

## 感染布氏杆菌后的 THP-1 细胞的蛋白质组学研究

高永辉<sup>1</sup>, 任 昶<sup>2</sup>, 应天翼<sup>3</sup>, 王希良<sup>1\*</sup>

(<sup>1</sup> 军事医学科学院微生物流行病学研究所 病原微生物生物安全国家重点实验室免疫室 北京 100071)

(<sup>2</sup> 北京朝阳医院 北京 100043)

(<sup>3</sup> 军事医学科学院生物工程研究所 北京 100071)

**摘 要:** 在布氏杆菌(*Brucella*)的感染免疫过程中, 单核巨噬细胞的应答起着非常关键的作用, 而毒力不同的布氏杆菌引起的宿主反应截然不同。用双向电泳技术对 THP-1 单核细胞受毒力不同的布氏杆菌株侵袭后的全细胞蛋白谱进行差异比较和分析, 共发现了 38 个差异表达的蛋白质点。这些点经过胶内酶切后进行 MALDI-TOF 质谱鉴定, 每个蛋白质点的肽质量指纹图谱都在人类的蛋白质组数据库中用 Mascot 进行检索后, 发现这些差异表达的蛋白主要集中在结构蛋白、信号传导途径和物质代谢等领域, 还有一些功能未知的蛋白。这一结果为研究布氏杆菌的感染与致病机制提供了方向, 对深入探讨病原菌-宿主的相互作用模式具有参考价值。

**关键词:** 布氏杆菌; THP-1 细胞; 比较蛋白质组学; 双向电泳; 质谱

**中图分类号:** R516.7 **文献标识码:** A **文章编号:** 0001-6209(2006)04-0629-06

布氏菌病(Brucellosis)是威胁人类健康和畜牧业发展的重要传染性疾病, 布氏杆菌强毒株 544A 是典型胞内致病菌, 主要在宿主单核巨噬细胞等免疫系统的细胞内存活和繁殖引起布氏菌病<sup>[1-3]</sup>。布氏杆菌减毒株 104M 不但能逐渐被宿主清除, 且可产生抗布氏杆菌的抗体进而对宿主起到保护作用<sup>[4,5]</sup>, 目前导致这种差别的机制还不很清楚, 但研究认为布氏杆菌强毒株在体内存活复制主要是通过以下策略<sup>[6]</sup>:(1)抑制吞噬体(phagosome)的成熟, 使吞噬了布氏杆菌的巨噬细胞不能与溶酶体正常融合, 从而产生一个具有内吞体性质而非溶酶体性质的有益于细菌在细胞内存活的空间。(2)抑制巨噬细胞凋亡。(3)可充分利用宿主吞噬细胞内的解毒和修复机制。其中在布氏杆菌感染早期抑制吞噬体成熟被认为是布氏杆菌逃避宿主细胞吞噬的重要原因, 可见在细菌感染过程中, 宿主和病原体的早期相互作用具有非常重要的意义, 这种相互作用直接决定感染的结果——要么病原体被宿主的防御体系清除, 要么病原体在宿主内存活复制而导致宿主感染。采用比较蛋白质组学策略来研究感染过程中宿主的差异表达蛋白不仅有助于全面理解宿主反应的分子机制和病原微生物的致病机理, 还有可能鉴定到新的分子标记物以及药物靶标, 为此本研究从蛋白质水平来揭

示不同毒力布氏杆菌感染后的早期宿主反应, 从分子水平上揭示与布氏杆菌不同毒力相关的宿主反应。这将有利于深入探讨布氏杆菌的感染过程, 解密布氏杆菌-宿主相互作用的机制, 寻找根除布氏病的关键靶点。

## 1 材料和方法

### 1.1 材料

**1.1.1 菌株、细胞与培养:** 牛种布氏杆菌强毒株 544A 购自中国兽医药品监察所, 减毒株 104M 购自兰州生物制品研究所。无菌条件下将布氏菌接种于布氏菌胰酶蛋白大豆琼脂斜面培养基中, 放入含 5% CO<sub>2</sub>、37℃温箱中培养, 两天后菌落长出, 挑选光滑型菌落再接种于斜面培养基上两天后待用。THP-1 细胞由军事医学科学院温博海教授惠赠。在无抗的 1640 培养基中常规培养。

