乳酸菌的热胁迫研究进展

满丽莉[1]，向殿军[2]，布日额[1]，王思珍[1]，张春兰[1]，宫晓旭[2]
（1.内蒙古民族大学生命科学学院，内蒙古通辽 028042）（2.内蒙古民族大学农学院，内蒙古通辽 028042）

摘要：乳酸菌和其他自由生活的微生物一样，在发酵及食品加工、贮藏过程中经常暴露于各种环境胁迫条件下，包括饥饿胁迫、渗透压胁迫以及热胁迫等，增加胁迫抗性是提高生物量及代谢产物积累的有效策略。热胁迫可能是自然界及工业应用中微生物所面临的最常见压力。目前研究表明来自不同生境的乳酸菌通过基因表达的快速变化对温度的突然升高做出反应，从而导致热休克蛋白的蛋白质水平升高。热休克蛋白在进化过程中具有高度保守性，在正常条件下，其有助于受体调节，细胞骨架稳定及蛋白质的折叠、组装、运输、降解。在热胁迫条件下，其功能变得尤为重要。综述了乳酸菌的热胁迫耐受机制及不同乳酸菌的热胁迫反应，为研究乳酸菌热胁迫应答机制提供一定的理论借鉴，有利于乳酸菌的工业化应用。

关键词：乳酸菌；热胁迫；热休克蛋白；热诱导
文章篇号：1673-9078(2019)01-281-287 DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2019.1.040

Research Progress on Heat Stress of Lactic Acid Bacteria

MAN Li-li[1], XIANG Dian-jun[2], BU Ri-e[1], WANG Si-zhen[1], ZHANG Chun-lan[1], GONG Xiao-xu[2]
(1.College of Life Science, Inner Mongolia University for Nationalities, Tongliao 028042, China)
(2. College of Agriculture, Inner Mongolia University for Nationalities, Tongliao 028042, China)

Abstract: Lactic acid bacteria (LAB), like other free-living microorganisms, are usually exposed to various environmental stress conditions in the course of microbial fermentation, food processing and storage, which include starvation stress, osmotic stress, and heat stress. Enhancement of stress resistance is considered an effective strategy for better cell growth and increased the yield of metabolites. Heat stress is probably the most common stress, which bacteria and other organisms are confronted in the natural world and industrial applications. Some studies had demonstrated that LAB from different habitats responded to a sudden increase in temperature by rapid changes in gene expression resulting in elevated levels of heat-shock proteins (HSPs). Under normal conditions, HSPs assist in receptor regulation, cytoskeleton stabilization, and protein folding, assembly, transport, degradation, and under heat stress these functions become especially important. In this paper, the tolerance mechanism of heat stress in LAB and heat stress reaction of different LAB were discussed in order to provide a theoretical reference for the study of the heat stress response mechanism in LAB and to facilitate the industrial application of LAB.

Key words: Lactic acid bacteria; heat stress; heat shock proteins; heat induction

长期以来，乳酸菌被广泛应用于由动物或植物加工的发酵食品中，乳酸菌的生物转化产品在食品产业化中发挥至关重要的作用，有利于提高发酵食品的感官品质和卫生质量，但乳酸菌发酵及食品加工贮藏过程中必须抵抗各种不利条件。正如其他细菌一样，乳酸菌进化出了胁迫感应系统和防御系统，使其能够承受恶劣的条件和突然的环境改变[1]。

微生物细胞在高温下的主要问题是变性蛋白质的展开及其随后的聚集，同时还会发生核糖体和 RNA 等大分子的稳定性以及膜流动性的变化[2]。热休克反应是微生物细胞最具特征的生理反应之一，热休克反应在革兰氏阳性菌—枯草芽孢杆菌这一模式微生物中研究的较为透彻。生理学研究表明乳酸菌引发的热休克反应与其他革兰氏阳性菌相似[3]。乳酸菌通过基因表达的快速变化对热胁迫做出反应，从而导致热休克蛋白（Heat-shock proteins，HSPs）水平升高。在正常条件下，热休克蛋白有助于受体调节，细胞骨架稳定和蛋白质折叠、组装、运输、降解，在热胁迫下这些功能变得尤为重要[4]。热休克反应是细胞最具特征的生理反应之一，大多数热休克蛋白结构在进化过程中保持高度保守性，表明热休克蛋白功能在不同组织中保守。运用 2-DE 法检测乳酸菌的热休克反应发现不同数量的热休克蛋白发生变化[5]，常见的两类热休克蛋白是保守的伴侣蛋白（GroEL、GrpE、GroES、

收稿日期：2018-10-10
基金项目：内蒙古自治区自然科学基金资助项目（2018MS03060）；内蒙古民族大学博士科研启动基金资助项目（BS403）
作者简介：满丽莉（1981-），女，博士，副教授，研究方向：畜产品加工与质量控制
通讯作者：向殿军（1978-），男，博士，副教授，研究方向：生物技术

