



吕梦娜, 龙航宇, 王丽梅, 等. A 型产气荚膜梭菌噬菌体裂解酶 Cp51 的原核表达及活性检测[J]. 华南农业大学学报, 2017, 38(5): 19-23.

A 型产气荚膜梭菌噬菌体裂解酶 Cp51 的原核表达及活性检测

吕梦娜, 龙航宇, 王丽梅, 唐 陶, 陈冰冰, 林瑞庆

(华南农业大学 兽医学院/广东省动物源性人兽共患病预防与控制重点实验室, 广东 广州 510642)

摘要:【目的】原核表达 A 型产气荚膜梭菌噬菌体裂解酶 Cp51 并研究其对 A 型产气荚膜梭菌 *Clostridium perfringens* 的体外抗菌活性。【方法】合成噬菌体裂解酶 Cp51 基因, 并构建了 pET-32a-Cp51 原核表达载体, 转化到大肠埃希菌 *Escherichia coli* BL21(DE3), 经终浓度为 0.5 mmol·L⁻¹ 的 IPTG 诱导以及镍柱纯化后, 获得了可溶性的 Cp51 重组蛋白; 用比浊法检测 Cp51 重组蛋白的杀菌活性。【结果】噬菌体裂解酶 Cp51 重组蛋白能够有效降低 7 株 A 型产气荚膜梭菌的浊度, 裂解酶质量浓度在 5 μg·mL⁻¹ 以上、作用 30 min 对 A 型产气荚膜梭菌的杀菌率可达到 99.99% 以上, 而对其他种类细菌无杀菌效果。【结论】A 型产气荚膜梭菌噬菌体裂解酶 Cp51 重组蛋白对 A 型产气荚膜梭菌有较强的体外杀菌活性和特异性, 研究结果为后续裂解酶 Cp51 的临床应用奠定基础。

关键词: 产气荚膜梭菌; 噬菌体; 裂解酶; 蛋白表达; 杀菌活性

中图分类号: Q939.48; S945.1

文献标识码: A

文章编号: 1001-411X(2017)05-0019-05

Prokaryotic expression and activity detection of bacteriophage lysin Cp51 against *Clostridium perfringens* type A

LÜ Mengna, LONG Hangyu, WANG Limei, TANG Tao, CHEN Bingbing, LIN Ruiqing

(College of Veterinary Medicine, South China Agricultural University/Key Laboratory of Zoonosis Prevention and Control of Guangdong Province, Guangzhou 510642, China)

Abstract: 【Objective】To construct a prokaryotic expression system of type A *Clostridium perfringens* phage lysin Cp51, and study its antibacterial activity against *C. Perfringens* type A *in vitro*. 【Method】Bacteriophage lysin Cp51 gene was synthesized. The prokaryotic expression vector pET-32a-Cp51 was constructed and transformed into *Escherichia coli* BL21(DE3). After induction using 0.5 mmol·L⁻¹ IPTG, the soluble recombinant protein Cp51 was successfully expressed, and was subsequently purified with Ni²⁺-NTA affinity chromatography. The antibacterial activity of the recombinant protein Cp51 was detected by kinetic turbidimetric assay. 【Result】The bacteria turbidities of seven strains of *C. perfringens* type A were effectively reduced by the recombinant protein Cp51. The bactericidal rate was above 99.99% in 30 min after treatment of recombinant protein Cp51 at the concentration of above 5 μg·mL⁻¹. The Cp51 protein had no bactericidal effect against other types of bacteria. 【Conclusion】The recombinant protein of bacteriophage lysine Cp51 has strong bactericidal activity and specificity *in vitro* against type A *C. perfringens*, which could provide a basis for clinical application of Cp51 lysin.

Key words: *Clostridium perfringens*; bacteriophage; lysin; protein expression; bactericidal activity

收稿日期: 2016-11-29 优先出版时间: 2017-07-14
优先出版网址: <http://kns.cnki.net/kcms/detail/44.1110.s.20170714.0855.008.html>

作者简介: 吕梦娜(1991—), 女, 硕士研究生, E-mail: 793453116@qq.com; 通信作者: 林瑞庆(1973—), 男, 副研究员, 博士, E-mail: rqlin@scau.edu.cn

基金项目: 广东省科技计划项目(2014A020208099)

