

## 革兰氏阴性细菌蛋白分泌系统研究进展

刘伟, 庞建, 刘占英\*, 李永丽

内蒙古自治区发酵产业节能减排工程技术研究中心 生物发酵绿色制造内蒙古自治区工程研究中心 内蒙古工业大学化工学院, 内蒙古 呼和浩特 010051

刘伟, 庞建, 刘占英, 李永丽. 革兰氏阴性细菌蛋白分泌系统研究进展[J]. 微生物学通报, 2022, 49(2): 781-793

Liu Wei, Pang Jian, Liu Zhanying, Li Yongli. Progress on the protein secretion system of Gram-negative bacteria[J]. Microbiology China, 2022, 49(2): 781-793

**摘要:** 革兰氏阴性细菌由于具有复杂的双层膜结构, 其蛋白质分泌能力较差。这使得革兰氏阴性细菌的典型菌株——大肠杆菌作为最常用的受体细胞在生物制药工程和其他生物技术产品生产上受到一定的限制。因此, 革兰氏阴性细菌蛋白分泌系统的研究具有重要意义。本文详细地归纳了革兰氏阴性细菌已知的蛋白分泌系统, 分别从分泌系统的分泌过程、分泌蛋白类别、结构组成和研究技术 4 个方面做了论述, 以期为进一步解析革兰氏阴性细菌蛋白分泌机制提供参考。

**关键词:** 革兰氏阴性细菌; 大肠杆菌; 蛋白分泌系统

## Progress on the protein secretion system of Gram-negative bacteria

LIU Wei, PANG Jian, LIU Zhanying\*, LI Yongli

Center for Energy Conservation and Emission Reduction in Fermentation Industry in Inner Mongolia, Engineering Research Center of Inner Mongolia for Green Manufacturing in Bio-Fermentation Industry, College of Chemical Engineering, Inner Mongolia University of Technology, Hohhot 010051, Inner Mongolia, China

**Abstract:** Gram-negative bacteria, such as the commonly used *Escherichia coli* strains, have poor protein secretion capacities due to their intricate double-layer membrane. This shortcoming limits the production of Gram-negative bacteria for specific biopharmaceuticals and other bioproducts. Therefore, the research on the protein secretion system of Gram-negative bacteria is of great significance. This review summarized the knowledge about protein secretion system of Gram-negative bacteria, including the secretion process, the types of secreted proteins, the structural information of the secretion system,

基金项目: 国家自然科学基金(32060017); 内蒙古自治区“草原英才”工程产业创新人才团队项目

**Supported by:** National Natural Science Foundation of China (32060017); Inner Mongolia Autonomous Region “Grassland Talents” Engineering Industry Innovative Talent Team Project

\*Corresponding author: E-mail: liuzy1979@yeah.net

Received: 2021-07-04; Accepted: 2021-09-26; Published online: 2021-11-09

and the technologies for protein secretion research. Thus, this review will provide referential information for studying the protein secretion mechanism in Gram-negative bacteria.

**Keywords:** Gram-negative bacteria; *Escherichia coli*; protein secretion system

革兰氏阴性细菌是一类在革兰氏染色反应中呈红色的细菌,由于包含的双层膜和周质空间的复杂结构,使其蛋白分泌需要跨越内膜(inner membrane, IM)和外膜(outer membrane, OM)两层膜,较革兰氏阳性细菌困难,为此革兰氏阴性细菌进化出多种蛋白分泌系统<sup>[1]</sup>。大肠杆菌作为最常用的工程菌被广泛应用于生物药品和化学品的生产中,如重组人胰岛素、人粒细胞集落刺激因子、地尼白介素、苯甲醇、戊二烯、肉桂醛和富马酸<sup>[1-2]</sup>等。

本课题组在前期分离得到一株 *Escherichia coli* ZH-4, 该菌具有分泌胞外纤维素酶的能力,这是实验室标准菌株不具备的;通过提取周质空间和发酵液中的蛋白进行 SDS-PAGE 电泳,发现在周质空间和发酵液中均有该蛋白存在;初步认定该酶的分泌属于两步分泌途径,进而敲除 Sec 和 TAT 分泌系统中的关键基因,发现该酶的分泌未受到影响,由此证实该菌的蛋白分泌途径可能归属一个全新的分泌系统或存在一些未知转运蛋白的参与,这进一步说明革兰氏阴性细菌蛋白分泌系统有许多方面尚属未知<sup>[3-4]</sup>。大肠杆菌作为革兰氏阴性细菌中典型的模式菌株,是工业生产中最常用的细胞工厂,可以生产大量基因工程药物和高附加值蛋白质产物。因此,探索其蛋白分泌机制的意义较大,未来在工业应用上前景光明。本文旨在归纳总结革兰氏阴性细菌现有的蛋白分泌系统,以期对蛋白分泌机制的研究提供参考。

## 1 革兰氏阴性细菌的分泌系统

随着研究的逐渐深入,革兰氏阴性细菌的多

种分泌途径不断被发现。其中大肠杆菌的分泌系统研究最多,迄今已有九大分泌系统被发现,即 I-IX 型分泌系统<sup>[5]</sup>,但由于 VII 型和 VIII 型并未得到广泛的认可,因此很多学者把这 2 种分泌类型都归类到 V 型分泌系统中。在以上分泌系统中,分泌蛋白的转运一般有 2 种途径:(1) 分泌蛋白首先穿过质膜转运到周质空间,然后通过细胞膜分泌到胞外,这个过程蛋白的分泌经过 2 次跨膜,因此被称为两步分泌过程,大肠杆菌中属于这一分泌过程的系统有 II 型、V 型、VII 型、VIII 型和 IX 型;(2) 分泌蛋白通过形成的连续通道从细胞质直接转运到胞外,不经过周质空间这一中间场所的停留和积累<sup>[6-7]</sup>,大肠杆菌的 I 型、III 型、IV 型、VI 型分泌系统属于一步分泌过程<sup>[8]</sup>。图 1 展示了革兰氏阴性细菌 I-VI 型分泌系统的分泌机制<sup>[9]</sup>。

## 2 分泌蛋白的类型

已有研究表明,分泌蛋白的运输通常由信号肽参与介导,信号肽(signal peptide, SP)也被称为信号序列,是一种可对膜蛋白、分泌蛋白和溶酶体蛋白进行定位的标签,一般由 15-30 个氨基酸残基构成,通常位于蛋白质的氨基端(N 端),也有一部分位于蛋白质的羧基端(C 端)<sup>[10]</sup>。信号肽一般无保守的氨基酸序列,但是有保守的结构特征。在结构上由 3 个区域构成:(1) 带正电荷的氨基末端,也称为碱性氨基末端(n 区);(2) 中间的疏水核心,信号肽的主要功能区(h 区);(3) 带负电荷的羧基末端,是信号序列的切割点,也称加工区(c 区)<sup>[11-15]</sup>(图 2)。信号肽广泛地存在于原核生物和真核生物中,枯草芽孢杆菌已

