

枯草芽孢杆菌 *subtilis* str. 168 双精氨酸途径分泌蛋白预测及功能分析

朱德全¹, 韩诚武², 尹红¹, 张路路¹, 白雪², 姚嘉³, 邢雷³, 张跃华¹, 卢伟³, 梁积毅³, 刘向东^{3*} (1. 佳木斯大学理学院, 黑龙江佳木斯 154007; 2. 佳木斯大学生命科学学院, 黑龙江佳木斯 154007; 3. 佳木斯大学机械工程学院, 黑龙江佳木斯 154007)

摘要 [目的]对枯草芽孢杆菌 *subtilis* str. 168 双精氨酸转运途径(Tat)分泌蛋白进行预测和功能分析。[方法]从 NCBI 中选取枯草芽孢杆菌 *subtilis* str. 168 基因组注释的蛋白质氨基酸序列, 然后用 SignalP 4.0、LipoP、TatP、TMHMM 2.0 软件分析该基因组中双精氨酸途径的分泌蛋白, 同时采用 COG 功能数据库对预测的分泌蛋白进行功能注释和聚类分析。[结果]通过分析发现 108 个有 motif 没有酶切位点的 Tat 信号肽蛋白, 25 个有酶切位点没有 motif 的 Tat 信号肽蛋白, 124 个既有酶切位点也有 motif 的 Tat 信号肽蛋白, 其中 105 个蛋白归为 Tat 途径的分泌蛋白。[结论]对枯草芽孢杆菌 Tat 途径分泌蛋白的基因组预测和功能分析, 将为分析该菌胞外蛋白的分泌机制打下基础。

关键词 枯草芽孢杆菌; 分泌蛋白; 双精氨酸分泌途径; 功能分析

中图分类号 S188 文献标识码 A 文章编号 0517-6611(2017)30-0128-03

Prediction and Functional Analysis of Secreted Proteins of Twin-Arginine Translocation Pathway in *Bacillus subtilis* subsp. *subtilis* str. 168

ZHU De-quan¹, HAN Cheng-wu², YIN Hong¹, LIU Xiang-dong^{3*} et al (1. College of Science, Jiamusi University, Jiamusi, Heilongjiang 154007; 2. College of Life Science, Jiamusi University, Jiamusi, Heilongjiang 154007; 3. College of Mechanical Engineering, Jiamusi University, Jiamusi, Heilongjiang 154007)

Abstract [Objective] Prediction and functional analysis of secreted proteins of Twin-Arginine Translocation (Tat) pathway *Bacillus subtilis* str. 168 were conducted. [Method] The genome sequences of *B. subtilis* subsp. *subtilis* str. 168 were used to predict to secretory proteins of Tat pathway and functional analysis. SignalP 4.0, LipoP, TatP, TMHMM 2.0 were used to predict secretory protein of Tat pathway. Function of secretory proteins was also analyzed by COG (Cluster of Orthologous Groups of proteins) database. [Result] There were 108 Tat signal peptides proteins containing motif without cleavage site of enzyme, 25 proteins containing cleavage site of enzyme without motif, 124 proteins containing cleavage site of enzyme and motif. 105 proteins were classified as proteins secreted by Tat pathway in these proteins. [Conclusion] These results will lay the foundation for analyzing the secretion mechanism of extracellular protein in *B. subtilis*.

Key words *Bacillus subtilis*; Secreted proteins; Tat secretion pathway; Function analysis

枯草芽孢杆菌(*Bacillus subtilis*)为革兰氏阳性菌, 它们对外界有害因子抵抗力强, 能抑制有害菌的生长繁殖, 且保湿性强, 为土壤的保护膜, 可以防止肥分及水分流失, 并能产生多种生理活性物质及其他容易被环境利用的养分^[1], 适用于有机肥、堆肥的制作。在环境和水体净化、防治水稻稻瘟病以及医疗中发挥重要作用。2006 年 NCBI 数据库上收集的芽孢杆菌种名有 182 个, 有的分类系统将芽孢杆菌分为 20 多个属。

