



专论与综述

细菌VI型分泌系统的调控与功能研究进展

袁思琪^{1,2} 李倩¹ 毛旭虎^{*1}

1 陆军军医大学(第三军医大学)药学与检验医学系临床微生物与免疫学教研室 重庆 400038

2 西南大学生命科学学院 三峡地区生态环境与生物资源国家重点实验室培育基地 现代生物制药研究所 重庆 400715

摘要: VI型分泌系统(Type VI Secretion System, T6SS)是近年来研究较多的一种细菌分泌系统,广泛存在于革兰氏阴性菌中,在细菌的毒力、定殖、扩散及竞争遗传中发挥着重要的作用。本文综述了细菌T6SS的结构、调控以及生物学功能的最新研究进展,以期为基于T6SS的抗菌药物研制及细菌感染的诊断与防控提供新思路。

关键词: VI型分泌系统, 调控, 生物学功能

Advances in regulation and function of the bacterial type VI secretion system

YUAN Siqu^{1,2} LI Qian¹ MAO Xuhu^{*1}

1 Department of Clinical Microbiology and Immunology, College of Pharmacy and Medical Laboratory, Army Medical University (Third Military Medical University), Chongqing 400038, China

2 Institute of Modern Biopharmaceuticals, State Key Laboratory Breeding Base of Eco-Environment and Bio-Resource of the Three Gorges Area, School of Life Sciences, Southwest University, Chongqing 400715, China

Abstract: Type VI secretion system (T6SS) that widely exists in Gram-negative bacteria has been extensively studied in recent years. It plays important roles in the virulence, colonization, spread and competition inheritance of bacteria. This paper reviews the latest research progresses in the structure, regulation and biological function of T6SS. Hopefully, the review could inspire the development of antibacterial drugs based on T6SS and provide new thoughts for the diagnosis and control of bacterial infections.

Keywords: type VI secretion system, regulation, biological function

Foundation items: National Natural Science Foundation of China (31970135, 81971907)

***Corresponding author:** Tel: 86-23-68771667; E-mail: maohx2012@hotmail.com

Received: 21-03-2020; **Accepted:** 20-04-2020; **Published online:** 23-07-2020

基金项目: 国家自然科学基金(31970135, 81971907)

***通信作者:** Tel: 023-68771667; E-mail: maohx2012@hotmail.com

收稿日期: 2020-03-21; **接受日期:** 2020-04-20; **网络首发日期:** 2020-07-23

2006 年, T6SS 在铜绿假单胞菌(*Pseudomonas aeruginosa*)和霍乱弧菌(*Vibrio cholerae*)中首次发现, 并被鉴定为一个与细菌致病性相关的新型细菌分泌系统^[1-2]。后来研究者逐渐发现 T6SS 存在于多种革兰氏阴性菌中, 如: 肠集聚性大肠埃希菌(*Enteropathogenic Escherichia coli*, EAEC)、类鼻疽伯克霍尔德菌(*Burkholderia pseudomallei*)等^[3]。最初 T6SS 被认为是专门针对真核宿主细胞的毒力因子分泌系统, 会促进细菌的感染。最近的研究表明, T6SS 还可以调节细菌之间的相互作用和竞争遗传, 有利于细菌在宿主细胞内的定殖和扩散^[4]。T6SS 这些作用的发挥与其表达调控密切相关。本文将主要综述 T6SS 的表达调控和生物学功能的最新研究进展。

1 T6SS 的结构

T6SS 是一种由 15-25 个基因编码的多分子复合物, 以倒置的 T4 噬菌体样结构嵌于细胞膜上^[5]。一般可将 T6SS 结构分为 3 个部分: 噬菌体样结构、膜复合物和基板复合物(图 1)。

