

微生物学报 *Acta Microbiologica Sinica*
54(9):977-983; 4 September 2014
ISSN 0001-6209; CN 11-1995/Q
http://journals.im.ac.cn/actamicrocn
doi: 10.13343/j.cnki.wsxb.2014.09.002

枯草芽孢杆菌形成生物被膜的研究进展

刘伟杰, 刘聪, 蒋继宏*

江苏师范大学生命科学学院, 江苏省药用植物重点实验室, 江苏 徐州 221116

摘要:生物被膜是菌体在自然界中一种常见的生存状态,直接影响着人类生产和生活的各个方面。枯草芽孢杆菌是重要的工业菌株,同时也是研究生物被膜的模式菌株。本文结合作者目前的研究,综述了目前对枯草芽孢杆菌形成生物被膜研究所取得的重要进展,包括枯草芽孢杆菌形成生物被膜的主要过程、特征、研究模型及分子调控机制,并提出了今后研究的热点问题。

关键词:枯草芽孢杆菌, 生物被膜, 调控机制

中图分类号:Q935 **文章编号:**0001-6209(2014)09-0977-07

生物被膜(Biofilm)是指微生物为了适应环境,粘附于非生物或活性组织表面,分泌大量的多糖、蛋白质和核酸等不均一的胞外基质,将菌体自身包裹在其中而形成的大量菌体聚集膜样物,是菌体在自然界中一种常见的生存状态^[1-3]。菌体能够附着在固体表面形成固体生物被膜,也能聚集在气液界面形成液体生物被膜,或者在液体内部以细胞簇团的形式存在^[4-5]。生物被膜的形成直接影响着人类生活的各个方面,在动物组织器官和医疗器械的表面形成的生物被膜可以引起各种致病菌耐药性及慢性感染;在牙齿表面形成生物被膜可以导致蛀牙;在输水管道和各种工业设备的表面形成生物被膜可以导致饮用水水质下降和设备腐蚀,产生食品安全隐患,造成巨大的经济损失^[6-11]。同时生物被膜也可以被人类所利用,比如生物膜法处理各种废水,生物被膜的形成可以增强菌体对有毒污染物的耐受性,提高对废水的处理效果^[12-14];在植物根系表面形成生

物被膜有助于提高植物抗逆性,抵御植物对病原菌的侵害^[15-16]。因此微生物形成生物被膜的机理一直是研究热点问题,揭示生物被膜的形成机制对于控制和利用生物被膜具有重要的理论指导意义。

目前研究生物被膜较多的菌种主要有枯草芽孢杆菌(*Bacillus subtilis*),铜绿假单胞菌(*Pseudomonas aeruginosa*)和金黄色葡萄球菌(*Staphylococcus aureus*)等。国内多以致病菌铜绿假单胞菌和金黄色葡萄球菌等为研究对象,而对于益生菌枯草芽孢杆菌的研究不如欧美等国家开展的深入。枯草芽孢杆菌能够形成复杂生物被膜,是研究生物被膜良好的模式菌株。同时枯草芽孢杆菌还是重要的工业菌株,可以分泌多种重要酶类,产生枯草菌素和短杆菌肽等活性物质,对多种致病菌具有明显的抑制作用,因此研究枯草芽孢杆菌形成生物被膜的机制还可以指导其在工业生产中的应用。本文综述了枯草芽孢杆菌形成生物被膜的过程、特征、研究模型及分子调

基金项目:国家自然科学基金(31300054,31370646);江苏省自然科学基金青年项目(BK20130228);江苏师范大学博士人才启动基金(9212414105);江苏高校优势学科建设工程资助项目(PAPD)

* 通信作者。Tel: +86-516-83403515; E-mail: jhjiang@jsnu.edu.cn

作者简介:刘伟杰(1982-),男,黑龙江人,副教授,博士,从事生物被膜形成的分子调控机制及应用研究。E-mail:leonliu2013@126.com

收稿日期:2013-11-23; **修回日期:**2014-02-21

控机制,并对未来的研究方向进行了展望。

1 枯草芽孢杆菌形成生物被膜的主要阶段及特征

枯草芽孢杆菌形成生物被膜包括以下几个阶段(如图1所示):阶段1,游离菌体感知并起始吸附在固体表面,在这个过程中,胞外DNA能够明显促进游离菌体对固体表面的起始吸附^[17];阶段2,菌体繁殖形成微菌落;阶段3,菌体进一步生长并分泌大量的胞外多聚物,主要包括胞外多糖,蛋白质 TasA 和胞外核酸,形成成熟的生物被膜;阶段4,生物被膜凋亡解

