

[DOI] 10.12016/j.issn.2096-1456.2023.11.010

· 综述 ·

牙龈卟啉单胞菌第IX型分泌系统结构与功能研究进展

张若彤, 叶玮

上海交通大学医学院附属第九人民医院口腔预防科, 上海交通大学口腔医学院, 国家口腔医学中心, 国家口腔疾病临床医学研究中心, 上海市口腔医学重点实验室, 上海市口腔医学研究所, 上海(200011)

【摘要】 牙龈卟啉单胞菌第IX型分泌系统(type IX secretion system, T9SS)是一种最近被发现的新型蛋白分泌系统,它广泛分布于拟杆菌中。T9SS结构复杂、功能强大,目前已经得到验证的T9SS组分20余种,并且仅在牙龈卟啉单胞菌中即能分泌30余种毒力因子,对牙龈卟啉单胞菌的致病性意义重大。T9SS是一个横跨细胞内膜、细胞周质、细胞外膜的大型蛋白复合体,通过各组分之间结构和功能上的联系,组成了一个包括动力提供、能量转导、内外膜易位、外膜修饰及调节系统的精密功能复合体,对货物蛋白进行识别、转运、剪切、修饰,并将细菌胞内货物蛋白转运至细胞表面。近年来,随着X线衍射及原位冷冻电镜技术的发展,对T9SS的探究也从单一组分的功能研究发展至多蛋白复合体原位结构研究,但是目前对蛋白结构解析仍存在分辨率不高、无法捕捉动态功能结构等问题,未来研究方向应该更集中于探索T9SS如何与货物蛋白相互作用并发挥功能。本文对牙龈卟啉单胞菌T9SS在X线衍射及冷冻电镜结构解析上的研究进展做一综述,以便深入理解T9SS的转运机制。

【关键词】 牙龈卟啉单胞菌; 第IX型分泌系统; 转运系统; 牙周病; 口腔细菌; 蛋白结构; 冷冻电镜; X线衍射

【中图分类号】 R78 **【文献标志码】** A **【文章编号】** 2096-1456(2023)11-0825-06

【引用著录格式】 张若彤, 叶玮. 牙龈卟啉单胞菌第IX型分泌系统结构与功能研究进展[J]. 口腔疾病防治, 2023, 31(11): 825-830. doi:10.12016/j.issn.2096-1456.2023.11.010.

Research progress on the structure and function of the type IX secretion system of *Porphyromonas gingivalis* ZHANG Ruotong, YE Wei. Department of Preventive Dentistry, Shanghai Ninth People's Hospital, Shanghai Jiao Tong University School of Medicine, College of Stomatology, Shanghai Jiao Tong University, National Center for Stomatology, National Clinical Research Center for Oral Diseases, Shanghai Key Laboratory of Stomatology, Shanghai Research Institute of Stomatology, Shanghai 200011, China

Corresponding author: YE Wei, Email: jyywei@163.com, Tel: 86-21-53315327

【Abstract】 The *Porphyromonas gingivalis* type IX secretion system (T9SS) is a recently discovered protein secretion system that is widely distributed in *Bacillus cereus*. The T9SS is structurally complex and powerful. More than 20 T9SS components have been verified, and more than 30 virulence factors can be secreted by *Porphyromonas gingivalis* alone, which contributes significant to the pathogenicity of *Porphyromonas gingivalis*. T9SS is a large protein complex spanning the inner cell membrane, periplasm, and outer cell membrane. Through the structural and functional connections among its components, it forms a sophisticated functional complex that includes power provision, energy transduction, inner and outer membrane translocation, outer membrane modification, and regulatory systems to recognize, translocate, shear, and modify cargo proteins and translocate bacterial intracellular cargo proteins to the cell surface. In recent

【收稿日期】 2022-12-09; **【修回日期】** 2023-02-28

【基金项目】 上海市科委港澳台科技合作项目(22410760200);上海市临床重点专科(shslczdk01601);上海市重中之重研究中心(2022ZZ01017)

【作者简介】 张若彤, 硕士研究生, Email: Ruotz@outlook.com

【通信作者】 叶玮, 副主任医师, 博士, Email: jyywei@163.com, Tel: 86-21-53315327



微信公众号

years, with advancements in X-ray diffraction and in situ cryoelectron microscopy, the exploration of T9SS has evolved from the functional study of single components to the in situ structural study of multiprotein complexes. Still, the structural resolution of the protein still has shortcomings such as low resolution and an inability to capture dynamic functional structures. Future research directions should focus more on exploring how T9SS interacts and functions with cargo proteins. In this paper, we review the research progress on *Porphyromonas gingivalis* T9SS on X-ray diffraction and cryoelectron microscopy structure resolution in order to gain a deeper understanding of the transport mechanism of T9SS.