噬菌体样结构包括溶血素调节蛋白(Hemolysin Coregulated Protein, Hcp)、缬氨酸-甘氨酸重复蛋白 G (Valine-Glycine Repeat Protein G, VgrG)和六型 B 亚基(Type Six Subunit B, TssB)/TssC 复合物; Hcp 是一个内径为 4 nm 的六边形环, 与 λ 噬菌体的尾部蛋白 gpV 相似, 可折叠成管状结构, 定位于 VgrG 三聚体的下面; VgrG 与 T4 噬菌体的针尖状结构 gp27/gp5 复合物相似, 能刺穿细菌细胞膜。VgrG 三聚体的上面还有一个锥形 Proline-Alanine-Alanine-Arginine (PAAR)蛋白复合物; 另外 2 个亚基 TssB 和 TssC 也能形成管状结构, 其约 10 nm 的内径能容纳外径约 9 nm 的 Hcp 管, TssB/TssC 复合物最终会形成一个包围 Hcp 管的鞘状结构, 类似于 T4 噬菌体的尾鞘结构^[5]。

在 EAEC T6SS 的研究中, 发现其膜复合物由 TssM、TssL、TagL 和 TssJ 等 4 种蛋白组成^[4]。TagL 的一部分位于细菌细胞外, 使 T6SS 锚定到靶细胞

的细胞壁上; 另一部分插入细菌细胞内膜, 与内膜蛋白 TssL 结合, TssL 又与内膜蛋白 TssM 结合, 形成 TssM/TssL 复合物^[6]。TssJ 是一种脂蛋白, 固定在细菌细胞外膜上, 与 TssM 形成复合物。TssL-TssM-TssJ 复合物结合成环状结构, 形成一个跨膜通道通过酵母双杂交实验发现 TssM 与 TssB 有相互作用, Hcp 与 TssM/TssL 复合物有免疫共沉淀, 这些结果表明, 包围 Hcp 管的鞘状结构嵌入到 TssL-TssM-TssJ 复合物形成的跨膜结构中^[7]。

基板复合物主要由 TssK、TssF、TssG 和 TssE 组成; TssG 作为一个连接器, 与 2 个 TssK 三聚体和 2 个 TssF 前体相互作用, 再加上 TssE 形成基板复合物; TssF 和 TssG 相互作用, 与 TssK、TssE、VgrG 以及 T6SS 的鞘状结构相接触^[8]。TssK 是一种胞质蛋白, 其 C 端与膜复合物的 TssL 和 TssM 同时结合, N 端与 TssF 相互结合^[9]。

2 T6SS 的调控

T6SS 的组装、收缩、拆卸和再组装过程对细菌细胞的能量消耗很高, 因此 T6SS 的表达和组装受到严格的调控。对不同细菌的 T6SS 研究发现, 转录调控是最常见的。一些转录调节因子(Transcriptional Regulators, TRs)直接调控 T6SS 基因, 将 RNA 聚合酶(RNA Polymerase, RNAP)招募到 T6SS 基因的启动子区域, 诱导其表达; 另外一些 TRs 则将环境信号, 比如群体感应、铁消耗、温度、pH、含盐量或其他外界压力等传递给细菌, 诱导 T6SS 基因转录表达。

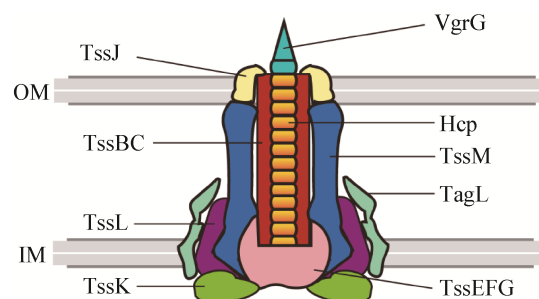


图 1 T6SS 的结构示意图

Figure 1 Schematic structure of the T6SS

Note: OM: Outer membrane; IM: Inner membrane

2.1 组装过程

近年来,根据荧光显微等实验的观察结果,研究者总结出了 T6SS 的组装过程。首先, TssM、TssL、TssJ 形成的膜复合物和 TssK、TssF、TssG、TssE 形成的基板复合物使 T6SS 固定在细菌细胞膜上;其次, VgrG 及效应蛋白被招募到基板复合物中;然后 Hcp 从 VgrG 开始聚合成管状结构,同时 TssB 和 TssC 聚合形成包裹 Hcp 管的鞘状结构;当 T6SS 被激活时,与靶细胞接触, TssB/TssC 复合物收缩推动 Hcp 管,顶端的 VgrG 刺穿靶细胞细胞膜,释放多种效应蛋白^[10-11]。收缩状态下的 TssC 暴露了 N 端的 ClpV 识别区域, ClpV 与其结合,利用 ATP 水解的能量对 TssB/TssC 复合物进行解聚、回收, Hcp 管也被解聚、回收,为下次组装激活做准备^[12-13]。

