

芽孢杆菌鞭毛及其运动相关特性的研究进展

范萌¹, 黄升泉², 李昱龙², 赵银娟², 樊奔^{*2}

1 南京林业大学生物与环境学院, 江苏 南京 210037

2 南京林业大学林学院, 江苏 南京 210037

范萌, 黄升泉, 李昱龙, 赵银娟, 樊奔. 芽孢杆菌鞭毛及其运动相关特性的研究进展[J]. 微生物学通报, 2022, 49(5): 1832-1845
Fan Meng, Huang Shengquan, Li Yulong, Zhao Yinjuan, Fan Ben. Flagella and motility-related properties of *Bacillus*: a review[J]. Microbiology China, 2022, 49(5): 1832-1845

摘要: 鞭毛是着生在很多细菌体表的细长弯曲丝状物, 作为细菌的运动“器官”, 鞭毛是微生物学中研究最深入的生理系统之一。细菌可以通过鞭毛运动更好地适应栖息环境, 并在环境条件不利时及时逃离。此外, 鞭毛运动对于有害细菌或者有益细菌在宿主表面的定殖、生物膜形成及其与宿主其他互作过程中都发挥着重要作用。芽孢杆菌(*Bacillus* sp.)是一类在自然界中广泛分布的细菌, 其许多菌株在工农业生产及医药等领域都有重要的应用价值, 本文对芽孢杆菌鞭毛及其运动相关特性的研究进展进行了综述: 芽孢杆菌鞭毛的结构组成、组装过程及合成基因的表达调控; 芽孢杆菌运动性与相关生物学特性, 包括生物膜形成和分散、芽孢的形成、感受态形成、 γ -聚谷氨酸和抗生素生产等方面之间的相互关系及其底层分子机制。本综述旨在为本领域的相关研究提供可参考的综合知识和理论指导依据。

关键词: 芽孢杆菌; 运动性; 鞭毛; 生物膜; 芽孢; γ -聚谷氨酸; 抗生素

Flagella and motility-related properties of *Bacillus*: a review

FAN Meng¹, HUANG Shengquan², LI Yulong², ZHAO Yinjuan², FAN Ben^{*2}

1 College of Biology and Environment, Nanjing Forestry University, Nanjing 210037, Jiangsu, China

2 College of Forestry, Nanjing Forestry University, Nanjing 210037, Jiangsu, China

Abstract: Flagella are slender and curved protein filaments associated with the surface of many bacteria. As the motility ‘organ’ of bacteria, flagellum is one of structures that have been most extensively studied in microbiology. Through flagellar movement, bacteria can better adapt to their habitat or escape from unfavorable environments. In addition, flagellar plays an important role in the

基金项目: 国家自然科学基金(31970097)

Supported by: National Natural Science Foundation of China (31970097)

*Corresponding author: E-mail: fanben2000@gmail.com

Received: 2021-11-17; Accepted: 2021-12-28; Published online: 2022-02-11

colonization of host surfaces by harmful or beneficial bacteria, and in their biofilm formation and other tight interaction with their hosts. *Bacillus* is ubiquitous in the nature containing many species and strains with great value in industrial, agricultural and medicinal applications. In this work, the research progress on the flagella and motility-related properties of *Bacillus* is reviewed. Firstly, we introduced the structural composition, assembly process, and expression regulation of synthetic genes of *Bacillus* flagella. Secondly, relationships and the underlying molecular mechanisms of *Bacillus* flagella motility and its motility-related characteristics of including the biofilm formation and dispersal, sporulation, competence, and production of γ -polyglutamic acid and antibiotics is discussed. This review aims at providing comprehensive knowledge and theoretical guidance for related studies in this field.

Keywords: *Bacillus*; motility; flagella; biofilm; spore; γ -polyglutamic acid; antibiotic

细菌可以在环境中四处移动。同一种细菌可以有多种主动运动形式,而不同种类的细菌运动方式也多有不同。例如大肠杆菌(*Escherichia coli*)和沙门氏菌(*Salmonella*)可以在液体中进行游泳运动(swimming)^[1-2]、粘质沙雷氏菌(*Serratia marcescens*)和溶藻弧菌(*Vibrio alginolyticus*)可以在固体表面上发生群移运动(swarming)^[3-4]、黄色粘球菌(*Myxococcus flavus*)可以进行滑动运动(gliding)^[5]、铜绿假单胞菌(*Pseudomonas aeruginosa*)可以进行抽搐运动(twitching)^[6]和冲浪运动(surfing)^[7]。细菌的运动性不仅能帮助细菌更好地适应环境,还与其趋化性、黏附性、毒力和致病性等特征密切相关。因此,细菌的运动性及其结构基础和运动机制一直是细菌学研究的一个重要内容。

枯草芽孢杆菌(*Bacillus subtilis*)是一类广泛存在于自然环境中的革兰氏阳性细菌,也是研究细菌运动性的模式菌种之一。枯草芽孢杆菌营需氧或兼性厌氧生长,无荚膜,无致病性,归属厚壁菌门(*Firmicutes*)芽孢杆菌纲(*Bacilli*)芽孢杆菌目(*Bacillales*)芽孢杆菌科(*Bacillaceae*)芽孢杆菌属(*Bacillus*)。芽孢杆菌属的细菌很多都是重要的工业生产菌株,能够产生诸如环肽、多聚氨基酸(多聚谷氨酸、聚天冬氨酸)、聚多糖及抗生素等重要的次生代谢产物。同时,芽孢

杆菌也是动植物的益生菌,能够通过多种机制促进动物的肠道健康,或者定殖于植物根部而促进植物生长。此外,与其他细菌相比,芽孢杆菌具有一个与众不同的典型特征,即可以产生抗逆性极强的内生孢子(endospore),又称芽孢。正是由于这一特性,芽孢杆菌在生产上具有易运输、耐存储、操作方便等一系列优点,在工农业领域均有大量的应用实践和广泛的开发前景。

鞭毛是细菌的主要运动“器官”,也是前述游泳运动和群移运动的结构基础。芽孢杆菌具有周生鞭毛,可进行明显的游泳和群移运动。对于芽孢杆菌而言,运动性不仅对其本身是重要的,而且大量研究表明其还与芽孢杆菌的其他特性联系密切。例如,蜡样芽孢杆菌(*B. cereus*)的运动性是其产生致病毒力的重要原因^[8],而毒力因子反过来又可以影响细菌细胞运动^[9];在嗜碱芽孢杆菌(*B. alkalophilus*)和蜡样芽孢杆菌中,运动性是产生黏附性和趋化性的一个重要原因^[10-11];对于枯草芽孢杆菌(*B. subtilis*)和瓦雷兹芽孢杆菌(*B. velezensis*)来说,运动性对其在植物根部的定殖十分重要^[12-13]。因此,充分理解芽孢杆菌的运动特性、运动机制和相关特征,对于开发利用芽孢杆菌资源而言具有重要的基础价值。本文从芽孢杆菌的主要运动“器

官”——鞭毛着手,对其运动基础及运动相关生物学特性等方面已有的知识和前沿成果进行综述,以利于读者深入了解芽孢杆菌的运动特性、底层机制和相关影响,为芽孢杆菌的开发应用及进一步研究提供理论指导。

