



## 革兰氏阴性菌 IX 型分泌系统的研究进展

陈福广 李绍戌 卢彤岩\*

中国水产科学研究院黑龙江水产研究所 黑龙江省水生动物病害与免疫重点实验室  
黑龙江 哈尔滨 150070

**摘要:** IX 型分泌系统(Type IX Secretion System, T9SS)是一种最新发现的存在于许多革兰氏阴性细菌中的分泌系统。T9SS 参与细菌的毒力和滑行运动及复杂生物聚合物的降解过程。近年来,与 T9SS 相关的研究一直都是微生物学领域关注的热点。本文就 T9SS 的发现、组成与结构、分泌机制及调控机制等方面的研究进展进行综述,以期为进一步解析细菌的 T9SS 提供新的思路。

**关键词:** 革兰氏阴性菌, IX 型分泌系统, 毒力, 滑行运动, 降解

## Research progress in type IX secretion system of Gram-negative bacteria

CHEN Fuguang LI Shaowu LU Tongyan\*

Heilongjiang River Fisheries Research Institute, Chinese Academy of Fishery Sciences; Key Laboratory of Aquatic Animal Diseases and Immune Technology of Heilongjiang Province, Harbin, Heilongjiang 150070, China

**Abstract:** As a newly discovered secretion system, type IX secretion system (T9SS) has been found in many species of Gram-negative bacteria. T9SS is involved in the virulence, gliding motility and the degradation of complex biopolymers in bacteria. In recent years, T9SS-related research has always been a hot spot in the field of microbiology. This paper reviews the research on the discovery, components and structures, secretion mechanism and regulation of the T9SS, providing further insight into this highly novel secretion system.

**Keywords:** Gram-negative bacteria, type IX secretion system, virulence, gliding motility, degradation

许多病原菌能够利用分泌系统跨细胞被膜分泌效应蛋白。分泌的效应蛋白能使病原菌攻击异己,逃避宿主免疫系统,破坏宿主组织,以及粘附和侵袭宿主细胞等<sup>[1]</sup>。目前,在病原菌中已经鉴定

出 8 种不同的分泌系统<sup>[1]</sup>,其中 IX 分泌系统(Type IX Secretion System, T9SS)是最新发现的分泌系统。T9SS 广泛存在于纤维杆菌门、绿菌门和拟杆菌门的革兰氏阴性细菌中<sup>[2-3]</sup>。目前研究发现 T9SS 参与

**Foundation items:** Special Fund for Basic Research Operations of Central Public Welfare Research Institutes (HSY202001M); Cold-Water Fish Disease Control Innovation Team of Chinese Academy of Fishery Sciences (2020TD43)

\*Corresponding author: Tel: 86-451-87930963; E-mail: lutongyan@hrfri.ac.cn

Received: 18-11-2020; Accepted: 15-02-2021; Published online: 16-03-2021

基金项目: 中央级公益性科研院所基本科研业务费专项(HSY202001M); 中国水产科学研究院冷水性鱼类病害防控创新团队(2020TD43)

\*通信作者: Tel: 0451-87930963; E-mail: lutongyan@hrfri.ac.cn

收稿日期: 2020-11-18; 接受日期: 2021-02-15; 网络首发日期: 2021-03-16

细菌的毒力和滑行运动及复杂生物聚合物的降解等过程<sup>[2]</sup>。尽管近年来对 T9SS 的结构和功能以及调控机制等方面取得了突破性进展,但目前对细菌 T9SS 所做的研究仍然有限,相关的中文综述也较少。本文基于国内外最新研究进展,对 T9SS 的发现、组成与结构、分泌机制、调控机制及其生物学功能进行归纳和总结,并对今后的研究方向进行展望。

## 1 T9SS 的发现

T9SS 的发现,最早可追溯到 20 世纪 90 年代。科技工作者们发现牙龈卟啉单胞菌(*Porphyromonas gingivalis*)能够分泌大量的赖氨酸-牙龈素(Kgp)和精氨酸-牙龈素(RgpA 和 RgpB)<sup>[4-7]</sup>。这些牙龈素主要粘附在牙龈卟啉单胞菌的细胞表面并可少量地释放到细胞外环境中<sup>[4,8]</sup>。由于在牙龈卟啉单胞菌基因组上没有找到与已知分泌系统相关的基因,科技工作者们推测牙龈卟啉单胞菌进化出独特的跨膜分泌途径以便分泌牙龈素<sup>[9]</sup>。直到 2005 年, Sato 等<sup>[10]</sup>通过转座突变的方法筛选到了第 1 个 T9SS 结构蛋白 PorT。2 年后, Saiki 等鉴定出第 2 个 T9SS 结构蛋白 Sov<sup>[11]</sup>。同时, Nelson 等<sup>[12]</sup>在约氏黄杆菌中发现了 Sov 的同源蛋白 SprA。2010 年,通过比较含有和缺少 PorT 的细菌基因组和蛋白质组, Sato 等发现 55 个新的基因可能参与细菌 T9SS 的形成;随后,他们通过基因突变的方法发现 *porT* 和 *sov* 等 11 个基因参与了牙龈卟啉单胞菌牙龈素的跨膜转运<sup>[9]</sup>。由于这些蛋白与已知分泌系统的结构蛋白相似性很低, Sato 等认为牙龈卟啉单胞菌中存在一种新的分泌系统并称之为 Por 分泌系统(Por Secretion System, PorSS)<sup>[9]</sup>。为了与现有的分泌系统命名保持一致, McBride 等于 2013 年将 PorSS 更名为 IX 型分泌系统(Type IX Secretion System, T9SS)<sup>[13]</sup>。

