

DOI: 10.7524/AJE.1673-5897.20160529001

马清萍, 王大力, 谷月, 等. 抗生素与 LED209 对大肠杆菌的联合毒性机制[J]. 生态毒理学报, 2017, 12(1): 134-140

Ma Q P, Wang D L, Gu Y, et al. Investigation on the mechanism for the combined toxicity of antibiotics and LED209 on *Escherichia coli* [J]. Asian Journal of Ecotoxicology, 2017, 12(1): 134-140 (in Chinese)

抗生素与 LED209 对大肠杆菌的联合毒性机制

马清萍¹, 王大力², 谷月³, 孙昊宇², 葛鸿铭², 林志芬², 印春生^{1,*}

1. 上海海洋大学海洋科学学院, 上海 201306

2. 污染控制与资源化研究国家重点实验室, 同济大学环境科学与工程学院, 上海 200092

3. 上海海洋大学水产与生命学院, 上海 201306

收稿日期: 2016-05-29 录用日期: 2016-09-23

摘要: 抗生素是一把双刃剑, 在提高医疗水平的同时会促进抗性基因的发展。群体感应抑制剂(quorum sensing inhibitors, QSIs)可有效地避免这一缺陷, 有望成为抗生素的替代品而与抗生素有环境共存的可能, 但目前尚缺乏它们的联合毒性机制及其相关的环境风险评价研究。本文以大肠杆菌为受试生物, 测定了群体感应抑制剂 N-苯基-4-(3-苯基硫代脲基)苯磺酰胺(LED209)与5种抗生素的单一和二元联合毒性。结果表明, LED209与5种抗生素的联合毒性作用均表现为拮抗, 推测是LED209通过影响鞭毛合成, 减弱了抗生素对大肠杆菌的生物有效性; 同时通过拆分分子式, 发现了拮抗作用可能源于LED209分子式中的含苯基和硫代脲基的L1分子, 因此建议未来在LED209药物优化时, 应尽可能的保留L1部分的基因, 从而保证混合体系的最小环境风险。本研究不仅为联合用药提供依据, 而且从环境风险评价角度为抗生素替代品LED209的结构优化提供理论指导。

关键词: 抗生素; LED209; 大肠杆菌; 联合毒性; 药物优化

文章编号: 1673-5897(2017)1-134-07 中图分类号: X171.5 文献标识码: A

Investigation on the Mechanism for the Combined Toxicity of Antibiotics and LED209 on *Escherichia coli*

Ma Qingping¹, Wang Dali², Gu Yue³, Sun Haoyu², Ge Hongming², Lin Zhifen², Yin Chunsheng^{1,*}

1. College of Marine Science, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306, China

2. State Key Laboratory of Pollution Control and Resource Reuse, College of Environmental Science and Engineering, Tongji University, Shanghai 200092, China

3. College of Fisheries and Life Science, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306, China

Received 29 May 2016 accepted 23 September 2016

Abstract: Antibiotics are a double-edged sword that promote the medical level on the one hand and enhance the development of antibiotic resistance genes on the other hand. Quorum sensing inhibitors (QSIs) can effectively avoid the deficiency of antibiotics, and are deemed as a promising substitute for antibiotics. Therefore, the antibiotics

基金项目: 同济大学污染控制与资源化研究国家重点实验室自主研究(重点)项目(PCRRY11003); 国家自然科学基金面上基金(21377096, 21577105); 同济大学英才(攀登)计划(0400219287); 上海市科学技术委员会(14DZ2261100); 同济大学污染控制与资源化研究国家重点实验室开放基金(PCRRF14001); 上海市化学品分析、风险评价与控制重点实验室开放基金(SCI2016-1)

作者简介: 马清萍(1993-), 女, 硕士, 研究方向为微生物毒理学, E-mail: mqp3863@163.com;

* 通讯作者 (Corresponding author), E-mail: csyin@shou.edu.cn

and QSIs are likely to coexist in the environment, posing joint effects on the environment. However, the research on the potential risks of their combined exposure is very limited currently. In this paper, a new type of QSI N-phenyl-4-[[[(phenylamino)thioxomethyl]amino]-benzenesulfonamide (LED209) and five kinds of antibiotics are chosen to study their single and joint effects on *Escherichia coli*. The results showed that the antibiotics and LED209 presented antagonistic effects on the bacterial growth, which was probably because LED209 could inhibit the synthesis of bacterial flagellum and subsequently weakened the antibacterial activities of the antibiotics. By splitting the structure of LED209 into two parts, it was found that the antagonism between LED209 and the antibiotics was associated to the L1 part that contains phenyl group and thioxomethyl. Therefore, it is recommended that the design of antibacterial drugs should consider including the L1 group, in order to lower the potential risk of their combination with the antibiotics. This study offers a theoretical basis for the combined use of antibiotics and QSIs, and provide theoretical guidance for antibiotics substitutes LED209's structure optimization from the perspective of environmental risk.

