

ArIR 反应调节蛋白在表皮葡萄球菌不同生长期表达的检测

刘敬然*, 孙志平*, 许涛, 吴旻, 李达文, 瞿涤

复旦大学上海医学院教育部/卫生部医学分子病毒学重点实验室, 上海 200032

摘要: 表皮葡萄球菌 (*Staphylococcus epidermidis*, SE) 是寄居在人体和黏膜表面的条件致病菌, 因可在医疗植入材料表面形成生物膜 (biofilm) 而具有致病性。细菌双组分信号转导系统可调控生物膜形成, 但其调控机制在 SE 中研究甚少。本课题对 *arIRS* 双组分信号转导系统的反应蛋白 ArIR 在细菌不同生长期的表达情况进行初步研究。首先构建 ArIR 原核表达质粒, 用纯化重组 ArIR 免疫小鼠, 获得多克隆抗-ArIR 抗体, 免疫 Dot 方法检测结果显示小鼠抗-ArIR 血清效价 > 1 100 000。进一步采用蛋白免疫印迹法检测 ArIR 在 SE 1457 野生株不同生长期中的表达水平, 结果显示, ArIR 在 2 h 表达量较低, 到 4 h 达高峰, 6 ~ 10 h 表达量较 4 h 降低。利用反转录实时荧光定量聚合酶链反应检测 *arIR* 基因在不同生长期的转录水平, 结果显示相应时间点 ArIR 蛋白表达水平与 *arIR* 基因转录水平一致。本研究结果为后期研究双组分信号转导系统 *arIRS* 对 SE 生物膜形成的影响奠定基础。

关键词: 表皮葡萄球菌; 双组分信号转导系统; *arIR* 基因; ArIR

Detection of ArIR expression in different growth phases of *Staphylococcus epidermidis*

LIU Jing-Ran*, SUN Zhi-Ping*, XU Tao, WU Yang, LI Da-Wen, QU Di

Key Laboratory of Medical Molecular Virology, Ministry of Education and Health, Shanghai Medical College, Fudan University, Shanghai 200032, China

Abstract: *Staphylococcus epidermidis* (*S. epidermidis*) is an opportunistic pathogen that colonizes on the surface of human skin and in mucous membranes. It can form biofilms by adhering to indwelling medical devices, often causing biofilm-associated infection. Two-component signal transduction systems (TCSs) play an important role in modulating biofilm formation in bacteria. However, regulation mechanisms of TCSs in *S. epidermidis* are still poorly understood. In this study, the expression of response regulator ArIR of *arIRS* TCS in *S. epidermidis* growth phases was investigated. The prokaryotic expression plasmid pET28a-*arIR* was constructed, and ArIR protein was expressed and purified. The purified ArIR was used to immunize mice for inducing anti-ArIR antibodies. The titers of anti-ArIR in the immune sera were over 1:100 000, as determined by immune dot blot technique. ArIR expression in the different growth phases in bacteria was detected by Western blot analysis. Results showed that the expression level of ArIR was lowest at 2-hour culture and highest at 4-hour culture, and declined at 6-hour and 10-hour cultures. Western blot analysis results were confirmed by the transcriptional levels of *arIR* determined by real-time reverse transcriptase-polymerase chain reaction (RT-PCR) analysis. It would help to get additional insight into *arIRS* TCS regulation functions in the formation of biofilms in *S. epidermidis*.

Key words: *Staphylococcus epidermidis*; Two-component signal transduction system; *arIR*; ArIR

基金项目: 科技部国际科技合作项目 (2006DFA32760), 国家自然科学基金 (30800036), 上海市重点项目 (08JC1401600), 中国博士后科学基金 (20060400574)

通信作者: 吴旻, E-mail: yangwu@fudan.edu.cn

Corresponding author: WU Yang, E-mail: yangwu@fudan.edu.cn

* 同为第一作者

表皮葡萄球菌 (*Staphylococcus epidermidis*, SE) 是寄居在人体和黏膜表面的正常菌群, 一般不致病^[1]。但它可通过产生多糖胞间黏附 (polysaccharide intercellular adhesion, PIA) 因子^[2], 黏附于医学材料表面 (如人工晶体、假肢等^[3, 4]), 相互粘连产生生物膜, 该结构能够抵御宿主的免疫应

