

沙眼衣原体发育周期的调控研究

吴琪¹ 凌筱茜¹ 李娜² 张克² 乌日汗^{2,3*}

(¹扬州大学医学部(中医药学院), 扬州 225009; ²扬州大学医学部(基础医学院·公共卫生学院), 扬州 225009;

³核酸与细胞命运调控江苏省高校重点实验室(扬州大学), 扬州 225009)

摘要 沙眼衣原体是专性胞内细菌, 必须在宿主细胞内分化、复制和再分化以进行其发育周期。沙眼衣原体具有独特的发育周期, 包含两种在功能和形态上截然不同的存在模式。第一种存在模式叫原体(elementary body, EB), 具有感染性, 但没有繁殖能力, EB进入宿主细胞6~8小时后转变成第二种存在模式, 称为网状体(reticular body, RB)。RB没有感染性, 但可在宿主细胞内进行分裂繁殖, 最后再分化为EB, 进一步成熟后释放到细胞外, 进行新一轮的感染。沙眼衣原体的基因组大小为1.04 Mb, 编码约900个蛋白, 其中包括十几个调控因子。早期基因在EB感染宿主细胞后开始转录, 中期基因在RB复制过程中起重要作用, 晚期基因则在RB分化为EB时表达。沙眼衣原体的基因表达调控机制复杂, 涉及转录因子和 σ 因子, 这些因子通过感知环境和代谢信号来调控基因表达, 确保沙眼衣原体适应不同的生长阶段。沙眼衣原体在不利条件下可以进入“滞留”状态, 形成体积增大且不分裂的RB, 这种状态的RB在条件改善后可逆转为正常的感染性EB。该综述主要总结了随着时间的变化沙眼衣原体整个发育周期发生的主要事件, 以及其通过基因转录调控每个环节的机制。另外, 该文阐明了转录因子通过调控基因表达使沙眼衣原体适应生长环境变化的机制。

关键词 沙眼衣原体; 发育周期; 基因转录; 环境适应性; 调控

Research on the Regulation of the *Chlamydia trachomatis* Developmental Cycle

WU Qi¹, LING Xiaoxi¹, LI Na², ZHANG Ke², Wurihan^{2,3*}

(¹School of Traditional Chinese Medicine, Faculty of Medicine, Yangzhou University, Yangzhou 225009, China; ²School of Basic Medical Sciences & School of Public Health, Faculty of Medicine, Yangzhou University, Yangzhou 225009, China; ³Key Laboratory of the Jiangsu Higher Education Institutions for Nucleic Acid & Cell Fate Regulation (Yangzhou University), Yangzhou 225009, China)

Abstract *Chlamydia trachomatis* is an obligate intracellular bacterium that undergoes differentiation, replication, and re-differentiation within host cells to complete its developmental cycle. *C. trachomatis* has a unique biphasic developmental cycle that comprises two functionally and morphologically distinct forms. The first form called EB (elementary body), is infectious but non-replicative, can entering a host cell by endocytosis. Within 6-8 h post infection, the EB differentiates into a metabolically active, non-infectious but replicative RB (reticular body). RB replicates via multiple rounds of binary fission and then re-differentiates to an EB. The newly formed EB is then released and is ready to infect new host cells. *C. trachomatis* possesses a small chromosome of 1.04 Mb, encoding approximately 900 proteins including several regulatory factors. The early genes are transcribed at first few hours of infection, as well as genes transcribed at mid-cycle playing critical role during RB replication, while late genes are activated at RB-EB differentiation. The regulatory mechanism of gene expression in *C. trachomatis* is complex, involving transcription factors and σ factors. Regulators controls gene expression by sensing environmental changes and metabolic signals to

收稿日期: 2025-06-29

接受日期: 2025-09-02

国家自然科学基金(批准号: 82202555)资助的课题

*通信作者。Tel: 0514-87978860, E-mail: 008032@yzu.edu.cn

Received: June 29, 2025

Accepted: September 2, 2025

This work was supported by the National Natural Science Foundation of China (Grant No.82202555)

*Corresponding author. Tel: +86-514-87978860, E-mail: 008032@yzu.edu.cn

ensure that *C. trachomatis* adapts to different growth conditions. *C. trachomatis* could be able to enter the “persistent” state at an adverse growth condition, in which RB stopped dividing and enlarged its size. Infectious EB is generated when the growth conditions are recovered. This review summarized the main events during the *C. trachomatis* developmental cycle and the regulatory mechanisms that governing each stage at the transcriptional level. In addition, this study explained the mechanism by which transcription factors regulate *C. trachomatis* gene expression to adapt for extracellular survival environmental changes.

Keywords *Chlamydia trachomatis*; developmental cycle; gene transcription; environmental adaptability; regulation

沙眼衣原体是衣原体属中主要引起人类沙眼和生殖道疾病的病原体, 是全世界性传播疾病最普遍的原因^[1]。沙眼衣原体具有3个生物变种, 包括沙眼生物变种(trachoma biovar)、性病淋巴肉芽肿(lymphogranuloma venereum, LGV)和生殖道生物变种(genital tract biovar)^[2]。根据主要外膜蛋白(major outer membrane protein, MOMP)的不同, 这3个变种又分为19个血清型(A、B/Ba、C、D/Da、E、F、G/Ga、H、I/Ia、J、K、L1、L2、L2a和L3)^[3]。血清型A~C引起沙眼, D~K引起生殖系统疾病, L1~L3引起性淋巴肉芽肿。

沙眼衣原体是一种专性细胞内生长的革兰阴性菌^[4], 具有独特的双相发育周期。首先, 原体(elementary body, EB)附着在宿主细胞外, 通过内吞作用进入黏膜上皮细胞内的液泡中, 从而进行传播感染, 该液泡被称为包涵体^[5]。接着, EB在包涵体内逐渐发育成体积更大的网状体(reticular body, RB), 该过程被称为第一次转化^[6]。随后, RB在包涵体内以一分为二的方式进行分裂复制。经过5~6轮分裂后, RB体积逐渐变小并转化成EB, 此过程为第二次转化。转化后的EB逐渐成熟, 最后被释放到细胞外, 继续感染周围新的宿主细胞^[7]。根据沙眼衣原体细胞生长过程所发生的变化, 将其分为早、中、晚期3个阶段^[8]。从EB接触宿主细胞到第一次转化结束称为早期, 在中期RB进行分裂复制, 晚期则是RB转化为EB并最终成熟释放的阶段。在沙眼衣原体的发育周期每个阶段中转录表达的基因有所不同, 少数基因在EB感染宿主细胞后的第一时间表达, 约70%的基因在感染几个小时后开始表达, 并且持续到沙眼衣原体发育周期的晚期^[9-10]。一部分基因在RB转化为EB时表达, 可能与此次转化有关。而另外一部分基因在EB成熟时表达^[9]。研究发现, 在分离的EB和RB中检测到的基因有所不同, 证明沙眼衣原体的基因转录调控其发育周期。此外, 沙眼衣原体的发育周期表达十几

个转录因子, 这些转录因子与RNA聚合酶协同调控沙眼衣原体的生长^[11]。

在营养物质缺乏的生长条件下, 沙眼衣原体的发育周期被打乱, 形成体积较大且异常的RB。这种异常的生长模式似乎与DNA复制相关基因的持续表达有关, 而与细胞分裂相关基因无关^[12]。早期基因编码衣原体主要的热休克相关蛋白DnaK、GroEL和GroES, 以及应急反应调节相关的蛋白, 以此应对发育周期可能面临的生长条件改变^[13-14]。中期基因的转录调控依赖于DNA超螺旋和转录因子。晚期基因的转录也受转录因子的抑制或者激活。因此, 沙眼衣原体的基因表达调控对于EB和RB的正常发育有重要作用, 进而对其细胞发育周期进行调控。另外, 宿主细胞的 γ 干扰素(interferon- γ , IFN- γ)促进吲哚胺-2,3-双加氧酶1(indoleamine-2,3-dioxygenase 1, IDO1)的生成, 该酶降解宿主细胞内的色氨酸, 导致沙眼衣原体无法获取更多的色氨酸, 从而使RB生长受到抑制, 并使其进入“滞留”状态, 而该状态是可逆的^[15]。

本篇综述将阐述沙眼衣原体的发育周期及其相关基因转录调控的研究发展, 因为沙眼衣原体正是凭借这种转录调控机制来感知环境和代谢信号并通过调控基因表达对此作出反应, 进而使沙眼衣原体的生长过程顺利进行。

1 沙眼衣原体发育周期

1.1 沙眼衣原体的存在模式

1.1.1 原体 沙眼衣原体的第一种存在模式是原体, 原体代谢活动不活跃、不进行复制, 但有感染能力, 是沙眼衣原体细胞外储存的形式。EB体积微小(直径约为0.3 μ m)、呈圆形或椭圆形、电子密度高^[16-17], 由于细菌组蛋白样蛋白HctA和HctB对核质具有凝聚作用, 其类核高度致密^[18-19]。类核位于细胞体偏离中心位, 这表明它或许与细菌的内膜或细胞壁有关。特别

的是,在EB的细胞壁中几乎不存在肽聚糖,而其外膜具有高度交联性,研究者认为正是这一性质使其细胞壁具有结构刚性。沙眼衣原体的外膜中具有富含半胱氨酸的蛋白质(包括OmpA、OmcB和OmcA),这些蛋白质分子之间和分子之内有较多的二硫键,使蛋白质结构稳定。此外,在外膜内表面具有六边形排列的蛋白质(主要是OmcB),这有助于维持EB在宿主细胞外的稳定性^[20]。通过冷冻电镜对EB进行断层扫描,研究者发现电子晶体表面有六边形凸起,中心到中心的间距约为50 nm^[21]。这些“超级分子”结构由9个亚基组成,从EB表面延伸约30 nm,并具有旋转对称性,推测这些尖峰状的突起类似于伤寒沙门菌III型分泌系统(type three secretion system, TTSS)的“针状”结构^[22]。FIELD等^[23]已经明确了编码包涵体的膜蛋白基因*inc*在发育周期的早期表达,远早于编码TTSS的基因的表达。他们还发现分泌性蛋白Inc在TTSS蛋白产生之前就已出现在包涵体膜上。在耶尔森氏鼠疫杆菌中Inc蛋白是TTSS的底物,因此他们得出结论:EB必须具有预先形成的TTSS,才能在EB和宿主细胞相互作用