## 2 T9SS 的组成与结构

T9SS 主要是由分泌复合体和粘附复合体构成

的跨细菌生物被膜的复杂分子装置<sup>[14]</sup>。研究发现,牙龈卟啉单胞菌的 T9SS 是由 PorK、PorL、PorM、PorN、PorP、Sov、PorT、PorE、PorF、PorG、PorW、PorU、PorV、PorQ、PorZ 和 Plug 这 16 个结构蛋白构成<sup>[14]</sup>。与细菌的 T6SS 不同,绝大多数 T9SS 基因零散地分布在牙龈卟啉单胞菌基因组上,如图 1 所示<sup>[15]</sup>。研究表明 PorL、PorM、PorK、PorN、PorP、PorE、Sov、PorW、PorT、PorV 和 PorG 这 11 个蛋白是构成牙龈卟啉单胞菌 T9SS 的必需蛋白<sup>[16-17]</sup>。除了 Sov、PorT 和 PorW 之外,所有的必需蛋白已经被证实参与了 T9SS 分泌复合体和粘附复合体的形成<sup>[18]</sup>。

### 2.1 分泌复合体的结构

研究发现,牙龈卟啉单胞菌的分泌复合体主要是由 PorL、PorM、PorK、PorN、PorP、PorE、PorG 和 Sov 这 8 个蛋白组成,如图 2 所示。PorL 和 PorM 是 2 个仅有的位于内膜上的 T9SS 结构蛋白。PorL 的 17-74 氨基酸残基在内膜上形成 2 个跨膜螺旋,而 PorL 羧基端部分则伸入到细胞质中形成胞质结构域<sup>[19]</sup>。研究发现 PorL 在内膜上形成同源三聚体<sup>[19]</sup>。PorM 的 9-41 氨基酸残基在内膜上形成一个跨膜螺旋,而 PorM 羧基端部分则伸入到细胞周质中形成周质结构域<sup>[19]</sup>。PorM 的周质结构域是由 D1、D2、D3 和 D4 这 4 个结构域组成,其中结构域 D1 和 D2 之间的扭结状结构对于 T9SS 的分泌是必不可少的<sup>[20-21]</sup>。与 PorL 不同, PorM 在内膜上以同源二聚体的形式存在<sup>[19]</sup>。PorL 三聚体与 PorM 二聚体的跨膜螺旋相互作用,从而在内膜上形成稳定的复合体 PorLM<sup>[19]</sup>。目前研究认为复合体 PorLM 是细菌 T9SS 的马达,从而为细菌分泌效应蛋白提供能量来源<sup>[19,22]</sup>。PorN 是一种细胞周质蛋白,与外膜上的 PorK 组装成外径大小约 50 nm 的环状复合体 PorK/N<sup>[23]</sup>。复合体 PorK/N 借助 PorK 脂质侧链被锚定到外膜上,其开合受到 PorM 结构域 D2 和 D3 铰合部调

节<sup>[20]</sup>。PorE 是一种位于细胞周质中的含有 TPR4、WD40、CRD 和 OmpA\_C 样肽聚糖结合结构域的外膜蛋白<sup>[24]</sup>。PorE 不仅通过氨基末端酰化作用被锚定到外膜上而且通过羧基末端 OmpA\_C 样肽聚糖结合结构域被锚定到细胞壁肽键糖网状结构上；它可能通过结构域 TPR 和 WD40 与 T9SS 组分相互作用，从而将 T9SS 锚定到细胞壁肽聚糖上<sup>[24-25]</sup>。PorG 是一种外膜蛋白，可以通过周质环与 PorN 和 PorK 相互作用；它可能起到装配或稳定复合体 PorK/N 的作用<sup>[17]</sup>。PorP 也是一种位于外膜上的蛋白，在特定条件下与 PorK 和 PorM 相互作用，但其具体功能不清楚<sup>[19]</sup>。尽管 PorL、

PorM、PorK 和 PorN 构成了 T9SS 分泌复合体的核心结构，但这些蛋白并不在外膜上形成蛋白分泌的跨膜转运通道。研究发现，约氏黄杆菌的 SprA (Sov 的同源蛋白)在外膜上形成 7 nm 大小的孔道；该孔道选择性与外膜周质侧 Plug 或外侧 PorV 的结合，从而调控 T9SS 效应蛋白进出孔道<sup>[3]</sup>。牙龈卟啉单胞菌的 Sov 可能具有 SprA 的类似功能，从而实现效应蛋白的跨外膜转运<sup>[26]</sup>。但这一观点缺少实验数据支撑。尽管目前对 T9SS 分泌复合体的结构和功能的研究取得了重要进展，但我们仍未完全清楚细菌组装分泌复合体及其跨膜转运效应蛋白的分子机制。

