

Saf 菌毛与生物被膜形成

曾龙辉, 蒙国宇

上海交通大学医学基因组学国家重点实验室, 上海交通大学 医学院附属瑞金医院上海市血液学研究所, 上海 200025

[摘要] 菌毛作为细菌表面附属物, 在宿主细胞黏附和细菌生物被膜形成中发挥关键的作用。该文主要介绍有关沙门菌非典型菌毛 Saf 结构和功能的最新研究, 并揭示 Saf 菌毛介导的生物被膜形成机制, 为靶向生物被膜相关的细菌耐药提供新思路。

[关键词] Saf 菌毛; 宿主识别; 生物被膜

[DOI] 10.3969/j.issn.1674-8115.2018.02.001 **[中图分类号]** R378 **[文献标志码]** A

Saf pili and biofilm formation

ZENG Long-hui, MENG Guo-yu

State Key Laboratory of Medical Genomics; Shanghai Institute of Hematology, Ruijin Hospital, Shanghai Jiao Tong University School of Medicine, Shanghai 200025, China

[Abstract] As appendages surfacing on bacterium, pili play key roles in host cell adhesion and biofilm formation. The present paper introduces the latest structural and functional studies of *Salmonella* atypical pili Saf and uncovers the mechanism of Saf pili driven biofilm formation, which provides new strategy to target bacterial biofilm related antibiotic resistance.

[Key words] Saf pili; host recognition; biofilm formation

细菌生物被膜是菌体为适应环境, 黏附于物体或者人体组织表面, 通过分泌大量的多糖、蛋白质和核酸等胞外基质将自身包裹在其中而形成的聚集膜样物^[1]。生物被膜与人类健康紧密相关, 比如导致牙菌斑的形成以及植入式医疗器械的感染。相较于单个的浮游细菌, 生物被膜的形成会对抗生素和宿主免疫系统产生更强的抵抗, 使感染慢性化和反复化, 导致严重的临床问题^[2-4]。因此, 生物被膜形成机制一直是国内外学者研究的重点领域。

在利用结构生物学阐述生物被膜形成机制的研究中, 本课题组于 2011 年首先解析了流感嗜血杆菌 Hap 蛋白结构, 并提出 Hap-Hap 介导细胞间聚合, 导致微小菌落及生物被膜形成的高分辨率结构模型 (图 1A)^[5]。随后 Steve Matthews 课题组于 2012 年依次解析了大肠埃希菌普通菌毛亚基 EcpA 和副血链球菌 Fap1-NR, 分别提出 ECP-ECP 和 Fap1-Fap1 蛋白相互作用介导生物被膜形成模型^[6-8]。Mark Schembri 课题组于 2014 年解析了致肾盂肾炎大肠埃

希菌自转运蛋白 Ag43, 提出 Ag43-Ag43 介导生物被膜形成模型^[9]。以上模型的提出, 折射出基于结构生物学阐述细菌生物被膜形成机制的强大魅力。

2017 年 11 月本课题组在 *eLife* 发表了最新研究成果, 聚焦到隐藏人们身边的“杀手”沙门菌, 该菌是导致大规模食物中毒的罪魁祸首。研究中的主角 Saf 菌毛特异性表达于大多数临床致病的沙门菌表面, 由一个顶端 SafD 亚基连接多个 SafA 亚基组成。此次研究首次发现, Saf 菌毛具有聚黏附 (poly-adhesive) 和自缔合 (self-associating) 活性^[10]。为理解 Saf 菌毛的作用机制, 我们通过结构生物学手段, 获得单个 SafD 以及 3 个连续亚基 SafDAA 的高分辨率蛋白结构。通过分析 SafDAA 蛋白晶胞结构, 我们提出 Saf 菌毛可以通过首尾相连“握手式”寡聚 (oligomerization) 来介导生物被膜形成的假说模型 (图 1B), 并且利用生物物理学手段 [如小角 X 射线散射 (SAXS)、体积排阻色谱与多角度光散射 (SEC-MALS)]

[基金项目] 国家自然科学基金面上项目 (81570120, 81770142, 81370620, 31070645); 上海高校特聘教授 (东方学者) 岗位计划; 上海市教育委员会高峰高原学科建设计划 (20152504); 上海市教育委员会基金 (12ZZ109); 上海市科学技术委员会基金 (11JC1407200) [National Natural Science Foundation of China, 81570120, 81770142, 81370620, 31070645; The Program for Professor of Special Appointment (Eastern Scholar) at Shanghai Institutions of Higher Learning; Shanghai Municipal Education Commission—Gaofeng Clinical Medicine Grant Support, 20152504; Shanghai Municipal Education Commission Foundation, 12ZZ109; Shanghai Science and Technology Commission Foundation, 11JC1407200]。

