

## 2 型猪链球菌 srtBCD 菌毛岛 SSU2100 基因的克隆表达与免疫学特性

张先云<sup>1,2</sup> 王长军<sup>1,2\*</sup> 石洁<sup>2</sup> 朱静<sup>2</sup> 潘秀珍<sup>1,2</sup>

(1. 南京师范大学 生命科学学院 江苏 南京 210046)

(2. 南京军区军事医学研究所 江苏 南京 210002)

**摘要:** 【目的】研究 2 型猪链球菌(*Streptococcus suis* serotype 2, *S. suis* 2)野毒株 05ZYH33 的 srtBCD 菌毛岛菌毛亚蛋白 SSU2100 的免疫保护性作用。【方法】通过 PCR 扩增出 SSU2100 基因片段, 将目的基因克隆到表达载体 pET28a 上, 转化入 *E. coli* BL21 感受态中表达, 亲和层析法纯化目的蛋白; Western blot 检测 SSU2100 蛋白的免疫原性, 重组蛋白免疫 BALB/c 小鼠, ELISA 法检测多抗血清的效价及 IgG 亚型, 研究重组蛋白的免疫保护作用。【结果】在原核系统成功表达出了 SSU2100 蛋白; ELISA 结果显示重组蛋白能够刺激小鼠产生高效价的免疫抗体; 动物实验表明该蛋白具有良好的免疫保护作用。

【结论】菌毛亚蛋白 SSU2100 可以作为 *S. suis* 2 亚单位疫苗的候选分子, 为系统地阐释 srtBCD 菌毛岛在 *S. suis* 2 致病机制中的作用奠定基础。

**关键词:** 2 型猪链球菌, SSU2100, 原核表达, 免疫保护

## Molecular cloning and immunological characterization of SSU2100 gene from srtBCD pilus island of *Streptococcus suis* 2

ZHANG Xian-Yun<sup>1,2</sup> WANG Chang-Jun<sup>1,2\*</sup> SHI Jie<sup>2</sup> ZHU Jing<sup>2</sup>  
PAN Xiu-Zhen<sup>1,2</sup>

(1. Nanjing Normal University, Nanjing, Jiangsu 210046, China)

(2. Institute of Military Medical Sciences, Nanjing Command, Nanjing, Jiangsu 210002, China)

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(No. 30972638, 31170124, 81071317, 81172794); 江苏省自然科学基金资助项目(No. BK2010025, BK2010113, BK2010114, BK2011097)

\*通讯作者: Tel: 86-25-80867003; ✉: science2008@hotmail.com

收稿日期: 2011-06-10; 接受日期: 2011-07-26

**Abstract: [Objective]** To investigate the immunoprotection of pilus subunit SSU2100 which was encoded by srtBCD pilus island presented in the Chinese strain 05ZYH33 of *S. suis* 2. **[Methods]** The *SSU2100* gene was amplified by PCR, then cloned into prokaryotic expression plasmid pET28a, and expressed the recombinant *SSU2100* in *E. coli* BL21. The SSU2100 protein was purified by affinity chromatography and analyzed by Western blotting. The mice anti-SSU2100 serum was prepared by immunizing mice with recombinant SSU2100 protein and analyzed by ELISA. **[Results]** The high titer of the serum were obtained, Western blot result indicated that the recombinant protein can react with mice anti-SSU2100 serum. Animal test showed that vaccinating mice with recombinant SSU2100 protein conferred a significant protection. **[Conclusion]** SSU2100 could serve as a vaccine candidate of *S. suis* 2, it provides the foundation for systematically illustrating the role that srtBCD pilus island plays in pathogenicity of *S. suis* 2.

**Keywords:** *Streptococcus suis* 2, *SSU2100*, Prokaryotic expression, Immunoprotection

猪链球菌(*Streptococcus suis*, *S. suis*)是一种重要的人畜共患病病原菌, 目前已有的 33 个血清型中, 2 型猪链球菌(*S. suis* 2)的临床检出率最高, 致病性最强。*S. suis* 2 可使人 and 猪患脑膜炎、败血症、心内膜炎等, 并且能引发死亡率极高的中毒性休克综合症(Streptococcal toxic shock syndrome, STSS)<sup>[1]</sup>。1998 年在江苏省和 2005 年在四川省出现 *S. suis* 2 大规模感染猪和人, 导致了严重的公共卫生事件<sup>[1-2]</sup>。这两次事件给养猪业造成了严重的经济损失, 对相关从业人员的健康造成严重威胁, 引起了世界范围内的广泛关注。

