

长双歧杆菌 NCC2705 分泌蛋白的全基因组预测和功能分析

朱德全^{1,2}, 王茗悦¹, 栗金柳¹, 孟祥晨^{2*}, 程广东¹, 岳丽红¹, 王长平¹, 薛勇¹

(1. 佳木斯大学生命科学学院, 黑龙江佳木斯 154007; 2. 东北农业大学乳品科学教育部重点实验室, 黑龙江哈尔滨 150030)

摘要 以长双歧杆菌 NCC2705 基因组序列为研究对象, 使用 SignalP 4.0、LipoP、TMHMM 2.0 软件分析该基因组中的分泌蛋白及其信号肽的类型, 同时采用 COG (Cluster of Orthologous Groups of proteins) 功能数据库对预测的分泌蛋白进行功能注释和聚类分析。结果表明, 长双歧杆菌 NCC2705 中共有 37 个 Sec 途径分泌蛋白, 其中 Sec 途径分泌蛋白包括 27 个被 I 型 (SPase I) 信号肽酶和 10 个 II 型信号肽酶 (SPase II) 识别的蛋白, Sec 途径分泌蛋白信号肽长度最多的有 52 个氨基酸, 最少的有 10 个氨基酸。分泌蛋白的功能分析表明, 该菌株分泌蛋白中含有大部分的假定蛋白, 主要参与氨基酸代谢与转运、碳水化合物代谢转运, 无机盐离子代谢转运, 细胞壁和细胞膜生物合成的功能有关。

关键词 长双歧杆菌; 基因组; 分泌蛋白; 分泌途径; 信号肽

中图分类号 S188 文献标识码 A 文章编号 0517-6611(2016)20-109-03

Genome-wide and Function Analysis of the Secretory Proteins of *Bifidobacterium longum* NCC2705

ZHU De-quan^{1,2}, WANG Ming-yue¹, LI Jin-liu¹, MENG Xiang-chen^{2*} et al (1. College of Life Science, Jiamusi University, Jiamusi, Heilongjiang 154007; 2. Key Laboratory of Dairy Science of Ministry of Education, Northeast Agricultural University, Harbin, Heilongjiang 150030)

Abstract With the genome proteins sequences of *Bifidobacterium longum* FNCC2705 as study objects, SignalP 4.0, LipoP, TMHMM 2.0 software were used to analyze the secretory proteins and types of signal peptide. Function of secretory proteins was also analyzed by COG (Cluster of Orthologous Groups of proteins) database. Results showed a total of 37 secretion proteins through Sec pathway which included 27 secreted proteins recognized by SPase I and 10 secreted proteins recognized by SPase II. Maximum length of their signal peptide is 52 aa and minimum length is 10 aa respectively. The functions of *Bifidobacterium* secretory protein showed there were many hypothetical proteins. Secretory protein with annotation of COG functions were mainly involved in amino acid transport and metabolism, carbohydrate transport and metabolism, inorganic ion transport and metabolism, etc. The functions of these secretory proteins can help bifidobacterium adapt to its host environment.

Key words *Bifidobacterium longum*; Genome; Secreted proteins; Secretion pathways; Signal peptide

双歧杆菌是人和动物肠道最常见的革兰氏阳性有益细菌, 约占人体肠道可培养微生物的 10%。大量研究表明, 双歧杆菌对宿主具有多种益生功能, 可以通过平衡肠道菌群维持机体的整体健康水平。因此, 双歧杆菌属的微生物是应用较多的益生菌之一, 在食品中通常通过添加在乳制品中食用。双歧杆菌的分泌蛋白在介导菌体与宿主细胞黏附定值、与外界环境相互作用方面起着非常重要的作用^[1]。Mac Connail 等^[2]从输出系统鉴定了双歧杆菌的分泌蛋白, Moon GS 利用基于凝胶的蛋白组学方法初步分析了假小链双歧杆菌 (*Bifidobacterium pseudocatanulatum* BP1) 的分泌蛋白^[3], 但这些方法都不能完全鉴定出双歧杆菌的分泌蛋白。随着第 1 株双歧杆菌 NCC2705 全基因组测序的完成, 从基因组层面上部分揭示了该菌在消化道环境的适应特征^[4]。此后, 在全世界范围内掀起了双歧杆菌全基因组测序的浪潮, 截至 2015 年 4 月已有超过 47 株双歧杆菌全基因组完成序列测定并向国际公共数据库 NCBI 递交了全基因组序列。因此, 使得利用基因组学数据进行功能基因组学分析得以实施, 如分泌蛋白的基因组预测和分析。

