

DOI:10.3969/j.issn.1003-5060.2025.07.012

motB 和 *fliC* 基因在大肠杆菌运动中的作用

黄承允, 刘健, 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: 周身含有鞭毛的细菌可通过鞭毛马达带动鞭毛转动, 为自身运动提供动力。文章以大肠杆菌为模式生物, 通过 CRISPR-Cas9 基因编辑技术对大肠杆菌基因组进行改造, 分别构建 *motB* 和 *fliC* 基因缺失的大肠杆菌菌株; 利用明场显微技术研究单个鞭毛马达的转动, 利用暗场显微技术研究单个细菌的游动, 利用软琼脂平板研究细菌的群体游动。结果表明: *motB* 和 *fliC* 基因缺失的大肠杆菌失去了马达转动和细胞运动的能力; 通过质粒 pJY7 和 pKAF131 分别回补 *motB* 和 *fliC* 基因, 恢复了大肠杆菌的运动能力, 进一步明确了 *motB* 和 *fliC* 基因在大肠杆菌运动中的作用。

关键词: 大肠杆菌; 鞭毛; 鞭毛马达; *motB* 基因; *fliC* 基因; CRISPR-Cas9 基因编辑技术

中图分类号: Q937 **文献标志码:** A **文章编号:** 1003-5060(2025)07-0938-08

Role of *motB* and *fliC* genes in the motility of *Escherichia coli*

HUANG Chengyun, LIU Jian, WANG Fangbin

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

Abstract: Peritrichous bacteria can provide motivation for own motility by employing flagellar motor to turn the flagella. In this paper, *Escherichia coli* was used as model organism, and the *Escherichia coli* genome was modified by CRISPR-Cas9 gene editing technology to construct the *Escherichia coli* strains without *motB* and *fliC*, respectively. The rotation of single flagellar motor was studied by bright field microscopy; the individual bacterial swimming motility was studied by dark field microscopy; the swimming motility of bacterial population was studied by using soft agar plates. The results showed that the strains of *Escherichia coli* without *motB* and *fliC* lost the ability of motor rotation and bacterial motility. The motility of *Escherichia coli* was restored when plasmids pJY7 expressing *motB* and pKAF131 expressing *fliC* were transformed to the cells. The results suggested the role of *motB* and *fliC* in the motility of *Escherichia coli*.

Key words: *Escherichia coli*; flagella; flagellar motor; *motB* gene; *fliC* gene; CRISPR-Cas9 gene editing technology

0 引言

周身含有鞭毛的细菌(如大肠杆菌)通过鞭毛马达连接细菌胞体和鞭毛, 它们可以旋转自己的鞭毛马达从而带动鞭毛旋转, 为自身运动提供动力^[1]。大肠杆菌是一种尺寸微小、结构简单的原

核生物, 其胞体长度为 2~3 μm , 直径为 0.5~1.0 μm , 繁殖方式为二分裂, 20 min 即可繁殖一代, 常被作为研究的模式生物。

鞭毛是一种附着于大肠杆菌表面, 延伸至体外的螺旋丝状纳米结构, 直径约为 50 nm, 长度最多可达 10 μm , 是大肠杆菌胞体长度的数倍, 而如

收稿日期: 2023-04-11; 修回日期: 2023-05-18

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(11804072)

作者简介: 黄承允(1998—), 男, 安徽淮南人, 合肥工业大学硕士生;

刘健(1970—), 男, 安徽合肥人, 博士, 合肥工业大学教授, 博士生导师;

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

此“微小”的身体之所以可以带动如此“庞大”的鞭毛转动,得益于鞭毛马达^[2-3]。

大肠杆菌的鞭毛马达是一种分子结构,与其他马达一样,其核心部分也是定子和转子。定子和转子相互作用产生力矩,并且控制着鞭毛马达的旋转方向。大肠杆菌的鞭毛马达定子数量多达11个,每个定子由5份 *motA* 蛋白和2份 *motB* 蛋白组成,它们构成了2个跨膜的 H^+ 通道,为马达转动提供质子推动力,从而带动鞭毛进行旋转^[4]。当大肠杆菌胞内所有鞭毛马达沿逆时针方向旋转(counterclockwise rotation, CCW)转动时,它的鞭毛会变成一簇集束,即鞭毛束,进而驱动细菌向前游动;当1个或多个鞭毛马达沿顺时针方向旋转(clockwise rotation, CW)时,该集束会被打开,使细菌原地打转^[5]。然而由于鞭毛马达转动是一个微观的过程,且发生在大肠杆菌体内,即便使用显微镜也很难观察到,因此文献^[6]利用乳胶小球标记法将微米级别的小球附着到鞭毛上,通过明场显微装置观察乳胶小球的转动来反映大肠杆菌鞭毛马达的转动。

研究表明,大肠杆菌的运动与其寻找环境营养物质、躲避环境有害物质、进行粘附以及形成耐药生物膜等重要生理活动有直接密切的关系^[7-9]。研究大肠杆菌在实现运动的过程中发挥重要作用的基因可以帮助科研工作者们更好地理解大肠杆菌的运动行为,为未来深入了解和探索大肠杆菌的生命活动提供了有效的研究思路。

