

O26:H11 及 NM 大肠埃希菌 CRISPR 的分子分布特征及其与 stx 噬菌体的关系

龙金照 徐亚珂 段广才 梁文娟 刘慧莹 陈帅印 郝园林 王鹏飞 王颖芳
450001 郑州大学公共卫生学院流行病与卫生统计学专业(龙金照、徐亚珂、段广才、梁文娟、刘慧莹、陈帅印、郝园林); 453003 新乡医学院分子诊断与医学检验技术河南省协同创新中心(段广才、梁文娟); 471023 洛阳, 河南科技大学附属医院(王鹏飞), 预防医学教研室(王颖芳)

通信作者:段广才, Email:gcduan@zzu.edu.cn

DOI: 10.3760/cma.j.issn.0254-6450.2017.07.019

【摘要】 目的 探讨 O26:H11 及 NM 血清型大肠埃希菌中成簇规律间隔短回文重复序列(CRISPR)的分子分布特征及其与 stx 噬菌体的关系。方法 135 株 O26:H11 及 NM 血清型大肠埃希菌从 NCBI 数据库获取, 利用 CRT 软件及 CRISPR Finder 提取 CRISPR 信息, 并用 Excel 软件对间隔序列进行编号及分析 CRISPR 亚型, 并分析 CRISPR 与 stx 噬菌体之间的关系。结果 135 株 O26:H11 及 NM 血清型大肠埃希菌中均存在 CRISPR 结构, CRISPR1 包括 19 个亚型, CRISPR 2.1 包括 22 个亚型, CRISPR2.2 包括 1 个亚型, CRISPR3-4 包括 1 个亚型。stx 噬菌体在 CRISPR 群组 C 中出现, stx⁺ 菌株比 stx⁻ 菌株拥有更多的间隔序列。结论 CRISPR 位点在 O26:H11 或 NM 血清型大肠埃希菌中广泛存在, 且存在着不同的亚型, stx 噬菌体与 CRISPR 的分子分布特征有关, 可能作为鉴定高毒菌株的分子靶标。

【关键词】 大肠埃希菌; 成簇规律间隔短回文重复序列; stx 噬菌体

基金项目: 国家科技重大专项(2013ZX10004607)

Association between phage-mediated shiga toxin and molecular distribution of CRISPR in *Escherichia coli* O26:H11 or NM Long Jinzhao, Xu Yake, Duan Guangcai, Liang Wenjuan, Liu Huiying, Chen Shuaiyin, Xi Yuanlin, Wang Pengfei, Wang Yingfang

Department of Epidemiology, College of Public Health, Zhengzhou University, Zhengzhou 450001, China (Long JZ, Xu YK, Duan GC, Liang WJ, Liu HY, Chen SY, Xi YL); Henan Innovation Center of Molecular Diagnosis and Laboratory Medicine, Xinxiang Medical University, Xinxiang 453003, China (Duan GC, Liang WJ); University Health Service, Henan University of Science and Technology, Luoyang 471023, China (Wang PF); Department of Preventive Medicine, Henan University of Science and Technology, Luoyang 471023, China (Wang YF)

Corresponding author: Duan Guangcai, Email: gcduan@zzu.edu.cn

【Abstract】 Objective To investigate the association between phage-mediated shiga toxin and molecular distribution of CRISPR in *Escherichia (E.) coli* O26:H11 or NM. **Methods** A total of 135 *E. coli* O26:H11 or NM strains were collected from NCBI database. Software CRT and CRISPR Finder were used to extract CRISPR and Excel was used to assign the spacer of unique number and type CRISPR. And the relationship between CRISPR and stx phage was analyzed. **Results** All the 135 *E. coli* O26:H11 or NM strains had the CRISPR. For CRISPR1, CRISPR2.1, CRISPR2.2 and CRISPR3-4, 19, 22, 1 and 1 subtypes were found, respectively. According to the four CRISPR sites, the strains could be divided into 40 subtypes. Stx-phage was only observed in the group C of CRISPR. Compared with *E. coli* of stx-phage negative, *E. coli* with stx-phage harbored more spacers. **Conclusions** CRISPR loci was extensively existed in *E. coli* O26:H11 or NM, and many subtypes were found in these strains. The presence of stx-phage was related to the molecular distribution of CRISPR in *E. coli* O26:H11 or NM. CRISPR might be a valuable biomarker to identify strains with high virulent potential.

