

金黄色葡萄球菌凝集因子 A 的免疫原性

冯昊¹, 刘乐锋¹, 迟佳琦², 王宁², 李闰婷¹, 佟春玉¹, 马金柱¹, 朱战波², 崔玉东^{1,2}

1 黑龙江八一农垦大学生命科学技术学院, 大庆 163319

2 黑龙江八一农垦大学动物科技学院, 大庆 163319

摘要: 为研究金黄色葡萄球菌(*Staphylococcus aureus*)凝集因子 A(ClfA)免疫原性及免疫保护作用, 应用 PCR 方法扩增出金黄色葡萄球菌 Newman、Wood46 和 HLJ23-1 株的 *clfa* 基因并进行序列分析, 再将 Newman 株的 *clfa* 基因插入到 pQE-30 载体上, 导入宿主菌 *Escherichia coli* M15 (pREP4) 并诱导表达和纯化 ClfA 重组蛋白。用纯化的 ClfA 免疫小鼠, 检测血清中抗体和细胞因子水平, 首次免疫后 35 d 时用金黄色葡萄球菌 Wood46、HLJ23-1、Newman 株对小鼠攻毒。结果发现: *clfa* 基因序列高度保守; ClfA 重组蛋白在 *E. coli* M15 中获得表达; 在首次免疫后 35 d 时血清抗体效价和细胞因子浓度与对照组相比, 均显著升高($P < 0.05$); 攻毒结果为蛋白免疫组小鼠获得一定的免疫保护。由此表明, ClfA 重组蛋白有较好的免疫原性和免疫保护力。

关键词: 金黄色葡萄球菌, 凝集因子 A, 免疫原性

Immunogenicity of *Staphylococcus aureus* recombinant clumping factor A

Hao Feng¹, Lefeng Liu¹, Jiaqi Chi², Ning Wang², Runtong Li¹, Chunyu Tong¹, Jinzhu Ma¹, Zhanbo Zhu², and Yudong Cui^{1,2}

1 School of Life Science and Technology, Heilongjiang Bayi Agricultural University, Daqing 163319, China

2 School of Animal Science and Technology, Heilongjiang Bayi Agricultural University, Daqing 163319, China

Abstract: In order to characterize the immunogenicity and immunoprotection of the *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*) surface protein Clumping factor A (ClfA), we amplified *clfa* genes from *S. aureus* Newman strain, Wood46 strain and HLJ23-1. The *clfa* gene from Newman strain was subsequently inserted into pQE-30 vector and the recombinant plasmid was transformed into *Escherichia coli* strain M15 (pREP4). The recombinant ClfA protein was expressed and purified. Then, we immunized mice with the purified recombinant protein. The antibody level and the concentration of cytokines were measured by enzyme-linked immunosorbent assay. Finally, immunized mice were challenged with *S. aureus* Newman, Wood46 and HLJ23-1. These results suggested that *clfa* gene sequences were highly conserved, and the recombinant ClfA was expressed correctly with good antigenicity. The antibody titer and the concentration of cytokines in the immunized groups increased significantly ($P < 0.05$) compared with control, and the mice in the immunized groups were protected against the challenge strains to some extent. These results showed that the ClfA had high immunogenicity and immunoprotective potential.

Keywords: *Staphylococcus aureus*, clumping factor A, immunogenicity

Received: March 20, 2009; Accepted: June 4, 2009

Corresponding author: Yudong Cui. Tel: +86-459-6819290; E-mail: cuiyudong@yahoo.com

