

DOI:10.3969/j.issn.1003-5060.2023.02.019

## 连续静置培养促进大肠杆菌生长和运动

王媛, 王芳彬

(合肥工业大学 食品与生物工程学院, 安徽 合肥 230601)

**摘要:**大肠杆菌繁殖速度快、基因结构简单,已构建出黏性鞭毛的突变体,是一种研究鞭毛运动的模式生物。大肠杆菌能对外界环境的变化做出响应,是其赖以生存的基础,其中很重要的就是其生长和运动行为的变化。为了研究连续营养作用下的大肠杆菌生长和运动的情况,文章采用连续 5 d 静置液体培养大肠杆菌,通过定期检测菌液 OD 值的方法获得大肠杆菌的生长曲线,发现大肠杆菌生长到达稳定期的时间随培养天数增加而缩短;观察连续 5 d 静置液体培养的大肠杆菌在稳定期的形态变化,发现大肠杆菌的形态并不受生长和运动的影响。利用倒置显微镜结合乳胶小球标记鞭毛技术观察大肠杆菌在稳定期的鞭毛马达的转动过程,发现随着培养天数的增加,大肠杆菌鞭毛马达的转速加快,说明连续营养培养会促进大肠杆菌鞭毛马达的运动性;后续的群体运动实验进一步验证了该结论。在该基础上,研究发现大肠杆菌运动能力的实现需要相关的基因,包括 *motB* 和 *fliC*。该文为发现营养在大肠杆菌生长运动中的作用提供了相关的科学依据,为深入研究大肠杆菌的鞭毛运动与肠道营养之间的关系提供了潜在的途径。

**关键词:**大肠杆菌;鞭毛;生长;运动;形态

**中图分类号:**Q936

**文献标志码:**A

**文章编号:**1003-5060(2023)02-0268-06

## Continuous static culture promotes rapid growth and motility of *Escherichia coli*

WANG Yuan, WANG Fangbin

(School of Food and Biological Engineering, Hefei University of Technology, Hefei 230601, China)

**Abstract:** *Escherichia coli* breeds fast and has a simple gene structure. Mutants of viscous flagella have been constructed, which is a model organism for studying flagellar movement. *E. coli* can respond to changes in the external environment, which is the basis for its survival, and the most important thing is the changes in its growth and movement behavior. In order to study the growth and movement of *E. coli* under the effect of continuous nutrition, this study used static liquid culture of *E. coli* for five consecutive days, and obtained the growth curve of *E. coli* by regularly detecting the OD value of the bacterial solution. It was found that the growth of *E. coli* reached a stable level. The period of time shortened with the increase of the number of culture days. Observing the morphological changes of *E. coli* in the static liquid culture for five consecutive days, it was found that the morphology of *E. coli* was not affected by growth and movement. Using an inverted microscope combined with latex beads technology, the rotation process of the flagellar motor of *E. coli* in the stable phase was observed. It was found that the rotation speed of the flagellar motor of *E. coli* increased with the increase of culture days, indicating that continuous nutrient culture would promote the flagellar motor sports; follow-up group sports experiments further verified this argument. On this basis, this study found that the realization of *E. coli* motor ability required related genes, including *motB* and *fliC*. This study provides a scientific basis for discovering the role of nutrition in the growth and movement of *E. coli*,

**收稿日期:**2021-03-09; **修回日期:**2021-05-06

**基金项目:**国家自然科学基金资助项目(11804072);安徽省自然科学基金资助项目(1808085QC64)

**作者简介:**王媛(1994—),女,山东临沂人,合肥工业大学硕士生;

王芳彬(1989—),男,安徽芜湖人,博士,合肥工业大学副教授,硕士生导师,通信作者, E-mail:fbwang@hfut.edu.cn.

and provides a potential way for in-depth study of the relationship between the flagellar movement of *E. coli* and enteric nutrition.

