



从效应蛋白视角看革兰氏阴性细菌 VI 型蛋白分泌系统底物转运机理

梁小夜 许平 董涛*

上海交通大学生命科学技术学院 微生物代谢国家重点实验室 上海 200240

摘要: 蛋白质分泌系统是细菌与外界交流的重要工具。革兰氏阴性细菌的 VI 型蛋白分泌系统(T6SS)可以转运分泌蛋白至细菌和真核细胞内, 在菌间竞争中发挥重要作用, 是细菌的一种重要的生存适应性武器。分泌蛋白主要包括起到运载作用的结构蛋白和有细胞毒性的效应蛋白这两类。本文主要从效应蛋白的视角讨论 T6SS 如何识别并转运效应蛋白的作用机理, 回顾了以 VgrG 和 PAAR 为端部载体蛋白的转运途径、依赖端部运输的效应蛋白、T6SS 伴侣蛋白等重要发现的背景和过程, 并综述了 T6SS 分泌途径的新进展。

关键词: 微生物组, 菌群互作, 六型分泌系统, 效应蛋白, 伴侣蛋白

Effector recognition and translocation by type VI protein secretion system in Gram-negative bacteria

LIANG Xiao-Ye XU Ping DONG Tao*

State Key Laboratory of Microbial Metabolism, School of Life Sciences and Biotechnology, Shanghai Jiao Tong University, Shanghai 200240, China

Abstract: Protein secretion systems are crucial tools that microbes use to interact with their surrounding environment. The type VI protein secretion system (T6SS) is widely distributed in Gram-negative bacteria and capable of delivering effector to both eukaryotic and prokaryotic cells. Here we discuss, from effector study perspective, the mechanism of substrate recognition and translocation by T6SS, focusing on the key discoveries of VgrG-PAAR (Proline-Alanine-Alanine-aRginine) dependent secretion pathway, and its cognate effectors and chaperone proteins.

Keywords: Microbiome, Interspecies interaction, T6SS, Effector, Chaperone

进入新世纪,组学技术的快速发展推动微生物学的研究进入新的阶段。通过微生物组学,我们发现了更多在不同自然环境下的微生物以及它们的基因组成,并且更清楚地认识到微生物在人体健

康、环境修复、农业生产、海洋生态等很多方面所发挥的作用。宏观上的功能往往并非由单一细菌实现的,而是多种不同的微生物所组成的复杂群体共同作用的结果。因此,为了从机理上研究微生物组

Foundation item: National Natural Science Foundation of China (31770082)

***Corresponding author:** Tel: 86-21-34208591; E-mail: tdong@sjtu.edu.cn

Received: 17-12-2018; **Accepted:** 14-01-2019; **Published online:** 17-01-2019

基金项目: 国家自然科学基金(31770082)

***通信作者:** Tel: 021-34208591; E-mail: tdong@sjtu.edu.cn

收稿日期: 2018-12-17; 接受日期: 2019-01-14; 网络首发日期: 2019-01-17

的宏观功能,我们必须同时在微观上从不同层次(包括基因、蛋白质、细胞)来探索微生物的生理活动。其中,研究细菌间微观上的相互作用机制至关重要。

为了生存细菌通过进化获得了一系列可用于细菌间以及细菌与宿主细胞竞争的武器系统。根据作用距离,可大致分为非接触式抑制和接触式抑制两类^[1]。第一类的典型代表是可以扩散的抗生素等小分子化合物。这一类已经被广泛应用于医学和农业,为人类健康和社会发展发挥了至关重要的作用。第二类可以通过直接接触而作用于相邻细胞,其中包括在大肠杆菌中报道的 CDI (Contact dependent inhibition)系统和本综述主要讨论的 VI 型蛋白分泌系统(T6SS)^[2-4]。CDI 和 T6SS 同样具有很强的杀菌能力,因此对解决病原菌耐药性问题具有潜在的应用价值。另外,同一种细菌可以拥有多种武器以获得在不同环境下的竞争优势。

