

# 金黄色葡萄球菌富丝氨酸重复蛋白 SraP<sub>L-Lectin</sub> 特异性抗体的制备及其功能分析

岳岩<sup>1</sup>, 郑峰<sup>2</sup>, 曹清心<sup>2</sup>, 王怡雯<sup>2</sup>, 周婷婷<sup>2\*</sup>, 王长军<sup>2</sup>

<sup>1</sup>中国人民解放军总医院医务科, 北京 100853; <sup>2</sup>南京军区军事医学研究所, 江苏 南京 210002

**[摘要]** 目的: 制备金黄色葡萄球菌富丝氨酸重复蛋白 SraP<sub>L-Lectin</sub> 单克隆抗体, 并分析其体外功能。方法: 以 USA300 基因组为模板, PCR 扩增 SraP<sub>L-Lectin</sub> 基因序列, 克隆到 pET28a 表达载体中, 0.1 mmol/L IPTG 25 °C 诱导 6 h, 镍柱亲和层析纯化 SraP<sub>L-Lectin</sub>-His 蛋白。以纯化的 SraP<sub>L-Lectin</sub>-His 重组蛋白为抗原免疫 Balb/c 小鼠, 采用常规融合技术制备杂交瘤细胞, 间接 ELISA 法、Western blot 法筛选和鉴定阳性杂交瘤细胞株。扩大培养阳性细胞株后注射小鼠腹腔, 收集腹水, 经 Protein G 柱纯化 anti-SraP<sub>L-Lectin</sub> 单克隆抗体。以不同终浓度的单克隆抗体预先孵育 A549 细胞和注射小鼠腹腔, 涂板计数单克隆抗体阻断细菌黏附、侵入和感染的能力。结果: 成功构建了 SraP<sub>L-Lectin</sub>-pET28a 重组表达载体, 经镍柱纯化后获得高纯度的重组蛋白, 获得稳定分泌单克隆抗体的细胞株, 小鼠腹水经 Protein G 柱纯化后获得纯度高达 95% 以上的特异性抗体, 效价 1:32 万。终浓度 100 ng/mL 单克隆抗体预先孵育 A549 细胞 2 h, 能够显著降低金黄色葡萄球菌对 A549 细胞的黏附和侵入。提前 1 d 向小鼠腹腔注射 1 μg anti-SraP<sub>L-Lectin</sub> 单克隆抗体, 能够显著降低小鼠血液中的金黄色葡萄球菌数量。结论: 本研究制备的 anti-SraP<sub>L-Lectin</sub> 单克隆抗体能够阻断金黄色葡萄球菌对宿主细胞的黏附和侵入, 为将 SraP<sub>L-Lectin</sub> 作为防控金黄色葡萄球菌感染药物靶点的研发奠定了基础。

**[关键词]** 金黄色葡萄球菌; 富丝氨酸重复蛋白; 单克隆抗体; 感染

**[中图分类号]** R392.11

**[文献标志码]** A

**[文章编号]** 1007-4368(2018)11-1494-05

**doi:** 10.7655/NYDXBNS20181102

## Fabrication and functional analysis of a monoclonal antibody against binding region of *Staphylococcus aureus* serine-rich repeat protein(SraP<sub>L-lectin</sub>)

Yue Yan<sup>1</sup>, Zheng Feng<sup>2</sup>, Cao Qingxin<sup>2</sup>, Wang Yiwen<sup>2</sup>, Zhou Tingting<sup>2\*</sup>, Wang Changjun<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Medical Services Section, The General Hospital of PLA, Beijing 100853; <sup>2</sup>Huadong Medical Institute of Biotechniques, Nanjing 210002, China