**Key words:** *Escherichia coli*; flagellum; growth; motility; morphology

## 0 引 言

运动性是细菌在环境中移动的一种高效策略,这一过程对于细菌在营养缺乏的条件下生存至关重要<sup>[1-2]</sup>。文献[3]研究了大肠杆菌 K-12 (一种肠道共生菌株的模式生物)在连续 5 d 培养下的生长动力学,该菌株在体外模拟人类肠道内细菌有规律的营养供应。研究表明大肠杆菌 K-12 在 MH 培养基中连续培养,每 12 h 中到达稳定期的时间缩短,生长速度加快,最终导致稳定期和指数期蛋白表达上存在差异,这些蛋白质可能会影响鞭毛运动的能力。迄今为止,大多数将营养与微生物群联系起来的研究都集中在细菌的生长上<sup>[4]</sup>,但是关于营养诱导的细菌生长影响其鞭毛运动的研究却很少。

在大肠杆菌中,鞭毛马达<sup>[5-8]</sup>是一种跨膜蛋白,可以推动细菌在液体介质中游动。马达旋转由多达 11 个彼此独立工作的定子驱动,每个定子由 4 个单位的 MotA 蛋白和 2 个 MotB 蛋白组成,它的运动方式有 2 种,即在前进和原地打转之间交替。当大肠杆菌上的所有鞭毛马达沿逆时针 (counterclock wise, CCW) 方向旋转时,细菌就会前进;而当一个或多个马达沿顺时针 (clockwise, CW) 方向旋转时,细菌会原地打转<sup>[9-11]</sup>。

本文以 *E. coli*JY26/pKAF131 作为模式生物进行研究,对 *E. coli*JY26/pKAF131 连续 5 d 静置<sup>[12]</sup>培养,通过紫外分光光度计定时检测 *E. coli*JY26/pKAF131 的生长状况得到了 *E. coli*JY26/pKAF131 连续 5 d 的生长曲线,并通过乳胶小球粘附在鞭毛马达上,利用倒置显微镜 Ti2-E 连续 5 d 观察 *E. coli*JY26/pKAF131 稳定期的有效运动的变化,本文在此运动的基础上研究了在连续 5 d 静置培养下处于稳定期的 *E. coli*JY26/pKAF131 的泳动性的变化,并且与另外 2 种野生型菌株 *E. coli*JY26 ( $\Delta fliC$ ) 和 *E. coli*JY26 ( $\Delta motB$ )/pKAF131 的泳动性<sup>[13]</sup>作比较, *E. coli* 的运动性强意味着泳动性比较敏感。同时本文研究了在连续 5 d 静置培养下对处于稳定期的 *E. coli*JY26/pKAF131 形态的影响。这些生物物理学实验对深入了解 *E. coli*JY26/pKAF131 马达的运动机制及生物学功能的研究具有一定的

作用。

## 1 材料与方法

### 1.1 实验材料

#### 1.1.1 实验菌株

*E. coli*JY26/pKAF131、*E. coli*JY26 ( $\Delta fliC$ ) 和 *E. coli*JY26/pKAF131 ( $\Delta motB$ ) 均由中国科技大学袁军华实验室提供。

#### 1.1.2 实验试剂

Tryptone、Yeast、Sodium chloride、Agar powder (BD 公司);磷酸氢二钾、磷酸二氢钾、无水乙醇、盐酸、甘油、过氧化氢 (国药集团化学试剂有限公司);天冬氨酸 (天津市东丽区天大化学试剂厂);M Grease (APIEZON);蛋氨酸、乳酸、乙二胺四乙酸 (EDTA)、氯化钠、多聚赖氨酸、RI-PA、三磷酸腺苷标准品、磷酸酶抑制剂 (美国 Sigma 公司);氯霉素 (GIBCO)。

