

胆盐水解酶基因在植物乳杆菌 KLDS1.0386 中的表达研究

唐雅茹, 李柏良, 李婉, 于上富, 霍贵成

(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: 本文从转录水平上研究了四种胆盐水解酶基因在植物乳杆菌 KLDS1.0386 中不同生长阶段的表达情况, 并且分别以不同浓度的牛磺脱氧胆酸盐和甘氨酸脱氧胆酸盐为底物, 以 16s rRNA 作为内参基因, 利用实时荧光定量 PCR 技术研究不同浓度底物下的胆盐水解酶基因 (*bsh1*、*bsh2*、*bsh3*、*bsh4*) 表达的变化规律。结果显示, 内参基因和目的基因的扩增效率均在 90%~105% 之间, 说明目的基因的表达量可以被很好的反应出来。通过实时荧光定量 PCR 结果分析可知, 植物乳杆菌 KLDS1.0386 中的 4 种胆盐水解酶基因随着生长时间的延长, 表达量显著增加, 而且在两种胆盐中都表达, 基因表达量都被不同剂量 (1%、2%、3%) 的胆盐上调, 上升幅度随着胆盐浓度的增加表现出极显著的增加趋势, 而且胆盐不同, 同浓度时每个基因的表达量也各不相同, 在甘氨酸脱氧胆盐中的表达量普遍高于牛磺脱氧胆盐。

关键词: 胆盐水解酶; 基因表达; 甘氨酸脱氧胆酸盐; 牛磺脱氧胆酸盐

文章编号: 1673-9078(2016)07-79-84

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2016.7.013

Expression of Bile Salt Hydrolase Genes in *Lactobacillus plantarum* KLDS1.0386

TANG Ya-ru, LI Bai-liang, LI wan, YU Shang-fu, HUO Gui-cheng

(Key Laboratory of Dairy Science, Ministry of Education, Northeast Agricultural University, Harbin 150030, China)

Abstract: The expression levels of four key genes encoding bile salt hydrolase in *Lactobacillus plantarum* KLDS1.0386 were investigated at the transcriptional level during the different growth phases. Different concentrations of taurodeoxycholate and glycodeoxycholate were used as substrates, 16s rRNA gene was used as the internal standard, and real-time quantitative polymerase chain reaction (PCR) method was used to detect the variations in the expression of the bile salt hydrolase genes (*bsh1*, *bsh2*, *bsh3*, and *bsh4*) in the presence of taurodeoxycholate and glycodeoxycholate at different concentrations. The results showed that the amplification efficiencies of the reference gene and target genes were in a range of 90~105%, indicating that the expression levels of the target genes were well reflected. The real-time quantitative PCR results showed that the expression levels of four bile salt hydrolase genes increased significantly when the incubation time was prolonged. *bsh1*, *bsh2*, *bsh3*, and *bsh4* were expressed in two types of bile salts. The expression levels were upregulated by bile salts at different concentrations (1%, 2%, and 3%), and the increment exhibited an extremely significant upward trend with increasing bile salt concentrations. Additionally, the expression level of each gene was different in the presence of two different bile salts at the same concentration. The gene expression level was generally higher in the presence of glycodeoxycholate (GDC) than that in the presence of taurodeoxycholate (TDC).

Key words: bile salt hydrolase; gene expression; taurodeoxycholate; glycodeoxycholate

人体血清中胆固醇含量过高是引起心脑血管疾病的主要因素^[1], 减少饮食中胆固醇的摄取及降低体内胆固醇含量可以达到降低血清胆固醇的效果^[2]。近年来, 益生菌降胆固醇受到越来越多的关注, 这些益

收稿日期: 2015-09-22

基金项目: 国家 863 项目 (2011AA100902); 食品安全与营养协同创新中心

作者简介: 唐雅茹 (1990-), 女, 硕士研究生, 研究方向: 食品科学

通讯作者: 霍贵成 (1958-), 男, 博士, 教授, 研究方向: 食品微生物与生物技术

生菌中普遍含有一种能起到降胆固醇作用的酶-胆盐水解酶 (BSH)^[3], BSH 属于 N-末端亲核水解酶家族, 是由胆盐水解酶基因编码的一种胞内酶, 普遍存在于乳杆菌属的细菌中, 是微生物生长代谢过程中产生的一种代谢产物^[4]。肝脏中的胆盐由胆固醇合成, 并与氨基酸和牛磺酸结合形成结合胆盐, 胆盐水解酶可以将体内的结合胆盐水解为游离胆酸和氨基酸, 而游离胆酸的重吸收率低, 致使许多游离胆酸直接随粪便排出体外, 从而使得胆固醇重新合成胆盐, 因此达到降

