

利用微生物基因组开发新型抗生素

谢建平^{1,2}, 乐 军¹, 王洪海^{1*}

(1. 复旦大学生命科学学院, 上海 200433; 2. 西南师范大学生命科学学院, 四川 重庆 400715)

关键词: 微生物基因组; 药物开发; 生物信息学; 靶位; 药物筛选模型

中图分类号: R318 文献标识码: A 文章编号: 0513 - 4870(2001)05 - 0396 - 05

20 世纪医药界最大成就之一是发现抗生素控制传染病, 但是细菌很快对它产生了耐药性。例如 1943 年开始工业化生产青霉素, 但是 1947 年就报道了耐药菌株。随后世界上不少机构开始监测耐药性的传播。1998 年英国发现链球菌菌血症患者中 30% 是由耐甲氧西林的金黄色葡萄球菌所致, 1994 年的比例仅为 2%; 美国 1979, 1987 年仅 0.2% 的肺炎球菌耐青霉素, 1994 年上升至 6.6% ([www.fda.gov/fdac/features/795 - antibio.html](http://www.fda.gov/fdac/features/795_antibio.html))。80 年代末 90 年代初发现耐万古霉素肠球菌, 1997 年分离到耐万古霉素金黄色葡萄球菌。更严重的是出现了同时耐多种药物的菌株。1968 年引起危地马拉 12 500 人死于腹泻的致病菌所含质粒可耐 4 种药物。筛选抗生素是通过负选择, 但是产生耐药却是正选择, 耐药菌株在种群中扩散迅速, 运动元件水平转移 (horizontal mobile element, HME) 在种内和种间都可发生, 耐药机制也日趋复杂。

除了耐药性, 介入疗法的使用日益广泛, 如何解决它所带来的微生物感染也是不容忽视的新课题。对付日益猖獗的耐药致病菌, 可采取一些临时措施如: 有效诊断, 加强控制措施, 全球范围监测和轮换用药, 合理设计药物配方, 改善医院等集中治疗单位的传染控制, 修饰现有抗生素, 开发耐药基因抑制剂等, 但从长远看还需寻找新药物靶位, 开发药物筛选新方法, 从组合化学库和天然产物筛选多种新药。微生物基因组学研究是抗(细菌、真菌)感染药物筛选方法发生革命, 微生物基因组全序列的测定迈出了关键的一步。本文综述微生物基因组在新型抗生素开发中的作用。

1 发现药物作用靶位

药物作用靶位往往是生存必需基因、毒力因子、耐药基因等。经典寻找细菌生存、毒力必需基因的手段是条件致死型突变、转座子突变。随机突变细菌基因组筛选相关表型。被条件突变后致死的基因往往是必需基因。条件致死突变导致基因产物在特定条件下功能异常(如大肠杆菌 37℃ 是生长许可条件, 而 42℃ 是禁止生长条件)。只有生存必需基因才能被条件突变筛选出, 但是约 1/3 蛋白是热稳定型, 很难突变为热不稳定型。而有些高温生长基因则可能导致假阳性; 部分基因可能是所有条件下生存都不可或缺。该技术应用虽广泛, 但不能发现所有必需基因, 甚至可能漏掉多数必需基因。

若转座元件插入后导致该被插入基因失活, 该基因可能是必需基因。但是, 由于转座插入效率低, 存在插入热点, 故该技术的有效性也不高。将体外转座与天然转化细菌技术结合(基因组分析和体外转座作图 GAMBIT), 使该技术的发展得到突破。构建一组长片段 PCR 产物(每个 ~10 KB), 这些片段相互重叠, 足以覆盖整个基因组。体外转座每段 PCR 产物(其好处是完全随机、高频率插入), 随后用体外转座突变 PCR 产物转化细菌。PCR 检测转座子插入位点以及每个开放阅读框 ORF 内插入数目。转座子未插入的基因视为标准实验条件下生存必需。对于较小的基因组, 该技术很快可完成作图且可用于寻找非标准条件下的生存必需基因。

基因组序列测定使微生物研究手段发生了革命性改进。目前已完成基因组全序列测定的微生物有 24 种 (www.tigr.org), 正在进行的有 40 余种。大量基因组数据储存在公共数据库, 可很方便地进行全基因组序列比较。目前微生物基因组对新发现的抗生素尚无直接作用, 但前景十分乐观: (1) 可以预测特定微生物全部可能基因产物; (2) 微生物缺

收稿日期: 2000-10-12.

