# 乳酸菌逆环境下分裂及调控的研究进展

陈世伟<sup>1</sup>,韩雪<sup>1\*</sup>,张兰威<sup>1,2</sup>,单毓娟<sup>1</sup>

(1. 哈尔滨工业大学食品科学与工程系,哈尔滨 150090; 2. 中国海洋大学食品科学与工程学院,青岛 266000)

摘要: 乳酸菌因发酵性能、益生和拮抗能力被广泛应用于食品、工业及医学等领域,但实际生产中,不利环 境会抑制乳酸菌的活性和分裂能力,导致活性菌体数量无法提高,限制其在生产中的应用。本文借鉴多种细菌 的分裂机制及调控研究,分别介绍了以"DNA 复制"、"分裂体形成"和"子细胞分离"为主的细菌分裂周期过程, 着重介绍了与乳酸菌一致的分裂关键蛋白染色体复制起始蛋白(chromosomal replication initiator protein DnaA, DnaA)和类微管丝状温敏感突变体蛋白 Z(Filamenting temperature sensitive mutant Z, FtsZ); 归纳总结了逆环 境对细菌分裂周期关键蛋白表达、活性及定位的影响;根据已报道乳酸菌抗胁迫环境的调控研究,简述了菌 体细胞分裂调控的可能机制。由于针对乳酸菌细胞分裂的相关研究鲜有报道,本文拟通过已报道的分裂机制, 对乳酸菌抗逆环境下分裂的研究提供借鉴,为乳酸菌分裂调控研究提供新思路。

# Research progress on the cell division and regulation of lactic acid bacteria at stress condition

CHEN Shi-Wei<sup>1</sup>, HAN Xue<sup>1\*</sup>, ZHANG Lan-Wei<sup>1,2</sup>, SHAN Yu-Juan<sup>1</sup>

Department of Food Science and Engineering, Harbin Institute of Technology, Harbin 150090, China;
 College of Food Science and Engineering, Ocean University of China, Qingdao 266000, China)

**ABSTRACT:** Lactic acid bacteria are widely used in food manufacturing, industrial and medical field due to their fermentation performance, probiotic and anti-pathogenic bacteria ability. In the actual production, fermentation and division capacity of bacteria cells are limited when cells involved in various un-favored stress conditions, resulting in a low quality and amount of viable cells, limiting its application in production. In this paper, the bacterial cell cycle processes, included 'DNA replication', 'mitosis' and the 'generation of daughter cells' were introduced, and focused on the key cell division proteins (chromosomal replication initiator protein DnaA, DnaA) homologous with the lactic acid bacteria cells and filamenting temperature sensitive mutant Z (FtsZ). We summarized the effect of stress condition on the expression, activity, and localization of the key proteins of cell division cycle. Based on the researches on regulation of bacterial cells to against stress conditions, we analyzed the possible mechanisms of regulation of cell division at stress conditions. Due to few reports about the lactic acid bacterial cell cycle, this paper intended to provide references for the study of the lactic acid bacterial cell division at the stress environment and new ideas for the research of lactic acid bacteria cell division regulation.

基金项目: 国家自然科学基金项目(31972972)、黑龙江省自然科学基金项目(C2018033)

Fund: Supported by National Natural Science Foundation of China (31972972), the Natural Science Foundation of Heilongjiang Province of China (C2018033)

<sup>\*</sup>通讯作者:韩雪,博士,副教授,博士生导师,主要研究方向为食品生物技术。E-mail: xhan@hit.edu.cn

<sup>\*</sup>Corresponding author: HAN Xue, Ph.D, Associate Professor, School of Chemistry and Chemical Engineering, Harbin Institute of Technology, NO.92, Xidazhi Street, Nangang District, Harbin, 150090, China. E-mail: xhan@hit.edu.cn

KEY WORDS: lactic acid bacteria; cell division; stress conditions; regulation; proliferation

## 1 引 言

乳酸菌是工业乳酸生产、发酵乳制品、发酵水果蔬菜、 发酵水产品、发酵肉制品、功能性食品等领域的重要发酵 菌株,其因调节免疫、缓解高血压及胃肠道疾病等益生性 能,受到全世界研究者的广泛关注<sup>[1,2]</sup>。乳酸菌生产能力和 益生性能既受到固有的菌种类型和功能基因的影响,还直 接地依赖于菌体活性和数量<sup>[3]</sup>。在实际应用过程中, 乳酸 菌的活性和数量均会受到逆环境的不利影响,导致乳酸菌 生产和利用效率低下<sup>[4,5]</sup>。菌体分裂是细菌繁殖的基本生物 学过程<sup>[6]</sup>,研究表明微生物发酵与菌体细胞的分裂情况密 切相关,促进菌体分裂可以大幅提高菌体产物生产率[7,8]。 乳酸菌应用过程中所面临的逆环境不仅不利于菌体的生物 活性,还会限制菌体分裂过程。如酸、盐、热、冷、饥饿、 氧化物等可以导致菌体丧失分裂能力,甚至死亡<sup>[9]</sup>,对乳 酸菌的生产和功能造成限制。因此, 对逆环境下菌体细胞 分裂及其调控进行研究, 以期有利于揭示乳酸菌抗逆性机 制,为提高乳酸菌的研究和应用提供理论基础。

