



专论与综述

热胁迫下沙门菌细胞结构和特性变化研究进展

马嘉琦¹ 盛焕精¹ 曹晨阳¹ 崔生辉² 闫韶飞³ 杨保伟^{*1}

1 西北农林科技大学食品科学与工程学院 陕西 杨凌 712100

2 中国食品药品检定研究院 北京 102629

3 国家食品安全风险评估中心 北京 100022

摘要: 沙门菌(*Salmonella*)是一种非常重要的食源性致病菌。由于食品基质的保护作用,有些沙门菌可以抵抗热胁迫而存活下来。存活细胞往往因为热胁迫或应激而导致细胞结构、生理特性、基因及蛋白表达发生变化,并会进一步对食品原料和加工环境造成持续污染。本文主要综述沙门菌在热胁迫前后细胞形态、菌体组分、细胞壁和细胞膜结构等方面的变化,结合基因和蛋白表达改变,探讨沙门菌在热胁迫下引起的热休克反应、抗逆性和致病性分子机制。

关键词: 沙门菌, 热胁迫, 细胞结构, 耐热响应, 分子机制

Changes of cell structure and characteristics of *Salmonella* under heat stress: a review

MA Jiaqi¹ SHENG Huanjing¹ CAO Chenyang¹ CUI Shenghui² YAN Shaofei³
YANG Baowei^{*1}

1 College of Food Science and Engineering, Northwest A&F University, Yangling, Shaanxi 712100, China

2 National Institutes for Food and Drug Control, Beijing 102629, China

3 China National Center for Food Safety Risk Assessment, Beijing 100022, China

Abstract: *Salmonella* is one of the most important foodborne pathogens. Due to food matrix protection, some *Salmonella* can survive from heat stress. However, the bacterial cell structure, physiological characteristics, gene and protein expression commonly varied because of heat stress and/or cell response, and subsequently, these survived cells can continuously contaminate the raw food materials and processing environment. In this paper, the changes of cell morphology, cell components, cell wall and cell membrane structure of *Salmonella* before and after heat stress were summarized. Meanwhile, the molecular mechanism of DNA damage, heat shock response, stress resistance and pathogenicity caused by the survived *Salmonella* under heat stress was discussed based on gene and protein expression.

Keywords: *Salmonella*, heat stress, cell structure, heat resistance response, molecular mechanism

Foundation item: National Key Research and Development Program of China (2017YFC1601400)

***Corresponding author:** E-mail: ybw090925@163.com

Received: 22-06-2020; **Accepted:** 31-08-2020; **Published online:** 25-09-2020

基金项目: 国家重点研发计划(2017YFC1601400)

***通信作者:** E-mail: ybw090925@163.com

收稿日期: 2020-06-22; **接受日期:** 2020-08-31; **网络首发日期:** 2020-09-25

沙门菌(*Salmonella*)是一类多数有菌毛、无荚膜、无芽孢的革兰氏阴性杆菌,可寄生于人和动物肠道,是一种常见的食源性致病菌^[1]。沙门菌在家禽、家畜、鸡蛋、乳制品及农产品中均可检出,目前已检出的沙门菌血清型超过 2 610 种^[2]。人感染沙门菌后会出现发热、腹泻等症状,甚至胃肠炎、败血症等严重疾病^[3]。根据 2015 年中国食源性疾病暴发检测数据显示,沙门菌当年引起 2 494 例发病,占微生物类致病因子所致发病总人数的 31.7%^[4]。前期的研究表明,沙门菌广泛存在于我国大部分省市的各类食品原料和加工食品,如鸡肉、猪肉、牛肉、即食凉拌菜、卤肉、饺子、加工的鱼肉、沙拉、冰淇淋、鸡蛋等,而且在部分食品中的污染量非常大^[5-9]。由于沙门菌引起的食品安全和公共卫生问题不断威胁着人类健康,因此,食品加工过程中需要进一步强化杀菌方式、预防和控制沙门菌。

热处理是食品工业中最常用的灭菌方法,可以杀灭细菌、真菌、病毒等绝大多数微生物,在食品加工领域备受重视^[10]。然而,热处理施加的热胁迫不一定能将食品或食品原料内部、加工设备和管道内表面以及环境中的致病菌全部杀死,处理后部分致病菌会处于亚致死状态^[11]。亚致死状态的致病菌往往不能使用常规方法检出,它们会在适宜的环境条件下恢复到正常状态,从而引发二次或持续污染,给食品安全带来严重隐患^[12]。

目前,虽有一些研究报道了热胁迫下沙门菌细胞结构和特性的变化,但这些研究相对孤立,尚无文献将热胁迫下沙门菌形态、特性变化和热胁迫相关基因、蛋白及其调节网络的研究有机整合,在一定程度上影响了研究者对热胁迫下沙门菌特性改变的全面认识。本文综述热胁迫下沙门菌细胞结构和特性变化相关研究进展,以期为更好地建立高效栅栏控制技术、有效去除食品中的致病菌提供指导。

1 热胁迫引起的沙门菌亚致死损伤

研究表明,沙门菌经受热胁迫后会出现 3 种生

理状态不同的细胞:无损伤状态、亚致死损伤状态和死亡态细胞;亚致死损伤通常被认为是物理、化学胁迫程度较轻或营养条件不够,不足以杀死细菌而导致的损伤^[11]。亚致死损伤主要包括对细胞各种功能成分的代谢和对细胞壁或细胞膜的通透性、完整性造成影响的结构损伤。亚致死损伤细胞在营养丰富的非选择性培养基上可以实现生存恢复,但在选择性培养基上则无法形成可见的微生物菌落^[13]。

目前的研究普遍认为,细胞膜是致病菌亚致死损伤的关键部位。汪月霞等^[14]在 37 °C 条件下,将沙门菌在营养肉汤培养基中振荡培养至对数后期,取 1 mL 培养物,以 30 °C 为对照,在 42 °C 和 60 °C 处理 10 min 后,用 10 µg/mL 的氮溴化乙锭(Ethidium Monoazide, EMA)避光染色 5 min,再用 600 W 卤灯照射 1 min,EMA 可以选择性地进入膜完整性受损的细胞,与胞内 DNA 结合,抑制随后进行的 Real-Time PCR 扩增反应;结果显示 42 °C 和 60 °C 热胁迫处理后,EMA-Real-Time PCR 与普通 Real-Time PCR 的定量检测结果差值较大,表明沙门菌的细胞膜完整性遭到破坏。与此同时,亚致死损伤也可导致沙门菌的蛋白质、酶和核酸等功能性细胞成分变性,使得沙门菌无法正常生长繁殖^[12]。

