

# Антигенні властивості фібриногензв'язуючих білків та їхня роль у патогенезі стафілококових інфекцій.

## Фібриногензв'язуючі білки клітинної стінки

В. Д. Іванова, В. К. Позур

Київський університет імені Тараса Шевченка  
Вул. Володимирська, 64, Київ, 01033, Україна

---

*Поверхневі фібриногензв'язуючі білки забезпечують адгезію бактерій до тканин організму хазяїна і є важливими факторами ініціювання та розвитку стафілококових інфекцій. Крім пластівцево-утворюючого фактора, фібриногензв'язуючою активністю володіють фібрoneктинзв'язуючий білок, фібриногензв'язуючий білок та аналог білків МНС II класу. В даному огляді розглянуто структуру, особливості взаємодії з фібриногеном та біологічні властивості поверхневих фібриногензв'язуючих білків *Staphylococcus aureus*, які мають значення для розшифрування патогенезу стафілококової інфекції.*

---

Вступ. Золотистий стафілокок є частою причиною виникнення інфекцій різного ступеня важкості й ускладнень, які можуть спричинювати більш важкі захворювання — септицемії, остеомиєліти, менінгіти, ендокардити. Ці бактерії експресують багато факторів патогенності (токсини, екзоферменти, поверхневі адгезини та ін.), проте досі однозначно не з'ясовано, які з них є основними в розвитку захворювання. Остаточно не визначено механізми і структури, за допомогою яких *Staphylococcus aureus* здійснює колонізацію тканин хазяїна. Але показано, що взаємодія поверхневих адгезинів *S. aureus* з різними клітинами та білками плазми — фібриногеном, фібрoneктином, еластином, колагеном, плазміненом [1—3], є ключовим етапом патогенезу багатьох стафілококових інфекцій [4].

Вважають, що найважливішими посередниками в адгезії стафілококів до імплантатів, згустків крові та пошкоджених тканин є фібриноген і фібрин. Фібриноген — білок з молекулярною масою (м. м.) 340 кДа — знаходиться в плазмі крові у значних концентраціях (3 мг/мл). Він викликає агрегацію тромбоцитів у місцях пошкодження тканин організму, з нього під впливом тромбіну утво-

рюється фібрин, який є основою згустків крові. Крім того, фібриноген здатний швидко покривати поверхні імплантатів, сприяючи тим самим адгезії до них бактерій [5]. Експериментально доведено, що в процесі адгезії стафілококів до катетерів [6] та ендотеліальних клітин [7] фібриноген виступає як з'єднувальний місток; аналогічну роль він може виконувати при взаємодії між різними типами клітин, на поверхні яких розташовані фібриногензв'язуючі рецептори (наприклад, стафілококів із стрептококами та з тромбоцитами).

На сьогодні доведено, що *S. aureus* взаємодіє з фібриногеном за допомогою різних структур, продукуючи цілий спектр специфічних до нього білків (таблиця). Визнано, що взаємодія *S. aureus* з фібриногеном відбувається як за рахунок асоційованих з клітинною стінкою адгезинів, так і за участі зовнішньоклітинних білків, кожен з яких має свою функціональну особливість. Головним фібриногензв'язуючим білком золотистого стафілокока є пластівцевоутворюючий фактор (Clf). Проте різні вчені [8, 9] наголошують на тому, що інші, менш активні у відношенні з'в'язування з фібриногеном білки, активність яких за присутності Clf замаскована, необхідні для забезпечення міцності цього зв'язку *in vivo*. Отже, розташовані поряд з Clf на

Фібриногензв'язуючі білки *S. aureus*

Білок	Молекулярна маса, кДа	Білки макроорганізму, з якими відбувається взаємодія фібриногензв'язуючих білків <i>S. aureus</i>	Літературне джерело
<i>Білки клітинної стінки</i>			
Пластівцевоютворючий фактор А (ClfA)	92	$\gamma$ -ланцюги фібриногену	[11]
Пластівцевоютворючий фактор В (ClfB)	124	$\alpha, \beta$ -ланцюги фібриногену	[12]
Фібриногензв'язуючий білок А (FbrA)	70	Фібриноген, можливо, протромбін	[13]
Фібронектинзв'язуючий білок А (FnbpA)	108	Фібронектин, $\gamma$ -ланцюги фібриногену	[14]
Аналог білків II класу головного комплексу гітосумісності (Mar)	72	Фібриноген, фібронектин, вітронектин, сіалопротейн, тромбоспондин	[15]
<i>Зовнішньоклітинні білки</i>			
Зовнішньоклітинний фібриногензв'язуючий білок (Efb)	19	Фібриноген	[10, 16]
Зовнішньоклітинний білок адгезії (Eap)	60	Фібриноген, фібронектин, протромбін, поверхня клітини <i>S. aureus</i>	[10] [17]
Коагулаза (Coa)	68—78 (у різних штамів)	Протромбін, фібриноген	[18]

клітинний поверхні фібронектинзв'язуючий білок А (FnbpA), фібриногензв'язуючий білок А (FbrA) та аналог білків головного комплексу гітосумісності (Mar) також можуть робити свій внесок у забезпечення взаємодії з фібриногеном і впливати на процес колонізації тканин стафілококами *in vivo*.

Боден і Флок [10] описали три різні зовнішньоклітинні фібриногензв'язуючі білки штаму Newmap: 87 кДа — коагулаза (Coa), 60 кДа — білок адгезії (Eap), які мають коагулазну активність, 19 кДа — власне фібриногензв'язуючий білок (Efb). Показано, що невелика кількість цих білків асоційована з клітинною стінкою [10].

Згадані вище білки детально охарактеризовано на молекулярному рівні. Їхня можлива роль у патогенезі стафілококових інфекцій вивчається за допомогою сайт-специфічних мутацій в умовах *in vivo* та *in vitro* на моделях інфекції та адгезії. Отримані докази переконливо свідчать про те, що ці структури можуть функціонувати *in vivo* як важливі фактори патогенності та вірулентності *S. aureus*. Проте внесок кожного з них і всіх разом у забезпечення процесів зв'язування бактерій з фібриногеном, колонізації тканин та розвитку різних стафілококових інфекцій невідомий. Це є предметом подальших досліджень.

*Поверхневі фібриногензв'язуючі білки.* На по-

верхні клітини *S. aureus* на цей час виявлено чотири основні фібриногензв'язуючі білки: ClfA і ClfB та FnbpA і FnbpB [14]. Вони відносяться до родини поверхневих адгезинів — MSCRAMM (microbial surface components recognizing adhesive matrix molecules) — білків, що взаємодіють з компонентами зовнішньоклітинного матрикса хазяїна. Представниками цієї родини також є колагензв'язуючий білок (Cna), вітронектинзв'язуючий білок, еластинзв'язуючий білок (EbpS) та білок А (Sra) [19].

