



DERLEME

FİTOPATOJEN BAKTERİLERE AİT SALGI SİSTEMLERİNİN GENEL ÖZELLİKLERİ

Berna BAŞ*

Biyoloji Bölümü, Fen-Edebiyat Fakültesi, Gaziantep Üniversitesi, Gaziantep, Türkiye

ÖZET

Bakteriler çeşitli amaçlara hizmet eden protein/protein benzeri maddeleri kendi hücre membranlarından dış ortama veya direk konukçu hücrelerine aktaracak şekilde çeşitli salgı ve eksport sistemleri geliştirmişlerdir. Bu derleme de mevcut olan salgı sistemlerinin karmaşık yapıları, görevleri, hedefledikleri bölgeleri ve bakteri hücresi zarf yapısının özellikleriyle beraber ele alınmıştır. Özellikle çok az sayıda çalışması bulunan fitopatojen bakterilerin mevcut olan salgı sistemleriyle ilgili bağlantılarının yanısıra yeni gelişmeler de sunulmuştur.

Anahtar kelimeler: Bakteri, Salgı sistemi, Salgı protein

GENERAL FEATURES OF SECRETION SYSTEMS IN PHTOPATHOGEN BACTERIA

ABSTRACT

Bacteria have developed various secretory and export systems to translocate protein/protein-like substances performing multiple different functions to extracellular milieu or directly to recipient cells. In this study, it was reviewed complexity of secretion systems, function, in final destination as well as structural features of bacteria cell envelope. Besides to linkage to all known bacteria secretion systems of phytopathogen bacteria, in particular with very insufficient reports, it was introduced also recent findings.

Keywords: Bacterium, Secretion system, Secretory protein

1. GİRİŞ

Hücre sitoplazmasından hücrenin dışına "protein salgılama" olayı (protein secretion), canlılar alemindeki bütün hücre çeşitleri için önemli temel olaylardan birisidir. Prokaryotik hücreler için dış çevreye protein salgılamanın amacı çeşitli olup bunlar; dış ortamda bir yüzeyle (çevre veya başka bir hücreye) fiziksel temas, agregat oluşturmak, hareket edebilmek, konukçu hücre duvarını parçalamak ve savunma sistemini baskılamak, konukçu hücrenin sitoplazmasına kendi DNA'sını ve proteinini transfer etmek şeklinde sayılabilir. Özellikle fitopatojen bakterilerin patogenesisinde başarılı olmaları için, bu prosedür önemli bir adımdır ve böylece konukçu bitkilerin ya da rakip hücrelerin hücresel aktiviteleri yeniden programlanarak, bakteriler kendilerine yeni bir niş alanı yaratırlar. Ancak bu sitoplazmik makromoleküllerin, bakteriyel hücre duvar ve membran yapılarını aşarak, hatta konukçu olacağı hücrenin de duvar/membran yapılarını da geçerek sitoplazmasına ulaştırılması kolay değildir. Bu amaçla prokaryotik organizmalar genel ve özel eksport ve salgı sistemleri geliştirmişlerdir. Salgı proteini (secreted protein), salgı (secretion), eksport ve ekstraselüler (hücreler arası) protein terimleri birbirlerinin yerine kullanılabilir mi ve translokasyon (translocation) ne ifade etmektedir? Bu makalede, konukçu organizmalar (bitki, hayvan) ile mikrobiyal interaksyonlarda önemli rollere sahip hücresel bileşenler ve biyolojik prosesleri açıklamak için kullanılan ilgili terimler ile genomiks-proteomiks çalışmalarına ait literatürlerde kullanılan ortak terimler arasındaki önemli fark vurgulanmaktadır.

*Sorumlu Yazar: bas@gantep.edu.tr

Geliş: 03.07.2018 Kabul: 11.03.2019

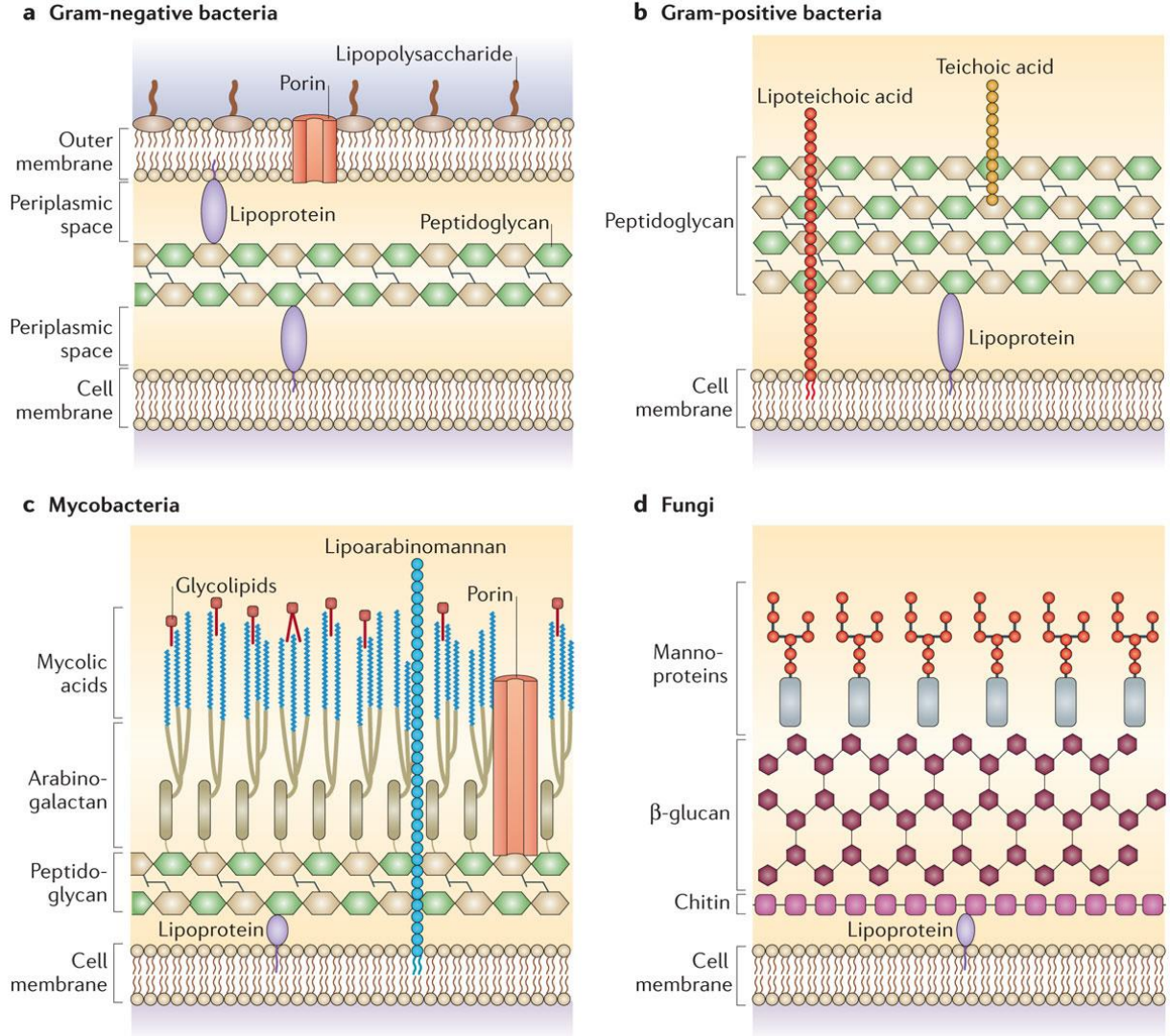
Terimler arasındaki ince farklar Desvaux vd [1]'nin terminolojisine göre ele alınırsa; örneğin moleküler genetikte ekstraselüler protein, kültür ortamındaki veya hücre dışına salgılanan eriyebilir proteinler için kullanılan bir terimdir. Ancak aynı terim, yani ekstraselüler salgı proteinleri bakteriyel salgı sistemleri ile bakteriyel hücre zarfının yapısına entegre olan makromoleküler yapıların organizasyonunu ilgilendiren bir konudur. Protein transportu (taşınması) ile ilgili çalışmalarda protein translokasyonu, genel olarak proteinin çift tabakalı lipid tabakasından geçişini ifade eder. Salgı proteini ise, hücrenin iç kısmından hücrenin dış kısmına proteinlerin aktif transport işlemidir. Bu aktif prosesin sonucunda, salgı proteini çift lipid tabakasının tamamen dışına çıkışını da ifade eder, ekstraselüler bir alanda eriyebilir bir proteinin varlığı da olabilir, ya da yüzey proteini veya yüzey yapılarına ait bir alt üniteyi de ifade edebilir. Gr (+) bakterilerde sadece sitoplazma membranına ait bir tek lipid membran tabakası bulunmakta olup *salgı proteinin* anlamı, *protein translokasyonu* ile *ekstraselüler protein* birbirlerinin yerine kullanılabilen terimlerdir. Ancak Gr (-) bakterilerde lipid membran tabakası çift olduğu için ekstraselüler protein, protein translokasyonu, protein eksportunun anlamı sitoplazmanın dışını ifade eder, yani proteinin taşındığı alan periplazmik boşlukta olabildiği gibi, hücrenin çift membran tabakasının tamamen dışı da olabilir. İşte bu farkı ayırmak için “salgı proteini” teriminin kullanılması bu makale konusunun daha iyi anlaşılmasına yardım edecektir. Proteinler kendi kendine yer değiştiremeyeceği için, salgı sistemine ait mekanizmalar yardımıyla çift membranı aşarak hücrenin tamamen dış ortamına geçiş yaparlar. Salgı sistemleri, TXSS (Type X Secretion System) şeklinde gösterilir, X arap rakamları (1, 2, 3, vs) yerine klasik olarak roma rakamları kullanılır, I-VII arasında (I, II, III, IV, V, VI vs) yazılarak farklı sekresyon sistemleri ifade edilir [1]. Bugüne kadar 9 farklı salgı sistemi (TISS-TIXSS) tanımlanmış olup bunlardan Tip I - Tip VI salgı sistemleri ile ilgili birçok çalışma bulunmaktadır ancak diğerleri ile ilgili az sayıda makale mevcuttur.

Bakteriyel salgı sistemlerine ait örnekler çoğunlukla insanlara araz olan bakterilerde çalışılmış olup fitopatogen bakterilere ait örnekler sınırlı sayıda bulunmaktadır. Bu derlemede kısaca konukçu fitopatogen organizmalara ait bakteriyel salgı sistemleriyle ilgili örneklerle birlikte yeni gelişmelerden de bahsedilmiştir. Konu ile ilgili türkçe derleme çalışması sadece 5 farklı salgı sistemi ile dar kapsamlı olarak daha önce ele alınmıştır (Tip I, Tip II, Tip III, Tip IV ve Tip V) [2]. Kısa bir özetle; fitopatolojideki proteobakteriler Tip ISS'yi rhizobialarda biyofilm oluşumu ve bazı virülenslik faktörlerinin salgılanması için kullanmakta olup bazı fitopatogen bakterilerde virülenslik faktörleri için TISS sistemine ihtiyaç duymaktadırlar. TISS ise bazı örnekler dışında bütün fitopatogen bakterilerin sahip olduğu ve patojenisite faktörlerini aktarmada başvurulan bir sistemdir, TIVSS özellikle *Agrobacterium tumefaciens*'in nükleik asit ve bazı proteinlerin aktarımında kullanılmaktadır, TVSS'e bazı türlerde konukçuya yapışmak için gerekli proteinlerin salgılanmasında ihtiyaç duyulmaktadır, TVISS'de yine bazı bakterilerin virülenslik faktörlerini aktarmada ve bakterilerin kendi aralarındaki rekabette inhibisyon amacıyla kullandığı sistemdir ancak, TVIIS ile yapılan mutant çalışmalarda spor gelişiminde gecikmeler ve anomaliler saptanmıştır. TVIIS ve fitopatogen bakterilerle ilişkilendirilecek bir kayıt henüz bulunmamaktadır. Son olarak TIXSS ile sınırlı sayıda çalışma yapılmıştır ve rizosferde biyolojik mücadele amaçlı kullanılan izolatların bu sistemi kullandığı bilinmektedir [3]. Bu derlemede kommensal, parazitik ve saprofitik mikroorganizmalara ait salgı sistemlerinin genel özellikleri ortaya konmuş ve farklı salgı sistemlerinin fitopatogen organizmalarla ilgili bağlantıları örneklerle ele alınmıştır. Ayrıca salgı sistemlerinin moleküler motifleri ayrıntılı olarak incelenmiş olup bu alanda çalışan araştırmacılara, büyük ölçüde yardımcı olacak şekilde özetlenmiştir.

