

\* 专题评述 \*

## 周质空间蛋白的抗逆机制\*

马元武 陈翠翠 何 晴 冯永君\*\*

北京理工大学生命科学与技术学院, 北京 100081

**摘要** 细菌细胞周质空间处于 $G^-$ 细菌与外界相互作用的前沿界面, 对生存环境的波动非常敏感, 是菌体细胞与外界环境进行相互作用的第一道媒介(趋利作用)或屏障(避害作用), 因此, 周质空间蛋白及其抗逆作用的相关研究对于探究与理解微生物生存适应性问题具有重要意义. 周质空间蛋白在长期进化过程中形成了一套对环境波动的适应机制, 文中系统总结了 $G^-$ 细菌细胞周质空间蛋白的分类、定位和抗逆机制, 着重介绍了周质空间蛋白在抗酸机理中和RND转运系统在菌体抗逆生存中所起的重要作用, 并讨论了周质空间蛋白通过影响细菌生物薄膜的形成而起到间接抗逆的作用.

**关键词** 周质空间蛋白 抗逆作用 环境胁迫

细菌细胞周质又称膜间质, 指位于大肠杆菌(*Escherichia coli*)等革兰氏阴性细菌细胞内膜和外膜之间的夹层空间, 其大小随环境与胞质间渗透压的变化而改变, 约占整个细胞体积的24%—40%<sup>[1,2]</sup>. 外膜上存在较多非特异性的孔道蛋白(porins), 能够允许分子质量小于600—1000u亲水小分子物质的自由扩散, 而不需要消耗能量<sup>[3-5]</sup>. 由于这种分子筛效应的存在, 使得周质空间蛋白对波动的生存环境比较敏感. 这些周质空间蛋白在 $G^-$ 细菌长期的进化过程中逐渐形成了多种适应环境波动的机制, 在维持周质空间蛋白活性和细胞的生理功能中起重要作用.

## 1 周质空间蛋白

周质空间呈胶状, 主要由一些单糖, 寡糖, 蛋白质组成, 此外还包含一些其他可溶性物质. 其中作为周质空间重要组成部分的蛋白质在细菌营养代谢, 物质转运, 信号传导及能量代谢中起着重要的

作用. 由于周质空间所处位置的特殊性, 使得周质空间蛋白比其他物质更容易受到外界环境的影响, 这就要求周质空间蛋白能够适应经常波动的外界环境<sup>[6]</sup>. 目前已知的周质空间蛋白按功能大致可以分为以下几种:

(1) 结合蛋白, 该类蛋白作为转运系统的重要组成部分, 与底物结合后形成转运复合物, 再与内膜转运蛋白发生相互作用, 依靠后者的ATP酶活性亚基水解ATP释放的能量将底物转运进入胞内. 到目前为止, 至少发现80种以上的周质空间结合蛋白, 其中包括麦芽糖、阿拉伯糖结合蛋白, 谷氨酸, 亮氨酸, 赖氨酸结合蛋白等, 这些周质空间蛋白主要转运一些单糖, 寡糖, 氨基酸, 小肽等小分子物质<sup>[7]</sup>. 基因组学和蛋白质信息学等的研究发现, 在大肠杆菌中这类蛋白与膜结合蛋白形成一个最大的蛋白家族, 约占细菌所有ORF(开放阅读框)所编码蛋白的65.5%<sup>[8]</sup>.

(2) 水解酶类, 如酸性磷酸酶, 碱性磷酸酶,

2007-12-28 收稿, 2008-01-29 收修改稿

\* 国家自然科学基金资助项目(批准号: 30400002)

\*\* 通信作者, E-mail: fengyj@bit.edu.cn

©1994-2018 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. <http://www.cnki.net>

UDP-葡萄糖水解酶, L-天冬酰胺酶, 羧肽酶 II 等将吸收的复杂大分子降解为简单的小分子物质, 有利于营养物质的吸收, 有些酶同时也参与胞壁物质的代谢<sup>[9, 10]</sup>.