2.2 表达调控

2.2.1 群体感应调控

群体感应(Quorum Sensing, QS)是一种细菌之间的沟通方式,通过特定的信号分子进行交流。这种特定信号分子的浓度与所处环境中细菌数量的变化呈正相关,当信号浓度达到一定值时,即细菌数量也处于较高水平,此时细菌会诱导相关基因的表达来适应环境的变化。病原菌在感染宿主的过程中,需要达到一定数量时,信号分子浓度才能达到诱导感染宿主重要基因表达的水平,成功完成感染^[14]。

QS 可以协调 T6SS 的活性,即在低细胞密度时抑制 T6SS 激活,在高细胞密度时促进 T6SS 激活。在 *V. cholerae* 中, QS 相关的基因通过连续的磷酸化进行调控,其中涉及 4 种组氨酸激酶 CqsS、LuxPQ、CqsR 和 VpsS;在低细胞密度时,这 4 种组氨酸激酶使磷酸转移蛋白 LuxU 磷酸化,进而使蛋白 LuxO 磷酸化,磷酸化的 LuxO 又激活 4 种称为 Qrr1-4 的小 RNA 的转录,这种小 RNA 可以和转录 T6SS 的 mRNA 结合,从而抑制 T6SS 的转录;而在高细胞密度时, LuxO 未被磷酸化, Qrr1-4 的转录也未被激活,所以 T6SS 的转录翻译正常进行^[15]。

2.2.2 金属离子调控

金属离子在各项生理活动中扮演着不可缺少

的角色,例如铜、锌、铁等微量元素,不仅是人体发育所必需的,也是病原菌增殖过程中必不可少的^[16]。在病原菌与宿主的互作过程中,宿主的免疫系统会影响细菌对金属离子的摄取,同时会产生一定浓度的金属离子攻击细菌,抑制病原菌的生存及增殖,而病原菌为了对抗宿主,也通过自身的调控系统做出一系列反应^[17]。

铁吸收调节蛋白(Ferric Uptake Regulator, Fur)是一种细菌体内调控铁离子摄取的转录调控因子。在铁离子存在时, Fur 与启动子区域内一个称为 Fur 盒的序列相互作用,从而抑制转录过程^[18]。在 EAEC 和迟钝爱德华菌(*Edwardsiella tarda*)这 2 种肠道条件致病菌中, T6SS 的转录被 Fur 抑制; *E. tarda* 毒力蛋白包括 T6SS 由 *E. tarda* Virulence Proteins (Evp) 基因簇编码,同时也受 Fur 调节; Fur 和 Evp 簇的第一个基因 EvpP 上游的 Fur 盒序列结合,使 Evp 基因簇不能表达,从而抑制 T6SS 转录。EAEC 的 T6SS 基因簇上游的一个 Fur 盒与一个 DNA 腺嘌呤甲基转移酶(DNA Adenine Methyltransferase, Dam)甲基化位点重合,阻止甲基化酶进入该位点;在缺铁的宿主细胞中, Fur 的抑制作用会减弱, Fur 与 Dam 甲基化位点解离,使 RNA 聚合酶结合并启动转录,同时,也会导致位点的甲基化,抑制 Fur 的再结合;所以,低浓度的胞质 Fe(II)可以稳定地表达 T6SS^[7]。在鼠伤寒沙门菌(*Salmonella typhimurium*)的感染过程中, Fur 与 T6SS 的 *clpV* 基因的启动子区域直接结合,从而抑制 *clpV* 的表达;而在缺铁条件下, Fur 对 *clpV* 的抑制作用减弱, *clpV* 的表达显著上调,促进了 *S. typhimurium* 的致病力^[19]。Zn²⁺也参与了细菌的许多生物反应过程; *B. pseudomallei* 的 T6SS-2 的启动子区域包含一个 Zur 盒,是与 Zn²⁺招募利用相关的基因上游的一个调控序列;当细胞内 Zn²⁺过量时, Zn²⁺结合蛋白 Zur 与 Zur 盒子结合,抑制 T6SS-2 转录;而当胞内 Zn²⁺下降时, Zur 与 Zur 盒子不再结合,即 T6SS-2 的转录也不被抑制^[20]。