金黄色葡萄球菌(*Staphylococcus aureus*)是一种重要的病原菌,能够引起人和动物的多种疾病,如心内膜炎、骨髓炎、关节炎和奶牛乳房炎等^[1]。存在于金黄色葡萄球菌表面称之为黏附素的多种蛋白^[2],能够识别和结合宿主组织和血浆蛋白,介导金黄色葡萄球菌黏附于宿主细胞并促进细菌的定殖和入侵,同时有利于金黄色葡萄球菌逃避宿主防御,这一过程是金黄色葡萄球菌感染的先决条件^[3-4]。在感染早期,金黄色葡萄球菌最重要的一种黏附素是凝集因子 A(ClfA),介导金黄色葡萄球菌粘附于基质蛋白^[5]。ClfA 能够与纤维蛋白原和纤维蛋白结合^[6-7],使金黄色葡萄球菌被纤维蛋白原和纤维蛋白包裹而具有抗吞噬作用^[8]。因此,ClfA 在金黄色葡萄球菌引起的感染中起重要作用。以往的研究表明 ClfA 是一种较好的抗原,但由于金黄色葡萄球菌不同菌株的毒力因子不同,致病力存在着很大差异。而 ClfA 作为抗原对金黄色葡萄球菌不同菌株感染的免疫保护作用知之甚少。为了解 ClfA 蛋白对金黄色葡萄球菌不同菌株感染的免疫保护作用,本研究用表达后纯化的 ClfA 蛋白免疫小鼠,以 3 种不同的金黄色葡萄球菌菌株攻毒,研究该蛋白的免疫原性,为研制预防金黄色葡萄球菌感染的基因工程疫苗提供参考。

1 材料与方 法

1.1 材 料

1.1.1 菌株和质粒

金黄色葡萄球菌 Newman 株为 CP5 型人源参考菌株,由荷兰 Eijkman Winkler Laboratory of University Medical Center Utrecht 惠赠;Wood46 株为 CP5 型 NT 参考菌株,由本实验室保存;HLJ23-1 株为 CP8 型牛源本地分离株,由本实验室保存。*E. coli* XL-I-Blue、M15(pREP4) 宿主菌、原核表达载体 pQE-30 均由本实验室提供。

1.1.2 引物

根据已发表的金黄色葡萄球菌 *clfa* 基因序列(GenBank Accession No. NC009641)应用 Oligo6 及 DNASTar 软件设计一对 PCR 引物,并送上海生物工程技术有限公司进行合成。

引物的核苷酸序列为:

clfa Forward Primer(Pf): 5'-CCGGATCCGTAGC TGCAGATGCACC-3', 黑体字为 *Bam*H I 酶切位点。

clfa Reverse Primer(Pr): 5'-GCGTCTGACTCAC TCA TCAGGTTGTTTCAGG-3', 黑体字为 *Sal* I 酶切位点。

1.1.3 主要试剂

镍颗粒纯化试剂盒、工具酶类及蛋白质 Marker 等均为 Promega 公司产品;DNA Marker 为 TaKaRa 宝生物工程(大连)有限公司产品;PIPES、HRP 标记的羊抗鼠抗体、Freund's 完全及不完全佐剂均为 Sigma 公司产品;Proteinase K 为 Merck 公司产品;RNase 为 Amresco 公司产品;TSB 培养基为 Becton Dickinson 公司产品;BioSpin 质粒提取试剂盒及 DNA 凝胶回收试剂盒均为杭州博日公司产品;DAB 底物显色液购自武汉博士德生物工程有限公司。

1.1.4 实验动物

昆明系洁净级小白鼠,购自长春生物制品所。

1.2 *clfa* 基因扩增

提取 Newman、Wood46、HLJ23-1 株基因组 DNA。以提取的 DNA 为模板,在 50 μ L 反应体系中加入 dNTPs(各 0.2 mmol/L)、上下游引物(各 1 μ mol/L)、*Taq* DNA polymerase 1.25 U/50 μ L。按以下反应条件扩增 *clfa* 基因:95 $^{\circ}$ C 预热 2 min;94 $^{\circ}$ C 1 min 30 s,56 $^{\circ}$ C 1 min,72 $^{\circ}$ C 1 min,进行 30 个循环;72 $^{\circ}$ C 延伸 10 min。PCR 反应结束后,取 4 μ L 产物以 0.1%琼脂糖凝胶进行电泳。观察并记录结果。

1.3 ClfA 重组蛋白原核载体构建

PCR 产物用 Biospin DNA 凝胶回收试剂盒回收和纯化。纯化后的 DNA 与载体质粒 pQE-30 进行 *Bam*H I 和 *Sal* I 双酶切,连接,转化感受态细胞 *E. coli* XL-I-Blue,增菌培养后用 Biospin 质粒提取试剂盒提取质粒,对重组质粒进行酶切鉴定、PCR 鉴定及序列测定分析,将转化获得的阳性重组质粒命名为 pQE/*clfa*。以热休克法将重组质粒 pQE/*clfa* 转化宿主菌 *E. coli* M15(pREP4)中,重组菌命名为 *E. coli* M15(pQE/*clfa*)。

