

doi:10.11751/ISSN.1002-1280.2017.12.12

# SarA 调控金黄色葡萄球菌生物被膜形成的研究进展

郑艳阳<sup>1</sup>, 曹凤娇<sup>1</sup>, 明迪<sup>2</sup>, 母丹<sup>2</sup>, 向华<sup>1</sup>

(1.吉林农业大学动物科学技术学院, 长春 130118; 2.吉林大学动物科学学院, 长春 130062)

[收稿日期] 2017-05-27 [文献标识码] A [文章编号] 1002-1280 (2017) 12-0062-07 [中图分类号] S852.61

**[摘要]** 金黄色葡萄球菌生物被膜的形成是一个多基因和多因子共同调控的过程。葡萄球菌属辅助调节子 SarA 是金黄色葡萄球菌主要的毒力基因表达调控系统, 能直接或间接调控多种生物被膜形成相关基因的表达。本文对 SarA 的结构及其调控生物被膜形成的机制作一综述, 以期为深入研究金黄色葡萄球菌的致病机理和开发新的抗生物膜感染策略提供参考。

**[关键词]** 金黄色葡萄球菌; SarA; 生物被膜

## Progress in Study of Impact of SarA on Biofilm Formation by *Staphylococcus aureus*

ZHENG Yan-yang<sup>1</sup>, CAO Feng-jiao<sup>1</sup>, MING Di<sup>2</sup>, MU Dan<sup>2</sup>, XIANG Hua<sup>1</sup>

(1. College of Animal Science and Technology, Jilin Agricultural University, Changchun 130118, China;

2. College of Animal Science, Jilin University, Changchun 130062, China)

**Abstract:** *Staphylococcus aureus* biofilm mode of growth is coherently regulated by multiple genes and factors. Staphylococcal accessory regulator SarA is one of the major regulatory systems which mediate virulence genes expression in *S. aureus*. Several biofilm-associated genes expression is controlled by SarA either in a direct or indirect way. This article conducted a general review regarding the structures of SarA and its regulatory mechanisms on biofilm formation by *Staphylococcus aureus*. These findings provide an important reference for the pathogenesis of *S. aureus* and the development of new strategies applied to eradicate biofilm-associated infections.

**Key words:** *Staphylococcus aureus*; SarA; biofilm

金黄色葡萄球菌 (*Staphylococcus aureus*, 以下简称金葡菌) 是引起人类和动物临床感染的重要病原体之一<sup>[1]</sup>, 感染金葡菌后会引发一系列感染, 从轻度的皮肤感染到严重的全身感染<sup>[2]</sup>。金葡菌易形成生物被膜 (biofilm, BF), 这是金葡菌引发慢性感

染的主要原因<sup>[3]</sup>, 它的形成与金葡菌细胞外基质包括多糖细胞间黏附素 (extracellular polysaccharide intercellular adhesion, PIA), 蛋白质和胞外 DNA (extracellular DNA, eDNA) 密切相关。葡萄球菌属辅助调节子 SarA 是金葡菌主要的毒力基因表达调

基金项目: 吉林省教育厅“十三五”科学技术研究项目(吉教科合字[2016]第 194 号)

作者简介: 郑艳阳, 硕士研究生, 从事动物药理学研究。

通讯作者: 向华。E-mail: xianghua@126.com

控系统。研究表明,不论是在体内或是在体外条件下,SarA 均能通过介导各种生物被膜形成相关基因的表达来调控金葡菌 BF 的形成<sup>[4]</sup>。本文将对 SarA 的结构以及 SarA 调控生物被膜形成相关因子表达的机制进行全面的综述,从而为寻找新型有效的抗菌膜剂提供新的思路和理论依据。

## 1 SarA 的结构

SarA 是由 *sarA* 基因座编码的大小为 14.7 kDa 的 DNA 结合蛋白,它能与靶基因启动子富含 A/T 保守序列的区域结合形成二聚体,也能通过下游基因作用于其他调节子(例如与 *agr* 启动子结合)直接或间接影响目的基因的转录<sup>[5-6]</sup>。*sarA* 基因座由 1.2 kb 个碱基组成,包含三个重叠的转录单位,分别是 *sarA*(0.58 kb)、*sarC*(0.84 kb)、*sarB*(1.15 kb),每个转录单位分别由 P1、P2、P3 启动子驱动<sup>[5]</sup>。