2.2.3 氧化应激调控

当细菌侵入宿主,宿主细胞会产生一系列免疫

反应进行对抗。吞噬细胞会被招募到感染部位,对细菌进行吞噬,然后宿主的 NOX2 (Nicotinamide Adenine Dinucleotide Phosphate Oxidase, NADPH Oxidase)复合物被激活,在吞噬体中产生超氧化物和过氧化氢(Hydrogen Peroxide, H_2O_2)^[21]。同时,一氧化氮合成酶(Nitric Oxide Synthase, iNOS)也被激活,产生的一氧化氮(Nitric Oxide, NO)与吞噬体中的超氧化物反应形成过氧硝酸盐(Peroxynitrite, $ONOO^-$)、二氧化氮(Nitrogen Dioxide, NO_2)和其他有毒的活性氮(Reactive Nitrogen Species, RNS)^[22]。然而宿主细胞产生的这些氧化物会破坏细菌的DNA和蛋白质等,不利于细菌的繁殖;细菌在氧化胁迫下,已经进化出各种机制来应对宿主的免疫反应,其中就包括合成某些具有抗氧化作用的蛋白,从而保护自身免受宿主的氧化攻击^[23]。

研究表明,在氧化应激的条件下,假结核耶尔森氏菌(*Yersinia pseudotuberculosis*)的 T6SS-4 被诱导表达,而且受氧化应激调节因子 OxyR 的调控。T6SS-4 的突变导致 *Y. pseudotuberculosis* 胞内活性氧的累积,而且对 H_2O_2 介导的杀伤作用更加敏感,这说明 T6SS-4 有助于细菌的抗氧化应激^[24]。在泰国伯克霍尔德氏菌(*Burkholderia thailandensis*)的 OxyR 突变株中, T6SS-2 表达增加且对氧化应激的抵抗力也增强;用氧化剂 Cumene Hydroperoxide (CPH)处理 *B. thailandensis*, T6SS-2 表达未被抑制,这说明在氧化应激的条件下, T6SS-2 是被激活的; T6SS-2 的启动子区域包含了 OxyR 的结合位点, OxyR 在氧化应激过程中发生构象变化,不能在结合位点结合,这说明 T6SS-2 受 OxyR 的负调控^[20]。*B. pseudomallei* 的毒力依赖于 T6SS 的表达,在感染宿主的过程中,通过组氨酸激酶感受器 VirA 感知宿主细胞产生的氧化物,从而激活 T6SS^[25]。

2.2.4 苏氨酸磷酸化途径调控

当 *P. aeruginosa* 在固体培养基上培养时,其中某些 *P. aeruginosa* 会自发地激活其 T6SS,然后去攻击邻近的 *P. aeruginosa*,被攻击的 *P. aeruginosa* 则会激活自身的 T6SS,并发起反击,而最初的攻

击者会感知到反击,又会进行报复;由于 *P. aeruginosa* 对自身 T6SS 的效应蛋白有免疫性,所以这种相互攻击不是致命的,反而会稳定地持续几分钟,但对异种细菌却是致命的,同时这种杀伤性在有 T6SS 的前提下才会存在^[26]。在 *V. cholerae* 和 *P. aeruginosa* 共同培养的条件下, $T6SS^+$ (野生株)的 *V. cholerae* 会被杀死,而 $T6SS^-$ (敲除株)的 *V. cholerae* 却不会^[27]。在 $T6SS^+$ 和 T6SS 的 *B. thailandensis* 中也有类似的现象^[28]。这种现象在 *P. aeruginosa* 中称为“T6SS Dueling”。