2. BAKTERİYEL HÜCRE ZARFI

Gr (+) ve Gr (-) bakteriler ile mikobakterilerin zarf yapılarının farklılıkları salgı sistemlerinin de farklılaşmasına neden olmuştur. Gr (-) bakterilerin zarf yapıları, iç membran (sitoplazmik membran) ve dış membran olmak üzere iki zar tabakasından meydana gelir, her iki zar tabakasının arasında periplazmik boşluk yer alır, dış membranda bulunan lipid tabakası periplazmik boşlukta bulunan

peptidoglukan yapılı hücre duvarı ile bağlantılıdır. Gr (+) bakterilerin zarf yapılarında ise sadece sitoplazma membranı ile membranın üzerinde kalın bir hücre duvarı bulunur, dış membran yoktur. Gr (+) bakterilerden daha karmaşık yapılı olan mikobakterilerin 3 tabakalı zarf yapılarında sırasıyla sitoplazmik iç membran, peptidoglukan ile arabinogalaktandan oluşan hücre duvarı ve en dış tabakada ise yoğun yapılı, geçirgenliği zayıf bir mikolik asit tabakası bulunur, bu tabakaya mikomembran da denir [4]. Gr (-) bakteri, Gr (+) bakteri ve mikobakterilerin membran yapıları karşılaştırmalı olarak şekil 1’de verilmiştir.

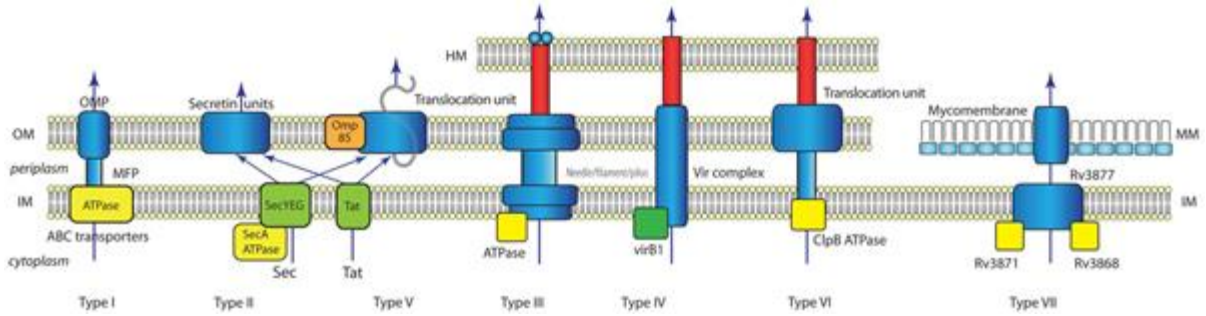


Nature Reviews | Microbiology

Şekil 1. Gr (+) ve Gr (-) bakteriler ile mikobakteri hücre membran yapıları [5]: (a)Gram-negatif bakterilerin hücre duvarı ince bir peptidoglukandan ibaret olup, lipid tabakalardan oluşan iç ve dış membran arasındaki periplazmik boşlukta yer alır. Lipopolisakkarit içeren dış membran üzerinde porin veya özel taşıyıcı sistemler bulunmaktadır. Dış membran vezikülleri nedeniyle dış membranın kesintiye uğraması sonucunda veziküllerin oluştuğu düşünülmektedir. Gram pozitif bakteriler, mikobakteriler ve funguslarda dış membran bulunmadığından dolayı bu grupta yer alan organizmaların ekstraselüler vezikül üretmediğine inanılmaktadır; (b)Gram pozitif bakteriler tek tabakalı lipid membrana sahip, membranın üzeri ise lipoteikoik asit ve teikoik asit içeren oldukça yoğun yapılı peptidoglukandan oluşan hücre duvarıyla çevrelenmiştir, lipoteikoik asit ise diaçilgliserol ile membrana bağlanmıştır; (c)Mikobakterilerin hücre duvarı ise peptidoglukan ve arabinogalaktandan oluşan ince bir takalı ile oldukça yoğun yapılı mikolik asitten oluşmuştur. Hücre duvarında da glikolipidler, porinler ve diaçilgliserol yardımıyla membrana bağlı olan lipoarabinomannan yer alır. Bu yoğun yapılı duvar tek bir membranı çevrelemektedir; (d)Funguslarda tek bir plazma membranı tabakası ve onu dıştan

çevreleyen polisakarit dücre duvarı yer alır, hücre duvarı ise çok tabakalı kitin, b-glukan ve mannandan ibarettir.

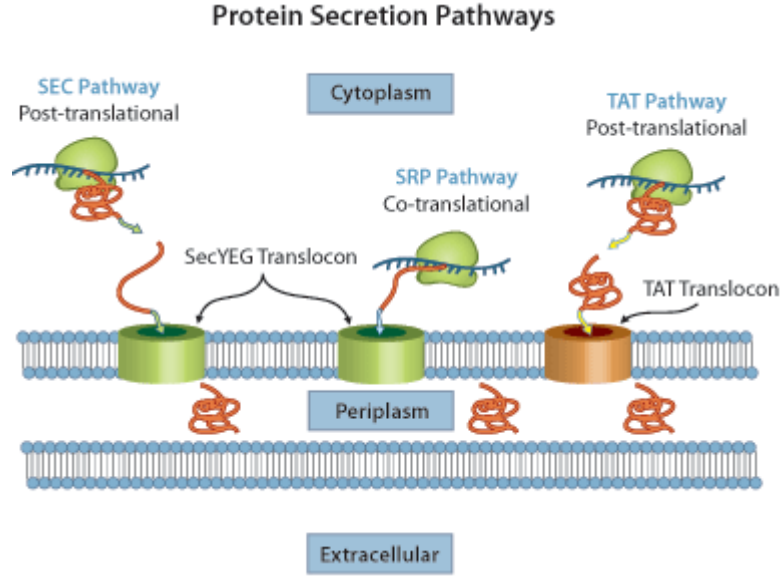
Organizmalardaki bu zarf yapıların içinde yer alan salgı sisteminin bileşenleri ve organizasyonları dikkate alınır, sitoplazma dışına taşınacak olan proteinlerin çoğu örn, gr (-) bakterilerde ya periplazmik boşluğa veya konukçu hücrenin sitoplazmasına ya da yardımcı bir başka sistemle periplazmik boşluktan hücrenin tamamen dışına bırakılır [1]. Sonuç olarak da proteinler farklı temel mekanizmalarla hücre dışına nakil edilmektedirler. Mevcut olan 9 adet sekresyon sistemlerinin hepsi ya bir aşamalı sekresyon sistemi veya iki aşamalı sekresyon sisteminden meydana gelmiştir. Bir aşamalı (veya bir adımda) sekresyonun anlamı, hücrenin içinden taşınacak olan substrat direkt olarak ekstraselüler çevreye veya diğer hedef hücrenin sitoplazmasına nakledilir. İki aşamalı (veya iki adımda) sekresyonun anlamı ise, substrat önce bakterinin iç membranından geçirilir ve periplazmik boşluğa bırakılır, daha sonra sekresyon sistemlerinden birinin yardımıyla dış membrandan bakteri hücrenin tamamen dışına salınır. Buna göre, bir adımda (ya da bir aşamalı) sekresyon yapan sistemler Sec-sisteminden bağımsız olarak çalışmakta olup, bunlar TISS, TIISS, TIVSS, TVISS ve TVIISS 'dir. İki aşamalı sekresyon sistemleri ise Sec-sistemiyle ve/veya Tat-sistemiyle bağlantılı olarak çalışan TIISS, TVSS, TVIISS ve TIXSS'dir. İki aşamalı sekresyon mekanizmasına sahip olan sistemlerin sitoplazmik iç zarlarında taşıyıcı element bulunmadığı için Sec- ya da Tat-yoluyla periplazmik aralığa substrat nakil edilir daha sonra spesifik salgı sistemlerinin yardımıyla dış membrandan bakteriyel hücrenin tamamen dışına verilir. TVIISS'nin substratları klasik sinyal sekansları içermediği için ve Sec- veya Tat-sistemlerinden bağımsız olduğu için bir aşamalı salgı sistemine örnek verilse de [6], mikobakterilerin mikolik asit içeren dış membranlarında TVIISS sisteminin bileşenlerinin yer alması nedeniyle 2-aşamalı sekresyon sistemi olabileceği de kabul görmektedir [7]. TipISS-TipVIISS'leri taslak özeti şekil 2' de verilmiştir.



Şekil 2. Tip I-Tip VII arası bakteriyel salgı sistemlerinin taslak özeti [8]; HM: Host membrane (konukçu membranı); OM: Outer membrane (dış membran); IM: Inner membrane (iç membran); MM: mycomembrane (mikomembran); OMP: Outer membrane protein (dış membran proteini); MFP: Membrane fusion protein (membran füzyon proteini); ATPazlar ve çaperonlar sarı renkte gösterilmiştir.

3. SİTOPLAZMİK MEMBRAN YOLUYLA GERÇEKLEŞEN SALGILAMA

Hücreler, sitoplazma membranının yapısını ve fonksiyonunu bozmadan sitoplazma membran içinden salgı proteinlerinin geçişine izin veren mekanizmalar geliştirmişlerdir [9]. Bakterilerde iki tip salgı sistemi mevcuttur; bunlar genel salgılama (Sec; secretory) [10, 11, 12] ve ikiz arjinin taşıma (Tat; Twin Arginine Translocation) yollarıdır [13]. Bu mekanizmalar bütün canlı domainlerin (bakteri, arkea ve ökaryotik) organizmalarını ilgilendirmektedir. Ancak Sec-yolu, protein eksportunun ana güzergahı olup tüm yaşam domainlerinde bulunurken [14], Tat-yolu ise prokaryotik canlılarda ve bitki kloroplastlarında yaygın olarak bulunur, ancak bütün prokaryotlar için ne evrensel bir yol ne de gerekli bir sistem değildir [15]. Ökaryotik organizmalarda Sec-yolu endoplazmik retikulumda bulunur, bitki plastitlerinin tilakoid membranlarında ise hem Sec- hem de Tat-sistemleri bulunmaktadır [9]. Bakteriyel Sec-yolu ve Tat-yoluyla salgılama olayı şekil 3'de verilmiştir.



Şekil 3. Sec- ve Tat- yollarının kıyaslanması (*E. coli* TISS salgı sistemi diyagramı) [16].

Bakterilerin çoğu Sec- ve Tat-yollarını kullanarak salgı proteinlerini, hücrenin periplazmik alanına ya da sitoplazma membranının dışına bırakırlar. Sec-yolu ile proteinler katlanmamış konformasyonda (yani sentez sonrası proteinlerin primer yapı durumu) plazma membranının dışına transfer edilirler daha sonra membranın trans tarafında katlanarak doğal konformasyonlarını kazanırlar (sitoplazma membranının plazmaya bakan yüzeyine cis-tarafı, membranın dış çevreye kısmına bakan yüzeyine de trans-tarafı denir). Tat-yolu olarak isimlendirilen ikiz-arjinin yolu ile transfer ise, salgı proteinleri hücre içinde katlanmış konformasyon şeklini aldıktan sonra membrandan geçişine izin vermektedir.

Gr (-) bakteriler çift membrana sahip olduğu için bazı ilave yardımcı sistemler geliştirerek proteinleri tamamen dış çevreye vermektedirler. Gr (+) bakteriler de (özellikle mikobakterlerde çok kalın mikomembran nedeniyle) aynı yolları kullanmakta olup proteinlerin hedefe ulaştırılması için yeterli olmamaktadır. Patolojik açıdan önemli olan virülenslik faktörlerini hedef noktaya yani konukçunun sitoplazmasına ulaşması için ilave bazı mekanizmalara sahiptirler [17].

3.1. Sec-yolu ile Salgılaşma

Sec-sistemi, proteinlerin katlanmamış ilk yapısını yani primer yapıyı proteinleri geçirirler. Sec-sistemi üç kısımdan ibarettir; 1) protein hedef bileşeni, 2) motor protein ve 3) SecYEG translokaz olarak isimlendirilen membranla entegre olmuş kanal ileti kısımlarıdır [18]. Gr (+) bakteriler ayrıca Sec yardımcı protein kısımlara sahiptirler, Sec-salgı sistemi her iki bakteri grubunda virülenslik faktörlerinin iletilmesinde önemlidir.