#### 1.1.3 实验仪器与设备

SW-CJ-1FD 超净工作台 (上海智诚);Biophotometer plus 分光光度计、Eppendorf Centrifuge 5430R 离心机 (Eppendorf);DSX-24L 手提式高压蒸汽灭菌器 (上海申安);JY 92-II 超声波破碎仪 (新芝生物科技股份有限公司);TS-2 摇床 (Kylin-Bell);PHS-3C pH 计 (济南前程分析仪器有限公司);Hitech-Sciencetool Master-Q 超纯水净化系统 (上海和泰仪器有限公司);BSA1245 高精密度电子天平 (Sartorius 公司);HSX-150 恒温培养箱 (上海海向仪器设备厂);Ti2-E 倒置显微镜 (Nikon);ImageQuantLAS 400 mini 荧光成像系统 (GE Healthcare)。

### 1.2 生长曲线的测定

准备 24 个 50 mL 的离心管,分成 3 组置于离心管架上。配 2 L LB 培养基,调节 pH 值到 7.3 左右,然后分装到 50 mL 离心管中,分别加入 3 个 50 mL 离心管盛有 40 mL LB 培养基,6 个 50 mL 离心管分别盛有 39、38、37 mL 培养基,3 个 50 mL 离心管盛有 36 mL 培养基。第 1 天首先将分装好灭过菌的 LB 培养基置于超净台中,从过夜培养细菌的试管中取出 400  $\mu$ L 的菌液,加入到 40 mL LB 液体培养基中,摇匀以后放在离心管架上,然后放进 37  $^{\circ}$ C 恒温箱里,每隔 2 h 测

OD 值, 12 h 内测 6 次 OD 值, 最后一次测完立马离心, 5 000 r/min、5 min、24 °C 下离心后倒入新的 39 mL LB 培养基中。过夜培养 12 h 后, 第 2 天早上立马离心, 5 000 r/min、5 min、24 °C, 然后每隔 1 h 测 OD 值, 第 2 天大概需要稀释测 OD 值, 取 100  $\mu$ L 菌液加 900  $\mu$ L 空培养基放进 1.5 mL 离心管内, 震荡均匀后转入比色皿里测 OD 值, 连续 12 h 中每隔 1 h 测 1 次, 需要迅速测 OD 值, 12 h 后离心倒掉上清, 加入 38 mL LB 液体培养基继续培养。第 3 天早上, 经过培养 12 h 后再离心, 5 000 r/min、5 min、24 °C, 然后加入新鲜 38 mL LB 培养基, 开始每隔 10 min 测 1 次, 取 50  $\mu$ L 菌液加 950  $\mu$ L 空培养基放进 1.5 mL 离心管内, 震荡均匀后转入比色皿里去测 OD 值, 等菌液浓度稳定以后每隔 2 h 测 1 次即可。12 h 后离心倒掉上清, 加入 37 mL LB 空培养基继续培养。第 4 天早上, 经过培养 12 h 后再离心, 5 000 r/min、5 min、24 °C, 然后加入新鲜 37 mL LB 培养基, 开始每隔 10 min 测 1 次, 取 50  $\mu$ L 菌液加 950  $\mu$ L 空培养基放进 1.5 mL 离心管内, 震荡均匀后转入比色皿里去测 OD 值, 等菌液浓度稳定以后每隔 2 h 测 1 次。12 h 后离心倒掉上清, 加入 36 mL LB 空培养基继续培养。第 5 天早上, 经过培养 12 h 后再离心, 5 000 r/min、5 min、24 °C, 然后加入新鲜 36 mL LB 培养基, 开始每隔 10 min 测 1 次, 取 50  $\mu$ L 菌液加 950  $\mu$ L 空培养基放进 1.5 mL 离心管内, 震荡均匀后转入比色皿里测 OD 值, 等菌液浓度稳定后每隔 2 h 测 1 次。