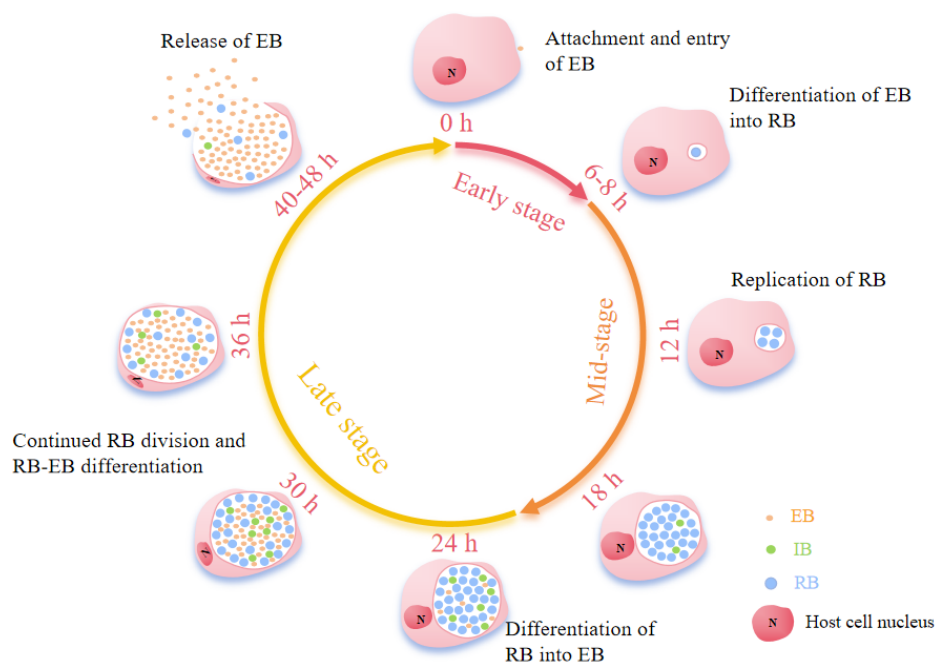
下快速发挥作用^[24]。

1.1.2 网状体 原体在进入宿主细胞后,转化成代谢活动活跃、能够进行复制的网状体^[5]。网状体和原体在表型上具有明显区别:网状体比原体大,直径约为1 mm,对渗透裂解敏感,细胞质呈颗粒状,具有弥散的纤维状核酸^[20],与原体高度凝聚的类核形成鲜明对比^[20]。网状体不具有感染能力,由内外膜包围,类似于其他革兰阴性菌。其表面覆盖着类似TTSS的“针状结构”,该结构与在原体上发现的“针状结构”相似,但其密度更高^[21]。网状体在发育周期的中期阶段进行二分裂繁殖,而原体不能进行分裂繁殖。

1.2 沙眼衣原体发育周期的3个阶段

1.2.1 沙眼衣原体发育周期早期 正如前文所述,根据沙眼衣原体生长的进程,将其分为早、中、晚期3个阶段(图1)。早期包括EB附着与进入宿主细胞和第一次转化。

首先进行附着与进入的环节。沙眼衣原体具有复杂的附着和进入宿主细胞的机制。通过细菌黏附素,衣原体可感染来自不同动物非吞噬细胞型的



沙眼衣原体发育周期的早期是从EB附着于宿主细胞并进入胞内开始到EB向RB的转化。该过程需要6~8小时。中期的主要事件是RB进行二分裂繁殖,从感染后6~8小时(hour post infection, hpi)开始到20~24 hpi结束。RB向EB的转化标志着晚期的开始,该过程中一部分RB转化成EB并释放,另外一部分RB继续分裂再转化成EB。该独特的发育周期在感染后40~48小时结束。

The early stage begins with attachment and entry of EB to host cell, and ended by the transition of EB to RB. This process usually takes 6-8 h. The event of mid-stage is RB replicated by binary fission, which starts from 6-8 hpi (hour post infection) and ends at 20-24 hpi. The conversion of RB to EB means the entering of late stage. In this period, some RBs transform to EBs and are then released, while others continue to divide and convert to EBs to release. This unusual developmental cycle ends at 40-48 hpi.

图1 沙眼衣原体发育周期3个阶段主要进程(根据参考文献[9,20]修改)

Fig.1 The main process at three stages of the *Chlamydia trachomatis* developmental cycle (modified from references [9,20])

宿主细胞。尽管病原菌与宿主的相互作用在细菌发病机制较重要,但目前尚未明确所涉及的黏附素及受体分子的性质,候选的细菌黏附素包括 OmpA、OmcB 和 Hsp70^[21]。另外,研究表明膜蛋白 Pmp 家族也在 EB 的附着中发挥作用^[25-27],该蛋白家族包含由 4 个氨基酸构成的高度重复序列^[27],在其他细菌黏附素(如在专性胞内菌立克次体的 OmpA)中也发现了这些氨基酸重复序列^[25]。研究表明,EB 通过其外膜蛋白 MOMP 与宿主细胞表面含有糖胺聚糖的硫酸肝素相互作用进行初始附着^[28],该相互作用可逆,并且已被证明是通过与暴露于 EB 表面的 OmpA 蛋白结合而发生附着^[29]。随后通过化学诱变,细胞进入第二个不可逆的结合阶段^[30],但相关受体尚未确定。DAVIS 等^[31]研究表明,在附着和进入人子宫内膜腺癌细胞-1B(human endometrial carcinoma cell line 1B, HEC-1B)的过程中,沙眼衣原体(血清型 E)与雌激素受体复合物的部分蛋白二硫化物异构酶(protein disulfide isomerase, PDI)密切相关,而在雌激素占主导地位的人子宫内膜上皮细胞中衣原体的附着显著增强^[32]。CLIFTON 等^[24]的研究表明,在不可逆的结合阶段之后,TTSS 分泌的蛋白立即被递送到宿主细胞中。这种蛋白被确定为衣原体蛋白 CT456,研究者将其命名为转运肌动蛋白募集磷酸化蛋白(translocated actin recruiting phosphoprotein, Tarp),它在酪氨酸残基处被迅速磷酸化。进一步研究证明 Tarp 直接参与 EB 进入宿主细胞的过程,该蛋白在细胞质中表达的产物被酪氨酸磷酸化并募集肌动蛋白。在细胞膜的表面可检测到酪氨酸磷酸化的 Tarp,而此时 EB 仍在细胞外。这些结果表明,EB 具有功能性的 TTSS,它可以在分化之前向宿主细胞传递重要的信号分子。

其次,在沙眼衣原体发育周期早期有一个特殊阶段,即 EB 向 RB 转化(图 1)。可以通过添加抗生素来抑制转录或翻译而阻断该转化过程,这表明 EB 在胞内生长的启动需要早期蛋白质的表达^[33]。沙眼衣原体被宿主细胞摄取后,在被感染的宿主细胞中首先检测到了早期蛋白质的合成^[34]。在使用环己亚胺处理的被感染的细胞和在感染后不久从细胞中分离的无宿主沙眼衣原体中都证实了早期蛋白质合成。从宿主细胞中分离出的沙眼衣原体 EB 在发育周期结束时都不能合成可检测的蛋白质^[35]。放线菌素是一种常规的 RNA 合成抑制剂,几乎完全抑制无宿主沙眼衣原体的早期蛋白质合成,而抑制转录起

始的利福平仅能抑制早期蛋白质的部分合成。这表明无宿主沙眼衣原体早期蛋白质的合成既依赖于体内合成信号,也依赖于体外转录物的作用。随后这些早期蛋白通过二硫键交联的 MOMP 在进入宿主细胞后的 1 小时内还原为单体形式。氯霉素对 MOMP 的还原有抑制作用,而环己亚胺对其没有抑制作用,这表明 MOMP 的还原需要沙眼衣原体蛋白的合成,而不需要宿主细胞蛋白的合成^[36]。需要注意的是,此次转化并非同步进行^[37]。

1.2.2 沙眼衣原体发育周期中期 沙眼衣原体发育周期中期的主要事件是 RB 进行二分裂式繁殖,这一过程占据了沙眼衣原体发育周期大部分时间(图 1)。在感染后 6~8 小时 EB 开始转化为 RB,到感染后 12 小时沙眼衣原体在被感染的宿主细胞中几乎全部以 RB 的形式存在。RB 将发生许多与转化相关的变化,这些变化包括 RB 体积的增大(RB 的体积是 EB 的 10~100 倍),细胞壁和类核结构的改变以及核糖体数量的增加。此外,RB 的感染性丧失,代谢活动的种类和强度增加。进入宿主细胞的 EB 周围的吞噬膜变成包涵体膜,包涵体膜包裹 RB 颗粒开始进行二分裂式增殖,分裂产生的子代细胞的大小几乎相等。在一个发育周期中每个 RB 将会进行 5~6 次分裂,一次需要约 2 小时,最终每个包涵体内有几百至一千多 RB 个体。随着 RB 的分裂次数增多,沙眼衣原体的体积逐渐减小^[38],很快出现细胞外感染性,即开始转变为 EB。在第一个 EB 出现后很长时间内,许多 RB 仍在继续分裂,因此在沙眼衣原体发育周期晚期包涵体内既有众多的 EB,也存在着 RB 和两者的中间体(intermediate body, IB)。然而,在沙眼衣原体停止增殖后,被感染的宿主细胞可较长时间维持完整的形态,而携带沙眼衣原体的包涵体可在感染后的 30~60 小时内裂解,裂解时间的长短取决于菌株和感染的多样性^[9]。

1.2.3 沙眼衣原体发育周期晚期 沙眼衣原体发育周期的晚期开始的标志是 RB 转化为 EB(图 1),这就是第二次转化,随后 EB 成熟并释放至宿主细胞外。RB 通过体积的减小、细胞质的凝聚、电子致密类核的分化和刚性细胞壁的形成等一系列的变化向 EB 发展。转化为 EB 的 RB 往往靠近包涵体膜,或宿主细胞的线粒体和内质网^[39]。第二次转化与第一次转化完全不同。第一次转化必须借助宿主细胞内部的某种物质作为外部信号来启动,虽然该转化并不是同时进行的,但大多数 EB 在进入宿主细胞后的

