

乳杆菌属天然质粒基因组学研究

孙大庆 宋大巍 李洪飞 著



中国轻工业出版社

图书在版编目 (CIP) 数据

乳杆菌属天然质粒基因组学研究/孙大庆, 宋大巍,
李洪飞著. —北京: 中国轻工业出版社, 2018. 8
ISBN 978 - 7 - 5184 - 2046 - 9

I. ①乳… II. ①孙… III. ①乳杆菌属—质粒—
基因组—研究 IV. ①Q939.123

中国版本图书馆 CIP 数据核字 (2018) 第 166166 号

策划编辑: 江 娟 责任编辑: 车向前 责任终审: 张乃柬
封面设计: 锋尚设计 版式设计: 王超男 责任监印: 张 可

出版发行: 中国轻工业出版社 (北京东长安街 6 号, 邮编: 100740)

印 刷: 北京建宏印刷有限公司

经 销: 各地新华书店

版 次: 2018 年 8 月第 1 版第 1 次印刷

开 本: 720 × 1000 1/16 印张: 14.5

字 数: 300 千字 插页: 6

书 号: ISBN 978-7-5184-2046-9 定价: 80.00 元

邮购电话: 010 - 65241695

发行电话: 010 - 85119835 传真: 85113293

网 址: <http://www.chlip.com.cn>

Email: club@chlip.com.cn

如发现图书残缺请与我社邮购联系调换

180605K1X101HBW

序 言

乳杆菌属是乳酸菌中物种数量最多、遗传多样性最丰富的菌群。至今，乳杆菌已广泛应用于食品、药品、饲料、日化用品等众多工业领域。作为酸奶生产发酵剂的德氏乳杆菌全球每年可以创造超过 1000 亿美元的产值。可想而知，如果算上乳杆菌作为发酵剂生产的所有产品，那么全球每年乳杆菌创造的产值将是非常巨大和惊人的。因此乳杆菌因其自身蕴含的巨大经济价值而受到社会的广泛关注。乳杆菌属受到人们重视的另一个原因是越来越多的研究发现，乳杆菌属多个物种是人和动物体内的共生菌，并且这些共生菌与人体和动物的疾病及健康息息相关。因此，虽然乳杆菌从发现到今天已有 200 多年的研究历史，但至今每年仍有多个新的物种被发现和鉴定，有关乳杆菌的研究仍在不断增加。上述这些实例都说明一个事实，乳杆菌属对我们人类非常重要。

细菌天然质粒很早以前就在大肠杆菌中被发现，至今已有近百年的研究历史。目前，大肠杆菌质粒载体已广泛应用于生命科学领域的方方面面，每年仅大肠杆菌天然质粒 ColE1 衍生的载体在全球的销售量已经超过 100 亿美元，大肠杆菌质粒载体也已经非常丰富和完善。然而，与大肠杆菌质粒研究相比，至今人们对乳杆菌属天然质粒的了解和认知远远不足，可用于乳杆菌生物技术研究 and 应用的质粒载体相当有限，并且商业化的实例更加罕见，因此乳杆菌属质粒载体研究亟待加强和改善。实际上，乳杆菌质粒载体的匮乏仅仅是乳杆菌属天然质粒研究不足的一个方面，目前对于乳杆菌属天然质粒复制、拷贝数调控、分配、维持、分类和遗传进化等多种生物学特征知之甚少或模糊不清，多个生物学研究方向的进展都相当有限，究其原因，DNA 测序技术可能是以往制约乳杆菌天然质粒研究的关键因素之一。

2010 年以后，随着第二代高通量测序技术的发展和成熟，乳杆菌属天然质粒基因组序列测定的速度不断攀升。根据 NCBI 的 Genome 数据库公开数据显示，2014 年末乳杆菌属天然质粒基因组序列达到 100 余个，而 2017 年 8 月已达到 473 个。质粒基因组数据的快速增加和积累，为以往乳杆菌属天然质粒研究扫清了障碍，大大拓展了人们对乳杆菌属天然质粒基因组基本特征的认知和了解，也使得基于大量基因组序列数据进行的乳杆菌质粒多学科和深层次研究成为可能。经过短短两三年的发展，乳杆菌属天然质粒研究已从单个基因、小质粒和不完整基因组研究进入了后基因组学时代。在后基因组学时代，乳杆菌质粒基因组序列的测定将不再是研究的瓶颈，基于大量基因组序列数据，解析和揭示乳杆菌属天然质粒及其宿主的生物学作用、机制和规律将变得更加重要和更有

