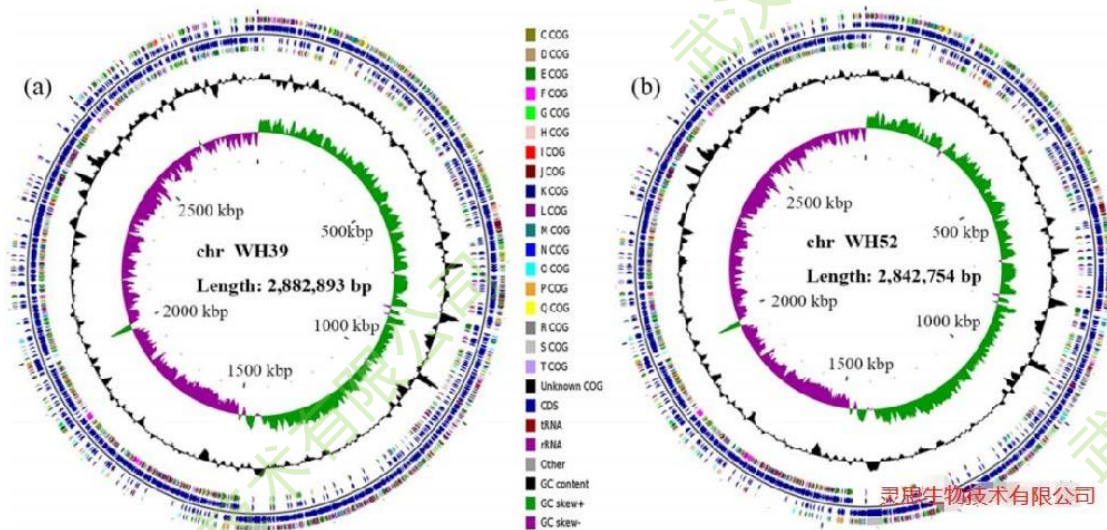




全基因组测序揭示人类生活“健康杀手”金黄色葡萄球菌的分子特征

金黄色葡萄球菌是常见的食源性致病菌，广泛存在于自然环境中。金黄色葡萄球菌在适当的条件下，能够产生肠毒素，引起食物中毒。近几年，金黄色葡萄球菌引发的食物中毒报道层出不穷，由金黄色葡萄球菌引起的食物中毒占食源性微生物食物中毒事件的 25%左右，这种病菌主要生长在 37 摄氏度左右的地方，并且耐高盐，即使是盐分浓度高达 10%也是可以生存。金黄色葡萄球菌主要是在人体的皮肤、口腔、咽喉或者是肠胃当中寄生，在空气、污水等环境中也无处不在。

金黄色葡萄球菌感染对人类的巨大威胁主要是由于抗生素耐药性和高毒力分离株的迅速出现。目前已有的研究一般都集中在金黄色葡萄球菌 ST630 的分子流行病学上，很少涉及全基因组和 WTA 生物合成基因。通过全基因组测序可以分析 ST630 的分子特征，有助于了解金黄色葡萄球菌中新致病菌株的出现和多样化。

1 基因组测序、组装和注释

本研究收集 16 株临床金黄色葡萄球菌分离株。WH39 (tagN 编码) 和 WH52 (非 tagN 编码) 基因组如图 1 所示，将其他 14 株金黄色葡萄球菌分离株的未封闭基因组组装成 28~530 个序列。16 株分离株的基因组大小在 2659666bp~3040523bp 之间，GC 含量在 32.50%~32.82%之间，预测编码序列 (CDS) 的数量在 2653~3195 个之间。此外，这些基因组还包含 3~16 个 rRNA、19~60 个 tRNA 和 4~5 个 ncRNA。

