



细菌 Lon 蛋白酶研究进展

刘郁夫^{1,2} 董浩³ 孙石静¹ 陈瑞爱² 丁家波^{*1}

1 中国兽医药品监察所国家动物布鲁氏菌病参考实验室 北京 102600

2 华南农业大学兽医学院 广东 广州 510642

3 中国动物疫病预防控制中心 北京 102600

摘要: Lon 蛋白酶是首个被鉴定的 ATP 依赖蛋白酶家族成员, 在原核生物中发挥着降解错误折叠蛋白、维持胞内蛋白质平衡的作用。最近研究表明 Lon 蛋白还可以作为压力应激蛋白, 参与降解多种转录调控因子和二元调控系统, 改变细菌胞内的生理代谢过程以适应环境的改变。本文从 Lon 蛋白酶的结构、功能与上下游调控网络作一综述, 旨在更全面清楚地了解 ATP 依赖蛋白酶的生理功能, 以期为其胞内调控机制研究提供参考。

关键词: Lon, ATP 依赖蛋白酶, 蛋白结构, 基因功能, 毒力因子

Research progress on bacterial Lon protease

LIU Yu-Fu^{1,2} DONG Hao³ SUN Shi-Jing¹ CHEN Rui-Ai² DING Jia-Bo^{*1}

1 National Reference Laboratory for Animal Brucellosis, China Institute of Veterinary Drug Control, Beijing 102600, China

2 College of Veterinary Medicine, South China Agricultural University, Guangzhou, Guangdong 510642, China

3 China Animal Disease Control Center, Beijing 102600, China

Abstract: Lon protease is the first identified ATP-dependent protease that plays critical role in degrading misfolded proteins and maintaining intracellular protein balance in prokaryotes. Recent studies have suggested that, as a pressure-stress protein, Lon was involved in the degradation of a variety of transcription regulators and two-component regulatory system in bacteria, resulting in altered physiologically metabolic process of bacteria cells to adapt to the environment change. In this paper, the structure, function, and up and down-stream regulatory network of bacterial Lon protease are reviewed, aiming at enhancing understanding in the physiological function of Lon, as well as providing basis for elucidating the mechanism of intracellular regulation.

Keywords: Lon, ATP-dependent protease, Protein structure, Gene function, Virulence factor

Foundation items: National Natural Science Foundation of China (31602055); National Key Research and Development Program of China (2016YFD0500903)

*Corresponding author: Tel: 86-10-61255327; E-mail: dingjiabo@126.com

Received: 06-01-2019; Accepted: 09-04-2019; Published online: 24-04-2019

基金项目: 国家自然科学基金(31602055); 国家重点研发计划(2016YFD0500903)

*通信作者: Tel: 010-61255327; E-mail: dingjiabo@126.com

收稿日期: 2019-01-06; 接受日期: 2019-04-09; 网络首发日期: 2019-04-24

Lon 蛋白是首个被鉴定的 ATP 依赖蛋白酶, 早期科学家发现大肠杆菌在紫外照射下形成长线型、分裂受抑制的突变表型, 因此把该突变基因取名为 *lon*^[1]。后续研究发现 Lon 蛋白具有蛋白酶活性, 属于 AAA+ (ATPases associated with a variety of cellular activities) 蛋白家族成员^[2]。该蛋白家族成员还包括 Clp 蛋白酶(ClpAP、ClpXP、ClpYQ)和 FtsH 蛋白酶等, 它们可降解错误折叠蛋白, 在调控细菌内蛋白质稳态过程中发挥重要作用^[3]。

Lon 蛋白广泛存在于自然界中, 在细菌、真菌、古细菌等原核生物和真核生物基因组中均能比找到 Lon 同源蛋白, 提示 ATP 依赖蛋白酶的蛋白降解功能作为细菌内一类保守的蛋白调控机制, 具有靶点多样性且发挥重要作用^[4]。

