

肠道共生菌 *Akkermansia muciniphila* 编码的 重组蛋白 Amuc_0119 的表达与纯化

任志豪, 左 腾, 张伟云, 于大海, 房学迅

(吉林大学生命科学学院, 分子酶学工程教育部重点实验室, 长春 130012)

摘要 粘蛋白降解肠道共生菌 *Akkermansia muciniphila* 因具有促进健康的效用而备受关注, 其蛋白组分在宿主-微生物互动中发挥着重要作用. 其中, Amuc_0119 是一类尚未表征的假定蛋白, 具有潜在生物学功能. 本文旨在构建 Amuc_0119 的重组表达系统, 以促进其结构和功能研究. 将 Amuc_0119 编码序列克隆至 N 端和 C 端均带有 6×His 标签的 pET-28a(+) 载体中, 并转化至大肠杆菌 BL21(DE3). 在 37 °C 下以 0.5 mmol/L IPTG 过夜诱导表达, 经 SDS-PAGE 分析获得了 46 kDa 重组蛋白, 并通过 Ni-NTA 亲和层析纯化, 其纯度达 92.08%. Western blot 结果确认为目标蛋白, 通过 BCA 定量测得最终浓度为 818.44 μg/mL. 本文建立了 *Akkermansia muciniphila* 来源 Amuc_0119 的高效表达与纯化体系, 为后续结构及功能研究提供了必要工具.

关键词 粘蛋白降解肠道共生菌(*Akkermansia muciniphila*); 益生菌; Amuc_0119; 表达; 纯化

中图分类号 Q554

文献标志码 A

doi: 10.7503/cjcu20250283

Expression and Purification of Recombinant Amuc_0119 Protein Encoded by the Gut Commensal Bacterium *Akkermansia Muciniphila*

REN Zhihao, ZUO Teng, ZHANG Weiyun, YU Dahai, FANG Xuexun*

(Key Laboratory for Molecular Enzymology and Engineering, Ministry of Education, School of Life Sciences, Jilin University, Changchun 130012, China)

Abstract The mucin-degrading gut commensal bacterium *Akkermansia muciniphila* has emerged as a promising probiotic due to its significant health-promoting effects, wherein its protein constituents mediate critical host-microbe crosstalk. Notably, Amuc_0119 represents an uncharacterized protein potentially with beneficial biological functions. In this study, we aimed to construct an expression system for recombinant Amuc_0119 to facilitate its structural and functional characterization. The coding sequence of Amuc_0119 was cloned into pET-28a(+) vector with an N-terminal 6×His-tag and successfully transformed into *E. coli* BL21(DE3) competent cells. Protein expression was induced by 0.5 mmol/L IPTG overnight at 37 °C. SDS-PAGE analysis revealed successful expression of the 46 kDa recombinant protein, which was subsequently purified via Ni-NTA affinity chromatography with a purity of 92.08%. Western blot with anti-His antibodies confirmed the target protein identity, while quantitative BCA assay determined a final concentration of 818.44 μg/mL. This study establishes the first efficient expression and purification protocol for *Akkermansia muciniphila*-derived Amuc_0119, providing essential tools for forthcoming structural studies and functional investigations for this bacterial protein.

Keywords *Akkermansia muciniphila*; Probiotic; Amuc_0119; Expression; Purification

粘蛋白降解肠道共生菌 *Akkermansia muciniphila* (*A. muciniphila*) 作为一种具有显著促进健康作用

收稿日期: 2025-10-05. 网络首发日期: 2025-11-12.

联系人简介: 房学迅, 男, 博士, 教授, 主要从事蛋白质功能及其药物开发方面的研究. E-mail: fangxx@jlu.edu.cn.

基金项目: 吉林省科技发展计划项目(批准号: 20240401055YY)资助.

Supported by the Science and Technology Development Project of Jilin Province, China(No. 20240401055YY).

的益生菌而备受关注,它是一种革兰氏阴性厌氧菌,广泛存在于人类肠道中,尤其是健康成人的肠道中^[1]. 近来研究表明, *A. muciniphila* 在维持肠道屏障功能、调节免疫反应和改善代谢健康方面发挥着重要作用^[2,3], 这些功能使其成为肠道微生物组研究的热点, 而其蛋白组分在宿主-微生物互动中发挥着关键作用^[4], *A. muciniphila* 及其组分(外膜蛋白和细胞外囊泡)被发现可预防和改善肥胖、糖尿病、代谢综合征、炎症、衰老、癌症治疗副作用及神经退行性疾病等^[5-8].

