

贺建忠,陈宏伟,王贵强,等.金黄色葡萄球菌生物被膜形成与生物被膜相关基因的调查研究[J].江苏农业科学,2015,43(4):55-59.  
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2015.04.018

# 金黄色葡萄球菌生物被膜形成与生物被膜 相关基因的调查研究

贺建忠<sup>1</sup>,陈宏伟<sup>1</sup>,王贵强<sup>2</sup>,王永<sup>1</sup>,白万胜<sup>1</sup>,郭新怀<sup>1</sup>,王勇<sup>1</sup>

(1.新疆生产建设兵团塔里木畜牧科技重点实验室,新疆阿拉尔 843300; 2.湖北省畜禽育种中心,湖北武汉 430070)

**摘要:**以分离自全国 9 个省(市、区)的 102 株奶牛乳房炎源性金黄色葡萄球菌为研究对象,应用刚果红法(congo red agar, CRA)和半定量黏附试验(semi quantitative adherence assay, SQAA)检测了生物被膜形成情况,应用 PCR 法检测了 8 种生物被膜相关基因分布情况。结果发现,携带 7 种基因的菌株占有绝对优势,其次是携带 6 种基因的菌株;最流行的基因组合是 *SigB-icaR-icaA-icaD-sarA-rbf-SasG*,比例高达 66.7%;北京、内蒙古、宁夏、甘肃、广西、上海等地生物被膜形成与生物被膜相关基因的分布高度一致。以上研究结果表明,多种生物被膜相关基因组合是奶牛乳房炎源性金黄色葡萄球菌流行的主要特点,生物被膜形成和生物被膜相关基因的分布在大多数地区表现高度一致性,*rbf* 和 *SigB* 基因可能在金黄色葡萄球菌生物被膜形成和乳房感染过程中发挥着重要作用。本研究结果将为金黄色葡萄球菌性乳房炎的防治提供一定的科学参考。

**关键词:**金黄色葡萄球菌;生物被膜;奶牛乳房炎;生物被膜相关基因

**中图分类号:** S852.61<sup>+</sup>1 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2015)04-0055-04

金黄色葡萄球菌(*Staphylococcus aureus*, SA)是奶牛乳房炎(bovine mastitis)的主要病原之一,防治困难,常给乳业造成巨大的经济损失。SA 易形成生物被膜(biofilm, BF),BF 对抗生素治疗以及宿主免疫均可产生较强的抵抗力,因此被认为是乳房炎发病机制中一个重要毒力因子<sup>[1-2]</sup>。生物被膜形成受多种基因调控,这些调控基因统称为生物被膜相关基因(biofilm-associated genes, BAGs)。例如 *icaA* 和 *icaD* 的表达可促进 BF 的形成<sup>[3]</sup>, *icaR* 通过抑制 *ica* 的转录而抑制 BF 的形成。此外, *rbf*、*bap*、*sarA*、*SigB* 和 *SasG* 等均可直接或间接调节 BF 的形成。

对于 BF 形成及 BAGs 分布多有报道,但对于 BF 形成和 BAGs 关系的研究却鲜有报道。为此,本研究以全国 9 个省(区)102 株 SA 为研究对象,进行了 BF 及 BAGs 分布情况调查,旨在分析地域性差异,为 SA 性发乳房炎的进一步防治提供基础数据。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

**1.1.1 菌株背景** 102 株 SA 均分离自亚临床性乳房炎乳样。菌株为本实验室鉴定、保存。鉴定程序包括溶血性观察、革兰氏染色、触酶试验、凝固酶试验、生化鉴定及 SA 特异性

基因 *nuc* 的 PCR 检测等。鉴定后的菌株在含 20% 甘油的 Luria-Bertani (LB)肉汤中于 -80 ℃超低温冰箱中保存。

菌株分离自全国 9 个省(市、区),共 102 株,其中河北省 37 株、北京市 14 株、内蒙古自治区 7 株、甘肃省 7 株、宁夏自治区 11 株、新疆维吾尔自治区 7 株、河南省 6 株、上海市 5 株、广西壮族自治区 7 株。

