

潜在的抗金黄色葡萄球菌靶点：SaeRS 双组分调控系统

吴钰煌^{1,2#}, 乐贤^{1,2#}, 张庆勇³, 邹黎黎^{1,2*}, 陈围^{1,2*}

1 三峡大学 基础医学院, 肿瘤微环境与免疫治疗湖北省重点实验室, 湖北 宜昌

2 三峡大学 基础医学院, 宜昌市感染与炎症损伤重点实验室, 湖北 宜昌

3 三峡大学第一临床医学院, 湖北 宜昌

吴钰煌, 乐贤, 张庆勇, 邹黎黎, 陈围. 潜在的抗金黄色葡萄球菌靶点: SaeRS 双组分调控系统[J]. 微生物学报, 2025, 65(3): 939-955.

WU Yuhuang, YUE Xian, ZHANG Qingyong, ZOU Lili, CHEN Wei. A potential anti-*Staphylococcus aureus* target: SaeRS two-component regulatory system[J]. Acta Microbiologica Sinica, 2025, 65(3): 939-955.

摘要: SaeRS 双组分调控系统是金黄色葡萄球菌(*Staphylococcus aureus*)中重要的调控系统, 因其能够协调多种毒力因子的表达和生物被膜形成, 并介导严重致病性而被广泛深入研究。SaeRS 系统通过传感器组氨酸激酶 SaeS 识别外部信号, 并通过调节 SaeR 的磷酸化状态来激活其功能, 而辅助蛋白 SaeP 和 SaeQ 在该系统中发挥着增强功能的作用, 帮助细菌逃避宿主免疫应答。此外, *S. aureus* 的其他调控系统及调节因子可协同 SaeRS 系统参与毒力表达调控, 进一步增强细菌的致病性。本文综述了 SaeRS 系统及其与其他调控系统和因子相互作用以调控毒力因子表达和生物被膜形成的机制, 总结了针对 SaeRS 系统的靶向药物, 并分析了抗 SaeRS 系统药物的具体实例以协助筛选和设计新的靶向药物, 为 SaeRS 系统的具体调控机制研究以及 *S. aureus* 相关感染的治疗提供参考。

关键词: 金黄色葡萄球菌; SaeRS 双组分系统; 毒力因子; 生物被膜; 抗菌靶点

资助项目: 湖北省自然科学基金创新发展联合基金(2024AFD132, 2024AFD145); 宜昌市医疗卫生研究项目(A24-2-061)
This work was supported by the Innovation and Development Joint Fund of Natural Science Foundation of Hubei Province (2024AFD132, 2024AFD145) and the Yichang Medical and Health Research Project (A24-2-061).

[#]These authors contributed equally to this work.

*Corresponding authors. E-mail: CHEN Wei: chenwei1@ctgu.edu.cn; ZOU Lili, zoulili@ctgu.edu.cn

Received: 2024-10-04; Accepted: 2024-11-06; Published online: 2024-12-16

A potential anti-*Staphylococcus aureus* target: SaeRS two-component regulatory system

WU Yuhuang^{1,2#}, YUE Xian^{1,2#}, ZHANG Qingyong³, ZOU Lili^{1,2*}, CHEN Wei^{1,2*}

1 Hubei Key Laboratory of Tumor Microenvironment and Immunotherapy, College of Basic Medical Sciences, China Three Gorges University, Yichang, Hubei, China

2 Yichang Key Laboratory of Infection and Inflammation, College of Basic Medical Sciences, China Three Gorges University, Yichang, Hubei, China

3 The First College of Clinical Medical Science, China Three Gorges University, Yichang, Hubei, China

Abstract: The SaeRS system has been extensively and intensively studied for its involvement in the regulation of virulence factor expression and biofilm formation in the Gram-positive pathogen *Staphylococcus aureus*, mediating severe pathogenicity. The activation of the system depends on the recognition of external signals by the sensor histidine kinase SaeS and the phosphorylation status of the response regulator SaeR. With the help of auxiliary proteins SaeP and SaeQ, *S. aureus* is prompted to express a variety of virulence factors, coordinate its biofilm formation, and even evade the host immune response. In addition, other regulatory systems and modulators of *S. aureus* can synergize with the SaeRS system to participate in the regulation of virulence factor expression, enhancing bacterial pathogenicity. This paper reviews the SaeRS system and its interactions with other regulatory systems and factors to regulate the expression of virulence factors and biofilm formation. It summarizes targeted drugs against the SaeRS system and analyzes specific examples of anti-SaeRS system drugs to provide clues for the screening and design of new targeted drugs. This review is expected to provide a theoretical basis for the research on the specific regulatory mechanisms of the SaeRS system and the treatment of *S. aureus*-associated infections.

Keywords: *Staphylococcus aureus*; SaeRS two-component system; virulence factor; biofilm; antibacterial target

金黄色葡萄球菌(*Staphylococcus aureus*)作为常见的革兰氏阳性致病菌,广泛分布于人类和动物的皮肤、鼻腔及肠道等部位。耐甲氧西林金黄色葡萄球菌(methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*, MRSA)的出现,使得 *S. aureus* 在全球范围内广泛流行,对公共卫生安全构成了严重威胁。溶血素、凝固酶、中毒性休克综合征毒素-1 (toxic shock syndrome toxin 1, TSST-1)等毒素以及侵袭性酶等是导致 *S. aureus* 致病性的主要毒力因子。*S. aureus* 生物被膜的形

成会显著加剧皮肤、软组织、血液等部位的感染,进而引发脓毒血症、中毒性休克综合征、肺炎等疾病。其中, SaeRS 是调控 *S. aureus* 毒力因子和影响生物被膜形成的关键双组分系统;研究表明,该系统能够与其他调控系统/因子发生交互作用^[1]。例如, Rho^[2]、Rot^[3]、CodY^[4]可对 SaeRS 系统进行负向调控,而 FakA^[5]、ScrA^[6]、ClpXP^[7]等因子则能促进 SaeRS 系统的表达。SaeRS 与不同的调控系统和因子共同参与 *S. aureus* 毒力因子表达调控和生物被膜的形成,

探究它们之间的互作关系有助于我们更好地理解 *S. aureus* 的毒力调控机制。此外, 以该系统作为靶点的抗菌药物相继被发现, 且显示出良好的应用前景。因此, 本文在全面阐述 SaeRS 的系统组成、内部调控机制及研究进展的基础上, 进一步探讨了 SaeRS 系统的刺激信号以及与其他调控系统/因子之间的互作关系, 以深入理解以 SaeRS 系统为核心的调控网络机制, 以及该调控网络对毒力因子表达、生物被膜形成和宿主免疫逃逸的调控作用。最后, 通过总结靶向 SaeRS 系统的药物并分析具体靶向药物实例, 为抗 *S. aureus* 药物的筛选与设计提供思路, 以期 SaeRS 系统相关机制研究和 *S. aureus* 引起的感染性疾病治疗提供新思路 and 理论依据。

1 SaeRS 系统概述

SaeRS 双组分系统由 *sae* 操纵子调控, 包含 *saeP*、*saeQ*、*saeR*、*saeS* 四个基因, 以及 P1、P3 两个启动子^[1]。P3 启动子位于 *saeQ* 内部, 仅

负责转录 *saeR* 和 *saeS*。*saeR* 和 *saeS* 分别编码表达反应调节因子 SaeR 和传感器组氨酸激酶 SaeS, 用于感应和响应同源信号^[1]。P1 启动子的转录调控能力强于 P3, 它可被 SaeRS 双组分系统自诱导, 并调控转录 *saePQRS*^[1]。当外界环境发生变化, 如存在中性粒细胞衍生产物或游离脂肪酸时, SaeS 会被激活并磷酸化 SaeR; 磷酸化的 SaeR 进一步结合到目标基因的启动子区域, 从而调控目的基因的表达(图 1A)^[1]。

SaeS 由跨膜、HAMP 和激酶 3 个结构域组成^[1]。然而, 其跨膜结构域的边界尚未被清晰描述, 蛋白结构也尚未被成功解析, 但可借助 AlphaFold3 进行三维结构预测(图 1B)。结果显示, SaeS 具有较长的折叠链, 这可能与跨膜方式有关, 较集中的折叠结构或许对其处理信号和实现磷酸酶活性具有重要作用^[8]。在 SaeS 胞质侧的 N 端结构域中的连接肽控制其激酶活性, 一旦该连接肽缺失, 即使无信号诱导, SaeS 的激酶活性也会异常升高, 且对人中性粒

