

## 乳酸菌肽聚糖的研究进展

刘朝 乔建军 朱宏吉\*

(天津大学化工学院制药工程系 系统生物工程教育部重点实验室 天津 300072)

**摘要:** 肽聚糖是乳酸菌细胞壁的必需成分, 它的化学结构较为保守固定, 而其合成是一个涉及多步反应的复杂过程。乳酸菌肽聚糖具有多种生物学活性, 比如免疫增强功能、抗感染、抗肿瘤及抗过敏等。本文对乳酸菌肽聚糖的组成结构和生物学活性进行了简要的介绍, 重点综述了近年来乳酸菌肽聚糖代谢及其调控过程的研究进展, 并指出了乳酸菌肽聚糖未来研究的方向。

**关键词:** 乳酸菌, 肽聚糖, 组成结构, 代谢调控, 生物学活性

## Research progress in peptidoglycan of lactic acid bacteria

LIU Zhao QIAO Jian-Jun ZHU Hong-Ji\*

(Department of Pharmaceutical Engineering, School of Chemical Engineering and Technology, Tianjin University, Key Laboratory of Systems Bioengineering, Ministry of Education, Tianjin 300072, China)

**Abstract:** Peptidoglycan is an essential component of the cell wall of lactic acid bacteria, its chemical structure is mainly conservative and constant, and its biosynthesis is a complex process involving multi-step reactions. Peptidoglycan of lactic acid bacteria exhibits various biological activities, such as immune-enhancing functions, anti-infection, anti-tumor, and anti-anaphylaxis. In this review, the composition, structure and biological activity of peptidoglycan of lactic acid bacteria are outlined, the research development in metabolism and regulation of peptidoglycan is reviewed emphatically, and the direction to the future study of lactic acid bacteria peptidoglycan is proposed as well.

**Keywords:** Lactic acid bacteria, Peptidoglycan, Composition and structure, Metabolism and regulation, Biological activity

乳酸菌(Lactic acid bacteria, LAB)是一类能够利用可发酵碳水化合物产生大量乳酸的无芽孢、革兰氏阳性细菌。在工业上应用较多的主要有乳球菌属(*Lactococcus*)、乳杆菌属(*Lactobacillus*)、链球菌属(*Streptococcus*)、肠球菌属(*Enterococcus*)、酒球菌

属(*Oenococcus*)、小球菌属(*Pediococcus*)和明串珠菌属(*Leuconostoc*)等<sup>[1-2]</sup>。乳酸菌能提高食物的营养价值和附加值、改善食物风味, 因此常用于制造酸奶、乳酪等发酵产品<sup>[3]</sup>。乳酸菌还能调节宿主胃肠道正常菌落比例、改善胃肠道功能, 并能增强宿主免疫

**Foundation item:** National Natural Science Foundation of China (No. 31270142); Key Technologies R&D Program of China (No. 2014BAD02B00)

\*Corresponding author: Tel: 86-22-27890645; E-mail: zhj@tju.edu.cn

**Received:** March 18, 2015; **Accepted:** May 11, 2015; **Published online** (www.cnki.net): May 13, 2015  
基金项目: 国家自然科学基金项目(No. 31270142); 国家科技支撑计划项目(No. 2014BAD02B00)

\*通讯作者: Tel: 86-22-27890645; E-mail: zhj@tju.edu.cn

收稿日期: 2015-03-18; 接受日期: 2015-05-11; 优先数字出版日期(www.cnki.net): 2015-05-13

力,是广泛存在于人体胃肠道内的益生菌<sup>[4]</sup>。另外,有研究证明乳酸菌可在人体肠道定殖,因此可用作疗效蛋白或核酸疫苗的肠道黏膜靶向运送载体<sup>[5]</sup>。乳酸菌的上述功能应用都与其细胞壁组分和结构有关。噬菌体感染是工业发酵牛奶面临的重大威胁之一,而乳酸菌细胞壁正是由于含有噬菌体受体成为了近些年研究的热点<sup>[6]</sup>。同时风味物质的形成是奶酪发酵后期成熟过程的关键因素,近年研究还聚焦在构建细胞壁可控水解的乳酸菌发酵剂,以实时控制乳酸菌的自溶释放出脂肪酶、蛋白酶等胞内物质,这些有利于风味物质的形成和奶酪的成熟<sup>[7-8]</sup>。

乳酸菌细胞壁是以多层肽聚糖为骨架的较厚封闭网状结构,磷壁酸、多糖及相关蛋白等特殊组分穿插其中,此外某些乳酸菌外壁还有次晶态的S层蛋白<sup>[9]</sup>。细胞壁在细菌生长过程中起着多重作用。一方面具有一定的机械强度以保护细菌细胞免受内部渗透压和外部环境的影响,从而使细菌保持特征性形态;另一方面具有一定的柔韧性以适应细菌细胞在生长和分裂过程中的形态变化。细胞壁作为细菌细胞接触外界环境的第一道保护层,它不仅在抵御环境胁迫中发挥着重要作用,还能够影响细菌与噬菌体或真核宿主细胞之间的联系<sup>[6]</sup>。研究表明在产乳酸菌素(Nisin)的乳酸乳球菌中,野生型低Nisin耐受菌株与突变型高Nisin耐受菌株相比,二者细胞壁有明显差异<sup>[10-11]</sup>。

肽聚糖(Peptidoglycan, PG)是乳酸菌细胞壁的主要组成成分,除了大家所熟知的上述功能外,它作为乳酸菌中含量最丰富的微生物相关保守分子(Microbe-associated molecular patterns, MAMPs)之一,在益生菌与宿主的联系中起重要作用<sup>[12-13]</sup>,并对宿主免疫反应具有一定的调节作用和抗炎作用<sup>[14]</sup>。因为MAMPs可被宿主天然免疫系统中存在的相关模式识别受体识别,通过激活不同的信号传导途径释放各种免疫调控物质,从而发挥免疫功能<sup>[15]</sup>。此外,乳酸菌肽聚糖可作为功能蛋白的结合组件使乳酸菌成为理想的靶向载体。比如肽聚糖水

解酶有特异性结合位点,将它与功能蛋白进行融合可构建表面功能展示系统<sup>[16]</sup>。本文就目前研究较多的乳酸菌肽聚糖的结构、代谢调控及其生物学活性加以综述,将为深入了解乳酸菌各功能应用的作用机制提供基础依据,并为挖掘新的应用拓宽研究思路。