**1.1.2 主要试剂和仪器:** IPG 干胶条(18cm, pH3-10NL)和 IPG 缓冲液(pH3-10NL), 2D-Quant 蛋白定量试剂盒、矿物油、二硫苏糖醇(DTT), Tris、溴酚蓝等为 Amersham pharmacia 公司产品。测序级胰蛋白酶是 Roche 公司产品。冰乙酸、无水乙醇、无水甲醇、正丁醇、甘油为国产分析纯。甲醛为优级纯。乙腈为一级色谱纯。吸头与离心管是 AXYGEN 公司产

基金项目: 国家自然科学基金(30170853)

\* 通讯作者。Tel 86-10-66948678 E-mail xiliangw@yahoo.com

作者简介: 高永辉(1974-), 女, 北京人, 主管技师, 硕士, 研究方向为抗感染免疫。E-mail jrenversun@163.com

收稿日期 2005-10-26, 接受日期 2006-02-22, 修回日期 2006-03-27

品。双向电泳第一向等电聚焦仪为 IPGphor (Amersham Pharmacia), 第二向垂直板电泳仪为 Protean II X (Bio-Rad)。扫描仪为 ImageScanner, 双向电泳凝胶图像分析软件是 ImageMaster 2D Elite 5.0 (Amersham pharmacia)。质谱仪是 Reflex. III MALDI-TOF-MS (Bruker)。

## 1.2 样品准备

按文献 [7, 8] 的方法进行侵袭及菌落计数。侵袭结束后, 1500r/min 离心 10min 收集细胞。然后用预冷的低盐清洗缓冲液 (3mmol/L KCl, 1.5mmol/L  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ , 68mmol/L NaCl, 9mmol/L  $\text{NaH}_2\text{PO}_4$ ) 洗细胞 3 次后, 将细胞收集到 1.5mL 低吸附的 EP 管中, 1500r/min 离心 10min, 弃上清。加入 0.7mL 超声裂解液, 冰浴超声 2min (SONICS VC 750, 小探头, 最大功率的 25%, 脉冲 2s, 停 2s)。室温放置 1h 以上让蛋白质充分溶解。45000 × g (Sigma 3K12, Nr. 12154) 离心 1h 去除不溶性沉淀, 取上清用 2-D Quant Kit 测定蛋白质浓度。

## 1.3 双向电泳

IPGphor 第一向等电聚焦电泳主要是依据 1998 年 Amersham Pharmacia Biotech 公司操作手册进行, 并参照 Gorg<sup>[9]</sup> 描述的方法进行一些改进。取 800 $\mu\text{g}$  样品, 加入 1.34 $\mu\text{L}$  IPG (Ph3-10) 缓冲液, 然后加水化液 (266.66 $\mu\text{L}$ ) 至总体积为 350 $\mu\text{L}$ 。对照组加 1.325 $\mu\text{L}$  IPG (Ph3-10) 缓冲液, 然后加水化液 (263.675 $\mu\text{L}$ ) 至总体积为 350 $\mu\text{L}$ 。15℃, 40000g 离心 20min, 取上清上样。等电聚焦程序是: 重泡胀 2h, 30V 10h, 200V 1h, 500V 1h, 1000V 1h, 8000V 13h 至等电聚焦完成。

第一向电泳后胶条的平衡。准备两管 10mL 的 SDS 平衡缓冲液 (50mmol/L pH8.8 的 Tris-HCl, 6mol/L 尿素, 30% 甘油, 2% SDS, 痕量溴酚蓝), 分别加入 100mg DTT 和 450mg 碘乙酰胺。胶条在上述两管中分别平衡 15min, 再用纯水洗一遍, 冲干净, 吸净水。

第二向 SDS-PAGE 胶浓度为 12.5%, 采用恒流方式电泳, 15℃ 循环水冷却, 先 20mA/凝胶电泳 30min, 待溴酚蓝前沿进入 SDS-PAGE 约 5mm 时将电流加大至 60mA/凝胶。当溴酚蓝迁移至离凝胶底部约 3mm 时终止电泳, 电泳凝胶的考马斯亮蓝染色参照文献 [10]。

## 1.4 图像扫描和分析

染色完成的双向电泳凝胶经 ImageScanner 扫描仪扫描保存图像。透射扫描, 光学分辨率为 400dpi。

图像分析用 ImageMaster 2D Elite 5.0。蛋白质点的分子量根据同步电泳的蛋白质分子量标准计算, 等电点直接按所用 IEF 胶条的 pH 范围计算。