意义。

本书分为三篇十二章。具体内容如下：第一篇绪论简要介绍了质粒基本概念以及乳杆菌属天然质粒基因组学研究现状、研究数据、方法和意义；第二篇乳杆菌属代表性物种天然质粒研究，分别介绍了植物乳杆菌、短乳杆菌、德氏乳杆菌、干酪乳杆菌和副干酪乳杆菌、唾液乳杆菌天然质粒的基因组特征、分类、进化和起源，从物种水平揭示了乳杆菌属6个代表性物种天然质粒的独有和共性特征；第三篇乳杆菌属天然质粒研究，从分类学“属”水平，全面、系统地阐述了乳杆菌属天然质粒的基因组特征、复制类型和复制子特征、功能、系统分类、进化和起源，这些研究结果不仅拓展和加深了人们对于乳杆菌属天然质粒的理论认知，并且为今后乳杆菌属天然质粒的实际应用提供了坚实的研究基础和科学依据。

本书具体撰写分工如下：黑龙江八一农垦大学孙大庆撰写第三章、第五章、第八章、第十一章的第二节和第三节；黑龙江八一农垦大学宋大巍撰写第一章、第九章、第十一章的第一节和附录；黑龙江八一农垦大学李洪飞撰写第二章、第四章、第六章、第七章、第十章和第十二章。此外，在研究和撰写过程中得到了杨健、李芬等多位老师和研究生的大力帮助，在此表示衷心的感谢。对家人的默默付出，由衷地表示感谢。

本书由黑龙江省青年科学基金项目（QC2014C020）、黑龙江八一农垦大学校内培育课题资助计划项目（XZR2016-15）、黑龙江八一农垦大学学术专著论文基金项目资助。

受作者学识、水平所限，书中的研究方法、结果和观点不可避免会存在一些问题和不足，衷心希望读者给予批评、指正。

孙大庆
2018年6月

目 录

第一篇 绪 论

第一章 乳杆菌属天然质粒概述	2
第一节 质粒基本概念	2
第二节 乳杆菌属天然质粒基因组学研究现状	3
参考文献	4
第二章 乳杆菌属天然质粒的数据来源、研究目的和意义	7
第一节 研究范围和数据来源	7
第二节 研究方法	7
第三节 研究目的和意义	8
参考文献	9

第二篇 乳杆菌属代表性物种天然质粒研究

第三章 植物乳杆菌天然质粒	12
第一节 植物乳杆菌质粒基因组特征	12
第二节 植物乳杆菌质粒分类	14
第三节 植物乳杆菌质粒系统进化和起源	24
第四节 结论	41
参考文献	42
第四章 短乳杆菌天然质粒	46
第一节 短乳杆菌质粒基因组特征	46
第二节 短乳杆菌质粒分类	47
第三节 短乳杆菌质粒系统进化和起源	55
第四节 结论	62
参考文献	62

第五章 德氏乳杆菌天然质粒	66
第一节 德氏乳杆菌质粒基因组特征	66
第二节 德氏乳杆菌质粒分类、系统进化和起源	67
第三节 结论	72
参考文献	72
第六章 干酪乳杆菌和副干酪乳杆菌天然质粒	74
第一节 干酪乳杆菌和副干酪乳杆菌质粒基因组特征	74
第二节 干酪乳杆菌和副干酪乳杆菌质粒分类、系统进化和起源	75
第三节 结论	88
参考文献	89
第七章 唾液乳杆菌天然质粒	91
第一节 唾液乳杆菌质粒基因组特征	91
第二节 唾液乳杆菌质粒分类、系统进化和起源	92
第三节 结论	101
参考文献	101

