

大肠杆菌 β -桶组装机械复合物功能性结构单元的研究进展

王清^{1#}, 韩文字^{1#}, 李清蓉², 赵乐怡², 张涵清², 郭昀丽¹, 秦有才²,
梁鑫鑫¹, 范恩国^{1,2}, 储引娣^{2*}

1 临沂大学 生命科学学院, 山东 临沂

2 中国医学科学院基础医学研究所, 北京协和医学院基础学院, 北京

王清, 韩文字, 李清蓉, 赵乐怡, 张涵清, 郭昀丽, 秦有才, 梁鑫鑫, 范恩国, 储引娣. 大肠杆菌 β -桶组装机械复合物功能性结构单元的研究进展[J]. 微生物学报, 2025, 65(12): 5244-5256.

WANG Qing, HAN Wenyu, LI Qingrong, ZHAO Leyi, ZHANG Hanqing, GUO Yunli, QIN Youcai, LIANG Xinxin, FAN Enguo, CHU Yindi. Recent advancements in the functional forms of the β -barrel assembly machinery in *Escherichia coli*[J]. *Acta Microbiologica Sinica*, 2025, 65(12): 5244-5256.

摘要: β -桶组装机(β -barrel assembly machinery, BAM)复合物是革兰氏阴性菌中负责 β -桶状外膜蛋白(outer membrane proteins, OMPs)在外膜中组装的重要装置, 其功能缺陷可导致细菌死亡, 因而成为抗菌药物研发的新型靶点。不同来源细菌中 BAM 复合物的亚基组成存在差异, 大肠杆菌 BAM 复合物由核心亚基 BamA 及辅助脂蛋白 BamB-E 组成, 其中 BamA 作为 Omp85 家族成员通过其 β -桶结构的动态构象变化, 并在脂蛋白的辅助下介导底物 OMPs 的折叠与释放。本文综述了大肠杆菌中 BAM 复合物最小功能单元、完整功能单元以及其他功能单元的研究进展, 并总结了靶向 BAM 复合物的相关药物筛选情况, 为克服革兰氏阴性菌耐药性提供了新策略。

关键词: BAM 复合物; 外膜蛋白; 功能性单元; BamADE

资助项目: 国家自然科学基金(32200153)

This work was supported by the National Natural Science Foundation of China (32200153).

[#]These authors contributed equally to this work.

*Corresponding author. Tel: +86-10-69156984, E-mail: cylah@ibms.pumc.edu.cn

Received: 2025-06-03; Accepted: 2025-07-11; Published online: 2025-07-31

Recent advancements in the functional forms of the β -barrel assembly machinery in *Escherichia coli*

WANG Qing^{1#}, HAN Wenyu^{1#}, LI Qingrong², ZHAO Leyi², ZHANG Hanqing², GUO Yunli¹, QIN Youcai², LIANG Xinxin¹, FAN Enguo^{1,2}, CHU Yindi^{2*}

1 College of Life Sciences, Linyi University, Linyi, Shandong, China

2 Institute of Basic Medical Sciences Chinese Academy of Medical Sciences, School of Basic Medicine Peking Union Medical College, Beijing, China

Abstract: The β -barrel assembly machinery (BAM) complex is an essential apparatus that is responsible for the assembly of β -barrel outer membrane proteins (OMPs) into the outer membrane of Gram-negative bacteria. Its functional defects can lead to bacterial death, and thus it is established as a new target for antibacterial drug development. The subunit composition of the BAM complex varies across different bacterial species and in *Escherichia coli*, it is composed of a core subunit BamA and auxiliary lipoproteins BamB–E. BamA, as a member of the Omp85 family, mediates the folding and release of substrate OMPs through the dynamic conformational changes of its β -barrel structure that are regulated by lipoproteins. In the present review, we summarized recent progress in distinguishing the minimal functional unit, complete functional unit, and other functional units of the BAM complex in *E. coli*. Moreover, by reviewing the drug screening studies targeting the BAM complex, we provided an overview of new strategies to combat the drug resistance of Gram-negative bacteria.

Keywords: BAM complex; outer membrane protein; functional forms; BamADE

细菌的耐药性问题是严重威胁人类健康的重大公共卫生问题之一。相较于革兰氏阳性菌, 革兰氏阴性菌拥有独特的双层细胞膜结构^[1]。阴性菌的外膜(outer membrane, OM)是非对称的膜结构, 作为抵御宿主免疫和抗生素的关键屏障主要由脂多糖(lipopolysaccharide, LPS)和磷脂组成, 而参与多种生理功能的外膜蛋白(outer membrane proteins, OMPs)则镶嵌其中^[2]。大部分 OMPs 具有 β -桶状结构, 该结构在物质转运、膜稳定性维持及致病性中发挥核心作用^[3]。OMPs 首先在阴性菌的细胞质中合成, 经通用分泌途径(general secretory pathway, Sec)跨内膜后在周质空间中 SurA 等伴侣蛋白的帮助下, 通过 β -桶组装机(β -barrel assembly machinery, BAM)复合物在外膜上进行折叠和组装(图 1)^[4-6]。BAM

复合物的功能在阴性菌中高度保守, 一般以外膜桶状蛋白 BamA 作为核心蛋白, 但其他亚基组成变化多样^[7]。在 γ -变形菌如大肠杆菌(*Escherichia coli*)中, BAM 复合物由 BamA 以及 BamB、BamC、BamD 和 BamE 这 4 个脂蛋白组成; 在 β -变形菌如脑膜炎奈瑟氏球菌中, BAM 复合物缺少 BamB; 在 α -变形菌中, BAM 复合物则缺少 BamC^[8-9]。在莱姆病的病原体布氏疏螺旋体(*Borrelia burgdorferi*)中 BAM 复合物仅由 BamA、BamB 和 BamD 组成^[10]。在嗜热栖热菌(*Thermus thermophilus*)中 BAM 复合物目前仅鉴定出一个与大肠杆菌核心蛋白 BamA 同源的组分 *TtOmp85*, 且体外实验证明仅 *TtOmp85* 单个蛋白便能完成类似由 BamABCDE 构成的大肠杆菌 BAM 复合物对 OmpA 和 BamA 的插膜功能^[11-12]。

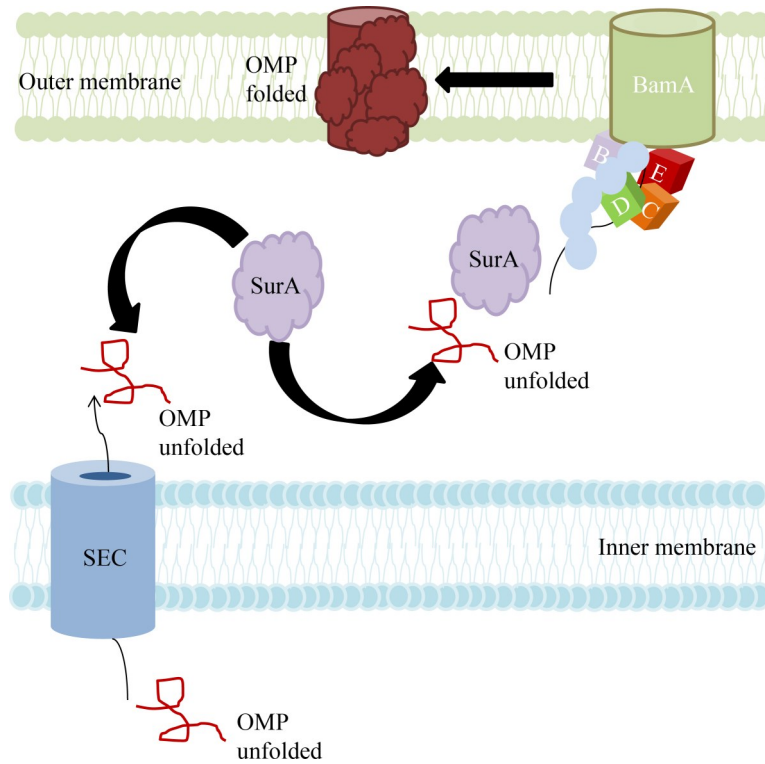


图1 革兰氏阴性菌OMP的生物生成过程示意图^[6]

Figure 1 Schematic of the biogenesis process of Gram-negative bacterial OMPs^[6].