【Key words】 *Escherichia coli*; Clustered regularly interspaced short palindromic repeat; Stx phage

Fund program: National Science and Technology Major Project of China (2013ZX10004607)

成簇规律间隔短回文重复序列 (Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeat, CRISPR) 是一类在原核生物中发现的能够抵御外来遗传物质入侵的一种特殊结构, 由正向重复序列 (Direct Repeats, DR) 和插入其中的间隔序列 (Spacer) 构成^[1]。间隔序列作为核心元件, 具有高度多态性, 可反映外来遗传物质的入侵过程, 这种特征使其成为监测新发高毒高致病性病原菌的有效分子靶标^[2]。O26 : H11 或 NM 血清型是产志贺毒素大肠埃希菌中一种非常重要的血清型, 可引起水样腹泻、溶血性尿毒症、出血型结肠炎等疾病^[3]。河南省于2005年从1名腹泻患者中分离到1株不产志贺毒素但产超广谱β内酰胺酶的O26血清型大肠埃希菌^[4]。本研究对O26 : H11 或 NM 血清型大肠埃希菌中CRISPR的分子分布进行分析。

资料与方法

1. 数据来源: O26 : H11 及 NM 血清型大肠埃希菌的全基因组序列及鸟枪法测序序列从NCBI获取。

2. 生物信息学工具及方法: 利用 Serotype Finder (<https://cge.cbs.dtu.dk/services/SerotypeFinder/>) 在线工具对 O26 : H11 及 NM 血清型大肠埃希菌进行筛选, 再用 Virulence Finder (<https://cge.cbs.dtu.dk/services/VirulenceFinder/>) 获取菌株的毒力信息, 并用 IS Finder (<https://www-is.biotoul.fr/>) 在线工具确认插入序列。CRISPR 位点信息通过 CRT 软件或者分析 CRISPR 位点上下游序列的保守性获得, 并用 CRISPR Finder 软件进行确认。

间隔序列的同源性搜索使用 CRISPR Target (<http://nhjy.hzau.edu.cn/kech/swxxx/jakj/dianzi/Bioinf4/miRNA/miRNA1.html>)。重复序列的二级结构预测使用 RNA fold (<http://nhjy.hzau.edu.cn/kech/swxxx/jakj/dianzi/Bioinf4/miRNA/miRNA1.htm>)。利用 Excel 表对间隔序列进行图谱绘制及 CRISPR 分型。

3. 统计学检验: 用 SPSS 21.0 软件进行统计学分

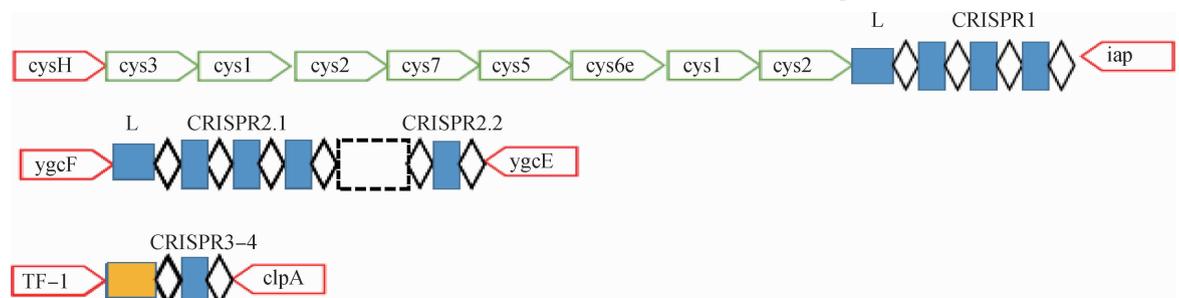
析、Mann-Whitney 进行两样本总体分布的比较, 检验水准 $\alpha=0.05$ 。

结 果

1. O26 : H11 或 NM 血清型大肠埃希菌 CRISPR 位点的分布: 从 NCBI 数据库共筛选出 135 株血清型为 O26 : H11 或 NM 的大肠埃希菌, 共识别出 4 种 CRISPR 位点, 为 I-E CRISPR/Cas 系统, 具体位置见图 1。根据 CRISPR 位点在基因组中的位置, 将其分别命名为 CRISPR1、CRISPR2.1、CRISPR2.2、CRISPR3-4, 4 种 CRISPR 位点的阳性率均为 100%。其中 CRISPR1 位点中间隔序列数目为 3~11 个, CRISPR2.1 位点中间隔序列数为 5~12 个, CRISPR2.2 中间隔序列数为 1 个, CRISPR3-4 中间隔序列数为 1 个, 其中 CRISPR1、CRISPR2.1、CRISPR2.2 中重复序列均为 29 bp, 间隔序列均为 32 bp, CRISPR3-4 中重复序列为 28 bp, 间隔序列为 32 bp。