1.4 ClfA 重组蛋白的表达及纯化

取重组菌 *E. coli* M15(pQE/*clfa*)接种于 LB 培养基(含 100 μ g/mL 氨苄青霉素),37 $^{\circ}$ C 培养至 OD_{600} 约

为 0.6 时, 加 IPTG 至终浓度为 1 mmol/L, 继续剧烈振荡培养 3 h 后, 取 1 mL 菌液, 10 000 r/min 离心, 弃上清, 在沉淀中加入 90 μ L 1 \times 上样缓冲液和 10 μ L 1 mmol DTT 后, 煮沸 5 min, 取 10 μ L 用于 SDS-PAGE。同时, 设未诱导重组菌作为对照。重组蛋白用镍颗粒试剂盒纯化, 步骤参考试剂盒说明。

1.5 动物免疫

取健康小鼠, 分 3 组, 每组 78 只, 其中每组又分为 50 μ g、100 μ g 蛋白免疫组和对照组, 每组 26 只。蛋白免疫组是以 ClfA 重组蛋白配以弗氏完全佐剂乳化(1:1)一免, ClfA 重组蛋白配以弗氏不完全佐剂乳化(1:1)二免; 对照组注射佐剂与 PBS 混合物。免疫小鼠采用背部皮下多点注射, 间隔 21 d, 加强免疫(注射量与上次同)。初次免疫后 7 d、14 d、21 d、28 d、35 d、42 d 采血, 每次每组取 3 只小鼠采血, 分离血清-20 $^{\circ}$ C 保存备用。

1.6 重组蛋白免疫原性检测

1.6.1 重组蛋白的 Western blotting 检测

未经诱导、IPTG 诱导 3 h 以及纯化的样品进行 SDS-PAGE 电泳分析, 按半干法转印法将胶中的蛋白质将转移至 Nitrocellulose 膜上, 以首次免疫后 35 d 的重组 ClfA 蛋白抗血清和全菌体免疫血清为一抗, 免疫血清以 1:1000 稀释, HRP 标记的羊抗鼠 IgG 为二抗, DAB 为显色剂, 进行重组蛋白的免疫印迹检测。

1.6.2 抗体水平的检测

将重组蛋白作适当稀释后, 包被 96 孔酶标板 (0.25 μ g/孔), 以待检免疫血清为一抗, HRP 标记的羊抗鼠 IgG 为二抗, TMB 溶液为显色液, 进行间接 ELISA 检测, 测定样品 OD_{450} 的值, 反映出分离的血清样本中抗体含量。同时以样品 OD 值 阴性血清样品的 OD 均值+3SD(SD 为标准方差)时对应的血清稀释度为该样品的效价。

1.6.3 细胞因子检测

按细胞因子 ELISA 定量检测试剂盒(BPB Biomedical)的操作步骤, 对二免 2 周血清样本中的 IL-4、IL-2、IFN- γ 浓度进行检测。根据标准品的浓度和 OD 值, 绘制标准曲线, 计算待检测样品中相应细胞因子的含量。特异性抗体和细胞因子产生水平均采用 SPSS10.0 统计软件进行统计学分析, 计量

资料进行 t 检验。

1.7 攻毒试验

取-20 $^{\circ}$ C 冻存的 Wood46、HLJ23-1、Newman 菌液接种到 TSB 培养基中, 37 $^{\circ}$ C 培养, 按生长曲线法测定菌数, 然后收集细菌、PBS 洗涤、稀释, 最终每只小鼠攻毒量(LD100)为: Wood46(3.0×10^9 CFU)、HLJ23-1(1.0×10^9 CFU)、Newman(2×10^{10} CFU)。从各组中随机选出 24 只小鼠, 分为 3 个小组, 每个小组 8 只, 分别腹腔注射 Wood46、HLJ23-1、Newman 菌株, 每天观察情况并纪录结果。