A. muciniphila ATCC BAA-835 基因组包含 2176 个蛋白编码基因, 其中许多功能已被初步研究^[9]. 如 Amuc_2301 和 Amuc_2446 已得到克隆并纯化^[10], 细胞外蛋白 Amuc_1100 被证实可改善肥胖和糖尿病, 且具有抗炎和抗肿瘤作用^[11-14], Amuc_1686 可保护组织再生^[15], Amuc_0705, Amuc_0707, Amuc_1757 和 Amuc_2085 具有神经氨酸酶活性^[16]. 此外, *A. muciniphila* 分泌的苏氨酸 tRNA 合成酶(AmTARS)具有调节免疫稳态的功能^[17]; 分泌的乙酰转移酶可以抑制结肠癌的发生^[18]; 分泌的 P9 蛋白可改善小鼠葡萄糖稳态并缓解代谢疾病^[19,20], 而且实现了异源原核分泌表达^[21], 具有治疗糖尿病、肥胖症等疾病的治疗潜力, 分泌蛋白 Amuc_1409 可调节肠干细胞以改善肠道健康^[22].

近年来关于 *A. muciniphila* 及其关键蛋白的研究不断深入, 多数工作集中在少数已报道的功能性分泌蛋白上, 而对于 Amuc_0119 等假定蛋白的研究很少. 而 Amuc_0119 作为 *A. muciniphila* 分泌的假定蛋白, 其分泌能发挥一定的生物学功能, 但目前尚无关于 Amuc_0119 结构、功能及潜在生物学作用的研究报道, 这也限制了对 *A. muciniphila* 整体功能图谱的全面认知, 所以开发高效重组蛋白表达体系以研究 Amuc_0119 的功能特征尤为重要.

基于此, 本文通过构建 Amuc_0119 的重组表达体系, 实现了其在大肠杆菌中的高效稳定表达和纯化. 该研究不仅填补了 Amuc_0119 研究的空白, 也为其进一步结构解析和生物学功能奠定了基础, 有助于该蛋白的未来研究, 为 *A. muciniphila* 的具体益生机制提供了新的思路, 具有一定应用前景.

1 实验部分

1.1 试剂与仪器

胰蛋白胨(A. R. 级)和酵母提取物(A. R. 级), 赛默飞世尔科技(中国)有限公司; 氯化钠(A. R. 级)和丙三醇(A. R. 级), 国药集团化学试剂有限公司; 琼脂粉(AR)、硫酸卡那霉素(≥ 765 U/mg)、Tris($\geq 99.5\%$)和甘氨酸($\geq 98.5\%$), 北京 Biosharp 生物科技有限公司; IPTG(纯度 $\geq 98\%$)和 SDS(纯度 $> 93\%$), 北京鼎国昌盛生物技术公司; 大肠杆菌 BL21(DE3)感受态细胞(CD601-02)、6×Protein Loading Buffer(DL101-02)、Anti-His Rabbit Monoclonal Antibody(HT501-01)、HRP-labeled Goat Anti-Rabbit IgG(H+L)(HS201-01)和预染蛋白 Marker(14-120 kDa)(DM111-02), 北京金全生物技术有限公司; 超敏 ECL 发光液(MA0186), 大连美仑生物技术有限公司; 脱脂奶粉(0008443), 美国 BD-Difco 公司; 丙烯酰胺(A501033), 生工生物工程(上海)有限公司; 甲叉双丙烯酰胺(BM0344), 北京百奥莱博科技有限公司; 考马斯亮蓝 R250(1912GR005), 德国 Biofroxx 生物试剂公司; 镍柱填料(SA005GC05), 常州天地人和生物科技有限公司; 改良型 BCA 蛋白质浓度检测试剂盒(KTD3001), 亚科因(武汉)生物技术有限公司.

PB-10 型 pH 仪, 德国 Standardize 仪器公司; JY92-IIN 型超声波细胞粉碎机, 宁波新芝生物科技股份有限公司; D3024R 型高速冷冻离心机, 大龙生物有限公司; Tanon 4800 型化学发光成像分析系统, 上海天能科技有限公司; Infinite M200 Pro 型全自动多功能酶标仪, 瑞士 TECAN 公司; UV1700 型紫外分光光度计, 日本岛津公司.

1.2 实验过程

1.2.1 Amuc_0119 生化信息分析 利用 ExPASy^[23], SignalP, TMHMM2.0, ProtCompB, PredictProtein 和 AlphaFold 3 等生物信息学工具预测并分析了 Amuc_0119 的理化性质、疏水/亲水性、信号肽、跨膜螺旋、亚细胞定位、二级结构和三级结构.