1.1 apo-SarA 的结构 Schumacher<sup>[7]</sup>等 2001 年提出的衍射分辨率为 2.5 Å 的 SarA 晶体结构图表明 SarA 是由 124 个氨基酸残基组成的一种新型折叠蛋白,每个 SarA 单体均有 4 个  $\alpha$ -螺旋核心区域( $\alpha 1$ 、 $\alpha 2$ 、 $\alpha 3$ 、 $\alpha 4A$ 、 $\alpha 4B$ )和一个可诱导区域( $\alpha 1\alpha 2\alpha 3$ - $\beta 1\beta 2$ - $\alpha 4A\alpha 4B$ -c loop)。其中可诱导区域由一个短  $\beta$ -发夹结构( $\beta 1$ 、 $\beta 2$ )和一个长 C-loop 环构成(图 1)。而 Liu 等<sup>[8]</sup>研究却提出 SarA 晶体结构与其蛋白家族成员 SarR 和 SarS 相似,均是翼状螺旋结构,这与之前 Schumacher 等研究提出的 SarA 结构差别很大。Liu 等提出 SarA 单体是由 5 个  $\alpha$ -螺旋,3 条反向平行的  $\beta$  链以及一些 loops 共同组成( $\alpha 1\alpha 2$ - $\beta 1\alpha 3\alpha 4$ - $\beta 2\beta 3$ - $\alpha 5$ )<sup>[8]</sup>,每个 SarA 单体的 N 末端都有一个  $Ca^{2+}$ (图 2),此外每个 SarA 单体的 N 端均有三个参与协调  $Ca^{2+}$  的氨基酸残基,分别是 Glu11、Asn7、Asn8<sup>[8]</sup>。相邻的 SarA 二聚体中对应的这三个氨基酸残基共同组成了  $Ca^{2+}$  螯合区,晶体堆积图表明,许多 SarA 二聚体是通过  $Ca^{2+}$  结合,形成晶体学对称的蛋白质骨架<sup>[8]</sup>(图 2)。SarA 二聚体中存在一个中心螺旋核心部位和两个翼状螺旋基序,每个翼状螺旋基序包含一个螺旋-转角-螺旋(HTH)基序和一个  $\beta$ -发夹转角螺旋<sup>[8]</sup>。