**1.1.2 主要试剂与仪器** 胰蛋白胨大豆胨肉汤(TSB)、胰蛋白胨大豆琼脂(TSA)、脑心浸液(BHI)琼脂/肉汤购自北京奥博星生物技术有限责任公司,细菌基因组 DNA 提取试剂盒购自北京索莱宝科技有限公司,刚果红购自天津科密欧试剂有限公司,蔗糖购自天津市致远化学试剂有限公司,磷酸二氢钠( $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ )和磷酸氢二钠( $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$ )分别购自国药集团化学试剂有限公司和北京化学试剂有限公司,琼脂糖、*Taq* mix 和 Marker 购自北京艾德莱生物科技有限公司,引物由北京三博远志生物技术有限公司合成。

台式微量高速离心机(TG-16S):四川蜀科仪器有限公司;气浴恒温振荡器(THZ-82A):金坛市医疗仪器厂;数显电热培养箱(HPX-9052MBE):上海博讯实业有限公司医疗设备厂;电泳仪(DYY-6D):北京市六一仪器厂;凝胶成像分析系统(Tanon-4100):上海天能科技有限公司;DNM-9602 酶标分析仪:北京普朗新技术有限公司。

### 1.2 方法

**1.2.1 BF 检测** 刚果红法(congo red agar, CRA):将 36 g 蔗糖和 0.8 g 刚果红溶于 1 L 脑心浸液培养基(BHI)中,121 ℃高压灭菌 15 min,倾倒入平板(CRA 平板),备用。挑取复苏后的单菌落接种于 CRA 平板,于 37 ℃恒温培养箱中培养 24 h 后观察菌落形态。凡粗糙、干燥、水晶样的黑色菌落均为生物被膜阳性株(biofilm-positive strains);而红色的光滑型菌落为生物被膜阴性株(biofilm-negative strains)。

收稿日期:2014-04-15

基金项目:国家自然科学基金地区基金(编号:31260628);塔里木畜牧科技兵团重点实验室开放课题(编号:HS201204)。

作者简介:贺建忠(1977—),男,内蒙古五原人,硕士,副教授,研究方向为临床兽医学。E-mail:talimuhe\_he@126.com。

通信作者:白万胜,副教授,研究方向为临床兽医学。E-mail:bwsky@126.com。

半定量黏附试验 (semi-quantitative assay, SQAA): 挑取复苏后的单菌落接种于 BHI 肉汤, 37 ℃ 恒温振荡器中过夜培养。取过夜培养的 BHI 肉汤, 用含 20 g/L 葡萄糖的 BHI 肉汤按 1:100 的比例稀释。用微量移液器吸取 200 μL 稀释后的菌液转移到 96 孔板。每组设 3 个重复, 以 BHI 肉汤作阴性对照。将 96 孔板置于 37 ℃ 恒温培养箱中培养 24 h 后, 将 96 孔板中的液体移除, 用 PBS 液清洗 2 遍, 以除去剩余的浮游菌。倒置自然干燥后, 加入 100 μL 95% 乙醇固定 5 min, 再用 100 μL 1% 结晶紫染色 5 min。染色后, 用灭菌蒸馏水清洗 3 遍, 以除去剩余的染液。自然干燥后, 用酶标仪测定 570 nm 下的 *D* 值。凡  $D_{570\text{ nm}} \geq 0.1$  的为生物被膜阳性株,  $D_{570\text{ nm}} < 0.1$  的

为生物被膜阴性株。*D* 值取 3 组的平均值。

1.2.2 BAGs 检测 按照索莱宝细菌基因组 DNA 提取试剂盒说明书提供的步骤进行。提取的 DNA 模板保存于 -20 ℃ 冰箱中备用。8 个生物被膜形成相关基因 (*icaA*、*icaD*、*icaR*、*sigB*、*sarA*、*bap*、*rbf*、*sasG*) 采用 PCR 法进行检测, 引物序列、退火温度、产物大小及参考文献见表 1。PCR 反应体系 (20 μL) 分别含有 1 μL 上下游引物、7 μL ddH<sub>2</sub>O、10 μL *Taq* Mix 和 1 μL DNA 模板。PCR 反应条件如下: 95 ℃ 预变性 8 min; 95 ℃ 变性 30 s, 相应的退火温度 (表 1) 退火 30 s, 72 ℃ 延伸 10 min, 30 个循环。含 0.5 μg/mL 溴乙锭 (EB) 的 1.5% 琼脂糖凝胶中电泳, PCR 产物在凝胶成像系统中观察。