(3) 合成酶类, 如肽聚糖合成酶, SurA, Skp 蛋白等, 这些蛋白在肽聚糖, 鞭毛形成及细胞壁物质的组装过程中起作用<sup>[11]</sup>.

(4) 受体酶类, 如麦芽糖结合蛋白, 半乳糖/葡萄糖结合蛋白等, 其本质是作为结合蛋白参与底物的跨膜运输; 同时, 它们在结合底物后还能与膜上另外的蛋白受体相互作用, 介导细胞对底物的趋化性, 因此具有双功能性<sup>[12, 13]</sup>.

这些具有多种功能的周质空间蛋白以及外膜蛋白的前体是在细胞内核糖体上合成后, 经与胞内分子伴侣蛋白 SecB 结合, 并在信号肽的引导下, 穿过内膜上的 SecYEG 孔道 (其信号肽在跨膜过程中被膜上信号肽水解酶切掉) 进入周质空间, 然后在周质空间二硫键异构酶<sup>[14]</sup>, 脯氨酸顺反异构酶等的作用下形成有功能的成熟蛋白<sup>[11]</sup>. 对于许多外膜蛋白前体在细胞质内合成并通过 SecYEG 孔道进入周质空间后, 它们会在一些具有分子伴侣功能 SurA, PapD, Skp 等蛋白的作用下组装成特定的寡聚形式<sup>[15]</sup>, 然后整合成为有功能的外膜蛋白寡聚体<sup>[16]</sup>. 比如, 外膜蛋白 LamB 就是在细胞质合成后, 穿过 SecYEG 内膜孔道, 然后在 SurA, Skp 等周质空间蛋白帮助下组装为特定的寡聚形式并整合到外膜上去发挥功能, 如图 1 所示.

## 2 周质空间蛋白的抗逆特性

当处于不良的外界环境条件时, G<sup>-</sup> 细菌大都能表现出一定的抗逆特性, 以适应生存环境的变化. 研究发现, 大肠杆菌能够在 pH 2 的较强酸环境条件下生存数小时; 一种能够引起囊状纤维病的铜绿假单胞菌 (*Pseudomonas aeruginosa*) 具有广谱抗生素耐受性<sup>[17]</sup>; 此外, 还发现伯克霍尔德氏菌 (*Burkholderia cenocepacia*) 能够在高温, 高渗透压等环境条件下生存<sup>[18]</sup>.

周质空间处于细菌与生存环境相互作用的最前沿, 对于环境条件的波动更为敏感. 研究发现周质空间蛋白质相对于胞内蛋白来说也具有更强的环境适应能力. Liu 等分别对全细胞、周质膜内组分、周

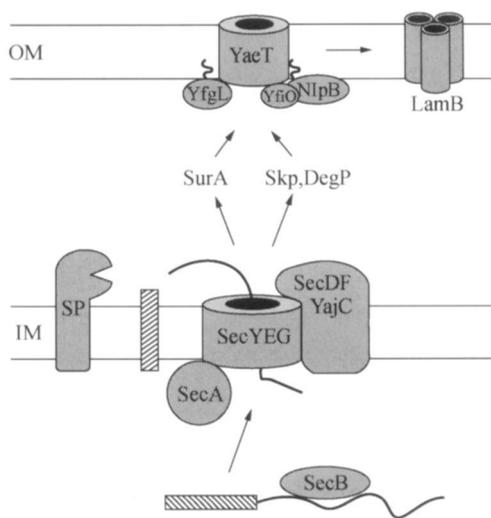


图 1 LamB 的成熟机制示意图

LamB 在细胞质内合成后以前体形式存在, 并带有信号肽 (画有阴影交叉线的条形图), SecB 能够稳定并帮助 LamB 蛋白前体穿越质膜孔道系统 (SecA, SecYEG, SecDF, YajC). 在周质空间分子伴侣 SurA, Skp 和 DegP 的帮助下转运到 YaeT (包含 YaeT, YfgL, YfiO, NlpB) 进而组装到外膜上, 成为成熟的外膜蛋白 LamB<sup>[11]</sup>

