论文

Q 热血清分析贝氏柯克斯体亚基因组蛋白质芯片和鉴定主要血清反应蛋白

王锡乐^①, 熊小路^①, Stephen Greaves^②, John Stenos^②, 温博海^{①*}^① 军事医学科学院微生物流行病研究所, 病原微生物生物安全国家重点实验室, 北京 100071;^② Australian Rickettsial Reference Laboratory, Barwon Health, Geelong Hospital, Geelong VIC 3220, Australia

* 联系人, E-mail: wenbohai@yahoo.com

收稿日期: 2012-12-17; 接受日期: 2013-01-24

国家自然科学基金(批准号: 31170161)和国家重点基础研究发展计划(批准号: 2010CB530200, 2010CB530205)资助项目

摘要 贝氏柯克斯体是 Q 热的病原体。为了鉴定贝氏柯克斯体的免疫反应蛋白, 本实验室研发了该病原体的亚基因组蛋白芯片。该芯片由 101 个贝氏柯克斯体的毒力相关重组蛋白构成, 用于贝氏柯克斯体感染小鼠血清及 Q 热患者血清对这些蛋白质做血清学分析。小鼠血清鉴定出 16 个血清反应阳性蛋白, 其中有 7 个蛋白能够与至少 45% 的 Q 热患者发生血清反应。值得注意的是, 热休克蛋白 B (HspB) 与 Q 热患者和小鼠血清的反应最强, 阳性率最高。本研究鉴定出 7 个主要 Q 热血清反应蛋白, 这些蛋白, 特别是 HspB 是 Q 热诊断试剂和亚单位疫苗研制的候选靶标。

关键词贝氏柯克斯体
蛋白芯片
患者血清
血清学反应
热休克蛋白 B

贝氏柯克斯体是 Q 热或柯克斯体病的病原体, 是一种专性细胞内寄生的革兰氏阴性嗜酸菌, 能在单核/巨噬细胞的吞噬溶酶体内繁殖^[1,2]。目前, 贝氏柯克斯体已能在特定的无细胞培养基中繁殖^[3]。该病原体能够以气溶胶传播、对环境抵抗力强, 而且感染力极强, 属于 B 类生物恐怖剂^[4], 因此可对人类构成严重威胁^[5]。Q 热为世界性分布, 临床上有急性与慢性 Q 热之分。急性 Q 热的发病症状与流感类似, 表现为高热、寒颤、疲乏, 经常伴随严重的头痛。严重的 Q 热, 特别是并发脑膜脑炎或心肌炎的急性 Q 热, 以及并发心内膜炎的慢性 Q 热可致患者死亡。

高效安全的疫苗接种和特异、敏感的血清学诊断是防治 Q 热的关键手段。已经在澳大利亚上市的

Q-Vax 疫苗能诱导机体产生特异性体液和细胞免疫反应, 有效预防 Q 热^[6]。然而, 该疫苗接种后, 特别是已被该菌致敏者, 能够发生严重的局部或全身性不良反应^[7]。目前, Q 热的临床诊断主要依据患者的临床表现和贝氏柯克斯体 I 相和 II 相全菌抗原的血清学检测。然而贝氏柯克斯体的全菌抗原组分复杂, 免疫荧光血清学实验缺乏特异性^[8]。

采用现代分子生物学技术分析贝氏柯克斯体抗原, 可以研发更有效的血清学方法来诊断贝氏柯克斯体感染。最近, 免疫蛋白质组学方法已经鉴定出几个贝氏柯克斯体特异蛋白质抗原^[9]。另外, 许多研究表明, 蛋白质芯片技术是一种高通量分析方法, 能有效评价不同菌体抗原的体液免疫反应, 能发现用于

引用格式: 王锡乐, 熊小路, Greaves S, 等. Q 热血清分析贝氏柯克斯体亚基因组蛋白芯片和鉴定主要血清反应蛋白. 中国科学: 生命科学, 2013, 43: 397-403

英文版见: Wang X L, Xiong X L, Graves S, et al. Protein array of *Coxiella burnetii* probed with Q fever sera. Sci China Life Sci, 2013, 56: 453-459, doi: 10.1007/s11427-013-4472-6

感染性疾病的诊断和疫苗研发的新候选抗原^[10-12].

本研究对贝氏柯克斯体九里株(RSA493)的全基因组序列进行分析^[13], 筛选出编码黏附、入侵、胞内转运、宿主调节、脱毒和其他毒力相关蛋白质基因(网络版附表 1), 而后将其在大肠杆菌 BL21 细胞内原核表达, 成功制备出 101 个毒力相关的重组蛋白. 将这些重组蛋白制备一张蛋白质芯片, 分别用贝氏柯克斯体实验感染小鼠血清和 Q 热患者血清与其反应, 筛选血清反应蛋白.

1 材料与方法

1.1 贝氏柯克斯体的培养和基因组 DNA 的提取

贝氏柯克斯体 I 相九里株和新桥株^[14]接种鸡胚, 在鸡胚卵黄囊膜中培养繁殖^[15]. 采用血液和组织 DNA 提取试剂盒(Qiagen, 希尔顿, 德国)从感染的鸡胚卵黄囊膜中直接提取染色体 DNA. 提取的 DNA 作为模板用于贝氏柯克斯体基因的 PCR 扩增.

1.2 贝氏柯克斯体感染鼠血清的制备

40 只 7 周龄雄性 BALB/c 小鼠腹腔接种贝氏柯克斯体新桥株(每只 1×10^7 个菌体), 于接种后 7, 14, 21 和 28 天分别随机取 10 只感染小鼠, 取其血清混合后备用. 本实验获得北京实验动物所伦理委员会的批准.

1.3 病人血清

69 份不同感染阶段的 Q 热病人血清由澳大利亚维多利亚州吉朗市的立克次体实验室提供. Q 热患者的诊断采用该实验室建立的间接免疫荧光实验(IFA)方法. 根据 IFA 检测结果和临床症状, 将 Q 热抗体阳性血清分为 3 类: 急性期、慢性期和康复期血清. 急性期患者血清又分为 3 亚类: 早期、晚期和恢复期血清. 将 9 份 Q 热抗体为阴性的急性早期患者血清用作蛋白芯片分析的阴性对照. 本实验获得北京微生物流行病研究所伦理委员会的批准. 患者血清为相关医院常规获取的血清样本, 本实验已清除样本记录中的所有患者信息.

1.4 毒力相关重组蛋白的制备

根据贝氏柯克斯体国际标准株九里株(RSA493)的全基因组序列(GenBank 登录号: NC_002971), 最

终选定 156 个与毒力相关的基因. 参考贝氏柯克斯体全基因组序列在 GenBank 中的注释, 采用减数策略去除非致病基因和持家基因, 保留编码已知或推定的毒力相关蛋白的基因(网络版附表 1). 选用 Primer 5.0 软件对筛选到的毒力相关基因进行引物设计(网络版附表 2). 依据 pET-32a 原核表达质粒的多克隆位点设计连接序列并将其加在相应的引物中, 以便 PCR 扩增的基因片段连接到相应的原核表达载体中.

扩增后的靶基因片段采用 DNA 凝胶纯化试剂盒(Qiagen)进行纯化, 连接到 pET-32a 载体(Novagen, 麦迪逊, 威斯康辛州, 美国), 构建重组质粒^[16]. 将该质粒转化大肠杆菌 BL21 感受态细胞, 涂布于具有氨苄抗性的琼脂平板上, 挑选阳性克隆接种于 LB 液体培养基, 加入 IPTG(Sigma, 路易斯, 密苏里, 美国)诱导表达后离心集菌, 将菌体重悬于 10 mmol/L 的 Tris-盐酸缓冲液(pH 8.0), 而后加入等体积的 2×SDS 样本缓冲液煮沸 10 min. 最后用浓度为 12%(质量体积比)的聚丙烯酰胺凝胶电泳和考马斯亮蓝染色鉴定表达产物.

1.5 蛋白芯片的制备

按照 Qiagen 公司镍离子亲和层析(Ni-NTA)蛋白质纯化试剂盒说明书对大肠杆菌细胞内表达的重组蛋白进行分离纯化. 用 BCA 蛋白质检测试剂盒(Pierce, 罗克福德, 明尼苏达州, 美国)对纯化后的蛋白质浓度进行测定, 用 250 mmol/L 的咪唑溶液调整蛋白质浓度至 150 $\mu\text{g/mL}$ ^[17]. 将该重组蛋白溶液点制在醛基化玻片上(CEL, 皮尔兰, 德克萨斯州, 美国), 每个蛋白质样品在芯片上均重复点 3 点. 以 pET-32a 转化的大肠杆菌 BL21 的细胞裂解液作为阴性质控; 以鼠源 IgG 或者人源 IgG 作为阳性质控. 点制的芯片室温放置 1 h, 4℃ 保存备用. 为保证芯片点制质量, 将芯片与 Cy5 标记的鼠抗 His 标签的 IgG 抗体反应, 只有荧光信号/背景 ≥ 3 的重组蛋白进行下一步分析.

1.6 血清反应蛋白的筛选

为了减少蛋白质芯片检测的背景反应, 待测血清用浓度为 1%(质量体积比)的牛血清白蛋白(BSA)磷酸盐缓冲液(pH 7.2)进行稀释, 稀释浓度均为 1:200 倍. 为进一步减少非特异反应, 将稀释血清与 IPTG 诱导后的 pET-32a 转化的大肠杆菌 BL21 细胞的裂解液在室温孵育 2 h. 蛋白质芯片用浓度为 1%(质量体积比)的牛血清白蛋白(BSA)磷酸盐缓冲液

(PBS)室温孵育 60 min 进行封闭,而后与待测血清 4℃孵育 12 h. 用洗涤缓冲液(浓度为 0.05% (体积比) Tween20 的 PBS)洗涤 5 次. 然后,将芯片加入 1% (质量体积比) BSA 的 PBS 溶液稀释 500 倍的 Cy5 标记的羊抗鼠 IgG(Southern Biotech, 伯明翰, 英国),或稀释 200 倍的 Cy5 标记的羊抗人 IgG (Jackson ImmunoResearch, 西格罗夫, 宾夕法尼亚州, 美国), 37℃孵育 45 min. 将孵育后芯片用洗涤缓冲液洗涤 3 次,再用 PBS 洗涤 3 次,最后用去离子水漂洗 1 次,室温放置 30 min 晾干. 用芯片扫描仪(PerkinElmer, 科维纳, 加利福尼亚州, 美国)对芯片进行扫描,激发光波长为 630 nm,保存 TIFF 格式的图片.