表 1 引物设计

基因	引物序列(5'→3')	<i>T<sub>m</sub></i> (℃)	目的片段长度 (bp)	参考文献
<i>icaA</i>	CCTAACTAACGAAAGGTAG; AAGATATAGCGATAAGTGC	56	1 315	[4]
<i>icaD</i>	ATGCTCAAGCCAGACAGG; CGTGTTTTCAACATTTAATGCAA	56	198	[5]
<i>bap</i>	CCCTATATCGAAGGTGTAGAATTG; GCTGTTGAAGTTAATACTGTACCTGC	60	971	[6]
<i>icaR</i>	CAATAATCTAATACGCCTGAG; AGTAGCGAATACACTTCATCT	54	246	[5]
<i>sarA</i>	TTTTTTTACGTTGTTGTGCATTAACA; CATTTAACTACAAACAACCACAAGTTG	56	135	[7]
<i>rbf</i>	ACGCGTTGCCAAGATGGCATACTCTT; AGCCTAATTCGCCAAACCAATCGCTA	62	164	[8]
<i>SasG</i>	CGGATCCGCTGTGACAATCAGTATGAC; CGGAATTCGCGACATTTATGTGGATACAC	55	937	[9]

2 结果与分析

2.1 BAGs 的分布情况

BF 相关基因广泛分布于乳房炎性 SA 分离株中, 所有的 102 株 SA 至少携带 1 种 BAG。相比较而言, 同时存在 7 种基因的菌株最多, 所有菌种阳性菌株 Total (+)、CRA 检测 BF 阳性菌株 CRA (+)、SQAA 检测 BF 阳性菌株 SQAA (+)、CRA 和 SQAA 检测均为阳性的菌株 CRA (+) & SQAA (+) 比例分别为 66.7%、72.5%、65.3%、63.6%。其次, 同时携带 6 种基因的菌株较多, 且 SQAA (+) 和 CRA (+) & SQAA (+) 比例最高。所有被测菌株均未扩增出 *bap* 基因, 因此没有同时存在 8 种被测基因的菌株。

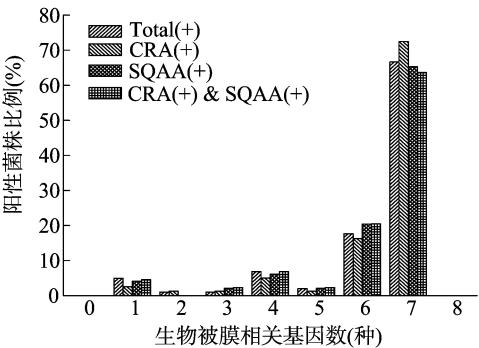


图 1 BAGs 的数量分布

本研究共检测了 8 种 BF 相关基因, 出现的组合形式共 20 种, 其中比例最高的是 7 种基因的组合, 最少的仅有 1 种基因存在。最流行的组合是 *SigB-icaR-icaA-icaD-sarA-rbf-SasG*, 比例高达 66.7%; *SigB-icaR-icaA-sarA-rbf-SasG*, *SigB-icaA-icaD-sarA-rbf-SasG*, *SigB-icaR-icaD-sarA-rbf-SasG*, *SigB, icaR-icaA-icaD-sarA-rbf-SasG*, *SigB-icaA-rbf-SasG* 的比例分别是 6.9%、3.9%、2.9%、

2.9%、2.0%、2.0%; 其余组合均为 1.0%, 即组合形式仅出现 1 次 (表 2)。

表 2 BF 相关基因组合的流行情况

相关基因组合							比例 (%)
<i>SigB</i>	<i>icaR</i>	<i>icaA</i>	<i>icaD</i>	<i>sarA</i>	<i>rbf</i>	<i>SasG</i>	
+	+	+	+	+	+	+	66.7
+	+	+	-	+	+	+	6.9
+	-	+	+	+	+	+	3.9
+	+	-	+	+	+	+	2.9
+	-	-	-	-	-	-	2.9
-	+	+	+	+	+	+	2.0
+	-	+	-	-	+	+	2.0
-	+	-	-	-	-	-	1.0
-	-	-	-	-	+	+	1.0
+	-	-	-	-	+	-	1.0
+	-	-	+	-	+	-	1.0
+	-	-	+	-	+	+	1.0
+	+	+	-	-	+	-	1.0
+	-	-	+	+	+	-	1.0
-	-	+	+	-	+	+	1.0
+	-	+	-	+	+	+	1.0
-	+	+	+	-	+	-	1.0
+	+	+	+	+	-	+	1.0
+	+	+	+	+	+	-	1.0