亚致死损伤状态沙门菌在食源性致病菌检测中意义重大。由于亚致死损伤的可逆性,受损沙门菌细胞的修复往往会发生在生长繁殖之前,随着其细胞内磷脂和核酸的合成,细胞内物质即会逐渐恢复到正常状态^[15]。亚致死性损伤沙门菌的存在会对食品安全构成潜在威胁,常规手段检测中可能会出现假阴性结果。同时,在热失活模型中,由于不计算损伤细胞的数量,可能会错误地评估热杀菌技术的杀菌效果,对食品安全构成潜在威胁^[12]。

2 热胁迫下沙门菌细胞结构变化

高温环境下,沙门菌往往会改变自身的细胞形态来抵御外界胁迫,同时调节细胞内部组分维持细胞生长,以此来保证自身的存活。

2.1 热胁迫下沙门菌细胞形态变化

当沙门菌暴露于高温或低温、高或低 pH、高或低水分活度(Water Activity, AW)等胁迫环境时, 细胞即会异化成丝状、片状和球状等形态, 各种形态的细胞形成比例因菌株、血清型和环境条件不同而异。研究表明, 热胁迫过程沙门菌会产生细胞分裂抑制剂, 促进丝状细胞的形成以抵抗外界不良胁迫^[16], 其多形性的形成是不利条件下生存的重要手段^[16-17]。

Stackhouse 等^[18]发现在 45 °C 和 55 °C 温度条件下, 沙门菌均可形成丝状细胞。Lensmire 等^[19]发现胁迫条件下形成的丝状细胞有规则的类核间隔, 光学显微镜下没有可见的凹痕, 认为胁迫损伤与细胞分裂相关的早期阻滞编码基因 *fts* 有关; 丝状沙门菌的形成虽然对生存有利, 但往往导致平板计数法活细胞计数结果偏低; 在适宜条件下, 丝状沙门菌活性恢复后可以分裂成多个子细胞, 导致致病菌数量高于预期结果。沙门菌这一特性提示食品从业者和食品安全监管部门一定要选择合适的方法对包括沙门菌在内的亚致死食源性致病菌进行检测, 提高检测精度, 防止低估食物中食源性致病菌污染量的问题, 避免食品安全事件暴发^[20]。

2.2 热胁迫下沙门菌细胞壁和细胞膜变化

细胞壁和细胞膜是保护和维持沙门菌细胞稳定性的重要组成部分。在外界胁迫环境下, 细胞膜是被损伤的主要靶点, 在沙门菌对胁迫的抵抗中发挥着巨大的作用^[21-22]。

热胁迫对革兰氏阴性菌细胞壁的损伤会导致脂多糖大量损失, 维持脂多糖稳定性所需的二价阳离子和可能破坏细胞膜通透性的周质酶也会释放^[21]。与此同时, 当沙门菌受到高温损伤和胁迫时, 细胞膜流动性降低, 会进一步增强其对潜在致死高温的抵抗力^[23]。Wang 等^[24]将鼠伤寒沙门菌置于不同温度条件下进行培养, 发现随着培养温度升高, 其细胞内膜脂肪酸的组成不断变化, 不饱和脂肪酸(Unsaturated Fatty Acid, UFA)与饱和

脂肪酸的比值(Saturated Fatty Acid, SFA)不断减小, 环丙烷脂肪酸(Cyclopropane Fatty Acid, CFA)含量增大。在 10 °C 培养的指数期和稳定期细胞中, UFA/SFA 比值分别为 0.98 和 0.82; 而在 45 °C 培养的指数期和稳定期细胞中 UFA/SFA 比值则分别为 0.36 和 0.12; UFA/SFA 比值可以作为衡量膜流动性的指标, 比值越大, 细胞膜流动性越强, 表明较高温度培养会导致沙门菌细胞膜流动性下降^[24]。Yun 等^[25]使用拉曼光谱法检测了温度对细胞膜流动性的影响, 结果与 Wang 等^[24]所得结果相似, 即随着培养温度升高, C-C 键的有序度和膜-脂链横向堆积顺序增加, 导致膜流动性下降。因此, 随着热胁迫或培养温度增加, 沙门菌的细胞膜流动性不断降低, 其渗透控制能力也会逐渐丧失^[22]。

热胁迫后沙门菌细胞壁和细胞膜损伤、完整性破坏以及流动性改变是细胞失活的重要过渡状态, 对其深入研究可为非热杀菌技术的发展奠定基础。脉冲电场杀菌是一种新兴且高效的非热杀菌技术, 即使包括沙门菌在内的致病菌细胞膜流动性和脂肪酸组成改变对脉冲电场杀菌效率有着较大影响, 但该技术仍可在食品加工过程迅速灭活微生物, 避免额外的食品营养因子和功能成分损失^[26]。与此同时, 基于热胁迫会导致沙门菌细胞壁和细胞膜保护作用下降这一事实, 也可在食品加工过程加入乳酸链球菌素(Nisin)等杀菌物质, 在确保杀菌效率的同时, 可以更加温和地处理食品, 保证食品的安全性和原有风味。随着对热胁迫后沙门菌细胞膜和细胞壁变化的不断研究, 食品非热杀菌的技术也会得到飞速的发展与完善。

2.3 热胁迫下沙门菌菌体组分变化

高温处理或热胁迫可导致沙门菌菌体组分发生变化, 部分蛋白质、酶或核酸变性, 脂肪酸含量改变^[21]。同时, 也会产生一些新的蛋白质和酶, 以此来抵抗外界的高温胁迫^[27]。

Kobayashi 等^[28]将沙门菌在 55 °C 加热胁迫 15 min 后, 发现约 150 个蛋白质斑点被分解, 7 种蛋白质的相对含量发生了变化; 该 7 种蛋白质中,

4种在热胁迫后特异性增加,2种减少,1种在沙门菌恢复过程下降。Balamurugan等^[29]将沙门菌分别放置在8、25、37、42℃条件下培养66h、255min、145min和135min后检测细胞内各种蛋白质的数量,发现在较高生长温度下,氨基酸转运和代谢、核苷酸代谢、能量代谢和翻译后修饰(伴侣)等功能组的蛋白质数量大幅增加,其表达量在37℃时达到最大,在42℃时减少;而与细胞被膜的形成、能量代谢、蛋白质合成、辅助因子生物合成、功能调节、信号转导和转运等功能基团相关的蛋白质数量在8℃时最多,随着环境温度的不断升高其数量则不断降低。