DnaJ 和 DnaK）和蛋白酶（FtsH、HtrA、Clp）[1]。本文论述了乳酸菌的热胁迫耐受机制及不同乳酸菌的热胁迫反应，为研究乳酸菌热胁迫应答机制提供一定的理论借鉴，有利于乳酸菌的工业化应用。

1 乳酸菌的热胁迫耐受机制

1.1 热诱导伴侣蛋白和 HrcA/CIRCE 调控

与大多数细菌一样，乳酸菌中有GroES-GroEL和DnaK-GrpE-DnaJ组成的伴侣蛋白复合体，DnaK和GroEL蛋白参与蛋白质折叠、蛋白易位、热变性蛋白质的再折叠和可能的高阶蛋白质组装。GroES-GroEL的核心作用之一是提高乳酸菌的耐热性，因此，在某些情况下，可以通过GroESL表达水平的变化来测量细胞受到的热胁迫水平。在许多乳酸菌中，*dnaJ*基因和*hrcA-grpE-dnaK*的上游均发现了CIRCE序列（TTAGCAGTC-N9-GAGTGCTAA）[6]，某些乳酸菌的*dnaK*操纵子还包括*dnaJ*基因和*groES-groEL*基因[7]，完整的CIRCE在乳酸乳球菌的热休克调控中是必需的[8]。在乳酸乳球菌中，DnaK的C端缺失导致HrcA-CIRCE调节子及Hsp 84、Hsp 85、Hsp 100等功能未知的热休克蛋白上调，而编码热休克蛋白酶基因*hflB*未发生改变，表明DnaK参与HrcA活性的调控[9]。相关研究表明热休克蛋白可被HrcA特异性抗血清所识别，然后结合到CIRCE寡核苷酸上[10]。在鼠李糖乳杆菌中，发现一个保守的CIRCE元件与*clpL*启动区域重叠，表明其具有HrcA依赖性调控作用[11]。大量的研究显示编码经典伴侣DnaK、GroES和GroEL的基因由HrcA抑制子调控，HrcA能够识别高度保守的CIRCE序列（控制伴侣表达的倒置重复）。以上研究为乳酸菌热休克反应中HrcA/CIRCE的调节功能提供了证据。

1.2 热诱导蛋白酶和 CtsR/CtsR-box 调控

1.2.1 HtrA/DegP 蛋白酶

HtrA属于广泛分布的丝氨酸蛋白酶家族，同时具有伴侣功能和蛋白酶功能。大肠杆菌中HtrA在低温下发挥伴侣功能，而在室温及高温下其蛋白酶功能占主导地位，主要是针对错误折叠蛋白质发挥蛋白酶活性。*htrA*是乳酸菌在热休克反应中具有既定作用的基因，其所编码的看家表面蛋白酶HtrA，也称为DegP。在瑞士乳杆菌、长双歧杆菌、乳酸乳球菌中均发现了HtrA的同源物，*htrA*基因缺失突变株的高温耐受能力降低，*htrA*基因在这些乳酸菌中具有热胁迫诱导作用，HtrA在异常蛋白的降解中起着重要的作用[12,13]。

1.2.2 FtsH/HflB 蛋白酶

FtsH蛋白包括位于N末端的跨膜片段和由AAA^+蛋白、Zn^{2+}金属蛋白酶组成的主要胞质区域[14]。当FtsH（695aa）在其C末端163个残基处被截断，菌株表现出热、盐和冷敏感性，说明FtsH可能不是乳酸乳球菌必需的，但其参与包括热胁迫在内的许多胁迫调控。Fiocco等（2009）在植物乳杆菌中发现了*ftsH*基因，其为膜结合金属蛋白酶编码基因，FtsH是CtsR调节因子的新成员，*ftsH*基因直接参与多种*clp*和*hsp1*基因的调控[15]。通过Southern杂交方法在许多乳杆菌属和明串珠菌属中检测到FtsH的直系同源物Clp蛋白酶，说明该蛋白酶在乳酸菌中可能具有保守性，这些蛋白酶能降解热休克受损的蛋白质，在一定程度上提高乳酸菌的热耐受性[1]。目前，FtsH在乳酸菌热休克中的调控机制还知之甚少，有待进一步研究。

1.2.3 CtsR/CtsR-box 调控

CtsR操纵子存在于许多乳酸菌（清酒乳杆菌、唾液链球菌、酒类酒球菌和嗜热链球菌）中相应热休克蛋白编码基因的上游，如*clpP*、*clpE*、*clpL*、*cstR-clpC*操纵子及其他热休克蛋白编码基因（*Lo18*、*hsp16*和*groESL*）[16]。在某些链球菌科菌株中，HrcA和CtsR操纵子部分重叠表明*clpP*基因受CtsR和HrcA的双重负调控[17]。CtsR对乳酸链球菌、酒类酒球菌、嗜热链球菌和植物乳杆菌中*clp*基因的表达有抑制作用[18,19]。在酒类酒球菌中缺少保守的HrcA-CIRCE调控通路，仅有CtsR操纵子对*clp*基因及经典伴侣蛋白DnaK、GroEL和GroES编码基因发挥负调节作用[17]。基因组测序结果显示保加利亚乳杆菌、约氏乳杆菌和嗜酸乳杆菌的基因组中似乎没有CtsR，而*clp*基因很可能是仅由HrcA调控[20]。上述研究结果表明经典伴侣蛋白和Clp蛋白的表达通常受阻遏蛋白（HrcA或/和CtsR）的调控，但在厚壁菌之间这些调节蛋白似乎存在有限的保守性。