## 1 乳酸菌肽聚糖的组成和结构特点

乳酸菌肽聚糖是由糖链、四肽尾及肽桥(相邻2条四肽尾间的交联方式)聚合而成的多层网状大分子结构。乳酸菌的肽聚糖糖链都是由N-乙酰葡萄糖胺(GlcNAc)和N-乙酰胞壁酸(MurNAc)通过 $\beta$ -1,4糖苷键交替连接而成<sup>[17]</sup>,但是四肽尾氨基酸组成和肽桥构造因菌种而异<sup>[18]</sup>。四肽尾共价连结在MurNAc的乳酰基上,它在乳酸菌新生肽聚糖的氨基酸组成是1-L-丙氨酸-2- $\gamma$ -D-谷氨酸-3-X-4-D-丙氨酸-5-Y(1-L-Ala-2- $\gamma$ -D-Glu-3-X-4-D-Ala-5-Y),最后一个氨基酸Y在成熟大分子中会被水解掉,其中X是一个二氨基氨基酸,通常是L-赖氨酸(L-Lys)、内消旋二氨基庚二酸(mDAP)或L-鸟氨酸(L-Orn),而Y是D-丙氨酸(D-Ala)或D-乳酸(D-Lac)<sup>[19]</sup>。例如在植物乳杆菌(*Lactobacillus plantarum*)中X是mDAP,Y是D-Lac<sup>[20]</sup>,在发酵乳杆菌(*Lactobacillus fermentum*)中X是L-Orn<sup>[21]</sup>,在以乳酸乳球菌(*Lactococcus lactis*)为代表的其他大多数乳酸菌中X是L-Lys<sup>[2]</sup>。相邻四肽尾间通过一条四肽尾的第4位氨基酸与另一条四肽尾的第3位氨基酸进行4-3交联形成肽桥,肽桥可分为直接交联和间接交联2种方式,直接交联仅存在于植物乳杆菌等少数乳酸菌中<sup>[20]</sup>。乳酸菌中常见的间接肽桥是由一个D-氨基酸或多个L-氨基酸构成,如乳酸乳球菌和干酪乳杆菌(*Lactobacillus casei*)等大部分乳酸菌的肽桥是D-天冬氨酸(D-Asp)<sup>[22-24]</sup>,而粪肠球菌(*Enterococcus faecalis*)的是L-二丙氨酸(L-Ala-L-Ala)<sup>[25]</sup>。如图1所示,GlcNAc和MurNAc组成的双糖、连在MurNAc上的肽尾以及D-Asp间接肽桥形成了乳酸菌肽聚糖的典型基本结构单位。

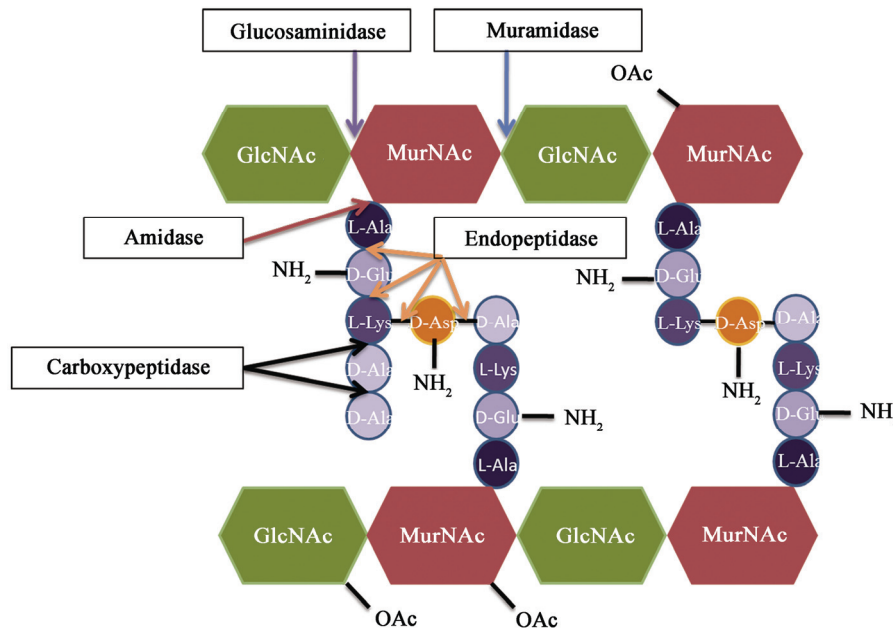


图 1 肽聚糖的典型化学结构

Figure 1 The representative chemical structure of peptidoglycan

交联度和糖链长度是肽聚糖结构的 2 个重要特征，它们不仅具有菌株特异性，还与生长条件紧密相关。立体的交联使肽聚糖形成多层网状结构，交联度的大小表征网状结构的紧密程度。有研究表明乳酸乳球菌 MG1363 的交联度是 35.8%<sup>[22]</sup>，干酪乳杆菌 BL23 的是 34%<sup>[23]</sup>，鼠李糖乳杆菌 GG (*Lactobacillus rhamnosus* GG) 的是 36.5%<sup>[24]</sup>，植物乳杆菌 NZ7100 的是 37.5%<sup>[26]</sup>。另一方面，Wheeler 等利用分子排阻高效液相色谱 (Size-exclusion HPLC) 对乳酸乳球菌 MG1363 和粪肠球菌 JH2-2 的肽聚糖糖链长度进行检测，发现大于 25 双糖单位的长糖链占主导，超过 100 双糖单位的长糖链约为 8%–14%<sup>[27]</sup>。Andre 等采用能与肽聚糖结合的 LysM 域探针对乳酸乳球菌突变株 (WPS<sup>-</sup>) 纳米级肽聚糖结构进行相对作用力测定，根据原子力显微镜得到的力曲线谱图分析结果得出肽聚糖是以平行于细胞短轴类螺旋线方式进行组装的<sup>[28]</sup>。

## 2 乳酸菌肽聚糖的代谢及其调控

### 2.1 肽聚糖的生物合成

肽聚糖的生物合成是一个涉及多步酶促反应

的复杂过程，其合成可根据反应发生部位的不同而分成在细胞质中、细胞膜上和细胞膜外 3 个阶段 (图 2)。

(1) 第一阶段：在细胞质中合成 UDP-MurNAc 五肽。GlcNAc 和 MurNAc 的尿苷二酸衍生物 (UDP-GlcNAc, UDP-MurNAc) 是合成肽聚糖的活性前体，UDP-GlcNAc 经过 2 步连续的酶促反应生成 UDP-MurNAc：MurA 催化 UDP-GlcNAc 和磷酸烯醇式丙酮酸反应生成无机磷和尿苷二磷酸-N-乙酰葡萄糖胺烯醇式丙酮酸 (UDP-GlcNAcEP)，后者随后被其还原酶 MurB 还原为 UDP-MurNAc。随后 4 个 Mur 连接酶逐步催化合成 UDP-MurNAc 五肽<sup>[29]</sup>。首先在 MurC 催化下 UDP-MurNAc 的乳酰基连接上 L-Ala，其次在 MurD 催化下上一步产物连接上 D-Glu，再次在 MurE 催化下连接上 L-Lys 或者 mDAP，最后在 MurF 催化下连接上二肽形式 (D-Ala-D-Ala) 或二缩肽形式 (D-Ala-D-Lac) 的 2 个残基，而二肽或二缩肽的合成是在 D-D-连接酶 (Ddl) 作用下完成的。其中自然界中存在的 L-Ala 和 L-Glu 分别需要经过特异消旋酶 Alr 和 MurI 的作用转换成