目前, 关于基因组分泌蛋白分析的研究报道主要集中在病原菌方面^[5-7]。周晓罡等^[6]对马铃薯晚疫病菌全基因组

分泌蛋白进行了初步分析。笔者以长双歧杆菌亚种 NCC2705 全基因组序列为研究对象, 使用 SignalP 4.0、LipoP、TMHMM 2.0 软件分析该基因组中的分泌蛋白和分泌信号肽的类型, 同时采用 COG 数据库对预测的分泌蛋白进行功能注释和聚类分析。

1 材料与方法

1.1 材料 以美国国立生物技术信息中心 (NCBI) 网站 GenBank 数据库公布的长双歧杆菌 NCC2705 的基因组序列的编码蛋白质为研究对象, GenBank 数据库中的登录号为 NC_004307.2。

1.2 方法

1.2.1 Sec 途径分泌蛋白的筛选。 Sec 途径分泌蛋白包括具有 SPase I 肽酶识别和 SPase II 肽酶识别的分泌蛋白。使用 SignalP 4.0 软件 (<http://www.cbs.dtu.dk/services/SignalP>) 对长双歧杆菌 NCC2705 基因组蛋白进行初筛, 若 $S_{prob} > 0.8$ 或 $S_{mean} > 0.6$ 则初步认为具有信号肽, 使用 TMHMM 2.0 软件 (<http://genome.cbs.dtu.dk/services/TMHMM/>) 对含有信号肽的序列进行分析, 分析是否具有跨膜螺旋, 对于没有跨膜螺旋或只有 1 个跨膜螺旋的蛋白进行进一步分析。使用 LipoP1.0 软件 (<http://www.cbs.dtu.dk/services/LipoP/>) 分析是否可以被 SPase I 型信号肽酶和 II 型信号肽酶识别, 其中不能被 I 型信号肽酶识别但可以被 II 型信号肽酶识别的蛋白则被归类为 SPase II 肽酶识别的分泌蛋白^[8]。

1.2.2 Sec 途径分泌蛋白信号肽的分析。 统计 SPase I 和 SPase II 肽酶信号肽, 分析它们的序列特征。

1.2.3 分泌蛋白的功能注释和聚类分析。 使用 COG

基金项目 佳木斯大学科研项目 (S2011-049); 黑龙江省卫生计生委科研项目 (2016-325)。

作者简介 朱德全 (1980-), 男, 贵州遵义人, 讲师, 博士, 从事微生物生物技术研究。* 通讯作者, 教授, 博士生导师, 从事微生物生物技术研究。

收稿日期 2016-06-02

(<http://eggnoг.embl.de/>)功能数据库对分析得到的分泌蛋白进行功能注释,同时进行聚类分析。

2 结果与分析

2.1 长双歧杆菌亚种 NCC2705 基因组分泌蛋白筛选 先后使用3种软件对长双歧杆菌亚种 NCC2705 基因组中的1726个蛋白进行分泌蛋白的预测分析,预测结果见表1。SPase I肽酶识别的 Sec 途径分泌蛋白信号肽结果见表2, SPase II肽酶识别的 Sec 途径分泌蛋白结果见表3。

表1 长双歧杆菌 NCC2705 基因组中分泌蛋白的预测结果

Table 1 The prediction results of secretory protein in *Bifidobacterium longum* NCC2705 genome

分泌蛋白种类 Type of secretory protein	数量 Quantity	百分比 Proportion %
SpI分泌蛋白 SpI secretory protein	27	1.6
SpII蛋白 SpII protein	10	0.6
分泌蛋白总数 Total secreted proteins	37	2.2

表2 长双歧杆菌 NCC2705 SPase I肽酶识别的 Sec 途径分泌蛋白信号肽和功能分析

Table 2 Identification of Sec pathway secreted protein signal peptide and functional analysis of *Bifidobacterium longum* NCC2705 SPase I peptide enzyme