热胁迫可导致沙门菌胞内酶失活,阳离子、糖和氨基酸主动转运中断。细胞中的脱氢酶对热特别敏感,参与DNA修复的糖基化酶和限制性内切酶在40–50℃不稳定^[21],当热胁迫发生时,沙门菌细胞内葡萄糖转运中断^[30],过氧化氢酶和超氧化物歧化酶失活,进而导致细胞对H₂O₂和超氧化物的敏感性增加,产生羟基自由基,伤害细胞^[16,31]。热胁迫过程沙门菌还会产生大量热应激蛋白,为了防止应激蛋白的过量积累对细胞造成伤害,其细胞会产生一种特异性蛋白酶FtsH将应激蛋白水解^[29]。

研究表明,rRNA是细菌热死亡的靶点之一,在较高温度下,rRNA更容易降解为小分子;沙门菌热应激细胞中,30S核糖体亚基也会在16S rRNA被破坏的过程中受损;由于Mg²⁺是保证核糖体完整性和抑制核糖核酸酶的必需物质,因此核糖体的损伤在很大程度上也是因为热胁迫导致Mg²⁺丢失而产生的协同作用结果^[21]。

沙门菌细胞质和外部环境之间的边界是主要由脂类和蛋白质组成的细胞质膜,其调节着细胞内外营养物质和代谢产物的流动,从而保证细胞质环境稳定。当沙门菌暴露在热胁迫等不利环境条件时,为了保持膜的完整性和功能性,膜脂的成分则会发生变化,而该变化又会影响到细胞膜

的流动性。当然,该变化也是革兰氏阴性菌对生长和环境温度升高最为常见的应激反应。但是,这一变化中十八烯酸与棕榈油酸的相对比例在脂肪酸不饱和度降低过程仍不清楚。有研究认为,在包括沙门菌在内的革兰氏阴性菌中,棕榈油酸的减少发生在低生长温度范围(0–20℃),而十八烯酸的减少则发生在较高生长温度范围(20–40℃),并且随着环境温度升高,脂肪酸环化程度与饱和脂肪酸的含量也会增加^[29,32–33]。目前,CFA对细菌膜性能的贡献还不完全清楚,但有人假设:膜内存在环丙烷会提高生物膜结构和动态性能的稳定性,并限制酰基链的整体流动性和无序性,从而降低膜的流动性、减少细胞氧化损伤,依此发挥其对致死性应激暴露的保护作用^[33]。

虽然目前对热胁迫后沙门菌菌体组分变化的认识较为深入,但对高温处理下一些新蛋白质和新酶的生成、膜脂肪酸含量变化的认识仍有待提高。目前,已有研究基于沙门菌可通过改变其细胞膜脂肪酸组成而耐热这一理论,先将沙门菌暴露于冷应力,使其耐热性降低;由于温度降低导致UFA与SFA比值增加,膜流动性降低,冷适应细胞的热敏感性增加,因此可以提高热胁迫的杀菌效率,保障食品安全^[23]。

3 热胁迫下沙门菌抗逆性变化

食品加工过程中沙门菌常受到多种胁迫因子的协同作用,掌握热胁迫条件下沙门菌对其他因子胁迫的交叉抗性意义重大。

3.1 温度抗性变化

Fong等^[34]将鼠伤寒、肠炎和田纳西等5种血清型的沙门菌在45℃条件下处理3min后,测定其在70℃下的耐热性,发现在70℃下的存活率显著增加。Yang等^[32]将肠炎沙门菌在37℃培养18h后连续2次传代培养,再将培养物分别在10、25、37和42℃下培养,结果表明,随着生长温度增加,菌株的热敏感性降低。Álvarez-Ordóñez等^[35]研究表明,当培养温度从10℃提高到45℃时,

鼠伤寒沙门菌的耐热性逐渐增加。1987 年 Mackey 和 Derrick 在复原奶粉的加工过程中观察到, 如果直接在 60 °C 的条件下加工处理 30 min 后, 奶粉中汤普森沙门菌的数量减少了 10^7 lg(CFU/mL), 但当奶粉在 60 °C 加工处理前暴露在 48 °C 条件下 30 min 时, 发现汤普森沙门菌的数量仅减少了 2.4 lg(CFU/mL)^[36]。这些研究结果均显示, 热胁迫后沙门菌对高温环境的抗性得以增强。

与此同时, 热胁迫还可增强沙门菌对低温冷冻环境的抗性。翟立公等^[37]发现, 将经 55 °C 热胁迫后的沙门菌与对照菌冷冻 2 d 后, 对照菌株存活率(68.9%)比热胁迫菌株(89.7%)下降 23.8%, 下降幅度明显; 当冷冻时间延长到 13 d 和 22 d 时, 热胁迫菌株的存活率始终高于对照菌株。

3.2 抗生素抗性变化

前期研究表明, 源于各类食品的沙门菌对抗生素的耐药性非常严重^[5-9]。除沙门菌细胞内抗生素靶标编码基因突变、膜通透性改变、外排泵异常表达和质粒基因编码水解抗生素的酶外, 生物膜是沙门菌热胁迫后产生耐药性的另一重要原因^[38-41]。Nguyen 等^[42]研究发现, 在 28–38 °C 范围内, 附着于 SS 生物胶片上的鼠伤寒沙门菌生物膜形成率随温度升高而增加。低盐含量(<4%)、14–38 °C 温度条件下, 肠炎沙门菌的生物膜形成率随温度的升高而增加; 然而, 鼠伤寒沙门菌的生物膜形成率则随温度的升高而减少, 表明同一物种不同血清型的菌株对温度胁迫有着完全不同的生物膜形成行为^[35]。生物膜形成后, 可将沙门菌细胞包被于中间, 在细胞外部形成一道分子和电荷屏障, 阻止或延缓某些抗生素的渗入, 导致沙门菌耐药性增强^[43]。许诺等^[43]研究发现, 抗生素对形成生物膜沙门菌的最小抑菌浓度(Minimum Inhibitory Concentration, MIC)值比未形成生物膜沙门菌的 MIC 值高很多, 例如庆大霉素、环丙沙星、阿米卡星对未形成生物膜沙门菌的 MIC 为 0.625–5、0.625–5 和 0.312 5–10 µg/mL, 对形成生物膜沙门菌的 MIC 为 10–1 280、