质空间组分分别进行高温, 乙醇, 盐酸, 硫酸铜等逆境处理, 发现周质空间蛋白比胞内蛋白具有更强的抗逆特性. 对蛋白样品的三级结构和疏水性进行分析, 发现周质空间蛋白经逆境处理后, 虽然蛋白质的三级结构丧失, 并且疏水区域外露, 但是却不易聚集生成沉淀<sup>[19]</sup>. 相反, 如果蛋白聚集就会给菌体带来巨大危害; 在另一研究中发现, 蛋白聚集会使菌体部分机能减弱/丧失, 并伴随有病变产生, 严重时会导致细胞死亡<sup>[20]</sup>. 正是由于周质空间的这些蛋白虽然丧失了三级结构却不易聚沉的特点, 保护了细胞免受因蛋白聚沉所导致的病变乃至死亡<sup>[21, 22]</sup>. 因此, 可以推断周质空间蛋白较强的抗聚沉特性可能是菌体长期进化过程中形成的一种对外界环境的适应策略.

研究进一步发现, 大部分具有抗逆活性的周质空间蛋白可以在环境信号因子的诱导下产生. 如 Miyadai 等发现, 脂蛋白 NlpE 的过量表达能够诱导 DegP 的表达<sup>[23]</sup>, 其中 DegP 既具有分子伴侣活性又具有蛋白酶活性, 当变性失活的蛋白较少时, 起分子伴侣作用, 随着变性蛋白的不断增多, 将发挥蛋白酶的活性降解变性蛋白, 在维持细胞内环境稳

定中起关键作用<sup>[21]</sup>。当细胞受到外部环境压力影响时,能够诱导一些周质空间蛋白的表达,这些蛋白在细胞的抗逆生存中起重要作用。目前发现所有环境压力信号传导过程都有一个共同的特征:外界环境压力信号(如变性蛋白等)会被周质空间中分子所感应,并通过与内膜受体相互作用释放 $\sigma^E$ 因子,转化成为胞内信号,胞内信号再与特定的基因相互作用诱导一系列具有抗逆活性的周质空间蛋白基因表达,以降低环境波动对细胞造成的伤害<sup>[24-29]</sup>。如环境压力造成的部分周质空间蛋白或膜蛋白的变性会被一些周质空间的信号分子如 DegS(一种蛋白酶)所识别,致使 DegS 蛋白抑制因子释放出来,引起 DegS 的水解,触发 $\sigma^E$ 介导的信号通路,从而诱导一些在抗逆中起重要作用的周质空间蛋白如 SurA, HdeA, DegP 等的表达<sup>[27]</sup>。这些周质空间蛋白,或能够在逆境下识别变性蛋白起分子伴侣/蛋白酶活性,或在结合/转运不利环境因子排出细胞中起作用,从而更利于细胞的抗逆过程。

目前,对于 G<sup>-</sup>细菌的耐酸机制和对重金属离子的抗逆机制方面的研究最为深入。一些非极端环境微生物如肠道病原菌志贺氏菌(*Shigella*)、大肠杆菌等能够在 pH 2 条件下存活数小时,它们虽然可以在很低的 pH 条件下存活,但胞内的 pH 却接近中性,说明这些细菌具有一套机制来适应不良的 pH 条件。