### 1.3 运动性实验

在连续 5 d 静置培养 *E. coli*JY26/pKAF131 的生长过程中, 每天离心后, 将新鲜的 LB 培养基倒入, 并在 8 h 后进入稳定期。然后取出 1 mL 细菌溶液, 并将该细菌溶液稀释其 OD 值为 0.45~0.50。取 1 mL MM 溶液洗涤细菌, 5 000g 离心 1 min, 将上清液除去, 加入 1 mL MM 溶液, 然后重悬。用移液管取出 1 mL 细菌溶液, 用 23 号针头将其吸进注射器。然后用聚苯乙烯软管连接注射器, 将这 2 个注射器来回挤压 100 次。使用小口径的针头切去长的细菌鞭毛, 从而缩短鞭毛, 并使乳胶球更容易粘在鞭毛上。接下来, 需要将鞭毛细菌溶液离心至 5 000g, 离心 1 min, 除去上清液。最后吸取 300  $\mu$ L MM 溶液移到 1.5 mL 离心管中, 并将其与剩余细菌混合, 以使细菌均匀地悬浮在 300  $\mu$ L MM 溶液中。

用移液枪取出 40  $\mu$ L Sigma 的聚赖氨酸溶液, 将其缓慢且均匀地放在干燥的盖玻片上, 持续 3 min。将双面胶带切成 2 段等长, 然后粘贴到载玻片上。双面胶带的 2 个部分之间的距离短于盖玻片的长度。用镊子夹住盖玻片的一个角, 然后用纯净水清洗盖玻片。从盖玻片上除去多余的聚赖氨酸, 自然干燥, 然后将盖玻片粘到处理过的一侧。在此实验中, 使用移液器将 40  $\mu$ L 细菌悬液吸入切片通道, 然后将准备好的切片倒置 3 min。这样可以使盖玻片位于下方, 而载玻片位于上方。让细菌与聚赖氨酸溶液充分接触, 以便细菌可以粘在盖玻片上观察 *E. coli*JY26/pKAF131 的运动。3 min 后, 用移液管吸取 100  $\mu$ L MM 溶液, 并通过切片通道缓慢洗涤, 以去除未粘在盖玻片上的 *E. coli*JY26/pKAF131。缓慢加入 40  $\mu$ L 乳胶颗粒, 倒置 3 min。然后用移液器吸取 100  $\mu$ L MM 溶液, 并通过切片通道缓慢洗涤, 以洗去未粘附在 *E. coli*JY26/pKAF131 鞭毛上的乳胶小球。最后用 APIEZON 的 M 型油脂(润滑脂)密封型材通道的两端, 以备实验。

使用 CMOS 相机(DCC3260M)40 倍物镜并且以 500 帧/s 的速度记录 *E. coli*JY26/pKAF131 鞭毛马达的运动。所有实验均在 23 °C 下进行。

### 1.4 游动性实验

首先将配好的 Swimming 培养基平放在超净台上, 然后在连续 5 d 静置培养大肠杆菌的生长过程中, 每天早上离心后倒入新鲜的 LB 培养基等 8 h 左右到达稳定期, 再取出 1 mL 菌液, 稀释菌液使其 OD 值为 0.45~0.50。继续取出 4  $\mu$ L 菌液滴在培养皿的中心位置, 吹风 1 h 左右, 直到菌液在培养基表面晾干为止。最后轻轻地放置在 37 °C 恒温箱中孵育 24 h, 倒置培养, 孵育 24 h 以后将培养皿轻轻地放在凝胶成像仪中拍照。

### 1.5 形态实验测定

用乙醇清洗 1 片长  $\times$  宽为 76.2 mm  $\times$  25.4 mm 的载玻片, 然后用纯净水清洗 1 片长  $\times$  宽为 18 mm  $\times$  18 mm 的盖玻片, 最后自然晾干, 准备后续实验。使用移液枪吸取 40  $\mu$ L 的 Sigma 公司的多聚赖氨酸(polylysine)溶液, 缓慢且均匀地涂布在已经晾干的盖玻片上, 静置 3 min。然后将双面胶截成 2 段一样长且等长于盖玻片粘于载玻片上, 2 段双面胶的间距要小于盖玻片的长度。用镊子夹住盖玻片的一角, 再用纯净水清洗盖玻片, 去掉盖玻片上多余的多聚赖氨酸, 自然晾干, 经过处理的一面粘住载玻片, 这样就形成了一