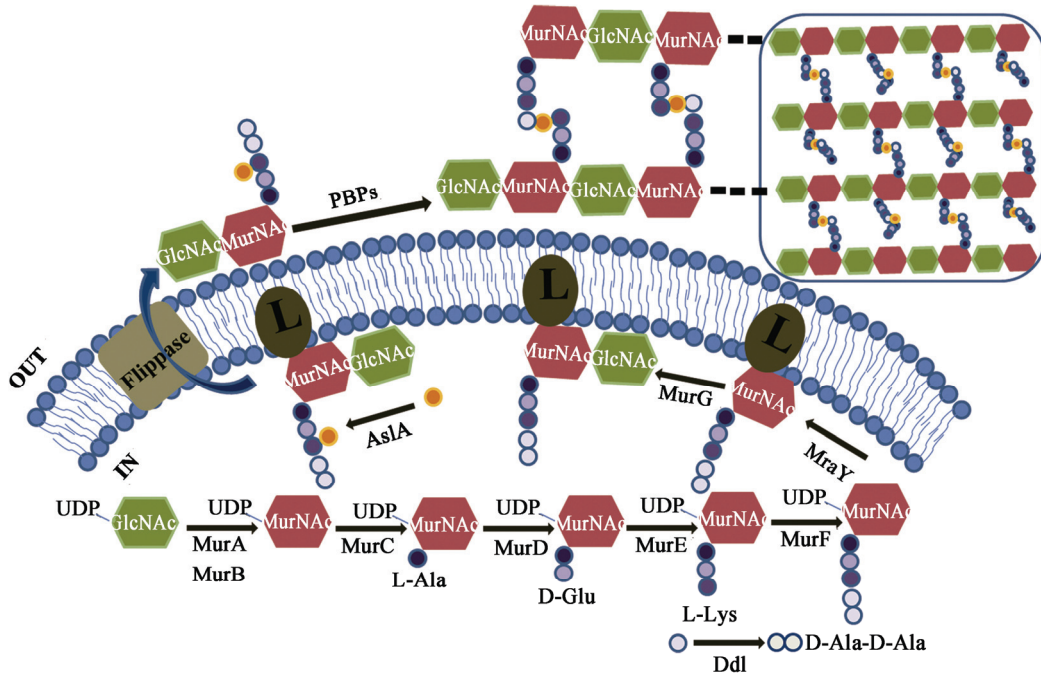


图 2 肽聚糖的生物合成过程  
Figure 2 The biosynthesis process of peptidoglycan

肽聚糖中存在的 D 型<sup>[29]</sup>。此外, 植物乳杆菌中存在一种 Aad 酶, 能水解 Ddl 连接酶合成的 D-Ala-D-Ala 二肽, 这个过程保证新合成 UDP-MurNAc 五肽肽尾的最后一个氨基酸都是 D-Lac<sup>[30]</sup>。Deghorain 等将植物乳杆菌中的 Ddl 连接酶基因在乳酸乳球菌中进行异源表达后, 理论存在的 D-Ala-D-Ala 二肽形式肽尾被实际检测的 D-Ala-D-Lac 二缩肽形式肽尾部分或全部取代, 并进一步证明了 UDP-MurNAc 五肽肽尾最后一个残基的改变会引起整个肽聚糖结构和细胞形态发生明显变化<sup>[31]</sup>。

(2) 第二阶段: 在细胞膜上进行移位。UDP-MurNAc 五肽经质膜移位酶 MraY 的催化作用连接到一种称为细菌萜醇(即十一碳二烯磷酸酯)的类脂载体上, 生成十一碳二烯-焦磷酸-胞壁酰五肽或称 Lipid I。随后, 糖基转移酶 MurG 将 UDP-GlcNAc 连在 Lipid I 的 MurNAc 部分, 同时释放出 UDP, 形成十一碳二烯-焦磷酸-双糖五肽或称 Lipid II<sup>[32]</sup>。另一个发生在质膜上的重要酶促反应是

Lipid II 上肽侧链的合成, 该肽侧链在细胞膜外合成阶段形成间接肽桥, 因此其合成存在菌种特异性<sup>[33]</sup>。D-Asp 是乳酸菌中最常见的间接肽桥, 由 *racD* 编码的天冬氨酸消旋酶作用于 L-Asp 而生成。D-Asp 经 ATP-Grasp 家族中的天冬氨酸连接酶 (AslA) 催化连接到 Lipid II 五肽尾的第 3 个氨基酸 (L-Lys)。Veiga 等通过基因组分析鉴定出 *yxbA* 在乳酸乳球菌中同源编码 AslA, 于是将该基因更名为 *aslA*, 同时研究者们将该基因敲除又用重组质粒作回补, 将 L-Ser-L-Ala 和 L-Ala-L-Ala 代替 D-Asp 作为 AslA 的催化底物, 证明 *aslA* 是菌株生长所必需的基因, 但它所编码酶的底物选择特异性低<sup>[34]</sup>。L-Ala-L-Ala 是粪肠球菌中的间接肽桥, Bouhss 等研究表明粪肠球菌 JH2-2 中 Lipid II 上的肽侧链 L-Ala-L-Ala 是 BppA1 和 BppA2 分别将丙酰基-tRNA 的 L-Ala 逐步连接到 Lipid II 上合成得到的<sup>[25]</sup>。有或无侧链的 Lipid II 再经过一个翻转酶的作用转运至细胞膜外侧。Mohammadi 等首次提出内膜蛋白 FtsW 或其同源蛋白 RodA 是负责 Lipid II

跨膜转运的翻转酶<sup>[35]</sup>,但是最近 Sham 等证实在大肠杆菌(*Escherichia coli*)肽聚糖合成过程中 Lipid II 的翻转酶是内膜转运蛋白 MurJ 而不是 FtsW 或 RodA<sup>[36]</sup>,乳酸菌中相关翻转酶的鉴定有待进一步的研究发现。

(3) 第三阶段:在细胞膜外进行交联。肽聚糖单体通过转糖基作用和转肽作用发生聚合形成肽聚糖网状结构。在转糖基过程中, Lipid II 上的双糖单位连接到已存在的肽聚糖糖链中,使糖链在横向上延伸一个双糖单位,类脂载体失去一个无机磷而转移至细胞膜内侧开启新一轮的循环。再经过转肽作用,新加入肽聚糖单体肽尾与其相邻肽尾间一条肽尾(供体链)第 4 位的 D-Ala 羧基和另一条肽尾(受体链)第 3 位的二氨基氨基酸或其附加侧链氨基酸自由氨基之间形成肽键,并释放出供体链的 D-Ala 或 D-Lac 和受体链的 D-Ala-D-Ala 二肽或 D-Ala-D-Lac 二缩肽,使这个新加入肽聚糖单体的肽尾与其相邻肽尾发生纵向交联。青霉素结合蛋白(PBPs)是参与该阶段肽聚糖组装的主要蛋白,它们在各乳酸菌中的数量存在差异。根据分子量大小的不同,PBPs 可主要分为 2 类:高分子量(HMW) PBPs 和低分子量(LMW) PBPs<sup>[37]</sup>。David 的研究表明乳酸乳球菌中存在 6 种青霉素结合蛋白,其中 PBP1a、PBP1b、PBP2a、PBP2b 和 PBPx 这 5 种属于 HMW,而 D-丙氨酸-D-丙氨酸-羧肽酶 DacA 这一种属于 LMW<sup>[38]</sup>。Courtin 等的研究证明乳酸乳球菌中还存在一种 L,D-羧肽酶(DacB),它负责切割肽尾中 3-L-Lys-4-D-Ala 间肽键<sup>[22]</sup>。D,D-羧肽酶 DacA 和 L,D-羧肽酶 DacB 参与肽聚糖交联过程中四肽尾和三肽尾的产生。另外,PBPs 还可根据其所起作用不同分为 2 类:A 类既负责转糖基作用又参与转肽作用,而 B 类只参与转肽作用<sup>[37]</sup>。