2.2 BF 的检测结果

由图 2 可以看出, 河北省 BF 阳性株 BAGs 的比例均低于菌株总数。宁夏和甘肃 BF 阳性株 BAGs 的比例均高于或等于菌株总数, 而且 SQAA (+) 和 CRA (+) & SQAA (+) 全部为 100%, 说明 BAGs 和 SQAA + 存在完全的一致性。除了北京市的 *icaD* 基因和内蒙古的 *icaR* 基因, 这 2 个地区 BAGs 在 SQAA (+) 和 CRA (+) & SQAA (+) 中均高于或等于菌种总

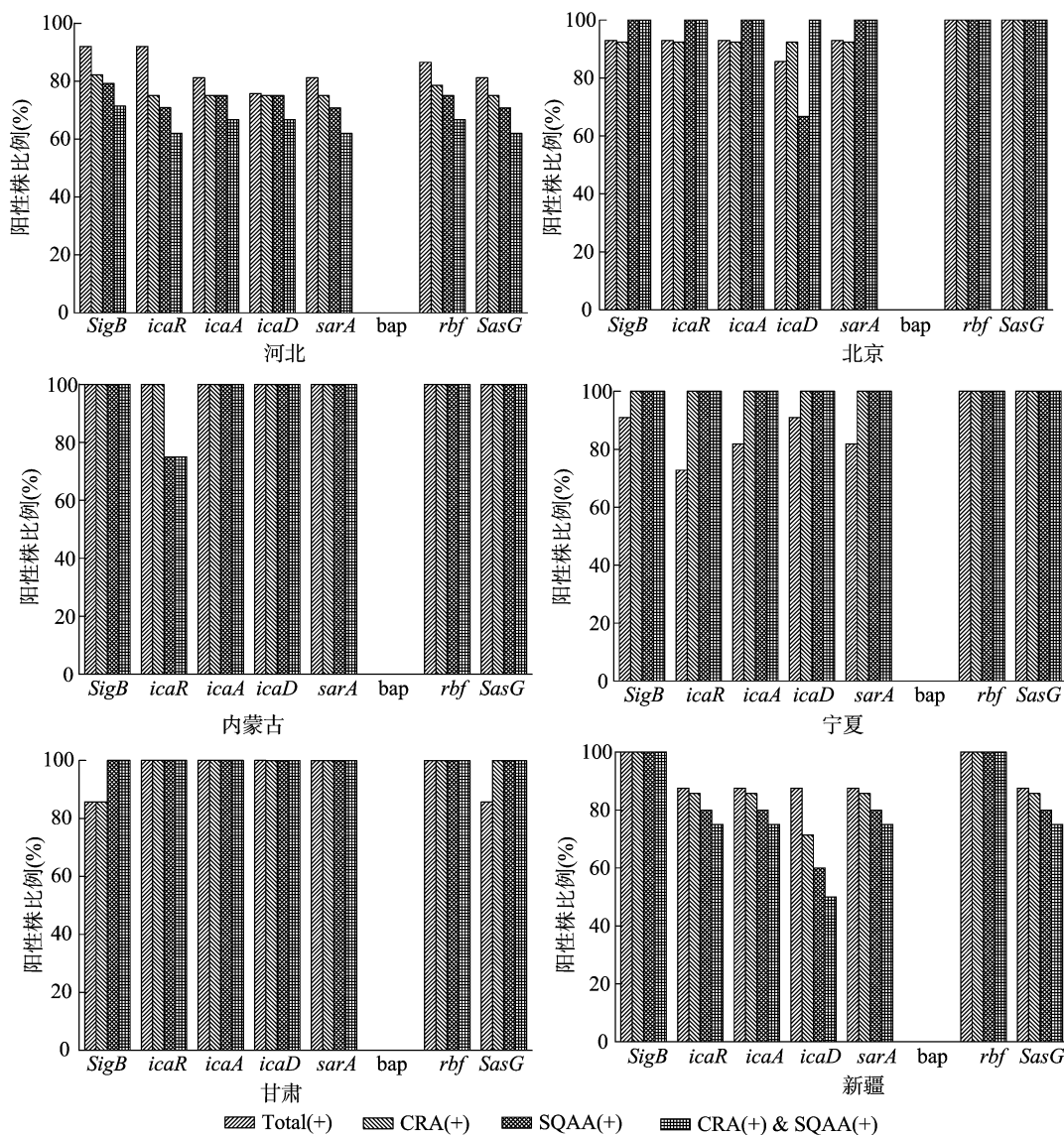


图2 华北、西北地区及全国 BF 形成与 BAG 的关系

数中的比例。新疆除 *SigB* 和 *rbf2* 个基因外,其他的变化趋势与河北相似。

由图 3 可以看出,河南 BAGs 在 CRA(+) 和菌株总数中的比例全部相同, BAGs 在 SQAA(+) 和 CRA(+) & SQAA(+) 中的比例也全部相同。广西和上海 BAGs 在 SQAA(+) 和 CRA(+) & SQAA(+) 中均为 100%, BAGs 分布与 BF 形成表现出很好的一致性。就全国范围总体而言, CRA(+) 中 BAGs 的比例均高于菌种总数和其他 BF 阳性株,说明 CRA(+) 在全国范围内与 BAGs 的符合度较高。

### 3 讨论

SA 是引发临床型乳房炎和亚临床型乳房炎最主要的病原之一<sup>[10]</sup>,可降低牛奶质量,造成严重的经济损失,是影响奶业发展的主要问题<sup>[11]</sup>。SA 具有多种毒力因子,其中 BF 形成被认为是引发慢性感染的主要原因<sup>[12]</sup>。BF 的形成与 BAGs 的分布密不可分,本研究结果显示,BF 阳性株均存在较高比例的 BAGs,其中同时存在 7 种和 6 种被测基因的占有绝对优