个通道。在连续 5 d 静置培养大肠杆菌的生长过程中,每日早上离心后倒入新鲜的 LB 培养基,在 8 h 以后到达稳定期,然后取出 1 mL 菌液,测菌液的 OD 值为 0.45~0.50。将稀释好的菌液用移液枪吸取 1 mL,加入 1.5 mL 离心管中,离心 5 000g、1 min,去掉上清。然后取 1 mL MM 溶液清洗一遍菌体,离心 5 000g、1 min,去掉上清。用移液枪吸取 300  $\mu$ L 的 MM 溶液加入 1.5 mL 离心管中与剩余菌体混合均匀,使细菌均匀悬浮于 300  $\mu$ L 的 MM 溶液中。

使用移液枪吸取 40  $\mu$ L 的细菌悬浮液慢慢地打入切片的通道中,接下来将做好的切片倒置处理 3 min,即让盖玻片在下面,载玻片在上面。让细菌与多聚赖氨酸(polylysine)溶液充分接触,便于细菌沾到盖玻片上,以便观察大肠杆菌的形态。3 min 后再将切片正置放好,吸取 100  $\mu$ L 的 MM 溶液,将其缓慢通过切片通道进行清洗,目的是将没有粘到盖玻片上的细菌清洗掉。最后用 API-EZON 公司生产的 M 型油脂(Grease)将切片通道两端封住,完成了切片的制备。接下来立即将制备好的切片拿到显微镜下进行实验观察。

## 2 结果与分析

### 2.1 *E. coli*JY26/pKAF131 的生长动力学分析

研究表明 *E. coli* K12 菌株能在连续静置的 MH 培养基中生长速度加快,为此测试 *E. coli*JY26/pKAF131 在 LB 培养基中的生长状况。本文使用一种名为 JY26( $\Delta$ *fliC*)的野生型菌株,该菌株是 *E. coli* K12 菌株 RP437 的衍生物。本文将带有黏性细丝 *fliC*<sup>st</sup> 的质粒 pKAF131 转入到 JY26 中。*E. coli*JY26/pKAF131 连续 5 d 的生长曲线如图 1 所示。

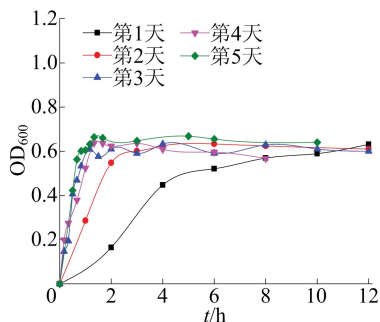


图 1 *E. coli*JY26/pKAF131 连续 5 d 的生长曲线

由图 1 可知,*E. coli*JY26/pKAF131 的生长速度加快,到达稳定期的时间缩短。第 1 天连续

培养 *E. coli*JY26/pKAF131,8 h 以后到达稳定期;第 2 天连续培养 *E. coli*JY26/pKAF131,2 h 到达稳定期;第 3~5 天连续培养 *E. coli*JY26/pKAF131,1 h 以内到达稳定期。结果表明:*E. coli*JY26/pKAF131 在连续 5 d 的静置 LB 培养中,生长速度加快,到达稳定期的时间缩短。

### 2.2 *E. coli*JY26/pKAF131 的运动性分析

在静置 LB 培养中,*E. coli*JY26/pKAF131 的生长动态连续 5 d 发生变化,因为要了解这是否会影响到 *E. coli*JY26/pKAF131 的运动性,所以本文选择连续 5 d *E. coli*JY26/pKAF131 生长的稳定期进行研究。本文首先对 2 种大肠杆菌(野生型大肠杆菌 JY26 和大肠杆菌 JY26/pKAF131)的鞭毛马达的转速进行分析,*E. coli*JY26/pKAF131 的鉴定结果如图 2 所示。因为野生型 *E. coli*JY26 ( $\Delta$ *fliC*) 无鞭毛基因,所以无鞭毛运动,作为对照组;*E. coli*JY26/pKAF131 是导入了表达鞭毛基因的质粒 pKAF131,因此使细菌获得了运动能力和可以标记乳胶小球的能力。