1 芽孢杆菌鞭毛的结构、组装及基因表达调控

对细菌鞭毛结构的研究大多集中在革兰氏阴性细菌如大肠杆菌和肠炎沙门氏菌中,如最近一篇关于肠炎沙门氏菌鞭毛的研究,解析了天然状态下的鞭毛马达-弯钩复合物的冷冻电子显微镜(cryoelectron microscopy, cryo-EM)结构,这项工作首次系统地为鞭毛马达的组装和扭矩传递机制提供了高分辨率的结构见解^[14]。相对而

言,对革兰氏阳性细菌鞭毛的研究则较少,大多数都集中在枯草芽孢杆菌当中。因为具有周生鞭毛及周质空间缺乏等优点,枯草芽孢杆菌很早即是研究革兰氏阳性细菌鞭毛运动的模式菌株^[15]。

1.1 芽孢杆菌鞭毛的结构

芽孢杆菌的鞭毛是由 30 多种不同的蛋白质组成的复杂的分子机器,主要分为 3 个结构域——基体(basal body)、弯钩(hook)和鞭毛丝(filament)^[15](图 1)。基体将鞭毛固定在细胞膜上,为鞭毛旋转传递动力,并容纳第三型分泌系统(type III secretion system, T3SS),其合成所需的 32 个基因集中在 *fla/che* 操纵子中^[16]。弯钩是与基体相连的长螺旋丝,相当于一个柔性万向节装置,可改变鞭毛旋转的角度^[17]。鞭毛丝是由一种重复蛋白质单体构成的螺旋浆,

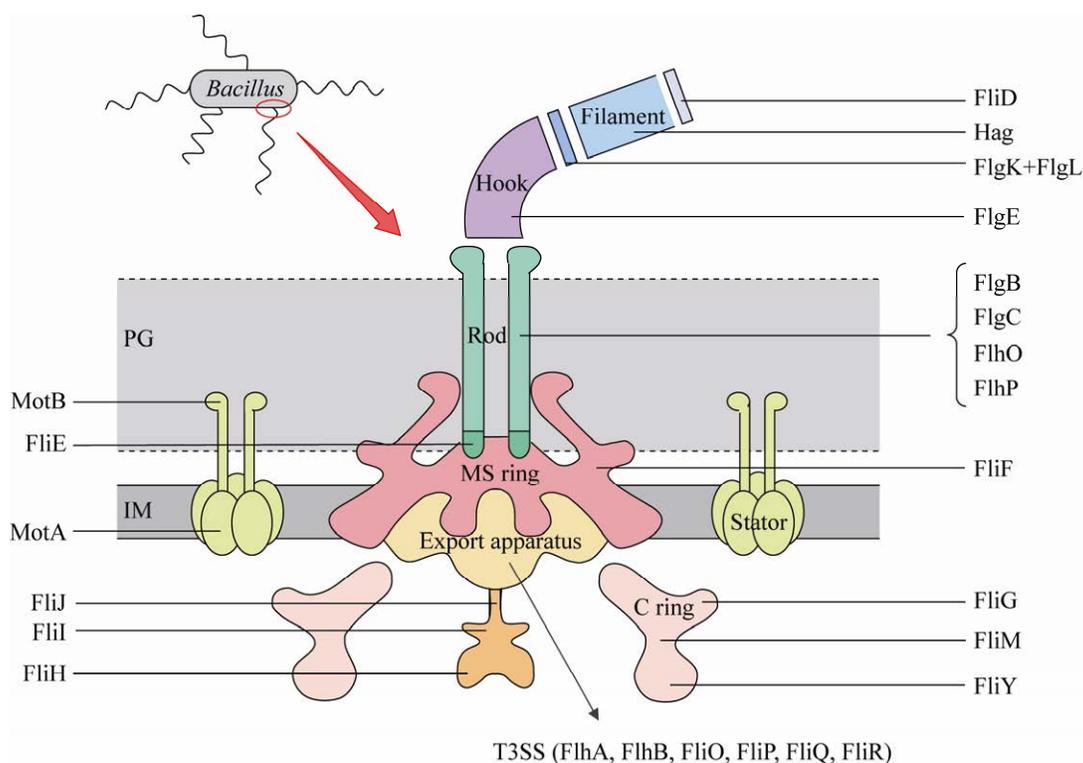


图 1 芽孢杆菌鞭毛结构和相关蛋白 PG: 肽聚糖层; IM: 细胞内膜

Figure 1 The flagella structure and related proteins of *Bacillus*. PG: Peptidoglycan layer; IM: Intracellular membranes.

一般认为其是刚性的, 可以根据环境条件的变化在旋转期间控制细菌运动的方向^[18]。鞭毛旋转的动力来自一个转子环复合体和多个跨膜定子单元组成的鞭毛马达, 每个定子单元充当一个离子通道, 将通过的离子流转化成扭矩, 从而使鞭毛产生旋转的动力^[19]。

1.2 鞭毛的组装过程

鞭毛的组装是一个复杂且精细的过程。由于组成结构与调控机制的差异, 枯草芽孢杆菌的鞭毛装配过程比大肠杆菌快 2-3 倍, 在 *fla/che* 操纵子基因表达的 5 min 内便开始形成基体, 沿着长度为 4 μm 的细胞合成多个鞭毛基体蛋白^[15]。电子冷冻断层扫描技术(electron cryotomography, ECT)分析发现, 芽孢杆菌的基体部分主要由 C 环、MS 环、杆和蛋白质输出装置组成, 与革兰氏阴性菌相比少了 L 环和 P 环复合物^[20]。鞭毛三型分泌系统又称鞭毛输出系统, 该装置作为鞭毛蛋白合成和输出的主要位点, 很有可能就是鞭毛基体组装的开始位置。T3SS 系统由 FlhA、FlhB、FliO、FliP、FliQ 和 FliR 蛋白组成^[21](图 1)。其中 FlhA 是复合体中研究较多的蛋白质, 它与 FliH/I/J 伴侣蛋白复合体相互作用, 控制着鞭毛丝蛋白的分泌^[22]。FliF 环复合体由 MS 环和鞭毛基体杆的近端部分组成, 是细菌鞭毛装配的基础结构, 也是鞭毛蛋白输出装置的一部分^[23]。基体由 4 种假定的杆状结构蛋白(FlgB、FlgC、FlhO 和 FlhP)组成, 杆状的基体作为一个旋转轴, 可以将动力传递给弯钩和鞭毛丝^[17]。四个蛋白中 FlgB 和 FlgC 的具体功能还未明确, 而 FlhO 和 FlhP 蛋白可能参与了弯钩的合成^[24]。MS 环和基体杆结构之间是通过蛋白 FliE 进行衔接的^[25]。FliF 环复合体的下面是 FliG, FliG 与另外 2 个蛋白质环 FliM 和 FliY (FliN 的同源物)共同在基体的底部