序列号 Serial No.	基因编号 Gene No.	蛋白名称 Proteins	COG 注释 功能聚类 COG annotation function clustering	信号肽种类 Signal peptide types	信号肽序列 Signal peptide sequence
1	BL0015	5'-nucleotidase family protein	COG0737[F]	SPase I	MKNRRWAGKRSIAFGAVALILTALVVPYACA
2	BL0025	hypothetical secreted protein with probable acid phosphatase domain	COG1404[O]	SPase I	MEHMKMFRHLSSVFAIATIAPLALA
3	BL0032	hypothetical protein	—	SPase I	MRRVTRTIAAAGAALACCVMTTACS
4	BL0033	solute binding protein of ABC transporter system possibly for sugars	COG1879[G]	SPase I	MKNWKKAIALVASAAALVSV AACG
5	BL0077	solute - binding protein for glutamate/ aspartate ABC transporter system	COG0834[ET]	SPase I	MSIKVGVKFKALIAAGAAALVMAAS- MAACGPSAGTPSEA
6	BL0091	hypothetical protein	—	SPase I	MKRSDYMLAALASAVLPNLGVAGVRENVQA
7	BL0103	possible solute binding protein of ABC transporter	COG0715[P]	SPase I	MKKSLSVSKAAALV GALAMTFGFA
8	BL0104	possible permease protein of ABC transporter system	COG0600[P]	SPase I	MSIAKRLKRR
9	BL0113	phosphomethylpyrimidine kinase	COG0351[H]	SPase I	MRCVPMVRTKTPSRRTSTLSA
10	BL0122	possible lipoprotein signal peptidase	COG0597[MU]	SPase I	MAVFACVAAAALIVDQLTKAWA
11	BL1317	peptidoglycan synthetase; penicillin - binding protein 3 precursor	COG0768[M]	SPase I	MNTIRRIVEFAKVKTF AFKCIAIGAALAL- VASACVIQLASTQLIGGRQTAQA
12	BL1330	solute - binding protein of ABC transporter system	COG1653[G]	SPase I	MKGTFKKAVALGSAIALVGGLAACGSSSG- DGTAEI
13	BL1335	endo - beta - N - acetylglucosamidase	COG4724[G]	SPase I	MRRGEQERKPMNKMTWRRVLAASLAAM- LAMS LAACSGG TSA
14	BL1345	solute - binding protein of ABC transporter for peptides	COG0747[E]	SPase I	MNSKKILAAAVSV AAIASLTACGGVKDDTAAGA
15	BL1386	DppA	COG4166[E]	SPase I	MKKKALAFAMACSVAMLLSACGGSNSNA
16	BL1395	hypothetical protein	—	SPase I	MTRRILGLLACMAAVLSLAACPAGR
17	BL1403	histidine kinase sensor of two - component system	—	SPase I	MPVTTRVWCSVVMVPLASFMCMAQTSFFA
18	BL1485	hypothetical protein	—	SPase I	MKGIRIRQRICALPLALACLMLGA
19	BL1488	hypothetical protein	—	SPase I	MKPGLRKVAALILASVTLFGSGASA
20	BL1489	hypothetical protein with limited similarity to PrgB aggregation substance	—	SPase I	MNFRKMMKAGVAVA AAIATLGAGVVAS- TATA
21	BL1498	hypothetical protein	—	SPase I	MVFARRSTLLAAIIASCAMVLSLTACT
22	BL0780	hypothetical protein	—	SPase I	MFELSCHTSGSRTSSSQAMPVSLR
23	BL0829	oligopeptide binding protein of ABC transporter	COG4166[E]	SPase I	MNTRHVTSLVAAGA AIVMLLSGGCGST- GTSNSSNA
24	BL0831	hypothetical protein	—	SPase I	MNTRLATKTKAAIIAAISLLALTIGI- IWMMPHGSSNDSA
25	BL0855	hypothetical protein	COG1835[I]	SPase I	MTRSDVDVINEDGHDVIAAHTRVVRGMAAA- LAAIATGAGVTAAA
26	BL0889	hypothetical protein	—	SPase I	MKNKLFASVPNILFGALITIAPIQTFAHA
27	BL0994	solute binding protein of ABC transporter system	COG0803[P]	SPase I	MGTQITRLRLAAAGLSAVLLFATTACA

表 3 长双歧杆菌 NCC2705 SPase II 肽酶识别的 Sec 途径分泌蛋白信号肽和功能分析

Table 3 Identification of Sec pathway secreted protein signal peptide and functional analysis of *Bifidobacterium longum* NCC2705 SPase II peptide enzyme