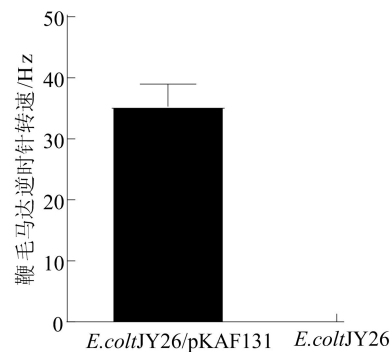


图 2 *E. coli*JY26/pKAF131 的鉴定结果

本文鞭毛马达的动力学分析需要利用乳胶小球粘附在 *E. coli*JY26/pKAF131 的鞭毛上,通过倒置显微镜 Ti2-E 观察 *E. coli*JY26/pKAF131 运动速度的变化。利用 *E. coli*JY26/pKAF131 鞭毛马达的顺时针速度和逆时针速度作运动指标,并用 MATLAB 分析鞭毛马达的转速。连续 5 d 培养 *E. coli*JY26/pKAF131 鞭毛马达的顺时针转速如图 3 所示。图 3 中: \* 表示  $P < 0.05$ ; \*\*\* 表示  $P < 0.001$ ,下同。从图 3 可以看出,连续静置培养 *E. coli*JY26/pKAF131 的顺时针转速分别为(39.59 $\pm$ 4.503) Hz、(51.32 $\pm$ 5.076) Hz、(53.05 $\pm$ 3.687) Hz、(55.70 $\pm$ 4.798) Hz、(69.59 $\pm$ 4.298) Hz,连续 5 d 研究的有效细菌数为 4、17、21、18、28。*E. coli*JY26/pKAF131 的

顺时针转速逐渐提高。

连续 5 d 培养 *E. coli*JY26/pKAF131 鞭毛马达的逆时针转速如图 4 所示,其中, \*\* 表示  $P < 0.01$ 。从图 4 可以看出,连续 5 d 的 *E. coli*JY26/pKAF131 的逆时针转速分别为(35.33 ± 3.663) Hz、(50.44 ± 4.846) Hz、(52.34 ± 4.026) Hz、(54.57 ± 5.236) Hz、(74.33 ± 5.530) Hz,每天研究的有效细菌个数分别为 21、19、22、21、30。与第 1 天相比,第 2 天的逆时针转速提高了 30%;第 3、4 天与第 2 天相比没有显著性差异,但是转速有所提高。在第 5 天时,细菌鞭毛运动的逆时针转速达到约 69.59 Hz,与第 4 天相比增加了约 20%。结果表明:*E. coli*JY26/pKAF131 在连续 5 d 的静置 LB 培养中,运动性增强,*E. coli*JY26/pKAF131 的逆时针转速连续 5 d 上升,而顺时针转速表明运动环境的不利因素也在增加,这与 *E. coli*JY26/pKAF131 数量的增加是一致的,次生毒性代谢产物也在增加<sup>[12]</sup>。