第三篇 乳杆菌属天然质粒研究

第八章 乳杆菌属天然质粒结构、分布和基本特征	104
第一节 乳杆菌属天然质粒基因组结构和组成	104
第二节 乳杆菌属天然质粒分布	106
第三节 乳杆菌属天然质粒基因组基本特征	108
参考文献	110
第九章 乳杆菌属天然质粒复制类型和复制子特征	113
第一节 乳杆菌属天然质粒复制类型	113
第二节 乳杆菌属天然质粒复制子特征	114
第三节 结论	118
参考文献	118
第十章 乳杆菌属天然质粒功能	120
第一节 稀有糖代谢	122
第二节 抗生素抗性	123

第三节	细菌素合成	124
第四节	胞外多糖合成	125
第五节	其他功能	125
参考文献	126
第十一章	乳杆菌属天然质粒系统分类和进化关系	129
第一节	乳杆菌属编码 Rep 蛋白质粒的分类	129
第二节	乳杆菌属天然质粒系统分类和进化关系	180
第三节	结论	203
参考文献	204
第十二章	乳杆菌属天然质粒祖先和起源	209
第一节	基于基因组 GC 含量的祖先和起源	209
第二节	基于同源性质粒和宿主范围的祖先和起源	211
第三节	结论	215
参考文献	216
附录一	乳杆菌属天然质粒基因组序列数据信息	217
附录二	本书专业名词中英文对照表	225

第一篇

绪 论

第一章 乳杆菌属天然质粒概述

第一节 质粒基本概念

为了便于读者快速、准确地理解书中有关质粒的基本概念，下面对研究中涉及的质粒常用相关概念进行简单介绍。

1. 质粒 (plasmid)

质粒是指除染色体外可以进行自我复制的遗传分子。本书中的质粒特指除染色体外可以进行自我复制的环形双链 DNA 分子。

2. 复制子 (replicon)

DNA 分子中可以进行独立复制的单位称为复制子，负责质粒复制、拷贝数调控、分配、维持等基本生存功能。质粒复制子通常由复制、拷贝数调控、分配、维持基因和控制元件组成。

3. 最小复制子 (minimum replicon)

最小复制子是指 DNA 分子中可以进行独立复制的最小单位，仅负责质粒的复制功能。质粒最小复制子通常由复制起点、复制起始基因和控制元件组成。

4. 复制起点 (origin of replication, ori)

复制起点是指质粒 DNA 进行复制的起始位点区域。

5. 滚环复制 (rolling - circle replication, RCR)

滚环复制是质粒一种常见的复制方式。滚环复制质粒在复制过程中，质粒双链 DNA 的前导链在双链复制起点被质粒编码的复制起始蛋白切开，然后 DNA 聚合酶以后随链为模板，从游离的 3' - OH 端开始合成子代前导链，随着 5' 端不断从环上向下解链，3' - OH 端新合成的前导链环绕着质粒轴心不断向前延伸，因此这种复制方式称为滚环复制。随着复制的不断进行，质粒亲代前导链单链长度不断增加，从而形成了滚环复制特有的单链中间体分子。质粒子代后随链的合成与染色体 DNA 滞后链的合成过程一致。滚环复制中，前导链合成先于后随链合成。

6. θ 复制 (theta replication)

θ 复制是质粒一种常见的复制方式,它与细菌染色体 DNA 复制方式相似。 θ 复制质粒在复制过程中,质粒复制起始蛋白在复制起点解旋 DNA 双链,之后在宿主复制酶系的参与下同时进行 DNA 双链的合成,复制过程中由于可以形成希腊字母 θ 形状的中间体分子,因此这种复制方式称为 θ 复制。根据 DNA 双链复制延伸的方式不同, θ 复制质粒可以分为单向复制和双向复制两种类型。

7. 重复子 (iteron)

重复子是指质粒复制起点中具有复制调控功能的重复序列,是质粒拷贝数调控重要的靶目标之一。常见的重复序列有正向重复、反向重复和回文重复。

8. 基因组共线性 (genome colinearity)