上述研究表明, BAM复合物在不同阴性菌中的功能单元不同, BAM复合物中除 BamA 之外的其他脂蛋白组分可能是冗余的。本文将聚焦大肠杆菌 BAM复合物的功能性结构单元研究进展, 以进一步了解其作用机制, 并展望其在新型抗生素研发中的应用前景。

1 *Escherichia coli* 中 BAM复合物的最简功能单元 BamADE

1.1 BamA、BamD 和 BamE 结构和功能

1.1.1 BamA 是 BAM复合物的核心成分

目前, 大肠杆菌 BAM复合物的晶体结构已成功被解析(图 2), 其核心且必需亚基为 BamA 蛋白^[7,13-15]。BamA 隶属于 Omp85 家族, 不仅是 BAM复合物中唯一包含 β -桶状结构域的跨膜蛋白组分, 而且其功能在所有革兰氏阴性菌以及源自内共生细菌的真核生物细胞器(即线粒体和

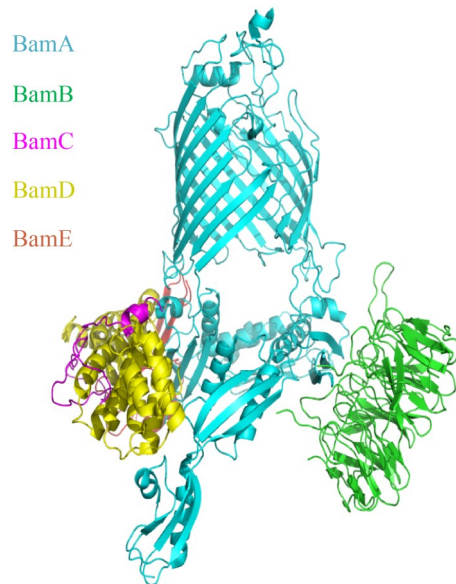


图2 大肠杆菌中BAM复合物的结构(蛋白质数据银行编号5D0O)

Figure 2 Structure of the BAM complex from *Escherichia coli* (Protein Data Bank accession 5D0O).

叶绿体)的 OM 中均高度保守^[16]。

遗传实验表明, 大肠杆菌中 BamA 的条件性敲除会导致大量未折叠的 OMPs 中间体在周质空间中聚集, 从而对细胞产生毒性^[17]。有研究发现, 在所有脂蛋白敲除的菌株里单独的 BamA 突变体虽然能完成对 OMPs 的组装, 但其组装效率很低^[18]。

第一个全长 BamA 的晶体结构于 2013 年被解析, 大肠杆菌 BamA 由 C 端的 16 链 β -桶状结构域和位于周质空间的 N 端 5 个多肽转运相关 (polypeptide transport-associated, POTRA) 结构域组成^[19-20]。POTRA 结构域形成类似脚手架的结构, 与其他脂蛋白相互作用。研究发现 BamA 的 β -桶状结构域中连接 β -桶的第 1 条 β 链和最后 1 条 β 链之间的氢键极不稳定, 有假说认为该区域可以横向打开, 从而为传入的 OMPs 底物的折叠和插入提供切入位点^[21-26]。由于其在外膜蛋白组装中发挥不可或缺的功能, 且位于细胞外侧, 极易被外来物质接触, BamA 成为新型抗生素研发的热门靶点, 近年发现的抗生素 darobactin 的作用靶点就是 BamA^[10]。

1.1.2 BamD 的结构与功能

大肠杆菌 BamD 与 BamC 部分 N 端结构的晶体结构于 2011 年首次被解析, 二者 N 端非结构区域形成氢键和盐桥以稳定结构^[2]。单独的 BamD 晶体结构表明其由 10 个 α 螺旋结构域组成, 形成了 4 个三十四肽重复 (tetratricopeptide repeats, TPR) 基序, BamD 既与 BamA-POTRA5 结合, 又能与 BamC 和 BamE 形成复合物^[7]。遗传和结构证据表明, BamA 和 BamD 之间的相互作用是通过 BamA 周质结构域中保守的天冬氨酸残基和 BamD 中保守的精氨酸之间的静电相互作用发生的^[15]。

研究表明, 脂蛋白 BamD 对于细菌活力至关重要, 同时也是 BAM 复合物中进化最保守的脂蛋白, 其同源蛋白几乎存在于所有的革兰氏阴性菌中^[27]。虽然 BamD 对于大肠杆菌的生存

是必需的, 含 BamA 的突变体 BamA^{E470K} 的菌株可以存活, 但突变株的生长以及体内 OMPs 的组装存在显著缺陷, 因而推测 BamD 在 OMPs 的组装过程中很可能承担调控作用^[18]。最近有研究者使用光交联技术发现 BamD 不仅与 OmpC 的 C 端 β 信号结合, 还与 β -桶第 5 至最后一个 β 链中的内部基序结合^[17]。上述结果表明, BamD 可能在周质中与新合成的 OMPs 早期结合发挥重要作用。

1.1.3 BamE 能稳定 BamA/BamD 之间的相互作用

BamE 是一个较小的脂蛋白, 在早期 BAM 复合物纯化过程中难以被检测到, 因此它是 BAM 复合物中最后一个被鉴定出的组分^[28-29]。由于 $\Delta bamE$ 菌株缺乏显著表型, 因此对 BamE 的研究进展较少。BamE 位于周质空间, 是一个富含 α 螺旋的蛋白, 通过特定的疏水或电荷相互作用与 BamA 结合^[30]。BAM 复合物的整体结构显示, BamE 处于特定位置, 起到连接 BamA 和其他亚基的桥梁作用, 并且直接参与底物的传递^[31-32]。

通过遗传和生化分析发现, BamE 既能与 BamA 直接互作, 也能与 BamD 互作, 且 2 种互作均具有功能重要性。BamE 并非简单充当“分子桥梁”, 而是通过调控 BamA 和 BamD 的构象来实现这一功能^[30]。BamE 能稳定 BamA/BamD 之间的相互作用, 可阻止底物蛋白 RcsF 与 BamA 之间形成异常的、非正常途径的终末复合体; 这种异常复合体会隔离 BamA, 使其无法参与外膜蛋白的组装过程^[15,33]。当 BamA/BamD 相互作用界面被破坏时, BamE 的功能变得至关重要。BamE 参与调控 BAM 复合物的构象变化, 当底物蛋白被转运时 BamE 通过与 BamA 的相互作用进行调节, 使 BamA 的 β -桶结构域打开以允许底物插入^[34]。因此, 有研究推测 BamE 对于组装具有挑战性的底物尤为重要^[35-36]。

1.2 BamADE 是 BAM 复合物的最小功能单元

在不同来源的革兰氏阴性菌中, BAM 复合物的核心组分 BamA 高度保守, 但是其辅助脂蛋白的组成却千变万化。因此, 探究 BAM 复合物的最小功能单元有助于阐明 BAM 复合物在 OMPs 组装过程中的重要亚基, 对了解其详细分子机理以及挑选重要亚基作为致病性 OMPs 组装抑制剂的靶点都具有非常重要的意义。

有研究从遗传角度通过基因敲除的方法发现, *E. coli* 中 BamB、BamC 和 BamE 等脂蛋白均可被单独敲除, 但是当同时敲除 *bamB* 和 *bamE* 时会对大肠杆菌产生致死效应^[12]。Thewasano 等^[37]为了研究脂蛋白 BamB、BamC 和 BamE 对 BAM 复合物组装 OMPs 的贡献, 将 $\Delta bamB$ 、 $\Delta bamC$ 或 $\Delta bamE$ 的敲除菌株制备成外膜脂质体, 分析其对不同类型 OMPs 的组装能力。研究发现, BamB 对于具有 16 条或更多 β 链和同源三聚体的 OMPs 的有效组装是必需的; BamC 缺失对底物影响较小, 但 BamE 对于所有 OMPs 的正确组装是必需的^[37]。