T6SS 广泛存在于革兰氏阴性细菌中,是一种直接接触式的细菌武器^[5]。T6SS 是细菌胞质中最长的管状结构之一,可作用于真核细胞,也可以作用于原核细胞^[6-7]。它不需要利用表面受体,而是通过细菌间直接接触,在几毫秒内直接将底物蛋白转运至受体细菌的细胞质中^[6]。T6SS 最初由哈佛大学 John Mekalanos 实验室在霍乱弧菌(*Vibrio cholera*)和铜绿假单胞菌(*Pseudomonas aeruginosa*)中报道,现在已经在约 25%的革兰氏阴性细菌中被发现,包括许多重要的人类致病菌^[3-4]。过去十多年,对 T6SS 的结构组成、功能和调控的研究是微生物学最热门的研究领域之一。文献中也已经有了很多系统性的综述^[5-6]。因此本文选择从 T6SS 效应蛋白的发现过程来介绍 T6SS 识别并转运效应蛋白的机理,以及经典的遗传学方法在 T6SS 的发现和研究中发挥的重要作用。

1 T6SS 的组成和结构

T6SS 的结构主要由跨膜复合体(Membrane complex TssJLM)、基座复合体(Baseplate TssEFGK)

和管状结构(VipA/B 和 Hcp) 3 部分组成^[5-6,8-9](图 1)。跨膜/基座复合体将管状结构固定在细胞膜上。T6SS 管状结构与可收缩噬菌体的尾部结构进化上同源、结构上相似,由一组核心的保守基因编码^[8,10]。其关键的组成部件包括由 Hcp 蛋白六聚体组成的多层内管,包裹 Hcp 内管的 VipA/B 外鞘,以及位于 Hcp 管顶端的 VgrG 三聚体和锥形 PAAR 蛋白复合物^[5,11]。外鞘的收缩驱动 Hcp 内管及其结合的顶端蛋白 VgrG 和 PAAR 排出到细胞外或者相邻细胞内。收缩后的外鞘蛋白留存在细胞内,并被 ATP 蛋白酶 ClpV 分解成单体,以便被再循环用于另一个 T6SS 的装配^[12-14]。值得指出的是,为了满足细胞对不可回收的分泌蛋白的重新合成的需求,编码 T6SS 分泌蛋白的基因与编码可循环利用的结构蛋白基因相比受到差异性调控^[15]。T6SS 的装配还需要两个进化上同源的结构蛋白 TssA 和 TagA^[16-18]。TssA 可以和 T6SS 多个结构组分相结合并参与基座和管状结构的装配,但是在不同细菌内可能位于基座内(Baseplate)、管状结构末端、或者两端都存在^[16-18]。TagA 最近被发现能够和 TssA 相结合并终止管状结构的延伸^[17]。由于 TssA 和 TagA 的作用机理和在 T6SS 内的具体位置还不完全清楚,而且还没有证据证明它们和效应蛋白相结合,因此本综述暂不予以讨论。

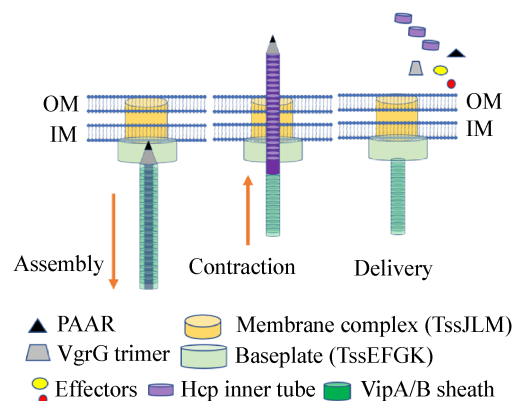


图 1 T6SS 的分泌模型

Figure 1 T6SS secretion model

位于 T6SS 结构最尖端的是 VgrG 三聚体和 PAAR 蛋白^[5,11]。细菌基因组可以编码多个 VgrG 和 PAAR 基因,但是每次外管的收缩只会将一个 PAAR 蛋白、三个 VgrG 蛋白,以及数百个 Hcp 蛋白分泌出去。如果将 T6SS 比喻为细菌的弓箭,那么由膜-底座复合体和外鞘组成的弓能够将由 Hcp 组成的箭体和 VgrG-PAAR 组成的箭头在几毫秒内弹射出去。外鞘收缩释放出惊人的能量(44 000 kcal/mol),相当于 4 000 个 ATP 水解释放的能量^[6,19]。并且,由于外鞘和内管的螺旋结构,收缩过程导致的管体旋转角速度能够达到约每分钟 12 万转^[6]。这为 T6SS 穿透受体细胞的内外膜和细胞壁提供了足够的穿透力。