【Key words】 *Porphyromonas gingivalis*; type IX secretion system; transport system; periodontal disease; oral bacteria; protein structure; cryoelectron microscopy; X-ray diffraction

J Prev Treat Stomatol Dis, 2023, 31(11): 825-830.

【Competing interests】 The authors declare no competing interests.

This study was supported by grants from Shanghai Science and Technology Commission Hong Kong, Macao and Taiwan Science and Technology Cooperation Project (No. 22410760200); Shanghai Key Clinical Specialties (No. shslc-zdsk01601); Shanghai Research Center of Great Importance (No. 2022ZZ01017).

牙龈卟啉单胞菌(*Porphyromonas gingivalis*, *P.g*)是牙周病^[1]、口腔癌^[2]、结直肠癌^[3]、阿尔兹海默症^[4]等疾病发生发展过程中的重要细菌。近年来,研究者首先在*P.g*上发现了一个不同于以往8种分泌系统的新分泌系统——第IX型分泌系统(type IX secretion system, T9SS)。T9SS广泛存在于拟杆菌门,主要用于分泌各种效应蛋白,如蛋白酶、黏附蛋白和纤维素酶等,这些通过T9SS转运的蛋白统称为货物蛋白^[5]。T9SS结构复杂、功能强大,目前已经得到验证的T9SS组分20余种,并且仅在*P.g*中即能分泌30余种毒力因子,如精氨酸特异性牙龈素(arg-specific gingipains A&B, RgpA&RgpB)、Lys特异性半胱氨酸蛋白酶(lys-specific gingipains, Kgp)、肽基精氨酸脱氨酶(peptidyl arginine deaminase, PPAD)等^[6-8],对*P.g*的致病性意义重大。本综述重点讨论:①*P.g*中T9SS在X线衍射、冷冻电镜、低温电子断层扫描基础上解析出大分子蛋白复合体结构,从结构生物学角度探讨T9SS的功能模式;②探讨货物蛋白在转运过程中与T9SS的相互作用,深入了解T9SS的转运机制。

1 T9SS的发现

关于T9SS最初的一个重要发现是*P.g*会产生强大的蛋白水解酶如RgpA、RgpB、Kgp,称为牙龈素(Gingipains)^[9]。牙龈素是负责破坏宿主先天防御机制的基本毒力因子^[10-11],主要附着在细菌外膜的表面,也有部分以可溶形式释放到细胞外环境^[12-13]。由于在*P.g*的基因组中找不到与已知蛋白质分泌系统同源的基因,于是研究者怀疑这种细菌已经开发出一种独特的转录系统。

1998年,Okamoto等^[14]发现血琼脂平板上缺乏牙龈蛋白酶活性的*P.g*菌落因缺乏黑色色素而呈现白色,这意味着菌落色素的有无可以作为阻断蛋白酶分泌的简单突变筛选工具。Sato等^[8]发现了PorT,这是第一个被发现的编码参与分泌牙龈蛋白酶的基因。缺失PorT基因的突变菌株表现出无色素的白色菌落,证明突变菌株具有受损的牙龈蛋白酶活性。此外,缺失PorT基因的突变菌株中的牙龈蛋白酶作为无酶活性的酶原在周质中积累,而不是运输到细胞外,这证明确实存在一个可以帮助牙龈蛋白酶分泌的系统。*P.g*的另一个基因Sov,显示出与PorT突变体相同的突变表型,成为第二个被证实的T9SS组分^[15]。2013年,Sato等^[16]最终发现11个基因(包括PorT和Sov)与牙龈蛋白酶跨越细胞外膜的运输和牙龈蛋白酶的激活有关。由于这些蛋白与任何其他已知的分泌系统的成分没有序列上的相似性,因此被认为是一个新的分泌系统,最初被称为Por分泌系统^[8]。为了与现有的Diderm细菌的分泌系统命名法相一致,该系统被命名为IX型分泌系统或T9SS。