体,释放出游离的菌体,菌体形成鞭毛,获得运动功能,进入下一个生物被膜形成周期。成熟的固体生物被膜具有以下几个特点:(1)菌体细胞被胞外多糖,蛋白质和核酸等物质包被并聚集在一起,增强菌体对不良环境的耐受性^[1,18]; (2)菌体的运动功能相关基因的表达明显下调,丧失鞭毛,失去运动能力,从而有利于形成稳态的生物被膜; (3)具有复杂的三维空间结构,所包被的菌体处于多种生长阶段,既含有新生细胞,成熟细胞,也含有衰亡细胞^[19-20]。生物被膜的形成和解体是受到某些胞外信号的诱导,这些信号既包含环境因素如温度, pH, 营养条件,也有菌体自身所产生的信号分子,如胞外DNA,信号肽等。

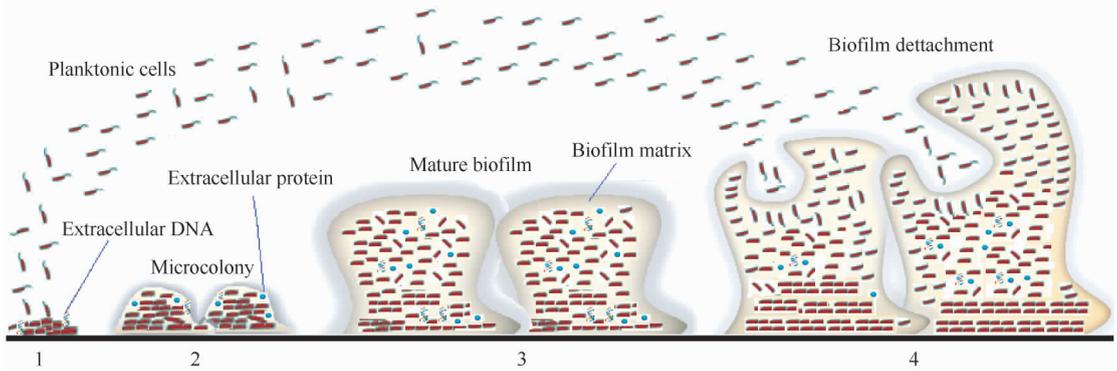


图1. 生物被膜形成的模型

Figure 1. General model for biofilm formation. 1, planktonic cells sense and attach to solid surface, and lose the motility function; 2, attached cells create microcolonies; 3, cells secrete much extracellular polymeric substances, and colonies develop to form mature biofilm; 4, some bacteria split off from biofilm, restore motility, and start another biofilm formation cycle.

2 生物被膜的研究模型

根据实验目的的差异,目前建立了4种比较常

用的生物被膜研究模型用于表征或定量生物被膜的形成^[21]。

第1种研究模型是在固体培养基上接种单菌落,由单菌落形成生物被膜,如图2-A所示^[22]。由

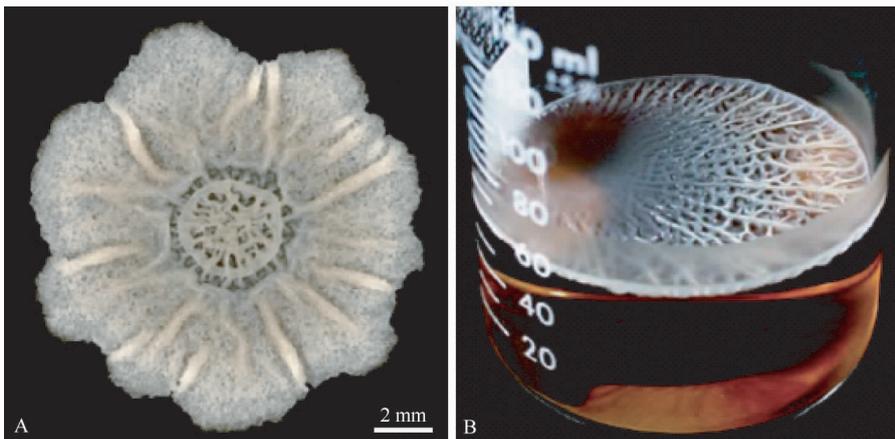


图2. 枯草芽孢杆菌形成菌落生物被膜(A)和液体生物被膜(B)的模型^[22]

Figure 2. General model for colony biofilm (A) and pellicle biofilm (B) formation by *Bacillus subtilis*^[22].