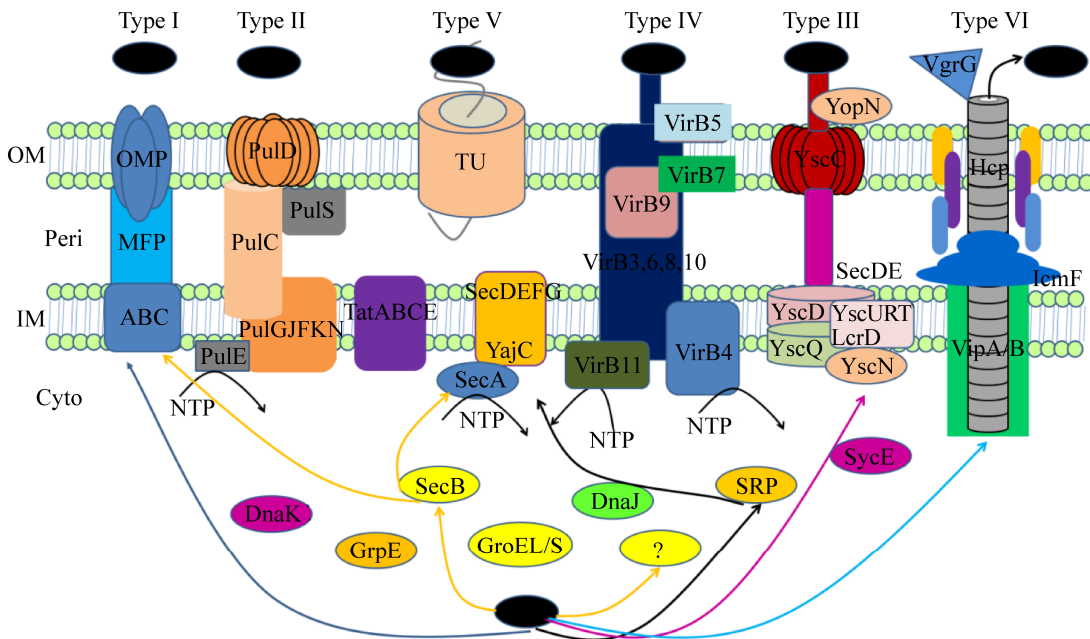


图 1 革兰氏阴性细菌 I-VI 型分泌机制原理图<sup>[9]</sup>

Figure 1 Schematic diagram of the secretion mechanism of Gram-negative bacteria type I-type VI<sup>[9]</sup>.

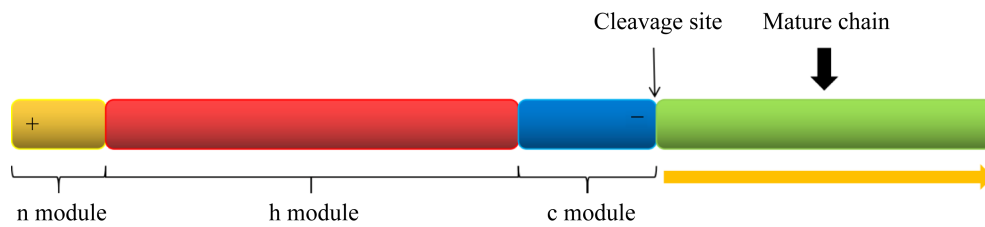


图 2 典型信号肽的示意图<sup>[15]</sup>

Figure 2 Schematic presentation of a typical signal peptide<sup>[15]</sup>.

鉴定的胞外分泌蛋白中有 50% 的蛋白存在典型的信号肽, 大肠杆菌的胞外蛋白分泌有 90% 以上依赖于信号肽, 真核生物中有 20% 的分泌蛋白存在信号肽<sup>[15]</sup>。典型的信号肽序列长度一般为 25-30 个氨基酸残基, 但是真核生物中存在的信号肽普遍更长, 可高达 140 个氨基酸残基。革兰氏阳性细菌结构简单, 蛋白的分泌相对容易, 因此信号肽的数量和类型也较少, 一般以典型的序列形式存在, 而革兰氏阴性细菌相比革兰氏阳性细菌在结构上更加复杂, 由于两层膜的结构使其在蛋白分泌上更加困难, 所以其分泌蛋白的信

号肽在类型和数量上相对较多<sup>[16]</sup>。在蛋白分泌的过程中, 分泌蛋白携带的信号肽被转运蛋白识别, 进而靶向对应的分泌系统帮助其转运到胞外, 因此该结构是实现蛋白高效分泌的关键因素。

### 2.1 N 端携带信号肽的蛋白

绝大多数分泌蛋白的氨基末端(N 端)携带信号肽序列, 在分泌蛋白转运的过程中, 通过识别信号肽从而定位到相对应的转运通道运输到膜外。双精氨酸转运酶途径是典型的通过识别携带保守序列的 N 端信号肽来完成跨内膜转运的分泌系统<sup>[17]</sup>, 通过该途径分泌的底物有核糖体结

合蛋白、碱性磷酸酶和绿色荧光蛋白等。Koike 等<sup>[18]</sup>的研究中提到一种分泌蛋白(*autotaxin*), 发现其 N 末端疏水序列起到信号肽的作用, 在跨膜后被信号肽酶切割。Souza 等<sup>[19]</sup>的研究报道了鼠疫耶尔森氏菌(*Yersinia pestis*)中针状亚基蛋白 YscF 的分泌, 证实了该蛋白包含 N 末端分泌信号, 而且功能性 N 末端信号肽是 YscF 分泌所必需的。由于信号肽会以不可预测的方式影响蛋白的合成和分泌, 通常以大肠杆菌作为受体菌来表达和分泌重组蛋白, 采用的方法便是对 N 端信号肽进行改造, 以此来改善重组蛋白的分泌<sup>[20]</sup>。对 N 端信号肽的研究可能会成为提高重组蛋白工业化产量的关键。

## 2.2 C 端携带信号肽的蛋白

有一小部分分泌蛋白在其羧基末端(C 端)携带信号肽序列, 如 Kulkarni 等<sup>[21]</sup>研究发现有多种 C 端序列参与黄杆菌(*Flavobacterium*)的蛋白质分泌, 其中提到牙龈蛋白酶 RgpB 的 C 末端 13 个氨基酸或 2 个氨基酸的缺失导致截短的蛋白质在周质中积累, 并且在氨基酸 732 处保守的赖氨酸转化为丙氨酸也导致分泌减少, 这一现象说明 C 端携带信号肽介导分泌, 信号肽的缺失或不完整会导致分泌过程无法正常进行。Izadi-Pruneyre 等<sup>[22]</sup>发现一株革兰氏阴性粘质沙雷氏菌(*Serratia*)在缺铁的情况下分泌一种血红素结合蛋白 HasA, 其胞外转运过程依赖于 C 末端的分泌信号。Vergunst 等<sup>[23]</sup>发现根癌农杆菌(*Agrobacterium tumefaciens*) VirB/D4 的 IV 型分泌系统转运蛋白质中存在 C 末端转运信号序列, 通过该分泌系统将效应蛋白转运到宿主细胞中。Nagai 等<sup>[24]</sup>研究证实肺炎军团菌(*Legionella pneumophila*)中存在的 Dot/Icm 系统归属于细菌 IV 型分泌系统, 其 RalF 蛋白是通过与 Dot/Icm 系统结合并转运到宿主细胞中, 同时证实了 RalF 蛋白 C 末端信号肽的识别是发生易位的关