细菌的分泌蛋白在介导菌体与宿主细胞黏附定殖、与外界环境相互作用方面扮演重要的作用^[2]。细菌蛋白质在细胞内合成后, 通过不同的途径跨膜分泌到细胞外。双精氨酸转运(Twin-arginine translocation, Tat)途径是另外一个蛋白分泌跨膜转运系统, 该系统的特征是在分泌蛋白的信号肽中含有一个高度保守的双精氨酸基序^[3]。Tat 途径的优点是它只分泌已正确折叠的蛋白, 从而保证了分泌产物在结构上的正确性^[4]。该研究从 NCBI 中选取枯草芽孢杆菌 *subtilis* str. 168 基因组注释的蛋白质氨基酸序列, 然后用 SignalP 4.0、LipoP1.0、TatP、TMHMM 2.0 软件分析该基因组中的 Tat 分泌蛋白及其功能, 有助于分析芽孢杆菌对外界环境产生相应环境效应的机理, 为今后对其功能的具体研究以及对环境管理

保护提供数据基础。

1 材料与方法

1.1 材料 下载美国国立生物技术信息中心(NCBI) GenBank 公布的芽孢杆菌细菌基因组序列, GenBank 的登录号是 NC_000964.3。

1.2 方法

1.2.1 Tat 途径分泌蛋白的分析和统计。 采用 SignalP 4.0 (<http://www.cbs.dtu.dk/services/SignalP>) 和 LipoP1.0 (<http://www.cbs.dtu.dk/services/LipoP/>) 软件分析该菌株的 Sec 途径分泌信号肽的蛋白。利用 TatP 软件(<http://www.cbs.dtu.dk/services/TatP/>)预测 Tat 途径分泌信号肽的蛋白。同时利用软件 TMHMM 2.0 (<http://genome.cbs.dtu.dk/services/TMHMM/>)预测分析蛋白的跨膜螺旋数。只有 TatP 软件预测为阳性, 同时 SignalP 4.0 和 LipoP1.0 预测为阴性, 并且跨膜螺旋数 ≤ 1 才被归类为 Tat 途径的分泌蛋白。

1.2.2 Tat 途径分泌蛋白功能分析。 统计 Tat 途径分泌蛋白, 同时采用 COG 功能数据库(<http://eggnog.embl.de/>)对分析得到的分泌蛋白质进行功能注释和聚类分析。

2 结果与分析

2.1 芽孢杆菌 Tat 途径分泌蛋白分析 先后使用 4 种软件对枯草芽孢杆菌 *subtilis* str. 168 基因组 4 157 个蛋白进行 Tat 途径分泌蛋白的预测分析^[5]。由表 1 可知, 没有酶切位点的 Tat 信号肽的蛋白有 108 个, 有酶切位点没有 motif 的 Tat 信号肽蛋白有 25 个, 有酶切位点也有 motif 的 Tat 信号肽蛋白有 124 个, 其中有酶切位点也有 motif 的 Tat 信号肽蛋白中跨

基金项目 黑龙江省教育厅科研项目(2016-KYYWF-0544)。
作者简介 朱德全(1980—), 男, 贵州遵义人, 讲师, 博士, 从事微生物生物技术研究。* 通讯作者, 副教授, 博士, 硕士生导师, 从事生物质收获与综合利用研究。
收稿日期 2017-08-09

膜螺旋数 ≤ 1 的 Tat 途径分泌蛋白为 105 个。同时对它们的基因编号、蛋白名称、蛋白长度、COG 功能以及酶切位点进行分析,结果见表 2。

表 1 芽孢杆菌基因组 Tat 途径分泌蛋白总体结果

Table 1 The overall results of secreted proteins of twin-arginine translocation pathway in *B. subtilis*