**[Abstract]** **Objective:** To prepare a monoclonal antibody against SraP<sub>L-lectin</sub>, a serine-rich repeat protein of *Staphylococcus aureus*, and analyze its function. **Methods:** The SraP<sub>L-lectin</sub> gene was amplified by PCR from USA 300 DNA, and inserted into pET28a plasmid. The pET28a-SraP<sub>L-lectin</sub> was transferred into *E.coli* BL21(DE3) and induced with 0.1 mmol/L isopropyl-β-d-thiogalactoside(IPTG) for 6 h at 25 °C. The recombinant protein was purified by His label affinity chromatography. The purified protein was used as an antigen to generate an anti-SraP<sub>L-lectin</sub> monoclonal antibody. The mAb was identified by ELISA and Western blot. A549 cells were pre-incubated monoclonal antibodies with different final concentrations. Mice were injected with 1 μg anti-SraP<sub>L-lectin</sub> monoclonal antibodies one day before challenge. The effect of adhesion and invasion was counted by plating bacteria on TSA. **Results:** We successfully constructed a prokaryotic expression pET28a-SraP<sub>L-lectin</sub> vector, and the SraP<sub>L-lectin</sub> recombinant protein was expressed and purified. We also generated a clone of hybridoma with SraP<sub>L-lectin</sub> binding activity, and obtained anti-SraP<sub>L-lectin</sub> monoclonal antibody purified from mouse ascites by protein G column. The titer of mAb was 1:320 000. Pre-incubation of A549 cells with a final concentration of 100 ng/mL for 2 h significantly reduced the adherence and invasion of *S. aureus* on A549 cells. The number of bacteria in blood was significantly decreased when mice were administered 1 μg anti-SraP<sub>L-lectin</sub> monoclonal antibodies. **Conclusion:** The anti-SraP<sub>L-lectin</sub> monoclonal antibody prepared in this study significantly reduced the adherence and invasion of *S. aureus* on host cells. This study lays the foundation for the development of SraP<sub>L-lectin</sub> as a target for the prevention and treatment of *S. aureus* infection in future.

**[Key words]** *Staphylococcus aureus*; serine-rich repeat protein; monoclonal antibody; infection

[Acta Univ Med Nanjing, 2018, 38(11): 1494-1498]

**[基金项目]** 全军应用基础研究项目(BWS14J046); 江苏省博士后基金(1701155C)

\*通信作者(Corresponding author), E-mail: ahzt128@126.com

抗生素的滥用,导致耐药菌株广泛蔓延,金葡菌感染甚至与艾滋病、病毒性乙型肝炎并列成为世界三大感染性疾病<sup>[1]</sup>。WHO在针对细菌耐药性的报告中指出“post-antibiotic”时代即将到来,表明使用抗生素治疗感染的时代很快也会终结<sup>[2]</sup>,那么寻求新的有效治疗方法迫在眉睫。

金黄色葡萄球菌(简称金葡萄)的致病性主要依赖其表达的多种毒力因子,其中包括细胞表面蛋白,这些蛋白通过共价连接到肽聚糖上,因此也被称为细胞壁锚定蛋白(cell wall-anchored proteins, CWA proteins),这些蛋白能够直接或间接介导金黄色葡萄球菌与宿主细胞之间的黏附,是金葡菌成功成为共生菌以及病原菌的重要因素<sup>[3]</sup>。其中一类细胞壁锚定蛋白由于含有多个重复的丝氨酸,又被称为富丝氨酸重复蛋白(serine-rich repeat protein, SRRP),SRRP是一类高度糖基化的蛋白,在多种革兰氏阳性菌中被发现,目前已知SRRP不仅能够介导细菌种内的黏附,还可以介导细菌种间的黏附,SRRP通过形成生物膜使细菌能够在宿主细胞上定植,进而发展成感染,如亚急性细菌性心内膜炎、口腔感染,肺炎及脑膜炎等<sup>[4-5]</sup>。因此SRRP可以作为药物干预的新靶标。