基因组共线性是指基因组中同源性基因排列顺序的保守性和一致性。

9. 复合质粒 (complex plasmid)

复合质粒是指含有两个或两个以上复制子的质粒。

10. 双链复制起点 (double strand origin, dso)

双链复制起点是指 RCR 质粒前导链复制的起始位点区域。

11. 单链复制起点 (single strand origin, sso)

单链复制起点是指 RCR 质粒后随链复制的起始位点区域。

12. 复制起始蛋白 (replication initiation protein, Rep)

复制起始蛋白是指由质粒编码的、可以与质粒复制起点特异性结合,并引起质粒复制起点双链 DNA 解螺旋的核酸酶。

13. 插入序列 (insertion sequence, IS)

插入序列是最简单的转座元件,可以通过两端的重复序列促使两个不同的 DNA 分子发生重组。插入序列是质粒基因组最常见的组成成分之一。

第二节 乳杆菌属天然质粒基因组学研究现状

过去由于一代测序技术的限制,质粒基因组学研究只限于小质粒和个别大质粒的部分区域,质粒基因组学研究进展相当缓慢。近 10 年来,随着二代高通量测序技术的快速发展和成熟,越来越多的乳杆菌属天然质粒基因组序列被测定和注释,尤其是以往较少发现的低拷贝大型和巨型质粒。截至 2017 年 8 月,NCBI 的 RefSeq 和 Genome 数据库分别收录 505 个和 473 个乳杆菌属质粒基因组序列,乳杆菌属质粒基因组序列远超肠球菌属 (276 个)、乳球菌属 (173 个)、链球菌属 (68 个) 等其他乳酸菌,因此乳杆菌属已成为乳酸菌中天然质粒资源最丰富的菌属,这些丰富的质粒基因组数据为乳杆菌属天然质粒基因组学研究

提供了良好的数据来源和研究基础,也为乳酸菌天然质粒研究提供了理想的研究对象。

以往研究发现,天然质粒在宿主细胞生长、发育、遗传和进化过程中可能扮演着特殊且重要的角色。但过去由于 DNA 测序技术的限制,乳杆菌质粒研究多集中于质粒载体构建和少数功能基因,而在基因组水平上对乳杆菌“种”或乳杆菌“属”质粒群体进行基因组学研究的报道十分匮乏,进而造成对于乳杆菌属天然质粒基因组大小、结构、复制、调控等基本特征的认知模糊不清,基于质粒基因组的比较基因组学、系统分类学、遗传进化和生态学等研究只能在非常有限的范围内进行。近年来,随着 DNA 测序技术的进步,乳杆菌属质粒基因组数据爆发式增长。2014 年末,NCBI 的 Genome 数据库中乳杆菌属天然质粒基因组序列只有 100 余个,但到 2017 年 8 月已增长至 473 个,期间有关乳杆菌天然质粒完整基因组测定及分析的文献报道也逐渐增多,乳杆菌属天然质粒研究已经进入快速发展的基因组学时代。

乳杆菌属天然质粒基因组序列数据的快速增加和不断积累,大大拓展了人们对乳杆菌属天然质粒基因组基本特征的认知和了解,这也使得基于大量基因组序列数据的与乳杆菌属质粒相关的多学科和深层次的研究成为可能。近几年,关于乳杆菌天然质粒的复制、调控、分配和维持机制研究有了新的发现,关于质粒比较基因组学、质粒与宿主表型的互作、宿主细胞中多质粒系统的复制和不相容性以及质粒检测和维持新方法研究都有了新的突破和发展。本课题组在乳杆菌属天然质粒群体系统分类、进化和起源研究中做了大量分析和探索性研究工作,取得了一些可喜的成果,上述这些研究有力地促进了乳杆菌属天然质粒基因组学研究和发展的,也有力地推动了与乳杆菌相关的食品、饲料、医药、卫生等众多领域的研究和应用,因此,乳杆菌天然质粒基因组学的深入研究和发展的将人类科学饮食和健康维护做出新的贡献。