于这种情形下形成的生物被膜结构复杂,能够分泌大量的胞外基质,所以经常被用于大规模突变体库的筛选,鉴定生物被膜相关基因。该方法操作简单,表型直观,但不能对生物被膜的形成情况进行定量分析。

第2种研究模型是研究在气液界面形成的生物被膜,即液体生物被膜(Pellicle Biofilm)的模型^[4],如图2B所示^[22]。这种研究模型可以直接观察液体生物被膜的形成,对于突变株的快速筛选也很方便。目前对生物被膜的研究多采用液体生物被膜和菌落生物被膜^[23-24]。

第3种研究模型是利用微孔平板研究在静态液体培养条件下,菌体吸附于培养器皿,在培养器皿与液体培养基之间形成的固体表面吸附生物被膜。该方法将菌液接种于微孔平板上,并在其中进行培养,然后除去培养液,清洗后,进行染色观察和定量测定。这一研究模型可以用于研究固体生物被膜的形成,并可以用来进行突变株的高通量筛选^[4,25]。

第4种是生物被膜形成的流动模型^[1,21]。菌体能够在流动的培养物质中形成生物被膜,通过共焦激光扫描电镜来观察生物被膜形成的实时情况。这种模型可以用于模拟研究在输水管道等固体表面形成的生物被膜。但该模型操作复杂,不便于突变株的高通量筛选。

3 分子调控机制

枯草芽孢杆菌生物被膜的形成受到一个复杂的信号转导网络的调控(如图3所示)。生物被膜中的两个主要组分,胞外多糖和胞外蛋白质 TasA 分别由 *epsA-O* 操纵子和 *tapA-sipW-tasA* 操纵子负责合成并分泌到胞外组成生物被膜的胞外基质。调控蛋白通过直接或间接的调控这2个操纵子的转录,从而调控生物被膜的形成。

epsA-O 操纵子由15个基因组成,负责编码多聚糖合成和分泌的蛋白,其中 EpsA 蛋白和 EpsB 蛋白负责调控胞外多聚糖的长度;*epsD*, *epsE*, *epsF*, *epsH*, *epsJ*, *epsL* 和 *epsM* 基因编码糖基转移酶^[21];其中 EpsE 还具有抑制菌体运动的功能^[26-27]; *epsK* 基因编码向胞外分泌多糖的酶;*epsN* 编码氨基转移酶, *epsO* 编码丙酮酸转移酶^[28]。*epsG* 和 *epsH* 基因缺失突变株与整个操纵子缺失突变株表型一样,只能形

成平滑的单菌落和破碎的液体生物被膜,依旧可以形成细胞长链,但是由于无法合成胞外多糖,因此细胞长链不能聚集成束状结构^[21,29]。

tapA-sipW-tasA 操纵子由3个基因组成,在生物被膜的形成中发挥着重要作用。*tasA* 基因主要负责编码合成 TasA 蛋白前体, *sipW* 基因编码的蛋白具有信号肽酶活性, TasA 蛋白前体需要经过信号肽酶 SipW 的加工运输才能分泌到胞外组成生物被膜的胞外基质, TapA 蛋白具有帮助 TasA 蛋白在胞外进行定位的功能^[4]。单独缺失 *eps* 操纵子或 *tasA* 基因的突变株仍能形成破碎的生物被膜,但双突变株则不能形成生物被膜,说明胞外多糖和胞外 TasA 蛋白是构成生物被膜的主要成分。将单缺失 *eps* 突变株和单缺失 *tasA* 突变株共培养时,又能形成完整液体生物被膜,进一步说明胞外多糖和胞外蛋白是生物被膜的主要成分,且两个组分是在细胞外发生相互作用的^[30]。