2. 重复序列: CRISPR1 位点中共识别出 3 种重复序列, 分别命名为 1-A、1-B、1-C。CRISPR2.1 中识别出 5 种重复序列, 分别命名为 2.1-A、2.1-B、2.1-C、2.1-D、2.1-E、2.1-F。CRISPR2.2 中识别出 2 种重复序列, 分别命名为 2.2-A、2.2-B。CRISPR3-4 中识别出 2 种重复序列, 分别命名为 3-4-A、3-4-B。其中 CRISPR1 中的重复序列 1-A 与 CRISPR2.1 中的重复序列 2.1-A 拥有完全一致的序列, 而其他重复序列与这两种重复序列均存在不同程度的碱基差异(表 1)。CRISPR1 中的重复序列与 CRISPR2.1 中的重复序列除 1-C 外, 其余的均能形成稳定的 RNA 二级结构, 其最小自由能 (Minimum Free Energy, MFE) 均小于 -15 kcal/mol (图 2)。

3. 间隔序列: O26 : H11 或 NM 血清型大肠埃希菌 CRISPR1 位点中共识别出 10 个间隔序列, CRISPR2.1 位点中识别出 14 个间隔序列和 1 个插入序列 (Insertion Sequence, IS), CRISPR2.2 中共识别



注: L 代表前导序列

图 1 O26 : H11 或 NM 血清型大肠埃希菌 CRISPR 位点

表1 O26:H11或NM血清型大肠埃希菌CRISPR位点重复序列序列

名称	序列	长度(bp)	位置	频数
1-A	GTGTTCCCGCGCCAGCGGGATAAACCG	29	CRISPR1	858
1-B	GTGTTCCCGCGTCAGCGGGATAAACCG	29	CRISPR1	135
1-C	GAATTCCCGCCCCTGCGGTAGAACTCCC	29	CRISPR1	135
2.1-A	GTGTTCCCGCGCCAGCGGGATAAACCG	29	CRISPR2.1	749
2.1-B	GTGTTCCCGCGCCAGCGGGATAAACTG	29	CRISPR2.1	18
2.1-C	GAGCTCCCGCGCCAGCGGGATAAACCG	29	CRISPR2.1	264
2.1-D	GAGTTCCCGCGCCAGCGGGATAAACCG	29	CRISPR2.1	135
2.1-E	GAGCTCCCGCGCCAGCGGGATAAACCA	29	CRISPR2.1	135
2.1-F	GAGTTCCCGCGCCAGCGGGATAAACCA	29	CRISPR2.1	2
2.2-A	ATGTTCCCTGCATCAGCGGGATAAACCG	29	CRISPR2.2	135
2.2-B	ATGTTCCCGCGTCAGCGGGATAACCAT	29	CRISPR2.2	135
3-4-A	GTTCACTGCCGTACAGGCAGCTTAGAAA	28	CRISPR3-4-A	135
3-4-B	GTTCACTGCCGTACAGACAGATAAAATG	28	CRISPR3-4-B	135

出1个间隔序列,CRISPR3-4中只存在1个间隔序列,未发现独特的间隔序列,同时对间隔序列进行同源性搜索,未发现外源同源性序列(表2)。

4. O26:H11或NM血清型大肠埃希菌CRISPR中间隔序列的亚型分析:根据CRISPR中间隔序列的排列情况,CRISPR1位点包括19个亚型,CRISPR2.1位点包括22个亚型,CRISPR2.2包括1个亚型,CRISPR3-4包括1个亚型。因CRISPR2.2与CRISPR3-4均只包括一个亚型,且其在所有菌株中都存在,故不作分析,仅分析CRISPR1与CRISPR2.1中的间隔序列。若将CRISPR1与CRISPR2.1的亚型结果结合起来,可将135株大肠埃希菌分为40个亚型,其中以亚型ST-9菌株数目最多,为32株,其次是亚型ST-22,为18株,亚型ST-20为16株,其余亚型菌株数目均小于10株(图3)。

在CRISPR2.1位点处出现一个IS序列,经IS Finder在线工具中的BLAST功能比对,结果显示其

为ISEc17,属于IS3家族。IS序列只出现在ST-20、ST-37、ST-40这3个CRISPR亚型中,并且这3个亚型CRISPR1中离前导序列最远的4个间隔序列完全一致,CRISPR2.1也是如此,见图3。

根据CRISPR2.1中间隔序列的排布方式,将菌株进一步分为3个群组,A组中含有插入序列,B组至少含有S2.1-9、S2.1-10、S2.1-11这3个间隔序列中的一个,C组中不含插入序列也不含有B组所描述的3个间