答,增强对抗生素的耐药性,产生多重耐药,导致所引发的感染难以治愈^[5-7]。双组分信号转导系统在细菌生长及生物膜的形成过程中发挥重要的调节作用。该系统由组氨酸激酶和反应调节因子组成,两者共同作用以传递信号,使原核生物对外界信号变化作出有效反应^[8]。目前研究表明,当金黄色葡萄球菌 *arlS*基因或 *arlRS*基因被敲除后,细菌生物膜形成能力增强,胞外蛋白酶水解能力下降,多种毒力因子的表达水平发生改变^[9],但其在 SE 生物学活性中的调控功能尚不清楚。在 SE 基因组中双组分信号转导系统 *arlRS*由 *arlS*(1 371 bp, 编码组氨酸激酶)和 *arlR*(660 bp, 编码反应蛋白) 2 个基因所构成,两者转录方向一致,共用 1 个启动子,且基因序列存在部分重叠,重叠部分包括编码 ArlR 的终止密码子。因此若敲除 *arlS*基因,将同时敲除编码反应调节蛋白 ArlR 的终止密码子。本课题组构建的 SE1457 株的 *arlS*基因删除突变株,生物膜形成能力显著下降,同时 ArlR 表达也受到影响,表明双组分信号转导系统 *arlRS*在 SE 生物膜形成中发挥重要作用^[10]。为进一步研究 *arlRS*在 SE 生长过程中的表达情况,本实验自 SE ATCC 35984 菌株克隆和构建 ArlR 重组表达质粒并纯化 ArlR 蛋白,免疫小鼠,获得抗-ArlR 免疫血清,检测 1457 野生株在生长期不同时间点 ArlR 的表达水平,同时检测在对应时间点 *arlR* mRNA 的转录水平,从而在蛋白和转录水平研究 ArlR 的表达,为进一步研究 *arlRS*双组分信号转导系统在 SE 生长过程中的调控功能研究奠定基础。

1 材料和方法

1.1 材料

1.1.1 实验菌株和质粒 临床菌株 SE1457 由高谦教授惠赠。SE 生物膜形成的阳性菌株 ATCC 35984 购于美国国家标准菌种保藏中心,表达载体 pET28a (+) 购自 Novagen 公司。

1.1.2 主要试剂 胰蛋白胨大豆酵母浸膏肉汤 (tryptone soya broth, TSB) 购于英国 Oxoid 公司,牛血清白蛋白购于天根生化科技有限公司, G250 购于碧云天生物研究所,质粒小提试剂盒购于上海申能博彩生物技术有限公司, RNeasy-mini RNA 抽提试剂盒购于 Qiagen 公司,羊抗鼠 IgG-HRP 购于上海华美生物制品有限公司, Ni-NTA agarose 购于 Qiagen 公司,限制性内切酶 *Nco* 和 *Xho* 购于 TaKaRa 公司。

1.2 方法

1.2.1 ArlR 原核表达载体的构建 用细菌基因组 DNA 提取试剂盒提取 SE1457 菌株基因组,根据美国国立生物技术信息中心 (National Center for Biotechnology Information, NCBI) 上公布的 SE ATCC 35984 菌株的基因组 (GenBank 收录号: CP000029)^[11] *arlR*基因的序列,设计引物 *arlR*s: 5'-CATG CCATGG GC TGA GGT GCA AAT ATG ACA A-3 和 *arlR*as: 5'-CCG CTCGAG TCG AAT CAC ATA CCC TAC G-3。以 SE1457 基因组 DNA 作为模板,进行聚合酶链反应 (polymerase chain reaction, PCR) 扩增,条件为: 94 预变性 5 min, 94 变性 30 s, 50 复性 30 s, 72 延伸 1 min, 25 个循环, 72 延伸 7 min, 经 *Nco* 和 *Xho* 双酶切后连入表达载体 pET-28a(+), 转入大肠埃希菌 BL21(DE3)。