形成转子开关复合体(C 环)^[26], 这种复合物与 CheY 和 CheZ 趋化系统蛋白相互作用并控制鞭毛旋转的方向^[27]。

鞭毛基因表达的 10 min 内鞭毛第二部分——弯钩开始形成^[15]。作为连接基体和鞭毛丝的结构, 弯钩主要是由 FlgE 蛋白构成^[24](图 1)。钩帽蛋白 FlgD 首先在杆状结构的末端进行组装, 之后 FlgE 蛋白就可以像其他鞭毛蛋白一样通过基体杆复合体分泌出来, 插入到 FlgD 下方并聚合成一个弯曲的空心圆柱体^[28]。蛋白 FlgK 和 FlgL 在弯钩的远端进行组装, 起到连接弯钩与鞭毛丝的作用, 其中 FlhA 的 C 端胞质结构域(FlhA-C)作为一个结合位点, 帮助 FlgK、FlgL 与其伴侣蛋白 FlgN 形成的复合体进行输出^[29]。弯钩的长度由 FliK 蛋白进行调节, 它可以与鞭毛弯钩蛋白和 T3SS 成分中的 FlhB 蛋白相互作用, 一旦弯钩组装完成后, FliK 就会激活 FlhB 蛋白的自动分解, 进而触发并识别鞭毛丝蛋白分泌和组装的特异性底物开关^[30]。

在鞭毛基因表达的 15 min 内鞭毛丝开始组装^[15]。基因 *hag* 是鞭毛组装的必需基因, 编码鞭毛主丝蛋白 Hag (图 1)。一开始 Hag 在胞质内以未折叠的状态结合伴侣蛋白 FliS, FliS 可以增强 Hag 的分泌, 并将其递送到 T3SS 装置处, 随后 Hag 通过中空的基体杆和弯钩结构被分泌出来^[31]。一旦 Hag 单体从分泌导管中出现, 就会遇到位于鞭毛远端的丝帽蛋白 FliD, FliD 是鞭毛丝伸长以及促进鞭毛单体蛋白折叠和组装所必需的, 其在鞭毛丝生长的顶端形成一个覆盖结构, 防止鞭毛单体蛋白在未聚合的情况下漏出去^[32]。主丝蛋白 Hag、丝帽蛋白 FliD 及它们的同源伴侣蛋白(FliS 和 FliT)是在 FlhA 的细胞质内 C 端结构域(FlhA-C)处结合并形成复合物^[22]。

枯草芽孢杆菌还编码两对定子蛋白 MotP/MotS 和 MotA/MotB,与编码大肠杆菌的鞭毛定子同源(图 1)。MotP 和 MotS 消耗 Na^+ 动力并支持鞭毛介导的游泳运动,但不支持群移运动^[33];相比之下,鞭毛介导的游泳运动和群移运动均需要 MotA/B 复合体, MotA 和 MotB 形成跨膜质子通道复合体,将消耗 H^+ 动力通过的质子流与扭矩产生耦合,从而自主控制质子通道活动,以响应环境的变化^[19]。当鞭毛组装完成后,质子动力的能量就会驱动与鞭毛基体相连的转子蛋白环和锚定在内膜上的多个定子复合物之间产生物理相互作用,最终鞭毛丝可以像螺旋桨一样以每秒 100–1 000 转的速度 360° 旋转^[34]。

1.3 鞭毛相关基因的转录调节

在液体中,枯草芽孢杆菌群体中存在两种形态和功能不同的细胞类型:运动型的单个个体细胞和非运动型的多细胞链。运动细胞的分化是因为 RNA 聚合酶 σ^D 因子在自身基因表达的同时激活了鞭毛蛋白在细胞亚群中表达,而当 σ^D 停止表达时,细胞则表现出不活跃的长链状形态^[35]。编码 σ^D 的基因位于 *fla/che* 操纵子范围内,这一区域包含 30 多个与鞭毛合成和趋化性所需的基因(图 2),该区域全部基因的转录不仅取决于 σ^D 的活性,还受鞭毛特异性负调节因子 FlgM 的调节^[36]。此外,一种新的调节蛋白 SwrA 可以刺激 *fla/che* 操纵子的转录,其中包括基因 *sigD* 和 *swrB*,基因 *swrB* 位于 *fla/che* 操纵子中 *sigD* 的紧邻下游,并与基因 *sigD* 一起转录^[37]。研究表明,SwrB 蛋白对基因 *sigD* 的表达也有一定的促进作用,但在基因 *sigD* 高表达时,这种促进作用却是可有可无的,只有当基因 *swrA* 不表达且因此 σ^D 水平较低条件下,SwrB 才会在促进基因 *sigD* 表达中起关键作用^[37]。此外,SwrA 还可以通过结合和调节应答调节剂 DegU,从而间接激活 *fla/che* 操纵子,

其中 DegU 以高亲和力的方式结合在 *flgB* 的 PA 启动子区域上^[38]。然而 DegU 的磷酸化会抑制 *fla/che* 启动子的表达,从而影响运动性和相关的生物学表型^[39]。另外,双稳态蛋白 SinR-SlrR 也对 σ^D 蛋白的积累有抑制作用,并可能使整个 σ^D 调节因子失活,从而影响相关鞭毛基因的转录^[40]。

2 与运动性相关的芽孢杆菌生物学特性

芽孢杆菌的鞭毛不仅是运动所必需的,而且还是细菌接受外界刺激并传递信号的传感器。有研究表明,鞭毛感知外界刺激后通过传输一种机械信号来控制 DegS-DegU 双组分系统^[39]。DegU 是一个重要的全局转录调控因子,参与近 100 个不同基因的转录表达, DegU 的调节作用主要以磷酸化的形式进行,作为一种响应调节因子(response regulator, RR), DegU 可以被其胞质同源传感器组氨酸激酶 DegS 磷酸化^[41],在此过程中,一种小蛋白质 DegQ 有助于将磷酸基部分从 DegS 转移到 DegU 上,从而对 DegU 磷酸化(DegU~P)的水平产生影响。磷酸化后的 DegU 可控制芽孢杆菌多种生物学行为^[42],包括生物膜形成、外源 DNA 转化能力、基于鞭毛的群移运动、聚- γ -谷氨酸的产生以及抗生素的生产等。尽管目前芽孢杆菌运动性与这些特性的关联机制并不十分清楚,但是已有研究表明, DegS 可以被不完全组装的鞭毛或者在鞭毛旋转受到抑制时被激活, DegS 通过影响 DegU 的磷酸化进而控制相关性状,可能是这些性状间相互联系的底层分子机制之一^[40]。此外,除了 DegS-DegU 双组分控制系统外,还存在其他系统参与运动性与相关表型的转换如 Spo0A 途径等(图 2)。

鞭毛旋转的停止可以作为一种机械信号,诱导细菌从运动状态到固着状态的改变^[45]。类似地,在蜡样芽孢杆菌的鞭毛缺陷型菌株中也观察到,其生物膜形成的缺陷可能与早期无法附着在表面有关^[46]。由此可知,细菌的运动性对生物膜早期的附着至关重要。