tapA-sipW-tasA 操纵子编码的 SipW 蛋白是内质网 I 型信号肽酶亚家族中的一员,如图4所示^[4], SipW 具有两个跨膜区,其 N 端具有一个以丝氨酸为特点的催化结构域,关键氨基酸位点为 S47, H87 和 D106,该催化活性位点识别并切除 TasA 蛋白前体的信号肽并将成熟的 TasA 蛋白分泌至胞外^[4,31]。SipW 蛋白除了具有信号肽酶活性外,其位于胞内基质中,由20个氨基酸组成的 C 末端功能域具有调节固体表面生物被膜形成的功能,通过间接抑制 SinR 表达上调生物被膜的形成,但其调控信号是如何传递到胞内的还不是很清楚。SipW 蛋白的信号肽酶活性和调节功能是两个独立的功能,将信号肽酶功能域中的关键氨基酸 S47, H87 和 D106 点突变替换为丙氨酸后,信号肽酶活性丢失,不能分泌成熟的 TasA 蛋白,但其调节功能未受影响;缺失 SipW 蛋白 C 末端后,信号肽酶活性不受影响,其调节功能丢失,因此推测 SipW 蛋白 C 末端可能与 SipW 的调节功能有关^[4]。本文作者所在课题组还发现缺失 SipW 的 C 末端(调节功能域)后, *epsA-O* 操纵子和 *tapA-sipW-tasA* 操纵子的表达量下降,固体表面生物被膜形成量明显降低,说明 SipW 的 C 末端能够上调固体生物被膜的形成。而缺失 *sinR* 基因可以恢复生物被膜的形成,说明 SipW 的调节功能是通过间接影响 SinR 的活性实现的。

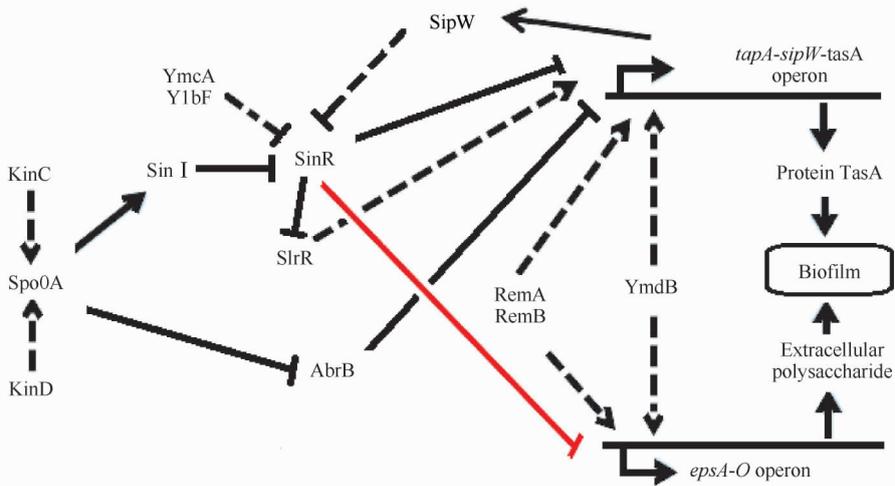


图 3. 枯草芽孢杆菌调控生物被膜形成的模型

Figure 3. Regulatory model for biofilm formation by *Bacillus subtilis*. T-bars indicate repression; arrows indicate activation; solid lines indicate a confirmed direct interaction; dashed lines indicate that the interaction is poorly understood.

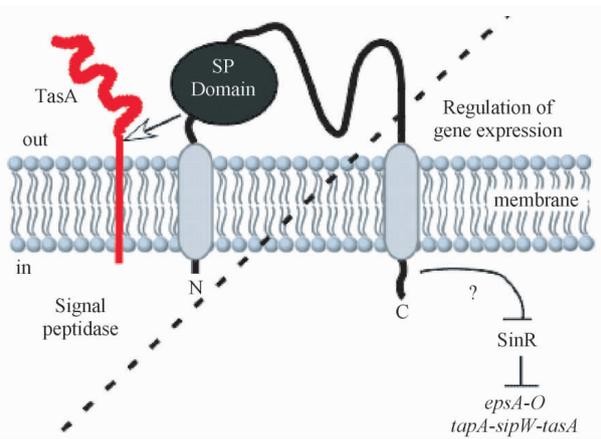


图 4. SipW 蛋白两个独立功能域模型^[4]

Figure 4. Model of the two separable functions of SipW^[4].

