



# 梅毒螺旋体的营养物质转运及能量合成相关代谢机制研究

江晗<sup>1</sup>, 谢碧波<sup>1</sup>, 赵思思<sup>1</sup>, 尹卫国<sup>2\*</sup>, 赵飞骏<sup>1\*</sup>

1 南华大学衡阳医学院病原生物学研究所/特殊病原体防控湖南省重点实验室, 湖南 衡阳 421001

2 广东省清远市人民医院分子诊断中心, 广东 清远 511518

江晗, 谢碧波, 赵思思, 尹卫国, 赵飞骏. 梅毒螺旋体的营养物质转运及能量合成相关代谢机制研究. 微生物学报, 2022, 62(1): 57–64.

Jiang Han, Xie Bibo, Zhao Sisi, Yin Weiguo, Zhao Feijun. Metabolic mechanisms of nutrients transport and energy synthesis of *Treponema pallidum*. Acta Microbiologica Sinica, 2022, 62(1): 57–64.

**摘要:** 梅毒螺旋体(*Treponema pallidum*, Tp)是严重危害人类健康的性传播疾病梅毒的病原体, 目前仍难以实现体外人工培养。Tp在感染期间是如何获得足够的能量来完成其复杂的致病过程迄今不明。本文就Tp的葡萄糖转运、糖酵解途径、丙酮酸去路以及NAD<sup>+</sup>再生的研究进展做一综述, 旨在为探索Tp尚未明了的生理代谢机能、突破Tp无法体外人工培养的瓶颈、进一步阐明Tp可能的致病机制和寻找新的临床治疗靶点提供依据。

**关键词:** 梅毒螺旋体; 糖酵解途径; ATP合成; NAD<sup>+</sup>; 丙酮酸

**基金项目:** 国家自然科学基金(81971980); 湖南省出生缺陷协同防治重大专项(2019SK1010); 广东省自然科学基金粤东西北创新人才联合培养项目(2018A030307065)

Supported by the National Natural Science Foundation of China (81971980), by the Major Scientific and Technological Projects for Collaborative Prevention and Control of Birth Defects in Hunan Province (2019SK1010) and by the Guangdong Provincial Natural Science Foundation (2018A030307065)

\*Corresponding authors. E-mail: ZHAO Feijun, nhdzxhfj@163.com; YIN Weiguo, hyyinweiguo@hotmail.com

Received: 24 March 2021; Revised: 28 June 2021; Published online: 7 July 2021

# Metabolic mechanisms of nutrients transport and energy synthesis of *Treponema pallidum*

JIANG Han<sup>1</sup>, XIE Bibo<sup>1</sup>, ZHAO Sisi<sup>1</sup>, YIN Weiguo<sup>2\*</sup>, ZHAO Feijun<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup> Institute of Pathogenic Biology and Key Laboratory of Special Pathogen Prevention and Control of Hunan Province, Hengyang Medical College, University of South China, Hengyang 421001, Hunan, China

<sup>2</sup> Molecular Diagnostic Center, People's Hospital of Qingyuan City, Qingyuan 511518, Guangdong, China

**Abstract:** *Treponema pallidum* is the pathogen of the sexually transmitted disease syphilis that seriously endangers the physical and mental health of humans, and it is still difficult to achieve artificial culture *in vitro*. A longstanding conundrum in *Treponema pallidum* biology concerns how the spirochete generates sufficient energy to fulfill its complex pathogenesis processes during human syphilitic infection. This article describes the metabolic mechanisms of *Treponema pallidum*, such as nutrients transport, glycolysis pathways, and metabolite detours, in order to arouse the attention of researchers and further explore the physiological and metabolic functions of *Treponema pallidum* that are not yet understood, and break the bottleneck of *Treponema pallidum in vitro* artificial culture. To clarify the possible pathogenic mechanism of *Treponema pallidum*, to find new clinical treatment targets to provide reference.

**Keywords:** *Treponema pallidum*; glycolysis pathway; ATP synthesis; NAD<sup>+</sup>; pyruvate

梅毒严重危害人类身心健康，全球梅毒发病率一直居高不下<sup>[1]</sup>。其病原体梅毒螺旋体 (*Treponema pallidum*, Tp) 极具侵袭力，可通过血液、淋巴系统从感染部位迅速扩散至宿主其他多个远端组织器官，并逃避机体免疫系统的清除，可“隐性”引发机体持续性、系统性、多组织器官慢性损伤<sup>[2-3]</sup>。Tp 是一种人体专性寄生菌，基因组序列分析表明其 DNA 复制、转录、翻译和修复系统完整，但缺乏许多编码新陈代谢的基因，生物合成能力有限，需要从宿主摄取能量和多种营养成分，故代谢和生物合成活性减至最低<sup>[4]</sup>。Tp 包含一个功能齐全的糖酵解途径，但缺乏脂肪酸  $\beta$  氧化相关基因，葡萄糖缺乏时 Tp 运动能力丧失，恢复葡萄糖供应时运动能力迅速恢复，葡萄糖可能是 Tp 新陈代谢的主要能量来源，机体血液和组织液中葡萄糖可满足 Tp 对糖酵解起始物的需求。尽管近年来 Tp 体外细胞培养有一定突破<sup>[5-7]</sup>，

