

## 分子伴侣蛋白介导的革兰阴性菌耐酸机制研究进展

朱 浩, 刘 楠\*

(中国药科大学生命科学与技术学院, 南京 210009)

**摘 要** 微生物在酸胁迫下的耐受能力对于菌株的生长和工业化生产均具有重要意义。当细菌细胞面临外界酸性环境压力时, 周质空间蛋白质相对胞内蛋白受到更大酸性压力, 所受酸性伤害也比胞内蛋白质更为严重。在革兰阴性菌耐酸过程中, 除了胞内的脱羧酶系统外, 分子伴侣作为一种重要的“纠错”机制可参与识别并保护蛋白质的空间结构。本文介绍了HdeA、HdeB、DnaK和GroEL等分子伴侣在功能、结构、耐酸机制以及应用前景等方面的研究现状, 阐述了分子伴侣介导的耐酸机制的调控方式。深入探究和解析分子伴侣对酸胁迫环境的生理适应策略, 以期利用这些研究对目的菌株进行生理性能改造, 提高菌株在酸性胁迫环境下的存活能力和耐受性, 对工业化发酵、临床抗菌治疗靶点的发现等具有重要意义。

**关键词** 革兰阴性菌; 大肠埃希菌; 酸胁迫; 周质空间; 分子伴侣; 进展

**中图分类号** R378 **文献标志码** A **文章编号** 1000-5048(2021)02-0164-07

doi: 10.11665/j.issn.1000-5048.20210204

**引用本文** 朱浩, 刘楠. 分子伴侣蛋白介导的革兰阴性菌耐酸机制研究进展[J]. 中国药科大学学报, 2021, 52(2): 164 - 170.

**Cite this article as:** ZHU Hao, LIU Nan. Advances in research progress on acid tolerance mechanism of Gram-negative bacteria mediated by molecular chaperone protein[J]. J China Pharm Univ, 2021, 52(2): 164 - 170.

## Advances in research progress on acid tolerance mechanism of Gram-negative bacteria mediated by molecular chaperone protein

ZHU Hao, LIU Nan\*

School of Life Science and Technology, China Pharmaceutical University, Nanjing 210009, China

**Abstract** The tolerance of microorganism under acid stress is of significant importance to the growth and industrial production of bacterial strain. When the bacterial cells are exposed to the external acid environment, proteins in periplasmic space are under higher acid stress and are thus more susceptible to severe damage from acid than the intracellular protein, and these are also more susceptible to severe damage from acid than the intracellular protein. During the acid-resisting process of Gram-negative bacteria, in addition to the intracellular decarboxylase system, the molecular chaperone can also participate in the identification and protection of the space structure of protein as an important "correcting" mechanism. This paper reviews the current researches on the function, structure, acid-resisting mechanism of various molecular chaperones, including HdeA, HdeB, DnaK and GroEL. Finally, the research progress of the acid-resisting mechanism among Gram-negative bacteria is summarized. Through in-depth investigation and analysis of the physiological adaptation strategy of molecular chaperone to the acid stress environment, this study can help to conduct physiological property modification of target strain and improve their viability and tolerance in acid stress environment, which has its important theoretical and practical significance.

**Key words** Gram-negative bacteria; *E. coli*; acid stress; periplasmic space; molecular chaperone; advance

This study was supported the National Key Research and Development Program of China (No. 2018YFA0902000)

**收稿日期** 2020-05-04 **\* 通信作者** Tel: 13952032898 E-mail: liunan@cpu.edu.cn

**基金项目** 国家重点研发计划资助项目(No. 2018YFA0902000)

自然界中微生物生长或工业生产过程中会遇到各种外界环境压力,如高温<sup>[1]</sup>、强酸强碱<sup>[2]</sup>、高渗<sup>[3]</sup>及氧化<sup>[4]</sup>胁迫等。在长期进化过程,微生物已形成了一整套响应外界压力的应对机制,如细胞膜组分由短链饱和脂肪酸向长链饱和脂肪酸转化引起的信号通路变化<sup>[5]</sup>,生理、生化和 $F_1F_0$ -ATP 酶和分子外排泵相关的代谢过程<sup>[6]</sup>,脱羧和脱氨基<sup>[7]</sup>等一系列酶促反应等。以大肠埃希菌为代表的革兰阴性菌在长期进化过程中利用这一系列生理、代谢过程及质子消耗等机制,抵御外界酸性环境对菌株生长的影响,主要机制包括由 HdeA/B 分子伴侣介导的周质空间耐酸机制、代谢相关的谷氨酸脱羧酶途径(acid resistance 3, AR2)和精氨酸脱氨酶途径(acid resistance 3, AR3)的耐酸机制以及与耐酸基因相关的二元调控系统等。