低体内胆固醇的效果^[5~7]。正因如此,人们对乳酸菌的降胆固醇作用进行不断地深入研究。Xiang-Chao Gu等人对植物乳杆菌 CGMCC No. 8198 的 *bsh1*、*bsh2*、*bsh3*、*bsh4* 基因表达量进行了研究,发现 *bsh1* 不能表达, *bsh2*、*bsh3*、*bsh4* 全部表达,而且重组后 3 种酶都具有降解结合胆盐的能力,但 *bsh2* 基因的降解能力强于 *bsh3* 和 *bsh4* 基因^[8]。而任婧对植物乳杆菌 ST-III 的胆盐水解酶进行克隆表达及其酶活力分析,发现 BSH1-4 四种胆盐水解酶都具有酶活力,同时 BSH1 对结合胆盐的水解能力高于其他 3 种 BSHs^[9]。

本实验以植物乳杆菌 KLDS1.0386 为出发菌株,利用实时荧光定量 PCR 技术在转录水平上研究其胆盐水解酶基因 (*bsh1*、*bsh2*、*bsh3*、*bsh4*) 在不同生长阶段的表达差异以及不同浓度胆盐下的表达情况,并且分别以牛磺脱氧胆酸盐和甘氨酸脱氧胆酸盐为底物,研究基因表达量的差异。为植物乳杆菌的降胆固醇作用提供理论基础。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 菌株

植物乳杆菌 KLDS1.0386 由东北农业大学教育部重点实验室工业微生物菌种保藏中心 (KLDS-DICC) 提供。

1.1.2 培养基

MRS 培养基: 葡萄糖 18.2 g/L、蛋白胨 15.03 g/L、酵母粉 9.97 g/L、乙酸钠 3.13 g/L、柠檬酸氢二铵 2.00 g/L、磷酸氢二钾 2.00 g/L、硫酸锰 0.25 g/L、硫酸镁 0.58 g/L, 充分溶解后用蒸馏水定容至 1 L。121 °C, 15 min 灭菌 (固体培养基在此基础上加琼脂 15 g/L); 胆盐培养基: 在 MRS 培养基中添加结合胆盐。

1.1.3 主要试剂与仪器

RNAprep Pure Bacteria Kit, FastQuant cDNA 第一链合成试剂盒, SYBR® Premix Ex Taq™ II 试剂盒, 均购自北京天根生物技术有限公司; ABI7500 荧光定量 PCR 仪购自美国应用系统公司。

1.2 方法

1.2.1 引物设计及合成

以植物乳杆菌 16S rRNA 作为内参基因, 根据 NCBI 数据库提供的植物乳杆菌胆盐水解酶基因序列, 用 Primer premier6.0 软件分别设计 *bsh1*、*bsh2*、*bsh3*、*bsh4* 基因的引物, 引物序列如表 1 所示。引物送由华大科技公司合成, 使用前用 ddH₂O 稀释至浓度

为 10 μmol/L, -20 °C 保存。

1.2.2 总 RNA 提取和 cDNA 的合成

分别取不同生长阶段的菌以及在加有不同浓度胆盐的培养基中生长 16 h 的菌 1 mL, 离心 (12000 g, 2 min, 4 °C), 仔细吸去上清液, 加入 100 μL 溶菌酶溶液 (20 mg/mL) 重悬菌体, 37 °C 水浴 20 min。按照 RNA 提取试剂盒说明书进行总 RNA 的提取, 利用 1% 的琼脂糖凝胶电泳观察 23S 和 16S 的条带亮度以及宽度, 检验所提 RNA 的完整性。并且通过测定 260 nm 处的吸光值, 检验 RNA 的浓度。