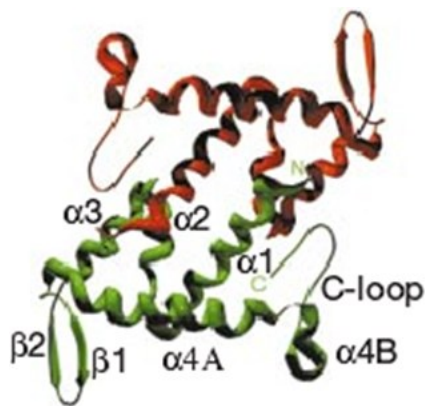


图 1 Apo-SarA 晶体结构<sup>[7]</sup>

Fig 1 Crystal structures of Apo-SarA<sup>[7]</sup>

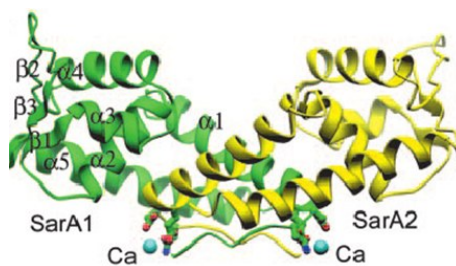


图 2 Apo-SarA 晶体结构<sup>[8]</sup>

Fig 2 Crystal structures of Apo-SarA<sup>[8]</sup>

1.2 DNA-SarA 的结构 翼状螺旋蛋白家族成员均有保守的 DNA 识别结合基序,SarA 与 DNA 结合的结构域包括 HTH 基序( $\alpha 3\alpha 4$ )和由  $\beta$ -发夹转角螺旋( $\beta 2\beta 3$ )组成的翼状结构域(W1)<sup>[6]</sup>。Liu 等研究提出 SarA 与 DNA 相互作用的方式与其翼状螺旋蛋白家族成员 SarR 相似,即 HTH 基序与 DNA 大沟相互作用,翼状结构域与 DNA 小沟相互作用<sup>[8]</sup>(图 3)。SarA 突变蛋白表达 SDS-PAGE 分析图表明,翼状结构域氨基酸残基 R84 和 R90 对 SarA 与目标 DNA(160-bp *spa* 启动子片段)的相互作用至关重要,并且这两个氨基酸残基在 SarA 蛋白家族中高度保守<sup>[8]</sup>(图 4)。翼状结构域氨基酸残基 D88 和 E89,金属结合口袋氨基酸残基 D8 和 E11 以及半胱氨酸残基 C9 均对 SarA 活性起到一定的作用,可见翼状结构域是 SarA 的关键活性部位<sup>[8]</sup>。

## 2 SarA 调控金葡菌生物被膜形成的机制

SarA 是金葡菌的主要毒力因子表达调控系统,它能促进或抑制金葡菌许多毒力基因的表达,基因

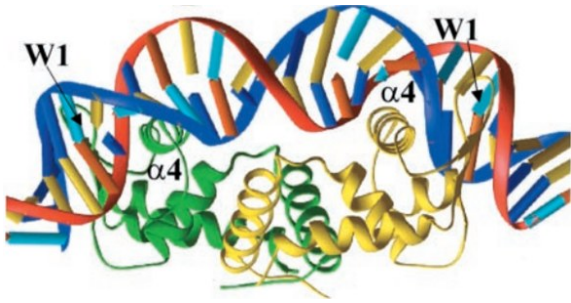


图 3 SarA-DNA 晶体结构

Fig 3 Crystal structures of SarA-DNA complex

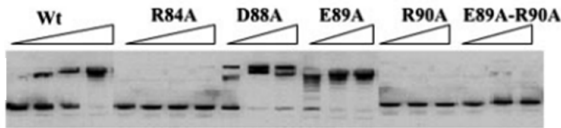


图 4 SarA 突变蛋白表达的 SDS-PAGE 分析

Fig 4 SDS-PAGE analysis of mutant SarA proteins expression

芯片分析发现 SarA 至少会影响 120 个基因的转录<sup>[9]</sup>。其中, SarA 可以促进 agr 的表达, 而 agr 会降低金葡菌形成 BF 的能力, 推测若 sarA 突变, 金葡菌 BF 形成能力会增强<sup>[9]</sup>。但 Valle 等研究发现, sarA 突变却造成 BF 形成能力减弱, 这可能与 SarA 调控多种生物被膜相关基因有关。例如 SarA 突变, 会引起胞外蛋白酶和核酸酶的相关表达增加, 它们会削弱 BF 形成的能力<sup>[10]</sup>。并且研究还发现 agr 突变株和 agr 野生株形成生物被膜的能力相同, 说明 SarA 是以 agr 非依赖途径调控金葡菌 BF 的形成<sup>[10]</sup>。金葡菌 BF 形成过程中存在 ica 依赖途径和 ica 非依赖途径<sup>[11]</sup>。

**2.1 ica 依赖途径** PIA 是金葡菌 BF 形成过程中的重要因子, 主要在 BF 形成的黏附和繁殖阶段发挥作用。PIA 是由胞间黏附素 (intercellular adhesion, ica) 操纵子 icaABCD 表达产物共同催化合成<sup>[9]</sup>。大部分的金葡菌都携带 ica 操纵子, 但 ica 操纵子对金葡菌生物被膜形成所起的作用很复杂, 并且存在菌株和环境依赖性<sup>[12]</sup>。