Sec-sistemini kullanan proteinlerin hücre dışına çıkışında da iki yolu bulunmaktadır; 1) SecB-spesifik sinyal dizisi içeren yol ile periplazmik boşluğa taşınır, ya da 2) SRP (Signal Recognition Particle=Sinyal Tanıma Parçası)spesifik sinyal dizisi içeren yol ile iç membranın içine yerleşerek oraya entegre olur. Her iki yolun esas farkı özetle şöyle verilebilir; Gr (-) bakterilerde periplazmik alana taşınacak olan proteinler SecB proteinlerini kullanırlar. SecB proteini çaperon (chaperone) proteini gibi çalışır, yani proteinler sitoplazmada sentezlendikleri ilk anda SecB ile bağlanarak proteinlerin katlanmasına engel olurlar ve SecA'ya iletilir. SecA proteini çeşitli görevler üstlenmiştir, bağlandığı proteini SecYEG kanalına yönlendirir ve proteinin taşınması için gereken enerji ATP sağlandıktan sonra SecB parçası SecA'dan ayrılır, periplazmik boşluğa taşınır, burada protein katlı yapısını kazanır. Periplazmik boşlukta bulunan bu proteinler daha sonra Tip II ve Tip V sistemlerinin yardımıyla dış membrandan geçerek dış çevreye bırakılırlar [19, 20, 21, 22].

3.2. Tat-yolu ile Salgilama

Tat-sistemi ise katlanmış proteinleri yani kuarterner yapısını kazanmış proteinleri geçirir [23]. Translasyon sonrası bazı proteinler sitoplazmada modifikasyon geçirirler. Hücrenin dış çevresinde de periplazmik boşlukta bu değişimler için uygun ortam bulunmadığından dolayı, katlanmış proteinler üç boyutlu yapı düzenini sitoplazmada aldıktan sonra Tat-mekanizmasını kullanırlar [12]. Tat-sistem proteini TatA, TatB ve TatC olmak üzere üç alt üniteye sahiptir. Gr (+) bakterilerde TatA ve TatB birleşmiş olup tek parça halinde görev yaparlar [24, 25]. Tat-sistemi, hem patojen hem de apatojen bakterilerin hayatta kalmaları ve fizyolojileri için önemlidir, ayrıca hayvan infeksiyon modelinde virülensliğin başarısı için Tat-sisteminin fonksiyonlarına ihtiyaç duyulmaktadır [26, 27, 28].

3.3.1. Tip I salgı sistemi (TISS/T1SS sistemi)

Tip I salgı sistemi (TISS veya T1SS) bitki ve hayvan patojeni Gr (-) bakterilerde yaygın olarak kullanılmaktadır; salgı tek bir adımda gerçekleşir, sistemin taşıyıcı proteinleri iç ve dış membran ile periplazmik aralığa yerleşik olarak bulunan 3 yapısal ana elemandan meydana gelir [29]. İyonları, antibiyotikleri, proteaz, lipaz gibi bakteriyel enzimleri, toksinleri taşıyan sistem [30], siklik β -glukanlar, polisakaritler gibi proteinsi olmayan substraları da dışarıya salgılamaktadır [31]. Sistemin üç ana elemanı; iç membrana yerleşik ATP-bağlı kaset transporter, membran füzyon veya adaptör protein ve dış membrana yerleşik dış membran faktör proteinleridir.

Pirinç patojeni *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*'nin AvrXa21 efektörü Tip I salgı kompleksi ile eksprese olmakta ve sülfatlanmış küçük bir polipeptitten ibaret olan AvrXa21 efektörü konukçu bitkinin Tip ISS ile salgılanmaktadır [32]. TISS sistemi ile salgılanan metalloproteaz, adhesin, glukanaz gibi virulenslik faktörleri bitki patojen bakterilerinden *Agrobacterium tumefaciens*, *Pseudomonas syringae* pv. *tomato*, *Ralstonia solanacearum*, *Xanthomonas axonopodis* pv. *citri* ve *Xylella fastidiosa* türlerinde bulunmuştur [33, 34]. Bazı baklagil rizobiyum simbiyont bakterilerin rizobiyel proteinleri örn., biyofilm oluşturan proteinler Tip ISS ile eksport edilmektedir [35].

3.3.2. Tip II salgı sistemi (TISS/T2SS sistemi)

Çoğunlukla Gr (-) bakterilerde bulunan, evrimsel süreçte korunmuş bir sistem olan TISS (T2SS) salgı sistemi Sec-yoluyla bağlantılı olarak iki adımda ve katlanmış proteinleri periplazmik boşluktan hücrenin dışına salgılanmaktadır. Bu salgı sistemine ait kanal yapısı sadece dış membranda bulunmakta olup, önce Sec- veya Tat-yoluyla bağlantılı sistemlerden birinin yardımıyla proteinler periplazmik boşluğa aktarılır. Esasen Sec-salgı sisteminin bir sınıfı olan TISS Tat-yolu ile de proteinleri periplazmik boşluğa taşır. Fitopatojen, insan ve hayvan patojeni bakterilere ait hücrelerarası toksinler ve hidrolitik enzimleri (selülaz, elastaz, amilaz, proteaz, fofatazi lipaz, nükleaz gibi) taşıyan TISS [36], 15 farklı protein kompleksinden meydana gelmiştir [37].

TISS sistemi *Erwinia*, *Dickeya*, *Pectobacterium*, *Xanthomonas*, and *Ralstonia* cinsi bitki patojen bakterilerin üyeleri tarafından patogenesis için gereklidir [38, 39, 40, 41, 42, 43]. Bu gruba ait fitopatojen bakterilerin virulenslik faktörleri ise pektinaz ve pektat liyaz olup *Dickeya dadantii* (*Erwinia chrysanthemi*), *Erwinia amylovora* ve *Xanthomonas campestris* pv. *campestris*'in TISS sistemi ile salgılanmaktadır [8]. Ya da *Agrobacterium tumefaciens*, *Coxiella burnetii* ve *Shigella flexneri* ile mutualistik bakteriler *Sinorhizobium meliloti* ve *Wolbachia pipientis* gibi patojen bakteriler TISS'ye sahip olmayan proteobakterilerdir [41, 42]. Polisakaritler, proteinler ve fenolik maddelerden oluşan bitki hücre duvar matrisi, patojen saldırılarına tepki olarak yeniden şekil değişikliğine uğramaktadırlar [44]. TISS sistemine bağlı olan yumuşak çürüklük patojenleri, yüksek oranlarda ve çok çeşitli enzimler salgılayarak bitki hücre duvarına zarar verirler ve böylece karakteristik olan çürüme belirtilerinin gelişimine neden olurlar [45, 46]. En çok pektin parçalayan enzimler salgılanır, çeşitleri çok fazladır [40]. Benzer şekilde, poligalakturonad parçalayan enzim ise

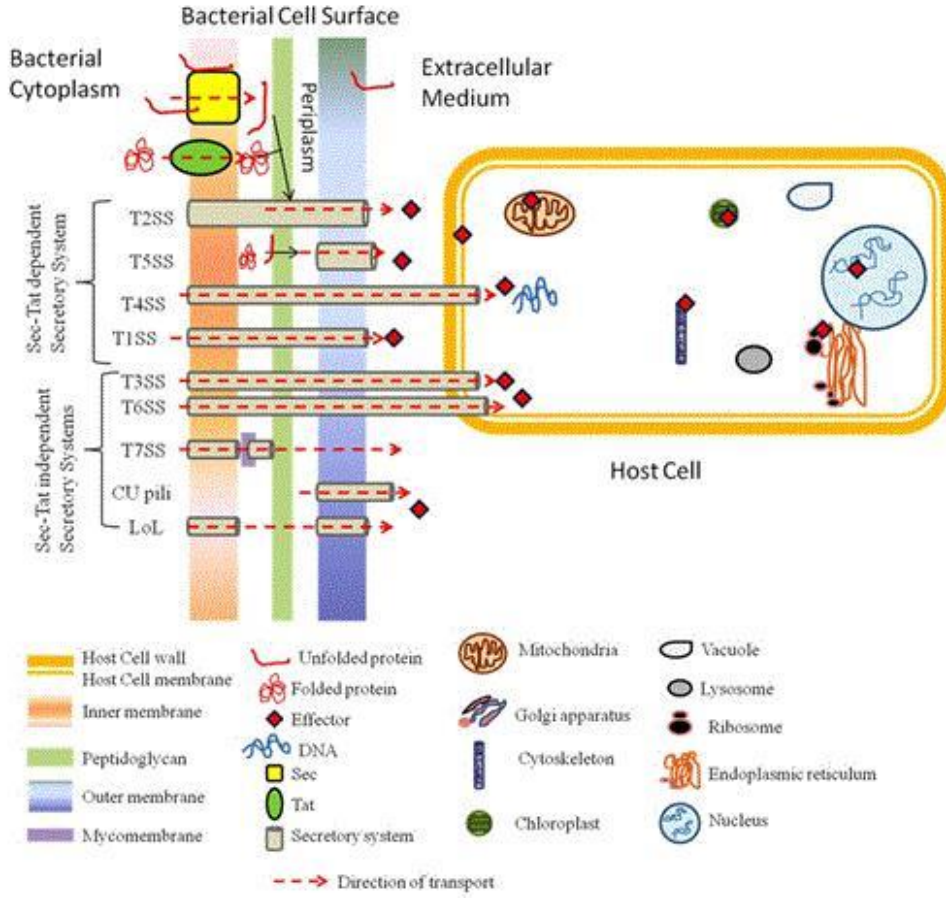
endopektat liyaz olup yıkıcı enzimlerin esas sınıfıdır, örn., *Dickeya dadantii* en az dokuz farklı pektat liyaz salgılamaktadır [47]. Hücre duvarını parçalayan enzimlerin bu kadar fazla oluşunun patojenin sağlamlığından kaynaklı olduğu rapor edilmiştir [44].

3.3.3 Tip III salgı sistemi (TIISS/T3SS sistemi)

TIISS (T3SS) salgı sistemi, patogenesis kapsamında en iyi çalışılmış bir sistemdir ve bu konuda birçok makale bulunmaktadır [48]. Bazı ekstrem örnekler dışında, bitki patojen Gr (-) bakteriler konukçularını TIISS ile infekte etmektedirler [49, 50, 51, 52]. Sistem sadece virülenslik faktörleri için değil aynı zamanda, bitki mutualist ve kommensalist mikroorganizmalarında bu sistemi kullanmaktadır [53, 54]. Sistemin en önemli özelliği bakteri Tip III efektörlerini (T3Es), direk olarak konukçu hücreye enjekte etmektedirler. TIISS'nin anatomik yapısı (şekli) ve konukçu hücre ile temas ederek proteini nakletme şekli nedeniyle, Tip III salgı sistemi, "injektizom" veya "moleküler iğne" olarak isimlendirilmektedir [55]. Karmaşık bir supra moleküler yapıya sahip olan Tip III salgı sistemi iç membran, periplazmik boşluk, dış membran, hücre-dışı alan ve konukçu hücrenin membranını geçerek (5 basamağı aşarak) tek adımda konukçu hedefe ulaşır. Ayrıca Tip III salgı sistemi olmadan fitopatogen bakteriler, bitkinin bazal savunmasını ve büyümesini, konukçuda hastalık oluşumu veya konukçu-olmayanlarda hipersensitif (aşırı duyarlılık) reaksiyon tepkisini yenilgiye uğratamaz [57]. Bilindiği gibi fitopatogen bakteriler patogenesisinde önemli rollere sahip olan virülenslik efektör proteinlerini, Tip III salgı sistemi ile konukçu bitkinin hücre sitoplazmasına ulaştırmaktadırlar. Fitopatogen bakterilerden yüzlerce Tip III efektör (T3E) protein tanısı yapılmıştır [58, 59]. Bilinen salgı sistemlerinin bazılarının genel özellikleri Tablo 1 ve şekil 4'de verilmiştir.

Tablo 1. Bakteriye protein sekresyon sistemlerinin genel özellikleri. Membran sayısı, Gr (+) ve/Gr (-) bakterilerin hücre dışına salgılanacak olan proteinin kaç membran tabakasından geçerek hücre dışına çıkışını ifade etmek için 1 ve/veya 2 ile gösterilmiş, eğer bakteri tek-aşamalı salgı mekanizması ile salgı maddesini direk konukçu hücrenin sitoplazmasına bırakırsa konukçu membranı da bu sayıya dahil edilerek 2-2 veya 2-3 vs ile ifade edilmiştir.