表 1 实时荧光定量 PCR 引物

Table 1 Primers used for real-time RT-PCR

基因名称	引物序列	Tm/°C
16S rRNA	F: CCACCTTCCTCCGGTTTGT	58
	R: GACATGGATACAGGTGGTGCAT	58
<i>bsh1</i>	F: GTTGCCGATGCAGACAGAGA	59
	R: TAAACTCCCTTGTCCATATCACAACA	60
<i>bsh2</i>	F: GTCAGCATCGCAGCACTCTACT	58
	R: GTCITTGACGCGCTCACGTA	59
<i>bsh3</i>	F: ATTTCTCGGGACAAGCTCACTT	58
	R: CGGCTTCCATCACGTTCAA	59
<i>bsh4</i>	F: TCAGCGCCGACTAAATCGTT	59
	R: CGTCGAAGTGCCATGTGAAT	58

RNA 浓度 = OD₂₆₀ × 稀释倍数 × 40

根据 FastQuant cDNA 第一链合成试剂盒对所提 RNA 进行反转录, 最终获得的 cDNA 样品于 -20 °C 保存。

1.2.3 实时荧光定量 PCR

根据 SYBR® Premix Ex Taq™ II 试剂盒进行荧光定量 PCR, 反应体系如表 2-5, 使用 ABI7500 快速实时定量 PCR 仪进行荧光定量 PCR 反应, 不同样品做三次平行重复, 采用两步法 PCR 扩增标准程序, 如表 2。采用两步法 PCR 反应程序: 预变性: 95 °C, 30 s; PCR 反应: 95 °C, 15 s, 60 °C, 34 s。循环 (40 次)。

表 2 荧光定量 PCR 反应体系

Table 2 Fluorescent quantitative PCR solution

试剂	使用量/μL
SYBR® Premix Ex Taq™ II (2×)	10.0
PCR Forward Primer (10 μmol/L)	0.8
PCR Reverse Primer (10 μmol/L)	0.8
ROX Reference Dye (50×)	0.4
DNA 模板	2.0
dH ₂ O (灭菌蒸馏水)	6.0
Total	20.0

荧光定量的结果采用参照基因的 ΔCt 方法对目

的基因的表达量进行分析,内参基因和目的基因的结果取三次平行样的平均值,结果通过 SPSS19 软件进行方差分析, $p<0.05$ 为显著, $p<0.01$ 为极显著。目的基因的相对表达量的公式为:

$$\text{相对表达量} = 2^{-\Delta Ct}$$

$$\Delta Ct = Ct_x - Ct_0$$

注: Ct_x 是内参基因的 Ct 值; Ct_0 为目的基因的 Ct 值。

目的基因相对于校正样本的表达量=实验组/校正组

校正样本是指被选做代表 1 倍目的基因表达量的样本

1.2.4 扩增效率曲线

取 cDNA 作为模板稀释 10 倍,之后依次进行 5 倍稀释,做成 5 个梯度模板,按照表 1 的反应体系混合,在 ABI7500 快速实时定量 PCR 仪上进行荧光定量 PCR 反应,获得目的基因和内参基因的扩增效率曲线,扩增效率 $E = (10^{-1/\text{斜率}} - 1) \times 100\%$ 。

1.2.5 数据分析

利用 SPSS19 分析软件对数据进行方差分析,比较不同生长时间段以及不同胆盐浓度下 *bsh1*、*bsh2*、*bsh3*、*bsh4* 的基因表达差异,*代表差异显著($p<0.05$),**代表差异极显著($p<0.01$)。离散度通过标准差来表示,结果数据用平均值±标准差来表示。

2 结果与讨论

2.1 引物扩增效率的确定

表 3 植物乳杆菌 KLDS1.0386 实时荧光定量 PCR 的扩增效率

Table 3 Amplification efficiency of RT-PCR of *L. plantarum*
KLDS1.0386

基因	扩增曲线方程	R^2	扩增效率/%
16S rDNA	$y = -3.2669x + 15.499$	0.999	102.3
<i>bsh1</i>	$y = -3.5633x + 23.104$	0.9996	90.8
<i>bsh2</i>	$y = -3.4065x + 28.421$	0.9972	96.6
<i>bsh3</i>	$y = -3.356x + 24.069$	0.996	98.6
<i>bsh4</i>	$y = -3.5195x + 31.565$	0.9959	92.4