1.2.2 重组 ArlR 的表达和纯化 将含有 pET28a-*arlR*的 BL21(DE3) 菌液分 2 组,以 1 200 接种至 250 ml 含 50 μg/ml 卡那霉素的 LB 培养基中, 37 220 次/min 振荡培养 5 h 后, OD_{600} 达 2.0, 加入 8% 异丙基-β-D-硫代半乳糖苷 (isopropyl β-D-1-thiogalactopyranoside, IPTG) 至终浓度为 0.4 mmol/L, 25 诱导过夜。然后将大肠埃希菌 4 8 000 g 离心 5 min, 弃上清液, 沉淀用 PBS 洗涤, 4 8 000 g 离心 5 min, 10 mmol/L 咪唑悬浮沉淀, 超声裂解细菌 (超声 5 s, 间歇 10 s, 功率 200 ~ 300 W, 共 40 个循环), 4 13 000 g 离心 15 min。取上清液, 加入已平衡好的 Ni-NTA 树脂蛋白纯化柱中, 待上清液流尽后, 分别加入 10 mmol/L 咪唑、30 mmol/L 咪唑洗脱, 最后加入 200 mmol/L 咪唑洗脱蛋白, 收集 His-ArlR 融合蛋白, 并取 20 μl 进行电泳检测。

1.2.3 重组 ArlR 免疫小鼠及多克隆抗-ArlR 抗体的效价检测 取纯化的重组 ArlR 5 μg 和 25 μg, 分别用生理盐水稀释到 80 μl, 与 2 mg/ml 氢氧化铝凝胶按体积 1:1 比例混合。取 6 只小鼠分 2 组, 分别用 5 μg 和 25 μg 重组 ArlR 免疫。腹腔免疫 (总体积 160 μl/只), 每隔 3 周等量抗原加强免疫 1 次, 共加强 2 次, 最后 1 次免疫后 10 d 自小鼠眼底取血 100 μl, 分离抗血清并利用免疫 Dot 方法检测抗-ArlR 抗体效价。将纯化的 ArlR 1 μg 点在硝酸纤维素膜上, 将小鼠血清按 1:100、1:1 000、1:10 000、1:100 000 稀释后加入杂交袋中, 与膜室温反应 2 h, PBS 吐温 20 (PBST) 洗涤。将 HRP 标记的羊抗鼠 IgG 按 1:200 稀释, 室温下于杂交袋中与膜反应 1 h, PBST 洗膜。将膜放入底物显色液中, 避光显色约 10 min, 用 ddd H₂O 终止反应。

1.2.4 SE 菌体蛋白的提取 将过夜培养的 SE1457 株按 1:100 接种到 100 ml TSB 液体培养基中, 37 °C 摇床培养。根据 SE 生长曲线^[10], 分别取细菌对数生长早期(2 h)、中期(4 h)、晚期(6 h)和平台期(10 h)的细菌菌液, 8 000 g 离心 5 min, 弃上清液。用去离子水重悬沉淀, 8 000 g 离心 5 min, 弃上清液, 重复 1 次。最后用 2 ml PBS 重悬, 并加入 100 ml 1 mg/ml 溶葡萄球菌酶, 37 °C 水浴 30 min, 超声破碎 1 h。13 000 g 离心 10 min, 取上清液, -20 °C 冻存。

1.2.5 SE ArlR 表达的检测 将所提蛋白进行 12% SDS-PAGE 凝胶电泳, 然后以 1 mA/cm² 恒流 90 min, 转移到聚偏二氟乙烯 (polyvinylidene fluoride, PVDF) 膜上。用 5% 脱脂奶粉封闭 2 h, 加入鼠抗-ArlR (1:1 000) 稀释, 室温孵育 2 h, PBST 洗涤 3 次; 羊抗鼠 IgG-HRP (1:5 000) 稀释, 室温孵育 1 h, PBST 洗涤 3 次, 放射性自显影观察结果。