Keywords: antibiotics; LED209; *Escherichia coli*; joint effect; drug optimizing

抗生素在人类医药、生物技术、饲料行业都有广泛的应用^[1]。但是抗生素大量使用特别是滥用的同时也暴露出诸多问题,研究表明环境中普遍存在的抗生素会影响细菌的生长繁殖,加快抗生素抗性基因的发展^[2-3],增加治疗细菌感染性疾病的难度,迫使人类不得不寻求新的药物以替代抗生素类药物。

为了解决以上问题,医学界寻找到了—种只抑制细菌群体感应系统(quorum sensing system, QS 系统),不影响细菌生长繁殖的药物——群体感应抑制剂(quorum sensing inhibitors, QSIs)。这类药物可以与信号分子竞争性结合受体蛋白,切断细菌毒性基因的表达且不产生抗性基因。2008年,Rasko等^[4]通过大量实验得到了一种高效无毒的QSI——N-苯基-4-(3-苯基硫代脲基)苯磺酰胺(LED209)。它能够有效减弱大肠杆菌、沙门氏菌和弗朗西斯氏菌等致病菌的毒性^[5],现已处于临床研究阶段。

但是,多数QSIs在临床用药方面都具有一定的局限性,暂时还不能完全替代抗生素在医学上的地位,所以有学者提出将抗生素与QSIs联合用药^[6],其中抗生素与LED209的联合毒性效应鲜有报道。同时,当LED209被广泛使用并进入环境中后,必会与环境中的抗生素共存,那么二者的联合是否会对环境中的微生物造成联合毒性,从而对生态系统造成新的危害?这是本文所关注的问题。

本文以经典模式生物大肠杆菌(*Escherichia coli*, *E. coli*)为受试生物,分别测定LED209与磺胺氯噻嗪(SCP)、周效磺胺(SDX)、红霉素(ERY)、氟诺沙星(NOR)和青霉素V钾(PVP)的单一毒性及二元联合毒性。并通过分析LED209中的小分子化合物(L1和L2),探讨药物优化过程需要保留的基团。本文

的研究将为LED209和传统抗生素联合用药及它们的环境风险评价提供科学依据。

1 材料与方法 (Materials and methods)

1.1 试剂

抗生素类试剂和LED209分别购自Sigma-Aldrich(上海)和Cayman Chemical Company (USA),纯度均大于99.5%。受试化合物的基本性质详见表1。

1.2 毒性测定及表征方法

1.2.1 大肠杆菌的培养

大肠杆菌(K-12MG1655)购自普如汀生物技术有限公司。

液体培养基配方为10.0 g·L⁻¹氯化钠、25.0 g·L⁻¹蛋白胨、12.5 g·L⁻¹酵母膏,pH调节至7.0左右。

将菌种接种到5 mL液体培养基中,在37℃恒温条件下震荡培养6 h至对数生长期,将菌液用1% NaCl溶液稀释10⁵倍,用于毒性测定。

1.2.2 毒性试验

在96孔板中加入等对数梯度浓度的化合物,每个浓度设置3个平行,37℃下180 r·min⁻¹震荡培养12 h,测定OD₆₀₀值。根据公式(1)计算化合物对细菌的抑制率:

$$In(\%) = (1 - S/D) \times 100\% \quad (1)$$

式(1)中S表示测试样的OD₆₀₀值,D表示对照样的OD₆₀₀值。

以化合物的浓度为横坐标,细菌的抑制率为纵坐标,绘制剂量-效应曲线,50%抑制率时对应的化合物浓度即为EC₅₀。

2 结果与讨论 (Results and discussion)