本实验选用的方法为 SYBR 染料法,通过染料与双链 DNA 结合,发射荧光信号,由引物二聚体或单链二级结构形成的假阳性结果会影响荧光定量的精确性,所以通过计算内参基因(16S rDNA)和目的基因(*bsh1*、*bsh2*、*bsh3* 和 *bsh4*)的扩增效率是非常必要的。以 cDNA 浓度的对数值为横坐标,对应的 Ct 值为纵坐标,绘制扩增效率曲线,得出的扩增曲线方程

如表 3 所示。

从表 3 中可以看出,各个基因的 R^2 都在 0.99 以上,说明扩增曲线的线性关系良好。各基因反应体系的扩增效率都在 90%~105%之间,说明 cDNA 模板质量较好,采用的两步法反应条件恰当,至于扩增效率未达到 100%的原因可能是由于荧光定量 PCR 仪器灵敏度高,容易受到环境的影响,或者在操作过程中稍有疏忽,另一方面可能是由于模板中含有抑制剂,导致反应的 Ct 延迟出现,使得扩增效率有所增加。

2.2 植物乳杆菌 KLDS1.0386 不同生长阶段

bsh 基因表达量的变化

通过荧光定量 PCR 技术对植物乳杆菌 KLDS1.0386 不同生长阶段的 *bsh* 基因相对表达量进行测定,结果如表 4 所示。本实验分别对植物乳杆菌 KLDS1.0386 的生长对数期、稳定初期和稳定期的胆盐水解酶基因表达量进行了相对荧光定量分析,由表 4 可知,随着培养时间的延长,四种胆盐水解酶基因表达量都有显著性增加,其中,*bsh1* 的基因表达量最大,之后依次是 *bsh3*、*bsh2*、*bsh4*,说明 *bsh1* 基因在胆盐水解酶的合成过程中起非常重要的作用,相对而言,*bsh4* 基因表达量最低,虽然随着培养时间的增加,表达量有增长,但依然比 *bsh1*、*bsh2*、*bsh3* 的低。

表 4 植物乳杆菌 KLDS1.0386 *bsh* 基因的相对表达量

Table 4 Relative expression of *bsh* genes in *L. plantarum*

KLDS1.0386			
基因名称	培养时间/h	ΔCt	$2^{-\Delta Ct}$
<i>bsh1</i>	12	-5.49±0.07	2.23×10^{-2}
	15	-5.32±0.07	2.50×10^{-2}
	18	-5.05±0.10	3.03×10^{-2}
<i>bsh2</i>	12	-12.31±0.11	1.97×10^{-4}
	15	-11.18±0.08	4.32×10^{-4}
	18	-10.80±0.04	5.60×10^{-4}
<i>bsh3</i>	12	-8.35±0.19	3.06×10^{-3}
	15	-7.64±0.07	5.01×10^{-3}
	18	-7.58±0.09	5.22×10^{-3}
<i>bsh4</i>	12	-21.27±0.29	3.96×10^{-7}
	15	-20.73±0.56	5.76×10^{-7}
	18	-19.53±0.43	1.32×10^{-6}