1.7 数据分析

扫描结果通过 GenePix pro 5.1 软件(Axon, 尤宁, 加利福尼亚州, 美国)进行图像处理和数据分析. 以样品荧光强度(*FI*)平均值减去背景荧光强度平均值作为每个蛋白质点的荧光强度. 用阳性对照的荧光强度对不同芯片上每个蛋白的荧光强度进行标准化处理,用 TreeView 软件显示结果^[18]. 采用 SPSS16 软件(IBM, 阿蒙克, 纽约州, 美国)的 Wilcoxon 秩和检验对芯片与小鼠血清或者患者血清反应的荧光信号进行统计学分析^[19].

2 结果

2.1 重组蛋白质芯片的制备

本研究共筛选到 156 个编码黏附、入侵、胞内转运、宿主调节、脱毒等毒力相关蛋白的基因用于蛋白质芯片的重组蛋白制备. 因为有 17 个目的基因的序列长度大于 2000 bp, 需要进行分段表达, 所以设计了 173 对引物用于扩增 156 基因(网络版附表 2). 155 个 PCR 扩增基因片段成功克隆到 pET-32a 载体, 104 个重组质粒转化大肠杆菌成功表达目的蛋白. 采用 Ni-NTA 纯化这 104 个重组蛋白. 将这些纯化的蛋白用 SpotArrayTM24 robot 点样仪点制到醛基化玻片上,制备一张亚基因组蛋白芯片. 101 个荧光信号/背景 ≥ 3 的重组蛋白用于进一步的芯片分析.

2.2 贝氏柯克斯体感染小鼠血清分析蛋白质芯片

101 个重组蛋白组成的蛋白质芯片与贝氏柯克

斯体感染的 BALB/c 小鼠血清反应. 与感染小鼠血清反应的荧光强度高于与正常小鼠血清反应的荧光强度 6 倍的蛋白被认为是血清反应阳性蛋白^[20]. 蛋白质芯片分别与贝氏柯克斯体感染小鼠 7, 14, 21 和 28 天后采集的血清反应, 4 种血清从 101 个蛋白中筛选到的鼠血清反应阳性蛋白的数量分别是 2, 66, 84, 75. 在这些血清反应阳性蛋白中, 有 15 个蛋白与 21 和 28 天感染血清反应的荧光强度高于贝氏柯克斯体外膜蛋白(Com1)(图 1)^[21].

2.3 Q 热患者血清分析蛋白质芯片

101 个贝氏柯克斯体重组蛋白组成的蛋白质芯片与 Q 热患者血清反应. 芯片与 Q 热阴性血清反应的平均荧光强度为 83 (网络版附表 3), 与急性早期 Q 热患者血清反应的平均荧光强度为 100(网络版附表 3), 略高于阴性对照组血清. 芯片与急性 Q 热晚期血清反应的平均荧光强度为 212(网络版附表 3), 显著高于急性早期血清($P < 0.05$)(图 2). 芯片与所有患者血清反应的平均荧光强度见网络版附表 3. 急性恢复期患者血清与芯片反应的平均荧光强度显著高于阴性对照血清($P < 0.05$), 但低于急性晚期患者血清(图 2). 慢性或康复期 Q 热患者血清与芯片反应的平均荧光强度与阴性对照血清之间没有显著性差异($P > 0.05$), 但是某些单个蛋白质, 如 HspB 的平均荧光强度则显著高于阴性对照血清(表 1).

对芯片上每个蛋白与 Q 热阴性和阳性血清反应的平均荧光强度和标准差(SD)进行了计算. 如果

图 1 感染小鼠血清检测 16 个柯克斯体蛋白的荧光强度
贝氏柯克斯体感染后第 7, 14, 21, 28 天采集的小鼠血清分析芯片中 16 个蛋白. 未感染小鼠血清作为阴性对照

图2 不同感染阶段的 Q 热患者血清与芯片上所有蛋白反应的平均荧光强度

蛋白与阳性 Q 热血清反应的平均荧光强度高于阴性血清反应的平均值加 2 倍标准差, 则该蛋白被认定为血清反应阳性蛋白. 根据该标准, 7 个蛋白(HspB, Ank4, Ank2, ApaH, EnhA, IcmO, BipA)为人血清反应阳性蛋白. 这 7 个蛋白与 45% 以上的急性晚期 Q 热病人血清反应, 特别是 HspB 蛋白与急性晚期 Q 热病人血清反应的阳性率高达 85%. 急性早期和慢性 Q 热患者血清与 HspB 蛋白反应的平均荧光强度分别是阴性对照血清的 100 和 200 倍(表 1).

2.4 早期与晚期配对 Q 热患者血清分析芯片

采用同一 Q 热患者的早期、晚期配对血清对 7 个主要血清反应阳性蛋白做进一步分析. 第一组配对血清为早期 Q 热抗体阴性和晚期 Q 热抗体阳性(图 3A). 第二组配对血清早期和晚期均为 Q 热抗体阳性

(图 3B). 本研究选用 Wilcoxon 秩和检验分析不同时期采集的同一病人血清样本与芯片反应的相对荧光强度, 结果表明, 这 7 个主要血清反应阳性蛋白和每一对中的晚期血清反应的荧光强度均显著高于早期血清反应($P<0.05$)(图 3, 网络版附表 4).

图3 贝氏柯克斯体主要血清反应蛋白与配对 Q 热患者血清反应

晚期血清是在 Q 热患者第一次采血后 5~22 天采集的. A: 第一组每个蛋白分别与 7 对急性血清(抗体阴性)和晚期血清(抗体阳性)反应; B: 第二组每个蛋白分别与 7 对急性血清(抗体阳性)和晚期血清(抗体阳性)反应. 结果表明, 每个蛋白与晚期血清反应的平均荧光强度均高于急性血清($P<0.05$)

表 1 贝氏柯克斯体主要血清反应蛋白与 Q 热患者血清反应的平均荧光强度^{a)}

基因 ID	蛋白	急性 Q 热患者血清							其他类型 Q 热患者血清			
		阴性	早期	n=10	晚期	n=20	恢复期	n=7	慢性期	n=9	康复期	n=14
CBU1718	HspB	12	1819	4	2367	17	1749	3	2698	6	276	5
CBU0447	Ank4	43	44	2	380	12	114	4	67	2	44	2
CBU1987	ApaH	52	84	2	265	10	157	2	99	2	23	1
CBU0884	BipA	181	132	0	473	9	295	3	104	0	154	2
CBU0201	Ank2	398	307	3	1410	9	1114	4	480	2	687	2
CBU0053	EnhA3	362	499	1	885	9	618	4	344	1	387	1
CBU1632	IcmO	97	56	0	261	9	213	4	124	1	114	3
平均值		164	420	1.7	863	10.7	609	3.4	559	2	241	2.3

a) n: 用于检测的血清样本数量

3 讨论

贝氏柯克斯体全基因组测序的完成, 有助于更深入地研究该病原体的生物学特性和致病性^[13]. 尽管双向电泳等蛋白质组学分析已用于贝氏柯克斯体血清反应蛋白的鉴定^[22-24], 但是菌体蛋白质表达水平不同及电泳处理过程中使蛋白质变性, 使得其用于菌体蛋白质的血清学分析所得的结果变得有限. 本研究筛选到 156 个编码黏附、入侵、胞内转运、宿主调节、脱毒等毒力相关蛋白的基因^[13], 采用分子克隆等技术成功制备出其中的 101 个基因表达的重组蛋白. 将这些重组蛋白制备出一张贝氏柯克斯体的亚基因组蛋白质芯片. 用贝氏柯克斯体实验感染小鼠血清和 Q 热患者血清分析该芯片, 鉴定其中的血清反应蛋白.

将不同时间点采集的贝氏柯克斯体感染小鼠血清分析芯片, 大多数蛋白质的血清反应的荧光强度随小鼠感染时间的延长逐渐增强. 此结果表明, 贝氏柯克斯体感染机体后, 这些菌体蛋白质能引发体液免疫反应, 诱导特异性抗体的产生, 其强度或水平随着感染进程而增加. 其中, 15 个蛋白与感染小鼠血清反应的荧光强度高于外膜蛋白 1(Com1). Com1 为贝氏柯克斯体表面抗原, 是首个被鉴定的贝氏柯克斯体血清反应蛋白^[21], 因此这 15 个蛋白可能是贝氏柯克斯体主要的血清反应抗原.

因为小鼠与人对病原体的免疫反应机制存在显著差异^[25], 因此贝氏柯克斯体实验感染诱导小鼠的免疫应答与该病原体自然感染引发人体的免疫应答可以明显不同. 为了研究这些毒力相关蛋白在 Q 热患者体内引发的体液免疫应答的能力与水平, 用不同感染阶段的 Q 热患者血清, 包括急性(早期、晚期和恢复期)、慢性和康复期血清分析这些蛋白质. 急性晚期血清与芯片反应的平均荧光强度显著高于急性早期血清, 表明在贝氏柯克斯体感染中, 多数毒力相关蛋白能够诱导机体体液免疫应答, 产生的特异性抗体水平随着感染的进程而不断升高. 芯片上的蛋白质与急性恢复期血清反应的平均荧光强度低于与急性晚期血清, 但是其水平仍显著高于 Q 热阴性血清. 该结果表明, 这些毒力相关蛋白诱导产生的特异性抗体会在体内持续存在.

蛋白质芯片与慢性或康复期 Q 热血清反应的平

均荧光强度与 Q 热阴性血清相比, 无显著性差异, 然而芯片上某些单个蛋白(如 HspB)的荧光强度则明显高于阴性血清. 此外, 本研究鉴定的另外 6 个毒力相关蛋白 Ank4, Ank2, ApaH, EnhA, IcmO, BipA 与 Q 热患者和小鼠血清也都发生强反应. 因此, 这些抗原可能是 Q 热诊断试剂和疫苗研发的候选靶标. 本研究选择 Q 热患者配对血清对这 7 个血清反应蛋白做进一步分析. 同一患者早期血清与这些蛋白反应的荧光强度都显著低于晚期血清, 表明这 7 个蛋白能有效激活机体的体液免疫应答, 产生高水平的特异性抗体.

本课题组先前的免疫蛋白质组学分析仅发现 HspB 为主要的血清反应抗原^[26], 推测本研究鉴定的其他 6 个蛋白在贝氏柯克斯体菌体中的丰度可能较低, 因此免疫印迹方法没有鉴定出来. 此外, 由以往含有贝氏柯克斯体 84%和 75%可读框的蛋白芯片^[27,28]鉴定出假定蛋白(CBU0891), OmpH(CBU0612), YajC(CBU1143), SucB(CBU1398)和 LemA(CBU0545). 这 5 个血清反应蛋白没有包含在本研究中, 但今后的相关研究将把它们与 7 个主要血清反应蛋白放在一起研究.

HspB 是膜结合 Hsp60 家族成员, 位于菌体表面和细胞周质, 与细菌致病性有关^[29,30]. 先前的研究已经证实, 贝氏柯克斯体的 HspB 蛋白是免疫显性蛋白^[6,26,31], 可用于反刍类动物贝氏柯克斯体感染的血清学诊断^[32]. 在本研究中值得注意的是, HspB 与急性和慢性 Q 热患者血清反应的平均荧光强度均显著高于 Q 热阴性血清. 这些结果表明, HspB 是理想的血清学诊断分子标识, 可用于急性和慢性 Q 热的诊断.