几小时内就开始转化为RB, 当出现正在分裂的RB时, 很难再出现成熟的未分化的EB。而在第二次转化中, 根据电镜观察或滴定感染性的外观判断, 一些RB在感染后15~25小时开始分化为EB, 而另一些则继续分裂为子代RB, 直到24~48小时后才转化为EB, 甚至一些少数RB未来得及转化为EB, 就随着宿主细胞裂解而释放至胞外^[40]。

在RB转化为EB前的IB首次出现后, 单个包涵体内沙眼衣原体种群由分裂的RB、IB和EB组成(图1)。RB转化为EB的信号在不同的时间产生, 从而引起相应RB的变化, 因此第二次转化也是非同步进行。就像EB转化为RB一样, 在RB转化为EB的过程中有一些独特的蛋白质合成, 这些蛋白质在发育周期的其他阶段并没有合成。除了OmcA、OmcB等富含半胱氨酸的外膜蛋白外, 在EB中还发现了结合真核细胞膜和衣原体结合DNA的蛋白, 但在RB中却没有发现。其中一个DNA结合蛋白似乎与外膜上最大的富含半胱氨酸的蛋白相同。在发育周期中, 研究人员证实在整个发育周期中有一些蛋白质的表达受暂时调节。这种调控是由一系列启动子完成的, 这些启动子被RNA聚合酶特异性识别, 或被不同的 σ 因子修饰, 或被DNA结合蛋白介导^[41]。

随着RB分裂, 转化的EB越来越多, 包涵体的体积也逐渐增大, 到了沙眼衣原体生长晚期, 完整的包涵体也从宿主细胞中释放出来, 被释放出来的包涵体内有多数EB和少量RB以及一些IB。通过扫描电镜发现沙眼衣原体繁殖并破坏宿主细胞的细胞膜, 随后挤压包涵体和宿主细胞核^[42]。然而, 在一些宿主细胞中, 包涵体通过宿主细胞膜的局部膨胀而被挤出细胞外, 并且不影响宿主细胞表面的其他部分。释放出来的EB可继续感染新的细胞, 而RB和IB并不具备感染性, 但对于宿主来说, 它们是抗原刺激。

2 沙眼衣原体基因表达调控

2.1 沙眼衣原体基因的分类

沙眼衣原体有一个环状染色体DNA和一个内源性质粒DNA, 包括936个染色体基因和8个质粒基因(*pgp1~8*)^[43]。936个染色体基因中有37个tRNA(transfer RNA)、1个ncRNA(non-coding RNA)和约900个开放阅读窗^[44]。研究发现分离的EB和RB中转录的基因有所不同, 说明在沙眼衣原体发育周期的不同阶段, 转录表达的基因也有所不同。少数

基因在EB感染宿主细胞后的第一时间表达, 并且在EB转化为RB过程中起到重要作用, 这类基因属于早期基因。沙眼衣原体大部分基因在感染几个小时后开始表达, 这类基因在EB转化为RB和RB复制过程中都有重要作用, 并且持续到沙眼衣原体发育周期的晚期, 此类基因为中期基因。较少一部分基因在RB转化为EB时表达, 可能与此次转化有关, 还有一些基因在第二次转化后表达, 可能对EB的成熟和释放有帮助, 这些基因为晚期基因(图2)。然而, 早、中、晚期基因的分类并非十分严格, 通过RNA-Seq分析发现, 70%的基因在感染后1小时内开始表达, 但到了中期或者中晚期才达到表达最高峰并在发育周期的特定进程中起作用^[45]。

2.2 沙眼衣原体基因转录调控

2.2.1 沙眼衣原体早期基因转录调控 早在感染后1小时(hour post infection, hpi), 沙眼衣原体就有29个基因(占基因组的3.2%)具有转录活性。到3 hpi, 即EB开始转化为RB的过程中, 又有200个基因具有转录活性, 这些基因为早期基因(1~3 hpi)(图2)。在较早的研究中, BELLAND等^[9]通过基因芯片技术分析鉴定出29个立即早期基因(immediate-early genes), qRT-PCR分析证实了其中的8个。这些早期基因包括包涵体膜蛋白基因家族(包括*incD*、*E*、*F*、*G*和*S*), 上游开放阅读框(open reading frame, ORF)基因*euo*, 伴侣蛋白基因*groEL*和*groES*等。*ct228*和*ct229*是预测为编码包涵体膜蛋白的基因, 它们也在1 hpi时转录, 其表达的包涵体膜蛋白证明了它们在修饰包涵体膜以支持沙眼衣原体细胞内存活和生长方面有着重要的作用。

在上一代沙眼衣原体的晚期, EB中的DNA与组蛋白样蛋白HctA和HctB结合并浓缩后才释放到宿主细胞外。因此, 在沙眼衣原体感染下一个宿主细胞的初期解除组蛋白介导的DNA浓缩作用是激活早期基因转录的第一个调节机制。DNA的去浓缩作用能够通过阻断组蛋白和DNA的结合来实现。沙眼衣原体感染后6~8小时, DNA去浓缩作用基本完成, 随后沙眼衣原体进入发育周期的中期阶段, 大量基因被转录和翻译。虽然DNA去浓缩作用很可能在EB向RB转化过程中起作用, 但无法解释衣原体发育周期立即早期的转录活动。根据我们的实验结果^[46], 可能的机制是在上一代晚期表达的转录激活因子GrgA(general regulator of genes A)和少量的RNA聚合酶被携带至下一代, 在感染新的宿主细胞后第一时

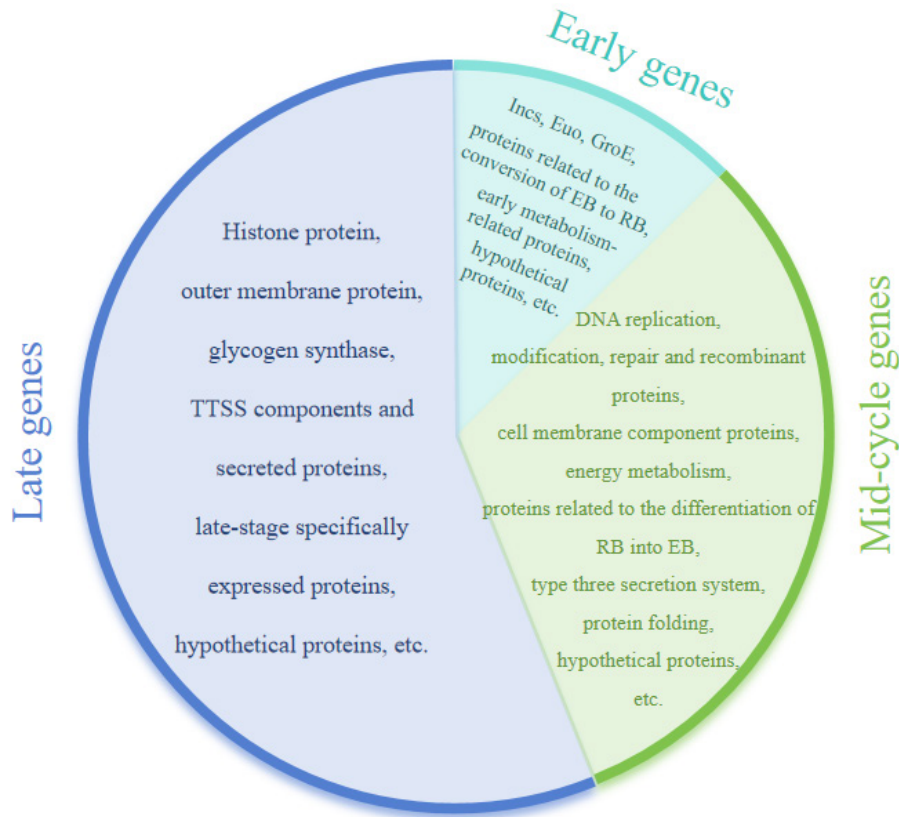


图2 沙眼衣原体发育周期3个阶段基因表达谱

Fig.2 Gene expression profiles at three stages of the *C. trachomatis* developmental cycle

间诱导立即早期基因的转录。

另外,一部分早期基因的转录调控与DNA超螺旋调控有关。早期基因转录时DNA螺旋水平要低于中期基因转录时的DNA螺旋水平阈值^[47-48]。TAN等^[49-50]通过DNA螺旋敏感性转录实验发现检测的11个早期基因中4个基因的体外转录水平依赖于DNA超螺旋程度,7个基因的转录与DNA超螺旋程度无关。在衣原体生长发育中,DNA超螺旋作为一种普遍的调控机制调控衣原体一部分早期基因、全部中期基因和一些晚期基因的转录水平^[51-52]。

2.2.2 沙眼衣原体中期基因转录调控 当EB向RB的转化完成时,大部分基因的转录活性在8 hpi时明显增加(图2)。这种强烈的转录活性一直保持到发育周期的中期(16~24 hpi),这段时间是RB通过二分裂式指数增殖的时期。中期基因由两个基因簇组成,中期I簇的基因转录水平到18 hpi时达到峰值,之后在发育周期的其余时间保持相似水平^[10],而中期II簇的基因在18 hpi后继续转录。在18 hpi时,RB的数量达到峰值,并且此时RB开始重组。中期I簇的基因表达产物具有各种功能,包括细胞包膜成分(18%)、

能量代谢(11%)、TTSS分泌(5%)、蛋白质折叠(3%)以及DNA复制、修饰、修复和重组(4%)^[10]。沙眼衣原体假定基因占该基因簇的27%,但是它们的功能目前为止还不确定。中期一些DNA修饰组的基因,包括整合宿主因子(*himD*)和SWI/SNF家族解旋酶(*ct708*)的沙眼衣原体DNA凝聚中起作用,这些基因的转录水平上升标志着RB转变为EB已开始^[10]。中期II簇基因转录水平在6~12 hpi时没有明显增加,甚至有些基因有下降趋势,但到18 hpi时它们已经开始明显转录,到24 hpi时表达量最多。例如*ompA*基因在发育周期的不同时间产生两个不同的转录本,一个转录本在感染早期被检测到,而另一个转录本则启动转录较晚,这两个转录本的存在,有效地使*ompA*的mRNA水平翻倍^[53]。这表明一个基因既有早期调控机制,又包括晚期调控机制,这可以使其转录水平在早期和晚期均显著上调。

如上所述,DNA超螺旋是中期基因转录的主要调控机制。沙眼衣原体的DNA超螺旋程度随着发育周期变化而变化,在RB生长增殖活跃的中期达到峰值。DNA超螺旋通过调节启动子的活性控制单个基