序号 Serial number	分泌蛋白种类 Secreted proteins type	数量 Number	占基因组百分比 Percentage of the genome//%
1	没有酶切位点的 Tat 信号肽蛋白	108	2.6
2	有酶切位点没有 motif 的 Tat 信号肽蛋白	25	0.6
3	有酶切位点也有 motif 的 Tat 信号肽蛋白	124	3.0
4	Tat 途径分泌蛋白(跨膜螺旋数 ≤ 1)	105	2.5

表 2 芽孢杆菌基因组有酶切位点也有 motif 的 Tat 分泌蛋白

Table 2 Tat secreted protein containing cleavage site of enzyme and motic in the genome of *B. subtilis*

序号 Serial number	基因 Gene	蛋白名称 Protein name	蛋白长度 Protein length	COG 聚类 COG clustering	酶切位点 Restriction enzyme cutting site
1	<i>mfd</i>	transcription-repair-coupling factor	1 177	[L]	46 和 47: ALA - NE
2	<i>hslO</i>	chaperonin	291	[O]	40 和 41: ASA - AL
3	<i>sigH</i>	RNA polymerase sigma-H factor	217	[K]	4 和 5: NLQ - NN
4	<i>rpmG</i>	50S ribosomal protein L33	49	[J]	26 和 27: ASA - AE
5	<i>rplD</i>	50S ribosomal protein L4	207	[J]	85 和 86: WRG - GG
6	<i>rpsQ</i>	30S ribosomal protein S17	87	[J]	4 和 5: SER - NQ
7	<i>rplR</i>	0S ribosomal protein L18	121	[J]	25 和 26: SGT - AE
8	<i>rplO</i>	50S ribosomal protein L15	146	[J]	49 和 50: RFG - FE
9	<i>ybcC</i>	hypothetical protein	800	[C]	47 和 48: TFA - AR
10	<i>yczK</i>	hypothetical protein	58	—	22 和 23: ACF - SS
11	<i>lmrA</i>	TetR family transcriptional regulator	189	[K]	13 和 14: LSA - AT
12	<i>yccK</i>	_oxidoreductase	307	[S]	23 和 24: ANA - VG
13	<i>adcB</i>	_zinc transport system permease protein AdcB	280	[P]	14 和 15: AFL - AG
14	<i>yceC</i>	stress response protein SCP2	199	[T]	44 和 45: LLG - GG
15	<i>yceE</i>	hypothetical protein	191	[T]	23 和 24: TKA - VI
16	<i>yegE</i>	ArsR family transcriptional regulator	152	[K]	35 和 36: AQA - LG
17	<i>hxlR</i>	HxlR family transcriptional regulator	119	[K]	18 和 19: TLA - VI
18	<i>yclH</i>	BC transporter ATP-binding protein	226	[V]	51 和 52: SLA - GG
19	<i>yezN</i>	hypothetical protein	37	—	32 和 33: GTA - FV
20	<i>yclP</i>	ABC transporter ATP-binding protein	252	[P]	50 和 51: SRL - IK
21	<i>lipC</i>	spore germination lipase LipC	213	[E]	37 和 38: ADL - KT
22	<i>ydbN</i>	hypothetical protein	69	—	18 和 19: KVK - TY
23	<i>ydcG</i>	hypothetical protein	146	[S]	34 和 35: APL - AK
24	<i>ydeM</i>	hypothetical protein	141	[I]	7 和 8: EFT - IG
25	<i>gmuD</i>	6-phospho-beta-glucosidase GmuD	464	[G]	27 和 28: EGA - AD
26	<i>gutR</i>	transcription activator GutR	759	[K]	11 和 12: QFA - QM
27	<i>ydjE</i>	sugar kinase YdjE	319	[G]	47 和 48: AIA - KL
28	<i>ydzJ</i>	hypothetical protein	54	—	17 和 18: AFK - KL
29	<i>yezF</i>	hypothetical protein	75	[S]	40 和 41: LFY - IF
30	<i>pcrA</i>	ATP-dependent DNA helicase PcrA	741	[L]	46 和 47: RIA - YL
31	<i>ligA</i>	DNA ligase	598	[L]	6 和 7: ETA - KQ
32	<i>yerO</i>	TetR family transcriptional regulator	289	[K]	22 和 23: GFA - AT
33	<i>yetM</i>	oxidoreductase	368	[C]	33 和 34: EAA - SE
34	<i>yfmT</i>	aldehyde dehydrogenase YfmT	345	[C]	8 和 9: ELN - KQ
35	<i>yfmN</i>	hypothetical protein	51	—	48 和 49: CLP - KE
36	<i>yfmJ</i>	NADP-dependent oxidoreductase YfmJ	339	[S]	11 和 12: QLA - RR
37	<i>yflD</i>	hypothetical protein	46	—	6 和 7: KVA - KN
38	<i>dusC</i>	tRNA-dihydrouridine synthase 2	235	[J]	6 和 7: NFW - RE
39	<i>yfiL</i>	ABC transporter ATP-binding protein	310	[V]	50 和 51: SGL - VP
40	<i>yhbJ</i>	efflux system component YhbJ	220	[V]	20 和 21: ILT - NI
41	<i>yhcF</i>	GntR family transcriptional regulator	122	[K]	1 和 2: M - DN
42	<i>csxB</i>	cold shock protein CspB	67	[K]	4 和 5: LEG - KV
43	<i>yhcM</i>	hypothetical protein	150	—	32 和 33: RQR - IS
44	<i>yhc</i>	spore coat protein F	322	[S]	22 和 23: PHK - NH
45	<i>yheN</i>	polysaccharide deacetylase	282	[M]	22 和 23: ASL - AV
46	<i>yhaH</i>	hypothetical protein	119	[S]	31 和 32: SGK - QL