Richard 利用微点阵技术研究了大肠杆菌抗酸机理,发现了 12 个与耐酸有关的基因簇称为 AFI (Acid Fitness Island),其中的四个基因簇 *gadA*, *gadX*, *gadW* 和 *gadE* 通过谷氨酸的脱羧基作用形成一级胺,在脱羧基的同时消耗质子<sup>[28]</sup>;另外 *hdeB*, *yhiD*, *yhiU*, *yhiV* 四个 AFI 基因簇编码的蛋白在抗酸机制中起很少或并不起作用;剩余的 4 个基因簇中 YhiF(常规蛋白)和 Slp(脂蛋白)所在系统可能一定程度上抵制酸效应, YhiD 和 HdeD 作为膜组成蛋白可能在抵御质子的跨膜运输中起作用, HdeA(一种周质空间蛋白)在酸变性蛋白的质量控制中起作用<sup>[29]</sup>。

Gajiwala 等研究发现,作为 AFI 耐酸基因簇重要成员之一的 *hdeA* 是一些能够在低 pH 条件生存的肠道微生物(包括病原菌)所必需的 *hdeA* 编码周质空间蛋白 HdeA,在很低的 pH 条件下, HdeA

能够由二聚体解离成单体,这些单体具有分子伴侣活性,能与周质空间蛋白或膜蛋白因酸变性产生的疏水面相结合,而防止蛋白聚沉引发的细胞死亡<sup>[30]</sup>。Hong 等把 HdeA 在抵御恶劣酸性环境条件的特性归结为: HdeA 具有分子伴侣活性,能够在酸性环境条件下结合变性的蛋白,并在中性条件下释放。这种特性是基于低 pH 条件下 HdeA 能够调整为一种有活性,低有序性的球状结构(这种结构未在中性条件下发现)。酸性条件下 HdeA 低有序性的球状结构易于暴露其部分疏水作用面而结合变性蛋白。这些特征保证 HdeA 能够在酸性环境下结合变性蛋白,防止蛋白聚沉从而使细菌具有一定的耐酸能力<sup>[22]</sup>。

除了因环境压力诱导产生的一些周质空间蛋白在菌体的抗逆中起重要作用外,对于每种 G<sup>-</sup>细菌来说还存在多种由底物结合蛋白,转运蛋白和膜蛋白组成的一种转运系统与菌体的抗逆作用有关,该系统由基因组或质粒编码,通常由跨内膜,外膜的蛋白组分以及周质空间蛋白组分 3 部分构成,该系统具有底物特异性,能结合并转运有害底物(抗生素、重金属盐等)排出细胞,它的存在表现为对重金属盐、抗生素等具有较强的抵抗能力,该类转运系统统称为 RND (resistance-nodulation-cell division) 转运系统<sup>[31]</sup>。其中比较典型的有 AcrAB-TolC, MexAB-OprM 和 MexXY-OprM 系统等<sup>[17]</sup>。比如, Lee 等在大肠杆菌 Pco 蛋白家族组成的 RND 转运系统介导的铜离子的外排研究中发现,周质空间蛋白 PcoA 能够吸收铜离子,保护周质空间酶免受铜离子造成的损害; PcoE 可能在最初的周质空间内铜离子的隔离中起作用; PcoC 可能在周质空间结合铜离子,有利于铜离子的外排, PcoD 可能在铜离子穿越细胞膜中起作用。该系统通过不同 Pco 蛋白之间的协调作用,把过量的铜离子排出体外起到抵抗重金属盐离子的作用<sup>[32]</sup>。

另外一项关于 RND 转运系统研究中, Perron 等发现铜绿假单胞菌的 CzcR-CzcS 转运系统(RND 转运系统中的一种)不仅能够转运重金属盐离子镉和钴等,而且能够转运碳青霉烯(一种抗生素)。该系统所表现的多底物适应性是对传统 RND 转运系统底物特异性认识的一个挑战,同时该系统所具有的多重抗逆效应,对于微生物来说,不仅提高了对

波动环境的适应能力,而且有效地利用了资源,这可能是生物长期进化过程中形成一种适应策略,这对于生物的生存、发展和繁殖都具有非常重要的意义<sup>[33]</sup>。所以,RND转运系统作为G<sup>-</sup>细菌的一种重要抗逆机制,在抵御重金属盐、抗生素等多个方面起重要的作用。