但目前仍无法用培养基对 Tp 进行人工培养，更无法对其进行基因操作研究，从而严重阻碍对 Tp 新陈代谢机理、致病机制<sup>[8-10]</sup>及疫苗相关的研究<sup>[11-13]</sup>。本文主要针对 Tp 的葡萄糖摄取、糖酵解途径及代谢产物去路等代谢机制进行阐述和整合，结合最新的研究依据和观点，以期唤起科研工作者重新关注并进一步探索 Tp 尚未明了的代谢机能，突破 Tp 体外人工培养的瓶颈，为进一步阐明 Tp 可能的致病机制、寻找新的临床治疗靶点及疫苗的研发提供参考借鉴。

## 1 Tp 的营养物质转运

Tp 外膜上的非选择性通道和胞质膜上的 ABC 转运蛋白、共转运蛋白共同介导了营养物质从外部环境向胞内转运的过程<sup>[3]</sup>。营养物质通过非选择性通道时为被动扩散，无需消耗能量。环境中高浓度的葡萄糖可经 Tp 非选择性孔蛋白(如 TprC, 又称 Tp0117)被动扩散，通过

Tp 菌体外膜转运至 Tp 细胞周质<sup>[14-15]</sup>。ABC (ATP-binding cassette) 转运蛋白是蛋白质的超家族, 可通过细胞膜转运营养物质和次生代谢产物, 通过 ABC 转运蛋白时需消耗 ATP, 通过同向转运体需要 H<sup>+</sup> 或 Na<sup>+</sup> 的化学梯度差协同支持<sup>[16]</sup>。如长链脂肪酸(LCFA)经多聚脂蛋白复合物(TatT-TatP, 又称 Tp0956-Tp0957)的转运需要 H<sup>+</sup>、Na<sup>+</sup> 梯度差协同作用<sup>[17-18]</sup>, 此外还有天冬氨酸和谷氨酸协同转运体(Tp0555 和 Tp0934), 丙氨酸和甘氨酸协同转运体(Tp0414 和 Tp0998)以及支链氨基酸的协同转运体(Tp0265)<sup>[3]</sup>。用于摄取蛋氨酸的 MetI-MetN-MetQ 是一种 ABC 转运蛋白<sup>[19]</sup>, 虽然 Tp 的基因组编码了寡肽转运蛋白的底物结合蛋白(OppA, 也称为 Tp0585)、组氨酸转运蛋白的底物结合蛋白(HisJ, 也称为 Tp0308)和极性氨基酸转运蛋白的底物结合蛋白(Tp0309), 但并未发现它们的转运蛋白的通透酶和 ATP 结合蛋白<sup>[4]</sup>。Tp 对葡萄糖的转运同样至关重要, 葡萄糖经高亲和力转运载体 MglB-2 ABC 转运蛋白(由 Tp0545、Tp0684、Tp0685 和 Tp0686 共同编码组成的蛋白复合体)跨越细胞质膜进入菌体细胞质<sup>[20-22]</sup>。此外, 生物信息学预测 Tp 还可能通过一种糖类 ABC 渗透酶(Tp0075-Tp0076)转运葡萄糖, 其有两个不同的底物结合蛋白(UgpB 和 MsmE, 又称 Tp0074 和 Tp0737)和一个 ATP 结合亚基(Tp0804)<sup>[4]</sup>。有趣的是, Tp 的外膜蛋白(OMP)允许营养吸收和最终代谢产物输出, 并且几种特定的 ABC 转运蛋白催化糖的摄取, 这被认为是 Tp 寄生生活方式的关键<sup>[23]</sup>。这些研究表明, ABC 转运蛋白、ATP 的生成和化学渗透梯度的维持对 Tp 摄取葡萄糖等营养物质来说至关重要, 然而相关的生理机制仍有待进一步阐明。

## 2 Tp 能量合成的主要途径——糖酵解途径

近期, 越来越多的文献证实了 Tp 仅依靠葡萄糖分解代谢(糖酵解)来产生 ATP<sup>[3-4]</sup>。进入 Tp 胞内的葡萄糖经糖酵解途径, 又称 EMP (Embden Meyerhof-Parnas pathway)途径, 降解为丙酮酸并伴随着 ATP 生成。常规糖酵解过程中有 3 个不可逆的反应, 催化这 3 步反应的酶(己糖激酶、磷酸果糖激酶和丙酮酸激酶)均为糖酵解途径限速酶<sup>[24]</sup>。Tp 基因组中存在糖酵解途径所需所有酶的编码基因, 但与通常 ATP 依赖糖酵解途径不同的是 Tp 使用焦磷酸(PPi)依赖性磷酸果糖激酶和丙酮酸磷酸二激酶替换了糖酵解途径中的磷酸果糖激酶和丙酮酸激酶, 这种改变使得 Tp 可以从底物水平磷酸化中获得更多的 ATP (图 1)。