2.1 单一毒性

5种抗生素和LED209的单一剂量-效应曲线如

图1所示,可见5种抗生素对大肠杆菌表现出不同程度的毒性作用。其中,青霉素V钾(PVP)的毒性最大,EC₅₀约为 $2.77 \times 10^{-8} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ (见表1);磺胺氯哒嗪(SCP)和周效磺胺(SDX)的毒性相对较小,EC₅₀分别为 $2.23 \times 10^{-6} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 和 $4.58 \times 10^{-6} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ (见表1)。5种抗生素对大肠杆菌的毒性大小顺序为:PVP > ERY > NOR > SCP > SDX。

如图1所示,LED209对大肠杆菌的抑制率小于抗生素类化合物的抑制率,因为LED209只阻断细菌的群体感应系统不影响其他基因表达^[7]。如图2a所示,在正常的生理条件下,大肠杆菌膜上的组氨酸激酶QseC会与自诱导物(AI-3)结合,QseC被磷酸化并将磷酸盐传递给反应调节蛋白QseB,磷酸化的QseB和鞭毛调控器基因(*flhDC*)的启动子结合调控大肠杆菌的鞭毛表达^[8-9]。作为AI-3型群体感应抑制剂的LED209会竞争性地与QseC蛋白结合^[4],阻断QseB对*flhDC*基因的上调作用(见图2b),影响大肠杆菌鞭毛的合成,对细菌生长抑制不显著,故LED209浓度为 $2.76 \times 10^{-4} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 时,对大肠杆菌的抑制率为10%。

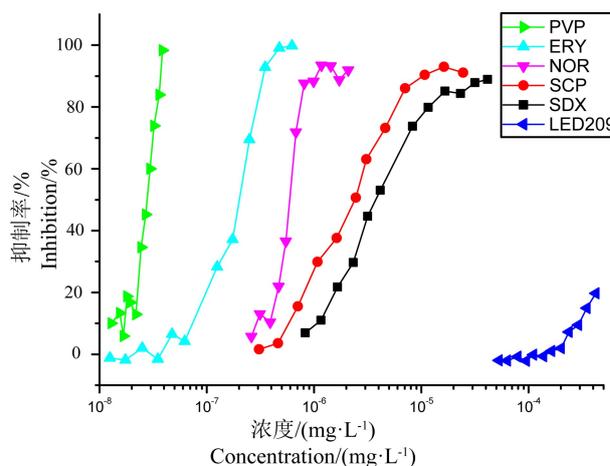


图1 抗生素和LED209对大肠杆菌12小时的剂量-效应曲线
注:PVP, ERY, NOR, SCP, SDX以及LED209分别表示青霉素V钾、红霉素、氟诺沙星、磺胺氯哒嗪、周效磺胺和N-苯基-4-(3-苯基硫代氨基)苯磺酰胺。

Fig. 1 Dose-response curves of antibiotics and LED209 on *E. coli* for 12 hours

Note: PVP, ERY, NOR, SCP, SDX and LED209 respectively stand for penicillin V potassium salt, erythromycin, norfloxacin, sulfachloropyridazine, sulfadoxine, N-phenyl-4-[[[(phenylamino)thioxomethyl]amino]-benzenesulfonamide.

表1 受试化合物基本信息及毒性数据

Table 1 Information and toxicity results of reagents used in the experiment

类别 Classification	英文名称及简称 English name and abbreviation	结构式 Structure formula	CAS	EC ₅₀ /(mol·L ⁻¹)
磺胺 Sulfanilamide	Sulfachloropyridazine SCP		80-32-0	2.09×10^{-6}
	Sulfadoxine SDX		2447-57-6	4.58×10^{-6}
喹诺酮 Quinolone	Norfloxacin NOR		70458-96-7	6.09×10^{-7}
β-内酰胺类 β-lactam	Penicillin V potassium salt PVP		132-98-9	2.77×10^{-8}
大环内酯 Macrolide	Erythromycin ERY		114-07-8	1.81×10^{-7}
群体感应抑制剂 Quorum sensing inhibitor	N-phenyl-4-[[[(phenylamino)thioxomethyl]amino]-benzenesulfonamide LED209		245342-14-7	$2.76 \times 10^{-4} \text{ a}$

注:^aLED209在最大溶解度条件下只有20%的抑制率,因此EC₁₀表征其毒性,EC₁₀单位是mol·L⁻¹。

Note: Since that LED209 can only reach 20% inhibition even at the maximum solubility, EC₁₀ was utilized to express its toxicity, and the unit is mol·L⁻¹.