富丝氨酸血小板结合蛋白(serine-rich adhesin for binding to platelets, SraP)是金黄色葡萄球菌中的SRRP,SraP不仅可以介导和野生型细菌结合,而且可以和缺失型细菌结合,表明其不仅参与金葡菌生物膜的形成,还可以介导细菌种间的黏附<sup>[6-7]</sup>。SraP的非重复区可以与血小板结合,可能是导致金黄色葡萄球菌感染的主要原因。解析SraP结合区晶体结构发现,SraP结合区含有4个模序,分别是L-lectin模序、 $\beta$ -GF模序、CDHL-1和CDLH-2模序,SraP结合区主要是通过L-Lectin模序与A<sub>549</sub>细胞表面的Neu5Ac结合介导金黄色葡萄球菌与宿主细胞的黏附<sup>[8]</sup>。因此本研究选择SraP的L-Lectin模序作为研究对象,克隆到原核表达载体后,表达并纯化目的蛋白,将目的蛋白作为免疫原免疫小鼠,经过细胞融合,间接ELISA法筛选阳性杂交瘤细胞株并制备小鼠腹水,Protein G柱纯化获得能特异识别L-Lectin模序的单克隆抗体,为将SraP作为研发防控金黄色葡萄球菌感染的新靶点奠定了基础。

## 1 材料和方法

### 1.1 材料

金黄色葡萄球菌USA300菌株由第四军医大学罗晓星教授惠赠,大肠杆菌DH5 $\alpha$ 、BL21(DE3)、表达

载体pET28a、Sp2/0骨髓瘤细胞和A549细胞为本室保存。6~8周龄Balb/c小鼠(上海史莱克公司);High Affinity Ni-NTA resin、protein G resin(GE公司,美国)。弗氏完全佐剂和不完全佐剂(WISENT公司,美国),胎牛血清、DMEM细胞培养基(Gibco公司,美国),羊抗小鼠IgG-HRP(南京金斯瑞公司),溶葡萄球菌酶(Sigma公司,美国),细菌基因组抽提试剂盒(北京天根生化科技有限公司),DNA Marker、质粒抽提试剂盒、限制性内切酶(大连TaKaRa生物工程有限公司),胰酪胨大豆肉汤培养基(tryptic soy broth, TSB)(Oxoid公司,美国);PEG1500、液体石蜡等其他试剂均为国产或进口分析纯;本实验引物合成和DNA产物测序均由南京金斯瑞生物技术有限公司完成。

### 1.2 方法

#### 1.2.1 重组质粒构建和目的蛋白的表达纯化

提取金黄色葡萄球菌USA300基因组,按照细菌DNA提取试剂盒方法进行。根据已经解析的SraP结合区晶体结构,选择245~492氨基酸序列,按如下引物PCR扩增SraP<sub>L-Lectin</sub>模序基因片段,上游5'-CCGGATCCTTTGCGTCAGCAGCGACG-3',下游5'-CACAAAGCTTTATATTTCGAATGTTCCAAATTGTAC-3',在其两端添加BamH I和Hind III限制性内切酶位点,构建pET28a-SraP<sub>L-Lectin</sub>重组质粒。重组质粒经双酶切和DNA测序鉴定构建成功。

将测序正确的pET28a-SraP<sub>L-Lectin</sub>重组质粒,转化BL21(DE3)感受态细胞,当D(600 nm)达到0.6时,加入0.1 mmol/L IPTG于25℃诱导6 h,离心后收集菌体沉淀,超声破碎后,12 000 $\times$ g离心30 min收集上清,应用High Affinity Ni-NTA resin纯化重组蛋白,并命名为SraP<sub>L-Lectin</sub>-His。

#### 1.2.2 小鼠免疫和杂交瘤细胞的制备

以纯化的SraP<sub>L-Lectin</sub>-His重组蛋白为免疫抗原。初次免疫时,重组蛋白与弗氏完全佐剂等体积混合充分乳化后,皮下多点注射6~8周龄Balb/c小鼠(50  $\mu$ g/只);2周后重组蛋白与弗氏不完全佐剂等体积乳化,腹腔注射(50  $\mu$ g/只)进行第2次免疫;再隔2周后操作同第2次加强免疫。第3次免疫的小鼠,剪尾取血,间接ELISA测抗血清效价。选择血清效价高的小鼠脾细胞与Sp2/0骨髓瘤细胞按照常规方法进行融合,3 d后观察杂交瘤细胞的生长状况,2周后更换HT培养基。采用间接ELISA法检测96孔细胞培养板细胞上清,同时设立阳性对照(融合前的免疫血清)、阴性对照(培养杂交瘤细胞的培养基)。对ELISA鉴定的阳性孔进行有限稀释,进行