#### 2 细菌分裂周期

上世纪 60 年代, Helmstetter 等<sup>[10]</sup>提出了原核细胞的"细胞周期(bacterial cell cycle)"模型,并逐渐被完善成为"细菌细胞分裂周期中心法则(the central dogma of the bacterial cell division cycle)"<sup>[11,12]</sup>。该法则指出,菌体分裂周期主要包括多个生物学过程,如图 1 所示: (1) B 时期,从上次菌体细胞分裂完成到染色体 DNA 复制的起始; (2) C 时期,从 DNA 复制的终止,因此也称为细胞 DNA 复制时期; (3) D 时期, DNA 复制的完成到菌体细胞分裂。

## 2.1 细菌 DNA 复制

DNA 复制的起始主要由 DnaA 引发。DnaA 具有三磷 酸腺苷酶(adenosine triphosphatase, ATPase)活性,与 ATP 结合后在复制起始位点(origin of replication, oriC)形成低聚 体结构,解开 DNA 双链结构,同时结合 DNA 复制相关的 各种蛋白及酶,形成复制体(replisome),引发 DNA 复制相关的 格种蛋白及酶,形成复制体(replisome),引发 DNA 复制<sup>[13]</sup>, 随后 DNA 通过复制叉进行双向复制<sup>[14,15]</sup>,并结束于 DNA 对向终止子(replication termini C, *terC*)<sup>[16]</sup>。在菌体复制时, 一些调控蛋白会阻止分裂相关蛋白在分裂位点聚集,以确 保每次分裂之前至少有一次完整的 DNA 复制<sup>[17]</sup>。DNA 复 制的关键是复制起始蛋白 DnaA,一旦 DnaA 受到干扰, DNA 的复制将会无法进行,进而导致菌体分裂相关蛋白 无法在分裂位点聚集,影响菌体分裂。

#### 2.2 细菌细胞分裂

DNA 复制完成后,染色体分离,菌体细胞进入分裂 阶段,菌体分裂是"细菌细胞分裂周期"的关键过程,包括 "分裂骨体的形成"、"分裂隔膜的形成"及"子细胞分离" 等<sup>[18]</sup>(如图 1)。



#### 2.2.1 细菌细胞分裂关键蛋白

自上世纪开始,许多研究者对原核细胞的分裂展开 了深入研究。1980年,Lutkenhaus等<sup>[19]</sup>发现了丝状温敏感 突变体基因Z(filamenting temperature sensitive mutant gene Z, *ftsZ*),随后他与Bi等<sup>[20]</sup>在1991年确认该基因编码的蛋 白为FtsZ,并通过免疫金染色电子显微镜 (Immunogold-staining electron microscopy)观察到FtsZ在菌 体正中的分裂位点组装。Ma等<sup>[21]</sup>通过荧光显微镜观察发 现,FtsZ在分裂位点形成一个连续的环状结构,称之为Z 环。但Strauss等<sup>[22]</sup>通过超分辨率显微镜观察发现,Z环实 际上是不连续的,其由未知结构的小簇FtsZ蛋白组成。随 后的研究发现,FtsZ蛋白小簇是蛋白复合体,复合体以 FtsZ形成的类环状结构为基础,其他参与分裂的蛋白按照 一定时间和空间顺序组装到该结构上,最终形成分裂骨架 环,指导菌体细胞形成分裂隔膜和细胞分裂,因此Z环又 被称为分裂体(divisome)<sup>[23-25]</sup>。

#### 2.2.2 Z环的基本组成和形成过程

尽管目前对于分裂的研究以一些致病菌为主,乳酸 菌菌体分裂的研究鲜有报道,但分裂相关的必需蛋白在不 同种类的细菌中具有广泛的保守性<sup>[18]</sup>,因此乳酸菌的分裂 机制可以借鉴其他菌种的相关研究。本文综合对 Escherichia coli(E. coli)、Bacillus subtilis(B. subtilis)、 Caulobacter crescentus(C. crescentus)及 Myxococcus sp.、 Streptococcus sp.、Staphylococcus sp.等多种细菌的研究和 描述,总结了 Z 环的基本组成和形成过程,如图 2 所示。 (1)首先是初级分裂骨架的形成。FtsZ 是最早出现在 分裂位点的蛋白,它在分裂位点的定位受到 Min 系统在空 间上的调控,如 MinBCD 蛋白等<sup>[26]</sup>,也受到类核核阻塞 (Nucleoid Occlusion, NO)系统在时间上的调节,如*E. coli*中 的 SlmA 蛋白<sup>[27]</sup>和 *B. subtilis*中的 Noc 蛋白<sup>[17]</sup>,以确保 FtsZ 在 DNA 复制完成后聚集于分裂位点。聚集后的 FtsZ 被细胞 膜锚定蛋白 ZipA<sup>[28,29]</sup>和 FtsA<sup>[30,31]</sup>蛋白直接结合固定在细胞 膜上,并排列成为聚合体,形成初级分裂骨架环。一些蛋白 也会促进 FtsZ 蛋白在分裂位点上的聚集,参与协调 Z 环的 组装和稳定性,如*E. coli*中的 ZapA<sup>[32]</sup>、ZapB<sup>[33]</sup>, *Myxococcus xanthus*中的 PomXYZ 复合蛋白<sup>[34]</sup>、*Streptococcus mutans*中 的 MapZ<sup>[35]</sup>等蛋白。在大多数细菌中,分裂骨架在分裂位点 的形成及其时间被认为是细胞分裂的第一步,这一复杂过 程涉及十数种基因、蛋白及调控系统。