参考文献

- [1] 孙大庆,李洪飞,宋大巍,等. 乳杆菌属天然质粒研究进展 [J]. 食品科学, 2015 (11): 251-255.
- [2] 孙大庆,李洪飞,杨健. 植物乳杆菌编码复制起始蛋白天然质粒的系统进化分析 [J]. 微生物学通报, 2017, 44 (5): 1047-1055.
- [3] 孙大庆,李洪飞,宋大巍,等. 植物乳杆菌天然质粒分类 [J]. 食品科学, 2017, 38 (12): 69-74.
- [4] 孙大庆,李洪飞,杨健,等. 植物乳杆菌天然质粒系统进化和起源 [J]. 微生物学报, 2017, 57 (12): 1908-1923.
- [5] 胡彤,吕晓萌,俞婷,等. 乳酸菌质粒的研究进展 [J]. 中国乳品工业, 2014, 42 (6): 26-29.

- [6] 杨四佳, 王颖, 李宇婷, 等. 泡菜中乳杆菌的快速检出和乳杆菌质粒资源的初步调查 [J]. 食品与生物技术学报, 2013, 32 (6): 639 - 644.
- [7] BERGSVEINSON J, BAECKER N, PITTET V, et al. Role of plasmids in *Lactobacillus brevis* BSO 464 hop tolerance and beer spoilage [J]. Applied and Environmental Microbiology, 2015, 81 (4): 1234 - 1241.
- [8] BERGSVEINSON J, ZIOLA B. Comparative genomic and plasmid analysis of beer - spoiling and non - beer - spoiling *Lactobacillus brevis* isolates [J]. Canadian Journal of Microbiology, 2017, 63 (12): 970 - 983.
- [9] FANG F, FLYNN S, LI Y, et al. Characterization of endogenous plasmids from *Lactobacillus salivarius* UCC118 [J]. Applied and Environmental Microbiology, 2008, 74 (10): 3216 - 3228.
- [10] FAN J, XI X, HUANG Y, et al. Isolation of a minireplicon of the plasmid pG6303 of *Lactobacillus plantarum* G63 and characterization of the plasmid - encoded Rep replication protein [J]. Journal of Genetics, 2015, 94 (2): 177 - 186.
- [11] FOLLI C, LEVANTE A, PERCUDANI R, et al. Toward the identification of a type I toxin - antitoxin system in the plasmid DNA of dairy *Lactobacillus rhamnosus* [J]. Scientific Reports, 2017, 7 (1): 12051.
- [12] KARIMI S, AHL D, VÅGESJÖ E, et al. In vivo and in vitro detection of luminescent and fluorescent *Lactobacillus reuteri* and application of red fluorescent mCherry for assessing plasmid persistence [J]. Plos One, 2016, 11 (3): e0151969.
- [13] LEHRI B, SEDDON A M, KARLYSHEV A V. *Lactobacillus fermentum* 3872 genome sequencing reveals plasmid and chromosomal genes potentially involved in a probiotic activity [J]. Fems Microbiology Letters, 2015, 362 (11): fnv068.
- [14] LI Y, CANCHAYA C, FANG F, et al. Distribution of megaplasmids in *Lactobacillus salivarius* and other lactobacilli [J]. Journal of Bacteriology, 2007, 189 (17): 6128 - 6139.
- [15] NÁCHERVÁZQUEZ M, RUIZMASÓ J A, MOHEDANO M L, et al. Dextranucrase expression is concomitant with that of replication and maintenance functions of the pMN1 plasmid in *Lactobacillus sakei* MN1 [J]. Frontiers in Microbiology, 2017, 8 (8): 2281.
- [16] PARK J Y, JEONG S J, SA H D, et al. Construction of a shuttle vector based on the small cryptic plasmid pJY33 from *Weissella cibaria* 33 [J]. Plasmid, 2015, 79: 30 - 36.
- [17] POUWELS P H, LEER R J. Genetics of lactobacilli: Plasmids and gene expression [J]. Antonie Van Leeuwenhoek, 1993, 64 (2): 85 - 107.
- [18] RUSSO P, ITURRIA I, MOHEDANO M L, et al. Zebrafish gut colonization by mCherry - labelled lactic acid bacteria [J]. Applied Microbiology & Biotechnology, 2015, 99 (8): 3479 - 3490.
- [19] TAMARA A P, ANNA K B, MARCIN G, et al. Genomic and functional characterization of the unusual pLOCK 0919 plasmid harboring the spaCBA Pili cluster in *Lactobacillus casei* LOCK 0919 [J]. Genome Biology & Evolution, 2016, 8 (1): 202 - 217.
- [20] WADA T, NODA M, KASHIWABARA F, et al. Characterization of four plasmids harboured in a *Lactobacillus brevis* strain encoding a novel bacteriocin, brevicin 925A, and construction of