势。在 20 种流行组合中,最流行的组合是 *SigB-icaR-icaA-icaD-sarA-rbf-SasG*,比例高达 66.7%,其次是 *SigB-icaR-icaA-sarA-rbf-SasG* (6.9%)、*SigB-icaR-icaD-sarA-rbf-SasG* (2.9%)、*SigB-icaR-icaA-icaD-sarA-rbf-SasG* (2.9%)、*icaR-icaA-icaD-sarA-rbf-SasG* (2.0%) 和 *SigB-icaA-rbf-SasG* (2.0%)。以上结果表明,多种 BAGs 组合是我国乳房炎性 SA 流行的重要特征之一,同时这些基因可能在 BF 形成过程发挥重要作用。*icaA* 和 *icaD* 共同表达增加 N-乙酰葡萄糖胺转移酶活性,促进 BF 的形成<sup>[13]</sup>,而 *icaR* 可通过限制 *ica* 表达抑制 BF 的形成。*SigB*、*rbf* 与 *SasG* 的表达能够促进 BF 的形成<sup>[14-16]</sup>,而 *SarA* 的表达能够限制 BF 的形成<sup>[17]</sup>,迄今,尽管 *bap* 基因表达能够促进 SA 在乳房内的黏附和 BF 的形成<sup>[18]</sup>,但是在本研究所有被测菌株中均未扩增出该基因,说明该基因在我国乳房炎性金黄色葡萄球菌 BF 形成和发病机制中居于次要地位。