(2) 初级分裂骨架环开始有序地结合下游分裂相关蛋白,并开始形成分裂隔膜。大部分下游蛋白为微管蛋白(filamentation thermosensitive, Fts 蛋白),主要包括: FtsE 和FtsX 蛋白复合体,主要调节分裂隔膜水解和分裂骨架活性<sup>[36,37]</sup>;FtsK 蛋白是联系染色体分离与分裂骨架形成这 2个生物学过程的桥梁<sup>[38]</sup>;复合蛋白 FtsQLB 与FtsEX 复合蛋白协同调节分裂体的活性<sup>[39]</sup>;FtsW 蛋白调节分裂隔膜形成过程中肽聚糖脂质II前体向细胞膜外翻转<sup>[40]</sup>;细胞壁合成蛋白,如 *Staphylococcus aureus* 中的 PBP1<sup>[41]</sup>、*E. coli* 中的FtsI(PBP3)<sup>[42]</sup>等,促进分裂隔膜合成:AmiA、AmiB、AmiC 等酰胺酶,水解分裂隔膜<sup>[43]</sup>。

(3) 各种蛋白结合到分裂骨架后, FtsN 蛋白会激活 Z 环的活性, 引发子细胞分离<sup>[44,45]</sup>。某些菌种会产生 FtsN 相 似的蛋白, 替代 FtsN 的作用, 但机制有所差别。如 *Shigella flexneri* 中的 ZapE 蛋白在菌体分裂的最后阶段直接与 FtsZ 结合, 激活分裂骨架, 形成收缩力<sup>[46]</sup>, 而 *C. crescentus* 中 的 DipI 蛋白在 Z 环形成最后阶段被结合到分裂位点, 与

FtsQLB 复合体相互作用, 激活菌体分裂<sup>[41]</sup>。

2.2.3 子细胞分离

分裂被激活后,细胞隔膜在细胞壁合成酶的作用下形 成,并在合成后迅速水解,子代菌体细胞随之分离。子细胞 分离的机制尚未完全定论。Li等<sup>[25]</sup>在观察*Mycobacterium tuberculosis*中的FtsZ蛋白聚合体时发现,FtsZ蛋白水解GTP 后会产生弯曲角度,为分裂环整体收缩提供动力,从而导致 菌体逐渐分裂。但 Daley等<sup>[47]</sup>认为FtsN蛋白会激活 Z环中 酰胺酶的活性,引发细胞隔膜的水解,促使子细胞分裂。 Coltharp等<sup>[48]</sup>也认为FtsZ不足以使子细胞分离,并从动力 学角度发现 Z环中FtsZ-GTP活性、FtsZ蛋白浓度以及其聚 合时间等均不符合子细胞分离所需,其产生的的收缩力并 不足以使菌体细胞壁膜缢裂。而 Proctor等<sup>[49]</sup>认为FtsZ在分 裂中主要的作用是结构支架、调节器或者介导中心,它既能 指导分裂体进行分裂隔膜的合成和水解,又能为菌体细胞 提供缢缩力,直接参与子细胞分离。

#### 3 逆环境对菌体分裂周期的影响及机制

乳酸菌在高密度发酵、食品保藏过程中经常面临不利 环境,如腌制肉中的高盐、发酵时的酸化、菌粉制备时的 低温、干燥,以及长期保藏时的营养物质缺乏等。菌体在 遭遇到这些不利环境时会启动应激调节系统,并通过调节 系统影响菌体细胞的活性,同时也会抑制菌体的分裂周期, 以求在这些不利条件下菌体存活。逆环境对菌体细胞分裂 周期的影响主要体现在对 DNA 复制起始蛋白,Z 环的组 装、活性和稳定性等方面。由于目前对乳酸菌的分裂研究 极少,而对 E. coli、B. subtilis 和 Caulobacter crescentus(C. crescentus)等的相关研究常见报导,因此本文就逆环境对 上述菌的分裂周期影响机制进行介绍。



图 2 E. coli 细胞分裂体的形成过程示意图 Fig.2 Schematics overview of assemble of E. coli cell divisome

#### 697

#### 3.1 逆环境对 DNA 复制的影响

#### 3.1.1 营养限制对 DNA 复制的影响

氨基酸或碳源缺乏时, E. coli<sup>[50]</sup>和 C. crescentus<sup>[51]</sup>会 通过 RelA 或 SpoT 蛋白直接产生内源信号物质四磷酸鸟苷 (guanosine tetraphosphate, ppGpp)和五磷酸鸟苷(guanosine pentaphosphate, pppGpp)<sup>[52]</sup>,这种信号物能抑制 DnaA 蛋白 的从头合成,并且抑制 DnaA 的活性,阻碍细胞 DNA 复 制<sup>[51,53]</sup>,它还能结合到 RNA 聚合酶,导致核糖体转录及 RNA 转运的停止<sup>[54]</sup>。而在 B. subtilis 中, (p)ppGpp 直接与 引发酶(primase)DnaG 相结合,抑制其活性,导致染色体 DNA 滞后链和前导链合成的减少,同时也会抑制其它复 制相关蛋白结合到复制体上,导致 DNA 无法复制<sup>[55]</sup>。 3.1.2 其他递环境对 DNA 复制的影响

C. crescentus 菌体在热刺激后会产生大量未折叠的蛋白,形成蛋白毒性胁迫(proteotoxic stress),此时菌体内的Lon蛋白酶会感应胞内蛋白毒性,激活自身的表达及活性,这种蛋白会水解未折叠或错误折叠蛋白,也会直接降解DnaA蛋白,导致菌体内DnaA含量下降,DNA复制受阻<sup>[13]</sup>。而蛋白错误折叠也会导致E. coli及其他菌体中DNA复制受阻,这些菌体中可能会产生不同的伴侣蛋白,并且作用于DNA复制过程,但具体机制尚有待研究<sup>[56–58]</sup>。