最近研究表明 Lon 蛋白除了降解错误折叠蛋白外, 还通过降解多种调节蛋白参与调节细菌毒力^[5]、耐药性^[6]、胞内压力应激反应^[7]、DNA 修复^[8]等多个细菌生理过程。本文通过对 Lon 蛋白酶的结构、功能与上下游调控网络作一综述, 旨在更全面清楚

地了解 Lon 蛋白酶的生理功能及其精密的胞内调控网络, 为基因工程弱毒疫苗的研发和潜在药物治疗靶点的筛选提供参考。

1 Lon 蛋白结构及水解机制

大肠杆菌(*Escherichia coli*) Lon 蛋白由 784 个氨基酸组成, 大小约为 87 kD, 在细胞质中形成六聚体环状复合物(图 1)^[9]。每个 Lon 多肽链由 3 个结构域组成: N 端结构域参与底物的识别; ATP 酶结构域(AAA+)负责 ATP 结合和水解, 为 Lon 蛋白酶发挥酶活性提供能量; 酶活性中心由 Ser⁶⁷⁹-Lys⁷²² 二联体组成, 具有蛋白水解活性^[10]。

根据 Lon 蛋白氨基酸序列的同源性和结构特征, 可将 Lon 蛋白分为两类: 存在于大部分细菌的 LonA 和主要存在于古细菌中的 LonB; LonA 含有大段的 N 端结构域, 而 LonB 缺少 N 端结构域, 但是在 AAA+ 结构域中插入了一段转膜区(图 2)^[2]。

Lon 蛋白酶及其伴侣分子(主要是 DanK 系统)在降解细胞内错误折叠蛋白, 以及维持胞内稳态

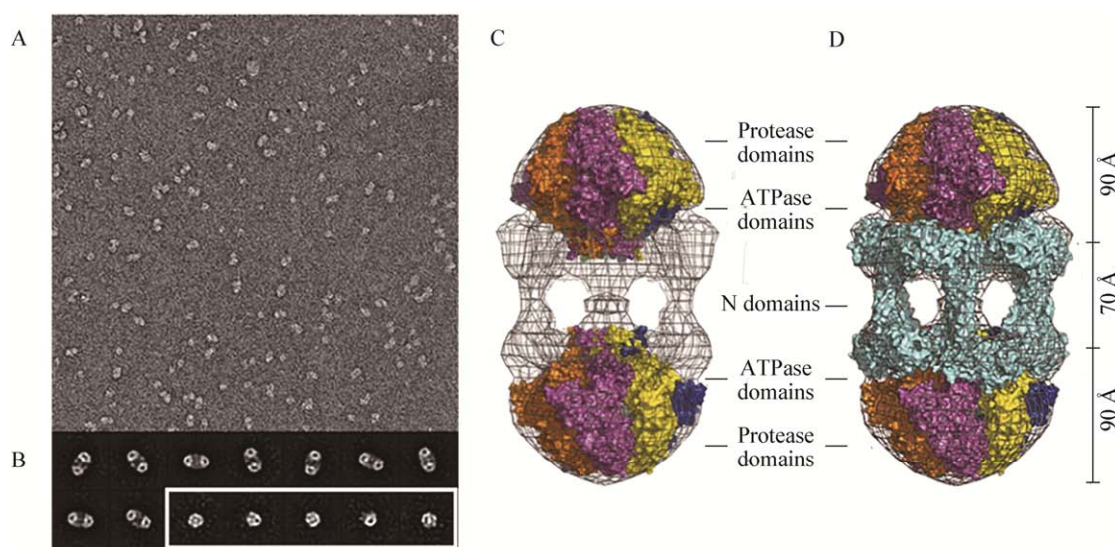


图 1 电镜观察 Lon 蛋白及 Lon 蛋白电子密度图^[9]

Figure 1 Electron microscopy and electron-density map of Lon protein^[9]