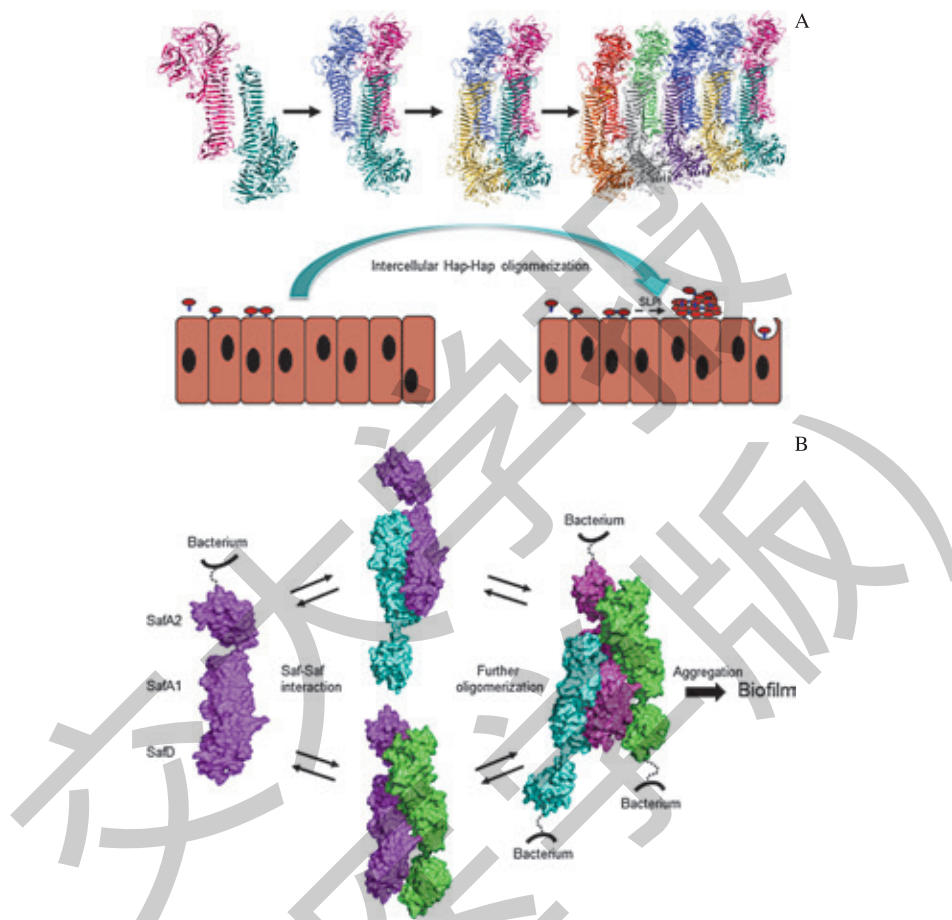
[作者简介] 曾龙辉 (1989—), 男, 博士生; 电子信箱: zenglonghui@sjtu.edu.cn。

[通信作者] 蒙国宇, 电子信箱: guoyumeng@shsmu.edu.cn。

和细菌功能实验,多角度验证了这一模型。该研究结合前面介绍的蛋白(Hap、Ag43、ECP和Fap1)相互作用结构模型,证明细菌通过胞间黏附分子寡聚促进生物被膜形成是一种普遍现象。我们还发现链接菌毛各个亚基间的脯氨酸(Pro20)通过其特异的顺一反式转换来改变蛋白的构象,从而影响生物被膜的形成。值得一提的是,脯氨酸在

其他类型菌毛亚基间链条(linker)中高度保守。

这项基础研究工作具有潜在的应用价值。一方面,为沙门菌防治(如疫苗和抗体研制)提供精细的靶点蛋白结构视野;另一方面,为当今全球抗生素耐药加剧问题的解决,提供一条抑制细菌寡聚(不以杀死细菌为目的)的崭新思路。