20–1 280 和 40–1 280 µg/mL。然而, 如果热胁迫温度较高, 沙门菌形成的生物膜则会被高温破坏, 从而使其耐药水平降低^[44]。

3.3 酸、碱耐受性变化

目前, 有关温度胁迫处理对细菌耐酸反应(Acid Tolerance Response, ATR)的研究较少。Keerthirathne 等^[45]将稳定期的鼠伤寒沙门菌在不同温度处理后发现, 与 37 °C 相比, 10 °C 处理的菌株 ATR 显著下降。除此之外, 田牧雨等通过实验也得到了相似的结果, 即 37 °C 处理后鼠伤寒沙门菌的 ATR 明显高于 10 °C 处理后的菌株^[46]。研究表明, 相对于 25、37 和 45 °C, 10 °C 处理可降低鼠伤寒沙门菌的 ATR, 冷藏条件下鼠伤寒沙门菌 ATR 完全缺乏^[47]。由此可见, 低温可在一定程度上抑制沙门菌的 ATR, 而高温处理则有利于 ATR 增强。另有研究表明, 较高温度下生长的细胞中, SFA 和 CFA 含量增加, UFA 的含量减少, 导致沙门菌细胞膜流动性降低, 耐酸性增加^[32]。但是, 高温对沙门菌耐酸性的影响也仅仅局限于特定的温度范围, 在 10、25、37 和 42 °C, 培养时间相同的肠炎沙门菌中, 37 °C 培养的沙门菌对 pH 2.0 的模拟胃液的耐性最强, 培养温度高于或低于 37 °C 则会增加沙门菌对模拟胃液酸度的敏感性, 10 °C 条件下沙门菌对酸液最为敏感^[32]。

与热胁迫后沙门菌对酸的耐受性提高不同, 沙门菌热胁迫后对碱性环境则变得较为敏感, 抗性降低。经 55 °C 处理后, 在 pH 10.0 的条件下, 沙门菌的存活率(86.2%)显著低于未处理菌株(91.02%); 当 pH 12.0 时, 对照菌株的存活率为 33.8%, 而热胁迫菌株的存活率则降低至 0%, 耐碱性显著下降^[37]。

食品在加工过程中, 不同胁迫条件的复合作用有助于提高食源性致病菌的抵抗能力, 降低杀菌效果^[48]。食品种类丰富、pH 范围广泛, 明确和掌握热胁迫后沙门菌的酸碱耐受性变化, 将有助于为食品加工中选择合适的灭菌技术提供理论指导。

3.4 毒力变化

已有研究表明，温度、渗透压、营养有效性、pH 值和氧张力等胁迫条件均会改变沙门菌毒力因子编码基因的表达。当沙门菌暴露于胁迫环境时，很多毒力因子都会参与对环境胁迫的适应性反应，导致沙门菌致病能力发生变化^[3,48]。2007 年，美国一家食品加工企业因为其密苏里州工厂生产加工罐装馅饼的温度未达到杀菌标准，导致沙门菌因适应胁迫而残留，最终导致 30 个州发生 139 例沙门菌引起的严重食物中毒事件，不得不停止密苏里食品工厂的生产^[49]。

SPI-2 的 III 型分泌系统(Type III Secretion System, TTSS)是协助沙门菌 *sifA* 表达、介导菌株在宿主细胞内形成富含溶酶体的细丝和进入宿主细胞所必需的^[49]。热胁迫可引起 SPI-2 中 *ssaJ*、*ssaP*、*sseA* 和 *sseB* 等毒力基因的表达，促使沙门菌黏附能力增强，提高致病性^[50-51]。Sirsat 等^[49]发现，沙门菌在 42 °C 处理 30 min 后，对 Caco-2 细胞的黏附率从 6.3%增加到 11.7%，这主要是热胁迫导致 *ssaP*、*sseA* 和 *sseB* 等与黏附相关基因上调的结果。黏附能力增强也与沙门菌菌毛编码基因 *stbA*、*safC* 和 *safD* 表达量增加有关。与热胁迫导致沙门菌黏附性增加不同，SPI-1 中的 *invA*、*invB*、*invG*、*invC*、*prgH* 和 *prgK* 等基因的活性和表达则在热胁迫中被抑制，导致沙门菌的侵袭能力降低。Yang 等^[32]将肠炎沙门菌分别在 10、25、37 和 42 °C 条件下培养，以 37 °C 培养物作为对照组考察毒力相关基因(*spvR*、*hilA*、*sefA* 和 *avrA*)的

表达水平，研究表明除 *sefA* 外其他基因表达均随温度升高而上调。在 42 °C 培养物中，*spvR*、*hilA* 和 *avrA* 的转录水平分别上调了 6.4、5.0 和 2.6 倍，其表达水平的增加意味着沙门菌的致病能力有可能增强。

由于热胁迫应激会导致沙门菌毒力相关基因表达增加，从食品安全角度来讲这是一种潜在的风险和隐患。

4 热胁迫下沙门菌相关基因的转录和蛋白合成变化

为了抵抗高温处理和胁迫，沙门菌细胞内的热应激基因和毒力基因表达通常会上调，抗逆性增强，以保证细胞的稳定。与此同时，毒力基因的表达水平增加将会使沙门菌毒性更强，严重危害食品安全和消费者健康。

4.1 相关基因转录的变化

当沙门菌遭受热胁迫时，极端温度会严重影响蛋白质合成，导致未折叠或折叠不当的蛋白质积累，使其正常作用无从发挥。为了维持细胞的正常生长，这些不完整蛋白质往往会被降解，或者被折叠到正确的位置以恢复活性。在这些蛋白质活性恢复过程中，分子伴侣起着至关重要的作用。许多分子伴侣本身就是热休克蛋白(Heat Shock Protein, HSP)，其可以在高温或其他细胞压力下正确表达并具有正常的生理活性，同时保证细胞内蛋白质的正确折叠和多肽组装^[50]。表 1 总结了部分参与热休克反应的相关基因及其功能。研

表 1 热休克反应的相关基因及其功能

Table 1 Genes related to heat shock response and their functions

基因 Gene	功能 Function	参考文献 References
σ^H and σ^E	调节器热冲击响应；控制外壳应力对热冲击、酸应力的响应 Regulators heat shock response; controls envelope stress response to heat shock, acid stress	[36,49-50]
<i>dnaK</i>	热休克下 DNA 复制；伴侣蛋白 DNA replication under heat shock; chaperone protein	[36,50,52-53]
<i>dnaJ</i>	防止变性蛋白质在高渗和热休克下聚集 Prevents aggregation of denatured proteins under hyperosmotic and heat shock	[36,50,52-53]
<i>htrA</i>	热传感器肽链内切酶；在外膜和降解错误折叠的蛋白质伴侣 Thermosensor endopeptidase; chaperone in the outer membrane and degrades misfolded proteins	[50,54]

究发现, 热休克相关基因诱导形成 HSP 的主要功能包括保护、重新折叠回收的蛋白质、去除受损的蛋白质和修复、降解聚集的蛋白质^[50]。

当沙门菌受到热胁迫影响时, 胞内的 Sigma 因子开始表达启动基因的适应性调控。Sigma 因子通常可以分为由热休克调节的细胞质热应激反应 Sigma 因子(σ^H)和由胞外功能调节的胞外热应激反应 Sigma 因子(σ^E), σ^E 也称为极端热应激 Sigma 因子。Sigma 因子包含一组表达蛋白质的基因, 这些蛋白具有与 RNA 聚合酶全酶复合物相关的关键机制, 其作用是指导核心 RNA 聚合酶识别其启动子并启动转录^[50]。