与大多数在细菌中发现的多成分分泌系统不同,T9SS的基因广泛分散在基因组中,目前在*P.g*中发现的18个成分分布在13个不同的基因座上,其中有17个已被验证^[17-18]。

2 T9SS组分的结构和功能进展

T9SS的各个组分在细菌内的位置是已知的^[19]:PorL和PorM嵌入细胞内膜^[8];PorF、PorG、PorP、Sov、PorV、PorQ和PorT形成细胞外膜 β -桶状结构^[20-22];PorK、PorE和PorW是与外膜相关的脂蛋

白,定位在细胞周质^[16,18,23];PorU和PorZ是由PorV和PorQ分别锚定的细胞表面蛋白^[24];PorN是一种通过PorK锚定在外膜上的周质蛋白^[23];PorX位于细胞质,PorY定位于细胞内膜。T9SS转运细菌胞内产生的蛋白至细菌表面,从而协助细菌发挥毒性作用,通过T9SS转运的蛋白统称为货物蛋白。下面将介绍已经解析出结构的蛋白组分,并将T9SS内的组分依据结构和功能的关联性划分为:PorL-PorM动力泵;PorK-PorN转运环;Sov易位子;PorU-PorV-PorQ-PorZ复合体;PorX-PorY双组份调节系统。

2.1 PorL-PorM为T9SS提供动力

PorL位于细胞内膜,有两个跨膜区和一个细胞质域。PorM一端固定在细胞内膜中,并横跨整个细胞周质区域与细胞外膜上的复合物PorK、PorN相互作用^[25]。PorL和PorM被证明在*P.g*内形成一个复合体^[25-26]。PorM横跨整个细胞周质区域并与细胞外膜上的组分相互作用,极有可能介导转运信号由细胞内膜传递至细胞外膜的过程^[27]。GldL、GldM是约氏黄杆菌(*Flavobacterium johnsonii*, *F.j*) T9SS中PorL、PorM的同源蛋白。Shrivastava等^[28]认为,GldL-M是T9SS的“马达”,由质子动力势(proton-motive force, PMF)驱动。James等^[29]成功通过冷冻电镜观察到了GldL-M/PorL-M复合物的原始结构。GldL/PorL在内膜上形成一个由5个亚单位组成的扭曲环,GldM/PorM由D1-D4结构域组成^[19,25],D1结构域从GldL/PorL环上发出并被完全包裹在环内,且D2和D3之间有约45度的弯曲^[27]。GldM/PorM的周质结构域紧贴着GldL/PorL跨膜螺旋环的顶部,没有留下质子移动的空间,这意味着需要构象变化来打开环中的水通道以允许质子移动。芳香族残基GldLY13和GldMY17的质子化对其功能很重要,也许参与跨膜质子运动到机械功的传导^[29]。这些发现表明,GldL/PorL是一个定子,GldM/PorM二聚体是一个转子,质子流使GldM/PorM在一个直径约为18 nm的宽圆中旋转,这将反过来驱动外膜上T9SS的组分发挥功能。总之,PorL-PorM复合物定位于细胞内膜上,其中PorL延伸到细胞质,PorM埋在PorL环中,并通过4个结构域延伸到细胞周质,可能为T9SS底物转运过程提供动力。

2.2 PorK-PorN可能参与能量转导过程

PorK是一种锚定在细胞外膜上的脂蛋白,PorN是周质蛋白,PorK与PorN相互作用^[21,26,30]。

Gorasia等^[22]对纯化的PorK和PorN复合物进行分子量的测定,发现两者共同形成一个分子量大于4 500 kDa的复合物;同时,还测定出PorK:PorN的摩尔比约为1:1.2,表明PorK和PorN可能以1:1的摩尔比存在于细胞中。以上证据表明,PorK和PorN不是以单体形式存在于细菌原位,而是组装成一种复杂的大分子复合物,并且极有可能在*P.g*中发挥重要作用。