革兰阴性菌为双层膜结构,外层膜上具有非专一性通道蛋白,允许小分子物质进出,其中氢离子可在相关通道蛋白进入周质空间时,对菌体造成酸胁迫,导致周质空间重要代谢相关蛋白质错误折叠,影响其表达<sup>[8]</sup>。在革兰阴性菌的周质空间中存在与菌体耐酸机制密切相关的分子伴侣,其帮助保护新生蛋白质的折叠以及在酸性环境压力下失去活性的蛋白质重折叠,使其回复活性<sup>[9]</sup>。因此,系统研究革兰阴性菌周质空间中分子伴侣的结构、耐酸机制及调控方式就显得尤为重要。

## 1 周质空间及分子伴侣的结构及功能

### 1.1 革兰阴性菌周质空间的结构

周质空间(periplasmic space),又称周质(periplasm)或壁膜间隙,是革兰阴性菌细胞膜与外膜之间的间隔区域。周质空间蛋白主要分为4类:第一类为水解酶类,例如蛋白酶、核酸酶等;第二类为合成酶类,例如肽聚糖合成酶;第三类为结合蛋白,具有运输营养物质的作用;最后一类为底物蛋白,主要与细胞的趋化性有关<sup>[10]</sup>。当细胞面临外界酸性环境压力时,周质空间蛋白质较胞内蛋白受到酸性压力更大,所受酸性伤害也比胞内蛋白质更严重。在革兰阴性菌耐酸过程中,除了胞内多种脱羧酶系统外,分子伴侣可识别并保护蛋白质空间结构,使其维持活性状态,避免沉淀降解,是调控革兰阴性菌耐酸途径的重要分子之一。

### 1.2 革兰阴性菌的分子伴侣

多数蛋白质是边翻译边折叠过程,需要相关酶以及分子伴侣的参与。细胞中某些蛋白质分子可以识别正在合成的多肽链或部分折叠的多肽并将这些蛋白质转运至相应功能部位,从而帮助多肽转运、折叠和装配,这类分子本身并不参与最终产物的形成,被称为分子伴侣<sup>[11]</sup>。根据功能分子伴侣主要有热休克蛋白 70(Hsp70)和热休克蛋白 60(Hsp60)两大家族:Hsp70 与部分折叠的蛋白质暴露在外的疏水区有效地结合,防止它们彼此之间聚合在一起<sup>[12]</sup>;Hsp60 则自身形成桶装结构,没有折叠的蛋白质可以在其中进行有效的折叠<sup>[13]</sup>。所有的分子伴侣都具有 ATP 酶活性从而通过水解 ATP 有利于克服蛋白质折叠过程中遇到的能障。在大肠埃希菌中,已知主要参与周质空间耐酸反应的分子伴侣为 HdeA、HdeB,此外,在一些嗜酸菌如 *Picrophilus oshimae* 中,由 GroEL、DnaK 组成的分子伴侣耐酸体系,同样可在 ATP 的协助下发挥其保护周质空间蛋白质的功能<sup>[14]</sup>。

### 1.3 革兰阴性菌的分子伴侣结构

Hsp70 是一类从古细菌、植物到人类几乎所有生物体中均有发现且进化最为保守的热休克蛋白质。Hsp70 由 45 kD N-末端核苷酸结合结构域(nucleotide binding domain, NBD)和 25 kD 的 C-末端底物结合结构域(substrate binding domain, SBD)组成<sup>[15]</sup>。NBD 具有结合和水解 ATP 的功能,由两个亚结构域(I 和 II)组成,两个亚结构域又被进一步分成 4 个子域(IA、IIA、IB、IIB)。在 I 和 II 两个亚结构域间有裂缝,核苷酸结合位点位于裂缝的底部<sup>[16]</sup>。不同外界环境的刺激可诱导 Hsp70 发挥帮助蛋白质正确折叠<sup>[17]</sup>、保护细胞免受外界环境刺激<sup>[18-19]</sup>和抗氧化作用<sup>[20]</sup>等生物学功能。Hsp60 存在于所有的原核及真核生物的线粒体和叶绿体中,原核生物中 Hsp60 的类似物是大肠埃希菌中的伴侣蛋白 GroEL,而在真核生物中的线粒体中以 Hsp60 形式存在,Hsp60 在线粒体外区域中以单体或低聚体的形式存在,除扮演分子伴侣功能外,并具有协调细胞凋亡、参与炎症与免疫反应等功能,与神经系统疾病相关<sup>[21-22]</sup>。在革兰阴性菌中,与耐酸密切相关的热休克蛋白包括属于 Hsp70 的 HdeA/B、DnaK 和属于 Hsp60 的 GroEL 等。

