

## ·综述·

## 分散蛋白 B 的研究进展

陈珊珊<sup>1,2</sup> 齐霞<sup>1,2</sup>综述 赵蕾<sup>2</sup>审校(1. 口腔疾病研究国家重点实验室, 四川大学;  
2. 四川大学华西口腔医院牙周科 成都 610041)

**[摘要]** 细菌自身合成的细胞外多糖是生物膜抵抗抗菌物质和宿主免疫成分的重要保护屏障, 因此降解细胞外多糖或抑制其合成是目前研发抗生物膜药物的热点之一。分散蛋白 B 是近年来在牙周可疑致病菌伴放线嗜血杆菌生物膜中发现的一种  $\beta$ -己糖苷酶, 具有降解细胞外多糖的作用, 是一种潜在的临床抗微生物膜感染类药物。本文就分散蛋白 B 及其结构和作用机制以及应用等研究进展作一综述。

**[关键词]** 分散蛋白; 牙菌斑; 牙周病; 细胞外多糖; 生物膜分散; 抗微生物膜药剂

**[中图分类号]** Q 55 **[文献标志码]** A **[doi]** 10.7518/gjkq.2013.01.012

**Research progress on dispersin B** Chen Shanshan<sup>1,2</sup>, Qi Xia<sup>1,2</sup>, Zhao Lei<sup>2</sup>. (1. State Key Laboratory of Oral Diseases, Sichuan University, Chengdu 610041, China; 2. Dept. of Periodontics, West China Hospital of Stomatology, Sichuan University, Chengdu 610041, China)

**[Abstract]** Extracellular polysaccharide, synthesized by the bacteria in the biofilm, is the vital barrier which protect the biofilm against antimicrobial agents and host immune components. Therefore, researches focus on the anti-biofilm agents which exhibit the capability to degrade the extracellular polysaccharide or inhibit its synthesis are of high interest. Dispersin B, a  $\beta$ -N-acetylglucosaminidase produced by the gram-negative periodontal pathogen *Actinobacillus actinomycetemcomitans*, is reported to show the effect to degrade extracellular polysaccharide recently, and it may be possess the potential of using as an anti-biofilm agents in clinic. This review will summarize the recent research progress on the structure, mechanism of action and application of dispersin B.

**[Key words]** dispersin; dental plaque; periodontal disease; extracellular polysaccharide; biofilm detachment; anti-biofilm agent

生物膜是细菌在不利于自身生存的环境条件下黏附于物体或活性组织表面并被自身产生的细胞外多糖 (extracellular polysaccharide, EPS) 所包裹形成的一种与浮游细菌生长方式截然不同的微生物落, 是细菌适应生存环境所形成的特殊结构<sup>[1]</sup>。65% 的人类细菌感染性疾病与生物膜形成有关<sup>[2]</sup>, 即生物膜是龋病和牙周病这两大口腔高发疾病的始动因素。生物膜一旦形成, 细菌可对抗生素产生高度的耐药性, 而这一高度的耐药性与 EPS 的多网状屏障结构密切相关。细菌释放的毒性成分刺激机体产生大量的特异性抗体及细胞因子, 而 EPS 阻挡了这些免疫成分渗入生物膜, 使其在感

染局部形成免疫复合物, 损伤周围组织, 加重炎症破坏; 因此, 寻找一种可阻断 EPS 形成或者可降解 EPS、破坏生物膜结构的新型药物的研究则备受关注。分散蛋白 (dispersin, Dsp) B 是一种近年来在牙周可疑致病菌伴放线嗜血杆菌生物膜中发现的具有降解 EPS 功能的  $\beta$ -己糖苷酶, 本文就其最新的研究作一综述。

## 1 分散蛋白 B

伴放线嗜血杆菌是一种与侵袭性牙周炎密切相关的牙周可疑致病菌<sup>[3]</sup>, 其所形成的附着稳固的菌斑生物膜, 可抵抗洗涤剂、蛋白酶、热和超声等的清除作用; 然而在生物膜主体结构附近, 会逐渐形成新的非对称性和分散的独立菌落克隆。Kaplan 等<sup>[4-6]</sup>发现, 成熟的伴放线嗜血杆菌菌斑生物膜向外释放的单独或成簇的细菌, 牢固地附着在新的位点并形成新的菌落, 从而促进生物膜的