1.2.2 质粒构建与转化 根据生物信息学预测结果, 去除了 Amuc_0119 N 端前 16 个氨基酸残基组成的

天然信号肽. 选择pET-28a(+)作为重组蛋白表达载体, 宿主细胞为大肠杆菌BL21(DE3). 在基因两端分别加入Nco I和Xho I限制性内切酶位点, 并在目标基因两端添加His标签. 基因设计完成后由上海生工公司合成. 取25 μ L大肠杆菌BL21(DE3)感受态细胞加入无菌EP管中再加入5 μ L质粒, 置于冰上放置30 min; 用42 $^{\circ}$ C水浴热激45 s, 再冰浴2 min. 在无菌环境中向管中加入1 mL SOC培养基, 于37 $^{\circ}$ C, 180 r/min条件下振荡培养1 h. 以4000 r/min转速离心5 min, 弃去上层清液, 用100 μ L LB液体培养基重悬菌体. 将菌液涂布于含卡那霉素的LB平板上, 于37 $^{\circ}$ C恒温培养箱中过夜培养. 挑取单菌落接种于含卡那霉素的LB液体培养基, 于37 $^{\circ}$ C, 180 r/min条件下振荡培养12 h, 然后进行测序.

1.2.3 重组蛋白诱导与表达 将上述获得的菌液接种于200 mL含硫酸卡那霉素的LB液体培养基, 于37 $^{\circ}$ C, 180 r/min条件下振荡培养4 h至对数生长期, OD₆₀₀值约0.6. 加入IPTG至终浓度为0.5 mmol/L (IPTG储备液浓度1.0 mol/L), 于37 $^{\circ}$ C, 150 r/min条件下诱导过夜. 诱导前后各取1 mL菌液, 用SDS-PAGE分析重组蛋白表达.

1.2.4 SDS-PAGE 将诱导前、诱导后及不同浓度咪唑洗脱的蛋白样品按1:5比例加入6 \times 上样缓冲液中, 经100 $^{\circ}$ C沸水浴10 min, 冰浴2 min. Marker(14-120 kDa)加样10 μ L, 各样品加样15 μ L, 在440 V, 80 mA条件下电泳1 h. 用考马斯亮蓝染色15 min, 弃去染色液, 加入脱色液振荡脱色过夜, 拍照记录.

1.2.5 Ni-NTA亲和层析 将诱导成功的菌液离心收集菌体, 用20 mL 20 mmol/L Tris-HCl缓冲液(pH=8.0)重悬, 低温超声破碎30 min. 于4 $^{\circ}$ C下以12000 r/min转速离心30 min, 收集上层清液, 用0.45 μ m无菌滤膜过滤, 于冰上保存备用. 将Ni²⁺-NTA Beads 6FF重力柱固定于架上, 放尽保护液后用5个柱体积去离子水冲洗, 再用5个柱体积20 mmol/L Tris-HCl缓冲液(pH=8.0)平衡. 将冰上保存的上清液加入平衡好的柱子中, 轻轻混匀振荡1 h结合, 循环柱内2~3次. 用10~15个柱体积10和100 mmol/L咪唑溶液洗去非特异结合蛋白, 用5~10个柱体积250 mmol/L咪唑洗脱目标蛋白并收集. 柱子用Tris-HCl缓冲液和去离子水各5个柱体积依次洗涤后, 用等体积20%乙醇保存于4 $^{\circ}$ C. 所有操作均在冰上或低温层析柜中进行, 所有溶液经预冷.

1.2.6 透析 剪取适当长度透析袋, 置于含1 L蒸馏水的烧杯中微波加热30 min, 冷却后于4 $^{\circ}$ C保存. 使用前用蒸馏水检测封口性. 将1.2.5节获得的蛋白洗脱液加入透析袋中, 用透析夹密封, 置于20 mmol/L Tris-HCl缓冲液中, 于4 $^{\circ}$ C低温层析室透析24 h, 透析缓冲液中途更换一次.