产气荚膜梭菌 *Clostridium perfringens* 又名魏氏梭菌 *C. welchii*, 是一种重要的人畜共患病原菌^[1]。产气荚膜梭菌为两端钝圆厌氧性菌, 呈粗杆状, 单个或成对存在, 是一种能产芽孢的革兰阳性菌, 在人和动物的肠道内普遍存在, 也广泛分布于污水、土壤等自然环境中。根据产气荚膜梭菌产生的 4 种主要外毒素, 可将产气荚膜梭菌分为 A、B、C、D 和 E 型, 其中 A 型产气荚膜梭菌是引发人类气性坏疽及家禽坏死性肠炎的主要病原^[2]。目前家禽坏死性肠炎的预防和治疗仍以抗生素为主, 但由于抗生素的长期和不规范使用引起细菌耐药性及药物残留等问题广泛出现, 不仅使家禽的生产性能大大降低, 而且通过鸡等肉制品威胁人类健康^[3-4]。人类已进入了“后抗生素”时代, 细菌耐药性等问题已经成为现代医学以及畜牧生产的难题^[5-6]。作为预防和治疗细菌疾病的一种古老的方法, 噬菌体防控在这种情况下又回到了历史舞台。噬菌体在抗生素兴起之前就已经被发现和使用, 噬菌体能特异性地裂解宿主细菌, 其编码的裂解酶是在基因组复制后期合成的一种酶, 作用于细菌细胞壁肽聚糖上的酰胺键, 使细菌破碎, 释放出子代噬菌体^[7]。细菌对噬菌体裂解酶不易产生耐药性, 而噬菌体裂解酶的结合结构域能识别宿主细胞壁受体分子, 从而从体外特异性识别细菌并将其溶解, 而不需噬菌体侵染细菌时的吸附、自我复制、繁殖等系列过程, 因此, 噬菌体裂解酶的裂解谱比噬菌体的裂解谱宽。噬菌体裂解酶作为一种潜在的抗菌制剂具有高效、特异性强等优点^[8-9]。目前国内已有许多学者利用相应的噬菌体裂解酶作用于葡萄球菌、链球菌等细菌均得到了较好的抗菌效果^[10-13]。产气荚膜梭菌病的防控及噬菌体研究在国外受到重视^[14], 但国内目前针对产气荚膜梭菌噬菌体裂解酶的相关研究鲜见报道。

本试验原核表达了 A 型产气荚膜梭菌噬菌体裂解酶 Cp51, 并初步研究了 A 型产气荚膜梭菌噬菌体裂解酶 Cp51 重组蛋白对 A 型产气荚膜梭菌的体外裂解活性, 以期为进一步研究治疗坏死性肠炎的新型药物奠定基础。

1 材料与方法

1.1 供试材料

1.1.1 菌株和质粒 7 株 A 型产气荚膜梭菌、2 株金黄色葡萄球菌 *Staphylococcus aureus*、2 株猪链球菌 *Streptococcus suis*、1 株肠炎沙门氏菌 *Salmonella enteritidis*、1 株大肠埃希菌 *Escherichia coli* 和 1 株腐败梭菌 *Clostridium septicum* 及表达载体 pET-32a(+)

为华南农业大学寄生虫实验室保存; 感受态细胞 DH 5 α 、BL 21(DE3)均购自北京全式金生物技术有限公司。

1.1.2 工具酶及主要试剂 *Bam*H I 内切酶、*Hind*III 内切酶、DNA Marker DL 2000、DL 15000、凝胶回收试剂盒均购自日本 TaKaRa 公司。Page Ruler Prestained Protein Ladder 10~170 kU 购自 Thermo 公司。质粒抽提试剂盒购自天根生化科技有限公司。BCA 蛋白浓度测定试剂盒、纯化填料、HRP 羊抗鼠 IgG、EasySee Western-blot Kit 购自北京全式金生物技术有限公司。LB 肉汤、TSC 培养基、咪唑购自广州鼎国生物技术有限公司。其余常用试剂为国产或进口分析纯。