锚定蛋白重复域蛋白(Anks)是一类特殊的蛋白质, 在贝氏柯克斯体各分离株中有明显的异质性. 该蛋白质依赖 Dot/Icm 系统转运到细胞外, 调节宿主细胞的多种功能^[33]. 本研究发现, Ank4, Ank2, Ank11 和 Ank6 与急性晚期 Q 热患者血清反应的阳性率不同, 表明 Q 热患者对 Anks 蛋白的体液免疫反应有显著差别, 有的甚至无反应. ApaH 蛋白为二腺苷四磷酸酶, 与细菌鞭毛的生物合成、糖类的利用、分解代谢产物的调节和细胞分化有关, 还可能影响细菌的入侵和黏附等致病相关功能^[34,35]. BipA 是酪氨酸-磷酸化 GTP 酶, 调节肠道致病性大肠杆菌(EPEC)和上皮细胞的相互作用^[36]. EnhA 是不依赖 IV 型分泌系统的毒力因子, 因其具有影响细菌进入宿主细胞的多拷贝

的蛋白质-蛋白质相互作用结构域 Sel-1, 为一种细菌入侵相关毒力蛋白^[37]. IcmO 是贝氏柯克斯体 Icm/Dot 系统的组成蛋白. 急性晚期 Q 热患者血清与这些毒力相关蛋白反应的阳性率都超过 45%.

综合分析发现, 有 95% 的急性晚期 Q 热患者血清能够与这 7 个贝氏柯克斯体毒力相关蛋白的一种或者几种发生反应, 表明它们为主要血清反应蛋白, 可以作为 Q 热血清学诊断的候选靶标. 然而这些蛋白质在临床诊断中的敏感性和特异性及在动物模型中产生的免疫保护力仍然需要进一步研究, 以评价它们作为 Q 热诊断试剂或亚单位疫苗的组成成分的

可行性.

4 结论

用贝氏柯克斯体的 101 个毒力相关重组蛋白构建一张亚基因组蛋白质芯片. 该芯片与贝氏柯克斯体实验感染小鼠血清反应, 筛选到 16 个血清反应阳性蛋白. 其中 7 个蛋白(HspB, Ank4, Ank2, ApaH, EnhA, IcmO, BipA)与急性晚期 Q 热患者血清反应的阳性率大于 45%, 为贝氏柯克斯体的主要血清反应蛋白, 尤其 HspB 的血清反应性更为显著和特异.

参考文献

- 1 Heinzen R A, Hackstadt T, Samuel J E. Developmental biology of *Coxiella burnetii*. Trends Microbiol, 1999, 7: 149–154
- 2 Zamboni D S, Mortara R A, Freymuller E, et al. Mouse resident peritoneal macrophages partially control *in vitro* infection with *Coxiella burnetii* phase II. Microbes Infect, 2002, 4: 591–598
- 3 Omsland A, Cockrell D C, Howe D, et al. Host cell-free growth of the Q fever bacterium *Coxiella burnetii*. Proc Natl Acad Sci USA, 2009, 106: 4430–4434
- 4 Tigertt W D, Benenson A S, Gochenour W S. Airborne Q fever. Microbiol Mol Biol Rev, 1961, 25: 285–293
- 5 Maurin M, Raoult D. Q fever. Clin Microbiol Rev, 1999, 12: 518–553
- 6 Zhang G, Samuel J E. Vaccines against *Coxiella* infection. Expert Rev Vaccines, 2004, 3: 577–584
- 7 Marmion B P, Ormsbee R A, Kyrkou M, et al. Vaccine prophylaxis of abattoir-associated Q fever: eight years' experience in Australian abattoirs. Epidemiol Infect, 1990, 104: 275–287
- 8 Scola B L. Current laboratory diagnosis of Q fever. Semin Pediatr Infect Dis, 2002, 13: 257–262
- 9 Deringer J R, Chen C, Samuel J E, et al. Immunoreactive *Coxiella burnetii* Nine Mile proteins separated by 2D electrophoresis and identified by tandem mass spectrometry. Microbiology, 2010, 157: 526–542
- 10 Davies D H, Liang X, Hernandez J E, et al. Profiling the humoral immune response to infection by using proteome microarrays: high-throughput vaccine and diagnostic antigen discovery. Proc Natl Acad Sci USA, 2005, 102: 547–552
- 11 Sharma J, Zhong Y, Dong F, et al. Profiling of human antibody responses to *Chlamydia trachomatis* urogenital tract infection using microplates arrayed with 156 Chlamydial fusion proteins. Infect Immun, 2006, 74: 1490–1499
- 12 Sundares S, Doolan D L, Hirst S, et al. Identification of humoral immune responses in protein microarrays using DNA microarray data analysis techniques. Bioinformatics, 2006, 22: 1760–1766
- 13 Seshadri R, Paulsen I T, Eisen J A, et al. Complete genome sequence of the Q-fever pathogen *Coxiella burnetii*. Proc Natl Acad Sci USA, 2003, 100: 5455–5460
- 14 Wen B H, Yu S R, Yu G Q, et al. Analysis of proteins and lipopolysaccharides from Chinese isolates of *Coxiella burnetii* with monoclonal antibodies. Acta Virol, 1991, 35: 538–544
- 15 Stoker M G, Fiset P. Phase variation of the Nine Mile and other strains of *Rickettsia burnetii*. Can J Microbiol, 1956, 2: 310–321
- 16 Li Q, Niu D, Wen B, et al. Protective immunity against Q fever induced with a recombinant P1 antigen fused with HspB of *Coxiella burnetii*. Ann N Y Acad Sci, 2005, 1063: 130–142
- 17 Holzinger A, Phillips K S, Weaver T E. Single-step purification/solubilization of recombinant proteins: application to surfactant protein B. Biotechniques, 1996, 20: 804–806, 808
- 18 Eisen M B, Spellman P T, Brown P O, et al. Cluster analysis and display of genome-wide expression patterns. Proc Natl Acad Sci USA, 1998, 95: 14863–14868
- 19 Baldi P, Long A D. A Bayesian framework for the analysis of microarray expression data: regularized *t*-test and statistical inferences of gene changes. Bioinformatics, 2001, 17: 509–519
- 20 Cruz-Fisher M I, Cheng C, Sun G, et al. Identification of immunodominant antigens by probing a whole *Chlamydia trachomatis* open reading frame proteome microarray using sera from immunized mice. Infect Immun, 2011, 79: 246–257
- 21 Hendrix L R, Samuel J E, Mallavia L P. Identification and cloning of a 27-kDa *Coxiella burnetii* immunoreactive protein. Ann N Y Acad

- Sci, 1990, 590: 534–540
- 22 Chao C C, Chen H W, Li X, et al. Identification, cloning, and expression of potential diagnostic markers for Q fever. *Ann N Y Acad Sci*, 2005, 1063: 76–78
- 23 Coleman S A, Fischer E R, Cockrell D C, et al. Proteome and antigen profiling of *Coxiella burnetii* developmental forms. *Infect Immun*, 2007, 75: 290–298
- 24 Deringer J R, Chen C, Samuel J E, et al. Immunoreactive *Coxiella burnetii* Nine Mile proteins separated by 2D electrophoresis and identified by tandem mass spectrometry. *Microbiology*, 2011, 157: 526–542
- 25 Mestas J, Hughes C C W. Of mice and not men: differences between mouse and human Immunology. *J Immunol*, 2004, 172: 2731–2738
- 26 Xiong X, Wang X, Wen B, et al. Potential serodiagnostic markers for Q fever identified in *Coxiella burnetii* by immunoproteomic and protein microarray approaches. *BMC Microbiology*, 2012, 12: 35
- 27 Beare P A, Chen C, Bouman T, et al. Candidate antigens for Q fever serodiagnosis revealed by immunoscreening of a *Coxiella burnetii* protein microarray. *Clin Vaccine Immunol*, 2008, 15: 1771–1779
- 28 Vigil A, Chen C, Jain A, et al. Profiling the humoral immune response of acute and chronic Q fever by protein microarray. *Mol Cell Proteomics*, 2011, 10: M110.006304
- 29 Fernandez R C, Logan S M, Lee S H, et al. Elevated levels of *Legionella pneumophila* stress protein Hsp60 early in infection of human monocytes and L929 cells correlate with virulence. *Infect Immun*, 1996, 64: 1968–1976
- 30 Garduno R A, Garduno E, Hoffman P S. Surface-associated Hsp60 chaperonin of *Legionella pneumophila* mediates invasion in a HeLa cell model. *Infect Immun*, 1998, 66: 4602–4610
- 31 Vodkin M H, Williams J C. A heat shock operon in *Coxiella burnetii* produces a major antigen homologous to a protein in both mycobacteria and *Escherichia coli*. *J Bacteriol*, 1988, 170: 1227–1234
- 32 Fernandes I, Rousset E, Dufour P, et al. Evaluation of the recombinant heat shock protein B (HspB) of *Coxiella burnetii* as a potential antigen for immunodiagnostic of Q fever in goats. *Vet Microbiol*, 2009, 134: 300–304
- 33 Voth D E, Howe D, Beare P A, et al. The *Coxiella burnetii* ankyrin repeat domain-containing protein family is heterogeneous, with C-terminal truncations that influence Dot/Icm-mediated secretion. *J Bacteriol*, 2009, 191: 4232–4242
- 34 Farr S B, Arnosti D N, Chamberlin M J, et al. An apaH mutation causes appppA to accumulate and affects motility and catabolite repression in *Escherichia coli*. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1989, 86: 5010–5014
- 35 Ismail T M, Hart C A, McLennan A G. Regulation of dinucleoside polyphosphate pools by the YgdP and ApaH hydrolases is essential for the ability of *Salmonella enterica* serovar typhimurium to invade cultured mammalian cells. *J Biol Chem*, 2003, 278: 32602–32607
- 36 Farris M, Grant A, Richardson T B, et al. BipA: a tyrosine-phosphorylated GTPase that mediates interactions between enteropathogenic *Escherichia coli* (EPEC) and epithelial cells. *Mol Microbiol*, 1998, 28: 265–279
- 37 Cirillo S L G, Lum J, Cirillo J D. Identification of novel loci involved in entry by *Legionella pneumophila*. *Microbiology*, 2000, 146: 1345–1359