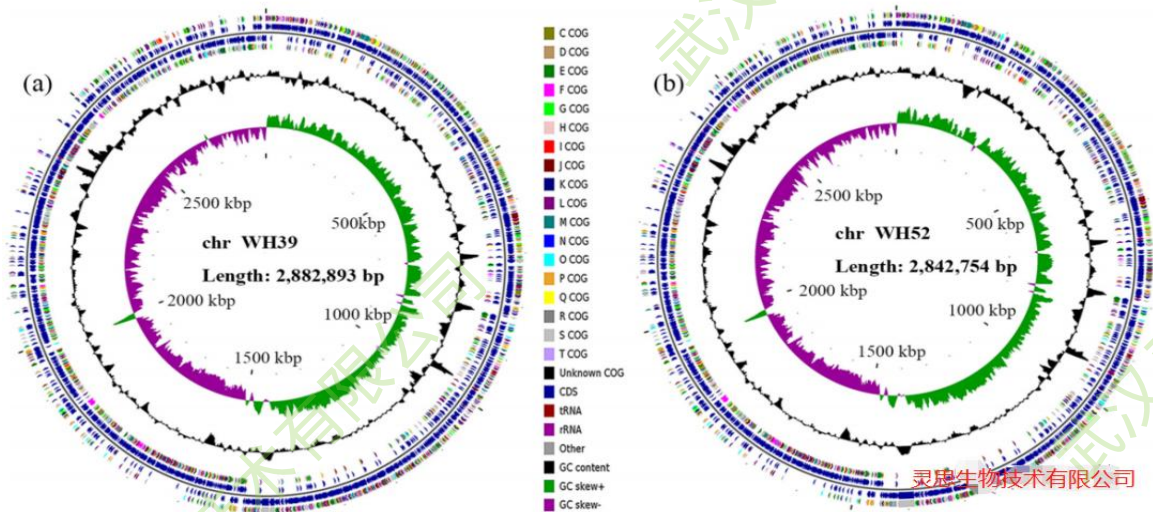


图 1 菌株 WH39 (a) 和 WH52 (b) 染色体图谱

2 系统发育分析和脉冲场凝胶电泳 (PFGE) 分析

作者共纳入 37 条金黄色葡萄球菌基因组序列进行系统发育分析。通过蛋白预测和同源性分析，在 37 个分离株中均鉴定出 1711 个同源基因。从 1711 个同源基因构建的系统发育树得出，ST395、ST1093 和 ST426 与其他 ST 谱系的分支更大 (图 3)。此外，相较于 ST395 菌株，ST630 与其他金黄色葡萄球菌谱系之间的遗传亲缘关系更接近。ST630 分离株的 PFGE 共检测到 11 种 PFGE 类型，相似系数为 82.7%~100.0%。不同的 ST630 分离株的 DNA 片段模式相似性超过 80%，说明它们之间存在密切的亲缘关系。