1.2 试验方法

1.2.1 A 型产气荚膜梭菌噬菌体裂解酶 Cp51 基因的克隆及表达载体的构建 通过 GeneBank 获得 A 型产气荚膜梭菌噬菌体裂解酶 Cp51 蛋白序列 (AGH27916.1), 根据 Cp51 蛋白的氨基酸序列人工合成相应的 Cp51 基因序列, 在 5'端引入 *Bam*H I 位点, 3'端引入 *Hind* III 位点, 并在不改变氨基酸的情况下对 Cp51 基因序列中 810 位碱基由 A 突变为 G, 人工合成由深圳华大科技有限公司完成。合成的基因克隆于 pMD-18T 载体上, 转化至 DH5 α 感受态大肠埃希菌中, 挑取阳性克隆, 进行 PCR、酶切、测序验证。重组质粒 pMD-18T-Cp51 经 *Bam*H I 和 *Hind*III 双酶切, 切胶回收 Cp51 基因目的片段, 克隆到表达载体 pET-32a(+)上, 构建重组表达载体 pET-32a-Cp51, 阳性克隆送到深圳华大科技有限公司测序。

1.2.2 重组蛋白 pET-32a-Cp51 的表达和纯化 将测序正确的表达质粒转化到 BL 21(DE3)感受态细胞内, 挑取单克隆接种到 5 mL 含有 100 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 的 Amp⁺ LB 液体培养基中, 37 $^{\circ}\text{C}$ 条件下 150 $\text{r}\cdot\text{min}^{-1}$ 培养过夜, 按 1:100 的比例扩大培养, 37 $^{\circ}\text{C}$ 条件下 180 $\text{r}\cdot\text{min}^{-1}$ 震荡培养至 $D_{600\text{ nm}}$ 为 0.4~0.6, 加入 IPTG 使终浓度为 0.5 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$, 37 $^{\circ}\text{C}$ 条件下 180 $\text{r}\cdot\text{min}^{-1}$ 诱导 3 h。8 000 $\text{r}\cdot\text{min}^{-1}$ 离心 10 min, 收集菌体, 菌体重悬于平衡缓冲液中(10 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 咪唑), 功率 200 W, 超声 3 s, 间隔 5 s, 超声 120 次。分别取上清和沉淀, 加入 5 $\times$ SDS-PAGE 上样缓冲液 10 μL , 煮沸 5 min, 10 000 $\text{r}\cdot\text{min}^{-1}$ 离心 10 min, 进行 SDS-PAGE 电泳, 检测重组蛋白是存在于上清液中还是存在于包涵体中。

采用全式金生物技术有限公司的 Ni²⁺-NTA 蛋白质纯化柱纯化目的蛋白, 选择不同浓度的咪唑

(20~200 mmol·L⁻¹)梯度洗脱,纯化后的蛋白进行 SDS-PAGE 电泳分析,测定纯化效率,确定洗脱液的最佳咪唑浓度,并用 BCA 法测定蛋白浓度。

1.2.3 重组蛋白 pET-32a-Cp51 的 Western blot 检测 分别取 150 mmol·L⁻¹ 咪唑洗脱液 40 μL, pET-32a-Cp51 未诱导样品和 pET-32a(+)诱导菌处理后加 5×SDS-PAGE 上样缓冲液 10 μL,进行 SDS-PAGE 电泳。电泳结束后将胶切成合适大小。安装好转膜装备,放入转膜槽,接通电源,电流 150 mA,转膜 2 h,质量分数 5% 脱脂奶粉封闭 1 h,小鼠抗 His 抗体用质量分数为 5% 的脱脂奶粉稀释为体积比 1:2 000,室温条件下孵育 2 h,羊抗小鼠 HRP-IgG 用质量分数为 5% 的脱脂奶粉稀释为体积比 1:2 000,室温条件下摇床孵育 1~2 h。TBST 洗膜 3 次,将 ECL 的 2 种发光液按照体积比 1:1 的比例混合,发光显色,拍照保存。

1.2.4 重组蛋白 pET-32a-Cp51 活性检测及裂解谱的测定 将过夜培养的 A 型产气荚膜梭菌以 10 000 r·min⁻¹ 离心 1 min, PBS 清洗后,细菌重悬于 4 mL 的 PBS 中,加入 1 mL 蛋白纯化液,使得最终的反应体系为 5 mL,蛋白的终质量浓度分别为 20、10、5 和 1 μg·mL⁻¹,同时 A 型产气荚膜梭菌最终的 *D*_{600nm} 约为 0.6,细菌数约为 10⁸ cfu·mL⁻¹,设置 pET-32a 空载组和 PBS 组作为对照组,37 °C 条件下 180 r·min⁻¹ 震荡培养,分别在 0、5、10、15、20 和 30 min 时测量 *D*_{600nm},取 3 次重复数据的平均值。并将作用 30 min 的最终反应液取 100 μL 涂布于 TSC 平板,40 °C 条件下厌氧培养 24 h。