## 1.5 胶内酶切及 MALDI-TOF 质谱检测

胶内酶切的方法参见文献 [11]。质谱检测由国家生物医学分析中心来完成。

## 1.6 数据库查询

登陆互联网 (<http://www.matrixscience.com>), 用 Mascot 程序在相应数据库中对 MALDI-TOF 质谱检测得到的肽质量指纹图谱进行检索。进入检索界面, 首先选择数据库与种属: 网上在线检索选用 NCBI 数据库, 将种属限定为 homo sapiens (human), 然后根据实验过程来判断蛋白质会经受哪些修饰而作相应的选择: 氨基酸修饰可能的修饰方式选 Carbamidomethy (C), Oxidation (M) 修饰; 再设定检索时可接受的肽段分子量误差 (设为 150mg/L)。最后将肽质量指纹图谱数据直接复制递交给 Mascot 数据框 (去掉常见的胰酶自切峰), 点击 '检索' 图标, 等待网站返回检索结果并保存。为了排除差异点为细菌成分的可能性, 我们将种属限定为 bacteria, 同样进行了检索。

# 2 结果

## 2.1 感染布氏菌强毒株和减毒株后 THP-1 细胞的双向电泳图谱

THP-1 细胞的全细胞蛋白从双向电泳的结果来看基本分布在 pH3 ~ 10, 经过 6 次重复实验认为结果稳定可信, 电泳图经过图像分析软件 ImageMaster 2D Elite 5.0 分析, 以点占整张胶丰度的百分数 (即 volume%) 相差 5 倍为差异标准, 共找出 38 个差异显著的点, 两组比较, 104M 侵袭组表达升高的有 21 个点, 544A 侵袭组表达升高的有 17 个点。(图 1)。

## 2.2 差异蛋白的质谱查询结果

选择 Homo Sapiens 基因组数据检索后, 对差异蛋白进行代谢途径、功能的检索并归类, 得到的检索结果及相应信息见表 1。这些蛋白质中有 10 个蛋白是参与信号传导与转录调控的, 有 6 个是参与细胞骨架组成的, 有 3 个是与细胞内的应激反应有关的, 有 8 种是与细胞内物质代谢有关的, 包括蛋白代谢、糖代谢和脂肪代谢等, 另外是一些功能未知的蛋白。选择 bacteria 基因组数据库检索, 38 个蛋白点的得分值都小于 64, 因此排除了差异点为细菌成分的可能。

表 1 差异蛋白质的质谱检索结果及相关信息

Table 1 Database searching results and related information of interesting spots mentioned in Fig.1