1.2.6 SE *arlR* mRNA 转录水平的检测 分别收集 SE1457 菌株对数生长早期(2 h)、中期(4 h)、晚期(6 h)和平台期(10 h)的细菌 2 ml, 加入半量的 0.1 mm Ziconia-silica bead (BioSpec Products Inc.), 同时加入 RNA 抽提试剂盒 (RNeasy-mini kit) 中溶菌缓冲液 RLT buffer, 混匀, 将试管放入 Mini-Beadbeater (BioSpec Products Inc.), 高速振摇破裂细菌细胞壁, 4 800 次/min, 40 s/次, 冰浴 40 s。重复 3 次, 然后按照 RNA 抽提试剂盒的说明书对 RNA 进行抽提和纯化。将 DNase 处理过的 RNA 用反转录酶 *MMLV* DNA 聚合酶反转录成 cDNA, PCR 扩增。条件为: 94 °C 预变性 5 min, 94 °C 变性 30 s, 47 °C 复性 30 s, 72 °C 延伸 1 min, 25 个循环, 72 °C 延伸 7 min。检测 *arlRS* 在上述 4 个时间点的转录水平。

2 结果

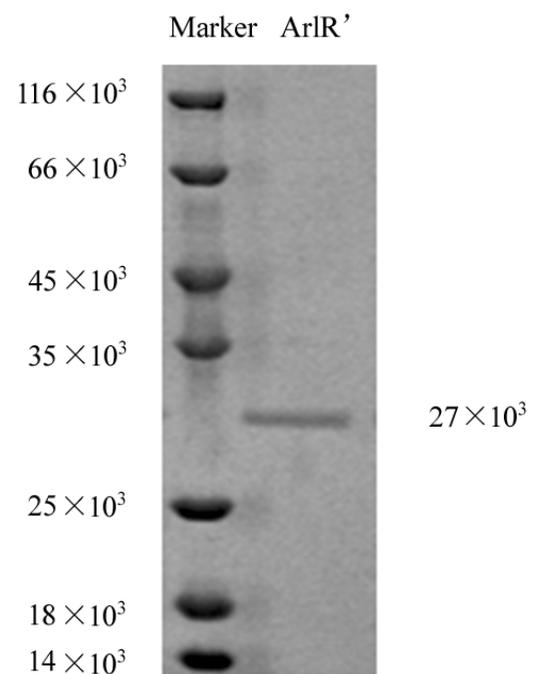
2.1 SE ArlR 原核表达质粒的构建和重组蛋白的鉴定

根据 NCBI 上公布的 SE ATCC 35984 菌株 *arlR* 的基因序列, 设计引物并进行 PCR 扩增, 经 *Nco* 和 *Xho* 双酶切后连入表达载体 pET28a(+), 转入大肠埃希菌 BL21 (DE3)。构建 ArlR 的原核表达质粒, 25 °C 0.4 mmol/L IPTG 诱导 4 h, 获得重组 His-ArlR 融合蛋白 (r-ArlR)。电泳检测, 其相对分子质量为 27 × 10³ (图 1)。

2.2 免疫血清抗-ArlR 效价的检测

用重组 ArlR 免疫小鼠, 利用免疫 Dot 方法检测

抗-ArlR 抗体效价。结果显示, 免疫小鼠血清中抗-rArlR 的效价达 1:10 000, 而生理盐水对照组的小鼠血清(1:100)不能与重组 ArlR 特异性结合。



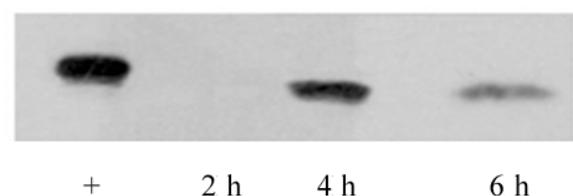
The *arlR* gene was cloned into the expression vector pET28a(+) to form pET-*arlR*, induced by 0.4 mmol/L IPTG for 4 h at 25 °C, and purified by Ni-NTA agarose affinity chromatography.

图 1 重组 ArlR 的纯化

Fig 1. Purification of recombinant ArlR by Ni-NTA agarose affinity chromatography

2.3 不同生长时点 SE ArlR 表达的检测

为观察 SE ArlR 在生长不同时点的蛋白表达水平, 分别提取 SE1457 菌株对数生长早期(2 h)、中期(4 h)、晚期(6 h)的菌体蛋白, 蛋白浓度分别为 2.10 μg/μl、5.30 μg/μl、10.00 μg/μl。取早、中、晚各期菌体蛋白样品 63 μg 进行蛋白免疫印迹 (Western blot) 检测。以 0.2 μg 纯化重组 ArlR 为阳性对照, 曝光时间 1 min。结果显示, ArlR 蛋白在 2 h 开始表达, 4 h 达到高峰, 6 h 后降低至平台期 (图 2A)。由于 1 min 曝光时间较短, 细菌对数生长早期(2 h)表达的 ArlR 蛋白条带的信号较弱, 不易观察。