SinR 蛋白是组成型表达的转录调控因子,在生物被膜的形成过程中起着重要的调节作用^[32]。在运动的菌体中, SinR 蛋白可以直接与 *epsA-O* 操纵子和 *tapA-sipW-tasA* 操纵子的启动子结合,抑制两个操纵子的转录,同时 SinR 能够刺激细胞分裂,激活鞭毛基因的表达,增强细胞的运动性^[33]。在枯草芽孢杆菌生物被膜的形成过程中,浮游状态菌体向稳态生物被膜的转变是由 SinR 蛋白与 SlrR 蛋白组成的开关调控系统调节的(图 5)。SinR 蛋白可以与 SlrR 蛋白形成复合体,当 SlrR 蛋白表达量较低时,它与生物被膜关键调控因子 SinR 形成复合体的量较低,不足以抑制自溶素和运动基因的转录,因此菌体多

以单一游离菌体的形式存在;当 SlrR 表达量较高时,SlrR 可以和 SinR 形成复合体,从而抑制自溶素和运动基因的转录,并解除 SinR 对胞外基质表达的抑制,从而促进生物被膜的形成^[34]。YmdB 也是调节菌体在形成生物被膜和浮游运动两种生命状态间相互转化的关键调控蛋白,在 *ymdB* 突变株中,编码鞭毛的 *hag* 基因和其他运动调节基因过表达,而编码胞外基质的 *epsA-O* 和 *tapA-sipW-tasA* 两个操纵子则不表达,导致菌体不能形成生物被膜,细胞以单一运动的状态存在,不能向生物被膜状态进行转换^[18]。

SinI 是 SinR 的去阻遏子,可以解除 SinR 对 *eps* 操纵子和 *tapA* 操纵子的抑制^[32],促进生物被膜的形成。Spo0A 是一个全局调控因子,主要通过磷酸化和去磷酸化来控制基因的转录,与很多生命活动的调控都有密切关系,在不利的环境中,菌体形成生物被膜还是形成芽孢取决于 Spo0A 的磷酸化水平。Spo0A 的磷酸化主要受组氨酸激酶 (KinA, KinB, KinC, KinD, KinE) 的激活^[19]。Spo0A 激活和抑制基因的转录是通过阈值的方式来实现的^[35]。Spo0A 还可以抑制 *abrB* 的转录,从而解除 AbrB 对 *tapA-sipW-tasA* 操纵子的抑制作用,促进生物被膜的形成^[25,36]。

Spo0A 调控途径并不是唯一调控生物被膜形成的途径, YlbF, YmcA 和 RemA, RemB 都不受 Spo0A

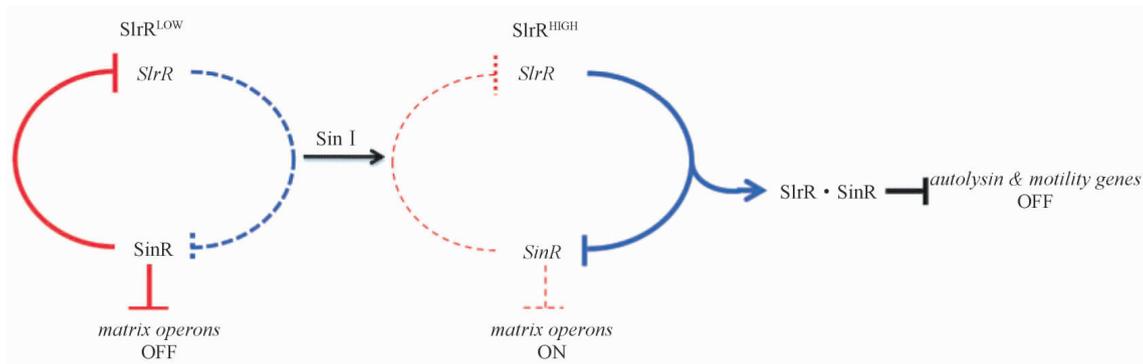


图 5. SinR-SlrR 转换调控胞外基质合成基因、自溶素基因和运动基因的表达^[34]

Figure 5. SinR-SlrR switch regulate matrix genes as well as autolysin and motility genes^[34].