键。C 端信号肽与 N 端信号肽可以共同存在并分别介导不同的跨膜运输。经 IX 型分泌系统分泌的蛋白不仅可以允许通过 Sec 系统穿过细胞质膜输出的 N 端信号肽, 而且还具有保守的 C 端结构域(C-terminal domain, CTD), 这些 C 端结构域被认为是引导蛋白靶向 T9SS 以穿过外膜分泌的关键<sup>[25]</sup>。因此, 研究 C 端信号肽对实现蛋白高效分泌意义重大。

## 3 蛋白分泌系统的结构组成

### 3.1 一步分泌途径

#### 3.1.1 I 型分泌系统

I 型分泌系统(type I secretion system, T1SS)广泛存在于革兰氏阴性细菌中, 该系统结构简单且依赖于含 ATP 结合盒的输出体。其主要有 HlyB、HlyD 和 TolC 这 3 种关键蛋白, 这 3 种蛋白具有一定的协同作用, 缺少任何一个蛋白都无法完成蛋白的胞外分泌<sup>[26]</sup>。大多数情况下, 该系统分泌的蛋白通过识别 C 端存在的 46-60 个氨基酸残基的信号肽, 以未折叠的状态通过一个由内膜 ATP 结合盒转运体、膜融合蛋白和外膜孔 TolC 组成的跨膜通道, 实现底物蛋白的胞外运输, 在胞外进行正确的折叠<sup>[27]</sup>, 形成具有一定结构的蛋白, 如图 1 所示。该系统主要分泌多糖、脂蛋白、维生素 B12、金属螯合物和多种小肽信号分子等。

#### 3.1.2 III 型分泌系统

III 型分泌系统(type III secretion system, T3SS)是一种多蛋白复合物, 主要存在于革兰氏阴性病原菌中, 负责转运毒力因子到宿主细胞中。该系统主要由 3 部分构成, 即系统基体、横跨细胞内外膜的环状系统和中空输出装置<sup>[28]</sup>。T3SS 的复合物基体由多个环形成, 即由 2 种寡聚蛋白质(EscD 和 EscJ)构成的 2 个同心内膜环和由单个寡聚蛋白质(EscC)构成的外环<sup>[29]</sup>, 中空

的输出装置由 5 种膜蛋白组成, 分别为 EscR、EscS、EscT、EscU 和 EscV<sup>[30-31]</sup>, 环状系统主要由一些转运蛋白构成。T3SS 是一步法分泌机制, 该系统分泌的毒力蛋白通常以半折叠或未折叠的状态注入到真核细胞的细胞质内发挥其致病作用<sup>[32]</sup>。

### 3.1.3 IV 型分泌系统

IV 型分泌系统(type IV secretion system, T4SS)是一种多功能运输系统, 不仅可以通过接合及将效应分子输送到宿主细胞中来介导细菌间的 DNA 转移, 如幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*) Cag 的 T4SS 转移 CagA 致机体致病, 还可以转运毒素和效应蛋白, 同时也在细菌耐药性的传播中起关键作用<sup>[33-34]</sup>。该系统广泛存在于革兰氏阴性细菌中, 包含 12 种蛋白, 即 VirB1–VirB11 和 VirD4。这些蛋白质组装成内膜复合体(intimal membrane complex, IMC)、外膜核心复合体(outer membrane core complex, OMCC)和外毛 3 个相互连接的复合体, 3 种三磷酸腺苷酶(VirB4、VirB11 和 VirD4)负责为 T4SS 组装和底物转移提供能量; 内膜复合体是由 VirB3、VirB4、VirB6、VirB8 和 VirD4 这 5 种蛋白构成, 每个蛋白都存在多个拷贝, 外膜核心复合体由 VirB7、VirB9 和 VirB10 及其各自的 14 个拷贝共同组成, 并在周质中形成一个通道, VirB10 形成外膜通道并连接外膜和内膜, 转糖基酶 VirB1 通过破坏部分肽聚糖层促进系统插入周质空间<sup>[34-35]</sup>。

### 3.1.4 VI 型分泌系统

VI 型分泌系统(type VI secretion system, T6SS)是一种蛋白质的动态纳米机器, 存在于许多革兰氏阴性菌中, 主要负责将效应蛋白转移到靶细胞中<sup>[36]</sup>。该系统包含 2 种结构, 即跨膜复合物结构和类似噬菌体的穿刺结构, 由 13 个核心蛋白成分组成, 分别为: 膜蛋白 TssL、TssM、

TssJ 和 IcmF, 脂蛋白 SciN, 溶血素调节蛋白 Hcp、DotU/IcmH, 能量蛋白 ClpV, 富含缬氨酸甘氨酸的蛋白质(VgrG), 管道蛋白 VipA/VipB, 以及与噬菌体基底相似的成分蛋白 TssE, 由这些蛋白组成的跨膜复合物结构的作用原理如图 1 所示。其中, TssL、TssM 和 TssJ 形成一个跨越内膜的复合物, 尾鞘蛋白是由管道蛋白 VipA/VipB 包含 Hcp 管构成, VCA0109 蛋白负责降解部分的肽聚糖层帮助蛋白转运, TssE 蛋白存在于细胞质中, 与其他核心蛋白协同系统正常转运<sup>[37-38]</sup>。效应蛋白的转运过程形似针头注射, 溶血素调节蛋白 Hcp 和富含缬氨酸甘氨酸的蛋白质 VgrG 构成类似菌毛结构, 刺穿靶细胞的磷脂双分子层, 将效应蛋白注入到靶细胞中, 使其发挥生物学功能<sup>[39]</sup>。

## 3.2 两步分泌途径

### 3.2.1 II 型分泌系统

II 型分泌系统(type II secretion system, T2SS)普遍存在于革兰氏阴性菌中, 多数底物蛋白利用该系统完成胞外分泌, 属于两步法, 即底物蛋白先从胞质跨内膜分泌到周质空间再穿过外膜分泌到胞外。经该系统分泌的蛋白需识别 N 端的典型信号肽, 跨内膜(Sec、Tat 和 SRP)后信号肽被切除, 再通过一般分泌系统(GSP 系统)分泌胞外。由该系统分泌的蛋白多为酶蛋白, 如纤维素酶、果胶酶、磷脂酶、淀粉酶和核糖核酸酶等。

#### (1) SecB 依赖途径

一般分泌(Sec)途径代表一种常见的机制, 革兰氏阴性细菌通过该机制可以将黏附素、蛋白酶和毒力因子等多种蛋白质分泌到细胞质外环境中, 而革兰氏阳性菌因为缺乏分子伴侣 SecB 蛋白, 因此, Sec 系统依赖与 SecB 类似的其他靶向蛋白。在革兰氏阴性菌中, 该分泌途径的关键组分包括 SecA、SecYEG、SecDF、YajC、YidC