## 2.2 肽聚糖的结构修饰

在大部分乳酸菌中,成熟肽聚糖的部分基本结构会经过修饰,如糖链的 O-乙酰化或 N-去乙酰化,或者肽尾氨基酸的酰胺化(图 1),这些结构修饰在细

菌生长过程中会影响肽聚糖水解酶(PGHs)对肽聚糖的水解<sup>[39]</sup>,以下将具体介绍肽聚糖的各种化学基团修饰。

在大多数乳酸菌中肽聚糖糖链的 O-乙酰化特指 MurNAc 残基的 C6 位羟基发生乙酰化而形成 2,6-N,O-二乙酰衍生物,催化该步反应的 O-乙酰转移酶 OtaA 最先在金黄色葡萄球菌(*Staphylococcus aureus*)中被发现<sup>[40]</sup>。进一步研究证明,OtaA 在乳酸菌等革兰氏阳性菌中高度保守<sup>[20,41-42]</sup>,该酶有 N 端跨膜螺旋域和 C 端转乙酰基功能域,在细胞膜外侧利用乙酰-CoA 提供的乙酰基进行新合成肽聚糖 MurNAc 残基的 O-乙酰化<sup>[42]</sup>。研究人员在对常见乳酸菌的肽聚糖结构进行鉴定分析时发现,乳酸乳球菌 MG1363 中 MurNAc 的 O-乙酰化程度仅为 3.2%<sup>[23]</sup>,干酪乳杆菌 BL23 中为 30%<sup>[23]</sup>,鼠李糖乳杆菌 GG 中为 37%<sup>[24]</sup>,植物乳杆菌 NZ7100 中为 39%<sup>[20]</sup>。另外,GlcNAc 的 O-乙酰化仅在植物乳杆菌、清酒乳杆菌(*Lactobacillus sake*)和类肠膜魏斯氏菌(*Weissella paramesenteroides*)等少数细菌中被发现<sup>[19]</sup>,负责 GlcNAc 的 O-乙酰化的酶是另一个特异性 O-乙酰转移酶 OtaB,这个酶和植物乳杆菌的 OtaA 有相似的 N 端和 C 端结构域,但二者氨基酸序列相似度仅为 21%<sup>[20]</sup>。Bernard 等在植物乳杆菌中的研究表明肽聚糖的 O-乙酰化会影响其自溶,GlcNAc 的 O-乙酰化会抑制 N-乙酰葡萄糖胺糖苷酶 Acm2 的活性,MurNAc 的 O-乙酰化反而会激活 N-乙酰胞壁酸-L-丙氨酸酰胺酶 LytH 的作用<sup>[20]</sup>。Veiga 等发现乳酸乳球菌在应对溶菌酶或抗生素胁迫时,首先激活二组分系统(TCS) CesSR,CesSR 再激活一个全局转录因子 SpxB,SpxB 再激活 *oatA* 的表达,最后 *oatA* 的表达会增强肽聚糖 MurNAc 的 O-乙酰化从而增强菌株对溶菌酶或抗生素的耐受性<sup>[43]</sup>。

GlcNAc 的 N-去乙酰化是肽聚糖骨架中存在葡萄糖胺(图 1 中 GlcNH<sub>2</sub>)的原因,催化该过程的酶 PgdA 最先在肺炎链球菌(*Streptococcus pneumoniae*)



中被鉴定<sup>[44]</sup>。Meyrand 等在乳酸乳球菌 IL1403 中鉴定出编码 GlcNAc 的 N-去乙酰酶 PgdA 的基因 *xynD*, 重命名为 *pgdA*, 同时还发现增加 GlcNAc 的 N-去乙酰化程度可减少主要自溶素 AcmA 对肽聚糖的水解作用, 从而降低自溶率<sup>[45]</sup>。干酪乳杆菌 BL23 基因组中存在 *pgdA* 的同源序列, 却在实验条件下未检测到 N-去乙酰化的 GlcNAc<sup>[23]</sup>。Kobayashi 等在枯草芽孢杆菌 (*Bacillus subtilis*) 中发现的 MurNAc 的 N-去乙酰酶<sup>[46]</sup>及其同源蛋白目前在乳酸菌中未见报道。

肽聚糖肽尾的第 2 位 D-Glu 和第 3 位 mDAP 以及肽桥的 D-Asp 常发生酰胺化(图 1), 这些反应在细胞内由特定的酶催化进行<sup>[33]</sup>。在乳酸乳球菌中, 肽桥侧链 D-Asp 是在被天冬氨酸连接酶(AsnA)添加至肽聚糖前体之后才被酰胺化, 该步骤所涉及的酶是天冬氨酸合成酶(AsnH)<sup>[47]</sup>(图 2)。同时该研究还证明乳酸乳球菌肽桥 D-Asp 的酰胺化不仅会影响 PGHs 活性, 还能增强对 Nisin 等阳离子抗菌剂的耐受性, 这可能与细胞壁上负电荷的减少有关<sup>[47]</sup>。有研究发现乳酸乳球菌中约 75% 的 D-Asp 肽桥发生酰胺化<sup>[34]</sup>, 而干酪乳杆菌中接近 100% 发生酰胺化<sup>[23]</sup>。Bernard 等证明植物乳杆菌中约 94% 的 mDAP 都被酰胺化, 并首次鉴定出与该步酰胺化相关的酶 AsnB1, 还提出 mDAP 酰胺化可能在控制分离过程中起重要作用<sup>[20]</sup>。肽尾 D-Glu 的酰胺化存在于乳酸菌等多种细菌中, 金黄色葡萄球菌中参与该步反应的酶是谷氨酸酰胺转移酶 GatD 和 MurT, 而乳酸菌中相关酶还未被发现<sup>[48-49]</sup>。同时 Figueiredo 等的研究还证明肽尾 D-Glu 的酰胺化会影响菌株对  $\beta$ -内酰胺抗生素和溶菌酶的敏感性, 从而影响菌株生长<sup>[48]</sup>。D-Glu 的酰胺化在常见的 4 种乳酸菌中几乎都接近 100%<sup>[20,22-24]</sup>, 而且通过基因组分析都鉴定出了 *gatD* 和 *murT* 的同源基因。

### 2.3 肽聚糖的水解代谢

肽聚糖水解酶(PGHs)是一类能特异性水解细胞壁肽聚糖肽键的酶。根据作用位点的不同, PGHs

主要分为以下几类: (1) N-乙酰胞壁酸酶(Muramidases), 它可以切断 MurNAc 和 GlcNAc 之间的  $\beta$ 1-4 糖苷键, 使 MurNAc 的还原基团解离出来; (2) N-乙酰葡萄糖胺酶(Glucosaminidases), 它作用于 GlcNAc 和 MurNAc 之间  $\beta$ 1-4 糖苷键解离出 GlcNAc 的还原基团; (3) N-乙酰胞壁酰-L-丙氨酸酰胺酶(Amidases), 它主要水解 MurNAc 和肽尾第一位 L-Ala 之间的酰胺键; (4) 肽酶(Peptidase), 它主要作用于肽尾或肽桥氨基酸之间的肽键, 包括 D 型氨基酸和 D 型氨基酸间的内肽酶(Endopeptidase)、D 型氨基酸和 D 型氨基酸间的羧肽酶(Carboxypeptidase)以及 L 型氨基酸和 D 型氨基酸间的羧肽酶<sup>[50]</sup>(图 1)。

目前多种乳酸菌中部分 PGHs 已经被鉴定。在对乳酸乳球菌研究中依次发现了 4 个同源的葡萄糖胺酶 AcmA、AcmB、AcmC、AcmD 和内肽酶 YjgB, 它们在菌体不同生长阶段的表达水平、酶活性以及在细胞分裂过程中所起的作用都各不相同<sup>[51]</sup>。AcmA 有 3 个氨基酸重复序列组成的 C 端 LysM 域和 N 端催化域, 前者是与细胞壁结合的识别位点, 后者是 N-乙酰葡萄糖胺酶活性位点<sup>[52]</sup>。AcmB 有 3 个结构域, 分别为中心催化活性域、C 端重复序列结构域和 N 端富含丝氨酸/苏氨酸/脯氨酸/天冬氨酸(Ser/Thr/Pro/Asp)结构域<sup>[53]</sup>。AcmC 只有一个 N 端催化活性结构域, AcmD 与 AcmA 相似有 C 端识别结构域和 N 端催化活性域, 内肽酶 YjgB 有信号肽结构域和催化活性结构域<sup>[52]</sup>。Redko 等通过将乳酸乳球菌中唯一的内肽酶 YjgB 失活后发现细菌的表型并没有发生明显变化, 由此推断乳酸乳球菌可能含有多于上述 5 种 PGHs<sup>[54]</sup>。干酪乳杆菌 BL23 中基因组分析得到编码 PGHs 的基因 13 个, 再利用菌体在不同生长阶段的蛋白质组学分析结合 SDS-PAGE 和 LC-MS/MS 发现该菌株在生长过程中合成 7 种 PGHs, 分别为胞壁质酶和羧肽酶各 1 个, 内肽酶和酰胺酶各 2 个, 以及内肽酶或酰胺酶(未确定) 1 个, 其中  $\gamma$ -D-谷氨酰-L-赖氨酰基-内肽酶是主