2 结果

2.1 *clfA* 基因的 PCR 扩增及测序结果

Newman、Wood46 和 HLJ23-1 株基因组 DNA 的 PCR 扩增产物经 1% 琼脂糖凝胶电泳, 均可见一条特异 DNA 条带, 与预期片段大小 (1009 bp) 相符 (图 1)。PCR 产物与 pMD18-T 载体连接后送上海生工公司测序, 结果发现: 本试验中 Newman 株 *clfA* 序列与 GenBank 上发表的 Newman 株 *clfA* 基因序列 (Accession No. NC009641) 序列一致性为 99.8%; Wood46 株 *clfA* 基因序列 (Accession No. FJ808733) 与 HLJ23-1 株 *clfA* 基因序列 (Accession No. FJ808734) 完全一致, 与试验中 Newman 株 *clfA* 序列相差 3 个碱基, 序列一致性为 99.6%, 这 3 个碱基是: 99 位 Newman 株中是 T, 在另 2 株是 A; 628 位 Newman

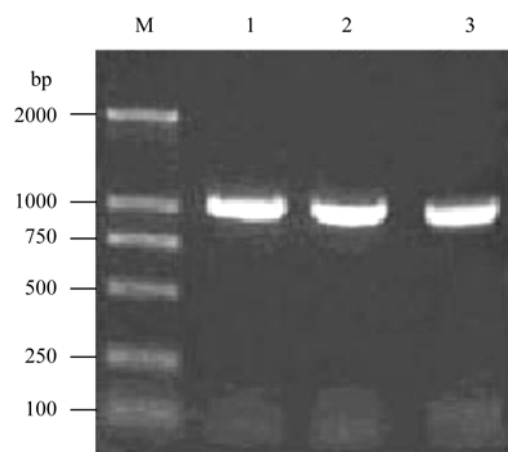


图 1 *clfA* 基因的 PCR 产物的电泳分析结果

Fig. 1 Agarose gel electrophoresis of PCR products of *clfA* gene. M: DL2000 DNA marker; 1: PCR product of Wood46 strain; 2: PCR product of Newman strain; 3: PCR product of HLJ23-1 strain.

株是 A, 另 2 株是 G; 851 位 Newman 株是 C, 另 2 株是 T。相应的 3 个氨基酸残基是: 33 位 Newman 是 H, 另 2 株是 G; 210 位 Newman 是 N, 另 2 株是 D; 284 位 Newman 是 A, 另 2 株是 V。通过 DNASTar 预测, 肽链的二级结构无差异, 说明 *clfa* 基因高度保守。

2.2 重组蛋白 ClfA 原核表达载体的构建结果

取 Newman 株 *clfa* 基因片段与质粒 pQE-30 连接, 然后对重组质粒 pQE/*clfa* 进行 PCR 鉴定(图 2)及酶切鉴定(图 3)。结果显示, PCR 产物与双酶切产物与实际大小相符。

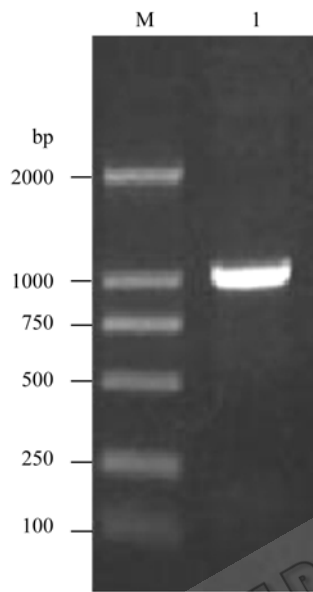


图 2 重组质粒 pQE/*clfa* 的 PCR 鉴定结果

Fig. 2 Identification of the recombinant pQE/*clfa* plasmids by PCR. M: DL2000 DNA marker; 1: PCR product of the recombinant plasmid.

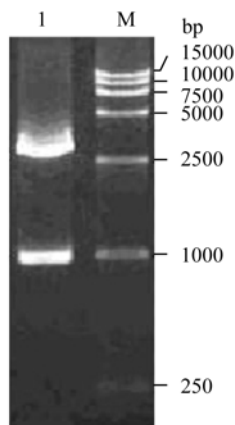


图 3 重组质粒酶切鉴定

Fig. 3 Identification of the recombinant plasmids by enzyme digestion. M: DL15000 DNA marker; 1: product of restriction endonuclease digestion.