Tp 的糖酵解途径共经历 10 个主要化学反应(图 1)。①进入 Tp 胞内的葡萄糖首先被己糖激酶(Tp0505)催化生成 6-磷酸葡萄糖, 磷酸根由 ATP 供给。由于 Tp 中 PPi 依赖性磷酸果糖激酶和丙酮酸磷酸二激酶催化的反应为可逆性, 且缺乏磷酸烯醇式丙酮酸(PEP)依赖性磷酸转移酶系统(PTS)通透酶<sup>[17,25]</sup>, Tp 主要通过己糖激酶来调节葡萄糖的摄取。②6-磷酸葡萄糖经葡萄糖-6 磷酸异构酶(Tp0475)催化转变为 6-磷酸果糖。③Tp 使用 PPi 依赖性磷酸果糖激酶(PPi-PFK)代替 ATP 依赖性磷酸果糖激酶(ATP-PFK)催化 6-磷酸果糖磷酸化生成 1,6-二磷酸果糖, 磷酸根由 PPi 供给<sup>[17-18,26]</sup>。ATP-PFK 催化的反应是不可逆的, 是 ATP 依赖糖酵解重要的调节酶, 但 PPi-PFK 催化的反应是可逆的<sup>[17-18]</sup>。Tp 存在两个假定的 PPi-PFK 基因, 一个编码 62.4 kDa 的 PPi-PFK  $\beta$  亚基(TP0542), 另一个编码 50.2 kDa 的 PPi-PFK (TP0108), 目