**[收稿日期]** 2012-02-08; **[修回日期]** 2012-08-22

**[基金项目]** 国家自然科学基金资助项目 (30801295); 高等学校博士学科点专项科研新教师基金资助项目 (200806101107)

**[作者简介]** 陈珊珊 (1988—), 女, 安徽人, 硕士

**[通讯作者]** 赵蕾, Tel: 028-85501439

整体扩散。他们用其临床野生株 CU1000N 与同源变异株 JK1002/JK1017/JK1022/JK1023 进行比较发现, 变异株可形成附着性生物膜, 但却不能向周围递质中释放细菌。相关变异位点基因为 *rmlA*、*wzt*、*dspA* 和 *dspB*, 编码蛋白形成伴放线嗜血杆菌的 O 多糖 (O polysaccharide, O-PS) 成分。应用重组质粒使 *rmlA*、*wzt*、*dspA* 和 *dspB* 基因在变异株中再次表达时, 即可恢复合成 O-PS、释放细菌和形成新生物膜的功能。这就提示, O-PS 是伴放线嗜血杆菌成熟菌斑生物膜分散释放细菌的关键性因素。

有研究者<sup>[7-8]</sup>将纯化了的 *dspB* 基因表达产物 DspB 蛋白加入培养基后, 可以使 JK1023 变异株形成的生物膜恢复释放细菌的能力, DspB 蛋白的这种作用不仅局限于伴放线嗜血杆菌生物膜, 而且还对其他一些产聚-N-乙酰氨基葡萄糖 (poly-N-acetylglucosamine, PGA) 细菌的生物膜同样有效, 如革兰阳性菌 (葡萄球菌属) 和革兰阴性菌 (胸膜肺炎防线杆菌、大肠埃希菌、鼠疫杆菌、假单胞菌属)。尽管其他细菌, 例如路邓葡萄球菌等的基因组中存在与伴放线嗜血杆菌 *dspB* 同源的基因, 但目前尚未发现这些细菌可产生具有 DspB 功能的蛋白质<sup>[9]</sup>。

## 2 分散蛋白 B 的结构和作用机制

### 2.1 DspB 的结构

DspB 为一种相对分子质量  $4.0 \times 10^4$ 、包含 361 个氨基酸的可溶性  $\beta$ -PGA 酶, 可在一个较窄的 pH 范围内保持高度活性及稳定性<sup>[9]</sup>。与人类及其他细菌的  $\beta$ -己糖胺酶相比较, DspB 的结构相对简单, 仅包含一个单链的结构域; 但与  $\alpha$ -螺旋或  $\beta$ -链折叠所形成的经典桶装结构不同, 此单链结构域可进一步分为许多亚结构。DspB 主要的亚结构 1~60 残基和 91~358 残基与糖基水解酶家族 (glycoside hydrolase family, GHF)-20 其他成员催化域的折叠相一致, 提示 DspB 属于 GHF-20。

尽管 DspB 与 GHF-20 其他成员的结构相似, 但两者活性位点的各基团位置和构象却有明显的差异, 因此在底物特异性、结合和水解以及产物的释放过程中存在着异同。DspB 的作用底物为  $\beta$ -(1,6)-连接-PGA 多聚体, GHF-20 家族的  $\beta$ -己糖胺酶其他成员的作用底物则为  $\beta$ -(1,4)-连接-PGA 多聚体<sup>[10-12]</sup>。根据水解酶新命名法则, DspB 的底物结合位点可分成 +1 还原端亚位点和 -1 非

还原端亚位点<sup>[13]</sup>。Kerrigan 等<sup>[12]</sup>通过对 DspB 晶体结构进行建模和生化分析发现, 精氨酸<sup>27</sup>、组氨酸<sup>120</sup>、天冬氨酸<sup>183</sup>、谷氨酸<sup>184</sup>和酪氨酸<sup>278</sup>以及色氨酸 (tryptophan, Trp)<sup>216</sup>、Trp<sup>237</sup>和 Trp<sup>330</sup>组成了 -1 亚位点, 参与了催化反应和或底物结合的过程。