大肠杆菌的鞭毛是由 *fliC* 基因表达的 *fliC* 蛋白构成的。*MotB* 蛋白是鞭毛马达的力矩产生单元,又是由 *motB* 基因表达,因此本文通过CRISPR-Cas9基因编辑技术,分别构建了 *motB* 和 *fliC* 基因缺失的大肠杆菌菌株,利用明场显微技术和乳胶小球标记技术观察大肠杆菌单个鞭毛马达的转动,利用高通量暗场显微技术观察单个大肠杆菌的游动,利用软琼脂盘观察大肠杆菌菌群的游动。结果表明:*motB* 和 *fliC* 基因缺失的大肠杆菌失去了马达转动和细胞运动的能力;通过质粒 pJY7 和 pKAF131 分别回补 *motB* 和 *fliC* 基因,发现大肠杆菌的运动能力得以恢复。进一步明确了 *motB* 和 *fliC* 基因在大肠杆菌运动中的作用。

1 材料与方法

1.1 实验仪器

研究中使用的主要仪器有:Ti-2 倒置显微镜

(Nikon),CMOS 相机(Thorlabs),摇床(天津欧诺仪器有限公司),高速离心机(Eppendorf),冷冻高速离心机(Eppendorf),高压灭菌锅(上海申安医疗器械厂),电热鼓风干燥箱(上海一恒科学仪器有限公司),紫外分光光度计(Eppendorf)。

1.2 实验材料

运动野生型菌株 HCB33 来源于大肠杆菌 K-12 株系的 RP437;质粒 pJY7 和质粒 pKAF131 均由中国科学技术大学袁军华老师提供;*motB* 基因缺陷型菌株(命名为 FW4)、*fliC* 基因缺陷型菌株(命名为 FW5)均由合肥工业大学王芳彬老师课题组构建;在 CRISPR-Cas9 基因编辑系统中所使用的质粒 pTargetF 和质粒 pCas 均由合肥师范学院袁新松老师提供。

琼脂、蛋白胨、酵母膏均购于 BD 公司;磷酸氢二钾、磷酸二氢钾均购于国药集团化学试剂有限公司;甲硫氨酸、乳酸、乙二胺四乙酸(EDTA)、氯化钠、多聚赖氨酸、1 μm 乳胶小球均购于 Sigma 公司;氯霉素、卡那霉素、壮观霉素均购于 GIBCO 公司;M 型油脂购于 APIEZON 公司。

研究中所使用的主要培养液有:扩大培养(LB)培养液(1 L 纯水、10 g 蛋白胨、5 g 酵母膏、5 g 氯化钠);T-broth(TB)培养液(1 L 纯水、10 g 蛋白胨、5 g 氯化钠);运动缓冲液(MM)(10 mL 的 1 mol/L KPO_4 , 0.2 mL 的 0.5 mol/L EDTA, 0.1 mL 的 10 mmol/L 甲硫氨酸, 1 mL 的 10 mol/L 乳酸)。将溶液混合后加纯水使溶液最终体积为 1 L,灭菌后冷却至室温,然后调节 pH 值至 7.0。

1.3 实验方法

1.3.1 大肠杆菌生长曲线的测定

在3个50 mL锥形瓶中分别加入10 mL的TB培养液,在每个锥形瓶中加入100 μL 扩大培养的大肠杆菌菌液;将上述锥形瓶置于摇床中,33 $^{\circ}\text{C}$ 、220 r/min 条件下培养,每2 h 测量1次菌液在600 nm 处的光密度 OD_{600} ,共测量16 h,绘制生长曲线。

1.3.2 大肠杆菌鞭毛马达转动的观察

大肠杆菌菌液处理过程如下:取TB培养液中当日培养的1 mL 的 OD_{600} 约为0.5的菌液,6 000g 离心1 min,去除上清液,用1 mL 的MM溶液震荡重悬;将MM溶液重悬的菌液6 000g 离心1 min,并再次用1 mL 的MM溶液重悬,重复2次;将上述溶液注入到用直径5 μm 的聚苯乙烯软管连接的2个注射器中,来回挤压注射器

50 次,以剪切鞭毛,将经过物理作用处理后的菌液再次进行离心,然后加入 300 μL 的 MM 溶液以浓缩菌液;将处理后的菌液立刻用来标记乳胶小球和制备切片观察,剩余的菌液放入 4 $^{\circ}\text{C}$ 冰箱以便后续实验使用。

切片的制备过程如下:取 1 片长为 75 mm、宽为 25 mm 的矩形载玻片和 1 片边长为 20 mm 的正方形盖玻片,依次用乙醇和纯水清洗干净,自然晾干;在盖玻片的一面加入 100 μL 的多聚赖氨酸,涂抹均匀,静置 3 min,再将 2 段长度合适的双面胶粘于载玻片适当位置上;用纯水清洗盖玻片,晾干处理后将盖玻片经多聚赖氨酸处理后的一面朝载玻片方向粘住,形成一个通道;向通道中加入 40 μL 处理过的菌液,将切片倒置处理 3 min,使其充分粘贴于盖玻片上;用 100 μL 的 MM 溶液缓慢冲洗通道,将未粘到盖玻片上的细菌冲洗掉;向通道中加入 40 μL 的乳胶小球溶液至通道中,将切片倒置处理 3 min,使其充分连接在大肠杆菌的鞭毛上;用 100 μL 的 MM 溶液缓慢冲洗通道,将未粘到细菌鞭毛上的乳胶小球冲洗掉;用 M 型油脂将通道两端封住。

切片制备完成后,使用 Ti-2 倒置显微镜的 40 倍镜在明场下观察乳胶小球的旋转运动轨迹,并使用 CMOS 相机采集,采样频率为 500 帧/s,采样时间为 180 s,相机曝光时间为 50 ms,总采样帧数为 90 000 帧。