研究发现, 菌毛作为细菌表面重要的附属结构, 在细菌的粘附和侵袭方面起着关键作用, 菌毛亚蛋白还被认作是重要的毒力因子<sup>[3-4]</sup>。此外, 在无乳链球菌(*Streptococcus agalactiae*)和肺炎链球菌(*Streptococcus pneumoniae*)中, 菌毛组分对动物具有一定的免疫保护作用而有望成为疫苗候选分子<sup>[3,5-6]</sup>。通过对本实验室保存的 *S. suis* 2 型中国强毒株 05ZYH33 的全基因组注释分析, 发现 2 个在结构特征上与已知革兰氏阳性病原菌菌毛基因结构特征完全一致的基因簇, 编码 Sortase 转肽酶和与已知菌毛结构蛋白同源的膜蛋白, 分别命名为 srtBCD 和 srtF 菌毛岛<sup>[7]</sup>。其中, 菌毛次要结构蛋白编码基因 *SSU2100* 位于

srtBCD 菌毛岛上。本研究对 *SSU2100* 进行克隆、表达及免疫学特性分析, 对菌毛亚蛋白在 *S. suis* 2 强毒株中的致病作用和作为疫苗候选分子的研究奠定基础。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验材料

**1.1.1 质粒和菌株:** *S. suis* 2 05ZYH33 菌株(2005 年分离自四川资阳中毒性休克综合症病人), 本室保存; 宿主菌 *E. coli* DH5 $\alpha$  和 *E. coli* BL21, 为本实验室保存; 表达质粒 pET28a 为 Novage 公司产品, 质粒 pEASY-T1 simple 购自 Transgene 公司; 4 周龄、雌性、SPF 级 BALB/c 小鼠购自中国科学院上海实验动物中心。

**1.1.2 试剂:** PCR 扩增试剂盒, DNA Marker, 限制性内切酶 *Bam*H I 和 *Xho* I, T4 连接酶均为 TaKaRa 公司产品。DNA 割胶回收试剂盒购于 Promega 公司, 蛋白 Marker 为 Fermentas 公司产品, Todd Hewitt Broth 培养基购于 Difco 公司, 引物由上海赛百盛基因技术有限公司合成。弗氏完全佐剂和弗氏不完全佐剂为 Sigma 产品, HRP 标记的羊抗鼠 IgG、邻苯二胺(DAB)显色液购于武汉博士德生物工程有限公司。HRP 标记的羊抗鼠 IgG1、IgG2a、IgG2b 和 IgG3 均购于美国 Santa Cruz 公

司。TMB 显色液购于碧云天生物技术有限公司。

## 1.2 方法

**1.2.1 *SSU2100* 的同源性比对分析及进化树的绘制:** 用 BLAST 和 ClustalW 等生物信息学工具对本实验室 *S. suis* 2 05ZYH33 *SSU2100* 基因进行分析, 在线检索分析获得相似性显著的同源序列, 并通过 MEGA 4.0 软件绘制 *SSU2100* 的进化树。

**1.2.2 目的基因的扩增和克隆:** 根据基因序列设计引物, 上游引物为 5'-GGATCCTTGACACAAA CTGTACGT-3' (下划线部分为 *Bam*H I 酶切位点); 下游引物为 5'-CTCGAGTTGTGGAATGGTTACT TT-3' (下划线部分为 *Xho* I 酶切位点)。PCR 扩增程序: 95 °C 5 min; 94 °C 50 s, 52 °C 1 min, 72 °C 1 min, 30 个循环; 72 °C 10 min。1%琼脂糖凝胶电泳鉴定 PCR 产物, 并将目的片段 PCR 产物经电泳鉴定后与 pEASY-T1 于 30 °C 水浴连接 10 min, 连接产物转化至感受态 DH5 $\alpha$ , PCR 鉴定阳性者提取质粒, 酶切, 电泳鉴定。

**1.2.3 重组表达载体 pET28a:: *SSU2100* 的构建和鉴定:** 将重组质粒 *SSU2100*-T1 和表达载体 pET28a 分别用 *Bam*H I/*Xho* I 进行双酶切, 电泳后用胶回收试剂盒回收。回收产物用 T4 DNA 连接酶连接后转化至感受态 DH5 $\alpha$ , 菌液经 PCR 验证为阳性者用试剂盒提取质粒, 酶切, 电泳鉴定, 将阳性者进一步测序。