Manuel 等<sup>[14]</sup>在用位点定向突变技术探讨 DspB 中活性位点的作用机制时发现, DspB 是以一种底物辅助机制发挥作用的, 即其外切酶的活性作用可使底物末端 PGA 残基从非还原端释放出来。DspB 的活性位点包含三个高度保守的酸性残基, 一些芳香族残基和一个精氨酸。通过比较 DspB 完整蛋白质和不同活性位点缺陷蛋白质的功能发现: 1) 高度保守酸性基团 D183、E184 和 E332, 在催化反应中参与糖苷键的裂解和中间产物的生成; 2) 芳香族基团 Y187、Y278 和 W237 可能参与到与底物的特异性结合, Y187 和 PGA 之间氢键的相互作用有助其稳定过渡; 3) E332 和精氨酸位点 R27 可在水解过程中结合 PGA 末端, 参与其稳定过渡。

### 2.2 DspB 的作用机制

Izano 等<sup>[7-8]</sup>通过比较伴放线嗜血杆菌临床野生株 CU1000N 与 O-PS 变异株菌斑生物膜形成不同阶段的结构形态时发现: CU1000N 生物膜在成熟过程中逐渐形成菌落内部的空腔, 生物膜空腔中充满非聚集的浮游细胞; 生物膜外层细胞高度聚集, 靠近空腔或空腔内为结构松散的非聚集型细胞; 当空腔逐渐接近生物膜表层可导致生物膜破溃, 悬浮细菌随即释放到周围递质中, 形成新的生物膜菌落, 引起生物膜分散。缺乏产生 DspB 能力的伴放线嗜血杆菌 O-PS 变异菌株形成的生物膜, 虽然在形状和大小上与野生菌株生物膜相似, 但其内部缺乏充满非聚集浮游细胞的空腔, 从而丧失了生物膜分散的能力。这就提示, DspB 在生物膜菌落内部非聚集浮游细胞的产生中起重要的作用, 而氧张力、pH、温度或菌落中营养成分等菌落内部微环境的改变, 是诱发 *dspB* 基因表达的可能因素<sup>[4-5]</sup>。

DspB 形成伴放线嗜血杆菌菌斑生物膜内部空腔的原因之一, 在于 DspB 降解生物膜基质中的 EPS, 使其以一种主动分散生物膜的方式发挥作用<sup>[15-16]</sup>。EPS 的大量合成是菌斑生物膜进入成熟阶段的标志, EPS 占生物膜总体积分数的 90% 以上, 可介导生物膜内细菌的表面附着和细胞间相互黏附, 保护生物膜细胞逃避宿主的先天免疫防御,

如细胞吞噬和抗菌肽的清除作用。DspB 为一种可溶性  $\beta$ -PGA 酶, 可以特异性地水解  $\beta$ -(1,6)-PGA 多聚体, 降解伴放线嗜血杆菌 EPS 重要的组成成分 PGA 及其残基, 从而致生物膜形成空腔样结构。根据细菌种属差异, EPS 可以分为细胞连接多糖  $\beta$ -1,6-PGA 多聚体和表多糖细胞间黏附素 (exopolysaccharide intercellular adhesin, PIA), 可形成 PGA 多聚体或 PIA 的菌种有大肠埃希菌、变异链球菌、表皮葡萄球菌、金黄色葡萄球菌、猪胸膜肺炎放线杆菌和幽门螺杆菌等<sup>[10,16-17]</sup>。大肠埃希菌等编码合成 PGA 所需的基因为 *pga*ABCD, 葡萄球菌属合成的 PIA 取决于 *ica*ABC 基因。比对和分析二者的基因序列和基因产物的结构显示: *pga*和 *ica*基因具有明显的同源性; 大肠埃希菌 *pgaC* 基因、伴放线嗜血杆菌 *pgaC* 和表皮葡萄球菌 *icaA* 基因的编码产物氨基己糖表聚糖结构异常相近, 均为 DspB 的降解底物; 胸膜肺炎嗜血杆菌的 *pga*ABCD 基因序列与伴放线嗜血杆菌合成 EPS 的基因簇同源<sup>[15]</sup>。这就提示, DspB 可能具有降解破坏其他可合成 PGA 和或 PIA 细菌生物膜 EPS 的功能。