以及2种胞质外信号肽酶 LspA 和 LepB<sup>[40]</sup>。SecA 是一种膜结合蛋白, SecYEG 是由3种蛋白构成的异源三聚体复合物,镶嵌于内膜中形成分泌通道, SecDF、YajC 和 YidC 作为辅助蛋白在分泌过程中起到一定的调控作用<sup>[41-42]</sup>。信号肽酶 LspA 和 LepB 负责切除前蛋白上的信号序列,释放成熟的结构域,使其发生折叠,成熟的结构域保留在周质内,信号肽则被蛋白酶降解。Sec 机制是一种跨内膜分泌途径,可以识别蛋白质。分泌蛋白在易位之前必须在细胞质中保持一种未展开的构象,以便能够通过 SecYEG 易位,因此大多数未折叠的多肽都是通过 Sec 转运<sup>[42]</sup>。SecB 可以识别的功能信号序列一般由18-30个氨基酸构成,序列包含3个区域,即带正电荷的N端区域、含疏水性的H区域以及携带切割位点的C端区域<sup>[43]</sup>。该途径由分子伴侣 SecB 识别携带信号肽的底物蛋白,靶向膜结合蛋白 SecA,再穿过由核心蛋白 SecYEG 组成的膜孔通道运输到膜外,完成整个转运过程<sup>[44]</sup>,如图3所示。革兰氏阳性细菌中也有与革兰氏阴性细菌相似的 Sec 系统,但存在更长的SPs、更多的信号肽酶以及额外的 SecA2 和 SecY2 拷贝,其系统组成的关键蛋白以同源物的形式发挥其功能,但也有部分菌株缺乏关键蛋白同源物以功能相似蛋白弥补,如枯草芽孢杆菌中缺乏 SecB 的同源物,使用其他靶向伴侣 CsaA 和 SatS 实现与大肠杆菌中 SecB 相似的功能来弥补该转运系统功能的缺失,促使系统的正常运转<sup>[45]</sup>。

### (2) SRP 途径

信号识别颗粒途径(SRP 途径)是介导内膜蛋白(intimal membrane protein, IMP)靶向质膜的一种广泛机制,最早发现于真核生物中,直到1989年才在革兰氏阴性细菌的代表菌株大肠杆菌中发现由 SRP54 类似物(fifty-four-homology, Ffh)和4.5S RNA 组成的 SRP 复合物,证实该途

径在原核生物中也存在<sup>[46-49]</sup>。SRP 途径的关键组分包括 Ffh 和4.5S RNA 组成的 SRP 复合物、受体蛋白 FtsY 及 SecYEG 复合体。在整个分泌过程中,新生肽在核糖体上合成,与此同时,SRP 复合物与其识别并结合,当 SRP 复合物与受体蛋白 FtsY 结合后,Ffh 的 GTPase 活性催化 GTP 水解,SRP 与受体 FtsY 解离,同时新生肽向 SecYEG 系统或 YidC 系统转运,在其他辅助因子的参与下运出质膜<sup>[50-52]</sup>,如图3所示。真核生物的 SRP 由6种蛋白质和一个称为7SL RNA 的 RNA 组成,根据分子量命名为 SRP9、SRP14、SRP19、SRP54、SRP68 和 SRP72。编码7SL RNA 的基因一共有3个,即 RN7SL1、RN7SL2 和 RN7SL3,而古细菌中也有 SRP 的存在,由7S RNA 和2种蛋白组成(SRP54 和 SRP19 的同源物)<sup>[11-12]</sup>。

### (3) Tat 途径

Tat 分泌系统(双精氨酸转运酶途径)是一类同 Sec 分泌系统平行运行的跨内膜途径,分泌蛋白的转运一般通过细菌的细胞质膜和植物叶绿体的类囊体膜,与 Sec 途径的主要区别在于:Sec 分泌途径主要分泌的蛋白都处于未折叠状态,而 Tat 途径分泌的是具有折叠构象的底物蛋白<sup>[17,53-56]</sup>。因此通过 Tat 途径分泌的蛋白较少。Tat 分泌途径的组分类型取决于物种,以革兰氏阴性细菌大肠杆菌 *E. coli* 为例,其 Tat 系统主要由 TatA、TatB 和 TatC 3种内膜蛋白构成,这3种蛋白由一个操纵子(TatABC)编码<sup>[54]</sup>。TatA 是 Tat 系统的一个小型的动态亚单位,被界定为蛋白转运过程中的活性成分,TatB 和 TatC 构成一个受体复合物<sup>[57]</sup>。通过 Tat 途径分泌的蛋白含有一段高度保守的信号序列(S-R-R-x-F-L-K),当携带信号肽的蛋白与 Tat 受体复合物接触作用,导致 TatA 发生寡聚化形成寡聚物;TatA 的寡聚物形成一种带盖的运输通道使底物蛋白运输到

膜外<sup>[56-58]</sup>, 如图 3 所示。在革兰氏阳性细菌枯草芽孢杆菌中也存在 Tat 分泌系统, 与 *E. coli* 不同的是由 2 条平行的 TatA-TatC 途径组成, 每条途径都有一个单独的 TatA 蛋白且基因组上存在 TatC 的 2 个拷贝, 即 TatCd 和 TatCy, TatCd 和 TatCy 分别与 TatA 的 2 个拷贝(TatAd 或 TatAy) 形成复合物促使其并行运行; TatE 常作为一种候补蛋白, 大肠杆菌 TatE 和枯草芽孢杆菌 TatAd 和 TatAc 能够有效地弥补大肠杆菌中 TatA 的缺乏, 使系统继续发挥转运功能<sup>[56]</sup>。

### 3.2.2 V 型分泌系统

V 型分泌系统(type V secretion system, T5SS) 是分泌系统六大类型中最简单的一种, 主要分为 3 种类型, 即自主转运系统(Va 型或 AT-1 型)、双伴侣分泌系统(Vb 型)和 Vc 型系统(AT-2)<sup>[60]</sup>。T5SS 系统分泌底物蛋白跨内膜的转运至少存在 2 个途径: (1) 依赖于分子伴侣的 SecB 途径, 通过识别蛋白的 N 端典型信号肽, 将前体蛋白靶向 SecA, 进而从 Sec 分泌途径完成转运;

(2) SRP 途径, 通过将前蛋白与核糖体-SRP 复合物直接靶向进而发生共易位; 通过内膜后信号肽被切除, 成熟的蛋白质被释放到周质空间中, 同时 C 端  $\beta$ -结构域插入外膜并形成转运通道, 然后 passenger 结构域插入通道中并转运至表面以完成蛋白的跨外膜运输<sup>[61-62]</sup>。该系统可以分泌一些分子量较大的蛋白(100 kDa 以上)。

## 4 蛋白分泌系统的研究技术

随着对革兰氏阴性细菌研究的深入, 人们也逐渐开始关注其蛋白分泌系统的研究, 传统蛋白分泌系统的研究方法采用的是亚细胞定位技术。通过定位某种蛋白或表达产物在细胞内的具体存在部位, 从而追踪其分泌途径, 完成对整个路径的解析, 但是尚存在纯化的蛋白容易被其他细胞器蛋白污染, 以及针对参与分泌途径、胞吞和胞吐等高度动态过程中的蛋白质无法精确定位、定量和检测困难等问题, 使得细胞内膜运输系统的研究与了解只是冰山一角。