要的 PGHs<sup>[23]</sup>。有研究提出 PGHs 在细胞分裂中起重要作用,而且不同菌种利用各不相同的 PGHs 作用于细胞分裂<sup>[55]</sup>。乳酸乳球菌 MG1363 中 AcmA 和 AcmB 均参与菌体的细胞分裂和自溶过程, AcmD 单独作用时对菌体自溶不产生影响,但与 AcmA 联合作用时会加速菌体自溶,同时 AcmD 在细胞分裂中也起着重要作用<sup>[56]</sup>。植物乳杆菌 WCFS1 中 Acm2 是主要的自溶素,它不仅是菌体分裂过程中的必需酶,而且在自溶中也发挥着重要作用,另外 D,L-内肽酶 LytA 决定着菌体形态,它是维持菌体形态和保证细胞壁完整性所不可或缺的<sup>[57]</sup>。

#### 2.4 肽聚糖的代谢调控

肽聚糖的调控是指对肽聚糖的合成和水解过程进行协调平衡,以满足菌体进行正常的生理活动,乳酸菌中的这种调控主要就是调控肽聚糖水解酶(PGHs)的活性。研究表明某些乳酸菌的 PGHs 活性会受到蛋白酶的调控。乳酸乳球菌 MG1363 产生的一种与细胞壁结合的蛋白酶 PrtP 会水解其主要的自溶素 AcmA<sup>[58]</sup>,另外乳酸乳球菌 IL1403 的胞外蛋白酶 HtrA 也可以降解 AcmA<sup>[59]</sup>。Buist 等在乳酸乳球菌 MG1363 中敲除编码蛋白酶 PrtP 基因后发现菌株的自溶率明显提高,随后表达 PrtP I 型蛋白酶(分泌型)、PrtP III 型蛋白酶(细胞壁锚定型)或共表达 PrtP I -PrtP III 型蛋白酶作为回补,酶谱分析结果显示 AcmA 的降解由低至高分别为表达 PrtP I 型蛋白酶、共表达 P I -P III 型蛋白酶、表达 PrtP III 型蛋白酶<sup>[58]</sup>。乳酸菌中某些 PGHs 的活性还受它在细胞壁的锚定位点影响。Steen 等将乳酸乳球菌中自溶素 AcmA 的 C 端 LysM 域去掉而保留 N 端催化域,发现该 AcmA 衍生物既不能与乳酸菌细胞壁结合也不能裂解乳酸菌,然而将 AcmA 的 C 端 LysM 域与恶性疟原虫裂殖子表面蛋白 MSA2 的 C 端进行融合,免疫荧光标记显示该融合蛋白能特异性结合到包括乳酸乳球菌在内的多种革兰氏阳性菌的细胞壁上,再对乳酸乳球菌细胞壁进行纯化及进一步处理,发现肽聚糖是融合蛋白结合的组件并且有特异

的结合位点<sup>[60]</sup>。细胞壁的磷壁酸或多糖等组分不仅通过对肽聚糖的屏蔽作用影响 PGHs 在细胞壁的定位从而调节菌体自溶特性<sup>[61]</sup>,而且乳酸菌的自溶还会受到磷壁酸 D-丙氨酰酯化修饰的影响<sup>[62]</sup>。Palumbo 等在植物乳杆菌 NCIMB8826 中将主要负责磷壁酸 D-丙氨酰酯化的 *dlt* 操纵子插入失活后发现,尽管磷壁酸组分的 D-丙氨酰酯化修饰程度明显降低,但是磷壁酸的糖基化以及它的长度明显提高,而且突变菌株的生长速率下降而菌体自溶程度提高。该研究提出 *dlt* 突变菌株的高自溶是由于磷壁酸 D-丙氨酰酯化修饰程度的降低激活了植物乳杆菌主要自溶素 Acm2 的活性<sup>[62]</sup>。此外, Rolain 等首次提出植物乳杆菌中 Acm2 的 O-糖基化会控制该酶的活性<sup>[63]</sup>。该研究发现 Acm2 的糖基化是发生在富含丙氨酸/丝氨酸/组氨酸(Ala/Ser/His, AST)的 N 端结构域,即在 Ser 或 His 残基上连接有 21 个 GlcNAc 单体。该研究结果表明 Acm2 酶 N 端 AST 域不发生糖基化反而会增强它的酶活力,这可能是因为 O-糖基化改变 Acm2 结构域的构象或者影响域间的作用,从而使 Acm2 的 N 端 AST 域阻碍它的催化活性域与底物的结合<sup>[63]</sup>。

目前,针对编码 PGHs 的基因在基因水平、转录水平以及翻译水平等调控机制方面的研究大都集中在研究较多的模式菌株中,乳酸菌中相关研究还未见报道。Dubrac 等首次提出金黄色葡萄球菌中二组分系统 WalK/WalR 可正向调控 9 个 PGHs 基因的表达从而影响自溶素的活性,另外 WalK/WalR 缺陷细胞不仅对溶菌酶的耐受性提高,而且表现为肽聚糖的交联度和糖链长度会增加<sup>[64]</sup>。Smith 等的研究综述了枯草芽孢杆菌中自溶素在转录水平的调控,处于稳定期菌株自溶素基因 *lytC*、*lytD* 和 *lytF* 的表达主要受到  $\sigma^D$  的调控,约 20% 的 *lytC* 表达又会直接被  $\sigma^A$  所调控,而 *lytE* 的表达同时受到  $\sigma^A$  和  $\sigma^H$  的调控,这些调控机制与枯草芽孢杆菌的生理活动密切相关<sup>[65]</sup>。