因的转录水平, 从而影响基因表达。改变DNA的结构或者调控因子与启动子的结合均可改变DNA超螺旋, 进而直接或者间接地调节启动子的活性^[54]。此外, 拓扑异构酶通过改变其自身浓度来调节DNA的超螺旋水平^[55-56]。DNA促旋酶诱导DNA负超螺旋, 相反, DNA拓扑异构酶降低DNA负超螺旋水平, 以此调节在沙眼衣原体的发育周期中DNA超螺旋的平衡。在沙眼衣原体发育早期编码DNA促旋酶两个亚基的 *gyrA_1* 和 *gyrB_1*, 增加DNA超螺旋程度和调控中期基因的转录, 第二种DNA促旋酶(由 *gyrA_2* 和 *gyrB_2* 编码)在发育周期晚期转录表达, 在衣原体生长晚期修饰DNA拓扑结构^[9]。最近研究发现, 条件敲低表达拓扑异构酶的 *topA* 基因导致DNA负超螺旋增加, 同时 *gyrA* 和 *gyrB* 的转录增强, 结果引起RB向EB的转化被抑制^[57]。这表明DNA超螺旋不仅在沙眼衣原体的早期和中期有调节作用, 在生长晚期同样重要。

中期基因的另外一个调控机制是转录因子ChxR的转录激活, 该蛋白在沙眼衣原体的中期和晚期表达较多。ChxR是沙眼衣原体非典型OmpR/PhoB二组分系统的同源应答调控因子, 与感应器激酶配对形成信号转导系统, 帮助细菌感知外界环境变化。ChxR不同于其他的OmpR/PhoB家族转录因子, 缺失了活化位点的天门冬氨酸残基, 因此不需要磷酸化就可转变成活化的转录因子。ChxR在没有磷酸化的情况下, 在体内形成二聚体, 并结合基因启动子区的5'-WHGAWNHN_{3,5}-WHGAWNHN-3'(W=A/T, H=C/A/T, N=G/C/A/T)的重复序列^[58], 从而调控下游基因的转录。目前已证明ChxR主要调节 *ompF*、*ompC*、*infA*、*tufA*、*oppA*、*ct084* 和 *chxR* 等中期基因的转录^[59], 其余受其调控的基因还需进一步探索。ChxR不直接调节沙眼衣原体发育周期所必需的事件, 而是通过调节在发育周期中发挥重要作用的基因的转录来保证其正常生长^[60]。

NrdR和TrpR转录因子也在RB增殖期表达^[61-62]。由于沙眼衣原体是专性胞内菌, DNA和RNA合成所需的核苷酸均依赖宿主细胞的提供。沙眼衣原体可合成CTP, 但是ATP、GTP和UTP等其他三磷酸核糖核苷酸(nucleoside triphosphates, NTPs)只能从宿主细胞获得^[63-64]。而衣原体则通过核糖核苷酸还原酶将从宿主细胞处获得的三磷酸核糖核苷酸转化为脱氧核糖核苷酸三磷酸(dNTPs), 为DNA合成所用^[65]。沙眼衣原体的核糖核苷酸还原酶由 *nrdAB* 操纵子编码, NrdR蛋白结合该操纵子的启动子区, 并抑制其转录^[61]。由此

可见, NrdR可能调节体内转录和能量代谢所产生的核糖核苷酸与DNA复制所需的脱氧核糖核苷酸之间的平衡。TrpR主要涉及沙眼衣原体的氨基酸水平的调节, 详见3.3。

2.2.3 沙眼衣原体晚期基因转录调控 晚期基因包括编码组蛋白样蛋白^[118]、糖原合成酶^[66]、TTSS组分及分泌型蛋白^[67]、外膜蛋白^[68]、晚期特异表达蛋白LtuA和LtuB以及一些其他的蛋白^[69-70]的基因(图2)。其中28个基因(基因组的3.1%)在40 hpi左右特异性表达, 此时大多数RB已转化为感染性EB。 *hctA* 和 *hctB* 是在发育周期晚期表达的基因, 它们编码沙眼衣原体组蛋白样蛋白, 并在RB向EB转化后介导染色体凝聚^[25]。在第二次转化过程中, 需要由二硫键高度交联的细菌外膜复合体(outer membrane complex, OMC)。晚期基因 *omcA* 和 *omcB* 编码两种富含半胱氨酸的OM蛋白, 它们与主要的OM蛋白(OmpA)相互作用形成该复合物。OM复合物需要半胱氨酸键形成广泛的蛋白内和蛋白间交联。两个新发现的晚期基因(*ct780*和*ct783*)编码硫氧还蛋白二硫异构酶, 该酶可能参与所需蛋白质之间二硫键交换的过程。两个膜硫基蛋白酶基因(*mtpA*和*mtpB*)表达较晚, 并编码在OM复合物形成中起蛋白水解作用的蛋白质^[71]。OM复合体的关键蛋白质成分OmcB蛋白已被证实需要在翻译后蛋白水解加工。因此, 一些晚期基因编码的蛋白质在OM复合物的形成和成熟中具有潜在的作用, OM复合物是感染性EB发展的关键步骤。

晚期基因之所以在沙眼衣原体的发育周期的后期转录, 而并非在早期和中期表达的主要原因在于Euo蛋白的调控。Euo蛋白是早期基因的表达产物^[72], 在EB感染后立即开始表达, 并抑制一些晚期基因过早表达^[73-74]。最近的研究发现, 在沙眼衣原体体内过量表达Euo后, 除了部分晚期基因转录被抑制以外, 部分中期基因的转录明显增强, 但在生理条件下Euo是否激活沙眼衣原体中期基因的转录有待深入探究^[75]。那么晚期基因在RB转化为EB后如何解除Euo的抑制? 可能的调控机制如下: 根据我们的研究结果, Euo在感染宿主细胞后1小时内迅速表达, 在8 hpi时其表达量达到最高峰, 之后其表达量逐渐下降, 在发育周期的晚期达到最低^[46]。Euo蛋白水平在沙眼衣原体内的变化可能使其主动去阻遏其对晚期基因的抑制, 晚期基因得以表达。另一种可能的调控机制是存在其他的阻遏物, 使Euo从原本结合的启动子区域解离出

来,从而使得下游基因开始表达。

VANDANA等^[76]的最新研究发现氧化还原电位也在沙眼衣原体的晚期,尤其是EB向RB的转化中有重要作用。EB和RB不仅在大小、感染性、电子密度、转录组等方面有区别,氧化还原状态也不同:EB被氧化,而RB被还原^[77]。宿主细胞通过产生活性氧(reactive oxygen species, ROS)来抵御入侵的病原体生长繁殖,而病原体有多种抗氧化酶来抵抗。沙眼衣原体具有抗氧化酶烷基过氧化氢还原酶亚基C(alkyl hydroperoxide reductase subunit C, AhpC)的同源酶,该酶是一种2-半胱氨酸过氧化物还原酶^[78]。过量表达AhpC不影响RB的复制,但会导致RB向EB的转化延迟发生,而敲除该酶可引起沙眼衣原体对氧化条件高度敏感,导致部分晚期基因,尤其是EB相关基因的过早表达,并促进EB的产生^[76](图3)。

3 沙眼衣原体发育周期的调控

沙眼衣原体之所以能侵染宿主细胞,并且引起各种疾病,在于多种因素可调控感染过程和细胞发育周期中的各个环节,使其在宿主细胞内迅速生长繁殖。目前发现,在体外黏膜人上皮细胞中生长的衣原体可在诱导剂作用下进入一种可逆的“持留”状态,通过调节诱导剂,这种“持留”状态可发生转变,使衣原体的发育周期进入正常进程。此外,沙眼衣原体的发育周期还受环境压力、核苷酸水平、氨基酸水平、离子浓度、氧化还原状态等因素的影响,而

且一些转录因子对基因转录的调控也影响着其发育周期(图3)。这些调控因子有一些调节沙眼衣原体发育周期的整个过程,而一部分只参与调控发育周期的某一个主要事件。

3.1 体外“持留”的调控

在体外黏膜人上皮细胞中生长的衣原体可以从其正常的发育周期进程进入一种“持留”状态。体外“持留”被定义为“有活力但不可培养的衣原体”,包括“体积增大、异常且不分裂的RB”。这种情况是可逆的,在去除诱导因素后其可转变为正常的感染性EB,这些诱导因素包括青霉素、干扰素、铁/营养缺乏、伴发疱疹感染,或者是宿主细胞成熟到其生理分化状态。由于衣原体基因组的上调或下调,以及衣原体的细胞发育周期进入正常进程后的宿主细胞反应不同,所有异常RB表型都不相同。

3.1.1 青霉素引起的体外“持留” MANIRE和MATSUMOTO^[79]将感染鹦鹉热衣原体的L929细胞培养在200 $\mu\text{g/mL}$ 青霉素中1小时。EB向RB的转化继续进行,但由于没有新的感染性EB继续感染并转化,发育周期明显停滞^[79]。透射电子显微照片显示正常RB继续生长,但不能发生二分裂式繁殖,并且可见肿大、形态异常的RB。一旦撤除青霉素,经过一段时间培养后,RB恢复正常大小,可进行细胞分裂增殖,并可转化为EB。此外,GALASSO和MANIRE^[80]证实,感染了HeLa细胞的鹦鹉热衣原体在含有青霉素和抗血清的培养基中可持续感染6~9个月。