的调控,他们分别介导了两条新的生物被膜调控途径, $\Delta ylbF$ 和 $\Delta ymcA$ 突变株无法形成液体生物被膜,并且在固体平板上,突变株只能形成平滑的单菌落,而无法形成复杂的菌落结构^[37],缺失 $sinR$ 基因可以恢复 $\Delta ylbF$ 和 $\Delta ymcA$ 突变株形成生物被膜的能力,所以 $sinR$ 基因应该是位于 $ylbF$ 和 $ymcA$ 的调控下游^[32,38]。RemA 和 RemB 为 2 个小分子的生物被膜调控因子, $remA$ 和 $remB$ 突变株形成的液体生物被膜有缺陷,抑制菌落被膜形成复杂的结构。在 $sinR$ 突变株中,缺失 $remA$ 基因和 $remB$ 基因会导致菌体的运动能力上升。EpsE 通过阻断鞭毛的旋转和菌体的运动能力,来促进菌落生物被膜形成复杂的结构。 $remA$ 和 $remB$ 基因突变可以降低 $epsA-O$ 操纵子的转录,降低了 $epsE$ 基因的表达,从而恢复 $sinR$ 突变株的运动能力^[39]。虽然目前已经发现了多种调控枯草芽孢杆菌形成生物被膜的关键因子,揭示了几条调控途径,但对其完整的调控网络的研究还不够深入,各调控途径间的相互协调关系还有待研究。

4 展望

目前对枯草芽孢杆菌形成生物被膜的研究已经取得了较大进展,发现了很多调控枯草芽孢杆菌生物被膜形成的调控蛋白,逐步揭示了调控信号传导途径。与此同时,也产生了一些新问题。(1) 固体生物被膜形成的起始阶段,浮游菌体是如何感知固体表面,从而实现了对固体表面的起始吸附并上调相关基因的表达? 本文作者所在课题组研究的信号肽酶 SipW 除了具有信号肽酶活性外,还具有调控菌体对固体表面的起始吸附的功能,SipW 为膜蛋白,

其膜外的区域可能与菌体感知固体表面信号有关,因此对 SipW 调节功能的研究将有助于我们理解菌体是如何实现对固体表面的起始吸附的。(2) 生物被膜内存在多种不同生命状态的菌体,有新生细胞,成熟细胞和衰亡阶段的细胞,这些不同生命状态的菌体对于维持复杂的生物被膜结构和功能有何差异?(3) 在生物被膜的衰亡阶段,通过何种分子机制来实现生物被膜的凋亡和菌体解吸附的? 这些问题的解答将有助于我们有效控制和利用生物被膜的形成。

参考文献

- [1] Branda SS, Vik Å, Friedman L, Kolter R. Biofilms: the matrix revisited. *Trends in Microbiology*, 2005, 13(1): 20-26.
- [2] Ma L, Wang J, Wang S, Anderson EM, Lam JS, Parsek MR, Wozniak DJ. Synthesis of multiple *Pseudomonas aeruginosa* biofilm matrix exopolysaccharides is post-transcriptionally regulated. *Environmental Microbiology*, 2012, 14(8): 1995-2005.
- [3] Stoodley P, Sauer K, Davies DG, Costerton JW. Biofilms as complex differentiated communities. *Annual Reviews in Microbiology*, 2002, 56(1): 187-209.
- [4] Terra R, Stanley-Wall NR, Cao G, Lazazzera BA. Identification of *Bacillus subtilis* SipW as a bifunctional signal peptidase that controls surface-adhered biofilm formation. *Journal of Bacteriology*, 2012, 194(11): 2781-2790.
- [5] Davey ME, O'toole GA. Microbial biofilms: from ecology to molecular genetics. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 2000, 64(4): 847-867.
- [6] Kolter R, Greenberg EP. Microbial sciences: the