序列号 Serial No.	基因编号 Gene No.	蛋白名 Proteins	COG 注释 功能聚类 COG annotation function clustering	信号肽种类 Signal peptide types	信号肽序列 Signal peptide sequence
1	BL0022	glutamate-binding protein of ABC transporter system	COG0834[ET]	SPase II	MIAALAAVACTMSLA
2	BL0032	hypothetical protein	—	SPase II	MRRVTRTIAAAGAALACCVMTA
3	BL0033	solute binding protein of ABC transporter system possibly for sugars	COG1879[G]	SPase II	MKNWKKAIALVASAAALVSVAAACG
4	BL0077	solute-binding protein for glutamate/aspartate ABC transporter system	COG0834[ET]	SPase II	MSIKVGKSFKALIAAGAALVMAASMAA
5	BL1330	solute-binding protein of ABC transporter system	COG1653[G]	SPase II	MKGTFKKAVALGSAIALVGLAA
6	BL1345	solute-binding protein of ABC transporter for peptides	COG0747[E]	SPase II	MNSKKILAAVSVAAIASLTA
7	BL1386	DppA2	COG4166[E]	SPase II	MKKKALAFAMAACSVAMLLSA
8	BL 1395	hypothetical protein	—	SPase II	MTRRILGLACMAAVLSLAA
9	BL1485	hypothetical protein	—	SPase II	MKGIRRRIRQLCALPLALACLMLGLAAC
10	BL0829	oligopeptide binding protein of ABC transporter	COG4166[E]	SPase II	MNTRHVTSLVAAGAIVMLLS

据此推测,分泌蛋白没有或只有 1 个跨膜螺旋,根据该条件发现 SpaseI 信号肽识别的分泌蛋白 27 个。LipoP 1.0 软件分析结果表明,27 个蛋白为 SPase I 信号肽酶所识别,10 个蛋白可被 SpaseII 信号肽酶所识别。Sec 途径分泌蛋白信号肽长度最多的有 52 个氨基酸,最少的有 10 个氨基酸。

2.2 长双歧杆菌亚种 NCC2705 基因组分泌蛋白功能分析 分泌蛋白的功能分析表明,该菌株分泌蛋白中含有大部分的假定蛋白,共有 14 个蛋白 COG 没有功能注释,具体结果见图 1。其中,SPase I 型信号肽分泌蛋白中有假定蛋白 10 个,占 SPase I 分泌蛋白的 37.0%。这些蛋白在 COG 功能注释结果中,11 个蛋白没有 COG 功能注释,有功能注释的分泌蛋白主要参与氨基酸代谢与转运、碳水化合物代谢转运,无机盐离子代谢转运,细胞壁/细胞膜生物合成的功能有关。SPase II 型信号肽酶识别的分泌蛋白中有假定蛋白 10 个,3

个蛋白没有 COG 功能注释,其余蛋白参与氨基酸代谢与转运和碳水化合物代谢转运。

3 结论与讨论

分泌蛋白是微生物吸收营养物质、适应外界环境和与宿主发生相互作用的物质基础。通过对长双歧杆菌 NCC2705 Sec 途径分泌蛋白功能聚类分析结果得以证实。这与其他微生物类似。例如,芽孢杆菌是较早完成分泌蛋白预测的细菌,共发现了 301 个分泌蛋白,占基因组总数的 7.3%。芽孢杆菌的分泌蛋白类型和数量都较多,可能与适应土壤微生物环境有关^[9]。

对分泌蛋白的预测和功能分析是研究双歧杆菌适应宿主环境分子机制的重要途径。笔者从对长双歧杆菌 NCC2705 Sec 途径分泌蛋白的功能预测发现,分泌蛋白主要参与氨基酸、碳水化合物和无机盐离子的代谢与转运功能有关,这有利于双歧杆菌在大肠环境中对上消化道不能利用的复杂碳水化合物加以利用,以利于生存^[10]。

参考文献

- [1] LIU C, ZHANG Z Y, DONG K, et al. Adhesion and immunomodulatory effects of *Bifidobacterium lactis* HN019 on intestinal epithelial cells INT-407[J]. World journal of gastroenterology, 2010, 16(18): 2283 - 2290.
- [2] MACCONAILL L E, FITZGERALD G F, VAN SINDEREN D. Investigation of protein export in *Bifidobacterium breve* UCC2003[J]. Applied and environmental microbiology, 2003, 69(12): 6994 - 7001.
- [3] MOON G S. A preliminary analysis of secreted proteins from *Bifidobacterium pseudocatanulatum* BP1 by two-dimensional gel electrophoresis[J]. Journal of food science and nutrition, 2008, 13(4): 366 - 369.
- [4] SCHELL M A, KARMIRANTZOU M, SNEL B, et al. The genome sequence of *Bifidobacterium longum* reflects its adaptation to the human gastrointestinal tract[J]. Proceedings of the national academy of sciences, 2002, 99(22): 14422 - 14427.
- [5] 赵文杰, 曾嘉, 柳建设, 等. 嗜酸氧化亚铁硫杆菌基因组分泌蛋白的初步分析[J]. 现代生物医学进展, 2008(1): 22 - 26.
- [6] 周晓昱, 侯思名, 陈锋文, 等. 马铃薯晚疫病病原全基因组分泌蛋白的初步分析[J]. 遗传, 2011(7): 125 - 133.