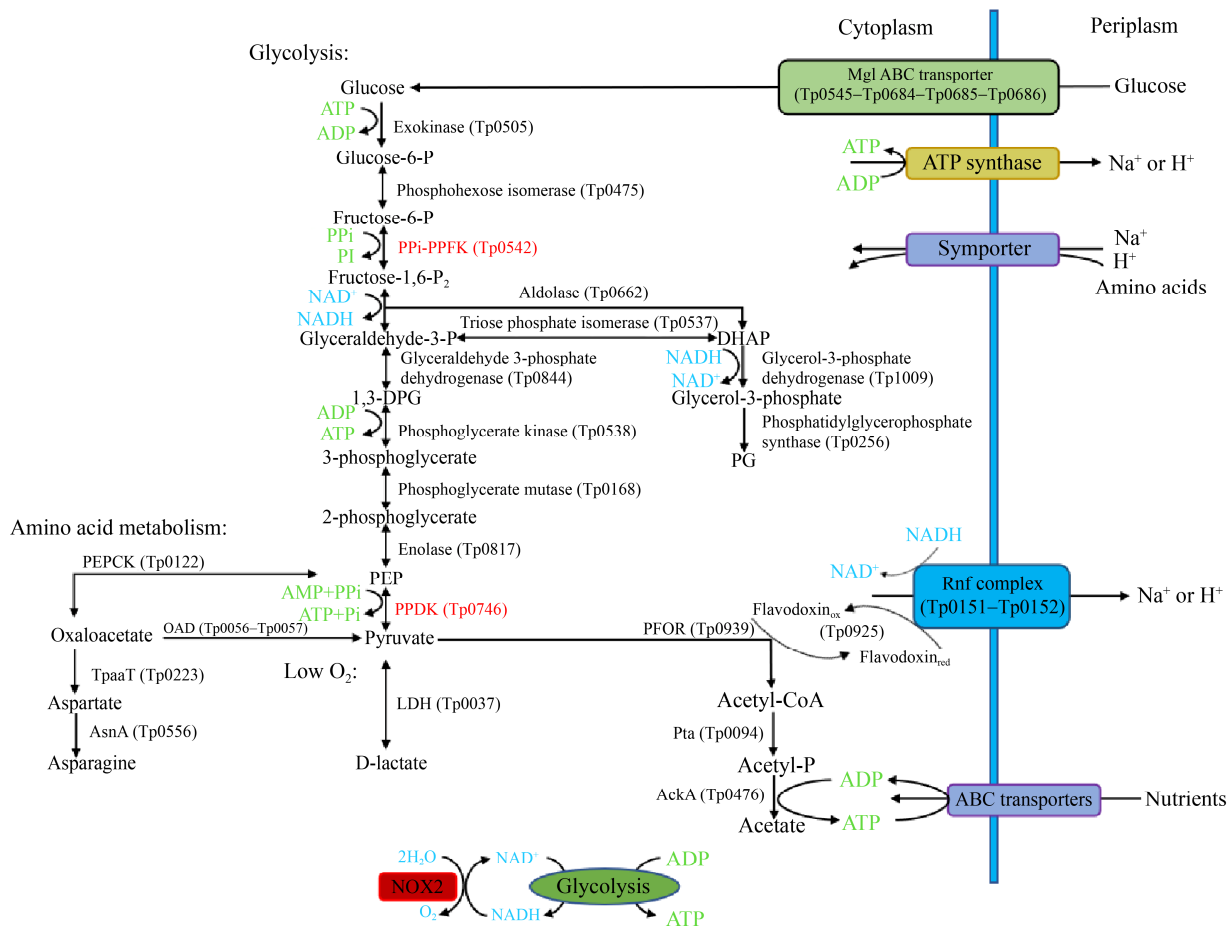


图 1 Tp 糖酵解途径能量产生，氨基酸、脂质生物合成和  $\text{NAD}^+$  的再生<sup>[3]</sup>

Figure 1 Tp glycolysis pathway energy production, amino acid, lipid biosynthesis and  $\text{NAD}^+$  regeneration. 1,3-DPG: 1,3-diphosphoglyceric acid; ABC: ATP-binding cassette; Acetyl-P: acetyl phosphate; AckA: acetate kinase; AsnA: aspartate-ammonia ligase; CoA: coenzyme A; DHAP: dihydroxyacetone phosphate; flavodoxinox: oxidized flavodoxin; flavodoxinred: reduced flavodoxin; Fructose-1,6-P2: fructose 1,6-bisphosphate; Fructose-6-P: fructose 6-phosphate; Glyceraldehyde-3-P: glyceraldehyde 3-phosphate; LDH: D-lactate dehydrogenase; Mgl: methylgalactoside; NOX2: NADH oxidase 2; OAD: oxaloacetate decarboxylase; PFOR: pyruvate-flavodoxin oxidoreductase; PG: phosphatidyl glycerol; Pi: inorganic phosphate; PDK: pyruvate phosphate dikinase; PPFK: phosphofructokinase; PPi: inorganic pyrophosphate; Pta: phosphate acetyl transferase; Tpaat: aspartate aminotransferase.

前已证实 TP0542 编码的 PPI-PPK 具有较大的活性<sup>[4,17-18]</sup>。④1,6-二磷酸果糖在果糖-二磷酸醛缩酶(Tp0662)催化下生成磷酸二羟丙酮和 3-磷酸甘油醛。⑤磷酸二羟丙酮也可经磷酸丙糖异构酶(Tp0537)进一步转变为 3-磷酸甘油醛。至此 1 分子葡萄糖生成 2 分子 3-磷酸甘油醛，ATP 依赖糖酵解途径通过两次磷酸化作用消耗

2 分子 ATP，Tp 糖酵解途径磷酸根一次由 ATP 供给，一次由焦磷酸供给，这就减少了糖酵解途径 ATP 的消耗(表 1)。中间产物磷酸二羟丙酮还可经 3-磷酸甘油脱氢酶(Tp1009)和 NADH 转化为 3-磷酸甘油和  $\text{NAD}^+$ <sup>[26]</sup>。3-磷酸甘油是脂质合成底物之一，在磷脂酰甘油磷酸合成酶(PgsA，又称 Tp0256)催化下可生成磷脂酰甘油

(PG), 磷脂酰甘油是生物膜的重要组成部分。⑥3-磷酸甘油醛在 3-磷酸甘油醛脱氢酶 (Tp0844)催化下进一步氧化脱氢生成 1,3-二磷酸甘油酸,脱下的氢和电子转给脱氢酶的辅酶  $\text{NAD}^+$ 生成  $\text{NADH}$ 。⑦在磷酸甘油酸激酶 (Tp0538)催化下, 1,3-二磷酸甘油酸生成 3-磷酸甘油酸, 磷酸根转移给  $\text{ADP}$  生成  $\text{ATP}$ 。⑧在磷酸甘油酸变位酶(Tp0168)催化下, 3-磷酸甘油酸 C3 位上的磷酸基转变到 C2 位上生成 2-磷酸甘油酸。⑨2-磷酸甘油酸由烯醇化酶 (Tp0817)催化, 脱水生成磷酸烯醇式丙酮酸 (phosphoenolpyruvate, PEP)。⑩磷酸烯醇式丙酮酸在丙酮酸磷酸二激酶(PPDK, Tp0746 编码)催化下生成丙酮酸。催化反应中一个磷酸基团从磷酸烯醇式丙酮酸转移, 另一个磷酸基团从

$\text{PPi}$  转移,  $\text{AMP}$  被磷酸化两次形成  $\text{ATP}$  [18], 由于  $\text{PPi}$  的部分化学能被利用, 与腺苷酸激酶 (ADK, 也称为 TP0595)偶联时, PPDK 催化的反应产生 4 个  $\text{ATP}$ 。 $\text{ATP}$  依赖糖酵解中, 在丙酮酸激酶催化下磷酸烯醇式丙酮酸(PEP)高能磷酸基团转移给  $\text{ADP}$  生成  $\text{ATP}$ , 产生 2 个  $\text{ATP}$ [18](表 1, 图 2)。

真核细胞中一分子葡萄糖经糖酵解途径净生成 2 分子  $\text{ATP}$  (不计算  $\text{NADH}$  和  $\text{FADH}$  产生能量),  $\text{Tp}$  由于利用了  $\text{PPi}$  部分化学能, 一分子葡萄糖经糖酵解途径可净生成 5 分子  $\text{ATP}$ 。比起  $\text{ATP}$  依赖的糖酵解途径,  $\text{Tp}$  能从自身独特的糖酵解途径中获得更多的能量。这或许是因为  $\text{Tp}$  没有编码三羧酸循环和氧化磷酸化相关蛋白基因, 生成的  $\text{NADH}$  和乙酰辅酶 A 无法从中获