不同地区 BF 形成与 BAGs 分布的一致性存在一定差别。广西、上海、北京、内蒙古、宁夏和甘肃 7 个省(市、区) BAGs 分

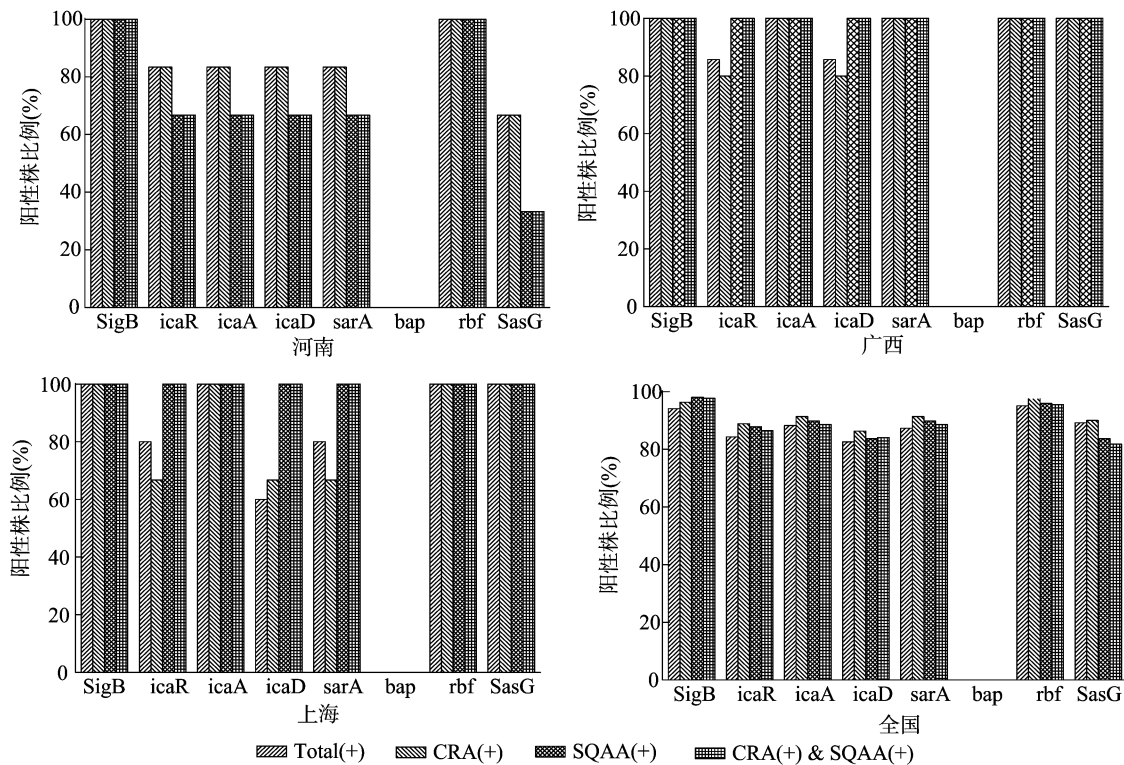


图3 华中地区、华南地区、华东地区及全国 BF 形成与 BAGs 的关系

布 BF 形成保持高度一致性,而河北、河南和新疆 BAGs 分布和 BF 形成的一致性相对降低,提示在 BF 形成和乳房炎发病机制中发挥重要作用的可能是本研究未检测的某些基因。具体到基因种类, *rbf* 和 *SigB* 分布最广,在大多数省份均为 100%,提示这 2 个基因在 SA 性乳房炎发病机制中可能发挥着重要作用。*Rbf* 可抑制 *icaR* 的表达,能够间接激活 *icaADBC* 的表达,促进 BF 的形成,但是并不依赖于 *ica* 通路<sup>[16]</sup>。*sigB* 能够促进不同毒力因子表达的调控,促进 BF 形成的同时能够调节抗生素耐药性<sup>[19]</sup>。因此,通过 *rbf* 和 *SigB* 基因功能调节入手,研究我国乳房炎性 SA 的致病机制,可能是一种新的思路。

综上所述,多种 BAGs 组合流行是我国乳房炎性 SA 流行的主要趋势,各地区金黄色葡萄球菌 BF 形成和 BAGs 分布存在一定的差异。

#### 参考文献:

- [1] Brady R A, O'may G A, Leid J G, et al. Resolution of staphylococcus aureus biofilm infection using vaccination and antibiotic treatment [J]. Infection and Immunity, 2011, 79(4): 1797 - 1803.
- [2] Vergara - Irigaray M, Valle J, Merino N, et al. Relevant role of fibronectin - binding proteins in staphylococcus aureus biofilm - associated foreign - body infections [J]. Infection and Immunity, 2009, 77(9): 3978 - 3991.
- [3] Manuela O F. Invasive potential of biofilm - forming staphylococci bovine subclinical mastitis isolates [J]. J Vet Sci, 2011, 12(1): 95 - 97.
- [4] Vasudevan P, Nair M K, Annamalai T, et al. Phenotypic and genotypic characterization of bovine mastitis isolates of *Staphylococcus aureus* for biofilm formation [J]. Veterinary Microbiology, 2003, 92(1/2): 179 - 185.