研究表明,HdeA 和 HdeB 是调节细菌细胞在

酸性环境下生理活性重要的分子伴侣蛋白。HdeA和HdeB序列相似度较低,但它们的单体结构具有较高的相似性,核心结构均由4个 $\alpha$ -螺旋包裹形成疏水区<sup>[23]</sup>。中性环境下形成同型二聚体,但HdeA与HdeB单体排列组成方式不同。HdeA两个 $\alpha$ -螺旋平行相对,而HdeB呈垂直分布<sup>[24]</sup>,但两种二聚体 $\alpha$ -螺旋均包裹疏水表面,与周质空间蛋白结合的主要部位,当疏水区表面的氨基酸被取代时,其失去与底物蛋白结合能力<sup>[25]</sup>。此外,在面对酸性环境压力的刺激下,GroEL、DnaK也可防止蛋白聚集并修复受损蛋白<sup>[26]</sup>。

## 2 分子伴侣介导的耐酸机制

尽管蛋白质的空间结构与其氨基酸序列相关,但细胞在面对外界压力如高温、强离子浓度以及强酸碱度等极端环境时,胞内新生肽链经常不能正确折叠,倾向于形成非天然状态下的空间结构,这些异常空间结构会暴露出内部疏水区,发生蛋白质的聚集,影响细胞正常功能,甚至造成细胞死亡。因此,细菌细胞需要利用胞内相关“纠错”系统,应对外界环境压力的影响,而针对于酸性环境的压力的过程中,位于周质空间区域的蛋白质最易受到pH变化的影响,故其空间中分子伴侣这套“纠错”系统产生了重要的作用,不同的分子伴侣耐酸机制有异同(图1)。

### 2.1 HdeA/B分子伴侣

在大肠埃希菌及布氏杆菌 *Brucella abortus* 中敲除HdeA/B基因可明显降低其在酸性环境下存

活率,回补HdeA或HdeB基因后,则可增加菌株存活率<sup>[27]</sup>。HdeA/B主要通过疏水力作用结合底物蛋白,在中性环境下,HdeA与HdeB形成无活性二聚体;当细胞处于强酸环境( $\text{pH} < 3$ ),HdeA与HdeB可感知细胞外氢离子浓度变化,HdeA/B从无活性的二聚体解离为单体,暴露疏水区域与底物蛋白结合,保护底物蛋白免受酸性环境的伤害<sup>[28]</sup>。此外,体外实验结果显示:HdeA与HdeB发挥保护蛋白活性的最适pH不同,在pH为2时,HdeA活性高于HdeB,二聚体分离较完全;pH为3时,则HdeB较高,完全解离为单体状态<sup>[29]</sup>。

在酸性环境下,周质空间蛋白DegP和SurA是HdeA的主要底物蛋白;在中性环境下,DegP和SurA可帮助受HdeA蛋白保护的底物蛋白重新折叠并恢复其活性,故称DegP和SurA为保护伴侣蛋白的伴侣蛋白(chaperone-protecting-chaperone),是革兰阴性菌重要的耐酸机制之一<sup>[28]</sup>。北京大学陈鹏课题组利用新一代可切割型光交联探针DiZSeK与荧光差异双向凝胶电泳(2D-DIGE)相结合,检测周质空间中与HdeA/B分子伴侣直接作用的底物蛋白,结果显示在酸性环境下,转运蛋白、代谢酶、膜蛋白、脂蛋白及蛋白酶等周质空间蛋白质与HdeA/B作用,完整地阐释了细菌抵御酸胁迫过程中pH对于分子伴侣的底物特异性调控机制,即pH通过系统地调控HdeA/B及底物蛋白的折叠状态与功能,使分子伴侣蛋白在不同条件下逐步激活,协同分工保护底物蛋白,并在其释放后帮助重新折叠<sup>[30]</sup>。