注: A: 电镜视野下观察 Lon 蛋白颗粒; B: 电镜下 Lon 蛋白十二聚体(上排和左下)和六聚体(右下)的典型视野; C: *B. subtilis* Lon 蛋白晶体结构的电子密度图; D: *E. coli* Lon 蛋白晶体结构的电子密度图。

Note: A: Representative field-of-view of electron micrographs of single wild-type Lon particles. (29 000× magnification); B: Representative class images of dodecamers (upper and lower left) and hexamers (lower right, enclosed in white box); C: The electron-density map of crystal structure of *B. subtilis* Lon; D: The electron-density map of crystal structure of *E. coli* Lon.

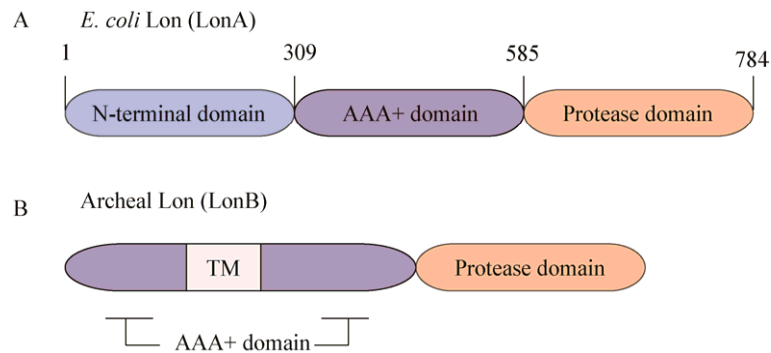


图2 LonA 和 LonB 的结构域^[2]

Figure 2 The structural domain of LonA and LonB^[2]

注: A: 细菌中 Lon 蛋白(主要为 LonA)结构域示意图; B: 古细菌中 LonB 蛋白结构域示意图, TM 指代古细菌跨膜区。

Note: A: Domain organization of Lon proteases found in bacteria (predominantly LonA); B: Domain organization of Lon proteases found in archaea (Lon B), TM refers to the trans-membrane anchor.

过程中发挥重要作用^[11]。由于 Lon 蛋白酶的底物切割位点位于圆柱状封闭空间的内部,与细胞质分隔开,所以也将 Lon 蛋白酶归类于“自独立”(Self-compartmentalized)蛋白酶^[7]。Lon 蛋白酶的水解机制与大多数蛋白酶类似:(1)在接头蛋白的协助下,Lon 蛋白酶 N 端结构域识别并结合特异性蛋白底物,此过程不消耗 ATP;(2)ATP 结合水解位点使蛋白酶复合体的构象发生改变,底物多肽去折叠;(3)在移位酶的作用下,将多肽移至蛋白酶活性中心,蛋白酶切割多肽^[10]。

2 Lon 蛋白酶对细菌表型的影响

研究人员起初发现 *E. coli* Lon 突变株的分裂受抑制,生长缓慢,菌体形成长线形,并且对紫外线的敏感性增强^[1]。接着研究者们陆续发现 Lon 蛋白酶参与细胞内多个生理过程,起翻译后调控的作用^[5,12]。

Su 等发现根瘤农杆菌(*Agrobacterium tumefaciens*) Lon 突变株并没有表现出丝状细菌形态和紫外敏感性,但突变株生长缓慢,电镜观察发现超过 80% 的细菌形态发生改变,并且在 37 °C 环境下可诱导 *lon* 基因转录和蛋白水平的表达上调^[13]。幽门螺旋杆菌(*Helicobacter pylori*) *lon* 基因突变后使得 RdxA 蛋白的甲硝唑还原酶活性下降 44%,并最终导致 *H. pylori* 对甲硝唑的敏感性上升,亲本株对甲硝唑的最小抑菌浓度(Minimal inhibit concentration, MIC)