1.3 热休克基因的时序表达模式

许多研究在转录和翻译水平上监测乳酸菌中热休克蛋白的诱导。热胁迫条件下对于乳酸菌 mRNA 的研究集中于 CIRCE 调控基因（*HrcA-GrpE-DnaK*、*GroESL* 和 *DnaJ*）及 *ftsH* 基因。经过 10~15 min 热胁迫处理会诱导嗜酸乳杆菌中 CIRCE 调控基因提高 10~100 倍，但 20 min 热胁迫处理会抑制其表达[21]。经过 65 ℃热胁迫处理 10 min 后热休克蛋白的合成导致德氏乳杆菌保加利亚亚种的存活率增加，但如早期热休克蛋白合成受阻，会导致其存活率降低[3]。经过 10~15 min 热胁迫处理会诱导乳酸乳球菌中 *ftsH* 基因提高 10~100 倍，但 20 min 热处理会抑制其表达。蛋白质组学研究区分了乳酸乳球菌热胁迫诱导的两种时间类

型：一类为 GroEL、HrcA、DnaK、GroES、Hsp100、Hsp85（ClpE）、Hsp84 和 Hsp26 在热胁迫前 10~15 min 内诱导至少 10 倍；另一类为 ClpP（Hsp23）和 8 种非特征性热激蛋白在热激 25 min 内被诱导 2~8 倍，乳酸乳球菌中其他热休克蛋白的诱导时间有待进一步研究。通常副干酪乳杆菌和乳酸乳杆菌等在最初处于高温环境下会导致 GroESL 及 DnaK 等的过量表达，但并不能消除热休克的影响，只有一段时间后其它蛋白质（ClpE、ClpP、ClpX、ClpC、ClpB 等）同时做出适应性反应，才能保护菌体的热休克损伤[22]。

2 不同乳酸菌的热胁迫反应

2.1 乳球菌属的热胁迫反应

乳球菌属的热胁迫机制主要在于热休克蛋白的调控及代谢途径改变，最终导致生长状态的改变。乳酸乳球菌的最适生长温度为 30~42 ℃，而在 50 ℃热胁迫处理 30 min 后其生长几乎不能恢复，高温似乎对微生物细胞有害，而低温只是减缓生物过程，这些调控与乳酸乳球菌的代谢活动有关。在 42 ℃热处理 30 min 后，DNA 宏矩阵结果显示乳酸乳球菌乳酸亚种 IL1403 中 64 个代谢基因发生改变（34 个上调，30 个下调）[23]。在乳酸乳球菌中发现了四个 *clp*-ATPase 基因（*clpC*、*clpB*、*clpX* 和 *clpE*）和一个 *clpP* 基因，*clpP* 突变株比野生型乳酸乳球菌对热胁迫更敏感。除 *clpX* 外，所有 *clp* 基因的启动子区域均与 CtsR-box（$^{A}/_{G}$GTCAAANAN$^{A}/_{G}$GTCAAA）具有同源序列[24,25]。

除 HrcA 和 CtsR 外，目前还未发现乳酸菌对热休克反应的全局调控因子，有关热休克调控的唯一信息是对乳酸乳球菌中 RecA 功能的研究，由于 RecA 突变体对热胁迫和 DNA 损伤敏感，说明 RecA 与乳酸乳球菌的热适应调控有关。Western blot 结果显示 recA 突变株中 DnaK、GroEL 和 GrpE 降低，FtsH 含量增加，说明 RecA 通过对 FtsH 的控制在热休克调控中发挥重要作用。RecA 在热胁迫后可通过改变嘌呤代谢（*deoB*、*guaA* 和 *tktA*）、高亲和力磷酸盐摄取（*pstB*、*pstS*）、mRNA 稳定性（*pnpA*，polynucleotide phosphorylase，多核苷酸磷酸化酶）及影响蛋白质水解活性的 *trmA* 基因提高菌体对多种胁迫的耐受性[26]。乳酸菌基因组测序分析显示未发现与枯草芽孢杆菌中 σ^{B} 因子（在热应激反应基因调控中起主要作用）的任何对应物，结果表明乳球菌、链球菌和其他乳酸菌已经形成了不同于枯草杆菌的胁迫调控网络。