论文

附录

附表 1 本次研究中扩增的贝氏柯克斯体毒力相关基因

基因分组	贝氏柯克斯体基因组中基因编号
编码 IV 型分泌系统 蛋白质基因	CBU1622 CBU1623 CBU1624 CBU1625 CBU1626 CBU1627 CBU1628 CBU1629 CBU1630 CBU1631 CBU1632 CBU1633 CBU1634 CBU1635 CBU1636 CBU1637 CBU1638 CBU1639 CBU1640 CBU1641 CBU1642 CBU1643 CBU1644 CBU1645 CBU1646 CBU1647 CBU1648 CBU1649 CBU1650 CBU1651 CBU1652
编码膜结合蛋白质 基因	CBU0612 CBU0936 CBU1111 CBU1141 CBU1142 CBU1190 CBU1260 CBU1302 CBU1376 CBU1402 CBU1811 CBU1829 CBU1873 CBU1910 CBU1920 CBU2066 CBU0088 CBU0105 CBU0278 CBU0307 CBU0056 CBU0156 CBU0155 CBU0154 CBU0153 CBU1891 CBU2040 CBU1320 CBU1738 CBU0390 CBU0072 CBU0145 CBU0201 CBU1292 CBU0355 CBU0356 CBU0447 CBU0781 CBU1024 CBU1213 CBU1254 CBU1609 CBU1757 CBU0898
编码分泌性 蛋白质基因	CBU0258 CBU0147 CBU0224 CBU1449 CBU1519 CBU1122 CBU1138 CBU0053 CBU1137 CBU1136 CBU1551 CBU0884 CBU0335 CBU1746 CBU1747 CBU1822 CBU1708 CBU0281 CBU1477 CBU1478 CBU1669 CBU1983 CBU1978 CBU1275 CBU1476 CBU1987 CBU0853 CBU1706 CBU1125 CBU2045 CBU0099 CBU0366 CBU0634 CBU0673 CBU0789 CBU1084 CBU1228 CBU1761 CBU2005 CBU1099 CBU1504 CBU1505 CBU0450 CBU1718 CBU1574 CBU1575 CBU0090 CBU0353 CBU0397 CBU0738 CBU0712 CBU0760 CBU0780 CBU2006 CBU1400 CBU1379 CBU0630 CBU1306 CBU1375 CBU0231 CBU1050 CBU0024 CBU1200 CBU1905 CBU0117 CBU0132 CBU0138 CBU0140 CBU0141 CBU0739 CBU1196 CBU0094 CBU0755 CBU1191 CBU1352 CBU1904 CBU1903 CBU0955 CBU1043 CBU1227 CBU0367

附表 2 扩增贝氏柯克斯体的毒力相关蛋白质基因的寡核苷酸引物对^{a)}

基因编号	引物对	基因编码蛋白质	基因长度(bp)	
			基因	扩增产物
CBU0024	5'-AGCGAATTCCTTAACACGAACAAATGGTCA-3' 5'-CTTCTCGAGTTCAACTTCTCAAGAAATAGG-3'	CsrA1: carbon storage regulator	207	195
CBU0053	5'-GCTGAATTCCTCGATGCTTGTCTGCTTGC-3' 5'-CATCTCGAGCACGATGATCTGAGTACCGAC-3'	EnhA: enhanced entry protein A, putative	750	693
CBU0056	5'-CTGGAATTCGCCCCCTTGCTTTATGCT-3' 5'-CTTCTCGAGCGTGGCTGTTGTGGTAGTC-3'	TolC: outer membrane protein, putative, membrane fusion protein (type I secretion system)	1850	903
CBU0056	5'-TCGGAATTCCTTGTGACCCATTCTACCC-3' 5'-TTTCTCGAGCTGGACTTTCGGCACCC-3'	TolC: outer membrane protein, putative, membrane fusion protein (type I secretion system)	1850	795
CBU0072	5'-GGTGAATTCGTAAGGCAGGGTCTCTCTTTG-3' 5'-CGACTCGAGGTCTTGTGTCCCGATTTTAAC-3'	Ank8: Ankyrin repeat domain protein	1199	1119
CBU0088	5'-GCTGAATTCATCGTGTCCCGTTGGC-3' 5'-TTTCTCGAGACCGTTAGGCGTAGTTCC-3'	Pseudo membrane protein, putative	816	756
CBU0090	5'-CTGGAATTCCTCCCGTTAGTTATGGTGC-3' 5'-AAGCTCGAGACACGCCTAAATAAGGAGAC-3'	TolB protein	1313	1260
CBU0094	5'-CCTGAATTCGCCATCGACAGCTATCCT-3' 5'-CAGCTCGAGAAATTTGTTGAGTACCGTGC-3'	ClpB protein	2580	1227
CBU0094	5'-TGC GGATCCATGGAATCATCCAGAGC-3' 5'-TCCCTCGAGTAATGAGCCAGGCACAAAT-3'	ClpB protein	2580	1026
CBU0099	5'-AACGGATCCACGGATCAGCGTGAAAGA-3' 5'-CTCCTCGAGCTCAAATTGCTCCAAACAGA-3'	SixA: phosphohistidine phosphatase	473	372
CBU0117	5'-GGGGAATTC AATCGCACCTTCCAGATA-3' 5'-TTGCTCGAGTTACTCAATCATCGCATCG-3'	FtsL: cell division protein	348	300
CBU0132	5'-CGTGAATTCGCGTGGATTGTCATTG-3' 5'-AGCCTCGAGATAAGCGATCCGCAAGA-3'	FtsW: cell division protein	1119	1068
CBU0138	5'-GCAGAATTCATGAAGCGGTATAATGCGA-3' 5'-GTTCTCGAGTTTCCACTGAATTGCCAAC-3'	FtsQ: cell division protein	732	726
CBU0140	5'-GCAGAATTC AAAATCGCGGCTCTTGT-3' 5'-GTCCTCGAGTTTCATCCGTTGCCATAA-3'	FtsA: cell division protein	1233	1155

续附表 2

基因编号	引物对	基因编码蛋白质	基因长度(bp)	
			基因	扩增产物
CBU0141	5'-ACTGAATTCGAAACCTCACCGCAAAATG-3' 5'-CTTGTCTGACCTTCCTCCAGGCGACGTAA-3'	FtsZ: cell division protein	1160	1140
CBU0145	5'-GTGGAATTCCTTGTGCTGGTGGACTCA-3' 5'-CCTCTCGAGTTCTTGATCGGGATTGCTG-3'	Ank1: Ankyrin repeat family protein	1049	947
CBU0147	5'-GAAAGGATCCGCTGAAATGCGTACTGGC-3' 5'-CGTCTCGAGCGCTTCTAAATTACCACCC-3'	SecA: translocase, secA	2741	1281
CBU0147	5'-GCCGAATTCCTGGCGGAAGAAGAAAT-3' 5'-ACACTCTCGAGCTGTTGTTGTGCGACCTG-3'	SecA: translocase, secA	2741	939
CBU0153	5'-TGTGAATTCGTTATCGGATTGATCGTGG-3' 5'-CGTCTCGAGTTTCAGGGCTAGTAGCATG-3'	PilD: type 4 prepilin peptidase	860	693
CBU0154	5'-GAGGAATTCGGATCTCATTACGGTCA-3' 5'-GCTCTCGAGGTAAACGCTCGTCTATTCT-3'	PilC: type IV-A pilus assembly protein	1055	822
CBU0155	5'-CTAGGATCCCGCTATGCGTTTCATTCCAC-3' 5'-CTGCTCGAGACCCGCTTTTGCTTTATTCA-3'	PilB: type IV-A pilus assembly protein	1553	1239
CBU0156	5'-GTGGAATTCAGGGGTCGGCGTTAAGA-3' 5'-GTACTCGAGACGGCGGGATTACATT-3'	PilA: type IV-A pilin protein	422	345
CBU0201	5'-GCCGAATTCCTTAATCCCGAGCCTCCAATC-3' 5'-CAACTCTCGAGACTTTCACGCCGAGAATC-3'	Ank2: Ankyrin repeat family protein	395	372
CBU0224	5'-AGCGAATTCGAACAAAGTGTAACGCCAGAA-3' 5'-CACCTCGAGAGCCACATAAAGAAGCTATCA-3'	SecE: preprotein translocase, SecE subunit	383	348
CBU0231	5'-CCTGGATCCCAAGCGAATAGTAGAAGTAGGA-3' 5'-TCACTCGAGGACATCCCTTTACCATCAC-3'	Rpoβ: DNA-directed RNA polymerase, beta subunit	4128	1383
CBU0231	5'-GGTGAATTCCTGGTCGATATTCGTGATG-3' 5'-GTCTCTCGAGTGTAAGTTGCGTTTCTCCT-3'	Rpoβ: DNA-directed RNA polymerase, beta subunit	4128	1398
CBU0231	5'-CAGGAATTCGGAGAAACGCAACTTACAC-3' 5'-CAACTCTCGAGACCAATATCAATCGCCAAC-3'	Rpoβ: DNA-directed RNA polymerase, beta subunit	4128	1377
CBU0258	5'-GGTGAATTCGTCGCTTATTATTCGTCT-3' 5'-GTTCTCGAGGGGACTCGTATTGATGGCTC-3'	SecY: preprotein translocase	1329	1221
CBU0278	5'-GGCGAATTCATATATCCCCGTTTTCCTC-3' 5'-GGACTCTGAGATATTCTGCAATCCCAGCT-3'	MarC: membrane protein, MarC family	593	519
CBU0281	5'-ACAGGATCCCTAAACTTAAACACCGCAC-3' 5'-CCTCTCGAGTCATTGGTATCTAAAATTCTCC-3'	KatE catalase	545	510
CBU0307	5'-CGAGAATTCAGCGTTGGTGTCACTTCC-3' 5'-CATGTCTGACCGGTGAACAGATGGGTAA-3'	OmpA: ompA-like transmembrane domain protein	696	622
CBU0335	5'-GTTGGATCCCGATGGTGATGTTAGCA-3' 5'-GCTCTCGAGGTATTGATCGCCCATATTC-3'	AP-B: acid phosphatase, class B	665	552
CBU0353	5'-GTGGAATTCAGATGGCTGCTTATGGATTT-3' 5'-ATACTCTGAGACGACTGGCGTTGTGAGA-3'	SohB protein	1017	975
CBU0355	5'-GCTGAATTCGCTAGAGTCGTCGGACA-3' 5'-GTCGTCTGACTCGATTCCCAAAGTGTTGATT-3'	Ank5: Ankyrin repeat domain protein	1073	805
CBU0356	5'-GGAGAATTCGAGTTGGGAATTGATGCGAC-3' 5'-GCACTCTGAGAACCCAGACAGTCCTCTGAAG-3'	Ank3: Ankyrin repeat domain protein	749	690
CBU0366	5'-GCCGAATTCAAATTACCCAAAGCAGTTAG-3' 5'-AGTCTCTGAGGACAATCGCAAGTCCAAG-3'	PhoR: sensor histidine kinase protein, putative	758	630
CBU0367	5'-GGCGAATTCAGTGAAATCTTAGGACCAA-3' 5'-GGGCTCTGAGTTATGCGTTCTTGTATCAT-3'	PhoB: DNA-binding response regulator	747	735
CBU0390	5'-GAGGAATTCGAAGCCAGAAGAAGTGCCTGAA-3' 5'-GCTCTCGAGTAGCAATCCCAACAAGATAACCA-3'	MviN: Integral membrane protein	1547	1245
CBU0397	5'-GTGGAATTCAGTAAATACTTGCGCAATCA-3' 5'-AGACTCTGAGAGGCTTAGAGGAGGGTGT-3'	SP II: signal peptidase II	491	414
CBU0447	5'-GCAGAATTCGCTATGCAGCGGCTATTTGA-3' 5'-GTTCTCTGAGCTGGAAGCCGCGATTATTTTC-3'	Ank4: Ankyrin repeat domain protein	554	522