是 *lon* 突变株的 3 倍^[14]。铜绿假单胞菌(*Pseudomonas aeruginosa*) *lon* 基因突变株可影响细菌的分裂过程,突变株导致细菌运动能力明显缺陷,对环丙沙星的敏感性增强 8 倍^[15]。Xie 等证明 LonA 是胸膜放线杆菌(*Actinobacillus pleuropneumoniae*)重要的压力耐受蛋白,该基因缺失在正常环境下(37 °C)不影响细菌生长速度,但在低温(25 °C)和高温(42 °C)下导致缺失株均表现生长缺陷,环境应激实验表明 *lonA* 基因突变导致细菌对高渗、活性氧介质的敏感性增强^[16]。

Pressler 等系统研究了霍乱弧菌(*Vibrio cholerae*)胞内 ATP 蛋白酶的功能及作用^[17]; Δlon 可分别通过上调 *VpsA* 基因和 IV 型鞭毛相关基因的转录,使细菌胞外多糖的产量上升,细菌运动性增强,同时下调 *FliA* 等毒力相关基因的表达,显著降低细菌在小鼠体内的定殖数量^[17]。Fernández 等发现 *P. aeruginosa lon* 基因缺失株和 Hfq 过表达菌株均表现出运动能力、生物被膜形成能力缺陷,提示 Hfq 蛋白在细菌胞内聚集是形成 *lon* 突变株表型的原因之一^[18]。枯草芽孢杆菌(*Bacillus subtilis*) Lon 蛋白通过接头分子 SmiA 介导,特异性地直接降解鞭毛合成的主要调控蛋白 SwrA,从而控制细菌表面菌毛的密度,改变细菌的活动方式^[19]。

在不同细菌中,Lon 蛋白发挥着不完全一致的功能,*lon* 基因突变可导致多种表型。总体来说,*lon*

基因突变可导致细菌的生长速度、紫外敏感性、细菌形态、运动性、抗生素敏感性以及细菌生物被膜发生改变。

3 Lon 蛋白对致病菌毒力的影响

目前已报道 *lon* 基因在多种细菌,特别是革兰氏阴性菌的致病过程中发挥作用。Breidenstein 等通过荧光定量 PCR 发现 *lon* 基因突变可下调 *P. aeruginosa* 三型分泌系统相关基因的表达,并利用人支气管上皮细胞模型、阿米巴原虫模型和 CD-1 小鼠模型证明 *P. aeruginosa* 毒力减弱,*lon* 缺失株感染组小鼠的支气管载菌量为亲本株的 1/500^[15]。Xie 等实验证明 *lonA* 基因缺失可通过改变细菌生物被膜的合成能力引起细菌毒力下降,亲本株在 BALB/c 小鼠肺脏、肝脏和肾脏中的载菌量为突变株的 100–1 000 倍,但是 *lonC* 基因不影响细菌毒力^[16]。在沙门氏菌(*Salmonella enterica*)中 *lon* 基因突变可通过降低细菌胞外多糖的产量导致细菌毒力减弱,Lalsiamthara 等以强毒株为亲本构建 *S. enterica* Δlon 基因缺失工程弱毒疫苗,免疫本体动物可诱导机体产生特异性 IgG 和外周血淋巴细胞介导的细胞免疫,同时提供动物机体对亲本毒株的抵抗力^[20]。

细菌为适应宿主体内环境,可通过细菌分泌系统分泌毒力蛋白到宿主细胞质中,为自己复制繁殖提供最适条件。近期研究显示,Lon 蛋白还可调控细菌分泌系统的表达,间接改变细菌的毒力^[12]。Rogers 等利用基因芯片技术发现与亲本毒株相比,*V. cholerae* LonA 突变株中参与生物被膜形成的基因表达显著减少,而与 VI 型分泌系统相关的基因表达增加,引起 VI 型分泌系统活性增强,对小鼠致病性减弱,然而两者之间相互作用的机制尚不明确^[21]。Zhou 等的研究表明,Lon 蛋白 645 位丝氨酸的磷酸化可导致 Lon 蛋白水解酶失效,可使 HrpG 更稳定,进而促进柑桔溃疡病菌(*Xanthomonas citri*) T3SS 分泌系统的表达,对维持细菌的毒力至关重要^[12]。Lee 等发现,*lon* 基因突变导致 T3SS 的表达上调和运动能力下降,后续研究发现 Lon 蛋白可间接作用 Rcs