Gorasia等^[22]对*P.g*中的PorK和PorN进行纯化,并通过冷冻电子显微镜观察到一个均匀的环形结构。这些环的直径为46~52 nm,内部孔径为33~35 nm,并由32~36个较小的亚单位组成。由于样品纯化聚集和样品制备技术的局限性,没有得到更高的分辨率,因此无法得知环内蛋白质是如何相互作用并组装的。但是,Leone等^[27]对这种大环结构在细胞中的存在提出了质疑,怀疑这些环是纯化过程中的产物,并不能代表蛋白实际在细胞内的构象。Gorasia等^[31]进行了*P.g*的原位电子低温断层扫描,环状结构确实存在于细胞中,位置紧靠于细胞外膜下面。在细菌原位观察到的环状结构在大小和形状上与纯化的PorK/N环非常相似^[31]。此外,这些结构在PorK突变体中是不存在的,这证实了PorK与PorN在结构和功能上的关联性^[31]。研究表明,PorM的D4结构域与PorN相互作用,而D2、D3和D4结构域与PorK脂蛋白相互作用^[27]。综上,能量可能由细胞内膜上的PorL/PorM通过PorK/N转导到细胞外膜,而*P.g*上有多少PorL/M装置和PorK/N环尚待阐明。

2.3 Sov是T9SS底物外膜转运的易位子

Sov位于细胞外膜上,有多个跨膜区域。T9SS的易位子在约氏黄杆菌中被确定为SprA(*P.g* Sov同源物)^[32]。尽管Sov的结构尚没有完全解析,但模拟出的结构与SprA非常相似,并以与SprA相似的方式与PorV或Plug结合^[31]。使用双链标记纯化系统从*F.j*分离出SprA,发现SprA存在两种状态,一种与PorV和PPI结合,另一种与Plug和PPI结合,以下简称为SprA-PorV-PPI和SprA-Plug-PPI^[32]。高分辨率低温电子显微镜显示,SprA形成一个36条链的外膜 β -桶状结构^[32]。这是迄今为止发现的最大的外膜 β -桶状结构。桶状结构在细胞表面被盖住,在周质端开放,并在桶壁上有一个侧向开口。在SprA-PorV-PPI复合体中,PorV位于细胞外膜上的SprA易位子侧方,阻挡了侧向开口,同时SprA的周质孔是开放的。而在SprA-Plug-PPI复

合体中, SprA的周质开口被 Plug 堵塞,而在侧边是开放的^[32]。同时 PorV 和 Plug 与 SprA 的结合是相互排斥的。SprA 的这两种状态在结构学上揭示了底物通过外膜的途径:①在 PorV 与 SprA 结合的状态下, SprA 周质侧开放,允许 T9SS 底物从周质中进入 SprA 的桶状结构内部,此时货物蛋白与 PorV 结合^[24];②接着 Plug 结合 SprA,并触发已经结合了底物的 PorV 从 SprA 上解离^[32],底物由此被转移至细胞表面,并进入下一步的剪切加工;③此时, Plug 蛋白与 SprA 的周质端结合,封住通道,从而完成一次 T9SS 底物的转运^[32]。

2.4 蛋白膜外加工复合体 PorU-PorV-PorQ-PorZ 帮助 T9SS 货物蛋白附着于外膜阴离子脂多糖(anionic-lipopolysaccharide, A-LPS)

PorV 和 PorQ 位于细胞外膜, PorU 和 PorZ 都有一个 C 端-保守结构域(C-Terminal conserved domain, CTD),并利用 T9SS 到达细胞表面。然而, PorU 和 PorZ 末端的 CTD 结构域并不被切割^[24, 33],而是分别通过与 PorV 和 PorQ 结合而锚定在细胞外膜上^[24]。货物蛋白通过 Sov 易位子后,通过 CTD 与 PorV 的相互作用被固定在细胞表面,并由 PorV 传递至 PorU-PorV-PorQ-PorZ 附着复合物。PorZ 的晶体结构显示,它除了 CTD 之外,还包括 2 个 β -螺旋桨结构域^[33]。此外, PorZ 以 A-LPS 依赖的方式与 PorU 相互作用^[24]。PorU 发挥类似分选酶的作用,在细胞表面裂解 CTD 信号,并通过肽键将 A-LPS 共价连接到货物蛋白的新 C 端^[33-36],从而完成 T9SS 货物蛋白在细胞表面的固定。