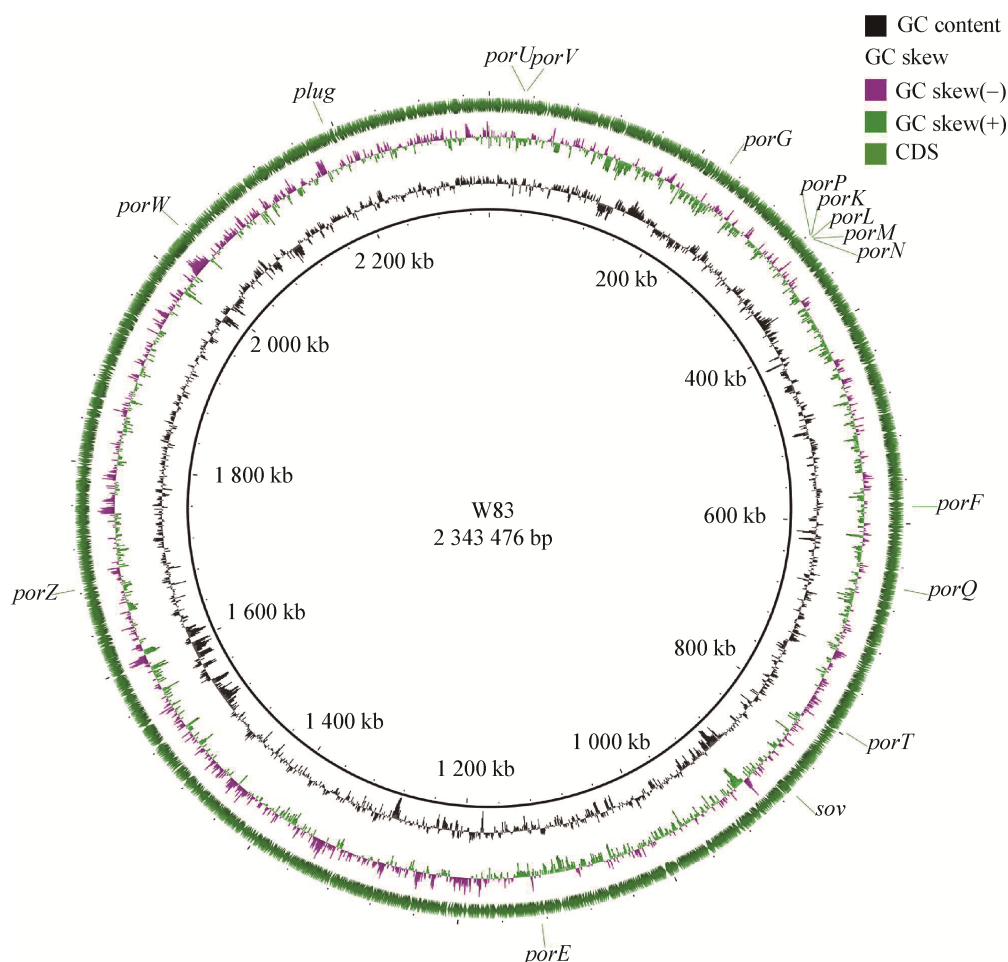


图1 T9SS 基因在牙龈卟啉单胞菌 W83 基因组上的分布

Figure 1 Locations of genes encoding T9SS components in *P. gingivalis* W83 genome

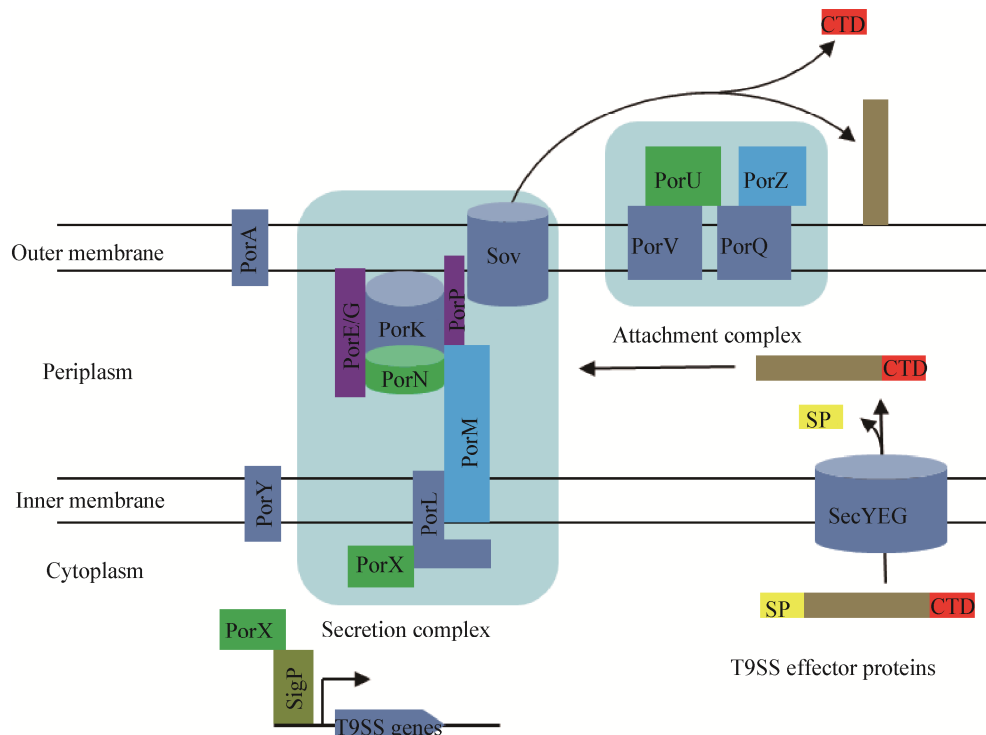


图2 牙龈卟啉单胞菌 T9SS 结构和功能假设模型

Figure 2 Hypothetical model of the structure and function of *P. gingivalis* T9SS