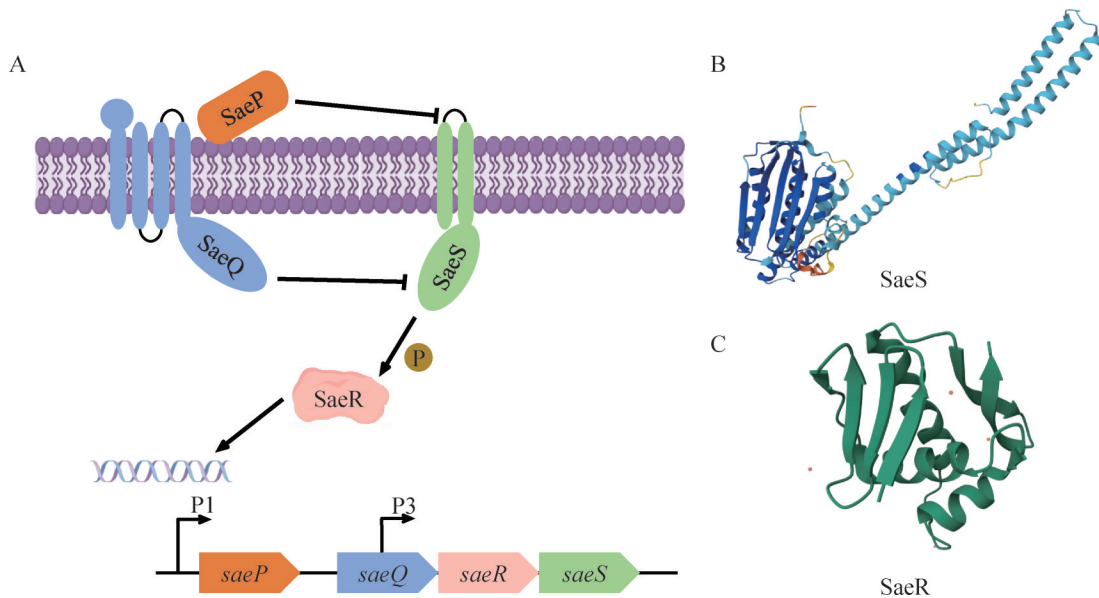


图1 SaeRS双组分调控系统

Figure 1 SaeRS two-component regulatory system. A: Regulatory mechanisms of the SaeRS system; B: Three-dimensional predicted structure of the SaeS protein^[8]; C: SaeR protein structure^[9].

细胞肽 1 (human neutrophil peptide 1, HNP1) 无反应^[10]。

SaeS 作为响应外界信号的重要蛋白, 其激酶活性已被证实^[10], 但它的磷酸酶活性仍存在争议。Yeo 等^[11]研究发现, 脂肪酸可作为信号分子, 通过影响 SaeS 激酶活性来抑制 SaeRS 系统, 例如, 心磷脂和磷脂酰甘油可与 SaeS 直接结合, 促进 SaeS 的激酶活性。同时, SaeS 的天然跨膜结构域决定了 *S. aureus* 中脂肪酸的转录^[12]。因此, SaeS 在识别不同类型信号分子方面具有重要作用, 其跨膜结构域是实现这一功能的重要基础。另外, 目前已知 SaeS 存在 3 种突变形式, 即 SaeS^P (SaeS^{L18P})^[13]、SaeS^{SK} (SaeS^{N227S} 和 SaeS^{E268K})^[14]以及 SaeS^{SKT} (SaeS^{N227S}、SaeS^{E268K} 和 SaeS^{S351T})^[13]。由于 SaeS^P 的突变, SaeS 的激酶活性大大提升, 且特异性地对十二烷基硫酸钠(sodium dodecyl sulfate, SDS)刺激有反应^[15]。缺少 SaeQ 时, SaeS^P 的结构不稳定^[16], 说明 SaeQ 对 SaeS^P 具有保护作用。Olson 等^[14]研究发现, SaeS^{SK} 的突变并不影响 SaeS 的功能活性。对于 SaeS^{SKT}, 与野生型 SaeS 相比, 其活性以生长依赖的方式增加, 在指数生长阶段后达到最大^[13]。发生 SaeS^{SKT} 突变的 SaeRS 系统在指数生长阶段活性最高, 在平稳生长阶段降低^[17]。总之, SaeS 活化模式改变的分子基础仍有待深入探究。

SaeR 的蛋白结构已经被成功解析(图 1C)^[18]。其 51 位天冬氨酸残基是重要的磷酸化位点, 是 SaeR 结合其靶 DNA 的信号基础。同时, SaeR 的 TTAA 序列被认为在 SaeR 介导的转录激活中发挥主要作用^[19]。

辅助蛋白 SaeP 和 SaeQ 并不直接参与激活 SaeRS 系统, 但它们需要通过形成 SaePQS 三元复合物来诱导 SaeS 的磷酸酶活性^[20]。研究发现, 不能与 SaeP 相互作用的 SaeS 胞质结构域

的磷酸酶活性可通过 SaePQ 在体外得到增强^[20]。因此, 细胞质中的 SaeQ-SaeS 相互作用可能直接激活 SaeS 磷酸酶活性。同时也发现 SaeS 蛋白在介导 SaeRS 调控的靶基因随机表达和生物被膜发育中起着重要作用, 且 SaeP 也参与了这个过程^[21]。不仅如此, SaeP 还能够调节 *S. aureus* 介导的对人类中性粒细胞的反应, *saeP* 和 *saeQ* 在一定程度上共同影响了 *S. aureus* 的致病性^[22]。SaeP、SaeQ 的作用可能是协助 SaeS 信号识别和传导, 但 SaeP、SaeQ 和 SaeS 三者的相互作用部分及激活的分子机制还有待深入研究。

总之, SaeRS 系统的激活依赖于 SaeS 识别信号及 SaeR 磷酸化目标基因, 而 SaePQ 主要协助 SaeS 识别和传导信号。然而, 各个组件之间具体的调节机制和界限目前尚不清楚。

2 影响 SaeRS 系统的信号

2.1 激活信号

HNP1-3 是人中性粒细胞产生的抗菌肽, 为吞噬溶酶体中的主要抗菌活性物质。Geiger 等^[23]研究表明, 在亚抑制浓度下, HNP1-3 能直接激活 SaeRS 系统, 且这种激活效应具有菌株特异性^[23]。具体而言, 在 USMS-1、MW2、N315、USA300、MRSA252 和 MSSA476 等菌株中, HNP 能够激活 SaeRS 系统, 然而, 在 ISP479R、COL 和 Newman 菌株中却不存在这种激活现象^[23]。Yeo 等^[11]研究发现, 心磷脂是 HNP 在静止生长期介导 SaeRS 系统激活不可或缺的必要条件, 但在指数生长阶段, 它并非 SaeRS 系统诱导的必要条件。另外, SaeRS 系统也可被小鼠中性粒细胞激活, 而这些中性粒细胞并不产生如 HNP1-3 一样的 α -防御素^[24], 这说明在小鼠中性粒细胞中还存在其他能够激活 SaeRS 系统的分子。

钙卫蛋白是中性粒细胞中的另一种蛋白,它与 Zn 结合能够使 SaeRS 系统不受 Zn 和 Fe 的抑制^[25],但具体机制尚不明确。总之,中性粒细胞中存在活性抗菌物质,这些物质具有激活 SaeRS 系统的作用,但这些刺激信号或许已经成为 *S. aureus* 实现免疫逃逸的信号基础。

2.2 抑制信号

目前,脂肪酸被认为是抑制 SaeRS 系统表达的主要信号分子之一。脂肪酸通过抑制 SaeS 跨膜结构域的 18 氨基酸结合位点活性,从而实现了对毒力因子表达的抑制^[12]。在此过程中,脂肪酸对 SaeS 的抑制作用与 SaeP 和 SaeQ 并无关联,同时,脂肪酸的这种抑制作用也不受细胞呼吸状态的影响^[12]。然而,先前的研究却显示,细胞 NADH 依赖性有氧呼吸会影响脂肪酸对 SaeRS 系统的抑制作用^[26]。对于细胞呼吸状态带来的不同作用及其具体机制,还需深入探索。然而可以肯定的是,脂肪酸抑制了 SaeRS 系统调控的毒力因子表达,并且不同脂肪酸所产生的抑制效果也不相同^[12]。

3 SaeRS 系统与其他调控系统和因子的关系

目前已经发现多种调控系统和因子与 SaeRS 系统之间存在着极为复杂的交互关系,影响着 *S. aureus* 的生物被膜形成、毒力因子表达等各种生理活动^[1]。Szklarczyk 等借助 STRING 对 SaeRS 系统的 4 个组成元件进行了相互作用网络预测(图 2A、2B),发现 *saeS* 和 *saeR* 分别与多种调控因子存在交互关系^[27]。然而,已有许多调控因子被证实与 SaeRS 系统存在作用关系(图 3);同时,也有相关研究证明部分调控系统在调节 *S. aureus* 毒力方面与 SaeRS 系统并不存在协同或交叉作用。遗传证据表明,尽管 SaeRS 和 SrrAB 系统都能调节细胞裂解相关因子的表达,但两者在调控生物被膜形成方面的作用相互独立,拥有各自独立的调控网络和作用机制^[28]。

3.1 SarA

SarA 作为全局转录调控因子,在 *S. aureus* 的毒力因子表达、生物被膜形成和环境信号转导中发挥关键作用。*saeRS* 和 *sarA* 之间存在协

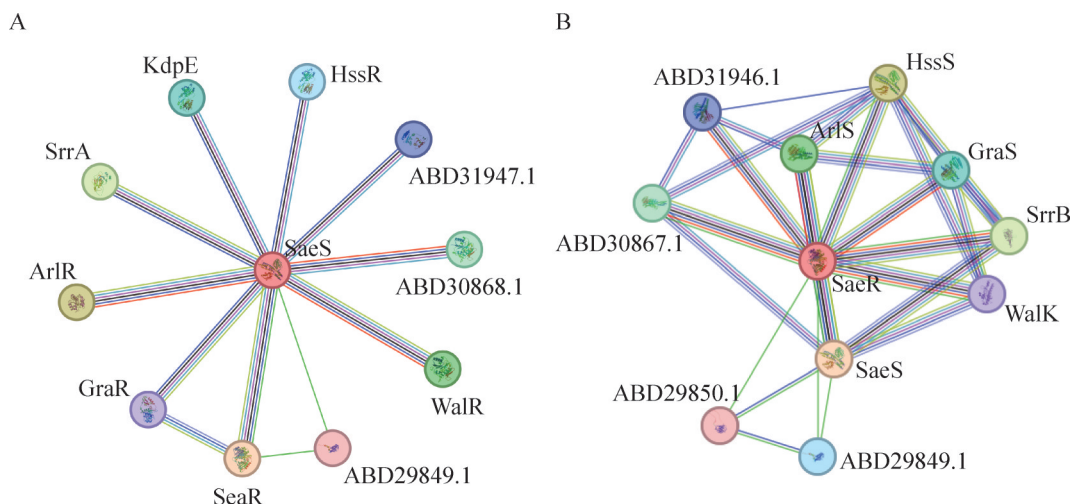


图2 *saeS*、*saeR*与其他基因的相互作用网络预测

Figure 2 Prediction of interaction network between *saeS*, *saeR*, and other genes. A: Interaction network prediction of *saeS* with other genes; B: Interaction network prediction of *saeR* with other genes.