2.2 乳杆菌属的热胁迫反应

乳杆菌属菌株的耐热机制是基于对特定蛋白质诱导及细胞状态改变实现的，特定蛋白质包括热休克蛋白、HtrA/DegP 家族丝氨酸蛋白酶、多聚复合体和小的热休克蛋白。约氏乳杆菌、干酪乳杆菌、副干酪乳杆菌、瑞士乳杆菌、嗜酸乳杆菌、植物乳杆菌等在高于正常生长温度10 ℃条件下热适应均会发生短暂的热休克蛋白诱导，菌体存活率可提高10~1000倍。2-DE 结果显示热适应会导致乳杆菌属菌株中诱导蛋白的变化，如瑞士乳杆菌 LH212（18个）、瑞士乳杆菌 PR4（48个）、嗜酸乳杆菌 NCFM（24个）、嗜酸乳杆菌 IBB801（6个）、干酪乳杆菌 LC301（15个）、丘状菌落乳杆菌（36个）、长双歧杆菌（20个）、鼠李糖乳杆菌 HN001（11个）[27~29]。乳杆菌属菌株中热休克相关的特定蛋白质主要包括：（1）两大类热休克蛋白包括 70 ku（DnaK 由 GrpE、DnaJ 和 DnaK 组成）和60 ku（GroEL 由 GroEL 和 GroES 组成）家族蛋白，与辅助蛋白共同发挥伴侣机作用，能结合、重折叠和释放化学变性的蛋白质[28,30]；（2）HtrA/DegP 家族蛋白酶，一种膜丝氨酸蛋白酶，其参与热胁迫反应，*htrA* 基因在乳杆菌属菌株中有利于促进其在热胁迫条件下的生长[31]；（3）ClpP 多聚体复合物，一种丝氨酸蛋白酶，其降解长度小于7个氨基酸的肽，乳杆菌属菌株在热胁迫条件下均呈现出 Clp ATPase 家族热休克蛋白（ClpC、ClpE、ClpL、ClpX、ClpQ）表达量的增加[32~34]；（4）小的热休克蛋白，也存在于乳杆菌属菌株的基因组中[35~37]。此蛋白质家族具有以下特点：①分子量在 12~30 ku 之间；②一种保守的由80~100个氨基酸组成的结构域，位于 C 末端区，称为 α-晶体蛋白结构域；③形成150~800 ku 的大寡聚物；④具有三磷酸腺苷非依赖性伴侣活性[38]。

许多研究显示热胁迫会改变乳杆菌菌株细胞状态，如生物膜的组成、疏水性、所带电荷和粘附能力等表面特性，近而提高菌体的热耐受性。Huang 等（2013）研究发现 Ca^{2+}能够提高鼠李糖乳杆菌 ZY、干酪乳杆菌 Zhang、植物乳杆菌 P8和嗜热链球菌 ND03 的耐热性[39]，热应激导致细胞质内 Ca^{2+}波动，细胞质 Ca^{2+}作为细胞信号产生不同的细胞反应或细胞保护状态。Haddaji 等（2017）研究发现植物乳杆菌经过热处理后，通过改变 HeLa 细胞的疏水性水平、粘附能力及不饱和脂肪酸与饱和脂肪酸的比例提高菌体的热耐受性。Machado 等（2004）干酪乳杆菌 ATCC393经热胁迫后细胞膜的亲水性发生显著变化，提升对高温的抵抗性[40,41]。

2.3 链球菌属的热胁迫反应

链球菌属菌株的耐热机制是基于对菌体代谢的改变及特定蛋白质的诱导，有利于维持蛋白质的适当折叠，以确保其功能性和避免聚集，并完成受损蛋白的降解。嗜热链球菌是中度嗜热细菌，大多可在约20~50 ℃的温度下生长，而在食品工业化生产中必须适应各种温度变化，因此对嗜热链球菌热适应性的研究较早。基因组学和蛋白质组学研究显示嗜热链球菌ATCC19258在热胁迫条件下大量蛋白（参与能量代谢、氨基酸及蛋白质的合成）发生改变，表明耐热性激发期间对菌体的整体代谢产生巨大的影响。例如：嗜热链球菌 Sfi39的 *deoD*（编码嘌呤核苷磷酸化酶 A）突变体比野生型菌株具有更强的耐热性，尽管在20 ℃时其生长速度有所下降[41,42]，deoD 突变体增加了(P)ppGpp 的浓度，这与菌株的耐热性有关。

蛋白组学分析发现嗜热链球菌 NCDO573 在42~52 ℃热胁迫后22种多肽发生上调或被诱导合成，如 GroEL/GroES、DnaK/DnaJ/GrpE、ClpL 和 ClpP 肽酶等伴侣机成员[43]，同时参与蛋白质生物合成中多肽链延长的翻译延长因子 G 和 Ts 发生上调，这两种蛋白质都有类似伴侣的特征[44]。嗜热性链球菌携带 HrcA 和 CtsR 阻遏物的拷贝，能调节蛋白伴侣、Clp 蛋白酶和 ATPases 表达，但 RecA 对热胁迫无调控作用[45,46]。