DspB 形成伴放线嗜血杆菌菌斑生物膜内部空腔的另一个原因, 在于 DspB 可能具有降解 IV 型菌毛的能力。伴放线嗜血杆菌致病的关键因素之一, 是其特征性结构菌毛对组织的黏附作用。其菌毛的主要亚单位菌毛相关蛋白 (fibril-associated protein, Fap)-1 由 *fap-1* 基因编码<sup>[18]</sup>, 单个的菌毛亚单位呈规则的螺旋结构, 与 IV 型菌毛结构相似<sup>[19]</sup>。Fap-1 蛋白位点的变异可导致细菌不能产生菌毛或其黏附能力丧失。Fap-1 蛋白包含阳性 N 端前导序列以及螺旋状的疏水 N-末端和 C-末端变化区域, 其中 C-末端变化区域对菌毛的成束和附着能力非常重要<sup>[20]</sup>。Fap-1 蛋白存在翻译后修饰, 可能主要为糖基化作用, 即糖基化其 C-末端的 7 个在黏附中起重要作用的丝氨酸和天冬酰胺<sup>[21]</sup>。研究推测, Fap-1 蛋白的糖基化可能有 PGA 的参与, 而且 DspB 可能通过裂解 Fap-1 蛋白中的 PGA 来改变细菌菌毛的黏附特性, 从而导致菌斑生物膜中细菌从凝集状态转化为单个悬浮状态。

### 3 分散蛋白 B 的应用

自然界中 99% 的细菌以生物膜的形式存在, 菌斑生物膜的复杂结构增加了致病菌对抗生素的抵抗作用, 是导致慢性感染性疾病治疗失败的重

要原因。DspB 作为一种生物膜重要的组分 EPS 的降解酶, 具有干扰生物膜完整结构的形成, 促进抗生素深入生物膜内部的重要的临床应用价值, 因此其一经发现立刻引起了学者们的关注。

#### 3.1 DspB 可促进生物膜的分离

DspB 可抑制多种细菌生物膜的形成或促进生物膜从附着材料的表面分离。猪胸膜肺炎放线杆菌为一种人畜共存性致病菌, 其产生的毒素可导致肺部组织的严重损伤。PGA 对于猪胸膜肺炎放线杆菌生物膜的形成和成熟非常重要。Izano 等<sup>[7]</sup>发现: 在含猪胸膜肺炎放线杆菌的培养基中加入  $20 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  的 DspB, 可完全抑制其生物膜的形成; 而在已经形成 24 h 的成熟生物膜中加入同样质量浓度的 DspB, 仅需 2 min 即可以造成生物膜从培养板底部脱落。Kaplan 等<sup>[22]</sup>同样发现: 在不影响细菌活性的情况下, DspB 可以导致 4 株表皮葡萄球菌成熟生物膜从附着材料的表面脱落; 即便在  $40 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$  较低的质量浓度条件下, DspB 仍可导致 50% 以上的生物膜从附着材料的表面脱落。

Chaignon 等<sup>[23]</sup>在分别对比了 DspB 对表皮葡萄球菌 5、444、RP62A, 里昂葡萄球菌 47, 金黄色葡萄球菌 383 等葡萄球菌属细菌生物膜的分离作用后发现, DspB 可有效地破坏具有 PGA 合成能力的表皮葡萄球菌细菌生物膜, 而对缺乏 PGA 合成能力的里昂葡萄球菌 47 和金黄色葡萄球菌 383 的生物膜无破坏作用, 证实 DspB 主要依靠降解 PGA 来造成对表皮葡萄球菌生物膜的破坏。Kaplan 等<sup>[6]</sup>发现, DspB 不仅可以促进伴放线嗜血杆菌生物膜的分离, 还可抑制细菌的自凝集。这就提示 DspB 在降解 PGA 和破坏伴放线嗜血杆菌生物膜的同时, 还可进一步阻止浮游状细菌的再聚集, 减缓生物膜的再次形成。