2.3 重组 ClfA 蛋白的表达及检测结果

重组菌诱导表达后进行 SDS-PAGE 电泳分析, 结果在大于 35.0 kD 的位置出现一条明显表达的蛋白质电泳带, 与预测的重组蛋白 ClfA(36.8 kD)大小相符(图 4)。Western blotting 检测证实, 重组蛋白能与重组蛋白 ClfA 免疫血清发生反应, 为目的蛋白(图 5、图 6)。

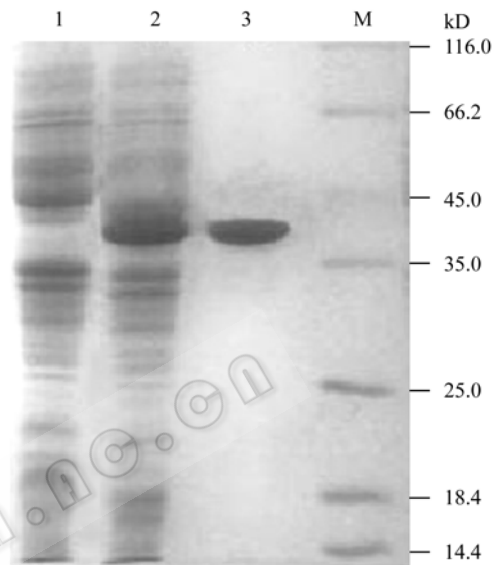


图 4 重组 ClfA 蛋白表达及纯化的 SDS-PAGE 电泳结果

Fig. 4 SDS-PAGE assay of the expressed and purified product. 1: uninduced *E. coli* M15 (pQE/*clfa*+pREP4); 2: induced *E. coli* M15 (pQE/*clfa*+pREP4); 3: purified ClfA protein; M: protein molecular weight marker.

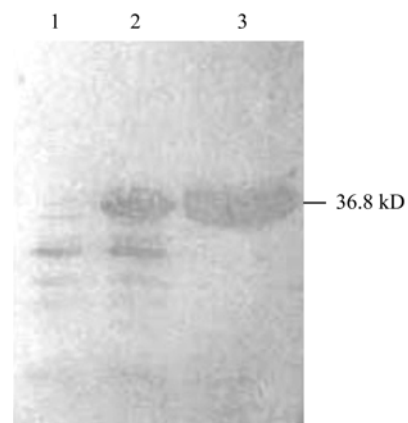


图 5 蛋白免疫血清的 Western blotting 结果

Fig. 5 Western blotting analysis of serum from the mice immunized with the expressed ClfA as the first antibody. 1: uninduced *E. coli* M15 (pQE/*clfa*+pREP4); 2: induced *E. coli* M15 (pQE/*clfa*+pREP4); 3: purified ClfA protein.

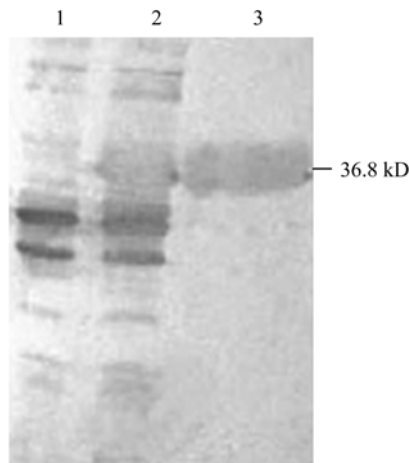


图 6 Wood46 全菌体免疫血清的 Western blotting 结果
 Fig. 6 Western blotting analysis of serum from the mice immunized with Wood46 whole cell as the first antibody. 1: uninduced *E. coli* M15 (pQE/clfa+pREP4); 2: induced *E. coli* M15 (pQE/clfa+pREP4); 3: purified ClfA protein.

2.4 血清中抗体水平的检测

用 ELISA 法对各组血清中抗 ClfA 抗体水平进行了测定。在 35 d 时, 100 μg 蛋白免疫组的抗体效价高达 140 000~160 000 (153 333±11 547); 50 μg 蛋白免疫组的抗体效价 40 000~80 000(66 666.7±23 094)。检测每周血清效价, 反映抗体消长水平, 结果二免后抗体水平均明显升高, 35 d 时抗体效价达到高峰(图 7)。

2.5 免疫组及对照组鼠血清细胞因子含量对比

应用细胞因子 ELISA 检测试剂盒对蛋白免疫组及对照组血清中 IFN-γ、IL-4 及 IL-2 进行定量检测, 结果蛋白免疫组实验动物的 IFN-γ、IL-4 及 IL-2 浓度与对照组比较差异显著(P<0.05)(表 1)。