1.2.7 Western blot 鉴定 对待鉴定的蛋白样品进行SDS-PAGE分析, 根据目标蛋白分子量(30~50 kDa)按Marker指示位置剪下相应分离胶部分, 去离子水浸泡15 min. 测量胶的长宽, 剪取相应大小PVDF膜和6层滤纸, PVDF膜用甲醇浸泡10 min活化, 胶、膜、滤纸和海绵垫均置于预冷转膜缓冲液中浸泡10 min平衡. 转膜时按阴极黑面顺序依次放置海绵垫、三层滤纸、胶、PVDF膜、三层滤纸和海绵垫, 确保无气泡且完全接触. 设定恒电流为250 mA转膜1.5 h, 冰浴降温. 转膜后将PVDF膜于室温用5%脱脂奶粉振荡封闭1 h, 弃去封闭液, 用滤纸吸干残液. 用TBS缓冲液稀释抗His小鼠单克隆抗体(1:8000), 将膜蛋白面向下置于抗体溶液中于低温层析室孵育14 h. 用TBST溶液洗膜3次, 每次15 min, 用TBS缓冲液稀释HRP标记山羊抗小鼠IgG(H+L)(1:5000)于室温孵育1 h, 再用TBST溶液洗膜3次, 每次15 min. 将PVDF膜置于Tanon-5200自动化学发光成像系统中, 使用ECL超敏电化学发光试剂(溶液A和溶液B按体积比1:1现配)覆盖膜表面检测目标蛋白.

1.2.8 BCA蛋白定量 使用BCA蛋白定量试剂盒测定纯化后的重组蛋白浓度. 按照说明书以0~2000 μ g/mL的BSA浓度绘制标准曲线, 用酶标仪在562 nm处测量吸光度, 以蛋白浓度为横坐标、吸光度为纵坐标计算标准曲线方程, 将蛋白样品在562 nm的吸光度值代入标准曲线计算蛋白浓度.

2 结果与讨论

2.1 Amuc_0119生化信息分析

利用多种生物信息学工具对Amuc_0119的理化性质和结构进行了分析. 通过Expasy门户的ProtParam(表1)和ProtScale[图1(A)]预测, 显示Amuc_0119为亲水性蛋白, 平均亲水性指数为

Table 1 Biochemical parameters of Amuc_0119

Number of amino acid residues	439	Percentage of the top three high amino acids	Ala(10.7%), Ser(8.4%), Pro(8.2%)
Molecular formula	$C_{2128}H_{3301}N_{595}O_{636}S_{17}$	Protein instability index	52.22
Theoretical molecular weight(Da)	47941.24	Fat coefficient	75.85
Theoretical isoelectric point(pI)	6.72	Total average hydrophilicity	-0.333