2 分泌蛋白决定 T6SS 功能

由于同种姐妹细胞之间也会发生 T6SS 的穿刺转运,因此物理性的穿透并不能对细胞产生致死性伤害,而 T6SS 的杀伤功能主要是由其分泌的蛋白的功能所决定的^[5,20-21]。T6SS 的分泌蛋白主要包括起运载作用的结构蛋白和发挥生物学活性的效应蛋白。T6SS 的效应蛋白一般具有对真核细胞或者原核细胞的细胞毒性^[5,22],按照结构可分为两大类。第一类是带有延伸功能域(Extended domain)的结构蛋白。例如霍乱弧菌的 VgrG1 和 VgrG3 分别具有肌动蛋白交联活性和破坏细胞壁活性的延伸功能域^[23-24]。它们作为结构蛋白既是 T6SS 的不可或缺的组成部分,同时又都能分泌到受体细胞内,并利用延伸功能域发挥效应蛋白的作用^[24-25]。这一类还包含带有延伸功能域的 PAAR 蛋白^[11]和内管 Hcp 蛋白^[26]。由于 VgrG-PAAR-Hcp 双功能蛋白其结构上的保守性,它们比较容易被识别而且其分泌机理也较简单。第二类是非结构性分泌蛋白,也称为专属效应蛋白(Dedicated effector)。这一类效应蛋白序列上相似性很低,功能多样,因此难以用生物信息学方法识别^[5-6,22]。如果将结构性的效应蛋白比喻为弓箭的箭头,专属效应蛋白是如何被识别并处在弓箭的什么位置是我们认知 T6SS 作用

机理的核心问题之一。

3 T6SS 的端部分泌蛋白识别过程

在 T6SS 还没有被正式定义为分泌系统之前,生物信息学分析已经发现它的基因簇广泛存在于革兰氏阴性细菌中,并且其中的一些关键基因已经被发现在细菌与真核细胞的相互作用中至关重要^[5]。Mekalanos 实验室利用经典的遗传学手段,即转座子随机突变的方法,在霍乱弧菌中寻找对阿米巴虫的侵染非常重要的基因。通过分析失去毒性的突变体,发现并系统鉴定了 T6SS 的基因簇^[3]。该实验室同时也在铜绿假单胞菌中报道了同源的 T6SS,并发现能够从病人体内分离到对应的 T6SS 分泌蛋白 Hcp 的抗体^[4]。此后,领域内迅速开展了对 T6SS 分泌的效应蛋白及分泌机理的研究^[27-28]。可能由于 T6SS 是在利用真核生物与微生物相互作用时发现的,也由于其他已知的分泌系统多作用于真核细胞,因此对 T6SS 作用对象的研究首先聚焦在真核细胞^[28-30]。然而 2010 年铜绿假单胞菌的 T6SS 被发现具有杀菌活性^[20]。这项研究也首次发现 3 个非结构性的分泌蛋白^[20],而后续研究显示它们是通过与内管蛋白 Hcp 的结合分泌出去^[31]。由于 Hcp 内管是中空的,有大约 4 nm 的直径,理论上可以装填一定大小的分泌蛋白,因此通过 Hcp 内管的分泌起初被认为是主要的分泌通路^[4,20]。通过限定蛋白的分子大小、带电特征等物理性质而非蛋白序列,后续研究预测出一批类似的小分子分泌蛋白^[32]。然而这个方法局限于已知的分泌蛋白所具有的物理特征。虽然霍乱弧菌的 T6SS 具有很强的杀菌能力^[33],利用这些特征并没有在霍乱弧菌中预测出类似的效应蛋白,预示着其他类型的效应蛋白的存在。

为了避免被自身细胞杀死, T6SS 需要合成脱毒蛋白,也称免疫蛋白(Immunity protein)^[5,20,34]。免疫蛋白通过与有毒性的效应蛋白相结合来实现自我保护,而且由于免疫蛋白与效应蛋白的功能相关性,它们在基因组上的位置也是相邻的。因