Білки, які відносяться до родини MSCRAMM, ковалентно зв'язані з пептидогліканом клітинної стінки. Їхні молекули мають типову для всіх представників родини структуру (рис. 1). N-кінцеві домени беруть участь у взаємодіях з розчинними білками організму та поверхнею клітин хазяїна, а розташована на цьому кінці молекули сигнальна послідовність необхідна для секреції білка. Особливістю поверхневих білків *S. aureus* є наявність у їхніх молекулах багатой на пролін-гліцин області чи ділянки, утвореної серин-аспарагіновими повторами (R-область). C-кінцева частина білків необхідна для прикріплення до клітинної стінки. Вона складається з 1) асоційованих з клітинною стінкою доменів з послідовністю LPXTG (остання необхідна для правильного розташування білка в клітинній

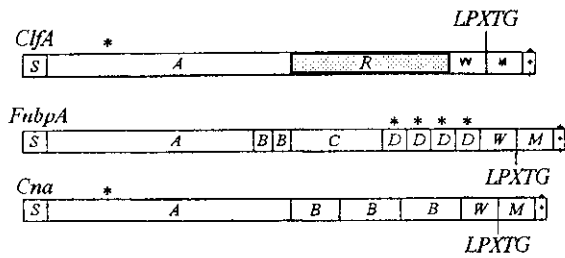


Рис. 1. Структурна організація білків родини MSCRAMM — пластівцевоютворюючого фактора (ClfA), фібринектинзв'язуючого білка (FibrA), колагензв'язуючого білка (Cna) *S. aureus* (за [19]): S — сигнальна послідовність; R — область серин-аспарагінових дипептидних повторів; W — область, занурена в клітинну стінку; M — трансмембранна ділянка; зірочкою позначено локалізацію лігандзв'язуючого домену; (+) — позитивно заряджена хвостова ділянка; A, B, C, D — структурні домени молекули

стінці); 2) гідрофобної трансмембранної області та 3) позитивно зарядженої хвостової ділянки, що розташована з внутрішнього боку цитоплазматичної мембрани і відіграє роль сигналу, що зупиняє секрецію білка. Послідовність LPXTG є мішенню для транспептидази (сортази), яка розщеплює зв'язок між треоніном і гліцином, внаслідок чого C-кінець треоніну молекули адгезину зв'язується з вільною NH<sub>2</sub>-групою амінокислоти пентагліцинового містка пептидоглікану [20]. Отже, ковалентно з'єднаний з пептидогліканом білок може бути виділений з клітинної стінки лише за допомогою лізостафіну — ферменту, який розщеплює пентагліцинові містки пептидоглікану.

Недавно ідентифіковано три нові білки (Sdr), які мають характеристики родини MSCRAMM [21]. Їхні молекули містять додаткову В-послідовність з 110—113 залишків, повторювану від двох до п'яти разів; вона розташована між лігандзв'язуючим доменом А та областю повторів R.

Два інші поверхневі білки, які здатні зв'язувати фібриноген — фібриногензв'язуючий білок А (FibrA) та аналог білків II класу головного комплексу гістосумісності (Map) — вивчено дуже мало, а даних щодо їхньої біологічної активності немає.

**Пластівцевоютворючі фактори А і В.** Clf (фібриногензв'язуючий рецептор) є поверхневим білком клітинної стінки *S. aureus*, який обумовлює аглютинацію стафілококів у плазмі крові за рахунок зв'язування з фібриногеном (феномен пластівцевоютворення). Завдяки такій властивості його тривалий час називали «зв'язаною коагулазою», припускаючи, що він є її особливою формою або

попередником, локалізованим на клітинній стінці. Проте самостійність обох субстанцій було з часом доведено [22, 23].

За останніми даними [11], нативний рецептор ClfA — це білок з м. м. 92 кДа, отриманий з клітинної стінки штаму Newman *S. aureus*. Його ізоелектрична точка відповідає значенням рН 10,2—10,8. У найбільшій кількості Clf містить лізин, аланін, аргінін, глутамінову кислоту або глутамін, аспарагінову кислоту або аспарагін [24].

ClfA продукується *S. aureus* протягом усіх стадій росту, проте найінтенсивніше він синтезується молодими культурами та при вирощуванні стафілококів в умовах аерації, а оптимальними для його утворення є середовища з лужними значеннями рН.

Clf є найважливішим білком при взаємодіях *S. aureus* з іммобілізованим або розчинним фібриногеном. Він обумовлює прикріплення бактерій до вкритих фібриногеном поверхонь і згустків плазми *in vitro* та до пластикових біоматеріалів, які короткий час (менше 6 год) інкубували з кров'ю людини [5, 25], відіграє важливу роль в адгезії мікробних клітин до кератиноцитів шкіри [26].

ClfA-негативні мутанти *S. aureus* повністю втрачають здатність до адгезії, а наявності інших адгезинів (наприклад, фібринектинзв'язуючого білка) для забезпечення цієї функції виявляється недостатньо. На моделях ендокардитів щурів [27] показано, що в порівнянні з батьківськими штамми такі мутанти є низьковірulentними. Однак у розвитку легеневої інфекції мишей ClfA відіграє незначну роль, а основним дієвим фактором при цьому є коагулаза [28].

До недавнього часу ClfA вважали єдиним білком клітинної стінки *S. aureus*, здатним внаслідок взаємодії з фібриногеном забезпечувати адгезію бактерій до вкритих фібриногеном поверхонь. Проте виявлено, що, крім ClfA, *S. aureus* продукує ще один поверхневий білок з подібними властивостями, який названо ClfB [12]. Гени *clfA* і *clfB* не зчеплені і, вірогідно, є моноцистронними.

ClfB має м. м. 124 кДа і складається з 913 амінокислотних залишків. Він виявляється лише в клітинах, що знаходяться в ранній експоненціальній фазі росту та культивуються в умовах аерації. Виявлено, що експресія гена *clfB* зупиняється дуже рано під час експоненціальної фази росту, а в старих культурах ClfB піддається протеолізу. Можливо, за розщеплення ClfB відповідальні металопротеази або цистеїн-протеази бактерій. На відміну від нього ClfA мало піддається протеолізу, а розщеплення цього білка не призводить до зниження титрів пластівцевоютворення або до зменшення ін-

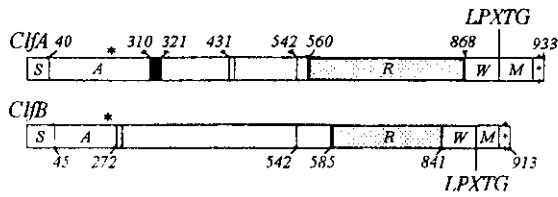


Рис. 2. Доменна організація молекул пластівцевоютворюючих факторів А і В (ClfA, ClfB) (за [12]): S — сигнальна послідовність; A — фібриногензв'язуючий домен; R — область серин-аспарагінових дипептидних повторів; W — область, занурена в клітинну стінку; M — трансмембранна ділянка; зірочкою позначено локалізацію лігандзв'язуючого домену; (+) — позитивно заряджена хвостова частина; чорний блок у межах області A ClfA між 310—321 залишками — сайт EF-hand I; білий блок у межах домену A від 431-го залишку ClfA і від 272-го залишку ClfB — MIDAS-послідовність; блоки, що починаються від 542-го залишку ClfA і 542-го залишку ClfB — багата на пролін область

тенсивності бактеріальної адгезії до іммобілізованого фібриногену.

Повна організація ClfB дуже подібна до такої ClfA і нагадує будову інших поверхневих білків — представників родини MSCRAMM (рис. 2). Білки мають значну ідентичність у сигнальній послідовності й доменах, розташованих у клітинній стінці (36 та 41 % відповідно). Найвираженіша гомологія характерна для ділянок між 314—329 залишками фактора А та 304—319 залишками фактора В. Для ClfA ця область частково збігається з сайтом кальцієвої модуляції фібриногензв'язуючої активності (EF hand-I) [4]; в структурі ClfB останній відсутній.