#### 3.2 逆环境对 Z 环的影响

#### 3.2.1 逆环境对 Z 环组装的影响

乳酸盐和乙酸盐胁迫会导致菌体中 ftsE 基因表达下 调<sup>[59]</sup>, 而 E. coli 中 FtsE 蛋白的缺失会导致多种下游蛋白, 如 FtsK、FtsQ、FtsI 和 FtsN 等, 无法结合到 Z 环上, 最终 导致菌体细胞分裂受阻<sup>[60]</sup>。C. crescentus 菌体细胞在胁迫 条件下会产生分子伴侣(如 DnaK 和 DnaJ 蛋白),缺乏 DnaK 和 DnaJ 的菌体细胞在热、冷、酒精中无法生存, 菌体细胞 不再产生 Z 环,不能正常分裂<sup>[61]</sup>。同样,乙醇、NaCl、高 温等胁迫信息会被 C. crescentus 菌体中的双组分系统, 细 胞周期激酶 A (cell cycle histidine kinase, CckA)-全局细胞 周期调控因子(global response regulator)CtrA 所感应, CckA 通过去磷酸化使 CtrA 蛋白失活,并同时激活 CtrA 蛋白的 水解蛋白,导致 CtrA 蛋白被迅速水解, CtrA 的消失又进一 步导致 ftsA、ftsO、ftsW 等细胞分裂相关蛋白的表达下调, 导致菌体分裂受阻<sup>[62]</sup>。在紫外线、氧化或抗生素影响下, 菌 体 DNA 会受到损伤,引发 SOS 反应, SOS 蛋白会直接结合 FtsZ 蛋白, 阻止其向分裂位点聚集, 影响分裂骨架下游蛋 白的组装,最终抑制菌体细胞的分裂<sup>[63]</sup>,其中具有代表性 的是 E. coli 产生的 SulA 蛋白<sup>[18]</sup>。节杆菌 Arthrobacter sp. 将海藻糖合成酶 OtsA 作为渗透压感受器, OtsA 蛋白聚合 体又可以促进 FtsZ 蛋白聚合体的形成, 但高渗透压时, OtsA 解聚合、导致 FtsZ 的聚合减少、菌体细胞 Z 环形成受 到阻碍,细胞分裂隔膜无法形成<sup>[64]</sup>。

3.2.2 逆环境对 Z 环活性及稳定性的影响

Modell 等<sup>[63]</sup>发现,乙醇、NaCl、高温等会导致 C. crescentus 菌体 DNA 损伤,激活 SOS 诱导的细胞分裂抑制因子 A(SOS-induced inhibitor of cell division A, sidA)基因的表达, SidA 蛋白既不干扰 Z 环的组装,也不影响其稳定性,但会与 FtsW 直接结合,导致分裂隔膜合成和水解酶活性被抑制,子细 胞无法分离,使菌体细胞分裂失败。B. subtilis<sup>[66]</sup>、 Corynebacterium glutamicum<sup>[67]</sup>和 Mycobacterium tuberculosis<sup>[68]</sup> 等在 SOS 反应中会产生相似的调节蛋白,对 Z 环产生抑制, 但其具体抑制机制尚不明确,可以确定的是,这些蛋白不会 直接作用于 FtsZ,而是干扰 Z 环最后阶段,破坏 Z 环蛋白复 合体的稳定性,使其无法发挥作用。C. crescentus 在胁迫时也 会产生分子伴侣蛋白 GroESL, GroESL 蛋白的缺失会使菌体 对 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>、高盐、高蔗糖极为敏感,导致 FtsE 蛋白无法结合到 Z 环, Z 环失去活性,产生具有多 Z 环的不分裂细胞<sup>[61]</sup>。

由此可见,不利的环境因素会对菌体中的一些响应 蛋白,如 SOS、2 组分系统等,产生影响,引发这些蛋白的 作用,并通过降解、抑制等方式影响菌体细胞分裂周期中 的关键蛋白,抑制菌体分裂。

## 4 提高逆环境下菌体耐受和分裂

#### 4.1 促进乳酸菌抗逆环境

很多研究者通过不同方式揭示了逆环境对乳酸菌的 影响,改善环境条件、促进菌体耐受性及增殖性能的研究 也有大量报道。例如氨基酸能够改善菌体在酸胁迫条件下 的耐受性,外源添加天冬氨酸、精氨酸、谷氨酸等均可对 菌体在酸性条件下的活性和增殖能力产生积极作用<sup>[69,70]</sup>。 向酸性条件下的*Lactobacillus casei* 添加天冬氨酸后,天冬 氨酸往精氨酸代谢途径中的关键基因 *argG* 和 *argH* 表达上 调,天冬氨酸和精氨酸的代谢活性提高<sup>[71,72]</sup>。而将 ArgG 和 ArgH 蛋白在 *Lactococcus lactis* 中表达后,菌体在乙醇、 酸中的耐受性大大提高,精氨酸代谢阻遏蛋白基因 *argR* 的 敲除和回补进一步证明菌体代谢精氨酸可以提高对多种不 利环境因素的耐受性<sup>[73]</sup>。