此, 我们设计了一个利用转座子随机突变与高通量测序相结合来寻找免疫蛋白基因的遗传筛选方法^[24]。免疫基因的突变体可以在 T6SS 失活突变体中得到, 但是在 T6SS 活跃的菌体内无法存活。利用这个差异性存活筛选方法, 我们发现了 3 个免疫基因, 并进而识别了它们分别对应的具有杀菌活性的两个非结构性的分泌蛋白 TseL 和 VasX, 和一个有延伸功能域结构性的 VgrG3^[24]。但是, TseL 和 VasX 的分子量远远大于 Hcp 内径所能容纳的蛋白大小, 与已发现的小分子分泌蛋白没有任何同源性。这表明可能有新的分泌途径。我们发现 TseL 可以与 VgrG3 相互作用, 揭示了非结构蛋白利用与端部蛋白结合实现分泌的新途径^[24]。我们后来的研究发现 TseL 与 VgrG3 的结合是间接的, 其直接结合的是 VgrG1^[35]。这也解释了在大肠杆菌里表达 TseL 和 VgrG3 时它们并不结合, 但是在霍乱弧菌中形成了 TseL-VgrG1-VgrG3 聚集体。通过大量后续研究, 与 VgrG 结合的分泌途径现在被认为是一个最主要的非结构蛋白的分泌途径^[36-38]。

4 T6SS 伴侣蛋白的发现提供了发现分泌蛋白的新工具

由于 TseL 和 VasX 在序列上没有相似性, 同一个 T6SS 分泌系统是如何识别这两种非常不同的分泌蛋白的呢? 通过分析 *tseL* 和 *vasX* 的上游基因, 我们发现上游基因编码一个保守的蛋白结构域

DUF4123, 于是预测含有 DUF4123 的蛋白可能与分泌有关^[35]。随后的结果显示 DUF4123 蛋白起到伴侣蛋白作用, 通过特异性的相互结合促进分泌蛋白分泌。几乎在同时, Pukatzki 实验室也报道了 DUF4123 蛋白相同的功能^[39]。由于伴侣蛋白的保守性, 我们可以通过伴侣蛋白以及其对应的分泌蛋白的相关性和特异性来预测不保守的分泌蛋白。生物信息学分析表明伴侣蛋白在 300 多种细菌中存在, 而与伴侣蛋白相关的分泌蛋白有 1 000 多个^[35]。伴侣蛋白的发现不仅揭示了一类新的 T6SS 蛋白分泌途径, 而且为解决 T6SS 非结构性的分泌蛋白很难被识别的问题提供了一个重要的手段。

5 依赖于 PAAR 的蛋白分泌途径

端部蛋白由 VgrG 三聚体和一个折叠成锥形的 PAAR 蛋白组成。虽然已知带有延伸功能域的 PAAR 蛋白可以作为效应蛋白, 但是 PAAR 是否可以像 VgrG 一样作为分泌蛋白的载体并不清楚。在研究伴侣蛋白时, 我们发现一个与 PAAR 结合的分泌蛋白, 证实了这种分泌途径的存在^[40]。由此, T6SS 依赖端部的分泌蛋白转运途径被全部揭示了 (图 2)。专属效应蛋白也因此可以比喻为沾在箭头上的毒药, 为 T6SS 这把弓箭增加了威力。

细菌细胞内通常有多个 VgrG、PAAR 和其装载的效应蛋白。例如霍乱弧菌中有 3 个 VgrG 和 2 个 PAAR 蛋白, 而铜绿假单胞菌里更是有 10 个 VgrG 蛋白^[36,40]。由于每个 T6SS 结构合成时理论上只能