隔序列中的任何一个,由S2.1-1~S2.1-8、S2.1-12~S2.1-14这11个间隔序列所构成。

5. O26:H11或NM血清型大肠埃希菌CRISPR群组与stx噬菌体的关系:根据stx噬菌体在O26:H11或NM血清型大肠埃希菌中的存在情况可将其分为2个亚组:第1亚组包含3种类型(亚型1:stx1⁺、stx2⁺;亚型2:stx1⁺、stx2⁻;亚型3:stx1⁻、stx2⁺),均为stx⁺菌株;第2亚组为stx1⁻、stx2⁻,为stx⁻菌株。135株大肠埃希菌中,83株为stx⁺菌株,52株为stx⁻菌株。A组共18株,均为stx⁻菌株,B组共16株,也均为stx⁻菌株,而C组中共101株细菌,仅有11株为stx⁺菌株,其余90株均为stx⁺菌株。stx⁺菌株只在CRISPR群组C组中出现,在A组及B组中并未出现stx⁺菌株,均为stx⁻菌株,见图3。

6. 在CRISPR群组C组中stx噬菌体与间隔序列数目的关系:经统计学检验,stx⁺菌株与stx⁻菌株相比,在CRISPR1、CRISPR2.1、CRISPR1+CRISPR2.1