以 12 h 的胆盐水解酶基因表达量为对照,分别计算不同培养时间 *bsh1*、*bsh2*、*bsh3*、*bsh4* 基因的表达量相对变化情况。

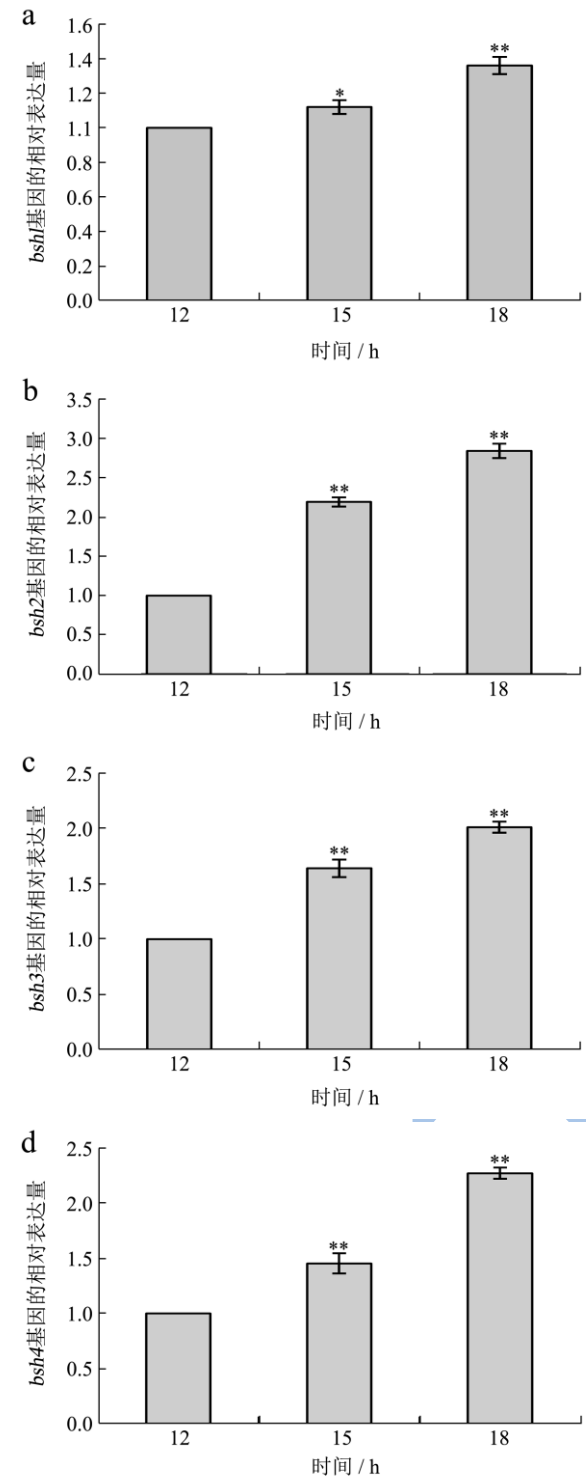


图1 植物乳杆菌 KLDS1.0386 不同生长时期 *bsh* 基因相对表达量比较

Fig.1 Comparison between *bsh1*, *bsh2*, *bsh3*, and *bsh4* gene expression levels during the different growth phases of *L. plantarum* KLDS1.0386

注: a.*bsh1*, b.*bsh2*, c.*bsh3*, d.*bsh4*; 以 12 h 的 *bsh1*、*bsh2*、*bsh3*、*bsh4* 基因的表达量为对照, 并设为 1。

结果如图 1 所示, 15 h 时, *bsh1* 基因表达量显著增长 ($p < 0.05$), 而基因 *bsh2*、*bsh3*、*bsh4* 表现出极

显著增长趋势 ($p < 0.01$), 在 18 h 时, *bsh1*、*bsh2*、*bsh3*、*bsh4* 基因表达量都表现出极显著的变化 ($p < 0.01$), 说明随着时间的延长, 胆盐水解酶合成过程中的 4 个基因表达量都会显著提高, 至于每个基因表达量增加的原因还需进一步探索。每个基因对胆盐水解酶结构以及催化作用的影响也值得深入研究。

2.3 不同胆盐对植物乳杆菌 KLDS1.0386 的 *bsh* 基因表达量的影响

将植物乳杆菌 KLDS1.0386 分别在甘氨酸胆酸盐 (GDC) 和牛磺胆酸盐 (TDC) 浓度为 0%、1%、2%、3% 的 MRS 培养基中培养 15 h 后, 进行 RNA 的提取, 通过相对荧光定量 PCR 技术对 *bsh* 基因的表达量分别进行测定, 结果如表 5 所示。

表 5 *bsh* 基因在不同胆盐下的相对表达量

		salts			
		<i>bsh1</i>	<i>bsh2</i>	<i>bsh3</i>	<i>bsh4</i>
GDC	0%	2.14×10^{-2}	4.32×10^{-4}	5.01×10^{-3}	5.76×10^{-7}
	1%	4.86×10^{-2}	1.89×10^{-3}	2.26×10^{-2}	2.46×10^{-6}
	2%	6.33×10^{-2}	2.58×10^{-3}	4.08×10^{-2}	7.43×10^{-6}
	3%	8.84×10^{-2}	4.40×10^{-3}	5.78×10^{-2}	9.16×10^{-6}
TDC	1%	4.93×10^{-2}	1.32×10^{-3}	9.59×10^{-3}	2.29×10^{-6}
	2%	6.22×10^{-2}	1.88×10^{-3}	1.36×10^{-2}	5.99×10^{-6}
	3%	6.75×10^{-2}	2.69×10^{-3}	1.87×10^{-2}	8.82×10^{-6}