### 3 乳酸菌肽聚糖的生物学活性

肽聚糖是乳酸菌细胞壁中的重要组分,可能参与乳酸菌多种生物学功能,如免疫增强功能、抗感染、抗肿瘤及抗过敏等<sup>[66-67]</sup>。乳酸菌肽聚糖是人类免疫系统识别的激活剂,它是通过诱导非特异性免疫因子或特异性免疫因子的释放或表达来刺激机体免疫系统发挥功能。现有研究表明某些乳酸菌肽聚糖可以诱导促炎性和抗炎性细胞因子的产生,如促炎性白细胞介素(IL-1、IL-6、IL-12)、肿瘤坏死因子- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ )、 $\gamma$ 干扰素(IFN- $\gamma$ )、抗炎性白细胞介素(IL-10)和转化生长因子 $\beta$ <sup>[68]</sup>等,其中IL-12和IFN- $\gamma$ 对巨噬细胞和自然杀伤细胞的功能具有增强作用,这可能是乳酸菌抗感染和抗癌的作用机制。在天然免疫中,微生物相关保守分子是乳酸菌的主要免疫调节成分,宿主细胞利用相关受体可以识别入侵细菌的肽聚糖等微生物相关分子模式,通过不同的信号传导途径引发免疫反应,目前已发现的信号通路有信号传导途径(Toll途径)和免疫缺陷途径(Imd途径)。乳杆菌肽聚糖通过与Toll样受体(Toll-like receptors, TLRs)结合激活机体抗原递呈细胞并通过表达表面受体调节它们的功能,同时促使机体分泌细胞因子和趋化因子,从而引发机体的免疫反应,肽聚糖可能是乳杆菌免疫赋活的重要组分<sup>[69]</sup>。姚光国等给小鼠腹腔注射乳酸菌肽聚糖提取物后,参照对照组发现实验组巨噬细胞吞噬率和吞噬指数均明显提高、血清溶菌酶活性显著增强,由此表明乳酸菌肽聚糖不仅能够激活巨噬细胞,还对血清溶菌酶有明显的刺激作用,从而增强机体非特异性免疫功能<sup>[70]</sup>。还有研究发现,乳酸菌肽聚糖也能通过诱导产生相应的细胞因子影响Th1/Th2失衡,从而对过敏产生一定的抑制作用。马冬雪等首先用牛乳 $\beta$ -乳球蛋白腹腔注射BALB/c小鼠建立过敏症模型,然后分离致敏小鼠的脾淋巴细胞与活/死乳杆菌体外共同孵育,结果发现乳杆菌可提高致敏小鼠脾淋巴细胞的IFN- $\gamma$ /IL-4比值,进而纠正Th2占优势的Th1/Th2失衡,下调抗体分泌量<sup>[71]</sup>。李丹等同样建立上述过敏症模型成功后,分离致敏小鼠

的脾淋巴细胞与不同剂量的嗜酸乳杆菌肽聚糖提取物共同孵育,结果显示嗜酸乳杆菌肽聚糖提取物体外刺激致敏脾细胞后可显著抑制IgE的产生,上调CD3<sup>+</sup>、CD4<sup>+</sup>细胞数及CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup>比值,上调Th1型因子(IFN- $\gamma$ , T-bet mRNA)及Treg型因子(TGF- $\beta$ , Foxp3 mRNA)的表达,下调Th2型因子(IL-4, GATA-3 mRNA)和Th17型因子(IL-17, ROR $\gamma$ t mRNA)的表达,由此进一步表明乳杆菌肽聚糖体外刺激可有效纠正致敏脾淋巴细胞的Th1/Th2及Treg/Th17失衡<sup>[72]</sup>。因此,与肽聚糖相关的免疫识别研究是一项非常复杂的工作,其准确的免疫调节作用机制有待进一步深入研究。

### 4 展望

随着现代技术手段的进步,乳酸菌肽聚糖的结构及其合成研究在过去二十年中取得显著进步,不仅分离纯化得到了多种常见乳酸菌肽聚糖的组分,而且阐明了乳酸菌肽聚糖精准结构甚至种间和种内的差异。随后,得力于基因工程手段的发展,鉴定得到了多种乳酸菌中肽聚糖合成、修饰以及水解途径所涉及的基因信息。这些成果为乳酸菌在食品和健康方面的应用奠定了基础。然而,乳酸菌如何多层次调控肽聚糖水解酶活性和菌体自溶,噬菌体如何专一吸附到靶向细菌表面以及益生菌乳酸菌和宿主之间如何联系,这些分子机制都是基于乳酸菌肽聚糖研究的前沿方向。目前乳酸菌肽聚糖与抗生素和溶菌酶耐受性关系的研究较多<sup>[44,47-49]</sup>,而乳酸菌肽聚糖对乳酸菌其他方面耐受能力(比如酸、温度、重金属等)的影响尚需进一步研究。此外,乳酸菌肽聚糖生物学活性方面的研究也取得了不错的进展,例如乳酸菌肽聚糖抗感染、抗肿瘤以及抗过敏等方面的活性相继被发现,并由此被人们用于畜禽饲料或药物添加剂,与此相关的作用机制还有待被挖掘。肽聚糖要作为合格的人类食物添加剂和医药产品还需要进一步的研究。随着人们对乳酸菌肽聚糖的结构、代谢及其生物学活性的进一步探索发现,其应用前景将更为广阔,其多种有益的生物学功能将会得到更加广泛的应用。