作者简介: 谢建平, 男, 博士研究生;

王洪海, 男, 教授, 博士生导师。

* 通讯作者 Tel: (021) 65643777, Fax: (021) 65648376,

E-mail: jianpingxie@yahoo.com

少的功能(酶、代谢途径);(3)寻找微生物共同或特有基因。寻找药物靶位的工作实际上是从基因产物中寻找最佳靶位。优点是:可以专一性寻找靶位是多种微生物共有的还是仅存在于少数几种致病菌,从而筛选广谱或窄谱抗生素;通过与人类基因组序列比较还可及早排除和人类同源的靶位,避免对人的毒副作用,降低药物开发风险^[1]。可作为靶位的微生物基因或蛋白种类很多如:毒力基因,必需基因,种专一基因,独特酶类,膜转运蛋白等,发现它们的方法也多。

比较基因组学 通过测序可直接、系统而不是随机的鉴定靶位。可迅速列出全基因组可能含有的所有靶位,并采用细菌遗传学对上述结论进行验证。还可以搜索特定治疗所需抗生素的靶位类型。广谱抗生素的缺点是耐药菌扩散严重,可能杀死共生菌群,破坏人体健康需要的微生态环境。窄谱抗生素可以避免上述缺陷。比较基因组学可以按照基因功能分类,前提是对基因功能注释正确,并经实验确证。比较特定种细菌和与它进化关系遥远的细菌可发现有用信息,如营养基因和与致病有关的基因。除了只分析比较序列水平的差异外(eg BLAST-basic linear alignment search tool),利用大肠杆菌和枯草芽孢杆菌细胞代谢途径信息为参照,还可以预测:新序列的代谢能力、是否可能为必须代谢途径、是否为已知途径缺失的元件。

测序的惊人发现是找到了大量对其生化、遗传功能一无所知的功能未知基因,如研究已相当深入的大肠杆菌尚有 38% 基因未知功能。由此可见温度敏感突变研究手段的缺陷。测试 6 个 FUN (Function UNKNOWN),发现它们在细菌中相当保守。在迄今为止最小的基因组 *Mycoplasma genitalium* 中找到了 6 个对大肠杆菌生存必需的新基因。采用宿主相互作用蛋白为基础进行比较研究,发现其中 1 个基因被排除在最小基因组外。下面结合几类基因的检索方法综述比较基因组学技术在药物靶位发现中的作用。

毒力基因作为靶位 发现毒力基因的方法有体内表达技术 (*in vivo* expression technology, IVET)^[2]、DNA 芯片等。这些技术对所有微生物通用。非致病菌 *E. coli* K-12 MG1655 的基因组可作为分析其他微生物的基础。如: *E. coli* O157: H7、沙门氏菌、耶尔森氏菌。分析 MG1655 的基因组发现了致病区 (pathological island),毒力因子主要分布在染色体各处的致病区。致病区的特征是:GC 含量

高,密码子使用和基因密度与其他部分不同,起源相对晚。致病区编码的功能已知蛋白可以作为药物靶位。而功能未知蛋白难以预测药物作用的后果,例如大肠杆菌 O157: H7 产生志贺氏毒素与其溶原性噬菌体 933 W 所导致的细菌裂解偶联。如何从大量信息中挑出一个理想的靶位仍然是一个艰巨的挑战。因为毒力因子和致病区具有多态性,遗传组成弹性大。大肠杆菌从无毒变为有毒的途径很多,不仅是获得致病区或毒力因子,丢失一些基因片段也可以变成有毒株。减式 PCR 杂交方法不需全序列即可专一性扩增仅在致病菌存在的毒力因子^[3]。另外需确证挑选的靶位在宿主是否表达,是否为毒力或生存所必需?