## 2.2 粘附复合体的结构

对于牙龈卟啉单胞菌而言,粘附复合体位于细菌外膜上,由 PorV、PorU、PorZ 和 PorQ 这 4 个蛋白组成。粘附复合体的功能是对分泌的效应蛋白进行化学修饰并将其锚定到细菌外膜上,如图 2 所示<sup>[27]</sup>。研究发现, PorV 是一种位于外膜上的穿梭蛋白,其功能是将效应蛋白从分泌复合体转运到粘附复合体上;其对效应蛋白的分泌具有一定的选择性<sup>[27-28]</sup>。金黄色葡萄球菌和猪链球菌等革兰氏阳性菌利用转肽酶 SrtA 将分泌蛋白锚定到细胞壁肽聚糖上<sup>[29-30]</sup>,而牙龈卟啉单胞菌也利用一种类似功能的转肽酶 PorU 将 T9SS 效应蛋白锚定到外膜阴离子脂多糖(Anionic-Lipopolysaccharide, A-LPS)上<sup>[31]</sup>。在约氏黄杆菌、柱状黄杆菌和嗜冷黄杆菌等其他细菌中,目前还没有发现类似 PorU 功能的蛋白。PorZ 是一种位于外膜上的 T9SS 效应蛋白,起到定位和稳定 PorU 以及募集 A-LPS 的作用<sup>[27,32]</sup>。PorZ 在细菌外膜上的定位,还需要 PorQ 的帮助<sup>[27]</sup>。除了参

与 PorZ 的定位之外, PorQ 还参与 T9SS 效应蛋白的分泌<sup>[27]</sup>。

## 3 T9SS 的分泌机制

### 3.1 T9SS 效应蛋白的重要特征

T9SS 效应蛋白主要是由氨基末端信号肽(N-Terminal Signal Peptide, SP)、中间蛋白功能区和羧基末端结构域(C-Terminal Domain, CTD)构成,如图 2 所示。SP 引导效应蛋白穿过 Sec 分泌途径实现跨内膜转运,而 CTD 则引导效应蛋白穿过 T9SS 实现跨外膜转运<sup>[33]</sup>。目前已经发现 2 种类型的 CTD:一种是 A 型 CTD,属于 TIGR04183 家族结构域;另一种是 B 型 CTD,属于 TIGR04131 家族结构域<sup>[33]</sup>。A 型 CTD 的大小在 70–100 氨基酸之间,参与了效应蛋白的跨外膜转运<sup>[33-34]</sup>。PorZ 和 RgpB 的 CTD 是 2 种研究比较清楚的 A 型 CTD。这 2 种 A 型 CTD 均含有 7 个  $\beta$  折叠形成的 Ig 样折叠并进一步组装成  $\beta$ -三明治结构域<sup>[32,35]</sup>。研究发现

携带 A 型 CTD 的 T9SS 效应蛋白或者以可溶的形式分泌到细胞外或者锚定到细胞表面上。目前对 B 型 CTD 研究非常少, 仅对约氏黄杆菌 SprB 的 CTD 研究相对清楚。研究发现, 约氏黄杆菌 SprB 的分泌不仅需要 B 型 CTD 而且需要 SprF 的辅助<sup>[36]</sup>。

### 3.2 T9SS 效应蛋白的分泌过程

基于现有的研究成果, 牙龈卟啉单胞菌效应蛋白的分泌过程大致分为跨内膜转运、跨外膜转运和外膜锚定 3 个阶段, 如图 2 所示。首先, 效应蛋白上的 SP 引导效应蛋白穿过 Sec 分泌途径; 在跨膜转运过程中, SP 被 I 型信号肽酶切割并将效应蛋白释放到细胞周质中; 随后, 位于细胞周质的 PorM 和 PorN 识别效应蛋白上的 CTD<sup>[37]</sup>。外膜上的 PorV 和 Plug 协作将效应蛋白穿过 Sov 通道, 从而将效应蛋白转运到外膜上<sup>[38]</sup>。最后, 外膜上的 PorU 识别并切割效应蛋白的 CTD 并且效应蛋白新生成的羧基末端发生糖基化, 从而将效应蛋白锚定到细菌外膜 A-LPS 上<sup>[39]</sup>。