1.3.3 单个大肠杆菌游动的观察

切片的制备过程同 1.3.2 节,用绿色激光代替相机白光以搭建暗场环境,使用 Ti-2 倒置显微镜的 10 倍镜,在暗场下观察乳胶小球的旋转运动轨迹,并使用 CMOS 相机采集,采样频率调节至 500 帧/s,采样时间为 20 s,相机曝光时间为 50 ms,总采样帧数为 10 000 帧。

1.3.4 大肠杆菌 U 型分布情况

切片的制备过程同 1.3.2 节,同样在明场下使用 Ti-2 倒置显微镜的 40 倍镜,将载玻片与盖玻片之间的 150 μm 高度平均分成 22 个界面,使用 CMOS 相机拍照,采样频率调节至 500 帧/s,每个界面拍照 2 张,观察 2 张图之间运动的细菌,记录数量,最后统计每个界面的细菌数量。因为野生型大肠杆菌的群集分布数量统计图呈现字母“U”的形状,所以实验又称为 U 型分布实验。

1.3.5 大肠杆菌菌群的游动实验

按照 1 L 纯水、10 g 蛋白胨、7 g 氯化钠、3 g 琼脂的配比配置软琼脂 swimming 培养基,取 TB

培养液中当日培养的 4 μL 的 OD_{600} 约为 0.5 的菌液,滴于 swimming 培养基的正中央,在无菌通风的地方晾 1 h,轻轻倒置,放入 33 $^{\circ}\text{C}$ 恒温培养箱,12 h 后拍照,测量菌落扩大的直径。

1.3.6 CRISPR-Cas9 基因编辑技术

在大肠杆菌基因库(<https://ecocyc.org/>)中找到目的基因及其上、下游 500 bp 核苷酸序列,再在目的基因序列中找到 NGG 序列(PAM 位点)和上游 20 bp 的核苷酸序列。全质粒突变聚合酶链式反应(polymerase chain reaction, PCR)将质粒 pTargetF 中的 cadAspacer 序列替换为该 20 bp 序列,记为基因名称-pTargetF。根据目标基因的上游和下游核苷酸序列 500 bp 设计上、下游同源臂引物。以基因组 DNA 为模板,通过 PCR 构建上、下游同源臂,通过重叠延伸 PCR 连接上、下游同源臂,标记为修复载体。最后通过热休克法将 pCas 导入目的细菌,通过电转化法将 N20-基因名称-pTargetF 及修补模板导入目的细菌,达到基因敲除的目的,IPTG 去除 pTargetF 质粒,42 $^{\circ}\text{C}$ 去除 pCas 质粒^[10-11]。

2 结果与分析

2.1 基因缺陷型菌株 FW4 和 FW5 的构建

本研究需要构建 *motB* 和 *fliC* 基因缺失的大肠杆菌,以使用 CRISPR-Cas9 基因编辑技术敲除 *motB* 基因为例,介绍基因缺陷型菌株的构建方法,具体如下。

1) 在大肠杆菌基因库(<https://ecocyc.org/>)中找到目的基因 *motB* 的核苷酸序列,在其中找到 PAM 位点,即 NGG 序列,N 可以为 A、G、C、T 嘌呤中的任意一个。按照 PAM 位点前 20 bp 的碱基和质粒 pTargetF 的序列,根据全质粒突变的原理,设计突变引物。再按照目的基因上、下游 500 bp 左右的序列,根据重叠延伸 PCR 的原理设计上、下同源臂引物。最后根据基因组序列设计敲除验证引物。

2) 进行突变质粒的构建。以 pTargetF 质粒为模板 DNA,用步骤 1) 中所述突变引物,在 Takara 的高保真 DNA 聚合酶的催化下,以超纯水为缓冲液,进行 PCR 反应。将 PCR 产物按照 Takara 的甲基化 DNA 快切酶 *Dpn* I 的使用方法进行酶切消化,去除模板质粒 DNA,将消化产物导入大肠杆菌 DH5 α 感受态细胞,再使用 TIANGEN 的质粒小提试剂盒提取,测序备用,测序服务由北京生工生物工程有限公司提供,结

果如图 1 所示。

3) 进行修补模板 Donor DNA 的构建。以大肠杆菌 HCB33 基因组为模板,用上同源臂前后引物,在 Takara 的高保真 DNA 聚合酶的催化下,以超纯水为缓冲液,进行 PCR 反应,再进行凝胶电泳,切胶回收产物,命名为 *motB* 基因上同源臂;*motB* 基因下同源臂构建方法同上。再以 *motB* 基因上、下同源臂为模板,在 Takara 的高保真 DNA 聚合酶的催化下,以超纯水为缓冲液进行 PCR 反应,再进行凝胶电泳,切胶回收备用。

凝胶电泳结果如图 2 所示。

4) 将质粒 pCas 导入大肠杆菌 HCB33,然后在 L-阿拉伯糖的诱导下制备大肠杆菌 HCB33/pCas 的电转化感受态,加入 400 ng 的突变质粒和 800 ng 的 Donor DNA 进行电转化,使 Donor DNA 替换目的基因序列 *motB*,涂布于卡那霉素和大观霉素双抗性平板上,挑取单菌落进行菌落 PCR 验证。