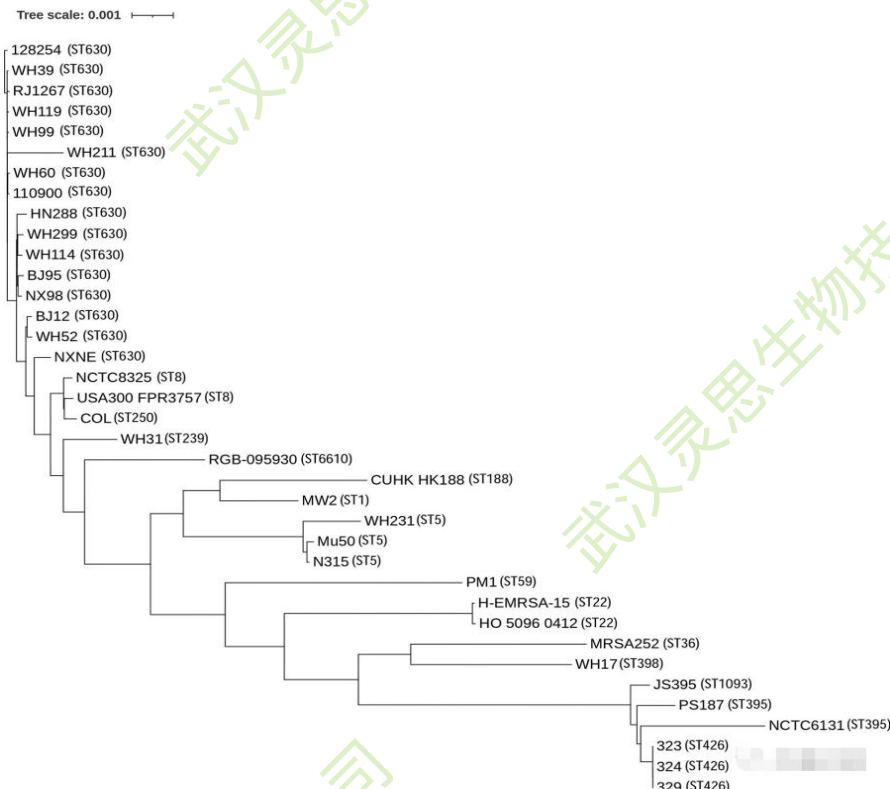


图 2 系统发育树

3 大多数 ST630 分离株具有独特的 WTA 生物合成基因和 WTA 结构

与大多数表达 RboP-WTA 的金黄色葡萄球菌菌株相似，16 株 ST630 菌株均含有 *tarO* 基因和 *tarAHGBXD* 基因簇，用于 WTA 的生物合成和 WTA 转运。*RboP*- α -GlcNAc 糖基转移酶基因 *tarM* 在所有 16 株 ST630 菌株中均存在。BJ12 和 WH52 也包含 *tarIJLFS* 簇，用于 *RboP*WTA 聚合和 β -GlcNAc 糖基化。值得注意的是，WH39、WH60、WH99、WH114、WH119、WH211、WH299、HN288、NX98、BJ95、RJ1267、110900 和 128254 包含一个 *SaGroWI* 基因簇，取代了 *tarIJLFS* 基因簇。*SaGroWI* 基因簇已被确定为负责 *GroP*WTA 的生物合成和 α -GalNAc 糖基化 (tagN)，而 NXNE 同时包含 *SaGroWI* 基因簇和 *tarIJLFS* 基因簇 (图 3)。且在多个 CoNS 中鉴定了这些基因的同源物。这表明 ST630 与 CoNS 之间存在进化联系。

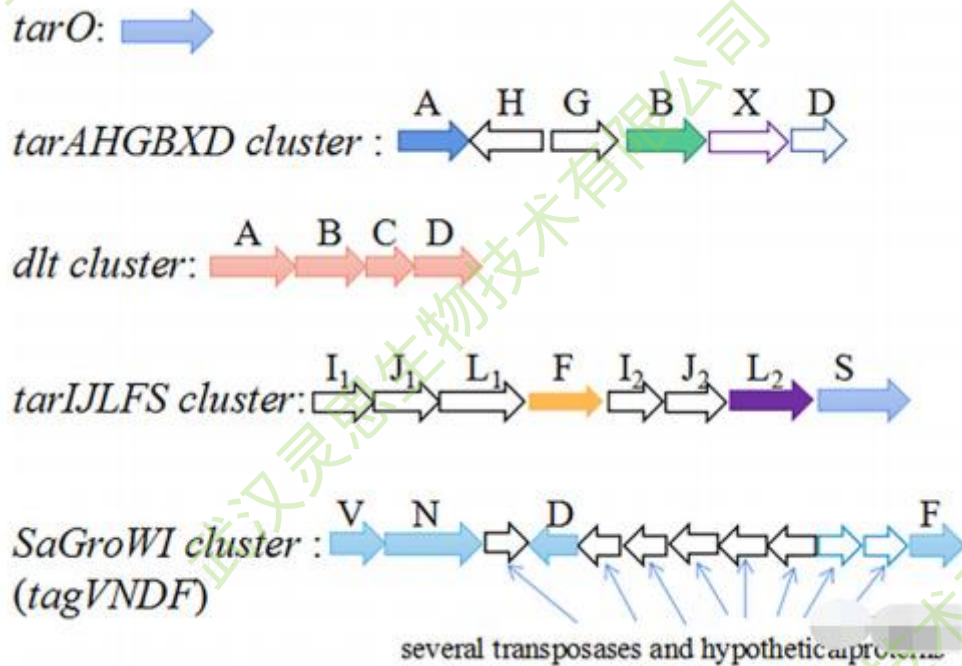


图 3 ST630 的基因组中 WTA 生物合成基因

对 WTA 样品做 PAGE 分析，用阿利新蓝银染色观察发现 WH52 (非 tagN 编码) 的 WTA 迁移速度快于 WH39 (tagN 编码)，说明 tagN 编码的 ST630 具有更复杂的 WTA 结构 (图 5)。此外，作者还在 WH39 中构建了一个 tagN 突变体 (DTN) 及其互补突变体 (c-DTN)。PAGE 结果表明，DTN 的 WTA 迁移速度快于亲本分离株，与非 tagN 编码的 ST630 相似。c-DTN 的 WTA 与野生型一样迁移，表明 DTN 可能缺乏 WTA GalNAc 残基。