续附表 2

基因编号	引物对	基因编码蛋白质	基因长度(bp)	
			基因	扩增产物
CBU0450	5'-CGTGAATTCGGACAAGAAGTCATCGGCAAC-3' 5'-GATCTCGAGTCGCCATCCCGAGGTAA-3'	Srpp: signal recognition particle protein	1385	1197
CBU0612	5'-GGCGAATTCAAACGCTTGTTATCTGCT-3' 5'-CGACTCTCGAGAAGTACGGTATCTTTAGGC-3'	OmpH: outer membrane protein putative	497	438
CBU0630	5'-CGTGAATTCGCGATTGATTTACCTTTCTTA-3' 5'-TTACTCTCGAGAGCTTCATTCGGTCCAAT-3'	Ppct: peptidyl-prolyl cis-trans isomerase	692	645
CBU0634	5'-CCGGAATTCACGGGCAGAAGGGCTATA-3' 5'-CCGCTCTCGAGTTGGCGAATTTACGAACCTAA-3'	Regulator: sensory box sensor histidine kinase/response regulator	1655	1433
CBU0673	5'-CTGGAATTCATCACTTCAAAACCCTGTG-3' 5'-CTGCTCTCGAGGATAATTTCAACTCCCTGC-3'	HisB: histidine biosynthesis bifunctional protein,	545	519
CBU0712	5'-AATGAATTCGAAACGGGAGAAATGGCG-3' 5'-ATTCTCTCGAGTCACTCCTGCAACAACCC-3'	GacA: DNA-binding response regulator, GacA family	635	537
CBU0738	5'-TGCGAATTCAGCGTTTATAGTTCCTATGG-3' 5'-CAGCTCTCGAGGGTGTCTTTTCTACTCTTT-3'	ClpP: ATP-dependent Clp protease, proteolytic subunit	587	507
CBU0739	5'-CTGGAATTCCTATCAGTCGCCGTTTAC-3' 5'-CTCCTCTCGACATTCTTGAGCCACCTTAC-3'	ClpX: ATP-dependent protease ATP-binding subunit	1268	1018
CBU0755	5'-ACTGAATTCGCTCACTTACCCTCCGCTG-3' 5'-ATTCTCTCGAGCTCCTTTGGCTTGCCTTCA-3'	Protease DO	1355	1218
CBU0760	5'-GCCGAATTCCTAGTCGAAGATAATCCGTT-3' 5'-GAGCTCTCGAGTCACTGAATCCAATAGTTGAG-3'	Rrp: response regulator protein, putative	375	336
CBU0780	5'-TGCGAATTCCTTTGATTGAAGATCACG-3' 5'-AGCCTCTCGAGATATTGCACCGCTAGTTT-3'	LuxR: DNA-binding response regulator, LuxR family	650	603
CBU0781	5'-GCTGGATCCGAGACTCCCACTAGCACAAATATC-3' 5'-ACGGTCTGACACCGAGGACTAGACAGACAAGA-3'	Ank9: Ankyrin repeat domain protein	1016	1003
CBU0789	5'-CTGGGATCCTCGCTGGATGCAATTATCT-3' 5'-GACCTCTGAGGAGCAGTTCAATAGTCCGT-3'	Regulator: sensory box histidine kinase/response regulator	2426	1103
CBU0789	5'-CTTGGATCCTCCCATATCGGGTAGGC-3' 5'-CTTCTCTGAGTGCAGGATTTGGAGGTTTCG-3'	Regulator: sensory box histidine kinase/response regulator	2426	1058
CBU0853	5'-GGAGAATTCAAAATCGCCCTCGTCGCT-3' 5'-GTTCTCTGAGCCGATTGCGATAGGCTTC-3'	MgsA: methylglyoxal synthase	431	411
CBU0884	5'-CCAAGAATTCACGCTCGTTGACCAAGTTGCT-3' 5'-CAGCTCTGAGTCGGCTCGTGAGAAATTTACC-3'	BipA: virulence regulator BipA	1808	930
CBU0884	5'-GCGGAATTCCTCGACTGTTAGCATGACTTTC-3' 5'-GTACTCTGAGGCGGCGTTCTGTTCTTTT-3'	BipA: virulence regulator BipA	1808	882
CBU0898	5'-GGTGAATTCCTGATCTTTGCGTTTAGCAC-3' 5'-CTACTCTGAGGCACAGTTTCGGCGTTTT-3'	Thyroglobulin type-1 repeat domain protein	333	255
CBU0936	5'-GTTGAATTCGTGGGATTGGGCACAGAG-3' 5'-TGACTCTGAGAGCGTATCTAGCGGGAATG-3'	OmpA: ompA-like transmembrane domain protein	569	504
CBU0955	5'-TGCGAATTCCTTGAGCAAATCAAAGGGAT-3' 5'-TTTCTCTGAGTTAAACGGCGCTGGTGGT-3'	LuxR: DNA-binding response regulator, LuxR family	654	594
CBU1024	5'-GCCGAATTCCTTGAAAGTAGACGCAAAACCTT-3' 5'-CTTGCTGACCCCTTACACTCTGCCAATCAC-3'	Ank6: Ankyrin repeat domain protein	2130	952
CBU1024	5'-GCTGAATTCGTTTGCCTGATGGTTTCAC-3' 5'-GACCTCTGAGAGGATCTACGTCGCCTGTG-3'	Ank6: Ankyrin repeat domain protein	2130	960
CBU1043	5'-GCCGAATTCCTTCTAATTGAAGACCATCTG-3' 5'-AGCCTCTGAGTAATCCATATTGGACCGC-3'	LuxR: DNA-binding response regulator, LuxR family	644	612
CBU1050	5'-CTGGAATTCGAATCGGTAATCATTGGAG-3' 5'-AGCCTCTGAGAAATTCGTCACTTCTCTAC-3'	CsrA2: carbon storage regulator	213	180
CBU1084	5'-CTTGGATCCACAAGGATTCACAAACCGAT-3' 5'-CATCTCTGAGTTGAGACATGCCGAGGATA-3'	Regulator: sensory box sensor histidine kinase/response regulator	2051	930
CBU1084	5'-CTTGGATCCGCTACTAAATGACCTTCTT-3' 5'-CTTCTCTGAGCACTTCGTCCATTCTTCTACA-3'	Regulator: sensory box sensor histidine kinase/response regulator	2051	1327

续附表 2

基因编号	引物对	基因编码蛋白质	基因长度(bp)	
			基因	扩增产物
CBU1099	5'-CGTGAATTCGGCGTTGTTTGGTTAGTGG-3' 5'-TGTCTCGAGCATCAGGTATTTCCCTTTGG-3'	SPI: signal peptidase I	780	582
CBU1111	5'-CTGGAATTCGGATGCTTGGCAATAACG-3' 5'-ACAGTCGACCTCCTCGGACAACACCTT-3'	MImt: membrane-bound lytic murein transglycosylase family protein	1203	1063
CBU1122	5'-GTGGAATTCCTTAACGGCGGTTTCAACT-3' 5'-GATCTCGAGTAACCATTTCGCGTCTTCA-3'	EnhA: enhanced entry protein A, putative	759	681
CBU1125	5'-GTCGAATTCATTCTCCACTCCGCCACG-3' 5'-GCTCTCGAGCCAGGCAATCACCAATTTAC-3'	Chitinase: family protein, putative	869	708
CBU1136	5'-CGGGAATTCGTCTTCCAGGAGTATTACGAA-3' 5'-CTTCTCGAGCTCTGCCAAAGTGGTCTGAT-3'	EnhC: enhanced entry protein C	3135	1554
CBU1136	5'-GCGGAATTCATGATCGTGGTTTCGGAGTT-3' 5'-CTTCTCGAGTGC GGCTGGAATTAAGT-3'	EnhC: enhanced entry protein C	3135	1392
CBU1137	5'-GGCGAATTCCTTAGGGCGGCTCTTTAT-3' 5'-GACCTCGAGTAGCAGCGATCCTTCATTTT-3'	EnhB: enhanced entry protein B, putative	555	519
CBU1138	5'-CCAGAATTCGAAAGGGCGATCTTCATAGT-3' 5'-GTTCTCGAGGCCGTCTTTAGTAGCCACAT-3'	EnhA: enhanced entry protein A, putative	747	678
CBU1141	5'-TGGGAATTCCTGGCTGTTAATGGATTGA-3' 5'-TACCTCGAGTTTAGGCGAACGAATAAGG-3'	SecF: protein-export membrane protein	914	792
CBU1142	5'-CGGGAATTCATATTACTCGCCGTACTCATC-3' 5'-ACTGTCGACCAGCAAAGCCTTGGACT-3'	SecD: protein-export membrane protein	1868	1699
CBU1190	5'-AGTGAATTCCTGTCTGGGATTGTGAGTG-3' 5'-ACACTCGAGGAATGGAGCGTTTACCTT-3'	LolA: outer membrane lipoprotein carrier protein	635	528
CBU1191	5'-AGTGAATTCGGACGACGCAAGGGTAAA-3' 5'-TTGCTCGAGTTCCGAATAGGACAAGGTATG-3'	FtsK: cell division protein	2336	906
CBU1191	5'-ACAGGATCCAAATCCACGCCACAACAA-3' 5'-ACCCTCGAGTTGAATACTGGAGACCGACA-3'	FtsK: cell division protein	2336	849
CBU1196	5'-TACGGATCCAAATCCTGAGGCTGGTAGA-3' 5'-GGACTCGAGGTTAGCAATGGGAACTTT-3'	ClpA: ATP-dependent Clp protease, ATP-binding subunit	2261	2058
CBU1200	5'-AGCGAATTCAAAGTTCCAGCCAAGGTG-3' 5'-CTACTCGAGGGTCATCAAACGGGCAAAA-3'	Icd: isocitrate dehydrogenase, NADP-dependent	1284	1179
CBU1213	5'-AGCGGATCCCTGAAGCCCTACATCCAAC-3' 5'-GCCCTCGAGCAAACCTATAAACGGTGCGAT-3'	Ank7: Ankyrin repeat domain protein	1973	984
CBU1213	5'-GTTGGATCCGCTGTGCGGGTTGCTAATC-3' 5'-GCTCTCGAGTCTTGAAGCGGGCTATGA-3'	Ank7: Ankyrin repeat domain protein	1973	855
CBU1227	5'-TCGGAATTCATGCGGGTGTACTTGT-3' 5'-GTCCTCGAGTCGTTTGCCTAAGTTGTG-3'	Dbrr: DNA-binding response regulator	672	606
CBU1228	5'-GCTGAATTCGATACGCACGTTTCTT-3' 5'-AAACTCGAGAATGCTTAGGCCAGTCC-3'	Shk: sensor histidine kinase	1436	1314
CBU1254	5'-CATGGATCCGGACCCAATTCAATCCCTTCT-3' 5'-CTCTCGAGCGATAATAAACGCAACGTAGCC-3'	Ank10: Ankyrin repeat domain protein	1526	1407
CBU1260	5'-GCGGAATTCCTTTATGTTCTGTTGTAAG-3' 5'-TCGCTCGAGGTTAGGCAAGTAGTTAGTGTTA-3'	OmpA: ompA-like transmembrane domain protein	746	594
CBU1275	5'-GGTGAATTCCTAAACGGTCGTGAACGTG-3' 5'-GAACTCGAGAAACTCCTGAATGCCAAAAT-3'	RspA: starvation sensing protein rspA	1206	915
CBU1292	5'-GCAGAATTCGATGAGTATGGTTATACGCCACT-3' 5'-GTACTCGAGAGAAACACCGTTGGAAAAGGAC-3'	Ank12: Ankyrin repeat domain protein	1397	1137
CBU1302	5'-GCTGAATTCCTTTGATCTGTATGGGCATC-3' 5'-ATCCTCGAGTTATTGCGGGCTAAACGC-3'	SmpA: small membrane protein A, putative	380	354
CBU1306	5'-TCGGAATTCATGGATAAACGCTCCTCA-3' 5'-ACCTCGAGACGCTTTACATAGTGATGG-3'	MsrA: bifunctional methionine sulfoxide reductase A/B protein	855	849
CBU1320	5'-GCAGAATTCCTCACGAAAGCCGATCTTT-3' 5'-GTCCTCGAGTTCCCTTCCTCTTTTGGT-3'	IHF- α : Integration host factor, alpha subunit	311	300