Salgı Tipi	Salgı Sinyali	Salgı Adım Sayısı	Katlanmış/Katlanmamış	Membran Sayısı	Gr(+)/Gr(-)
Sec	N-ucu	1	Katlanmamış	1	Her ikisi
Tat	N-ucu	1	Katlı	1	Her ikisi
TISS	C-ucu	1	Katlanmamış	2	Gram (-)
TIISS	N-ucu	2	Katlı	1	Gram (-)
TIISS	N-ucu	1-2	Katlanmamış	2-2	Gram (-)
TIVSS	C-ucu	1	Katlanmamış	2-3	Gram (-)
TVSS	N-ucu	2	Katlanmamış	1	Gram (-)
TVISS	Bilinmiyor	1	Bilinmiyor	2-3	Gram (-)
TVIISS	C-ucu	1	Katlı	1-3	Gram (+)
TIXSS	C-ucu	2	Katlanmamış	2	Gram (-)



Şekil 4. Bakterilere ait protein eksport ve salgı mekanizmaları [60]. Sec-yolu ile salgılamada konformasyon almamış proteinler periplazmik boşluğa salgılanır ve orada çaperonlarla interaksiyona girerek dış membrandan bırakılır, konformasyonu kazanmış olan proteinler ise kendiliğinden veya periplazmik çaperonlar yardımıyla özel mekanizmalar/sistemler ile salgılanırlar veya membranda bulunan küçük lipidler vasıtasıyla membrana bağlanırlar. Konformasyonu kazanmış proteinler Tat-yolunu kullanırlar. Diyagramın altındaki kısa açıklamalar bakteri ve konukçu hücrenin farklı kısımlarını göstermektedir.

3.3.4. Tip IV salgı sistemi (TIVSS/T4SS sistemi)

Evrimsel olarak bakteriyel DNA konjugasyon sistemi ile ilgili olan Tip IVSS (T4SS) [61], hücrelerarası tek protein molekülü, protein-protein ve DNA-protein kompleks moleküllerinin bir bakteriden diğer konukçu bakteriye veya ökaryotik hücrelerin sitoplazmasına nakil edilmesini sağlayan ve TIISS'ye benzerlik gösteren bir yapıya sahiptir [62, 63, 64]. Genellikle Gr (-) bakterilerde makromoleküller karmaşık yapılı olup, Gr (-) bakterilerin iç ve dış membrandan geçmesi gerekmektedir [17]. TIISS'ye benzer şekilde, TIVSS sistemi bazı ilave yapılara sahip olabilir, çünkü hem DNA ve hem de proteinleri transfer eden bu sistemin esas görevlerinden biri de konjuge DNA'nın nakli olduğundan materyalin direk konukçu hücre sitoplazmasına ulaştırılması gerekmektedir, yani verici hücrenin DNA'sının alıcı hücre/konukçu hücre DNA'sına integrasyonu söz konusudur. Bunun yanısıra efektör proteinlerin taşınması, DNA/protein gibi makromoleküler komplekslerinde taşınması söz konusudur. TIVSS mekanizması hala aktif bir araştırma alanı olup, TIVSS'ye sahip olan bütün organizmaların hepsinin TIVSS molekülleri ve fonksiyonları çok farklı olmasına rağmen, evrimsel olarak bazı bileşenlerinin ve bunların fonksiyonlarının ortak yönleri bulunmaktadır [65]. *A. tumefaciens* konjugasyon TIVSS 'nin sekans ve organizasyon benzerliklerine dayanarak, TIVSS sistemi ayrıca kendi içinde IVA ve IVB olmak üzere iki sınıfa ayrılır [61]. IVA sınıfına ait olan VirB/D4 sistemi bugüne kadar tanısı en iyi yapılmış olan ve TIVSS için bir prototip örnek olarak gösterilen modeldir. *Agrobacterium tumefaciens* bir bitki patojeni olup, TIVSS sistemini

kullanarak konukçu bitkilere onkogenik T-DNA'sını ve bir grup yardımcı proteinlerini transfer etmektedir. Bu bakterinin VirB/D4 TIVSS sistemi, bir grup Vir bölgesi genleri tarafından kodlanan 12 protein içermektedir [66, 67] ve proteinlerin çoğu membranla ilişkilidir, çok sayıda olan bu proteinler birbirleriyle interaksiyon halinde çalışan moleküllerdir. Azot fikse eden bitki mutualistik organizma *Mesorhizobium loti*'de, homolog TIVSS'e sahiptir [68].

Legionella pneumophila konukçusunu enfekte için gerekli olan virülenslik efektör proteinlerini, Dot/Icm sistemini kullanarak transfer etmektedir [69]. *L. pneumophila*'nın IVB sınıfına ait bir örnek olan Dot/Icm gen sistemi ile yaklaşık 300 bakteriyel protein, konukçu ökaryotik hücrelerin aktivitelerini sekteye uğratmak amacıyla konukçu hücrenin sitosolüne transfer edilmektedir [70]. İlgili genin ürünü olan 20 kadar protein kompleksi, bakterinin iç ve dış membranına yerleşerek TIVSS'nin nanomakine olarak çalışmasına yardımcı olmaktadır [71, 72]. Dot/Icm TIVSS'nin öz kompleks kısmı, en az 5 proteinden ibaret olup biyokimyasal olarak stabildir, iç membran ile dış membran transfer köprüsünü oluşturacak şekilde yapılanmıştır. Dış membranla ilgili 3 tane protein DotCDH ve iki tane de iç membran proteinleri DotFG'den meydana gelmiştir [73]. Bir motor protein çeşidi olan walker motif desenine sahip DotBLO, Three Walker deseni içerir ve translokasyon sistemine enerji sağlar [74, 75]. IcmQ proteini ise kendi çaperonu IcmR'nin yardımıyla konukçu hücrenin membranlarında translokasyon delikleri (por) meydana getirmektedir [76].

3.3.5. Tip V salgı sistemi (TVSS/T5SS sistemi)

İki ortak bileşeni (iki-partnerli) olan TVSS (T5SS) sistemi, ototransporter olarak isimlendirilir, aşağıda açıklandığı gibi kendi kendilerini salgılayan bileşenlerden oluşmaktadır [63]. Nispeten basit yapılı olan sistemin yapısı ve salgı mekanizma tiplerine göre değişen (T5a-T5e arasında) alt tiplere sahiptir [44]. Alt tipleri dikkate alınmaksızın, genel olarak TVSS sistemi karakteristik olarak sağ el ve β -helikal yapılı, büyük protein molekülleri salgılamaktadır [77]. Hücre dışına çıkarılacak olan protein, Gr (-) bakterilerin dış membranının içinde, ya bir proteinin bir parçasının ya da ayrı bir proteinin nakledileceği şekilde kanal benzeri bir yapı oluşturur [77,78]. TVSS sistemini kullanan proteinlerin primer yapıları ve sentez şekilleri ortak benzerliklere sahipken [63], fonksiyonel özellikleri değişkenlik gösterir, genellikle bakterilerin belli çevrelerde çoğalma yeteneğini, agregat oluşturma özelliğini, biyofilm oluşturma ve virülenslik özelliklerini etkileyen serin proteaz, lipaz, sitotoksin, invazin, adhezin gibi maddelerin salgılanması için kullanılan bir sistemdir [79]. İlaveten, "temasla bağlantılı büyüme inhibisyonu" (contact-dependent growth inhibition) olarak adlandırılan bir fenomende de rol oynayan TVSS sistemi ile bakteri kendi çıkardığı toksinlerle başka bir rakip bakterinin temasını sağlayarak onun gelişimini inhibe etmektedir [80]. Virülenslik fonksiyonlarına sahip olan bitki patojenlerinden TVSS ile salgı yapan bir rapor bulunmasa da, bazı aday organizmalar bildirilmiştir [81]. Bilinen örneklerden biri bakteriyel yüzeye ilgili adhesinler *Dickeya dadantii* (eski ismi ile *Erwinia chrysanthemi*)'de çalışılmış olup, T5bSS adhesinleri ile homoloji gösteren bir proteinin, konukçu hücre ölümünü teşvik eden ve bakterilerin yaprak yüzeyinde kümelenerek yapışması için gerekli olduğu gösterilmiştir [82]. Yine *Xanthomonas axonopodis* ve *Xylella fastidiosa* ile ilgili yapılan çalışmalarda T5bSS proteininin konukçuya yapışması ile ilgili görevi rapor edilmiştir [83, 84].

TVSS sistemi, salgılanacak olan proteinlerin miktarına bağlı olarak üç sınıfa ayrılır; bunlar ototransporter salgılama, iki-partner'li salgılama ve çaperon-yardımlı ile salgılamadır [77]. TVSS sisteminin proteinleri 4 fonksiyonel bölgeden (domain) ibaret olup, bunlar sinyal sekansları, geçiş kısmı, bağlayıcı bölge ve β -bölgesi'dir [60, 63]. Bu sistemi kullanan proteinler genellikle sentezlendikten sonra Sec-yolu ile periplazmik alana geçerler. Sinyal sekansları yardımıyla iç membrandan periplazmik alana geçen proteinlerden ilgili sinyal sekansları ayrılır ve β -bölgesi yardımıyla bu proteini silindirik şekilde dış membran içine yerleştirir. Dış membranda por şeklini alan protein, β -konformasyonel yapı kazanarak bakteri hücrenin dış yüzeyine nakil eder. Bu grupta yer alan proteinler kendi geçiş yollarını kendileri oluşturdukları için ototransporterler olarak

isimlendirilmektedir. TVSS sisteminin substratları genel olarak ototransporter mekanizmasını kullanmakla beraber, birkaç bakteri farklı mekanizmalar geliştirmişlerdir. İki partner'li salgılama sistemi ile salgılanacak olan protein bir çifttir ve partner proteinin biri tüp şeklinde β -yapı oluşturur, diğer partner ise salgı proteini olarak çalışır [63, 85]. Bu sistem Gr (-) bakterilerde gözlenir ve büyük virülenslik proteinlerinin transferini yapar, örneğin *Bordetella pertussis*'in filamentöz haemaglutinini [86] ve *Haemophilus influenzae*'nin büyük moleküler ağırlığa sahip adhesin molekülleri olan HWM1 ve HWM [87] iki partner'li salgılama sistemi ile taşınırlar. TVSS'nin üçüncü alt sınıfı olan çaperon-yardımcı ile salgılama sisteminde iki protein yardımcı ile salgı yapılmaktadır. Birinci protein yer gösterici (usher protein) proteindir ve dış membran içinde tüp şeklinde β -yapı oluşturur, ikinci protein ise periplazmik boşlukta yer alan çaperon (yardımcı protein) proteindir ve nakil olacak protein dış membran kanalından geçmeden önce çaperon yardımıyla katı konformasyon şeklini alır [88]. Usher-çaperon sistemi genellikle, üropatojen *E. coli*'nin P pilusu gibi, Gr (-) bakterilerin yüzeyinde bulunan pilin proteinlerinin birleştirilmesinde kullanılmaktadır [88].

3.3.6. Tip VI Salgı Sistemi (TVISS/T6SS Sistemi)

Diğer bakteriyel salgı sistemlerinden biri olan Tip VISS (T6SS) karmaşık, seçiciliği olmayan ve halen yapı-fonksiyon çalışmalarıyla ilgili araştırmaları süregelmektedir [89]. TVISS mekanizmasına sahip olan proteobakteriler etkilerini hücre-hücre kontak yoluyla, hem prokaryotik hem de ökaryotik hücrelerin ya sitoplazmasına ya da periplazmik boşluğuna direk olarak injekte etmektedirler. Genel olarak kommensal ve fitopatojen bakterilerde bulunan ve özellikle Gr (-) proteobakterilerin yaklaşık % 30'unun sahip olduğu bu sistem bakteri komunitelerinin sosyal dinamiğini etkilemekte [44], böylece TVISS ile bakteriler kendi aralarında rekabet ederek konukçularını kontrol edebilmektedirler [90]. TVISS sistemi, şırınga gibi elastik bir injeksiyona benzer görüntüsü nedeniyle bakteriyofajların hücreyi delen kuyruk kısmına benzetilmekte [91] ve bu sistemin tersine dönmüş faj kuyruğundan türemiş olabileceği hipotez edilmektedir [92]. Fitopatojen bakterilerde TVISS'nin molekülleri, patogenesisin ziyade büyüme inhibisyonunu kapsayan olaylara katılmaktadır [93, 94, 95]. Bugüne kadar en çok çalışılan TVISS [89, 96, 97, 98, 99, 100, 101] içinde üç alt tip bulunmaktadır [102]. Bu alt tiplerde bir düzineden fazla bileşenden meydana gelmiştir [98, 103] ve bunlar genetik olarak korunmuş 14 adet protein profiline sahiptirler [104]. TVISS'nin çekirdek yapısının, fonksiyon için gerekli olduğu varsayılan bu 14 proteinin 13'ü daha önce detaylı rapor edilmiştir [98]. Bunlardan üç proteinin ikisi T4bSS sisteminin bileşenlerine benzemekte olup hücre zarfında membran içinden geçecek şekilde köprü oluşturmakta, diğer proteinlerde bakteriyofajların kasılma özelliğine sahip olan kuyruk bölgesinin bileşenlerine benzemektedir [44].