和 Gac-Csr 调控系统,调节梨火疫病病原菌(*Erwinia amylovora*)的毒力^[5]。

随着外界环境的改变,细菌在面对各种胁迫环境时会启动胞内的调控机制,改变胞内一系列的生理代谢途径以适应环境。而大量文献报道,*lon* 基因突变后可导致致病菌毒力下降,提示 Lon 蛋白酶介导的翻译后调控作用对细菌在胁迫环境下的存活至关重要,是致病菌关键毒力基因之一,可作为基因工程致弱菌的潜在修饰靶点。

4 Lon 蛋白的下游作用靶点研究

E. coli MarA 蛋白是 Lon 蛋白酶底物之一,在 *E. coli* 中 *lon* 基因突变导致 MarA 及其下游底物在细菌体内聚集,引起细菌对抗菌药物阿司匹林和多种抗生素的敏感性增强^[22]。在大肠杆菌 SOS 应答过程中,*E. coli* 细胞分裂抑制蛋白 SulA 的表达得到显著上调^[23],*lon* 基因突变后细菌丧失降解 SulA 的能力,导致细菌分裂周期调控紊乱,并使细菌的生长速度减缓^[24]。

Lon 蛋白在细胞内不仅能降解错误折叠蛋白,起到维持蛋白质动态平衡的作用,同时 Lon 蛋白还是一种重要压力应激蛋白,细菌在各种逆境的胁迫下,可降解各种不稳定的调节因子,通过调节细胞内一系列生理生化反应和代谢途径来适应不利环境^[25]。

S. enterica 铁离子摄入系统的 FeoB 和 FeoC 基因控制细菌 Fe^{2+} 离子的摄入, Kim 等研究表明 Lon 蛋白酶可水解 *S. enterica* 铁离子输入蛋白 FeoC,调控细菌在胁迫环境下细菌体内的铁离子平衡,避免在遇到极端环境时金属离子的过度吸收^[26]。Jonas 等发现新月柄杆菌(*Caulobacter crescentus*)热应激可诱导 Lon 蛋白酶的合成,并在 HSP70 伴侣分子 DnaK 的介导下,直接降解细菌复制的启动蛋白 DnaA,抑制细菌 DNA 的复制,从而形成细菌在热应激环境下抑制复制的保护机制^[27]。Fernández 等利用定量蛋白质组学方法探索 Lon 蛋白作用靶点,发现 *P. aeruginosa* 的 *lon* 基因突变株中, RNA 结合

蛋白 Hfq 的含量显著增加,并且在体外实验中证明了 Lon 蛋白对 Hfq 的降解作用,研究人员认为 Lon 蛋白可通过 Hfq 间接参与调控 sRNA 的表达^[18]。

Lon 蛋白酶的作用底物具有多样性,目前只鉴定出少数底物蛋白且进展缓慢。定量蛋白质组学作为一种新兴成熟的实验技术,在筛选 Lon 蛋白酶底物研究中具有天然的优势。Arends 等利用 Label-free 定量蛋白质组学方法在 *E. coli* 中新筛选出 14 个 Lon 蛋白作用底物,这些底物蛋白主要参与细菌氧化应激、核酸合成、氨基酸和能量代谢生理过程^[28]。利用定量蛋白质组学技术筛选 Lon 蛋白酶的潜在底物可极大推进人们对 Lon 蛋白酶作用功能的认识。