上述研究均依托于体内敲除实验, 并不能排除体内其他潜在因子的干扰。因此, Wang 等^[12]使用了离体重组系统研究 OMPs, 在体外将 *E. coli* 中 BAM 复合物的单个蛋白 BamA-E 分别纯化出来, 制备成含精准组分的蛋白脂质体, 然后研究脂质体的插膜活性; 研究发现单个的 BamA-E 蛋白以及两两蛋白组合制备的脂质体都不能对 OmpA 进行插膜, 当 BamA-E 中的 3 个蛋白组合制备成脂质体后发现只有 BamADE 能对 OmpA 进行插膜, 因此 BamADE 被确定为 *E. coli* 的 BAM 复合物的核心组分, 是构成 BAM 复合物最小且有效的功能单元; 此外, 将 OMPs 底物由含 8 条 β 链的小型 OmpA 换成含 16 条 β 链的大型 BamA 后, 发现 BamADE 对 BamA 的插膜也是最小功能单元, 因此尽管该结论尚需更多 OMPs 蛋白的验证, 但推测可能对

OMP 的插膜机理具有普适性。

2 完整功能单元 BamABCDE

2.1 BAM 复合物的膜整合机制

E. coli BAM 由 5 个亚基组成, 其完整功能单元为 BamABCDE。针对 BAM 复合物介导 OMPs 组装的详细机制目前有 3 种假说模型(图 3)。(1)“辅助”模型, 即在整合到 OM 之前 OMPs 的 β 链就已开始紧密结合形成一个圆形的 β -桶, 在 BAM 复合物的作用下将形成的 OMPs (部分)折叠中间体插入到 OM 中^[25,38]。在此过程中, BamA 主要起支撑和辅助作用, 可能通过引起附近的脂质双分子层变薄以破坏 OM 的稳态, 进而促进 OMPs 的插膜过程^[39]。(2)“出芽”模型, 该假说认为当 OMPs 底物进入 BamA 的 β -桶状结构后, BamA 的 β -桶状结构中 $\beta 1$ 和 $\beta 16$ 之间连接较弱的氢键会发生断裂, 导致 β -桶的“侧门”被打开, 并以此作为 OMPs 底物的折叠模板, 由此形成 BamA-底物 OMPs 嵌合中间体^[40]。当 OMPs 完成折叠时, BamA 的 β -桶的“侧门”被关闭, OMPs 脱离 BamA 并成功插入 OM^[6,38]。(3)“摆动”模型, 现有证据表明周质中未折叠的 OMPs 被分子伴侣或辅助蛋白识别, 并在 OM 处传递给 BamA。OMPs 形成部分折叠的状态, BamA 的 N 端随着 β 折叠的整合而发生摆动, 形成完整的杂化桶状中间体结构。OMPs 和 BamA 之间形成的氢键与 OMPs 的缝内形成的氢键进行交换, 以促进完全折叠的 OMPs 的闭合和释放。最近还有研究发现, BAM 可以利用外膜的弹性加速 β -桶的折叠^[41]。

2.2 BamB、BamC 在体外组装蛋白过程中的调节作用

BamADE 作为最小功能形式在体外组装蛋白过程中发挥核心作用, 在蛋白的组装和转运过程中 BamB 和 BamC 2 个亚基虽然不是必需的, 但起辅助调节作用^[25]。

BamB 是一种 WD40 蛋白, 具有 β 螺旋浆

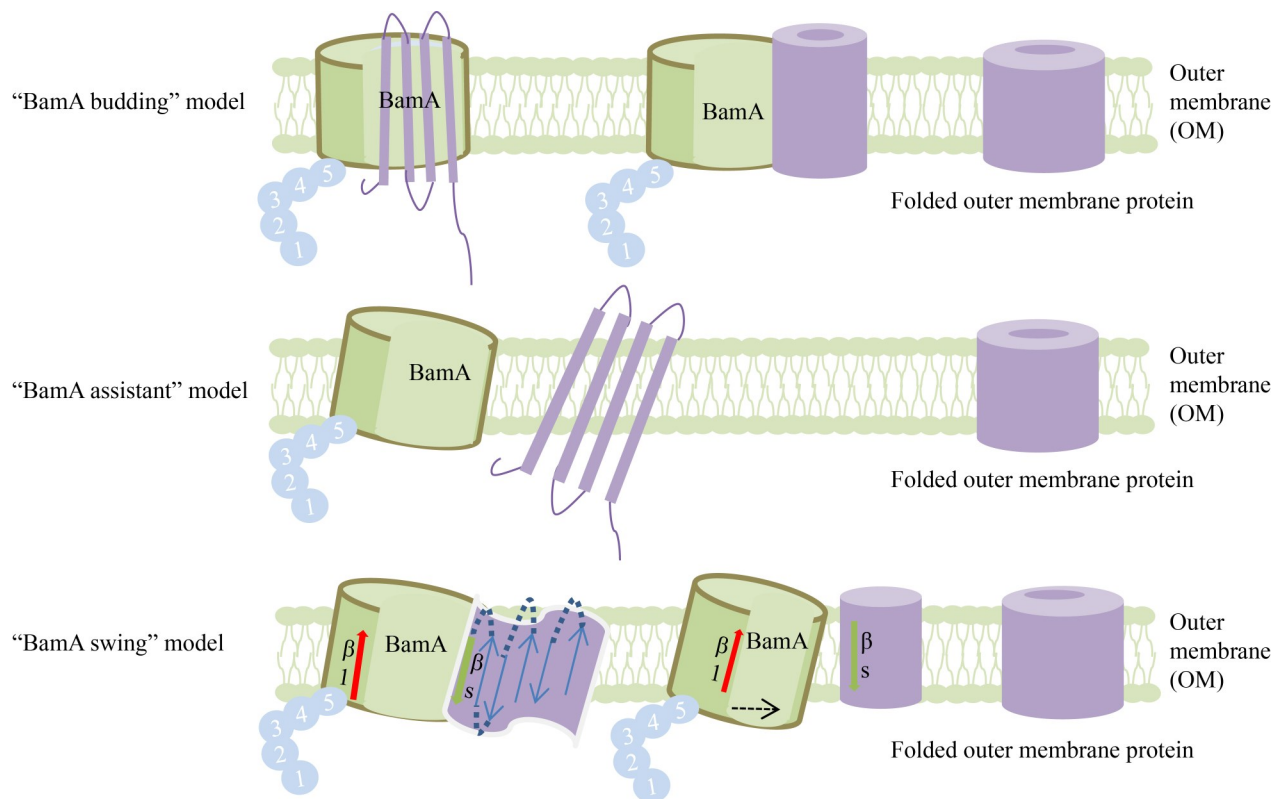


图3 BamA介导OMP组装的3种假设模型^[38]

Figure 3 Three hypothetical models of BamA-mediated assembly of OMPs^[38].