Fitopatojen bakterilerde genelleme yapılabilecek bir TVISS niteliği ile ilgili sonuç olmamakla [105] beraber *Pectobacterium wasabiae* sp. SCC3193 ırkının bazı kısımlarının TVISS sistemi ile homolojiye sahip olduğu ancak patates yumru dilimleri üzerinde yapılan çalışmalarda TVISS'yi kodlayan gen lokus bölgelerinde bazı delesyonlu mutantlarda virülensliğin orta derecede etkilendiği bildirilmiştir [52]. *A. tumefaciens*'in patates yumrusunun disk parçaları üzerinde yapılan çalışmalarında, Hcp proteininin bir kısmına ait tek ve poligenik delesyonlu mutantların tümör oluşumunu etkilemediği ancak Hcp proteininin tek delesyonlu mutantının tümör oluşumunu etkilediği bildirilmiştir [106]. Knockout mutant ırklar bezelyede virülensliği etkilemediği için TVISS'nin patogenesisinde gerekli de olmadığı rapor edilmiştir [107]. Benzer şekilde *R. solanacearum* ırk 3 biovar 2'nin TVISS'yi kodlayan lokusunda görülen delesyonlu mutasyonun patates ve domates bitkilerinde virülensliği etkilemediği bildirilmiştir [108]. Farklı patosistemlerde benzer görevlere sahip olan TVISS sistemi, patogenesisinde gerekli değil gibi görülse de, virülenslik fonksiyonu için daha çok fazla çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır.

Ayrıca azot fikse eden bitki mutualistleri *Mesorhizobium loti* ve *Rhizobium leguminosarum* tarafından bitki kök kolonizasyonu için TVISS 'ye ihtiyaç duyulmakta olup ilginç olarak da, TVISS 'yi kodlayan

genler bazı simbiyont olmayan türlerde bulunmuş, fakat biofilm oluşumu ile bakterilerin çevreye uyumuna yardımcı olmuştur [8].

3.3.7. Tip VII Salgı Sistemi (TVIİSS/T7SS Sistemi)

Gr (+) bakterilerde bulunan TVIİSS (T7SS) sistemi, sitoplazma membranını dıştan çevreleyen ve mikolik asit içeren dış membrana sahip olan *Mycobacteriaceae*, *Corynebacteriaceae* ve *Nocardiaceae*, üyelerinde rapor edilmiştir [4]. Nadir olarak karşılaşılan yağ asitlerine sahip olan mikolik asit, 30-100 arası karbon içeren lipitlerden oluşmaktadır [109]. Oldukça yoğun bir tabaka olan mikolik asit hidrofobiktir, sert ve şiddetli koşullara karşı (örn., kuraklığa, antimikrobiyel enzimler/kimyasallara, mekanik strese karşı) organizmayı koruyucu gibi görev yapmakta ve özellikle *Corynebacteriales* takımının dayanıklı olmasını sağlamakla beraber bu gruptaki bakterilerin ekstraselüler proteinlerinin transferini de zorlaştırmaktadır [6]. Salgı proteinlerinin, bu kalın koruyucu hücre zarından geçerek hücre dışına çıkış rotası için TVIİSS sistemi veya ESX (bazen ESAT olarak kullanılır; **E**arly **S**ecreted **A**ntigenic **T**arget **P**rotein) yolu gelişmiştir. TVIİSS'ni kullanan moleküller, bakteriyel fizyoloji ve patogenesisinde rol oynamaktadır. TVIİSS'nin 5 adet alt tipi bulunmaktadır, bunlar ESX-1 – ESX-5 arasında olup, her bir alt tipi ortak olarak temsil eden ortak bileşeni sınırlıdır, tipik olarak bağlantılı gen bölgesindeki organizasyonları da değişebilir [6], yani alt tipler genetik olarak birbirlerinin tamamlayıcısı değildir [44]. TVIİSS sistemi başlıca iki grup molekülü taşımaktadır; WXG100 ailesinin üyeleri olan küçük proteinler [110] ve PE/PEPPE ailesinin üyeleri olan büyük proteinlerdir [111]. Mikobakteri türlerinde ESX-2 ve ESX-4 sistemlerinin görevleri henüz bilinmemekle beraber, ESX-1 ve ESX-5 alt tipleri virülenslik için gerekli olup [112, 113, 114, 115, 116, 117, 118], *M. tuberculosis*'in yaşaması için elzem olan ESX-3 sistemi ise aynı zamanda Fe/Zn homeostasisini sağlamak için zorunludur [98].

TVIİSS'ye benzer sistem fitopatojen *Streptomyces scabies*'de tanımlanmıştır [119]. Ancak *S. scabies*'in TVIİSS'i, bakteriler aleminin Firmicutes şubesinde TVIİSS sistemine benzer olup, sistemin görevini yapması için gereken bileşenlerin bir çoğu bulunmamaktadır [110]. *S. scabies*, TVIİSS sistemin ana yapısal bileşenlerinden sadece ikisine sahiptir, bu bileşenler de iç membranda kanal oluşturan proteindir. Firmicutes'te olduğu gibi, WXG100 proteinlerinin homologlarını kodlayan genler de mevcuttur, bu genler TVIİSS kodlayan homologlara yakın benzerlik göstermektedir. Fakat bugüne kadar *S. scabies*'in protein salgısı ile ilgili herhangi bir kanıt rapor edilmemiştir yine ilgili genlerin delesyonu ya da TVIİSS homologlarını kodlayan genlerin virülensliği ile de ilgili herhangi bir delil bulunmamaktadır. Yine de alternatif olarak, delesyonlu mutantlarda sporulasyonda gecikme ve anormal spor üretimi rapor edilmiştir [119]. Chang vd [44], fitopatojen *Rhodococcus fascians*'da TVIİSS kodlayan lokus tanısı yapmışlardır. Bu lokus bölgesi ESX-4'e çok büyük benzerlik gösteren iki adet TVIİSS sisteminin salgı proteinini de kodlamaktadır. ESX-4 alt tipi *M. tuberculosis*'te virülenslik için gerekli olmadığından dolayı da, patojenik *Rhodococcus* cinsi bakterilerin diğer üyeleri için de bitkileri infekte etmek amacıyla gerekli olduğu düşünülmemektedir [118].

3.3.8. Tip VIII Salgı Sistemi (TVIİSS/T8SS Sistemi)

TVIİSS (T8SS) sistemi bakteriyel patogenezis sistemi ile direk ilgili olmayıp tip I pili ve curli proteinlerinin hücre dışına ihraç edilmesinden sorumlu bir sistemdir [1]. ENP yolu olarak da isimlendirilen sistem (ENP; Extracellular Nucleation-Precipitation) farklı bir salgı mekanizmasına sahiptir. Kısaca ENP veya TVIİSS mekanizması, birçok Gr (-) *Enterobacteriaceae* bakteri türlerinde bulunan ve fimbriae biyosentezi için prepilinlerin salgılanması ve kompleks oluşturmasından sorumlu olan prototipik bir curli'dir. Curli ise, birçok Gr (-) *Enterobacteriaceae* türleri tarafından üretilen proteinsi madde olup ekstraselüler bir matriks bileşenidir, patojenik bakterilerin çoğunun hücre yüzeyi üzerinde bulunan yapıştırıcı fiberler olan curli, bakterinin ökaryotik konukçuya yapışması, kümeleşmesi ve biofilm oluşumu ile ilgili interaksiyonlar için üretilir [120, 121]. Sec-sistemi ile periplazmik boşluğa verilen bu sistemin proteinleri daha sonra dış membran üzerinde yerleşik olan

ENP sisteminin bileşenleri yardımıyla tamamen hücre dışına çıkmaktadır, ancak işlev mekanizması ile ilgili bilgi son derece sınırlıdır. Diğer salgı sistemlerinden farklı olan TVIISS'nin fitopatogen bakterilerle bağlantılı herhangi bir çalışmaya henüz rastlanmamıştır.

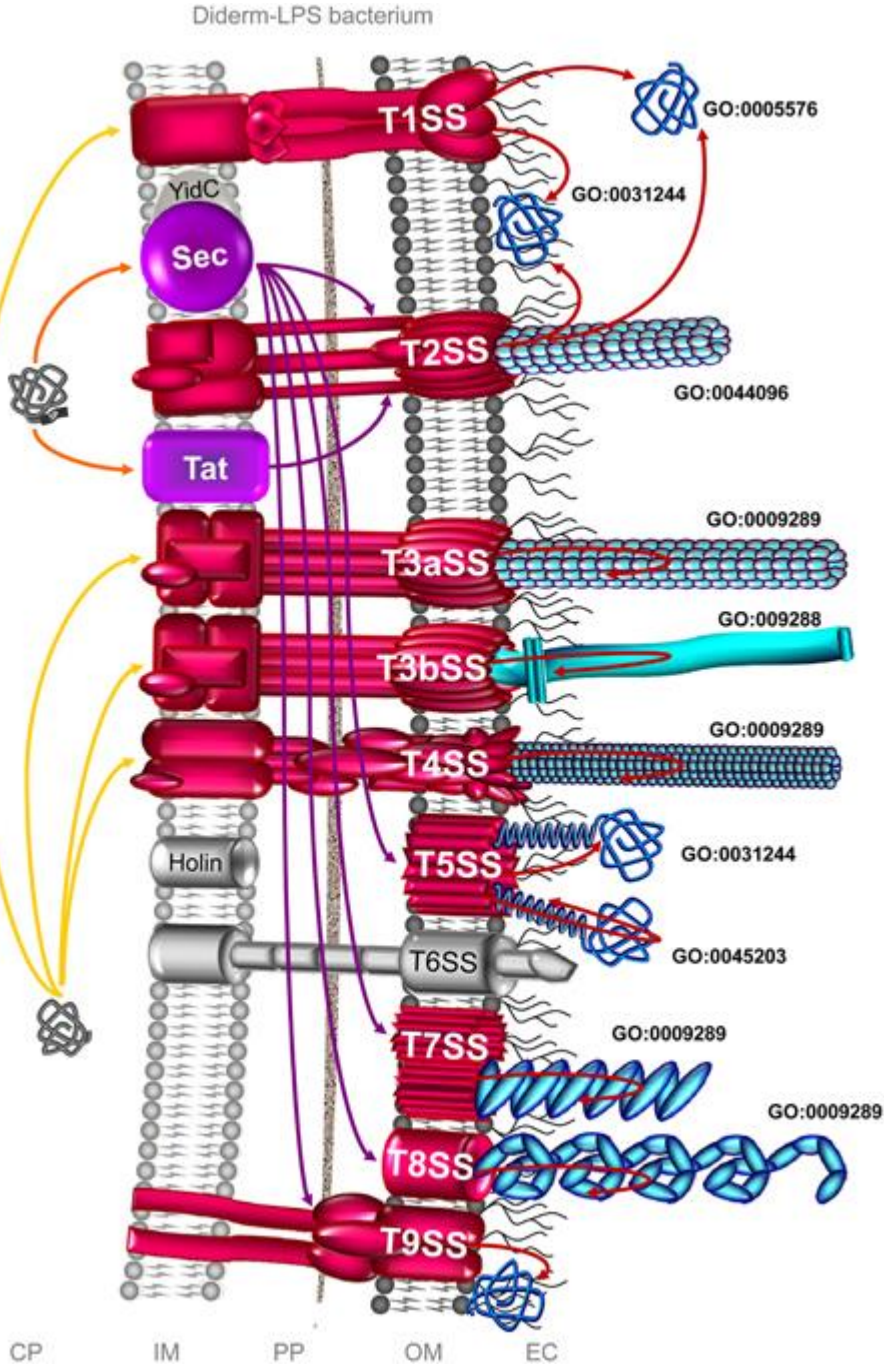
3.3.9. Tip IX Salgı Sistemi (TIXSS/T9SS Sistemi)

TIXSS (T9SS) sistemi sadece *Bacteroidetes* şubesinde yer alan bakteri türlerinin % 62'sinde bulunan bir sistemdir [104, 122, 123]. Daha önceki sistemlere benzemeyen veya TIXSS'nin bileşenlerine sahip olmayan diğer bakterilerin hiç biriyle homoloji göstermediği için yeni bir salgı sistemi olarak tanımlanmıştır [124, 125]. TIXSS sistemi, 1000'in üzerinde *Bacteroides* tür veya ırklarında sekans analizi yapılan *Fibrobacteres-Chlorobi-Bacteroidetes* şubelerinde bulunmuştur [126]. TIXSS sistemi daha önceden PorSS ismiyle kullanılıyordu [122], 2013 tarihinden itibaren TIXSS olarak kullanılmaya başlanmıştır [123, 127]. Sistemin hem yapısal özelliğine katılan hem de düzenlenmesinden sorumlu çok sayıda genler ve proteinler görev almaktadır. TIXSS iki aşamalı sekresyon mekanizmasına sahiptir [128] ve sistemin substratları hücre yüzey alanına transfer edilmeden önce ilk olarak Sec-sistem taşıyıcılarıyla iç membrandan geçerek periplazmik boşluğa bırakılır [129].