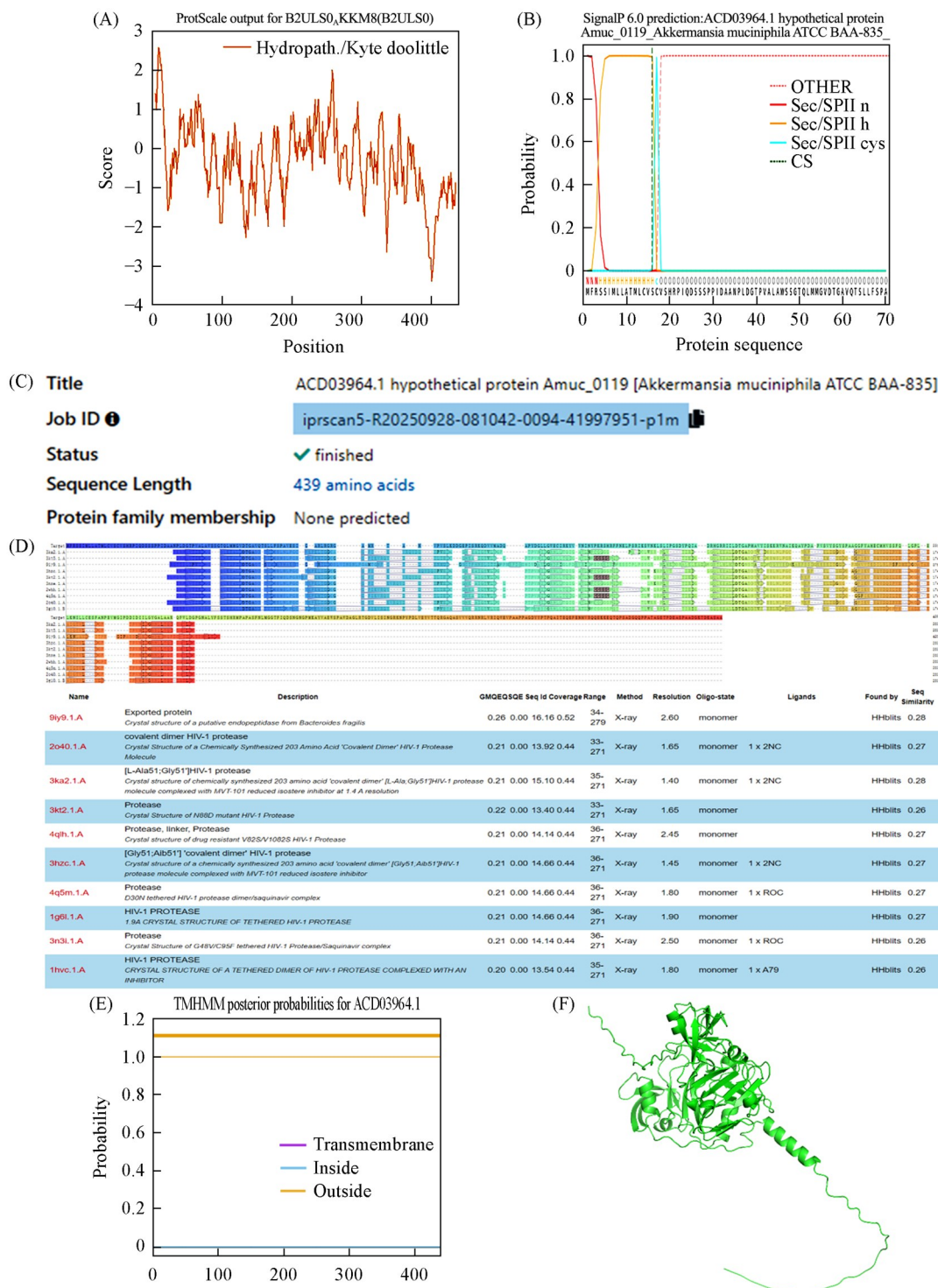


Fig. 1 Biochemical information of Amuc_0119

(A) Amuc_0119 hydrophilic-hydrophobic intuitive diagram; (B) Signal peptide of Amuc_0119; (C) Domain and functional site analysis of Amuc_0119; (D) Homology analysis of Amuc_0119; (E) The transmembrane helical structure of Amuc_0119; (F) Three-dimensional structure of Amuc_0119.

-0.333, 表明其可溶性良好. SignalP-6.0[图1(B)]和TMHMM-2.0[图1(E)]分析结果表明, 氨基酸残基1~16位为信号肽. ProtCompB预测结果提示 Amuc_0119可能为分泌蛋白(表2). InterPro保守结构域与功能位点分析显示, Amuc_0119不属于任何已知蛋白家族[图1(C)]. 同时, 通过SWISS-MODEL初步检索发现 Amuc_0119氨基酸序列与已知蛋白相似性较低, 表明其同源性低[图1(D)]. 上述结果表明, Amuc_0119的生物学功能尚不明确. 然而, 作为一种假定的 *A. muciniphila* 分泌蛋白, 其潜在功能值得进一步研究. 最终, 利用 AlphaFold 3 对 Amuc_0119 进行了三维结构模拟[图1(F)]. 获得综合性生物信息学分析结果为 Amuc_0119 的潜在晶体结构和功能研究提供了参考.

Table 2 Subcellular localization of Amuc_0119*

Location weight	Score		
	NNets	Pentamers	Integral
Cytoplasmic	0	0	0
Membrane	0.18	0	0
Secreted	2.37	3.44	10.00
Periplasmic	0.46	0	0

* NNets: scores assigned by neural networks. Pentamers: scores based on comparisons of pentamer distributions calculated for QUERY and DB sequences. Integral are final scores that combine all above previous scores using a final neural net. The scores are renormalized to make a sum of scores for all localizations equal 3 (Nnets), 5 (PotLocDB, Pentamers) or 10 (LocDB, Integral).

2.2 质粒构建与转化

信号肽通常具有疏水性且可溶性差, 使其在原核系统中表达存在困难. 此外, 信号肽可能无法被表达系统正确识别并切除, 从而影响重组蛋白的空间构象和活性^[24]. 因此, 本文根据生物信息学预测, 删除了 Amuc_0119 N端1~16个氨基酸残基组成的野生型信号肽并在N端和C端添加了6×His标签, 以便于亲和纯化, 随后使用 AlphaFold 3 预测删除信号肽并添加 His 标签后的蛋白质结构. 如