随着对G<sup>-</sup>细菌抗逆机制研究的不断深入,发现周质空间蛋白不仅自身具有比胞内蛋白更强的抗逆和防聚沉能力,而且许多在G<sup>-</sup>细菌抗逆机制中起关键作用,上述环境压力信号诱导和 $\sigma^E$ 因子调节周质空间蛋白的表达,表达的周质空间蛋白通过结合变性蛋白,或在RND转运系统的结合/转运下将多种药物、重金属盐离子排出体外,在菌体细胞抗逆中起重要作用<sup>[31-33]</sup>。

### 3 周质空间蛋白通过影响 biofilm 形成间接影响抗逆作用

大肠杆菌和铜绿假单胞菌等能够形成一种特殊的生物薄膜(biofilm)<sup>[34,35]</sup>,以适应特定生存环境和生长阶段的需要<sup>[36,37]</sup>。相关研究在植物内生菌方面体现得较为明显<sup>[37-39]</sup>。宋未从水稻品种“越富”中分离到一株植物内生菌成团泛菌(*Pantoea agglomerans*)YS19<sup>[40]</sup>,我们发现该菌具有固氮和分泌生长素促进水稻生长的能力<sup>[40-42]</sup>,能够形成 symplasmata 结构(biofilm的一种,菌体生长到一定阶段菌体聚集形成的一种簇凝块状共质体结构),保护细菌细胞免受波动环境条件的影响<sup>[43-44]</sup>。

研究发现,许多周质空间蛋白对 biofilm 的形成而有显著的影响,从而间接的影响了其抗逆作用。Karatan 等对 biofilm 的形成和抑制机制进行的研究发现,一种多胺类周质空间受体蛋白 NspS,与多胺(如 norspermidine)结合形成复合体后影响 MbaA 蛋白处于周质空间的结构域,而 MbaA 霍乱弧菌(*Vibrio cholerae*)的 biofilm 形成的抑制因子,因此 NspS 对 biofilm 的形成起间接激活作用,形成后的 biofilm 保护菌体细胞适应不良的外界环境条件<sup>[45]</sup>。另一大肠杆菌周质空间蛋白 SurA 属于肽酰脯氨酸异构酶家族,它是一种双功能蛋白,一方面催化肽酰脯氨酸残基的顺式-反式异构,另一方面能影响 biofilm 的形成。surA 基因被敲除后,突变体菌株外膜蛋白 OmpA 和 LamB 的合成会剧烈减

少,而这两个蛋白是菌体 biofilm 的形成所必需的,所以周质空间蛋白 SurA 能促进菌体 biofilm 的形成,而间接促进抗逆作用<sup>[46]</sup>。不仅如此,还有研究表明周质空间蛋白 SurA 能参与其他某些外膜蛋白和/或分泌蛋白的成熟,从而促进菌体 biofilm 的形成,而影响菌体细胞的抗逆作用<sup>[47,48]</sup>。由此可见周质空间蛋白在菌体细胞 biofilm 的形成/维持起非常重要的作用<sup>[45-50]</sup>。

另一方面,biofilm 的形成反过来也会影响许多周质空间蛋白的表达,从而进一步调节其抗逆作用。Pysz 发现 *Thermotoga maritima* 的 biofilm 在形成前后周质空间蛋白的表达有较明显的差异,如周质空间内的麦芽糖结合蛋白的表达量是形成前的 2.7 倍,丝氨酸蛋白酶为原来 2.1 倍<sup>[51]</sup>。这样以来,周质空间蛋白可以通过影响 biofilm 形成而影响菌体的抗逆作用,而 biofilm 的形成反过来也会影响周质空间蛋白的表达,菌体细胞在这种协同调节中实现对环境的更好适应。

### 4 结束语

G<sup>-</sup>细菌是重要的微生物类群,它们在农业生产、工业应用、医学病原分析与治疗、以及环境监测等各方面都具有非常重要的地位,G<sup>-</sup>细菌抗逆机制的研究对于阐释它们在上述领域研究中的相关问题意义重大。