3次亚克隆,直到阳性率达到100%。

### 1.2.3 小鼠腹水的制备和纯化

将筛选得到的 anti-SraP<sub>L-Lectin</sub> 杂交瘤细胞株在细胞培养瓶中进行扩大培养,待细胞生长到一定密度,按照  $2 \times 10^6$  个/只注入经灭菌液体石蜡油(0.5 mL/只)预处理的母鼠腹腔,1~2周后小鼠腹部膨大抽取腹水。腹水离心后去除红细胞,取上清利用 Protein G Resin 纯化腹水抗体。步骤如下:小鼠腹水 22 000 r/min 离心 30 min,收集上清液,过普通滤纸,去除其中的油脂,并记录滤液体积;向滤液中加入 2 倍体积的 60 mmol/L 醋酸钠缓冲液, pH 4.0;加入 NaOH 调节 pH 至 4.8;逐滴加入辛酸(按照每 10 mL 腹水体积加入 0.4 mL 辛酸),边加边搅拌,于室温下搅拌 30 min;22 000 r/min 离心 30 min,弃去沉淀,上清用 NaOH 调节 pH 至 7.0,22 000 r/min 离心 30 min 后,上清用 1 倍体积 PBS 稀释后,用 0.22  $\mu$ m 滤膜过滤后,上 Protein G 柱纯化。SDS-PAGE 检测纯化抗体的纯度。

### 1.2.4 单克隆抗体效价和特异性检测

分别用 ELISA 和 Western blot 法检测纯化的 anti-SraP<sub>L-Lectin</sub> 单克隆抗体的效价和特异性。

### 1.2.5 Anti-SraP<sub>L-Lectin</sub> 单克隆抗体阻断细菌黏附和侵入 A549 细胞

单克隆抗体阻断细菌黏附:A549 细胞  $5 \times 10^4$  个/孔接种于 24 孔板,于 37 °C 培养至细胞铺满孔底,PBS 洗涤细胞 3 次;加入终浓度为 50、100 ng/mL 的纯化抗体于 37 °C 预孵育 2 h,将金葡菌 USA300 培养至对数生长期,约  $1 \times 10^9$  CFU/mL,用 DMEM 培养液稀释细菌,每孔加入  $2 \times 10^7$  个细菌,于 37 °C 共孵育 1 h。去除培养基后再用 PBS 洗涤 5 次以去除未黏附的细菌。用 200  $\mu$ L 胰蛋白酶(2.5 mg/mL)消化 5 min 至细胞全部消化下来,再加 400  $\mu$ L 裂解液(PBST)裂解细胞,最后加入 PBST 补齐至 1 mL。稀释一定倍数涂 TSA 平板计数。

侵入实验:细菌与细胞在 37 °C 共孵育 1 h,去除培养基后用 PBS 洗 5 遍去除未黏附的细菌,更换成 DMEM 新鲜配置的庆大霉素(14  $\mu$ g/mL)继续孵育 1 h 以杀死细胞外黏附的细菌。用 200  $\mu$ L 胰蛋白酶(2.5 mg/mL)消化 5 min 至细胞全部消化下来,再加 400  $\mu$ L 裂解液(PBST)裂解细胞,最后补齐至 1 mL。稀释一定倍数涂 TSA 平板计数。实验重复 3 次,至少 3 个以上复孔。

### 1.2.6 Anti-SraP<sub>L-Lectin</sub> 单克隆抗体对小鼠的保护作用

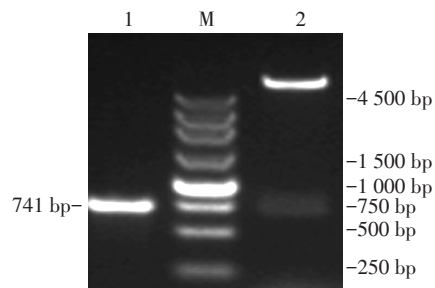
实验前 1 d,4~5 周龄 Balb/c 小鼠腹腔注射 Anti-SraP<sub>L-Lectin</sub> 单克隆抗体(1  $\mu$ g/只),对照组注射等体积的

