生产过程中设置食品安全目标(Food Safety Objective,FSO)可对食品生产全过程进行有效地控制。FSO 强调生产链上所有相关部分的安全控制。介绍国外目前食品安全控制过程中的新的概念,包括适当保护水平(ALOP)、操作目标(Performance Objectives,PO)、控制措施(Control Measures,CM)、操作标准(Performance Criterion,PC)等以及他们在保证食品安全方面的应用,对我国食品生产过程的安全控制起到一定的借鉴作用。

关键词:食品;安全;食品安全目标;适当保护水平

New Concepts in Food Safety Control

DAI Rui-tong, ZHOU Wei-wei, CHEN Xia

(College of Food Science and Nutritional Engineering, CAU, Beijing 100083, China)

Abstract: The food safety objective (FSO) provides a target for operational food safety management and focuses on the safety control of food processing chain. The application of FSO can effectively control and keep the final products safer than before. This paper gave A brief introduction of the new concepts of food safety control, including Appropriate Level of Protection (ALOP), Performance Objectives (PO), Control Measures (CM), Performance Criterion (PC) and their application in the foreign countries.

Key word: Food; Safety; Food Safety Objective; Appropriate Level of Protection

随着全球经济一体化进程的发展和公众生活水平的提高以及食品科技的发展,食品种类和销售范围逐渐扩大,食品安全事件时有发生,新的有毒有害物质不断被发现,食品安全日益成为公众和政府关

注的焦点,对食品从加工到消费全过程的食品安全监督管理也成为世界各国和国际组织的工作重点。目前食品质量安全管理的技术体系得到了迅速发展,很多理论和技术体系如 HACCP (Hazard

- [17] POTEI J, SCHULZE-LAMMERS J. *Listeria monocytogenes*-vaccine: production and control [J]. Zentbl Bakteriol Mikrobiol Hyg, 1985, 259:331-340.
- [18] BUBERT A, SCHUBERT P, KÖHLER S, et al. Synthetic peptides derived from the *Listeria monocytogenes* p60 protein as antigens for the generation of polyclonal antibodies specific for secreted cell-free L. monocytogenes p60 proteins[J]. Appl Environ Microbiol, 1994, 60: 3120-3127.
- [19] BUBERT A, KUHN M, GOEBEL W, et al. Structural and functional properties of the p60 proteins from different *Listeria* species [J]. J Bacteriol, 1992, 174:8166-8171.
- [20] YU K Y, NOH Y, CHUNG M, et al. Use of monoclonal antibodies that recognize p60 for identification of *Listeria monocytogenes* [J]. Clin Diagn Lab Immunol, 2004, 11(3):446-451.
- [21] SABINE P, ANNETTE K M, IVAYLO G, et al. Deletion of the Gene Encoding p60 in *Listeria monocytogenes* leads to abnormal cell division and loss of actin-based motility[J]. Infect Immun, 2003, 71 (6): 3473-3484.
- [22] SCHUBERT K, BICHLMAIER AM, MAGER E, et al. P45, an extracellular 45 kDa protein of *Listeria monocytogenes* with similarity to protein p60 and exhibiting peptidoglycan lytic activity [J]. Arch Microbiol, 2000, 173(1):21-28.
- [23] GLASER P, FRANGEUL L, BUCHRIESER C, et al. Comparative genomics of *Listeria* species[J]. Science, 2001, 294:849-852.
- [24] LENZ L L, PORTNOY D A. Identification of a second *Listeria* secA gene associated with protein secretion and the rough phenotype [J]. Mol Microbiol, 2002, 45(4):1043-1045.
- [25] DRAMSI S, BOURDICHON F, CABANES D, et al. FbpA, a novel multifunctional *Listeria monocytogenes* virulence factor [J]. Mol Microbiol, 2004, 53(2):639-649.
- [26] CABANES D, SOUSA S, CEBRIA A, et al. Gp96 is a receptor for a novel *Listeria monocytogenes* virulence factor, Vip, a surface protein [J]. EMBO J, 2005, 24(15):2827-2838.

[收稿日期:2006-10-20]

中图分类号:R15;Q939.122 文献标识码:E 文章编号:1004-8456(2007)02-0158-05

作者简介:戴瑞彤 女 博士 副教授