Локалізація лігандзв'язуючого домену ClfB відповідає позиції такої ж ділянки фактора А. Зазначені області білків не мають значної спорідненості та ідентичні лише на 26 %. На С-кінці лігандзв'язуючої області ClfB знаходиться короткий пролін-багатий повтор (542—585), який відповідає проліновій області А-домену ClfA, що є коротшою (542—560) і не містить повторів. Область R фактора В утворена 128 аспарагін-сериновими повторами (256 залишків), які кодуються тією ж нуклеотидною послідовністю ДНК, що й аналогічна область фактора А (308 залишків). Область повторів (R) займає однакову позицію в структурі обох білків і виконує ті ж функції [29].

Лігандзв'язуючий сайт у молекулі ClfA розташований у межах 221—550 залишків області А [30], але останні дослідження [31] свідчать про те, що С-кінець області А (550—559 залишки) також містить частину цього сайту. Встановлено, що амі-

нокислотні залишки E526 і V527 є особливо важливими для функціонування білка: заміна одного з них пригнічує зв'язування з розчинним фібриногеном та зменшує адгезію стафілококів до іммобілізованого фібриногену; бактерії, в яких ClfA містить обидві заміни, повністю позбавлені обох властивостей. Заміна вказаних амінокислот не викликає змін вторинної структури рекомбінантної молекули ClfA.

У молекулі ClfA виявлено послідовність, яка забезпечує регуляцію лігандзв'язуючої активності рецептора за рахунок зв'язування бівалентних катіонів (у структурі ClfB вона відсутня). Іони  $\text{Ca}^{2+}$  та  $\text{Mn}^{2+}$  в мілімолярних концентраціях (1—10 мМ) пригнічують зв'язування Clf з фібриногеном, а іони  $\text{Mg}^{2+}$  та одновалентні катіони ( $\text{Na}^+$ ) при подібних концентраціях не впливають на цю взаємодію. Інгібіторний сайт (EF-hand-I) розташований в межах 310—321 амінокислотних залишків домену А білка і містить 6—7 оксигенованих залишків, правильне просторове розташування яких забезпечує координацію катіонів. Координуюча сфера прикрита  $\alpha$ -спіралями, необхідними для утримання правильної її конформації [4]. Видалення EF-hand послідовності або заміна чотирьох катіонкоординуючих залишків призводить до повної втрати білком катіон- і фібриногензв'язуючої активності.

Встановлено, що сайти зв'язування фібриногену та катіонів фізично роз'єднані, а зв'язування іонів з інгібіторною ділянкою призводить до змін конформації лігандзв'язуючої послідовності [4].

Регуляція активності Clf іонами  $\text{Ca}^{2+}$  (концентрація яких у плазмі крові становить 1,3 мМ і може варіювати в широких межах у міжклітинному просторі [32]) має велике значення *in vivo*. Такий механізм запобігає повному покриттю відповідних рецепторів *S. aureus* розчинним фібриногеном плазми крові, що дозволяє бактерії (при сприятливих умовах) прикріплюватися до іммобілізованого (на поверхні пошкоджених тканин або медичних біоматеріалів) фібриногену або до фібринових згустків. З іншого боку, цей механізм дозволяє мікробній клітині відриватися від тканин та розповсюджуватися з током крові.

Особливістю ClfA і ClfB є наявність області дипептидних повторів (R), розташованої поряд з лігандзв'язуючим доменом [29]. Більша частина повторів сформована парами Asp-Ser (DS), тоді як решта містить лише один з зазначених залишків. Область повторів несе великий негативний заряд, що відбивається на встановленні значення ізоелектричної точки, що дорівнює рН 3,22.

Області повторів є характерними для структури поверхневих білків багатьох грампозитивних

бактерій; у деяких з них (наприклад, у фібронектинзв'язуючого білка А та білка А *S. aureus*) ці послідовності безпосередньо беруть участь у взаємодії з лігандом [33]. На відміну від аналогічних структур інших поверхневих адгезинів *S. aureus* R-ділянка Clf не зв'яже фібриногену. Проте її присутність необхідна для з'єднання білка з шаром пептидоглікану та розташування домену А на достатній від клітинної стінки бактерії відстані, що забезпечує поверхнєве представлення лігандзв'язуючого домену у формі, придатній для взаємодії з фібриногеном [29, 34]. Видалення R-домену з молекули ClfA призводить до істотного пригнічення пластівцевоутворення. Показано [29], що для представлення лігандзв'язуючої ділянки на поверхні клітини у функціональному стані треба лише 40 залишків області повторів та 32 залишки області, що знаходиться у клітинній стінці.

Аспарагін-серинові пари кодується 18 нуклеотидними повторами ДНК (GAY TCN GAY TCN GAY AGY, де TCN — перший та другий серинові кодони, а AGY — третій). Слід відмітити, що така коротка послідовність ДНК утворена повторюваними блоками кодонів і характеризується надзвичайною гіперваріабельністю. У геномі бактерій вона існує в різній кількості копій (від кількох десятків до сотень) і, як вважають [35], може бути пов'язана з модуляцією експресії факторів вірулентності бактерій.

Показано, що розмір послідовності, кодуєщої повторення, може варіювати в широких межах, але розмір цієї області білка не впливає на інтенсивність взаємодії з фібриногеном [36]. Варіювання довжини R-області в структурі рецептора виражається в збільшенні чи зменшенні представлення на бактеріальній поверхні функціонально активних білкових доменів і призводить до зростання різноманіття ступенів бактеріальної вірулентності та чутливості до факторів імунітету. Цей механізм забезпечує мінливість бактерій та дозволяє їм краще пристосовуватися до умов середовища існування.

Недавні дослідження [4] свідчать про те, що ClfA зв'язується з двома різними сайтами на  $\gamma$ -ланцюзі фібриногену, які також розпізнаються двома різними фібриногензв'язуючими інтегринами ссавців ( $\alpha_{IIb}\beta_3$  і  $\alpha M\beta 2$ ). Перший сайт знаходиться на С-кінцевому домені  $\gamma$ -ланцюга фібриногену (398—411) і розпізнається ClfA та  $\alpha$ -субодиницею тромбоцитарного інтегрину  $\alpha_{IIb}\beta_3$  [37]. Саме тому рекомбінантний А домен ClfA є потужним інгібітором фібриноген-залежної агрегації тромбоцитів [38]. Агрегація тромбоцитів бактеріями, яка відбувається за умови з'єднання Clf з фібриногеном, відіграє

важливу роль у патогенезі інфекційного ендокардиту [39].

Другий сайт зв'язування Clf локалізований в центральній частині  $\gamma$ -ланцюга фібриногену (у межах 190—202 залишків) і розпізнається рецептором лейкоцитарного інтегрину  $\alpha M\beta 2$  [40]. Зв'язування інтегрину з ним відбувається за рахунок катіонзв'язуючого адгезивного сайту (MIDAS) [41]. У структурі Clf також є MIDAS-подібна послідовність, яка включається тільки при взаємодії з областю 190—202 залишків  $\gamma$ -ланцюга фібриногену. Вона розташована в різних ділянках факторів А та В: у молекулі ClfA вона починається з 431-го амінокислотного залишку, у ClfB — з 272-го.