PBS。第 2 天将金葡菌 USA300 培养至对数生长期,约  $1 \times 10^9$  CFU/mL,用无菌 PBS 洗涤 3 遍,稀释 10 倍,每只小鼠腹腔注射 100  $\mu$ L。感染 2 d 后,小鼠摘眼球取血,涂板计数血液中金葡菌菌落数,同时用组织研磨器充分研磨肾脏,稀释一定倍数,计数小鼠肾脏中的菌落数。每组 4~6 只小鼠,重复 2 次。

## 2 结果

### 2.1 重组质粒的鉴定

以金葡菌 USA300 菌株 DNA 为模板,PCR 扩增 SraP<sub>L-Lectin</sub> 基因片段,PCR 产物和 pET28a-SraP<sub>L-Lectin</sub> 重组质粒双酶切鉴定产物经 1% 琼脂糖电泳,得到相同大小的核酸片段约为 741 bp(图 1),阳性克隆质粒经测序正确,表明 pET28a-SraP<sub>L-Lectin</sub> 表达质粒构建成功。



1:SraP<sub>L-Lectin</sub> PCR 扩增产物;2:DL 250 bp DNA 标准分子质量;3:以 BamH I 和 Hind III 限制性内切酶双酶切 pET28a-SraP<sub>L-Lectin</sub> 重组质粒。

图 1 SraP<sub>L-Lectin</sub> PCR 产物和 pET28a-SraP<sub>L-Lectin</sub> 重组质粒酶切图

Figure 1 PCR result of SraP<sub>L-Lectin</sub> and identification of recombinant plasmid pET28a-SraP<sub>L-Lectin</sub>

### 2.2 重组蛋白的表达和纯化

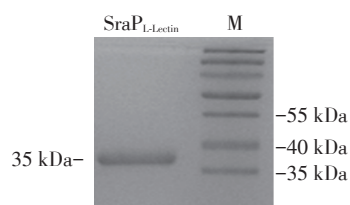
将构建成功的 pET28a-SraP<sub>L-Lectin</sub> 重组质粒转化入大肠杆菌 BL21(DE3)中,经过 IPTG 诱导后超声破碎,重组蛋白以可溶形式存在于上清中,分子量大约 35 kDa(图 2)。经过 His 标签亲和层析纯化后,得到纯化的重组蛋白浓度 0.8 mg/mL(图 2)。

### 2.3 Anti-SraP<sub>L-Lectin</sub> 单克隆抗体的效价和特异性鉴定

SDS-PAGE 检测结果显示,纯化得到的 anti-SraP<sub>L-Lectin</sub> 单克隆抗体纯度达到 95% 以上,浓缩后为 1 mg/mL(图 3A)。Western blot 结果显示,anti-SraP<sub>L-Lectin</sub> 单克隆抗体能够特异性识别 SraP<sub>L-Lectin</sub>-his 重组蛋白(图 3B)。间接 ELISA 检测结果显示,小鼠腹水纯化的 anti-SraP<sub>L-Lectin</sub> 单克隆抗体效价达到 1:320 000(表 1)。

### 2.4 Anti-SraP<sub>L-Lectin</sub> 单克隆抗体能够降低金葡菌对 A<sub>549</sub> 细胞的黏附和侵入

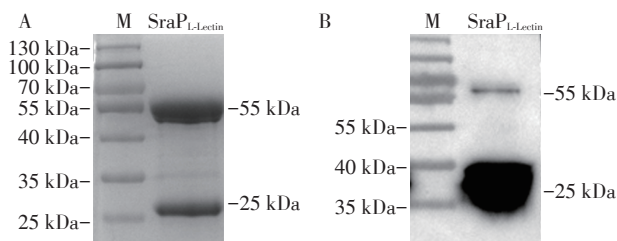
以终浓度 50、100 ng/mL anti-SraP<sub>L-Lectin</sub> 单克隆抗