**1.2.4 重组蛋白的表达和纯化:** 重组表达载体转化感受态 *E. coli* BL21, 菌液浓度培养至  $OD_{600}$  约为 0.6 时, 1 mmol/L IPTG 诱导表达 4 h, 15% SDS-PAGE 电泳检测是否有目的蛋白的表达。将重组体扩大培养并经 IPTG 诱导表达, 离心收集菌体, PBS 重悬后冰浴超声破碎菌体, 离心后的上清过滤, 用 Ni<sup>2+</sup>离子亲和层析柱纯化蛋白。

**1.2.5 多抗血清的制备:** *SSU2100* 重组蛋白和弗氏完全佐剂按体积比 1:1 乳化, 小鼠皮下多点注射, 注射量为 50  $\mu$ g/只; 第 7 天用重组蛋白和等

体积弗氏不完全佐剂进行第 2 次免疫; 第 14 天用同样方法进行第 3 次免疫; 第 21 天直接用重组蛋白追加免疫。最后一次免疫 3 d 后小鼠眼眶动脉采血, 分离血清。

**1.2.6 Western blot 分析:** 将 *S. suis* 2 05ZYH33 在 THB 培养基中培养至对数期, 离心收集菌体, 超声破碎, 将全菌裂解物与纯化的 *SSU2100* 重组蛋白分别进行 SDS-PAGE 电泳, 采用电转印法将蛋白转移至硝酸纤维素膜上, 5%脱脂奶粉封闭 1 h; 加小鼠抗 *SSU2100* 蛋白的血清(1:1 000), 4 °C 过夜; 用 HRP 标记的羊抗鼠 IgG (1:1 000)孵育 1 h; 加 DAB 显色液显色。

**1.2.7 间接 ELISA 法检测多抗血清效价:** 将纯化的 *SSU2100* 蛋白用包被缓冲液稀释成 1  $\mu$ g/L, 每孔 100  $\mu$ L 包被 ELISA 板, 4 °C 过夜; 用 1% BSA 封闭 1 h; 将梯度稀释的小鼠多抗血清加入孔中, 100  $\mu$ L/孔, 37 °C 孵育 1 h; 加入 HRP 标记的羊抗鼠 IgG (1:5 000), 100  $\mu$ L/孔, 37 °C 孵育 1 h; TMB 显色液反应 15 min, 浓硫酸终止显色, 酶标仪 490 nm 处读取 OD 值。

**1.2.8 多抗血清中 IgG 亚型的检测:** 抗原的包被和酶标板的封闭步骤同前, 将小鼠免疫前血清和多抗血清以 1:2 000 倍稀释后加入酶标板, 100  $\mu$ L/孔, 于 37 °C 孵育 1 h, 洗涤 3 次后分别加入 HRP 标记的羊抗鼠 IgG1、IgG2a、IgG2b 和 IgG3 (1:5 000), 100  $\mu$ L/孔, 37 °C 孵育 1 h, 洗涤后加入 TMB 显色液反应 15 min, 最后加入终止液, 酶标仪在 490 nm 波长下测定 OD 值。

**1.2.9 动物保护性实验:** SPF 级 4 周龄雌性 BALB/c 小鼠 20 只, 随机分为 2 组, 实验组注射乳化的重组蛋白 *SSU2100*, 对照组用 PBS 缓冲液代替重组蛋白乳化, 按上述方法免疫, 接种 28 d 后小鼠腹腔注射 05ZYH33 菌液各 1 mL (约  $2 \times 10^8$  CFU/只,  $LD_{50} \approx 4 \times 10^7$  CFU), 观察小鼠的发病和死亡情况, 共观察 2 周。

## 2 结果

### 2.1 SSU2100 的生物信息学分析

通过比对发现(图 1), *S. suis* 2 05ZYH33 中 *SSU2100* 基因编码蛋白的氨基酸序列与 GenBank 上多种菌相关蛋白具有序列同源性, 其与 *Streptococcus agalactiae* 的菌毛岛 2a 中骨架蛋白同源性达 100%, 与 *Streptococcus pneumoniae* 菌毛骨架蛋白和 *Streptococcus pyogenes* 细胞壁表面蛋白同源性达 98%。

### 2.2 目的片段的扩增和克隆

以 05ZYH33 基因组 DNA 为模板, 对目的基因进行 PCR 扩增, 产物进行琼脂糖凝胶电泳检测(图 2)。PCR 扩增产物与预测的目的基因分子量大小相符, 约 1 035 bp。

### 2.3 重组表达质粒的鉴定

重组质粒 pET28a::SSU2100 经 *Bam*H I/*Xho* I 双酶切, 1%琼脂糖电泳显示酶切片段 *SSU2100* 的

长度约 1 035 bp (图 3)。对阳性转化子进行序列分析, 结果显示克隆的靶基因序列与 05ZYH33 基因组中目的基因序列完全一致, 编码 345 个氨基酸。