续附表 2

基因编号	引物对	基因编码蛋白质	基因长度 (bp)	
			基因	扩增产物
CBU1352	5'-ACT GGATCC TTAGTCATTGCCGTAGTCC-3' 5'-TCC CTCGAG AATTTCTTAATTTGAGCC-3'	FtsH: ATP-dependent metalloprotease	1943	1755
CBU1375	5'-AAA GGATCC GAACCCCAGCAGGACACT-3' 5'-TTG CTCGAG TTGACGCCATTTGACATCC-3'	RelA: GTP pyrophosphokinase	2145	1110
CBU1375	5'-GAG GAATTC GCTTCGGATTATGAGGAAA-3' 5'-AAG GTCGACA AAGAATATCGGGCAACTGT-3'	RelA: GTP pyrophosphokinase	2145	1065
CBU1376	5'-AG GGATCC ATGAGCCTAGCTGTTGCT-3' 5'-ACA CTCGAG CATGCCGATAGTCAAACC-3'	Mazm: membrane-associated zinc metalloprotease, putative	1364	1296
CBU1379	5'-ACG GAATTC AACGAAAGGGCGACAAACA-3' 5'-ATC CTCGAG ATCGTCGGGAAGATAGTGGG-3'	Kinase: protein kinase, putative	1056	936
CBU1400	5'-AGT GGATCC GAAATTTGGATGTTTCTGCC-3' 5'-ACG CTCGAG TTATTCCCCGCTTTCTGT-3'	SudC: succinate dehydrogenase catalytic subunit	732	645
CBU1402	5'-GCC GAATTC ATGGTAGATAGGACCAAGC-3' 5'-CCC CTCGAG ATAGCCCACTAACAATAAAA-3'	Sudp: succinate dehydrogenase, hydrophobic membrane anchor protein	341	303
CBU1449	5'-CCC GAATTC ATGTGCTTATTGCGTTTG-3' 5'-ATT CTCGAG CGCTGTTTTCGTGGATGG-3'	SecG: preprotein translocase, SecG subunit	296	249
CBU1476	5'-ACG GAATTC AAGCTGGAAGAAGAGTTGG-3' 5'-GAT CTCGAG TAACTTCGCCATTGTCTCAC-3'	OxyR: hydrogen peroxide-inducible genes activator	935	747
CBU1477	5'-CCT GAATTC AACAAATGGCTCGTCCTCT-3' 5'-TCT CTCGAG AATTGTTTCTTCGCCTTGC-3'	AhpC2: antioxidant, AhpC/TSA family	539	426
CBU1478	5'-CGG GAATTC AGCGAACTATCAAATCAAC-3' 5'-CTA CTCGAG CTCAATAATCGAAACCTGC-3'	AhpD: alkylhydroperoxidase family core domain protein	533	435
CBU1504	5'-GCC GAATTC AAAGCCAAAGCATCACTTA-3' 5'-CCA CTCGAG ATCCCAACTCATCCAAAT-3'	SPI: signal peptidase I	771	624
CBU1505	5'-GCA GAATTC ATGCTACTATCCCTCCAACA-3' 5'-CAC CTCGAG AAAGAAATCCAGCACGACT-3'	LepA: GTP-binding protein	1844	1416
CBU1519	5'-GAA GGATCC CGAACAATAACGCCAGAT-3' 5'-CGT CTCGAG TTCAAACAAGGCATCAAAG-3'	SecB: protein-export protein SecB	485	414
CBU1551	5'-GCA GGATCC ATGAAACAATGGGTTAAGATG-3' 5'-GCC CTCGAG TCGAATAAACTCCGCAAAT-3'	DPH: dinucleoside polyphosphate hydrolase	686	507
CBU1574	5'-AAT GGATCC TGGTCCTTTGTGGCTCACG-3' 5'-CTT CTCGAG TTTCGCATTGGCTTCCTCT-3'	TolQ protein	715	678
CBU1575	5'-GAC GAATTC AAGCGACCGTTAGCTGAA-3' 5'-CTT CTCGAG TTCGTAAGTCACCAAACCG-3'	TolR protein	443	402
CBU1609	5'-CGT GAATTC GGCTTGAGTCCTTATTGCTG-3' 5'-CTT CTCGAG CGCAGTACATCCATTAGGATCT-3'	Ank13: Ankyrin repeat domain protein	1451	1254
CBU1622	5'-GTA GAATTC AAGATGAAGTGCCTGGTGA-3' 5'-AAA CTCGAG AATCCTGAATAGCGGGTAA-3'	IcmB protein	3012	1779
CBU1622	5'-GGT GAATTC TAGATGAAGTGGCAGCAAG-3' 5'-ATA CTCGAG ACTGCATAATGCCGTGTTT-3'	IcmB protein	3012	744
CBU1623	5'-GTA GGATCC AACATTCAATTATCCGCTAG-3' 5'-GAA GTCGAC ATTCTCTAATCCATCCC-3'	IcmJ protein	636	595
CBU1624	5'-CAC GAATTC GGAGTTATCGGCGTATTAT-3' 5'-ATC CTCGAG ACCCACTTTAGCAATCGTA-3'	IcmD protein, putative	416	321
CBU1625	5'-CGA GAATTC GGTATCAATCCTTTCGTA-3' 5'-ATC CTCGAG AACCGACATTCCTAACACT-3'	IcmC protein, putative	509	498
CBU1626	5'-CGA GAATTC ATCGGCGACGATGAATACCA-3' 5'-ATT CTCGAG AGGCACCGGATCACCAACA-3'	IcmG protein, putative	735	618
CBU1627	5'-ACA GAATTC ACCAGCTTTGTGCCTACC-3' 5'-ATA CTCGAG CGAATAGCCAGCATCTTTT-3'	IcmE protein	3105	1512
CBU1627	5'-TTA GAATTC AAATGGCGGGTATTTACAGC-3' 5'-TTA CTCGAG ATCACGGTGGCATATTGTT-3'	IcmE protein	3105	1440