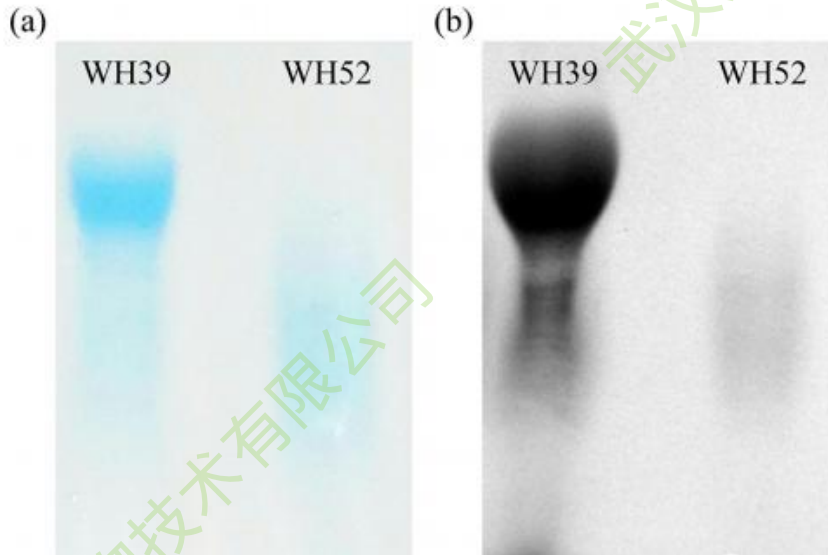
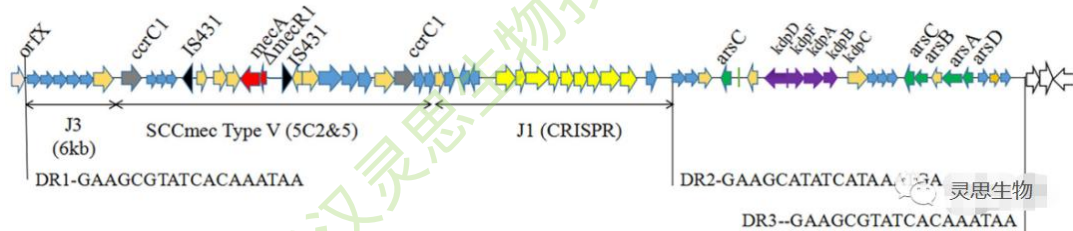


图 4 PAGE 电泳图

4 在 WH39 中发现的一种新的 SCCmec 元素

WH39 含有一个新的 59kb 的 SCCmec 元件，与位于 CA-MRSA 菌株（群落相关菌株）上的 SCCmec V 型的同源性有 55.42%。新的 SCCmec 元件插入 *orfX* 基因的 3'端，两侧有两个重复序列（DR1、DR3），包含 65 个开放阅读框（ORFs）。DR2 在 *orfX* 基因下游 38kb，划分为双结构域复合元件。前 38kb 的 SCC 区域由 40 个 ORFs 组成，包括 *mecA* 基因复合物和两个不同的 *ccrC* 基因。



5 原噬菌体分析

预测表明，所有 ST630 菌株都含有至少一个原噬菌体，其长度范围从 6.4 kb 到 47.8 kb。GC 含量在 26.06%~35.28%之间变化。一个与 ST395 特异性噬菌体（U187）密切相关的原噬菌体，能够介导金黄色葡萄球菌 ST395 和其他细菌物种之间的 HGT，且仅在 *tagN*、*tarM* 编码的 ST630 分离株的所有有效基因组中检测到，而在非 *tagN* 编码的金黄色葡萄球菌 ST630 菌株 WH52 和 BJ12 中未检测到。此外，在 *tagN* 编码和非 *tagN* 编码的 ST630 菌株中均预测到了一些常见的原噬菌体，如 UPT1028 和 UJay2Jay。通过 blast 分析，在 *tagN*、*tarM* 编码 ST630 分离株的 6.4kb 原噬菌体中观察到几个 WTA 生物合成基因，如 WTA 转移酶基因，进一步证明了 WTA 生物合成基因的流动性。

研究结论

金黄色葡萄球菌种群大部分属于独立的进化谱系。许多毒力和抗性基因在 MGEs 上编码，MGEs 的 HGT 促进了金黄色葡萄球菌的遗传和表型变异，对环境变化的适应有很强的影响。作者通过全基因组测序确定了金黄色葡萄球菌分离株的基因组序列，结合系统发育树、PAGE、SCCmec 元件分析等发现金黄色葡萄球菌 ST630 分离株，可能同时产生 RboP-GlcNAc WTA 和 GroP-GalNAc WTA。通过比较基因组分析表明，这种罕见的 ST630 容易从 CoNS 中获得 DNA，并可能作为其他金黄色葡萄球菌和 CoNS 物种之间的基因转移站，从而为各种 MGEs 的种间 HGT 创造一条可能的新途径。

作者也提出了本研究存在一定的局限性：首先，ST630 菌株的样本量较小，限制了本研究的广泛代表性。后续在实验中可以继续扩大样本量。其次，WGS 只能提供序列信息和预测，而不能提供实际的 WTA 结构或基因转移水平。第三，目前尚不清楚其独特的 WTA 结构是否会影响致病性和免疫反应，这将是作者进一步研究的重点。

咨询电话：18171096640

邮箱：market@lingsibio.cn

网址：www.lingsibio.cn

公司地址：武汉市东湖新技术开发区花城大道 8 号光谷智慧健康园 D2 栋 4 层