Smith等在苏云金芽孢杆菌中发现当MogR调控因子过度表达时会导致一系列运动基因被抑制,与此同时许多非运动型的基因也受到MogR过表达的影响,其中包括生物膜形成的基因^[47]。Guttenplan等在枯草芽孢杆菌中发现,一些与生物膜基质合成相关的基因也参与运动的调节(图2),例如参与胞外多糖合成基因簇*eps*操纵子中的EpsE蛋白,既是生产胞外基质的必需酶,又能以类似汽车离合器(clutch)的形式通过与鞭毛运动开关蛋白FliG相互作用从而抑制鞭毛的旋转,这有助于运动细胞向生物膜细胞的转变,但EpsE介导的运动抑制作用与生物膜形成之间是独立发生的^[48]。如前所述,在枯草芽孢杆菌中DegU的磷酸化水平对生物膜形成也发挥了重要作用(图2),例如基因*bslA*编码的疏水性外壳蛋白BslA(YuaB)是枯草芽孢杆菌生物膜形成所必需的,而基因*bslA*的转录可以被磷酸化的DegU直接激活^[49-50]。Kobayashi也发现DegU和磷酸化DegU水平的逐渐增加直接诱导了从活动的细胞转变为固着的生物膜细胞^[50]。此外,除DegS-U信号系统外,研究还发现在解淀粉芽孢杆菌中存在的c-di-GMP系统也能影响细菌的运动性和形成生物膜的能力^[51]。这些研究均表明芽孢杆菌的运动性与生物膜形成具有密切的关系。

2.2 运动性与生物膜分散(biofilm dispersion)

运动性在生物膜中的另一个作用是其对生物膜的分散和新表面定居的强大贡献。生物膜分散是生物膜发展的最后阶段。在此期间,生

物膜细胞会因为不断恶化的条件而主动离开生物膜,并在更好的位置形成新的生物膜^[52]。然而研究表明存在另一种可能性,即生物膜内的运动细胞会继续保留其中,然后通过类似于群移的过程使其在未定居的表面一步一步地前进,从而扩展生物膜^[53]。生物膜分散是一个高度可调控的过程,涉及对环境条件的感知及复杂的调节网络,最终释放出单细胞或多细胞的聚集体^[54],所以运动性对生物膜分散同样重要。

与生物膜形成的大量深入研究不同,生物膜的分散机制仅在少数细菌,主要是铜绿假单胞菌和金黄色葡萄球菌中有阐明,对芽孢杆菌的相关研究则很少^[55]。然而已有研究表明运动性与生物膜分散有密切关系。例如有研究者发现,在蜡状芽孢杆菌中添加体外合成的AI-2会抑制生物膜的形成,并刺激细菌从成熟的生物膜中分散出来,而合成AI-2所在的群体感应(quorum sensing)系统除了与生物膜的形成和分散有关,还参与了芽孢的形成和细菌的运动性^[56]。也有研究表明,应激转录因子SigB对于阻止成熟生物膜的有害过度生长和在营养物变得有限时触发扩散是必不可少的。特别的是,RsbP依赖性途径控制着生物膜形成过程中SigB的激活,进而正向控制SinR的表达,而SinR是芽孢杆菌中重要的调节因子,与蛋白SlrR结合构成了一个双负反馈环,不仅调节*slrR*转录,还参与调控胞外基质基因(*eps*操纵子和*tapA-sipW-tasA*操纵子)及细胞运动基因*hag*的表达^[57-58](图2)。

2.3 运动性与芽孢生成(sporulation)

在环境中营养匮乏的时候,芽孢杆菌会产生休眠体细胞——芽孢,这种细胞的特点是脱水细胞质被一系列保护层——肽聚糖样皮层和蛋白质外壳包围^[59]。芽孢成熟释放之后,可以在长期缺水和营养物质的情况下存活,并能承

受对其他细胞类型来说致命的极端条件,因此芽孢被认为是自然界中最具逆境耐受性的细胞,能够在不利的环境条件下存活十余年,甚至成千上万年^[60]。尽管在代谢上处于静止状态,但芽孢会感知周围的环境,当养分及环境条件适宜时,芽孢又可重新萌发形成能够分裂繁殖的菌体细胞^[61]。

芽孢本身并不具有运动性,因此芽孢生成的过程也是细胞丧失运动性的过程。运动性和芽孢生成之间的关系可以通过简单实验联系起来,例如当蜡样芽孢杆菌生长在含有不同含水量的琼脂平板上时,生成的芽孢其特性不一样:当平板比较干燥时细菌产生正常的芽孢;而当培养基表面比较湿润时,鞭毛运动导致产生的芽孢较小且易受损^[62]。在自然条件下,二者的关系更是可以通过生物膜而联系起来。生物膜形成既是一个动态的过程,也是细胞高度分化的过程,而生成芽孢则是生物膜中一部分细胞的最终命运^[63]。芽孢杆菌的运动性、生物膜形成和芽孢生成均受一个重要调控因子 Spo0A 的调控, Spo0A 是芽孢杆菌对数生长晚期开始表达的一个调控蛋白,在芽孢杆菌细胞内磷酸基团(phosphorelay)传递过程中属于枢纽位置,控制大约 200 个基因的表达,不同浓度的 Spo0A~P 水平可以调控关键发育基因的转录来控制细菌运动性、生物膜和芽孢的形成^[64]。其中,中等浓度的 Spo0A~P 通过一种触发蛋白 SinI 来调控 SinR-SlrR 开关复合物,当体内 SlrR 浓度低时会启动游离基因的表达,从而促进细胞运动,当 SlrR 浓度高时会导致胞外多糖(exopolysaccharide, EPS)基因的表达,进而促进生物膜的形成; Spo0A~P 水平继续升高时,产孢途径则被高水平的 Spo0A~P 激活,继而通过 SpoII 蛋白激活一系列 σ 因子最终诱导芽孢的形成^[58](图 2)。由此可见,运动性和芽孢生成

这些结果表明,运动性与芽孢形成有关。

2.4 运动性与感受态(competence)

细菌中普遍存在着自然转化的现象。自然转化是指细菌能够自发地从胞外环境中摄取游离 DNA 分子并整合到自身基因组上的过程,是细菌间进行水平基因转移的重要机制之一^[65]。形成自然感受态是自然转化发生的首要条件,这是一个非常复杂的过程,涉及许多特定基因和调控因子。芽孢杆菌细胞进入感受态发生在稳定期早期,这时少数细胞会表达产生高水平的主调节器蛋白 ComK,当 ComK 浓度高于某个阈值时,细胞则进入所谓的“K 状态(K-state)”^[66]。感受态则是 K 状态的表现形式之一,感受态发生时依赖于 ComK 的约 100 个基因开始大量转录表达^[67],其中包括能够摄取和加工转化 DNA 的蛋白质(图 2)。

Hölscher 等研究表明,缺乏功能鞭毛蛋白编码基因如 *hag*、*motA* 和 *flgE* 的突变体表现出降低的转化频率,这是由于主调节因子 ComK 表达水平降低,进而导致感受态基因表达水平降低所导致,这一表型的缺损可以通过在 *hag* 突变体中过度表达 *comK* 来恢复^[68]。Diethmaier 等也发现删除枯草芽孢杆菌整个 *fla/che* 操纵子后影响了 *comK* 的转录水平,导致转变成 K 状态的可能性降低;并且实验还发现在 *hag* 缺失菌株和 *motB* 突变体中 DegU~P 水平升高,说明鞭毛缺损突变体中的高 DegU~P 抑制了 *comK* 的基础表达,进一步影响了细胞感受态的出现^[69]。然而在之前就有研究表明,高磷酸化的 DegU 会抑制 *srfA* 基因的转录,从而降低了 *srf* 操纵子中 *comS* 基因的表达,因此 ComS 就失去了和 ComK 竞争的机会,导致 MecA-ClpC-ClpP 蛋白酶迅速结合并降解 ComK,从而影响了细胞的感受态,但是尚不知 DegU~P 对 *srfA* 转录的作用是否是直接通过结合 *srfA* 启动子介导^[70]。这