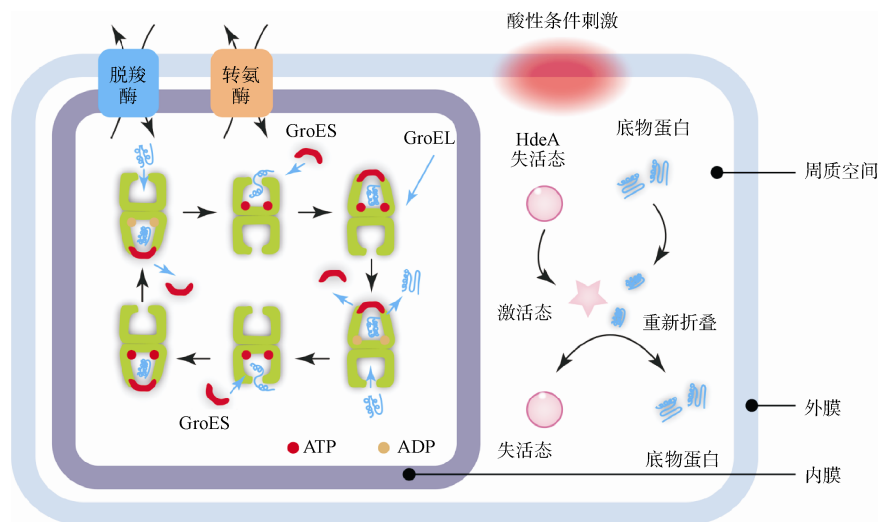


图1 分子伴侣耐酸机制



## 2.2 GroEL 分子伴侣

GroEL 是一种由 14 个亚基组成的同型寡聚复合体,呈双环圆桶状结构。3 个主要功能域:含待折叠蛋白结合位点以及 GroES 结合位点的顶部结构域、中间结构域以及 ATP 结合位点的赤道结构域。GroES 充当桶顶部的圆盖,可以和 GroEL 分开。待折叠肽链进入圆筒内部以后,顶盖合上,肽链在内部与桶壁发生多次可逆结合,每一次结合由 ATP 水解所驱动,在最终折叠成特定的三维结构之前可能会消耗大量的 ATP<sup>[31-32]</sup>。一旦折叠完毕,便从 GroES-GroEL 复合物中释放出来。当外界环境遭遇酸胁迫时,由分子伴侣蛋白组成的抗逆体系,可帮助蛋白质正确折叠、组装、转运及降解,从而促进细胞自我修复,适应外界环境压力。研究发现 pH 的降低可引起 *At. thiooxidans* 中 ZJJN-3 核心的修复分子伴侣 GrpE、DnaK、DnaJ 转录水平上调,从而确保在酸胁迫下蛋白的正确折叠<sup>[33]</sup>。

研究显示,革兰阴性菌可通过不同热休克基因表达,使其在动态环境中耐受应激环境,尤其是酸性环境<sup>[34]</sup>。在协助底物蛋白去折叠过程中,GroEL 进化出多种机制协助底物蛋白进行去折叠过程,Dahjya 等<sup>[35]</sup>认为 GroEL 仅促进底物去折叠,但不改变去折叠速率。通过折叠中间体模型发现,底物 RCAM-T1 被牢牢地结合在 GroEL 上,使平衡向着去折叠方向进行。但一些蛋白的去折叠过程也可通过 GroEL 促进其去折叠速率,一旦 GroEL 参与其去折叠过程,去折叠速率明显增加<sup>[36]</sup>。

## 2.3 DnaK 分子伴侣

DnaK 是一种 ATP 依赖的分子伴侣蛋白,可参与酸性环境刺激下大肠埃希菌中蛋白质的保护过程。在细菌中 DnaK 属于热休克蛋白 70 家族,具有 NBD 以及 SBD 两结构域。ATP 存在情况下,DnaK 与 ATP 紧密结合形成单聚体,无 ATP 时 DnaK 以无序低聚物存在。DnaK 是大肠埃希菌中重要的应激型分子伴侣,其转录和蛋白表达水平在酸胁迫的细菌细胞中均会提高。在外界酸性环境刺激下,它可与 GroEL 分子伴侣相互协作,帮助蛋白质正确折叠以及修复损伤蛋白<sup>[37]</sup>。Abdullah 等<sup>[38]</sup>在乳酸菌 NZ9000 中异源表达大肠埃希菌 DnaK 基因,发现 DnaK 可以提高其对乳酸的耐受水平,异源表达菌株对于 pH 等环境压力较野生型菌株存活率提高 4.6 倍,GroEL 等分子伴侣蛋白表达水平显著

提高<sup>[39]</sup>。

## 3 分子伴侣介导耐酸机制的调控方式

微生物在适应外界酸性环境过程中,进化出多种应对机制来回应酸性环境信号。近年来提高微生物酸胁迫的耐受性成为人们研究热点,主要途径包括全局调控工程、过表达微生物耐酸相关热休克蛋白、人工诱变或基因组改组等以提高微生物对酸的耐受性<sup>[40]</sup>。