### 2.4 目的蛋白在大肠杆菌中的表达及纯化

SDS-PAGE 表明, 含重组表达质粒 pET28a::SSU2100 的 *E. coli* BL21 经 IPTG 诱导后在 40 kD 左右处有一条明显的蛋白条带, 分子量大小与预期一致。利用 His 亲和层析柱对表达产物进行初步纯化, 电泳可见一条特异的蛋白条带, 表明得到了较高纯度重组蛋白(图 4)。

### 2.5 Western blot 分析

Western blot 结果显示, 05ZYH33 全菌裂解物和重组蛋白 SSU2100 均可以与鼠抗 SSU2100 血清发生特异性反应, 在约 40 kD 处出现明显的条带(图 5), 表明 SSU2100 是 05ZYH33 所表达的蛋白, 且重组蛋白 SSU2100 具有特异的抗原活性。

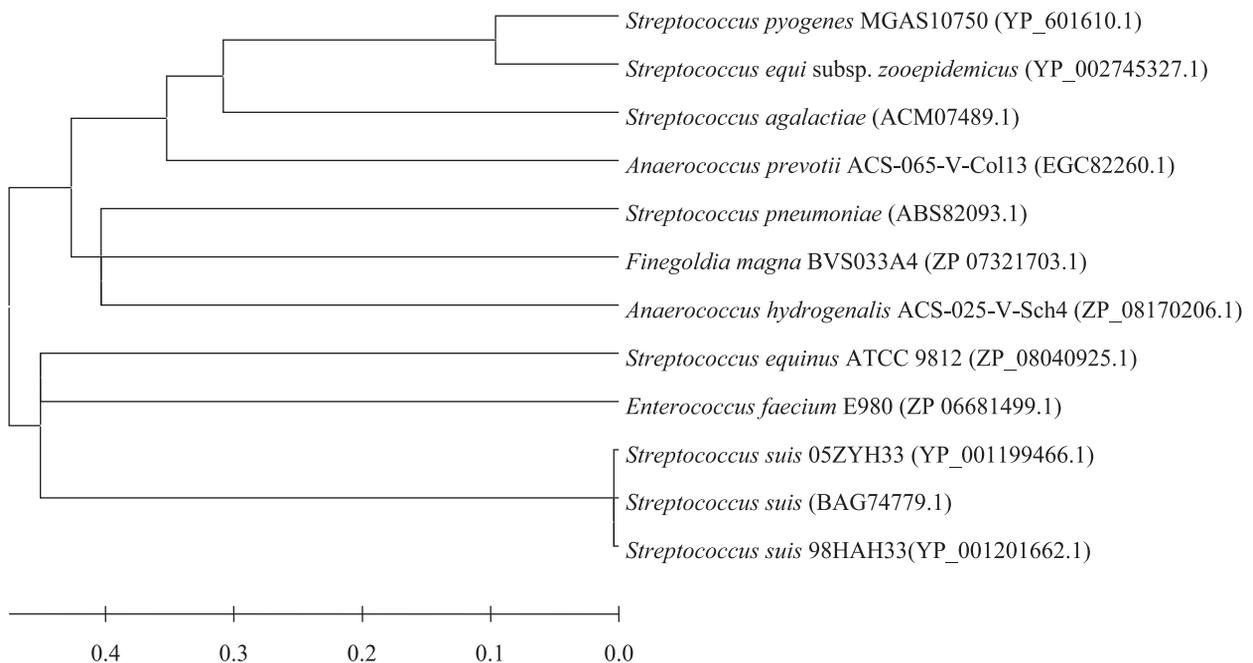


图 1 *S. suis* 2 05ZYH33 *SSU2100* 的进化树

Fig. 1 Phylogenetic trees of 12 representative isolates based on comparison of amino acid sequences

Note: Numbers in parentheses are GenBank accession numbers. Bar: Phylogenetic distance.

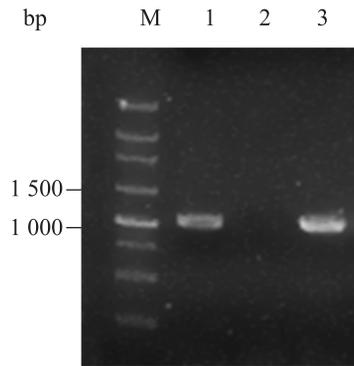


图 2 PCR 扩增目的片段

Fig. 2 Agarose gel electrophoresis of PCR

Note: M: 250 bp DNA marker; 1: Positive control; 2: Negative control; 3: The products of *SSU2100*.