表 2 重组 ClfA 免疫鼠用金黄色葡萄球菌攻毒结果

Table 2 Lethal challenge of ClfA-immunized mice with *S. aureus* strains

Challenge strains	Challenge dosages(CFU)	Immunization dosages (μg)	No. of trials	No. of surviving	Survival rates
Wood46	3.0×10 ⁹	100	8	5	5/8
		50	8	2	2/8
		no antigen	8	0	0/8
HLJ23-1	1.0×10 ⁹	100	8	5	5/8
		50	8	5	5/8
		no antigen	8	0	0/8
Newman	2×10 ¹⁰	100	8	7	7/8
		50	8	2	2/8
		no antigen	8	0	0/8

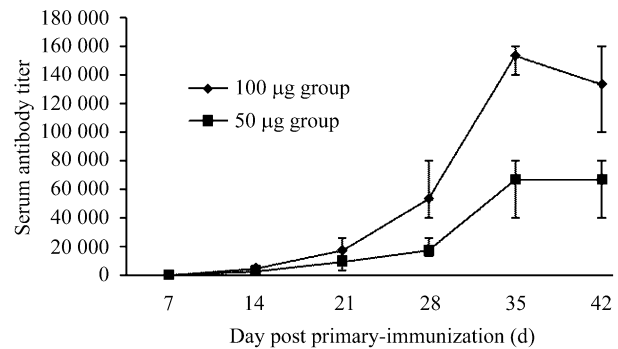


图 7 血清中抗体消长曲线(n=3)
 Fig. 7 Dynamic curves of antibody level in the sera (n=3).

表 1 免疫组及对照组小鼠血清细胞因子含量对比(M±SD)

Table 1 Concentrations of cytokines in sera of the immunized and control mice (M±SD)

Immunization groups	IL-2	IL-4	IFN-γ
100 μg CLFA	110.26±13.70*	120.0±18.19*	123.76±38.67*
50 μg CLFA	80.95±13.32*	76.35±19.50*	94.80±35.48*
Control	55.54±14.15	46.09±14.09	68.03±36.69

* P<0.05, n=3.

2.6 攻毒结果

用 Wood46 攻毒后, 对照组全部死亡, 100 μg 和 50 μg 重组蛋白免疫组的存活率分别为 62.5%和 25%; 用 HLJ23-1 攻毒后, 对照组全部死亡, 100 μg 和 50 μg 重组蛋白免疫组的存活率分别为 62.5%和 62.5%; 用 Newman 攻毒后, 对照组全部死亡, 100 μg 和 50 μg 重组蛋白免疫组的存活率分别为 87.5%和 25%(表 2)。从试验结果可以看出重组蛋白免疫组对金黄色葡萄球菌的攻击有一定的保护。

3 讨论

金黄色葡萄球菌能够引起人和动物的多种感染^[1]。由于耐药菌株的出现, 给金黄色葡萄球菌感染的临床治疗带来严峻挑战。因此, 人们在积极研究和利用疫苗预防和治疗金黄色葡萄球菌的感染。由于金黄色葡萄球菌表面存在着多种表面抗原成分和产生多种致病因子, 且不同菌株间的许多表面抗原成分保守性较差, 表达的致病因子也各不相同。不仅如此, 在不同金黄色葡萄球菌表面还存在着不同血清型的荚膜多糖, 不同程度地遮蔽了菌体表面的某些抗原成分, 致使遮蔽的表面抗原成分无法刺激机体免疫应答。因此, 预防金黄色葡萄球菌感染的疫苗的研制一直受到抗原选择方面的限制。黏附是金黄色葡萄球菌感染的先决条件^[3], ClfA 是其最重要的一种黏附素, 能够与组织中的纤维蛋白原或纤维蛋白结合而使金黄色葡萄球菌粘着在感染部位, 进而在感染的局部增殖而致病; 同时它与纤维蛋白原结合后使其自身被纤维蛋白原包裹而抑制调理素对其接近和沉着在其表面的, 进而起到抗吞噬作用^[8]。因而, ClfA 在金黄色葡萄球菌感染中发挥重要作用。研究证实, 几乎所有金黄色葡萄球菌都表达 ClfA^[9], 且整个生长期都产生 ClfA, 尤其在静息期大量表达^[10], 其功能结构域高度保守^[11], 这些特征使得 ClfA 成为预防金黄色葡萄球菌感染的理想候选抗原。