表 1 ATP 依赖的糖酵解途径与梅毒螺旋体  $\text{PPi}$  相关糖酵解途径中  $\text{ATP}$  消耗/生成的异同

Table 1 Similarities and differences in  $\text{ATP}$  consumption or production between  $\text{ATP}$  dependent glycolysis pathway and *Treponema pallidum*  $\text{PPi}$ -related glycolysis pathway

$\text{ATP}$	$\text{ATP}$ dependent glycolysis pathway	<i>Treponema pallidum</i> $\text{PPi}$ -related glycolysis pathway
Consumption	$\text{G} + \text{ATP} \rightarrow \text{G-6-P} + \text{ADP}$ exokinase $\text{F-6-P} + \text{ATP} \rightarrow \text{F-1,6-P}_2 + \text{ADP}$ $\text{ATP-PPFK}$	$\text{G} + \text{ATP} \rightarrow \text{G-6-P} + \text{ADP}$ exokinase (Tp0505) $\text{F-6-P} + \text{PPi} \leftrightarrow \text{F-1,6-P}_2 + \text{Pi}$ $\text{PPi-PPFK}$ (Tp0542)
Production	$1,3\text{-DPG} + \text{ADP} \leftrightarrow 3\text{-phosphoglycerate} + \text{ATP}$ phosphoglycerate kinase $\text{PEP} + \text{ADP} \rightarrow \text{Pyruvate} + \text{ATP}$ pyruvate kinase	$1,3\text{-DPG} + \text{ADP} \leftrightarrow 3\text{-phosphoglycerate} + \text{ATP}$ phosphoglycerate kinase (Tp0538) $\text{PEP} + \text{AMP} + \text{PPi} \leftrightarrow \text{Pyruvate} + \text{ATP} + \text{Pi}$ PPDK (Tp0746)

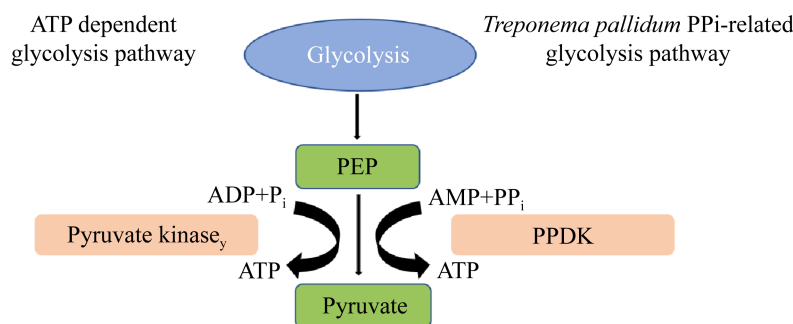


图 2 丙酮酸磷酸二激酶(PPDK)催化反应生成  $\text{ATP}$  (包含腺苷酸激酶反应)与丙酮酸激酶催化反应生成  $\text{ATP}$  对比

Figure 2 Comparison of  $\text{ATP}$  generation catalyzed by pyruvate kinase and pyruvate phosphate dikinase (PPDK) (including adenylate kinase reaction).

得能量(一分子 NADH 经氧化磷酸化生成 2.5 分子 ATP, 一分子乙酰辅酶 A 经三羧酸循环可生成 30 或 32 分子 ATP)。因此, 由于 Tp 最终可生成 ATP 的能力有限, 而其营养物质的转运又多依赖 ATP, 这样独特的生物学特性在很大程度上限制了 Tp 营养物质的获取和新陈代谢的速率。

### 3 Tp 的丙酮酸去路和 $\text{NAD}^+$ 再生

丙酮酸是糖酵解的最终产物, 其是对真核生物和人类代谢的许多方面至关重要的基石分子<sup>[27]</sup>。在有氧环境中, 丙酮酸与辅酶 A 在丙酮酸-黄素氧化还原酶(Tp0939)催化下生成乙酰辅酶 A 和二氧化碳, 电子从丙酮酸转移到黄素氧化还原蛋白(Tp0925), 黄素氧化还原蛋白由氧化型转化为还原型; 还原型黄素氧化还原蛋白在重新氧化过程中推动  $\text{Na}^+/\text{H}^+$ -Rnf 复合体(Tp0151、Tp0152)将  $\text{H}^+$  或  $\text{Na}^+$  逆浓度排出膜外产生电化学梯度, 这一过程伴随  $\text{NAD}^+$  的还原<sup>[28-29]</sup>。因此, 核黄素摄取和核黄素利用对 Tp 代谢和能量产生十分重要, TpN38 (也称为 Tp0298) 的 X 射线结构显示它是核黄素转运蛋白(RfuABCD)的底物结合蛋白<sup>[30]</sup>, 其与黄素腺嘌呤二核苷酸(FAD)、核黄素-5-磷酸(FMN)转移酶(Ftp, 又称 Tp0796)协同作用<sup>[31]</sup>, 以满足 Tp 对黄素辅助因子的巨大需求。Tp 中还存在 2 种 V 型  $\text{H}^+$ -ATP 酶, V 型  $\text{H}^+$ -ATP 酶可消耗 ATP 逆浓度梯度将  $\text{H}^+$  泵出细胞外, 形成跨膜电化学势梯度<sup>[32]</sup>, 膜外  $\text{H}^+$  顺梯度差流入膜内, 该过程耦合 ATP 合酶生成 ATP。此外, 乙酰辅酶 A 在乙酸激酶(AckA, 又称 Tp0476)和磷酸乙酰转移酶(Pta, 又称 Tp0094)作用下转化为乙酸, 产生 ATP, 乙酸是大多数兼性和严格厌氧微生物能量代谢的末端产物之一。Tp 使用 NADH 氧化酶 2 (NOX2, 又称 Tp0921)将分子氧还原为水, NADH 作为电子供体再生为  $\text{NAD}^+$ 。氧供应不足时丙酮酸接