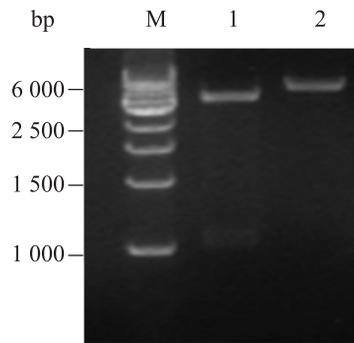


图 3 重组质粒 pET28a::SSU2100 双酶切鉴定

Fig. 3 Identification of the recombinant plasmid pET28a::SSU2100 by double restriction enzymes

Note: M: 250 bp DNA marker; 1: The plasmid digested by *Bam*H I and *Xho* I; 2: The plasmid digested by *Bam*H I.

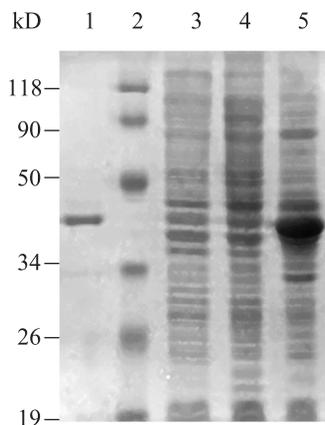


图 4 SDS-PAGE 检测蛋白表达和纯化

Fig. 4 Expression and purification analysis of recombinant protein SDS-PAGE

Note: 1: Purified recombinant; 2: Protein marker; 3: pET28a/BL21; 4: pET28a::*SSU2100*/BL21 without IPTG induction; 5: pET28a::*SSU2100*/BL21 induced with IPTG.

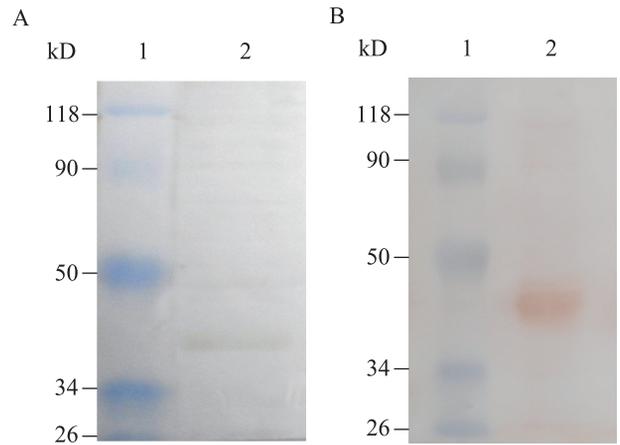


图 5 Western blot 分析

Fig. 5 Analyses of western blot

Note: A: Immunoblot analyses of 05ZYH33 whole-cell lysates; 1: Protein marker; 2: Pilus subunit *SSU2100*. B: Immunoblot of the recombinant *SSU2100*; 1: Protein marker; 2: Recombinant *SSU2100*.

## 2.6 小鼠多抗血清抗体效价测定

最后一次免疫小鼠 3 d 后断尾取血, 间接 ELISA 测定小鼠抗 *SSU2100* 血清的效价可达 1:1 024 000, 表明 *SSU2100* 能够刺激小鼠产生高滴度的抗体。

## 2.7 多抗血清中 IgG 亚型的检测

如图 6 所示, 小鼠多抗血清中的 4 种 IgG 亚型中, IgG2a 平均含量最高( $OD_{490}=1.757$ ), 其次是 IgG1 ( $OD_{490}=1.723$ )和 IgG2b ( $OD_{490}=1.534$ ), IgG3 最少( $OD_{490}=1.024$ )。

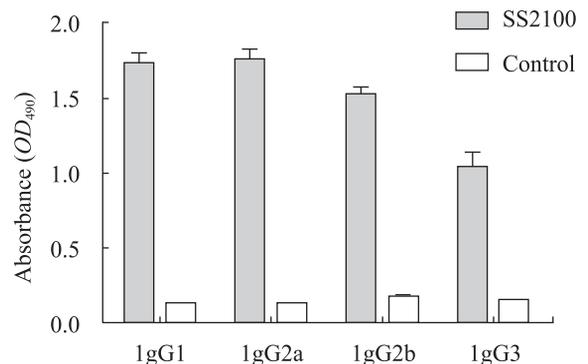


图 6 抗血清中 IgG 亚型的检测

Fig. 6 Assessments of antiserum IgG isotypes

Note: Preimmune sera and specific antisera from each group were diluted at 1:2 000; Results were expressed as means of absorbance values  $\pm$  standard deviations.