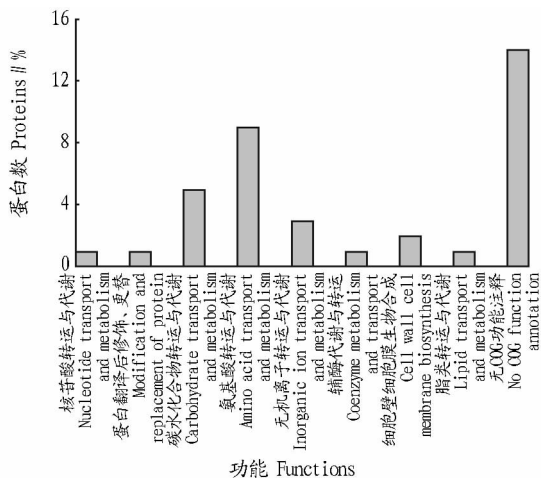


图 1 长双歧杆菌 NCC2705 Sec 途径分泌蛋白的 COG 功能分析
Fig. 1 COG function analysis of *Bifidobacterium longum* NCC2705 through Sec pathway

然生长环境。此外,所在海域珍珠贝生物多样性高,贝类资源丰富,拥有省内珍珠贝科的所有种类,为南珠产业的可持续发展奠定了坚实的基础。

3.2 “南珠”底蕴丰厚,人文精神源远流长 南珠文化内涵丰富,底蕴深厚。广为传颂的南珠之乡——合浦,其产珍珠的历史据《史记·货殖列传》记载最早可追溯到先秦时期,当地就出现了采珠业,开始南珠的生产和加工,产珠历史源远流长。在其漫长的历史发展长河中,渐渐形成的“尚德务实”、“崇文礼教”的人文精神和文化品格,对当今后世影响深远。

3.3 市场机遇良好,加工前景广阔 据统计,目前国际市场对海水珍珠的年需求量在80~90 t左右,我国供应国际市场的海水珍珠达20多t,而海水珍珠供应大国日本近年来受到由于经济衰退和海区污染等因素的影响,珍珠产业开始步入低谷,年产量逐年下降,平均年供应量不足30 t,国际市场珍珠仍是供不应求,市场容量在继续扩大,给我国珍珠产业的发展提供了难得的市场契机和广阔的发展空间。珍珠产业链中增值最多的是加工、设计与品牌经营等环节,雷州半岛南珠产业恰恰在这些方面落后,因此具有巨大发展空间。

4 南珠产业发展思路与对策

4.1 建立珍珠原良种基地,开发优质珍珠贝养殖新品种,形成特色养殖 养殖是珍珠产业发展的基础和前提,是增强南珠产业核心竞争力、实现可持续发展的重要环节。目前雷州半岛各地珍珠贝仍以马氏珠母养殖为主,副产品很少,结构相对单一,没有形成特色养殖,许多养殖户的珍珠贝仍然直接利用野生种或者从附近公司收购的贝苗,养殖1年后售往其他地区进行插珠,贝苗依旧属于近亲繁殖,造成母贝个体偏小,后代生长缓慢,性成熟提早,抗病害能力差,品质退化,品种问题已经成为制约南珠产业发展的瓶颈之一。为此,南珠应当建立自身独特且优良的种质资源库,实现保种供应,为品种的进一步改良提供必要的物质基础,同时尽可能地多搜集各类资源,以供今后产业的研究与养殖所需。

4.2 扩大深化南珠产业链,建立产业联盟,增强产业链竞争力 增强政府职能部门的带头作用,优化企业组织结构,大力扶持珍珠产业的龙头企业,使珍珠产业向集约化、规模化、产业化方向发展,规范生产行为,提高生产质量,全力打造具有南珠文化的珍珠产业。大力发展深加工和综合利用,延长产业链,努力提高产品的附加值。同时,促进产业结构向多元化发展,使得产业能在不同的环境和经济状况下生存下来,更有力地抵挡自然灾害以及市场经济萧条的冲击,如挖掘南珠产业特色文化,开辟特色旅游珍珠业,促进南珠产业结构多元化发展。在发展到一定阶段,实行“经济合作社”便于统一管理、统一销售、提高珍珠的产量,提高珍珠产率,节