#### 4.2 抗逆环境分裂的机制研究

这些改善策略如何影响菌体的分裂呢? Vivijs 等<sup>[74]</sup>发 现四种氨基酸脱羧酶系统可以促进 E. coli 菌体在极低 pH 下生存,进一步通过基因敲除实验发现,赖氨酸脱羧酶 CadA 是低 pH 下生长所需的系统。因此, Cotter 等<sup>[75]</sup>提出: 氨基酸代谢通过羧基反应来消耗氢离子,以提高菌体耐受 性,并为菌体细胞分裂提供有利环境。但在 Mouammine 等<sup>[76]</sup>的研究中, C. crescentus 的 putA 基因参与菌体分裂, putA 基因受到 PutR 蛋白调节,当脯氨酸存在时, PutR 激活 putA 基因,而缺乏脯氨酸时,菌体无法分裂。同样, Vega 等<sup>[77]</sup>也发现E. coli菌体的氨基酸代谢合成途径能够与菌体 分裂中的关键蛋白 ZipA 直接相关联, 解除菌体分裂的抑制, 但具体机制尚不明确。

除此之外,较早前有研究提出,甜菜碱等相容性物质 能够改善 E. coli 在盐胁迫下的生长,并且能够解除 DNA 复制及菌体分裂的抑制<sup>[78]</sup>。Lactobacillus bulgaricus(L. bulgaricus)通过转运甲硫氨酸、赖氨酸、组氨酸以及脯氨 酸等来缓解盐胁迫,并促使菌体在盐胁迫下增殖<sup>[79,80]</sup>。添 加相容性溶质后的 L. bulgaricus 中,膜蛋白 feoA 基因表达 出现差异,该基因缺失后,与菌体分裂直接相关的 ftsZ 和 mreB 基因表达下降,说明相容性溶质在盐胁迫条件下可 能通过某些蛋白对菌体分裂进行调控<sup>[81]</sup>,但具体机制还有 待研究。

除了氨基酸代谢,一些糖类物质也能促进菌体分裂。 如乳糖能够促进糖酵解途径中多种关键代谢酶的活性,提 高这些酶的表达量,使代谢流整体向丙酮酸产生的方向流 动,为乳酸菌的增殖提供基础底物和能量供应<sup>[82]</sup>。而丙酮 酸可以刺激丙酮酸脱氢酶水平升高,丙酮酸脱氢酶的 *E1a* 亚基能够与 FtsZ 蛋白相互作用,刺激分裂环的形成,提高 分裂速度<sup>[83]</sup>。

通过这些研究可以推测,某些营养物质能为乳酸菌 细胞提供有利的环境,并且提高菌体对不利环境的耐受性, 而这些物质的代谢能够刺激菌体细胞中某些酶或调节蛋白 的活性,这些激活的酶或调节蛋白直接或间接作用于菌体 细胞分裂周期过程中的关键蛋白,如 DnaA、FtsZ等,进而 激活菌体细胞分裂周期,实现对菌体分裂的调节。

#### 5 结 论

在实际应用中, 乳酸菌需要面临复杂的环境, 环境中 的不利因素会导致菌体发酵性能、活性及增殖受到抑制。 促进菌体分裂是解决上述问题的一种新思路, 但关于乳酸 菌的分裂及调控机制未见报道。通过菌体分裂相关研究表 明, 某些调节蛋白在逆环境下直接或间接影响菌体分裂周 期的关键蛋白, 导致菌体分裂周期受到抑制, 从而限制菌 体的活性及增殖。而一些途径, 如氨基酸代谢, 能够改善 菌体对逆环境菌体的耐受性, 并且通过相应的调节蛋白恢 复菌体细胞分裂。通过深入研究乳酸菌的菌体分裂调控过 程, 提高乳酸菌在逆环境下的活性和促进分裂增殖, 为乳 酸菌的广泛应用提供理论研究基础。

#### 参考文献

- Ng SY, Koon SS, Padam BS, *et al.* Evaluation of probiotic potential of lactic acid bacteria isolated from traditional Malaysian fermented Bambangan (Mangifera pajang) [J]. Cyta–J Food, 2015, 13(4): 563–572.
- [2] Teusink B, Molenaar D. Systems biology of lactic acid bacteria: For food and thought [J]. Curr Opin Syst Biol, 2017, 6 (Supplement C): 7–13.
- [3] Salehmin MNI, Annuar MSM, Chisti Y. High cell density fed-batch fermentations for lipase production: Feeding strategies and oxygen

transfer [J]. Bioprocess Biosyst Eng, 2013, 36(11): 1527-1543.