a shuttle vector for lactic acid bacteria and *Escherichia coli* [J]. *Microbiology*, 2009, 155 (5): 1726 - 1737.

[21] WANG T T, LEE B H. Plasmids in *Lactobacillus* [J]. *Critical Reviews in Biotechnology*, 1997, 17 (3): 227 - 272.

[22] XUE D, NA R, GUO J F, et al.. Study on the construction of recombined plasmid pMG36e-lacc1 and the electroporation of *Lactobacillus buchneri* [J]. *Bio - medical Materials and Engineering*, 2014, 24 (6): 3855 - 3861.

第二章 乳杆菌属天然质粒的数据来源、研究目的和意义

第一节 研究范围和数据来源

本书介绍的主要研究内容为课题组近年来针对乳杆菌属天然质粒研究取得的一些研究成果，分析数据主要基于乳杆菌属天然质粒基因组序列，数据主要来源于美国国家生物信息中心（National Center for Biotechnology Information, NCBI）的 Genome 数据库中 2017 年 8 月 16 日以前公开的所有 473 个乳杆菌属质粒基因组序列，其他质粒基因组序列来自 NCBI 的 GenBank 数据库和已公开发表的文献。本书内容涉及的乳杆菌属天然质粒基因组序列数据来源具体信息如附录一所示。

第二节 研究方法

为了介绍乳杆菌属天然质粒研究内容的完整性，以及满足专业读者的需求，下面简要介绍一下研究过程中使用的方法和基本参数。

1. 质粒基因组序列的收集、整理和初步分析

筛查 Genome 数据库中所有乳杆菌属收录的质粒基因组序列完整性和质粒 Rep 蛋白编码情况。对基因组完整质粒进行数据下载，利用 DNASTAR（版本 7.1.0）EditSeq 软件对下载序列进行编辑、整理和格式转换。在 NCBI 蛋白质序列非冗余（Non-redundant protein sequences, Nr）数据库，利用 BLAST 在线软件对注释和研究推定的 Rep 蛋白进行同源序列比对分析，鉴定其保守结构域，并初步确定其所属的蛋白家族。

2. 核苷酸、氨基酸多序列同源性比对和重复序列分析

利用 MEGA（版本 6.0）软件中 Muscle 法进行核苷酸和氨基酸多序列比对

分析, 确定比对序列保守性和一致性特征, 比对参数为默认设置。

利用 DNASTAR (版本 7.1.0) GeneQuest 软件进行质粒基因组重复序列分析, 重复序列分析时最小序列长度设置为 8bp, 间距设置为 100 ~ 300bp 不等。

3. 质粒 Rep 蛋白系统进化树构建

利用 MEGA (版本 6.0) 软件系统进化树模块中 Neighbor - Joining 算法构建质粒 Rep 蛋白系统进化树。进化树检验采用 Bootstrap 法, 自展值设定为 1000。碱基替代模型采用 Poisson model 法。Gaps/Missing 采用 Pairwise deletion 法处理。质粒 Rep 蛋白系统进化树可视化和注释同样采用 MEGA (版本 6.0) 软件进行。