接下表

2.2 芽孢杆菌基因组 Tat 途径分泌蛋白功能分析 分析结果表明有酶切位点也有 motif 的 Tat 途径分泌蛋白个数为 105 个,其中具有 COG 功能注释的蛋白有 96 个。这些有功能注释的 Tat 途径分泌蛋白,主要与氨基酸代谢和转运,蛋白质翻译后修饰,能源产生和转换,核糖体的结构和生源有关^[6]。

3 讨论

分泌蛋白是微生物吸收营养物质、适应外界环境并与宿主发生相互作用的物质基础。尽管 Sec 途径是细菌中蛋白分泌跨膜转运的主要途径,但是 Tat 途径只转运折叠正确的蛋白质,产物更加稳定^[5],具有较强的现实意义,目前一些具有工业价值的重组蛋白已通过 Tat 途径实现有效的分泌表达^[7]。

续表 2

序号 Serial number	基因 Gene	蛋白名称 Protein name	蛋白长度 Protein length	COG 聚类 COG clustering	酶切位点 Restriction enzyme cutting site
47	<i>serC</i>	3-phosphoserine_phosphohydroxythreonine aminotransferase	259	[E]	9 和 10; FNA - GP
48	<i>hemE</i>	uroporphyrinogen decarboxylase	353	[H]	20 和 21; EKA - DH
49	<i>sbcC</i>	nuclease SbcCD subunit C	1060	[I]	47 和 48; LDA - MT
50	<i>gerPF</i>	spore germination protein	133	[S]	38 和 39; KSA - LG
51	<i>yùG</i>	MFS transporter	422	[G]	6 和 7; SKQ - NN
52	<i>yjzC</i>	hypothetical protein	60	[S]	13 和 14; QKA - PN
53	<i>yjaZ</i>	hypothetical protein	261	[O]	2 和 3; A - VE
54	<i>coiA</i>	competence protein CoiA	373	[S]	40 和 41; HFA - HK
55	<i>thiO</i>	glycine oxidase	369	[E]	47 和 48; AAA - GM
56	<i>cotW</i>	spore coat protein W	104	—	1 和 2; N - SD
57	<i>yjcZ</i>	hypothetical protein	52	—	46 和 47; VGA - SF
58	<i>spoVIF</i>	sporulation-specific transcription factor SpoVIF	103	[S]	3 和 4; MDN - QF
59	<i>yjzF</i>	hypothetical protein	105	—	9 和 10; KPS - QK
60	<i>xkdK</i>	phage-like element PBSX protein XkdK	396	[S]	48 和 49; GEA - KT
61	<i>spoIISB</i>	stage II sporulation protein SB	56	—	31 和 32; ASY - QV
62	<i>mtnW</i>	2,3-diketo-5-methylthiopentyl-1-phosphate enolase	416	[G]	15 和 16; LLA - TY
63	<i>ykuD</i>	L,D-transpeptidase YkuD	164	[M]	34 和 35; SLQ - AG
64	<i>sipT</i>	signal peptidase I T	203	[U]	15 和 16; AKK - KT
65	<i>ylbH</i>	rRNA methyltransferase YlbH	184	[L]	17 和 18; AVA - GT
66	<i>cysC</i>	adenylyl-sulfate kinase	197	[P]	45 和 46; ANA - AA
67	<i>spoVFB</i>	dipicolinate synthase subunit B	200	[H]	5 和 6; SLK - GK
68	<i>rnjB</i>	ribonuclease J 2	555	[O]	2 和 3; -KK
69	<i>glnR</i>	MerR family transcriptional regulator	135	[K]	4 和 5; SDN - IR
70	<i>sspP</i>	small acid-soluble spore protein P	49	[M]	21 和 22; NPG - QP
71	<i>cùB</i>	aconitate hydratase	909	[C]	15 和 16; FQA - RK