P. aeruginosa 中的“T6SS Dueling”由苏氨酸磷酸化途径调控。*P. aeruginosa* 的 T6SS 激活是通过一种 110 kD 的苏氨酸激酶跨膜蛋白——绿脓杆菌蛋白激酶(*P. aeruginosa* Protein Kinase, PpkA)磷酸化含有叉头样结构域的蛋白 Fha (Forkhead-Associated Domain-Containing)来实现的,而 PpkA 的自磷酸化激活又需要外膜相关蛋白 TagR (Type Six Secretion-Associated Gene R)^[29]。TagR 对信号的感知导致 PpkA 的二聚化和自磷酸化,随后是 Fha 的磷酸化,活化的 Fha 促进 T6SS 的组装^[30]。另外 3 种辅助蛋白(TagQ、TagS 和 TagT)作用于 PpkA 的上游, TagS 和 TagT 形成一个复合物,其缺失能抑制 T6SS 的激活,而脂蛋白 TagQ 的缺失表现出 T6SS 活性水平的升高^[26-27,31]。

3 T6SS 的生物学功能

T6SS 最初被认为是一种细菌对真核宿主细胞的毒力机制,以接触依赖的方式将效应蛋白传递到细菌和真核靶细胞中。随后的研究表明, T6SS 还参与了多种细菌的相互作用和竞争遗传,通过将毒力蛋白传递到邻近细胞导致细胞生长抑制和死亡(图 2)。

3.1 毒力作用

T6SS 有 2 种毒素传递机制。第一种是 VgrG 作为效应蛋白直接进入靶细胞中, VgrG 蛋白具有双重功能,既是 T6SS 结构的重要组成部分,又是 T6SS 组装的直接效应器;第二种是小分子的毒力蛋白,其编码基因与编码 T6SS 的基因簇没有直接联系,这些毒力蛋白通过 Hcp 管传递到靶细胞中^[32]。

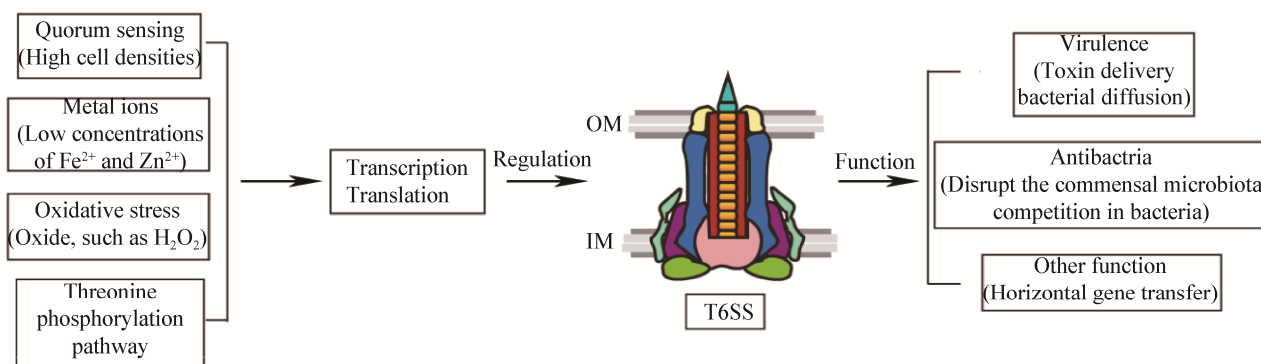


图2 T6SS的调控和生物学功能总结图

Figure 2 Regulation and biological function of the T6SS

最近的研究表明, *P. aeruginosa* 的 T6SS 效应分子 VgrG2b 会导致细胞膜空泡化, 干扰细胞分裂, 从而抑制细胞生长, 这表明 T6SS 传递一种周质毒素, 破坏细菌细胞形态^[31]。T6SS-1 对 *B. pseudomallei* 的毒力至关重要。*B. pseudomallei* 感染靶细胞后, T6SS-1 会促进细胞融合, 导致多核巨细胞 (Multinucleated Giant Cells, MNGCs) 的形成, 最终导致细胞死亡^[33]。