用终质量浓度为 10 μg·mL⁻¹ 重组蛋白 pET-32a-Cp51 分别作用于本试验分离和保存的 7 株 A 型产气荚膜梭菌、2 株葡萄球菌、2 株链球菌、1 株沙门氏菌、1 株大肠埃希菌和 1 株腐败梭菌,测定其在作用 0、5、10、15、20 和 30 min 时的 *D*_{600nm}。

2 结果与分析

2.1 Cp51 基因原核表达载体的构建与鉴定

将阳性重组表达载体 pET-32a-Cp51 经 *Bam*HI 和 *Hind* III 双酶切后,得到 2 条片段,一条为载体条带,另一条约为 1 150 bp 的目的基因条带(图 1),测序结果表明重组表达质粒构建正确。

2.2 pET-32a-Cp51 诱导表达及纯化

将重组的质粒 pET-32a-Cp51 转化至 BL 21(DE3)后,经 IPTG 诱导表达,分别取上清和沉淀进行 SDS-PAGE 分析,结果显示上清和沉淀中均在相对分子质量约为 63 000 处有明显蛋白条带

(图 2)。故选择从上清中纯化目的蛋白,用不同浓度的咪唑溶液洗脱收集,SDS-PAGE 检测显示用 150 和 200 mmol·L⁻¹ 咪唑洗脱时,在相对分子质量 63 000 处可获得较多的重组蛋白,BCA 试剂盒测定蛋白质量浓度分别是 555 和 450 μg·mL⁻¹(图 3)。

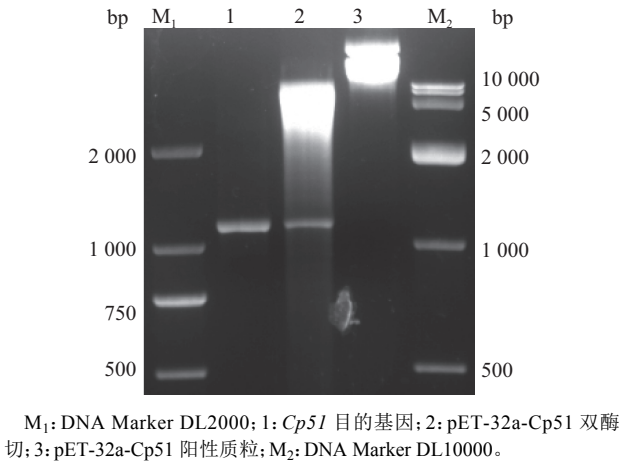


图 1 重组质粒 pET-32a-Cp51 酶切鉴定
Fig. 1 Identification of recombinant plasmid pET-32a-Cp51 by enzyme digestion

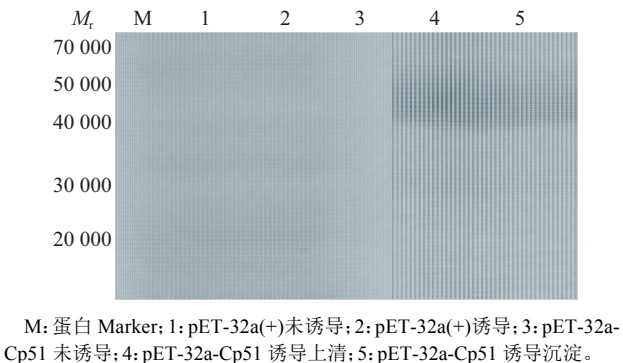


图 2 pET-32a-CP51 表达 SDS-PAGE 电泳
Fig. 2 SDS-PAGE pattern of expressed pET-32a-CP51 protein

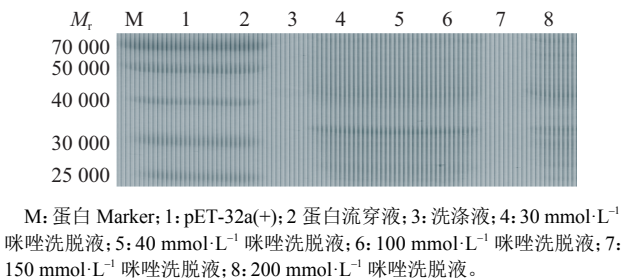


图 3 pET-32a-Cp51 蛋白纯化的 SDS-PAGE 电泳
Fig. 3 SDS-PAGE pattern of purified pET-32a-Cp51 protein