72	<i>sspN</i>	small acid-soluble spore protein N	48	[S]	15 和 16; APS - HL
73	<i>rtp</i>	replication termination protein	122	[L]	19 和 20; AFL - KL
74	<i>yoaE</i>	oxidoreductase	680	[C]	5 和 6; SFA - TQ
75	<i>yoaO</i>	hypothetical protein	162	[E]	3 和 4; MRK - KN
76	<i>yoyB</i>	hypothetical protein	75	[S]	35 和 36; CSA - IK
77	<i>sqhC</i>	sporulenol synthase	562	[I]	5 和 6; TLQ - EK
78	<i>yoyN</i>	hypothetical protein	305	[S]	3 和 4; MNR - KG
79	<i>yoyB</i>	hypothetical protein	79	—	43 和 44; ALF - NY
80	<i>yodH</i>	methyltransferase	233	[Q]	28 和 29; AVL - QK
81	<i>sspC</i>	small acid-soluble spore protein C	72	[S]	23 和 24; ASA - IE
82	<i>yoyW</i>	hypothetical protein	55	—	3 和 4; MLY - RN
83	<i>yosF</i>	hypothetical protein	40	—	6 和 7; DNA - AK
84	<i>yosA</i>	hypothetical protein	38	—	26 和 27; VVL - FI
85	<i>yopY</i>	hypothetical protein	92	—	1 和 2; E - TI
86	<i>sunA</i>	bacteriocin sublancin-168	56	—	47 和 48; AVA - CQ
87	<i>yokC</i>	hypothetical protein	171	[S]	33 和 34; DMA - TT
88	<i>cspD</i>	cold shock protein CspD	65	[K]	8 和 9; VSW - FN
89	<i>kdgK</i>	2-dehydro-3-deoxygluconokinase	324	[G]	45 和 46; GLA - RL
90	<i>ypsA</i>	hypothetical protein	219	[S]	34 和 35; VLA - IT
91	<i>yppG</i>	hypothetical protein	125	[S]	10 和 11; YPR - QM
92	<i>sspM</i>	small acid-soluble spore protein M	34	—	30 和 31; GPN - RP
93	<i>dnaD</i>	DNA replication protein DnaD	222	[L]	9 和 10; IDM - QE
94	<i>qcrA</i>	menaquinol-cytochrome c reductase iron-sulfur subunit	167	[C]	36 和 37; RFA - LD
95	<i>ubiE</i>	demethylmenaquinone methyltransferase	233	[H]	4 和 5; QDS - KE
96	<i>yphH</i>	adapter protein MecA	195	[O]	2 和 3; -LE
97	<i>resA</i>	thiol-disulfide oxidoreductase ResA	179	[O]	2 和 3; -KK
98	<i>ypzJ</i>	hypothetical protein	68	[S]	20 和 21; EIA - TT
99	<i>ypzD</i>	pore germination protein-like protein YpzD	70	[S]	36 和 37; VFG - SG
100	<i>yqkC</i>	hypothetical protein	79	[S]	7 和 8; LKA - MK
101	<i>yqjF</i>	hypothetical protein	342	[S]	6 和 7; RFQ - QK
102	<i>gcvPB</i>	lysine dehydrogenase subunit 2	488	[E]	9 和 10; ALI - FE
103	<i>yqgQ</i>	hypothetical protein	71	[S]	1 和 2; G - NT
104	<i>ykpC</i>	hypothetical protein	44	—	35 和 36; SPA - GG
105	<i>phoD</i>	alkaline phosphatase D	243	[C]	56 和 57; VNA - AP