必需基因 寻找必需基因的方法有缺失致死或转座子插入。转座子插入方法与 PCR 结合已经用于寻找流感嗜血杆菌、肺炎链球菌的必需基因。利用全基因组序列可以加快检索。其理论依据是:在不同进化阶段保守的基因往往是必需基因。生物信息学方法是基础性工作,只有知道了基因产物在细胞中的功能才能确证为靶位。这些基础性工作还可找出未知基因功能,填补细菌蛋白质组空白点^[4]。尚未研究过的保守蛋白在 Clusters of orthologous Groups of Protein 数据库中归入 S-COGs (www.ncbi.nlm.nih.gov/COG),在 PROSITE 数据库中归入 UPFS^[5]。全新蛋白家族可作为药物靶位,但不是每个研究组都有此研究实力。比较现实的是从已经研究过的蛋白中寻找那些某致病菌特殊且必须的蛋白作为靶位。

种专一性基因 预测靶位的方法可以采用基因组差示显示 (genome differential display)。原理:寄生微生物基因组远小于自由生存微生物基因组,编码的蛋白种类也少。寄生微生物基因组中存在但近种属中缺少的基因可能是致病关键,可以考虑作为靶位。该方法从流感嗜血杆菌和大肠杆菌找到了 40 个可望作为靶位的基因。同上述两菌比较,从幽门杆菌找到了 594 个特有基因,其中 398 个功能未知,123 个是宿主相互作用基因,73 个编码种专一蛋白(包括代谢酶、限制酶、转座酶、接合酶 conjugatase),丙酮酸:铁氧还蛋白氧化还原酶仅分布在该种,可作为靶位。一致性分析 (concordance) 也可寻找仅部分生物存在的基因,如结核分枝杆菌有而酵母缺少的基因以及原核生物有而真核生物缺少的蛋白。这些基因或蛋白不一定是原核生物必须,但是在原核生物中保守本身已经说明其重要性。

但该方法也不是万能的,因为随机选取符合值(score)推测相似性也可能发生差错。例如经实验证实酵母具有大肠杆菌 *fabD*, *galU*, *glnA* 基因的类似物,但是该方法却不能发现酵母的上述类似物。

基因组消减(subtraction) 利用 COG 数据库中进化上相距较远但已经测定全基因组序列微生物的保守蛋白。点击提示的系统演化类型,就会列出所有同一类型 COG,例如类型“- hu * * * *”, - 代表大肠杆菌基因组未发现相应蛋白, h 代表流感嗜血杆菌, u 代表幽门螺旋杆菌, * * * * 表示相应蛋白在其他生物基因组中可能存在也可能不存在。从 COG 数据库现在所有 21 个基因组中发现了 17 个蛋白家族为流感嗜血杆菌和(溃疡)幽门螺旋杆菌共有而大肠杆菌缺乏。其中 5 个包含有幽门螺旋杆菌耐酸和毒力所需的尿酶及其辅助蛋白。与基因组差示显示方法^[6]的结果相近:都找到了 II 型 3-dehydroquinase, 内源合成细胞色素 C 的基因 *CcdA* 及其他蛋白。流感嗜血杆菌特有而大肠杆菌和幽门螺旋杆菌没有的仅 7 个蛋白家族,其中有 2 个在原核生物中十分保守,参与维生素 B₆ 生物合成。该方法在寻找可作为靶位的、活性和底物专一性均已经知道的种专一性基因时十分有用。

独特酶类 抗生素多数是细菌关键酶的抑制剂。如抑制参与细胞壁生物合成的酶类、叶酸代谢酶类和核酸合成酶类等。所有细菌独特酶类均可作为靶位。基因组消减可鉴定出这些酶的编码基因,但需详细分析基因的蛋白产物,需比较所有已知的真核生物基因组(酵母、蠕虫、人、鼠)。将“基因组消减”方法略作修改为“途径消减”(pathologic) (<http://ecocyc.pangeasystems.com>, www.genome.ad.jp/kegg, <http://wit.mcs.anl.gov/WIT2>) 则可大大提高鉴定细菌专一代谢酶途径的效率,比如肽聚糖生物合成途径^[7]。

同工酶 许多酶都有同工酶,它们在不同生物中差异很大,可以选择催化相同反应但序列相似性低的作为靶位^[8]。在许多情况下,代谢重建不能鉴定出的代谢途径关键酶类往往可以考虑作为药物靶位。大肠杆菌中的 dehydrinase 型 1,6 二磷酸醛缩酶在衣原体中只有一个变异的醛缩酶。迄今为止,结核分枝杆菌 brotidine-5'-磷酸脱羧酶仅在分支杆菌属、黄色粘球菌、嗜热热杆菌中发现。