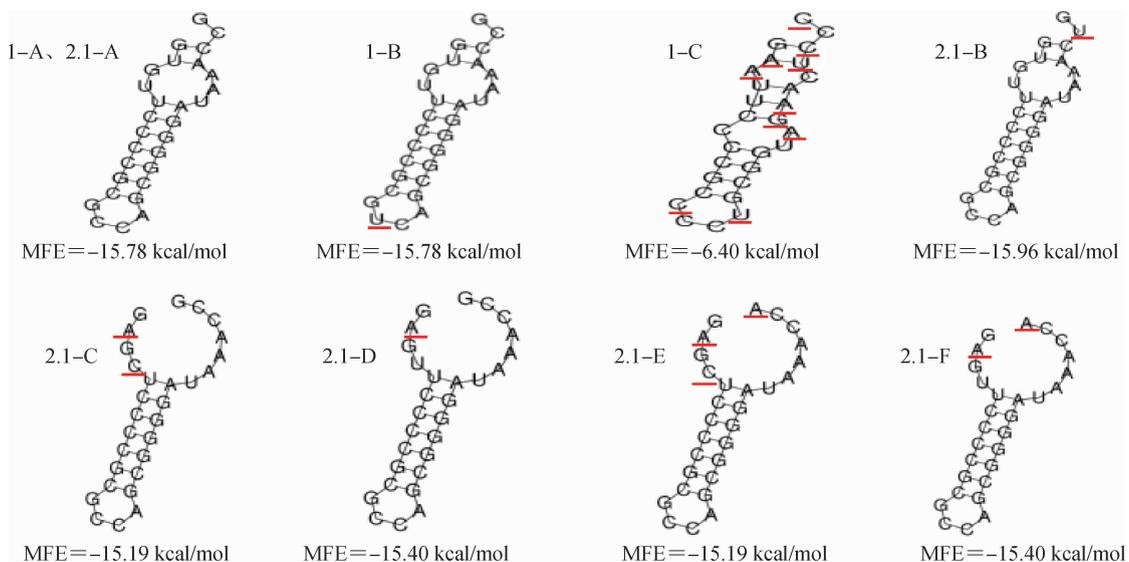


图2 O26:H11或NM血清型大肠埃希菌CRISPR1及CRISPR2.1位点重复序列的二级结构预测

表2 O26 : H11 或 NM 血清型大肠埃希菌 CRISPR 位点间隔序列信息

名称	序列	长度(bp)	位置	频数
S1-1	GGCGCACTGGATGCGATGATGGATACCTTA	32	CRISPR1	135
S1-2	CGGCTATGGAATTTATGGAGAAGTTTGGTTTT	32	CRISPR1	135
S1-3	TCGCTATTGCCGGTAGTGTGCTGATAGACTC	32	CRISPR1	118
S1-4	ATCAGGTAATCGAGACACCTGTCAGCACTCTC	32	CRISPR1	113
S1-5	CGACATAAAAACGTCCGGAGGCGCGTACTACC	32	CRISPR1	96
S1-6	GAAACTGAATCATCATTGATTACCCGCGAAGA	32	CRISPR1	100
S1-7	CCGAGGCCGAGAACGCCGTGATATTGCGTTC	32	CRISPR1	94
S1-8	CCCCGCACACGTAAGGCGTCGGCATGGATGC	32	CRISPR1	5
S1-9	GTCCATGGCCTGACGAAGCTCGTAATATTTTG	32	CRISPR1	63
S1-10	GAAAACGACAGGTTCACTTACCCGGCCCGAC	32	CRISPR1	134
S2.1-1	GAGCCCGCCGCCGAAGCCGTTTCCGATGTT	32	CRISPR2.1	135
S2.1-2	GAGCCTGACGAGACTACTGAGGCCGTTCTGTC	32	CRISPR2.1	134
S2.1-3	TTCTTGCGGGTGTGCAAATATTCTTACGTA	32	CRISPR2.1	132
S2.1-4	TAAGCCGTCGCCGATCAGCCTGGCTATGCC	32	CRISPR2.1	131
S2.1-5	AAAAACAGTGGTACTACCCGCCCGCGAACA	32	CRISPR2.1	46
S2.1-6	GCGAGGGGACGCCGTTGCGCTGCATGTTGAT	32	CRISPR2.1	46
S2.1-7	CCAGTGGAGCCGCCGAATTTACACAGGATT	32	CRISPR2.1	111
S2.1-8	TGGTACGGAACATGCTGTCTATATTTGACCA	32	CRISPR2.1	107
S2.1-9	ATTACGGAGCTGGGAATGACTCCAGCAAAT	32	CRISPR2.1	12
S2.1-10	GACCGTAACACTGGTAAACCTTTATCCGGGGT	32	CRISPR2.1	16
S2.1-11	CCGCTAATGCGCTATCTCATGGAAGGTTGGA	32	CRISPR2.1	15
S2.1-12	CAAGTCTGCCGCGAGTGGTTTACCCGGCAG	32	CRISPR2.1	93
S2.1-13	ATCTCTCATCTCCAGCTACCGACAGTAGT	32	CRISPR2.1	89
S2.1-14	GATATTTGGGCGTAATACCGCCGGATAGTGT	32	CRISPR2.1	80
S2.2-1	GACTTGTATCAITTTTTAAGTTGTGCAACTT	32	CRISPR2.2	135
S3-4-1	GCGTTCGCAAAGGTTTACC GCACCCCGT CGA	32	CRISPR3-4	135