2.2 5 种抗生素与 LED209 的联合毒性

根据单一毒性的结果, 分别测定了 5 种抗生素与 LED209 对大肠杆菌的二元联合毒性。其中, LED209 的毒性较小, 当其达到溶解度(即浓度最大)

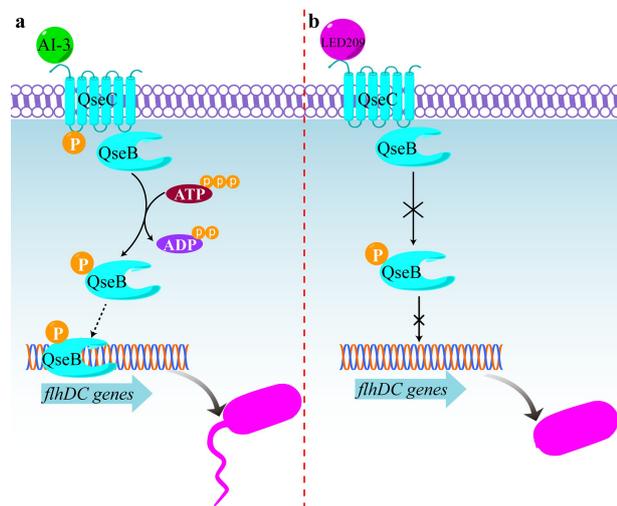


图 2 QseC/AI-3 系统机理图 (a) 和 LED209 作用机理图 (b)

注: AI-3, QseC, QseB, ATP, ADP 以及 *flhDC* 分别表示自诱导物、组氨酸激酶、反应调节蛋白、三磷酸腺苷、二磷酸腺苷、鞭毛调控器基因。

Fig. 2 QseC/AI-3 system mechanism (a) and the way of LED209 working (b)

Note: I-3, QseC, QseB, ATP, ADP and *flhDC* respectively stand for autoinducer-3, histidine kinase, response regulator protein, adenosine triphosphate, adenosine diphosphate and flagellar regulator gene.

时, 对细菌的抑制率是 20%, 无法求出 LED209 的 EC_{50} , 传统的联合毒性判别方法 TU 法或 MTI 法不适合判别 LED209 与抗生素的联合毒性。章强等^[10] 判别铜和四环素对斑马鱼幼鱼体的联合毒性作用类型时, 采用的实验方法是向梯度浓度的铜溶液中加入固定浓度的四环素溶液, 对受试生物的死亡率、孵化率、卵黄囊和头部面积等分析发现, 铜单独作用于斑马鱼幼鱼体时的毒性效应大于混合物的毒性效应, 故推测铜和四环素对斑马鱼幼鱼体的联合毒性为拮抗作用。本文采用与此类似的方法, 具体实验方法是向梯度浓度的单一抗生素中加入 EC_{10} 的 LED209 ($2.76 \times 10^{-4} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$, LED209 对大肠杆菌抑制率为 10% 时的浓度), 将单一抗生素的毒性效应与混合物毒性效应进行比较。若单一抗生素的毒性效应较大, 则将联合毒性作用类型判别为拮抗作用。

图 3 是单一抗生素和与 LED209 混合后对大肠杆菌的抑制率对比图, 蓝色为抗生素单独作用于大肠杆菌时的抑制率, 黄色为浓度为 $2.76 \times 10^{-4} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的 LED209 与抗生素联合作用时对大肠杆菌的抑制率, 由图 3 可知混合物对大肠杆菌的抑制率小于单一抗生素的抑制率, 故判断联合毒性表现为拮抗作用。例如, 青霉素 V 钾 (PVP) 在浓度为 $2.06 \times 10^{-8} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 时对大肠杆菌的抑制率是 82%, 但与 LED209