3.2 抗菌作用

在多种细菌的竞争环境中, T6SS 发挥着重要作用。哺乳动物的胃肠道里有多种微生物群落定殖, 细菌在胃肠道中争夺生态位和资源。对于一些肠道病原菌, 如 *S. typhimurium* 以 T6SS 依赖的方式杀死共生细菌, 从而在宿主肠道定殖^[34]。志贺菌 (*Shigella*) 中有致病性的是福氏志贺菌 (*Shigella flexneri*) 和宋内志贺菌 (*Shigella sonnei*), 其中, *S. sonnei* 编码的一种 T6SS 在肠道中提供了竞争优势; 在体外培养中, *S. sonnei* 相对于大肠杆菌 (*Escherichia coli*) 和 *S. flexneri* 有竞争优势, 但在 T6SS 突变株中这一优势减弱; 在小鼠体内, *S. sonnei* 以 T6SS 依赖性的方式持续存在并导致 *E. coli* 和 *S. flexneri* 死亡^[35]。假单胞菌 (*Pseudomonas protegens*) 的 T6SS 也有相似的作用, *P. protegens* 利用 T6SS 入侵昆虫肠道, 其肠道微生物群发生显著变化, 对肠道共生菌的优势菌群肠杆菌的影响尤为

显著; *P. protegens* 利用 T6SS 破坏共生菌群, 进而在宿主体内定殖^[36]。

此外, 恶臭假单胞菌 (*Pseudomonas putida*) 的 T6SS 可作为抗植物病原菌的植物保护剂; 当 *P. putida* 和野油菜黄单胞菌 (*Xanthomonas campestris*) 共感染烟草叶时, 叶片的坏死明显减少, 这种保护作用依赖于 *P. putida* 的 T6SS, 说明 *P. putida* 的 T6SS 能除去其他植物病原菌, 有助于提高 *P. putida* 对抗竞争能力^[37]。

3.3 其他功能

T6SS 也被认为是遗传多样性的驱动者, 在细菌间竞争中, 其可以使活下来的细菌获得死亡细菌的遗传物质, 这种机制称为基因的水平转移。*V. cholerae* 可利用其 T6SS “刺穿”与其邻近的其他细菌, 并导致这些细菌死亡, 释放出遗传物质, 随后 *V. cholerae* 吸收这些遗传物质, 使得 *V. cholerae* 获得如耐药性等其他功能^[5,38]。

4 小结

在很多革兰氏阴性细菌中, T6SS 是一个主要的毒力系统, 发挥着重要作用。目前在 T6SS 结构、调控和生物学功能等方面有较多研究, 但对 T6SS 的认识尚不完全。在结构方面, 还需加强对 T6SS 基板复合物部分的研究, 完整地理解 T6SS 的结构有利于对其生物学功能的理解; 在调控方面, 温度、pH 和含盐度等对 T6SS 的具体调控机制, 以及

将毒力蛋白分泌到宿主细胞内的分泌途径需要进一步探讨, 这有助于揭示病原体的致病机理; 在生物学功能方面, T6SS 不仅有毒力作用, 也参与细菌间的相互作用, 并具有抗菌活性, 其详细的作用机制也还有待研究, 这可能为发展新的抗菌治疗策略提供新的靶点。