- [4] Bergkessel M, Basta DW, Newman DK. The physiology of growth arrest: Uniting molecular and environmental microbiology [J]. Nat Rev Microbiol, 2016, 14(9): 549–62.
- [5] Fiocco D, Longo A, Arena MP, et al. How probiotics face food stress: They get by with a little help [J]. Crit Rev Food Sci Nutr, 2019: 1–29.
- [6] Lenz P, Sogaard–Andersen L. Temporal and spatial oscillations in bacteria[J]. Nat Rev Microbiol, 2011, 9(8): 565–577.
- [7] Wu H, Fan Z, Jiang X, et al. Enhanced production of polyhydroxybutyrate by multiple dividing *E. coli* [J]. Microb Cell Fact, 2016, 15(1): 128.
- [8] Wang X, Lin L, Dong J, et al. Simultaneous improvements of Pseudomonas cell growth and polyhydroxyalkanoate production from a lignin derivative for lignin–consolidated bioprocessing [J]. Appl Environ Microbiol, 2018, 84(18): e01469–18.
- [9] Sekar K, Rusconi R, Sauls JT, *et al.* Synthesis and degradation of FtsZ quantitatively predict the first cell division in starved bacteria [J]. Mol Syst Biol, 2018, 14(11): e8623.
- [10] Helmstetter C, Cooper S, Pierucci O, *et al.* On the bacterial life sequence
   [J]. Cold Spring Harb Symp Quant Biol, 1968, 33: 809–822.
- [11] Zaritsky A, Wang P, Vischer NOE. Instructive simulation of the bacterial cell division cycle [J]. Microbiol–Sgm, 2011, 157: 1876–1885.
- [12] Haeusser DP, Levin PA. The great divide: coordinating cell cycle events during bacteria growth and division [J]. Curr Opin Microbiol, 2008, 11(2): 94–99.
- [13] Jonas K, Liu J, Chien P, *et al.* Proteotoxic stress induces a cell–cycle arrest by stimulating Lon to degrade the replication initiator DnaA [J]. Cell, 2013, 154(3): 623–636.
- [14] Männik J, Woldringh CL, Zaritsky A. Editorial: The bacterial cell: coupling between growth, nucleoid replication, cell division, and shape [J]. Front Microbiol, 2016, 7: 116.
- [15] Katayama T, Ozaki S, Keyamura K, et al. Regulation of the replication cycle: conserved and diverse regulatory systems for DnaA and oriC [J]. Nat Rev Microbiol, 2010, 8: 163.
- [16] Wang JD, Levin PA. Metabolism, cell growth and the bacterial cell cycle[J]. Nat Rev Microbiol, 2009, 7(11): 822–827.
- [17] Bernard R, Marquis KA, Rudner DZ. Nucleoid occlusion prevents cell division during replication fork arrest in *Bacillus subtilis* [J]. Mol Microbiol, 2010, 78(4): 866–882.
- [18] Adams DW, Errington J. Bacterial cell division: assembly, maintenance and disassembly of the Z ring [J]. Nat Rev Microbiol, 2009, 7(9): 642–653.
- [19] Lutkenhaus JF, Wolf–Watz H, Donachie WD. Organization of genes in the ftsA–envA region of the *Escherichia coli* genetic map and identification of a new fts locus (ftsZ) [J]. J Bacteriol, 1980, 142(2): 615–620.
- [20] Bi E, Lutkenhaus J. Ftsz ring structure associated with division in *Escherichia–coli* [J]. Nature, 1991, 354(6349): 161–164.
- [21] Ma XL, Ehrhardt DW, Margolin W. Colocalization of cell division proteins FtsZ and FtsA to cytoskeletal structures in living *Escherichia coli* cells by using green fluorescent protein [J]. Proc Natl Acad Sci USA, 1996, 93(23): 12998–13003.
- [22] Strauss MP, Liew ATF, Turnbull L, et al. 3D–SIM super resolution microscopy reveals a bead–like arrangement for FtsZ and the division machinery: Implications for triggering cytokinesis [J]. PLoS Biol, 2012,

10(9): e1001389.

- [23] Araujo–Bazan L, Huecas S, Valle J, et al. Synthetic developmental regulator MciZ targets FtsZ across Bacillus species and inhibits bacterial division [J]. Mol Microbiol, 2019, 111(4): 965–980.
- [24] Du S, Lutkenhaus J. At the heart of bacterial cytokinesis: the Z ring [J]. Trends Microbiol, 2019, 27(9): 781–791.
- [25] Li Y, Hsin J, Zhao L, et al. FtsZ protofilaments use a hinge-opening mechanism for constrictive force generation [J]. Science, 2013, 341(6144): 392–5.
- [26] Lutkenhaus J. Assembly dynamics of the bacterial MinCDE system and spatial regulation of the Z ring [J]. Annu Rev Biochem, 2007, 76: 539–562.
- [27] Monterroso B, Zorrilla S, Sobrinos–Sanguino M, et al. Bacterial FtsZ protein forms phase–separated condensates with its nucleoid–associated inhibitor SlmA [J]. EMBO Reports, 2019, 20(1): e45946.
- [28] Hale CA, deBoer PAJ. Direct binding of FtsZ to ZipA, an essential component of the septal ring structure that mediates cell division in E–coli [J]. Cell, 1997, 88(2): 175–185.
- [29] Krupka M, Sobrinos–Sanguino M, Jimenez M, et al. Escherichia coli ZipA organizes FtsZ polymers into dynamic ring–like protofilament structures [J]. Mbio, 2018, 9(3): e01008–18.
- [30] Vega DE, Margolin W. Direct Interaction between the two Z ring membrane anchors FtsA and ZipA [J]. J Bacteriol, 2019, 201(4): e00579.
- [31] Mura A, Fadda D, Perez AJ, et al. Roles of the essential protein FtsA in cell growth and division in *Streptococcus pneumoniae* [J]. J Bacteriol, 2017, 199(3): UNSP e00608.
- [32] Buss JA, Peters NT, Xiao J, et al. ZapA and ZapB form an FtsZ–independent structure at midcell [J]. Mol Microbiol, 2017, 104(4): 652–663.
- [33] Ebersbach G, Galli E, Moller–Jensen J, et al. Novel coiled–coil cell division factor ZapB stimulates Z ring assembly and cell division [J]. Mol Microbiol, 2008, 68(3): 720–735.
- [34] Schumacher D, Bergeler S, Harms A, et al. The PomXYZ proteins self-organize on the bacterial nucleoid to stimulate cell division [J]. Dev Cell, 2017, 41(3): 299–314.
- [35] Li Y, Shao S, Xu X, et al. MapZ forms a stable ring structure that acts as a nanotrack for FtsZ treadmilling in *Streptococcus mutans* [J]. Acs Nano, 2018, 12(6): 6137–6146.
- [36] Du S, Pichoff S, Lutkenhaus J. FtsEX acts on FtsA to regulate divisome assembly and activity [J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2016, 113(34): E5052–E5061.
- [37] Du S, Henke W, Pichoff S, et al. How FtsEX localizes to the Z ring and interacts with FtsA to regulate cell division [J]. Mol Microbiol, 2019, 112(3): 881–895.
- [38] Akashi M, Takemura M. Gram-positive bacteria-like DNA binding machineries involved in replication initiation and termination mechanisms of mimivirus [J]. Viruses-Basel, 2019, 11(3): 267.
- [39] Tsang MJ, Bernhardt TG. A role for the FtsQLB complex in cytokinetic ring activation revealed by an *ftsL* allele that accelerates division [J]. Mol Microbiol, 2015, 95(6): 925–944.
- [40] Lariviere PJ, Mahone CR, Santiago–Collazo G, et al. An essential regulator of bacterial division links FtsZ to cell wall synthase activation [J].