受糖酵解途径中产生的 NADH, 使 NADH 重新氧化为  $\text{NAD}^+$ , D-乳酸转化为丙酮酸最终代谢为乙酸, 该反应由 D-乳酸脱氢酶(LdhD, 又称 Tp0037)催化<sup>[33]</sup>。该反应中的 ATP 通过底物水平磷酸化产生, 该途径可以为 Tp 的生理活动产生额外的 ATP。

Tp 还可以通过丙酮酸和草酰乙酸进行有限的氨基酸代谢(图 1)。Tp 通过磷酸烯醇式丙酮酸羧化激酶(PckA, 又称 Tp0122)和草酰乙酸脱羧酶(OadA-OadB, 又称 Tp0056-Tp0057)使磷酸烯醇式丙酮酸和草酰乙酸、丙酮酸和草酰乙酸相互转换。以谷氨酸作为氨基供体, 草酰乙酸通过天冬氨酸氨基转移酶(AST, 又称 Tp0223)转化为天冬氨酸, 随后天冬氨酸通过天冬酰胺合成酶(AsnA, 又称 Tp0556)转化为天冬酰胺<sup>[34]</sup>。这些研究表明, Tp 通过丙酮酸和其相关分子对代谢发挥重要的作用。

### 4 问题与展望

长期以来, 在梅毒螺旋体中存在一个难题, 即高传染性病原体-梅毒螺旋体如何产生足够的能量来完成人类感染过程中复杂的发病机理。几十年来, 已经假定梅毒螺旋体仅依靠葡萄糖分解代谢(糖酵解)来产生 ATP<sup>[3-4]</sup>。最近, 越来越多的研究表明 Tp 外膜上的非选择性通道和胞质膜上的 ABC 转运蛋白共同介导了葡萄糖从外部环境向胞内的转运。此外, Tp 通过糖酵解途径在底物水平磷酸化中利用 PPI, 生成了更多的高能磷酸基团, 增加了 ATP 的生成。有趣的是, Tp 还可以通过丙酮酸介导能量产生、氨基酸、脂质生物合成和  $\text{NAD}^+$  的再生。但螺旋体的运动性是关键毒力因子, 对宿主的侵袭和传播至关重要, 细菌运动通常取决于丰富的能量产生<sup>[35]</sup>。这与 TP 仅依赖糖酵解的前提有一定的矛盾, 因为糖酵解是一种从葡萄糖中产

生 ATP 严重受限的途径。ATP 的生成和化学渗透梯度的维持对 Tp 的营养摄取来说至关重要, 然而相关的生理机制仍有待进一步阐明。

Tp 的营养来源极度依赖于宿主, 依靠其提供的核酸碱基、脂肪酸、大多数氨基酸和葡萄糖作为能源, 以及在温度、渗透压、氧气和 CO<sub>2</sub> 含量和 pH 值等方面用于维持 Tp 微环境的稳态条件<sup>[7]</sup>。并且 Tp 代谢能力相对其他病原体仍十分有限, 为了逃避宿主的免疫清除, Tp 限制了菌体表面稀有外膜蛋白的种类和数量, 目前已明确的外膜蛋白也只有 Tp92<sup>[8-9]</sup>、Tpr 家族蛋白、黏附素蛋白等寥寥几类<sup>[36]</sup>, 这也在一定程度上影响了 Tp 营养物质的获取和新陈代谢的速率, 从而导致 Tp 的增殖速度很慢(约 30 h)。进一步了解 Tp 相关的代谢机制, 寻找 Tp 生理活动过程中存在的关键蛋白及必需成分, 可能为 Tp 的体外人工培养配制适宜培养基、Tp 的持续性感染机制<sup>[8-10]</sup>及疫苗研发<sup>[11-13]</sup>新靶标的探寻提供参考借鉴。