REFERENCES

- [1] Pukatzki S, Ma AT, Sturtevant D, Krastins B, Sarracino D, Nelson WC, Heidelberg JF, Mekalanos JJ. Identification of a conserved bacterial protein secretion system in *Vibrio cholerae* using the dictyostelium host model system[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 2006, 103(5): 1528-1533
- [2] Mougous JD, Cuff ME, Raunser S, Shen A, Zhou M, Gifford CA, Goodman AL, Joachimiak G, Ordoñez CL, Lory S, et al. A virulence locus of *Pseudomonas aeruginosa* encodes a protein secretion apparatus[J]. Science, 2006, 312(5779): 1526-1530
- [3] Mao XH. Progress on melioidosis[J]. Journal of Third Military Medical University, 2011, 33(13): 1315-1317 (in Chinese)
毛旭虎. 加强类鼻疽的研究[J]. 第三军医大学学报, 2011, 33(13): 1315-1317
- [4] Francetic O. Tagging the type VI secretion system[J]. Nature Microbiology, 2018, 3(11): 1190-1191
- [5] Salomon D, Orth K. Type VI secretion system[J]. Current Biology, 2015, 25(7): R265-R266
- [6] Chang JH, Kim YG. Crystal structure of the bacterial type VI secretion system component TssL from *Vibrio cholerae*[J]. Journal of Microbiology, 2015, 53(1): 32-37
- [7] Silverman JM, Brunet YR, Cascales E, Mougous JD. Structure and regulation of the type VI secretion system[J]. Annual Review of Microbiology, 2012, 66: 453-472
- [8] Park YJ, Lacourse KD, Cambillau C, DiMaio F, Mougous JD, Veesler D. Structure of the type VI secretion system TssK-TssF-TssG baseplate subcomplex revealed by cryo-electron microscopy[J]. Nature Communications, 2018, 9(1): 5385
- [9] Nguyen VS, Logger L, Spinelli S, Legrand P, Huyen Pham TT, Nhung Trinh TT, Cherrak Y, Zoued A, Desmyter A, Durand E, et al. Type VI secretion TssK baseplate protein exhibits structural similarity with phage receptor-binding proteins and evolved to bind the membrane complex[J]. Nature Microbiology, 2017, 2: 17103
- [10] Zoued A, Brunet YR, Durand E, Aschtgen MS, Logger L, Douzi B, Journet L, Cambillau C, Cascales E. Architecture and assembly of the type VI secretion system[J]. Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular Cell Research, 2014, 1843(8): 1664-1673
- [11] Basler M, Pilhofer M, Henderson GP, Jensen GJ, Mekalanos JJ. Type VI secretion requires a dynamic contractile phage tail-like structure[J]. Nature, 2012, 483(7388): 182-186
- [12] Bönemann G, Pietrosiuk A, Diemand A, Zentgraf H, Mogk A. Remodelling of VipA/VipB tubules by ClpV-mediated threading is crucial for type VI protein secretion[J]. The EMBO Journal, 2009, 28(4): 315-325
- [13] Aschtgen MS, Gavioli M, Dessen A, Lloubès R, Cascales E. The SciZ protein anchors the enteroaggregative *Escherichia coli* type VI secretion system to the cell wall[J]. Molecular Microbiology, 2010, 75(4): 886-899
- [14] Wang LY, Liu YS. Research progress of bacterial quorum sensing species and signal molecules[J]. Chinese Journal of Preventive Veterinary Medicine, 2015, 37(4): 318-320 (in Chinese)
王立燕, 刘永生. 细菌群体感应种类及其信号分子的研究进展[J]. 中国预防兽医学, 2015, 37(4): 318-320
- [15] Joshi A, Kostiuk B, Rogers A, Teschler J, Pukatzki S, Yildiz FH. Rules of engagement: The type VI secretion system in *Vibrio cholerae*[J]. Trends in Microbiology, 2017, 25(4): 267-279
- [16] Li B, Li J, Shen LX. Zinc regulation system in bacteria and its relationship with infection: a review[J]. Acta Microbiologica Sinica, 2016, 56(8): 1211-1210 (in Chinese)
李博, 李晶, 沈立新. 细菌锌离子调控体系与感染[J]. 微生物学报, 2016, 56(8): 1211-1210
- [17] Palmer LD, Skaar EP. Transition metals and virulence in bacteria[J]. Annual Review of Genetics, 2016, 50: 67-91
- [18] Pasqua M, Visaggio D, Lo Sciuto A, Genah S, Banin E, Visca P, Imperi F. Ferric uptake regulator Fur is conditionally essential in *Pseudomonas aeruginosa*[J]. Journal of Bacteriology, 2017, 199(22): e00472-17
- [19] Wang SH, Yang DH, Wu XJ, Yi ZF, Wang Y, Xin SH, Wang D, Tian MX, Li T, Qi JJ, et al. The Ferric uptake regulator represses type VI secretion system function by binding directly to the *clpV* promoter in *Salmonella enterica* serovar typhimurium[J]. Infection and Immunity, 2019, 87(10): e00562-19
- [20] DeShazer D. A novel contact-independent T6SS that maintains redox homeostasis via Zn²⁺ and Mn²⁺ acquisition is conserved in the *Burkholderia pseudomallei* complex[J]. Microbiological Research, 2019, 226: 48-54
- [21] Decoursey TE, Ligeti E. Regulation and termination of NADPH oxidase activity[J]. Cellular and Molecular Life Sciences, 2005, 62(19/20): 2173-2193
- [22] Winterbourn CC, Kettle AJ. Redox reactions and microbial killing in the neutrophil phagosome[J]. Antioxidants & Redox Signaling, 2013, 18(6): 642-660
- [23] Reniere ML. Reduce, induce, thrive: bacterial redox sensing during pathogenesis[J]. Journal of Bacteriology, 2018, 200(17): e00128-18