- superficial life of microbes. *Nature*, 2006, 441(7091): 300-302.
- [7] Coetser SE, Cloete TE. Biofouling and biocorrosion in industrial water systems. *Critical Reviews in Microbiology*, 2005, 31(4): 213-232.
- [8] Donlan RM. Biofilms and device-associated infections. *Emerging Infectious Diseases*, 2001, 7(2): 277-281.
- [9] Hatt JK, Rather PN. Role of bacterial biofilms in urinary tract infections. *Bacterial Biofilms. Springer Berlin Heidelberg*, 2008, 322: 163-192.
- [10] Kuramitsu HK, He X, Lux R, Anderson MH, Shi W. Interspecies interactions within oral microbial communities. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 2007, 71(4): 653-670.
- [11] Palmer J, Flint S, Brooks J. Bacterial cell attachment, the beginning of a biofilm. *Journal of Industrial Microbiology Biotechnology*, 2007, 34(9): 577-588.
- [12] Van Loosdrecht M, Heijnen SJ. Biofilm bioreactors for waste-water treatment. *Trends in Biotechnology*, 1993, 11(4): 117-121.
- [13] Martin KJ, Nerenberg R. The membrane biofilm reactor (MBfR) for water and wastewater treatment: Principles, applications, and recent developments. *Bioresource Technology*, 2012, 122: 83-94.
- [14] Li YM, Gu GW, Zhao JF, Yu HQ, Qiu YL, Peng YZ. Treatment of coke-plant wastewater by biofilm systems for removal of organic compounds and nitrogen. *Chemosphere*, 2003, 52(6): 997-1005.
- [15] Liu H, Kolter R, Losick R, Guo JH. Biocontrol of tomato wilt disease by *Bacillus subtilis* isolates from natural environments depends on conserved genes mediating biofilm formation. *Environmental Microbiology*, 2013, 15(3): 848-864.
- [16] Chen Y, Cao S, Chai Y, Clardy J, Kolter R, Guo JH, Losick R. A *Bacillus subtilis* sensor kinase involved in triggering biofilm formation on the roots of tomato plants. *Molecular Microbiology*, 2012, 85(3): 418-430.
- [17] Whitchurch CB, Tolker-Nielsen T, Ragas PC, Mattick JS. Extracellular DNA required for bacterial biofilm formation. *Science*, 2002, 295(5559): 1487-1487.
- [18] Diethmaier C, Pietack N, Gunka K, Wrede C, Lehnik-Habrink M, Herzberg C, Stülke J. A novel factor controlling bistability in *Bacillus subtilis*: the YmdB protein affects flagellin expression and biofilm formation. *Journal of Bacteriology*, 2011, 193(21): 5997-6007.
- [19] McLoon AL, Kolodkin-Gal I, Rubinstein SM, Kolter R, Losick R. Spatial regulation of histidine kinases governing biofilm formation in *Bacillus subtilis*. *Journal of Bacteriology*, 2011, 193(3): 679-685.
- [20] Bridier A, Le Coq D, Dubois-Brissonnet F, Thomas V, Aymerich S, Briandet R. The spatial architecture of *Bacillus subtilis* biofilms deciphered using a surface-associated model and in situ imaging. *PLoS One*, 2011, 6(1): e16177.
- [21] Lemon KP, Earl AM, Vlamakis HC, Aguilar C, Kolter R. Biofilm development with an emphasis on *Bacillus subtilis*. *Curr Top Microbiol Immunol*, 2008, 322: 1-16.
- [22] Vlamakis H, Chai Y, Beauregard P, Losick R, Kolter R. Sticking together: building a biofilm the *Bacillus subtilis* way. *Nature Reviews Microbiology*, 2013, 11: 157-168.
- [23] Chen Y, Chai Y, Guo JH, Losick R. Evidence for cyclic di-GMP-mediated signaling in *Bacillus subtilis*. *Journal of Bacteriology*, 2012, 194(18): 5080-5090.
- [24] Chai Y, Kolter R, Losick R. Paralogous antirepressors acting on the master regulator for biofilm formation in *Bacillus subtilis*. *Molecular Microbiology*, 2009, 74(4): 876-887.
- [25] Hamon M A, Stanley NR, Britton RA, Grossman AD, Lazazzera BA. Identification of AbrB-regulated genes involved in biofilm formation by *Bacillus subtilis*. *Molecular Microbiology*, 2004, 52(3): 847-860.
- [26] Blair KM, Turner L, Winkelman JT, Berg HC, Kearns DB. A molecular clutch disables flagella in the *Bacillus subtilis* biofilm. *Science*, 2008, 320(5883): 1636-1638.
- [27] Guttenplan SB, Blair KM, Kearns DB. The EpsE flagellar clutch is bifunctional and synergizes with EPS biosynthesis to promote *Bacillus subtilis* biofilm formation. *PLoS Genetics*, 2010, 6(12): e1001243.
- [28] Cozy LM, Phillips AM, Calvo RA, Bate AR, Hsueh YH, Bonneau R, Kearns DB. SlrA/SinR/SlrR inhibits motility gene expression upstream of a hypersensitive and hysteretic switch at the level of σ^D in *Bacillus subtilis*. *Molecular Microbiology*, 2012, 83(6): 1210-1228.
- [29] Branda SS, González-Pastor JE, Ben-Yehuda S, Losick R, Kolter R. Fruiting body formation by *Bacillus subtilis*. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 2001, 98(20): 11621-11626.
- [30] Branda SS, Chu F, Kearns DB, Losick R, Kolter R. A major protein component of the *Bacillus subtilis* biofilm matrix. *Molecular Microbiology*, 2006, 59(4): 1229-1238.
- [31] Tjalsma H, Stöver AG, Driks A, Venema G, Bron S, van