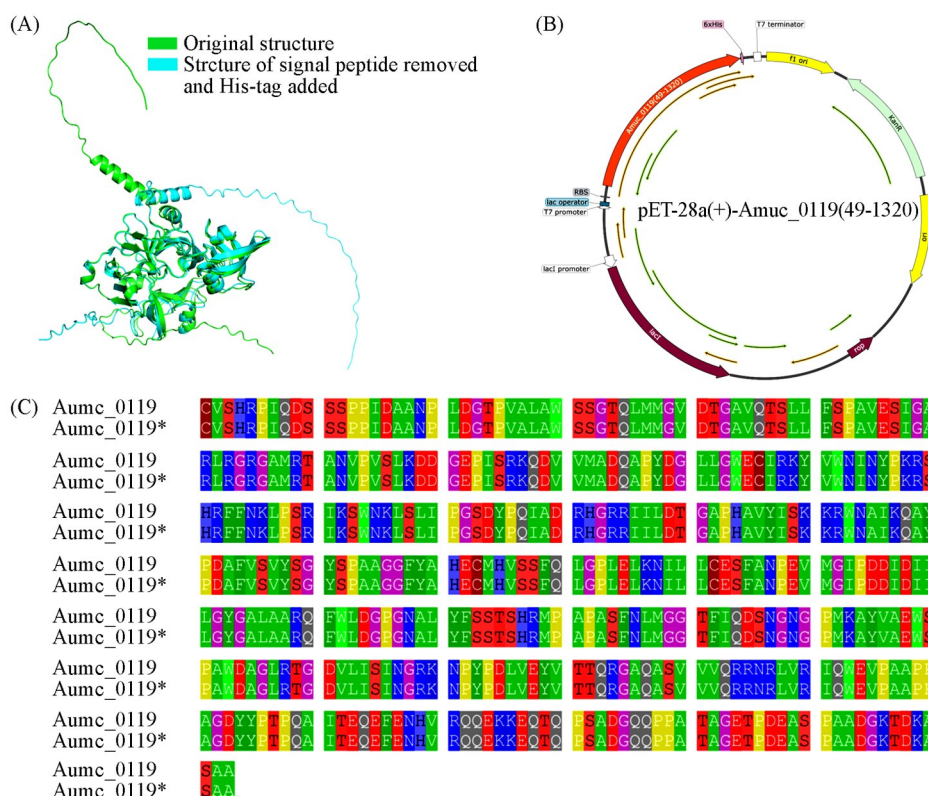


Fig. 2 Construction and transformation of plasmid

(A) Comparison of three-dimensional structures; (B) Plasmid map of pET-28a(+)-Amuc_0119(49-1320); (C) The result of sequence alignment(Amuc_0119-Original sequence; Amuc_0119*-Optimized sequence).

图2(A)所示,其三维空间结构与原始结构相比除两端外其核心结构无显著变化,结构相似,所以信号肽的删除及 His-tag 的添加对蛋白质整体结构影响较小。

鉴于 pET 系列表达载体是重组蛋白表达的常用高效系统,且 pET-28a(+) 最为常用, *E. coli* BL21 (DE3) 是与 pET 系统结合应用的经典宿主菌株^[25,26],因此选择其进行重组蛋白表达。通过限制性内切酶位点筛选,在 5' 端添加 Nde I,在 3' 端添加 Xho I,同时在基因两端添加 His 标签。基因设计完成后由生工生物工程(上海)股份有限公司合成,成功构建质粒,其图谱如图 2(B)所示。质粒转化后挑取单克隆菌落进行培养并测序验证,结果如图 2(C)所示,无移码突变和点突变,表明质粒构建与转化成功,可用于后续重组蛋白表达。

2.3 Amuc_0119 重组蛋白的表达与纯化

pET-28a(+)-Amuc_0119(49-1320)表达的重组蛋白理论分子量为 46 kDa。SDS-PAGE 显示,经 IPTG 诱导后,在约 50 kDa 处出现明显且均一的条带,占菌体总蛋白的 1/2 以上,表明该条带为目标蛋白。

重组蛋白 Amuc_0119 N 端和 C 端均带有 6×His 标签,采用 Ni-NTA 亲和层析进行纯化。破碎后的菌体上清液与 Ni²⁺-NTA 6FF 重力柱混合后,依次用 10, 100 及 250 mmol/L 咪唑洗脱。SDS-PAGE 结果如图 3 所示,在 250 mmol/L 咪唑洗脱条件下,Amuc_0119 重组蛋白浓度和纯度较高,通过 ImageJ 软件对目的条带进行了灰度分析,计算得到目的蛋白的纯度约为 92.08%。

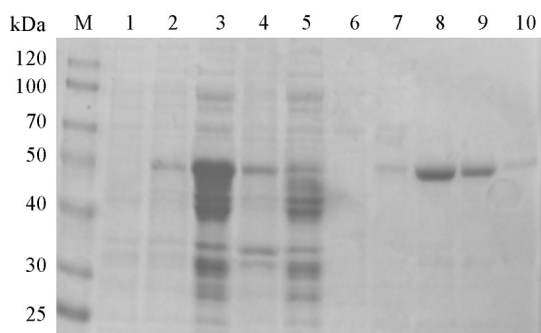


Fig. 3 SDS-PAGE analysis of expression and purification of recombinant Amuc_0119

Lane M: protein marker; Lane 1: Before induction; Lane 2: After induction; Lane 3: Supernatant after crushing; Lane 4: Precipitation after crushing; Lane 5: Flowing liquid; Lane 6: 10 mmol/L imidazole eluent; Lane 7: 100 mmol/L imidazole eluent; Lane 8—10: 250 mmol/L imidazole eluent.