注: [C]. 能量产生与转化; [E]. 氨基酸转运和代谢; [G]. 碳水化合物转运与代谢; [H]. 无机离子转运与代谢; [I]. 脂类转运与代谢; [J]. 翻译, 核糖体的结构和生源; [K]. 转录; [L]. 复制, 重组和修复; [M]. 细胞壁、细胞膜生物合成; [O]. 蛋白质转运后的修饰; [P]. 无机离子转运与代谢; [S]. 功能未知; [T]. 信号转导机制; [U]. 细胞内运输, 分泌和囊泡运输; [V]. 防御机制; “—”没有 COG 功能注释

Note: [C]. Energy production and conversion; [E]. Amino acid transport and metabolism; [G]. Carbohydrate transport and metabolism; [H]. Inorganic ion transport and metabolism; [I]. Lipid transport and metabolism; [J]. Translation, ribosomal structure and biogenesis; [K]. Transcription; [L]. Replication, recombination and repair; [M]. Cell wall/membrane biosynthesis; [O]. Protein modification after translation; [P]. Inorganic ion transport and metabolism; [S]. Function unknown; [T]. Signal transduction mechanism; [U] Intracellular trafficking, secretion and vesicular transport; [V]. Defense mechanisms; “—” indicates no COG functional annotation

照射,均可使得2个空间形成空间的视觉渗透,如图9中通透的长廊作为主景构筑物对其两侧的空间进行衔接、过渡,形成具有视觉渗透的园林空间。



图9 开封龙亭湖景区长廊

Fig.9 Corridor of Kaifeng Longting lake scenic

在实体空间与虚空间的连接中,常见的如构筑物空间与水体空间的连接,或是景观空间与植物光影营造的虚空间的连接等。通过光的照射形成的物体影像或是水体空间中的倒影,使虚实空间相互连接、渗透,如图10通过拱桥在湖中的倒影使2个空间衔接、渗透,使不同的空间之间流畅、自然地进行衔接、过渡,最终达到丰富空间层次、扩大空间、增添景观魅力的效果。