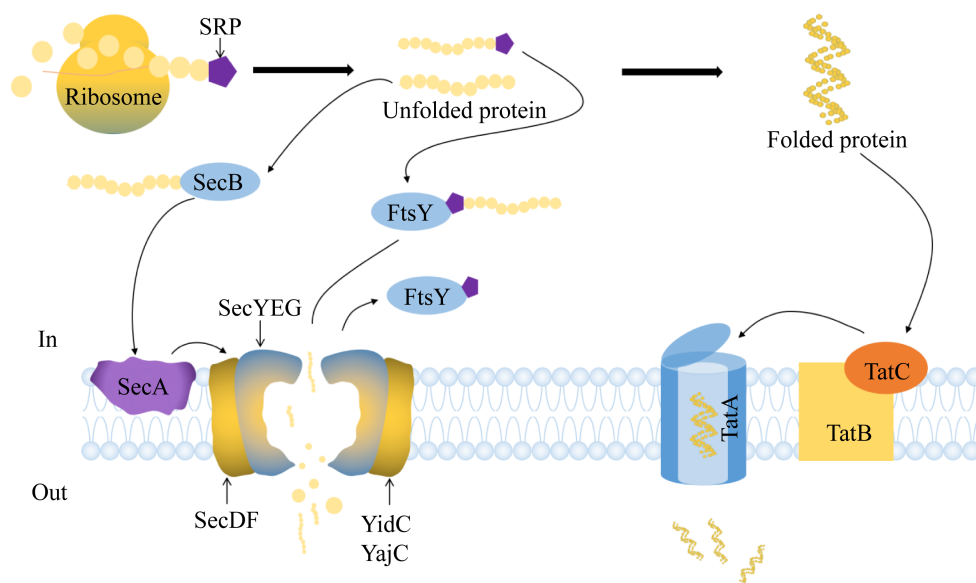


图 3 Sec、SRP 和 Tat 分泌系统示意图<sup>[59]</sup>

Figure 3 Schematic diagram of Sec, SRP and Tat secretion system<sup>[59]</sup>.



随着技术应用的发展和新型研究技术的不断挖掘,一些新的研究方法被不断提出。Chen等<sup>[63]</sup>提出了一种新方法,该方法不仅可以有效分离和检测多个细胞器的蛋白组分,还可以检测和定位在不同亚细胞器和膜系统之间移动的蛋

白质,克服了传统亚细胞定位技术存在的弊端,实现了大规模定性和定量分析亚细胞蛋白,进而准确解析分泌途径。除此之外,还有多种方法也被应用到蛋白分泌系统的研究中。表1对部分方法进行比较,为下一步应用提供参考。

**表1 蛋白分泌系统的主要研究技术**

Table 1 The main research technology of protein secretion system

Research methods	Technology (or principle)	Advantage	Disadvantage	References
Subcellular localization	Fluorescence microscopy technology	(1) Visualize protein secretion pathways (2) Clear subcellular location and high resolution	(1) Requires green fluorescent protein (GFP) as a reporter protein for ligation conversion, complicated operations (2) Light damage to biological samples	[64-70]
	Electron microscopy	Clear imaging, high resolution, relatively simple operation	(1) Slow operation and heavy labor (2) Complicated sample preparation, easy to damage	[71-72]
	Ultracentrifugation	(1) Low cost and low pollution (2) Large sample capacity	(1) Time-consuming, low exosome yield and high protein contamination (2) Loss of membrane integrity	[73-74]
Isotope labeling+ autoradiography technology	Use radioisotopes to label proteins to track their secretion pathways (isotopic labeling includes three types: continuous labeling, pulse labeling, and pulse labeling post-tracking)	(1) Wide range of applications (2) High accuracy, high reproducibility, simplicity (3) No chemical reactions are required to modify proteins or peptides (4) Simple operation and low cost	(1) Operators need to be professionally trained and must have corresponding safety protection measures and conditions before they can operate (2) Strictly control the dosage, too much may cause radiation damage to the sample	[75-77]
New research methods	Combination of LOPIT method, free flow electrophoresis technology (FFE) and mass spectrometry technology	(1) Effectively avoid protein contamination of other organelles during positioning (2) One-time detection and separation of protein components of multiple organelles (3) Large-scale qualitative and quantitative analysis of different sub-organelle proteins	(1) Complex operation (2) Too much technology is involved and difficult	[63]
Transposon insertion	Build a library through random insertion of transposons, screen mutant strains, and perform whole-genome sequencing	Large-scale screening of proteins related to transmembrane transport can help locate the secretory pathway	(1) Complex operation (2) Longer period	[4]



## 5 展望

随着研究方法和检测技术的发展, 新型的分秘系统不断被发现, 有的已知系统也被重新认识, 也会有一些已经熟知途径的未知机制被揭开。如 Zhao 等<sup>[47]</sup>的研究发现一种“替位候补”机制, 通过抑制因子筛选发现大肠杆菌中的 SRP 并不是必需的, 并在 SRP 缺陷株中发现 2 种翻译起始因子(*infB*、*infC*)和一种核糖体蛋白(*rpsC*), 它们参与了翻译的起始以弥补 SRP 缺失的机制。这项工作也为已知的分秘系统提供了一个新的方向, 帮助研究者更好地去理解革兰氏阴性细菌的分秘机理。

本课题组前期研究发现, 一些分子伴侣影响了酶蛋白的分秘, 在 *E. coli* JBZ-DH5 $\alpha$  (基因组上更换组成型强启动子 J23119 和核糖体结合位点 B0034 实现了 BcsZ 的过表达)中, 当分子伴侣基因 *ibpA*、*ibpB* 过表达时, 纤维素酶的分秘显著增加<sup>[4]</sup>。也有其他相关研究证实分子伴侣对蛋白的分秘有影响, 如 Imamoglu 等<sup>[78]</sup>的研究中提到依赖 ATP 的 Hsp70 伴侣蛋白(大肠杆菌中的 DnaK)与 J 蛋白和核苷酸交换因子(分别为大肠杆菌 DnaJ 和 GrpE)协同介导蛋白质折叠, 它们作为分子伴侣在蛋白的分秘过程中发挥着重要的作用。大肠杆菌中研究最多的分子伴侣 DnaK、DnaJ、GrpE、GroEL、GroES 负责底物蛋白结合, 防止其发生错误的折叠, 帮助折叠成天然状态。不仅如此, 这些分子伴侣对底物蛋白还有一定的选择性, 这样可以实现蛋白的高效折叠并帮助分秘<sup>[79-81]</sup>。最为典型的 Sec 分秘途径中的 SecB 蛋白就是一种分子伴侣, 其帮助蛋白底物靶向 SecA 从而帮助分秘胞外。课题组前期为革兰氏阴性细菌蛋白分秘机制的研究提供了一种全新的材料<sup>[82]</sup>, 研究发现的分子伴侣是如何参与酶蛋白分秘的机制还需进一步去证实。