结构，中心为疏水通道，表面分布着极性氨基酸残基，其螺旋底部与 BamA 的 POTRA3 结构域通过氢键和疏水作用结合，促进 BamA 的 β -桶侧向开口^[42]。分子动力学模拟表明，BamB 的结合使 POTRA 3-4 的铰链区柔性降低，间接促进 POTRA5 的位移，从而触发 BamA 的 β -桶侧向开口^[43-44]。

表面等离子共振(surface plasmon resonance, SPR)显示，BamB 缺失时外膜蛋白 OmpF 的结合效率下降，BamB 的 WD40 凹槽特异性结合未折叠 OMPs 的 β 链间环区，实现底物选择性捕获，体外脂质体重组实验显示，BamB 的加入显著增强了 OmpA 的插入速率^[21]。单分子荧光共振能量转移(fluorescence resonance energy transfer, FRET)实验显示，BamB 存在时底物从 SurA 传递至 BamA 的时间减少，BamB 通过固定 OMPs 的 N 端或中间区域使其 C 端 β 信号更

易被 BamD 捕获，缩短底物传递路径，实现底物预定向^[22]。

BamC 在 BAM 复合物中同样起辅助作用，帮助外膜蛋白正确折叠并插入到细菌外膜中，促进外膜蛋白的组装。BamC 蛋白由多个结构域组成，包括 N 端和 C 端结构域，其核心结构通常包含多个 α 螺旋和 β 折叠，形成一个稳定的三维结构；BamC 的结构组成包含 N 端 α -螺旋结构域和 C 端结构域^[45]。由于 BamC 和 BamA 之间无稳定的相互作用，因此推测 BamC 的结构为动态结构，研究表明 BamC 也会暴露在外膜的外表面，但尚需进一步研究^[46]。

高速原子力显微镜(high-speed atomic force microscope, HS-AFM)观察到 BamC 存在时，BamD 的构象从“闭合”态(TPR 结构域紧缩)切换至“开放”态(TPR 结构域舒展)，BamC 通过固定 BamD 的 TPR 结构域提高其底物结合亲和力，

增强 BamD 的功能；同时，BamC 可能通过机械耦合促进 BamD 与底物的 C 端解离，减少底物在 BamA 通道的滞留时间，进而使底物加速释放^[23]。BamC 的存在能处理复杂底物，通过增强 BamD 的刚性实现多聚体 OMPs 组装^[47]。

BamB 和 BamC 共存时，OMPs 组装速率比单独使用 BamADE 时高^[45]。BamB 作为“效率增强器”加速底物识别与传递；BamC 作为“结构稳定器”确保构象信号的精确传递与复杂底物的处理，二者共同扩展了 BAM 复合物的功能范围，使其在多变环境中维持高效的外膜屏障功能，这一机制为针对辅助亚基的抗菌药物设计提供了理论依据^[46]。

3 其他功能单元 BamABCD、BamABCE、BamABDE 和 BamACDE

在无核心蛋白 BamA 且任意 3 种 BAM 蛋白组分组合的情况下(即 BamBCD、BamBCE、BamBDE 或 BamCDE)几乎未检测到 OmpA 被组装^[12]。然而这些脂蛋白中至少有 1 个必须存在才能使 BamD 和 BamA 产生有效的协同作用；对条件性致死 $\Delta bamB\Delta bamE$ 双突变体中蛋白质组的变化进行定量分析发现，同时缺乏 BamB 和 BamE 的细胞具有全局性 OMPs 缺陷^[48]。

将脂蛋白 BamB 和 BamC 分别加入到最小功能单元形式中(即 BamADEB 和 BamADEC)直接分析比较其对底物蛋白 OmpA 组装效率的影响，发现 BamADEC 的组装效率高于 BamADEB，表明脂蛋白 BamC 相对于 BamB 对底物蛋白 OmpA 的组装有更好的促进作用；同时，经过脂蛋白对 BamA 的动力学和结构分析，单独的 BamB 结合并不能引起 BamA 任何明显的变化，而 BamCDE 结合诱导了 BamA 的构象^[49]。因此，BamADEC 的组装效率高于 BamADEB。此外，BAM 复合体(BamABCDE)对 OmpA 的组装

效率低于 BamADEC^[12]，表明在 BamADE 最小功能单元的基础上脂蛋白 BamB 和 BamC 对底物蛋白 OmpA 的组装具有冗余功能。

BAM 复合物其他 4 种蛋白组分组合(即 BamABCD 和 BamABCE)的研究表明，在缺失脂蛋白 BamE (即 BamABCD) 和 BamD (即 BamABCE)的情况下仍然能发挥组装 OmpA 的功能^[12]。推测 BamBC 一起形成了一个有效的功能单元，相互协作以替代 BamE 的功能(图 4)。

4 SurA 等分子伴侣参与的功能单元

OMPs 经革兰氏阴性菌内膜上的 Sec 系统到达周质空间后需与 SurA、Skp 等分子伴侣结合，然后才递送给 BAM 复合物^[50]。在被 BAM 复合物识别之前普遍认为 OMPs 与分子伴侣结合，并保持折叠感受态的状态。在大肠杆菌体内及体外实验中均发现 SurA 与 BAM 复合物存在相互作用，因而 SurA 被认为是负责将 OMPs 递送至 BAM 并参与外膜生物合成的主要分子伴侣^[51]。然而，未折叠的 OMPs 从周质中与 SurA 结合的状态过渡到 BAM 的 $\beta 1$ 结构域的机制仍不明确。

近来有研究通过冷冻电镜结构成功解析了 BAM-SurA-OMP 复合物的瞬时中间态结构，结合二硫键交联技术分析发现，SurA 蛋白通过 β 增强相互作用的机制与 BAM 复合物结合；其中，SurA 蛋白 N 端 23-28 位氨基酸残基与 BamA 的 POTRA1 相互作用，触发 BAM 的构象变化，进而将未折叠的 OMPs 底物传递至 BAM 的侧门进行外膜插入^[52]，最终揭示了 SurA 如何协同 BAM 实现 OMPs 的定向折叠与外膜插入机制^[26]，为靶向 BAM 复合物的新型抗生素设计提供了结构基础，例如针对 SurA-BAM 互作界面的抑制剂可能具有窄谱抗菌潜力。

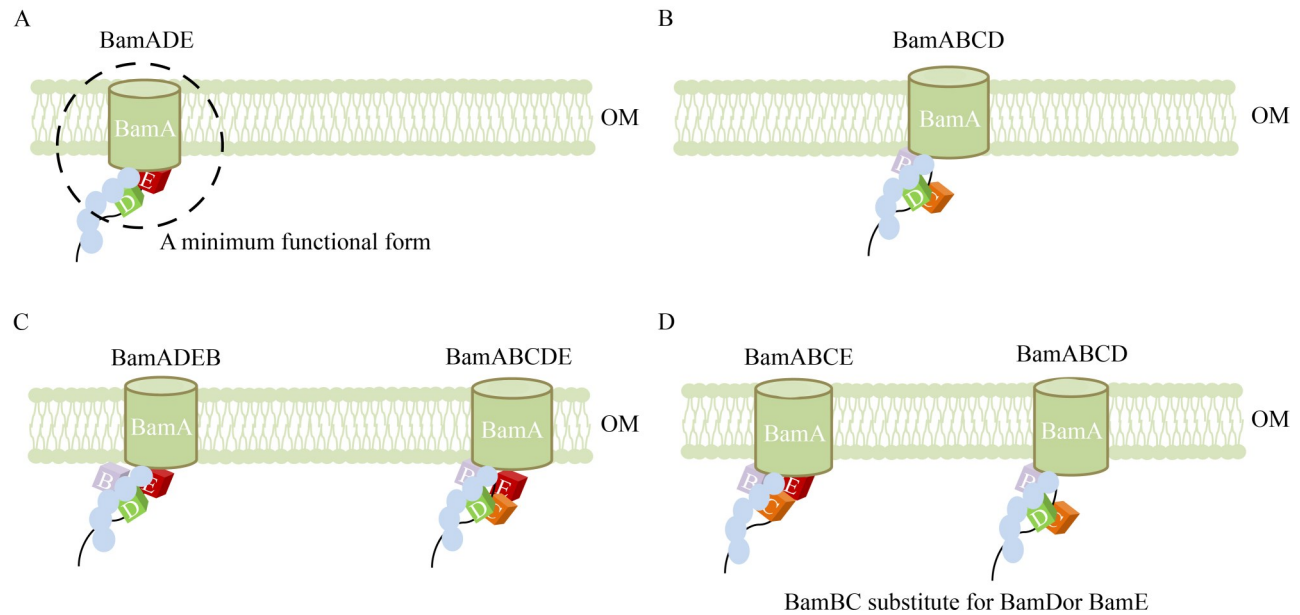


图4 大肠杆菌BAM复合物的功能单位。A: BamADE构成了大肠杆菌BAM复合物组装OMPs的有效最小功能形式; B: 基于BamADE最小形式, BamB和BamC均促进了OMPs的组装效率; C: BamB和BamC在OMPs的组装中具有冗余功能, 它们可以相互协作, 分别替代BamD或BamE的功能; D: 由BamA-E 5个蛋白组成的完整的BAM复合物实现了OMPs的正确组装^[12]。

Figure 4 Known functional forms of the *Escherichia coli* BAM complex. A: BamADE constitutes the minimum functional form of the *E. coli* BAM complex required for assembling OMPs; B: Based on the minimal BamADE form, both BamB and BamC promote the assembly efficiency of OMPs; C: BamB and BamC exhibit redundant functions in OMP assembly, and both together could cooperate and substitute for the function of BamD or BamE, respectively; D: The complete BAM complex, composed of the five proteins BamA-E, enables the correct assembly of OMPs^[12].