## 参考文献

- [1] Smolak A, Rowley J, Nagelkerke N, Kassebaum NJ, Chico RM, Korenromp EL, Abu-Raddad LJ. Trends and predictors of syphilis prevalence in the general population: global pooled analyses of 1103 prevalence measures including 136 million syphilis tests. *Clinical Infectious Diseases*, 2017, 66(8): 1184–1191.
- [2] Peeling RW, Mabey DCW. Focus: syphilis. *Nature Reviews Microbiology*, 2004, 2(6): 448.
- [3] Radolf JD, Deka RK, Anand A, Šmajš D, Norgard MV, Yang XF. *Treponema pallidum*, the syphilis spirochete: making a living as a stealth pathogen. *Nature Reviews Microbiology*, 2016, 14(12): 744–759.
- [4] Fraser CM, Norris SJ, Weinstock GM, White O, Sutton GG, Dodson R, Gwinn M, Hickey EK, Clayton R, Ketchum KA, Sodergren E, Hardham JM, McLeod MP, Salzberg S, Peterson J, Khalak H, Richardson D, Howell JK, Chidambaram M, Utterback T, McDonald L, Artiach P, Bowman C, Cotton MD, Fujii C, Garland S, Hatch B, Horst K, Roberts K, Sandusky M, Weidman J, Smith HO, Venter JC. Complete genome sequence of *Treponema pallidum*, the syphilis spirochete. *Science*, 1998, 281(5375): 375–388.
- [5] Edmondson DG, Norris SJ. *In vitro* cultivation of the syphilis spirochete *Treponema pallidum*. *Current Protocols*, 2021, 1(2): e44.
- [6] Edmondson DG, DeLay BD, Kowis LE, Norris SJ. Parameters affecting continuous *in vitro* culture of *Treponema pallidum* strains. *mBio*, 2021, 12(1): e03536–e03520.
- [7] Edmondson DG, Hu B, Norris SJ. Long-term *in vitro* culture of the syphilis spirochete *Treponema pallidum* subsp. *pallidum*. *mBio*, 2018, 9(3): e01153–e01118.
- [8] Luo X, Zhang XH, Gan L, Zhou CL, Zhao T, Zeng TB, Liu SQ, Xiao YJ, Yu J, Zhao FJ. The outer membrane protein Tp92 of *Treponema pallidum* induces human mononuclear cell death and IL-8 secretion. *Journal of Cellular and Molecular Medicine*, 2018, 22(12): 6039–6054.
- [9] Luo X, Zhang XH, Zhao T, Zeng TB, Liu W, Deng MX, Zhao FJ. A preliminary study on the proinflammatory mechanisms of *Treponema pallidum* outer membrane protein Tp92 in human macrophages and HMEC-1 cells. *Microbial Pathogenesis*, 2017, 110: 176–183.
- [10] Liu W, Deng MX, Zhang XH, Yin WG, Zhao T, Zeng TB, Liu SQ, Xiao YJ, Zhang L, Luo X, Zhao FJ. Performance of novel infection phase-dependent antigens in syphilis serodiagnosis and treatment efficacy determination. *Clinica Chimica Acta*, 2019, 488: 13–19.
- [11] Duan JX, Zhao Y, Zhang XH, Jiang H, Xie BB, Zhao T, Zhao FJ. Research status and perspectives for pathogenic spirochete vaccines. *Clinica Chimica Acta*, 2020, 507: 117–124.
- [12] Zhao FJ, Liu SQ, Zhang XH, Yu J, Zeng TB, Gu WM, Cao XY, Chen X, Wu YM. CpG adjuvant enhances the mucosal immunogenicity and efficacy of a *Treponema pallidum* DNA vaccine in rabbits. *Human Vaccines & Immunotherapeutics*, 2013, 9(4): 753–760.
- [13] Zhao FJ, Zhang XH, Liu SQ, Gu WM, Yu J, Zeng TB, Zhang YJ, Chen X, Wu YM. *Treponema pallidum* Gpd DNA vaccine adjuvanted with IL-2 and coated by chitosan nanoparticles attenuates syphilitic lesion development in the rabbit model. *Science China-Life Sciences*, 2013, 56(2): 174–180.
- [14] Anand A, LeDoyt M, Karanian C, Luthra A, Koszelak-Rosenblum M, Malkowski MG, Puthenveetil R, Vinogradova O, Radolf JD. Bipartite topology of *Treponema pallidum* repeat proteins C/D and I. *Journal of Biological Chemistry*, 2015, 290(19): 12313–12331.
- [15] Anand A, Luthra A, Dunham-Ems S, Caimano MJ, Karanian C, LeDoyt M, Cruz AR, Salazar JC, Radolf