## 4 T9SS 的调控机制

T9SS 分泌效应蛋白受到细菌精细的调控。已有研究表明 *porT*、*porV*、*sov*、*porP*、*porK*、*porL*、*porM* 和 *porN* 等 T9SS 基因的转录受到双组分系统 PorXY 和 SigP 的调控, 如图 2 所示<sup>[40]</sup>。与经典的双组分系统不同, PorX 和 PorY 在牙龈卟啉单胞菌基因组上不是由一个操纵子编码而是单独编码的<sup>[40]</sup>。PorY 是一种含有 2 个跨膜螺旋和 1 个胞质结构域的组氨酸蛋白激酶, 而 PorX 是一种缺失 DNA 结合结构域的反应调节蛋白<sup>[41]</sup>。研究表明, PorY 上的 His<sup>193</sup> 可发生磷酸化, 随即将磷酸基团传递给 PorX 接收结构域上的 Asp<sup>58</sup>, 使 PorX 发生磷酸化<sup>[41]</sup>。Kadowaki 等发现 PorX 与 SigP 形成异源二聚体, 可与 T9SS 基因的启动子结合, 从而激活 T9SS 基因转录; 他们进一步证实牙龈卟啉单胞菌的外膜蛋白 PorA 可能感知某种外界环境刺激, 从而激活这一信号通路<sup>[40,42]</sup>。但随后这种机理受到其他研究者的质疑, Vincent 等证实 PorX 不是调控

T9SS 基因的转录而是与 PorL 胞质结构域相互作用, 从而起到调控 T9SS 动力学的作用<sup>[41]</sup>。另有研究表明 T9SS 及其效应蛋白的基因转录受到反应调节蛋白 RprY 的调控, 但其调控机制尚不清楚<sup>[43]</sup>。尽管目前已经发现 T9SS 基因的表达受到一些环境信号刺激的调节, 但细菌如何感知外界环境刺激并发生反应的分子机制还知之甚少<sup>[32,44]</sup>。除了转录调控之外, 研究还发现效应蛋白的糖基化作用受到细菌 Wbp/Vim 信号通路的调控<sup>[39]</sup>。

细菌利用分泌系统分泌效应蛋白需要消耗大量的能量。那么, T9SS 分泌效应蛋白所需的能量来自哪儿呢? Shrivastava 等观察到约氏黄杆菌黏附素 SprB 绕 GldL (PorL 的同源蛋白) 中心轴做圆周运动并推测 T9SS 是细菌滑行运动的马达<sup>[45-46]</sup>。随后, 这一观点获得其他研究者的认同。James 等进一步发现复合体 GldLM 是约氏黄杆菌滑行运动的马达并且证实该马达的能量来自质子穿过细菌内膜引起的电化学势差即离子驱动力 (Ion-Motive Force, IMF); 随后, 他们通过解析复合体 GldLM 的晶体结构发现, 复合体 GldLM 是一种由 5 个 GldL 和 2 个 GldM (PorM 的同源蛋白) 跨膜螺旋构成的不对称复合体; 他们认为质子流引起了 GldM/PorM 二聚体的旋转, 从而引起细菌的 T9SS 分泌和滑行运动<sup>[22]</sup>。尽管这一观点很好地解释细菌的滑行运动和效应蛋白分泌所需的能量来源, 但是我们仍不清楚复合体 GldLM 是如何驱动细菌滑行运动和效应蛋白分泌及其是如何在细菌表面锚定的。早期研究发现, PorX 通过与 PorL 胞质结构域相互作用从而调控细菌 T9SS 的动力学过程<sup>[41]</sup>。细菌可能通过双组分系统 PorXY 调控复合体 PorLM 的能量传导和输出。

## 5 T9SS 的生物学功能

目前研究发现 T9SS 在不同细菌中行使不同的生物学功能。在牙龈卟啉单胞菌、鸭疫里默氏杆菌、柱状黄杆菌和嗜冷黄杆菌等细菌中, 细菌利用 T9SS 分泌毒力因子从而对宿主产生致病作用<sup>[47-51]</sup>。然而在哈氏噬纤维菌和约氏黄杆菌等细菌中, 绝大多数

T9SS 结构蛋白参与了细菌的滑行运动<sup>[52-53]</sup>。另外, 细菌利用 T9SS 分泌的纤维素酶和几丁质酶等酶类, 降解环境中的营养物质, 为自身的生长和繁殖提供营养来源<sup>[52-53]</sup>。

## 6 结语与展望

由于 T9SS 具有极其复杂的结构和功能, 所以从发现伊始就备受人们的关注。目前, 在有关细菌 T9SS 的组成与结构、分泌机制和调控机制等方面进行了较多研究, 并取得了重要的进展。尽管如此, 作为最近新发现的分泌系统, 对 T9SS 的认识还存在许多亟待解决的科学问题。例如, 我们仍未完全清楚 T9SS 完整的信号调控通路, 开启或关闭 T9SS 的环境信号及其具体的分子机制以及各信号之间的沟通与串扰等。再者, 分泌复合体和粘附复合体的组装机制、能量传导与输出及其调控机制, 以及效应蛋白的跨膜转运和外膜锚定机制, 仍有待深入研究。目前已有的研究多倾向于牙龈卟啉单胞菌和约氏黄杆菌 2 种模式菌株, 对鸭疫里默氏杆菌、柱状黄杆菌和嗜冷黄杆菌等致病菌仍需深入研究。对于致病菌而言, 在未来的研究中, 或许可以通过对 T9SS 分泌机制及其调控机制的研究, 找到相应的药物靶点以干扰 T9SS 的功能, 对细菌的毒力产生干扰作用, 有望成为新的抗细菌感染途径。