Valle 等研究首次发现金葡菌 sarA 突变株生物被膜表型缺失的现象, 他们指出 sarA 突变会显著

减少 ica 和 PIA 的表达量, 导致细菌无法形成生物被膜<sup>[10]</sup>。然而研究并未指出 SarA 可否与 ica 操纵子的启动子结合。而 Tormo 等研究证实了 SarA 能与 ica 操纵子的启动子结合, 他们发现 SarA 与 icaR-icaA 启动子序列之间的亲和力高, 启动子序列之间存在多个 DNA 结合位点, SarA 易与这些 DNA 位点结合, 从而促进 ica 操纵子的表达<sup>[13]</sup>。Cerca 等研究还发现 SarA 可以上调 icaR 的表达, IcaR 是位于 ica 操纵子上游的调控基因, IcaR 对 ica 操纵子的表达有抑制作用。但研究表明, 与表皮葡萄球菌不同, 金葡菌中 IcaR 对 ica 操纵子的表达基本没有影响<sup>[14]</sup>。

除此之外, 有研究表明磷酸化/去磷酸化与 SarA 活性和 BF 的形成密切相关。Didier 等研究发现金葡菌丝氨酸激酶 StK1/PknB 和苏氨酸激酶 SA0077 对 SarA 有磷酸化作用。SarA 经 StK1/PknB 磷酸化后, 能增强与某些启动子序列的亲和力<sup>[15]</sup>。Tamber 等的研究提出磷酸化后的 SarA 可能会显著影响 ica 操纵子的表达, 但具体机制尚不清楚<sup>[16]</sup>。

**2.2 ica 非依赖途径** icaADBC 操纵子和 PIA 固然对金葡菌 BF 的形成至关重要, 但近来有研究提出了 ica 非依赖金葡菌 BF 形成机制<sup>[17]</sup>。Beenken 等研究发现剔除人源金葡菌临床分离株 UASM-1 的 ica 基因, 对生物被膜的形成并没有影响, 而突变 sarA 后则会削弱生物被膜的形成能力<sup>[17]</sup>。此外有研究发现 sarA 突变会消除耐甲氧西林金黄色葡萄球菌 (Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*, MRSA) 形成生物被膜的能力, 而 MRSA 主要是以蛋白质介导的 ica 非依赖途径形成生物被膜<sup>[18-19]</sup>。因此, 以上数据表明 SarA 也能调控 ica 非依赖生物被膜的形成。

**2.2.1 蛋白质依赖途径** 在 ica 非依赖金葡菌 BF 形成途径中, 主要是蛋白质和 eDNA 等发挥作用, 它们均是细菌 BF 基质的重要成分。在金葡菌中, BF 的形成与某些细胞壁锚定蛋白有关, 包括表面蛋白 C 和 G (surface protein C and G, SasC 和 SasG)、凝集因子 A/B (clumping factor A/B, ClfA/ClfB)、丝氨酸-天冬氨酸重复蛋白 (serine aspartate repeat

proteins, SdrC、SdrD 和 SdrE), 生物膜相关蛋白 (biofilm associated protein, Bap), 表面蛋白 A (surface protein A, SpA) 和纤连蛋白结合蛋白 (fibronectin-binding proteins, FnBPA 和 FnBPB)<sup>[20]</sup>。研究表明这些葡萄球菌属表面蛋白可以在 *ica* 非依赖 BF 形成的初始黏附和聚集阶段中发挥作用<sup>[21]</sup>。J.Penades 和 I.Lasa 研究团队最先阐明了 *ica* 非依赖的生物被膜形成机制, 他们证实了 Bap 在奶牛乳房炎金葡菌分离株 V329 BF 形成的初始黏附和聚集阶段中发挥了关键作用<sup>[22]</sup>。研究发现突变 V329 的 *ica* 操纵子, 并不会影响 BF 的形成。另外 Totonda 等研究分析了 SarA 对 Bap 表达的影响, 发现 SarA 以 *agr* 非依赖途径上调了 *bap* 的表达, SarA 可以与 *bap* 的启动子结合, SarA 是 *bap* 表达的活化剂<sup>[23]</sup>。他们构建的 *sarA* 突变株 JP62 和 JP65 均不能形成生物被膜, 而将携带 *sarA* 的重组质粒导入 JP66 和 JP69 中后, Bap 重新表达, 并且均能形成生物被膜, 表明 SarA 可以恢复 Bap 依赖的生物被膜形成能力<sup>[23]</sup>。