No.	Common name	Score	NCBI GI identifier	pH	Mass	Sequence coverage	Main role
1	protein disulfide isomerase-related protein 5	70	gi 1710248	4.95	46170	28%	Unknown
2	Ras-GTPase-activating protein SH3-domain-binding protein variant	75	gi 62896771	5.42	52106	38%	Signal transduction
3	zyxin	66	gi 51094533	6.22	61238	25%	Structure protein
4	transformation-related protein 15	139	gi 33415059	5.73	366714	37%	Unknown
5	Rho GDP dissociation inhibitor ( GDI ) alpha	75	gi 30582607	5.02	23193	25%	Signal transduction
6	Chain B ,Crystal Structure of A Rac-RhoGDI Complex	74	gi 9955206	6.16	20464	31%	Signal transduction
7	Glyoxalase I	159	gi 15030212	5.12	20824	54%	Carbohydrate metabolism
8	gamma-actin	83	gi 178045	5.65	25862	29%	Structure protein
9	PSMB4	88	gi 48145757	5.7	29171	44%	Protein degradation
10	peroxiredoxin 6	104	gi 56204402	6	25019	50%	Cell stress and defense
11	proliferation associated cytokine-inducible protein CIP29	85	gi 20069116	6.1	23656	35%	Cell proliferation
12	proteasome ( prosome , macropain ) subunit , alpha type , 1	110	gi 30582133	6.15	29579	41%	Protein degradation
13	glutathione S-transferase omega 1-1	67	gi 55925946	6.23	27548	20%	Structure protein
14	enoyl-CoA hydratase	138	gi 1922287	8.34	31351	51%	Fatty metabolism
15	proteasome ( prosome , macropain ) subunit	71	gi 8394076	6.34	27382	45%	Protein degradation
16	Phosphoglycerate mutase 1	131	gi 38566176	6.67	28802	46%	Carbohydrate metabolism
17	Coronin , actin binding protein , 1B	89	gi 13623649	5.61	54200	24%	Structure protein
18	DEAD ( Asp-Glu-Ala-Asp ) box polypeptide 39 , isoform 1	128	gi 12654373	5.46	49098	48%	Regulation of rebonuclease splicing
19	CAPZA1 protein	131	gi 12652785	5.45	32902	52%	Unknown
20	serine/threonine protein phosphatase catalytic subunit	69	gi 6537210	5.54	35419	28%	Signal transduction
21	capping protein alpha	85	gi 433308	5.58	32727	45%	Structure protein
22	transformation-related protein 5	213	gi 37779174	5.71	36615	55%	Unknown
23	immunoglobulin heavy chain CDR3	64	gi 46811628	9.23	12910	42%	Unknown
24	Rho GDP dissociation inhibitor beta	84	gi 20379030	5.1	22974	48%	Signal transduction
25	ERp28	103	gi 3413293	6.77	28975	37%	Protein degradation
26	high-mobility group box 1 variant	77	gi 62087576	9.75	20151	53%	Transcription regulation
27	target of methylation-induced silencing-1	96	gi 9802276	5.66	19956	32%	Signal transduction
28	thyroid autoantigen 70kDa	65	gi 57165052	6.23	69799	17%	Unknown
29	lamin A/C transcript variant 1	121	gi 57014043	6.73	74037	32%	Unknown
30	WD repeat-containing protein 1 , isoform 1	196	gi 12803341	6.17	66152	37%	Signal transduction
31	adenyl cyclase-associated protein variant	113	gi 62896585	8.07	51614	33%	Unknown
32	PRP19/PSO4 pre-mRNA processing factor 19 homolog	124	gi 17391461	6.14	55146	41%	Unknown
33	PREDICTED : similar to RuvB-like protein 1	136	gi 57100857	6.02	50196	41%	Unknown
34	DNAJC7 protein	125	gi 40225850	6.56	56405	34%	Unknown
35	peroxiredoxin 3 isoform b	82	gi 32483377	7.04	25822	43%	Cell stress and defense
36	ACTB protein	137	gi 15277503	5.55	40194	44%	Structure protein
37	heat shock 70kDa protein 8 isoform 2 variant	143	gi 62896815	5.62	53466	43%	Cell stress and defense
38	ER-60 protease	123	gi 1208427	5.98	56761	32%	Protein degradation