从表 5 可知, 不同胆盐浓度下, 4 种 *bsh* 基因的表达量有很大的变化, 随着胆盐浓度的增加, *bsh1*、*bsh2*、*bsh3*、*bsh4* 基因的表达量都被上调, 而且胆盐不同, 同浓度时每个基因的表达量也各不相同。

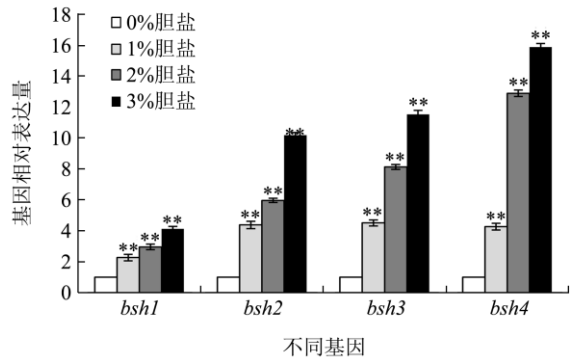


图2 *bsh* 基因在不同浓度甘氨酸胆酸盐下的相对表达量

Fig.2 Relative expression level of *bsh* genes in the presence of different concentrations of GDC

以未加甘氨酸胆酸盐的目的基因表达量为参照, 分别计算甘氨酸胆酸盐添加量为 1%、2%、3% 时基因 *bsh1*、*bsh2*、*bsh3*、*bsh4* 的相对表达量倍数的

变化,结果如图2所示。

由图2可知,随着甘氨脱氧胆盐浓度的增加,各基因的表达量都出现了极显著增加的趋势($P<0.01$),说明胆盐的添加,上调了胆盐水解酶各基因的表达量,表明了植物乳杆菌 KLDS1.0386 的胆盐水解酶在胆盐耐受性和降胆固醇方面发挥着重要的作用。*bsh1* 基因的相对表达量的增加幅度明显低于 *bsh2*、*bsh3*、*bsh4*,说明 *bsh1* 基因在 BSH 的水解能力方面发挥的作用可能不如基因 *bsh2*、*bsh3*、*bsh4* 大,但其基因表达量依然是最高的,*bsh1* 基因对 BSH 的合成仍然起到决定性的作用。

以未加牛磺脱氧胆酸盐的目的基因表达量为参照,分别计算牛磺脱氧胆酸盐添加量为1%、2%、3%时基因 *bsh1*、*bsh2*、*bsh3*、*bsh4* 的相对表达量倍数的变化,结果如图3所示。

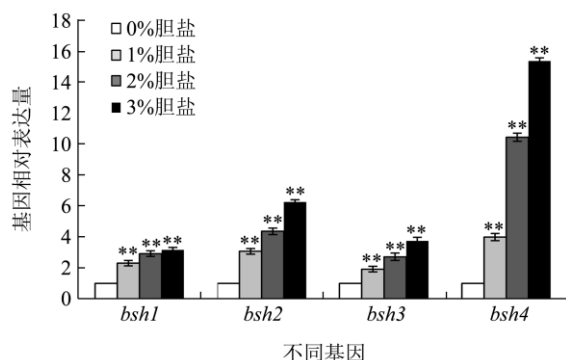


图3 *bsh* 基因在不同浓度牛磺脱氧胆酸盐下的相对表达量
Fig.3 Relative expression levels of *bsh* genes in the presence of different concentrations of TDC