2.3 pET-32a-Cp51 的 Western blot 检测结果

pET-32a-Cp51 纯化产物和 pET-32a 空载体表达产物经 SDS-PAGE 电泳后的蛋白条带转移到硝酸纤维素膜上进行免疫印迹,结果纯化的重组目的

蛋白和空载体表达产物均可与小鼠抗 His 抗体发生反应,纯化的重组目的蛋白约在相对分子质量 63 000 的位置出现特异性反应条带,pET-32a 空载体表达产物约在相对分子质量 20 000 的位置出现特异性反应条带(图 4)。

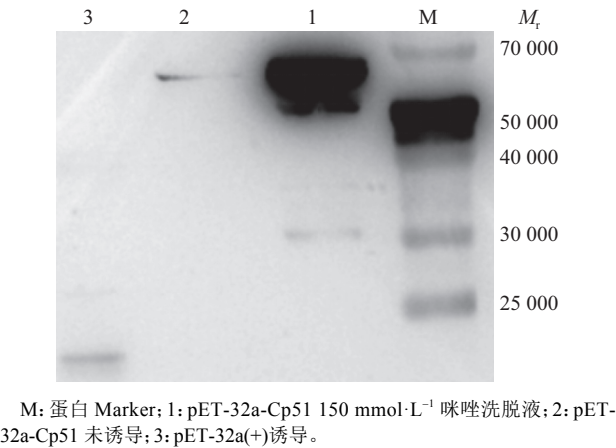


图 4 pET-32a-Cp51 蛋白的 Western blot 检测结果
Fig. 4 Western blot results of pET-32a-Cp51 protein

2.4 pET-32a-Cp51 活性及裂解谱检测结果

采用比浊法,测定 pET-32a-Cp51 的抗菌活性。结果(图 5)显示,与 pET-32a(+)和 PBS 对比,30 min 内终质量浓度为 20、10 和 5 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 的 pET-32a-Cp51 噬菌体裂解酶稀释液能将 A 型产气荚膜梭菌的浊度从 0.6 降至 0.1,而终质量浓度 1 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 的 pET-32a-Cp51 噬菌体裂解酶稀释液能将 A 型产气荚膜梭菌的浊度从 0.6 降至 0.33。说明 pET-32a-Cp51 作用于相近起始 $D_{600\text{ nm}}$ 的 A 型产气荚膜梭菌液时,随着酶液作用浓度的增加, $D_{600\text{ nm}}$ 下降速度加快。平板涂布样品经 40 $^{\circ}\text{C}$ 条件下培养 24 h 后观察,根据平板菌落计数结果,发现终质量浓度为 20、10 和 5 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 酶液作用于菌液 30 min 后,可使 A 型产气荚膜梭菌裂解率达 99.99%、99.99% 和

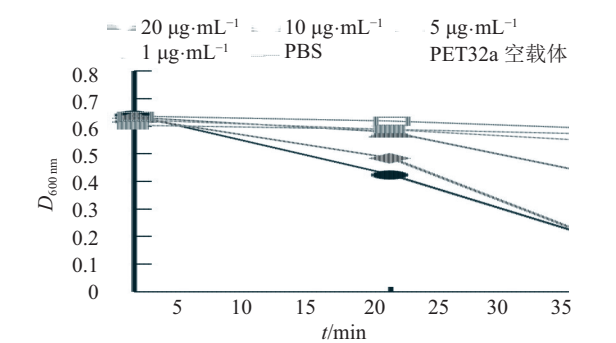


图 5 不同质量浓度 pET-32a-Cp51 裂解酶对 A 型产气荚膜梭菌的活性
Fig. 5 Activity of different concentrations of pET-32a-Cp51 lysin against type A *Clostridium perfringens*

100%,酶液终质量浓度为 1 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 样品的裂解率可达 99.91%,表明 pET-32a-Cp51 对 A 型产气荚膜梭菌具有高效裂解活性,终质量浓度 5 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 以上有较强杀菌效果。利用相同方法作用于 A 型产气荚膜梭菌不同分离株发现 pET-32a-Cp51 均有良好裂解活性(图 6)。而作用于葡萄球菌、链球菌、沙门氏菌、大肠埃希菌和腐败梭菌则无裂解作用(图 7)。