- [5] Chaieb K, Mahdouani K, Bakhrouf A. Detection of *icaA* and *icaD* loci by polymerase chain reaction and biofilm formation by *Staphylococcus epidermidis* isolated from dialysate and needles in a dialysis unit [J]. Journal of Hospital Infection, 2005, 61(3): 225 - 230.
- [6] Cucarella C, Tormo M A, Knecht E, et al. Expression of the biofilm - associated protein interferes with host protein receptors of *Staphylococcus aureus* and alters the infective process [J]. Infection and Immunity, 2002, 70(6): 3180 - 3186.
- [7] Rode T M, Langsrud S, Holck A, et al. Different patterns of biofilm formation in *Staphylococcus aureus* under food - related stress conditions [J]. International Journal of Food Microbiology, 2007, 116(3): 372 - 383.
- [8] Cue D, Lei M G, Luong T T, et al. Rbf promotes biofilm formation by *Staphylococcus aureus* via repression of *icaR*, a negative regulator of *icaADBC* [J]. Journal of Bacteriology, 2009, 191(20): 6363 - 6373.
- [9] 李丽, 杨宏军, 刘代成, 等. 奶牛乳腺炎葡萄球菌生物被膜形成及相关基因分析 [J]. 中国农业科学, 2011, 44(1): 160 - 166.
- [10] Demon D, Ludwig C, Breyne K, et al. The intramammary efficacy of first generation cephalosporins against *Staphylococcus aureus* mastitis in mice [J]. Veterinary Microbiology, 2012, 160(1/2): 141 - 150.
- [11] Graber H U, Pfister S, Burgener P, et al. Bovine *Staphylococcus aureus*; diagnostic properties of specific media [J]. Research in Veterinary Science, 2013, 95(1): 38 - 44.
- [12] Valle J, Solano C, Garcia B, et al. Biofilm switch and immune response determinants at early stages of infection [J]. Trends in Microbiology, 2013, 21(8): 364 - 371.
- [13] Atshan S S, Shamsudin M N, Karunanidhi A, et al. Quantitative PCR analysis of genes expressed during biofilm development of methicillin resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) [J]. Infection Genetics and Evolution, 2013, 18: 106 - 112.

安焕霞,王占林,侯宪宽. 不同激素对青杞 1 号枸杞叶片愈伤组织诱导和生长的影响[J]. 江苏农业科学,2015,43(4):59-61.  
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2015.04.019

# 不同激素对青杞 1 号枸杞叶片愈伤组织诱导和生长的影响

安焕霞,王占林,侯宪宽

(青海大学,青海西宁 810016)

**摘要:**以枸杞品种青杞 1 号叶片为外植体,比较不同激素浓度和配比对叶片愈伤组织诱导、愈伤组织生长的影响。结果表明,诱导叶片产生愈伤组织最佳的激素浓度与配比是 0.7mg/L NAA+0.7mg/L 6-BA;对愈伤组织增殖效果最好的激素浓度与配比是 1.0 mg/L 6-BA+0.8 mg/L IBA+0.2 mg/L NAA;对愈伤组织分化效果最好的激素浓度与配比是 1.3 mg/L KT+0.02 mg/L NAA。

**关键词:**青杞 1 号;枸杞;叶片;激素;愈伤组织诱导

**中图分类号:**S567.1<sup>+</sup>90.4 **文献标志码:**A **文章编号:**1002-1302(2015)04-0059-03

枸杞(*Lycium barbarum* L.)在植物学分类学上属被子植物门双子叶植物纲茄科枸杞亚属。既具有防风固沙、保持水土的作用,又是名贵的中药材,应用前景十分广阔<sup>[1-5]</sup>。青海省柴达木地区平均海拔 2 600~3 000 m,日照时间长,昼夜温差大,空气湿度低,独特的气候条件使得枸杞具有粒大饱满、肉质肥厚、色泽鲜艳且味甘等特性,但枸杞产区存在品种混乱,高产高抗大果型品种匮乏现象,针对此问题,青海省农林科学院经辐射育种培育出枸杞品种青杞 1 号。在栽培繁殖过程中,须保持枸杞木本优良性状,受繁殖材料限制,采用植物组织培养的方式进行快速繁育,是一种极为经济有效的途径。