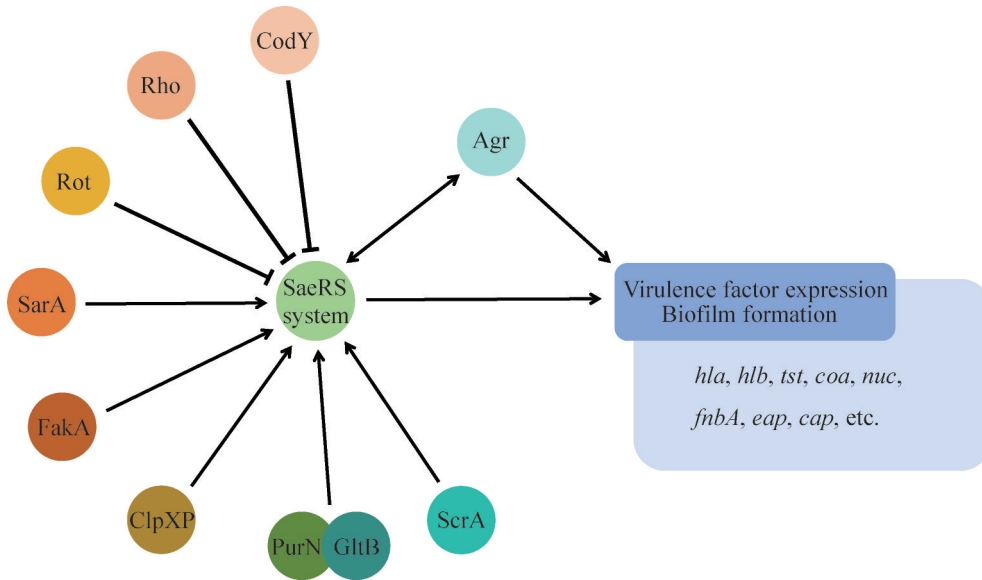


图3 与SaeRS系统互作的调控因子

Figure 3 Regulatory factors that interact with the SaeRS system.

同作用，能够共同抑制细胞外蛋白酶的产生，并协助积累生物被膜形成的关键蛋白^[29]。在某些情况下，SarA的缺失会增强SaeRS系统的活性，进而影响毒力因子的表达和生物被膜的形成^[30]。SarA蛋白家族中的Rot作为一种全局性毒力调控因子，也与SaeRS系统存在交互作用，Rot和SaeR能够通过直接结合到*ssl*（编码超抗原样蛋白SSLs）启动子上，协同激活*ssl*基因^[31]。*rot*基因还能通过抑制*sae* P1启动子，从而抑制SaeRS系统的表达来调控特定毒力因子^[3]。总之，SarA能够增强SaeRS系统的活性，而其家族成员Rot则可通过P1启动子抑制SaeRS系统的表达。

3.2 CodY

CodY是一种转录调控因子，能对营养物质的变化做出响应，进而调节*S. aureus*的代谢以及毒力因子的表达。CodY通过调控*S. aureus*细胞膜上支链脂肪酸的合成，从而激活SaeS并升高SaeR磷酸化水平，促使SaeRS系统的表达^[32]。不仅如此，CodY还可影响脂肪酸激酶

FakA的表达，而被激活的FakA则会进一步激活SaeRS系统的表达^[32]。另外，FakA对*S. aureus*的乙酸盐代谢、氧化还原平衡以及细胞内氨基酸的水平进行调节^[5]，并且可进一步影响*S. aureus*脂肪酸的水平，进而间接影响SaeRS系统的激活状态。Mlynek等^[4]研究表明，CodY不仅可通过直接与*sae* P1启动子结合，抑制SaeR的正常功能；还可通过Agr和Rot介导的方式间接抑制*sae* P1启动子表达，进一步影响SaeRS系统的活性。另一方面，CodY的缺失会导致SaeS的表达活性更强，磷酸化SaeR的丰度更高，但该CodY抑制SaeS的机制与其结合P1启动子无关联^[4]。在宿主感染过程中，CodY能够通过抑制SaeRS系统的表达，延缓免疫逃逸和免疫细胞杀伤蛋白的产生，随后通过识别环境信号调控SaeRS系统的表达^[4]。总之，CodY不仅可直接或间接地抑制SaeRS系统的调控活性，还可通过改变支链脂肪酸的生成来促进SaeRS系统的表达。

3.3 Agr

Agr 系统作为一个关键调控系统, 对 *S. aureus* 的生存、致病性以及抗生素耐药性等具有重要作用。由于 *agr* 突变后降低了 *sae* P1、*sae* P3 启动子的活性, 以及 SaeRS 系统 mRNA 的表达水平, 研究者认为 SaeRS 系统位于 Agr 调控细胞外蛋白产生途径的下游^[33-34]。然而, 一些靶基因受到 Agr 和 SaeRS 系统以相反的方式调控, 因此也有研究认为 Agr 和 SaeRS 系统的调控表达也可能是彼此独立的^[13]。例如, *coa* 和 *fnbA* 受 Agr 系统和 SaeRS 系统反向调控, 前者抑制其表达而后者激活^[13]。Agr 和 SaeRS 系统均能正向调控 TSST-1, *agr* 缺失后 TSST-1 仍可表达, 但 *sae* 的缺失却使 TSST-1 无法表达分泌^[35]。DelMain 等^[21]研究也表明, 核酸酶基因 *nuc* 的随机表达主要依赖于 SaeRS 系统; 因生长条件的不同, *nuc* 的表达可具备 2 种不同的模式: 即游离菌状态的 *S. aureus* 表现出明显的 SaeRS 系统依赖性调节模式, 该模式与 Agr 系统无关; 而 *S. aureus* 形成生物被膜后, *nuc* 表达在生物被膜发育期间显示出 SaeRS 系统依赖性, 但在成熟期间显示 Agr 系统依赖性。因此, Agr 系统通过对 *sae* 操纵子转录、特定靶基因以及不同生长条件下 *nuc* 基因的调节来影响细胞外蛋白的产生, 其与 SaeRS 系统之间潜在的交互作用较为复杂, 还需进一步探索。

3.4 ScrA

ScrA 是一种新发现的小蛋白, 它通过 SaeRS 系统影响 *S. aureus* 的毒力因子表达。当 ScrA 过表达时, 会导致 SaeRS 系统的调控活性增强; 但在调节溶血活性时, ScrA 似乎独立于 SaeRS 系统发挥作用^[6]。由此认为, ScrA 对 SaeRS 系统的调控活性具有促进作用, 但目前尚不清楚其影响 SaeRS 系统的具体方式。这一发现为深入理解 *S. aureus* 的致病机制提供了新线

索。另外, ScrA 与 SaeRS 系统以及可能与 ArlRS 系统的潜在关联^[6], 暗示着这些系统之间可能存在复杂的调控网络。

3.5 其他调控系统/因子

Rho 是一类小 GTP 酶, 参与细菌的信号传导等过程。当 *S. aureus* 的 Rho 蛋白被抑制时, SaeRS 系统可表现出更高活性, 从而调控靶基因表达^[2]。Rho 蛋白可能是 *S. aureus* 用于限制 SaeRS 系统过表达以避免触发宿主免疫系统的调控因子, 其目的在于协助 *S. aureus* 逃避免疫识别。

PurN 可影响 *S. aureus* 的代谢途径和毒力因子表达, 对滞留菌形成和毒力具有重要调控作用, 能够与谷氨酸合酶 GltB 相互作用, 激活 SaeRS 系统以调节 *S. aureus* 毒力^[36]。这表明 PurN 不仅能够直接影响细菌的代谢途径参与调控毒力, 还可通过与 SaeRS 系统的相互作用, 间接影响细菌的生存策略和对抗生素的耐受性。

ClpXP 蛋白酶复合体在 *S. aureus* 中发挥蛋白质降解和应激响应的功能, 它通过影响 FtsH 的稳定性和降解 MoeA 蛋白, 间接影响 SaeRS 系统的功能^[7]。FtsH 是一种膜结合蛋白酶, 能够降解不稳定蛋白, 包括 SaeS^{L18P} 变体。MoeA 作为钼蝶呤(molybdopterin)生物合成途径的一部分, 其稳定性受到 ClpXP 的调控, 进而影响 SaeRS 系统的调控作用^[7]。因此, ClpXP 可能是维持 SaeRS 系统正常生理功能的调节因子。