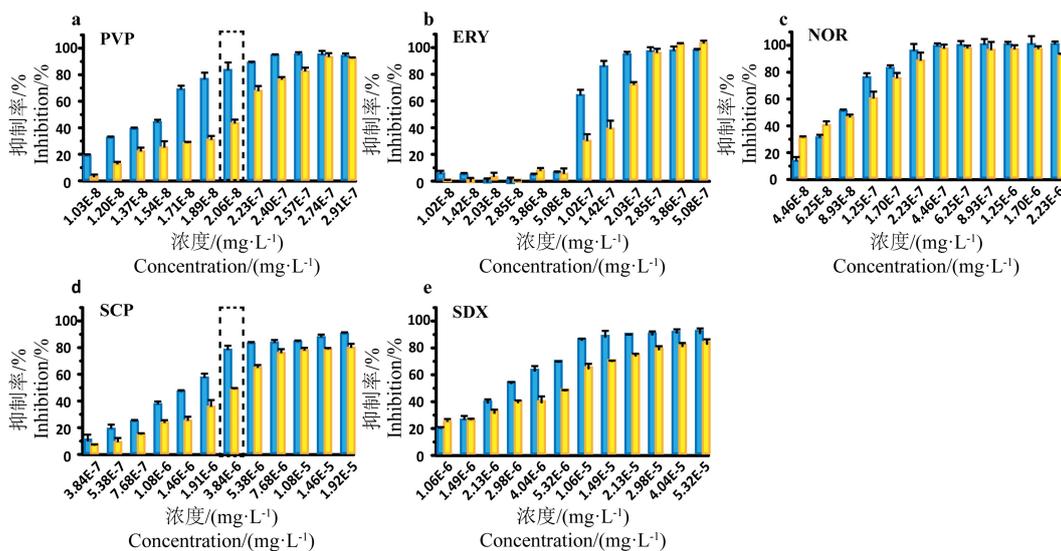


图 3 单一及联合毒性剂量-效应比较

注: 蓝色为单一抗生素对大肠杆菌的抑制率, 黄色为浓度为 $2.76 \times 10^{-4} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的 LED209 与抗生素联合作用对大肠杆菌的抑制率; (a) PVP&LED209 (b) ERY&LED209 (c) NOR&LED209 (d) SCP&LED209 (e) SDX&LED209。

Fig. 3 Dose-response comparisons of the single and joint effect

Note: lue histograms represent the inhibition of single antibiotic on *Escherichia coli*, and yellow histograms represent the combined toxicity of antibiotics and LED209 on *Escherichia coli*; (a) PVP&LED209, (b) ERY&LED209, (c) NOR&LED209, (d) SCP&LED209, (e) SDX&LED209.

混合后抑制率仅有 44% (见图 3a); 又如磺胺氯哒嗪 (SCP) 在浓度为 $3.84 \times 10^{-6} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 时对大肠杆菌的抑制率是 80%, 但与 LED209 混合后抑制率只有 48% (见图 3d)。

上述 LED209 和抗生素对大肠杆菌的联合毒性均为拮抗, 可能是由于二者共同作用于大肠杆菌时, LED209 减弱了抗生素的生物有效性。众所周知, 抗生素是微生物或高等动植物在生产过程中产生的有活性的次级代谢物^[11], 其结构与细菌生长繁殖所需的化合物具有一定的相似性^[12], 细菌的趋化性会使细菌向对自身有利的化合物趋近^[13]。

需要指出的是, 为了增加培养体系的溶解氧水平, 本实验细菌培养以转速 $180 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ 的摇床振荡培养 12 h。为了验证 $180 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ 的转速是否影响细菌运动, 本文设计了如下实验: 将 96 组未经染毒的大肠杆菌置于 $180 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ 恒温振荡箱中培养 12 h, 经过 2 种处理测量 12 h 后的 OD_{600} 值。处理一: 培养 12 h 后取出待测菌液, 直接测量 OD_{600} 值。结果如图 4 所示, 高速震荡前 96 组平行组的 OD_{600} 值较为分散 (图 4, 图形 a), 平均值是 0.719 (图 4, 图形 c)。处理二: 将培养 12 h 的菌液以转速 $1000 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ 混匀 30 s 测量 OD_{600} 值。高速震荡后 96 组平行组的 OD_{600} 值较为接近 (图 4, 图形 b), 平均值是 0.867 (图 4, 图形 d), 比未高速震荡组的 OD_{600} 大 0.148。说明在 $180 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ 震荡培养条件下, 震荡对细菌的运动影响较小, 细菌鞭毛依然具有驱动细菌运动的能力。