位点上间隔序列数目的分布上差异均有统计学意义(均 $P < 0.05$), stx^+ 菌株比 stx^- 菌株拥有更多的间隔序列(表3)。

讨 论

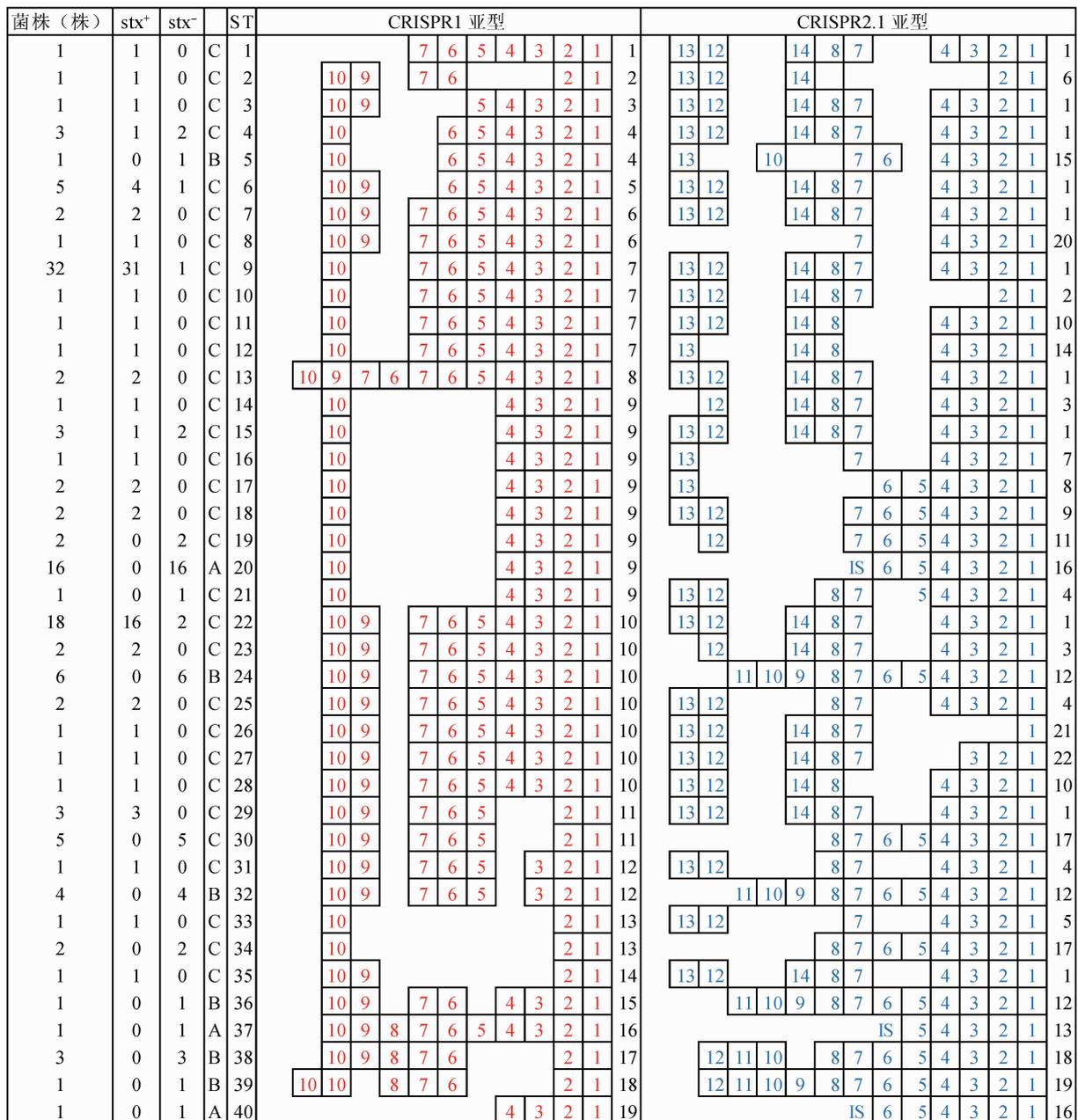
CRISPR/Cas 系统广泛存在于古生菌和细菌中^[5], 大肠埃希菌已被研究确认存在4个CRISPR位点, 其中CRISPR1、CRISPR2及其临近的Cas基因构成I-E型CRISPR/Cas系统, CRISPR3、CRISPR4及其临近的Cas基因共同构成I-F型CRISPR/Cas系统^[6]。本研究通过生物信息学的方法发现, 存在于O26 : H11或NM血清型中的大肠埃希菌为I-E型CRISPR/Cas系统, 其存在4个CRISPR位点, CRISPR1、CRISPR2.1、CRISPR2.2、CRISPR3-4阳性率均为100%。根据间隔序列的排布方式, 可获得多个CRISPR亚型, CRISPR1由10个间隔序列组成, CRISPR2.1中由一个插入序列和14个间隔序列组成, 但并未发现独特的间隔序列, 提示O26 : H11或NM血清型大肠埃希菌虽然在CRISPR位点上存在着多样性, 但其在间隔序列的获取上仍然具有一定的相似性和保守性。

CRISPR/Cas 系统中的间隔序列靶向外源遗传物质, 在原核生物中发挥着免疫防御及免疫记忆功

能, 记录了细菌在进化过程中的外来遗传物质入侵过程^[7], 在一定程度上可反映菌株间的进化关系, 也可作为鉴定和判断强毒株的潜在分子靶标^[8]。Delannoy等^[9]基于CRISPR2.1位点建立了一种qPCR方法, 用于特异性检测O26 : H11、O45 : H2、O103 : H2、O111 : H8、O121 : H19、O145 : H28等肠出血性大肠埃希菌。梁文娟等^[10]基于CRISPR1及CRISPR2.1位点建立了一种能够特异性检测O157 : H7的PCR方法, 其特异度分别可达到100.0%及99.6%。Yin等^[11]基于CRISPR位点建立了一种从O55 : H7进化到O157 : H7的模型, 揭示了O55 : H7与O157 : H7之间的进化关系。本研究收集了NCBI数据库中O26 : H11或NM血清型的大肠埃希菌, 发现产志贺毒素大肠埃希菌只在CRISPR群组C组中出现, CRISPR群组A组与B组中的大肠

埃希菌均为 stx^- 型。分析原因可能在于O26 : H11或NM血清型大肠埃希菌在进化过程中, stx 噬菌体与CRISPR群组C组中细菌相互作用时, 其为温和性噬菌体, 可发生溶源现象, stx 噬菌体可整合到细菌基因组中, 而与CRISPR群组A组及B组中细菌相互作用时, 其为烈性噬菌体, 不能整合到细菌基因组中, 而是使细菌发生裂解。但CRISPR群组C组中仍有18株细菌未检测到 stx 噬菌体的存在, 原因可能在于其在进化过程中未遭遇过 stx 噬菌体的入侵或者曾经入侵过但在进化过程中丢失了 stx 噬菌体, 但仍保留着获取 stx 噬菌体的能力。进而进化成高毒的新发高致病性病原菌的潜能, CRISPR群组C组的大肠埃希菌应该作为公共卫生监测的重点对象。