3 小结

成功的园林景观应该利用好一切可以利用的景观元素。光影无处不在,无时不在,因此,作为景观设计的一员,应充分了解光影的特性、光影变化的特点,利用光影营造具有动



图10 开封龙亭湖景区拱桥

Fig.10 Arch bridge of Kaifeng Longting lake scenic

态感、节奏感、韵律感的富有空间色彩魅力的园林空间;在不同空间过渡时,应学会合理地利用光影进行空间的连接、渗透,形成空间上的视觉渗透,达到景观空间的连贯与完整。

参考文献

- [1] 梁彩. 视觉设计中光影艺术与设计的探讨[J]. 科技展望,2016(5):145.
- [2] 罗静芝. 灯饰设计中光影的视觉化元素运用[J]. 大众文艺,2011(11):40-41.
- [3] 曾艳,罗理婷. 光影对江南文人园林空间的诠释[J]. 科教文汇,2008(1):179.
- [4] 陈丽媛. 光影在园林景观空间中应用的研究[D]. 哈尔滨:东北林业大学,2011:33.
- [5] 曾丽娟,吴健平. 光影艺术在现代景观设计中的应用研究[J]. 安徽农业科学,2010,38(18):9823-9825.
- [6] 杨玉霞,段渊古,张楠阳,等. 园林植物季相变化对园林空间的影响研究[J]. 西北林学院学报,2011,26(6):177-180.
- [7] 彭敏. 光影艺术在环境空间中的应用[J]. 大舞台,2014(6):93-94.

(上接第130页)

芽孢杆菌是较早完成分泌蛋白预测的细菌,总共发现301个分泌蛋白,占基因组总数的7.3%。芽孢杆菌的分泌蛋白类型和数量都比较多,可能与适应土壤微生物环境有关^[6,8]。对枯草芽孢杆菌 *Bacillus subtilis* subsp. *subtilis* str. 168基因组 Tat 途径分泌蛋白的预测和功能分析有助于了解该菌株适应外界环境的分子机制,也为该菌株目标蛋白的高效表达提供新的途径。分析结果发现通过 Tat 途径分泌的含有信号肽蛋白有258个,约占全部基因的10.1%,但既有酶切位点又含 motif 的蛋白为124个,占基因组编码蛋白的3.0%,这与其他菌株的比例相似。

对 Tat 途径分泌蛋白的功能分析发现,这一途径分泌蛋白的功能主要与氨基酸运输和代谢,蛋白质转译后的修改,能源生产和转换,核糖体的结构和生源有关。这将有利于该菌株适应外部环境。

参考文献

- [1] RANE A N,BAIKAR V V,KUMAR V R,et al. Agro-industrial wastes for

production of biosurfactant by *Bacillus subtilis* ANR 88 and its application in synthesis of silver and gold nanoparticles[J]. Front Microbiol,2017,8:492.

- [2] LIU C,ZHANG Z Y,DONG K,et al. Adhesion and immunomodulatory effects of *Bifidobacterium lactis* HN019 on intestinal epithelial cells INT-407[J]. World journal of gastroenterology,2010,16(18):2283-2289.
- [3] BABU M M,PRIYA M L,SELVAN A T,et al. A database of bacterial lipoproteins(DOLOP) with functional assignments to predicted lipoproteins[J]. Journal of bacteriology,2006,188(8):2761-2773.
- [4] MÜLLER M. Twin-arginine-specific protein export in *Escherichia coli*[J]. Research in microbiology,2005,156(2):131-136.
- [5] TAUBERT J,HOU B,RISSELADA H J,et al. TatBC-independent TatA/Tat substrate interactions contribute to transport efficiency[J]. Plos one,2015,10(3):1-24.
- [6] VAN DIJL J M,BOLHUIS A,TJALSMA H,et al. Protein transport pathways in *Bacillus subtilis*: A genome-based road map[M]//SONENSHEIN A L,HOCH J A,LOSICK R,et al. *Bacillus subtilis* and its closest relatives: From genes to cells. Washington,DC:ASM Press,2002:1-3.
- [7] 向燕,李建光,关梅,等. 好氧氨氧化微生物生态学研究进展[J]. 贵州农业科学,2012,40(9):115-120.
- [8] TJALSMA H,BOLHUIS A,JONGBLOED J D H,et al. Signal peptide-dependent protein transport in *Bacillus subtilis*: A genome-based survey of the secretome[J]. Microbiology and molecular biology reviews,2000,64(3):515-547.