## REFERENCES

- [1] 警祯祯, 杨志伟. 细菌蛋白分泌途径的研究进展[J]. 生物技术通报, 2011(8): 44-50, 54  
Zi ZZ, Yang ZW. Protein secretion pathways in bacterial cells[J]. Biotechnology Bulletin, 2011(8): 44-50, 54 (in Chinese)
- [2] Guo DY, Zhang LH, Kong SJ, Liu ZJ, Li X, Pan H. Metabolic engineering of *Escherichia coli* for production of 2-phenylethanol and 2-phenylethyl acetate from glucose[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2018, 66(23): 5886-5891
- [3] Pang J, Wang JS, Liu ZY, Zhang QC, Qi QS. Identification and characterization of an endo-glucanase secreted from cellulolytic *Escherichia coli* ZH-4[J]. BMC Biotechnology, 2019, 19(1): 63
- [4] Pang J, Liu ZY, Zhang QC, Lu XM, Qi QS. Systematic analysis of *Escherichia coli* isolates from sheep and cattle suggests adaption to the rumen niche[J]. Applied and Environmental Microbiology, 2020, 86(20): e01417-20
- [5] Christie PJ. The rich tapestry of bacterial protein translocation systems[J]. The Protein Journal, 2019, 38(4): 389-408
- [6] Rêgo AT, Chandran V, Waksman G. Two-step and one-step secretion mechanisms in Gram-negative bacteria: contrasting the type IV secretion system and the chaperone-usher pathway of pilus biogenesis[J]. The Biochemical Journal, 2010, 425(3): 475-488
- [7] Gawarzewski I, Smits SHJ, Schmitt L, Jose J. Structural comparison of the transport units of type V secretion systems[J]. Biological Chemistry, 2013, 394(11): 1385-1398
- [8] Costa TRD, Felisberto-Rodrigues C, Meir A, Prevost MS, Redzej A, Trokter M, Waksman G. Secretion systems in Gram-negative bacteria: structural and mechanistic insights[J]. Nature Reviews Microbiology, 2015, 13(6): 343-359
- [9] Desvaux M, Parham NJ, Scott-Tucker A, Henderson IR. The general secretory pathway: a general misnomer?[J]. Trends in Microbiology, 2004, 12(7): 306-309
- [10] Yan SM, Wu G. Signal peptide of cellulase[J]. Applied Microbiology and Biotechnology, 2014, 98(12): 5329-5362
- [11] Elvekrog MM, Walter P. Dynamics of co-translational protein targeting[J]. Current Opinion in Chemical Biology, 2015, 29: 79-86
- [12] Saraogi I, Shan SO. Molecular mechanism of

- co-translational protein targeting by the signal recognition particle[J]. *Traffic*, 2011, 12(5): 535-542
- [13] Luirink J, Sinning I. SRP-mediated protein targeting: structure and function revisited[J]. *Biochimica et Biophysica Acta: BBA-Molecular Cell Research*, 2004, 1694(1/2/3): 17-35
- [14] Karamyshev AL, Tikhonova EB, Karamysheva ZN. Translational control of secretory proteins in health and disease[J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2020, 21(7): 2538
- [15] Rusch SL, Kendall DA. Interactions that drive Sec-dependent bacterial protein transport[J]. *Biochemistry*, 2007, 46(34): 9665-9673
- [16] Owji H, Nezafat N, Negahdaripour M, Hajiebrahimi A, Ghasemi Y. A comprehensive review of signal peptides: structure, roles, and applications[J]. *European Journal of Cell Biology*, 2018, 97(6): 422-441
- [17] Huang Q, Palmer T. Signal peptide hydrophobicity modulates interaction with the twin-arginine translocase[J]. *bioRxiv*, 2017. DOI:10.1101/135103
- [18] Koike S, Keino-Masu K, Ohto T, Masu M. The N-terminal hydrophobic sequence of autotaxin (ENPP<sub>2</sub>) functions as a signal peptide[J]. *Genes to Cells*, 2006, 11(2): 133-142
- [19] Souza CDA, Richards KL, Park Y, Schwartz M, Torruellas Garcia J, Schesser Bartra S, Plano GV. The YscE/YscG chaperone and YscF N-terminal sequences target YscF to the *Yersinia pestis* type III secretion apparatus[J]. *Microbiology: Reading, England*, 2018, 164(3): 338-348
- [20] Mirzadeh K, Shilling PJ, Elfageih R, Cumming AJ, Cui HL, Rennig M, Nørholm MHH, Daley DO. Increased production of periplasmic proteins in *Escherichia coli* by directed evolution of the translation initiation region[J]. *Microbial Cell Factories*, 2020, 19(1): 85
- [21] Kulkarni SS, Zhu YT, Brendel CJ, McBride MJ. Diverse C-terminal sequences involved in *Flavobacterium johnsoniae* protein secretion[J]. *Journal of Bacteriology*, 2017, 199(12): e00884-16
- [22] Izadi-Pruneyre N, Wolff N, Redeker V, Wandersman C, Delepierre M, Lacroisey A. NMR studies of the C-terminal secretion signal of the haem-binding protein, HasA[J]. *European Journal of Biochemistry*, 1999, 261(2): 562-568
- [23] Vergunst AC, Van Lier MCM, Den Dulk-Ras A, Stüve TAG, Ouwehand A, Hooykaas PJJ. Positive charge is an important feature of the C-terminal transport signal of the VirB/D4-translocated proteins of *Agrobacterium*[J]. *PNAS*, 2005, 102(3): 832-837
- [24] Nagai H, Cambronne ED, Kagan JC, Amor JC, Kahn RA, Roy CR. A C-terminal translocation signal required for Dot/Icm-dependent delivery of the *Legionella* RalF protein to host cells[J]. *PNAS*, 2005, 102(3): 826-831
- [25] 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(1): 1-17
- [26] Andersen C. Channel-tunnels: outer membrane components of type I secretion systems and multidrug efflux pumps of Gram-negative bacteria[J]. *Reviews of Physiology, Biochemistry and Pharmacology*, 2003. DOI: 10.1007/s10254-003-0008-y
- [27] Smith TJ, Sondermann H, O'Toole GA. Type 1 does the two-step: type 1 secretion substrates with a functional periplasmic intermediate[J]. *Journal of Bacteriology*, 2018, 200(18): e00168-18
- [28] Shaulov L, Gershberg J, Deng WY, Finlay BB, Sal-Man N. The ruler protein EscP of the enteropathogenic *Escherichia coli* type III secretion system is involved in calcium sensing and secretion hierarchy regulation by interacting with the gatekeeper protein SepL[J]. *mBio*, 2017, 8(1): e01733-16
- [29] Tseytin I, Dagan A, Oren S, Sal-Man N. The role of EscD in supporting EscC polymerization in the type III secretion system of enteropathogenic *Escherichia coli*[J]. *Biochimica et Biophysica Acta: BBA-Biomembranes*, 2018, 1860(2): 384-395
- [30] Deng WY, Marshall NC, Rowland JL, McCoy JM, Worrall LJ, Santos AS, Strynadka NCJ, Finlay BB. Assembly, structure, function and regulation of type III secretion systems[J]. *Nature Reviews Microbiology*, 2017, 15(6): 323-337
- [31] Tseytin I, Madar A, Mitrovic B, Deng WY, Finlay BB, Sal-Man N. The third transmembrane domain of EscR is critical for function of the enteropathogenic *Escherichia coli* type III secretion system[J]. *mSphere*, 2018, 3(4): e00162-18
- [32] Mueller CA, Broz P, Cornelis GR. The type III secretion system tip complex and translocon[J]. *Molecular Microbiology*, 2008, 68(5): 1085-1095
- [33] Ilangovan A, Connery S, Waksman G. Structural biology of the Gram-negative bacterial conjugation