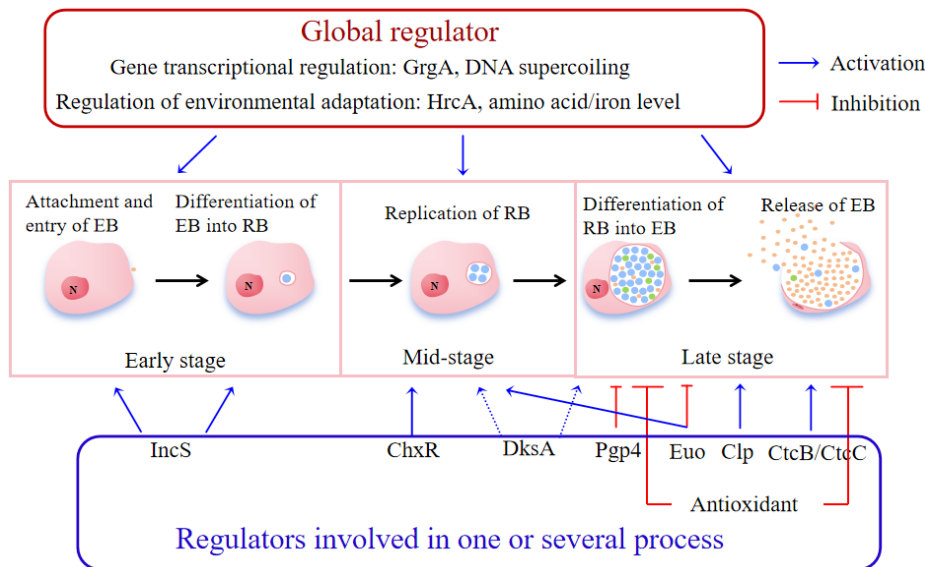


图3 沙眼衣原体发育周期调控因子

Fig.3 The regulatory factors of the *C. trachomatis* developmental cycle

当去除抗生素和抗体后, 具有感染性的EB恢复正常生长, 导致组织细胞的急性感染^[80]。

3.1.2 干扰素IFN- γ 引起的体外“滞留” BELLAND等^[10]将在HeLa细胞中生长的沙眼衣原体(血清型D)培养在有IFN- γ 的培养基中, 并且对其进行全基因转录组分析。结果表明, 在异常RB中许多参与活性代谢过程的基因上调: 包括参与DNA修复和重组、蛋白质翻译和磷脂利用的基因。此外, 与蛋白质水解、多肽转运、细胞分裂、RB到EB第二次转化和EB的DNA凝聚相关的基因(组蛋白基因)表达水平下降, 应激反应基因表达水平上升。

3.1.3 铁元素缺乏引起的体外“滞留” 几乎所有的原核生物都需要铁或相关的金属元素以维持生存, 专性胞内菌需要借助铁元素进入哺乳动物细胞并进行复制, 沙眼衣原体也不例外。在感染沙眼衣原体(血清型E)的HEC-1B中加入铁螯合剂, 会形成一种特殊持续性感染。在体积较小的包涵体中出现的RB, 呈现体积异常增大, 失去分裂能力, 并伴有松散的波浪形外膜的特征。去除铁螯合剂并补充铁饱和转铁蛋白, 可以逆转异常RB的状态并可将其转化为有感染能力的EB^[81]。

3.2 转录因子调控发育周期

沙眼衣原体基因组较小, 而且在沙眼衣原体的发育周期中只表达十几个转录因子, 这些转录因子与RNA聚合酶协同调控沙眼衣原体的生长^[11]。目前发现并确定的转录因子包括CtcC、ChxR、DksA、DcrA、Euo、GrgA、HrcA、PhoU、YebC、YtgR等, 其中部分蛋白参与沙眼衣原体细胞发育周期中一个事件的调控, 有些蛋白在整个发育周期都有调节作用。RNA聚合酶的 σ 因子识别并结合基因启动子区, 沙眼衣原体的 σ 因子有3个类型: $\sigma 66$ 、 $\sigma 28$ 和 $\sigma 54$ 。 $\sigma 66$ 是主要的 σ 因子, 可结合大约80%的基因启动子, $\sigma 28$ 结合部分后期基因的启动子, $\sigma 54$ 主要参与编码膜蛋白和III型分泌系统蛋白的相关基因的表达调控。另外, 有些质粒蛋白(Pgp4和Pgp5)不仅能调控质粒自身的基因, 还能调控染色体上的基因。

3.2.1 GrgA-Euo-HrcA调控网络 GrgA蛋白是最近发现的沙眼衣原体整体调控因子, 与 $\sigma 66$ 和 $\sigma 28$ 结合, 从而激活沙眼衣原体的大部分基因转录^[82-83](图3)。GrgA调控因子过量表达会显著影响沙眼衣原体的正常发育。具体表现为: 包涵体体积减小, EB向RB的转化延缓, 并且RB二分裂减少, 导致在发育周期晚

期新的EB转化量减少^[84]。当敲除*grgA*基因后, RB个体变小, 转化的EB更少。另外, GrgA对维持沙眼衣原体质粒的毒性有重要作用, 但其机理还不清楚^[85]。值得一提的是, GrgA还可激活早期基因*euo*和编码热休克蛋白调节因子的基因*hrcA*。*euo*是立即早期基因, Euo可抑制晚期基因过早表达, 以此保证沙眼衣原体的发育周期正常^[74-86]。较早的研究发现, GrgA在发育周期中期表达水平达到最高峰^[9-46], 之后逐渐下降, 但是发育周期后期*grgA*基因的调节因子未被发现。因此, 我们推测在沙眼衣原体的早期, 上一代剩余的GrgA蛋白首先激活Euo蛋白的表达, 使其在发育周期的立即早期迅速表达, 并且反过来抑制GrgA和一些晚期基因的过早表达。Euo和GrgA两个调控因子通过这种方式调节沙眼衣原体的发育周期早期, 保证EB到RB的转化顺利进行。另外, GrgA还激活一部分中期和晚期基因的转录。

另外, HrcA是热休克蛋白的抑制因子, 也在发育周期早期表达。在正常生长条件下, HrcA与启动子区有CIRCE(controlling inverted repeat of chaperone expression)元件的反向重复序列结合, 从而抑制下游的热休克相关基因表达^[87-88]。沙眼衣原体主要的热休克蛋白有DnaK、GroEL和GroES, 它们是参与蛋白质折叠和错误折叠蛋白的再折叠的分子伴侣, 与衣原体的发病机制密切相关^[89-90]。由于*dnaK*和*groE*(包括*groEL*和*groES*)的转录在热休克反应中上调, 所以被称为热休克基因。当生长环境的温度升高时, HrcA蛋白离开热休克基因启动子区的CIRCE元件, 使得热休克蛋白表达水平短暂的增加, 从而使沙眼衣原体不会因温度的升高而立即死亡^[91]。然而, 温度只是诱导热休克基因表达的机制之一, 它们更为准确的名称是应激反应基因, 因为它们可以受到渗透休克、pH值、乙醇和抗生素等多种应激源的调节^[92](图3)。

在GrgA过量表达的沙眼衣原体中*euo*和*hrcA*的转录水平增加。在HrcA过量表达的沙眼衣原体中*grgA*的转录先被抑制后开始上调, 其机制尚不清楚^[46], 而*euo*的转录一直被抑制。在Euo过量表达的沙眼衣原体中*grgA*的转录下降, 但*hrcA*的转录先被抑制后增多。由此看来, 在沙眼衣原体的发育周期中GrgA、Euo和HrcA 3个转录因子各调控不同时期的基因, 同时也互相调节彼此的转录。3个转录因子形成一个GrgA-Euo-HrcA调控网络, 使沙眼衣原体在正常情况和不同的环境中顺利完成发育周期。

3.2.2 DksA可能参与RB的复制与RB-EB转化 DksA是与细菌RNA聚合酶结合的转录因子,参与细菌的应激反应途径。沙眼衣原体基因组中*dksA*位于*nrdR*下游,与其下游的*lspA*一起转录*nrdR-dksA-lspA*操纵子,并且该3个基因间隔只有5~24 bp。该操纵子受*nrdR*的启动子调节,DksA与NrdR和脂蛋白信号肽酶(lipoprotein signal peptidase, LspA)一同表达,说明其功能与核酸代谢可能有关^[93]。在大肠杆菌中DksA是DnaK的抑制因子,同时也调控rRNA、核糖体蛋白、鞭毛成分及一些氨基酸的合成^[94],但在沙眼衣原体中尚未发现上述调节功能。在沙眼衣原体中DksA蛋白在RB-EB转化时表达水平最高,随后其含量开始下降^[93]。若在沙眼衣原体的早期过量表达DksA则会导致沙眼衣原体的复制受阻,同时产生的EB减少,说明DksA参与沙眼衣原体RB的复制和从RB向EB转化的过程(图3)。

3.2.3 双组份系统CtcB/CtcC可能激活晚期基因的表达 CtcC是沙眼衣原体目前已确定的唯一双组分信号转导系统CtcB/CtcC中的反应调节蛋白,能够进行自磷酸化和磷酸化转移反应。CtcC虽然缺乏与 $\sigma 54$ 启动子上游DNA结合的螺旋-转-螺旋基序^[95-96],但能通过寡聚化(形成二聚体和四聚体)来激活 $\sigma 54$ 全酶,从而调控参与编码膜蛋白和III型分泌系统蛋白的相关基因的表达。CtcC蛋白在沙眼衣原体RB转化为EB的过程中表达较多,可能在沙眼衣原体晚期基因表达调控中发挥作用^[97](图3)。研究人员发现,肽聚糖识别蛋白(peptidoglycan recognition proteins, PGLYRP)能够激活CtcB/CtcC,当PGLYRP与沙眼衣原体的细胞壁结合时,会引发该系统的激活,导致沙眼衣原体感染受到抑制^[98]。

RAU等^[99]和WYLLIE等^[100]较早时确定DrcA(divalent cation-dependent regulator)蛋白属于沙眼衣原体的铁吸收调控因子,同时也发现了其结合的保守序列^[99-100]。后来,KEMEGE等^[101]通过蛋白三维结构预测发现该蛋白没有结合DNA的结构域,因此还不能确定DrcA是否是转录调节因子,其对沙眼衣原体的发育周期是否有影响目前尚未有定论。磷酸盐调节蛋白PhoU(putative phosphate transport regulator),可能在特定条件下调控基因表达,但目前还不确定其是否参与沙眼衣原体的发育周期调控过程。YebC在沙眼衣原体中的转录作用还不明确,在其他细菌中的功能也报道较少。NICHOLSON等^[102]通过DNA microarray技术检测到该蛋白在沙眼衣原体的发育周期晚期

表达,可能参与RB转化为EB的过程。

3.2.4 内源性质粒对沙眼衣原体发育周期的调控 沙眼衣原体内源性的质粒有8个基因(*pgp1*~*8*)和2个ncRNA^[51]。Pgp1有类似DnaB的解旋酶活性,为质粒复制所必需^[102]。Pgp2、Pgp6和Pgp8是衣原体独特的蛋白,是维持内源性质粒的功能性蛋白^[102]。Pgp3是在衣原体感染过程中释放到宿主胞质溶胶中的蛋白^[103]。Pgp4是转录调控因子,主要调控*pgp3*和糖原合成相关的*glgA*等多个染色体基因的表达^[104]。Pgp5是转录抑制因子,也调控一些染色体基因的表达^[105-106]。GONG等^[107]发现沙眼衣原体质粒缺失导致糖原合成基因表达水平下降,包涵体缺乏糖原积累,导致衣原体生长异常,说明沙眼衣原体的质粒通过调节质粒本身基因和染色体基因的表达从而影响衣原体的发育周期。另外,ZHANG等^[104]发现Pgp4通过作用于Euo调控衣原体RB到EB的转变,从而调控衣原体细胞发育周期(图3)。