省劳动力,切实增加农民收入。推出相应的优惠政策,吸引当地外出务工的年轻人回本村自主创业,打造品牌产业。

4.3 依托科技支撑,成立珍珠研发机构,建立珍珠技术推广和合作交流平台 努力提高养殖户的科学文化水平,在有条件的地区成立“珍珠养殖研究小组”,实时组织养殖户到珍珠养殖业发展较好的企业或地区进行实地考察与调研。此外,为有效解决珍珠养殖业质量和产量急剧下降的问题,国家高技术研究发展计划专门确立了“马氏珠母贝遗传改良技术”项目,经过以中国科学院南海海洋研究所何毛贤教授为首的科技人员的刻苦攻关,目前已取得了一系列重要技术进展;同时,由广东海洋大学珍珠团队经过数十年选育的“海选1号”马氏珠母贝获批为新品种,这些我国海水珍珠产业的发展提供了强大的技术支持。南珠应紧紧依托高校和科研院所的科研力量,建立珍珠技术推广和合作交流平台,加强产学研信息交流以及科研成果的推广与合作。

4.4 政府重视与政策支持 第一,要巩固、完善和加强支农惠农政策。加大对珠民的直接补贴、良种补贴、农机具购置补贴和农业生产资料综合补贴,在项目、资金和政策上给予一定的支持,提高农民对珍珠产业的兴趣,使农民自主投身于珍珠产业建设中。第二,要提高对农业和农村的投入力度。切实将国家基础设施建设和社会事业发展的重点转向农村。建设人才培养战略,提高从业人员素质文化水平,对珍珠养殖人员进行职业技能培训。第三,要加快农业科技步伐。加强农业科技创新能力建设,支持农业科技项目,加快农业科技成果转化,完善基层农业技术推广和服务体系,鼓励农业科技进村入户。第四,要全面推进农村综合改革。加快乡镇机构、农村义务教育体制等的改革,逐步建立高效、有序的农村行政管理体制、农村义务教育政府保障体制、城乡的公共财政覆盖制度。第五,加强市场监督管理,维护市场的正常秩序,建立一个健康、有序的市场流通机制,严厉打击不法经营行为,维护行业信誉。当今世界市场竞争日益激烈,高质量的产品是获取收益、赢得市场的重要保证。

参考文献

- [1] 符韶,邓陈茂,梁飞龙,等.关于南珠产业可持续发展的思考[J].广东海洋大学学报,2009,9(5):1-5.
- [2] 易丽平.湛江“南珠”产业现状和发展对策[J].中国渔业经济,2009,27(5):36-41.
- [3] 符韶,童银洪,邓陈茂,等.《马氏珠母贝养殖技术规范 亲贝》广东省地方标准的研究与制订[J].海洋与渔业,2008(5):7-9.
- [4] 周昌仕,慕永通.我国南珠产业的困境及其治理研究[J].中国海洋大学学报,2012,49(5):1-5.
- [5] 王保前.广东南珠产业发展对策研究[D].湛江:广东海洋大学,2011.
- [6] 李飞星.全球价值链下的中国南珠产业集群企业网络能力研究[D].长沙:中南大学,2012.
- [7] 郭恩松,牛春光.北部湾南珠产业发展战略分析[J].广西大学学报,2010,32(5):5-6.

(上接第111页)

- [7] 周晓罡,李成云,赵之伟,等.粗糙脉孢菌基因组分泌蛋白的初步分析[J].遗传,2006(2):200-207.
- [8] BABU M M, PRIYA M L, SELVAN A T, et al. A database of bacterial lipoproteins (DOLOP) with functional assignments to predicted lipoproteins[J]. Journal of bacteriology, 2006, 188(8): 2761-2773.
- [9] VAN DIJL J M, BOLHUIS A, TJALSMA H, et al. Protein transport path-

ways in *Bacillus subtilis*: a genome-based road map[M]//SONENSHEIN A L, HOCH J A, LOSICK R, et al. *Bacillus subtilis* and its closest relatives. Washington, DC: ASM Press, 2001.

- [10] POKUSAIEVA K, FITZGERALD G F, VAN SINDEREN D. Carbohydrate metabolism in Bifidobacteria[J]. Genes & nutrition, 2011, 6(3): 285-306.