- systems[J]. Trends in Microbiology, 2015, 23(5): 301-310
- [34] Bergé C, Waksman G, Terradot L. Structural and Molecular Biology of Type IV Secretion Systems Type IV Secretion in Gram-Negative and Gram-Positive Bacteria, 2017. DOI: 10.1007/978-3-319-75241-9\_2
- [35] Waksman G. From conjugation to T4S systems in Gram-negative bacteria: a mechanistic biology perspective[J]. EMBO Reports, 2019, 20(2): e47012
- [36] Nguyen VS, Douzi B, Durand E, Roussel A, Cascales E, Cambillau C. Towards a complete structural deciphering of Type VI secretion system[J]. Current Opinion in Structural Biology, 2018, 49: 77-84
- [37] Coulthurst S. The type VI secretion system: a versatile bacterial weapon[J]. Microbiology: Reading, England, 2019, 165(5): 503-515
- [38] Nunes-Alves C. Hand in hand structure and function of T6SSs[J]. Nature Reviews Microbiology, 2015, 13(4): 186-187
- [39] 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
- [40] Zhang WB, Yan HL, Zhu ZC, Zhang C, Du PX, Zhao WJ, Li WM. Genome-wide identification of the Sec-dependent secretory protease genes in *Erwinia amylovora* and analysis of their expression during infection of immature pear fruit[J]. Journal of Zhejiang University-Science B, 2020, 21(9): 716-726
- [41] Cranford-Smith T, Huber D. The way is the goal: how SecA transports proteins across the cytoplasmic membrane in bacteria[J]. FEMS Microbiology Letters, 2018, 365(11): fny093
- [42] Jones AM, Virtanen P, Hammarlöf D, Allen WJ, Collinson I, Hayes CS, Low DA, Koskiniemi S. Genetic evidence for SecY translocon-mediated import of two contact-dependent growth inhibition (CDI) toxins[J]. mBio, 2021, 12(1): e03367-20
- [43] Choi JH, Lee SY. Secretory and extracellular production of recombinant proteins using *Escherichia coli*[J]. Applied Microbiology and Biotechnology, 2004, 64(5): 625-635
- [44] Komar J, Alvira S, Schulze RJ, Martin R, Lycklama A Nijeholt JA, Lee SC, Dafforn TR, Deckers-Hebestreit G, Berger I, Schaffitzel C, et al. Membrane protein insertion and assembly by the bacterial holo-translocon SecYEG-SecDF-YajC-YidC[J]. The Biochemical Journal, 2016, 473(19): 3341-3354
- [45] Smets D, Loos MS, Karamanou S, Economou A. Protein transport across the bacterial plasma membrane by the sec pathway[J]. The Protein Journal, 2019, 38(3): 262-273
- [46] 郑静, 董惠钧, 王春霞, 管文军, 李永泉. 原核生物信号识别颗粒(SRP)介导蛋白识别转运途径的研究进展[J]. 微生物学报, 2005, 45(6): 974-977
- Zheng J, Dong HJ, Wang CX, Guan WJ, Li YQ. Research progress of targeting and translocation of proteins mediated by signal recognition particle in prokaryote[J]. Acta Microbiologica Sinica, 2005, 45(6): 974-977 (in Chinese)
- [47] Zhao LQ, Cui YY, Fu G, Xu ZX, Liao XP, Zhang DW. Signal recognition particle suppressor screening reveals the regulation of membrane protein targeting by the translation rate[J]. mBio, 2021, 12(1): e02373-20
- [48] Lakomek NA, Draycheva A, Bornemann T, Wintermeyer W. Electrostatics and intrinsic disorder drive translocon binding of the SRP receptor FtsY[J]. Angewandte Chemie: International Ed in English, 2016, 55(33): 9544-9547
- [49] Pross E, Kuhn A. The SRP signal sequence of KdpD[J]. Scientific Reports, 2019, 9(1): 8717
- [50] Mircheva M, Boy D, Weiche B, Hucke F, Graumann P, Koch HG. Predominant membrane localization is an essential feature of the bacterial signal recognition particle receptor[J]. BMC Biology, 2009, 7(1): 1-12
- [51] Kempf G, Stjepanovic G, Sloan J, Hendricks A, Lapouge K, Sinning I. The *Escherichia coli* SRP receptor forms a homodimer at the membrane[J]. Structure, 2018, 26(11): 1440-1450.e5
- [52] Wild K, Becker MMM, Kempf G, Sinning I. Structure, dynamics and interactions of large SRP variants[J]. Biological Chemistry, 2019, 401(1): 63-80
- [53] Oertel D, Schmitz S, Freudl R. A TatABC-type Tat translocase is required for unimpaired aerobic growth of *Corynebacterium glutamicum* ATCC13032[J]. PLoS One, 2015, 10(4): e0123413
- [54] Alcock F, Stansfeld PJ, Basit H, Habersetzer J, Baker MA, Palmer T, Wallace MI, Berks BC. Assembling the Tat protein translocase[J]. eLife, 2016, 5: e20718
- [55] Palmer T, Stansfeld PJ. Targeting of proteins to the twin-arginine translocation pathway[J]. Molecular Microbiology, 2020, 113(5): 861-871
- [56] Goosens VJ, Monteferrante CG, Van Dijl JM. The Tat system of Gram-positive bacteria[J]. Biochimica et