些研究结果充分表明,运动能力也能显著影响芽孢杆菌感受态的形成以及对外源 DNA 的遗传转化能力。

2.5 运动性与 γ -聚谷氨酸(γ -polyglutamic acid, γ -PGA)合成

γ -聚谷氨酸是由 D-谷氨酸和 L-谷氨酸通过 γ -酰胺键聚合而成的一种阴离子型多肽聚合物,分子量为 10–10 000 kDa。 γ -PGA 是一种绿色环保型高分子聚合材料,具有优良的水溶性、超强的吸附性及生物可降解性,降解产物为无公害的谷氨酸,在化妆品、环境保护、食品、医药、农业、沙漠治理等产业均有很大的商业价值和社会价值^[71]。 γ -PGA 最早是在 1937 年由 Ivanovics 等在炭疽芽孢杆菌的荚膜中发现,为炭疽芽孢杆菌荚膜中的主要成分^[72]。之后有不少学者陆续发现其他芽孢杆菌,包括枯草芽孢杆菌、地衣芽孢杆菌和瓦雷兹芽孢杆菌等也能产生 γ -PGA。

一系列研究表明, γ -PGA 的产生与芽孢杆菌的运动性也密切联系。Chan 等发现,敲除枯草芽孢杆菌中鞭毛定子基因 *motAB* 不仅会影响该菌运动性,还会导致胞外聚合物 γ -PGA 的过量生产,从而赋予菌落黏液样的表型^[34]。也有研究发现,敲除鞭毛丝组装过程中涉及的蛋白质(FliD、FliT 和 FlgL)会对 γ -PGA 的形成产生影响,在这些影响中,转录因子 DegU 可能发挥了至关重要的一环:高水平的 DegU~P 可以直接调控 *pgsB* 基因的转录,而 *pgsB* 操纵子编码的蛋白质产物可以驱动 γ -PGA 的生物合成,从而导致 γ -PGA 合成的转录上调(图 2)^[39]。由此可知,芽孢杆菌运动性丧失,甚至是简单的鞭毛旋转受抑制都会导致 γ -PGA 合成的明显增强,在这种联系之间 DegU~P 扮演着重要的角色。另一方面,有研究表明 γ -PGA 对运动性也有影响,例如 Wang 等发现在枯草芽孢杆菌

BsE1 中, *pgsB* 缺失突变体降低了 γ -PGA 产量并表现出体外运动能力的明显下降,但关于这一影响的内在机制目前尚不清楚^[73]。

2.6 运动性与抗生素(antibiotic)合成

许多芽孢杆菌均能产生各种对抗细菌和真菌的抗生素。根据报道,芽孢杆菌属细菌可以产生多种抗菌素,其中一些具有临床价值,而另一些则可用来控制食品和植物疾病中的微生物^[74]。例如多粘芽孢杆菌(*Bacillus polymyxa*)产生的多粘菌素可以用来治疗败血症和细菌性眼炎;枯草芽孢杆菌产生的伊枯草菌素则在生物农药方面有广泛的应用,而在植物根系益生菌瓦雷兹芽孢杆菌当中则鉴定出了十余种脂肽类和聚酮类抗生素,在协助植物抵御病原微生物过程中发挥了重要作用,如瓦雷兹芽孢杆菌 FZB42 中发现的二肽 bacilysin 对引起植物病害的病原菌大豆疫霉具有较强的拮抗作用^[75]。尽管芽孢杆菌的抗生素引起研究者越来越多的兴趣,但它们中很多种类的合成和分子调节机制目前还知之甚少。

已有研究表明, DegS-DegU 双组分调节系统对抗生素的合成也具有一定的影响。早在 2005 年, Tsuge 等就发现枯草芽孢杆菌中 DegQ 表达增加时抗生素 iturin A 的产量增加了 7 倍,但 DegQ 是否直接影响了 iturin A 转录调控当时并不明确^[76]。后来 Koumoutsis 等在瓦雷兹芽孢杆菌 FZB42 中发现 DegQ 确实影响抗生素 bacillomycin D 的转录,而 DegQ 的作用则是间接通过 DegU 介导,因为在 *degU* 突变株中诱导 *degQ* 的表达并不能弥补 bacillomycin D 产量的降低;进一步的研究表明, DegU 结合在了 bacillomycin D 操纵子的启动子 P_{bmy} 上游的 2 个位点,并直接激活了该抗生素基因的表达^[77]。Xu 等在解淀粉芽孢杆菌 SQR9 中也发现,当 DegU 磷酸化的水平升高时, bacillomycin D 和

difficidin 的产量显著增加, 而 macrolactin 和 bacillaene 的产量则显著下降^[78]。根据这些研究结果及前述信息可以推测, 与运动性影响生物膜、 γ -PGA 等情况类似, 芽孢杆菌的运动性与抗生素合成之间也可以通过 DegU~P 的介导而发生联系。

除了与抗生素合成有关之外, 有研究表明芽孢杆菌的运动性与其对抗生素的耐药性之间也存在关系。Liaqat 等发现, 芽孢杆菌属细菌的鞭毛缺陷型菌株表现出较高的抗生素抗性^[46]。另有研究发现, 群体中的一类具有较强运动性的细胞, 其鞭毛基因如 *hag*、*motA*、*fliI*、*flgK*、*sigD* 等高度表达, 并显示出了对抗生素耐药性的增加^[79]。

3 总结

不同种类的细菌具有不同形式的鞭毛及相应的运动方式。从早期的染色观察到后来的电镜以及各种分子生物学技术的应用, 再到现今多种方法的综合运用, 目前对鞭毛的研究已经进入了一个全新的时代, 对细菌鞭毛的组成结构、运动方式和调节机制的研究也越来越深入。除了细菌运动本身丰富的研究成果之外, 大量证据表明细菌运动还与很多其他性状密切相关。对于芽孢杆菌而言, 其鞭毛运动与生物膜、芽孢生成、细胞感受态、 γ -PGA 和抗生素合成等性状都会相互影响。这些相互影响背后的分子调控机制已经了解很多, 但是依然有很多方面并不清楚, 或者有一些性状还尚未被充分研究。例如, 尽管鞭毛蛋白在大多数细菌中都比较保守, 但革兰氏阳性菌与革兰氏阴性菌相比缺乏细胞外膜且肽聚糖层也大为不同, 因此相同的蛋白在两类细菌中可能发挥着不同的调节作用。再如, 目前关于芽孢杆菌生物膜分散的研究仍处于起步阶段。生物膜会产生一些有害

的影响, 如在临床环境中其几乎可以在任何设备上形成, 从而导致治疗中的感染; 在工业环境中也常堵塞发酵生产的管道。然而生物膜也存在一些有利的方面, 比如它们在废水处理中起着重要作用, 也是微生物燃料电池的潜在能源。通过研究运动性与生物膜分散之间的联系, 使生物膜的存在更偏向对人类有利的方面具有十分重要的实践意义。