研究还发现, 胞外蛋白酶在蛋白质依赖的生物被膜形成中发挥关键作用<sup>[24]</sup>。SarA 可以抑制胞外蛋白酶 (extracellular protease) 的活性。并且有研究表明, 在 SarA 调控生物被膜形成的机制中, 相比于 PIA 依赖机制, 胞外蛋白酶介导机制更为重要, 而且在此过程中, SarA 不依赖 *agr* 途径<sup>[4]</sup>。Zielinska 等研究发现在金葡菌 *sarA* 突变会导致胞外蛋白酶包括金属蛋白酶 (aureolysin, Aur), 丝氨酸蛋白酶 (serine protease, SspA 和 SplA-F), 半胱氨酸蛋白酶 (cysteine protease, ScpA/ SspB) 分泌增加, 这些金葡菌胞外蛋白酶均能限制 BF 形成, 其中 Aur 影响最大<sup>[25-26]</sup>。*sarA* 突变后, 胞外蛋白酶分泌增加, 这会导致超过 250 多种金葡菌蛋白质包括 FnBPA, SpA,  $\alpha$ -毒素以及酚可溶性调控蛋白的表达减少, 这些蛋白与金葡菌的多种致病机理有关包括 BF 形成<sup>[25]</sup>。

FnBPA 和 FnBPB 是金葡菌与纤维蛋白原结合的主要蛋白, 它们能促进细菌定殖到宿主组织, 完成 BF 形成的初始黏附过程。研究发现, MRSA 菌

株的生物被膜形成能力主要与表面蛋白, 特别是 FnBPA 和 FnBPB 密切相关。Loughran 等的研究发现 *aur* 可以抑制 MRSA 和 MSSA 形成生物被膜的能力<sup>[26]</sup>。他们还构建了 MRSA *sarA* 突变株, 并且分别构建了同源的四株双重突变株 *sarA/aur*、*sarA/sspAB*、*sarA/sspB*、*sarA/scpA*, 发现 SarA 可以限制这些基因的转录, 从而减少其对应编码的胞外蛋白酶的分泌, 降低了生物被膜形成相关蛋白的解聚, 继而促进了 BF 的形成<sup>[27]</sup>。他们还发现突变 *sspABC* 操纵子可以恢复 *sarA* 突变株 FnBPA 的表达, 而突变编码 *aur* 的基因可以恢复 SpA,  $\alpha$ -毒素以及酚可溶性调控蛋白的表达<sup>[26]</sup>。但 SspA 需要 SspB 的激活, Aur 需要 SspA 的激活, 所以 Aur 可能是间接地影响这些毒力因子的表达<sup>[27]</sup>。然而研究发现, 突变 *sarA* 突变株 *sspABC* 操纵子并没有恢复 SpA,  $\alpha$ -毒素以及酚可溶性调控蛋白的表达, 说明 *aur* 自身会影响这些毒力因子的表达<sup>[26]</sup>。

除此之外有研究发现, 在 Newman 菌株中, SarA 可以通过与 SaePQRS 协同合作来抑制蛋白酶的合成, SarA 能提高 SaePQRS 的活性, 而 SaePQRS 能抑制胞外蛋白酶的分泌, 使得生物被膜表面相关蛋白如 FnBPA 分泌量增加, 从而促进了生物被膜的形成。但目前对于 SaePQRS 抑制蛋白酶分泌的机制还尚不清楚<sup>[28]</sup>。他们还发现往 *sarA* 突变株添加全局蛋白酶抑制剂后, FnBPs 水平提高了 6 倍, 而加入半胱氨酸蛋白酶抑制剂 E64 并没有影响 FnBPs 的水平, 表明 SarA 不是通过影响 SspB 和 ScpA 的分泌来影响 FnBPs 的水平<sup>[29]</sup>。研究发现 *ssp* 或 *aur* 活性丧失, 会导致 10 到 20 倍金葡菌 *sarA* 突变株 SpA 水平的增加<sup>[29]</sup>。