续附表 2

基因编号	引物对	基因编码蛋白质	基因长度(bp)	
			基因	扩增产物
CBU1628	5'-ATTGGATCCCGGTATTAGCGTTAGCC-3' 5'-GCAGTCGACACAACCTTCAATCATCAAC-3'	IcmK protein	1038	985
CBU1629	5'-GTCGGATCCACCAAGACAAGTGAAGGGTT-3' 5'-CACCTCGAGCCGAATTATCTACCGCATT-3'	IcmL1 protein	657	649
CBU1630	5'-TCAGGATCCGATGCCGAACAATTAGC-3' 5'-TAGGTCGACGAATACTCTTGGCAGCGTC-3'	IcmL2 protein	624	583
CBU1631	5'-TACGGATCCGTGTTCCAGTTACACCACC-3' 5'-CTAGTCGACCGTAAGGAACGTAAGTCCG-3'	OmpA family protein	519	499
CBU1632	5'-ATTGAATTCCTCCGTTTGCCGCAACAC-3' 5'-ATACTCGAGAGATTCACCCGCCGATTTC-3'	IcmO protein	2379	1308
CBU1632	5'-CATGAATTCGCAGACCCTAAACGAACTA-3' 5'-TTTCTCGAGCTTTAACGAGATAGCCTGAA-3'	IcmO protein	2379	609
CBU1633	5'-ATAGAATTCACGCAACGGATCAAACC-3' 5'-AGGCTCGAGTATGCCATCGCTCTTCTT-3'	IcmP protein	1164	1129
CBU1634	5'-CTAGGATCCGACTTGTCACACCTTCG-3' 5'-TCAGTCGACAGTTCGTCTCGCTTGTT-3'	IcmQ protein, putative	717	703
CBU1636	5'-GAGGAATTCCTTCGCTGTAGAGGATAATGG-3' 5'-ATACTCGAGCTCAGAAGGGTGGTAGTTATC-3'	Hypothetical protein	1176	978
CBU1638	5'-GTTGAATTCCTACCAGGGATGTCGTTTA-3' 5'-AATCTCGAGGGCAAAGCCTAGAAATAGC-3'	Hypothetical protein	1065	765
CBU1639	5'-GTTGAATTCATTGATGAACCCAAACCC-3' 5'-ATTCTCGAGAACGCCAAAGATACCTCC-3'	Hypothetical protein	1197	1086
CBU1640	5'-CACGAATTCGAGTGGGGTAAAGTGATCT-3' 5'-TTACTCGAGATACGTTTCTTGGCGTGTT-3'	IS1111A, transposase	1020	939
CBU1641	5'-ATTGAATTCGCCTTTCCTTTGCTCTTG-3' 5'-ATTCTCGAGGTTATCCCACCATGCTATG-3'	IcmT protein	257	180
CBU1642	5'-GTCGGATCCCTTGCGAATAAATTAA CGG-3' 5'-GAACTCGACGTTTCATCCAGCGAAACG-3'	IcmS protein	339	319
CBU1644	5'-GCAGGATCCACTATTGCTATTGCGACTTTC-3' 5'-TGTGTCGACGGTTCCAATGACTACTATCC-3'	DotC protein	825	769
CBU1645	5'-CACGGATCCAAATCGCAACGCTACCCTAA-3' 5'-TATCTCGAGCAGCCACTAAACGCCTCACC-3'	DotB protein	1119	1012
CBU1646	5'-TTTGGATCCCTTCAAGCCCGCTACAAAT-3' 5'-TATCTCGAGCATGACGCTCAACAACAGC-3'	transporter, putative	1335	1281
CBU1648	5'-CGTGAATTCGACTTGTCGGTGACCTATTT-3' 5'-AAACTCGAGGGAATGTTGTGATTGAGCG-3'	DotA protein, putative	2341	1266
CBU1648	5'-CATGAATTCGATAGACACTGCTAACCCCTCA-3' 5'-GATCTCGAGTCACTTGCTTGATGCTCTCC-3'	DotA protein, putative	2341	1074
CBU1649	5'-GACGAATTCAAATGCCAAAACCATCAGAA-3' 5'-CTTCTCGAGTTTAAATGTGCAACCCAGAC-3'	IcmV protein, putative	456	333
CBU1650	5'-CTAGGATCCCATAAAGCCGTCCATCAAT-3' 5'-GTAGTCGACATAAACCACTTCCTCAAGAG-3'	IcmW protein	450	433
CBU1651	5'-GGTGAATTCGAATTTATTAACCTGGTGTCC-3' 5'-ATTCTCGAGTGTTTGAGTGGAGGATGGT-3'	IcmX protein	458	306
CBU1652	5'-AAAGAATTCGATCCCATGAGCGGTGTTA-3' 5'-AATCTCGAGTAAGTCAGCAGCGGTATTCG-3'	hypothetical protein	1131	1023
CBU1669	5'-CCTGAATTCGACCACGGCCTGATCTTT-3' 5'-CATCTCGAGGACGCCTTCCATTTCCAA-3'	RpoS: RNA polymerase sigma factor	1058	912
CBU1706	5'-GCTGAATTCGCTGTTTATAGTAGGTCGC-3' 5'-CTTCTCGAGGCCTTCTTCCAGTTAGC-3'	AhpC1: antioxidant, AhpC/Tsa family	602	531
CBU1708	5'-TCCGAATTCACGCTCGAATATCACCAC-3' 5'-TGTCTCGAGTCCCAAACATCACAAGTC-3'	SodF: superoxide dismutase (Fe)	581	414

续附表 2

基因编号	引物对	基因编码蛋白质	基因长度(bp)	
			基因	扩增产物
CBU1738	5'-GCAG GAATTC GCCTTATCATGGAAAGACGT-3' 5'-GTT CTCGAG GGGAAATTGGTGACGGTT-3'	IHF- β : integration host factor, beta subunit	338	259
CBU1746	5'-GGC GAATTC TATCTCGTGGGCTATT-3' 5'-GAAG CTCGAC AAACGCTGCTGTTGCTG-3'	SSpB: stringent starvation protein B	416	340
CBU1747	5'-GGA GAATTC CATCAGGTTTCGCATTGTTT-3' 5'-CGT CTCGAG TTCGATTGAGACTCACTTA-3'	SSpA: stringent starvation protein A	539	552
CBU1757	5'-GGT GAATTC CTTACCGTGGTGACCCTGT-3' 5'-GTAC CTCGAG ACGCTCTTTAATGCTGCGACG-3''	Ank11: Ankyrin repeat domain protein	1835	1020
CBU1757	5'-GCC GAATTC TCACGTCGCAGCATTAAAG-3' 5'-CAT CTCGAG CACTTTGAATAGCCTGGGTG-3'	Ank11: Ankyrin repeat domain protein	1835	778
CBU1761	5'-GGAG GAATTC CAGGGTGGAAAGAATAATAAC-3' 5'-AAAC CTCGAG ACTGGCATAAGAAGGAGTG-3'	Regulator: sensory box sensor histidine kinase/response regulator, putative	1973	972
CBU1761	5'-GGT GAATTC TGTGCCGTTGATCTTGCC-3' 5'-CGA CTCGAG AAACCGCTTGAGTTCTTTTT-3'	Regulator: sensory box sensor histidine kinase/response regulator, putative	1973	654
CBU1811	5'-CCT GAATTC TATGGAACTTCGCCTTACC-3' 5'-AGA CTCGAG AATCCGCTGAGCCACTAA-3'	OmeP: outer membrane efflux family protein	1523	1383
CBU1822	5'-TGT GGATCC TTGGCGAATGCAGAAACG-3' 5'-TTG CTCGAG GCCCAGTCTTTCGGATG-3'	SodC: superoxide dismutase (Cu-Zn)	512	417
CBU1829	5'-CAC GAATTC AGCCTCAGGGTGCGTTATTG-3' 5'-AAA CTCGAG CACGGAGCCGACTGTTGTG-3'	LolB: outer membrane lipoprotein, putative	632	531
CBU1873	5'-GAC GAATTC ATGTTGGGCTTCATCTTG-3' 5'-GTC CTCGAG TTTATCAGGGTGGTGTTG-3'	Dna-J: Dna-J like membrane chaperone protein	816	675
CBU1891	5'-GCT GAATTC TTATCGCCCTTACCCAAGC-3' 5'-GTA CTCGAG ATGCCGAAATAATCCACCCA-3'	SecP: bacterial type II and III secretion system family protein	1049	843
CBU1903	5'-AGC GGATCC AACGAAACTTCAAAACCAA-3' 5'-TGC CTCGAG CTCCTTAAACAAAGCAGC-3'	FtsY: signal recognition particle-docking protein	974	930
CBU1904	5'-ACG GAATTC GAAATGGCATTCTTAACCG-3' 5'-CGA CTCGAG CACTAACCGCCCTTCTT-3'	FtsE: cell division ABC transporter, ATP-binding protein	653	564
CBU1905	5'-ACG GAATTC ATCGCTGTTATTGGAGTG-3' 5'-GGA CTCGAG ATAGTGGTAATTGTAAGTGGC-3'	FtsX: cell division protein, putative	827	702
CBU1910	5'-ATC GGATCC TTAGCCGGAACCTTGACC-3' 5'-GCC CTCGAG TAACGCTTTATTACCAATGACG-3'	Com1: outer membrane protein	758	657
CBU1920	5'-GGT GAATTC TGGCAGCGTGACTATCC-3' 5'-ATA CTCGAG CCACTGTTGCAGCGTCT-3'	Imp60: inner-membrane protein, 60 kDa	1701	1563
CBU1978	5'-CCC GAATTC ATTGTCGCCGATAAAGGAAC-3' 5'-GAT CTCGAG CCATGTCGAGCGATGTCAGG-3'	OstA: organic solvent tolerance protein	2612	985
CBU1978	5'-CTG GAATTC AGCGATTTCTGCCCTGAT-3' 5'-TTA CTCGAG CGTGTCGTACTGCCTTTG-3'	OstA: organic solvent tolerance protein	2612	984
CBU1983	5'-GCC GAATTC CCACGCAGTCAAGAAGTC-3' 5'-TCA CTCGAG ATGGGTGCCTACGACGA-3'	UspA: Universal stress protein A	434	300
CBU1987	5'-ATT GGATCC GGCGATGTTCAAGGGTGC-3' 5'-TGT CTCGAG GAGAGCGTGAGTATGTGGG-3'	ApaH: bis (5' -nucleosyl)-tetraphosphatase, symmetrical, stress-response regulatory metabolite	875	711
CBU2005	5'-GGC GAATTC TTATGCGTCATTATTGTGCG-3' 5'-TTT CTCGAG TCCTGGGCCATCGTCTTC-3'	Shk: sensor histidine kinase	1278	1014
CBU2006	5'-TGT GAATTC GATGACGACAGCGATATTC-3' 5'-GAC CTCGAG TCTTTGCTTTTCAACAAC-3'	Dbrr: DNA-binding response regulator	737	702
CBU2040	5'-GGA GAATTC ATTAGCGTCGTTGAACATC-3' 5'-TT CTCGAG TTTAAATCCACGATAGTCG-3'	HlyD: type I secretion membrane fusion protein, HlyD family	1328	1020
CBU2045	5'-CTT GGATCC GTCTGGACAGGCTCTACG-3' 5'-CCA CTCGAG GCAGGCTTGAGCTAGGTA-3'	Chitinase: domain protein	1781	960
CBU2045	5'-GTG GAATTC GGATTGGCGTCCCTGTTT-3' 5'-GTA CTCGAG ATTGGGTTGCCGATTGC-3'	Chitinase: domain protein	1781	708
CBU2066	5'-ACC GAATTC CTGCCGTAGCGATAACCG-3' 5'-AAA CTCGAG GCCAACGCCGATTGAAGA-3'	MemP: membrane protein, putative	823	747

a) 酶切位点: *Eco*R I , GAATTC; *Xho* I , CTCGAG; *Bam*H I , GGATCC; *Sal* I , GTCGAC