5 靶向 BAM 复合物相关药物的筛选

OMPs 在细菌营养摄取、黏附、信号传导以及介导毒力因子传播等关键生理过程中发挥重要作用, 其生物合成由 BAM 复合物介导并定位于外膜。BAM 复合物位于细胞的外膜, 具有外膜定位的靶向可及性, 更易被药物接触, 而且其在所有革兰氏阴性菌中均具有保守性和必需性^[20]。因此, BAM 复合物成为近年来新型抗菌药物研发的备受关注的靶点^[53]。

BamA 和 BamD 是 BAM 复合物发挥正常功能所必需的核心组分, 目前研究的靶向 BAM 复

合物的药物靶点主要集中在 BamA 和 BamD, 仅发现一个靶点是 BamB、BamE 的小分子, 尚未发现靶向 BamC 的药物^[54-55]。靶向 BAM 复合物的药物类型主要有肽、小分子和抗体等。

比较有代表性的肽有 darobactin A、JB-95 以及多种模拟肽等。Darobactin A 从线虫共生体发光杆菌的浓缩上清液中提取获得, 这是过去 60 年来首次发现的一种能在革兰氏阴性菌上发挥作用的新抗生素, 对耐药大肠杆菌和肺炎克雷伯氏菌的最小抑菌浓度 (minimal inhibitory concentration, MIC) 为 2 $\mu\text{g}/\text{mL}$, 其与 OMPs 竞争结合 BamA, 从而阻止新生 OMPs 的插膜, 引起细菌的死亡^[56]。后续发现了 darobactin A 的同

源类似物 dynobactin A, 同样以 BamA 为靶点能表现出更强的抑菌活性^[57]。JB-95 是一种 β 发夹大环肽, 对标准大肠杆菌的 MIC 为 0.15 $\mu\text{g}/\text{mL}$, 其抑菌机制仍需要进一步研究, 推测是通过与 BamA 和 LptD 发生相互作用来发挥抑菌效果^[58]。有研究利用 mRNA 展示技术筛选出能与 BamA 高亲和力结合的环状肽, 其可阻断 OMPs 的组装, 抑制 BAM 缺陷型 *E. coli* 菌株的生长^[59]。利用功能蛋白质组学方法发现从非洲爪蟾体内分离的经典抗菌肽 Maganin-2 与 BamA 可形成稳定复合物, 且两者具有高亲和力, 经 Maganin-2 处理后 OMPs 合成量随时间推移逐步下降^[60]。近期, 有研究构建了一种体外大环化合物筛选平台, 通过使用不同膜模拟制剂成功筛选出能将 BAM 复合物捕获在极端构象状态的杀菌肽 PTB1 和 PTB2, PTB1 将 BamA 锁定于闭合侧向门构象, PTB2 靶向管腔内结合位点使 BamA 陷入开放侧向门构象。PTB1 对野生型 *E. coli* 的 MIC 为 25 $\mu\text{mol}/\text{L}$, 对野生型肺炎克雷伯氏菌及阴沟肠杆菌的 MIC 介于 25–100 $\mu\text{mol}/\text{L}$, PTB1 对野生型 *E. coli* 的 MIC 为 2 $\mu\text{mol}/\text{L}$ ^[61]。

能抑制 BAM 复合物功能的小分子主要有硝唑尼特(nitazoxanide, NTZ)、MRL-494 和 IMB-H4 等。NTZ 是合成硝基噻唑水杨酰胺化合物, 通过与 BamB、BamD、BamE 相互作用从而抑制 BAM 复合物转运 FimD 和 PapC 2 种 usher 蛋白, 影响纤毛生成并最终干扰细菌黏附宿主细胞从而达到抑菌效果^[55]。MRL-494 可以抑制多种细菌生长, 对 *E. coli* 的 MIC 为 25 $\mu\text{mol}/\text{L}$, MRL-494 以 BamA 为靶点能够抑制 OMPs 的组装, 从而造成未折叠的底物蛋白在周质空间堆积, 引发 sigmaE 应激反应, 使能正常发挥功能的 OMPs 含量降低, 外膜完整性被破坏, 从而抑制阴性菌的生长; IMB-H4 是 5-硝基咪喃衍生物, 对于 *E. coli* ATCC25922、鲍氏不动杆菌和铜绿假单胞菌的 MIC 为 4 $\mu\text{g}/\text{mL}$, 对肺炎克雷伯氏菌的 MIC 为 32 $\mu\text{g}/\text{mL}$ ^[62]。IMB-H4 能够破坏 BamA 与 BamD 的相互作用, 从而影响 BamA 的折叠

以实现其抗菌活性。IMB-H4 处理后用溴化乙锭检测发现膜通透性增加, 表明膜结构被破坏^[54]。Wei 等^[63]前期使用亲和超滤联合高效液相色谱筛选以 BamA 和 BamD 为靶标的小分子化合物时发现, 甘草查尔酮 A 对 BamA 和 BamD 具有良好的亲和力, 可以抑制含有 BAM 复合物体外对 OmpA 的插膜能力, 当甘草查尔酮 A 浓度为 128 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 时其抑制效率可以达到 80%。遗憾的是, 后续的抗生素敏感实验未发现其对细菌生长的抑制作用。虽然甘草查尔酮 A 无明显的抑菌活性, 但其可以破坏细胞膜完整性这一特点为其与其他抗生素的联合及充当增敏剂辅助其他药物发挥作用提供了一定基础, 而且所建立的亲和超滤联合高效液相筛选新型抗生素的方法证实是可行的。

靶向 BAM 复合物的抗体主要集中在 BamA 靶点。研究者在 1 500 多种针对 BamA 的抗体库中筛选出了 7 种能够抑制 ΔwaaD 大肠杆菌生长的抗体^[64]。单克隆抗体 MAB1 能够与 BamA 的胞外环 L4 结合, 诱导 sigmaE 应激反应, 下调 OMPs 的表达水平。MAB1 的抑菌效果与膜流动性有较强的相关性, 膜流动性较差时 MAB1 的抗生素活性会显著降低, 其对于野生型大肠杆菌不具备抗菌活性, 可与其他抗生素联合使用^[64]。除单克隆抗体外, 纳米抗体 Nano E6 和 Nano E7 也具有抗菌活性。Nano E6 能够结合 BamA 的 L4、Nano E7 结合 BamA 的 L3 和 L6 使 BamA 保持向内打开的构象, 从而大大削弱 BAM 复合物的功能, 破坏细菌的外膜结构从而引起细菌死亡^[65]。

以 BamA 为靶点进行疫苗的研发也成为应对抗生素耐药危机的一种途径。研究者开发了包含 BamA、FimD 和 Rhs 这 3 个肽表位的嵌合蛋白的疫苗, 能够预防耐替加环素的鲍氏不动杆菌的感染^[66]。此外, 将纯化的鲍氏不动杆菌的 BamA 蛋白注射进小鼠体内能够触发强烈的免疫反应, BamA 免疫的小鼠血清能够体外杀死多重耐药的鲍氏不动杆菌^[67]。将 BamA 桶状结