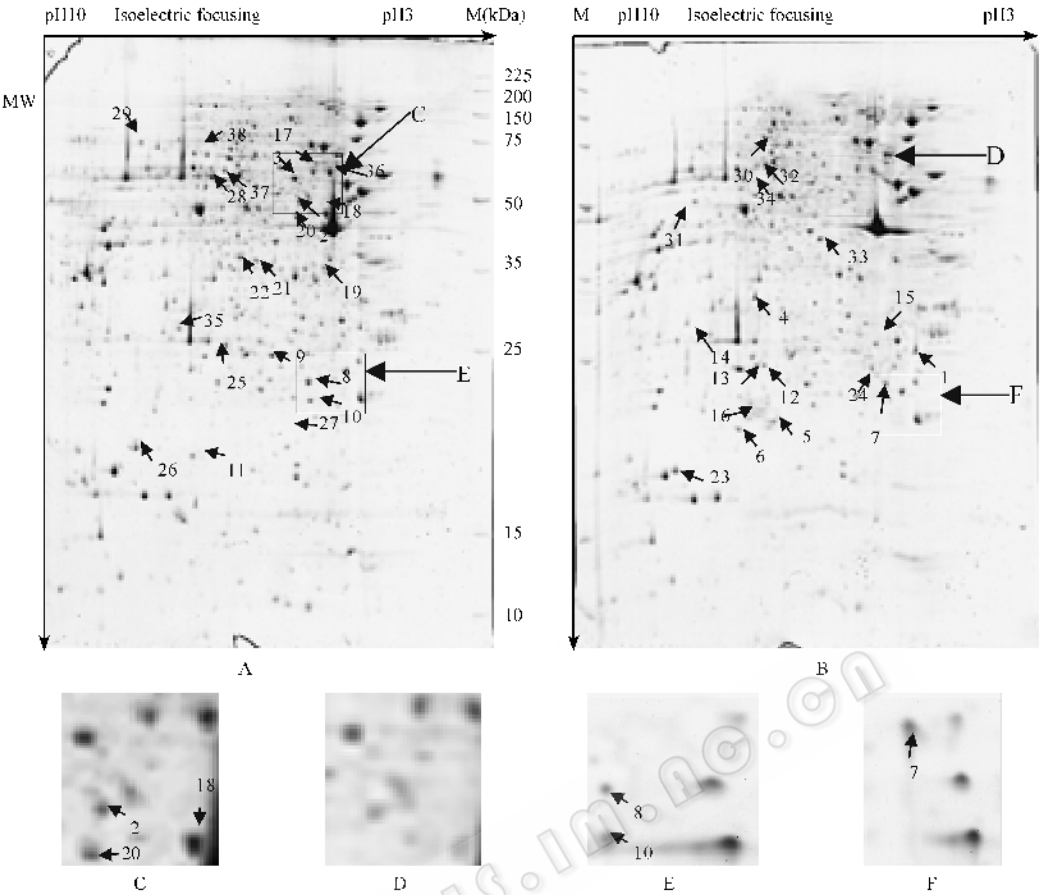


图 1 感染不同布氏菌株 104M (A) 和 544A (B) 后 THP-1 全细胞差异蛋白图

Fig.1 Interesting spots in 2-D PAGE map of THP-1 infected with 104M (A) and 544A (B). Arrows indicate the difference. The expression levels of the arrow-indicated proteins increased compared with the other group. C, D, E, F are the magnified maps in the local regions.

3 讨论

任何一种细菌感染细胞后都会引起宿主细胞一定的变化,这种变化有些是特定细菌引起的特异性变化,有些是非特异性变化,为了最大限度的避免这种非特异性变化,我们选择了两株种属及形态结构差异较小,却导致机体截然不同反应的布氏杆菌做对比来分析强毒株可能的致病机制。104M 是由苏联 Котлярова 在本国中部地区病牛的胎盘中分离出一株牛种菌,具有典型的牛 1 型布氏菌的特性,为光滑型细菌,但不产生或很少产生 H<sub>2</sub>S,该菌对实验动物有较强的免疫原性,虽然有残存毒力,但仍符合弱毒菌种要求,它在一定条件下作为减毒活疫苗使用,对人和动物是安全有效的,我国 1965 年正式生产 104M 布氏菌减毒活疫苗<sup>[4,5]</sup>。544A 是国际标准强毒株,感染机体可导致布氏病。本文利用 2-DE 技术和质谱学相结合的方法来比较致病力不同的布氏杆

菌侵袭宿主细胞后,宿主的蛋白质组变化,共确定了 38 个差异点,对应 38 个蛋白质编码基因。

在表达量发生改变的 6 种细胞骨架相关蛋白中,Zyxin, gamma-actin, Coronin, ACTB protein 在布氏杆菌感染中的作用已有报道。研究认为布氏杆菌强毒株之所以能在宿主巨噬细胞内生存与布氏菌进入宿主的方式有关<sup>[7]</sup>。布氏杆菌强毒株侵入宿主巨噬细胞后,通过中度募集胞内的肌动蛋白丝而在吞噬体内扩散进而到达内质网,而一些突变株却不能在宿主细胞内弥散而是被早期溶酶体融合而被杀灭<sup>[12]</sup>。可见,肌动蛋白丝被募集是布氏杆菌强毒株抑制吞噬体成熟的关键过程之一,这就不难理解 Zyxin, Coronin, actin binding protein 为什么会同时升高。

布氏杆菌强毒株能在宿主细胞内存活并大量繁殖,另外一个主要的因素是布氏杆菌抑制吞噬体(phagosome)的成熟,使吞噬了布氏杆菌的巨噬细胞丧失正常的功能,不能与溶酶体正常融合,从而产

生一个具有内吞体性质而非溶酶体性质的有益于细菌在细胞内生存的酸性空间-布氏小体<sup>[1,13,14]</sup>。文献[2,6,15]报道布氏杆菌强毒株侵袭 THP-1 后在布氏杆菌抑制吞噬体成熟的过程中,布氏杆菌抑制了宿主细胞内与凋亡和细胞周期有关的基因,本实验结果表明强毒株感染后部分的凋亡信号被抑制,这从另一个角度证明了上述观点。