膜运输蛋白 同自由生活的微生物比较,致病菌的生物合成能力往往比较退化,依赖宿主提供营养如:氨基酸、核苷、维生素等。生物的营养物质运

输系统保守,容易鉴定。从测定一些致病菌不能代谢的氨基酸、核苷类似物抑制细菌的能力可筛选抑制剂。但是由于营养物质运输系统在人等高等生物中也存在,这样筛到的物质对人可能有毒副作用。衣原体和立克兹氏体的 ATP/ADP 转位酶是致病菌必需,而只有植物叶绿体、线粒体具有类似的该酶。许多致病菌基因组含有多药泵类似物,将抗生素输出至细菌细胞外,保护细菌。通过抑制细菌多药运输蛋白(泵),可改进现有抗生素活性。该方法还可构建研究药效的模式生物,研究克服耐药菌的新途径^[9]。

测定微生物基因组序列最初的一个主要动机是开辟有效防治微生物感染的新途径。可能作为药物作用靶位的有:外膜蛋白、与宿主相互作用因子、通透性酶、中间产物代谢酶、DNA 复制系统酶类、转录、修复、翻译过程等的酶类。最近报道细菌参与心脏病、胃癌、动脉粥样硬化的发生^[10]。微生物基因组的作用还只是初见端倪。如何尽快开发新抗生素还有待进一步研究。

2 开发高通量新药筛选系统

现在所用抗生素是通过筛选天然产物库中具有杀菌活性物质得到。这个方法重新引起人们注意。因为组合化学和新开辟的天然产物库提供了大量多样性的化合物供筛选。但是该技术的灵敏度低,许多化合物的靶位未知。微生物基因组技术在这方面大有作为。

传统的筛选系统通过纯化已知必需生化途径关键酶,体外测试化合物库筛选酶抑制剂。前提是已知相应靶蛋白的生化功能。这种蛋白为数不多,筛选到的化合物往往必须经修饰改造才能进入细胞。因此传统药物筛选方法的使用领域有限。全基因组遗传分析(GAMBIT,一个功能分析程序)能够识别大多数生存必需基因,寻找可能靶位,改进筛选系统,适合大量即使功能未知的靶位,第 2 代微生物基因组技术在此将起到中心作用。

替代(surrogate)标记 利用 RNA 表达谱分析、蛋白质组分析等技术比较待测靶位耗尽前后样品中基因或蛋白差异,抑制靶位后被去调控的基因、蛋白就是靶位生物活性的体现,即“替代标记”。体内表达小肽抑制剂(替代配基)等小分子物质或将生长许可条件换为禁止条件失活靶位,分离相应基因,将该基因构建到严紧调控型启动子下游,构建检测系统。该技术的关键是靶位/途径专一的反应能否被检测到,同样的胁迫反应是否在多数突变子中也占主要

地位。一般反应,可以检测到特异去调控蛋白表达。但是仅有蛋白水平证据不够,尚需转录水平证据。

替代标记如何与药物筛选联系起来呢?将作为替代标记基因的启动子与报道基因融合,报道基因表达动态反应去调控状况。这种筛选系统兼备体外筛选(靶位专一、灵敏、方法多样、容易筛选、利于合理优化结构、容易控制毒副作用)和全细胞筛选(可知道化合物的细胞通透性、重复性好、屡试不爽)的优势,而且不需靶位的具体功能信息。

替代配基(surrogate ligand) 替代配基是指能够与靶蛋白高亲和力结合(仅需微摩尔、纳摩尔),抑制靶位功能的小肽。体外筛选试验可从化合物库找到能与小肽竞争靶蛋白上结合位点的小分子(竞争性取代肽等)。多种技术可从肽库分离替代配基。最显著的是噬菌体表面显示技术。该技术是在丝状噬菌体表面随机显示肽库,通过生物富集程序(biopanning)分离结合肽段,纯化靶蛋白固定在固体支撑物上。重复粘附、洗脱程序分离带有结合肽段的噬菌体,测定捕获的每个噬菌体的 DNA 序列,从而鉴定与靶蛋白结合的肽的一级序列。该技术已经分离到几类不同结合亲和力肽段。例如激活 EPO 受体的激动剂(agonist),含有 14 个氨基酸一致序列(consensus sequence),包括一个二硫键的环肽。这种氨基酸序列尚未在 EPO 一级序列中报道过。该激动剂激发的信号传导途径与天然配体的相同。该技术在分离诸多蛋白的结合肽段作为药物先导物方面还大有潜力,其缺点是只能体外分离,多数情况还需要确证分离到的肽段在体内对靶位是否也有明显效应。从大肠杆菌分离的硫氧还蛋白可作为体内递呈肽段的模型。酵母双杂交技术分离到一个 aptamer,它的结合竞争性抑制依赖于周期素的激酶 Cdk2(cyclin-dependent kinase)。人培养细胞中表达该肽段后可以使细胞进入 G1 期的速率放慢。表达抑制 Dmcdk1,2 的 aptamer 的果蝇成虫眼部明显缺陷,呈现细胞周期被抑制的典型特征。由此可见,替代配基的功能即使在复杂系统如哺乳动物培养细胞和果蝇中也能够得到验证。而以细菌存活必需基因作为靶位检测起来十分简单,从细菌被抑制后是否死亡或生长是否受到抑制以及抑制的程度可以判断配体及蛋白的功能相关位点。