总之, 深入了解这些调控网络机制对于理解 *S. aureus* 如何适应宿主环境并引发疾病具有重要意义。这些调控因子与 SaeRS 系统的相互作用, 揭示了 *S. aureus* 在复杂的宿主环境中生存和致病的策略。通过进一步研究这些调控机制, 可为开发新的治疗方法和抗菌策略提供重要的理论依据。

4 SaeRS 系统对细菌生理活动的影响

4.1 对关键毒力因子表达的影响

SaeRS 系统通过调控 SaeR 的磷酸化状态来影响下游目标基因的表达。根据 SaeR 的磷酸化水平,即目标基因所需的激活条件,可将下游目标基因分为 2 类。I 类目标基因(如 *coa*、*fnbA*、*eap*、*sae* 等)需要高水平的磷酸化 SaeR 来激活;而 II 类目标基因(如 *hla*、*hly*、*cap* 等)仅需低水平的磷酸化 SaeR 即可激活^[37]。

S. aureus 是溶血素一类具有重要生物活性的蛋白质,能够破坏红细胞膜并损伤白细胞。溶血素可分为 α -溶血素、 γ -溶血素等 5 种,其中 α -溶血素是研究最为广泛的溶血素。研究表明,SaeRS 系统能够正向调控由 *hla* 编码的 α -溶血素和 *hly* 编码的 β -溶血素^[38]。SaeRS 系统通过 SaeR 结合位于 *hla* 启动子-35 区域上游 22 bp 处的直接重复共有序列,从而激活 *hla* 基因的转录^[37]。尽管 Agr 系统等其他调控系统也参与了对 *hla* 的调控,但研究表明 SaeRS 系统可能是调控 *hla* 表达的关键;Nurxat 等^[39]研究发现,共生表皮葡萄球菌分泌的热敏感、蛋白酶 K 抗性小分子通过 SaeRS 系统和 Agr 系统降低 *S. aureus* 的溶血活性,降低 *S. aureus* 对小鼠的致病性。然而,表皮葡萄球菌对 *S. aureus* 的 Agr-I 型溶血的抑制主要依赖于 SaeRS 系统,且 *hla* 的转录被显著抑制^[39]。同样,Venkatasubramaniam 等^[40]的研究也强调,SaeRS 系统在由 α -溶血素、HlgA (γ -溶血素 A 亚单位)和 HlgB 构成的 γ -溶血素 HlgAB 的表达活性中起着关键作用^[41]。此外,ScrA 也被发现能够激活 SaeRS 系统来调控 HlgAB 的表达^[6]。

TSST-1 是 *S. aureus* 产生的外毒素,能够导致宿主发生休克、多器官功能障碍综合征等急

性疾病。SaeRS 系统是 TSST-1 主要的转录激活因子,SaeR 直接结合到 *tst* 启动子上的共识识别结合位点,从而激活 TSST-1 的表达;同时,*saeS* 的突变可导致 TSST-1 的表达完全丧失^[35],说明 TSST-1 的表达在很大程度上依赖于完整的 SaeR 和 SaeS。目前已经发现 TSST-1 的表达还受到其他调控因子的调控。例如,Agr 系统可通过 RNAPIII 效应分子来控制 TSST-1 的表达,但 Agr 系统还能够与 Rot 结合来限制 TSST-1 的表达^[42]。同时,ClpXP 也被认为在调控 *tst* 基因中发挥关键作用^[43]。从 ClpXP、Agr、Rot 与 SaeRS 系统的潜在关系来看,TSST-1 的表达可能倾向于以 SaeRS 系统为主导,并配合其他调控因子的调控模式。

凝固酶(由 *coa* 编码)在 *S. aureus* 的自我防护以及逃避免疫中发挥重要作用,是 SaeRS 系统调控的侵袭性酶之一^[44]。研究表明,*saeS* 的首个跨膜区发生点突变(L18P)会导致 SaeRS 系统持续活化,这种持续的活化状态促进了凝固酶等毒力因子的表达^[45]。然而,SaeRS 系统不仅直接调控 *coa*,还能通过影响其他相关基因如 *eap*、*clfb*、*emp* 等的表达,间接影响凝固酶的功能^[45]。这意味着 SaeRS 系统调控的 *coa* 并非完全决定凝固酶的功能状态,其中还存在其他目的基因的串扰。

核酸酶(由 *nuc* 编码)同样是 *S. aureus* 重要的侵袭性酶之一,它参与了对抗宿主免疫反应的过程。SaeRS 系统调控 *nuc* 的表达不仅影响 *S. aureus* 的侵袭性,还可能影响其逃避宿主免疫的能力。在 SaeRS 系统中,SaeP 能够通过 SaeRS 系统下调 *nuc-gfp* 基因的表达^[46]。在生物被膜形成的早期阶段,*nuc* 的表达仅依赖于 SaeRS 系统;在生物被膜发育的成熟阶段,*nuc* 的表达则依赖于 SaeRS 和 Agr 系统^[21]。另外,CodY 也可以通过 SaeRS 系统来调节 *nuc* 的表达^[32]。

SaeRS 系统还参与了 *S. aureus* 部分表面结构蛋白表达的调节。在 SaeRS 系统的调控下, *fnbA* 基因编码的纤维连接蛋白结合蛋白 A 协助了生物被膜的形成。SaeS 的不同亚型对 *fnbA* 的调控存在差异, SaeS^P 型能导致包括 *fnbA* 在内的 I 类目标基因高度表达, 而 SaeS^L 型则显示出强烈的抑制作用^[37]。SaeS 的不同亚型对 *eap* 的调控也存在差别, 在含有 SaeS^L 型的菌株中, 环境因素中的 SDS 可抑制 *eap* 基因的表达^[15]。相比之下, 在含有 SaeS^P 型的菌株中, SDS 却促进了 *eap* 的表达; 其中, SDS 主要是通过干扰 SaeS 的激酶活性来影响 SaeRS 系统对 *eap* 表达的调控^[15]。

综上所述, 毒力因子作为 *S. aureus* 生理活动过程中重要的组成部分, 为其入侵宿主发挥了关键作用。尽管 SaeRS 是毒力调控的重要系统, 然而其他调控因子也参与其中, 使得 *S. aureus* 的毒力调控机制显得极为复杂。这种多基因之间的相互作用为 *S. aureus* 在感染过程中适应不同环境以及逃避免疫系统攻击提供了多种策略。

4.2 对生物被膜形成的影响

S. aureus 的生物被膜由胞外多糖、蛋白质、胞外 DNA 和脂质等组成, 是细菌适应环境和获取营养的结构基础。它可提高 *S. aureus* 的耐药能力、造成慢性感染、协助免疫逃逸、引起宿主组织破坏等。因此, 生物被膜是 *S. aureus* 引起严重感染疾病的重要因素之一。研究已经发现, *saeS* 的突变可导致 SaeRS 系统处于持续活化状态, 从而抑制了生物被膜的形成^[47], 说明 SaeRS 系统可直接调控生物被膜的形成^[1]。

SaeRS 系统能够通过感知营养物质水平(如 *S. aureus* 外毒素和蛋白酶导致宿主细胞裂解释放的营养物质)来调控毒力基因, 从而协助形成生物被膜^[1]。低营养物质水平会增加 SaeR 的表达

来增强 *coa* 和 *fnbA* 的表达^[48]; 而 *coa* 在 SaeRS 系统的调控下, 可影响 *S. aureus* 凝集能力和生物被膜的形成^[45]。SaeRS 系统通过调节 *fnbA* 来协助生物被膜的形成^[28]。因此, SaeRS 系统调控生物被膜形成与 *coa* 和 *fnbA* 的表达一样, 需要高水平磷酸化的 SaeR 来激活^[28]。

Barraza 等^[48]发现多种调控因子参与了 SaeRS 系统对生物被膜形成的调节。在生物被膜形成过程中, SaeRS 系统可通过自诱导肽 AIP 介导的信号来降低表面附着蛋白的表达, 从而影响生物被膜的形成^[48]。SaeRS 可与 SarA 系统协同作用, 共同抑制胞外蛋白酶的产生, 促进生物被膜形成关键蛋白质的积累^[29]。在 ScrA 激活 SaeRS 系统的情况下, 可导致游离的细菌聚集附着, 并形成生物被膜^[6,40]。CodY 通过影响脂肪酸激酶 FakA 的表达, 间接激活 SaeRS 系统, 进而影响生物被膜形成^[5]。

总之, SaeRS 系统通过直接或间接调控多个与生物被膜形成相关的基因和蛋白质, 以及与其他调控网络的交互作用, 共同调控 *S. aureus* 的生物被膜形成。这为理解 *S. aureus* 如何利用其复杂的调控网络适应环境压力和宿主防御提供了重要视角, 并为开发针对 *S. aureus* 生物被膜形成的新型治疗策略提供了潜在目标。

4.3 对免疫逃逸的影响

鉴于 SaeRS 系统对毒力因子和生物被膜的调控作用, *S. aureus* 在入侵宿主后可能以此逃避免疫系统的识别、杀伤、清除, 帮助 *S. aureus* 进一步扩散感染。例如, *S. aureus* 可通过分泌毒力因子来损伤中性粒细胞和巨噬细胞, 以抵抗吞噬作用, 中性粒细胞作为机体清除 *S. aureus* 的主要免疫细胞之一, 其释放的 HNP 等抗菌物质却可激活 *S. aureus* 的 SaeRS 系统信号响应^[49]。*S. aureus* 已经逐渐演化出一系列应对中