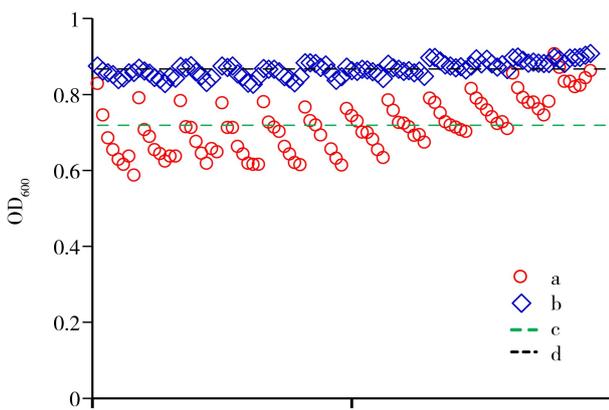


图 4 $1000 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ 震荡前后 OD_{600} 值

注: a 是高速震荡前测得的 OD_{600} 值; b 是高速震荡后测得的 OD_{600} 值; c 是高速震荡前测得的 OD_{600} 平均值; d 是高速震荡后测得的 OD_{600} 平均值。

Fig. 4 OD_{600} before and after shock of $1000 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$

Note: a represent OD_{600} before high speed oscillation; b is the OD_{600} after high speed oscillation; c is the average of OD_{600} before high speed oscillation; d is the average of OD_{600} after high speed oscillation.

可见, 低浓度抗生素单独作用于大肠杆菌时, 大肠杆菌可能会向抗生素趋近, 增加对细菌的毒性作用。细菌的趋化性与鞭毛运动密切相关^[4], 而鞭毛的表达受细菌群体感应系统的调控 (如图 2a)。因此在 LED209 和抗生素联合作用于大肠杆菌时, LED209 会影响鞭毛的合成, 可能使大肠杆菌不再有向抗生素类药物趋近的能力, 间接地减小了抗生素类药物对细胞的毒性, 所以 LED209 和抗生素对大肠杆菌的联合毒性效应表现为拮抗。

2.3 基于环境风险角度对 LED209 结构优化提出建议

LED209 是少数几种处于临床使用阶段的 QSIs 之一, 结合 2.2 的实验结果可知当 LED209 排入环境中后会与环境已经存在的抗生素表现出拮抗作用, 建议增加 LED209 系列药物的开发。

为了了解 LED209 中官能团对联合作用的贡献, 本文将 LED209 拆分为 L1 和 L2 两部分 (见图 5), L1 含有 2 个苯基和一个硫代脲基, L2 含有一个苯基和一个苯磺酰胺, 并测定了它们与抗生素的联合毒性, 实验方法是在单一毒性的基础上加入 EC_{10} 的 L1 和 L2 ($\text{EC}_{10, \text{L1}} = 3.27 \times 10^{-4} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$, $\text{EC}_{10, \text{L2}} = 5.43 \times 10^{-4} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$), 结果见图 6。

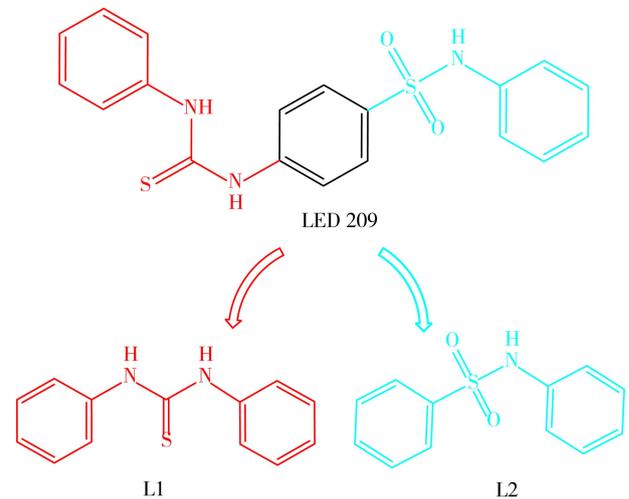


图 5 LED209, L1 和 L2 的分子式

Fig. 5 Molecular formulas of LED209, L1 and L2

分析图 6 发现, 抗生素与 L1 联合作用的抑制率 (红色) 均小于单一抗生素的抑制率 (绿色), 与 L2 的联合作用的抑制率 (蓝色) 大于单一抗生素的抑制率 (绿色)。说明环境已有抗生素与 L1 混合将降低抗生素对环境微生物的毒性, 与 L2 共存不利于环境