M: PAGERuler 预染蛋白标准分子质量。

图2 重组蛋白SraP<sub>L-Lectin</sub>表达和纯化

Figure 2 Expression and purification of SraP<sub>L-Lectin</sub>



A: SDS-PAGE 检测纯化的 anti-SraP<sub>L-Lectin</sub> 单克隆抗体; B: Western blot 检测纯化的 anti-SraP<sub>L-Lectin</sub> 单克隆抗体; M: PAGERuler 预染蛋白标准分子质量。

图3 anti-SraP<sub>L-Lectin</sub> 单克隆抗体的鉴定

Figure 3 Identification of purified anti-SraP<sub>L-Lectin</sub> antibody

表1 ELISA 法测定 anti-SraP<sub>L-Lectin</sub> 单克隆抗体效价

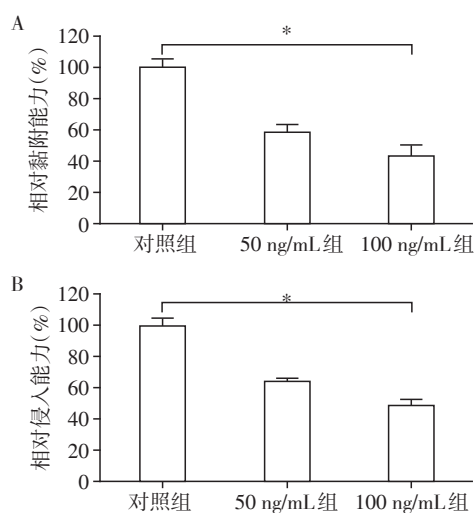
Table 1 ELISA result for the purified anti-SraP<sub>L-Lectin</sub> mAb

抗体效价	D(450 nm)
1:5 000	1.34
1:10 000	1.11
1:20 000	0.84
1:40 000	0.79
1:80 000	0.46
1:160 000	0.23
1:320 000	0.16
阴性对照	0.08

体预先孵育 A549 细胞 2 h, 加入野生 USA300 感染细胞, 37 °C 孵育 1 h, TSA 平板计数细菌黏附和侵入细胞的菌落数。结果显示终浓度 50 ng/mL 的 anti-SraP<sub>L-Lectin</sub> 单克隆抗体孵育细胞, 细菌对宿主细胞的黏附和侵入能力下降 40% 左右, 终浓度 100 ng/mL anti-SraP<sub>L-Lectin</sub> 单克隆抗体孵育细胞, 细菌对宿主的黏附和侵入能力下降 50% 以上 ( $P < 0.05$ , 图 4)。结果表明, anti-SraP<sub>L-Lectin</sub> 单克隆抗体能够阻断金黄色葡萄球菌对宿主细胞的黏附和侵入。

2.5 Anti-SraP<sub>L-Lectin</sub> 单克隆抗体能够降低小鼠血液中的金黄色葡萄球菌感染

提前 1 d 向小鼠腹腔注射 anti-SraP<sub>L-Lectin</sub> 单克隆抗体 (1 μg/只), 每只小鼠腹腔感染  $1 \times 10^7$  CFU 金葡



A: 以终浓度 50、100 ng/mL 单克隆抗体孵育 A549 细胞 2 h, 金黄色葡萄球菌对 A549 细胞的黏附能力检测; B: 以终浓度 50、100 ng/mL 单克隆抗体孵育 A549 细胞 2 h, 金黄色葡萄球菌对 A549 细胞的侵入能力检测; 实验重复 3 次。两组比较,  $P < 0.05$ 。

图4 anti-SraP<sub>L-Lectin</sub> 单克隆抗体降低金黄色葡萄球菌黏附和侵入 A549 细胞

Figure 4 Effect of anti-SraP<sub>L-Lectin</sub> monoclonal antibodies against *S. aureus* in attachment to A549