热休克反应时间一般较短, 由 σ^E 与 σ^H 编码构成的 *rpoS*、*rpoE* 和 *rpoH* 基因及其他应激因子在热胁迫后表达水平往往上调, 该 3 个基因在 48 °C 的表达水平比 42 °C 略有增加^[49]。*rpoH* 的转录水平被认为与温度变化基本无关, 而在翻译水平上则受到温度调控^[50]。当环境温度处于沙门菌生长的最佳温度范围时, *rpoH* 基因翻译受阻; 但当环境温度持续升高(42 °C)时, *rpoH* 的 mRNA 二级结构的茎 III 和茎 I 被释放, 促进核糖体结合, 提高翻译效率^[50]。Yang 等^[32]将肠炎沙门菌分别在 10、25、37 和 42 °C 条件下培养, 以 37 °C 培养的沙门菌作为对照组, 探究温度与 *rpoS* 和 *rpoH* 的关系。结果表明, 较高(42 °C)和较低(10、25 °C)培养温度对 *rpoS* 和 *rpoH* 影响不同, 较低的培养温度会诱导 *rpoS* 转录, 在 10 °C 和 25 °C 培养的细胞 *rpoS* 转录水平比对照组高 16.5 倍和 14.4 倍, 而在 42 °C 培养的细胞 *rpoS* 转录水平比对照组低 2.7 倍。42 °C 培养的细胞中 *rpoH* 的转录水平最高, 约比对照组

高 2.9 倍, 较低温度下培养的细胞中 *rpoH* 的转录水平则没有上调。

Sirsat 等^[36]利用微阵列转录组学研究热胁迫后沙门菌热休克相关基因和毒力基因的表达情况, 表明 *dnaK* 和 *dnaJ* 均参与了错误折叠和蛋白质结合过程, 最终调控 σ^H (由 *rpoH* 编码)指导热休克蛋白的转录^[52-53]。热胁迫中形成的 DnaK-DnaJ 复合物被认为还可提高沙门菌在巨噬细胞中的存活率^[52-53]。*htrA* 基因是许多微生物中高度保守的基因, 受 σ^E 调控^[50]。Gaafar 等^[54]研究了沙门菌在 37、42、47、50 和 55 °C 这 5 种不同温度下 *htrA* 基因的表达, 结果发现当沙门菌在 37–47 °C 时 *htrA* 基因的表达水平不断升高, 而在 47–55 °C 时 *htrA* 基因的表达水平不断降低。

4.2 相关蛋白质合成的变化

按照组成蛋白的氨基酸序列、结构、功能及分子质量的不同, HSP 可被分为小热休克蛋白(sHSP)、HSP40、HSP60、HSP70、HSP90 和 HSP110 这 6 个家族, 不同生物的 HSP 及其编码基因在生物进化过程中具有高度保守性^[55]。表 2 总结了近年来研究比较多的 HSP 的功能。

sHSP 是一个丰富的分子伴侣家族, 其在蛋白质折叠和胁迫的条件下对蛋白质聚集起着重要作用。Osman 等^[56]发现当沙门菌受到热胁迫时, 细胞内的 sHSP 在 2 min 内就可以被检测到。这些 sHSP 是防止不可逆聚集和协助变性蛋白质复性的分子伴侣家族之一, 并且 sHSP 会在生长后期消失, 其活性不能修复热损伤细胞, 而只能在生长过程中以增加耐热性的方式改变细胞结构^[57]。

表 2 热休克反应的相关蛋白质及其功能

Table 2 Heat shock related proteins and their functions

蛋白质 Protein	功能 Function	参考文献 References
sHSP	防止蛋白质的聚集与错误折叠蛋白质的沉积 Prevent protein aggregation and misfolded protein deposition	[55-56]
HSP60	蛋白质折叠及运输 Protein folding and transportation	[57-58]
HSP70	蛋白质的生成与消亡 The formation and death of proteins	[54,59-60]
HSP90	维持细胞正常的基本代谢 Maintain the normal basic metabolism of cells	[56]

HSP60 是生物体在高温诱导下合成的蛋白质,也是生物体对外界环境刺激的一种反应,目前已有研究证实其参与了机体的热应激反应^[58]。当沙门菌受到热胁迫时,可以通过上调 HSP60 基因的表达量,识别并结合错位折叠和聚合的多肽,使引起部分错误折叠的多肽展开,从而使细胞可以保持正常的生理活动^[59]。

HSP70 为分布最广、含量最丰富、各种胁迫反应中最敏感的 1 族蛋白质,也是目前研究最深入的一类热休克蛋白^[60]。当沙门菌受到热胁迫时,HSP70 合成增加,与变性蛋白或异常蛋白相结合,降解变性蛋白,减少产生不溶性聚集物的风险,使沙门菌在热胁迫环境中加快正常蛋白质合成,补充因高温导致蛋白质变性所造成的蛋白质损失,赋予沙门菌一定程度的热耐受力^[55,61]。

HSP90 是一类在真核细胞的细胞质中表达量最丰富的蛋白质之一,在细胞的基本代谢活动中具有重要的作用。研究发现,当沙门菌的存活受到威胁时,HSP90 的表达量也会显著提高,从而防止蛋白质的不可逆聚集,提高沙门菌对胁迫的耐受性^[55]。

随着自然环境的不断变化,微生物已经进化出错综复杂的调控网络,热休克相关基因和蛋白是调控网络中不可缺少的一部分,他们的表达使得微生物能够抵抗外界高温,保证微生物可在一定程度的热胁迫中存活下来,对需要经过热胁迫或热杀菌的食品加工来说,绝对是一个潜在威胁。进一步加强对热休克相关基因和蛋白的表达及其调控机制的研究,可以更好地改良食品热杀菌技术,提高杀菌效率。

5 结语

目前,热处理仍然是食品加工中最常见、最有效的灭菌方法之一。微生物随着对生存环境和热胁迫的不断适应,已经进化出相应的调控机制来应对环境胁迫。热胁迫条件下,沙门菌细胞结构会发生变化以提高对温度的抵抗力和存活率,