蛋白质-蛋白质相互作用 从微生物基因组中发现了许多详细功能信息未知的药物靶位。蛋白质-蛋白质相互作用技术结合大规模功能分析能够在细胞真实代谢途径背景下筛选优化这些靶位。原理

是:酵母转录激活因子的反式激活区与 DNA 结合区可以分开,蛋白因此而失活。拉近这两个区域的物理距离可以恢复被分开区域的活性。分别构建这两个区域的融合蛋白,通过检测报道基因是否被转录激活可以判断相应的融合蛋白之间是否能够发生相互作用。该技术的缺点是费力、每次筛选的假阳性率高,不能区分是否有自激活蛋白(autoactivator)功能域与 DNA 结合载体结合和粘蛋白效应(能够非特异与多种蛋白结合)。若欲大规模分析必须解决上述问题。德国 Genome Pharmaceuticals Corporation 发明 PathCode™程序便可解决这一问题:将筛选得到的阳性酵母克隆分别影印培养(replica)到 3 种不同培养基上,第 1 种培养基检测 LacZ 报道质粒是否存在;另外两种培养基分别反选择(counterselect)两个质粒之一是否存在,LacZ 如果在后两个培养基的任何一个上都为阳性的克隆就是假阳性。该公司的软件 Biochip Explorer™可以通过数码成像技术一次分析大量克隆。一次即可完成整个库的筛选。

筛选可破坏/抑制蛋白质相互作用的小分子(逆向双杂交),可直接进行药物先导物筛选,也可获得被小分子影响的蛋白质相互作用所涉及的靶位信息。

DNA 芯片 杂交比较不同菌株之间在转录水平的差异,确定化合物作用机制,区分化合物作用在同一代谢途径的具体步骤,找出潜在的次级靶位,不需测序和详细生化知识。将代表结核分枝杆菌 H37R 有毒株全基因组约 97%开放阅读框的寡核苷酸点在芯片上,将卡介苗和牛型分枝杆菌的 RNA 与它杂交,可以迅速发现致病和非致病种类之间基因组区域的差异,该差异区基因可能和新药及疫苗开发有密切关系。

3 微生物基因组在药物开发其他阶段的作用

基因组学不但可以鉴定、确证靶位,开发高通量药物筛选系统,而且对于药物开发其他阶段如先导物优化、毒性研究、临床研究等都有重要作用。

将药物作用机理和基因表达谱类型联系起来,将研究药物作用机理的工作变为研究药物对细胞全基因组表达谱的影响。DNA 芯片测试细胞基因表达类型,因化合物作用所致的细胞全局表达类型变化反映该化合物作用机理,即引起相似表达类型变化的化合物的性质也相似。用代表酵母几乎全部开放阅读框的高密度 DNA 芯片从组合化合物库中筛选到了两个新的激酶抑制剂。同无抑制活性的结构相关化合物对细胞全局表达类型变化情况比较,这

两个激酶抑制剂的体外抑制谱相同 (cdc28p, pho85p) 但是对全基因组表达类型的影响则有很大差异, 抑制剂处理使 3% 的基因表达变化达到 2 倍, 而对照 (其他结构相似物) 引起变化仅 0.03%。被抑制剂影响的基因部分参与细胞周期及磷酸代谢, 同体外抑制激酶谱一致。对照则对被抑制剂影响的基因几乎无影响。由此可见, 对药物敏感机制有相当部分是对功能信号反应而并非是药物结构。