Білок ClfB взаємодіє з  $\alpha$ - і  $\beta$ -ланцюгами фібриногену, на відміну від ClfA, який зв'язується виключно з  $\gamma$ -ланцюгом. Виявлено [12], що ClfB забезпечує зв'язування розчинного та іммобілізованого фібриногену клітинами, які не ввійшли у фазу експоненційного росту, та адгезію бактерій до гемодіалізних трубок людини *ex vivo*. Це свідчить про його внесок у патогенез інфекцій, асоційованих з медичними імплантатами. Проте в експоненційній фазі культивування *S. aureus* штаму Newport активність фактора В маскується білком ClfA. Можливо, причинами цього є те, що ClfA має більшу афінність до фібриногену, ніж ClfB, або на поверхні клітини міститься більше рецепторів А-типу. Завдяки цьому ClfA вважають головним адгезином клітин *S. aureus*.

Наявність у клітині *S. aureus* подібних одне одному фібриногензв'язуючих білків не є незвичайним явищем (багато штамів *S. aureus* мають по два гени, які кодуєть фібронектинзв'язуючі білки). До того ж обидва Clf взаємодіють з різними частинами ліганда хазяїна, тому можуть діяти синергічно, допомагаючи бактерії міцніше прикріплюватися до фібриногену *in vivo* в умовах потоку крові. Означений механізм є важливим для ініціювання ендокардитів. Раніше було показано [27], що домінуючу роль у розвитку ендокардиту виконує фактор А. Недавні дослідження доводять [42], що, хоча ClfB може впливати на хід ендоскулярних інфекцій (нездатність *S. aureus* продукувати ClfB призводить до значного зниження проявів інфекції у щурів з експериментальними ендокардитами, а, з іншого боку, комплементация *clfB* на мультигенній плазміді веде до значного підвищення інфекційності більшості мутантів), його роль у патогенезі експериментальних ендокардитів обмежена.

Присутність двох фібриногензв'язуючих білків на поверхні клітини може дозволити бактерії зв'язувати ліганд навіть у присутності антитіл, які

розпізнають лише один з цих антигенів. Можливо також, що ClfA та ClfB, крім фібриногену, взаємодіють і з іншими лігандами.

Здатність *S. aureus* приєднуватися до фібриногену є важливим етапом розвитку раневих, післяопераційних та пов'язаних з медичними імплантатами інфекцій, а Clf, мабуть, є одним з найважливіших факторів патогенності бактерій, який, з одного боку, забезпечує прикріплення бактеріальної клітини до тканин організму хазяїна, а, з іншого (завдяки утворенню пластівців), — захищає мікробну клітину від фагоцитів. Наприклад, показано, що під час експериментального перитоніту у мишей Clf-позитивні штами *S. aureus* менше захоплюються фагоцитами [43]. Проте є дані про підвищення бактерицидної активності нейтрофілів у відповідь на зв'язування бактерій з окремими білками плазми, включаючи й фібриноген [44].

Пластівцевоутворюючий фактор є сильним антигеном: імунізація тварин очищеним білком індукує збільшення титрів специфічних до нього антитіл [45]. Анти-ClfA-антитілам притаманна яскраво виражена здатність блокувати адгезію мікроорганізмів. Антитіла класу G (IgG) проти ClfA утворюються протягом всього періоду захворювання, у високих титрах вони виявляються й у сироватці крові здорових донорів як наслідок колонізації організму стафілококом або як наслідок перенесеної інфекції [46]. Їхня наявність свідчить про експресію ClfA *in vivo*. Вміст анти-ClfA-антитіл не залежить від віку особи.

Виявлено, що під час гострої фази стафілокової інфекції відбувається швидке зростання кількості анти-ClfA-антитіл. Титри антитіл до ClfA впродовж захворювання постійно збільшуються: у сироватці одужуючих пацієнтів вони вищі, ніж у сироватці пацієнтів з гострою фазою захворювання. Пацієнти, хворі на остейт у поєднанні з артритом та ендокардитом, характеризуються більш вираженою гуморальною імунною відповіддю на Clf (83 %), тоді як пацієнти з остейтами та абсцесами — менш вираженою (63 %) [43]. Отже, оскільки антитіла до Clf виявляються в сироватці крові вже на ранніх етапах захворювання, дослідження сироватки хворих на наявність цих антитіл може мати велике значення для діагностики стафілокової інфекції.

Імунізація мишей фібриногензв'язуючим рецептором обумовлює захист мишей від перитонітів, викликаних *S. aureus*: смертність у групі мишей, тричі імунізованих внутрішньошкірно Clf у повному ад'юванті Фрейнда, була суттєво нижчою за цей показник у контрольній групі тварин, яким

вводили фізіологічний розчин [45]. Проте рівні сироваткових антитіл до Clf, визначені за допомогою імуноферментного аналізу, не корелювали з показниками виживання. Останнє, на думку авторів [45], може свідчити про те, що протективний ефект забезпечується за рахунок клітинних реакцій.

Таким чином, пластівцевоутворюючі фактори (ClfA в більшій мірі) є головними поверхневими білками, які обумовлюють адгезію *S. aureus* до вкритих фібриногеном поверхонь, і можуть робити значний внесок у колонізацію тканин бактеріями. Проте значення цих білків у процесі тієї чи іншої стафілокової інфекції, вплив на організм *in vivo* та особливості імунної відповіді на них потребують подальшого вивчення.

**Фібронектинзв'язуючі білки.** Основною функцією Fnbp донедавна вважали їхню здатність забезпечувати адгезію *S. aureus* до фібронектину. Однак дослідження показали [14], що FnbpA і FnbpB є біфункціональними білками, які здатні зв'язувати і фібриноген.

FnbpA і FnbpB, які кодуються двома зчепленими генами *fnbpA* і *fnbpB*, одночасно експресуються багатьма штамми *S. aureus*. З'ясовано, що для забезпечення здатності бактерії прилипати до вкритих фібронектином поверхонь необхідна наявність обох Fnbp. Молекулярні маси FnbpA і FnbpB, визначені на основі нуклеотидних послідовностей їхніх генів, складають відповідно 108 та 98 кДа. Ці білки дуже чутливі до дії протеолітичних ферментів *S. aureus* [47].

Дослідження мутантних штамів *S. aureus* та рекомбінантних Fnbp показали, що ці білки відповідають за приєднання бактерій до іммобілізованого фібронектину *in vitro* та обумовлюють адгезію *S. aureus* до згустків плазми, до біоматеріалів, які тривалий час знаходилися в організмі хазяїна, саме тому вони поряд з іншими адгезинами *S. aureus* є важливими факторами, що забезпечують ініціювання стафілокової інфекції [5, 47]. Дані щодо впливу цих білків на розвиток стафілококових інфекцій неоднозначні. Одні з них свідчать про зв'язок між фібронектинзв'язуючою активністю та вірулентністю штамів *S. aureus* [48], інші демонструють його відсутність [49]. Так, є повідомлення про те, що при розвитку та протіканні ендокардитів Fnbp відіграє незначну роль [50].