5 Lon 蛋白上游调控网络研究

在先前报道中,lon 基因属于热应激操纵子(Heat-shock regulon, HS),热应激可诱导 lon 基因的表达^[29-30]。Robertson 等通过 Northern 实验发现流产布鲁氏菌(*Brucella abortus*)在热休克以及其他压力环境下,lon 基因的转录水平上调,但具体的调控方式仍需进一步研究^[31]。然而也有例外,*Myxococcus xanthus*^[32]中的 lon 同源基因并不是热诱导的,在不同的细菌中,lon 基因的转录调控方式也不尽相同。

E. coli 通过 σ^{32} 因子激活 HS 的转录活性,在正常条件下 DnaK 分子伴侣系统和 HflB 蛋白酶使 σ^{32} 因子处于非稳定状态,而在热应激环境下,细胞内积聚的非折叠蛋白竞争性与 DnaK 和蛋白酶结合,导致形成稳定状态的 σ^{32} 因子,进而直接促进 lon 基因的表达^[33]。*B. subtilis* 在高渗、乙醇、H₂O₂ 和嘌呤霉素的环境胁迫下可诱导 lonA 基因的表达^[29],但是这种转录激活作用并不依赖于压力应激 σ^B 因子,其内在的调控机制尚不明确。

变铅青链霉菌(*Streptomyces lividans*)除了通过 HspR (Heat-shock protein regulator)负向调控 lon 基因表达外,还通过 ClgR 正向诱导 Lon 蛋白合成,发挥 Lon 蛋白酶活性降解错误折叠蛋白。同时 ClgR 还能被 ClpP 降解,形成负反馈调节机制,避免 Lon

蛋白过度表达^[30],但是何种环境条件触发 ClgR 的表达仍不清楚。

正常环境下细菌胞内蛋白酶的量必须维持在恰当的水平,以维持细菌正常的生理过程,然而在特定情况下,细菌胞内 Lon 的蛋白水解作用有利于细菌在逆境中存活,然而人们对 Lon 蛋白表达调控的机制知之甚少^[3]。

6 结论与展望

细菌胞内 Lon 及其他 ATP 依赖蛋白酶介导的蛋白降解机制是一种保守机制,它可降解细菌胞内错误折叠蛋白,对于维持细菌胞内的蛋白质平衡具有重要意义。同时,Lon 蛋白由于作用靶点具有多样性而在细菌胞内发挥多重作用。研究表明,lon 基因缺失可影响细菌生长速度^[26]、胁迫环境下的耐受能力^[16]、抗生素敏感性^[6]以及毒力^[17]。

在先前报道中,*B. abortus* 在热应激、酸性条件(pH 4.5)、EtOH、嘌呤霉素等应激环境下可引起 lon 基因的转录上调,lon 基因缺失株在体外应激环境中表现出抵抗力下降,并影响 *B. abortus* 对小鼠模型的早期感染^[31]。由于其中的分子机制尚不明确,因此本实验室采用原核细胞转录测序技术揭示了 lon 基因缺失与细菌对应激环境敏感性上升和毒力下降之间的分子机制^[34]。研究发现 lon 基因的缺失可引起布鲁氏菌胞内大量与热应激、压力应激相关基因以及转录调控因子的转录发生变化,提示正常表达的 Lon 蛋白参与细菌胞内一系列重要生理过程,但是 Lon 蛋白调控这些生理过程的机制和方式有待后续进一步研究。

由于我们对 Lon 蛋白在 *B. abortus* 细菌内的作用靶点及其调控网络了解得不够清楚,接下来我们将利用蛋白质组学开展 Lon 蛋白下游靶点研究,并设计体外酶降解实验对 Lon 蛋白酶的底物进行鉴定。另外,在应用研究方面,我们将以 lon 基因为修饰靶点构建基因工程弱毒疫苗,利用动物模型评价基因工程弱毒疫苗的安全性和有效性,最终实现控制布鲁氏菌病流行传播的目的。