2.4 肠球菌属的热胁迫反应

肠球菌属的热胁迫机制主要在于热休克蛋白的调控[47]。粪肠球菌中只存在7种被称为“一般应激蛋白”（General stress proteins，Gsp）的多肽，包括Gsp62、Gsp63、Gsp64、Gsp65、Gsp66、Gsp67和Gls24，其中Gsp66和Gsp67分别对应于两种主要的热休克蛋白DnaK和GroEL[48,49]。粪肠球菌中发现17种被命名为Ehk-Err的双组分调控系统，包括粪肠球菌组氨酸蛋白激酶Ehk和粪肠球菌反应调节蛋白Err，其中Err04-Ehk04、Err07-Ehk07、Err13-Ehk13、Err14-Ehk14与热胁迫反应有关。粪肠球菌中存在四种潜在的ECF（Extracytoplasmic Function）sigma因子，包括EF3180、EF3020、EF0049和EF2290，EF3180参与热胁迫、酸和乙醇反应[50]。粪肠球菌基因组中存在CtsR同源物，具有非常相似的螺旋-转角-螺旋DNA结合基序，此外，粪肠球菌序列上游的*clpC*、*clpP*和*clpE*具有CtsR识别序列，说明CtsR类似调节因子可在粪肠球菌的热胁迫反应中发挥作用[51]。

2.5 双歧杆菌属的热胁迫反应

双歧杆菌属的热胁迫机制主要在于热休克蛋白的诱导及消除转录抑制因子来实现。双歧杆菌属菌株中存在多种热休克蛋白编码基因，如：*gro*EL、*gro*ES、*dna*K、*grp*E、*dna*J1、*dna*J2、*clp*B、*clp*C和*clp*P1P2。基因芯片结果显示短双歧杆菌UCC2003中的*gro*EL、*gro*ES、*dna*J2、*clp*C和*clp*P1/P2基因在44~47 ℃被诱导约4倍，而*dna*K、*grp*E、*dna*J1、*clp*B和*hsp*20基因在50 ℃被显著诱导约400倍，以提高菌体耐热性。此外，长双歧杆菌NCC2705和短双歧杆菌UCC2003的基因组中发现*rpo*E（σ^E）的同源基因，但尚未明确其在热胁迫下的调控机制[52]。

热胁迫可消除双歧杆菌属菌株中的转录抑制因子，使特定的热休克基因得以转录，提高热耐受性。基因组分析发现两种转录抑制因子，一种为CIRCE（HrcA）蛋白的热调控，在*groES*、*groEL*和*hrcA*的启动子中均发现了CIRCE基序，另一种为热休克蛋白阻遏物（HspR），其结合HspR相关的反向重复（HAIR）基序，HAIR基序存在于*clp*B、*dna*K、*clg*R、*nfo*、*hrd*B等基因的启动子区域，它们可能共同构成HspR的调控因子[53~55]。

2.6 酒球菌属的热胁迫反应

酒球菌属的热胁迫机制主要在于小的热休克蛋白Lo18的诱导来实现。运用S^{35}甲硫氨酸标记、双向电泳和放射自显影发现42 ℃的热胁迫对稳定期酒类酒球菌中Lo18具有显著的诱导作用，此小的热休克蛋白被认为是酒类酒球菌胁迫反应的标志物[56,57]。Coucheney等（2005）发现高水平的Lo18有利于提高酒类酒球菌的热胁迫适应性，提高菌体的存活率[58]。小热休克蛋白的最显著特点之一是细胞定位的多样性，有利于实现不同功能，在酒类酒球菌的细胞膜和细胞质中均能检测到Lo18，Lo18在细胞膜和细胞质中的分配比例取决于热胁迫温度，42 ℃热胁迫后在细胞质中的含量较高，44 ℃热胁迫后在细胞膜和细胞质的分配比例相同，而46 ℃热胁迫后在细胞膜中的含量较高。33.8 ℃热胁迫后Lo18与脂质体相互作用，增加脂质双层的分子顺序，说明Lo18有助于热胁迫条件下维持细胞膜的完整性[59]。Li等（2018）发现小的热休克蛋白（12~43 ku）利于在高温状态下保护蛋白质不变性，提高热耐受性[60]。

3 总结与展望

突然升温会导致蛋白质变性，微生物会增加包括伴侣蛋白和蛋白酶在内的热休克蛋白的表达，作为自身存活的防御策略。虽然热休克蛋白在包括乳酸菌在内的许多微生物中表现出保守性，但热休克反应的调控机制呈现多样性，因此不能仅仅依赖以前对大肠杆菌甚至枯草芽孢杆菌等模型生物体的研究。近年来，

由于基因组学、转录组学及蛋白组学的发展，研究人员不断地发现不同乳酸菌对热胁迫的调控新机制和热休克蛋白参与修复或降解受损蛋白质的新途径，相信随着科学技术的不断发展和研究人员的深入研究将为我们提供更多的关于热休克反应的新的、令人兴奋的信息。