Авторами роботи [51] показано, що більш важливими для процесу інвазії є Fnbp, а не Clf. У клітини видів *S. carnosus* і *Lactococcus lactis*, які є неінвазивними грампозитивними мікроорганізмами, генетично несхожими на *S. aureus*, нездатними

зв'язувати фібриноген та фібрoneктин, було введено плазмиди, що кодуєть вищезгадані адгезини (FnbpA, FnbpB, ClfA). Виявилось, що трансформанти *S. carnosus* і *L. lactis*, які експресують FnbpA і FnbpB, а не ClfA, набувають інвазивних властивостей, порівнянних з такими штаму Cowan-1 *S. aureus*. При цьому наявність інших корецепторів, характерних для *S. aureus*, не потрібна [51].

Будова FnbpA і FnbpB дуже подібна до такої інших поверхневих білків *S. aureus* та Fnbp стрептококів [52]: білки відрізняються N-кінцевими доменами А (45 % ідентичність), у той час як область D1—D3 (фібрoneктинзв'язуючий домен), ділянки, розташовані в клітинній стінці, та трансмембранні ділянки мають 95 % ідентичності (рис. 1). Найзначнішу гомологію виявлено між Fnbp і Clf. Сигнальні пептиди FnbpA та ClfA мають 48 % ідентичних залишків, тоді як гомологія С-кінцевих ділянок (послідовності LPDTG, трансмембранної та позитивно зарядженої області) становить лише 44 %. Певна гомологія спостерігається в N-термінальному домені А (31 %). Clf позбавлений Pro-Gly-багатої області повторів, характерної для фібрoneктинзв'язуючого рецептора, проте має дипептидний повтор із залишків серину та аспарагіну.

Домен D Fnbp розташований близько від частини, зануреної в клітинну стінку, і складається з послідовності розміром 40 амінокислотних залишків, що повторюється 3—5 разів. Він зв'язується з N-кінцевою частиною молекули фібрoneктину. Особливою рисою повторюваного лігандзв'язуючого домену Fnbp є відсутність складчастої вторинної структури [53], яка утворюється лише при зв'язуванні з фібрoneктином. Завдяки цьому нативні Fnbp є низькоімуногенними білками [45].

Дослідження сироваток крові людей, які перенесли стафілококову інфекцію, та кролів, імунізованих FnbpA, показало, що імунодомінантні епітопи цього білка знаходяться в межах лігандзв'язуючого домену D, але антитіла продукуються проти ліганд-індукованих зв'язуючих сайтів (LIBS), утворених внаслідок взаємодії D-доменів з фібрoneктином. Анти-LIBS антитіла можуть лише незначно пригнічувати зв'язування фібрoneктину з клітиною бактерії, оскільки не впізнають антигенних детермінант нативних Fnbp. Саме тому антитіла проти Fnbp, які утворюються внаслідок перенесеної інфекції, не здатні блокувати адгезію бактерій до фібрoneктину навіть у високих титрах [54], а моноклональні антитіла ще й підсилюють зв'язування лігандзв'язуючих доменів *Streptococcus dysgalactiae* з фібрoneктином [55].

З'ясовано, що більшою інгібіторною активні-

стю володіють антитіла до рекомбінантних молекул Fnbp та антитіла до незв'язуючих структур молекули, ніж антитіла до нативних білків. При імунізації тварин вбитими клітинами *S. aureus* утворювалися антитіла, які впізнавали рекомбінантний Fnbp (gal-Fnbp), але мали низьку здатність блокувати зв'язування з ним фібрoneктину [56]. Натомість антитіла, які утворювалися при імунізації тварин нативним Fnbp, мали значно вищу блокуючу здатність, хоча їхні титри були низькими. Це пояснює, чому утворені в організмі під час інфекції антитіла не захищають від наступних інфікувань [57].

Доведено, що антитіла до Fnbp є опсонінами. На моделі мишачих маститів показано [58], що при введенні тваринам клітин *S. aureus*, попередньо інкубованих з антитілами до злитих білків gal-Fnbp або з імуною сироваткою, спостерігається значне зменшення кількості бактерій у вогнищі запалення, при цьому зменшуються і гістопатологічні прояви інфекції. Експерименти *in vitro* показали, що опсонізовані антитілами клітини бактерій фагоцитуються в основному макрофагами [59]. Захисний ефект антитіл до Fnbp виявлено і на моделі експериментального ендокардиту щурів [60], він полягає у зменшенні колонізації тканин і швидшому видаленні бактерій з організму.

С-термінальна ділянка домену А, локалізованого на N-кінці молекули Fnbp, необхідна для зв'язування фібриногену. Показано [14], що А-домени FnbpA і ClfA мають 25—26 % гомології, до того ж білки ClfA, FnbpA і FnbpB розпізнають однакові сайти, розташовані на С-кінці  $\gamma$ -ланцюга фібриногену, в той час як ClfB взаємодіє з  $\alpha$ - і  $\beta$ -ланцюгами.

Амінокислотні залишки, які відіграють важливу роль у зв'язуванні фібриногену Clf, виявлено в молекулах Fnbp. Показано [31], що V527, присутній в молекулі ClfA, у послідовності FnbpA замінений на лейцин, а E526, що є в молекулі ClfA, замінений на гліцин в обох Fnbp. Вважають, що такі заміни у фібриногензв'язуючих сайтах цих білків забезпечують різницю їхньої специфічності для молекули фібриногену. Про роль означених залишків у взаємодії з лігандом Fnbp поки невідомо.

Рекомбінантний FnbpA може конкурувати з ClfA за зв'язування з іммобілізованим та розчинним фібриногеном. Показано також, що нативний Fnbp, який експресується на поверхні клітин *S. aureus*, дефектних за обома пластівцевоютворюючими факторами, обумовлює взаємодію бактерій з розчинним фібриногеном. Проте найважливішим при взаємодії з фібриногеном вважається ClfA.

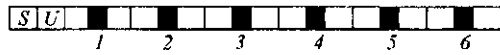


Рис. 3. Схематичне зображення білка Мар штаму FDA547 *S. aureus*: S — сигнальна послідовність; U — спейсер; 1—6 — повторювані домени, в межах яких розташовано субдомени (закреслена частина), гомологічні лігандзв'язуючим ділянкам молекул МНС II класу (за [15])

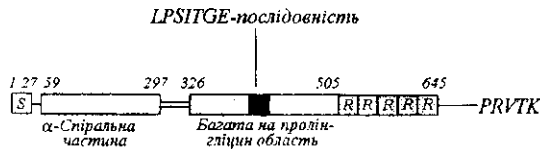


Рис. 4. Структурна організація фібриногензв'язуючого білка (FbrA) *S. aureus* (за [13]): S — сигнальна послідовність; R — область повторів

Вивчення фібриногензв'язуючої активності Fbrp тільки почалося, тому даних про значення її для вірулентності бактерій ще немає.

Аналог білків II класу головного комплексу гістосумісності. Білок Мар з м. м. 72 кДа є компонентом клітинної стінки *S. aureus* штаму FDA-547 [15]. Він може взаємодіяти з кількома різними білками ссавців, включаючи фібронектин, фібриноген, вітронектин, кістковий сіалопротейн і тромбоспондин.

Білок складається з 1) N-кінцевої сигнальної послідовності (30 амінокислотних залишків); 2) послідовності з 19 амінокислотних залишків (спейсер) та 3) повторюваних доменів (рис. 3). В молекулі білка знайдено шість доменів, кожен з яких складається з 110 залишків. Кожен з цих доменів містить субдомен з 31 залишка, який має значну гомологію з N-кінцем β-ланцюга білків II класу МНС багатьох видів ссавців. Ділянок, характерних для асоційованих з клітинною стінкою білків грам-позитивних бактерій, на C-кінці Мар не виявлено. Це пояснюється тим, що білок з'єднаний з клітинною стінкою не за рахунок ковалентного зв'язку. З клітинної стінки *S. aureus* Мар може бути виділений екстракцією 1 M LiCl [61].