由于基因缺陷型大肠杆菌菌株 FW5 的构建方式和以上方法相同,本文不再赘述。

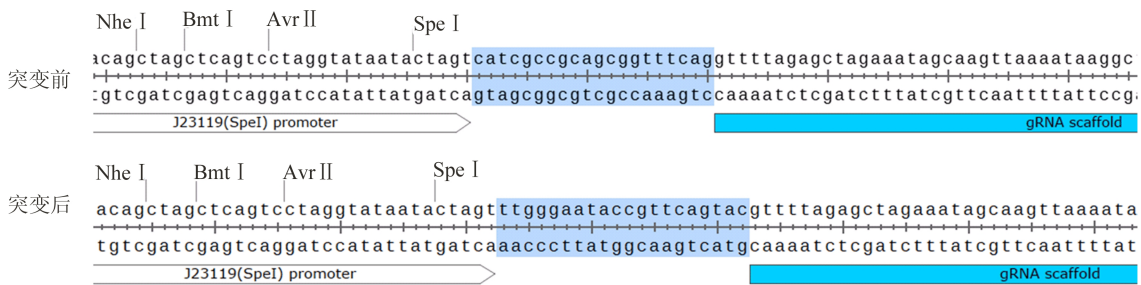


图 1 全质粒突变前、后测序结果

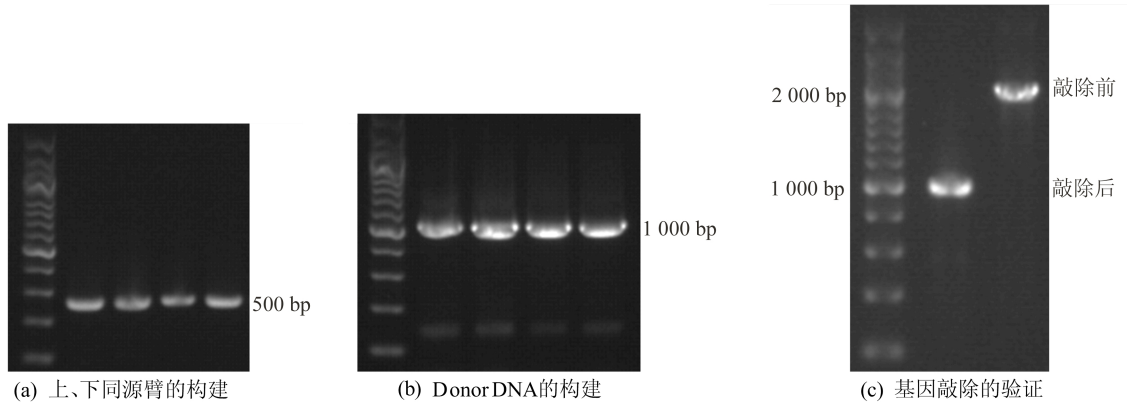


图 2 *motB* 基因的 CRISPR-Cas9 DNA 凝胶电泳图

2.2 基因的缺失对大肠杆菌生长的影响

本文研究了运动野生型大肠杆菌 HCB33、基因缺陷型大肠杆菌 FW4 和 FW5 的生长情况,在波长为 600 nm 处每 2 h 检测细菌的 OD 值,共检测 16 h,结果如图 3 所示。

从图 3 可以看出,3 株大肠杆菌的生长速率均从调整期到对数期再到稳定期,没有差异,并且进入对数期和稳定期的时间也几乎一致。这说明缺失了 *motB* 和 *fliC* 基因的大肠杆菌菌株 FW4 和 FW5 与运动野生型菌株相比,生长速率未受到影响,从而说明运动关键基因 *motB* 和 *fliC* 基因的缺失不会影响大肠杆菌生长。

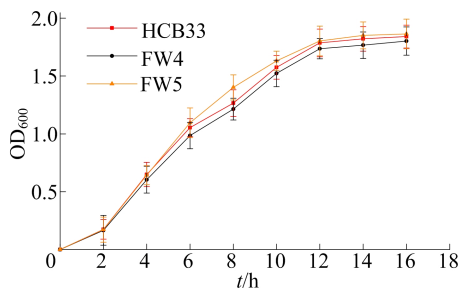
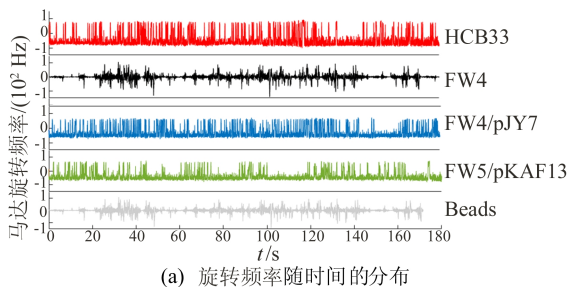


图 3 不同大肠杆菌菌株的生长曲线

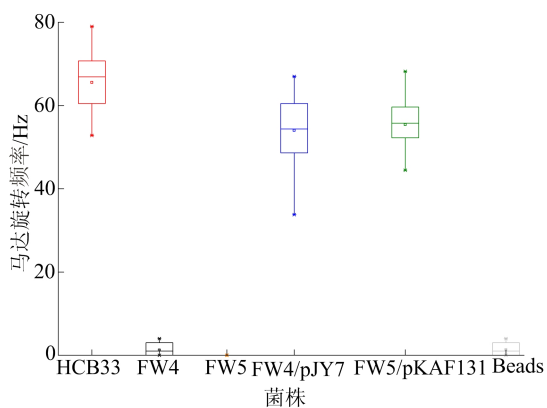
2.3 基因对大肠杆菌鞭毛马达旋转频率的影响

本文采用乳胶小球标记鞭毛法分析鞭毛马达转动情况,每个小球观察 180 s。因为 FW5 删除了鞭毛,所以鞭毛马达数据无法监测。HCB33、FW4、FW4/pJY7、FW5/pKAF131 和对照的乳胶小球 (Beads) 的鞭毛马达旋转频率随时间的分布如图 4a 所示。每组分别记录 20 个鞭毛马达,以减小单体差异性,统计后绘制的箱图如图 4b 所示。