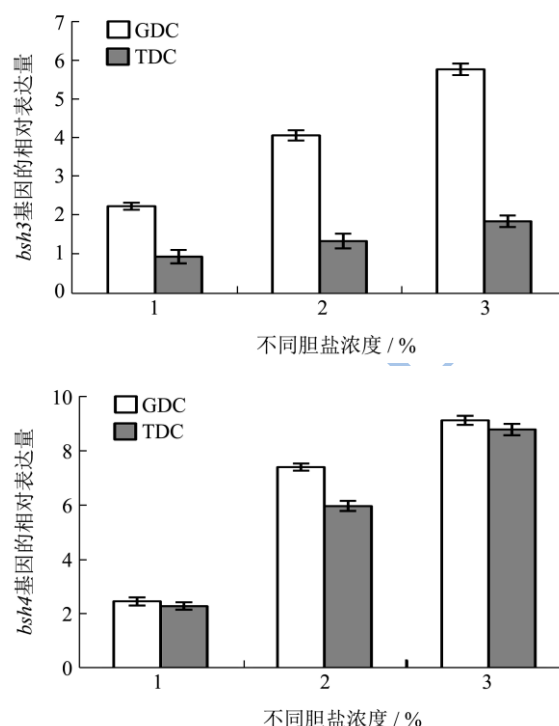
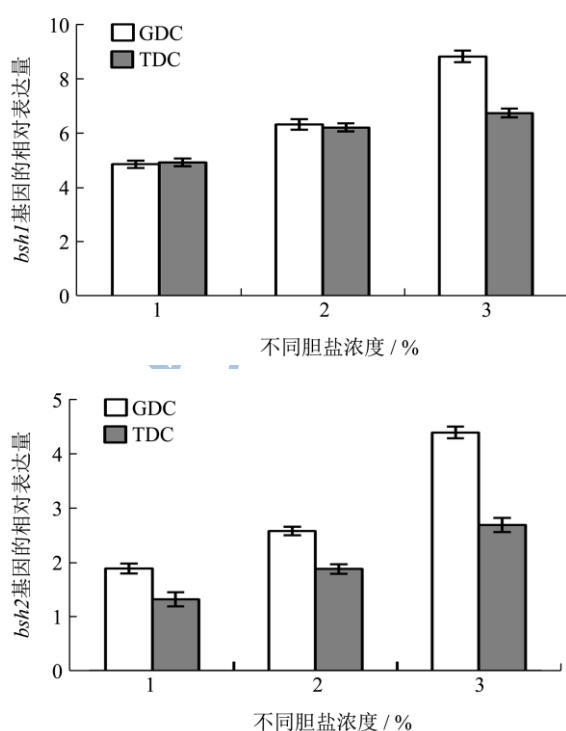


图4 *bsh* 基因在不同胆盐下的基因表达量比较

Fig.4 Comparison of the relative expression levels of *bsh* genes in different bile salts

注: *bsh1* 和 *bsh3* 基因表达量 $\times 10^{-2}$, *bsh2* 基因表达量 $\times 10^{-3}$, *bsh4* 基因表达量 $\times 10^{-6}$ 。

由图3可知,添加牛磺脱氧胆酸盐后,胆盐水解酶各基因的表达量都有极显著增加($p<0.01$),其中 *bsh4* 基因的增加幅度最大,说明加入的牛磺脱氧胆盐对 *bsh4* 基因的刺激比较大,从而使得表达量极显著的增加,也说明了该基因对 BSH 水解胆酸盐的作用起到更加重要的影响。

胆盐水解酶具有底物特异性,由表5可知,胆盐水解酶对甘氨结合胆盐和牛磺结合胆盐都具有水解作用,但对甘氨结合胆盐的降解能力高于牛磺结合胆盐。分别对植物乳杆菌 KLDS1.0386 在不同底物下的基因表达量进行比较分析,结果如图4所示。

由图4可知,4种基因在甘氨结合胆盐中的基因表达量高于牛磺结合胆盐,其中, *bsh2* 基因和 *bsh3* 基因在甘氨脱氧胆酸盐和牛磺脱氧胆酸盐中的表达量差异极显著,这与植物乳杆菌 KLDS1.0386 在甘氨结合胆盐中的 BSH 酶活高于牛磺结合胆盐相一致,说明甘氨结合胆盐对 *bsh* 基因的刺激强于牛磺结合胆盐,胆盐从 mRNA 水平上对 *bsh* 基因进行调节,在转录水平上影响了 *bsh* 基因的表达。同时也证实了 BSH 在转录过程中能识别结合胆盐的氨基酸侧链,从而形成了 BSH 的底物特异性。