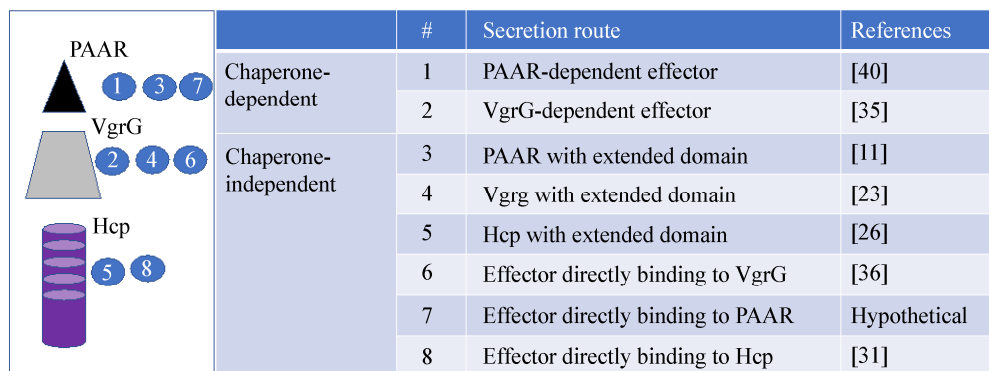


图 2 T6SS 的分泌蛋白和分泌途径

Figure 2 T6SS effectors and their dependent routes of secretion

最多装载 3 个 VgrG 和 1 个 PAAR, 对于每个效应蛋白来讲, 其分泌需要运载它的 VgrG 或者 PAAR 能够被 T6SS 装配。在多个 VgrG 和 PAAR 共存的情况下, 是否存在某种机制可以来决定不同 VgrG/PAAR/效应蛋白的运载先后顺序还不清楚。由于敲除一些 VgrG 能对其他 VgrG 分泌的效应蛋白起到促进或者抑制的作用, 我们推测分泌蛋白的装配是由层次化的竞争性关系决定的^[40]。

6 总结与展望

作为一种重要的细菌武器, T6SS 对细菌在竞争条件下的生存至关重要, 而其对细菌的适应性或者竞争性的功能主要取决于 T6SS 所运载的分泌蛋白的种类和功能^[41]。拥有 T6SS 的不同细菌在随机混合并相互竞争时, 会从混合菌群逐渐演化为由多个局部的同种群落(Kin-only)组成的共生群落, 并且可以使细菌群体产生一定的社会性(例如, Cheater 细胞的产生)^[41]。因此 T6SS 介导的菌群竞争对研究宏观上微生物的组成和功能至关重要。

国内在 T6SS 的分泌蛋白作用与机理上的研究也做出了一系列创新性的发现, 主要包括 T6SS 对金属离子的转运^[42-44], T6SS 抗氧化作用^[45], Hcp 类效应蛋白^[26], 磷酸脂酶的功能^[46], VgrG 结合分泌蛋白的尾端关键序列^[37], 以及 T6SS 基因数据库的建立等^[47]。

总之, T6SS 是细菌中最重要的菌与菌、菌与环境、菌与宿主细胞的相互作用的工具之一。领域内目前对 T6SS 的分泌途径了解的相对比较清楚, 对如何找到分泌蛋白也有一系列的方法^[35,48]。可以预见的是, 未来在不同细菌中对 T6SS 的功能性的研究一定会带来更多新的发现。另外, 从对 T6SS 的发现到端部分泌途径的识别过程来看, 经典的微生物遗传学方法仍然是我们探索未知科学问题不可或缺的重要手段。