综上所述, 继续深入研究芽孢杆菌鞭毛及其运动机制, 不仅有助于理解细菌的基本生物学规律, 还在仿生学、应对细菌生物膜、 γ -PGA 及抗生素等重要发酵产品的工业生产等方面具有重要价值。因此, 在未来的研究中还需要结合更精密的现代分析技术和仪器, 深入了解芽孢杆菌鞭毛的精确组装过程、鞭毛蛋白发挥的具体功能及蛋白之间的相互作用等, 并从分子层面继续深入探究运动与其他相关性状之间相互联系的详细作用机制。

REFERENCES

- [1] Huo HY, He R, Zhang RJ, Yuan JH. Swimming *Escherichia coli* cells explore the environment by lévy walk[J]. Applied and Environmental Microbiology, 2021, 87(6): e02429-e02420
- [2] Horstmann JA, Zschieschang E, Truschel T, De Diego J, Lunelli M, Rohde M, May T, Strowig T, Stradal T, Kolbe M, et al. Flagellin phase-dependent swimming on epithelial cell surfaces contributes to productive *Salmonella* gut colonisation[J]. Cellular Microbiology, 2017, 19(8): e12739
- [3] Yang JY, Arratia PE, Patteson AE, Gopinath A. Quenching active swarms: effects of light exposure on collective motility in swarming *Serratia marcescens*[J]. Journal of the Royal Society, Interface, 2019, 16(156): 20180960
- [4] Böttcher T, Elliott HL, Clardy J. Dynamics of snake-like swarming behavior of *Vibrio alginolyticus*[J]. Biophysical Journal, 2016, 110(4): 981-992
- [5] Tchoufag J, Ghosh P, Pogue CB, Nan BY, Mandadapu KK. Mechanisms for bacterial gliding motility on soft substrates[J]. PNAS, 2019, 116(50): 25087-25096

- [6] Kühn MJ, Talà L, Inclan YF, Patino R, Pierrat X, Vos I, Al-Mayyah Z, MacMillan H, Negrete J Jr, Engel JN, et al. Mechanotaxis directs *Pseudomonas aeruginosa* twitching motility[J]. PNAS, 2021, 118(30): e2101759118
- [7] Sun E, Gill EE, Falsafi R, Yeung A, Liu SJ, Hancock REW. Broad-spectrum adaptive antibiotic resistance associated with *Pseudomonas aeruginosa* mucin-dependent surfing motility[J]. Antimicrobial Agents and Chemotherapy, 2018, 62(9): e00848-e00818
- [8] Jessberger N, Dietrich R, Granum PE, Märtilbauer E. The *Bacillus cereus* food infection as multifactorial process[J]. Toxins, 2020, 12(11): 701
- [9] Amanchi N, Hussain MM. Cytotoxic effects of delfin insecticide (*Bacillus thuringiensis*) on cell behaviour, phagocytosis, contractile vacuole activity and macronucleus in a protozoan ciliate *Paramecium caudatum*[J]. African Journal of Biotechnology, 2008, 7(15): 2637-2643
- [10] Fujinami S, Terahara N, Krulwich TA, Ito M. Motility and chemotaxis in alkaliphilic *Bacillus* species[J]. Future Microbiology, 2009, 4(9): 1137-1149
- [11] Wang XF, Xie HQ, Ku YL, Yang XN, Chen YL, Yang N, Mei XL, Cao CL. Chemotaxis of *Bacillus cereus* YL6 and its colonization of Chinese cabbage seedlings[J]. Plant and Soil, 2020, 447(1/2): 413-430
- [12] Blake C, Christensen MN, Kovács ÁT. Molecular aspects of plant growth promotion and protection by *Bacillus subtilis*[J]. Molecular Plant-Microbe Interactions: MPMI, 2021, 34(1): 15-25
- [13] Teixeira GM, Mosela M, Nicoletto MLA, Ribeiro RA, Hungria M, Youssef K, Higashi AY, Mian S, Ferreira AS, Gonçalves LSA, et al. Genomic insights into the antifungal activity and plant growth-promoting ability in *Bacillus velezensis* CMRP 4490[J]. Frontiers in Microbiology, 2021, 11: 618415
- [14] Tan JX, Zhang X, Wang XF, Xu CH, Chang SH, Wu HJ, Wang T, Liang HH, Gao HC, Zhou Y, et al. Structural basis of assembly and torque transmission of the bacterial flagellar motor[J]. Cell, 2021, 184(10): 2665-2679.e19
- [15] Guttenplan SB, Shaw S, Kearns DB. The cell biology of peritrichous flagella in *Bacillus subtilis*[J]. Molecular Microbiology, 2013, 87(1): 211-229
- [16] Mukherjee S, Kearns DB. The structure and regulation of flagella in *Bacillus subtilis*[J]. Annual Review of Genetics, 2014, 48: 319-340
- [17] Fujii T, Matsunami H, Inoue Y, Namba K. Evidence for the hook supercoiling mechanism of the bacterial flagellum[J]. Biophysics and Physicobiology, 2018, 15: 28-32
- [18] Wang FB, Burrage AM, Postel S, Clark RE, Orlova A, Sundberg EJ, Kearns DB, Egelman EH. A structural model of flagellar filament switching across multiple bacterial species[J]. Nature Communications, 2017, 8: 960
- [19] Onoe S, Yoshida M, Terahara N, Sowa Y. Coupling ion specificity of the flagellar stator proteins MotA1/MotB1 of *Paenibacillus* sp. TCA20[J]. Biomolecules, 2020, 10(7): 1078
- [20] Terashima H, Kawamoto A, Morimoto YV, Imada K, Minamino T. Structural differences in the bacterial flagellar motor among bacterial species[J]. Biophysics and Physicobiology, 2017, 14: 191-198
- [21] Halte M, Erhardt M. Protein export via the type III secretion system of the bacterial flagellum[J]. Biomolecules, 2021, 11(2): 186
- [22] Xing Q, Shi K, Portaliou A, Rossi P, Economou A, Kalodimos CG. Structures of chaperone-substrate complexes docked onto the export gate in a type III secretion system[J]. Nature Communications, 2018, 9: 1773
- [23] Takekawa N, Kawamoto A, Sakuma M, Kato T, Kojima S, Kinoshita M, Minamino T, Namba K, Homma M, Imada K. Two distinct conformations in 34 FliF subunits generate three different symmetries within the flagellar MS-ring[J]. mBio, 2021, 12(2): e03199-e03120
- [24] Courtney CR, Cozy LM, Kearns DB. Molecular characterization of the flagellar hook in *Bacillus subtilis*[J]. Journal of Bacteriology, 2012, 194(17): 4619-4629
- [25] Burrage AM, Vanderpool E, Kearns DB. Assembly order of flagellar rod subunits in *Bacillus subtilis*[J]. Journal of Bacteriology, 2018, 200(23): e00425-e00418
- [26] Ward E, Kim EA, Panushka J, Botelho T, Meyer T, Kearns DB, Ordal G, Blair DF. Organization of the flagellar switch complex of *Bacillus subtilis*[J]. Journal of Bacteriology, 2019, 201(8): e00626-e00618
- [27] Sircar R, Greenswag AR, Bilwes AM, Gonzalez-Bonet G, Crane BR. Structure and activity of the flagellar rotor protein fliY: a member of the cheC phosphatase family[J]. Journal of Biological Chemistry, 2013, 288(19): 13493-13502
- [28] Moriya N, Minamino T, Imada K, Namba K. Genetic analysis of the bacterial hook-capping protein FlgD