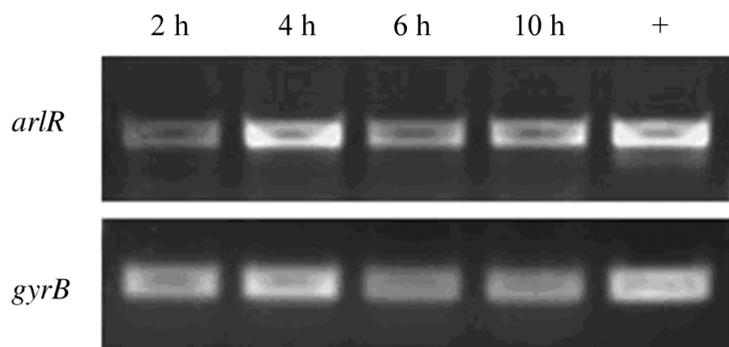
Expression of ArlR in different growth phases of SE1457 was abstracted and then detected by Western blot. Purified recombinant ArlR (0.2 μg) was used as positive control(+).

图 2 ArlR 在 SE1457 株生长不同时相的表达水平

Fig 2. Detection of ArlR expression in different growth phases of SE1457 by Western blot

进一步利用反转录实时荧光 PCR 方法验证 SE

ArlR 蛋白在细菌对数生长早期、中期、晚期和平台期表达水平的差异。分别提取 SE1457 菌株对数生长早期(2 h)、中期(4 h)、晚期(6 h)和平台期(10 h)的总 RNA,并反转录成 cDNA。以管家基因 *gyrB* 作为内参,用实时荧光定量 PCR 检测 *arlR* 在上述 4 个时间点的转录水平。结果显示,*arlR* 在 2 h 转录较弱,4 h 转录达最高峰,6 h 开始降低,直至平台期保持稳定(图 3)。



The cDNA templates were used for detection of gene transcription at different phases. ‘+’ represents the PCR products amplified from SE1457 genome (positive control). The housekeeping gene *gyrB* was used as an internal reference.

图 3 *arlR* 在 SE1457 株生长不同时相的转录水平

Fig 3 Transcription level of *arlR* in different growth phases of SE1457 by RT-PCR

3 讨论

SE 是寄居在人体皮肤和黏膜表面的条件致病菌,一般不致病。由于 SE 可以在许多医疗材料表面形成生物膜,抵抗抗生素的治疗,成为近几年来医源性感染的主要致病菌之一。因此,研究 SE 生物膜的形成机制及影响因素成为解决上述问题的关键。

目前有研究表明,双组分信号转导系统在细菌生长、生物膜形成过程中起重要作用,它最初是由 Ninfa 和 Magasanik 在研究对基因表达进行调控的大肠埃希菌 NR 系统时发现的^[8]。反应调节蛋白与组氨酸激酶蛋白是双组分信号转导系统的核心组成部分。外界信号通过与组氨酸激酶蛋白结合,激活 ATP 释放能量,发生自身磷酸化。然后,反应调节蛋白与磷酸化的组氨酸激酶蛋白结合,发生自身磷酸化,传递信号^[10]。

在金黄色葡萄球菌中,双组分信号转导系统(*arl*, *agr*, *sae* 等)参与调控细菌自溶,细胞生长、分裂,生物膜形成以及致病性等多种重要的生物学功能。Toledo-Arana 等发现金黄色葡萄球菌 *arlRS* 基因删除株的生物膜形成能力增强^[9]。Ji 等^[12]和

Liang 等^[13]采用基因芯片技术,分析金黄色葡萄球菌中 *arlR* 基因缺失后的表达谱,发现 ArlRS 可直接或间接调控至少 114 个基因的表达,其中 *agrA* 和 *rot* 的表达水平明显下降,提示 ArlRS 可上调 *agrA* 和 *rot* 的表达。ArlRS 可负调控 *agr* 系统及相关基因的转录,从而降低毒力因子(毒素、溶血素、凝固酶、丝氨酸蛋白酶尤其是蛋白 A)的产生。Rot 具有调节 *agr* 系统的功能,可能是通过对 RNA 等基因的调控发挥作用,但具体机制尚不清楚。葡萄球菌中 RNA