构域纯化后免疫小鼠, 发现小鼠中性粒细胞对大肠杆菌的杀伤力增加, BamA 免疫小鼠在接受致死量大肠杆菌感染时其存活率能达到 80%, 而对照组仅为 20%; 该研究表明, 重组 BamA 疫苗预防致病性大肠杆菌感染效果理想^[68]。

6 总结与展望

当前对 BAM 复合物的研究主要集中于大肠杆菌, 近期研究表明仅 BamADE 即可实现 OMPs 如 OmpA 和 BamA 的组装功能, *E. coli* 最小功能单位的发现为未来开发新型抗生素的靶点研究提供了简化的思路。然而, 对于辅助亚基 BamB 和 BamC 是如何协助最小功能单元 BamADE 完成 OMPs 的折叠与膜整合目前尚缺乏高时空分辨的动态模型。未来的研究可分别对 BAM 不同组合的功能单元的结构进行解析, 以进一步探究这些亚基在底物选择、复合物稳定性以及 OMPs 插膜中的功能, 为针对辅助亚基的小分子抑制剂提供思路。

由于不同革兰氏阴性菌的 BAM 复合物亚基组成存在显著差异, 从大肠杆菌研究中揭示的 OMPs 的组装与组织原则是否广泛适用于其他革兰氏阴性菌的 OMPs 尚未得知。引发莱姆病的致病性螺旋体 *B. burgdorferi*, 其 BAM 复合物仅由 BamA、BamB 和 BamD 亚基组成, 同时, 该菌中还存在易位和组装模块(translocation and assembly module, TAM), TAM 包含 BamA 的同源蛋白 TamA 以及内膜蛋白 TamB; 研究发现 *B. burgdorferi* 的 BamA 与 TamB 之间存在相互作用, 这些发现揭示了双层膜细菌中 OMPs 组装机制的复杂^[69]。因此, 系统地比较不同细菌中 BAM 复合物的核心功能单元与辅助亚基的作用模式有助于揭示其进化保守性与物种特异性, 为开发窄谱抗菌药物提供理论依据。

作者贡献声明

王清: 撰写论文, 收集数据, 完成呈现;
韩文字: 提出概念, 撰写论文, 进一步对文章

润色; 李清蓉: 对论文撰写提供思路; 赵乐怡: 图片编辑; 张涵清: 收集数据, 整合文献; 郭昀丽: 审核图片信息和文献内容; 秦有才: 审阅论文, 并提供修改意见; 梁鑫鑫: 修改论文格式, 英文润色; 范恩国: 对论文撰写提供了思路及指导, 并对论文修改提供了建议; 储引娣: 对论文撰写提供了思路及指导, 审阅论文。

作者利益冲突公开声明

作者声明不存在任何可能会影响本文所报告工作的已知经济利益或个人关系。

参考文献

- [1] BOS MP, TOMMASSEN J. Biogenesis of the Gram-negative bacterial outer membrane[J]. *Current Opinion in Microbiology*, 2004, 7(6): 610-616.
- [2] NIKAIDO H, NAKAE T. The outer membrane of Gram-negative bacteria[J]. *Advances in Microbial Physiology*, 1980, 20: 163-250.
- [3] KLEBBA PE, NEWTON SM. Mechanisms of solute transport through outer membrane porins: burning down the house[J]. *Current Opinion in Microbiology*, 1998, 1(2): 238-247.
- [4] RAPOPORT TA. Protein translocation across the eukaryotic endoplasmic reticulum and bacterial plasma membranes[J]. *Nature*, 2007, 450(7170): 663-669.
- [5] SKLAR JG, WU T, KAHNE D, SILHAVY TJ. Defining the roles of the periplasmic chaperones SurA, Skp, and DegP in *Escherichia coli*[J]. *Genes & Development*, 2007, 21(19): 2473-2484.
- [6] JANSEN KB, BAKER SL, SOUSA MC. Crystal structure of BamB bound to a periplasmic domain fragment of BamA, the central component of the β -barrel assembly machine[J]. *Journal of Biological Chemistry*, 2015, 290(4): 2126-2136.
- [7] XU Q, GUO M, YU FY. β -barrel assembly machinery (BAM) complex as novel antibacterial drug target[J]. *Molecules*, 2023, 28(9): 3758.
- [8] BAELEN S, DEWITTE F, CLANTIN B, VILLERET V. Structure of the secretion domain of HxuA from *Haemophilus influenzae*[J]. *Acta Crystallographica Section F, Structural Biology and Crystallization Communications*, 2013, 69(Pt 12): 1322-1327.
- [9] ANWARI K, WEBB CT, POGGIO S, PERRY AJ, BELOUSOFF M, CELIK N, RAMM G, LOVERING A, SOCKETT RE, SMIT J, JACOBS-WAGNER C, LITHGOW T. The evolution of new lipoprotein subunits of the bacterial outer membrane BAM complex. *Molecular Microbiology*, 2012, 84(5): 832-844.
- [10] KAUR H, JAKOB RP, MARZINEK JK, GREEN R, IMAI Y, BOLLA JR, AGUSTONI E, ROBINSON CV, BOND PJ, LEWIS K, MAIER T, HILLER S. The