REFERENCES

- [1] Chassaing B, Cascales E. Antibacterial weapons: targeted destruction in the microbiota[J]. Trends in Microbiology, 2018, 26(4): 329-338
- [2] Aoki SK, Pamma R, Hernday AD, et al. Contact-dependent inhibition of growth in *Escherichia coli*[J]. Science, 2005, 309(5738): 1245-1248
- [3] Pukatzki S, Ma AT, Sturtevant D, et al. 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
- [4] Mougous JD, Cuff ME, Raunser S, et al. A virulence locus of *Pseudomonas aeruginosa* encodes a protein secretion apparatus[J]. Science, 2006, 312(5779): 1526-1530
- [5] 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
- [6] Basler M. Type VI secretion system: secretion by a contractile nanomachine[J]. Philosophical Transactions of the Royal Society of London. Series B, Biological Sciences, 2015, 370(1679): 20150021
- [7] Brackmann M, Nazarov S, Wang J, et al. Using force to punch holes: mechanics of contractile nanomachines[J]. Trends in Cell Biology, 2017, 27(9): 623-632
- [8] Taylor NMI, van Raaij MJ, Leiman PG. Contractile injection systems of bacteriophages and related systems[J]. Molecular Microbiology, 2018, 108(1): 6-15
- [9] van Son Nguyen, Logger L, Spinelli S, 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] Leiman PG, Basler M, Ramagopal UA, et al. Type VI secretion apparatus and phage tail-associated protein complexes share a common evolutionary origin[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 2009, 106(11): 4154-4159
- [11] Shneider MM, Buth SA, Ho BT, et al. PAAR-repeat proteins sharpen and diversify the type VI secretion system spike[J]. Nature, 2013, 500(7462): 350-353
- [12] Kapitein N, Bönemann G, Pietrosiuk A, et al. ClpV recycles VipA/VipB tubules and prevents non-productive tubule formation to ensure efficient type VI protein secretion[J]. Molecular Microbiology, 2013, 87(5): 1013-1028
- [13] Bönemann G, Pietrosiuk A, Diemand A, et al. 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
- [14] Basler M, Mekalanos JJ. Type 6 secretion dynamics within and between bacterial cells[J]. Science, 2012, 337(6096): 815
- [15] Dong TG, Mekalanos JJ. Characterization of the RpoN regulon reveals differential regulation of T6SS and new flagellar operons in *Vibrio cholerae* O37 strain V52[J]. Nucleic Acids Research, 2012, 40(16): 7766-7775
- [16] Zoued A, Durand E, Brunet YR, et al. Priming and polymerization of a bacterial contractile tail structure[J]. Nature, 2016, 531(7592): 59-63
- [17] Santin YG, Doan T, Lebrun R, et al. *In vivo* TssA proximity labelling during type VI secretion biogenesis reveals TagA as a protein that stops and holds the sheath[J]. Nature Microbiology, 2018, 3(11): 1304-1313