- responsible for hook assembly[J]. *Microbiology: Reading, England*, 2011, 157(Pt 5): 1354-1362
- [29] Hong HJ, Kim TH, Song WS, Ko HJ, Lee GS, Kang SG, Kim PH, Yoon SI. Crystal structure of FlgL and its implications for flagellar assembly[J]. *Scientific Reports*, 2018, 8: 14307
- [30] Minamino T, Inoue Y, Kinoshita M, Namba K. FliK-driven conformational rearrangements of FlhA and FlhB are required for export switching of the flagellar protein export apparatus[J]. *Journal of Bacteriology*, 2020, 202(3): e00637-e00619
- [31] Mukherjee S, Babitzke P, Kearns DB. FliW and FliS function independently to control cytoplasmic flagellin levels in *Bacillus subtilis*[J]. *Journal of Bacteriology*, 2013, 195(2): 297-306
- [32] Al-Otaibi NS, Taylor AJ, Farrell DP, Tzokov SB, DiMaio F, Kelly DJ, Bergeron JRC. The cryo-EM structure of the bacterial flagellum cap complex suggests a molecular mechanism for filament elongation[J]. *Nature Communications*, 2020, 11: 3210
- [33] Terahara N, Namba K, Minamino T. Dynamic exchange of two types of stator units in *Bacillus subtilis* flagellar motor in response to environmental changes[J]. *Computational and Structural Biotechnology Journal*, 2020, 18: 2897-2907
- [34] Chan JM, Guttenplan SB, Kearns DB. Defects in the flagellar motor increase synthesis of poly- γ -glutamate in *Bacillus subtilis*[J]. *Journal of Bacteriology*, 2014, 196(4): 740-753
- [35] Chen R, Guttenplan SB, Blair KM, Kearns DB. Role of the sigma D-dependent autolysins in *Bacillus subtilis* population heterogeneity[J]. *Journal of Bacteriology*, 2009, 191(18): 5775-5784
- [36] Calvo RA, Kearns DB. FlgM is secreted by the flagellar export apparatus in *Bacillus subtilis*[J]. *Journal of Bacteriology*, 2015, 197(1): 81-91
- [37] Kearns DB, Losick R. Cell population heterogeneity during growth of *Bacillus subtilis*[J]. *Genes & Development*, 2005, 19(24): 3083-3094
- [38] Ermoli F, Bontà V, Vitali G, Calvio C. SwrA as global modulator of the two-component system DegSU in *Bacillus subtilis*[J]. *Research in Microbiology*, 2021, 172(6): 103877
- [39] Cairns LS, Marlow VL, Bissett E, Ostrowski A, Stanley-Wall NR. A mechanical signal transmitted by the flagellum controls signalling in *Bacillus subtilis*[J]. *Molecular Microbiology*, 2013, 90(1): 6-21
- [40] Cozy LM, Phillips AM, Calvo RA, Bate AR, Hsueh YH, Bonneau R, Eichenberger P, Kearns DB. SlrA/SinR/SlrR inhibits motility gene expression upstream of a hypersensitive and hysteretic switch at the level of $\sigma(D)$ in *Bacillus subtilis*[J]. *Molecular Microbiology*, 2012, 83(6): 1210-1228
- [41] Marlow VL, Porter M, Hobley L, Kiley TB, Swedlow JR, Davidson FA, Stanley-Wall NR. Phosphorylated DegU manipulates cell fate differentiation in the *Bacillus subtilis* biofilm[J]. *Journal of Bacteriology*, 2014, 196(1): 16-27
- [42] Barreto HC, Cordeiro TN, Henriques AO, Gordo I. Rampant loss of social traits during domestication of a *Bacillus subtilis* natural isolate[J]. *Scientific Reports*, 2020, 10: 18886
- [43] 夏名轩, 金杰人, 肖明. 细菌生物膜与各微生物类群之间的作用关系[J]. *上海师范大学学报(自然科学版)*, 2020, 49(5): 589-595
- Xia MX, Jin JR, Xiao M. Study on the relationship between bacterial biofilm and various microbial taxa[J]. *Journal of Shanghai Normal University: Natural Sciences*, 2020, 49(5): 589-595 (in Chinese)
- [44] 李昱龙, 陆一鸣, 韩正敏, 樊奔. 细菌菌膜的成分、调控及其与植物的关系[J]. *微生物学通报*, 2017, 44(6): 1491-1499
- Li YL, Lu YM, Han ZM, Fan B. Bacterial biofilm: composition, regulation and association with plant[J]. *Microbiology China*, 2017, 44(6): 1491-1499 (in Chinese)
- [45] Tobin Kährström C. Flagella function as mechanosensors[J]. *Nature Reviews Microbiology*, 2013, 11(9): 597
- [46] Liaqat I, Mirza SA, Iqbal R, Ali NM, Saleem G, Majid S, Shahid M. Flagellar motility plays important role in biofilm formation of *Bacillus cereus* and *Yersinia enterocolitica*[J]. *Pakistan Journal of Pharmaceutical Sciences*, 2018, 31(5(Supplementary)): 2047-2052
- [47] Smith V, Josefsen M, Lindbäck T, Hegna IK, Finke S, Tourasse NJ, Nielsen-Leroux C, Økstad OA, Fagerlund A. MogR is a ubiquitous transcriptional repressor affecting motility, biofilm formation and virulence in *Bacillus thuringiensis*[J]. *Frontiers in Microbiology*, 2020, 11: 610650
- [48] Guttenplan SB, Blair KM, Kearns DB. The EpsE flagellar clutch is bifunctional and synergizes with EPS biosynthesis to promote *Bacillus subtilis* biofilm formation[J]. *PLoS Genetics*, 2010, 6(12): e1001243
- [49] Arnauteli S, Bamford NC, Stanley-Wall NR, Kovács ÁT. *Bacillus subtilis* biofilm formation and social