## 2.8 动物免疫保护试验

如图 7 所示, 用 05ZYH33 对小鼠攻毒后并观察 2 周, PBS 对照组攻毒后只有一只存活; 重组蛋白 SSU2100 免疫组的 10 只小鼠仍有 7 只存活, 两组具有显著差异 ( $P < 0.05$ ), 提示重组蛋白 SSU2100 具有明显的免疫保护作用。

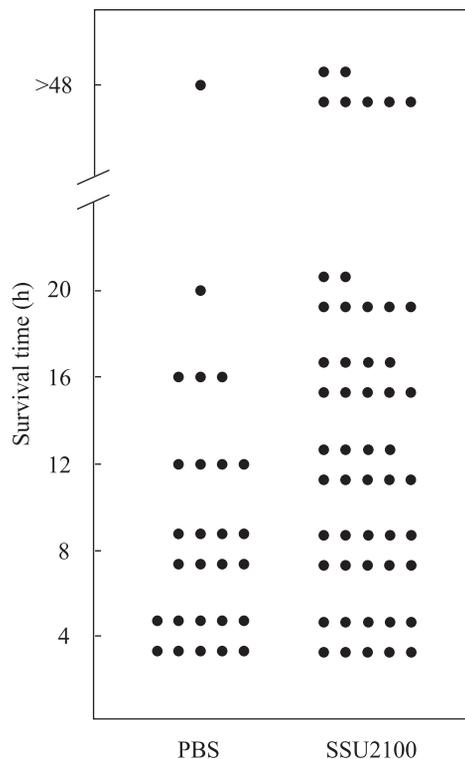


图 7 SSU2100 保护性试验

Fig. 7 SSU2100 protection experiment

Note: The survival number of mice in each day was indicated by dots.

## 3 讨论

菌毛存在于细菌表面, 是许多细菌与其宿主细胞相互作用的重要功能结构。最近几年, 对革兰阳性菌中菌毛的致病机理及菌毛蛋白的保护性研究已成为热点<sup>[3]</sup>。研究显示, 菌毛是由菌毛主要结构蛋白和次要结构蛋白通过 Sortase 酶的催化作用共价聚合而成的, 其中菌毛次要结构蛋白可能与宿主细胞的亲嗜性有关, 而且在细菌黏附、定殖、侵袭和宿主的免疫应答方面发挥着重

要作用<sup>[8-10]</sup>。用 *S. pneumoniae* 4 TIGR4 重组的菌毛亚蛋白(RrgA, RrgB 和 RrgC)对小鼠进行主动和被动免疫, 均显示具有保护作用<sup>[5]</sup>, 而 GBS 的 4 个保护性抗原中有 3 个(GBS80, GBS104 和 GBS67)是存在于多种 GBS 两个菌毛岛编码的菌毛结构蛋白<sup>[11]</sup>。用重组的 GBS515 株的 PI-2a 菌毛岛上的菌毛主要蛋白 GBS59 免疫小鼠, 发现其对小鼠有免疫保护作用<sup>[12]</sup>。以 GAS 菌毛结构蛋白 M6\_Cpa、M1\_128 和 M1\_130 联合的重组蛋白免疫小鼠, 发现菌毛亚蛋白是具有保护性的抗原, 可作为疫苗的候选分子<sup>[13]</sup>。

关于 *S. suis* 2 的研究, 早在 1990 年加拿大大学者通过电子显微镜在菌体表面发现存在直径大约 2 nm, 长 250 nm 的菌毛样结构<sup>[14]</sup>。2010 年 Garibaldi M 等用重组的 *S. suis* 2 菌毛岛 PAPI-2b 蛋白的 3 个片段免疫小鼠发现对其具有显著的免疫保护作用<sup>[15]</sup>。本研究通过对已完成测序的 *S. suis* 2 中国强毒株 05ZYH33 基因组注释分析, 发现 *S. suis* 2 中菌毛相关基因组成形式与几种重要的革兰阳性病原菌(如白喉棒杆菌、化脓链球菌 GAS、唾液链球菌 GBS 以及肺炎链球菌)的菌毛基因结构特征一致, 推测可能是编码菌毛相关的基因簇, 分别命名为 srtBCD 菌毛岛和 srtF 菌毛岛。其中, srtBCD 菌毛岛由菌毛主要结构蛋白 SSU2101 和菌毛辅助亚基 SSU2099、SSU2100 以及 Sortase 酶家族的 srtBCD 构成, 与肺炎链球菌 TIGR4 菌株 rlrA 菌毛岛相似<sup>[16]</sup>; 有趣的是, 对已完成基因组测序的另两株国内 *S. suis* 2 (98HAH12 和 05JYS68)全基因组序列进行菌毛基因簇同源检索分析, 发现国内强毒力株 98HAH12 以及北美毒力代表株 P1/7 基因组中也存在 srtBCD 菌毛岛, 且基因的序列同源性均大于 98%, 但在无毒株 05JYS68 基因组中未发现完整的 srtBCD 菌毛岛。针对 srtBCD 菌毛岛分布于毒力株的现象, 我们在基因水平和生物学功能方