附表 3 Q 热患者血清分析芯片中每个蛋白质的平均荧光强度^{a)}

基因编号	蛋白质	急性 Q 热患者血清							Q 热患者血清			
		抗体阴性	早期	n=10	晚期	n=20	恢复期	n=7	慢性	n=9	康复期	n=14
CBU1718	HspB	12	1819	4	2367	17	1749	3	2698	6	276	5
CBU0447	Ank4	43	44	2	380	12	114	4	67	2	44	2
CBU1987	ApaH	52	84	2	265	10	157	2	99	2	23	1
CBU0884	BipA	181	132	0	473	9	295	3	104	0	154	2
CBU0201	Ank2	398	307	3	1410	9	1114	4	480	2	687	2
CBU0053	EnhA3	362	499	1	885	9	618	4	344	1	387	1
CBU1632	IcmO	97	56	0	261	9	213	4	124	1	114	3
CBU1320	IHF- α	132	108	2	412	8	290	4	133	0	130	2
CBU1519	SecB	188	205	2	942	8	221	0	220	0	224	2
CBU0366	PhoR	49	51	1	150	8	69	0	63	1	46	1
CBU1639	HP3	7	64	3	107	8	78	5	62	4	34	2
CBU0367	PhoB	68	66	1	151	8	147	4	72	1	80	1
CBU1829	Lo1B	47	40	1	114	8	135	4	48	1	60	1
CBU1477	AhpC2	7	68	2	887	7	211	1	111	2	41	0
CBU1122	EnhA1	70	58	0	177	7	122	3	76	0	37	0
CBU1476	OxyR	25	65	3	91	7	34	2	73	2	28	0
CBU1306	MsrA	84	96	3	189	7	211	5	85	0	75	1
CBU0147	SecA	66	55	0	152	7	122	3	68	1	80	2
CBU1746	SSpB	44	30	0	130	6	103	3	73	2	47	1
CBU1375	RelA	51	104	3	227	6	104	0	123	2	61	1
CBU1757	Ank11	94	62	1	198	6	156	1	76	0	68	0
CBU1706	AhpC1	41	81	2	181	6	122	3	150	2	88	2
CBU1978	OstA	29	77	2	89	6	89	4	60	3	49	1
CBU0335	AP-B	32	85	1	136	6	118	2	53	2	39	2
CBU1400	SdhB	138	136	1	820	6	1070	2	132	0	85	0
CBU0024	CsrA1	67	56	1	179	6	153	1	57	0	84	0
CBU0099	SixA	12	51	2	211	5	7	1	35	0	17	0
CBU1708	SodB	114	80	0	454	5	144	0	93	0	66	0
CBU1905	FtsX	11	23	0	138	5	32	1	20	0	8	0
CBU0056	TolC	42	34	0	124	5	101	3	51	0	49	1
CBU0356	Ank3	52	71	1	130	5	104	3	41	0	46	0
CBU1638	HP2	65	43	0	165	5	121	1	52	0	62	0
CBU1478	AhpD	27	54	1	112	5	61	1	48	2	27	0
CBU0147	SecA	127	166	1	343	4	117	0	107	0	140	1
CBU1551	DPH	47	33	0	110	4	118	3	65	1	62	1
CBU1137	EnhB	30	22	0	77	4	65	1	39	0	31	1
CBU1024	Ank6	8	31	3	68	4	4	1	38	1	13	0
CBU0789	Regulator	58	38	0	102	4	121	3	54	0	58	0
CBU2006	Regulator	50	37	0	80	4	104	2	45	0	52	0
CBU1642	IcmS	88	66	0	156	4	178	3	79	0	0	0
CBU1050	CsrA2	64	52	1	156	4	135	1	58	0	76	1
CBU0898	TTRDP	170	278	2	241	3	227	0	146	0	218	1
CBU2045	Chitinase	77	89	0	180	3	57	0	76	0	52	0
CBU0955	LuxR	123	82	1	505	3	59	0	63	0	61	0
CBU0780	LuxR	32	23	1	125	3	80	1	33	0	35	0
CBU0224	SecE	60	41	0	93	3	96	2	48	0	46	0
CBU1632	IcmO	14	66	3	102	3	6	0	62	1	64	1
CBU1891	TIIP	34	57	2	41	3	42	2	76	3	34	0
CBU1043	LuxR	64	44	1	105	3	135	4	56	0	69	1
CBU1636	HP1	74	34	0	116	3	110	0	47	0	87	1
CBU0738	ClpP	80	45	0	135	3	165	2	56	0	83	0

续附表 3

基因编号	蛋白质	急性 Q 热患者血清						Q 热患者血清				
		抗体阴性	早期	n=10	晚期	n=20	恢复期	n=7	慢性	n=9	康复期	n=14
CBU1761	Regulator	103	61	0	143	3	166	2	69	0	104	2
CBU0853	MgsA	221	270	1	390	2	259	0	191	0	280	2
CBU1190	LolA	149	185	0	228	2	180	0	144	0	95	0
CBU1738	IHFβ	96	173	1	187	2	23	0	99	0	92	1
CBU0936	OmpA	9	79	1	12	2	21	1	91	2	22	0
CBU0760	Regulator	110	67	0	166	2	214	1	114	0	125	2
CBU1275	RspA	35	32	0	75	2	74	1	47	0	40	0
CBU0145	Ank1	37	19	0	60	2	81	1	37	0	38	0
CBU0755	HtrA	60	33	1	79	2	94	0	55	1	61	1
CBU0673	hisB	32	17	0	55	2	64	1	31	0	35	0
CBU2040	HlyD	6	30	1	6	2	20	1	59	2	13	0
CBU1191	FtsK	81	62	0	107	2	133	2	67	0	0	0
CBU0712	GacA	420	520	2	472	1	449	0	268	0	383	1
CBU1669	RpoS	76	140	0	386	1	566	1	49	0	126	1
CBU0739	ClpX	41	61	1	44	1	67	1	56	1	121	3
CBU1983	UspA	42	39	0	54	1	-90	0	24	0	31	1
CBU0630	Mip	38	30	0	47	1	52	0	39	0	30	0
CBU1213	Ank7	26	36	1	28	1	31	1	54	1	27	1
CBU1623	IcmJ	200	69	0	342	1	363	0	200	0	249	1
CBU0117	FtsL	32	19	0	31	1	50	1	33	0	29	0
CBU1136	EnhC	55	32	0	88	1	107	1	58	0	76	1
CBU1747	SspA	36	16	0	58	1	89	2	35	0	43	0
CBU0884	BipA	41	21	0	62	1	70	0	52	0	43	0
CBU1125	Chitinase	46	29	0	63	1	88	0	41	0	57	1
CBU1624	IcmD	59	39	0	85	1	120	1	44	0	53	0
CBU0140	FtsA	43	11	0	50	1	45	0	22	0	37	0
CBU0355	Ank5	63	22	0	82	1	97	0	55	0	74	0
CBU1024	Ank6	84	29	0	125	1	133	0	88	0	106	1
CBU1200	Icd	39	35	0	44	1	28	0	28	0	26	0
CBU0281	KatE	199	223	1	191	0	206	0	160	0	237	1
CBU1910	Com1	199	421	1	193	0	344	1	416	2	172	1
CBU1822	SodC	123	225	1	67	0	44	0	47	0	109	1
CBU0307	OmpA	44	114	1	42	0	32	0	42	0	48	1
CBU1652	HP4	123	159	1	94	0	120	0	107	0	709	1
CBU1640	Trans	226	96	0	292	0	410	0	240	0	342	1
CBU1213	Ank7	60	67	1	90	0	89	0	12	0	13	0
CBU1761	Regulator	56	36	0	75	0	105	1	51	0	65	1
CBU0231	RpoB	114	111	1	20	0	54	0	38	0	41	0
CBU1628	IcmK	28	11	0	33	0	55	1	23	0	28	0
CBU0634	Regulator	31	18	0	40	0	57	1	37	0	37	1
CBU1904	FtsE	35	21	0	40	0	79	0	42	0	65	0
CBU1626	IcmG	49	66	1	45	0	87	1	32	0	33	0
CBU1505	LepA	24	15	0	30	0	63	1	35	0	34	0
CBU1651	IcmX	22	16	1	16	0	47	1	15	0	60	1
CBU0789	Regulator	57	31	0	28	0	45	0	89	1	23	0
CBU2045	Chitinase	89	42	0	56	0	42	0	35	0	1	0
CBU1873	Dna-J	46	25	0	51	0	83	0	51	0	64	1
CBU1630	IcmL2	402	98	0	639	0	758	0	349	0	510	1
CBU1084	Regulator	41	22	0	49	0	78	1	48	1	47	0
CBU0056	TolC	244	77	0	342	0	576	1	105	0	262	0
Average	FI	83	100		212		170		112		97	

a) HP, hypothetical protein (推定蛋白质)

附表 4 Q 热患者配对血清分析贝氏柯克斯体主要血清反应蛋白质

分组	患者 编号	血清对	每个蛋白质荧光强度							配对血清的 IFA 抗体滴度								相隔 天数
			CBU0053	CBU0201	CBU0447	CBU0884	CBU1632	CBU1718	CBU1987	II 相				I 相				
										IgA	IgM	IgG	Total	IgA	IgM	IgG	Total	
第一组	1	早期	194	172	59	78	117	134	58	<25	<25	<25	<25	<25	<25	<25	<25	19
		晚期	1163	5264	2739	1224	2324	25318	1905	200	>3200	>3200	>3200	25	>3200	800	>3200	
	2	早期	588	380	59	75	209	150	65	<25	<25	<25	<25	<25	<25	<25	<25	14
		晚期	1115	402	120	148	279	381	11	400	50	400	400	<25	>3200	<25	>3200	
	3	早期	416	528	40	48	198	5	6	<25	<25	<25	<25	<25	<25	<25	<25	14
		晚期	4095	369	81	178	266	476	110	<25	400	400	400	<25	200	<25	200	
	4	早期	493	380	32	71	205	6	7	<25	<25	<25	<25	<25	<25	<25	<25	5
		晚期	799	916	101	146	411	2958	35	<25	1600	<25	1600	<25	<25	<25	<25	
	5	早期	465	570	96	201	335	21	6	<25	<25	<25	<25	<25	<25	<25	<25	14
		晚期	716	1390	176	199	257	7446	965	25	>3200	>3200	>3200	<25	200	100	200	
	6	早期	88	107	2	13	25	5	9	<25	<25	<25	<25	<25	<25	<25	<25	22
		晚期	501	789	38	181	283	2	170	25	400	1600	1600	<25	400	200	400	
	7	早期	157	338	4	91	52	8	20	<25	<25	<25	<25	<25	<25	<25	<25	5
		晚期	211	541	19	101	227	3433	110	100	>3200	1600	>3200	<25	200	<25	200	
第二组	8	早期	441	176	40	78	238	109	14	100	200	<25	400	<25	<25	<25	<25	12
		晚期	978	4105	1329	627	1554	6500	793	50	>3200	>3200	>3200	<25	400	<25	400	
	9	早期	535	424	78	74	186	33	34	25	50	<25	50	<25	<25	<25	<25	17
		晚期	2454	3726	1380	493	976	1501	555	<25	>3200	>3200	>3200	<25	100	<25	100	
	10	早期	229	71	17	23	31	12	5	<25	50	100	100	<25	<25	<25	<25	6
		晚期	678	976	247	136	186	17054	92	50	800	>3200	>3200	<25	<25	<25	<25	
	11	早期	324	261	23	46	141	8	7	50	50	200	200	<25	<25	<25	<25	7
		晚期	1766	3127	212	267	463	1713	530	100	1600	1600	1600	<25	400	<25	400	
	12	早期	484	275	25	41	75	3	10	25	50	50	50	<25	<25	<25	<25	12
		晚期	748	2032	224	260	346	8284	168	400	>3200	>3200	>3200	<25	50	<25	50	
	13	早期	245	102	14	23	23	5	36	50	100	100	100	<25	<25	<25	<25	21
		晚期	387	284	50	79	77	61	140	200	>3200	>3200	>3200	<25	<25	<25	<25	
	14	早期	546	284	39	38	69	10723	168	400	>3200	>3200	>3200	<25	<25	<25	<25	11
		晚期	1876	883	161	133	308	15720	761	400	>3200	>3200	>3200	<25	200	200	200	