不少制药公司和生物技术公司正从大量化合物库筛选抗菌活性物质, 以加速药物开发。在研究抗结核病药物异烟肼对基因组表达谱全局影响时发现: 异烟肼诱导表达的基因编码细胞膜脂类生物合成途径的酶类。这就将药物作用机理和基因表达谱类型联系起来, 将研究药物作用机理的工作变为研究药物对细胞全基因组表达谱的影响。但对于仅有杀菌或抑菌活性报道的化合物尚需大量其他相关数据如: 参照化合物作用机理、对条件致死型突变子的作用等, 因此基因组表达谱变化对于全新化合物作用机理研究究竟有多大作用, 尚需进一步研究。

新药筛选早期风险评估与控制 初筛发现了一种抗动脉粥样硬化的化合物, 可使低密度脂蛋白水平剧减, 但对培养细胞基因组表达谱的影响与另外一种完全不同的化合物极其相似, 已知后者有毒性, 不适合作为药物。这样就可及早排除, 避免资源不必要浪费。由此也产生了一门学科新分支——毒理基因组学。

结合人类基因组项目和基因组学技术, 抗感染新药开发将会更加有效, 针对性更强, 产生更加合理的所谓个性化诊断、治疗。

结 论

耐药菌株不断增加和新药相对缺乏要求有高效的技术加速新药的开发。加快药物作用靶位鉴定、

确证, 构建高效的新药筛选系统, 使药物开发后期工作更趋合理, 尽量避免资源浪费, 缩短先导物识别和新药面市周期, 降低药物开发成本的任务十分紧迫。微生物基因组将在此研究中起重要的作用。

REFERENCES:

- [1] Moir DT, Shaw KJ, Hare RS, *et al.* Genomics and antimicrobial drug discovery [J]. *Antimicrob Agents Chemother*, 1999, **43**: 439 - 446.
- [2] Mahan MJ, Tobias JW, Schlauch JM, *et al.* Antibiotic-based selection for bacterial genes that are specifically induced during infection of a host [J]. *PNAS*, 1995, **92**: 669 - 673.
- [3] Akopyants NS, Frdtkov A, Diatchenko L, *et al.* PCR-based subtractive hybridization and differences in gene content among strains of *Helicobacter pylori* [J]. *PNAS*, 1998, **95**: 13108 - 13113.
- [4] Apfel CN, Takacs B, Fountoulakis M, *et al.* Use of genomics to identify bacterial undecaprenyl pyrophosphate synthetase: cloning, expression, and characterization of the essential uppS gene [J]. *J Bacteriol*, 1999, **181**: 483 - 492.
- [5] Koonin EV, Tatusov RL, Galperin MY. Beyond the complete genomes: from sequences to structure and function [J]. *Curr Opin Struct Biol*, 1998, **8**: 355 - 363.
- [6] Huynen M, Dandekar T, Bork P. Differential genome analysis applied to the species-specific features of *Helicobacter pylori* [J]. *FEBS Lett*, 1998, **426**: 1 - 5.
- [7] Karp PD, Krummenacher M, Paley S, *et al.* Integrated pathway genome databases and their role in drug discovery [J]. *Trends Biotechnol*, 1999, **17**: 275 - 281.
- [8] Galperin MY, Walker DR, Koonin EV. Analogous enzymes: independent inventions in enzyme evolution [J]. *Genome Res*, 1998, **8**: 770 - 790.
- [9] Hsien PC, Siegel SA, Rogers B, *et al.* Bacteria lacking a multidrug pump: a sensitive tool for drug discovery [J]. *PNAS*, 1998, **95**: 6602 - 6606.
- [10] Kalman S, Mitchell W, Marathe R, *et al.* Comparative genomes of *Chlamydia pneumoniae* and *C. trachomatis* [J]. *Nat Genet*, 1999, **21**: 385 - 389.

HARNESSING THE MICROBIAL GENOME TO DEVELOP NOVEL ANTIBIOTICS

XIE Jiar-ping^{1,2}, LE Jun¹, WANG Hong-hai¹

(1. Section of Pathogen biology, School of Life Science, Fudan University, Shanghai 200433, China;
2. School of Life Science, Normal University of South west China, Chongqing 400715, China)

KEY WORDS: microbial genome; drug development; bioinformatics; drug target; model for drug screening