本实验用表达的 ClfA 分别以 100 μg 和 50 μg 的剂量免疫小鼠, 并检测了免疫后的血清抗体水平和细胞因子 IFN- γ 、IL-4 及 IL-2 的水平, 在免疫后 35 d 时分别以 3 株葡萄球菌株进行攻毒, 结果免疫小鼠, 尤其是 100 μg 免疫组小鼠获得了良好的免疫保护。这说明重组蛋白 ClfA 具有良好的免疫原性, 是较为理想的金黄色葡萄球菌苗候选抗原。抗体和细胞因子水平检测表明, ClfA 能有效地刺激机体产生 IgG 抗体和引起细胞免疫应答, 且 100 μg 免疫组显著高于 50 μg 免疫组, 这一结果与攻毒后的保护率相符, 且为进一步的大型哺乳动物实验提供参考。

本实验中, 攻毒用的 3 个菌株分别为 CP8 型的 HLJ23-1 株、CP5 型无荚膜突变的 Wood46 株和 CP5 型的 Newman 株。使用 HLJ23-1 菌株和 Wood46 菌

株攻毒后 100 μg ClfA 免疫组的存活率均为 62.5%, 使用 Newman 菌株攻毒后 100 μg ClfA 免疫组的存活率为 87.5%。通过 3 个菌株 *clfA* 基因序列分析证实, 尽管 Newman 菌株与 Wood46 菌株、HLJ23-1 菌株间存在着 3 个氨基酸残基的差别, 但并不影响它们的二级结构和抗原性。因而, 这种攻毒后保护率存在着差别的结果可能与 ClfA 的差异无关。以往的研究表明^[12-13], 金黄色葡萄球菌 90%以上都含有荚膜多糖, 其中 80%是荚膜 5 型或 8 型, 在小鼠菌血症模型中, 5 型比 8 型毒力要强; 而在乳腺细胞内化试验中^[14-15], 8 型内化要高于 5 型, 一旦细菌内化就可以逃避宿主免疫系统的处理, 进而可以存在于体内致病。本试验中, 免疫组对 CP5 型的 Newman 株攻毒的保护率高于 CP8 型的 HLJ23-1 株, 说明前者的毒力并不高于后者; 至于是否 CP8 型的 HLJ23-1 菌株在攻毒的小鼠体内比 CP5 型的 Newman 菌株更容易发生细胞内化而提高致病性尚待研究。但不可否认, 金黄色葡萄球菌的致病力与其所产生的多种致病因子有关, 本试验中的这种免疫保护率差别很可能也与不同菌株产生的致病因子不同有一定关系, 这种解释也有待于进一步试验证实。

REFERENCES

- [1] Montecalvo MA, Horowitz H, Gedris C, *et al.* Outbreak of vancomycin-, ampicillin-, and aminoglycoside-resistant *Enterococcus faecium* bacteremia in an adult oncology unit. *Antimicrob Agents Chemother*, 1994, **38**: 1363-1367.
- [2] Fowler T, Wann ER, Joh D, *et al.* Cellular invasion by *Staphylococcus aureus* involves a fibronectin bridge between the bacterial fibronectin-binding MSCRAMMs and host cell beta 1 integrins. *Eur J Cell Biol*, 2000, **79**: 672-679.
- [3] Foster TJ, Höök M. Surface protein adhesins of *Staphylococcus aureus*. *Trends Microbiol*, 1998, **6**: 484-488.
- [4] Ganesh VK, Rivera JJ, Smeds E, *et al.* A structural model of the *Staphylococcus aureus* ClfA-fibrinogen interaction opens new avenues for the design of anti-staphylococcal therapeutics. *PLoS Pathog*, 2008, **4**(11): e1000226.
- [5] McDevitt D, Francois P, Vaudaux P, *et al.* Molecular characterization of the clumping factor (fibrinogen receptor) of *Staphylococcus aureus*. *Mol Microbiol*, 1994, **11**: 237-248.
- [6] Brouillette E, Lacasse P, Shkreta L, *et al.* DNA immunization against the clumping factor A (ClfA) of *Staphylococcus aureus*. *Vaccine*, 2002, **20**:2348-2357.