- [18] Nazarov S, Schneider JP, Brackmann M, et al. Cryo-EM reconstruction of Type VI secretion system baseplate and sheath distal end[J]. *The EMBO Journal*, 2018, 37(4): e97103
- [19] Wang J, Brackmann M, Castaño-Díez D, et al. Cryo-EM structure of the extended type VI secretion system sheath-tube complex[J]. *Nature Microbiology*, 2017, 2(11): 1507-1512
- [20] Hood RD, Singh P, Hsu F, et al. A type VI secretion system of *Pseudomonas aeruginosa* targets a toxin to bacteria[J]. *Cell Host & Microbe*, 2010, 7(1): 25-37
- [21] Dong TG, Dong S, Catalano C, et al. Generation of reactive oxygen species by lethal attacks from competing microbes[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2015, 112(7): 2181-2186
- [22] Russell AB, Peterson SB, Mougous JD. Type VI secretion system effectors: poisons with a purpose[J]. *Nature Reviews Microbiology*, 2014, 12(2): 137-148
- [23] Pukatzki S, Ma AT, Revel AT, et al. Type VI secretion system translocates a phage tail spike-like protein into target cells where it cross-links actin[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2007, 104(39): 15508-15513
- [24] Dong TG, Ho BT, Yoder-Himes DR, et al. Identification of T6SS-dependent effector and immunity proteins by Tn-seq in *Vibrio cholerae*[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2013, 110(7): 2623-2628
- [25] Zheng J, Ho B, Mekalanos JJ. Genetic analysis of anti-amoebae and anti-bacterial activities of the type VI secretion system in *Vibrio cholerae*[J]. *PLoS One*, 2011, 6(8): e23876
- [26] Ma JL, Pan ZH, Huang JH, et al. The Hcp proteins fused with diverse extended-toxin domains represent a novel pattern of antibacterial effectors in type VI secretion systems[J]. *Virulence*, 2017, 8(7): 1189-1202
- [27] Filloux A, Hachani A, Blevess S. The bacterial type VI secretion machine: yet another player for protein transport across membranes[J]. *Microbiology*, 2008, 154: 1570-1583
- [28] Pukatzki S, McAuley SB, Miyata ST. The type VI secretion system: translocation of effectors and effector-domains[J]. *Current Opinion in Microbiology*, 2009, 12(1): 11-17
- [29] Ma AT, McAuley S, Pukatzki S, et al. Translocation of a *Vibrio cholerae* type VI secretion effector requires bacterial endocytosis by host cells[J]. *Cell Host & Microbe*, 2009, 5(3): 234-243
- [30] Zheng J, Leung KY. Dissection of a type VI secretion system in *Edwardsiella tarda*[J]. *Molecular Microbiology*, 2007, 66(5): 1192-1206
- [31] Silverman JM, Agnello DM, Zheng HJ, et al. Haemolysin coregulated protein is an exported receptor and chaperone of Type VI secretion substrates[J]. *Molecular Cell*, 2013, 51(5): 584-593
- [32] Russell AB, Singh P, Brittnacher M, et al. A widespread bacterial type VI secretion effector superfamily identified using a heuristic approach[J]. *Cell Host & Microbe*, 2012, 11(5): 538-549
- [33] MacIntyre DL, Miyata ST, Kitaoka M, et al. The *Vibrio cholerae* type VI secretion system displays antimicrobial properties[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2010, 107(45): 19520-19524
- [34] Li M, Le Trong I, Carl MA, et al. Structural basis for type VI secretion effector recognition by a cognate immunity protein[J]. *PLoS Pathogens*, 2012, 8(4): e1002613
- [35] Liang XY, Moore R, Wilton M, et al. Identification of divergent type VI secretion effectors using a conserved chaperone domain[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2015, 112(29): 9106-9111
- [36] Hachani A, Allsopp LP, Oduko Y, et al. The VgrG proteins are “à la carte” delivery systems for bacterial type VI effectors[J]. *The Journal of Biological Chemistry*, 2014, 289(25): 17872-17884
- [37] Bondage DD, Lin JS, Ma LS, et al. VgrG C terminus confers the type VI effector transport specificity and is required for binding with PAAR and adaptor-effector complex[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2016, 113(27): E3931-E3940
- [38] Flaugnatti N, Le TTH, Cnaan S, et al. A phospholipase A₁ antibacterial Type VI secretion effector interacts directly with the C-terminal domain of the VgrG spike protein for delivery[J]. *Molecular Microbiology*, 2016, 99(6): 1099-1118
- [39] Unterwiesing D, Kostiuik B, Ötjengerdes R, et al. Chimeric adaptor proteins translocate diverse type VI secretion system effectors in *Vibrio cholerae*[J]. *The EMBO Journal*, 2015, 34(16): 2198-2210
- [40] Burkinshaw BJ, Liang XY, Wong M, et al. A type VI secretion system effector delivery mechanism dependent on PAAR and a chaperone-co-chaperone complex[J]. *Nature Microbiology*, 2018, 3(5): 632-640
- [41] Wong MJQ, Liang XY, Smart M, et al. Microbial herd protection mediated by antagonistic interaction in polymicrobial communities[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2016, 82(23): 6881-6888
- [42] Si MR, Zhao C, Burkinshaw B, et al. Manganese scavenging and oxidative stress response mediated by type VI secretion system in *Burkholderia thailandensis*[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2017, 114(11): E2233-E2242
- [43] Wang TT, Si MR, Song YH, et al. Type VI secretion system transports Zn²⁺ to combat multiple stresses and host immunity[J]. *PLoS Pathogens*, 2015, 11(7): e1005020
- [44] Lin JS, Zhang WP, Cheng JL, et al. A *Pseudomonas* T6SS effector recruits PQS-containing outer membrane vesicles for iron acquisition[J]. *Nature Communications*, 2017, 8: 14888
- [45] Wan BS, Zhang QF, Ni JJ, et al. Type VI secretion system contributes to enterohemorrhagic *Escherichia coli* virulence by secreting catalase against host reactive oxygen species (ROS)[J]. *PLoS Pathogens*, 2017, 13(3): e1006246
- [46] Jiang F, Waterfield NR, Yang J, et al. A *Pseudomonas aeruginosa* type VI secretion phospholipase D effector targets both prokaryotic and eukaryotic cells[J]. *Cell Host & Microbe*, 2014, 15(5): 600-610
- [47] Li J, Yao YF, Xu HH, et al. SecReT6: a web-based resource for type VI secretion systems found in bacteria[J]. *Environmental Microbiology*, 2015, 17(7): 2196-2202
- [48] Lien YW, Lai EM. Type VI secretion effectors: methodologies and biology[J]. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, 2017, 7: 254