间隔序列作为外源遗传物质入侵后所遗留的产物, 其数目多少可间接反映细菌在进化过程中遭遇可移动元件入侵的情况^[12]。 stx^+ 菌株比 stx^- 菌株拥有更多的间隔序列, 提示产志贺毒素的O26 : H11或NM血清型大肠埃希菌在进化过程中接受了更多可移动元件的入侵及整合过程。但进行间隔序列同源性搜索时, 并未获得同源的外源遗传物质, 可能在于现有发现及认知的质粒或噬菌体的局限性及本研究样本量的限制。



注:红色数字1~10分别代表CRISPR1中的间隔序列S1~S1-10;蓝色数字1~14分别代表CRISPR2.1中的间隔序列S2.1-1~S2.1-14;间隔序列从右至左前导序列越来越近

图3 O26:H11或NM血清型大肠埃希菌CRISPR1及CRISPR2.1的分子分布特征

表3 O26:H11或NM血清型大肠埃希菌CRISPR群组C组中stx噬菌体与间隔序列数目的关系

菌株	菌株数	间隔序列个数		
		CRISPR1	CRISPR2.1	CRISPR1+CRISPR2.1
stx ⁺	83	8(8~9)	9(9~9)	17(16~17)
stx ⁻	18	7(5~7)	8(8~9)	15(13~16)
U值/P值	-	332.500/<0.001	525.000/0.011	368.000/<0.001

注:括号外数据为M,括号内数据为上下四分位数

利益冲突 无

参 考 文 献

[1] Díez-Villaseñor C, Almendros C, García-Martínez J, et al.

Diversity of CRISPR loci in *Escherichia coli* [J]. Microbiology, 2010, 156(5):1351-1361. DOI:10.1099/mic.0.036046-0.

[2] Touchon M, Rocha EPC. The small, slow and specialized CRISPR and anti-CRISPR of *Escherichia* and *Salmonella* [J]. PLoS One, 2010, 5(6): e11126. DOI: 10.1371/journal.pone.0011126.

[3] Jiang Y, Yin S, Dudley EG, et al. Diversity of CRISPR loci and virulence genes in pathogenic *Escherichia coli* isolates from various sources[J]. Int J Food Microbiol, 2015, 204:41-46. DOI: 10.1016/j.ijfoodmicro.2015.03.025.

[4] 张濛, 廖兴广, 张锦, 等. 河南省首次从人体内分离出 *E. coli* O26:H11 [J]. 中国人兽共患病学报, 2005, 21(2): 108-109,

104. DOI: 10.3969/j.issn.1002-2694.2005.02.004.
 Zhang M, Liao XG, Zhang J, et al. Isolation of *E. coli* O26 : H11 from human body for the first time in Henan province[J]. Chin J Zoon, 2005, 21 (2) : 108-109, 104. DOI: 10.3969/j.issn.1002-2694.2005.02.004.

[5] Sorek R, Kunin V, Hugenholtz P. CRISPR-a widespread system that provides acquired resistance against phages in bacteria and archaea [J]. Nat Rev Microbiol, 2008, 6 (3) : 181-186. DOI: 10.1038/nrmicro1793.

[6] Touchon M, Charpentier S, Clermont O, et al. CRISPR distribution within the *Escherichia coli* species is not suggestive of immunity-associated diversifying selection [J]. J Bacteriol, 2011, 193(10):2460-2467. DOI:10.1128/JB.01307-10.

[7] 薛泽润, 王颖芳, 段广才, 等. 志贺菌中成簇规律间隔短回文重复序列的分子分布特征[J]. 中华流行病学杂志, 2015, 36(8): 875-878. DOI:10.3760/cma.j.issn.0254-6450.2015.08.023.
 Xue ZR, Wang YF, Duan GC, et al. Molecular characteristics of clustered regularly interspaced short palindromic repeat in *Shigella* [J]. Chin J Epidemiol, 2015, 36 (8) : 875-878. DOI: 10.3760/cma.j.issn.0254-6450.2015.08.023.

[8] 梁文娟, 张荣光, 段广才, 等. 基于CRISPR/Cas的大肠埃希菌分子标志物的监测研究[J]. 中华流行病学杂志, 2016, 37(8): 1080-1086. DOI: 10.3760/cma.j.issn.0254-6450.2016.08.005.
 Liang WJ, Zhang RG, Duan GC, et al. A Surveillance study on CRISPR/C molecular biomarker in *Escherichia coli* [J]. Chin J Epidemiol, 2016, 37 (8) : 1080-1086. DOI: 10.3760/cma.j.issn.0254-6450.2016.08.005.