### 3.1 全局调控因子

全局转录调控工程(global transcription machinery engineering, gTME)是通过改造和进化全局转录因子、转录机器等关键蛋白,构建高度多样、复杂的转录调控突变文库,在转录水平上产生新型的丰富多样性,实现对基因表达网络和细胞代谢重编程,并以定向进化方式加以迭代,从而使细胞获得所期望的表型。针对细胞酸胁迫的复杂性,可利用 gTME 从转录全局角度来调控周质空间伴侣分子的活性而抵抗耐酸胁迫<sup>[41]</sup>。H-NS 是一种典型的全局调控因子,与转录抑制相关的 DNA 结合蛋白,在大肠埃希菌中主要调节与环境应答相关基因<sup>[42-43]</sup>。H-NS 可自身结合形成二聚体,在大肠埃希菌中过表达 H-NS 基因后通过转录组学手段显示,H-NS 可调控许多耐酸机制基因,导致细菌耐酸能力变化,如 HdeA、HdeB、HdeD,这表明 H-NS 是大肠埃希菌耐酸过程重要的调控因子<sup>[44]</sup>。Gao 等<sup>[45]</sup>通过易错 PCR 等技术,在大肠埃希菌 MG1655 菌中构建 H-NS 突变体文库,获得在酸性环境下菌株生长能力显著提高的耐酸菌株,突变型菌株较野生型菌株在酸性环境下生长密度提高 24%。进一步通过转录组学分析显示,H-NS 突变体可显著激活 AR2 途径以及 HdeA 和 HdeB,从而达到提高大肠埃希菌耐酸能力的目的。

### 3.2 ABC 转运体

ABC 转运体(ATP-binding cassette transporter)是所有转运体家族中最大的一类转运体,广泛分布于从原核生物到人类几乎所有的物种中<sup>[46]</sup>。大部分 ABC 家族转运体都是跨膜蛋白,通过偶联 ATP 水解释放的能量来转移底物。ABC 转运体结构由 2 个跨膜结构域(transmembrane domain, TM)和 2 个 NBD 组成。乳酸乳球菌在工业发酵过程中会大量积累乳酸及其他酸性代谢产物,影响细胞

生长及代谢活动,降低发酵产量<sup>[47]</sup>。Zhu等<sup>[48]</sup>在乳酸乳球菌 *L. lactis* NZ9000中过表达ABC转运体的4种基因 RbsA、RbsB、MsmK及DppA,结果显示4组重组菌株酸性环境下生长2 h后较野生型菌株存活率分别提高7.0、10.3、163.3、2.0倍,转录组学数据显示4种重组菌株中耐酸基因的表达较野生型菌株同样显著性提高。4种ABC转运体蛋白的过表达可显著提高乳酸乳球菌的耐酸性。可见改善细菌酸性环境下耐受程度,有助于高质量发酵产品的生产。

### 3.3 其他压力反应调控蛋白

在革兰阴性菌中还存在调控其他压力反应的基因,通过调节这些基因的活性也可以改变菌体对酸的耐受。RpoS是一般酸胁迫反应的主要调控因子,可调控特异性耐酸基因的表达,感知氧化应激、高温、高压以及酸性环境压力<sup>[49]</sup>,酸胁迫过程中,可促进革兰阴性菌如 *Shigella flexneri* 细胞膜组成改变,降低细胞膜流动性,抑制H<sup>+</sup>的入侵,提高细胞生存能力; *GadEWX*<sup>[50]</sup>、*RcsB* 基因<sup>[51]</sup>会影响AR2途径中GadA和GadX的表达,在大肠埃希菌 *Escherichia coli* K-12 MG1655中敲除 *GadEWX* 基因,通过转录组及生长状况显示, *GadEWX* 基因的表达与GadA的表达呈正相关, *GadEWX* 的敲除可降低菌株酸性环境下存活率;在肺炎链球菌 *Klebsiella pneumoniae* CG43S3中敲除 *RcsB* 可显著降低酸胁迫下菌株存活率并影响 *GadA* 基因的表达;此外 *RcsB* 与 *KvhA* 基因均可调控HdeB、HdeD和YfdX,从而影响细菌细胞内的耐酸能力;大肠埃希菌 *Escherichia coli* K-12中EvgA会通过调控YdeO蛋白活化HdeA及HdeB,提高其耐酸能力<sup>[52]</sup>;在痢疾杆菌 *Shigella Flexneri* 中EvgS/EvgA双分子信号传递系统是一种致病性相关调控基因,参与抗生素抗性基因与耐酸基因的调控, *Fur* 基因可间接调控EvgA,从而影响下游耐酸基因的作用<sup>[53]</sup>。

中科院天津工业生物技术研究所刘君课题组通过适应性进化策略结合转录组测序,在谷氨酸棒杆菌 *C. glutamicum* ATCC 13032中,通过连续70 d的酸性环境刺激进化,筛选得到耐酸菌株。通过比较分析进化菌株与野生型菌株细胞结构、生长曲线、活性氧水平以及转录组表达水平,结果显示适应性进化策略可使得菌株更好保持酸胁迫环境下胞内完整性,维持了更高的胞内pH及较低的活