#### 3.2 DspB 增加生物膜对抗菌物质的敏感性

DspB 可使细菌生物膜对抗菌物质的敏感性增加。Izano 等<sup>[7]</sup>联合应用 DspB 和氨苄西林处理猪胸膜肺炎放线杆菌生物膜, 4 h 后测量其菌落生成单位 (colony-forming unit, CFU) 发现: 在 DspB 存在时, 其 CFU 下降 2.5 个对数单位; 而单纯以氨苄西林处理其生物膜, 其 CFU 仅下降 1.5 个对数单位。Donelli 等<sup>[24]</sup>发现, DspB 可增加头孢孟多酯钠对金黄色葡萄球菌和表皮葡萄球菌的杀菌活性。Lee 等<sup>[25]</sup>则证实:  $20 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  的 DspB 和  $50 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  的利福平共同作用于微流体设备上的表皮葡萄球菌生物膜, 可将其完全消除; 而单独应用 DspB

或利福平, 则不能完全消除其生物膜。这就提示, DspB 在发挥其抗微生物膜作用的同时也可改变抗生素向菌落中扩散的能力, 促进抗生素到达作用靶点。

DspB 也可增加生物膜对某些化学成分的敏感性。阴离子表面活性剂十二烷基硫酸钠 (sodium dodecyl sulfate, SDS) 对多种口腔细菌具有杀菌作用, 可以穿透细胞质膜导致细菌胞体溶解, SDS 对浮游伴放线嗜血杆菌的最小抑菌质量分数为 0.01%。Izano 等<sup>[26]</sup>发现, 单独应用质量分数 0.01% 的 SDS 不能明显地破坏伴放线嗜血杆菌生物膜, 而细菌生物膜经 DspB 预处理后, SDS 可以使其 CFU 数量明显下降。Izano 等<sup>[27]</sup>发现, 经 DspB 预处理的表皮葡萄球菌生物膜对阳离子去污剂西吡氯铵的敏感性明显增加, 然而 DspB 却对表皮葡萄球菌浮游细胞无类似的作用。这就表明, DspB 能使生物膜对抗菌物质的敏感性增加, 而其自身无抗菌作用。Darouiche 等<sup>[28]</sup>将 DspB 和三氯生包被的导管植入试验兔的皮下, 接种金黄色葡萄球菌到导管的表面, 结果细菌的定植率从未包被组的 97% 下降到包被组的 3%, 两者的协同作用表明, DspB 增加了生物膜定植菌对三氯生的敏感性。综上所述, 联合应用抗菌物质和非细胞毒性的 DspB 可为口腔疾病和各种医疗器械相关感染性疾病提供新的治疗方案。

### 3.3 DspB 的初期临床研究

由于生物膜的抗生素耐药性使传统抗微生物药物的应用受到了一定的限制, 因此, Lu 等<sup>[29]</sup>构建了一种既有溶菌作用又能表达生物膜降解酶 DspB 的细菌噬菌体, 这种表达 DspB 的噬菌体相对于无 DspB 酶活性的噬菌体能更有效地清除大肠埃希菌生物膜。该研究提示, DspB 与细菌噬菌体的结合可为医疗领域提供控制细菌生物膜感染的新思路。

Darouiche 等<sup>[28]</sup>发现, DspB 和三氯生的协同作用可有效地控制由金黄色葡萄球菌、表皮葡萄球菌和白色假丝酵母菌等病原菌导致的中心静脉导管感染, 二者协同具有更强的抗菌和抗生物膜效用。DspB-三氯生创口凝胶对金黄色葡萄球菌、表皮葡萄球菌等创伤相关微生物有更持久的抗菌活性, 其抗菌和抗生物膜的特性使之在创口敷料和皮肤护理等产品中具有潜在的应用价值。

鉴于 DspB 巨大的临床应用前景, 目前部分学者或者公司已经开始研发 DspB 的有效生产途

径, 并取得了一定的进展。Yakandawala 等<sup>[30]</sup>设计并构建了缺乏腺嘌呤-胞嘧啶-腺嘌呤 (adenine-cytosine-adenine, ACA) 的 *dspB* 基因, 在大肠埃希菌中合成重组质粒。在 T5 和 T7 启动子作用下合成的 ACA-缺乏型 *dspB* mRNA 表达水平明显高于野生型者, 使 DspB 的表达水平显著增加了 34.9% 和 77.6%。为了进一步快速而有效地测量 DspB 的表达水平, 有研究者构建了可以表达绿色荧光蛋白 (green fluorescence protein, GFP) 的 DspB-GFP 融合蛋白重组质粒 pT7*dspBGFP*。目前的研究证实, ACA-缺乏型 *dspB* 质粒可有效地增加 DspB 的表达水平, 且绿色荧光信号提高了 DspB 的定量和标志优势, 为 DspB 的商业化批量生产提供了技术支撑。