- [24] Wang TT, Si MR, Song YH, Zhu WH, Gao F, Wang Y, Zhang L, Zhang WP, Wei GH, Luo ZQ, et al. Type VI secretion system transports Zn^{2+} to combat multiple stresses and host immunity[J]. PLoS Pathogens, 2015, 11(7): e1005020
- [25] Wong J, Chen YH, Gan YH. Host cytosolic glutathione sensing by a membrane histidine kinase activates the type VI secretion system in an intracellular bacterium[J]. Cell Host & Microbe, 2015, 18(1): 38-48
- [26] Ho BT, Dong TG, Mekalanos JJ. A view to a kill: the bacterial type VI secretion system[J]. Cell Host & Microbe, 2014, 15(1): 9-21
- [27] Basler M, Ho BT, Mekalanos JJ. Tit-for-tat: type VI secretion system counterattack during bacterial cell-cell interactions[J]. Cell, 2013, 152(4): 884-894
- [28] LeRoux M, De Leon JA, Kuwada NJ, Russell AB, Pinto-Santini D, Hood RD, Agnello DM, Robertson SM, Wiggins PA, Mougous JD. Quantitative single-cell characterization of bacterial interactions reveals type VI secretion is a double-edged sword[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 2012, 109(48): 19804-19809
- [29] Hsu FS, Schwarz S, Mougous JD. TagR promotes PpkA-catalysed type VI secretion activation in *Pseudomonas aeruginosa*[J]. Molecular Microbiology, 2009, 72(5): 1111-1125
- [30] Mougous JD, Gifford CA, Ramsdell TL, Mekalanos JJ. Threonine phosphorylation post-translationally regulates protein secretion in *Pseudomonas aeruginosa*[J]. Nature Cell Biology, 2007, 9(7): 797-803
- [31] Wood TE, Howard SA, Forster A, Nolan LM, Manoli E, Bullen NP, Yau HCL, Hachani A, Hayward RD, Whitney JC, et al. The *Pseudomonas aeruginosa* T6SS delivers a periplasmic toxin that disrupts bacterial cell morphology[J]. Cell Reports, 2019, 29(1): 187-201.E7
- [32] Kapitein N, Mogk A. Deadly syringes: type VI secretion system activities in pathogenicity and interbacterial competition[J]. Current Opinion in Microbiology, 2013, 16(1): 52-58
- [33] Ting LY. The structure basis for *Burkholderia pseudomallei* Hcp-induced multinucleated giant cell formation[D]. Singapore: Doctoral Dissertation of National University of Singapore, 2013
- [34] Sana TG, Flaughnatti N, Lugo KA, Lam LH, Jacobson A, Baylot V, Durand E, Journet L, Cascales E, Monack DM. *Salmonella typhimurium* utilizes a T6SS-mediated antibacterial weapon to establish in the host gut[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 2016, 113(34): E5044-E5051
- [35] Anderson MC, Vonaesch P, Saffarian A, Marteyn BS, Sansonetti PJ. *Shigella sonnei* encodes a functional T6SS used for interbacterial competition and niche occupancy[J]. Cell Host & Microbe, 2017, 21(6): 769-776.E3
- [36] Vacheron J, Péchy-Tarr M, Brochet S, Heiman CM, Stojiljkovic M, Maurhofer M, Keel C. T6SS contributes to gut microbiome invasion and killing of an herbivorous pest insect by plant-beneficial *Pseudomonas protegens*[J]. The ISME Journal, 2019, 13(5): 1318-1329
- [37] Bernal P, Allsopp LP, Filloux A, Llamas MA. The *Pseudomonas putida* T6SS is a plant warden against phytopathogens[J]. The ISME Journal, 2017, 11(4): 972-987
- [38] Borgeaud S, Metzger LC, Scrinari T, Blokesch M. The type VI secretion system of *Vibrio cholerae* fosters horizontal gene transfer[J]. Science, 2015, 347(6217): 63-67