[9] Delannoy S, Beutin L, Fach P. Use of clustered regularly interspaced short palindromic repeat sequence polymorphisms for specific detection of enterohemorrhagic *Escherichia coli* strains of serotypes O26 : H11, O45 : H2, O103 : H2, O111 : H8, O121 : H19, O145 : H28, and O157 : H7 by real-time PCR[J]. J Clin Microbiol, 2012, 50 (12) : 4035-4040. DOI: 10.1128/JCM.02097-12.

[10] 梁文娟, 张荣光, 段广才, 等. 基于CRISPR对大肠埃希菌O157:H7的检测[J]. 西安交通大学学报: 医学版, 2016, 37(5): 748-753. DOI:10.7652/jdyxb201605027.
 Liang WJ, Zhang RG, Duan GC, et al. Detection of *Escherichia coli* O157 : H7 based on CRISPR locus [J]. J Xi'an Jiaotong Univ, 2016, 37(5):748-753. DOI: 10.7652/jdyxb201605027.

[11] Yin S, Jensen MA, Bai JW, et al. The evolutionary divergence of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* is reflected in clustered regularly interspaced short palindromic repeat (CRISPR) spacer composition [J]. Appl Environ Microbiol, 2013, 79 (18) : 5710-5720. DOI:10.1128/AEM.00950-13.

[12] Almendros C, Mojica FJM, Diez-Villaseñor C, et al. CRISPR-Cas Functional module exchange in *Escherichia coli* [J]. mBio, 2014, 5(1):e00767-13. DOI: 10.1128/mBio.00767-13.

(收稿日期:2016-12-21)

(本文编辑:万玉立)

中华预防医学会流行病学分会第七届委员会名单

(按姓氏笔画排序)



主任委员	李立明(北京)					
副主任委员	刘天锡(宁夏)	杨维中(北京)	吴凡(上海)	何耀(北京)	汪华(江苏)	胡永华(北京)
	姜庆五(上海)	詹思延(北京)				
常务委员	王岚(北京)	叶冬青(安徽)	余宏杰(北京)	汪宁(北京)	沈洪兵(江苏)	陆林(云南)
	陈坤(浙江)	周晓农(上海)	赵根明(上海)	段广才(河南)	贺雄(北京)	唐金陵(中国香港)
	曹务春(北京)	崔莹林(北京)				
委员	于雅琴(吉林)	么鸿雁(北京)	王岚(北京)	王蓓(江苏)	王开利(黑龙江)	王文瑞(内蒙古)
	王定明(贵州)	王素萍(山西)	王效俊(新疆)	仇小强(广西)	叶冬青(安徽)	冯子健(北京)
	毕振强(山东)	吕筠(北京)	庄贵华(陕西)	刘天锡(宁夏)	刘殿武(河北)	闫永平(陕西)
	许汴利(河南)	严延生(福建)	杜建伟(海南)	李丽(宁夏)	李琦(河北)	李凡卡(新疆)
	李申龙(北京)	李立明(北京)	李亚斐(重庆)	李俊华(湖南)	李增德(北京)	杨维中(北京)
	吴凡(上海)	吴先萍(四川)	邱洪斌(黑龙江)	何耀(北京)	何剑峰(广东)	余宏杰(北京)
	汪宁(北京)	汪华(江苏)	沈洪兵(江苏)	张晋(湖北)	张颖(天津)	陆林(云南)
	陈坤(浙江)	陈可欣(天津)	陈维清(广东)	岳建宁(青海)	周宝森(辽宁)	周晓农(上海)
	单广良(北京)	孟蕾(甘肃)	项永兵(上海)	赵亚双(黑龙江)	赵根明(上海)	胡东生(广东)
	胡代玉(重庆)	胡永华(北京)	胡志斌(江苏)	胡国良(江西)	段广才(河南)	俞敏(浙江)
	施榕(上海)	施国庆(北京)	姜晶(吉林)	姜庆五(上海)	贺雄(北京)	贾崇奇(山东)
	夏洪波(黑龙江)	栾荣生(四川)	唐金陵(中国香港)	曹广文(上海)	曹务春(北京)	崔莹林(北京)
	董柏青(广西)	程锦泉(广东)	詹思延(北京)	蔡琳(福建)	戴江红(新疆)	魏文强(北京)
秘书长	王岚(北京)					
副秘书长	吕筠(北京)					