菌, 摘眼球取血, 稀释一定浓度涂板计数。与 PBS 组相比, 抗体组血液中的菌落数明显降低, 但是肾脏中却无明显差异 ( $P < 0.01$ , 图 5)。结果表明, anti-SraP<sub>L-Lectin</sub> 单克隆抗体能够显著降低感染小鼠血液中的金黄色葡萄球菌数量。

### 3 讨论

目前已经在多种革兰氏阳性菌中鉴定出 SRRP, 并且认为其在细菌侵入宿主的过程中发挥了重要毒力作用<sup>[9]</sup>。SRRP 主要通过其配体结合区与不同配体结合发挥作用, 其结合区的多态性也直接导致了感染多元性 (如心内膜炎、脑膜炎和肺炎

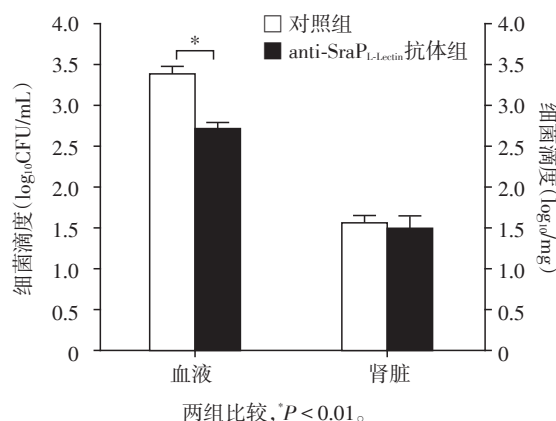


图5 小鼠血液和肾脏中的菌落计数  
Figure 5 Bacteria in mice blood and kidneys

等)。目前,只有很少的结合区配体被鉴定出来,其配体属性可以是糖类也可以是蛋白质<sup>[10-11]</sup>。

SraP是金黄色葡萄球菌中的SRRP,在其结构解析之前,人们就发现SraP能够与血小板上的三糖组份结合<sup>[12]</sup>,晶体结构显示,SraP结合区是由4个模序组成的,分别是L-Lectin、 $\beta$ -GF、CDHL-1和CDHL-2,其中L-Lectin模序通过与宿主细胞上的Neu5Ac结合介导细菌与宿主细胞的黏附,除了 $\beta$ -GF外,L-Lectin、CDHL-1和CDHL-2都含有钙离子,当细菌定植宿主细胞时,细胞外的钙离子浓度维持在1.1~1.4 mmol/L<sup>[7]</sup>,因此,SraP结合区能够保持稳定的相对刚性棒状结构,而以球形伸展至细菌表面更加有利于与宿主受体结合。Yang等<sup>[8]</sup>研究发现,敲除L-Lectin模序能够显著降低金黄色葡萄球菌黏附和侵入到A549细胞的能力,因此L-Lectin模序是SraP发挥毒力作用的主要功能区。本研究制备的针对L-Lectin模序的单克隆抗体,能够特异性识别rSraP<sub>L-Lectin</sub>重组蛋白,细胞实验结果表明,以终浓度50 ng/mL anti-SraP<sub>L-Lectin</sub>单克隆抗体预先孵育A549细胞,金葡萄球菌黏附和侵入A549细胞下降40%左右,当终浓度达到100 ng/mL时,黏附和侵入A549细胞的能力降低50%以上。Anti-SraP<sub>L-Lectin</sub>单克隆抗体阻断野生金葡萄球菌黏附和侵入宿主细胞的能力与敲除细菌L-Lectin模序相当<sup>[8]</sup>(未发表资料),小鼠体内实验表明,anti-SraP<sub>L-Lectin</sub>单克隆抗体能够显著降低小鼠血液中金葡萄球菌的数量。anti-SraP<sub>L-Lectin</sub>单克隆抗体可能是通过封闭金葡萄球菌表面蛋白SraP的L-Lectin模序,从而阻断金葡萄球菌与血小板的结合来减少金葡萄球菌在血液中的数量。但是肾脏中的菌落数无明显差异,可能是由于肾脏细胞中缺少能够与金葡萄球菌锚定蛋白SraP特异性结合的受体,使得该单克隆抗体无明显阻断效应。以上结果表明,以SraP的L-Lectin模序作为防控金黄色葡萄球菌感染宿主细胞的靶点是可行的。