分子是 *agr* 基因座毒力基因调控的效应分子。RNA 除编码溶血素外,还可与其他因子相互作用,正调控许多胞外蛋白基因的转录,负调控多种表面蛋白的表达。同时 RNA 可增加几种分泌型毒力因子包括中毒性休克毒素-1(toxic shock syndrome toxin 1, TSST-1)和其他溶血素等基因的转录^[14,15]。因此,金黄色葡萄球菌 *arlR* 基因删除突变株中细菌毒素、蛋白酶以及毒力因子表达的下调可能是 ArlR 直接作用的结果,也可能是通过间接调节 Rot、Agr 完成^[13]。在 SE 中,李敏等^[16]研究发现细菌 *agr* 基因的敲除可导致细菌突变株黏附能力、生物膜形成能力明显增强,提示 *agr* 基因可以下调 SE 生物膜的形成,是生物膜形成的抑制因子,推测 *agr* 基因敲除后导致 *atlE* 和 *clpP* 的表达下调,从而影响细菌生物膜的形成。然而,该过程是否也与 *arlRS* 双组分信号转导系统的调控有关尚不清楚。尽管目前对于金黄色葡萄球菌 ArlRS 功能的研究已经较为深入,但 SE 中 ArlRS 相应功能的研究未见相关报道。本课题组为了研究 *arlRS* 双组分信号转导系统在 SE 中的作用,在前期研究中构建了 SE1457 临床菌株的 *arlS* 基因删除突变株,发现细菌生物膜形成能力显著下降,而 *arlS* 基因删除株的生长曲线与野生株无明显差异,提示 *arlRS* 双组分信号转导系统在 SE 生物膜的形成中发挥重要作用。我们的实验结果显示,*arlRS* 在 SE 中的调控功能不同于其在金黄色葡萄球菌中的作用。为了进一步研究 *arlRS* 在 SE 生长过程中的表达情况,本研究首先构建 ArlR 的原核表达质粒,并以纯化 ArlR 作为抗原免疫小鼠,获得相应的多克隆抗体;然后采用蛋白免疫印迹法检测 SE1457 野生株在生长期不同时间点 ArlR 的表达水平。结果显示,在细菌生长期不同时间点, ARLR 表达水平有明显的差异: ARLR 在对数生长早期(2 h)表达较低,在对数生长中期(4 h)表达达到高峰,在对数生长晚期(6 h)至平台期(10 h)表达量较对数生长中期有所降低。ArlR 蛋白表达高峰出现的时

间与 *arlR* 转录水平达高峰的时间相一致, 提示 *arlRS* 双组分信号转导系统可能参与调节 *SE* 生物膜形成的第二阶段, 即细胞间黏附的过程。 *SE* 通过产生 *PIA*, 黏附于医学材料表面, 而 *ica* 操纵子的编码产物在 *PIA* 的合成中起关键作用^[17]。在后续研究中, *SE* 基因芯片检测结果显示, *SE arlS* 基因删除突变株中 *ica* 操纵子等基因表达下调(未发表), 提示 *ica* 操纵子可能是 *arlRS* 双组分信号转导系统的下游效应基因之一。在金黄色葡萄球菌中, *ArlRS* 可作为全面调控因子, 直接或间接调控多基因的表达, 而在 *SE* 中 *arlRS* 双组分信号转导系统对这些因子的表达是否也具有调控作用有待深入研究。此外, 我们利用抗-*ArlR* 抗体证明, 在 *SE arlS* 基因删除突变株中 *ArlR* 表达也受到影响。推测可能由于 *SE* 中 *arlS* 基因与 *arlR* 基因序列存在部分重叠, 在敲除 *arlS* 基因的同时, 也删除了 *arlR* 基因的部分序列(包括编码 *ArlR* 的终止密码子), 导致 *ArlR* 无法表达。本研究结果将为后期进一步研究 *arlRS* 双组分信号转导系统对 *SE* 生物膜形成的影响奠定基础。同时, 为今后进一步研究 *SE* 临床菌株及其引发的顽固性感染的治疗提供理论基础及方法。