- antibiotic darobactin mimics a β -strand to inhibit outer membrane insertase[J]. *Nature*, 2021, 593(7857): 125-129.
- [11] HAN L, ZHENG JG, WANG Y, YANG X, LIU YQ, SUN CQ, CAO BH, ZHOU HZ, NI DC, LOU JZ, ZHAO YF, HUANG YH. Structure of the BAM complex and its implications for biogenesis of outer-membrane proteins[J]. *Nature Structural & Molecular Biology*, 2016, 23(3): 192-196.
- [12] WANG Z, CHU YD, LI QR, HAN XC, ZHAO LY, ZHANG HQ, CAI K, ZHANG XY, WANG XY, QIN YC, FAN EG. A minimum functional form of the *Escherichia coli* BAM complex constituted by BamADE assembles outer membrane proteins *in vitro*[J]. *Journal of Biological Chemistry*, 2024, 300(6): 107324.
- [13] ESTRADA MALLARINO L, FAN EG, ODERMATT M, MÜLLER M, LIN MS, LIANG J, HEINZELMANN M, FRITSCHÉ F, APELL HJ, WELTE W. *TtOmp85*, a β -barrel assembly protein, functions by barrel augmentation[J]. *Biochemistry*, 2015, 54(3): 844-852.
- [14] WEBB CT, HEINZ E, LITHGOW T. Evolution of the β -barrel assembly machinery[J]. *Trends in Microbiology*, 2012, 20(12): 612-620.
- [15] TATA M, KONOVALOVA A. Improper coordination of BamA and BamD results in Bam complex jamming by a lipoprotein substrate[J]. *mBio*, 2019, 10(3): e00660-19.
- [16] MA XD, WANG QQ, LI YW, TAN P, WU HY, WANG PR, DONG X, HONG L, MENG GY. How BamA recruits OMP substrates *via* poly-POTRAs domain[J]. *FASEB Journal*, 2019, 33(12): 14690-14702.
- [17] LIU LN, TANG SJ, LIU TT, ZHANG ZH, WANG XF, BILAL M, LIU S, LUO HZ, ZHAO YP, DUAN XG. Transcriptomic analysis approach towards an improved tolerance of *Escherichia coli* to gallic acid stress[J]. *Archives of Microbiology*, 2023, 205(12): 372.
- [18] HART EM, SILHAVY TJ. Functions of the BamBCDE lipoproteins revealed by bypass mutations in BamA[J]. *Journal of Bacteriology*, 2020, 202(21): e00401-20.
- [19] VESTERGAARD M, FREES D, INGEMER H. Antibiotic resistance and the MRSA problem[J]. *Microbiology Spectrum*, 2019, 7(2): 10.1128/microbiolspec.gpp3-10.1128/microbiolspec.0057-2018.
- [20] KONOVALOVA A, KAHNE DE, SILHAVY TJ. Outer membrane biogenesis[J]. *Annual Review of Microbiology*, 2017, 71: 539-556.
- [21] COX G, WRIGHT GD. Intrinsic antibiotic resistance: mechanisms, origins, challenges and solutions[J]. *International Journal of Medical Microbiology*, 2013, 303(6/7): 287-292.
- [22] BAMERT RS, LUNDQUIST K, HWANG H, WEBB CT, SHIOTA T, STUBENRAUCH CJ, BELOUSOFF MJ, GOODE RJA, SCHITTENHELM RB, ZIMMERMAN R, JUNG M, GUMBART JC, LITHGOW T. Structural basis for substrate selection by the translocation and assembly module of the β -barrel assembly machinery[J]. *Molecular Microbiology*, 2017, 106(1): 142-156.
- [23] LEE J, SUTTERLIN HA, WZOREK JS, MANDLER MD, HAGAN CL, GRABOWICZ M, TOMASEK D, MAY MD, HART EM, SILHAVY TJ, KAHNE D. Substrate binding to BamD triggers a conformational change in BamA to control membrane insertion[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2018, 115(10): 2359-2364.
- [24] BAKELAR J, BUCHANAN SK, NOINAJ N. The structure of the β -barrel assembly machinery complex[J]. *Science*, 2016, 351(6269): 180-186.
- [25] GUNASINGHE SD, SHIOTA T, STUBENRAUCH CJ, SCHULZE KE, WEBB CT, FULCHER AJ, DUNSTAN RA, HAY ID, NADERER T, WHELAN DR, BELL TDM, ELGASS KD, STRUGNELL RA, LITHGOW T. The WD40 protein BamB mediates coupling of BAM complexes into assembly precincts in the bacterial outer membrane[J]. *Cell Reports*, 2018, 23(9): 2782-2794.
- [26] MALINVERNI JC, WERNER J, KIM S, SKLAR JG, KAHNE D, MISRA R, SILHAVY TJ. YfiO stabilizes the YaeT complex and is essential for outer membrane protein assembly in *Escherichia coli*[J]. *Molecular Microbiology*, 2006, 61(1): 151-164.
- [27] FENN KL, HORNE JE, CROSSLEY JA, BÖHRINGER N, HORNE RJ, SCHÄBERLE TF, CALABRESE AN, RADFORD SE, RANSON NA. Outer membrane protein assembly mediated by BAM-SurA complexes[J]. *Nature Communications*, 2024, 15: 7612.
- [28] SKLAR JG, WU T, GRONENBERG LS, MALINVERNI JC, KAHNE D, SILHAVY TJ. Lipoprotein SmpA is a component of the YaeT complex that assembles outer membrane proteins in *Escherichia coli*[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2007, 104(15): 6400-6405.
- [29] WU T, MALINVERNI J, RUIZ N, KIM S, SILHAVY TJ, KAHNE D. Identification of a multicomponent complex required for outer membrane biogenesis in *Escherichia coli*[J]. *Cell*, 2005, 121(2): 235-245.
- [30] KUMAR S, KONOVALOVA A. BamE directly interacts with BamA and BamD coordinating their functions[J]. *Molecular Microbiology*, 2023, 120(3): 397-407.
- [31] GU YH, LI HY, DONG HH, ZENG Y, ZHANG ZY, PATERSON NG, STANSFELD PJ, WANG ZS, ZHANG YZ, WANG WJ, DONG CJ. Structural basis of outer membrane protein insertion by the BAM complex[J]. *Nature*, 2016, 531(7592): 64-69.
- [32] IADANZA MG, HIGGINS AJ, SCHIFFRIN B, CALABRESE AN, BROCKWELL DJ, ASHCROFT AE, RADFORD SE, RANSON NA. Lateral opening in the intact β -barrel assembly machinery captured by cryo-EM[J]. *Nature Communications*, 2016, 7: 12865.
- [33] TATA M, KUMAR S, LACH SR, SAHA S, HART EM, KONOVALOVA A. High-throughput suppressor screen demonstrates that RcsF monitors outer membrane integrity and not Bam complex function[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2021, 118(32): e2100369118.
- [34] ARNOLD T, ZETH K, LINKE D. *Omp85* from the thermophilic cyanobacterium *Thermosynechococcus elongatus* differs from proteobacterial *Omp85* in structure and domain composition[J]. *Journal of Biological Chemistry*, 2010, 285(23): 18003-18015.
- [35] RICCI DP, SILHAVY TJ. The Bam machine: a molecular