对差异蛋白归纳发现有 8 个蛋白参与细胞广泛的物质代谢,在与溶酶体的融合过程中,在吞噬体内有些没有定位的酶和多肽,它们对抗布氏杆菌都有效,为了生存,布氏杆菌要避免这些未加载的多肽和酶,就要改变他们的代谢途径。值得注意的是,布氏小体内表现出营养缺乏和微需氧,相应的在这些复制“温室”中的长期生存和复制过程中也需要布氏菌做大量的代谢改变<sup>[14]</sup>。

布氏杆菌感染后宿主细胞会有氧化应激反应的发生,这将会导致细胞内许多生物大分子(蛋白质、核酸等)的结构和功能发生损伤。为了维持蛋白质等大分子的正常结构、功能和细胞的生理功能,热休克蛋白等分子伴侣表达上调,ER-60 protease,ERp28 等修复蛋白错误折叠的分子表达升高,以恢复变性蛋白的功能。相对丰富的 Prx 酶,通过清除细胞正常代谢产生的少量过氧化物酶来保护细胞成分,布氏菌感染的一个有趣现象是布氏菌可在布氏小体内生存及大量复制却不影响巨噬细胞的基本功能,不导致明显的细胞损伤<sup>[16]</sup>。不影响宿主细胞的功能不导致细胞明显的损伤,这些都是布氏杆菌强毒株躲避宿主细胞杀灭的重要策略。

无毒株和有毒株感染对人巨噬细胞内的骨架结构、信号传导途径和能量代谢方式的影响存在很大的差异,这是否与细菌本身的差异有关,以及细菌的哪些组份导致这些差异,是今后研究的课题之一。双向电泳是蛋白质组学研究中分离蛋白质混合物的一种十分重要的技术,但是相对于细胞内蛋白质组的上万种蛋白质来说,双向电泳也只能粗略的来说明细胞蛋白质组的变化,由于双向电泳技术本身的限制因素<sup>[17]</sup>如碱性蛋白质和低丰度蛋白质的分离效果不理想等,一些差异蛋白可能未被鉴定出来,加之目前代谢通路、蛋白质相互作用等数据库还远不完善,还有一些鉴定出的差异蛋白具体处在什么样的代谢或者信号通路还不得而知,它们在布氏杆菌感染的过程中扮演什么样的角色还有待进一步研究。

## 参 考 文 献

- [1] Kohler S, Porte F, Jubier-Maurin V, et al. The intramacrophagic environment of *Brucella suis* and bacterial response. *Vet Microbiol*, 2002, **90**(1-4): 299-309.
- [2] Ko J, Spitter GA. Molecular Host-pathogen Interaction in Brucellosis: Current understanding and future approaches to vaccine development for mice and humans. *Clin Microbiol Rev*, 2003, **16**(1): 65-78.
- [3] Porte F, Naroeni A, Ouahrani-Bettache S, et al. Role of the *Brucella suis* lipopolysaccharide O antigen in phagosomal genesis and in inhibition of phagosome-lysosome fusion in murine macrophages. *Infect Immun*, 2003, **71**(3): 1481-1490.
- [4] 布鲁氏菌病防治手册.姜顺求.北京:人民卫生出版社,1986, 311-313.
- [5] 布鲁氏菌病学.刘秉阳.北京:人民卫生出版社,1989, 410-416.
- [6] Eskra L, Mathison A, Splitter G. Microarray analysis of mRNA levels from RAW264.7 macrophages infected with *Brucella abortus*. *Infect Immun*, 2003, **71**(3): 1125-1133.
- [7] Guilloteau LA, Dornand J, Gross A, et al. Nramp1 is not a major determinant in the control of *Brucella melitensis* infection in mice. *Infect Immun*, 2003, **71**(2): 621-628.
- [8] Kusumawati A, Cazeville C, Porte F, et al. Early events and implication of F-actin and annexin I associated structures in the phagocytic uptake of *Brucella suis* by the J-774A.1 murine cell line and human monocytes. *Microb Pathog*, 2000, **28**(6): 343-352.
- [9] Gorg A, Obermaier C, Boguth G, et al. The current state of two-dimensional electrophoresis with immobilized pH gradients. *Electrophoresis*, 2000, **21**(6): 1037-1053.
- [10] Sambrook J, Fritsch EF, Maniatis T. 分子克隆实验指南.金冬雁,黎孟枫,等译.第二版.北京:科学出版社,1991, 885-886.
- [11] 廖翔,应天翼,王恒樑,等.考马斯亮蓝染色双向电泳凝胶内酶切方法的改进.生物技术通讯,2003, **14**(6): 509-511.
- [12] Naroeni A, Jouy N, Ouahrani-Bettache S, et al. *Brucella suis*-impaired specific recognition of phagosomes by lysosomes due to phagosomal membrane modifications. *Infect Immun*, 2001, **69**(1): 486-493.
- [13] Celli J, Gorvel JP. Organelle robbery: *Brucella* interactions with the endoplasmic reticulum. *Curr Opin Microbiol*, 2004, **7**(1): 93-97.
- [14] Roop RM, Bellaire BH, Valderas MW, et al. Adaptation of the *Brucellae* to their intracellular niche. *Mol Microbiol*, 2004, **52**(3): 621-630.
- [15] Gao LY, Kwai YA. The modulation of host cell apoptosis by intracellular bacterial pathogens. *Trends Microbiol*, 2000, **8**(7): 306-313.
- [16] Gorvel JP, Moreno E. *Brucella* intracellular life: from invasion to intracellular replication. *Vet Microbiol*, 2002, **90**(1-4): 281-297.
- [17] Rabilloud T. Two-dimensional gel electrophoresis in proteomics: Old, old fashioned, but it still climbs up the mountains. *Proteomics*, 2002, **2**(1): 3-10.