2.4 Amuc_0119 重组蛋白的鉴定

采用 Western blot 对 250 mmol/L 咪唑洗脱液进行了鉴定。由图 4 可见,6×His 标签可被抗 His 单克隆抗体识别,膜上检测到对应条带,证明洗脱蛋白即为重组 Amuc_0119。



Fig. 4 Western blot analysis of the recombinant Amuc_0119

All three lanes are Amuc_0119. Primary Antibody: Anti-His Rabbit Monoclonal Antibody; Secondary Antibody: HRP-labeled Goat Anti-Rabbit IgG (H+L).

2.5 Amuc_0119 重组蛋白浓度测定

将洗脱后的重组蛋白在 Tris-HCl 缓冲液中透析 24 h 除去咪唑,并通过 10 kDa 超滤膜浓缩。利用 BCA 蛋白定量试剂盒测定蛋白浓度,得到标准曲线方程为 $y=0.0004x+0.0082$, $R^2=0.9976$,代入标准曲线方程得到纯化后的 Amuc_0119 蛋白浓度为 818.44 $\mu\text{g/mL}$ (17.8 $\mu\text{mol/L}$)。

3 结 论

通过生物信息学分析表明,Amuc_0119 为亲水性分泌蛋白,无跨膜结构域,分子量约 46 kDa,具有

良好可溶性,且去除了天然信号肽并在N端与C端添加6×His标签,利用Ni-NTA亲和层析纯化目标蛋白,其纯度达92.08%。SDS-PAGE与Western blot分析验证其策略有效,BCA定量测得浓度为818.44 μg/mL(17.8 μmol/L)。研究结果证明pET-28a(+)/BL21(DE3)体系可实现Amuc_0119的可溶性表达且未形成包涵体,成功构建了*A. muciniphila*源假定蛋白Amuc_0119的重组表达系统,实现了其在大肠杆菌BL21(DE3)中的高效稳定可溶表达,从而为Amuc_0119的结构解析及进一步研究其生物功能奠定了基础,有助于对该蛋白的持续和未来研究,有望为揭示*A. muciniphila*的益生机制提供新的见解。