同时还会干扰食品中传统沙门菌检测结果的准确性,因此应该重视食品生产过程中亚致死沙门氏菌的检测,研究发展琼脂衬层法、流式细胞计量术、膜过滤和疏水性网格膜过滤法等新型亚致死致病菌检测技术,保证检测亚致死致病菌数量的准确性。细胞内热休克调控机制可增加毒力和应激基因的转录表达,增强沙门菌对高温、低温和酸等不同胁迫条件的抗性及其对宿主的毒性,成为潜在的危害性更强的食品安全和公共卫生安全隐患。禽畜在养殖过程中受到热应激时不仅会降低禽畜的生产性能,还会引起感染的沙门菌致病性增强,给养殖动物健康造成影响。由于沙门菌广泛存在于各类食品原料、食品生产和加工环境,深入了解热胁迫后沙门菌细胞结构和特性变化,不仅可以为选择有效的食品热加工条件和保藏技术提供理论指导,还对发展脉冲电场杀菌技术等新型非热杀菌技术有一定的推动作用,在更有效地实现食品杀菌的同时,减少食品杀菌过程中因高温导致的营养损伤,保障食品的安全与营养。

REFERENCES

- [1] Zhu Q, Lu BX, Qin YQ, Fan QY. Research progress on biological *Salmonella enteric*[J]. Journal of Diseases Monitor & Control, 2015(7): 474-478 (in Chinese)
朱奇, 陆斌兴, 覃有泉, 樊秋云. 沙门氏菌生物学研究进展[J]. 疾病监测与控制, 2015(7): 474-478
- [2] Mezal EH, Sabol A, Khan MA, Ali N, Stefanova R, Khan AA. Isolation and molecular characterization of *Salmonella enterica* serovar Enteritidis from poultry house and clinical samples during 2010[J]. Food Microbiology, 2014, 38: 67-74
- [3] Andino A, Hanning I. *Salmonella enterica*: survival, colonization, and virulence differences among serovars[J]. The Scientific World Journal, 2015, 2015: 520179
- [4] Fu P, Wang LS, Chen J, Bai GD, Xu LZ, Wang S, Guo YC. Analysis of foodborne disease outbreaks in China mainland in 2015[J]. Chinese Journal of Food Hygiene, 2019, 31(1): 64-70 (in Chinese)
付萍, 王连森, 陈江, 白光大, 徐粒子, 王帅, 郭云昌. 2015 年中国大陆食源性疾病暴发事件监测资料分析[J]. 中国食品卫生杂志, 2019, 31(1): 64-70
- [5] Wang JW, Sheng HJ, Xu WL, Huang JL, Meng LY, Cao CY, Zeng J, Meng JH, Yang BW. Diversity of serotype,

- genotype, and antibiotic susceptibility of *Salmonella* prevalent in pickled ready-to-eat meat[J]. *Frontiers in Microbiology*, 2019, 10: 2577
- [6] Wang Y, Cao CY, Walid QA, Cui SH, Li FQ, Zhu JH, Wang X, Meng JH, Yang BW. Distribution and antimicrobial susceptibility of foodborne *Salmonella* serovars in eight provinces in China from 2007 to 2012 (except 2009)[J]. *Foodborne Pathogens and Disease*, 2017, 14(7): 393-399
- [7] Wang Y, Yang BW, Wu Y, Zhang ZF, Meng XF, Xi ML, Wang X, Xia XD, Shi XM, Wang DP, et al. Molecular characterization of *Salmonella enterica* serovar Enteritidis on retail raw poultry in six provinces and two National cities in China[J]. *Food Microbiology*, 2015, 46: 74-80
- [8] Yang BW, Zhao HY, Cui SH, Wang Y, Xia XD, Xi ML, Wang X, Meng JH, Ge WP. Prevalence and characterization of *Salmonella enterica* in dried milk-related infant foods in Shaanxi, China[J]. *Journal of Dairy Science*, 2014, 97(11): 6754-6760
- [9] Yang BW, Cui Y, Shi C, Wang JQ, Xia XD, Xi ML, Wang X, Meng JH, Alali WQ, Walls I, et al. Counts, serotypes, and antimicrobial resistance of *Salmonella* isolates on retail raw poultry in the People's Republic of China[J]. *Journal of Food Protection*, 2014, 77(6): 894-902
- [10] Bai Y, Ge YJ, Xiang YC, Li Y, Ding T, Hu YQ. Progress in research on the efficacies and mechanisms of action of various non-thermal sterilization technologies in inactivation of microbial spores in foods[J]. *Food Science*, 2019, 40(15): 314-322 (in Chinese)
白妍, 葛雨珺, 向迎春, 李苑, 丁甜, 胡亚芹. 非热杀菌技术杀灭食品中芽孢效能及机理研究进展[J]. *食品科学*, 2019, 40(15): 314-322
- [11] Zhang H, Zhao Y, Gong C, Jiao S. Effect of radio frequency heating stress on sublethal injury of *Salmonella* Typhimurium in red pepper powder[J]. *LWT-Food Science and Technology*, 2020, 117: 108700
- [12] Wang X, Devlieghere F, Geeraerd A, Uyttendaele M. Thermal inactivation and sublethal injury kinetics of *Salmonella enterica* and *Listeria monocytogenes* in broth versus agar surface[J]. *International Journal of Food Microbiology*, 2017, 243: 70-77
- [13] Verheyen D, Baka M, Akkermans S, Skåra T, Van Impe JF. Effect of microstructure and initial cell conditions on thermal inactivation kinetics and sublethal injury of *Listeria monocytogenes* in fish-based food model systems[J]. *Food Microbiology*, 2019, 84: 103267
- [14] Wang YX, Hou PF, Suo B. Effect and mechanism of sublethal heat stress on *Salmonella* Typhimurium[J]. *Food Science*, 2013, 34(13): 140-143 (in Chinese)
汪月霞, 侯鹏飞, 索标. 热胁迫下沙门氏菌亚致死规律及机制[J]. *食品科学*, 2013, 34(13): 140-143
- [15] Shi H, Chen Z, Chen D, Kan J. Sublethal injury and recovery of *Escherichia coli* O157:H7 and K-12 after exposure to lactic acid[J]. *Food Control*, 2017, 82: 190-195
- [16] Leclerc JM, Dozois CM, Daigle F. *Salmonella enterica* serovar Typhi siderophore production is elevated and Fur inactivation causes cell filamentation and attenuation in macrophages[J]. *FEMS Microbiology Letters*, 2017, 364(15): fnx147
- [17] Jones TH, Vail KM, McMullen LM. Filament formation by foodborne bacteria under sublethal stress[J]. *International Journal of Food Microbiology*, 2013, 165(2): 97-110
- [18] Stackhouse RR, Faith NG, Kaspar CW, Czuprynski CJ, Wong ACL. Survival and virulence of *Salmonella enterica* serovar enteritidis filaments induced by reduced water activity[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2012, 78(7): 2213-2220
- [19] Lensmire JM, Pratt ZL, Wong ACL, Kaspar CW. Phosphate and carbohydrate facilitate the formation of filamentous *Salmonella enterica* during osmotic stress[J]. *Microbiology: Reading, England*, 2018, 164(12): 1503-1513
- [20] Satyajit BK, Swapnil PD, Krupali VP, Sandeep G, Ajay DP, Abhay VR, Deepak BR, Nitin VK, Sukhadeo BB. Elucidation of the role of the *minC* gene in filament formation by *Listeria monocytogenes* under stress conditions[J]. *International Journal of Current Research and Review*, 2017, 9(9): 9-13
- [21] Alissa MW, Joshua BG, Bradley PM, Elliot TR. Stress, sublethal injury, resuscitation, and virulence of bacterial foodborne pathogens[J]. *Journal of Food Protection*, 2009, 72(5): 1121-1138
- [22] Niu D, Wang LH, Zeng XA, Wen QH, Brennan CS, Tang ZS, Wang MS. Effect of ethanol adaption on the inactivation of *Acetobacter* sp. by pulsed electric fields[J]. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 2019, 52: 25-33
- [23] Yoon Y, Lee H, Lee S, Kim S, Choi S. Membrane fluidity-related adaptive response mechanisms of foodborne bacterial pathogens under environmental stresses[J]. *Food Research International*, 2015, 72: 25-36
- [24] Wang RY, Ou Y, Zeng XA, Guo CJ. Membrane fatty acids composition and fluidity modification in *Salmonella* Typhimurium by culture temperature and resistance under pulsed electric fields[J]. *International Journal of Food Science & Technology*, 2019, 54(6): 2236-2245
- [25] Yun O, Zeng XA, Brennan CS, Liu ZW. Temperature alters the structure of membrane lipids and pulsed electric field (PEF) resistance of *Salmonella* Typhimurium[J]. *International Journal of Food Science & Technology*, 2017, 52(2): 424-430
- [26] Liu ZW, Zeng XA, Ngadi M, Han Z. Effect of cell membrane fatty acid composition of *Escherichia coli* on the resistance to pulsed electric field (PEF) treatment[J]. *LWT-Food Science & Technology*, 2016, 76: 18-25
- [27] Cebrián G, Condón S, Mañas P. Heat resistance, membrane fluidity and sublethal damage in *Staphylococcus aureus* cells grown at different temperatures[J]. *International Journal of Food Microbiology*, 2019, 289: 49-56