## Comparative proteomics research on THP-1 cells infected with *Brucella*

GAO Yong-hui<sup>1</sup>, REN Chang<sup>2</sup>, YING Tian-yi<sup>3</sup>, WANG Xi-liang<sup>1\*</sup>

(<sup>1</sup> State Key Laboratory of Pathogen and Biosecurity, Institute of Microbiology and Epidemiology, Academy of Military Medical Sciences, Beijing 100071, China)

(<sup>2</sup> Beijing Chaoyang Hospital, Beijing 100043, China)

(<sup>3</sup> Beijing Institute of Biotechnology, Academy of Military Medical Sciences, Beijing 100071, China)

**Abstract** : *Brucella* is a facultative intracellular pathogen that survives and multiplies inside host macrophages to cause brucellosis. The response of macrophage plays an essential role in the initiation of immune process following *Brucella* challenge. Nowadays, proteome approaches have been widely used in many different systems to investigate host-microbe interactions. The effect of pathogen-specific virulence mechanism can now be dissected using bacterial mutants and comparing different species. Attenuated vaccine strain 104M is defective in multiplication in host macrophage and is cleared relatively rapidly from tissues of the host, whereas virulent strains *Brucella abortus* 544A can produce chronic infection and cause brucellosis. In order to understand the underlying mechanisms of virulent *Brucella* intracellular survival, and detect the different-expressed proteins of THP-1 cells after infection with attenuated and virulent strains of *Brucella abortus*, a comparative proteomics research was conducted. Whole cellular protein profiling of THP-1 cells was presented by two dimensional (2D) electrophoresis and Coomassie Blue staining. After in-gel protein digestion, the different-expressed spots were detected by matrix assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry (MALDI-TOF-MS). All the peptide mass fingerprints (PMFs) were searched by the program Mascot developed by Matrix Science Ltd. For identifying proteins, database of *Homo sapiens* was used. A total of 38 proteins with changed expression level were found. These proteins can be grouped into two families: 1) the expression level increased after infection with 544A; 2) the expression level increased after infection with 104M. Out of the 38 proteins, 10 were mainly in the field of signal transduction, 6 were cytoskeletal proteins, 8 were substance metabolism related proteins and 3 were cell stress and defense associated proteins. Functions of the remaining proteins were unknown. These results provide insight into the changed global protein patterns of THP-1 cells after infection as well as a comprehensive foundation to further study of host-bacterial interaction.

**Keywords** : *Brucella*; THP-1 cells; Comparative proteomics; Two-dimensional gel electrophoresis; Mass spectrometry

Foundation item : National Natural Science Foundation of China (30170853)

\* Corresponding author. Tel : 86-10-66948678 ; E-mail : xiliangw@yahoo.com

Received 26 October 2005/Accepted 22 February 2006/Revised : 27 March 2006

© 中国科学院微生物研究所期刊联合编辑部 <http://journals.im.ac.cn>