4. 质粒基因组共线性分析

质粒基因组共线性分析和可视化利用 Mauve (版本 2.4.0) 软件进行, 分析参数采用默认设置。可视化结果中质粒按照家族、类群和大小原则进行排序。

5. 质粒家族同源性宿主范围分析

利用每个质粒家族共有靶序列和 BLAST 在线软件进行同源序列比对分析, 分析参数采用默认设置。对所有检索得到的同源序列及其宿主进行统计和分析。

第三节 研究目的和意义

以往研究发现, 天然质粒在宿主细胞生理、遗传、进化和生态演变过程中扮演着十分广泛且重要的角色。近年来, 随着 DNA 测序技术飞速发展, 乳杆菌属天然质粒基因组序列数据快速增加, 这为乳杆菌属天然质粒基因组学研究提供了良好的数据来源和研究基础, 也为乳杆菌深层次研究和应用提供了新的契机和可能。但目前乳杆菌属天然质粒基因组学研究报道相当匮乏, 相关专业人员关注不足, 这一现状严重制约了乳杆菌天然质粒及其宿主乳杆菌的深入研究和广泛应用。为此, 本课题组近年来一直专注于乳杆菌属天然质粒资源的收集、挖掘、研究和应用。本书对课题组近年乳杆菌属天然质粒基因组学研究成果进行了汇总和整理。基于质粒 Rep 蛋白、复制子和基因组序列数据, 利用多种比较基因组学和生物信息学软件, 我们对乳杆菌属天然质粒复制、功能、分类、进化和起源等生物学特征进行了全面的分析和研究, 研究结果为今后乳杆菌属天然质粒复制、功能、分类、进化和起源研究提供了坚实的研究基础和科学依据, 进而为乳杆菌天然质粒及其乳杆菌宿主在食品、饲料、医药、卫生以及生物技术等众多工业领域的应用提供了广阔的潜力和可能, 因此具有重要的理论研究价值和积极的现实意义。

参考文献

- [1] DARLING A C E, MAU B, BLATTNER F R, et al. Mauve: multiple alignment of conserved genomic sequence with rearrangements [J]. *Genome Research*, 2004, 14 (7): 1394 – 1403.
- [2] HEISS S, HÖRMANN A, TAUER C, et al. Evaluation of novel inducible promoter/repressor systems for recombinant protein expression in *Lactobacillus plantarum* [J]. *Microbial Cell Factories*, 2016, 15 (1): 50 – 66.
- [3] JIMÉNEZ J J, DIEP D B, BORRERO J, et al. Cloning strategies for heterologous expression of the bacteriocin enterocin A by *Lactobacillus sakei* Lb790, *Lb. plantarum* NC8 and *Lb. casei* CECT475 [J]. *Microbial Cell Factories*, 2015, 14 (1): 166 – 176.
- [4] O'DONNELL M M, O'TOOLE P W, ROSS R P. Catabolic flexibility of mammalian – associated lactobacilli [J]. *Microbial Cell Factories*, 2013, 12 (1): 48 – 59.
- [5] POUWELS P H, LEER R J. Genetics of lactobacilli: Plasmids and gene expression [J]. *Antonie Van Leeuwenhoek*, 1993, 64 (2): 85 – 107.
- [6] SHARECK J, CHOI Y, LEE B, et al. Cloning vectors based on cryptic plasmids isolated from lactic acid bacteria: their characteristics and potential applications in biotechnology [J]. *Critical Reviews in Biotechnology*, 2004, 24 (4): 155 – 208.
- [7] TAMURA K, STECHER G, PETERSON D, et al. MEGA6: molecular evolutionary genetics analysis version 6. 0 [J]. *Molecular Biology and Evolution*, 2013, 30 (12): 2725 – 2729.
- [8] VAN PIJKEREN J P. Precision genome engineering in lactic acid bacteria [J]. *Microbial Cell Factories*, 2014, 13 (1): 1 – 10.
- [9] WANG T T, LEE B H. Plasmids in *Lactobacillus* [J]. *Critical Reviews in Biotechnology*, 1997, 17 (3): 227 – 272.
- [10] WEGMANN U, MACKENZIE D A, ZHENG J, et al. The pan – genome of *Lactobacillus reuteri*, strains originating from the pig gastrointestinal tract [J]. *Bmc Genomics*, 2015, 16 (1): 1023 – 1040.