- Biophysica Acta: BBA-Molecular Cell Research, 2014, 1843(8): 1698-1706
- [57] Pettersson P, Patrick J, Jakob M, Jacobs M, Klösigen RB, Wennmalm S, Måler L. Soluble TatA forms oligomers that interact with membranes: structure and insertion studies of a versatile protein transporter[J]. *Biochimica et Biophysica Acta: BBA - Biomembranes*, 2021, 1863(2): 183529
- [58] Frain KM, Robinson C, Van Dijk JM. Transport of folded proteins by the tat system[J]. *The Protein Journal*, 2019, 38(4): 377-388
- [59] Tsirigotaki A, De Geyter J, Šoštarić N, Economou A, Karamanou S. Protein export through the bacterial Sec pathway[J]. *Nature Reviews Microbiology*, 2017, 15(1): 21-36
- [60] Henderson IR, Navarro-Garcia F, Desvaux M, Fernandez RC, Ala'Aldeen D. Type V protein secretion pathway: the autotransporter story[J]. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 2004, 68(4): 692-744
- [61] Van Ulsen P, Rahman SU, Jong WSP, Daleke-Schermerhorn MH, Luirink J. Type V secretion: from biogenesis to biotechnology[J]. *Biochimica et Biophysica Acta: BBA-Molecular Cell Research*, 2014, 1843(8): 1592-1611
- [62] Fan EG, Chauhan N, Udatha DBRKG, Leo JC, Linke D. Type V secretion systems in bacteria[J]. *Microbiology Spectrum*, 2016. DOI: 10.1128/microbiolspec.vmbf-0009-2015
- [63] Chen YM, Heazlewood JL. Organellar proteomic profiling to analyze membrane trafficking pathways[J]. *Trends in Plant Science*, 2021, 26(3): 299-300
- [64] Krüger JR, Keller-Findeisen J, Geisler C, Egnér A. Tomographic STED microscopy[J]. *Biomedical Optics Express*, 2020, 11(6): 3139-3163
- [65] 陈良怡. 运用结构光照明的活细胞超高分辨率成像技术[J]. *中国科学(生命科学)*, 2015, 45(9): 903-904
- Chen LY. Live cell ultra-high resolution imaging technology using structured light illumination[J]. *Scientia Sinica: Vitae*, 2015, 45(9): 903-904 (in Chinese)
- [66] Betzig E, Patterson GH, Sougrat R, Lindwasser OW, Olenych S, Bonifacino JS, Davidson MW, Lippincott-Schwartz J, Hess HF. Imaging intracellular fluorescent proteins at nanometer resolution[J]. *Science*, 2006, 313(5793): 1642-1645
- [67] Rust MJ, Bates M, Zhuang XW. Sub-diffraction-limit imaging by stochastic optical reconstruction microscopy (STORM)[J]. *Nature Methods*, 2006, 3(10): 793-796
- [68] Gunasinghe SD, Webb CT, Elgass KD, Hay ID, Lithgow T. Super-resolution imaging of protein secretion systems and the cell surface of Gram-negative bacteria[J]. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, 2017, 7: 220
- [69] 高强, 许保银, 程逸冰, 王林, 张朝正, 田萍萍. 运用绿色荧光蛋白探讨肉葡萄球菌双精氨酸分泌途径[J]. *天津科技大学学报*, 2014, 29(5): 1-5
- Gao Q, Xu BY, Cheng YB, Wang L, Zhang CZ, Tian PP. GFP translocation of twin-arginine secretion pathway in *Staphylococcus carnosus*[J]. *Journal of Tianjin University of Science & Technology*, 2014, 29(5): 1-5 (in Chinese)
- [70] 安莎, 但旦, 于湘华, 彭彤, 姚保利. 单分子定位超分辨显微成像技术研究进展及展望(特邀综述)[J]. *光子学报*, 2020, 49(9): 7-24
- An S, Dan D, Yu XH, Peng T, Yao BL. Progress and prospect of research on single-molecule localization super-resolution microscopy (invited review)[J]. *Acta Photonica Sinica*, 2020, 49(9): 7-24 (in Chinese)
- [71] Akers JC, Ramakrishnan V, Nolan JP, Duggan E, Fu CC, Hochberg FH, Chen CC, Carter BS. Comparative analysis of technologies for quantifying extracellular vesicles (EVs) in clinical cerebrospinal fluids (CSF)[J]. *PLoS One*, 2016, 11(2): e0149866
- [72] Jung MK, Mun JY. Sample preparation and imaging of exosomes by transmission electron microscopy[J]. *Journal of Visualized Experiments*, 2018. DOI: 10.3791/56482
- [73] Kurian TK, Banik S, Gopal D, Chakrabarti S, Mazumder N. Elucidating methods for isolation and quantification of exosomes: a review[J]. *Molecular Biotechnology*, 2021, 63(4): 249-266
- [74] An MR, Wu J, Zhu JH, Lubman DM. Comparison of an optimized ultracentrifugation method versus size-exclusion chromatography for isolation of exosomes from human serum[J]. *Journal of Proteome Research*, 2018, 17(10): 3599-3605
- [75] Lau HT, Suh HW, Golkowski M, Ong SE. Comparing SILAC- and stable isotope dimethyl-labeling approaches for quantitative proteomics[J]. *Journal of Proteome Research*, 2014, 13(9): 4164-4174
- [76] Hsu JL, Chen SH. Stable isotope dimethyl labelling for quantitative proteomics and beyond[J]. *Philosophical Transactions of the Royal Society A: Mathematical, Physical and Engineering Sciences*, 2016, 374(2079):

- 20150364
- [77] Zhang GA, Neubert TA. Use of Stable Isotope Labeling by Amino Acids in Cell Culture (SILAC) for Phosphotyrosine Protein Identification and Quantitation[M]. *Phospho-Proteomics*, 2009. DOI: 10.1007/978-1-60327-834-8\_7
- [78] Imamoglu R, Balchin D, Hayer-Hartl M, Hartl FU. Bacterial Hsp70 resolves misfolded states and accelerates productive folding of a multi-domain protein[J]. *Nature Communications*, 2020, 11: 365
- [79] Bhandari V, Houry WA. Substrate Interaction Networks of the *Escherichia coli* Chaperones: Trigger Factor, DnaK and GroEL[J]. *Prokaryotic Systems Biology*, 2015. DOI: 10.1007/978-3-319-23603-2\_15
- [80] Martínez-Alonso M, García-Fruitós E, Ferrer-Miralles N, Rinas U, Villaverde A. Side effects of chaperone gene co-expression in recombinant protein production[J]. *Microbial Cell Factories*, 2010, 9: 64
- [81] Patra M, Roy SS, Dasgupta R, Basu T. GroEL to DnaK chaperone network behind the stability modulation of  $\sigma^{32}$  at physiological temperature in *Escherichia coli*[J]. *FEBS Letters*, 2015, 589(24): 4047-4052
- [82] Pang J, Liu ZY, Hao M, Zhang YF, Qi QS. An isolated cellulolytic *Escherichia coli* from bovine rumen produces ethanol and hydrogen from corn straw[J]. *Biotechnology for Biofuels*, 2017, 10: 165



## 2022 年中国微生物学会及各专业委员会学术活动计划表(2-2)

16	第十三届传染病防控基础研究与应用技术学术交流会	分析微生物学专业委员会	8 月	800	陕西西安	宋亚军 13611182355
17	第十八届全国微生物培养基学术研讨会	生物制品专业委员会	8 月	70	福建漳州	赵贵明 13701210443
18	2022 年工业生物过程优化与控制研讨会	生化过程模型化与控制专业委员会	8 月	200	山东青岛	郭美锦 Guo_mj@ecust.edu.cn 18701965791
19	第五届真菌感染与宿主免疫学术研讨会	真菌学专业委员会	9 月 23-25 日	300	福建厦门	卫凤莲 18019481480
20	第四届水虻与微生物研究和应用国际研讨会	农业微生物学专业委员会	10 月	200	湖北武汉	张吉斌 zhangjb@mail.hzau.edu.cn
21	纪念中国微生物学会成立 70 周年大会暨 2022 年学术年会	中国微生物学会	10 月	800	贵州贵阳	杨海花, 王旭 010-64807200
22	烈性传染病研究进展及相关生物安全体系建设学术会议	微生物生物安全专业委员会	10 月	100	广东深圳	贾晓娟 18600189362
23	第三届布鲁氏菌病国际学术交流会	兽医微生物学专业委员会	10 月	300	北京	冯宇, 朱良全 010-62106555, 010-61255325
24	第十一届工业微生物资源利用与安全控制研讨会	工业微生物学专业委员会	10 月	400	北京	姚粟 010-53218308
25	第四届国际运动发酵单胞菌研讨会: 微生物代谢与生物质转化	微生物资源专业委员会	10 月	100	四川成都	何明雄, 阮志勇 13882005948, 13301101231
26	原核生物分类学研究基本方法培训班	微生物资源专业委员会	11 月	100	待定	张玉琴, 阮志勇 010-83167110, 13301101231
27	2022 年生物制品年会	生物制品专业委员会	11 月	3 000	江苏南京	毛群颖 18810054059
28	第十四届全国土壤微生物学术讨论会暨第七届全国微生物肥料生产技术研讨会	农业微生物学专业委员会	11 月	350	广东广州	马鸣超 010-82107077
29	第九届全国微生物基因组学学术研讨会	农业微生物学专业委员会	待定	200	湖北武汉	孙明 m98sun@mail.hzau.edu.cn