- [28] Kobayashi H, Miyamoto T, Hashimoto Y, Kiriki M, Motomatsu A, Honjoh KI, Iio M. Identification of factors involved in recovery of heat-injured *Salmonella* Enteritidis[J]. Journal of Food Protection, 2005, 68(5): 932-941
- [29] Balamurugan S, Dugan MER. Growth temperature associated protein expression and membrane fatty acid composition profiles of *Salmonella enterica* serovar Typhimurium[J]. Journal of Basic Microbiology, 2010, 50(6): 507-518
- [30] Kramer B, Thielmann J. Monitoring the live to dead transition of bacteria during thermal stress by a multi-method approach[J]. Journal of Microbiological Methods, 2016, 123: 24-30
- [31] Marcén M, Ruiz V, Serrano MJ, Condón S, Mañas P. Oxidative stress in *E. coli* cells upon exposure to heat treatments[J]. International Journal of Food Microbiology, 2017, 241: 198-205
- [32] Yang YS, Khoo WJ, Zheng QW, Chung HJ, Yuk HG. Growth temperature alters *Salmonella* Enteritidis heat/acid resistance, membrane lipid composition and stress/virulence related gene expression[J]. International Journal of Food Microbiology, 2014, 172: 102-109
- [33] Alvarez-Ordóñez A, Broussolle V, Colin P, Nguyen-The C, Prieto M. The adaptive response of bacterial food-borne pathogens in the environment, host and food: implications for food safety[J]. International Journal of Food Microbiology, 2015, 213: 99-109
- [34] Fong K, Wang SY. Heat resistance of *Salmonella enterica* is increased by pre-adaptation to peanut oil or sub-lethal heat exposure[J]. Food Microbiology, 2016, 58: 139-147
- [35] Álvarez-Ordóñez A, Fernández A, López M, Arenas R, Bernardo A. Modifications in membrane fatty acid composition of *Salmonella* Typhimurium in response to growth conditions and their effect on heat resistance[J]. International Journal of Food Microbiology, 2008, 123(3): 212-219
- [36] Sirsat SA, Baker CA, Park SH, Muthaiyan A, Dowd SE, Ricke SC. Transcriptomic response of *Salmonella* Typhimurium heat shock gene expression under thermal stress at 48 °C[J]. Journal of Food Research, 2015, 4(5): 51-56
- [37] Zhai LG, Du CL, Yang Q, Chen C, Wang JY. Effects of high temperature stress on stressresistance of thermotolerant *Salmonella* Derby stresses[J]. Food & Machinery, 2019, 35(6): 69-73 (in Chinese)
翟立公, 杜传来, 杨晴, 陈晨, 王俊颖. 高温胁迫对德尔夫沙门氏菌抗逆性的影响[J]. 食品与机械, 2019, 35(6): 69-73
- [38] Iliadis I, Daskalopoulou A, Simões M, Giaouris E. Integrated combined effects of temperature, pH and sodium chloride concentration on biofilm formation by *Salmonella enterica* ser. Enteritidis and Typhimurium under low nutrient food-related conditions[J]. Food Research International: Ottawa, Ont, 2018, 107: 10-18
- [39] Zhang ZF, Meng XF, Yang BW, Xia XD, Wang X, Xi ML. Resistance of *Salmonella* from chicken to quinolones and related genes[J]. Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology, 2015, 15(3): 158-165 (in Chinese)
张增峰, 孟晓风, 杨保伟, 夏效东, 王新, 席美丽. 鸡肉源沙门氏菌对(氟)喹诺酮类抗生素的耐药性及相关基因[J]. 中国食品学报, 2015, 15(3): 158-165
- [40] Hao HS, Yang BW, Shi JL, Xi ML, Wang X, Cui Y, Meng JH. Drug resistance and related genes of chickenborne *Salmonella* to quinolone and fluoroquinolones[J]. Acta Microbiologica Sinica, 2011, 51(10): 1413-1420 (in Chinese)
郝宏珊, 杨保伟, 师俊玲, 席美丽, 王新, 崔玥, 孟江洪. 鸡肉源沙门氏菌对喹诺酮和氟喹诺酮类抗生素耐药状况及相关基因[J]. 微生物学报, 2011, 51(10): 1413-1420
- [41] Yang BW, Qu D, Shen JL, Xi ML, Zhi S, Cui SH, Ji BY, Meng JH. Antimicrobial susceptibility and related genes of *Salmonella* serovars from retail food in Shaanxi Province[J]. Acta Microbiologica Sinica, 2010, 50(6): 788-796 (in Chinese)
杨保伟, 曲东, 申进玲, 席美丽, 只帅, 崔生辉, 寄宝义, 孟江洪. 陕西食源性沙门氏菌耐药及相关基因[J]. 微生物学报, 2010, 50(6): 788-796
- [42] Nguyen HDN, Yang YS, Yuk HG. Biofilm formation of *Salmonella* Typhimurium on stainless steel and acrylic surfaces as affected by temperature and pH level[J]. LWT-Food Science and Technology, 2014, 55(1): 383-388
- [43] Xu N, Su YY, Feng Z, Fu YQ, Qin T, Chen SJ, Peng DX. Drug resistance and biofilm-forming ability analysis of *Salmonella* isolates from poultry[J]. Journal of Yangzhou University: Agricultural and Life Science Edition, 2018, 39(1): 1-5 (in Chinese)
许诺, 苏洋洋, 冯政, 付玉勤, 秦涛, 陈素娟, 彭大新. 禽源沙门菌生物被膜形成能力与耐药性分析[J]. 扬州大学学报: 农业与生命科学版, 2018, 39(1): 1-5
- [44] Yang Y, Hoe YW, Zheng QW, Chung HJ, Yuk HG. Biofilm formation by *Salmonella* Enteritidis in a simulated liquid egg processing environment and its sensitivity to chlorine and hot water treatment[J]. Food Control, 2017, 73: 595-600
- [45] Keerthirathne TP, Ross K, Fallowfield H, Whitley H. A review of temperature, pH, and other factors that influence the survival of *Salmonella* in mayonnaise and other raw egg products[J]. Pathogens, 2016, 5(4): 63-74
- [46] Tian MY, Zhang YM, Dong PC, Mao YW, Liang RR, Zhu LX, Luo X. The mechanisms of acid tolerance response of *Salmonella* and *Listeria monocytogenes*: a review[J]. Food Science, 2019, 40(5): 316-322 (in Chinese)
田牧雨, 张一敏, 董鹏程, 毛衍伟, 梁荣蓉, 朱立贤, 罗欣. 沙门氏菌和单增李斯特菌诱导性耐酸响应机制的研