3.3 氨基酸水平调控发育周期

病原微生物从宿主细胞或者环境中摄取核苷酸、氨基酸、离子等能源以供自身的生长。宿主细胞往往通过减少可供的能源来抵抗这些病原体的感染,而病原体有不同的调控机制来对抗能源缺乏的困境。氨基酸缺乏可导致感染宿主细胞的沙眼衣原体生长受到抑制,进入“持留”状态,待自身调节通路激活获取足够的氨基酸后可恢复正常,继续生长。肺炎衣原体的ArgR通过依赖L-精氨酸的浓度来抑制*glnPQ*操纵子的表达,该操纵子与精氨酸转运相关,但在沙眼衣原体中并不表达此类转运蛋白^[108]。

沙眼衣原体自身无法直接合成色氨酸,但可通过*trpRAB*操纵子通道从宿主细胞获取色氨酸^[44]。*Trp*操纵子编码TrpR调控因子、色氨酸合成酶 α 亚基(TrpA)和 β 亚基(TrpB)以及一个非编码区间(intergenic region, IGR)^[109]。TrpR是色氨酸依赖的阻遏蛋白,当宿主细胞 γ 干扰素引起“色氨酸饥饿”时,大部分病原体的TrpR通过自身的转录抑制来促进TrpA和TrpB的表达,从而合成色氨酸^[110]。然而,沙眼衣原体的TrpR主要调控*trpR*的启动子,并不能直接调控*trpBA*的启动子。铁依赖的转录阻遏因子YtgR通过结合IGR来调控TrpA和TrpB的表达,而IGR又位于依赖色氨酸水平的*trpBA*启动子转录起始位点(transcriptional start site, TSS)前。这样的调控使得沙眼衣原体获取色氨酸的过程更复杂。

沙眼衣原体的YtgR是一种调控蛋白,它是融合

蛋白 YtgC-YtgR 经切割后产生的^[62]。铁离子可通过 YtgABCD 金属渗透酶进入细菌体内, 当细菌体内的铁离子充足时, YtgR 结合 *ytgABCD* 操纵子的启动区, 抑制该操纵子的表达。当细菌胞内铁离子不足时, YtgR 从该操纵子的启动区解离, 激活铁离子摄取基因的表达, 以此调控细菌体内外铁离子的水平^[111]。最近, NICK 等^[112]发现了铁离子依赖的色氨酸调控通路: 当铁离子充足的时候, YtgR 结合 *trpRAB* 操纵子的 IGR 区, 既抑制 TrpR, 同时也抑制 TrpA 和 TrpB 的表达。铁离子缺乏使 YtgR 的结合解除, 使 TrpR 组成型表达, 同时诱导 *trpBA* 的转录。反过来, YtgR 对 *trpBA* 的抑制也受到色氨酸的调节: 色氨酸通过 YtgCR 渗透酶前体中的三色氨酸 WWW 基序调节 YtgR 的水平。色氨酸缺乏时, YtgR 水平的降低激活了 TrpBA 表达。这种调节机制与衰减机制非常相似, 铁缺乏开启色氨酸补救途径, 色氨酸饥饿使 TrpBA 表达的铁依赖性抑制失效^[112]。这使得 YtgR 能够自定义其调节子以响应铁和/或色氨酸缺乏, 它能够将衣原体应激反应整合到两种以宿主营养免疫为核心的营养物质中, 以此调控沙眼衣原体的发育周期(图3)。

4 展望

除了以上列举的调节机制以外, 越来越多的研究也发现了其他参与沙眼衣原体发育周期的调控因素。例如 MARIA 等^[113]的研究发现早期基因表达产物 IncS 的突变促进沙眼衣原体 EB 向 RB 的转化, 在鼠肺炎衣原体中突变该蛋白导致其感染能力下降。该研究证明了部分包涵体膜蛋白 (Inc) 不仅在包涵体的成熟与稳定中有作用, 同时在衣原体的感染和早期的发育中同样起到关键作用。另外一项研究证明了沙眼衣原体中 ClpC 过量表达引起 EB 的更早发育成熟, 相反, 破坏其 ATP 酶活性导致沙眼衣原体的发育周期延缓^[114], 说明酪蛋白溶解蛋白酶(caseinolytic protease, Clp)也参与了衣原体发育周期的调控。虽然沙眼衣原体的基因组较小, 但它具有独特的发育周期以及复杂的基因表达调控机制, 可以根据环境和代谢信号进行调节, 因此, 研究其发育周期调控对治疗沙眼衣原体感染有至关重要的意义。虽然目前已知沙眼衣原体全部基因组的序列, 但还有一部分基因所表达的假定蛋白的功能需要鉴定, 还需通过更深入的研究确定这些基因在沙眼衣原体感染宿主细胞过程中所发挥的作用, 以及其调控沙眼衣原体发育周期的机理。

参考文献 (References)

- PANZETTA M E, VALDIVIA R H, SAKA H A. Chlamydia persistence: a survival strategy to evade antimicrobial effects *in-vitro* and *in-vivo* [J]. Front Microbiol, 2018, 9: 3101.
- ELWELL C, MIRRASHIDI K, ENGEL J. Chlamydia cell biology and pathogenesis [J]. Nat Rev Microbiol, 2016, 14(6): 385-400.
- RODRIGUES R, SOUSA C, VALE N. *Chlamydia trachomatis* as a current health problem: challenges and opportunities [J]. Diagnostics, 2022, 12(8): 1795.
- BACHMANN N L, POLKINGHORNE A, TIMMS P. Chlamydia genomics: providing novel insights into chlamydial biology [J]. Trends Microbiol, 2014, 22(8): 464-72.
- MOULDER J W. Interaction of chlamydiae and host cells *in vitro* [J]. Microbiol Rev, 1991, 55(1): 143-90.
- CLARKE I N, WARD M E, LAMBDEN P R. Molecular cloning and sequence analysis of a developmentally regulated cysteine-rich outer membrane protein from *Chlamydia trachomatis* [J]. Gene, 1988, 71(2): 307-14.
- HYBISKE K, STEPHENS R S. Mechanisms of host cell exit by the intracellular bacterium *Chlamydia* [J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2007, 104(27): 11430-5.
- MARTINELLI M, MUSUMECI R, RIZZO A, et al. Prevalence of *Chlamydia trachomatis* infection, serovar distribution and co-Infections with seven high-risk HPV types among Italian women with a recent history of abnormal cervical cytology [J]. Int J Environ Res Public Health, 2019, 16(18): 3354.
- BELLAND R J, ZHONG G, CRANE D D, et al. Genomic transcriptional profiling of the developmental cycle of *Chlamydia trachomatis* [J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2003, 100(14): 8478-83.
- NICHOLSON T L, OLINGER L, CHONG K, et al. Global stage-specific gene regulation during the developmental cycle of *Chlamydia trachomatis* [J]. J Bacteriol, 2003, 185(10): 3179-89.
- DOMMAN D, HORN M. Following the footsteps of Chlamydial gene regulation [J]. Mol Biol Evol, 2015, 32(12): 3035-46.
- HOGAN R J, MATHEWS S A, MUKHOPADHYAY S, et al. Chlamydial persistence: beyond the biphasic paradigm [J]. Infect Immun, 2004, 72(4): 1843-55.
- TAN M, WONG B, ENGEL J N. Transcriptional organization and regulation of the *dnaK* and *groE* operons of *Chlamydia trachomatis* [J]. J Bacteriol, 1996, 178(23): 6983-90.
- WILSON A C, WU C C, YATES J R, 3RD, et al. Chlamydial GroEL autoregulates its own expression through direct interactions with the HrcA repressor protein [J]. J Bacteriol, 2005, 187(21): 7535-42.
- WYRICK P B. *Chlamydia trachomatis* persistence *in vitro*: an overview [J]. J Infect Dis, 2010, 201 Suppl 2(Suppl 2): S88-95.
- EB F, ORFILA J, LEFEBVRE J F. Ultrastructural study of the development of the agent of ewe's abortion [J]. J Ultrastruct Res, 1976, 56(2): 177-85.
- MATSUMOTO A. Fine structures of cell envelopes of Chlamydia organisms as revealed by freeze-etching and negative staining techniques [J]. J Bacteriol, 1973, 116(3): 1355-63.
- BRICKMAN T J, BARRY C E, 3RD, HACKSTADT T. Molecular cloning and expression of *hctB* encoding a strain-variant chlamydial histone-like protein with DNA-binding activity [J]. J Bacteriol, 1993, 175(14): 4274-81.
- BARRY C E, 3RD, HAYES S F, HACKSTADT T. Nucleoid con-