Знайдено значну гомологію амінокислотних послідовностей поверхневого білка Мар і зовнішньоклітинного білка адгезії (Eap) *S. aureus*, який завдяки здатності зв'язуватися одночасно з поверхнею бактеріальної клітини та з білками плазми крові відіграє важливу роль у посиленні адгезії *S.*

*aureus* до клітин організму [17]. Вважають, що ці білки відносяться до білків однієї групи. Тому, можливо, Мар виконує в організмі подібні функції.

Вважають також, що Мар, по-перше, здатний розпізнавати специфічні і, можливо, схожі амінокислотні послідовності білків, з якими взаємодіє, по-друге, він може зв'язувати менші пептиди у такий же спосіб, як і білки МНС II класу. Завдяки своїм унікальним властивостям цей білок може перешкоджати дії факторів імунної системи хазяїна, направлених на знищення бактерій. Механізми цього процесу поки не досліджено.

Фібриногензв'язуючий білок А. Авторами роботи [13] на клітинній стінці *S. aureus* виявлено наявність ще одного фібриногенового рецептора, названого FbrA. Молекулярна маса білка складає 69991 Да, а ізоелектрична точка відповідає значенням рН 6,5. Білок кодується геном *fbpA* (1935 нуклеотидів); вміст GC-основ у його послідовності дорівнює 34,7 %, найбільший вміст GC-основ характерний для C-термінальної частини його молекули (39,7 %).

Аналіз амінокислотної послідовності виявив у структурі білка FbrA три різні домени (рис. 4). Перший домен — N-термінальна частина молекули (залишки 59—297) білка — має α-спіральною структуру, за винятком залишків 27 і 58. У послідовності двох ділянок (59—194 і 264—297), розташованих у межах цього домену, знайдено 7-залишкову періодичну послідовність, у якій 1-й та 4-й залишки або гідрофобні, або неполярні. Дослідники [13] вважають, що ця частина молекули має конформацію спірального кола. Область, що охоплює перші 26 залишків, є сигнальною послідовністю. Другий домен (залишки 326—505) — це багата на пролін-гліцині область (20 %), у якій знаходяться 17 залишків проліну і 19 залишків гліцину. На N-кінці молекули міститься лише 3 % пролінових та гліцинових залишків, у той час як на C-кінцевій ділянці (залишки 506—645)—14 %. Третій (C-термінальний) домен (залишки 506—645) складається з п'яти повторів послідовності з 27 залишків і має β-складчасту конформацію. На C-кінці молекули знаходиться послідовність з п'яти амінокислотних залишків (PRVTK). З'ясовано, що C-кінцеві ділянки молекули не мають коагулазної активності, але можуть зв'язувати розчинний та іммобілізований фібриноген.

Структура зв'язаного з клітиною FbrA має значну гомологію з молекулами коагулаз, виділених з штамів 8325-4, BB, 213 *S. aureus*. Гомологія 1—422 залишків білка FbrA і коагулаз штамів 8325-4, BB, 213 складає 56,2; 73,2; 56,2 % відповідно, тоді як для 423—645 залишків цей



показник дорівнює 97 %. Виявлено, що ділянка, розташована на N-кінці молекули зовнішньоклітинного фібриногензв'язуючого білка Ffb (41 залишок), має значну подібність до C-термінального сегмента FbrA. Можливо, це вказує на те, що всі ці білки — коагулаза, FbrA і Ffb — мають однакові фібриногензв'язуючі ділянки. Подібності між послідовностями білків FbrA і ClfA не знайдено.

У молекулі FbrA виявлено унікальну послідовність з 11 залишків (SVTLPSITGES), яка розташована в центрі пролін-гліцинової області (409—419). Послідовність LPSITGE (за винятком вставки ізолейцину) гомологічна послідовності LPXTGX, яка відповідає за зв'язування з пептидогліканом, її знайдено в структурі майже всіх білків клітинної стінки грампозитивних бактерій. Описана послідовність (вона відсутня в молекулах коагулаз) може забезпечувати приєднання FbrA до клітинної стінки *S. aureus*.

FbrA віднесено до коагулазоподібних білків, проте функції його поки невідомі.

V. D. Ivanova, V. K. Pozur

Antigenic properties of fibrinogen-binding proteins and their role in pathogenesis of staphylococcal infections. Surface-associated fibrinogen-binding proteins

Summary

The data on investigation of structure, physical, chemical, antigenic properties and biological activity of staphylococcal surface-associated fibrinogen-binding proteins are analysed in the present review. Their role in the initiation and development of staphylococcal diseases is described.

В. Д. Иванова, В. К. Позур

Антигенные свойства фибриногенсвязывающих белков и их роль в патогенезе стафилококковых инфекций. Фибриногенсвязывающие белки клеточной стенки

Резюме

В обзоре обобщены данные исследований структуры, физико-химических, антигенных свойств и биологической активности фибриногенсвязывающих белков клеточной стенки *Staphylococcus aureus*. Описана их роль в процессе инициации и протекания заболеваний, вызванных золотистым стафилококком.

ПЕРЕЛІК ЛІТЕРАТУРИ

1. Kuusela P., Vartiо T., Vuento M., Myhre E. B. Attachment of staphylococci and streptococci on fibronectin, fibronectin fragments and fibrinogen bound to a solid phase // *Infect. Immunol.*—1985.—50, N 1.—P. 77—81.
2. Herrmann M., Vaudaux P. E., Pittet D., Auckenthaler R., Lew P. D., Schumacher P. F., Peters G., Waldvogel F. A. Fibronectin, fibrinogen, and laminin act as mediators of adherence of clinical staphylococcal isolates to foreign material // *J. infect. Dis.*—1988.—158, N 4.—P. 693—701.