REFERENCES

- [1] Swamy KHS, Goldberg AL. *E. coli* contains eight soluble proteolytic activities, one being ATP dependent[J]. *Nature*, 1981, 292(5824): 652-654
- [2] Gur E. The Lon AAA+ protease[A]/Dougan D. Regulated Proteolysis in Microorganisms[M]. Dordrecht: Springer, 2013, 66: 35-51
- [3] Tsilibaris V, Maenhaut-Michel G, van Melderen L. Biological roles of the Lon ATP-dependent protease[J]. *Research in Microbiology*, 2006, 157(8): 701-713
- [4] van Melderen L, Aertsen A. Regulation and quality control by Lon-dependent proteolysis[J]. *Research in Microbiology*, 2009, 160(9): 645-651
- [5] Lee JH, Ancona V, Zhao YF. Lon protease modulates virulence traits in *Erwinia amylovora* by direct monitoring of major regulators and indirectly through the Rcs and Gac-Csr regulatory systems[J]. *Molecular Plant Pathology*, 2018, 19(4): 827-840
- [6] Nicoloff H, Andersson DI. Lon protease inactivation, or translocation of the *lon* gene, potentiate bacterial evolution to antibiotic resistance[J]. *Molecular Microbiology*, 2013, 90(6): 1233-1248
- [7] Breidenstein EBM, Hancock REW. Armand-Frappier outstanding student award — role of ATP-dependent proteases in antibiotic resistance and virulence[J]. *Canadian Journal of Microbiology*, 2013, 59(1): 1-8
- [8] Inoue M, Fukui K, Fujii Y, et al. The Lon protease-like domain in the bacterial RecA paralog RadA is required for DNA binding and repair[J]. *The Journal of Biological Chemistry*, 2017, 292(23): 9801-9814
- [9] Vieux EF, Wohlever ML, Chen JZ, et al. Distinct quaternary structures of the AAA+ Lon protease control substrate degradation[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2013, 110(22): E2002-E2008
- [10] Lin CC, Su SC, Su MY, et al. Structural insights into the allosteric operation of the Lon AAA+ protease[J]. *Structure*, 2016, 24(5): 667-675
- [11] Wohlever ML, Baker TA, Sauer RT. Roles of the N domain of the AAA+ Lon protease in substrate recognition, allosteric regulation and chaperone activity[J]. *Molecular Microbiology*, 2014, 91(1): 66-78
- [12] Zhou XF, Teper D, Andrade MO, et al. A phosphorylation switch on Lon protease regulates bacterial type III secretion system in host[J]. *mBio*, 2018, 9(1): e02146-17
- [13] Su SC, Stephens BB, Alexandre G, et al. Lon protease of the α -proteobacterium *Agrobacterium tumefaciens* is required for normal growth, cellular morphology and full virulence[J]. *Microbiology*, 2006, 152(4): 1197-1207
- [14] Tu IF, Liao JH, Yang FL, et al. Lon protease affects the RdxA nitroreductase activity and metronidazole susceptibility in *Helicobacter pylori*[J]. *Helicobacter*, 2014, 19(5): 356-366
- [15] Breidenstein EBM, Janot L, Strehmel J, et al. The Lon protease is essential for full virulence in *Pseudomonas aeruginosa*[J]. *PLoS One*, 2012, 7(11): e49123
- [16] Xie F, Li G, Zhang YH, et al. The Lon protease homologue LonA, not LonC, contributes to the stress tolerance and biofilm formation of *Actinobacillus pleuropneumoniae*[J]. *Microbial Pathogenesis*, 2016, 93: 38-43
- [17] Pressler K, Vorkapic D, Lichtenegger S, et al. AAA+ proteases and their role in distinct stages along the *Vibrio cholerae* lifecycle[J]. *International Journal of Medical Microbiology*, 2016, 306(6): 452-462
- [18] Fernández L, Breidenstein EB, Taylor PK, et al. Interconnection of post-transcriptional regulation: The RNA-binding protein Hfq is a novel target of the Lon protease in *Pseudomonas aeruginosa*[J]. *Scientific Reports*, 2016, 6: 26811