- Dijl JM. Conserved serine and histidine residues are critical for activity of the ER-type signal peptidase SipW of *Bacillus subtilis*. *Journal of Biological Chemistry*, 2000, 275(33): 25102-25108.
- [32] Kearns DB, Chu F, Branda SS, Kolter R, Losick R. A master regulator for biofilm formation by *Bacillus subtilis*. *Molecular Microbiology*, 2005, 55(3): 739-749.
- [33] Chu F, Kearns DB, Branda SS, Kolter R, Losick R. Targets of the master regulator of biofilm formation in *Bacillus subtilis*. *Molecular Microbiology*, 2006, 59(4): 1216-1228.
- [34] Chai Y, Kolter R, Losick R. Reversal of an epigenetic switch governing cell chaining in *Bacillus subtilis* by protein instability. *Molecular Microbiology*, 2010, 78(1): 218-229.
- [35] Fujita M, Losick R. Evidence that entry into sporulation in *Bacillus subtilis* is governed by a gradual increase in the level and activity of the master regulator Spo0A. *Genes Development*, 2005, 19(18): 2236-2244.
- [36] Hamon MA, Lazazzera BA. The sporulation transcription factor Spo0A is required for biofilm development in *Bacillus subtilis*. *Molecular Microbiology*, 2001, 42(5): 1199-1209.
- [37] Branda SS, González-Pastor JE, Dervyn E, Ehrlich SD, Losick R, Kolter R. Genes involved in formation of structured multicellular communities by *Bacillus subtilis*. *Journal of Bacteriology*, 2004, 186(12): 3970-3979.
- [38] Kobayashi K. Gradual activation of the response regulator DegU controls serial expression of genes for flagellum formation and biofilm formation in *Bacillus subtilis*. *Molecular Microbiology*, 2007, 66(2): 395-409.
- [39] Winkelman JT, Blair KM, Kearns DB. RemA (YlzA) and RemB (YaaB) regulate extracellular matrix operon expression and biofilm formation in *Bacillus subtilis*. *Journal of Bacteriology*, 2009, 191(12): 3981-3991.

Research progress on biofilm formation by *Bacillus subtilis* – A review

Weijie Liu, Cong Liu, Jihong Jiang*

School of Life Science, Key Laboratory of Biotechnology for Medicinal Plant of Jiangsu Province, Jiangsu Normal University, Xuzhou 221116, Jiangsu Province, China

Abstract: Biofilm is a prevalent lifestyle in nature and closely related to the life and production of humans. *Bacillus subtilis* is an important industrial strain and a good model for biofilm research. Combined with our current studies, we reviewed significant progress on biofilm formation by *Bacillus subtilis*, including main process, characteristics of biofilm formation, research models, and regulatory pathway for biofilm formation. In addition, further research focuses are addressed.

Keywords: *Bacillus subtilis*, biofilm, regulatory mechanism

(本文责编:王晋芳)

Supported by the National Natural Science Foundation of China (31300054, 31370646), by the Youth Fund of the Natural Science Foundation of Jiangsu Province (BK20130228), by the Grants from Natural Science Foundation by Jiangsu Normal University (9212414105) and by the Priority Academic Program Development of Jiangsu Higher Education Institutions (PAPD)

* Corresponding author. Tel: +86-516-83403515; E-mail: jhjiang@jsnu.edu.cn

Received: 23 November 2013/ Revised: 21 February 2014