## REFERENCES

- [1] Pena RT, Blasco L, Ambroa A, González-Pedrajo B, Fernández-García L, López M, Blieriot I, Bou G, García-Contreras R, Wood TK, et al. Relationship between quorum sensing and secretion systems[J]. *Frontiers in Microbiology*, 2019, 10: 1100
- [2] Veith PD, Glew MD, Gorasia DG, Reynolds EC. Type IX secretion: The generation of bacterial cell surface coatings involved in virulence, gliding motility and the degradation of complex biopolymers[J]. *Molecular Microbiology*, 2017, 106(1): 35-53
- [3] Lauber F, Deme JC, Lea SM, Berks BC. Type 9 secretion system structures reveal a new protein transport mechanism[J]. *Nature*, 2018, 564(7734): 77-82
- [4] Pike R, McGraw W, Potempa J, Travis J. Lysine- and arginine-specific proteinases from *Porphyromonas gingivalis*. Isolation, characterization, and evidence for the existence of complexes with hemagglutinins[J]. *Journal of Biological Chemistry*, 1994, 269(1): 406-411
- [5] Pavloff N, Potempa J, Pike RN, Prochazka V, Kiefer MC, Travis J, Barr PJ. Molecular cloning and structural characterization of the Arg-gingipain proteinase of *Porphyromonas gingivalis*. Biosynthesis as a proteinase-adhesin polyprotein[J]. *The Journal of Biological Chemistry*, 1995, 270(3): 1007-1010
- [6] Curtis MA, Kuramitsu HK, Lantz M, Macrina FL, Nakayama K, Potempa J, Reynolds EC, Aduse-Opoku J. Molecular genetics and nomenclature of proteases of *Porphyromonas gingivalis*[J]. *Journal of Periodontal Research*, 1999, 34(8): 464-472
- [7] Shi ZJ. Molecular cloning and expression of *rgpA* and *rgpB* catalytic domain genes of *Porphyromonas gingivalis*[D]. Hangzhou: Master's Thesis of Zhejiang University, 2009 (in Chinese)  
石卓瑾. 牙龈卟啉单胞菌蛋白酶基因 *rgpA* 与 *rgpB* 催化结构域的克隆和表达[D]. 杭州: 浙江大学硕士学位论文, 2009
- [8] Rangarajan M, Smith SJ, U S, Curtis MA. Biochemical characterization of the arginine-specific proteases of *Porphyromonas gingivalis* W50 suggests a common precursor[J]. *The Biochemical Journal*, 1997, 323 ( Pt 3): 701-709
- [9] Sato K, Naito M, Yukitake H, Hirakawa H, Shoji M, McBride MJ, Rhodes RG, Nakayama K. A protein secretion system linked to bacteroidete gliding motility and pathogenesis[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2010, 107(1): 276-281
- [10] Sato K, Sakai E, Veith PD, Shoji M, Kikuchi Y, Yukitake H, Ohara N, Naito M, Okamoto K, Reynolds EC, et al. Identification of a new membrane-associated protein that influences transport/maturation of gingipains and adhesins of *Porphyromonas gingivalis*[J]. *The Journal of Biological Chemistry*, 2005, 280(10): 8668-8677
- [11] Saiki K, Konishi K. Identification of a *Porphyromonas gingivalis* novel protein sov required for the secretion of gingipains[J]. *Microbiology and Immunology*, 2007, 51(5): 483-491
- [12] Nelson SS, Glocka PP, Agarwal S, Grimm DP, McBride MJ. *Flavobacterium johnsoniae* SprA is a cell surface protein involved in gliding motility[J]. *Journal of Bacteriology*, 2007, 189(19): 7145-7150
- [13] McBride MJ, Zhu YT. Gliding motility and por secretion system genes are widespread among members of the Phylum bacteroidetes[J]. *Journal of Bacteriology*, 2013, 195(2): 270-278
- [14] Gorasia DG, Glew MD, Veith PD, Reynolds EC. Quantitative proteomic analysis of the type IX secretion system mutants in *Porphyromonas gingivalis*[J]. *Molecular Oral Microbiology*, 2020, 35(2): 78-84