注: A. Hap-Hap 模型; B. Saf-Saf 模型。引自文献[5,10]。

图1 菌毛介导生物被膜形成的模型示意图

Fig 1 Schematic diagram of pili-driven biofilm formation models

参·考·文·献

- [1] Costerton JW, Lewandowski Z, Caldwell DE, et al. Microbial biofilms[J]. Annu Rev Microbiol, 1995, 49: 711-745.
- [2] Prosser BL, Taylor D, Dix BA, et al. Method of evaluating effects of antibiotics on bacterial biofilm[J]. Antimicrob Agents Chemother, 1987, 31(10): 1502-1506.
- [3] Burmölle M, Thomsen TR, Fazli M, et al. Biofilms in chronic infections - a matter of opportunity - monospecies biofilms in multispecies infections[J]. FEMS Immunol Med Microbiol, 2010, 59(3): 324-336.
- [4] Mah TF, O'Toole GA. Mechanisms of biofilm resistance to antimicrobial agents[J]. Trends Microbiol, 2001, 9(1): 34-39.
- [5] Meng G, Spahich N, Kenjale R, et al. Crystal structure of the *Haemophilus influenzae* Hap adhesin reveals an intercellular oligomerization mechanism for bacterial aggregation[J]. EMBO J, 2011, 30(18): 3864-3874.
- [6] Garnett JA, Martinez-Santos VI, Saldana Z, et al. Structural insights into the biogenesis and biofilm formation by the *Escherichia coli* common pilus[J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2012, 109(10): 3950-3955.
- [7] Garnett JA, Simpson PJ, Taylor J, et al. Structural insight into the role of *Streptococcus parasanguinis* Fap1 within oral biofilm formation[J]. Biochem Biophys Res Commun, 2012, 417(1): 421-426.
- [8] Garnett JA, Matthews S. Interactions in bacterial biofilm development: a structural perspective[J]. Curr Protein Pept Sci, 2012, 13(8): 739-755.
- [9] Heras B, Totsika M, Peters KM, et al. The antigen 43 structure reveals a molecular Velcro-like mechanism of autotransporter-mediated bacterial clumping[J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2014, 111(1): 457-462.
- [10] Zeng L, Zhang L, Wang P, et al. Structural basis of host recognition and biofilm formation by *Salmonella* Saf pili[J]. eLife, 2017, 6: e28619.

[收稿日期] 2018-01-30

[本文编辑] 邵碧云



上海交通大学医学院



学者介绍

Author introduction

ORCID
0000-0001-7904-2382

蒙国宇 (1976—), 上海交通大学医学院附属瑞金医院教授。1999年毕业于中山大学获学士学位。2003年获英国伯明翰大学博士学位。2003—2009年在伦敦大学伯克贝克学院做博士后并担任共同研究组长。现为东方学者特聘教授、医学基因组学国家重点实验室课题组长 (PI)、教育部“新世纪人才”人选、上海市教育委员会高峰高原学科建设计划第一批入选者、上海交通大学系统生物医学协同创新中心首批固定 PI。

• 蒙国宇团队主要通过生物信息学、结构生物学、分子生物学、细胞生物学和动物模型等技术平台, 对 PML-RARA、DUX4-IGH、SafDAA、Hap 等血液肿瘤和感染性疾病中的重要靶点蛋白的结构和功能进行系统的分析。其以通信作者身份在包括 *eLife*、*Nature Communications*、*EMBO J*、*Blood*、*Leukemia* 在内的国际高水平期刊发表论文多篇。作为负责人主持国家自然科学基金及省部级科研项目 9 项。带领团队先后获得明治生命科学奖优秀奖和上海医学奖三等奖。

MENG Guo-yu born in 1976, professor of Ruijin Hospital, Shanghai Jiao Tong University School of Medicine. He got his bachelor's degree from Sun Yat-Sen University in 1999 and received his Ph.D at Brimingham University in 2003. He worked as a postdoctoral associate and co-PI in Birkbeck College, London University from 2003 to 2009. At present, he is specially-appointed professor of Eastern Scholar, PI of State Key Laboratory of Medical Genomics, New Century Talent of the Education Ministry, first selectee of Shanghai Municipal Education Commission—Gaofeng Clinical Medicine Grant Support and first batch PI in Systems Biomedicine Collaborative Innovation Center of Shanghai Jiao Tong University.

• Dr. Meng's team apply techniques including bioinformatics, structural biology, molecular biology, cell biology and animal model to study oncogenic drivers in leukemia such as PML-RARA in acute promyelocytic leukemia (APL), DUX4-IGH in acute lymphoblastic leukemia (ALL) (*Nature Communications*, 2018; *Leukemia*, 2018; *Blood*, 2013). Besides, Dr. Meng is also interested in the molecular mechanism underpinning the bacterial infection (*eLife*, 2017; *EMBO J*, 2011; *EMBO J*, 2006; *Nature Structure Biology*, 2003). Dr. Meng has been supported by nine grants including provincial and ministry level research projects and National Natural Science Foundation of China. He led the group to win Excellence Award of Mingzhi Life Science Award and third prize of Shanghai Medical Science Award.

论文介绍

• 上海交通大学医学基因组学国家重点实验室蒙国宇课题组独立完成的研究成果在 *eLife* 上以 “Structural basis of host recognition and biofilm formation by *Salmonella* Saf pili” 为题发表。上海交通大学医学院附属瑞金医院上海市血液学研究所博士生曾龙辉、硕士生张丽和博士后王鹏然为该论文的并列第一作者, 蒙国宇教授为通信作者, 上海交通大学医学基因组学国家重点实验室为第一完成单位。

• *eLife*, 2017, 6: e28619. • DOI: 10.7554/eLife.28619.

致谢

• 研究获得国家自然科学基金、上海市科学技术委员会基金、上海市教育委员会基金、上海高校特聘教授 (东方学者) 岗位计划以及国家蛋白质科学研究 (上海) 设施 / 上海光源五线六站的支持。