## 4 展望

目前, 有关 DspB 的研究尚处于临床前及初期阶段, 且主要为针对单菌种生物膜的研究, 而对于复杂生物膜尤其是口腔菌斑生物膜群体的研究尚有待深入。尽管 DspB 对人体细胞无毒性作用<sup>[24]</sup>, 但由于生物膜在分散过程中菌落细胞的扩散可增加血流感染和形成新病灶的风险, 因此, DspB 可能需要与抗菌物质联合应用, 或其应用将局限于预防治疗。酶的成本相对于传统化学消毒剂和抗生素高, 也限制了其研究和应用; 然而, DspB 这种生物膜降解酶为研究者们从 EPS 干扰角度控制菌斑生物膜提供了新的思路, 对其深入研究必将对研发更有效地预防和治疗微生物膜感染药物奠定丰富的理论基础。

## 5 参考文献

- [1] Costerton JW, Stewart PS, Greenberg EP. Bacterial biofilms: A common cause of persistent infections[J]. *Science*, 1999, 284(5418): 1318-1322.
- [2] Potera C. Forging a link between biofilms and disease[J]. *Science*, 1999, 283(5409): 1837, 1839.
- [3] Slots J, Ting M. *Actinobacillus actinomycetemcomitans* and *Porphyromonas gingivalis* in human periodontal disease: Occurrence and treatment[J]. *Periodontol* 2000, 1999, 20: 82-121.
- [4] Kaplan JB, Fine DH. Biofilm dispersal of *Neisseria subflava* and other phylogenetically diverse oral bacteria[J]. *Appl Environ Microbiol*, 2002, 68(10): 4943-4950.
- [5] Kaplan JB, Meyenhofer MF, Fine DH. Biofilm growth and detachment of *Actinobacillus actinomycetemcomitans* [J]. *J Bacteriol*, 2003, 185(4): 1399-1404.