3 结论

3.1 本实验采用实时荧光定量 PCR 方法对植物乳杆菌 KLDS1.0386 的 *bsh* 基因在不同生长阶段的基因表达量进行了分析, 并且对在浓度为 0%、1%、2% 和 3% 甘氨脱氧胆盐 (GDC) 和牛磺脱氧胆酸盐 (TDC) 下的相对基因表达量分别进行分析, 发现随着两种胆盐浓度的增加, *bsh1*、*bsh2*、*bsh3*、*bsh4* 各基因的表达量都出现了极显著增加的趋势 ($P < 0.01$), 同时 4 种基因在甘氨结合胆盐中的相对基因表达量都高于牛磺结合胆盐。胆盐水解酶基因对胆盐水解酶降解结合胆盐的贡献大小取决于这四种基因的表达量以及这四种基因编码的胆盐水解酶的酶活力, 本文对胆盐水解酶 4 种基因在两种结合胆盐下的表达量进行了研究, 而它们各自编码的胆盐水解酶的活力需要进一步的研究。

3.2 目前, 对胆盐水解酶基因在细菌中的表达研究的较少, Xiang-Chao Gu 等^[8]人对植物乳杆菌 CGMCC No. 8198 的 *bsh2*、*bsh3*、*bsh4* 基因进行了克隆表达研究, 发现重组后 3 种酶都具有降解结合胆盐的能力, 但 *bsh2* 基因的降解能力强于 *bsh3* 和 *bsh4* 基因。Molenaar 等^[10]的研究也说明, 植物乳杆菌中 *bsh2-4* 表达, 而 *bsh1* 不表达。任婧等^[9]对植物乳杆菌 ST-III8 同时 BSH1 对结合胆盐的水解能力高于其他 3 种 BSHs。这些研究说明, 植物乳杆菌中胆盐水解酶基因的表达情况不尽相同, 本实验对此领域的研究具有一定的扩充作用, 为更进一步研究植物乳杆菌中的胆盐水解酶表达机制提供一定的理论基础。

参考文献

- [1] Ross R. The pathogenesis of atherosclerosis: a perspective for the 1990s [J]. Nature, 1993, 362: 801-809
- [2] Jeun J, Kim S, Cho SY, et al. Hypocholesterolemic effects of *Lactobacillus plantarum* KCTC3928 by increased bile acid excretion in C57BL/6 mice [J]. Nutrition, 2010, 26: 321-330
- [3] Grill J, Cayuela C, Antoine J, et al. Isolation and characterization of a *Lactobacillus amylovorus* mutant depleted in conjugated bile salt hydrolase activity: relation between activity and bile salt resistance [J]. J Appl Microbiol, 2000, 89: 553-563
- [4] Lambert JM, Bongers RS, de Vos WM, et al. Functional analysis of four bile salt hydrolase and penicillin acylase family members in *Lactobacillus plantarum* WCFS1 [J]. Appl Environ Microbiol, 2008, 74: 4719-4726
- [5] Ridlon JM, Kang DJ, Hylemon PB. Bile salt biotransformations by human intestinal bacteria [J]. J Lipid Res, 2006, 47(2): 241-259.
- [6] Takemura N, Okubo T, Sonoyama K. *Lactobacillus plantarum* strain No. 14 reduces adipocyte size in mice fed high-fat diet [J]. Exp Biol Med, 2010, 235:849-856
- [7] Tian H, Luo XG, Han Z, et al. Identification and characterization of *Lactobacillus plantarum* TH1 [J]. Adv Intell Soft Comput, 2012, 134: 31-37
- [8] Gu XC, Luo XG, Wang CX, et al. Cloning and analysis of bile salt hydrolase genes from *Lactobacillus plantarum* CGMCC No. 8198 [J]. Biotechnol Lett, 2014, 36(5): 975-983
- [9] 任婧,姚晶.植物乳杆菌 ST-III胆盐水解酶的表达及其酶活力分析[J].食品科学,2012,33(17):165-168
REN Jing, YAO Jing. Expression and activity analysis of bile salt hydrolases from *Lactobacillus plantarum* ST-III [J]. Food Science, 2012, 33(17): 165-168
- [10] Molenaar D, Bringel F et al. Exploring *Lactobacillus plantarum* genome diversity by using microarrays [J]. J. Bacteriol., 2005, 187: 6119-6127