## 参考文献

- [1] Salminen S, von Wright A, Ouwehand AC, et al. Lactic Acid Bacteria: Microbiological and Functional Aspects[M]. Florida: The Chemical Rubber Company Press, 2004: 1-2
- [2] Makarova K, Slesarev A, Wolf Y, et al. Comparative genomics of the lactic acid bacteria[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 2006, 103(42): 15611-15616
- [3] Sgarbi E, Lazzi C, Tabanelli G, et al. Nonstarter lactic acid bacteria volatiles produced using cheese components[J]. Journal of Dairy Science, 2013, 96(7): 4223-4234
- [4] da Silva ST, dos Santos CA, Bressan J. Intestinal microbiota: relevance to obesity and modulation by prebiotics and probiotics[J]. Nutrición Hospitalaria, 2013, 28(4): 1039-1048
- [5] Bermúdez-Humarán LG, Kharrat P, Chatel JM, et al. Lactococci and lactobacilli as mucosal delivery vectors for therapeutic proteins and DNA vaccines[J]. Microbial Cell Factories, 2011, 10(Suppl 1): S4
- [6] Chapot-Chartier MP. Interactions of the cell-wall glycopolymers of lactic acid bacteria with their bacteriophages[J]. Frontiers in Microbiology, 2014, 5: 236
- [7] Xu Y, Kong J. Construction and potential application of controlled autolytic systems for *Lactobacillus casei* in cheese manufacture[J]. Journal of Food Protection, 2013, 76(7): 1187-1193
- [8] Xu Y. A high-yield membrane protein expression system and autolysis in lactic acid bacteria[D]. Jinan: Doctoral Dissertation of Shandong University, 2012 (in Chinese)  
徐毅. 乳酸菌高效膜蛋白表达系统的构建及其自溶性的研究[D]. 济南: 山东大学博士学位论文, 2012
- [9] Schär-Zammaretti P, Ubbink J. The cell wall of lactic acid bacteria: surface constituents and macromolecular conformations[J]. Biophysical Journal, 2003, 85(6): 4076-4092
- [10] Zhang YF, Liu SY, Du YH, et al. Genome shuffling of *Lactococcus lactis* subspecies *lactis* YF11 for improving nisin Z production and comparative analysis[J]. Journal of Dairy Science, 2014, 97(5): 2528-2541
- [11] Kramer NE, Hasper HE, van den Bogaard PTC, et al. Increased D-alanylation of lipoteichoic acid and a thickened septum are main determinants in the nisin resistance mechanism of *Lactococcus lactis*[J]. Microbiology, 2008, 154(6): 1755-1762
- [12] Lebeer S, Vanderleyden J, De Keersmaecker SCJ. Host interactions of probiotic bacterial surface molecules: comparison with commensals and pathogens[J]. Nature Reviews Microbiology, 2010, 8(3): 171-184
- [13] Tripathi P, Beaussart HE, Andre G, et al. Towards a nanoscale view of lactic acid bacteria[J]. Micron, 2012, 43(12): 1323-1330
- [14] Huang SL, Xing HX, Gong H, et al. Immune stimulation and influencing factors of prebiotic peptidoglycan[J]. Chinese Journal of Microecology, 2014, 26(5): 604-605, 608 (in Chinese)  
黄少磊, 邢会霞, 龚虹, 等. 益生菌肽聚糖对机体的免疫刺激作用及其影响因素[J]. 中国微生态学杂志, 2014, 26(5): 604-605, 608
- [15] Cario E, Gerken G, Podolsky DK. Toll-like receptor 2 controls mucosal inflammation by regulating epithelial barrier function[J]. Gastroenterology, 2007, 132(4): 1359-1374
- [16] Kobierecka P, Wyszynska A, Maruszewska M, et al. Lactic acid bacteria as a surface display platform for *Campylobacter jejuni* antigens[J]. Journal of Molecular Microbiology and Biotechnology, 2015, 25(1): 1-10
- [17] Vollmer W, Blanot D, de Pedro MA. Peptidoglycan structure and architecture[J]. FEMS Microbiology Reviews, 2008, 32(2): 149-167
- [18] Inamura S, Fukase K, Kusumoto S. Synthetic study of peptidoglycan partial structures. Synthesis of tetrasaccharide and octasaccharide fragments[J]. Tetrahedron Letters, 2001, 42(43): 7613-7616
- [19] Chapot-Chartier MP, Kulakauskas S. Cell wall structure and function in lactic acid bacteria[J]. Microbial Cell Factories, 2014, 13(Suppl 1): S9
- [20] Bernard E, Rolain T, Courtin P, et al. Characterization of *O*-Acetylation of *N*-Acetylglucosamine: a novel structural variation of bacterial peptidoglycan[J]. Journal of Biological Chemistry, 2011, 286(27): 23950-23958
- [21] Šimelyte E, Rimpiläinen M, Lehtonen L, et al. Bacterial cell wall-induced arthritis: chemical composition and tissue distribution of four *Lactobacillus* strains[J]. Infection and Immunity, 2000, 68(6): 3535-3540
- [22] Courtin P, Miranda G, Guillot A, et al. Peptidoglycan structure analysis of *Lactococcus lactis* reveals the presence of an L, D-carboxypeptidase involved in peptidoglycan maturation[J]. Journal of Bacteriology, 2006, 188(14): 5293-5298
- [23] Regulski K, Courtin P, Meyrand M, et al. Analysis of the peptidoglycan hydrolase complement of *Lactobacillus casei* and characterization of the major  $\gamma$ -D-Glutamyl-L-Lysyl-Endopeptidase[J]. PLoS One, 2012, 7(2): e32301
- [24] Claes IJJ, Schoofs G, Regulski K, et al. Genetic and biochemical characterization of the cell wall hydrolase activity of the major secreted protein of *Lactobacillus rhamnosus* GG[J]. PLoS One, 2012, 7(2): e31588
- [25] Bouhss A, Josseaume N, Severin A, et al. Synthesis of the L-alanyl-L-alanine cross-bridge of *Enterococcus faecalis* peptidoglycan[J]. Journal of Biological Chemistry, 2002, 277(48): 45935-45941
- [26] Typas A, Banzhaf M, Gross CA, et al. From the regulation of peptidoglycan synthesis to bacterial growth and morphology[J]. Nature Reviews Microbiology, 2011, 10(2): 123-136
- [27] Wheeler R, Mesnage S, Boneca IG, et al. Super-resolution microscopy reveals cell wall dynamics and peptidoglycan architecture in ovococcal bacteria[J]. Molecular Microbiology, 2011, 82(5): 1096-1109
- [28] Andre G, Kulakauskas S, Chapot-Chartier MP, et al. Imaging the nanoscale organization of peptidoglycan in living *Lactococcus lactis* cells[J]. Nature Communications, 2010, 1: 27
- [29] Barreteau H, Kovač A, Boniface A, et al. Cytoplasmic steps of peptidoglycan biosynthesis[J]. FEMS Microbiology Reviews, 2008, 32(2): 168-207
- [30] Deghorain M, Goffin P, Fontaine L, et al. Selectivity for D-lactate incorporation into the peptidoglycan precursors of *Lactobacillus plantarum*: role of Aad, a VanX-like D-alanyl-D-alanine dipeptidase[J]. Journal of Bacteriology, 2007, 189(11): 4332-4337
- [31] Deghorain M, Fontaine L, David B, et al. Functional and morphological adaptation to peptidoglycan precursor alteration in *Lactococcus lactis*[J]. Journal of Biological Chemistry, 2010, 285(31): 24003-24013
- [32] Bouhss A, Trunkfeld AE, Bugg TDH, et al. The biosynthesis of peptidoglycan lipid-linked intermediates[J]. FEMS Microbiology Reviews, 2008, 32(2): 208-233
- [33] van Heijenoort J. Lipid intermediates in the biosynthesis of bacterial peptidoglycan[J]. Microbiology and Molecular Biology Reviews, 2007, 71(4): 620-635
- [34] Veiga P, Piquet S, Maisons A, et al. Identification of an essential gene responsible for D-Asp incorporation in the *Lactococcus lactis* peptidoglycan crossbridge[J]. Molecular Microbiology, 2006, 62(6): 1713-1724
- [35] Mohammadi T, van Dam V, Sijbrandi R, et al. Identification of FtsW as a transporter of lipid-linked cell wall precursors across the membrane[J]. The EMBO Journal, 2011, 30(8): 1425-1432
- [36] Sham LT, Butler EK, Lebar MD, et al. MurJ is the flippase of lipid-linked precursors for peptidoglycan biogenesis[J]. Science, 2014, 345(6193): 220-222
- [37] Sauvage E, Kerff F, Terrak M, et al. The penicillin-binding proteins: structure and role in peptidoglycan biosynthesis[J]. FEMS Microbiology Reviews, 2008, 32(2): 234-258
- [38] David B. Role of PBPs in the ovoid *Lactococcus lactis* cell cycle[D]. London: UCL, 2013
- [39] Vollmer W. Structural variation in the glycan strands of bacterial