### 2.2.2 eDNA 依赖途径

eDNA 在 *ica* 非依赖金葡菌生物被膜形成过程中发挥重要作用, 它主要影响生物被膜形成的早期黏附阶段和成熟阶段<sup>[29-31]</sup>。研究发现, 用 DNaseI 处理成熟的生物被膜, 生物被膜会溶解<sup>[30]</sup>。此外, eDNA 在生物被膜中的水平会受到耐热核酸酶 (nuclease, nuc) 的调控, 而许多研究表明 SarA 会下调 nuc 的表达<sup>[32-33]</sup>。

Tsang 等研究构建了 UAMS-1 nuc 突变株和

nuc/sarA 双重突变株来分析它们对生物被膜形成的影响。研究发现 sarA 突变, nuc 的表达水平提高, 而突变 sarA 突变株的 nuc 后, 便无法合成核酸酶<sup>[32]</sup>。他们还发现与 sarA 突变株相比, nuc/sarA 双重突变株形成生物被膜的能力显著提高, 但生物被膜数量并未恢复到野生水平, 而往 nuc/sarA 双重突变株中添加携带 sarA 的重组质粒后, 生物被膜数量恢复到正常水平<sup>[32]</sup>。这些数据表明 UAMS-1 sarA 突变株生物被膜表型缺失与核酸酶表达增强有关, 但在此过程中, SarA 也参与调控了其他生物被膜形成相关因子的表达<sup>[32]</sup>。

Dengler 等对报道过能影响 eDNA 合成的一些基因进行了突变, 包括自溶素基因 (Alt、Aaa)、CidA、LrgAB 以及 SarA。其中, 他们发现当 sarA 突变, eDNA 的合成明显减少, 同时生物被膜数量也显著减少<sup>[33]</sup>。除此之外, Atwood 等研究发现在耐甲氧西林金葡菌 LAC 中 sarA 突变反而会抑制核酸酶的活性, 但消除 sarA 突变株合成胞外蛋白酶能力后便能恢复其核酸酶的活性, 说明 SarA 是通过降低胞外蛋白酶的分泌间接影响核酸酶的活性<sup>[34]</sup>。更重要的是, 消除 sarA 突变株的蛋白酶后, 尽管核酸酶活性增强, 生物被膜数量仍会增加。这些数据表明, 在耐甲氧西林金葡菌 LAC 中, 相比核酸酶, 胞外蛋白酶对 sarA 突变株生物被膜缺失表型起到更重要的作用<sup>[34]</sup>。可见 SarA 调控 eDNA 依赖的生物被膜形成具有菌株特异性。

### 3 结 语

金葡菌生物被膜形成是一个多基因和多因子共同调控的过程。SarA 作为金葡菌主要的毒力基因表达调控系统, 参与调控了多种生物被膜形成相关因子的表达。PIA, 蛋白质, eDNA 作为金葡菌生物被膜的重要组成成分, 自然是 SarA 调控金葡菌生物被膜形成的关键靶点。由于菌株特异性和环境依赖性, SarA 参与调控不同菌株生物被膜形成的机制不尽相同。本文通过总结前人的研究结果, 概述了 SarA 调控金葡菌生物被膜形成的三条途径, 为日后以 SarA 作为有效靶点开发新型金葡菌 BF 感染抑制剂提供了重要的参考。但目前针对 SarA

靶向抑制剂的研究并不多, 因此, 医学工作者今后应将工作重点放在寻找出对 SarA 活性有明显抑制作用的药物。近来许多研究表明, 中药单独或者联合其他传统抗生素能够有效破坏金葡菌成熟生物被膜结构, 从而使得药物成功进入膜内杀灭细菌。生物被膜的形成是细菌对抗菌药物产生耐药性的主要原因之一, 由于抗菌药物的不合理使用, 日益加剧了细菌对抗菌药物的耐药性。中药不仅具有天然的活性成分, 并且具备来源广泛, 安全性能高, 毒副作用小, 作用靶点不单一, 不易产生耐药性等多种优点, 因此, 筛选中药化合物作为 SarA 靶向抑制剂可行性很大, 同时也符合绿色抗生素市场的需求。总而言之, 随着金葡菌生物被膜形成机制研究的深入发展和抗菌膜剂的不断开发, 人类将能更好地控制金葡菌感染。