参考文献

[1] Valeriano V, Parungao-balolong M, Kang D K. *In vitro* evaluation of the mucin-adhesion ability and probiotic potential of *Lactobacillus mucosae* LM1 [J]. Journal of Applied Microbiology, 2014, 117: 485-497

[2] Liu B B, Fu N, Woo M W, et al. Heat stability of *Lactobacillus rhamnosus* GG and its cellular membrane during droplet drying and heat treatment [J]. Food Research International, 2018, 112: 56-65

[3] Cebrián G, Condón S, Mañas P. Heat resistance, membrane fluidity and sublethal damage in *Staphylococcus aureus* cells grown at different temperatures [J]. International Journal of Food Microbiology, 2018, 289(16): 49-56

[4] Garbuz D G, Evgen'ev M B. The evolution of heat shock genes and expression patterns of heat shock proteins in the species from temperature contrasting habitats [J]. Russian Journal of Genetics, 2017, 53(1): 21-38

[5] Hickisch A, Beer R, Vogel R F, et al. Influence of lupin-based milk alternative heat treatment and exopolysaccharide-producing lactic acid bacteria on the physical characteristics of lupin-based yogurt alternatives [J]. Food Research International, 2016, 84: 180-188

[6] Marklund E G, Zhang Y, Basha E, et al. Structural and functional aspects of the interaction partners of the small heat-shock protein in Synechocystis [J]. Cell Stress and Chaperones, 2018, 23(4): 723-732

[7] Kayumov A R, Bogachev M I, Manuvera V A, et al. Recombinant small heat shock protein from *Acholeplasma laidlawii* increases the *Escherichia coli* viability in thermal stress by selective protein rescue [J]. Molecular Biology, 2017, 51(1): 112-121

[8] Garbuz D G. Regulation of heat shock gene expression in response to stress [J]. Molecular Biology, 2017, 51(3): 352-367

[9] Koch B, Kilstrup M, Vogensen F K, et al. Heterogeneous expression of *DnaK* gene from *Alicyclobacillus acidoterrestris* improves the resistance of *Escherichia coli* against heat and acid stress [J]. AMB Express, 2017, 7(1): 1-7

[10] Rossi C C, Oliveira L L D, Rodrigues D D C, et al. Expression of the stress-response regulators CtsR and HrcA in the uropathogen *Staphylococcus saprophyticus* during heat shock [J]. Antonie Van Leeuwenhoek, 2017, 110(8): 1105-1111

[11] Suokko A, Poutanen M, Savijoki K, et al. ClpL is essential for induction of thermotolerance and is potentially part of the HrcA regulon in *Lactobacillus gasseri* [J]. Proteomics, 2008, 8(5): 1029-1041

[12] Kang K, Lee J S, Yoo M, et al. The influence of HtrA expression on the growth of *Streptococcus* mutans during acid stress [J]. Molecules and Cells, 2010, 29(3): 297-304

[13] Harrer A, Boehm M, Backert S, et al. Overexpression of serine protease HtrA enhances disruption of adherens junctions, paracellular transmigration and type IV secretion of CagA by *Helicobacter pylori* [J]. Gut Pathogens, 2017, 9: 40

[14] Ito K, Akiyama Y. Cellular functions, mechanism of action, and regulation of FtsH protease [J]. Annual Review of Microbiology, 2005, 59(59): 211-231

[15] Fiocco D, Collins M, Muscariello L, et al. The *Lactobacillus plantarum ftsH* gene is a novel member of the CtsR stress response regulon [J]. Journal of Bacteriology, 2009, 191(5): 1688-1694

[16] Wang Q, Ji F, Guo J, et al. LotS/LotR/Clp, a novel signal pathway responding to temperature, modulating protease expression via c-di-GMP mediated manner in *Stenotrophomonas maltophilia* FF11 [J]. Microbiological Research, 2018, 5: 60-73

[17] Roy S S, Patra M, Dasgupta R, et al. Mutual interaction study between DnaK-GroEL-FtSH with heat shock regulator σ32 to explain prokaryotic heat shock regulation [J]. Information Systems Design and Intelligent Applications, 2015, 340: 55-61

[18] Boniface A, Parquet C, Arthur M, et al. Effect of inactivation of stress response regulators on the growth and survival of *Streptococcus thermophilus* Sfi39 [J]. International Journal of Food Microbiology, 2009, 129(3): 211-220

[19] Fiocco D, Capozzi V, Collins M, et al. Characterization of the CtsR stress response regulon in *Lactobacillus plantarum* [J]. Journal of Bacteriology, 2010, 192(3): 896-900

[20] Guchte M V D, Penaud S, Grimaldi C, et al. The complete genome sequence of *Lactobacillus bulgaricus* reveals extensive and ongoing reductive evolution [J]. Proceedings of

the National Academy of Sciences of the United States of America, 2006, 103(24): 9274-9279