- densation in *Escherichia coli* that express a chlamydial histone homolog [J]. *Science*, 1992, 256(5055): 377-9.
- [20] ABDELRAHMAN Y M, BELLAND R J. The chlamydial developmental cycle [J]. *FEMS Microbiol Rev*, 2005, 29(5): 949-59.
- [21] NICHOLS B A, SETZER P Y, PANG F, et al. New view of the surface projections of *Chlamydia trachomatis* [J]. *J Bacteriol*, 1985, 164(1): 344-9.
- [22] KIMBROUGH T G, MILLER S I. Contribution of *Salmonella typhimurium* type III secretion components to needle complex formation [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2000, 97(20): 11008-13.
- [23] FIELDS K A, MEAD D J, DOOLEY C A, et al. *Chlamydia trachomatis* type III secretion: evidence for a functional apparatus during early-cycle development [J]. *Mol Microbiol*, 2003, 48(3): 671-83.
- [24] CLIFTON D R, FIELDS K A, GRIESHABER S S, et al. A chlamydial type III translocated protein is tyrosine-phosphorylated at the site of entry and associated with recruitment of actin [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2004, 101(27): 10166-71.
- [25] GRIMWOOD J, STEPHENS R S. Computational analysis of the polymorphic membrane protein superfamily of *Chlamydia trachomatis* and *Chlamydia pneumoniae* [J]. *Microb Comp Genomics*, 1999, 4(3): 187-201.
- [26] GRIMWOOD J, OLINGER L, STEPHENS R S. Expression of *Chlamydia pneumoniae* polymorphic membrane protein family genes [J]. *Infect Immun*, 2001, 69(4): 2383-9.
- [27] EVERETT K D, HATCH T P. Architecture of the cell envelope of *Chlamydia psittaci* 6BC [J]. *J Bacteriol*, 1995, 177(4): 877-82.
- [28] TARAKTCHOGLU M, PACEY A A, TURNBULL J E, et al. Infectivity of *Chlamydia trachomatis* serovar LGV but not E is dependent on host cell heparan sulfate [J]. *Infect Immun*, 2001, 69(2): 968-76.
- [29] SU H, RAYMOND L, ROCKEY D D, et al. A recombinant *Chlamydia trachomatis* major outer membrane protein binds to heparan sulfate receptors on epithelial cells [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1996, 93(20): 11143-8.
- [30] CARABEO R A, HACKSTADT T. Isolation and characterization of a mutant Chinese hamster ovary cell line that is resistant to *Chlamydia trachomatis* infection at a novel step in the attachment process [J]. *Infect Immun*, 2001, 69(9): 5899-904.
- [31] DAVIS C H, RAULSTON J E, WYRICK P B. Protein disulfide isomerase, a component of the estrogen receptor complex, is associated with *Chlamydia trachomatis* serovar E attached to human endometrial epithelial cells [J]. *Infect Immun*, 2002, 70(7): 3413-8.
- [32] MASLOW A S, DAVIS C H, CHOONG J, et al. Estrogen enhances attachment of *Chlamydia trachomatis* to human endometrial epithelial cells *in vitro* [J]. *Am J Obstet Gynecol*, 1988, 159(4): 1006-14.
- [33] WYRICK P B, KNIGHT S T. Pre-exposure of infected human endometrial epithelial cells to penicillin *in vitro* renders *Chlamydia trachomatis* refractory to azithromycin [J]. *J Antimicrob Chemother*, 2004, 54(1): 79-85.
- [34] PLAUNT M R, HATCH T P. Protein synthesis early in the developmental cycle of *Chlamydia psittaci* [J]. *Infect Immun*, 1988, 56(12): 3021-5.
- [35] HATCH T P, MICELI M, SILVERMAN J A. Synthesis of protein in host-free reticulate bodies of *Chlamydia psittaci* and *Chlamydia trachomatis* [J]. *J Bacteriol*, 1985, 162(3): 938-42.
- [36] HATCH T P, MICELI M, SUBLETT J E. Synthesis of disulfide-bonded outer membrane proteins during the developmental cycle of *Chlamydia psittaci* and *Chlamydia trachomatis* [J]. *J Bacteriol*, 1986, 165(2): 379-85.
- [37] STORZ J, SPEARS P. Chlamydiales: properties, cycle of development and effect on eukaryotic host cells [J]. *Curr Top Microbiol Immunol*, 1977, 76: 167-214.
- [38] LEE J K, ENCISO G A, BOASSA D, et al. Replication-dependent size reduction precedes differentiation in *Chlamydia trachomatis* [J]. *Nat Commun*, 2018, 9(1): 45.
- [39] PETERSON E M, DE LA MAZA L M. Chlamydia parasitism: ultrastructural characterization of the interaction between the chlamydial cell envelope and the host cell [J]. *J Bacteriol*, 1988, 170(3): 1389-92.
- [40] FRIIS R R. Interaction of L cells and *Chlamydia psittaci*: entry of the parasite and host responses to its development [J]. *J Bacteriol*, 1972, 110(2): 706-21.
- [41] ENGEL J N, GANEM D. A polymerase chain reaction-based approach to cloning sigma factors from eubacteria and its application to the isolation of a sigma-70 homolog from *Chlamydia trachomatis* [J]. *J Bacteriol*, 1990, 172(5): 2447-55.
- [42] DE LA MAZA L M, PETERSON E M. Scanning electron microscopy of McCoy cells infected with *Chlamydia trachomatis* [J]. *Exp Mol Pathol*, 1982, 36(2): 217-26.
- [43] BROWN A C, CHRISTIANSEN M T. Whole-genome sequencing of *Chlamydia trachomatis* directly from human samples [J]. *Methods Mol Biol*, 2019, 2042: 45-67.
- [44] STEPHENS R S, KALMAN S, LAMMEL C, et al. Genome sequence of an obligate intracellular pathogen of humans: *Chlamydia trachomatis* [J]. *Science*, 1998, 282(5389): 754-9.
- [45] WURIHAN W, WANG Y, YEUNG S, et al. Expression activation of over 70% of *Chlamydia trachomatis* genes during the first hour of infection [J]. *Infect Immun*, 2024, 92(3): e0053923.
- [46] WURIHAN W, ZOU Y, WEBER A M, et al. Identification of a GrgA-Euo-HrcA transcriptional regulatory network in *Chlamydia* [J]. *mSystems*, 2021, 6(4): e0073821.
- [47] SOLBRIG M V, WONG M L, STEPHENS R S. Developmental-stage-specific plasmid supercoiling in *Chlamydia trachomatis* [J]. *Mol Microbiol*, 1990, 4(9): 1535-41.
- [48] BARRY C E, 3RD, BRICKMAN T J, HACKSTADT T. Hc1-mediated effects on DNA structure: a potential regulator of chlamydial development [J]. *Mol Microbiol*, 1993, 9(2): 273-83.
- [49] CHENG E, TAN M. Differential effects of DNA supercoiling on *Chlamydia* early promoters correlate with expression patterns in midcycle [J]. *J Bacteriol*, 2012, 194(12): 3109-15.
- [50] SCHAUMBURG C S, TAN M. A positive *cis*-acting DNA element is required for high-level transcription in *Chlamydia* [J]. *J Bacteriol*, 2000, 182(18): 5167-71.
- [51] ABDELRAHMAN Y M, ROSE L A, BELLAND R J. Developmental expression of non-coding RNAs in *Chlamydia trachomatis* during normal and persistent growth [J]. *Nucleic Acids Res*, 2011, 39(5): 1843-54.
- [52] RAO X, DEIGHAN P, HUA Z, et al. A regulator from *Chlamydia trachomatis* modulates the activity of RNA polymerase through direct interaction with the beta subunit and the primary sigma subunit [J]. *Genes Dev*, 2009, 23(15): 1818-29.
- [53] STEPHENS R S, WAGAR E A, EDMAN U. Developmental regu-