性氧水平(较野生型降低61%),酸胁迫下较野生型菌株存活率提高39%,此外,研究中还发现和鉴定出多个候选抗酸元件,如铜伴侣蛋白Cg1328、细胞分裂蛋白FtsE/X、脂肪酸合成酶Fas、分子伴侣HscA等。进一步研究揭示,过氧化氢酶-饥饿诱导DNA保护蛋白(KatA-Dps)介导的胞内活性氧清除过程和硫代谢调控因子(McbR)介导的硫元素同化抑制效应能够协同参与谷氨酸棒杆菌的低酸胁迫耐受应答,是影响谷氨酸棒杆菌抗酸生理性能的重要因素,有助于更好理解菌株酸胁迫下生理适应策略,为耐酸菌株的开发提供了一种全新的思路<sup>[54]</sup>。

## 4 展望

细菌细胞在各种环境压力下,通过长期进化,形成多种应对机制来应对各种压力环境。其中酸性环境下细菌细胞的耐酸机制是令人关注的研究方向之一。目前已知多种氨基酸脱羧酶系统(AR2-AR5)、细胞间质空间分子伴侣的作用(HdeA、HdeB),此外还有多种关键基因的表达可影响细菌细胞内耐酸机制(H-NS、ABC transporter、RcsF、RcsC等),这些机制的发现对于无论是工业化发酵过程,还是临床抗菌治疗靶点的发现均具有重要作用,也对蛋白质间相互作用的检测提供了理论基础。因此,深入探究和解析分子伴侣对低酸胁迫环境的生理适应策略,以期利用这些知识对目的菌株进行生理性能改造,提高菌株在酸性胁迫环境下的存活能力和耐受性,从而充分发挥其应用价值,具有重要理论和现实指导意义。

## References

- [1] Cheng C, Kao KC. Microbiology. how to survive being hot and inebriated [J]. *Science*, 2014, **346**(6205): 35-36.
- [2] Xu Y, Zhao Z, Tong W, et al. An acid-tolerance response system protecting exponentially growing *Escherichia coli* [J]. *Nat Commun*, 2020, **11**(1): 1496.
- [3] Nguyen TY, Cai CM, Kumar R, et al. Overcoming factors limiting high-solids fermentation of lignocellulosic biomass to ethanol [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2017, **114**(44): 11673-11678.
- [4] Li S, Giardina DM, Siegal ML. Control of nongenetic heterogeneity in growth rate and stress tolerance of *Saccharomyces cerevisiae* by cyclic AMP-regulated transcription factors [J]. *PLoS*