- [6] Kaplan JB, Ragunath C, Ramasubbu N, et al. Detachment of *Actinobacillus actinomycetemcomitans* biofilm cells by an endogenous beta-hexosaminidase activity[J]. J Bacteriol, 2003, 185(16):4693-4698.
- [7] Izano EA, Sadvovskaya I, Vinogradov E, et al. Poly-N-acetylglucosamine mediates biofilm formation and antibiotic resistance in *Actinobacillus pleuropneumoniae*[J]. Microb Pathog, 2007, 43(1):1-9.
- [8] Itoh Y, Wang X, Hinnebusch BJ, et al. Depolymerization of beta-1,6-N-acetyl-D-glucosamine disrupts the integrity of diverse bacterial biofilms[J]. J Bacteriol, 2005, 187(1):382-387.
- [9] Frank KL, Patel R. Poly-N-acetylglucosamine is not a major component of the extracellular matrix in biofilms formed by icaADBC-positive *Staphylococcus lugdunensis* isolates[J]. Infect Immun, 2007, 75(10):4728-4742.
- [10] Ramasubbu N, Thomas LM, Ragunath C, et al. Structural analysis of dispersin B, a biofilm-releasing glycoside hydrolase from the periodontopathogen *Actinobacillus actinomycetemcomitans*[J]. J Mol Biol, 2005, 349(3):475-486.
- [11] Kaplan JB, Velliyagounder K, Ragunath C, et al. Genes involved in the synthesis and degradation of matrix polysaccharide in *Actinobacillus actinomycetemcomitans* and *Actinobacillus pleuropneumoniae* biofilms[J]. J Bacteriol, 2004, 186(24):8213-8220.
- [12] Kerrigan JE, Ragunath C, Kandra L, et al. Modeling and biochemical analysis of the activity of antibiofilm agent dispersin B[J]. Acta Biol Hung, 2008, 59(4):439-451.
- [13] Davies GJ, Wilson KS, Henrissat B. Nomenclature for sugar-binding subsites in glycosyl hydrolases[J]. Biochem J, 1997, 321(Pt 2):557-559.
- [14] Manuel SG, Ragunath C, Sait HB, et al. Role of active-site residues of dispersin B, a biofilm-releasing beta-hexosaminidase from a periodontal pathogen, in substrate hydrolysis[J]. FEBS J, 2007, 274(22):5987-5999.
- [15] Vuong C, Voyich JM, Fischer ER, et al. Polysaccharide intercellular adhesin (PIA) protects *Staphylococcus epidermidis* against major components of the human innate immune system[J]. Cell Microbiol, 2004, 6(3):269-275.
- [16] Wang X, Preston JF 3rd, Romeo T. The pgaABCD locus of *Escherichia coli* promotes the synthesis of a polysaccharide adhesin required for biofilm formation[J]. J Bacteriol, 2004, 186(9):2724-2734.
- [17] Bowen WH, Koo H. Biology of *Streptococcus mutans*-derived glucosyltransferases: Role in extracellular matrix formation of cariogenic biofilms[J]. Caries Res, 2011, 45(1):69-86.
- [18] Kachlany SC, Planet PJ, Bhattacharjee MK, et al. Non-specific adherence by *Actinobacillus actinomycetemcomitans* requires genes widespread in bacteria and archaea [J]. J Bacteriol, 2000, 182(21):6169-6176.
- [19] Kachlany SC, Planet PJ, Desalle R, et al. Flp-1, the first representative of a new pilin gene subfamily, is required for non-specific adherence of *Actinobacillus actinomycetemcomitans*[J]. Mol Microbiol, 2001, 40(3):542-554.
- [20] Kaplan JB, Kokeguchi S, Murayama Y, et al. Sequence diversity in the major fimbrial subunit gene (flp-1) of *Actinobacillus actinomycetemcomitans* [J]. Oral Microbiol Immunol, 2002, 17(6):354-359.
- [21] Inoue T, Ohta H, Tanimoto I, et al. Heterogeneous post-translational modification of *Actinobacillus actinomycetemcomitans* fimbriin[J]. Microbiol Immunol, 2000, 44(8):715-718.
- [22] Kaplan JB, Ragunath C, Velliyagounder K, et al. Enzymatic detachment of *Staphylococcus epidermidis* biofilms[J]. Antimicrob Agents Chemother, 2004, 48(7):2633-2636.
- [23] Chaignon P, Sadvovskaya I, Ragunath Ch, et al. Susceptibility of staphylococcal biofilms to enzymatic treatments depends on their chemical composition[J]. Appl Microbiol Biotechnol, 2007, 75(1):125-132.
- [24] Donelli G, Francolini I, Romoli D, et al. Synergistic activity of dispersin B and cefamandole nafate in inhibition of staphylococcal biofilm growth on polyurethanes[J]. Antimicrob Agents Chemother, 2007, 51(8):2733-2740.
- [25] Lee JH, Kaplan JB, Lee WY. Microfluidic devices for studying growth and detachment of *Staphylococcus epidermidis* biofilms [J]. Biomed Microdevices, 2008, 10(4):489-498.
- [26] Izano EA, Wang H, Ragunath C, et al. Detachment and killing of *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* biofilms by dispersin B and SDS[J]. J Dent Res, 2007, 86(7):618-622.
- [27] Izano EA, Amarante MA, Kher WB, et al. Differential roles of poly-N-acetylglucosamine surface polysaccharide and extracellular DNA in *Staphylococcus aureus* and *Staphylococcus epidermidis* biofilms[J]. Appl Environ Microbiol, 2008, 74(2):470-476.
- [28] Darouiche RO, Mansouri MD, Gawande PV, et al. Antimicrobial and antibiofilm efficacy of triclosan and dispersin B combination[J]. J Antimicrob Chemother, 2009, 64(1):88-93.
- [29] Lu TK, Collins JJ. Dispersing biofilms with engineered enzymatic bacteriophage[J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2007, 104(27):11197-11202.
- [30] Yakandawala N, Gawande PV, LoVetri K, et al. Enhanced expression of engineered ACA-less beta-1,6-N-acetylglucosaminidase (dispersin B) in *Escherichia coli*[J]. J Ind Microbiol Biotechnol, 2009, 36(10):1297-1305.