[21] 赵亚荣,张文羿,孙天松.乳酸菌环境胁迫应答分子机制研究进展[J].中国乳品工业,2014,42(4):42-45
ZHAO Ya-rong, ZHANG Wen-yi, SUN Tian-song. Research on the molecular mechanisms of lactic acid bacteria responding to environmental stress [J]. Dairy Industry, 2014, 42(4): 42-45

[22] Schumann W. Regulation of the heat shock response in bacteria [J]. Prokaryotic Chaperonins, 2017, 11: 21-36

[23] 陈霞,杨振泉,黄玉军,等.乳酸菌环境胁迫应激的分子调控机制研究进展[J].中国乳品工业,2011,39(1):34-37
CHEN Xia, YANG Zhen-quan, HUANG Yu-jun, et al. Research on the molecular mechanism of lactic acid bacteria's responses to environmental stress [J]. Dairy Industry, 2011, 39(1): 34-37

[24] Skinner M M, Trempy J E. Expression of *clpX*, an ATPase subunit of the Clp protease, is heat and cold shock inducible in *Lactococcus lactis* [J]. Journal of Dairy Science, 2001, 84(8): 1783-1785

[25] Kang C H, Jeon H, Shin Y J, et al. Heat adaptation improves viability of *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* HE-1 after heat stress [J]. Food Science and Biochnology, 2015, 24(5): 1823-1827

[26] Rallu F, Gruss A, Ehrlich S D, et al. Short communication: Salt tolerance of *Lactococcus lactis* R-604 as influenced by mild stresses from ethanol, heat, hydrogen peroxide, and UV light [J]. Journal of Dairy Science, 2017, 100(6): 4290-4293

[27] Gouesbert G, Jan G, Boyaval P. S-layer production by *Lactobacillus acidophilus* IBB 801 under environmental stress conditions [J]. Applied Microbiology and Biotechnology, 2016, 100(1): 4573-4583

[28] Wang H, Zhang Y, Xi Q, et al. Heat acclimation of *bifidobacterium longum* and proteomic changes behind it [J]. Probiotics and Antimicrobial Proteins, 2017, 9(3): 255-261

[29] 陈旭娇,丁缪华,顾瑞霞,等.热应激对鼠李糖乳杆菌grx19生长及耐热特性的影响研究[J].食品科技,2013,38(8):2-5
CHEN Xun-jiao, DING Niu-hua, GU Rui-xia, et al. The influence of heat stress on the growth and thermoduric properties of *Lactobacillus Rhamnosus* GRX19 [J]. Food Science and Technology, 2013, 38(8): 2-5

[30] Suo Y, Luo S, Zhang Y, et al. Enhanced butyric acid tolerance and production by class I heat shock protein-overproducing *Clostridium tyrobutyricum* ATCC 25755 [J]. Journal of Industrial Microbiology & Biotechnology, 2017, 44(8): 1145-1156

[31] Sottile M L, Nadin S B. Heat shock proteins and DNA repair mechanisms: an updated overview [J]. Cell Stress and Chaperones, 2018, 23(3): 303-315

[32] Suokko A, Poutanen M, Savijoki K, et al. ClpL is essential for induction of thermotolerance and is potentially part of the HrcA regulon in *Lactobacillus gasseri* [J]. Proteomics, 2008, 8(5): 1029-1041

[33] 王学良,韩雪,王海娟,等.乳酸菌在各种胁迫下的应激反应研究进展[J].食品工业科技,2015,36(6):365-368
WAMG Xue-liang, HAN Xue, WANG Hai-juan, et al. Studying progress of *Lactobacillus*' s responses in a variety of stress [J]. Science and Technology of Food Industry, 2015, 36(6): 365-368

[34] Lim E M, Ehrlich S D, Maguin E. Biophysical characterization of the *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* membrane during cold and osmotic stress and its relevance for cryopreservation [J]. Applied Microbiology and Biotechnology, 2017, 101(4): 1427-1441

[35] Nefedova V V, Muranova L K, Sudnitsyna M V, et al. Small heat shock proteins and distal hereditary neuropathies [J]. Biochemistry, 2015, 80(13): 1734-1747

[36] Oz E, Kaban G. The effect of autochthonous *Lactobacillus plantarum* on volatile compounds in heat-treated sucuk [J]. Journal of Biotechnology, 2018, 280: S60

[37] Kulkarni S, Haq S F, Samant S, et al. Adaptation of *Lactobacillus acidophilus* to thermal stress yields a thermotolerant variant which also virulence determinant exhibits improved survival at pH 2 [J]. Probiotics and Antimicrobial Proteins, 2017, 8: 1-11

[38] Schumann W. Regulation of bacterial heat shock stimulons [J]. Cell Stress and Chaperones, 2016, 21(6): 959-968

[39] Huang S, Cheng X D. Significant effect of Ca^{2+} on improving the heat resistance of lactic acid bacteria [J]. FEMS Microbiology Letters, 2013, 344(1): 31-38

[40] Haddaji N, Mahdhi A K, Ismaiil M B, Bakhrouf A. Effect of environmental stress on cell surface and membrane fatty acids of *Lactobacillus plantarum* [J]. Archives of Microbiology, 2017, 199(9): 1243-1250

[41] 张筠,孟祥晨.乳酸菌的胁迫应答及其对碳水化合物代谢的影响[J].中国食品学报,2017,17(6):145-149
ZNANG Jun, MENG Xiang-chen. Stress responses and impact of carbonhydrate metabolism in lactic acid bacteria [J].

Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology, 2017, 17(6): 145-149

[42] Varcamonti M, Graziano M R, Pezzopane R, et al. Impaired temperature stress response of a *streptococcus thermophilus deoD* mutant [J]. Applied and Environmental Microbiology, 2003, 69(2): 1287-1289

[43] Varcamonti M, Arsenijevic S, Martirani L, et al. Expression of the heat shock gene *clpL* of *streptococcus thermophilus* is induced by both heat and cold shock [J]. Microbial Cell Factories, 2006, 5(1): 1-6

[44] Krab I M, Te Biesebeke R, Bernardi A, et al. Elongation factor Ts can act as a steric chaperone by increasing the solubility of nucleotide binding-impaired elongation factor-Tu [J]. Biochemistry, 2001, 40(29): 8531-8535

[45] Giliberti G, Naclerio G, Martirani L, et al. Alteration of cell morphology and viability in a *recA* mutant of *streptococcus thermophilus* upon induction of heat shock and nutrient starvation [J]. Gene, 2002, 295(1): 1-6

[46] Giliberti G, Baccigalupi L, Cordone A, et al. Transcriptional analysis of the recA gene of *streptococcus thermophilus* [J]. Microbial Cell Factories, 2006, 5(1): 29

[47] Foulquié Moreno M R, Sarantinopoulos P, Tsakalidou E, et al. The role and application of *enterococci* in food and health [J]. International Journal of Food Microbiology, 2006, 106(1): 1-24

[48] Rincé A, Flahaut S, Auffray Y. Identification of general stress genes in *Enterococcus faecalis* [J]. International Journal of Food Microbiology, 2000, 55(1-3): 87-91

[49] Giard J C, Laplace J, Rincé A, et al. The stress proteome of *Enterococcus faecalis* [J]. Electrophoresis, 2001, 22(14): 2947-2949

[50] Benachour A, Muller C, Dabrowski-Coton M, et al. The *Enterococcus faecalis* SigV protein is an extracytoplasmic function sigma factor contributing to survival following heat, acid, and ethanol treatments [J]. Journal of Bacteriology, 2005, 187(3): 1022-1035

[51] Mills S, Stanton C, Fitzgerald G F, et al. Enhancing the stress responses of probiotics for a lifestyle from gut to product and back again [J]. Microbial Cell Factories, 2011, 10: S19

[52] Vernazza C L, Gibson G R, Rastall R A. Carbohydrate preference, acid tolerance and bile tolerance in five strains of *Bifidobacterium* [J]. Journal of Applied Microbiology, 2006, 100(4): 846-853

[53] Khaskheli G B, Zuo F L, Yu R, et al. Overexpression of small heat shock protein enhances heat- and salt-stress tolerance of *Bifidobacterium longum* NCC2705 [J]. Current Microbiology, 2015, 71(1): 8-15

[54] Ventura M, Kenny J G, Zhang Z, et al. The *clpB* gene of *Bifidobacterium breve* UCC 2003: transcriptional analysis and first insights into stress induction [J]. Microbiology, 2005, 151(9): 2861-2872

[55] Zomer A, Fernandez M, Kearney B, et al. An interactive regulatory network controls stress response in *Bifidobacterium breve* UCC2003 [J]. Journal of Bacteriology, 2009, 191(2): 7039-7049

[56] Nakamoto H, Vigh L. The small heat shock proteins and their clients [J]. Cellular and Molecular Life Sciences, 2007, 64(3): 294-306

[57] Guan N, Li J, Shin H, et al. Microbial response to environmental stresses: from fundamental mechanisms to practical applications [J]. Applied Microbiology and Biotechnology, 2017, 101(10): 3991-4008

[58] Coucheney F, Desroche N, Bou M, et al. A new approach for selection of *Oenococcus oeni* strains in order to produce malolactic starter [J]. International Journal of Food Microbiology, 2005, 105(3): 463-470

[59] Coucheney F, Gal L, Beney L, et al. A small HSP, Lo18 interacts with the cell membrane and modulates lipid physical state under heat shock conditions in a lactic acid bacterium [J]. Biochimica Et Biophysica Acta, 2005, 1720(1): 92-98

[60] Li Y, Xu X, Qu R, et al. Heterologous expression of *Oenococcus oeni* sHSP20 confers temperature stress tolerance in *Escherichia coli* [J]. Cell Stress and Chaperones, 2018, 23(4): 653-662