性粒细胞杀伤的逃逸机制^[49]。如 *S. aureus* 可通过降低趋化因子的表达水平来阻碍中性粒细胞的募集^[50]；抑制 NF- κ B 的磷酸化，减少人中性粒细胞中 IL-8 的产生，促使中性粒细胞凋亡^[51]；降低单核细胞来源的肿瘤坏死因子- α 表达水平，来抑制中性粒细胞活性氧的产生以逃避免疫反应^[52-53]。Li 等^[54]研究表明，SaeRS 系统在感染早期甚至在生物被膜形成之前就能促进 *S. aureus* 的聚集，以掩盖病原体相关分子模式，抑制 Toll 样受体 2 依赖的抗原识别，从而阻碍巨噬细胞中 NF- κ B 途径的激活，损害巨噬细胞的免疫调节功能，以及对浮游细菌的吞噬和杀菌能力；此外，该研究还证实了 SaeRS 介导的生物被膜对巨噬细胞的免疫抑制作用。虽然 SaeRS 促进 *S. aureus* 聚集并损害巨噬细胞功能可能与下游毒力因子(如溶血素、白细胞毒素、蛋白酶和黏附素)有关，但具体是哪种或哪些毒力因子在起关键作用仍不明确。

S. aureus 的宿主免疫逃逸机制为其生存和扩散提供了重要途径，这也加大了治疗 *S. aureus* 感染的难度。因此，深入了解宿主信号激活 SaeRS 系统的机制，包括信号分子的种类、信号分子与 SaeRS 系统的作用方式以及免疫逃逸方式，将有助于研究制定针对 *S. aureus* 的免疫逃逸应对策略。这对于有效控制 *S. aureus* 感染、提高治疗效果具有重要的现实意义。通过揭示这些机制，可以更好地理解 *S. aureus* 与宿主免疫系统之间的相互作用，为开发新的治疗方法和疫苗提供理论依据。

5 靶向 SaeRS 系统的药物

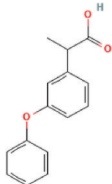
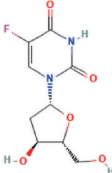
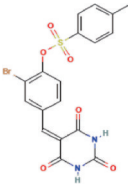
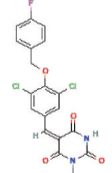
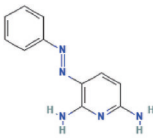
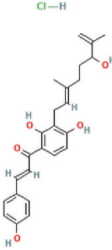
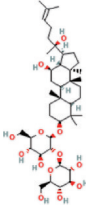
SaeRS 系统在 *S. aureus* 毒力因子表达和生物被膜形成过程中发挥着重要作用，是极具潜力的有效抗菌靶点。因此，筛选或设计靶向 SaeRS 系统的药物成为众多研究者的关注热点，

目前也已相继发现并鉴定出一些靶向 SaeRS 系统的药物(表 1)。

研究发现，由美国食品和药物管理局 (United States Food and Drug Administration, FDA) 批准用于抗炎的非甾体药物非诺洛芬可靶向 SaeR，它通过抑制 *sae* P1 启动子和 SaeR，使 SaeR 无法结合下游 DNA 介导的目标基因表达，最终导致 *S. aureus* 的毒力因子表达下降，生物被膜形成受到抑制且结构被破坏，该作用在小鼠模型中得到了验证，且对临床菌株有效^[55]。同样，FDA 批准的抗肿瘤药物氟尿苷可抑制 SaeRS 系统的 *sae* P1 启动子和 *hla* 启动子 P_{hla} ，以保护人类中性粒细胞免受 *S. aureus* 介导的杀伤作用^[56]。利用 *sae* P1 启动子驱动 GFP-Lux 双报告系统进行高通量筛选发现的 HR3744 也可特异性靶向 SaeR，而 HR3744 的类似物 SAV13 的抑制作用比 HR3744 强 4 倍，并具有相同的抗菌特性和靶标特异性^[18]。Dufresne 等^[57]通过大量药物筛选，证实盐酸非那吡啶通过与 SaeS 结合抑制 SaeS 激酶功能，使 SaeR 磷酸化水平降低，从而抑制 TSST-1 的产生。来自当归的异戊二烯化查尔酮黄当归 B1 及其衍生物可直接与 SaeS 结合并抑制其组氨酸激酶活性^[58]。从人参中提取的固醇类化合物 20S-人参皂苷 Rg3 也可抑制 SaeRS 系统，降低生物被膜相关基因 *CopZ*、*CspA* 和 *SasG* 的转录水平^[59]。藤黄酸和新藤黄酸也能够通过抑制 SaeRS 系统来下调 *S. aureus* 毒力因子表达，并抑制生物被膜形成^[60]。综上所述，靶向抑制 SaeRS 系统药物的抗菌机制包括：抑制 SaeS 激酶活性；干扰 SaeR 的磷酸化或结合下游靶基因的能力；抑制 *sae* 的启动子或下游目标基因的启动子的转录功能。此外，在这些药物中，某些原先并非用于治疗感染性疾病的药物以及从传统中药材提取的化合物也具备靶向细菌重要调控系统以发挥抗菌作用的潜

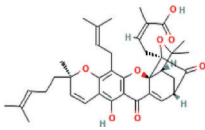
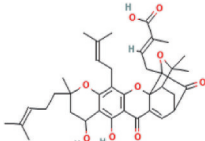
表1 靶向抑制SaeRS系统药物

Table 1 Drugs target the SaeRS system

| Drug | Usage phase | Structural formula | Target | Research phase | References |
|-------------------------------|---------------------------|---|---------------------------------|-----------------|------------|
| Repurposed fenoprofen | Clinical use phase |  | SaeR; <i>sae</i> P1 | <i>In vivo</i> | [55] |
| Floxuridine | |  | <i>sae</i> P1; P _{hla} | | [56] |
| HR3744 | Laboratory research phase |  | SaeR | | [18] |
| SAV13 | |  | | | |
| Phenazopyridine hydrochloride | Clinical use phase |  | SaeS | <i>In vitro</i> | [57] |
| Xanthoangelol B1 | Laboratory research phase |  | | | [58] |
| 20S-ginsenoside Rg3 | |  | SaeRS system | | [59] |

(待续)

(续表 1)

| Drug | Usage phase | Structural formula | Target | Research phase | References |
|------------------|-------------|--|--------|----------------|------------|
| Gambogic acid | |  | | <i>In vivo</i> | [60] |
| Neogambogic acid | |  | | | |

力。目前，非诺洛芬、盐酸非那吡啶等已应用于临床的药物在 *S. aureus* 感染的治疗方面展现出潜在的应用前景。因此，后续研究可针对这些药物开展临床抗感染试验评估，以便进一步确定其疗效和安全性。然而，在进行临床评估时需充分考虑这些药物已知的其他药理作用，谨慎评估其对其他组织器官可能产生的不利影响，确保在治疗感染的同时不会引发其他不良反应。此外，深入挖掘传统药物资源对加速新型药物的开发和利用具有重要意义，这将为应对耐药菌感染等临床难题提供更多的解决方案。

为了有效筛选或设计靶向抑制 SaeRS 系统的药物，我们借助 ChEMBL 数据库对靶向 SaeRS 系统的药物展开了生物信息学分析。表 2 中的 A 药物为数据库中未定义的药物，它能够靶向抑制 SaeS，且与异戊二烯化查尔酮黄当归 B1 (B 药物) 具有相似的碳链结构，可作为设计靶向该蛋白或系统可参考的分子架构。鉴于药物 B 已有文献报道其靶向 SaeS 的抗菌活性^[58]，因此将药物 B 作为对照，对以药物 A 为代表的一类抗菌药物进行分析，具有一定的借鉴和指导意义。由表 2 可知，药物 A 和 B 的分子量较为接近，均具有较高的脂溶性/疏水性，这或许有助于它们通过细菌膜结构进入胞内发挥作用。二者都具有较高的极性表面积，这更有利于其

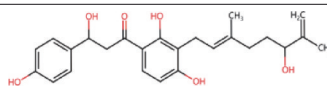
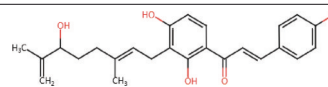
发挥抗 *S. aureus* 活性，因为较大的极性表面积对革兰氏阳性菌的抑制作用更强^[61]。两者的亲水性溶解度均较高，有助于在胞内的分布和作用发挥。ROS violations 结果皆为 0，表明两者的靶向抗菌作用不会引发氧化应激。#Rotatable bonds 的结果提示，药物 A 和 B 具有较高的构象多样性，这可能有助于提高其与 SaeRS 系统的靶向亲和力和活性，但也需考虑可能带来的结构稳定性问题。结合 HBA 等其他分析结果，药物 A 和 B 都显示出较强的药理作用和安全性，且 Np likeness score 结果提示对这 2 种药物的开发和评价具有积极意义。