图 4b 中:方框上、下限分别为上、下四分位数;整个图形的上、下限为 5%和 95%分位数;方框中间的横线为中位数;方框中的小标记为平均值。



(a) 旋转频率随时间的分布



(b) 鞭毛马达的旋转频率

图 4 不同大肠杆菌菌株的鞭毛马达的转动实验结果

由图 4 可知:缺失了 *motB* 的大肠杆菌 FW4 鞭毛马达不能转动,而通过质粒 pJY7 回补 *motB* 基因后,马达旋转频率可在一定程度上恢复,但频率比野生型菌株 HCB33 低;而缺失了 *fliC* 基因的大肠杆菌 FW5 无法获取马达转动信息,通过质粒 pKAF131 回补 *fliC* 基因后,马达转速也可恢复,但同样低于 HCB33。通过对对照组小球的数据可知 FW4 产生的波动是由于热噪声造成的。

2.4 基因对单个大肠杆菌游动的影响

单个大肠杆菌的运动是由鞭毛马达旋转带动鞭毛旋转驱动的,而大肠杆菌在液体环境中的运动又被称为游动。本研究采用暗场显微技术观察单个大肠杆菌的游动情况,不同基因型的单个大肠杆菌的游动轨迹如图 5 所示。为了排除乳胶小球对实验结果的影响,同样设置了对照组。

从图 5 可以看出:运动野生型大肠杆菌 HCB33 在水环境中可以保持良好的游动能力,其游动距离最长,游动速度最快;而菌株 FW4 和 FW5 失去了游动的能力,可以通过导入质粒 pJY7 和 pKAF131 分别回补基因 *motB* 和 *fliC* 来弥补,但回补后的游动能力仍不如菌株 HCB33。而小球游动数据说明 FW4 和 FW5 产生的波动是由热噪声造成的。

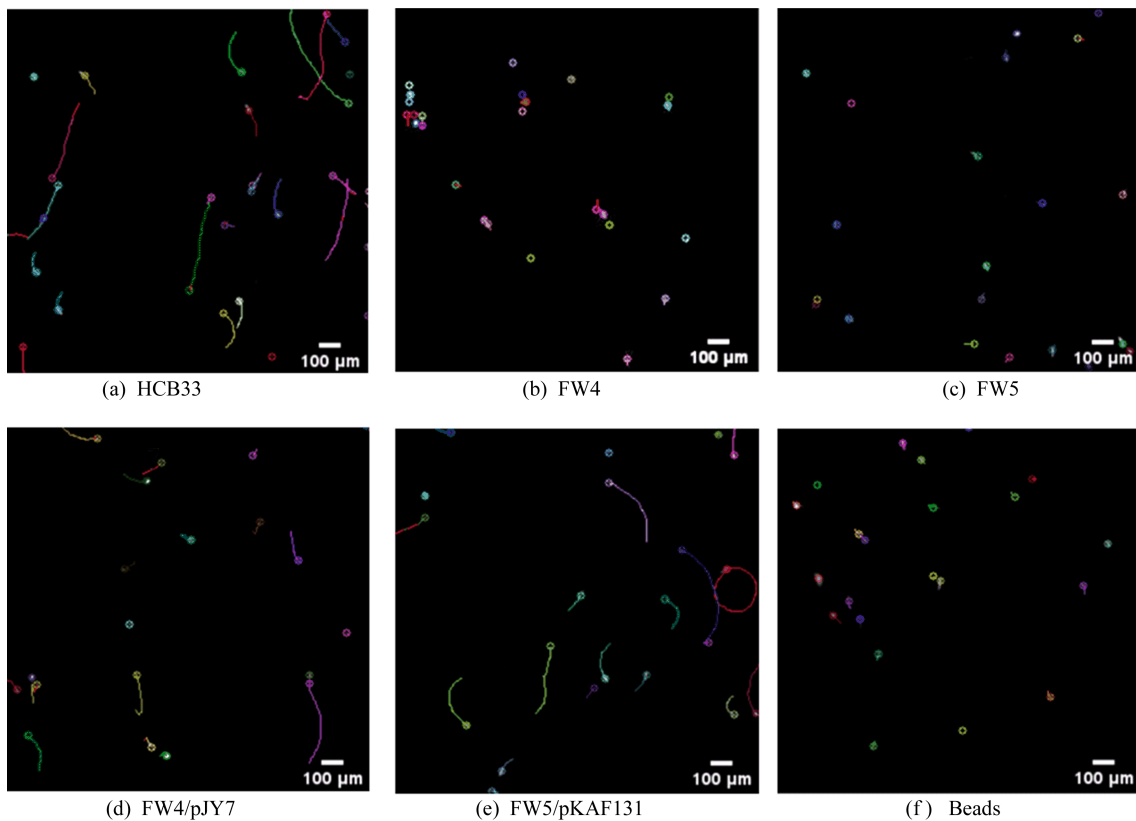


图 5 不同基因型的单个大肠杆菌的游动轨迹

大肠杆菌游动的距离、游动的速度和转动的频率如图 6 所示,结果显示,野生型菌株 HCB33 游动距离最长、游动速度最快,而通过质粒回补的大肠杆菌游动距离和游动速度与野生型相比都下