- [15] Chen FG, Zhang WJ, Schwarz S, Zhu Y, Li RC, Hua X, Liu SG. Genetic characterization of an MDR/virulence genomic element carrying two T6SS gene clusters in a clinical *Klebsiella pneumoniae* isolate of swine origin[J]. Journal of Antimicrobial Chemotherapy, 2019, 74(6): 1539-1544
- [16] McBride MJ. *Bacteroidetes* gliding motility and the type IX secretion system[J]. American Society of Microbiology, 2019: 363-374
- [17] Naito M, Tominaga T, Shoji M, Nakayama K. PGN<sub>0297</sub> is an essential component of the type IX secretion system (T9SS) in *Porphyromonas gingivalis*: Tn-seq analysis for exhaustive identification of T9SS-related genes[J]. Microbiology and Immunology, 2019, 63(1): 11-20
- [18] Lasica AM, Ksiazek M, Madej M, Potempa J. The type IX secretion system (T9SS): highlights and recent insights into its structure and function[J]. Frontiers in Cellular and Infection Microbiology, 2017, 7: 215
- [19] Vincent MS, Canestrari MJ, Leone P, Stathopoulos J, Ize B, Zoued A, Cambillau C, Kellenberger C, Roussel A, Cascales E. Characterization of the *Porphyromonas gingivalis* type IX secretion trans-envelope PorKLMNP core complex[J]. The Journal of Biological Chemistry, 2017, 292(8): 3252-3261
- [20] Leone P, Roche J, Vincent MS, Tran QH, Desmyter A, Cascales E, Kellenberger C, Cambillau C, Roussel A. Type IX secretion system PorM and gliding machinery GldM form Arches spanning the periplasmic space[J]. Nature Communications, 2018, 9(1): 429
- [21] Sato K, Okada K, Nakayama K, Imada K. PorM, a core component of bacterial type IX secretion system, forms a dimer with a unique kinked-rod shape[J]. Biochemical and Biophysical Research Communications, 2020, 532(1): 114-119
- [22] James RH, Deme JC, Kjr A, Alcock F, Silale A, Lauber F, Johnson S, Berks BC, Lea SM. Structure and mechanism of the proton-driven motor that powers type 9 secretion and gliding motility[J]. Nature Microbiology, 2021, 6(2): 221-233
- [23] Gorasia DG, Veith PD, Hanssen EG, Glew MD, Sato K, Yukitake H, Nakayama K, Reynolds EC. Structural insights into the PorK and PorN components of the *Porphyromonas gingivalis* type IX secretion system[J]. PLoS Pathogens, 2016, 12(8): e1005820
- [24] Trinh NTT, Tran HQ, Van Dong Q, Cambillau C, Roussel A, Leone P. Crystal structure of type IX secretion system PorE C-terminal domain from *Porphyromonas gingivalis* in complex with a peptidoglycan fragment[J]. Scientific Reports, 2020, 10: 7384
- [25] Heath JE, Seers CA, Veith PD, Butler CA, Nor Muhammad NA, Chen YY, Slakeski N, Peng B, Zhang LY, Dashper SG, et al. PG1058 is a novel multidomain protein component of the bacterial type IX secretion system[J]. PLoS One, 2016, 11(10): e0164313
- [26] Gorasia DG, Veith PD, Reynolds EC. The type IX secretion system: advances in structure, function and organisation[J]. Microorganisms, 2020, 8(8): 1173
- [27] Glew MD, Veith PD, Chen DN, Gorasia DG, Peng B, Reynolds EC. PorV is an outer membrane shuttle protein for the type IX secretion system[J]. Scientific Reports, 2017, 7(1): 8790
- [28] Kharade SS, McBride MJ. *Flavobacterium johnsoniae* chitinase ChiA is required for chitin utilization and is secreted by the type IX secretion system[J]. Journal of Bacteriology, 2014, 196(5): 961-970
- [29] Chen FG, Liu BR, Wang DC, Wang L, Deng XM, Bi CW, Xiong Y, Wu QC, Cui YW, Zhang Y, et al. Role of sortase A in the pathogenesis of *Staphylococcus aureus*-induced mastitis in mice[J]. FEMS Microbiology Letters, 2014, 351(1): 95-103
- [30] Chen FG, Xie F, Yang BL, Wang CC, Liu SG, Zhang YL. *Streptococcus suis* sortase A is Ca<sup>2+</sup> independent and is inhibited by acteoside, isoquercitrin and baicalin[J]. PLoS One, 2017, 12(3): e0173767
- [31] Gorasia DG, Veith PD, Chen DN, Seers CA, Mitchell HA, Chen YY, Glew MD, Dashper SG, Reynolds EC. *Porphyromonas gingivalis* type IX secretion substrates are cleaved and modified by a sortase-like mechanism[J]. PLoS Pathogens, 2015, 11(9): e1005152
- [32] Lasica AM, Goulas T, Mizgalska D, Zhou XY, De Diego I, Ksiazek M, Madej M, Guo YH, Guevara T, Nowak M, et al. Structural and functional probing of PorZ, an essential bacterial surface component of the type-IX secretion system of human oral-microbiome *Porphyromonas gingivalis*[J]. Scientific Reports, 2016, 6: 37708
- [33] Kulkarni SS, Zhu YT, Brendel CJ, McBride MJ. Diverse C-terminal sequences involved in *Flavobacterium johnsoniae* protein secretion[J]. Journal of Bacteriology, 2017. DOI:10.1128/jb.00884-16
- [34] Shoji M, Sato K, Yukitake H, Kondo Y, Narita Y, Kadowaki T, Naito M, Nakayama K. Correction: por secretion system-dependent secretion and glycosylation of *Porphyromonas gingivalis* hemin-binding protein 35[J]. PLoS One, 2018, 13(8): e0203154
- [35] De Diego I, Ksiazek M, Mizgalska D, Koneru L, Golik P, Szmigielski B, Nowak M, Nowakowska Z, Potempa B, Houston JA, et al. The outer-membrane export signal of *Porphyromonas gingivalis* type IX secretion system (T9SS) is a conserved C-terminal  $\beta$ -sandwich domain[J]. Scientific Reports, 2016, 6: 23123
- [36] Kulkarni SS, Johnston JJ, Zhu YT, Hying ZT, McBride MJ. The carboxy-terminal region of *Flavobacterium johnsoniae* SprB facilitates its secretion by the type IX secretion system and propulsion by the gliding motility machinery[J]. Journal of Bacteriology, 2019. DOI:10.1128/jb.00218-19
- [37] Vincent MS, Chabalier M, Cascales E. A conserved motif of *Porphyromonas* type IX secretion effectors C-terminal