### 参考文献:

- [1] Verkade E, Kluytmans J. Livestock-associated *Staphylococcus aureus* CC398: animal reservoirs and human infections [J]. *Infections, Genetics and Evolution*, 2014, 21: 523-530.
- [2] Becker K, Eliff C V. *Staphylococcus*, *Micrococcus*, and other catalase-positive cocci [J]. *Manual of Clinical Microbiology*, 2011, 308-330.
- [3] Gordon R J, Lowy F D. Pathogenesis of Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* Infection [J]. *Clinical Infectious Disease*, 2008, 46: S350-S359.
- [4] Paharik A E, Horswill A R. The *Staphylococcus* Biofilm: Adhesions, regulation, and host response [J]. *Microbiology Spectrum*, 2016, 4(2): 22-215.
- [5] Bayer M G, Heinrichs J H, Cheung A L. The molecular architecture of the sar locus in *Staphylococcus aureus* [J]. *Journal of Bacteriology*, 1996, 178(15): 4563-4570.
- [6] Cheung A L, Bayer A S, Zhang G, et al. Regulation of virulence determinants *in vitro* and *in vivo* in *Staphylococcus aureus* [J]. *FEMS Immunology and Medical Microbiology*, 2004, 40(1): 1-9.
- [7] Schumacher M A, Hurlburt B K, Brennan R G. Crystal structures of SarA, a pleiotropic regulator of virulence genes in *S. aureus* [J]. *Nature*, 2001, 409(6817): 215-219.
- [8] Liu Y, Manna A C, Pan C H, et al. Structure and function analyses of the global regulatory protein SarA from *Staphylococcus aureus* [J]. *PNAS*, 2006, 103(7): 2392-2397.
- [9] Cue D, Lei M G, Lee C Y. Genetic regulation of the intercellular