降了,而它们的转动频率未受到显著影响。这是由于这 2 种基因并不会影响大肠杆菌的趋化系统。FW4 和 FW5 的少量波动与小球一致,再次说明这种波动是由热噪声引起的。

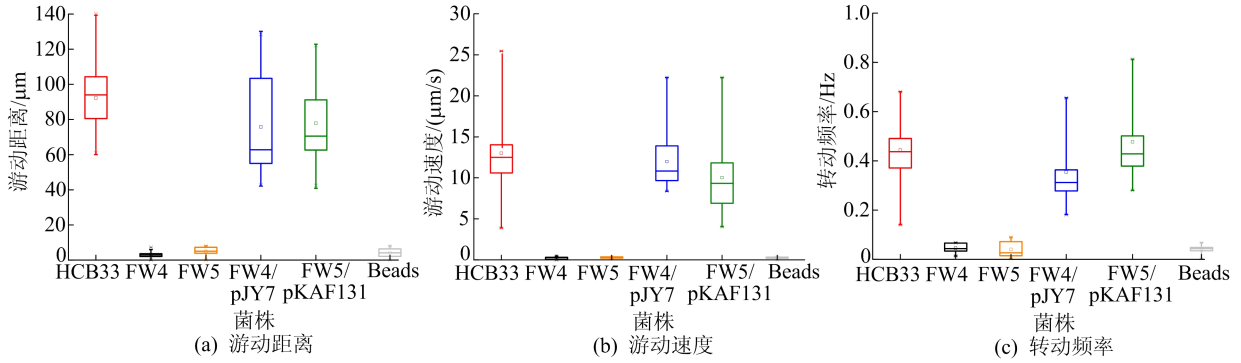


图 6 不同基因型的单个大肠杆菌的游动实验结果

2.5 基因对大肠杆菌界面分布的影响

大肠杆菌的群集运动在其进行粘附和形成生物膜的过程中发挥着至关重要的作用,本研究群集运动可以帮助后续工作者更深入地研究大肠杆菌的运动。

本研究采用明场显微镜对载玻片和盖玻片之间的 150 μm 高度中的 22 个不同界面进行拍照,分别拍照 2 张,观察每个界面的 2 张图片中运动的细菌,记录其数量,最后进行统计,其结果如图 7 所示。

由图 7 可知,运动野生型大肠杆菌 HCB33 的群集分布呈现近乎完美的字母“U”的形状,说明其更多地分布在切片表面附近,符合细菌的贴壁运动行为。基因缺陷型菌株 FW4 和 FW5 由于失去了运动性,平均地分布在各个界面之间,说明缺失了 *motB* 和 *fliC* 基因的大肠杆菌失去了运动能力,不具有贴壁运动能力,因此细菌会随机分布在液体中。通过对照组小球的数据进一步说明这 2 种菌株运动能力的缺失。

通过导入质粒 pJY7 和 pKAF131 对缺失的 *motB* 和 *fliC* 基因进行回补,其恢复了一定的运

动能力,群集分布也呈现字母“U”的形状,但在表面的分布少于菌株 HCB33,这与前面的实验结果相符。

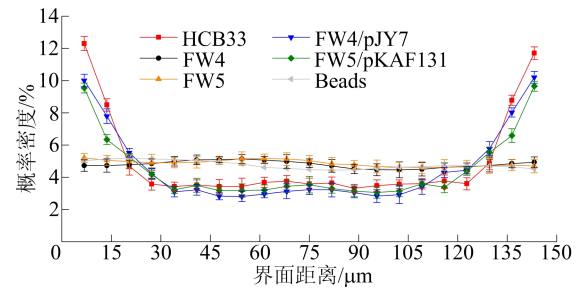


图 7 不同大肠杆菌菌株的界面分布

2.6 基因对大肠杆菌菌群游动的影响

本文在 2.5 节中研究了不同大肠杆菌菌株在液体环境中的界面分布情况,而对于大肠杆菌菌群游动的研究,通过软琼脂平板上菌落扩散的方式实现,输出的指标为菌落扩散的直径及其 swimming 现象,其中菌群的游动如图 8 所示。