- Genetics*, 2018, **14**(11): e1007744.
- [5] Kanjee U, Houry WA. Mechanisms of acid resistance in *Escherichia coli* [J]. *Annu Rev Microbiol*, 2013, **67**: 65-81.
- [6] Sun Y, Fukamachi T, Saito H, *et al.* Respiration and the F<sub>1</sub>F<sub>0</sub>-ATPase enhance survival under acidic conditions in *Escherichia coli* [J]. *PLoS One*, 2012, **7**(12): e52577.
- [7] Pennacchietti E, D'alonzo C, Freddi L, *et al.* The glutaminase-dependent acid resistance system: qualitative and quantitative assays and analysis of its distribution in enteric bacteria [J]. *Front Microbiol*, 2018, **9**: 2869.
- [8] Wollmann P, Zeth K. The structure of RseB: a sensor in periplasmic stress response of *E. coli* [J]. *J Molecul Biol*, 2007, **372**(4): 927-941.
- [9] Merdanovic M, Clausen T, Kaiser M, *et al.* Protein quality control in the bacterial periplasm [J]. *Annu Rev Microbiol*, 2011, **65**: 149-168.
- [10] Sklar JG, Wu T, Kahne D, *et al.* Defining the roles of the periplasmic chaperones SurA, Skp, and DegP in *Escherichia coli* [J]. *Genes Dev*, 2007, **21**(19): 2473-2484.
- [11] Hartl FU, Bracher A, HayerHartl M. Molecular chaperones in protein folding and proteostasis [J]. *Nature*, 2011, **475** (7356): 324-332.
- [12] Willmund F, Del Alamo M, Pechmann S, *et al.* The cotranslational function of ribosome-associated Hsp70 in eukaryotic protein homeostasis [J]. *Cell*, 2013, **152**(1/2): 196-209.
- [13] Böttinger L, Oeljeklaus S, Guiard B, *et al.* Mitochondrial heat shock protein (Hsp) 70 and Hsp10 cooperate in the formation of Hsp60 complexes [J]. *J Biol Chem*, 2015, **290** (18): 11611-11622.
- [14] Rani S, Sharma A, Goel M. Insights into archaeal chaperone machinery: a network-based approach [J]. *Cell Stress Chaperones*, 2018, **23**(6): 1257-1274.
- [15] Li X, Shao H, Taylor IR, *et al.* Targeting allosteric control mechanisms in heat shock protein 70 (Hsp70) [J]. *Curr Top Med Chem*, 2016, **16**(25): 2729-2740.
- [16] Yang J, Zong Y, Su J, *et al.* Conformation transitions of the polypeptide-binding pocket support an active substrate release from Hsp70s [J]. *Nat Commun*, 2017, **8**(1): 1201.
- [17] BudinaKolomets A, Webster MR, Leu JJ, *et al.* HSP70 inhibition limits FAK-dependent invasion and enhances the response to melanoma treatment with BRAF inhibitors [J]. *Cancer Res*, 2016, **76**(9): 2720-2730.
- [18] Ellison MA, Ferrier MD, Carney SL. Salinity stress results in differential Hsp70 expression in the *exaiptasia pallida* and symbiodinium symbiosis [J]. *Mar Environ Res*, 2017, **132**: 63-67.
- [19] Kumar S, Stokes J, Singh UP, *et al.* Targeting Hsp70: a possible therapy for cancer [J]. *Cancer Lett*, 2016, **374** (1): 156-166.
- [20] Reeg S, Jung T, Castro JP, *et al.* The molecular chaperone Hsp70 promotes the proteolytic removal of oxidatively damaged proteins by the proteasome [J]. *Free Radic Biol Med*, 2016, **99**: 153-166.
- [21] Meng Q, Li BX, Xiao X. Toward developing chemical modulators of Hsp60 as potential therapeutics [J]. *Front Mol Biosci*, 2018, **20**: 5-35.
- [22] Marino Gammazza A, Macaluso F, Di Felice V, *et al.* Hsp60 in skeletal muscle fiber biogenesis and homeostasis: from physical exercise to skeletal muscle pathology [J]. *Cells*, 2018, **7** (12): 224.
- [23] Gajiwala KS, Burley SK. HDEA, a periplasmic protein that supports acid resistance in pathogenic enteric bacteria [J]. *J Biol Chem*, 2000, **295**(3): 605-612.
- [24] Wang W, Rasmussen T, Harding AJ, *et al.* Salt bridges regulate both dimer formation and monomeric flexibility in HdeB and may have a role in periplasmic chaperone function [J]. *J Biol Chem*, 2012, **415**(3): 538-546.
- [25] Tapley TL, Körner JL, Barge MT, *et al.* Structural plasticity of an acid-activated chaperone allows promiscuous substrate binding [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2009, **106** (14): 5557-5562.
- [26] Guan N, Liu L. Microbial response to acid stress: mechanisms and applications [J]. *Appl Microbiol Biotechnol*, 2020, **104** (1): 51-65.
- [27] Yu XC, Hu Y, Ding J, *et al.* Structural basis and mechanism of the unfolding-induced activation of HdeA, a bacterial acid response chaperone [J]. *J Biol Chem*, 2019, **294**(9): 3192-3206.
- [28] Zhang M, Lin S, Song X, *et al.* A genetically incorporated crosslinker reveals chaperone cooperation in acid resistance [J]. *Nat Chem Biol*, 2011, **7**(10): 671-677.
- [29] Kern R, Malki A, Abdallah J, *et al.* *Escherichia coli* HdeB is an acid stress chaperone [J]. *J Bacteriol*, 2007, **189** (2): 603-610.
- [30] Zhang S, He D, Yang Y, *et al.* Comparative proteomics reveal distinct chaperone-client interactions in supporting bacterial acid resistance [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2016, **113** (39): 10872-10877.
- [31] Libich DS, Tugarinov V, Clore GM. Intrinsic unfoldase/foldase activity of the chaperonin GroEL directly demonstrated using multinuclear relaxation-based NMR [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2015, **112**(29): 8817-8823.
- [32] Wälti MA, Steiner J, Meng F, *et al.* Probing the mechanism of inhibition of amyloid- $\beta$  (1-42)-induced neurotoxicity by the chaperonin GroEL [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2018, **115** (51): E11924-E11932.
- [33] Feng S, Yang H, Wang W. System-level understanding of the potential acid-tolerance components of *Acidithiobacillus thiooxidans* ZJJN-3 under extreme acid stress [J]. *Extremophiles*, 2015, **19**(5): 1029-1039.
- [34] Kaspar J, Kim JN, Ahn SJ, *et al.* An essential role for (p)pp-