3. Hook M., McGavin M. J., Switalski L. M., Raja R., Raucchi G., Lindgren P. E., Lindberg M., Signas C. Interactions of bacteria with extracellular matrix proteins // *Cell Differ. Dev.*—1990.—32, N 3.—P. 433—438.
4. O'Connell D. P., Nanavaty T., McDevitt D., Gurusiddappa S., Hook M., Foster T. J. The fibrinogen-binding MSCRAMM (clumping factor) of *Staphylococcus aureus* has a Ca<sup>2+</sup>-dependent inhibitory site // *J. Biol. Chem.*—1998.—273, N 12.—P. 6821—6829.
5. Vaudaux P. E., Francois P., Proctor R. A., McDevitt D., Forster T. J., Albrecht R. M., Lew D. P., Wabers H., Cooper S. L. Use of adhesion-defective mutants of *Staphylococcus aureus* to define the role of specific plasma proteins in promoting bacterial adhesion to canine arterio-venous shunts // *Infect. Immunol.*—1995.—63, N 2.—P. 585—590.
6. Cheung A. L., Fischetti V. A. The role of fibrinogen in staphylococcal adherence to catheters *in vitro* // *J. Infect. Dis.*—1990.—161, N 6.—P. 1177—1186.
7. Cheung A. L., Koomey J. M., Butler C. A., Projan S. J., Fischetti V. A. Fibrinogen acts as a bridging molecule in the adherence of *Staphylococcus aureus* to cultured human endothelial cell // *J. Clin. Invest.*—1991.—87, N 6.—P. 3827—3831.
8. Dickinson R. B., Nagel J. A., McDevitt D., Foster T. J., Proctor R. A., Cooper S. L. Quantitative comparison of clumping factor- and coagulase-mediated *Staphylococcus aureus* adhesion to surface-bound fibrinogen under flow // *Infect. Immunol.*—1995.—63, N 8.—P. 3143—3150.
9. Wolz C., McDevitt D., Foster T. J., Cheung A. L. Influence of agr on fibrinogen binding in *Staphylococcus aureus* Newman // *Infect. Immunol.*—1996.—64, N 8.—P. 3142—3147.
10. Boden M. K., Flock J.-I. Evidence for three different fibrinogen proteins with unique properties from *Staphylococcus aureus* strain Newman // *Microbiol. Pathol.*—1992.—12, N 4.—P. 289—298.
11. McDevitt D., Francois P., Vaudaux P., Foster T. J. Molecular characterization of the clumping factor (fibrinogen receptor) of *Staphylococcus aureus* // *Mol. Microbiol.*—1994.—11, N 2.—P. 237—248.
12. Ni Eidhin D., Perkins S., Francois P., Vaudaux P., Hook M., Foster T. J. Clumping factor B (ClfB), a new surface-located fibrinogen-binding adhesin of *Staphylococcus aureus* // *Mol. Microbiol.*—1998.—30, N 2.—P. 245—257.
13. Cheung A. I., Projan S. J., Edelstein R. E., Fischetti V. A. Cloning, expression and nucleotide sequence of a *Staphylococcus aureus* gene (fbpA) encoding a fibrinogen-binding protein // *Infect. Immunol.*—1995.—63, N 5.—P. 1914—1920.
14. Wann E. R., Gurusiddappa S., Hook M. The fibronectin-binding MSCRAMM FnbpA of *Staphylococcus aureus* is a bifunctional protein that also binds to fibrinogen // *J. Biol. Chem.*—2000.—275, N 18.—P. 13863—13871.
15. Jonsson K., Mcdevitt D., McGavin M. H., Patti J. M., Hook M. *Staphylococcus aureus* expresses a Major Histocompatibility Complex Class II analog protein // *J. Biol. Chem.*—1995.—270, N 37.—P. 21457—21460.
16. Boden M. K., Flock J.-I. Fibrinogen-binding protein/clumping factor from *Staphylococcus aureus* // *Infect. Immunol.*—1989.—57, N 8.—P. 2358—2363.
17. Palma M., Haggar A., Flock J.-I. Adherence of *Staphylococcus aureus* is enhanced by an endogenous secreted protein with broad binding activity // *J. Bacteriol.*—1999.—181, N 9.—P. 2840—2845.
18. Jeljaszewicz J. Staphylocoagulase and clumping factor // *Staphylococci and staphylococcal infections* / Eds C. S. F. Easmon, C. Adlan.—London: Acad. press, 1983.—Vol. 2.—P. 525—543.

19. Foster T. J., Hook M. Surface protein adhesins of *Staphylococcus aureus* // Trends Microbiol.—1998.—16, N 12.—P. 484—488.
20. Schneewind O., Fowler A., Faul K. F. Structure of the cell wall anchor of surface proteins in *Staphylococcus aureus* // Science.—1995.—268, N 5207.—P. 103—106.
21. Josselson E., McCrean K. W., Ni Eidhin D., O'Connell D., Cox J., Hook M., Foster T. J. Three new members of the serine-aspartate repeat protein multigene family of *Staphylococcus aureus* // Microbiology.—1998.—144, N 12.—P. 3387—3395.
22. Duthie E. S. Evidence for two forms of Staphylococcal coagulase // J. Gen. Microbiol.—1954.—10.—P. 427—436.
23. McDevitt D., Vaudaux P., Foster T. J. Genetic evidence that bound coagulase of *Staphylococcus aureus* is not clumping factor // Infect. Immunol.—1992.—60, N 4.—P. 1514—1523.
24. Usui Y. Biochemical properties of fibrinogen binding protein (clumping factor) of the staphylococcal cell surface // Zentralbl. Bakteriol. Mikrobiol. Hyg. [A].—1986.—262, N 3.—P. 287—297.
25. Vaudaux P. E., Pittet D., Haeblerli A., Huggler E., Nydegger U. E., Lew D. P., Waldvogel F. A. Host factors selectively increase staphylococcal adherence on inserted catheters: a role for fibronectin and fibrinogen or fibrin // J. Infect. Dis.—1989.—160, N 5.—P. 865—875.
26. Mempel M., Schmidt T., Weidinger S., Schnopp C., Foster T., Ring J., Abeck D. Role of *Staphylococcus aureus* surface-associated proteins in the attachment to cultured HaCaT keratinocytes in a new adhesion assay // J. Invest. Dermatol.—1998.—111, N 3.—P. 452—456.
27. Moreillon P., Entenza J. M., Francioli P., McDevitt D., Foster T. J., Francois P., Vaudaux P. Role of *Staphylococcus aureus* coagulase and clumping factor in pathogenesis of experimental endocarditis // Infect. Immunol.—1995.—63, N 12.—P. 4738—4743.
28. Sawai T., Tomono K., Yanagihara K., Yamamoto Y., Kaku M., Hirakata Y., Koga H., Tashiro T., Kohno S. Role of coagulase in a murine model of hematogenous pulmonary infection induced by intravenous injection of *Staphylococcus aureus* enmeshed in agar beads // Infect. Immunol.—1997.—65, N 2.—P. 466—471.
29. Hartford O., Francois P., Vaudaux P., Foster T. J. The dipeptide repeat region of the fibrinogen-binding protein (clumping factor) is required for functional expression of the fibrinogen-binding domain on the *Staphylococcus aureus* cell surface // Mol. Microbiol.—1997.—25, N 6.—P. 1065—1076.
30. McDevitt D., Francois P., Vaudaux P., Foster T. J. Identification of the ligand-binding domain of the surface-located fibrinogen receptor (clumping factor) of *Staphylococcus aureus* // Mol. Microbiol.—1995.—16, N 5.—P. 895—907.
31. Hartford O. M., Wann E. R., Hook M., Foster T. J. Identification of residues in the *Staphylococcus aureus* fibrinogen-binding MSCRAMM clumping factor A (ClfA) that are important for ligand-binding // J. Biol. Chem.—2001.—276, N 4.—P. 2466—2473.
32. Brown E. M., Vassilev P. M., Hebert S. C. Calcium ions as extracellular messengers // Cell.—1995.—83.—P. 679—682.
33. Uhlen M., Guss B., Nilsson B., Gatenbeck S., Philipson L., Lindberg M. Complete sequence of the staphylococcal gene encoding protein A. A gene evolved through multiple duplications // J. Biol. Chem.—1984.—259, N 3.—P. 1695—1702.
34. Hartford O. M., McDevitt D., Foster T. J. Matrix-binding proteins of *Staphylococcus aureus*: functional analysis of mutant and hybrid molecules // Microbiology.—1999.—145.—P. 2497—2505.
35. Belkum van A., Scherer S., Alphen van L., Verburgh H. Short-sequence DNA repeats in prokaryotic genomes // Microbiol. and Mol. Biol. Rev.—1998.—62, N 2.—P. 275—293.
36. McDevitt D., Foster T. J. Variation in the size of the repeat region of the fibrinogen receptor (clumping factor) of *Staphylococcus aureus* strains // Microbiology.—1995.—141, N 4.—P. 937—943.
37. Hawiger J., Kloczewiak M., Timmons S., Strong D., Doolittle R. F. Interaction of fibrinogen with staphylococcal clumping factor and with platelets // Ann. N. Y. Acad. Sci.—1983.—27, N 408.—P. 521—535.
38. McDevitt D., Foster T. J. Characterization of the interaction between the *Staphylococcus aureus* clumping factor (ClfA) and fibrinogen // Eur. J. Biochem.—1997.—247, N 1.—P. 416—424.
39. Bayer A. S., Sullam P. M., Ramos M., Li C., Cheung A. L., Yeaman M. R. *Staphylococcus aureus* induces platelet aggregation via a fibrinogen-dependent mechanism which is independent of principal platelet glycoprotein IIb/IIIa fibrinogen-binding domains // Infect. Immunol.—1995.—63, N 9.—P. 3634—3641.
40. Altieri D., Plescia J., Plow E. The structural motif glycine 190-valine 202 of the fibrinogen  $\gamma$ -chain interacts with CD11b/CD18 integrin ( $\alpha_M\beta$ , MAC-1) and promotes leukocyte adhesion // J. Biol. Chem.—1993.—268, N 3.—P. 1847—1853.
41. Lee J., Rieu P., Arnaout M., Liddington R. Crystal structure of the A-domain from the subunit of integrin CR3 (CD11b/CD18) // Cell.—1995.—80, N 4.—P. 631—638.
42. Entenza J. M., Foster T. J., Eidhin N., Vaudaux P., Francioli P., Moreillon P. Contribution of clumping factor B to pathogenesis of experimental endocarditis due to *Staphylococcus aureus* // Infect. Immunol.—2000.—68, N 9.—P. 5443—5446.
43. Hasche K., Bruckler J., Schaeg W., Blobel H. Influence of «clumping factor» from *Staphylococcus aureus* on phagocytosis // Zbl. Bakt.—1975.—232, N 4.—P. 446—453.
44. Herrmann M., Jaconi M., Dahlgren C., Waldvogel F., Stendahl O., Lew D. Neutrophil bactericidal activity against *Staphylococcus aureus* adherent on biological surfaces. Surface-bound extracellular matrix proteins activate intracellular killing by oxygen-dependent and -independent mechanisms // J. Clin. Invest.—1990.—86, N 3.—P. 942—951.
45. Espersen F., Clemmensen I. Immunization of mice with the fibronectin-binding protein and clumping factor from *Staphylococcus aureus*: antibody response and resistance against intraperitoneal infection // Acta pathol. et microbiol. scand. C.—1985.—9, N 2—3.—P. 53—58.
46. Colque-Navarro P., Palma M., Soderquist B., Flock J.-I. Antibody responses in patients with Staphylococcal septicemia against two *Staphylococcus aureus* fibrinogen binding proteins: clumping factor and an extracellular fibrinogen binding protein // Clin. and Diagn. Lab. Immunol.—2000.—7, N 1.—P. 14—20.
47. Green C., McDevitt D., Francois P., Vaudaux P., Lew D., Foster T. Adhesion properties of mutants of *Staphylococcus aureus* defective in fibronectin-binding proteins and studies on the expression of *fnb* genes // Mol. Microbiol.—1995.—17, N 6.—P. 1143—1152.
48. Proctor R., Hamill R., Mosher D., Textor J., Olbrantz P. Effects of subinhibitory concentrations of antibiotics on *Staphylococcus aureus* interactions with fibronectin // J. Antimicrob. Chem.—1983.—12, Suppl. C.—P. 85—95.
49. Switalski L., Ryden C., Rubin K., Ljungh A., Hook M., Wadstrom T. Binding of fibronectin to *Staphylococcus* strains // Infect. Immunol.—1983.—42, N 2.—P. 628—633.
50. Flock J.-I., Hienz S., Schennings T., Heimdahl A. Recon-