6 总结与展望

S. aureus 在全球范围内的流行已造成了严重的公共卫生问题。Zou 等 2017 年证实了细菌的硫氧还蛋白还原酶(thioredoxin reductase, TrxR)是一个理想的抗生素差异性毒性作用靶点^[62]；在此基础上，进一步筛选到依布硒啉(ebselen)^[63-64]、姜黄素(curcumin)^[65]、紫草素(shikonin)^[66]、蜂毒素(melittin)^[67]等一系列具有抗菌活性的物质，并在多种耐药菌感染的小鼠模型中进行了治疗试验。特别值得一提的是，虽然依布硒啉已处于临床 III 期试验阶段，但因其靶向巯基而具有的多靶点药理活性，给临床评估带来了挑战。因此，更优的抗 *S. aureus* 药物应当具备明确、特

表2 靶向SaeS蛋白药物化学式及基本信息参考

Table 2 Reference of chemical formula and basic information of drug targeting SaeS protein

| Serial number | A | B |
|---------------------------------|---|---|
| Structural formula |  |  |
| Molecular weight | 426.51 | 408.49 |
| AlogP | 4.32 | 4.91 |
| Polar surface area | 118.22 | 97.99 |
| HBA | 6 | 5 |
| #ROS violations | 0 | 0 |
| HBD (lipinski) | 5 | 4 |
| CX acidic pKa | 7.66 | 6.93 |
| CX logp | 4.69 | 5.85 |
| Aromatic rings | 2 | 2 |
| QED weighted | 0.29 | 0.27 |
| Molecular weight (monoisotopic) | 426.204 2 | 408.193 7 |
| #Rotatable bonds | 10 | 9 |
| Molecular species | Neutral | Neutral |
| HBD | 5 | 4 |
| HBD (lipinski) | 6 | 5 |
| #ROS violations (lipinski) | 0 | 0 |
| CX basic pKa | - | - |
| CX logD | 4.50 | 5.23 |
| Heavy atoms | 31 | 30 |
| Np likeness score | 1.89 | 1.93 |

A is source drug basic information based on bioinformatics analysis; B is Xanthoangelol B1 basic information. - indicate that neither drug has an accurate CX basic pKa (acid dissociation constant) value, possibly due to its structural complexity or low solubility.

异性的作用靶点且不易产生耐药性。以上信息进一步表明, 仍需进一步寻找新的抗 *S. aureus* 靶点和药物。

S. aureus 的毒素(如溶血素、TSST-1 等)、侵袭性酶(如凝固酶、核酸酶等)、表面蛋白等致病因素是 *S. aureus* 在宿主体内感染和增殖的重要手段^[1]。其中, 协助 *S. aureus* 实现定殖、耐药等生命功能的生物被膜在 *S. aureus* 致病过程中发挥重要作用, 且因其特殊结构而较难被有效清除^[1]。SaeRS 系统是 *S. aureus* 毒力因子表达和生物被膜形成的重要调控系统, 作为潜在的抗

菌靶点已被深入研究^[1]。在 SaeRS 系统中, SaeS 蛋白的激酶活性是启动该系统的关键, 它对外界刺激信号具有较强的敏感性^[8]。尽管 DeepMind 研究表明, SaeS 的跨膜结构域是启动该系统的重要结构^[8], 但目前还未能确定 SaeS 蛋白的晶体结构、跨膜方式和具体的刺激信号分子。被激活的 SaeS 可诱导 SaeR 发生磷酸化, 并启动下游毒力相关基因的表达^[19]。然而, 关于 SaeS 的磷酸激酶活性仍存在争议, 还需更多的实验数据来验证这一功能。SaePQ 作为辅助蛋白, 参与维持 SaeRS 系统的正常功能, 但其

具体功能尚未被阐明^[20-21]。因此，以 SaeRS 系统为主导的毒力因子表达和调控生物被膜形成的确切机制还需深入挖掘。

另一方面，SaeRS 系统并非独立地调节 *S. aureus* 的毒力因子和生物被膜，它与其他调控系统和调控因子形成了一个复杂的调控网络。Rot^[3]和 CodY^[4]起负调控作用，防止 SaeRS 过表达而被宿主免疫系统识别；而 FakA^[5]和 ScrA^[6]则可激活 SaeRS 系统，诱导毒力因子表达并致病。Happer 等^[68]研究也发现，细菌代谢物在一定程度上也影响着调控网络对 *S. aureus* 致病性的调节。例如，丙酮酸可通过激活 AgrAC、SaeRS 和 ArlRS 系统来增强毒力因子的表达^[68]。在 SaeRS 系统调控生物被膜形成之前，*S. aureus* 即已具备了逃逸巨噬细胞免疫识别和清除的能力^[54]。因此，在 SaeRS 系统参与调控毒力表达、细菌聚集和生物被膜形成的基础上，寻找并建立各个调控系统和调控因子之间潜在的互作网络至关重要。同时，还需深入了解 SaeRS 系统的分子结构和运行机制，这有助于筛选、设计靶向抑制 SaeS、SaeR 以及相关启动子功能表达的有效抗菌药物，为控制、治疗 *S. aureus* 感染提供有效的策略。综上所述，调控毒力因子表达和生物被膜形成的 SaeRS 双组分系统有望成为抗 *S. aureus* 感染的有效靶点。

作者贡献声明

吴钰煌和乐贤：论文撰写和修改；张庆勇：文献收集和绘图；邹黎黎和陈围：论文指导和审阅。

作者利益冲突公开声明

作者声明不存在任何可能会影响本文所报告工作的已知经济利益或个人关系。

参考文献

- [1] PATEL H, RAWAT S. A genetic regulatory see-saw of biofilm and virulence in MRSA pathogenesis[J]. *Frontiers in Microbiology*, 2023, 14: 1204428.
- [2] NAGEL A, MICHALIK S, DEBARBOUILLE M, HERTLEIN T, GESELL SALAZAR M, RATH H, MSADDEK T, OHLSEN K, van DIJL JM, VÖLKER U, MÄDER U. Inhibition of Rho activity increases expression of SaeRS-dependent virulence factor genes in *Staphylococcus aureus*, showing a link between transcription termination, antibiotic action, and virulence[J]. *mBio*, 2018, 9(5): e01332-18.
- [3] LI DM, CHEUNG A. Repression of hla by rot is dependent on sae in *Staphylococcus aureus*[J]. *Infection and Immunity*, 2008, 76(3): 1068-1075.
- [4] MLYNEK KD, SAUSE WE, MOORMEIER DE, SADYKOV MR, HILL KR, TORRES VJ, BAYLES KW, BRINSMADE SR. Nutritional regulation of the sae two-component system by CodY in *Staphylococcus aureus*[J]. *Journal of Bacteriology*, 2018, 200(8): e00012-18.
- [5] DeMARS Z, BOSE JL. Redirection of metabolism in response to fatty acid kinase in *Staphylococcus aureus*[J]. *Journal of Bacteriology*, 2018, 200(19): e00345-18.
- [6] WITTEKIND MA, FREY A, BONSALE AE, BRIAUD P, KEOGH RA, WIEMELS RE, SHAW LN, CARROLL RK. The novel protein ScrA acts through the SaeRS two-component system to regulate virulence gene expression in *Staphylococcus aureus*[J]. *Molecular Microbiology*, 2022, 117(5): 1196-1212.
- [7] ZHAO N, WANG YN, LIU JL, YANG ZY, JIAN Y, WANG H, AHMED M, LI M, BAE T, LIU Q. Molybdopterin biosynthesis pathway contributes to the regulation of SaeRS two-component system by ClpP in *Staphylococcus aureus*[J]. *Virulence*, 2022, 13(1): 727-739.
- [8] DeepMind. AlphaFold 3 source code[EB/OL]. [2024-07-29]. <https://alphafold.com/entry/Q2FIT5>.
- [9] DeepMind. AlphaFold 3 source code[EB/OL]. [2024-07-29]. <https://alphafold.com/entry/Q2FIT4>.
- [10] LIU Q, CHO H, YEO WS, BAE T. The extracytoplasmic linker peptide of the sensor protein SaeS tunes the kinase activity required for staphylococcal virulence in response to host signals[J]. *PLoS Pathogens*, 2015, 11(4): e1004799.
- [11] YEO WS, DYZENHAUS S, TORRES VJ, BRINSMADE SR, BAE T. Regulation of bacterial two-component systems by cardiolipin[J]. *Infection and Immunity*, 2023, 91(4): e0004623.
- [12] DeMARS ZR, KRUTE CN, RIDDER MJ, GILCHRIST AK, MENJIVAR C, BOSE JL. Fatty acids can inhibit *Staphylococcus aureus* SaeS activity at the membrane independent of alterations in respiration[J]. *Molecular Microbiology*, 2021, 116(5): 1378-1391.
- [13] STEINHUBER A, GOERKE C, BAYER MG, DÖRING G, WOLZ C. Molecular architecture of the regulatory locus sae of *Staphylococcus aureus* and its impact on expression of virulence factors[J]. *Journal of Bacteriology*, 2003, 185(21): 6278-6286.
- [14] OLSON ME, NYGAARD TK, ACKERMANN L, WATKINS RL, ZUREK OW, PALLISTER KB,