Bakterilerin yaşam şekline bağlı olarak TIXSS iki önemli rol üstlenmiş olup, ya apatojen çevresel bakterilerin hareket etmesini sağlar ya da patojenler için bir silah görevi görür [125]. TIXSS'nin apatojenler için fonksiyonu mikroorganizmaların kendi habitatlarında virulenslik, beslenme ve kamçısız hareket etme (gliding motility; flagella veya kamçı yardımı olmaksızın kayarak hareket etme) vs için gerekli olan proteinleri taşıyarak sağlıklı olmalarını ve yaşamasını sağlamaktadır [125]. Bu nedenle bir tek bakteri türünde bile çok fazla çeşitte salgı proteinleri mevcut olup, içerdikleri adhezinler ve hidrolitik enzimler sayesinde bir yüzeye yapışarak proteinler, selüloz ve kitin gibi büyük organik molekülleri parçalarlar [130, 131].

Toprak ve tatlı su bakterilerinden olan *Flavobacterium* cinslerinin sahip olduğu Por salgı sisteminin (PorSS veya TIXSS) potansiyel rolü ile ilgili bitkinin rizosfer tabakasında bitki-mikrop interaksyonunun bitki sağlığına etkisi ile ilgili çok sınırlı çalışmaları mevcuttur [132]. Biyokontrol amaçlı kullanılan *Flavobacterium* izolatlarının, toprak kökenli ve tarımsal önemi olan fungal patojenlerden *Sclerotium rolfsii*, *Lasioidiplodia theobromae*, *Colletotrichum musae*, *Phytophthora cactorum* ve *Phytophthora capsici* üzerinde antagonistik etkisi rapor edilmiştir [133, 134, 135, 136]. *Flavobacterium johnsoniae*'ın kitini parçalaması ve kayarak hareket etme özelliği nedeniyle rizosfer de bitkilere araz olan fungal patojenlerin hücre duvar yıkımına etkisi nedeniyle önemli bir model çalışma olarak bildirilmiştir [3].

Chagnot vd [137] 'e göre insanlara araz olan bakterilerdeki TISS – TIXSS arasındaki bütün salgı sistemleri şekil 5'de şematize olarak verilmiştir.



Şekil 5. Gr (-) (diderm) bakterilerde lipopolisakkarit dış membrandan salgı proteinlerinin transferinin 9 farklı salgı sistemindeki özet şeması [137]. İnsanlara az olan bakteriler için, TVISS hariç, diğer TISS, TIISS, TIVSS, TVSS, TVIISS, TVIISS ve TIXSS'nin kolonize etme şekli kırmızı renkli verilmiştir. Sec- ve Tat-yolu mor renkli gösterilmiştir.

Diderm; derm dermisten türetilmiş ve di-derm ise iki tabakalı anlamında (Gram (-) bakteriler için iki bilayer lipid tabakası) kullanılmıştır

4. SONUÇ

Son 17 yıldır yapılan çalışmalar gösteriyor ki fitopatogen bakterilerin sahip olduğu bu karmaşık yapıdaki salgı sistemlerinin oluşumundan çeşitli genlerin sorumlu olduğu anlaşılmaktadır. Bu genler sayesinde salgılanan efektör proteinler de hastalık oluşumunda önemli bir rol almaktadırlar. Ateş

yanıklığı olarak bilinen hastalık etmeni *Erwinia amylovora*, TIISS sistemini kullanarak virülenslik faktörlerini konukçu bitkisini enfekte etmek amacıyla kullanılmaktadır. Khokhani vd [138], küçük molekülü fenolik maddelerin *E. amylovora*'nın TIISS'e etkisini çalışmışlar ve bu amaçla TIISS inhibitörleri olarak 4-methoxy-cinnamic acid (TMCA) ve benzoic acid (BA), TIISS indükleyici olarak *trans*-2-(4-hydroxyphenyl)-ethenylsulfonate (EHPES) denemeye almışlardır. Sonuç olarak da TMCA ve BA'nın TIISS'nin inhibisyonuna neden olduğunu ortaya koymuşlardır. Böylece fenolik maddeler ve diğer birçok kimyasallar bakteriyel hastalıkların kontrolünde alternatif bir strateji sağlayabilirler. Bakteriyel salgı sistemlerinin çeşitli kimyasallarla inhibisyonu, rizosfer antagonizmi, kommensiyal florayı ve bitki ile insan sağlığını koruyan ancak bakteriyel virülensliği ya da hastalığı indirgeyen veya tamamen yok etmeye yönelik çalışmalar alternatif hastalık kontrolünde yeni bir anlayış olabilir.

KAYNAKLAR

- [1] Desvaux M, H'ebraud M, Talon R, Henderson IR. Secretion and subcellular localizations of bacterial proteins: a semantic awareness issue. Trends Microbiol 2009; 17/4: 139-145.
- [2] Aksoy H, Kara Ç. Bitki Patojeni Bakterilerde Salgı Sistemi. Anadolu Tarım Bilim Derg 2011; 27: 48-54.
- [3] Braun TF, McBride MJ. *Flavobacterium johnsoniae* GldJ is a lipoprotein that is required for gliding motility. J Bacteriol 2005; 187:2628–2637.
- [4] Bitter W, Houben ENG, Luirink J, Appelmeik BJ. Type VII secretion in mycobacteria: classification in line with cell envelope structure. Trends Microbiol 2009; 17/8:337–38.
- [5] Brown L, Wolf JM, Prados-Rosales R, Casadevall A. Through the wall: extracellular vesicles in Gram-positive bacteria, mycobacteria and fungi. Nat Rev Microbiol 2015; 13/10:620-630. DOI: 10.1038/nrmicro3480.
- [6] Houben NG, Korotkov KV, Bitter W. Take five — Type VII secretion systems of *Mycobacteria*. Biochim Biophys Acta 2014; 1843: 1707–1716. <http://dx.doi.org/10.1016/j.bbamcr.2013.11.003>.
- [7] Das C, Ghosh TS, Mande SS. Computational analysis of the ESX-1 region of *Mycobacterium tuberculosis*: insights into the mechanism of type VII secretion system. PLoS ONE 2011; 6/11:e27980.
- [8] Tseng TT, Tyler BM, Setubal JC. Protein secretion systems in bacterial-host associations, and their description in the Gene Ontology. BMC Microbiol 2009; 9 Suppl 1: S2. doi: 10.1186/1471-2180-9-S1-S2.
- [9] Natale P, Bruser T, Driessen AJ. Sec- and Tat-mediated protein secretion across the bacterial cytoplasmic membrane--distinct translocases and mechanisms. Biochim Biophys Acta 2008; 1778/9: 1735–1756.
- [10] Wickner W, Driessen AJM, Hartl FU. The enzymology of protein translocation across the *Escherichia coli* plasma membrane. Ann Rev Biochem 1991; 60: 101-124.
- [11] Driessen AJM, Manting EH, Van der Does. The structural basis of protein targeting and translocation in bacteria. Nat Struct Biol 2001; 8: 492-498.
- [12] Osnorne AR, Rapoport B, Van den Berg. Protein translocation by the Sec61/SecY channel. Annu Rev Cell Dev Biol 2005; 21: 529-550.

- [13] Berks BC, Palmer T, Sargent F. Protein targeting by the bacterial twin-arginine translocation (Tat) pathway. *Curr Opin Microbiol* 2005; 8:174-181 DOI 10.1016/j.mib.2005.02.010.
- [14] Park E, Rapoport TA. Mechanisms of Sec61/SecY-mediated protein translocation across membranes. *Annu Rev Biophys* 2012; 41:21-40.
- [15] Palmer T, Berks BC. The twin-arginine translocation (Tat) protein export pathway. *Nat Rev Microbiol* 2012; 10/7: 483-96.
- [16] Broedel SE, Papciak SM. ACES™ Signal Sequence and YebF Expression Systems Technical Brief. Athena Environmental Sciences, Inc, Baltimore, MD: 2007.
- [17] Green ER, Meccas J. Bacterial Secretion Systems – An overview. *Microbiol spectr* 2016; 4/1:10.1128/microbiolspec.VMBF-0012-2015.
- [18] Papanikou E, Karamanou S, Economou A. Bacterial protein secretion through the translocase nanomachine. *Nat Rev Microbiol* 2007; 5/11: 839-851. DOI:10.1038/nrmicro1771.
- [19] Hartl FU, Lecker S, Schiebel E, Hendrick JP, Wickner W. The binding cascade of SecB to SecA to SecY/E mediates preprotein targeting to the *E. coli* plasma membrane. *Cell* 1990; 63/2: 269-79.
- [20] Randall LL, Hardy SJ. SecB, one small chaperone in the complex milieu of the cell. *Cell Mol Life Sci* 2002; 59/10: 1617-1623.
- [21] Mogensen JE, Otzen DE. Interactions between folding factors and bacterial outer membrane proteins. *Mol Microbiol* 2005; 57/2: 326-346.
- [22] Lycklama A, Nijeholt JA, Driessen AJM. The bacterial Sec-translocase: structure and mechanism. *Philos Trans R Soc Lond B* 2012; 367/1592: 1016-28.
- [23] Robinson C, Bolhuis A. Tat-dependent protein targeting in prokaryotes and chloroplasts. *Biochim Biophys Acta* 2004; 1694(1-3): 135-47.
- [24] Sargent F, Stanley NR, Berks BC, Palmer T. Sec-independent protein translocation in *Escherichia coli*. A distinct and pivotal role for the TatB protein. *J Biol Chem* 1999; 274/51: 36073-36082.
- [25] Pop O, Martin U, Abel C, Müller JP. The twin-arginine signal peptide of PhoD and the TatAd/Cd proteins of *Bacillus subtilis* form an autonomous Tat translocation system. *J Biol Chem* 2002; 277/5: 3268-3273.
- [26] Ochsner UA, Snyder A, Vasil AI, Vasil ML. Effects of the twin-arginine translocase on secretion of virulence factors, stress response, and pathogenesis. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2002; 99/12: 8312-8317.
- [27] Pradel N, Ye C, Livrelli V, Xu J, Joly B, Wu LF. Contribution of the twin arginine translocation system to the virulence of enterohemorrhagic *Escherichia coli* O157:H7. *Infect Immun* 2003; 71/9: 4908-4916.
- [28] Lavander M, Ericsson SK, Bröms JE, Forsberg A. The twin arginine translocation system is essential for virulence of *Yersinia pseudotuberculosis*. *Infect Immun* 2006; 74/3: 1768-76.