- interactions[J]. *Nature Reviews Microbiology*, 2021, 19(9): 600-614
- [50] Kobayashi K. Gradual activation of the response regulator DegU controls serial expression of genes for flagellum formation and biofilm formation in *Bacillus subtilis*[J]. *Molecular Microbiology*, 2007, 66(2): 395-409
- [51] Yang Y, Li Y, Gao TT, Zhang Y, Wang Q. C-di-GMP turnover influences motility and biofilm formation in *Bacillus amyloliquefaciens* PG12[J]. *Research in Microbiology*, 2018, 169(4/5): 205-213
- [52] Nishikawa M, Kobayashi K. Calcium prevents biofilm dispersion in *Bacillus subtilis*[J]. *Journal of Bacteriology*, 2021, 203(14): e0011421
- [53] Houry A, Briandet R, Aymerich S, Gohar M. Involvement of motility and flagella in *Bacillus cereus* biofilm formation[J]. *Microbiology: Reading*, 2010, 156(Pt 4): 1009-1018
- [54] Guilhen C, Forestier C, Balestrino D. Biofilm dispersal: multiple elaborate strategies for dissemination of bacteria with unique properties[J]. *Molecular Microbiology*, 2017, 105(2): 188-210
- [55] 沈紫竹, 李昱龙, 孙志敏, 樊奔, 赵银娟. 细菌生物被膜分散及分子调控机制研究进展[J]. *微生物学通报*, 2021, 48(5): 1800-1809
Shen ZZ, Li YL, Sun ZM, Fan B, Zhao YJ. Bacterial biofilm dispersion and molecular regulation mechanism: a review[J]. *Microbiology China*, 2021, 48(5): 1800-1809 (in Chinese)
- [56] Auger S, Krin E, Aymerich S, Gohar M. Autoinducer 2 affects biofilm formation by *Bacillus cereus*[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2006, 72(1): 937-941
- [57] Bartolini M, Cogliati S, Vileta D, Bauman C, Rateni L, Leñini C, Argañaraz F, Francisco M, Villalba JM, Steil L, et al. Regulation of biofilm aging and dispersal in *Bacillus subtilis* by the alternative sigma factor SigB[J]. *Journal of Bacteriology*, 2018, 201(2): e00473-e00418
- [58] Chai YR, Norman T, Kolter R, Losick R. An epigenetic switch governing daughter cell separation in *Bacillus subtilis*[J]. *Genes & Development*, 2010, 24(8): 754-765
- [59] McKenney PT, Driks A, Eichenberger P. The *Bacillus subtilis* endospore: assembly and functions of the multilayered coat[J]. *Nature Reviews Microbiology*, 2013, 11(1): 33-44
- [60] Hermanas TM, Subramanian S, Dann CE 3rd, Stewart GC. Spore-associated proteins involved in c-di-GMP synthesis and degradation of *Bacillus anthracis*[J]. *Journal of Bacteriology*, 2021, 203(17): e0013521
- [61] Delbrück AI, Zhang YF, Hug V, Trunet C, Mathys A. Isolation, stability, and characteristics of high-pressure superdormant *Bacillus subtilis* spores[J]. *International Journal of Food Microbiology*, 2021, 343: 109088
- [62] Stecchini ML, Spaziani M, Del Torre M, Pacor S. *Bacillus cereus* cell and spore properties as influenced by the micro-structure of the medium[J]. *Journal of Applied Microbiology*, 2009, 106(6): 1838-1848
- [63] Abee T, Kovács ÁT, Kuipers OP, Van Der Veen S. Biofilm formation and dispersal in Gram-positive bacteria[J]. *Current Opinion in Biotechnology*, 2011, 22(2): 172-179
- [64] Fujita M, González-Pastor JE, Losick R. High- and low-threshold genes in the Spo0A regulon of *Bacillus subtilis*[J]. *Journal of Bacteriology*, 2005, 187(4): 1357-1368
- [65] Johnsborg O, Eldholm V, Håvarstein LS. Natural genetic transformation: prevalence, mechanisms and function[J]. *Research in Microbiology*, 2007, 158(10): 767-778
- [66] Maamar H, Dubnau D. Bistability in the *Bacillus subtilis* K-state (competence) system requires a positive feedback loop[J]. *Molecular Microbiology*, 2005, 56(3): 615-624
- [67] Maier B. Competence and transformation in *Bacillus subtilis*[J]. *Current Issues in Molecular Biology*, 2020, 37: 57-76
- [68] Hölscher T, Schiklang T, Dragoš A, Dietel AK, Kost C, Kovács ÁT. Impaired competence in flagellar mutants of *Bacillus subtilis* is connected to the regulatory network governed by DegU[J]. *Environmental Microbiology Reports*, 2018, 10(1): 23-32
- [69] Diethmaier C, Chawla R, Canzoneri A, Kearns DB, Lele PP, Dubnau D. Viscous drag on the flagellum activates *Bacillus subtilis* entry into the K-state[J]. *Molecular Microbiology*, 2017, 106(3): 367-380
- [70] Miras M, Dubnau D. A DegU-P and DegQ-dependent regulatory pathway for the K-state in *Bacillus subtilis*[J]. *Frontiers in Microbiology*, 2016, 7: 1868
- [71] 陈勉, 陈磊, 孙康, 张晓元, 郝荣华, 刘飞, 朱希强, 凌沛学. γ -聚谷氨酸研究进展[J]. *食品与药品*, 2018, 20(1): 75-80
Chen M, Chen L, Sun K, Zhang XY, Hao RH, Liu F, Zhu XQ, Ling PX. Research progress in poly-gamma-glutamate[J]. *Food and Drug*, 2018, 20(1): 75-80 (in Chinese)

- [72] Ivanovics G, Erdős L. Ein Beitrag zum Wesen der Kapselsubstanz des Milzbrandbazillus[J]. Z. Immunitätsforsch, 1937(90): 5-19
- [73] Wang LY, Wang N, Mi DD, Luo YM, Guo JH. Poly- γ -glutamic acid productivity of *Bacillus subtilis* BsE1 has positive function in motility and biocontrol against *Fusarium graminearum*[J]. Journal of Microbiology, 2017, 55(7): 554-560
- [74] Stoica RM, Moscovici M, Tomulescu C, Cășărică A, Băbeanu N, Popa O, Kahraman HA. Antimicrobial compounds of the genus *Bacillus*: a review[J]. Romanian Biotechnological Letters, 2019, 24(6): 1111-1119
- [75] Han XS, Shen DX, Xiong Q, Bao BH, Zhang WB, Dai TT, Zhao YJ, Borriss R, Fan B. The plant-beneficial rhizobacterium *Bacillus velezensis* FZB42 controls the soybean pathogen *Phytophthora sojae* due to bacilysin production[J]. Applied and Environmental Microbiology, 2021, 87(23): e0160121
- [76] Tsuge K, Inoue S, Ano T, Itaya M, Shoda M. Horizontal transfer of iturin A operon, *itu*, to *Bacillus subtilis* 168 and conversion into an iturin A producer[J]. Antimicrobial Agents and Chemotherapy, 2005, 49(11): 4641-4648
- [77] Koumoutsi A, Chen XH, Vater J, Borriss R. DegU and YczE positively regulate the synthesis of bacillomycin D by *Bacillus amyloliquefaciens* strain FZB42[J]. Applied and Environmental Microbiology, 2007, 73(21): 6953-6964
- [78] Xu ZH, Zhang RF, Wang DD, Qiu MH, Feng HC, Zhang N, Shen QR. Enhanced control of cucumber wilt disease by *Bacillus amyloliquefaciens* SQR9 by altering the regulation of its DegU phosphorylation[J]. Applied and Environmental Microbiology, 2014, 80(9): 2941-2950
- [79] Roth D, Finkelshtein A, Ingham C, Helman Y, Sirota-Madi A, Brodsky L, Ben-Jacob E. Identification and characterization of a highly motile and antibiotic refractory subpopulation involved in the expansion of swarming colonies of *Paenibacillus vortex*[J]. Environmental Microbiology, 2013, 15(9): 2532-2544