面对 srtBCD 菌毛岛进行研究,旨在全面认识“中国特色”*S. suis* 2 强毒株的病原生物学特性。本课题组已经完成对 05ZYH33 srtBCD 菌毛岛中的两个菌毛亚蛋白 SSU2099 和 SSU2101 的原核表达,并初步探究了重组蛋白对小鼠的免疫保护作用,研究结果显示菌毛亚蛋白 SSU2099 和 SSU2101 均具有良好的免疫保护作用,与国外学者在 GBS 菌毛蛋白的免疫效能研究结果一致<sup>[17-18]</sup>。值得关注的是,同为菌毛次要结构蛋白的 SSU2099 和 SSU2100 的对小鼠的免疫保护效果比菌毛主要结构蛋白 SSU2101 的稍弱,提示菌毛主要结构蛋白 SSU2101 可能是更好的疫苗候选分子。

本研究从 05ZYH33 srtBCD 菌毛岛中选取菌毛次要结构蛋白编码基因 SSU2100 进行克隆表达,并利用亲和层析法获得纯度较高的重组蛋白。通过检测 SSU2100 抗血清中的 IgG 亚型可以反映抗原激发的免疫应答类型,其中 IgG1 与 Th2 型免疫应答有关,即体液免疫型应答, IgG2a 与 Th1 型免疫应答,即细胞免疫应答为主<sup>[19]</sup>; IgG2b 和 IgG3 也与 Th1 型免疫应答有关,且参与细菌的调理吞噬作用<sup>[20]</sup>。从 SSU2100 抗血清 IgG 亚型的检测结果看,SSU2100 可能诱导了 Th1-Th2 混合型免疫应答反应,即产生以细胞免疫为主,体液免疫为辅的免疫应答反应。小鼠保护性试验证明重组蛋白 SSU2100 具有良好的免疫保护作用,提示菌毛亚蛋白 SSU2100 可以作为猪链球菌的疫苗候选分子。此外,本研究获得的高效价 SSU2100 抗体,有利于研究菌毛结构蛋白在细菌表面定位,为进一步系统地研究该菌毛岛在猪链球菌中的分子致病机理奠定了基础。

## 参 考 文 献

- [1] Tang JQ, Wang CJ, Feng YJ, et al. Streptococcal toxic shock syndrome caused by *Streptococcus suis* serotype 2 [J]. PLoS Medicine, 2006, 3(5): 668-676.
- [2] Lun ZR, Wang QP, Chen XG, et al. *Streptococcus suis*: an emerging zoonotic pathogen[J]. The Lancet Infectious Diseases, 2007, 7(3): 201-209.
- [3] Telford JL, Barocchi MA, Margarit I, et al. Pili in gram-positive pathogens[J]. Nature Reviews Microbiol, 2006, 4(7): 509-519.
- [4] Nelson AL, Ries J, Bagnoli F, et al. RrgA is a pilus-associated adhesin in *Streptococcus pneumoniae*[J]. Molecular Microbiology, 2007, 66(2): 329-340.
- [5] Gianfaldoni C, Censini S, Hilleringmann M, et al. *Streptococcus pneumoniae* pilus subunits protect mice against lethal challenge[J]. Infection and Immunity, 2007, 75(2): 1059-62.
- [6] Lauer P, Rinaudo CD, Soriani M, et al. Genome analysis reveals pili in Group B *Streptococcus*[J]. Science, 2005, 309(5731): 105.
- [7] Wang CJ, Li M, Feng YJ, et al. The involvement of sortase A in high virulence of STSS-causing *Streptococcus suis* serotype 2[J]. Archives Microbiology, 2009, 191(1): 23-33.
- [8] Barocchi MA, Ries J, Zoqai X, et al. A pneumococcal pilus influences virulence and host inflammatory responses[J]. Proceedings of the National Academy Sciences of the USA, 2006, 103(8): 2857-2862.
- [9] Mandlik A, Swierczynski A, Das A, et al. Pili in gram-positive bacteria: assembly, involvement in colonization and biofilm development[J]. Trends in Microbiology, 2008, 16(1): 33-40.
- [10] Falker S, Nelson AL, Morfeldt E, et al. Sortase-mediated assembly and surface topology of adhesive pneumococcal pili[J]. Molecular Microbiology, 2008, 70(3): 595-607.
- [11] Maione D, Margarit I, Rinaudo CD, et al. Identification of a universal group B *Streptococcus* vaccine by multiple genome screen[J]. Science, 2005, 309(5731): 148-150.
- [12] Rosini R, Rinaudo CD, Soriani M, et al. Identification of novel genomic islands coding for antigenic pilus-like structures in *Streptococcus agalactiae*[J]. Molecular Microbiology, 2006, 61(1): 126-41.
- [13] Mora M, Bensi G, Capo S, et al. Group A *Streptococcus* produce pilus-like structures containing protective antigens and Lancefield T antigens[J].