[7] Dickinson RB, Nagel JA, McDevitt D, *et al.* Quantitative comparison of clumping factor- and coagulase-mediated *Staphylococcus aureus* adhesion to surfaceboundfibrinogen under flow. *Infect Immun*, 1995, **63**: 3143–3150.

[8] Josefsson E, Hartford O, O'Brien L, *et al.* Protection against experimental *Staphylococcus aureus* arthritis by vaccination with clumping factor A, a novel virulence determinant. *J Infect Dis*, 2001, **184**: 1572–1580.

[9] Patti, J M. A humanized monoclonal antibody targeting *Staphylococcus aureus*. *Vaccine*, 2004, **22**: 39–43.

[10] McDevitt D, Francois P, Vaudaux P, *et al.* Identification of the ligand-binding domain of the surface-located fibrinogen receptor (clumping factor) of *Staphylococcus aureus*. *Mol Microbiol*, 1995, **16**: 895–907.

[11] Sutra L, Poutrel B. Virulence factors involved in the pathogenesis of bovine intramammary infections due to *Staphylococcus aureus*. *J Med Microbiol*, 1994, **40**: 79–89.

[12] Tuchscher LP, Buzzola FR, Alvarez LP, *et al.* Capsule-negative *Staphylococcus aureus* induces chronic experimental mastitis in mice. *Infect Immun*, 2005, **73**: 7932–7937.

[13] Risley AL, Loughman A, Cywes-Bentley C, *et al.* Capsular polysaccharide masks clumping factor A-mediated adherence of *Staphylococcus aureus* to fibrinogen and platelets. *J Infect Dis*, 2007, **196**(6): 919–927.

[14] Gresham HD, Lowrance JH, Caver TE, *et al.* Survival of *Staphylococcus aureus* inside neutrophils contributes to infection. *J Immunol*, 2000, **164**: 3713–3722.

[15] Haslinger-Loffler B, Kahl BC, Grundmeier M, *et al.* Multiple virulence factors are required for *Staphylococcus aureus*-induced apoptosis in endothelial cells. *Cell Microbiol*, 2005, **7**: 1087–1097.



科学出版社科学出版中心生命科学分社新书推介

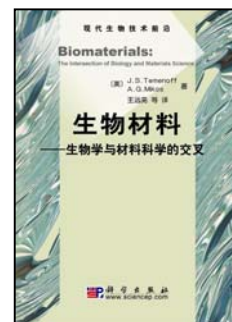
生物材料——生物学与材料科学的交叉 (翻译版)

[美] J.S.Temenoff A.G.Mikos 著 王远亮 等译

978-7-03-024635-6 ¥75.00 2009年6月出版

本书是一本介绍生物与材料科学相互关系的书籍，阐述了生物材料学和生物学的基本概念及研究进展，并提供了生物材料结构、性能及生物学响应的全面信息。全书共分四部分，14章。第一部分（第1~4章）讲述生物医用材料的基本知识及其结构与性能；第二部分（第5、6章）讲述生物材料的降解及其加工工艺；第三部分（第7~9章）讲述生物材料表面特征，以及与蛋白质、细胞的相互作用；第四部分（第10~14章）讲述生物材料作为植入体在应用过程中发生的各种反应。

本书可作为材料科学系、生物工程系以及医学相关领域的本科生生物材料课的入门教材，另外，本书第三、四部分可以作为研究生和科研人员进行材料及组织工程学行为研究的参考书。



核酸等温扩增技术及其应用

彭涛 主编

978-7-03-024693-6 ¥38.00 2009年6月出版

近年来核酸等温扩增技术迅猛发展，显现出广阔的应用前景。本书分为10章，第1章介绍核酸等温扩增技术的定义、特点与分类，并对该技术的发展概况进行了论述。第2~9章分别介绍了各种方法的原理、操作要点及应用范围，帮助读者了解各种方法的特点，并可进行基本操作。第10章概述了相关企业及产品，分析了产业化发展前景及对策。

本书既有原理又有实验方法，适合从事分子生物学、临床医学、药理学、环境科学等学科的科研工作者学习使用。



欢迎各界人士邮购科学出版社各类图书 (免邮费)

邮购地址：北京东黄城根北街16号 科学出版社 科学出版中心 生命科学分社 邮编：100717

联系人：阮芯 联系电话：010-64034622 (带传真)

更多精彩图书请登陆网站 <http://www.lifescience.com.cn>