参 考 文 献

- [1] Zhang T., Li Q., Cheng L., Buch H., Zhang F., *Microb. Biotechnol.*, **2019**, *12*(6), 1109—1125
- [2] Cani P. D., Depommier C., Derrien M., Everard A., de Vos W. M., *Nat. Rev. Gastroenterol. Hepatol.*, **2022**, *19*(10), 625—637
- [3] Zhao Y., Yang H., Wu P., Yang S., Xue W., Xu B., Zhang S., Tang B., Xu D., *Virulence*, **2024**, *15*(1), 2375555
- [4] Vidal-Veuthey B. González D., Cárdenas J. P., *Front. Cell Infect. Microbiol.*, **2022**, *12*, 964710
- [5] Dingemans C., Belzer C., van Hijum S. A., Günthel M., Salvatori D., den Dunnen J. T., Kuijper E. J., Devilee P., de Vos W. M., van Ommen G. B., Robanus-Maandag E. C., *Carcinogenesis*, **2015**, *36*(11), 1388—1396
- [6] Hansen C. H., Krych L., Nielsen D. S., Vogensen F. K., Hansen L. H., Sørensen S. J., Buschard K., Hansen A. K., *Diabetologia*, **2012**, *55*(8), 2285—2294
- [7] Ou Z., Deng L., Lu Z., Wu F., Liu W., Huang D., Peng Y., *Nutr. Diabetes*, **2020**, *10*(1), 12
- [8] Xu Y., Wang N., Tan H. Y., Li S., Zhang C., Feng Y., *Front. Microbiol.*, **2020**, *11*, 219
- [9] Rooijers K., Kolmeder C., Juste C., Doré J., de Been M., Boeren S., Galan P., Beauvallet C., de Vos W. M., Schaap P. J., *BMC Genomics*, **2011**, *12*, 6
- [10] Wang M., Zhang X. Y., Guo R. R., Cai Z. P., Hu X. C., Chen H., Wei S., Voglmeir J., Liu L., *Carbohydr. Res.*, **2018**, *457*, 1—7
- [11] Ottman N., Reunanen J., Meijerink M., Pietilä T. E., Kainulainen V., Klievink J., Huuskonen L., Aalvink S., Skurmik M., Boeren S., Satokari R., Mercenier A., Palva A., Smidt H., de Vos W. M., Belzer C., *PLoS One*, **2017**, *12*(3), e0173004
- [12] Plovier H., Everard A., Druart C., Depommier C., Van Hul M., Geurts L., Chilloux J., Ottman N., Duparc T., Lichtenstein L., Myridakis A., Delzenne N. M., Klievink J., Bhattacharjee A., van der Ark K. C., Aalvink S., Martinez L. O., Dumas M. E., Maiter D., Loumaye A., Hermans M. P., Thissen J. P., Belzer C., de Vos W. M., Cani P. D., *Nat. Med.*, **2017**, *23*(1), 107—113
- [13] Wang L., Tang L., Feng Y., Zhao S., Han M., Zhang C., Yuan G., Zhu J., Cao S., Wu Q., Li L., Zhang Z., *Gut*, **2020**, *69*(11), 1988—1997
- [14] Zhao J., Liao Y., Wei C., Ma Y., Wang F., Chen Y., Zhao B., Ji H., Wang D., Tang D., *Clin. Med. Insights Oncol.*, **2023**, *17*, 17
- [15] Kosciow K., Deppenmeier U., *Microbiologyopen*, **2019**, *8*(8), e00796
- [16] Huang K., Wang M. M., Kulnich A., Yao H. L., Ma H. Y., Martínez J. E., Duan X. C., Chen H., Cai Z. P., Flitsch S. L., Liu L., Voglmeir J., *Carbohydr. Res.*, **2015**, *415*, 60—65
- [17] Kim S. M., Park S., Hwang S. H., Lee E. Y., Kim J. H., Lee G. S., Lee G., Chang D. H., Lee J. G., Hwang J., Lee Y., Kyung M., Kim E. K., Kim J. H., Kim T. H., Moon J. H., Kim B. C., Ko G., Kim S. Y., Ryu J. H., Lee J. S., Lee C. H., Kim J. Y., Kim S., Lee W. J., Kim M. H., *Cell Host Microbe*, **2023**, *31*(6), 1021—1037
- [18] Jiang Y., Xu Y., Zheng C., Ye L., Jiang P., Malik S., Xu G., Zhou Q., Zhang M., *Gut*, **2023**, *72*(7), 1308—1318
- [19] Cani P. D., Knauf C., *Cell Metab.*, **2021**, *33*(6), 1073—1075
- [20] Yoon H. S., Cho C. H., Yun M. S., Jang S. J., You H. J., Kim J. H., Han D., Cha K. H., Moon S. H., Lee K., Kim Y. J., Lee S. J., Nam T. W., Ko G., *Nat. Microbiol.*, **2021**, *6*(5), 563—573
- [21] Di W., Zhang Y., Zhang X., Han L., Zhao L., Hao Y., Zhai Z., *World J. Microbiol. Biotechnol.*, **2024**, *40*(7), 199
- [22] Kang E. J., Kim J. H., Kim Y. E., Lee H., Jung K. B., Chang D. H., Lee Y., Park S., Lee E. Y., Lee E. J., Kang H. B., Rhyoo M. Y., Seo S., Park S., Huh Y., Go J., Choi J. H., Choi Y. K., Lee I. B., Choi D. H., Seo Y. J., Noh J. R., Kim K. S., Hwang J. H., Jeong J. S., Kwon H. J., Yoo H. M., Son M. Y., Kim Y. G., Lee D. H., Kim T. Y., Kwon H. J., Kim M. H., Kim B. C., Kim Y. H., Kang D., Lee C. H., *Nat. Commun.*, **2024**, *15*(1), 2983
- [23] Duvaud S., Gabella C., Lisacek F., Stockinger H., Ioannidis V., Durinx C., *Nucleic Acids Res.*, **2021**, *49*(W1), W216—W227
- [24] Freudl R., *Microb. Cell Fact.*, **2018**, *17*(1), 52
- [25] Rosano G. L., Ceccarelli E. A., *Front. Microbiol.*, **2014**, *5*, 172
- [26] Singh A., Upadhyay V., Upadhyay A. K., Singh S. M., Panda A. K., *Microb. Cell Fact.*, **2015**, *14*, 41

(Ed.: F, K)