- JD. TprC/D (Tp0117/131), a trimeric, pore-forming rare outer membrane protein of *Treponema pallidum*, has a bipartite domain structure. *Journal of Bacteriology*, 2012, 194(9): 2321–2333.
- [16] Liu H, Cheng M, Zhao SS, Lin CY, Song JZ, Yang Q. ATP-binding cassette transporter regulates N, N'-diacetylchitobiose transportation and chitinase production in *Trichoderma asperellum* T4. *International Journal of Molecular Sciences*, 2019, 20(10): 2412.
- [17] Roberson RS, Ronimus RS, Gephard S, Morgan HW. Biochemical characterization of an active pyrophosphate-dependent phosphofructokinase from *Treponema pallidum*. *FEMS Microbiology Letters*, 2001, 194(2): 257–260.
- [18] Mertens E. ATP versus pyrophosphate: glycolysis revisited in parasitic protists. *Parasitology Today*, 1993, 9(4): 122–126.
- [19] Deka RK, Neil L, Hagman KE, Machius M, Tomchick DR, Brautigam CA, Norgard MV. Structural evidence that the 32-kilodalton lipoprotein (Tp32) of *Treponema pallidum* is an l-methionine-binding protein. *Journal of Biological Chemistry*, 2004, 279(53): 55644–55650.
- [20] Deka RK, Goldberg MS, Hagman KE, Norgard MV. The Tp38 (TpMglB-2) lipoprotein binds glucose in a manner consistent with receptor function in *Treponema pallidum*. *Journal of Bacteriology*, 2004, 186(8): 2303–2308.
- [21] Brautigam CA, Deka RK, Liu WZ, Norgard MV. The Tp0684 (MglB-2) lipoprotein of *Treponema pallidum*: a glucose-binding protein with divergent topology. *PLoS One*, 2016, 11(8): e0161022.
- [22] Brautigam CA, Deka RK, Liu WZ, Norgard MV. Crystal structures of MglB-2 (TP0684), a topologically variant d-glucose-binding protein from *Treponema pallidum*, reveal a ligand-induced conformational change. *Protein Science*, 2018, 27(4): 880–885.
- [23] Buyuktimkin B, Zafar H, Saier MH Jr. Comparative genomics of the transportome of ten *Treponema* species. *Microbial Pathogenesis*, 2019, 132: 87–99.
- [24] Wilson DF, Matschinsky FM. Metabolic homeostasis in life as we know it: its origin and thermodynamic basis. *Frontiers in Physiology*, 2021, 12: 658997.
- [25] Gonzalez CF, Stonestrom AJ, Lorca GL, Saier MH Jr. Biochemical characterization of phosphoryl transfer involving HPr of the phosphoenolpyruvate-dependent phosphotransferase system in *Treponema denticola*, an organism that lacks PTS permeases. *Biochemistry*, 2005, 44(2): 598–608.
- [26] Schwan TG, Battisti JM, Porcella SF, Raffel SJ, Schrupf ME, Fischer ER, Carroll JA, Stewart PE, Rosa P, Somerville GA. Glycerol-3-phosphate acquisition in spirochetes: distribution and biological activity of glycerophosphodiester phosphodiesterase (GlpQ) among *Borrelia* species. *Journal of Bacteriology*, 2003, 185(4): 1346–1356.
- [27] Gray LR, Tompkins SC, Taylor EB. Regulation of pyruvate metabolism and human disease. *Cellular and Molecular Life Sciences: CMLS*, 2014, 71(14): 2577–2604.
- [28] Deka RK, Brautigam CA, Liu WZ, Tomchick DR, Norgard MV. Evidence for posttranslational protein flavinylation in the syphilis spirochete *Treponema pallidum*: structural and biochemical insights from the catalytic core of a periplasmic flavin-trafficking protein. *mBio*, 2015, 6(3): e00519–e00515.
- [29] Mayer F, Müller V. Adaptations of anaerobic Archaea to life under extreme energy limitation. *FEMS Microbiology Reviews*, 2014, 38(3): 449–472.
- [30] Deka RK, Brautigam CA, Bidy BA, Liu WZ, Norgard MV. Evidence for an ABC-type riboflavin transporter system in pathogenic spirochetes. *mBio*, 2013, 4(1): e00615–e00612.
- [31] Deka RK, Brautigam CA, Liu WZ, Tomchick DR, Norgard MV. The TP0796 lipoprotein of *Treponema pallidum* is a bimetal-dependent FAD pyrophosphatase with a potential role in flavin homeostasis. *Journal of Biological Chemistry*, 2013, 288(16): 11106–11121.
- [32] Saier MH Jr, Paulsen IT. Whole genome analyses of transporters in spirochetes: *Borrelia burgdorferi* and *Treponema pallidum*. *Journal of Molecular Microbiology and Biotechnology*, 2000, 2(4): 393–399.
- [33] Deka RK, Liu WZ, Norgard MV, Brautigam CA. Biophysical and biochemical characterization of TP0037, a d-lactate dehydrogenase, supports an acetogenic energy conservation pathway in *Treponema pallidum*. *mBio*, 2020, 11(5): e02249–e02220.
- [34] McGill MA, Edmondson DG, Carroll JA, Cook RG, Orkiszewski RS, Norris SJ. Characterization and serologic analysis of the *Treponema pallidum* proteome. *Infection and Immunity*, 2010, 78(6): 2631–2643.
- [35] Mitchell JG, Kogure K. Bacterial motility: links to the environment and a driving force for microbial physics. *FEMS Microbiology Ecology*, 2006, 55(1): 3–16.
- [36] Radolf JD, Kumar S. The *Treponema pallidum* outer membrane. *Current Topics in Microbiology and Immunology*. Cham: Springer International Publishing, 2017: 1–38.

(本文责编 张晓丽)