- [29] Thomas S, Holland IB, Schmitt L. The Type 1 secretion pathway - the hemolysin system and beyond. *Biochim Biophys Acta* 2014; 1843/8: 1629-1641.
- [30] Rees DC, Johnson E, Lewinson O. ABC transporters: the power to change. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2009; 10/3: 218–227.
- [31] Jenewein S, Barry Holland I, Schmitt L. Type I Bacterial Secretion Systems. In: *Bacterial Secreted Proteins: Secretory Mechanisms and Role in Pathogenesis*. 2009; 45-65: Edited by Wooldridge K. Hethersett, Norwich, UK.: Caister Academic Press.
- [32] da Silva FG, Shen YW, Dardick C, Burdman S, Yadav RC, de Leon AL, Ronald PC. Bacterial genes involved in type I secretion and sulfation are required to elicit the rice Xa21-mediated innate immune response. *Mol Plant Microbe Interact* 2004; 17/6:593-601.
- [33] Delepelaire P. Type I secretion in gram-negative bacteria. *Biochim Biophys Acta* 2004; 1694(1–3):149-161.
- [34] Reddy JD, Reddy SL, Hopkins DL, Gabriel DW. TolC is required for pathogenicity of *Xylella fastidiosa* in *Vitis vinifera* grapevines. *Mol Plant Microbe Interact* 2007; 20/4: 403-410.
- [35] Russo DM, Williams A, Edwards A, Posadas DM, Finnie C, Dankert M, Downie JA, Zorreguieta A. Proteins exported via the PrsDPrsE type I secretion system and the acidic exopolysaccharide are involved in biofilm formation by *Rhizobium leguminosarum*. *J Bacteriol* 2006, 188/12: 4474-4486.
- [36] Beeckman DS, Vanrompay DC. Bacterial Secretion Systems with an Emphasis on the Chlamydial Type III Secretion System. *Mol Biol* 2010; 12: 17-42 doi.org/10.21775/cimb.012.017.
- [37] Korotkov KV, Sandkvist M, Hol WG. The type II secretion system: biogenesis, molecular architecture and mechanism. *Nat Rev Microbiol*. 2012; 10/5: 336-51.
- [38] Kang Y, Huang J, Mao G, He LY, Schell MA. Dramatically reduced virulence of mutants of *Pseudomonas solanacearum* defective in export of extracellular proteins across the outer membrane. *Mol Plant-Microbe Interact* 1994; 7/3: 370–77.
- [39] Ray SK, Rajeshwari R, Sonti RV. Mutants of *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* deficient in general secretory pathway are virulence deficient and unable to secrete xylanase. *Mol Plant-Microbe Interact* 2000; 13/4: 394–401.
- [40] Toth IK, Bell KS, Holeva MC, Birch PRJ. Soft rot erwiniae: from genes to genomes. *Mol Plant Pathol* 2003; 4/1: 17–30.
- [41] Filloux A. The underlying mechanisms of type II protein secretion. *Biochim Biophys Acta* 2004; 1694(1–3):163-179.
- [42] Cianciotto NP. Type II secretion: a protein secretion system for all seasons. *Trends Microbiol* 2005; 13/12:581-588.
- [43] Szczesny R, Jordan M, Schramm C, Schulz S, Coge V, et al. Functional characterization of the Xcs and Xps type II secretion systems from the plant pathogenic bacterium *Xanthomonas campestris* pv *vesicatoria*. *New Phytol* 2010; 187/4: 983–1002.

- [44] Chang JH, Desveaux D, Creason AL. ABCs and 123s Bacterial Secretion Systems of Plant Pathogenesis. *Annu Rev Phytopathol* 2014; 52:317–45. DOI:10.1146/annurev-phyto-011014-015624.
- [45] Kazemi-Pour N, Condemine G, Hugouvieux-Cotte-Pattat N. The secretome of the plant pathogenic bacterium *Erwinia chrysanthemi*. *Proteomics* 2004; 4/10: 3177–86.
- [46] Charkowski A, Blanco C, Condemine G, Expert D, Franza T, et al. The role of secretion systems and small molecules in soft-rot *Enterobacteriaceae* pathogenicity. *Annu Rev Phytopathol* 2012; 50:425–49.
- [47] Hassan S, Shevchik VE, Robert X, Hugouvieux-Cotte-Pattat N. PelN is a new pectate lyase of *Dickeya dadantii* with unusual characteristics. *J Bacteriol* 2013; 195/10: 2197–206.
- [48] Büttner D. Protein export according to schedule: architecture, assembly, and regulation of type III secretion systems from plant- and animal-pathogenic bacteria. *Microbiol Mol Biol Rev* 2012; 76/2:262–310.
- [49] Simpson AJ, Reinach FC, Arruda P, Abreu FA, Acencio M, et al. The genome sequence of the plant pathogen *Xylella fastidiosa*. The *Xylella fastidiosa* Consortium of the Organization for Nucleotide Sequencing and Analysis. *Nature* 2000; 406/6792: 151–159.
- [50] Goodner B, Hinkle G, Gattung S, Miller N, Blanchard M, et al. Genome sequence of the plant pathogen and biotechnology agent *Agrobacterium tumefaciens* C58. *Science* 2001; 294/5550:2323–28.
- [51] Wood DW, Setubal JC, Kaul R, Monks DE, Kitajima JP, et al. The genome of the natural genetic engineer *Agrobacterium tumefaciens* C58. *Science* 2001; 294/5550: 2317–2323.
- [52] Nykyri J, Niemi O, Koskinen P, Nokso-Koivisto J, Pasanen M, et al. Revised phylogeny and novel horizontally acquired virulence determinants of the model soft rot phytopathogen *Pectobacterium wasabiae* SCC3193. *PLoS Pathog* 2012; 8/11:e1003013.
- [53] Loper JE, Hassan KA, Mavrodi DV, Davis EW, Lim CK, et al. Comparative genomics of plant-associated *Pseudomonas* spp.: insights into diversity and inheritance of traits involved in multitrophic interactions. *PLoS Genet* 2012; 8/7:e1002784.
- [54] Kimbrel JA, Thomas WJ, Jiang Y, Creason AL, Thireault CA, et al. Mutualistic co-evolution of type III effector genes in *Sinorhizobium fredii* and *Bradyrhizobium japonicum*. *PLoS Pathog* 2013; 9/2:e1003204.
- [55] Cornelis GR. The type III secretion injectisome. *Nat Rev Microbiol* 2006; 4:811-825. Doi:10.1038/nrmicro1526.
- [56] Gerlach RG, Hensel M. Protein secretion systems and adhesins: The molecular armory of Gram-negative pathogens. *Int J Med Microbiol* 2007; 297:401–415.
- [57] Alfano JR, Collmer A. Type III secretion system effector proteins: double agents in bacterial disease and plant defense. *Annu Rev Phytopathol* 2004; 42:385-414. DOI: 10.1146/annurev.phyto.42.040103.110731.
- [58] Zhao Y, Qi M. Comparative genomics of *Erwinia amylovora* and related *Erwinia* species: What do we learn? *Genes* 2011; 2/3: 627–639.

- [59] Genin S, Denny TP. Pathogenomics of the *Ralstonia solanacearum* species complex. *Annu Rev Phytopathol* 2012; 50:67–89.
- [60] Bhowmick S, Tripathy SA. Tale of Effectors; Their Secretory Mechanisms and Computational Discovery in Pathogenic, Non-Pathogenic and Commensal Microbes. *Mol Biol* 2014; 3/118: 1-14 doi:10.4172/2168-9547.1000118.
- [61] Backert S, Meyer TF. Type IV secretion systems and their effectors in bacterial pathogenesis. *Curr Opin Microbiol* 2006; 9/2: 207–217.
- [62] Cascales E, Christie PJ. The versatile bacterial type IV secretion systems. *Nat Rev Microbiol* 2003; 1/2:137-49.
- [63] Henderson IR, Navarro-Garcia F, Desvaux M, Fernandez RC, Ala'Aldeen D. Type V protein secretion pathway: the autotransporter story. *Microbiol Mol Biol Rev* 2004; 68/4: 692-744. DOI:10.1128/MMBR.68.4.692-744.2004.
- [64] Christie PJ, Atmakuri K, Krishnamoorthy V, Jakubowski S, Cascales E. Biogenesis, architecture, and function of bacterial type IV secretion systems. *Annu Rev Microbiol* 2005; 59/1: 451–485.
- [65] Lessl M, Lanka E. Common mechanisms in bacterial conjugation and Ti-mediated T-DNA transfer to plant cells. *Cell* 1994; 6: 77/3: 321-324.
- [66] Christie P J, Cascales E. Structural and dynamic properties of bacterial type IV secretion systems. *Mol Membr Biol* 2005; 22(1–2): 51–61.
- [67] Fronzes R, Christie PJ, Waksman G. The structural biology of type IV secretion systems. *Nat Rev Microbiol* 2009; 7/10:703-14.
- [68] Hubber AM, Sullivan JT, Ronson CW. Symbiosis-induced cascade regulation of the *Mesorhizobium loti* R7A VirB/D4 type IV secretion system. *Mol Plant Microbe Interact* 2007; 20/3: 255-261. Doi:10.1094/MPMI-20-3-0255.
- [69] Xu L, Luo Z Q. Cell biology of infection by *Legionella pneumophila*. *Microbes Infect* 2013; 15/2: 157–167.
- [70] Hubber A, Roy CR. Modulation of host cell function by *Legionella pneumophila* type IV effectors. *Annu Rev Cell Dev Biol* 2010; 26: 261-283.
- [71] Nagai H, Kubori T. Type IVB secretion systems of legionella and other Gram-negative bacteria. *Front Microbiol* 2011; 2: 136.
- [72] Kubori T, Nagai H. The Type IVB secretion system: an enigmatic chimera. *Curr Opin Microbiol* 2016; 29: 22-29.
- [73] Vincent CD, Friedman, JR, Jeong KC, Buford EC, Miller JL, Vogel JP. Identification of the core transmembrane complex of the Legionella Dot/Icm type IV secretion system. *Mol Microbiol* 2006; 62/5: 1278-1291.

- [74] Sexton JA, Pinkner JS, Roth R, Heuser JE, Hultgren SJ, Vogel JP. The *Legionella pneumophila* PilT homologue DotB exhibits ATPase activity that is critical for intracellular growth. *J Bacteriol* 2004; 186/6: 1658–1666.
- [75] Buscher BA, Conover GM, Miller JL, Vogel SA, Meyers S N, Isberg RR, Vogel JP. The DotL protein, a member of the TraGcoupling protein family, is essential for viability of *Legionella pneumophila* strain Lp02. *J Bacteriol* 2005; 187/9: 2927–2938.
- [76] Duménil G, Isberg RR. The *Legionella pneumophila* IcmR protein exhibits chaperone activity for IcmQ by preventing its participation in high-molecular-weight complexes. *Mol Microbiol* 2001; 40/5: 1113–1127.
- [77] Leyton DL, Rossiter AE, Henderson IR. From self sufficiency to dependence: mechanisms and factors important for autotransporter biogenesis. *Nat Rev Microbiol* 2012; 10/3: 213–225.
- [78] Pohlner J, Halter R, Beyreuther K, Meyer TF. Gene structure and extracellular secretion of *Neisseria gonorrhoeae* IgA protease. *Nature* 1987; 325/6103: 458-62.
- [79] Grijpstra J, Arenas J, Rutten L, Tommassen J. Autotransporter secretion: varying on a theme. *Res Microbiol* 2013; 164/6:562–82.
- [80] Ruhe ZC, Low DA, Hayes CS. Bacterial contact-dependent growth inhibition. *Trends Microbiol* 2013; 21/5: 230–237.
- [81] Preston GM, Studholme DJ, Caldelari I. Profiling the secretomes of plant pathogenic Proteobacteria. *FEMS Microbiol Rev* 2005; 29/2: 331–360.
- [82] Rojas CM, Ham JH, Deng W-L, Doyle JJ, Collmer A. HecA, a member of a class of adhesins produced by diverse pathogenic bacteria, contributes to the attachment, aggregation, epidermal cell killing, and virulence phenotypes of *Erwinia chrysanthemi* EC16 on *Nicotiana clevelandii* seedlings. *Proc Natl Acad Sci USA* 2002; 99/20: 13142–13147.
- [83] Gottig N, Garavaglia BS, Garofalo CG, Orellano EG, Ottado J. A filamentous hemagglutinin-like protein of *Xanthomonas axonopodis* pv. *citri*, the phytopathogen responsible for citrus canker, is involved in bacterial virulence. *PLoS ONE* 2009; 4/2:e4358.
- [84] Voegel TM, Warren JG, Matsumoto A, Igo MM, Kirkpatrick BC. Localization and characterization of *Xylella fastidiosa* haemagglutinin adhesins. *Microbiology* 2010; 156: 2172–2179.
- [85] Hodak H, Clantin B, Willery E, Villeret V, Loch C, Jacob-Dubuisson F. Secretion signal of the filamentous haemagglutinin, a model two-partner secretion substrate. *Mol Microbiol* 2006; 61/2: 368–82.
- [86] Lambert-Buisine C, Willery E, Loch C, Jacob-Dubuisson F. N-terminal characterization of the *Bordetella pertussis* filamentous haemagglutinin. *Mol Microbiol* 1998; 28/6: 1283-93.
- [87] McCann JR, St Geme JW 3rd. The HMW1C-like glycosyltransferases--an enzyme family with a sweet tooth for simple sugars. *PLoS Pathog* 2014; 10/4:e1003977.
- [88] Waksman G, Hultgren SJ. Structural biology of the chaperone-usher pathway of pilus biogenesis. *Nat Rev Microbiol* 2009; 7/11: 765-774.