- sideration of the role for fibronectin binding in endocarditis caused by *Staphylococcus aureus* // Infect. Immunol.—1996.—64, N 5.—P. 1876—1878.
51. Sinha B., Francois P., Que Y., Hussain M., Heilmann C., Moreillon P., Lew D., Krause K., Peters G., Herrmann M. Heterologously expressed *Staphylococcus aureus* fibronectin-binding proteins are sufficient for invasion of host cells // Infect. Immunol.—2000.—68, N 12.—P. 6871—6878.
  52. Patti J., Allen B., McGavin M., Hook M. MSCRAMM-mediated adherence of microorganisms to host tissues // Annu. Rev. Microbiol.—1994.—48.—P. 585—617.
  53. House-Pompeo K., Xu Y., Joh D., Speziale P., Hook M. Conformational changes in the fibronectin binding MSCRAMMs are induced by ligand binding // J. Biol. Chem.—1996.—271, N 3.—P. 1379—1384.
  54. Casolini F., Visai L., Joh D., Canaldi P., Toniolo A., Hook M., Speziale P. Antibody response to fibronectin-binding adhesin Fnbp A in patients with *Staphylococcus aureus* infections // Infect. Immunol.—1998.—66, N 11.—P. 5433—5442.
  55. Speziale P., Joh D., Visai L., Bozzini S., House-Pompeo K., Lindeberg M., Hook M. A monoclonal antibody enhances ligand binding of fibronectin MSCRAMM (adhesin) from *Streptococcus dysgalactiae* // J. Biol. Chem.—1996.—271, N 3.—P. 1371—1378.
  56. Luk M.-C., Flock J.-J., Wadstrom T. Detection in rabbit sera of blocking antibodies against Staphylococcal fibronectin binding protein by enzyme-linked immunosorbent assay // FEMS Microbiol. Immunol.—1989.—1, N 8—9.—P. 505—510.
  57. Sun Q., Smith G., Zahradka C., McGavin M. Identification of D-motif epitopes in *Staphylococcus aureus* fibronectin-binding protein for the production of antibody inhibitors of fibronectin binding // Infect. Immunol.—1997.—65, N 2.—P. 537—543.
  58. Mato W., Jonsson P., Muller H. Opsonization of *Staphylococcus aureus* with fibronectin binding protein antiserum induces protection in mice // Microbiol. Pathogen.—1995.—19, N 1.—P. 895—907.
  59. Rozalska B., Wadstrom T. Protective opsonic activity of antibodies against fibronectin-binding proteins (FnBPs) of *Staphylococcus aureus* // Scand. J. Immunol.—1993.—37, N 5.—P. 575—580.
  60. Schennings T., Heimdahl K., Coster K., Flock J.-J. Immunization with fibronectin binding protein from *Staphylococcus aureus* protects against experimental endocarditis in rats // Microbiol. Pathogen.—1993.—15, N 3.—P. 227—236.
  61. McGavin M., Krajewska-Pietrasik D., Ryden C., Hook M. Identification of *Staphylococcus aureus* extracellular matrix-binding protein with broad specificity // Infect. Immunol.—1993.—61, N 6.—P. 2479—2485.

УДК 579.86.861.2:616-092.18  
Надійшла до редакції 26.01.01