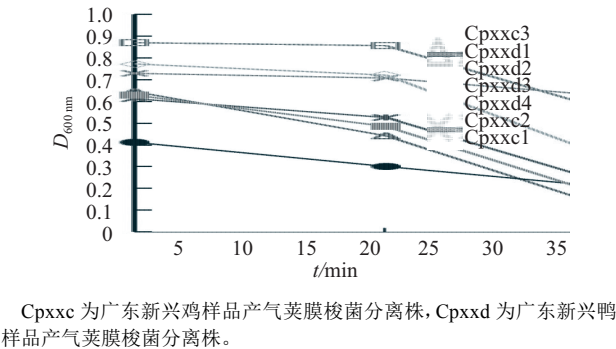


图 6 pET-32a-Cp51 裂解酶对 A 型产气荚膜梭菌不同分离株的活性
Cpxxc 为广东新兴鸡样品产气荚膜梭菌分离株,Cpxxd 为广东新兴鸭样品产气荚膜梭菌分离株。

Fig. 6 Activity of pET-32a-Cp51 lysin against different isolates of type A *Clostridium perfringens*

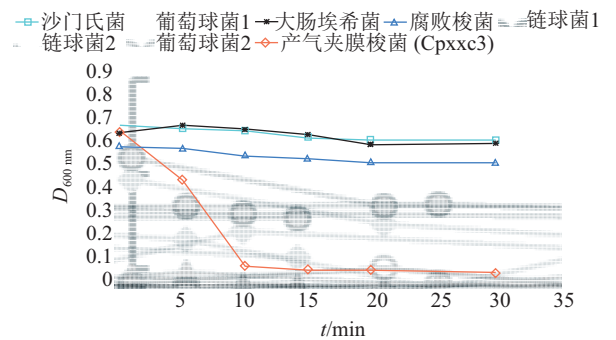


图 7 pET-32a-Cp51 裂解酶对不同菌株的活性
Fig. 7 Activity of pET-32a-Cp51 lysin against different bacterial strains

3 讨论与结论

自人类使用抗生素以来,各种抗生素的滥用、乱用现象层出不穷,因此导致了大量的细菌耐药和抗生素残留等问题。由于抗生素的使用不当带来的耐药菌株甚至成为超级耐药菌株,不仅提高了畜禽的死亡率,而且增大了预防和治疗投入,给养殖业带了巨大的损失[15]。随着产气荚膜梭菌耐药性加剧,开发新型抗菌药物治疗坏死性肠炎迫在眉睫[16]。裂解酶是噬菌体在裂解末期表达的一种能降解肽聚糖的酶,在革兰阳性菌上作用明显[17],还具有高效、特异性强、不易产生抗性等优势,作为新兴的抗菌剂具有较高的应用价值。本研究成功构建 A 型产气荚膜梭菌的噬菌体裂解酶 Cp51 基因的重组表

达载体 pET-32a-Cp51, 经 IPTG 诱导表达, 并进行蛋白纯化。比浊法测定结果显示 A 型产气荚膜梭菌的噬菌体裂解酶 pET-32a-Cp51 对 A 型产气荚膜梭菌杀菌活性效果明显, 终质量浓度 $5\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 以上、作用 0.5 h 后的杀菌率高达 99.99%, 杀菌效果与 Gervasi 等^[17]的裂解酶试验结果相似, 且能以较低的蛋白浓度达到较强的杀菌效果, 此外, 本试验进行了噬菌体裂解酶 pET-32a-Cp51 对多种常见细菌的裂解谱试验, 结果表明 pET-32a-Cp51 具有较强特异性, 只裂解 A 型产气荚膜梭菌, 对其他种类细菌无作用。

近几年, 人们应用噬菌体及其裂解酶进行了一系列的试验, 显示其具有高效杀菌、不易产生耐药性和特异性强等优点, 在治疗细菌感染病方面具有潜在应用价值^[18-20]。综上所述, A 型产气荚膜梭菌噬菌体裂解酶 Cp51 原核表达纯化后, 其蛋白纯度较高, 体外裂解试验表明对 A 型产气荚膜梭菌具有明显杀灭效果, 为研究其替代抗生素作为新型抗菌药物奠定了基础。

参考文献:

[1] GARCIA J P, BEINGESSER J, FISHER D J, et al. The effect of *Clostridium perfringens* type C strain CN3685 and its isogenic beta toxin null mutant in goats[J]. Vet Microbiol, 2012, 157(3/4): 412-419.