使用 Image J 测量其菌落扩散的直径,结果如图 9 所示。

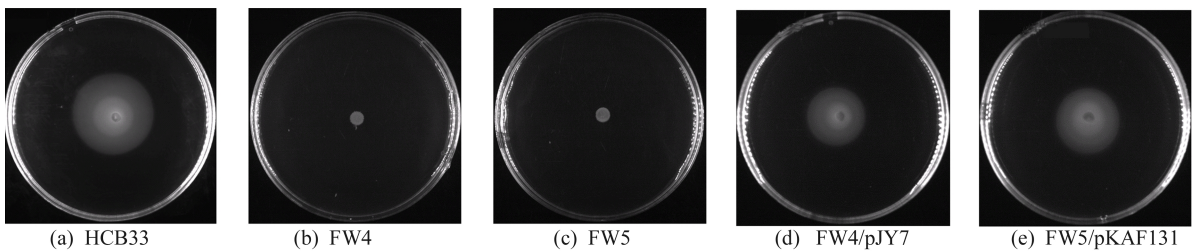


图 8 不同大肠杆菌菌株的菌群游动

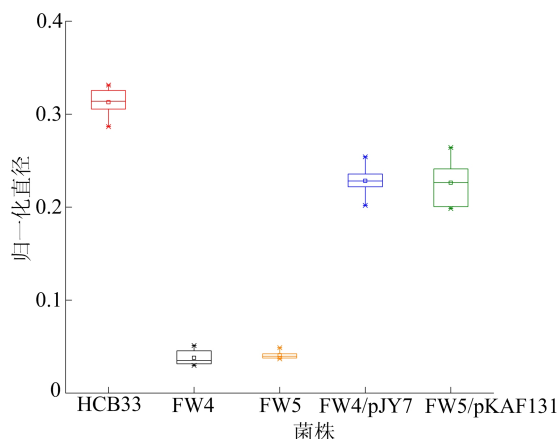


图 9 不同大肠杆菌菌株的菌落扩散直径

从图 8、图 9 可以看出,运动野生型大肠杆菌菌株 HCB33 的菌落扩散直径最大,说明其菌群具有良好的运动活性,而突变型菌株 FW4 和 FW5 则缺失了在软琼脂平板上扩散的能力。这种能力的缺失可以由质粒回补基因来弥补,但弥补后其扩散能力依然低于野生型菌株 HCB33。大肠杆菌菌群 swimming 实验结果与前文一致,再次说明了 *motB* 基因和 *fliC* 基因在大肠杆菌运动中发挥重要作用。

3 结 论

大肠杆菌可以通过倒钩联杆将鞭毛马达的旋转传递给鞭毛,再通过鞭毛的旋转驱动自身的运动。在这个过程中,需要许多马达蛋白与鞭毛蛋白的协同作用,因此编码这些蛋白的基因对于大肠杆菌运动的作用至关重要。本文通过 CRISPR-Cas9 基因编辑技术定向改造运动野生型大肠杆菌构建突变型菌株,比较它们在分子、个体和群落水平上的运动行为,探索其蕴含的科学规律。

与其他类型马达相似,大肠杆菌鞭毛马达的核心部分也是定子和转子。由定子提供动力驱动转子的转动使马达转动,从而为自身运动提供动力。定子的组成部分是 *motA* 蛋白和 *motB* 蛋白,跨膜质子会流过 *motA* 蛋白和 *motB* 蛋白组成的质子通道形成质子驱动力 (proton motive force, PMF),这是马达的动力来源,也是大肠杆菌的动力来源,因此编码 *motB* 蛋白的 *motB* 基因在大肠杆菌运动中发挥了不可替代的作用。而大肠杆菌的鞭毛主要是由 *fliC* 蛋白构成的,编码 *fliC* 蛋白的 *fliC* 基因在大肠杆菌运动中的作用也是至关重要的^[3,12-13]。

研究发现,失去了鞭毛基因 *fliC* 的大肠杆菌菌株 FW5 无法运动,缺失了 *motB* 基因的菌株

FW4 的鞭毛马达无法转动产生力矩。进一步研究表明,缺失了 *motB* 和 *fliC* 基因的突变型大肠杆菌菌株 FW4 与 FW5 同运动野生型菌株 HCB33 相比,失去了个体运动的能力,在液体环境中无法自由游动,并且失去了群集运动和贴壁运动的能力,因此细菌在液体环境中呈随机均匀分布,无法在软琼脂盘上实现扩散。上述结果表明马达基因 *motB* 和鞭毛基因 *fliC* 在大肠杆菌运动中发挥重要作用。

大肠杆菌的运动性对于其自身起着重要作用,决定了大肠杆菌能否寻找营养物质并躲避有害环境,大大提高了其探索环境的能力。而对于致病性大肠杆菌来说,其运动性又与其粘附和形成生物膜有着不可分割的联系^[14-16]。研究发现,构建的基因缺陷型大肠杆菌菌株 FW4 和 FW5 失去了运动能力,主要表现为马达不可旋转、个体无法游动和群落无法扩散,运动能力的缺失对于大肠杆菌来说可能是致命的。因此,本文结果有助于更好地理解大肠杆菌的运动行为,为避免致病菌的感染和细菌感染的治疗提供了全新的思路。

[参 考 文 献]

- [1] AFANZAR O, PAOLO D D, EISENSTEIN M, et al. The switching mechanism of the bacterial rotary motor combines tight regulation with inherent flexibility [J]. EMBO J, 2021, 40: e104683.
- [2] COLIN R, NI B, LAGANENKA L, et al. Multiple functions of flagellar motility and chemotaxis in bacterial physiology [J]. FEMS Microbiology Reviews, 2021, 45: 1556-1563.
- [3] LELE P P, HOSU B G, BERG H C. Dynamics of mechanosensing in the bacterial flagellar motor [J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2013, 110: 11839-11844.
- [4] SANTIVERI M, ROA-EGUIARA A, KÜHNE C, et al. Structure and function of stator units of the bacterial flagellar motor [J]. Cell, 2020, 183: 244-257.
- [5] SI T Y, YUAN J H, WU Y L, et al. Physical biology of bacterial motility [J]. Acta Physica Sinica, 2016, 65: 12241-12253.
- [6] SOWA Y, BERRY R M. Bacterial flagellar motor [J]. Quarterly Reviews of Biophysics, 2008, 41: 103-132.
- [7] BOYD A, SIMON M. Bacterial chemotaxis [J]. Annual Review of Physiology, 1982, 44: 501-517.
- [8] WANG F Y, DENG L, HUANG F F, et al. Flagellar motility is critical for *Salmonella enterica* serovar typhimurium biofilm development [J]. Frontiers in Microbiology, 2020, 11: 1695.
- [9] WONGNG J, CELANI A, VERGASSOLA M. Exploring the function of bacterial chemotaxis [J]. Current Opinion in Microbiology, 2018, 45: 16-21.