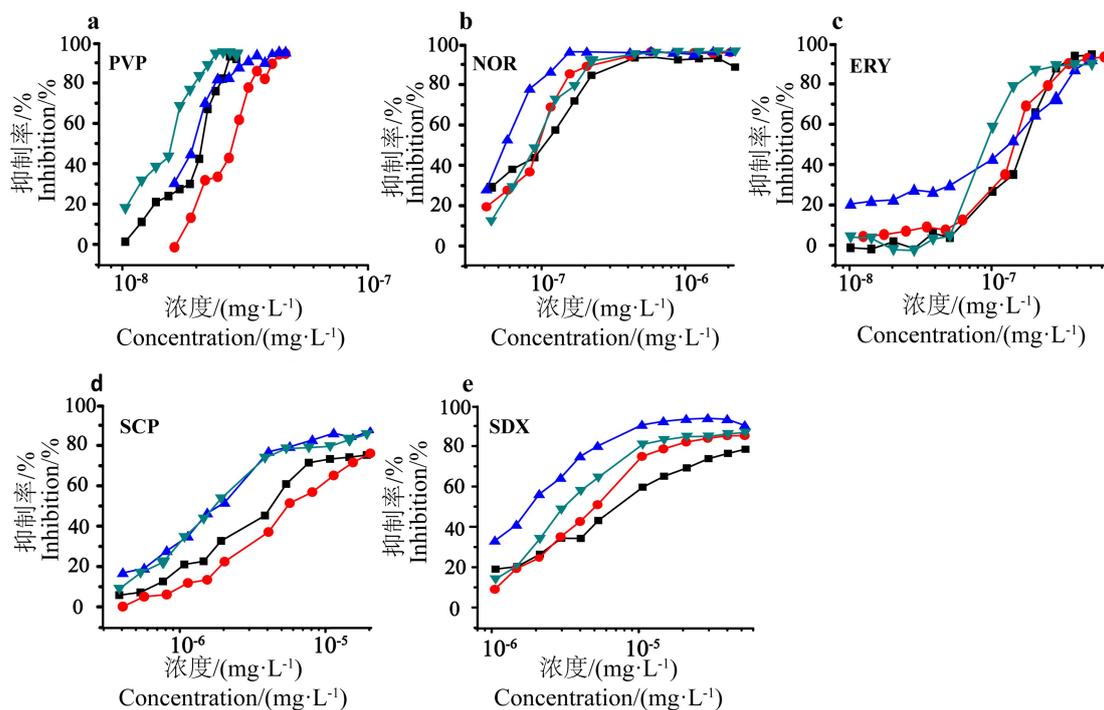


图 6 LED209 及其小分子与抗生素的联合毒性剂量曲线

注: 黑色正方形为 LED209 与抗生素联合, 红色圆形为 L1 与抗生素联合, 蓝色向上三角为 L2 与抗生素联合, 绿色向下三角形为单一抗生素的毒性。

Fig. 6 Dose-response curves of LED209 and its small molecules and antibiotics

Note: Black square represents the combined toxicity of antibiotics and LED209; red circle represents the combined toxicity of antibiotics and L1; blue triangle represents the combined toxicity of antibiotics and L2; green triangle represents the inhibition of single antibiotic noted in the figure.

中微生物的生长和繁衍。从环境风险评价角度分析可知, L1 与 L2 相比更有利于环境中生物的生存。因此, 建议在 LED209 药物优化时, 应尽可能的保留 L1 部分的基团——苯基和硫代脲基, 可通过修饰或改变苯磺酰胺(L2)来优化药物, 从而保证它们与抗生素联合应用时为最小环境风险。

综上, 本文测定了 5 种传统抗生素和 LED209 的单一毒性, 毒性大小分别是: PVP > ERY > NOR > SCP > SDX > LED209。在联合毒性方面, 加入 LED209 会降低抗生素类药物对大肠杆菌的抑制效果, 其主要原因可能是 LED209 影响了鞭毛的表达, 从而减弱了细菌向抗生素的趋化性。并通过分析 LED209 中的小分子 L1 和 L2 与抗生素的联合作用结果, 从环境风险角度为抗生素替代品 LED209 的优化提供理论指导。

需要指出的是, 本文选取的受试生物大肠杆菌是抗生素和 LED209 的靶生物, 但是抗生素和 LED209 也会对环境中的非靶生物造成联合毒性, 因此, 在后续研究中建议增加抗生素和 LED209 对非靶生物的毒性研究。

通讯作者简介: 印春生(1963—), 男, 博士, 教授, 主要研究方向海洋化学, 发表学术论文 100 余篇。

参考文献 (References):