周质空间处于 G<sup>-</sup>细菌与外界相互作用的最前沿,对于生存环境的波动非常敏感。本文简要综述了 G<sup>-</sup>细菌细胞周质空间蛋白的分类、定位和抗逆机制,着重介绍了目前研究较多周质空间蛋白在抗酸机理中和 RND 转运系统在菌体抗逆生存中所起的重要作用等。从中可以看出,关于细菌周质空间蛋白的研究主要集中于这些蛋白在菌体抗逆生存的生理功能确认方面,但对具体发挥抗逆作用的分子生物学机制方面研究不多,比如已知某蛋白具有抗酸活性(生理功能),但问题是它是如何抗酸(分子机制)的却研究得不够清楚。另一方面,值得注意的是,许多周质空间蛋白(如 SurA, MalE 等)都具有双功能特性的,它们本身是一些酶蛋白,然而又具有显著的抗逆作用,它们在结构与功能的关系上是如何协调这些双功能特性的,这些问题都有待于进一步深入研究。

因此, 作为菌体细胞与外界环境进行相互作用的第一道媒介(趋利作用)或屏障(弊害作用), 周质空间蛋白及其抗逆作用的相关研究无疑将为探究与理解微生物之间的相互作用及生存适应性乃至微生物进化等重要问题提供依据, 具有广阔的研究前景。