升^[17],该研究在培养 BMMC 时,SCF 于第 0 周开始加入,而本研究是在第 2 周加入 SCF。这些研究结果的差异性进一步说明了 SCF 的诱导时间和质量浓度会影响 BMMC 的蛋白酶表达和发育分化进程。该结论为体外研究肥大细胞活性和生理功能提供了新的依据。

[参 考 文 献]

- [1] MARSHALL J S. Mast-cell responses to pathogens[J]. Nature Review Immunology, 2004, 4(10): 787-799.
- [2] RIBATTI D. The mast cell[M]. Switzerland: Springer Nature, 2019: 8-12.
- [3] 谢天发,刘长安,刘健. HPLC-MS/MS 检测小鼠脑部组胺和 5-羟色胺[J]. 合肥工业大学学报(自然科学版), 2018, 41(1): 124-128.
- [4] KRISTEL-WHITEMORE M, DILEEPAN K N, WOOD J G. Mast cell; a multi-functional master cell[J]. Frontiers in Immunology, 2016, 6: 620-635.
- [5] DAHLIN J S, HALLGREN J. Mast cell progenitors: origin, development and migration to tissues[J]. Molecular Immunology, 2015, 63(1): 9-17.
- [6] FROSSI B, MION F, SIBILANO R, et al. Is it time for a new classification of mast cells? What do we know about mast cell heterogeneity? [J]. Immunological Reviews, 2018, 282(1): 35-46.
- [7] GIBSON S, MILLER H R. Mast cell subsets in the rat distinguished immunohistochemically by their content of serine proteinases[J]. Immunology, 1986, 58(1): 101-105.
- [8] DA SILVA E Z, JAMUR M C, OLIVER C. Mast cell function: a new vision of an old cell[J]. Journal of Histochemistry & Cytochemistry, 2014, 62(10): 698-738.
- [9] 张磊,刘健. 利用 FACS 定量研究脂肪组织中肥大细胞的数目[J]. 合肥工业大学学报(自然科学版), 2017, 40(10): 1416-1419.
- [10] GENTEK R, GHIGO C, HOEFFEL G, et al. Hemogenic endothelial fate mapping reveals dual developmental origin of mast cells[J]. Immunity, 2018, 48(6): 1160-1171.
- [11] EKLUND K K, GHILDYAL N, AUSTEN K F, et al. Induction by IL-9 and suppression by IL-3 and IL-4 of the levels of chromosome 14-derived transcripts that encode late-expressed mouse mast cell proteases[J]. Journal of Immunology, 1993, 151: 4266-4267.
- [12] BENEDE S, CODY E, AGASHE C, et al. Immune characterization of bone marrow-derived models of mucosal and connective tissue mast cells[J]. Allergy Asthma & Immunology Research, 2018, 10(3): 268-277.
- [13] FEYERABEND T B, HAUSSER H, TIETZ A, et al. Loss of histochemical identity in mast cells lacking carboxypeptidase A [J]. Molecular and Cellular Biology, 2005, 25: 6199-6210.
- [14] COLLINGTON S J, WILLIAMS T J, WELLER C L. Mechanisms underlying the localisation of mast cells in tissues[J]. Trends in Immunology, 2011, 32: 478-485.
- [15] HAIG D M, HUNTLEY J F, MACKELLAR A, et al. Effects of stem cell factor (kit-ligand) and interleukin-3 on the growth and serine proteinase expression of rat bone-marrow-derived or serosal mast cells [J]. Blood, 1994, 83(1): 72-83.
- [16] GURISH M F, GHILDYAL N, MCNEIL H P, et al. Differential expression of secretory granule proteases in mouse mast cells exposed to interleukin 3 and c-kit ligand [J]. Journal of Experimental Medicine, 1992, 175(4): 1003-1012.
- [17] XIANG Y, EYERS F, YOUNG I G, et al. Identification of microRNAs regulating the developmental pathways of bone marrow derived mast cells [J]. PLoS ONE, 2014, 9(5): 139-156.
- [10] CHEN M, MAO A, XU M, et al. CRISPR-Cas9 for cancer therapy: opportunities and challenges[J]. Cancer Letters, 2019, 447: 48-55.
- [11] GUPTA D, BHATTACHARJEE O, MANDAL D, et al. CRISPR/Cas9 system; a new-fangled dawn in gene editing [J]. Life Sciences, 2019, 232: 116636.
- [12] 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.
- [13] WADHWA N, BERG H C. Bacterial motility: machinery and mechanisms[J]. Nature Reviews Microbiology, 2022, 20: 161-173.
- [14] BIQUET-BISQUERT A, LABESSE G, PEDACI F, et al. The dynamic ion motive force powering the bacterial flagellar motor [J]. Frontiers in Microbiology, 2021, 12: 659464.
- [15] TAKEKAWA N, IMADA K, HOMMA M. Structure and energy-conversion mechanism of the bacterial Na(+)-driven flagellar motor[J]. Trends in Microbiology, 2020, 28: 719-731.
- [16] WADHWA N, TU Y, BERG H C. Mechanosensitive remodeling of the bacterial flagellar motor is independent of direction of rotation[J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2021, 118: 12506-12511.

(责任编辑 闫杏丽)

(责任编辑 闫杏丽)

(上接第 944 页)