- [1] 李兆君, 姚志鹏, 张杰, 等. 兽用抗生素在土壤环境中的行为及其生态毒理效应研究进展[J]. 生态毒理学报, 2008, 3(1): 15-20
Li Z J, Yao Z P, Zhang J, et al. A review on fate and ecological to veterinary antibiotics in soil environments [J]. Asian Journal of Ecotoxicology, 2008, 3(1): 15-20 (in Chinese)
- [2] 吴楠, 乔敏. 土壤环境中四环素类抗生素残留及抗性基因污染的研究进展[J]. 生态毒理学报, 2010, 5(5): 618-627
Wu N, Qiao M. Tetracycline residues and tetracycline resistance gene pollution in soil: A review [J]. Asian Journal of Ecotoxicology, 2010, 5(5): 618-627 (in Chinese)
- [3] 高盼盼, 罗义, 周启星, 等. 水产养殖环境中抗生素抗性基因(ARGs)的研究及进展[J]. 生态毒理学报, 2009, 4(6): 770-779
Gao P P, Luo Y, Zhou Q X, et al. Research advancement of antibiotics resistance genes (ARGs) in aquaculture en-

- vironment [J]. Asian Journal of Ecotoxicology, 2009, 4(6): 770-779 (in Chinese)
- [4] Rasko D A, Moreira C G, Li D R, et al. Targeting QseC signaling and virulence for antibiotic development [J]. Science, 2008, 321(5892): 1078-1080
- [5] 李治. 细菌群体感应蛋白 QseC 抑制剂 Br-LED209 抗菌作用机理的初步研究[D]. 西安: 第四军医大学, 2014: 37-46
- Li Z. The preliminary study of the antimicrobial mechanism of QseC quorum sensing inhibitor Br-LED209 [D]. Xi'an: Fourth Military Medical University: 37-46 (in Chinese)
- [6] 程古月, 郝海红, 谢书宇, 等. 抗生素替代品的研究进展[J]. 中国农学通报, 2014(35): 97-106
- Cheng G Y, Hao H H, Xie S Y, et al. Advance of antibiotic alternatives [J]. Chinese Agricultural Science Bulletin, 2014(35): 97-106 (in Chinese)
- [7] Spencer H, Karavolos M H, Bulmer D M, et al. Genome-wide transposon mutagenesis identifies a role for host neuroendocrine stress hormones in regulating the expression of virulence genes in Salmonella [J]. Journal of Bacteriology, 2010, 192(3): 714-724
- [8] 张祥武. 大肠杆菌密度感应调节子 C(QseC)在鞭毛调控基因 *flhDC* mRNA 表达中的作用研究[D]. 昆明: 昆明医科大学, 2015: 27-49
- Zhang X W. The role of quorum sensing *Escherichia coli* regulator C (QseC), A bacterial adrenergic receptor, in the expression of flagella regulatory gene *flhDC* mRNA [D]. Kunming: Kunming Medical School, 2015: 27-49 (in Chinese)
- [9] Clarke M B, Hughes D T, Zhu C, et al. The QseC sensor kinase: A bacterial adrenergic receptor [J]. Proceedings of the National Academy of Sciences U S A, 2006, 103(27): 10420-10425
- [10] 章强, 辛琦, 强丽媛, 等. 铜及其与四环素的联合暴露对斑马鱼胚胎的毒性效应[J]. 生态毒理学报, 2015, 10(5): 35-46
- Zhang Q, Xin Q, Qiang L Y, et al. Developmental toxicity of Cu and tetracycline on zebrafish embryos [J]. Asian Journal of Ecotoxicology, 2015, 10(5): 35-46 (in Chinese)
- [11] Wu F T, Chen D J, Qian X P. Recent studies of bioactive substances produced by endophyte [J]. Chinese Journal of Antibiotics, 2004, 29(3): 184-192
- [12] 袁中珍. 动物源性食品中 16 种磺胺类药物残留检测[D]. 重庆: 重庆医科大学, 2013: 16
- Yuan Z Z. Simultaneous determination of 16 sulfonamide residues in animal food products [D]. Chongqing: Chongqing Medical University, 2013: 16 (in Chinese)
- [13] 姜峰, 江德泉. 细菌的趋化性[J]. 微生物学通报, 1986, 13(5): 16
- [14] 杨姗姗, 马丽, 孙柏欣, 等. 细菌趋化性研究进展[J]. 中国农学通报, 2015, 13(6): 121-127
- Yang S S, Ma L, Sun B X, et al. Progress in bacterial chemotaxis [J]. Chinese Agricultural Science Bulletin, 2015, 13(6): 121-127 (in Chinese) ◆