- lation of tandem promoters for the major outer membrane protein gene of *Chlamydia trachomatis* [J]. J Bacteriol, 1988, 170(2): 744-50.
- [54] BAE S H, YUN S H, SUN D, et al. Structural and dynamic basis of a supercoiling-responsive DNA element [J]. Nucleic Acids Res, 2006, 34(1): 254-61.
- [55] SINGH R, PANDEY S, SUR S, et al. PPEF: a bisbenzimidazole potent antimicrobial agent interacts at acidic triad of catalytic domain of *E. coli* topoisomerase IA [J]. Biochim Biophys Acta Gen Subj, 2019, 1863(10): 1524-35.
- [56] DRLICA K. Control of bacterial DNA supercoiling [J]. Mol Microbiol, 1992, 6(4): 425-33.
- [57] SHEN L, GAO L, SWOBODA A R, et al. Targeted repression of topA by CRISPRi reveals a critical function for balanced DNA topoisomerase I activity in the *Chlamydia trachomatis* developmental cycle [J]. mBio, 2024, 15(2): e0258423.
- [58] HICKEY J M, WELDON L, HEFTY P S. The atypical OmpR/PhoB response regulator ChxR from *Chlamydia trachomatis* forms homodimers *in vivo* and binds a direct repeat of nucleotide sequences [J]. J Bacteriol, 2011, 193(2): 389-98.
- [59] KOO I C, WALTHERS D, HEFTY P S, et al. ChxR is a transcriptional activator in *Chlamydia* [J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2006, 103(3): 750-5.
- [60] YANG C, KARI L, STURDEVANT G L, et al. *Chlamydia trachomatis* ChxR is a transcriptional regulator of virulence factors that function in *in vivo* host-pathogen interactions [J]. Pathog Dis, 2017, 75(3): ftx035.
- [61] CASE E D, AKERS J C, TAN M. CT406 encodes a chlamydial ortholog of NrdR, a repressor of ribonucleotide reductase [J]. J Bacteriol, 2011, 193(17): 4396-404.
- [62] AKERS J C, HODAC H, LATHROP R H, et al. Identification and functional analysis of CT069 as a novel transcriptional regulator in *Chlamydia* [J]. J Bacteriol, 2011, 193(22): 6123-31.
- [63] TIPPLES G, MCCLARTY G. The obligate intracellular bacterium *Chlamydia trachomatis* is auxotrophic for three of the four ribonucleoside triphosphates [J]. Mol Microbiol, 1993, 8(6): 1105-14.
- [64] TJADEN J, WINKLER H H, SCHWÖPPE C, et al. Two nucleotide transport proteins in *Chlamydia trachomatis*, one for net nucleoside triphosphate uptake and the other for transport of energy [J]. J Bacteriol, 1999, 181(4): 1196-202.
- [65] TIPPLES G, MCCLARTY G. Isolation and initial characterization of a series of *Chlamydia trachomatis* isolates selected for hydroxyurea resistance by a stepwise procedure [J]. J Bacteriol, 1991, 173(16): 4932-40.
- [66] GEHRE L, GORGETTE O, PERRINET S, et al. Sequestration of host metabolism by an intracellular pathogen [J]. eLife, 2016, 5: e12552.
- [67] RUCKS E A. Type III secretion in *Chlamydia* [J]. Microbiol Mol Biol Rev, 2023, 87(3): e0003423.
- [68] LIU X, AFRANE M, CLEMMER D E, et al. Identification of *Chlamydia trachomatis* outer membrane complex proteins by differential proteomics [J]. J Bacteriol, 2010, 192(11): 2852-60.
- [69] CHRISTENSEN S, HALILI M A, STRANGE N, et al. Oxidoreductase disulfide bond proteins DsbA and DsbB form an active redox pair in *Chlamydia trachomatis*, a bacterium with disulfide dependent infection and development [J]. PLoS One, 2019, 14(9): e0222595.
- [70] FIELDS K A, FISCHER E R, MEAD D J, et al. Analysis of putative *Chlamydia trachomatis* chaperones Scc2 and Scc3 and their use in the identification of type III secretion substrates [J]. J Bacteriol, 2005, 187(18): 6466-78.
- [71] EVERETT K D, HATCH T P. Sequence analysis and lipid modification of the cysteine-rich envelope proteins of *Chlamydia psittaci* 6BC [J]. J Bacteriol, 1991, 173(12): 3821-30.
- [72] WICHLAN D G, HATCH T P. Identification of an early-stage gene of *Chlamydia psittaci* 6BC [J]. J Bacteriol, 1993, 175(10): 2936-42.
- [73] ROSARIO C J, TAN M. The early gene product EUO is a transcriptional repressor that selectively regulates promoters of *Chlamydia* late genes [J]. Mol Microbiol, 2012, 84(6): 1097-107.
- [74] ROSARIO C J, HANSON B R, TAN M. The transcriptional repressor EUO regulates both subsets of *Chlamydia* late genes [J]. Mol Microbiol, 2014, 94(4): 888-97.
- [75] HAKIEM O R, RIZVI S M A, RAMIREZ C, et al. Euo is a developmental regulator that represses late genes and activates midcycle genes in *Chlamydia trachomatis* [J]. mBio, 2023, 14(5): e0046523.
- [76] SINGH V, OUELLETTE S P. Altering the redox status of *Chlamydia trachomatis* directly impacts its developmental cycle progression [J]. bioRxiv, 2024, <https://www.biorxiv.org/content/10.1101/2024.04.26.591247v2>.
- [77] WANG X, SCHWARZER C, HYBISKE K, et al. Developmental stage oxidoreductive states of *Chlamydia* and infected host cells [J]. mBio, 2014, 5(6): e01924.
- [78] DE OLIVEIRA M A, TAIRUM C A, NETTO L E S, et al. Relevance of peroxiredoxins in pathogenic microorganisms [J]. Appl Microbiol Biotechnol, 2021, 105(14/15): 5701-17.
- [79] MATSUMOTO A, MANIRE G P. Electron microscopic observations on the effects of penicillin on the morphology of *Chlamydia psittaci* [J]. J Bacteriol, 1970, 101(1): 278-85.
- [80] GALASSO G J, MANIRE G P. Effect of antiserum and antibiotics on persistent infection of HeLa cells with meningopneumonitis virus [J]. J Immunol, 1961, 86: 382-5.
- [81] RAULSTON J E. Response of *Chlamydia trachomatis* serovar E to iron restriction *in vitro* and evidence for iron-regulated chlamydial proteins [J]. Infect Immun, 1997, 65(11): 4539-47.
- [82] BAO X, NICKELS B E, FAN H. *Chlamydia trachomatis* protein GrgA activates transcription by contacting the nonconserved region of σ^{66} [J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2012, 109(42): 16870-5.
- [83] DESAI M, WURIHAN W, DI R, et al. Role for GrgA in regulation of σ^{28} -dependent transcription in the obligate intracellular bacterial pathogen *Chlamydia trachomatis* [J]. J Bacteriol, 2018, 200(20): e00298-18.
- [84] WURIHAN W, WEBER A M, GONG Z, et al. GrgA overexpression inhibits *Chlamydia trachomatis* growth through σ^{66} - and σ^{28} -dependent mechanisms [J]. Microb Pathog, 2021, 156: 104917.
- [85] LU B, WANG Y, WURIHAN W, et al. Requirement of GrgA for *Chlamydia* infectious progeny production, optimal growth, and efficient plasmid maintenance [J]. mBio, 2024, 15(1): e0203623.
- [86] ZHANG L, DOUGLAS A L, HATCH T P. Characterization of a *Chlamydia psittaci* DNA binding protein (EUO) synthesized during the early and middle phases of the developmental cycle [J]. Infect Immun, 1998, 66(3): 1167-73.
- [87] WILSON A C, TAN M. Functional analysis of the heat shock

- regulator HrcA of *Chlamydia trachomatis* [J]. J Bacteriol, 2002, 184(23): 6566-71.
- [88] WILSON A C, TAN M. Stress response gene regulation in *Chlamydia* is dependent on HrcA-CIRCE interactions [J]. J Bacteriol, 2004, 186(11): 3384-91.
- [89] LAVERDA D, KALAYOGLU M V, BYRNE G I. Chlamydial heat shock proteins and disease pathology: new paradigms for old problems [J]? Infect Dis Obstet Gynecol, 1999, 7(1/2): 64-71.
- [90] STEPHENS R S. The cellular paradigm of chlamydial pathogenesis [J]. Trends Microbiol, 2003, 11(1): 44-51.
- [91] RONCARATI D, PINATEL E, FIORE E, et al. *Helicobacter pylori* stress-response: definition of the HrcA regulon [J]. Microorganisms, 2019, 7(10): 436.
- [92] RAMOS J L, GALLEGOS M T, MARQUÉS S, et al. Responses of Gram-negative bacteria to certain environmental stressors [J]. Curr Opin Microbiol, 2001, 4(2): 166-71.
- [93] MANDEL C, YANG H, BUCHKO G W, et al. Expression and structure of the *Chlamydia trachomatis* DksA ortholog [J]. Pathog Dis, 2022, 80(1): flac007.
- [94] CHANDRANGSU P, LEMKE J J, GOURSE R L. The dksA promoter is negatively feedback regulated by DksA and ppGpp [J]. Mol Microbiol, 2011, 80(5): 1337-48.
- [95] MORETT E, BUCK M. *In vivo* studies on the interaction of RNA polymerase-sigma 54 with the *Klebsiella pneumoniae* and *Rhizobium meliloti* nifH promoters. The role of NifA in the formation of an open promoter complex [J]. J Mol Biol, 1989, 210(1): 65-77.
- [96] BARRIOS H, VALDERRAMA B, MORETT E. Compilation and analysis of sigma⁵⁴-dependent promoter sequences [J]. Nucleic Acids Res, 1999, 27(22): 4305-13.
- [97] KOO I C, STEPHENS R S. A developmentally regulated two-component signal transduction system in Chlamydia [J]. J Biol Chem, 2003, 278(19): 17314-9.
- [98] BOBROVSKY P A, MOROZ V D, LAVRENOVA V N, et al. Inhibition of Chlamydial infection by CRISPR/Cas9-SAM mediated enhancement of human peptidoglycan recognition proteins gene expression in HeLa cells [J]. Biochemistry, 2020, 85(11): 1310-8.
- [99] RAU A, WYLLIE S, WHITTIMORE J, et al. Identification of *Chlamydia trachomatis* genomic sequences recognized by chlamydial divalent cation-dependent regulator A (DcrA) [J]. J Bacteriol, 2005, 187(2): 443-8.
- [100] WYLLIE S, RAULSTON J E. Identifying regulators of transcription in an obligate intracellular pathogen: a metal-dependent repressor in *Chlamydia trachomatis* [J]. Mol Microbiol, 2001, 40(4): 1027-36.
- [101] KEMEGE K E, HICKEY J M, LOVELL S, et al. Ab initio structural modeling of and experimental validation for *Chlamydia trachomatis* protein CT296 reveal structural similarity to Fe(II) 2-oxoglutarate-dependent enzymes [J]. J Bacteriol, 2011, 193(23): 6517-28.
- [102] SONG L, CARLSON J H, WHITMIRE W M, et al. *Chlamydia trachomatis* plasmid-encoded Pgp4 is a transcriptional regulator of virulence-associated genes [J]. Infect Immun, 2013, 81(3): 636-44.
- [103] KHURSHID S, GOVADA L, WILLS G, et al. Chlamydia protein Pgp3 studied at high resolution in a new crystal form [J]. IUCrJ, 2018, 5(Pt 4): 439-48.
- [104] ZHANG Q, ROSARIO C J, SHEEHAN L M, et al. The repressor function of the *Chlamydia* late regulator EUO is enhanced by the plasmid-encoded protein Pgp4 [J]. J Bacteriol, 2020, 202(8): e00793-19.
- [105] LIU Y, CHEN C, GONG S, et al. Transformation of *Chlamydia muridarum* reveals a role for Pgp5 in suppression of plasmid-dependent gene expression [J]. J Bacteriol, 2014, 196(5): 989-98.
- [106] HUANG Y, ZHANG Q, YANG Z, et al. Plasmid-encoded Pgp5 is a significant contributor to *Chlamydia muridarum* induction of hydrosalpinx [J]. PLoS One, 2015, 10(4): e0124840.
- [107] GONG S, YANG Z, LEI L, et al. Characterization of *Chlamydia trachomatis* plasmid-encoded open reading frames [J]. J Bacteriol, 2013, 195(17): 3819-26.
- [108] SCHAUMBURG C S, TAN M. Arginine-dependent gene regulation via the ArgR repressor is species specific in chlamydia [J]. J Bacteriol, 2006, 188(3): 919-27.
- [109] FEHLNER-GARDINER C, ROSHICK C, CARLSON J H, et al. Molecular basis defining human *Chlamydia trachomatis* tissue tropism. A possible role for tryptophan synthase [J]. J Biol Chem, 2002, 277(30): 26893-903.
- [110] JOACHIMIAK A, KELLEY R L, GUNSALUS R P, et al. Purification and characterization of trp aporepressor [J]. Proc Natl Acad Sci USA, 1983, 80(3): 668-72.
- [111] POKORZYNSKI N D, BRINKWORTH A J, CARABEO R. A bipartite iron-dependent transcriptional regulation of the tryptophan salvage pathway in *Chlamydia trachomatis* [J]. eLife, 2019, 8: e42295.
- [112] POKORZYNSKI N D, HATCH N D, OUELLETTE S P, et al. The iron-dependent repressor YtgR is a tryptophan-dependent attenuator of the trpRBA operon in *Chlamydia trachomatis* [J]. Nat Commun, 2020, 11(1): 6430.
- [113] CORTINA M E, BISHOP R C, DEVASURE B A, et al. The inclusion membrane protein IncS is critical for initiation of the *Chlamydia* intracellular developmental cycle [J]. PLoS Pathog, 2022, 18(9): e1010818.
- [114] JENSEN A A, FIRDOUS S, LEI L, et al. Overexpressing the ClpC AAA+ unfoldase accelerates developmental cycle progression in *Chlamydia trachomatis* [J]. mBio, 2025, 16(1): e0287024.