植物组织培养建立在植物细胞的全能性、植物的再生作用的基础上<sup>[6]</sup>,而植物再生主要是离体的细胞、组织或器官恢复分生状态,形成愈伤组织,进而再分化的过程<sup>[7]</sup>。一般认为,培养环境是能否成功诱导出愈伤组织的重要因素,而在诱导愈伤组织、分化过程中激素是关键<sup>[8-9]</sup>。

目前,众多学者对枸杞组织培养和快速繁殖进行了研

究<sup>[10-12]</sup>,但还不够系统和完善,本研究以青杞 1 号枸杞叶片为试验材料,通过设置不同激素浓度和配比,统计分析愈伤组织生长情况,筛选出最佳的激素配比,为青杞 1 号快速扩繁提供可靠的依据,也可为其他木本植物的相关研究提供技术依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

为防止材料污染现象发生而影响试验结果,本试验从无菌组培苗(由柴达木枸杞产业升级关键技术开发与示范项目提供)上采集叶片。

### 1.2 方法

1.2.1 培养条件 主要是温度和照度,温度均为(23±1)℃,光照时间 16 h/d,照度 1 000~1 600 lx。另外 MS 培养基为基本培养基,并添加蔗糖 30 g/L、琼脂 6.0 g/L,调节 pH 值为 5.8~6.0,在容量为 150 mL 的三角瓶中装入 50 mL,在手提式高压灭菌锅中,于 121℃灭菌 23 min。

1.2.2 激素配制 1 mg/mL NAA、IBA、6-BA 的配制:称取 0.1 g 药粉,加 1 mL 蒸馏水,滴入 0.1 mol/L NaOH 反复摇晃,再滴入 NaOH,一直到药物全部溶解,然后用 100 mL 容量瓶加水定容,盖塞后摇匀。

1 mg/mL KT 的配制:称取 0.1 g 药粉,加 2~3 mL 蒸馏水,滴入 0.1 mol/L NaOH 反复摇晃,再滴入 NaOH,一直到药

收稿日期:2014-12-17

基金项目:国家星火计划重大项目(编号:2012GA870001)。

作者简介:安焕霞(1988—),女,河北邯郸人,硕士研究生,研究方向为森林培育。E-mail:m13086272187@163.com。

通信作者:王占林,研究员,研究方向为森林培育。E-mail:1735105720@qq.com。

[14] Mitchell G, Brouillette E, Séguin D L, et al. A role for sigma factor B in the emergence of *Staphylococcus aureus* small-colony variants and elevated biofilm production resulting from an exposure to aminoglycosides[J]. Microbial Pathogenesis, 2010, 48(1):18-27.

[15] Geoghegan J A, Corrigan R M, Gruszka D T, et al. Role of surface protein SasG in biofilm formation by *Staphylococcus aureus* [J]. Journal of Bacteriology, 2010, 192(21):5663-5673.

[16] Lim Y, Jana M, Luong T T, et al. Control of glucose- and NaCl-induced biofilm formation by rbf in *Staphylococcus aureus* [J]. Journal of Bacteriology, 2004, 186(3):722-729.

[17] Reyes D, Andrey D O, Monod A, et al. Coordinated regulation by AgrA, SarA, and SarR to control agr expression in *Staphylococcus aureus* [J]. Journal of Bacteriology, 2011, 193(21):6020-6031.

[18] Latasa C, Solano C, Penadés J R, et al. Biofilm-associated proteins [J]. Comptes Rendus Biologies, 2006, 329(11):849-857.

[19] Pförtner H, Burian M S, Michalik S, et al. Activation of the alternative sigma factor SigB of *Staphylococcus aureus* following internalization by epithelial cells: an *in vivo* proteomics perspective [J]. International Journal of Medical Microbiology, 2014, 304(2):177-187.