- GRIFFITH S, KIEDROWSKI MR, FLACK CE, KAVANAUGH JS, KREISWIRTH BN, HORSWILL AR, VOYICH JM. *Staphylococcus aureus* nuclease is an SaeRS-dependent virulence factor[J]. *Infection and Immunity*, 2013, 81(4): 1316-1324.
- [15] MAKGOTLHO PE, MARINCOLA G, SCHÄFER D, LIU Q, BAE T, GEIGER T, WASSERMAN E, WOLZ C, ZIEBUHR W, SINHA B. SDS interferes with SaeS signaling of *Staphylococcus aureus* independently of SaePQ[J]. *PLoS One*, 2013, 8(8): e71644.
- [16] JEONG DW, CHO H, LEE H, LI CL, GARZA J, FRIED M, BAE T. Identification of the P3 promoter and distinct roles of the two promoters of the SaeRS two-component system in *Staphylococcus aureus*[J]. *Journal of Bacteriology*, 2011, 193(18): 4672-4684.
- [17] RAMUNDO MS, BELTRAME CO, BOTELHO AMN, COELHO LR, SILVA-CARVALHO MC, FERREIRA-CARVALHO BT, NICOLÁS MF, GUEDES IA, DARDENNE LE, O' GARA J, FIGUEIREDO AMS. A unique SaeS allele overrides cell-density dependent expression of *saeR* and *lukSF-PV* in the ST30-SCCmecIV lineage of CA-MRSA[J]. *International Journal of Medical Microbiology*, 2016, 306(6): 367-380.
- [18] GAO P, WEI YX, HOU SY, LAI PM, LIU H, TAI SSC, TANG YYM, PRAKASH PH, SZE KH, CHEN JHK, SUN HZ, LI XC, KAO RYT. SaeR as a novel target for antivirulence therapy against *Staphylococcus aureus*[J]. *Emerging Microbes & Infections*, 2023, 12(2): 2254415.
- [19] NYGAARD TK, BORGOGNA TR, SWARD EW, GUERRA FE, DANKOFF JG, COLLINS MM, PALLISTER KB, CHEN L, KREISWIRTH BN, VOYICH JM. Aspartic acid residue 51 of SaeR is essential for *Staphylococcus aureus* virulence[J]. *Frontiers in Microbiology*, 2018, 9: 3085.
- [20] LIU Q, YEO WS, BAE T. The SaeRS two-component system of *Staphylococcus aureus*[J]. *Genes*, 2016, 7(10): 81.
- [21] DeLMAIN EA, MOORMEIER DE, ENDRES JL, HODGES RE, SADYKOV MR, HORSWILL AR, BAYLES KW. Stochastic expression of *sae*-dependent virulence genes during *Staphylococcus aureus* biofilm development is dependent on SaeS[J]. *mBio*, 2020, 11(1): e03081-19.
- [22] COLLINS MM, BEHERA RK, PALLISTER KB, EVANS TJ, BURROUGHS O, FLACK C, GUERRA FE, PULLMAN W, CONE B, DANKOFF JG, NYGAARD TK, BRINSMADE SR, VOYICH JM. The accessory gene *saeP* of the SaeR/S two-component gene regulatory system impacts *Staphylococcus aureus* virulence during neutrophil interaction[J]. *Frontiers in Microbiology*, 2020, 11: 561.
- [23] GEIGER T, GOERKE C, MAINIERO M, KRAUS D, WOLZ C. The virulence regulator Sae of *Staphylococcus aureus*: promoter activities and response to phagocytosis-related signals[J]. *Journal of Bacteriology*, 2008, 190(10): 3419-3428.
- [24] ZUREK OW, NYGAARD TK, WATKINS RL, PALLISTER KB, TORRES VJ, HORSWILL AR, VOYICH JM. The role of innate immunity in promoting SaeR/S-mediated virulence in *Staphylococcus aureus*[J]. *Journal of Innate Immunity*, 2014, 6(1): 21-30.
- [25] CHO H, JEONG DW, LIU Q, YEO WS, VOGL T, SKAAR EP, CHAZIN WJ, BAE T. Calprotectin increases the activity of the SaeRS two component system and murine mortality during *Staphylococcus aureus* infections [J]. *PLoS Pathogens*, 2015, 11(7): e1005026.
- [26] SCHURIG-BRICCIO LA, PARRAGA SOLORZANO PK, LENCINA AM, RADIN JN, CHEN GY, SAUER JD, KEHL-FIE TE, GENNIS RB. Role of respiratory NADH oxidation in the regulation of *Staphylococcus aureus* virulence[J]. *EMBO Reports*, 2020, 21(5): e45832.
- [27] SZKLARCZYK D, KIRSCH R, KOUTROULI M, NASTOU K, MEHRYARY F, HACHILIF R, ANNIKA GL, FANG T, DONCHEVA NT, PYYSALO S, BORK P, JENSEN LJ, VON MERING C. The STRING database in 2023: protein-protein association networks and functional enrichment analyses for any sequenced genome of interest[J]. *Nucleic Acids Research*, 2023, 51(D1): D638-646.
- [28] MASHRUWALA AA, GRIES CM, SCHERR TD, KIELIAN T, BOYD JM. SaeRS is responsive to cellular respiratory status and regulates fermentative biofilm formation in *Staphylococcus aureus*[J]. *Infection and Immunity*, 2017, 85(8): e00157-17.
- [29] MRAK LN, ZIELINSKA AK, BEENKEN KE, MRAK IN, ATWOOD DN, GRIFFIN LM, LEE CY, SMELTZER MS. *saeRS* and *sarA* act synergistically to repress protease production and promote biofilm formation in *Staphylococcus aureus*[J]. *PLoS One*, 2012, 7(6): e38453.
- [30] RAMIREZ AM, BYRUM SD, BEENKEN KE, WASHAM C, EDMONDSON RD, MACKINTOSH SG, SPENCER HJ, TACKETT AJ, SMELTZER MS. Exploiting correlations between protein abundance and the functional status of *saeRS* and *sarA* to identify virulence factors of potential importance in the pathogenesis of *Staphylococcus aureus* osteomyelitis[J]. *ACS Infectious Diseases*, 2020, 6(2): 237-249.
- [31] BENSON MA, LILO S, NYGAARD T, VOYICH JM, TORRES VJ. Rot and SaeRS cooperate to activate expression of the staphylococcal superantigen-like exoproteins[J]. *Journal of Bacteriology*, 2012, 194(16): 4355-4365.
- [32] PENDLETON A, YEO WS, ALQAHTANI S, DiMAGGIO DA Jr, STONE CJ, LI ZT, SINGH VK, MONTGOMERY CP, BAE T, BRINSMADE SR. Regulation of the *sae* two-component system by branched-chain fatty acids in *Staphylococcus aureus*[J]. *mBio*, 2022, 13(5): e0147222.
- [33] NOVICK RP, JIANG DR. The staphylococcal *saeRS* system coordinates environmental signals with *agr* quorum sensing[J]. *Microbiology*, 2003, 149(Pt 10): 2709-2717.
- [34] GIRAUDO AT, MANSILLA C, CHAN AN, RASPANTI C, NAGEL R. Studies on the expression of regulatory locus *sae* in *Staphylococcus aureus*[J]. *Current Microbiology*, 2003, 46(4): 246-250.
- [35] BAROJA ML, HERFST CA, KASPER KJ, XU SX, GILLET DA, LI JR, REID G, McCORMICK JK. The