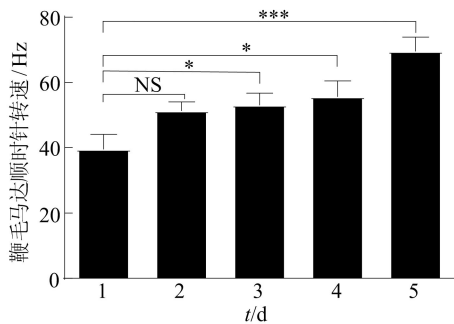


图 3 *E. coli*JY26/pKAF131 鞭毛马达的顺时针转速

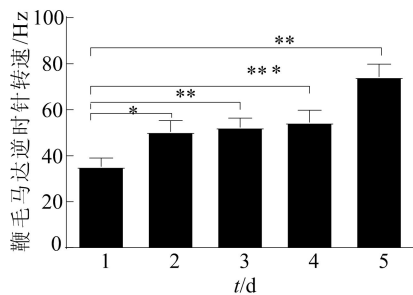


图 4 *E. coli*JY26/pKAF131 鞭毛马达的逆时针转速

### 2.3 MotB 和 FliC 的运动影响分析

为了验证 MotB 和 FliC 在 *E. coli*JY26/pKAF131 运动中的重要性,本文将 *E. coli*JY26 ( $\Delta fliC$ )、*E. coli*JY26 ( $\Delta motB$ )/pKAF131 和 *E. coli*JY26/pKAF131 进行连续 5 d 的静置 LB 培养,然后在泳动培养基上观察细菌游动的直径。3 种 *E. coli* 菌株连续 5 d 的群体运动如图 5 所示。

图 5 中:*E. coli*JY26 为缺少鞭毛 FliC 基因的菌株;*E. coli*JY26 ( $\Delta motB$ )/pKAF131 为缺少运动蛋白基因的菌株;*E. coli*JY26/pKAF131 为有运动基因并且有鞭毛的菌株;将培养第 1 天的菌液稳定期的细菌取出 4  $\mu$ L 滴在泳动固体培养基上,37  $^{\circ}$ C 孵育 24 h 拍照;第 2~5 天以此类推。从图 5 可以看出,*E. coli*JY26/pKAF131 游动的直径在连续培养 5 d 的静置培养中发生变化,随着培养天数的增加,*E. coli*JY26/pKAF131 游动的直径增大。与对照组相比,当同时存在 MotB 和 FliC 时,*E. coli*JY26/pKAF131 的运动性才会随着培养天数的增加而增强。

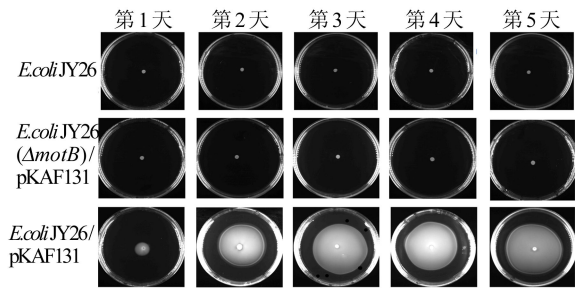


图 5 3 种 *E. coli* 菌株连续 5 d 的群体运动

### 2.4 *E. coli*JY26/pKAF131 的形态学分析

有研究表明细菌的长宽比与细菌的迁移率有关。在连续 5 d 的静置培养中,*E. coli*JY26/pKAF131 的生长速率加快,运动性增强。为了分析 *E. coli*JY26/pKAF131 的形态,本文将稳定期的 *E. coli*JY26/pKAF131 制成切片利用倒置显微镜随机拍摄,并借助 MATLAB 分析 *E. coli*JY26/pKAF131 的形态和大小。*E. coli*JY26/pKAF131 的测量数据具有统计学意义。连续 5 d 培养 *E. coli*JY26/pKAF131 的菌体长宽比如图 6 所示。