Curr Biol, 2019, 29(9): 1460-1470.

- [41] Reichmann NT, Tavares AC, Saraiva BM, et al. SEDS-bPBP pairs direct lateral and septal peptidoglycan synthesis in *Staphylococcus aureus* [J]. Nature Microbiology, 2019, 4(8): 1368–1377.
- [42] Soderstrom B, Chan H, Daley DO. Super-resolution images of peptidoglycan remodelling enzymes at the division site of *Escherichia coli* [J]. Curr Genet, 2019, 65(1): 99–101.
- [43] Furusato T, Horie F, Matsubayashi HT, et al. De novo synthesis of basal bacterial cell division proteins FtsZ, FtsA, and ZipA inside giant vesicles [J]. Acs Synthetic Biology, 2018, 7(4): 953–961.
- [44] Boes A, Olatunji S, Breukink E, *et al.* Regulation of the peptidoglycan polymerase activity of PBP1b by antagonist actions of the core divisome proteins FtsBLQ and FtsN [J]. mBio, 2019, 10(1): e01912–1918.
- [45] Liu B, Persons L, Lee L, et al. Roles for both FtsA and the FtsBLQ subcomplex in FtsN-stimulated cell constriction in *Escherichia coli* [J]. Mol Microbiol, 2015, 95(6): 945–970.
- [46] Marteyn BS, Karimova G, Fenton AK, et al. ZapE is a novel cell division protein interacting with FtsZ and modulating the Z-ring dynamics [J]. Mbio, 2014, 5(2): e00022–14.
- [47] Daley DO, Skoglund U, Söderström B. FtsZ does not initiate membrane constriction at the onset of division [J]. Sci Rep, 2016, 6: 33138.
- [48] Coltharp C, Buss J, Plumer TM, et al. Defining the rate–limiting processes of bacterial cytokinesis [J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2016, 113(8): E1044–E1053.
- [49] Proctor SA, Minc N, Boudaoud A, et al. Contributions of turgor pressure, the contractile ring, and septum assembly to forces in cytokinesis in fission yeast [J]. Curr Biol, 2012, 22(17): 1601–1608.
- [50] Turnbull KJ, Dzhygyr I, Lindemose S, et al. Intramolecular interactions dominate the autoregulation of *Escherichia coli* stringent factor RelA [J]. Front Microbiol, 2019, 10: 1966.
- [51] Gonzalez D, Collier J. Effects of (p)ppGpp on the progression of the cell cycle of *Caulobacter crescentus* [J]. J Bacteriol, 2014, 196(14): 2514–2525.
- [52] Potrykus K, Cashel M. (p)ppGpp: Still Magical? [M]. Annu Rev Microbiol, 2008: 35–51.
- [53] Lesley JA, Shapiro L. SpoT regulates DnaA stability and initiation of DNA replication in carbon–starved *Caulobacter crescentus* [J]. J Bacteriol, 2008, 190(20): 6867–6880.
- [54] Brown DR. Nitrogen starvation induces persister cell formation in Escherichia coli [J]. J Bacteriol, 2019, 201(3): e00622–18.
- [55] Wang JD, Sanders GM, Grossman AD. Nutritional control of elongation of DNA replication by (p)ppGpp [J]. Cell, 2007, 128(5): 865–875.
- [56] Bukau B, Walker GC. Delta dnaK52 mutants of *Escherichia coli* have defects in chromosome segregation and plasmid maintenance at normal growth temperatures [J]. J Bacteriol, 1989, 171(11): 6030–6038.
- [57] Bukau B, Walker GC. Cellular defects caused by deletion of the *Escherichia coli* dnaK gene indicate roles for heat shock protein in normal metabolism [J]. J Bacteriol, 1989, 171(5): 2337–2346.
- [58] Jonas K. To divide or not to divide: control of the bacterial cell cycle by environmental cues [J]. Curr Opin Microbiol, 2014, 18: 54–60.
- [59] Liu X, Basu U, Miller P, et al. Differential gene expression and filamentation of *Listeria monocytogenes* 08–5923 exposed to sodium

lactate and sodium diacetate [J]. Food Microbiol, 2017, 63: 153-158.