- [19] Mukherjee S, Bree AC, Liu J, et al. Adaptor-mediated Lon proteolysis restricts *Bacillus subtilis* hyperflagellation[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2015, 112(1): 250-255
- [20] Lalsiamthara J, Lee JH. Virulence associated genes-deleted *Salmonella montevideo* is attenuated, highly immunogenic and confers protection against virulent challenge in chickens[J]. *Frontiers in Microbiology*, 2016, 7: 1634
- [21] Rogers A, Townsley L, Gallego-Hernandez AL, et al. The LonA protease regulates biofilm formation, motility, virulence, and the type VI secretion system in *Vibrio cholerae*[J]. *Journal of Bacteriology*, 2016, 198(6): 973-985
- [22] Bhaskarla C, Das M, Verma T, et al. Roles of Lon protease and its substrate MarA during sodium salicylate-mediated growth reduction and antibiotic resistance in *Escherichia coli*[J]. *Microbiology*, 2016, 162(5): 764-776
- [23] Nishii W, Maruyama T, Matsuoka R, et al. The unique sites in SulA protein preferentially cleaved by ATP-dependent Lon protease from *Escherichia coli*[J]. *European Journal of Biochemistry*, 2002, 269(2): 451-457
- [24] Nazir A, Harinarayanan R. Inactivation of cell division protein FtsZ by SulA makes Lon indispensable for the viability of a ppGpp⁰ strain of *Escherichia coli*[J]. *Journal of Bacteriology*, 2015, 198(4): 688-700
- [25] Heuveling J, Possling A, Hengge R. A role for Lon protease in the control of the acid resistance genes of *Escherichia coli*[J]. *Molecular Microbiology*, 2008, 69(2): 534-547
- [26] Kim H, Lee H, Shin D. Lon-mediated proteolysis of the FeoC protein prevents *Salmonella enterica* from accumulating the Fe(II) transporter FeoB under high-oxygen conditions[J]. *Journal of Bacteriology*, 2015, 197(1): 92-98
- [27] Jonas K, Liu J, Chien P, et al. Proteotoxic stress induces a cell-cycle arrest by stimulating Lon to degrade the replication initiator DnaA[J]. *Cell*, 2013, 154(3): 623-636
- [28] Arends J, Griego M, Thomanek N, et al. An integrated proteomic approach uncovers novel substrates and functions of the Lon protease in *Escherichia coli*[J]. *Proteomics*, 2018, 18(13): 1800080
- [29] Riethdorf S, Völker U, Gerth U, et al. Cloning, nucleotide sequence, and expression of the *Bacillus subtilis lon* gene[J]. *Journal of Bacteriology*, 1994, 176(21): 6518-6527
- [30] Sobczyk A, Bellier A, Viala J, et al. The *lon* gene, encoding an ATP-dependent protease, is a novel member of the HAIR/HspR stress-response regulon in actinomycetes[J]. *Microbiology*, 2002, 148(6): 1931-1937
- [31] Robertson GT, Kovach ME, Allen CA, et al. The *Brucella abortus* Lon functions as a generalized stress response protease and is required for wild-type virulence in BALB/c mice[J]. *Molecular Microbiology*, 2000, 35(3): 577-588
- [32] Tojo N, Inouye S, Komano T. Cloning and nucleotide sequence of the *Myxococcus xanthus lon* gene: indispensability of *lon* for vegetative growth[J]. *Journal of Bacteriology*, 1993, 175(8): 2271-2277
- [33] Schumann W. Regulation of bacterial heat shock stimulons[J]. *Cell Stress and Chaperones*, 2016, 21(6): 959-968
- [34] Liu YF, Dong H, Peng XW, et al. RNA-seq reveals the critical role of Lon protease in stress response and *Brucella* virulence[J]. *Microbial Pathogenesis*, 2019, 130: 112-119