金黄色葡萄球菌是医院获得性感染最主要的病原菌之一。对金黄色葡萄球菌的预防和治疗是临床面临的难题之一,特别是抗生素的滥用导致耐药菌株不断增加。因此,新的有效防控金黄色葡萄球菌感染的药物靶点成为目前研发的热点。病原菌成功定植到易感部位是引起感染的最重要前提,降低或阻断细菌对宿主的黏附和定植是防控病原菌感染的有效策略之一。本研究将金黄色葡萄球菌富丝氨酸重复蛋白SraP的配体结合区中的L-Lectin模序作为研发靶点,获得的anti-SraP<sub>L-Lectin</sub>单克隆抗体能够降低金黄色葡萄球菌黏附和侵入宿主细胞的

能力,为进一步研发防控金黄色葡萄球菌感染提供了新的药物作用靶点和实验基础。

#### [参考文献]

- [1] Arêde P, Milheiriço C, De Lencastre H, et al. The anti-repressor MecR2 promotes the proteolysis of the mecA repressor and enables optimal expression of  $\beta$ -lactam resistance in MRSA[J]. PLoS Pathog, 2012, 8(7): e1002816
- [2] Garcarena CD, Mchale TM, Watkin RL, et al. Coordinated molecular cross-talk between *Staphylococcus aureus*, endothelial cells and platelets in bloodstream infection[J]. Pathogens, 2015, 4(4): 869-882
- [3] Foster TJ, Geoghegan JA, Ganesh VK, et al. Adhesion, invasion and evasion: the many functions of the surface proteins of *Staphylococcus aureus* [J]. Nat Rev Microbiol, 2014, 12(1): 49-62
- [4] Sanchez CJ, Shivshankar P, Stol K, et al. The pneumococcal serine-rich repeat protein is an intra-species bacterial adhesin that promotes bacterial aggregation *in vivo* and in bio films[J]. PLoS Pathog, 2010, 6(6): e1001044
- [5] Van Sorge NM, Quach D, Gurney MA, et al. The group B streptococcal serine-rich repeat 1 glycoprotein mediates penetration of the blood-brain barrier[J]. J Infect Dis, 2009, 199(10): 1479-1487
- [6] Kukita K, Kawada-Matsuo M, Oho T, et al. *Staphylococcus aureus* SasA is responsible for binding to the salivary agglutinin gp340, derived from human saliva[J]. Infect Immun, 2013, 81(6): 1870-1879
- [7] Siboo IR, Chambers HF, Sullam PM. Role of SraP, a serine-rich surface protein of *Staphylococcus aureus*, in binding to human platelets[J]. Infect Immun, 2005, 73(4): 2273-2280
- [8] Yang YH, Jiang YL, Zhang J, et al. Structural insights into SraP-mediated *Staphylococcus aureus* adhesion to host cells[J]. PLoS Pathog, 2014, 10(6): e1004169
- [9] Lizcano A, Sanchez CJ, Orihuela CJ. A role for glycosylated serine-rich repeat proteins in gram-positive bacterial pathogenesis[J]. Mol Oral Microbiol, 2012, 27(4): 257-269
- [10] Schulte T, Löfling J, Mikaelsson C, et al. The basic keratin 10-binding domain of the virulence-associated pneumococcal serine-rich protein PsrP adopts a novel MSCRAMM fold[J]. Open Biol, 2014, 4: 130090
- [11] Glaser P, Rusniok C, Buchrieser C, et al. Genome sequence of *Streptococcus agalactiae*, a pathogen causing invasive neonatal disease[J]. Mol Microbiol, 2002, 45(6): 1499-1513
- [12] Maurer P, Hohenester E, Engel J. Extracellular calcium-binding proteins[J]. Curr Opin Cell Biol, 1996, 8(5): 609-617

[收稿日期] 2018-05-17