- secretion signal specifies interactions with the PorKLMN core complex[J]. *bioRxiv*, 2018. DOI:10.1101/483123
- [38] Gorasia DG, Chreifi G, Seers CA, Butler CA, Reynolds EC. *In situ* structure and organisation of the type IX secretion system[J]. *bioRxiv*, 2020. DOI:10.1101/2020.05.13.094771
- [39] Veith PD, Shoji M, O'Hair RAJ, Leeming MG, Nie S, Glew MD, Reid GE, Nakayama K, Reynolds EC. Type IX secretion system cargo proteins are glycosylated at the C *Terminus* with a novel linking sugar of the wbp/vim pathway[J]. *mBio*, 2020. DOI:10.1128/mbio.01497-20
- [40] Kadowaki T, Yukitake H, Naito M, Sato K, Kikuchi Y, Kondo Y, Shoji M, Nakayama K. A two-component system regulates gene expression of the type IX secretion component proteins via an ECF sigma factor[J]. *Scientific Reports*, 2016, 6: 23288
- [41] Vincent MS, Durand E, Cascales E. The PorX response regulator of the *Porphyromonas gingivalis* PorXY two-component system does not directly regulate the type IX secretion genes but binds the PorL subunit[J]. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, 2016, 6: 96
- [42] Yukitake H, Shoji M, Sato K, Handa Y, Naito M, Imada K, Nakayama K. PorA, a conserved C-terminal domain-containing protein, impacts the PorXY-SigP signaling of the type IX secretion system[J]. *Scientific Reports*, 2020, 10: 21109
- [43] Shen DN, Perpich JD, Stocke KS, Yakoumatos L, Fitzsimonds ZR, Liu CC, Miller DP, Lamont RJ. Role of the RprY response regulator in *P. gingivalis* community development and virulence[J]. *Molecular Oral Microbiology*, 2020, 35(6): 231-239
- [44] LaFrentz BR, LaPatra SE, Call DR, Wiens GD, Cain KD. Proteomic analysis of *Flavobacterium psychrophilum* cultured *in vivo* and in iron-limited media[J]. *Diseases of Aquatic Organisms*, 2009, 87(3): 171-182
- [45] Shrivastava A, Berg HC. Towards a model for *Flavobacterium* gliding[J]. *Current Opinion in Microbiology*, 2015, 28: 93-97
- [46] Shrivastava A, Berg HC. A molecular rack and pinion actuates a cell-surface adhesin and enables bacterial gliding motility[J]. *Science Advances*, 2020, 6(10): eaay6616
- [47] Taguchi Y, Sato K, Yukitake H, Inoue T, Nakayama M, Naito M, Kondo Y, Kano K, Hoshino T, Nakayama K, et al. Involvement of an skp-like protein, PGN<sub>0300</sub>, in the type IX secretion system of *Porphyromonas gingivalis*[J]. *Infection and Immunity*, 2016, 84(1): 230-240
- [48] Chen ZC, Wang XL, Ren XM, Han WL, Malhi KK, Ding C, Yu SQ. *Riemerella anatipestifer* GldM is required for bacterial gliding motility, protein secretion, and virulence[J]. *Veterinary Research*, 2019, 50(1): 43
- [49] Li N, Zhu YT, LaFrentz BR, Evenhuis JP, Hunnicutt DW, Conrad RA, Barbier P, Gullstrand CW, Roets JE, Powers JL, et al. The type IX secretion system is required for virulence of the fish pathogen *Flavobacterium columnare*[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2017, 83(23): e01769-e01717
- [50] Pérez-Pascual D, Rochat T, Kerouault B, Gómez E, Neulat-Ripoll F, Henry C, Quillet E, Guijarro JA, Bernardet JF, Duchaud E. More than gliding: involvement of GldD and GldG in the virulence of *Flavobacterium psychrophilum*[J]. *Frontiers in Microbiology*, 2017, 8: 2168
- [51] Barbier P, Rochat T, Mohammed HH, Wiens GD, Bernardet JF, Halpern D, Duchaud E, McBride MJ. The type IX secretion system is required for virulence of the fish pathogen *Flavobacterium psychrophilum*[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2020. DOI:10.1128/aem.00799-20
- [52] Larsbrink J, McKee LS. Bacteroidetes bacteria in the soil: Glycan acquisition, enzyme secretion, and gliding motility[J]. *Advances in Applied Microbiology*, 2020, 110: 63-98
- [53] Zhao D. Functional study of genes related to protein folding and location in *Cytophaga hutchinsonii*[D]. Jinan: Doctoral Dissertation of Shandong University, 2020 (in Chinese)  
赵冬. 哈氏噬纤维菌中蛋白折叠和定位相关基因的功能研究[D]. 济南: 山东大学博士学位论文, 2020