- cooper[J]. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Biomembranes*, 2012, 1818(4): 1067-1084.
- [36] LENHART TR, KENEDY MR, YANG XL, PAL U, AKINS DR. BB0324 and BB0028 are constituents of the *Borrelia burgdorferi* β -barrel assembly machine (BAM) complex[J]. *BMC Microbiology*, 2012, 12: 60.
- [37] THEWASANO N, GERMANY EM, MARUNO Y, NAKAJIMA Y, SHIOTA T. Categorization of *Escherichia coli* outer membrane proteins by dependence on accessory proteins of the β -barrel assembly machinery complex[J]. *Journal of Biological Chemistry*, 2023, 299(7): 104821.
- [38] SHEN CR, CHANG SH, LUO QH, CHAN KC, ZHANG ZB, LUO BN, XIE T, LU GW, ZHU XF, WEI XW, DONG CJ, ZHOU RH, ZHANG X, TANG XD, DONG HH. Structural basis of BAM-mediated outer membrane β -barrel protein assembly[J]. *Nature*, 2023, 617(7959): 185-193.
- [39] GATSOS X, PERRY AJ, ANWARI K, DOLEZAL P, WOLYNEC PP, LIKIĆ VA, PURCELL AW, BUCHANAN SK, LITHGOW T. Protein secretion and outer membrane assembly in *Alphaproteobacteria*[J]. *FEMS Microbiology Reviews*, 2008, 32(6): 995-1009.
- [40] SIKORSKI RS, BOGUSKI MS, GOEBL M, HIETER P. A repeating amino acid motif in CDC23 defines a family of proteins and a new relationship among genes required for mitosis and RNA synthesis[J]. *Cell*, 1990, 60(2): 307-317.
- [41] DOYLE MT, JIMAH JR, DOWDY T, OHLEMACHER SI, LARION M, HINSHAW JE, BERNSTEIN HD. Cryo-EM structures reveal multiple stages of bacterial outer membrane protein folding[J]. *Cell*, 2022, 185(7): 1143-1156.e13.
- [42] HUTCHINGS MI, TRUMAN AW, WILKINSON B. Antibiotics: past, present and future[J]. *Current Opinion in Microbiology*, 2019, 51: 72-80.
- [43] COOK MA, WRIGHT GD. The past, present, and future of antibiotics[J]. *Science Translational Medicine*, 2022, 14(657): eabo7793.
- [44] KOENIG P, MIRUS O, HAARMANN R, SOMMER MS, SINNING I, SCHLEIFF E, TEWS I. Conserved properties of polypeptide transport-associated (POTRA) domains derived from cyanobacterial Omp85[J]. *Journal of Biological Chemistry*, 2010, 285(23): 18016-18024.
- [45] SCHULZ GE. β -barrel membrane proteins[J]. *Current Opinion in Structural Biology*, 2000, 10(4): 443-447.
- [46] NOINAJ N, GUMBART JC, BUCHANAN SK. The β -barrel assembly machinery in motion[J]. *Nature Reviews Microbiology*, 2017, 15(4): 197-204.
- [47] TOMASEK D, KAHNE D. The assembly of β -barrel outer membrane proteins[J]. *Current Opinion in Microbiology*, 2021, 60: 16-23.
- [48] WHITE P, HAYSOM SF, IADANZA MG, HIGGINS AJ, MACHIN JM, WHITEHOUSE JM, HORNE JE, SCHIFFRIN B, CARPENTER-PLATT C, CALABRESE AN, STOREK KM, RUTHERFORD ST, BROCKWELL DJ, RANSON NA, RADFORD SE. The role of membrane destabilisation and protein dynamics in BAM catalysed OMP folding[J]. *Nature Communications*, 2021, 12: 4174.
- [49] GOPINATH A, RATH T, MORGNER N, JOSEPH B. Lateral gating mechanism and plasticity of the β -barrel assembly machinery complex in micelles and *Escherichia coli*[J]. *PNAS Nexus*, 2024, 3(2): pgae019.
- [50] SCHIFFRIN B, CROSSLEY JA, WALKO M, MACHIN JM, KHAN GN, MANFIELD IW, WILSON AJ, BROCKWELL DJ, FESSL T, CALABRESE AN, RADFORD SE, ZHURAVLEVA A. Dual client binding sites in the ATP-independent chaperone SurA[J]. *Nature Communications*, 2024, 15: 8071.
- [51] VERTOMMEN D, RUIZ N, LEVERRIER P, SILHAVY TJ, COLLET JF. Characterization of the role of the *Escherichia coli* periplasmic chaperone SurA using differential proteomics[J]. *Proteomics*, 2009, 9(9): 2432-2443.
- [52] SCHIFFRIN B, MACHIN JM, KARAMANOS TK, ZHURAVLEVA A, BROCKWELL DJ, RADFORD SE, CALABRESE AN. Dynamic interplay between the periplasmic chaperone SurA and the BAM complex in outer membrane protein folding[J]. *Communications Biology*, 2022, 5: 560.
- [53] OVERLY COTTOM C, STEPHENSON R, WILSON L, NOINAJ N. Targeting BAM for novel therapeutics against pathogenic Gram-negative bacteria[J]. *Antibiotics*, 2023, 12(4): 679.
- [54] LI Y, ZHU XH, ZHANG J, LIN Y, YOU XF, CHEN MH, WANG YC, ZHU NY, SI SY. Identification of a compound that inhibits the growth of Gram-negative bacteria by blocking BamA-BamD interaction[J]. *Frontiers in Microbiology*, 2020, 11: 1252.
- [55] PSONIS JJ, CHAHALES P, HENDERSON NS, RIGEL NW, HOFFMAN PS, THANASSI DG. The small molecule nitazoxanide selectively disrupts BAM-mediated folding of the outer membrane usher protein[J]. *Journal of Biological Chemistry*, 2019, 294(39): 14357-14369.
- [56] IMAI Y, MEYER KJ, IINISHI A, FAVRE-GODAL Q, GREEN R, MANUSE S, CABONI M, MORI M, NILES S, GHIGLIERI M, HONRAO C, MA XY, GUO JJ, MAKRIYANNIS A, LINARES-OTOYA L, BÖHRINGER N, WUISAN ZG, KAUR H, WU RR, MATEUS A, et al. A new antibiotic selectively kills Gram-negative pathogens[J]. *Nature*, 2019, 576(7787): 459-464.
- [57] MILLER RD, IINISHI A, MODARESI SM, YOO BK, CURTIS TD, LARIVIERE PJ, LIANG LB, SON S, NICOLAU S, BARGABOS R, MORRISSETTE M, GATES MF, PITT N, JAKOB RP, RATH P, MAIER T, MALYUTIN AG, KAISER JT, NILES S, KARAVAS B, et al. Computational identification of a systemic antibiotic for Gram-negative bacteria[J]. *Nature Microbiology*, 2022, 7(10): 1661-1672.
- [58] URFER M, BOGDANOVIC J, LO MONTE F, MOEHLE K, ZERBE K, OMASITS U, AHRENS CH, PESSI G, EBERL L, ROBINSON JA. A peptidomimetic antibiotic targets outer membrane proteins and disrupts selectively the outer membrane in *Escherichia coli*[J]. *Journal of Biological Chemistry*, 2016, 291(4): 1921-1932.

- [59] WALKER ME, ZHU W, PETERSON JH, WANG H, PATTESON J, SORIANO A, ZHANG H, MAYHOOD T, HOU Y, MESBAHI-VASEY S, GU MG, FROST J, LU J, JOHNSTON J, HIPOLITO C, LIN SN, PAINTER RE, KLEIN D, WALJI A, WEINGLASS A, et al. Antibacterial macrocyclic peptides reveal a distinct mode of BamA inhibition[J]. *Nature Communications*, 2025, 16: 3395.
- [60] Di SOMMA A, CANÉ C, MORETTA A, ILLIANO A, PINTO G, CAVASSO D, AMORESANO A, PADUANO L, DUILIO A. The antimicrobial peptide Magainin-2 interacts with BamA impairing folding of *E. coli* membrane proteins[J]. *Frontiers in Chemistry*, 2022, 10: 1013788.
- [61] SUN DW, STOREK KM, TEGUNOV D, YANG Y, ARTHUR CP, JOHNSON M, QUINN JG, LIU WJ, HAN GH, GIRGIS HS, ALEXANDER MK, MURCHISON AK, SHRIVER S, TAM C, IJIRI H, INABA H, SANO T, YANAGIDA H, NISHIKAWA J, HEISE CE, et al. The discovery and structural basis of two distinct state-dependent inhibitors of BamA[J]. *Nature Communications*, 2024, 15: 8718.
- [62] HART EM, MITCHELL AM, KONOVALOVA A, GRABOWICZ M, SHENG J, HAN XQ, RODRIGUEZ-RIVERA FP, SCHWAID AG, MALINVERNI JC, BALIBAR CJ, BODEA S, SI Q, WANG H, HOMSHER MF, PAINTER RE, OGAWA AK, SUTTERLIN H, ROEMER T, BLACK TA, ROTHMAN DM, et al. A small-molecule inhibitor of BamA impervious to efflux and the outer membrane permeability barrier[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2019, 116(43): 21748-21757.
- [63] WEI LW, WANG Z, CHU YD, CAI K, LI W, HUANG PY, QIN YC, LIU DL, ZHUANG XC, GUO MQ, SONG XB, FAN EG. Licochalcone A inhibits the assembly function of β -barrel assembly machinery in *Escherichia coli*[J]. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 2023, 668: 90-95.
- [64] STOREK KM, AUERBACH MR, SHI HD, GARCIA NK, SUN DW, NICKERSON NN, VIJ R, LIN ZH, CHIANG N, SCHNEIDER K, WECKSLER AT, SKIPPINGTON E, NAKAMURA G, SESHASAYEE D, KOERBER JT, PAYANDEH J, SMITH PA, RUTHERFORD ST. Monoclonal antibody targeting the β -barrel assembly machine of *Escherichia coli* is bactericidal[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2018, 115(14): 3692-3697.
- [65] KAUR H, HARTMANN JB, JAKOB RP, ZAHN M, ZIMMERMANN I, MAIER T, SEEGER MA, HILLER S. Identification of conformation-selective nanobodies against the membrane protein insertase BamA by an integrated structural biology approach[J]. *Journal of Biomolecular NMR*, 2019, 73(6): 375-384.
- [66] AHMAD S, RANAGHAN KE, AZAM SS. Combating tigeicycline resistant *Acinetobacter baumannii*: a leap forward towards multi-epitope based vaccine discovery[J]. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, 2019, 132: 1-17.
- [67] SINGH R, CAPALASH N, SHARMA P. Immunoprotective potential of BamA, the outer membrane protein assembly factor, against MDR *Acinetobacter baumannii*[J]. *Scientific Reports*, 2017, 7: 12411.
- [68] GUAN QF, WANG X, WANG XM, TENG D, WANG JH. *In silico* analysis and recombinant expression of BamA protein as a universal vaccine against *Escherichia coli* in mice[J]. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 2016, 100(11): 5089-5098.
- [69] HALL KT, KENEDY MR, JOHNSON DK, HEFTY PS, AKINS DR. A conserved C-terminal domain of TamB interacts with multiple BamA POTRA domains in *Borrelia burgdorferi*[J]. *PLoS One*, 2024, 19(8): e0304839.