[2] LOVLAND A, KALDHUSDAL M. Severely impaired production performance in broiler flocks with high incidence of *Clostridium perfringens*-associated hepatitis[J]. Avian Pathology, 2001, 30(1): 73-81.

[3] 汪复, 朱德妹, 胡付品, 等. 2012 年中国 CHINET 细菌耐药性监测[J]. 中国感染与化疗杂志, 2013, 13(5): 321-330.

[4] FILE T M, Jr, SRINIVASAN A, BARTLETT J G. Antimicrobial stewardship: Importance for patient and public health[J]. Clin Infect Dis, 2014, 59(S3): S93-S96.

[5] FISCHETTI V A. Bacteriophage endolysins: A novel anti-infective to control gram-positive pathogens[J]. Int J Med Microbiol, 2010, 300(6): 357-362.

[6] SCHRAG S J, MCGEE L, WHITNEY C G, et al. Emergence of *Streptococcus pneumoniae* with very-high-level resistance to penicillin[J]. Antimicrob Agents Chemother, 2004, 48(8): 3016-3023.

[7] SCHUCH R, PELZEK A J, RAZ A, et al. Use of a bacteriophage lysin to identify a novel target for antimicrobial development[J]. PLoS One, 2013, 8(4):

e60754.

[8] SCHUCH R, NELSON D, FISCHETTI V A. A bacteriolytic agent that detects and kills *Bacillus anthracis*[J]. Nature, 2002, 418(6900): 884-889.

[9] LOESSNER M J. Bacteriophage endolysins: Current state of research and applications[J]. Curr Opin Microbiol, 2005, 8(4): 480-487.

[10] 李跃, 宫鹏娟, 夏斐斐, 等. 金黄色葡萄球菌噬菌体裂解酶 LysK 的表达及其多克隆抗体的制备[J]. 中国兽医学报, 2014, 34(1): 45-49.

[11] 王彬金黄色葡萄球菌噬菌体裂解酶 LysGH15 外用制剂的初步研制[D]. 长春: 吉林大学, 2015.

[12] 陈蔚青, 王晓枫, 王普, 等. 链球菌噬菌体裂解酶在大肠杆菌中的表达、纯化及活性检测[J]. 生物工程学报, 2009(8): 1267-1272.

[13] 吴蒙, 陆海荣, 黄青山. 金黄色葡萄球菌噬菌体裂解酶 Ply187 的 CHAP 结构域的表达及抗菌活性分析[J]. 生物技术通报, 2016, 32(9): 232-238.

[14] GERVASI T, HORN N, WEGMANN U, et al. Expression and delivery of an endolysin to combat *Clostridium perfringens*[J]. Appl Microbiol Biotechnol, 2014, 98(6): 2495-2505.

[15] MARTIN H, WILLEY B, LOW D E, et al. Characterization of *Clostridium difficile* strains isolated from patients in Ontario, Canada, from 2004 to 2006[J]. J Clin Microbiol, 2008, 46(9): 2999-3004.

[16] LAWRENCE R, JEYAKUMAR E. Antimicrobial resistance: A cause for global concern[J]. BMC Proc, 2013, 7(S3): S1.

[17] BORYSOWSKI J, WEBER-DABROWSKA B, GÓRSKI A. Bacteriophage endolysins as a novel class of antibacterial agents[J]. Exp Biol Med (Maywood), 2006, 231(4): 366-377.

[18] GU J, XU W, LEI L, et al. LysGH15, a novel bacteriophage lysin, protects a murine bacteremia model efficiently against lethal methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infection[J]. J Clin Microbiol, 2011, 49(1): 111-117.

[19] SCHMELCHER M, POWELL A M, BECKER S C, et al. Chimeric phage lysins act synergistically with lysostaphin to kill mastitis-causing *Staphylococcus aureus* in murine mammary glands[J]. Appl Environ Microbiol, 2012, 78(7): 2297-2305.

[20] PASTAGIA M, EULER C, CHAHALES P, et al. A novel chimeric lysin shows superiority to mupirocin for skin decolonization of methicillin-resistant and -sensitive *Staphylococcus aureus* strains[J]. Antimicrob Agents Chemother, 2011, 55(2): 738-744.

【责任编辑 李晓卉】