- SaeRS two-component system is a direct and dominant transcriptional activator of toxic shock syndrome toxin 1 in *Staphylococcus aureus*[J]. *Journal of Bacteriology*, 2016, 198(19): 2732-2742.
- [36] PENG Q, GUO L, DONG Y, BAO TR, WANG HY, XU T, ZHANG Y, HAN J. PurN is involved in antibiotic tolerance and virulence in *Staphylococcus aureus*[J]. *Antibiotics*, 2022, 11(12): 1702.
- [38] MAINIERO M, GOERKE C, GEIGER T, GONSER C, HERBERT S, WOLZ C. Differential target gene activation by the *Staphylococcus aureus* two-component system saeRS[J]. *Journal of Bacteriology*, 2010, 192(3): 613-623.
- [37] GUDETA DD, LEI MG, LEE CY. Contribution of *hla* regulation by SaeR to *Staphylococcus aureus* USA300 pathogenesis[J]. *Infection and Immunity*, 2019, 87(9): e00231-19.
- [39] NURXAT N, WANG LL, WANG QC, LI SJ, JIN C, SHI YR, WULAMU A, ZHAO N, WANG YN, WANG H, LI M, LIU Q. Commensal *Staphylococcus epidermidis* defends against *Staphylococcus aureus* through SaeRS two-component system[J]. *ACS Omega*, 2023, 8(20): 17712-17718.
- [40] VENKATASUBRAMANIAM A, KANIPAKALA T, GANJBAKSH N, MEHR R, MUKHERJEE I, KRISHNAN S, BAE T, AMAN MJ, ADHIKARI RP. A critical role for HlgA in *Staphylococcus aureus* pathogenesis revealed by a switch in the SaeRS two-component regulatory system[J]. *Toxins*, 2018, 10(9): 377.
- [41] WITTEKIND MA, BRIAUD P, SMITH JL, TENNANT JR, CARROLL RK. The small protein ScrA influences *Staphylococcus aureus* virulence-related processes via the SaeRS system[J]. *Microbiology Spectrum*, 2023, 11(3): e0525522.
- [42] TUFFS SW, HERFST CA, BAROJA ML, PODSKALNIY VA, DeJONG EN, COLEMAN CEM, McCORMICK JK. Regulation of toxic shock syndrome toxin-1 by the accessory gene regulator in *Staphylococcus aureus* is mediated by the repressor of toxins[J]. *Molecular Microbiology*, 2019, 112(4): 1163-1177.
- [43] SCHELIN J, COHN MT, FRISK B, FREES D. A functional ClpXP protease is required for induction of the accessory toxin genes, *tst*, *sed*, and *sec*[J]. *Toxins*, 2020, 12(9): 553.
- [44] LIU Y, GAO W, YANG JS, GUO HY, ZHANG J, JI YD. Contribution of coagulase and its regulator SaeRS to lethality of CA-MRSA 923 bacteremia[J]. *Pathogens*, 2021, 10(11): 1396.
- [45] 胡刘平, 刘倩. 金黄色葡萄球菌 SaeRS 二元调控系统促进细菌凝集和生物被膜形成[J]. *国际检验医学杂志*, 2021, 42(23): 2817-2821, 2829.
HU LP, LIU Q. *Staphylococcus aureus* SaeRS binary regulatory system promotes bacterial aggregation and biofilm formation[J]. *International Journal of Laboratory Medicine*, 2021, 42(23): 2817-2821, 2829 (in Chinese).
- [46] KAVANAUGH JS, FLACK CE, LISTER J, RICKER EB, IBBERTSON CB, JENUL C, MOORMEIER DE, DELMAIN EA, BAYLES KW, HORSWILL AR. Identification of extracellular DNA-binding proteins in the biofilm matrix[J]. *mBio*, 2019, 10(3): e01137-19.
- [47] CUE D, JUNECKO JM, LEI MG, BLEVINS JS, SMELTZER MS, LEE CY. SaeRS-dependent inhibition of biofilm formation in *Staphylococcus aureus* Newman[J]. *PLoS One*, 2015, 10(4): e0123027.
- [48] BARRAZA I, PAJON C, DIAZ-TANG G, MARIN MENESES E, ABU-RUMMAN F, GARCÍA-DIÉGUEZ L, CASTRO V, LOPATKIN AJ, SMITH RP. Disturbing the spatial organization of biofilm communities affects expression of *agr*-regulated virulence factors in *Staphylococcus aureus*[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2023, 89(2): e0193222.
- [49] MÜNZENMAYER L, GEIGER T, DAIBER E, SCHULTE B, AUTENRIETH SE, FRAUNHOLZ M, WOLZ C. Influence of Sae-regulated and Agr-regulated factors on the escape of *Staphylococcus aureus* from human macrophages[J]. *Cellular Microbiology*, 2016, 18(8): 1172-1183.
- [50] ZWACK EE, CHEN Z, DEVLIN JC, LI Z, ZHENG XH, WEINSTOCK A, LACEY KA, FISHER EA, FENYÖ D, RUGGLES KV, LOKE P, TORRES VJ. *Staphylococcus aureus* induces a muted host response in human blood that blunts the recruitment of neutrophils[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2022, 119(31): e2123017119.
- [51] ZUREK OW, PALLISTER KB, VOYICH JM. *Staphylococcus aureus* inhibits neutrophil-derived IL-8 to promote cell death[J]. *The Journal of Infectious Diseases*, 2015, 212(6): 934-938.
- [52] GUERRA FE, ADDISON CB, de JONG NWM, AZZOLINO J, PALLISTER KB, van STRIJP JAG, VOYICH JM. *Staphylococcus aureus* SaeR/S-regulated factors reduce human neutrophil reactive oxygen species production[J]. *Journal of Leukocyte Biology*, 2016, 100(5): 1005-1010.
- [53] SWARD EW, FONES EM, SPAAN RR, PALLISTER KB, HALLER BL, GUERRA FE, ZUREK OW, NYGAARD TK, VOYICH JM. *Staphylococcus aureus* SaeR/S-regulated factors decrease monocyte-derived tumor necrosis factor- α to reduce neutrophil bactericidal activity[J]. *The Journal of Infectious Diseases*, 2018, 217(6): 943-952.
- [54] LI MZ, WANG BY, CHEN JN, JIANG LH, ZHOU YW, GUO GY, JIANG F, HU YJ, WANG CM, YANG Y, TANG J, HAN P, YU JL, SHEN H. *Staphylococcus aureus* SaeRS impairs macrophage immune functions through bacterial clumps formation in the early stage of infection[J]. *npj Biofilms and Microbiomes*, 2024, 10(1): 102.
- [55] JIANG F, CHEN YJ, YU JL, ZHANG FY, LIU Q, HE L, MUSA H, DU JF, WANG BY, HAN P, CHEN XH, TANG J, LI M, SHEN H. Repurposed fenoprofen targeting SaeR attenuates *Staphylococcus aureus* virulence in implant-associated infections[J]. *ACS Central Science*, 2023, 9(7): 1354-1373.
- [56] YEO WS, ARYA R, KIM KK, JEONG H, CHO KH, BAE T. The FDA-approved anti-cancer drugs, streptozotocin and floxuridine, reduce the virulence of *Staphylococcus aureus*[J]. *Scientific Reports*, 2018, 8(1):

- 2521.
- [57] DUFRESNE K, DiMAGGIO DA, MADUTA CS, BRINSMAD SR, McCORMICK JK. Discovery of an antivirulence compound that targets the *Staphylococcus aureus* SaeRS two-component system to inhibit toxic shock syndrome toxin-1 production[J]. Journal of Biological Chemistry, 2024, 300(7): 107455.
- [58] MIZAR P, ARYA R, KIM T, CHA S, RYU KS, YEO WS, BAE T, KIM DW, PARK KH, KIM KK, LEE SS. Total synthesis of xanthoangelol B and its various fragments: toward inhibition of virulence factor production of *Staphylococcus aureus*[J]. Journal of Medicinal Chemistry, 2018, 61(23): 10473-10487.
- [59] CHEN JW, CHEN JL, WANG ZW, CHEN CC, ZHENG JX, YU ZJ, DENG QW, ZHAO YX, WEN ZW. 20S-ginsenoside Rg3 inhibits the biofilm formation and haemolytic activity of *Staphylococcus aureus* by inhibiting the SaeR/SaeS two-component system[J]. Journal of Medical Microbiology, 2022, 71(10). DOI: 10.1099/jmm.0.001587.
- [60] HUA X, JIA Y, YANG Q, ZHANG WJ, DONG ZM, LIU SG. Transcriptional analysis of the effects of gambogic acid and neogambogic acid on methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*[J]. Frontiers in Pharmacology, 2019, 10: 986.
- [61] GEDDES EJ, GUGGER MK, GARCIA A, CHAVEZ MG, LEE MR, PERLMUTTER SJ, BIENIOSSEK C, GUASCH L, HERGENROTHER PJ. Porin-independent accumulation in *Pseudomonas* enables antibiotic discovery[J]. Nature, 2023, 624(7990): 145-153.
- [62] ZOU LL, LU J, WANG J, REN XY, ZHANG LL, GAO Y, ROTTENBERG ME, HOLMGREN A. Synergistic antibacterial effect of silver and ebselen against multidrug-resistant Gram-negative bacterial infections[J]. EMBO Molecular Medicine, 2017, 9(8): 1165-1178.
- [63] ZOU LL, WANG J, GAO Y, REN XY, ROTTENBERG ME, LU J, HOLMGREN A. Synergistic antibacterial activity of silver with antibiotics correlating with the upregulation of the ROS production[J]. Scientific Reports, 2018, 8(1): 11131.
- [64] WANG P, WANG J, XIE ZL, ZHOU JX, LU QQ, ZHAO Y, DONG CJ, ZOU LL. Depletion of multidrug-resistant uropathogenic *Escherichia coli* BC1 by ebselen and silver ion[J]. Journal of Cellular and Molecular Medicine, 2020, 24(22): 13139-13150.
- [65] DONG CJ, ZHOU JX, WANG P, LI T, ZHAO Y, REN XY, LU J, WANG J, HOLMGREN A, ZOU LL. Topical therapeutic efficacy of ebselen against multidrug-resistant *Staphylococcus aureus* LT-1 targeting thioredoxin reductase[J]. Frontiers in Microbiology, 2020, 10: 3016.
- [66] 谭超, 周靖轩, 卢倩倩, 刘彬彬, 蔡轶, 王君, 邹黎黎. 紫草素与依布硒啉对金黄色葡萄球菌的协同作用[J]. 微生物学报, 2022, 62(3): 1049-1060.
- TAN C, ZHOU JX, LU QQ, LIU BB, CAI Y, WANG J, ZOU LL. The synergistic effect of shikonin and ebselen against *Staphylococcus aureus*[J]. Acta Microbiologica Sinica, 2022, 62(3): 1049-1060 (in Chinese).
- [67] 刘彬彬, 周靖轩, 蔡轶, 张赶, 王君, 杜幼芹. 蜂毒肽与依布硒啉对金黄色葡萄球菌的协同作用与机制研究[J]. 华中科技大学学报(医学版), 2023, 52(1): 36-42.
- LIU BB, ZHOU JX, CAI Y, ZHANG G, WANG J, DU YQ. Study on the synergistic effect of ebselen and melittin against *Staphylococcus aureus* and the possible mechanism[J]. Acta Medicinæ Universitatis Scientiæ et Technologiæ Huazhong, 2023, 52(1): 36-42 (in Chinese).
- [68] HARPER L, BALASUBRAMANIAN D, OHNECK EA, SAUSE WE, CHAPMAN J, MEJIA-SOSA B, LHAKHANG T, HEGUY A, TSIRIGOS A, UEBERHEIDE B, BOYD JM, LUN DS, TORRES VJ. *Staphylococcus aureus* responds to the central metabolite pyruvate to regulate virulence[J]. mBio, 2018, 9(1): e02272-17.