- 究进展[J]. 食品科学, 2019, 40(5): 316-322
- [47] Álvarez-Ordóñez A, Prieto M, Bernardo A, Hill C, López M. The acid tolerance response of *Salmonella* spp.: an adaptive strategy to survive in stressful environments prevailing in foods and the host[J]. Food Research International, 2012, 45(2): 482-492
- [48] Begley M, Hill C. Stress adaptation in foodborne pathogens[J]. Annual Review of Food Science and Technology, 2015, 6: 191-210
- [49] Sirsat SA, Burkholder KM, Muthaiyan A, Dowd SE, Bhunia AK, Ricke SC. Effect of sublethal heat stress on *Salmonella* Typhimurium virulence[J]. Journal of Applied Microbiology, 2011, 110(3): 813-822
- [50] Turki MD, Morgan LD, Si HP, Sun AK, Young MK, Nathan J, Corliss AO, Zhao S, Philip GC, Steven CR. The potential link between thermal resistance and virulence in *Salmonella*: a review[J]. Frontiers in Veterinary Science, 2017, 4: 1-16
- [51] Yang YS, Kumar A, Zheng QW, Yuk HG. Preacclimation alters *Salmonella* Enteritidis surface properties and its initial attachment to food contact surfaces[J]. Colloids and Surfaces B, Biointerfaces, 2015, 128: 577-585
- [52] Kang IB, Kim DH, Jeong D, Park JH, Seo KH. Heat resistance of *Salmonella* Enteritidis under prolonged exposure to acid-salt combined stress and subsequent refrigeration[J]. International Journal of Food Microbiology, 2018, 285: 165-172
- [53] Hews CL, Pritchard EJ, Rowley G. The *Salmonella* specific, σ^E -regulated, STM1250 and AgsA, function with the sHsps IbpA and IbpB, to counter oxidative stress and survive macrophage killing[J]. Frontiers in Cellular and Infection Microbiology, 2019, 9: 1-13
- [54] Gaafar RM, Hamouda MM, El-DougDoug KA, Fouad SF. Expression of DnaK and HtrA genes under high temperatures and their impact on thermotolerance of a *Salmonella* serotype isolated from tahini product[J]. Journal, Genetic Engineering & Biotechnology, 2019, 17(1): 5
- [55] Chen MS, Xu C, Song XC, Liu XQ, Xing XM, Zhao JP. Advances on heat shock protein[J]. Journal of Economic Animal, 2016(1): 44-53 (in Chinese)
- 陈明帅, 徐超, 宋兴超, 刘学庆, 邢秀梅, 赵家平. 热休克蛋白的研究进展[J]. 经济动物学报, 2016(1): 44-53
- [56] Osman K, Ibrahim I, Yousef A, Nabil T, Nayerah A. Blood heat shock proteins evoked by some *Salmonella* strains infection in ducks[J]. World Journal of Microbiology and Biotechnology, 2012, 28(5): 1997-2001
- [57] Zhang K, Ezemaduka AN, Wang Z, Hu H, Shi X, Liu C, Lu X, Fu X, Chang Z, Yin CC. A novel mechanism for small heat shock proteins to function as molecular chaperones[J]. Scientific Reports, 2015, 5: 8811
- [58] Li Y, Malkaram SA, Zhou J, Zemleni J. Lysine biotinylation and methionine oxidation in the heat shock protein HSP60 synergize in the elimination of reactive oxygen species in human cell cultures[J]. Journal of Nutritional Biochemistry, 2014, 25(4): 475-482
- [59] Zhang TT, Cao YY, Cui XJ, Yu ZJ, Hu YH. Progress in research on heat shock protein 60[J]. Journal of Hebei Normal University (Natural Science Edition), 2016, 40(6): 533-538 (in Chinese)
- 张甜甜, 曹园园, 崔雪娇, 于志军, 胡永红. 热激蛋白 60 的研究进展[J]. 河北师范大学学报: 自然科学版, 2016, 40(6): 533-538
- [60] Salahuddin P. Protein folding in the cell[J]. Journal of Biochemistry and Molecular Biology Research, 2015, 1(4): 67-71
- [61] Yu HY, Ziegelhoffer T, Craig EA. Functionality of class A and class B J-protein co-chaperones with Hsp70[J]. FEBS Letters, 2015, 589(19 Pt B): 2825-2830