- [60] Arends SJR, Kustusch RJ, Weiss DS. ATP-binding site lesions in FtsE impair cell division [J]. J Bacteriol, 2009, 191(12): 3772–3784.
- [61] Susin MF, Baldini RL, Gueiros-Filho F, et al. GroES/GroEL and DnaK/DnaJ have distinct roles in stress responses and during cell cycle progression in *Caulobacter crescentus* [J]. J Bacteriol, 2006, 188(23): 8044–8053.
- [62] Heinrich K, Sobetzko P, Jonas K. A kinase-phosphatase switch transduces environmental information into a bacterial cell cycle circuit [J]. PLoS Genet, 2016, 12(12): e1006522.
- [63] Modell JW, Kambara TK, Perchuk BS, et al. A DNA damage-induced, SOS-independent checkpoint regulates cell division in Caulobacter crescentus [J]. PLoS Biol, 2014, 12(10): e1001977.
- [64] 陈熙明. 节杆菌中的渗透压胁迫感受器调节细胞分裂以及细胞壁发育
  [D]. 兰州: 兰州大学, 2011.
  Chen XM. An osmotic sensor governing cell division and development of cell wall in *Afthrobacter* [D]. Lanzhou: Lanzhou University, 2011.
- [65] Modell JW, Hopkins AC, Laub MT. A DNA damage checkpoint in *Caulobacter crescentus* inhibits cell division through a direct interaction with FtsW [J]. Genes Dev, 2011, 25(12): 1328–1343.
- [66] Kawai Y, Moriya S, Ogasawara N. Identification of a protein, YneA, responsible for cell division suppression during the SOS response in *Bacillus subtilis* [J]. Mol Microbiol, 2003, 47(4): 1113–1122.
- [67] Ogino H, Teramoto H, Inui M, et al. DivS, a novel SOS-inducible cell-division suppressor in *Corynebacterium glutamicum* [J]. Mol Microbiol, 2008, 67(3): 597–608.
- [68] Chauhan A, Lofton H, Maloney E, et al. Interference of Mycobacterium tuberculosis cell division by Rv2719c, a cell wall hydrolase [J]. Mol Microbiol, 2006, 62(1): 132–147.
- [69] Richard H, Foster JW. Escherichia coli glutamate-and arginine-dependent acid resistance systems increase internal pH and reverse transmembrane potential [J]. J Bacteriol, 2004, 186(18): 6032-6041.
- [70] Zhang J, Wu C, Du G, et al. Enhanced acid tolerance in Lactobacillus casei by adaptive evolution and compared stress response during acid stress [J]. Biotechnol Bioprocess Eng, 2012, 17(2): 283–289.
- [71] 吴重德. 干酪乳杆菌抵御酸胁迫的生理机制解析[D]. 无锡: 江南大学, 2012.

Wu CD. Study on the physiological mechanisms of acid stress tolerance in *Lactobacillus casei* [D]. Wuxi: Jiangnan university, 2012.

- [72] Wu C, Zhang J, Du G, et al. Aspartate protects Lactobacillus casei against acid stress [J]. Appl Microbiol Biotechnol, 2013, 97(9): 4083–4093.
- [73] 张明阳. argG、argH和 argR 基因对 Lactococcus lactis NZ9000 胁迫抗 性的影响[D]. 无锡: 江南大学, 2016.
  Zhang MY. Influence of arg G, arg H and arg R genes on stress tolerance in Lactococcus lactis NZ9000 [D]. Wuxi: Jiangnan university, 2016.
- [74] Vivijs B, Aertsen A, Michiels CW. Identification of genes required for growth of *Escherichia coli* MG 1655 at moderately low pH [J]. Front Microbiol, 2016, 7: 1672.

- [75] Cotter PD, Hill C. Surviving the acid test: responses of gram-positive bacteria to low pH [J]. Microbiol Mol Biol Rev, 2003, 67(3): 429–453.
- [76] Mouammine A, Eich K, Frandi A, et al. Control of proline utilization by the Lrp–like regulator PutR in *Caulobacter crescentus* [J]. Sci Rep, 2018, 8: 14677.
- [77] Vega DE, Margolin W. Suppression of a thermosensitive zipA cell division mutant by altering amino acid metabolism [J]. J Bacteriol, 2018, 200(2): UNSP e00535–17.
- [78] Meury J. Glycine betaine reverses the effects of osmotic-stress on DNA-replication and cellular division in *Escherichia-coli* [J]. Arch Microbiol, 1988, 149(3): 232–239.
- [79] 王海娟. 保加利亚乳杆菌细胞内甜菜碱的转运及其调控蛋白初探[D]. 哈尔滨:哈尔滨工业大学, 2015.

Wang HJ. Research of betaine transportation and betaine regulation protein in the *L. bulgaricus* [D]. Harbin: Harbin Institute of Technology, 2015.

[80] 王学良.相容性溶质对 L. bulgaricus 3 的渗透保护作用及其对细胞膜 影响研究[D].哈尔滨:哈尔滨工业大学,2015.

Wang XL. The osmotic protection of compatible solutes to *L. bulgaricus* 3 and the research of it's effect on cell membrane [D]. Harbin: Harbin Institute of Technology, 2015.

- [81] 邬慧颖. 保加利亚乳杆菌盐胁迫响应基因对菌体分裂增殖的影响[D]. 哈尔滨: 哈尔滨工业大学, 2018.
   Wu HY. Effects of salt stress response gene on division and proliferation on the *L. bulgaricus* [D]. Harbin: Harbin Institute of Technology, 2018.
- [82] 赵宏飞. 乳糖对瑞士乳杆菌生长代谢影响及高密度培养研究[D]. 北京: 北京林业大学, 2014.

Zhao HF. Effect of lactose on the growth and metabolism of *Lactobacillus helveticus* and its high cell density culture [D]. Beijing: Beijing Forestry University, 2014.

[83] Monahan LG, Hajduk IV, Blaber SP, et al. Coordinating bacterial cell division with nutrient availability: a role for glycolysis [J]. MBio, 2014, 5(3): e00935–14.

(责任编辑: 王 欣)

# 作者简介



陈世伟,博士研究生,主要研究方向 为食品生物技术。 E-mail: zuimeideta@126.com

韩 雪,副教授,主要研究方向为食品 生物技术。 E-mail: xhan@hit.edu.cn