### 参 考 文 献

- Bladen HA, Waters JF. Electron microscopic study of some strains of *Bacteroides*. *J Bacteriol*, 1963, 86: 1339—1344
- Stock JB, Rauch B, Roseman S. Periplasmic space in *Salmonella typhimurium* and *Escherichia coli*. *J Biol Chem*, 1977, 252(21): 7850—7861
- Decad GM, Nikaido H. Outer membrane of Gram-negative bacteria. XII. Molecular-sieving function of cell wall. *J Bacteriol*, 1976, 128(1): 325—336
- Schulz GE. Porins: General to specific, native to engineered passive pores. *Curr Opin Struct Biol*, 1996, 6: 485—490
- Terry J. Beverage structures of gram-negative cell walls and their derived membrane vesicles. *J Bacteriol*, 1999, 181: 4725—4733
- Adams MD, Dale L, Oxender. Bacterial periplasmic binding protein tertiary structures. *J Biol Chem*, 1989, 264(27): 15739—15742
- Richarme G, Caldas TD. Chaperone properties of the bacterial periplasmic substrate-binding proteins. *J Biol Chem*, 1997, 272(25): 15607—15612
- Blattner FR, Plunkett G, Bloch CA, et al. The complete genome sequence of *Escherichia coli* K-12. *Science*, 1997, 277: 1453—1462
- Ásgeirsson B, Adalbjornsson BV, Gylfason GA. Engineered disulfide bonds increase active-site local stability and reduce catalytic activity of a cold-adapted alkaline phosphatase. *Biochim Biophys Acta*, 2007, 1774: 679—687
- Beck BD, Park JT. Basis for the observed fluctuation of carboxypeptidase II activity during the cell cycle in BUG 6, a temperature sensitive division mutant of the *Escherichia coli*. *J Bacteriol*, 1977, 130(3): 1292—1302
- Ureta AR, Endres RG, Wingreen NS, et al. Silhavy. Kinetic analysis of the assembly of the outer membrane protein LamB in *Escherichia coli* mutants each lacking a secretion or targeting factor in a different cellular compartment. *J Bacteriol*, 2007, 189: 446—454
- Boos W, Shuman H. Maltose/Maltodextrin system of *Escherichia coli*: Transport, metabolism, and regulation. *Microbiol Mol Bio Rev*, 1998, 62: 204—229
- Wassenberg D, Lieb W, Jaenicke R. Maltose-binding protein from the hyperthermophilic bacterium *Thermotoga maritima*: Stability and binding properties. *J Mol Biol*, 2000, 295(2): 279—288
- Missiakas D, Raina S. Protein folding in the bacterial periplasm. *J Bacteriol*, 1997, 179: 2465—2471
- Schäfer U, Beck K, Müller M. Skp, A molecular chaperone of Gram-negative bacteria is required for the formation of soluble periplasmic intermediates of outer membrane proteins. *J Biol Chem*, 1999, 274(35): 24567—24574
- Behrens S. Periplasmic chaperones—preservers of subunit folding energy for organelle assembly. *Cell*, 2003, 556—557
- Eda S, Maseda H, Nakae T. An elegant means of self-protection in Gram-negative bacteria by recognizing and extruding xenobiotics from the periplasmic space. *J Biol Chem*, 2003, 278(4): 2085—2088
- Sarter S, Nguyen HN, Hung LT, et al. Antibiotic resistance in Gram-negative bacteria isolated from farmed catfish. *Food Control*, 2007, 18: 1391—1396
- Liu Y, Fu XM, Shen J, et al. Periplasmic proteins of *Escherichia coli* are highly resistant to aggregation: Reappraisal for roles of molecular chaperones in periplasm. *Biochem and Biophys Res Commun*, 2004, 316: 795—801
- Liu J, Tang M, Mestril R, et al. Aberrant protein aggregation is essential for a mutant desmin to impair the proteolytic function of the ubiquitin-proteasome system in cardiomyocytes. *J Mol Cell Cardiol*, 2006, 40: 451—454
- Pogliano J, Lynch AS, Belin D, et al. Regulation of *Escherichia coli* cell envelope proteins involved in protein folding and degradation by the Cpx two-component system. *Genes Dev*, 1997, 11: 1169—1182
- Hong WZ, Jiao WW, Hu JC, et al. Periplasmic protein HdeA exhibits chaperone-like activity exclusively within stomach pH range by transforming into disordered conformation. *J Biol Chem*, 2005, 280(29): 27029—27034
- Miyadai H, Kimie TM, Matsuyama SI, et al. Effects of lipoprotein overproduction on the induction of DegP(HtrA) involved in quality control in the *Escherichia coli* periplasm. *J Biol Chem*, 2004, 279(38): 39807—39813
- Raivio TL. Periplasmic stress and ECF sigma factors. *Annu Rev Microbiol*, 2001, 55: 591—624
- Raivio TL. Envelope stress responses and Gram-negative bacterial pathogenesis. *Mol Microbiol*, 2005, 56: 1119—1128
- Duguay AR, Silhavy TJ. Quality control in the bacterial periplasm. *Biochim Biophys Acta*, 2004, 1694: 121—134
- Young JC, Ulrich HF. A stress sensor for the bacterial periplasm. *Cell*, 2003, 113: 1—2
- Richard H, Foster JW. *Escherichia coli* glutamate- and arginine-dependent acid resistance systems increase internal pH and