参考文献

- [1] Campoccia D, Montanaro L, Pirini V, et al. Prevalence of genes for aminoglycoside-modifying enzymes in *Staphylococcus epidermidis* isolates from orthopedic postsurgical and implant-related infections [J]. J Biomed Mater Res A, 2009, 88(3): 654-663
- [2] Sousa C, Teixeira P, Oliveira R. The role of extracellular polymers on *Staphylococcus epidermidis* biofilm biomass and metabolic activity [J]. J Basic Microbiol, 2009, 49(2): 1-8
- [3] Campoccia D, Montanaro L, von Eiff C, et al. Cluster analysis of ribotyping profiles of *Staphylococcus epidermidis* isolates recovered from foreign body-associated orthopedic infections [J]. J Biomed Mater Res A, 2009, 88(3): 664-672
- [4] Kadry AA, Fouda SI, Shibl AM, et al. Impact of slime dispersants and anti-adhesives on *in vitro* biofilm formation of *Staphylococcus epidermidis* on intraocular lenses and on antibiotic activities [J]. J Antimicrob Chemother, 2009, 63(3): 480-484
- [5] Uckay I, Pittet D, Vaudaux P, et al. Foreign body infections due to *Staphylococcus epidermidis* [J]. Ann Med, 2009, 41(2): 109-119
- [6] Stevens NT, Sadovskaya I, Jabbouri S, et al. *Staphylococcus epidermidis* polysaccharide intercellular adhesin induces IL-8 expression in human astrocytes via a mechanism involving TLR2 [J]. Cell Microbiol, 2009, 11(3): 421-432
- [7] Fournier B, Klier A, Rapoport G. The two-component system *ArlS-ArlR* is a regulator of virulence gene expression in *Staphylococcus aureus* [J]. Mol Microbiol, 2001, 41(1): 247-261
- [8] 吴冬云, 朱碧岩, 李玲. 拟南芥反应调节因子研究进展 [J]. 植物学通报, 2002, 19(5): 629-633
- [9] Toledo-Arana A, Merino N, Vergara-Irigaray M, et al. *Staphylococcus aureus* develops an alternative, *ica* independent biofilm in the absence of the *arlRS* two-component system [J]. J Bacteriol, 2005, 187(15): 5318-5329
- [10] 王家学, 朱涛, 姜强, 等. 表皮葡萄球菌双组分信号转导系统 *arlS* 基因生物学功能研究 [J]. 中华微生物学和免疫学杂志, 2007, 27(10): 946-953
- [11] Gill SR, Fouts DE, Archer GL, et al. Insights on evolution of virulence and resistance from the complete genome analysis of an early methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* strain and a biofilm-producing methicillin-resistant *Staphylococcus epidermidis* strain [J]. J Bacteriol, 2005, 187(7): 2426-2438
- [12] Ji Y, Yu C, Liang X. Transcriptomic analysis of *ArlRS* two-component signaling regulon, a global regulator, in *Staphylococcus aureus* [J]. Methods Enzymol, 2007, 423: 502-513
- [13] Liang XD, Zheng L, Landwehr, C, et al. Global regulation of gene expression by *ArlRS*, a two-component signal transduction regulatory system of *Staphylococcus aureus* [J]. J Bacteriol, 2005, 187(15): 5486-5492
- [14] 权春善, 范圣第. 新型药物靶点 *agr* 群体感应系统的研究进展及其应用 [J]. 微生物学杂志, 2008, 28(4): 74-77
- [15] 朱洪伟, 朱战波, 崔玉东. 葡萄球菌毒力调控中的群体感应系统 [J]. 细胞生物学杂志, 2007, 29(3): 356-360
- [16] 李敏, 高谦, 王建平, 等. 表皮葡萄球菌附属基因调节子对生物膜形成的调节作用 [J]. 中华检验医学杂志, 2005, 28(11): 1172-1177
- [17] Beenken KE, Blevins JS, Smeltzer MS. Mutation of *sarA* in *Staphylococcus aureus* limits biofilm formation [J]. Infect Immun, 2003, 71(7): 4206-4211

(收稿日期: 2009-04-03)