- adhesion locus in staphylococci [J]. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, 2012, 2: 38.
- [10] Valle J, Toledo-Arana A, Berasain C, *et al.* SarA and not sigmaB is essential for biofilm development by *Staphylococcus aureus* [J]. *Molecular Microbiology*, 2003, 48(4): 1075-1087.
- [11] Arciola C R, Campoccia D, Ravaioli S, *et al.* Polysaccharide intercellular adhesin in biofilm; structural regulatory aspects [J]. *Frontiers in cellular and Infection microbiology*, 2015, 5: 7.
- [12] O'Gara J P. ica and beyond: biofilm mechanisms and regulation in *Staphylococcus epidermidis* and *Staphylococcus aureus* [J]. *FEMS Microbiology Letters*, 2007, 270(2): 179-188.
- [13] Tormo M A, Martí M, Valle J, *et al.* SarA is an essential positive regulator of *Staphylococcus epidermidis* biofilm development [J]. *Journal of Bacteriology*, 2005, 187(7): 2348-2356.
- [14] Cerca N, Brooks J L, Jefferson K K. Regulation of the intercellular adhesin locus regulator (icaR) by SarA, sigmaB and IcaR in *Staphylococcus aureus* [J]. *Journal of Bacteriology*, 2008, 190(19): 6530-6533.
- [15] Didier J P, Cozzone A J, Duclou B. Phosphorylation of the virulence regulator SarA modulates its ability to bind DNA in *Staphylococcus aureus* [J]. *FEMS Microbiology Letters*, 2010, 306(1): 30-36.
- [16] Tamber S, Schwartzman J, Cheung A L. Role of Pkn B kinase in antibiotic resistance and virulence in community-acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* strain USA300 [J]. *Infection and Immunity*, 2010, 78(8): 3637-3646.
- [17] Beenken K E, Blevins J S, Smeltzer M S. Mutation of sarA in *Staphylococcus aureus* limit biofilm formation [J]. *Infection and Immunity*, 2003, 71(7): 4206-4211.
- [18] O'Neil E, Pozzi C, Houston P, *et al.* Association between Methicillin Susceptibility and Biofilm Regulation in *Staphylococcus aureus* Isolates from Device-Related Infections [J]. *Journal of Clinical Microbiology*, 2007, 45(5): 1379-1388.
- [19] O'Neil E, Pozzi C, Houston P, *et al.* A novel *Staphylococcus aureus* biofilm phenotype mediated by the fibronectin-binding proteins, FnBPA and FnBPB [J]. *Journal of Bacteriology*, 2008, 190(11): 3835-3850.
- [20] Speziale P, Pietrocola G, Foster T J, *et al.* Protein-based biofilm matrices in Staphylococci [J]. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, 2014, 4: 171.
- [21] Foster T J, Geoghegan J A, Ganesh, V K, *et al.* Adhesion, invasion and evasion: the many functions of the surface proteins of *Staphylococcus aureus* [J]. *Nature Reviews. Microbiology*, 2014, 12(1): 49-62.
- [22] Cucarella C, Solano C, Valle J, *et al.* Bap, a *Staphylococcus aureus* surface protein involved in biofilm formation [J]. *Journal of Bacteriology*, 2001, 183(9): 2888-2896.
- [23] Trotonda M P, Manna A C, Cheung A L, *et al.* SarA positively controls *bap*-dependent biofilm formation in *Staphylococcus aureus* [J]. *Journal of Bacteriology*, 2005, 187(16): 5790-5798.
- [24] Beenken K E, Mrak L N, Griffin L M, *et al.* Epistatic relationships between sarA and agr in *Staphylococcus aureus* biofilm formation [J]. *PLoS One*, 2010, 5(5): e10790.
- [25] Zielinska A K, Beeken K E, Mrak L N, *et al.* sarA-mediated repression of protease production plays a key role in the pathogenesis of *Staphylococcus aureus* USA300 isolates [J]. *Molecular microbiology*, 2012, 86(5): 1183-1196.
- [26] Loughran A J, Atwood D N, Anthony A C, *et al.* Impact of individual extracellular proteases on *Staphylococcus aureus* biofilm formation in diverse isolates and their isogenic sarA mutants [J]. *Microbiology Open*, 2014, 3(6): 897-909.
- [27] Shaw L, Golonka E, Potempa J. The role and regulation of the extracellular protease of *Staphylococcus aureus* [J]. *Microbiology*, 2004, 150: 217-28.
- [28] Mrak L N, Zielinska A K, Beenken K E, *et al.* saeRS and sarA Act Synergistically to Repress Protease Production and Promote Biofilm Formation in *Staphylococcus aureus* [J]. *PLoS ONE*, 2012, 7(6): e38453.
- [29] Houston P, Rowe S E, Pozzi C, *et al.* Essential role for the major autolysin in the fibronectin-binding protein-mediated *Staphylococcus aureus* biofilm phenotype [J]. *Infection and Immunity*, 2011, 79(3): 1153-1165.
- [30] Okshevsky M, Regina V R, Meyer R L. Extracellular DNA as a target for biofilm control [J]. *Current Opinion in Biotechnology*, 2015, 33: 73-78.
- [31] Kalan J B, LoVetri K, Cardona S T, *et al.* Recombinant human DNase I decrease biofilm and increase antimicrobial susceptibility in staphylococci [J]. *Journal of Antibiotics*, 2012, 65(2): 73-77.
- [32] Tsang L H, Cassat J E, Shaw L N, *et al.* Factors contributing to the biofilm-deficiency phenotype of *Staphylococcus aureus* sarA mutants [J]. *PLoS One*, 2008, 3(10): e3361.
- [33] Dengler V, Foulston L, DeFrancesco A S, *et al.* An electrostatic net model for the role of extracellular DNA in biofilm formation by *Staphylococcus aureus* [J]. *Journal of Bacteriology*, 2015, 197(4): 3779-3787.
- [34] Atwood D N, Loughran A J, Courtney A P, *et al.* Comparative impact of diverse regulatory loci on *Staphylococcus aureus* biofilm formation [J]. *Microbiology Open*, 2015, 4(3): 436-451.