- peptidoglycan[J]. FEMS Microbiology Reviews, 2008, 32(2): 287-306
- [40] Bera A, Herbert S, Jakob A, et al. Why are pathogenic staphylococci so lysozyme resistant? The peptidoglycan *O*-acetyltransferase OatA is the major determinant for lysozyme resistance of *Staphylococcus aureus*[J]. Molecular Microbiology, 2005, 55(3): 778-787
- [41] Bernard E, Rolain T, David B, et al. Dual role for the *O*-acetyltransferase OatA in peptidoglycan modification and control of cell septation in *Lactobacillus plantarum*[J]. PLoS One, 2012, 7(10): e47893
- [42] Moynihan PJ, Clarke AJ. Assay for peptidoglycan *O*-acetyltransferase: A potential new antibacterial target[J]. Analytical Biochemistry, 2013, 439(2): 73-79
- [43] Veiga P, Bulbarela-Sampieri C, Furlan S, et al. SpxB regulates *O*-acetylation-dependent resistance of *Lactococcus lactis* peptidoglycan to hydrolysis[J]. Journal of Biological Chemistry, 2007, 282(27): 19342-19354
- [44] Vollmer W, Tomasz A. The *pgdA* gene encodes for a peptidoglycan *N*-acetylglucosamine deacetylase in *Streptococcus pneumoniae*[J]. Journal of Biological Chemistry, 2000, 275(27): 20496-20501
- [45] Meyrand M, Boughammoura A, Courtin P, et al. Peptidoglycan *N*-acetylglucosamine deacetylation decreases autolysis in *Lactococcus lactis*[J]. Microbiology, 2007, 153(10): 3275-3285
- [46] Kobayashi K, Sudiarta IP, Kodama T, et al. Identification and characterization of a novel polysaccharide deacetylase C (PdaC) from *Bacillus subtilis*[J]. Journal of Biological Chemistry, 2012, 287(13): 9765-9776
- [47] Veiga P, Erkelenz M, Bernard E, et al. Identification of the asparagine synthase responsible for D-Asp amidation in the *Lactococcus lactis* peptidoglycan interpeptide crossbridge[J]. Journal of Bacteriology, 2009, 191(11): 3752-3757
- [48] Figueiredo TA, Sobral RG, Ludovice AM, et al. Identification of genetic determinants and enzymes involved with the amidation of glutamic acid residues in the peptidoglycan of *Staphylococcus aureus*[J]. PLoS Pathogens, 2012, 8(1): e1002508
- [49] Münch D, Roemer T, Lee SH, et al. Identification and *in vitro* analysis of the GatD/MurT enzyme-complex catalyzing lipid II amidation in *Staphylococcus aureus*[J]. PLoS Pathogens, 2012, 8(1): e1002509
- [50] Vollmer W, Joris B, Charlier P, et al. Bacterial peptidoglycan (murein) hydrolases[J]. FEMS Microbiology Reviews, 2008, 32(2): 259-286
- [51] Huard C, Miranda G, Redko Y, et al. Analysis of the peptidoglycan hydrolase complement of *Lactococcus lactis*: identification of a third *N*-acetylglucosaminidase, AcmC[J]. Applied and Environmental Microbiology, 2004, 70(6): 3493-3499
- [52] Steen A, Buist G, Horsburgh GJ, et al. AcmA of *Lactococcus lactis* is an *N*-acetylglucosaminidase with an optimal number of LysM domains for proper functioning[J]. FEBS Journal, 2005, 272(11): 2854-2868
- [53] Huard C, Miranda G, Wessner F, et al. Characterization of AcmB, an *N*-acetylglucosaminidase autolysin from *Lactococcus lactis*[J]. Microbiology, 2003, 149(3): 695-705
- [54] Redko Y, Courtin P, Mézange C, et al. *Lactococcus lactis* gene *yjgB* encodes a  $\gamma$ -D-glutaminyll-L-lysyl-endopeptidase which hydrolyzes peptidoglycan[J]. Applied and Environmental Microbiology, 2007, 73(18): 5825-5831
- [55] Layec S, Decaris B, Leblond-Bourget N. Diversity of Firmicutes peptidoglycan hydrolases and specificities of those involved in daughter cell separation[J]. Research in Microbiology, 2008, 159(7/8): 507-515
- [56] Visweswaran GRR, Steen A, Leenhouts K, et al. AcmD, a homolog of the major autolysin AcmA of *Lactococcus lactis*, binds to the cell wall and contributes to cell separation and autolysis[J]. PLoS One, 2013, 8(8): e72167
- [57] Rolain T, Bernard E, Courtin P, et al. Identification of key peptidoglycan hydrolases for morphogenesis, autolysis, and peptidoglycan composition of *Lactobacillus plantarum* WCFS1[J]. Microbial Cell Factories, 2012, 11(1): 137
- [58] Buist G, Venema G, Kok J. Autolysis of *Lactococcus lactis* is influenced by proteolysis[J]. Journal of Bacteriology, 1998, 180(22): 5947-5953
- [59] Poquet I, Saint V, Seznec E, et al. HtrA is the unique surface housekeeping protease in *Lactococcus lactis* and is required for natural protein processing[J]. Molecular Microbiology, 2000, 35(5): 1042-1051
- [60] Steen A, Buist G, Leenhouts KJ, et al. Cell wall attachment of a widely distributed peptidoglycan binding domain is hindered by cell wall constituents[J]. Journal of Biological Chemistry, 2003, 278(26): 23874-23881
- [61] Hanson BR, Neely MN. Coordinate regulation of Gram-positive cell surface components[J]. Current Opinion in Microbiology, 2012, 15(2): 204-210
- [62] Palumbo E, Deghorain M, Coconcelli PS, et al. D-Alanyl ester depletion of teichoic acids in *Lactobacillus plantarum* results in a major modification of lipoteichoic acid composition and cell wall perforations at the septum mediated by the Acm2 autolysin[J]. Journal of Bacteriology, 2006, 188(10): 3709-3715
- [63] Rolain T, Bernard E, Beaussart A, et al. *O*-glycosylation as a novel control mechanism of peptidoglycan hydrolase activity[J]. Journal of Biological Chemistry, 2013, 288(31): 22233-22247
- [64] Dubrac S, Boneca IG, Poupel O, et al. New insights into the WalK/WalR (YycG/YycF) essential signal transduction pathway reveal a major role in controlling cell wall metabolism and biofilm formation in *Staphylococcus aureus*[J]. Journal of Bacteriology, 2007, 189(22): 8257-8269
- [65] Smith TJ, Blackman SA, Foster SJ. Autolysins of *Bacillus subtilis*: multiple enzymes with multiple functions[J]. Microbiology, 2000, 146(Pt 2): 249-262
- [66] Frkanec R, Tomašić J. High performance liquid chromatography in analysis of compounds comprising the elements of bacterial peptidoglycan structure with immunological activity[J]. Journal of Liquid Chromatography & Related Technologies, 2007, 31(1): 107-133
- [67] Jin PP, Deng YJ. Research progress on *Lactobacillus* peptidoglycan immune function[J]. Chinese Journal of Microecology, 2013, 25(4): 485-487 (in Chinese)  
金盼盼, 邓燕杰. 乳酸杆菌肽聚糖免疫作用的研究进展[J]. 中国微生态学杂志, 2013, 25(4): 485-487
- [68] Christensen HR, Frøkiær H, Pestka JJ. Lactobacilli differentially modulate expression of cytokines and maturation surface markers in murine dendritic cells[J]. The Journal of Immunology, 2002, 168(1): 171-178
- [69] Wells JM. Immunomodulatory mechanisms of lactobacilli[J]. Microbial Cell Factories, 2011, 10(Suppl 1): S17
- [70] Yao GG, Yao W, Lu Y, et al. Partial immunoactivities of peptidoglycan from lactic acid bacteria[J]. Microbiology China, 2007, 34(1): 105-107 (in Chinese)  
姚光国, 姚文, 陆扬, 等. 乳酸菌肽聚糖部分免疫增强作用的研究[J]. 微生物学通报, 2007, 34(1): 105-107
- [71] Ma DX, Meng XC, Gao XJ, et al. Effect of lactobacilli on production of Th1/Th2 cytokine and antibody in lymphocyte of bovine  $\beta$ -lactoglobulin-sensitized mice *in vitro*[J]. Microbiology China, 2011, 38(7): 1063-1069 (in Chinese)  
马冬雪, 孟祥晨, 高学军, 等. 乳杆菌对牛乳  $\beta$ -乳球蛋白致敏小鼠淋巴细胞分泌 Th1/Th2型细胞因子和抗体的体外影响[J]. 微生物学通报, 2011, 38(7): 1063-1069
- [72] Li D, Li AL, Ji XM, et al. Effect of whole peptidoglycan from lactobacilli on the imbalance of Th1/Th2 and Treg/Th17 in lymphocyte of bovine  $\beta$ -Lactoglobulin-sensitized mice *in vitro*[J]. Microbiology China, 2014, 41(7): 1334-1341 (in Chinese)  
李丹, 李艾黎, 季晓梅, 等. 乳杆菌肽聚糖对  $\beta$ -乳球蛋白致敏小鼠脾细胞 Th1/Th2及 Treg/Th17失衡的体外影响[J]. 微生物学通报, 2014, 41(7): 1334-1341