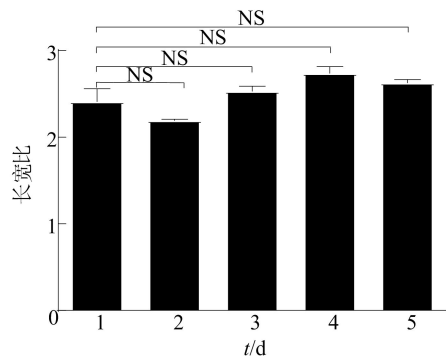


图 6 连续 5 d 培养 *E. coli*JY26/pKAF131 的菌体长宽比

从图 6 可以看出, *E. coli*JY26/pKAF131 的长宽比保持在约 2.5, 没有显著性差异, 但整体的趋势与细菌的运动性增强趋势相吻合。

### 3 结 论

已有的研究表明 *E. coli* 在连续静置培养中, 生长速率加快, 并且与 *E. coli* 运动相关的一些基因表达量升高。本文分析发现连续 5 d 静置培养 *E. coli*JY26/pKAF131, *E. coli*JY26/pKAF131 的生长到达稳定期的时间缩短, 生长速度加快。这些结果与先前的报道一致, 表明连续静置培养对 *E. coli*JY26/pKAF131 的生长起着重要作用。除此以外, 连续 5 d 静置培养 *E. coli*JY26/pKAF131, *E. coli*JY26/pKAF131 的运动性发生变化, 并且随着培养天数的增加运动性增强, 泳动性与 *E. coli*JY26/pKAF131 的运动有关, 泳动性增大, 说明 *E. coli*JY26/pKAF131 确实在连续 5 d 的静置培养中运动性增强。结果表明连续 5 d 静置培养可能参与调控 *E. coli*JY26/pKAF131 的生长和运动基因的表达, 这一发现对更深入地了解肠道有关的细菌在体内的运动以及抗细菌药物的研发具有一定的指导作用。

### [参 考 文 献]

- [1] SOUTOURINA O A, BERTIN P N. Regulation cascade of flagellar expression in gram-negative bacteria[J]. FEMS Microbiology Reviews, 2003, 27(4): 505-523.
- [2] 司铁岩, 袁军华, 吴艺林, 等. 细菌运动中的物理生物学[J]. 物理学报, 2016, 65 (17): 197-211.
- [3] BRETON J, TENNOUNE N, LUCAS N, et al. Gut commensal *E. coli* proteins activate host satiety pathways following nutrient-induced bacterial growth[J]. Cell Metabolism, 2016, 23(2): 324-334.
- [4] PARKS B W, NAM E, ORG E, et al. Genetic control of obesity and gut microbiota composition in response to high-fat, high-sucrose diet in mice[J]. Cell Metabolism, 2013, 17(1): 141-152.
- [5] 王彬. *E. coli* 鞭毛马达力学输出性质的研究[D]. 合肥: 中国科学技术大学, 2018.
- [6] 张驰. *E. coli* 趋化信号网络及适应行为的研究[D]. 合肥: 中国科学技术大学, 2017.
- [7] 袁军华. 细菌运动及趋化信号转导网络的研究[J]. 中国科学技术大学学报, 2014, 44(5): 382-388.
- [8] WELCH M, OOSAWA K, AIZAWA S, et al. Phosphorylation-dependent binding of a signal molecule to the flagellar switch of bacteria[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences, 1993, 90(19): 8787-8791.
- [9] 王芳彬. 细菌鞭毛马达在不同负载下的转向改变动力学研究[D]. 合肥: 中国科学技术大学, 2017.
- [10] FAHRNER K A, RYU W S, BERG H C. Biomechanics: bacterial flagellar switching under load[J]. Nature, 2003, 423(6943): 938.
- [11] GABEL C V, BERG H C. The speed of the flagellar rotary motor of *Escherichia coli* varies linearly with protonmotive force[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 2003, 100 (15): 8748-8751.
- [12] PARKER D J, DEMETCI P, LI G W. Rapid accumulation of motility-activating mutations in resting liquid culture of *Escherichia coli* [J]. Journal of Bacteriology, 2019, 201(19): e00259-19.
- [13] YI G, WEI Q L, WANG J J, et al. CRISPR-Cas9 knockout of *qseB* induced asynchrony between motility and biofilm formation in *Escherichia coli* [J]. Canadian Journal of Microbiology, 2019, 65(9): 691-702.

(责任编辑 张 镛)