- [89] Mougous JD, Cuff ME, Raunser S, Shen A, Zhou M, Gifford CA, Goodman AL, Joachimiak G, Ordoñez CL, Lory S, Walz T, Joachimiak A, Mekalanos JJ. A virulence locus of *Pseudomonas aeruginosa* encodes a protein secretion apparatus. *Science* 2006; 312/5779: 1526-30.
- [90] Bernal P, Llamas MA, Filloux A. Type VI secretion systems in plant-associated bacteria. *Environ Microbiol* 2018; 20/1:1-15. doi: 10.1111/1462-2920.13956.
- [91] Kapitein N, Mogk A. Deadly syringes: type VI secretion system activities in pathogenicity and interbacterial competition. *Curr Opin Microbiol* 2013; 16: 52-58.
- [92] Pukatzki S, Ma AT, Revel AT, Sturtevant D, Mekalanos JJ. Type VI secretion system translocates a phage tail spike-like protein into target cells where it cross-links actin. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2007; 104/39: 15508-15513.
- [93] De Maayer P, Venter SN, Kamber T, Duffy B, Coutinho TA, Smits THM. Comparative genomics of the type VI secretion systems of *Pantoea* and *Erwinia* species reveals the presence of putative effector islands that may be translocated by the VgrG and Hcp proteins. *BMC Genomics* 2011; 12:576 doi: 10.1186/1471-2164-12-576.
- [94] Haapalainen M, Mosorin H, Dorati F, Wu R-F, Roine E, et al. Hcp2, a secreted protein of the phytopathogen *Pseudomonas syringae* pv. *tomato* DC3000, is required for fitness for competition against bacteria and yeasts. *J Bacteriol* 2012; 194/18:4810–22.
- [95] Koskiniemi S, Lamoureux JG, Nikolakakis KC, t’Kint de Roodenbeke C, Kaplan MD, et al. 2013. Rhs proteins from diverse bacteria mediate intercellular competition. *Proc Natl Acad Sci USA* 2013; 110/17:7032–7037.
- [96] Hood RD, Singh P, Hsu F, Güvener T, Carl MA, Trinidad RR, Silverman JM, Ohlson BB, Hicks KG, Plemel RL, Li M, Schwarz S, Wang WY, Merz AJ, Goodlett DR, Mougous JD. A type VI secretion system of *Pseudomonas aeruginosa* targets a toxin to bacteria. *Cell Host Microbe* 2010; 7/1: 25-37. doi: 10.1016/j.chom.2009.12.007.
- [97] Schwarz S, West TE, Boyer F, Chiang W-C, Carl MA, Hood RD, Rohmer L, Tolker-Nielsen T, Skerrett SJ, Mougous JD. Burkholderia type VI secretion systems have distinct roles in eukaryotic and bacterial cell interactions. *PLoS Pathog* 2010; 6, e1001068.
- [98] Silverman JM., Brunet, YR., Cascales, E, Mougous JD. Structure and regulation of the type VI secretion system. *Annu Rev Microbiol* 2012; 66: 453-472.
- [99] Basler M, Ho BT, Mekalanos JJ. Tit-for-tat: type VI secretion system counterattack during bacterial cell-cell interactions. *Cell* 2013; 152/4: 884-894.
- [100] Brunet YR, Espinosa L, Harchouni S., Mignot T, Cascales E. Imaging type VI secretion-mediated bacterial killing. *Cell Rep* 2013; 3: 36-41.
- [101] Hachani A, Allsopp LP, Oduko Y, Filloux A. The VgrG proteins are “A la carte” delivery systems for bacterial type VI effectors. *J Biol Chem* 2014; 289: 17872-17884.
- [102] Russell AB, Wexler AG, Harding BN, Whitney JC, Bohn AJ, Goo YA, Tran BQ, Barry NA, Zheng H, Peterson SB, Chou S, Gonen T, Goodlett DR, Goodman AL, Mougous JD. A type VI secretion-related pathway in Bacteroidetes mediates interbacterial antagonism. *Cell Host Microbe* 2014; 16/2: 227-236. 10.1016/j.chom.2014.07.007.

- [103] Cascales E, Cambillau C. Structural biology of type VI secretion systems. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci* 2012; 367; 1102-1111.
- [104] Abby SS, Cury J, Guglielmini J, Néron B, Touchon M, Rocha EPC. Identification of protein secretion systems in bacterial genomes. *Sci Rep* 2016; 6: 23080 doi: 10.1038/srep23080.
- [105] Records AR. The type VI secretion system: a multipurpose delivery system with a phage-like machinery. *Mol Plant-Microbe Interact* 2011; 24/7: 751–57.
- [106] WuH-Y, Chung P-C, Shih H-W, Wen S-R, Lai E-M, 2008. Secretome analysis uncovers anHcp-family protein secreted via a type VI secretion system in *Agrobacterium tumefaciens*. *J Bacteriol* 2008; 190/8: 2841–2850.
- [107] Records AR, Gross DC. Sensor kinases RetS and LadS regulate *Pseudomonas syringae* type VI secretion and virulence factors. *J Bacteriol* 2010; 192/14: 3584–96.
- [108] González A, Plener L, Restrepo S, Boucher C, Genin S. Detection and functional characterization of a large genomic deletion resulting in decreased pathogenicity in *Ralstonia solanacearum* race 3 biovar 2 strains. *Environ Microbiol* 2011; 13/12:3172–85.
- [109] Goodfellow M, Jones AL. *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology. Actinobacteria* New York, NY, USA; Springer Verlag 2012; 5: 235–243.
- [110] Pallen MJ. The ESAT-6/WXG100 superfamily—and a new Gram-positive secretion system? *Trends Microbiol* 2002; 10/5: 209–212.
- [111] Gey Van Pittius NC, Gamielien J, Hide W, Brown GD, Siezen RJ, Beyers AD. The ESAT-6 gene cluster of *Mycobacterium tuberculosis* and other high G + C gram-positive bacteria. *Genome Biol* 2001; 2/10: research0044.1-research0044.18. [Online.]
- [112] de Jonge MI, Pehau-Arnaudet G, Fretz MM, Romain F, Bottai D, et al. ESAT-6 from *Mycobacterium tuberculosis* dissociates from its putative chaperone CFP-10 under acidic conditions and exhibits membrane-lysing activity. *J Bacteriol* 2007 189/16:6028–34.
- [113] van der Wel N, Hava D, Houben D, Fluitsma D, van Zon M, et al. *M. tuberculosis* and *M. leprae* translocate from the phagolysosome to the cytosol in myeloid cells. *Cell* 2007; 129/7: 1287–1298.
- [114] Smith J, Manoranjan J, Pan M, Bohsali A, Xu J, et al. Evidence for pore formation in host cell membranes by ESX-1-secreted ESAT-6 and its role in *Mycobacterium marinum* escape from the vacuole. *Infect Immun* 2008; 76/12: 5478–87.
- [115] Simeone R, Bottai D, Brosch R. ESX/type VII secretion systems and their role in host-pathogen interaction. *Curr Opin Microbiol* 2009; 12/1: 4–10.
- [116] Houben D, Demangel C, van Ingen J, Perez J, Balde 'on L, et al. ESX-1-mediated translocation to the cytosol controls virulence of mycobacteria. *Cell Microbiol* 2012; 14/8: 1287–98.
- [117] Simeone R, Bobard A, Lippmann J, Bitter W, Majlessi L, et al. Phagosomal rupture by *Mycobacterium tuberculosis* results in toxicity and host cell death. *PLoS Pathog* 2012; 8/2:e1002507.
- [118] Stoop EJM, BitterW, van der Sar AM. Tubercle bacilli rely on a type VII army for pathogenicity. *Trends Microbiol* 2012; 20/10: 477–484.

- [119] Fyans JK, Bignell D, Loria R, Toth I, Palmer T. The ESX/type VII secretion system modulates development, but not virulence, of the plant pathogen *Streptomyces scabies*. *Mol Plant Pathol* 2013; 14/2:119–130.
- [120] Loferer H, Hammar M, Normark S. Availability of the fibre subunit CsgA and the nucleator protein CsgB during assembly of fibronectin-binding curli is limited by the intracellular concentration of the novel lipoprotein CsgG. *Mol Microbiol* 1997; 26: 11-23.
- [121] Stathopoulos C, Hendrixson DR, Thanassi DG, Hultgren SJ, St Geme JW 3rd, Curtiss R 3rd. Secretion of virulence determinants by the general secretory pathway in gram-negative pathogens: an evolving story. *Microbes Infect* 2000; 2/9: 1061-1072.
- [122] Sato K, Naito M, Yukitake H, Hirakawa H, Shoji M, McBride MJ, et al., A protein secretion system linked to bacteroidete gliding motility and pathogenesis. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2010; 107: 276–281. 10.1073/pnas.0912010107.
- [123] McBride MJ, Zhu Y. Gliding motility and Por secretion system genes are widespread among members of the phylum bacteroidetes. *J Bacteriol* 2013; 195: 270–278.
- [124] Nguyen KA, Travis J, Potempa J. Does the importance of the C-terminal residues in the maturation of RgpB from *Porphyromonas gingivalis* reveal a novel mechanism for protein export in a subgroup of Gram Negative bacteria? *J Bacteriol* 2007; 189: 833–843.
- [125] Lasica AM, Ksiazek M, Madej M, Potempa J. The Type IX Secretion System (T9SS): Highlight and Recent Insights into Its Structure and Function. *Front Cell Infect Microbiol* 2017; 7: 215. doi: 10.3389/fcimb.2017.00215.
- [126] Veith PD, Glew MD, Dhana G, 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. *Mol Microbiol* 2017; 106/1: 35–53. doi:10.1111/mmi.13752.
- [127] Sato K, Yukitake H, Narita Y, Shoji M, Naito M, Nakayama K. Identification of *Porphyromonas gingivalis* proteins secreted by the Por secretion system. *FEMS Microbiol Lett* 2013; 338: 68–76.
- [128] 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 Biol Chem* 2017; 292/8: 3252-3261. doi: 10.1074/jbc.M116.765081.
- [129] Veith PD, Nor Muhammad NA, Dashper SG, Likić VA, Gorasia DG, Chen D, Byrne SJ, Catmul DV, Reynolds EC. Protein substrates of a novel secretion system are numerous in the Bacteroidetes phylum and have in common a cleavable C-terminal secretion signal, extensive post-translational modification and cell-surface attachment. *J Proteome Res* 2013; 12: 4449–4461.
- [130] Guo Y, Nguyen KA, Potempa J. Dichotomy of gingipains action as virulence factors: from cleaving substrates with the precision of a surgeon's knife to a meat chopper-like brutal degradation of proteins. *Periodontol* 2000 2010; 54: 15–44. 10.1111/j.1600-0757.2010.00377.x.
- [131] McBride MJ, Nakane D. Flavobacterium gliding motility and the type IX secretion system. *Curr Opin Microbiol* 2015; 28: 72-77.

- [132] Kolton M, Frenkel O, Elad Y, Cytryn E. Potential role of flavobacterial gliding-motility and type IX secretion system complex in root colonization and plant defense. *Mol Plant Microbe Interact* 2014; 27: 1005–1013.
- [133] Hebbar P, Berge O, Heulin T, Singh SP. Bacterial antagonists of sunflower (*Helianthus-Annuus* L) fungal pathogens. *Plant Soil* 1991; 133: 131–140.
- [134] Alexander BJR, Stewart A. Glasshouse screening for biological control agents of *Phytophthora cactorum* on apple (*Malus domestica*). *New Zeal J Crop Hort* 2001; 29:159–169.
- [135] Sang MK, Chun SC, Kim KD. Biological control of *Phytophthora blight* of pepper by antagonistic rhizobacteria selected from a sequential screening procedure. *Biol Control* 2008; 46: 424–433.
- [136] Gunasinghe WKRN, Karunaratne AM. Interactions of *Colletotrichum musae* and *Lasiodiplodia theobromae* and their biocontrol by *Pantoea agglomerans* and *Flavobacterium* sp in expression of crown rot of "Embul" banana. *Biocontrol* 2009; 54:587–596.
- [137] Chagnot C, Zorgani MA, Astruc T, Desvaux M. Proteinaceous determinants of surface colonization in bacteria: bacterial adhesion and biofilm formation from a protein secretion perspective. *Front Microbiol* 2013; 4:303. doi: 10.3389/fmicb.2013.00303.
- [138] Khokhani D, Zhang C, Li Y, Wang Q, Zeng Q, Yamazaki A, Hutchins W, Zhou SS, Chen X, Yang CH. Discovery of Plant Phenolic Compounds That Act as Type III Secretion System Inhibitors or Inducers of the Fire Blight Pathogen, *Erwinia amylovora*. *Appl Environ Microbiol* 2013; 79/18: 5424-5436. doi:10.1128/AEM.00845-13.