- reverse transmembrane potential. *J Bacteriol* 2004, 186: 6032—6041
- 29 Mates AK, Sayed AK, Foster JW. Products of the *Escherichia coli* acid fitness island attenuate metabolite stress at extremely low pH and mediate a cell density-dependent acid resistance. *J Bacteriol* 2007, 189: 2759—2768
- 30 Gajiwala KS, Burley SK. HDEA, a periplasmic protein that supports acid resistance in pathogenic enteric bacteria. *J Mol Biol* 2000, 295: 605—612
- 31 Tikhonova EB, Wang Q, Zgurskaya H I. Chimeric analysis of the multicomponent multidrug efflux transporters from Gram-negative bacteria. *J Bacteriol* 2002, 184: 6499—6507
- 32 Lee SM, Grass G, Rensing C, et al. The Pco proteins are involved in periplasmic copper handling in *Escherichia coli*. *Biochem and Biophys Res Co*, 2002, 295: 616—620
- 33 Perron K, Caille O, Rossier C, et al. CzcR-CzcS, a two-component system involved in heavy metal and carbapenem resistance in *Pseudomonas aeruginosa*. *J Biol Chem*, 2004, 279(10): 8761—8768
- 34 Reisner A, Höller BM, Molin S, et al. Synergistic effects in mixed *Escherichia coli* biofilms: Conjugative plasmid transfer drives biofilm expansion. *J Bacteriol* 2006, 188: 3582—3588
- 35 Zambrano MM, Kolter R. Mycobacterial biofilms: A greasy way to hold it together. *Cell*, 2005, 123: 762—764
- 36 Zhang XS, Rodolfo GC, Wood T K. YcR(BhsA) Influences *Escherichia coli* biofilm formation through stress response and surface hydrophobicity. *J Bacteriol* 2007, 189(8): 3051—3062
- 37 冯永君, 何 晴. 植物内生菌的生物薄膜(biofilm). *生命的化学*, 2007, 27(1): 87—88
- 38 冯永君, 宋 未. 植物内生菌. *自然杂志* 2001, 23(5): 249—252
- 39 卢镇岳, 杨新芳, 冯永君. 植物内生细菌的分离、分类、定殖与应用. *生命科学*, 2006, 18: 90—94
- 40 冯永君, 宋 未. 水稻内生优势成团泛菌 GFP 标记菌株的性质与标记丢失动力学. *中国生化与分子生物学报*, 2002, 18(1): 85—91
- 41 沈德龙, 冯永君, 宋 未. 内生成团泛菌 YS19 对水稻乳熟期光合产物在旗叶、穗分配中的影响. *自然科学进展*, 2002, 12(8): 863—865
- 42 Feng YJ, Shen DL, Song W. Rice endophyte *Pantoea agglomerans* YS19 promotes host plant growth and affects allocations of host photosynthates. *J Appl Microbiol* 2006, 100: 938—945
- 43 Feng YJ, Shen DL, Dong XZ, et al. *In vitro* symplasmata formation in the rice diazotrophic endophyte *Pantoea agglomerans* YS19. *Plant Soil* 2003, 255: 435—444
- 44 Duan JY, Yi T, Feng YJ, et al. Rice endophyte *pantoea agglomerans* YS19 forms multicellular symplasmata *via* cell aggregation. *FEMS Microbiol Lett*, 2007, 270: 220—226
- 45 Karatan E, Duncan TR, Watnick P I. NspS, a predicted polyamine sensor, mediates activation of *Vibrio cholerae* biofilm formation by norspermidine. *J Bacteriol* 2005, 187(21): 7434—7443
- 46 Lazar SW, Kolter R. SurA assists the folding of *Escherichia coli* outer membrane proteins. *J Bacteriol* 1996, 178(6): 1770—1773
- 47 Hunstad DA, Justice SS, Hung CS, et al. Suppression of bladder epithelial cytokine responses by uropathogenic *Escherichia coli*. *Infect Immun*, 2005, 73: 3999—4006
- 48 Justice SS, Lauer SR, Hultgren SJ, et al. Maturation of intracellular *Escherichia coli* communities requires SurA. *Infect Immun*, 2006, 74(8): 4793—4800
- 49 Schembri M A, Kjaergaard K, Klemm P. Global gene expression in *Escherichia coli* biofilms. *Mol Microbiol* 2003, 48(1): 253—267
- 50 Beloin C, Valle J, Patricia LL, et al. Global impact of mature biofilm lifestyle on *Escherichia coli* K-12 gene expression. *Mol Microbiol* 2004, 51(3): 659—674
- 51 Pysz MA, Connors SB, Montero CL, et al. Transcriptional analysis of biofilm formation processes in the anaerobic, hyperthermophilic bacterium *Thermotoga maritima*. *Appl Environ Microb*, 2004, 70(10): 6098—6112