- Gpp in the integration of stress tolerance, peptide signaling, and competence development in *Streptococcus mutans* [J]. *Front Microbiol*, 2016, **7**: 1162.
- [35] Dahiya V, Chaudhuri TK. Chaperones GroEL/GroES accelerate the refolding of a multidomain protein through modulating on-pathway intermediates [J]. *J Biol Chem*, 2014, **289** (1): 286-298.
- [36] Jewett AI, Shea JE. Reconciling theories of chaperonin accelerated folding with experimental evidence [J]. *Cell Mol Life Sci*, 2010, **67**(2): 255-276.
- [37] Zanotti G, Cendron L. Functional and structural aspects of *helicobacter pylori* acidic stress response factors [J]. *IUBMB Life*, 2010, **62**(10): 715-723.
- [38] Abdullah AIM, Sugimoto S, Higashi C, et al. Improvement of multiple-stress tolerance and lactic acid production in *Lactococcus lactis* NZ9000 under conditions of thermal stress by heterologous expression of *Escherichia coli* DnaK [J]. *Appl Environ Microbiol*, 2010, **76**(13): 4277-4285.
- [39] Vinusha KS, Deepika K, Johnson TS, et al. Proteomic studies on lactic acid bacteria: a review [J]. *Biochem Biophys Rep*, 2018, **14**: 140-148.
- [40] Arunima A, Swain SK, Ray S, et al. RpoS-regulated gene promotes resistance to stress and influences *Salmonella enterica* serovar enteritidis virulence [J]. *Virulence*, 2020, **11** (1): 295-314.
- [41] Chen C, Choudhury A, Zhang S, et al. Integrating CRISPR-enabled trackable genome engineering and transcriptomic analysis of global regulators for antibiotic resistance selection and identification in *Escherichia coli* [J]. *mSystems*, 2020, **5** (2): e00232-20.
- [42] Basak S, Geng H, Jiang R. Rewiring global regulator cAMP receptor protein (CRP) to improve *E. coli* tolerance towards low pH [J]. *J Biotechnol*, 2014, **173**: 68-75.
- [43] Dorman CJ. H-NS-like nucleoid-associated proteins, mobile genetic elements and horizontal gene transfer in bacteria [J]. *Plasmid*, 2014, **75**: 1-11
- [44] Shin M, Song M, Rhee JH, et al. DNA looping-mediated repression by histone-like protein H-NS: specific requirement of esigma70 as a cofactor for looping [J]. *Genes Dev*, 2005, **19** (19): 2388-2398.
- [45] Gao X, Yang X, Li J, et al. Engineered global regulator H-NS improves the acid tolerance of *E. coli* [J]. *Microb Cell Fact*, 2018, **17**(1): 118.
- [46] Shilling RA, Venter H, Velamakanni S, et al. New light on multidrug binding by an ATP-binding-cassette transporter [J]. *Trends Pharmacol Sci*, 2006, **27**(4): 195-203.
- [47] Ford RC, Beis K. Learning the ABCs one at a time: structure and mechanism of ABC transporters [J]. *Biochem Soc Trans*, 2019, **47**(1): 23-36.
- [48] Zhu Z, Yang J, Yang P, et al. Enhanced acid-stress tolerance in *Lactococcus lactis* NZ9000 by overexpression of ABC transporters [J]. *Microb Cell Fact*, 2019, **18**(1): 136.
- [49] Robinson T, Smith P, Alberts ER, et al. Cooperation and cheating through a secreted aminopeptidase in the *Pseudomonas aeruginosa* RpoS response [J]. *mBio*, 2020, **11** (2): e03090-e03119.
- [50] Seo SW, Kim D, O'Brien E J, et al. Decoding genome-wide GadEWX-transcriptional regulatory networks reveals multifaceted cellular responses to acid stress in *Escherichia coli* [J]. *Nat Commun*, 2015, **6**: 7970.
- [51] Liu CJ, Lin CT, Chiang JD, et al. RcsB regulation of the YfdX-mediated acid stress response in *Klebsiella pneumoniae* CG43S3 [J]. *PLoS One*, 2019, **14**(2): e0212909.
- [52] Sen H, Aggarwal N, Ishionwu C, et al. Structural and functional analysis of the *Escherichia coli* acid-sensing histidine kinase EvgS [J]. *J Bacteriol*, 2017, **199**(18): e00310-e00317.
- [53] Oglesby AG, Murphy ER, Iyer VR, et al. Fur regulates acid resistance in *Shigella flexneri* via RyhB and ydeP [J]. *Mol Microbiol*, 2005, **58**(5): 1354-1367.
- [54] Xu N, Lv H, Wei L, et al. Impaired oxidative stress and sulfur assimilation contribute to acid tolerance of *Corynebacterium glutamicum* [J]. *Appl Microbiol Biotechnol*, 2019, **103** (4): 1877-1891.