- Proceedings of the National Academy Sciences of the USA, 2005, 102(43): 15641–15646.
- [14] Jacques M, Gottschalk M, Foiry B, et al. Ultrastructural study of surface components of *Streptococcus suis*[J]. Journal of Bacteriology, 1990, 172(6): 2833–2838.
- [15] Garibaldi M, Rodríguez-Ortega MJ, Mandanici F, et al. Immunoprotective activities of a *Streptococcus suis* pilus subunit in murine models of infection[J]. Vaccine, 2010, 28(20): 3609–3616.
- [16] Vanier G, Fittipaldi N, Slater JD, et al. New putative virulence factors of *Streptococcus suis* involved in invasion of porcine brain microvascular endothelial cells[J]. Microbial Pathogenesis, 2009, 46(1): 13–20.
- [17] 陈红娜, 王长军, 潘秀珍, 等. 猪链球菌 2 型 srtBCD 菌毛岛 *SSU2099* 基因的克隆表达与免疫学特性[J]. 微生物学通报, 2010, 37(6): 861–865.
- [18] 秦跃红, 王长军, 陈红娜, 等. 猪链球菌 2 型菌毛样结构蛋白 *SSU2101* 原核表达及其免疫保护性[J]. 微生物学通报, 2009, 6(11): 1700–1704.
- [19] Li YY, Gottschalk M, Esgleas M, et al. Immunization with recombinant Sao protein confers protection against *Streptococcus suis* infection[J]. Clinical and Vaccine Immunology, 2007, 14(8): 937–943.
- [20] Michaelsen TE, Kolberg J, Aase A, et al. The four mouse IgG isotypes differ extensively in bactericidal and opsonophagocytic activity when reacting with the P1.16 epitope on the outer membrane PorA protein of *Neisseria meningitidis*[J]. Scandinavian Journal of Immunology, 2004, 59(1): 34–39.

## 征订启事

### 欢迎订阅《微生物学通报》

《微生物学通报》创刊于 1974 年,是中国科学院微生物研究所和中国微生物学会主办,国内外公开发行,以微生物学应用基础研究及技术创新与应用为主的综合性学术期刊。刊登内容包括:基础微生物学研究,农业微生物学研究,工业微生物学研究,医学微生物学研究,食品微生物学研究,环境微生物学研究,微生物功能基因组研究,微生物蛋白组学研究,微生物模式菌株研究,生物工程与药物研究,微生物技术成果产业化及微生物教学研究改革等。

本刊为中国生物科学类核心期刊。曾获国家级优秀科技期刊三等奖,中国科学院优秀科技期刊三等奖,北京优秀科技期刊奖,被选入新闻出版总署设立的“中国期刊方阵”并被列为“双效”期刊。

自 2008 年本刊已经全新改版,由双月刊改为月刊,发表周期缩短,内容更加丰富详实。**欢迎广大读者到邮局订阅或直接与本刊编辑部联系购买**,2012 年每册定价 58 元,全年 696 元,我们将免邮费寄刊。

另,本编辑部现存有少量过刊,如有需要者可直接与编辑部联系。(请事先与编辑部联系,获悉每册售价。敬请在汇款单上注明所购刊物的年代、卷、期和数量)

邮购地址:(100101)北京朝阳区北辰西路 1 号院 3 号中国科学院微生物研究所《微生物学通报》编辑部

Tel: 010-64807511; E-mail: bjb@im.ac.cn, tongbao@im.ac.cn

网址: <http://journals.im.ac.cn/wswxtbcn>

国内邮发代号: 2-817; 国外发行代号: BM413