2.5 PorX-PorY 构成调节 T9SS 的双组份调节系统

目前,有 3 种蛋白被认为在调控 T9SS 中起作用,即 SigP、PorX 和 PorY。PorX 和 PorY 分别与双组分调控系统的反应调节器和组氨酸激酶传感器蛋白同源,而 SigP 是一个细胞质外功能 σ 因子。这 3 个组件中的任何一个发生突变,都会导致 T9SS 组分表达的下调和牙龈蛋白酶的降低^[37]。PorY 被证明能自动磷酸化,可以与 PorX 相互作用并磷酸化 PorX。PorX 被磷酸化后,通过两种方式调节 T9SS 组分的表达:①PorX 直接与 T9SS 组分基因的启动子区域结合,启动转录;②PorX 与 SigP 结合,通过 SigP 与 T9SS 组分基因的启动子区域结合^[37]。这些研究表明, PorY 传感器对传递到周质的信号作出反应,并通过涉及 PorX 和 SigP 的级联相互作用来调控 T9SS 的成分^[37-38]。除了与 SigP 结合外, PorX 还被证明与 PorL 结合,作者推测这种结合可

能导致 T9SS 中 PorL/M (GldL/M) 马达的逆转,这可能与约氏黄杆菌的滑翔运动相关^[25]。T9SS 的其余保守组分 PorT、PorW、PorF、PorP 和 PorE 等结构和功能表征不佳,并且对它们的相互作用组分或其分泌中的作用知之甚少。

3 T9SS 与货物蛋白的转运

T9SS 是细菌中最强大的分泌系统之一,仅在 *P.g* 中,它就促进了多达 35 种带有 CTD 结构域的货物蛋白的分泌,包括 RgpA、RgpB、Kgp、PPAD 等。所有货物蛋白都共享一个 N 端保守的 Sec 信号肽以导出到周质,以及一个 C 端的 CTD 结构域, T9SS 通过识别该结构域将货物蛋白转运出细菌。货物蛋白通过 T9SS 转运出细胞的过程较为明确,货物蛋白均具有较为保守的 N 端和 C 端结构域, N 端为 Sec 依赖的 I 型信号肽,可以被细胞内膜上的 SEC 系统识别、剪切并转运至细胞周质, C 端含有 CTD 用于指导它们跨越细胞外膜, CTD 被剪切后被细胞外膜上的 A-LPS 取代,货物蛋白由此锚定在细胞外膜上。下面将介绍比较重要的货物蛋白及其在 *P.g* 中发挥的毒力作用。

3.1 牙龈蛋白酶

牙龈蛋白酶家族包括 RgpA、RgpB、Kgp。牙龈蛋白酶可分泌在环境中,也可固定在细菌表面,是 *P.g* 的主要毒力因子之一^[39]。从结构上看,这些蛋白具有类似的多域组织:从 N 端到 C 端, Sec 信号肽之后是原主域、催化域、免疫球蛋白超家族折叠和 CTD。此外, RgpA 和 Kgp 拥有位于 IgSF 和 CTD 结构域之间的血凝素/粘附结构域^[19]。从功能上看,牙龈蛋白酶的 HA 结构域以及 HagA 血凝素的结构域被证明可以通过粘附上皮细胞和牙龈成纤维细胞促进与其他细菌的共同聚集和组织定植。此外,牙龈蛋白酶还参与上皮屏障蛋白的破坏,使 *P.g* 渗透到牙周组织内部^[39]。

3.2 PPAD

卟啉菌属是唯一已知能产生和分泌 PPAD 的细菌。在结构上, PPAD 呈现出与牙龈蛋白酶类似的结构组成;在功能上, PPAD 主要参与蛋白质的瓜氨酸化作用并导致蛋白的折叠和功能障碍。PPAD 可能是牙周炎与风湿性关节炎发展的重要因素之一^[13]。

3.3 HBP35

血红素结合蛋白 HBP35 是一种分泌性蛋白,在 *P.g* 血红素的获取中起着重要作用。HBP35 有

利于 *P.g* 与红细胞和宿主上皮牙龈细胞的结合^[40]。

研究者对 T9SS 底物基因组进行生物信息学分析,发现其分泌信号 CTD 之间氨基酸序列相似度较低,但是这种低保守性在 *P.g* 中足以指导 T9SS 底物分泌^[41]。因此,有推测认为,T9SS 机制识别的信号不是在氨基酸序列中,而是由 CTD 的特定折叠形成。这一论点被两个 *P.g* T9SS 货物蛋白 RgpB 和 PorZ 的 CTD 结构所证实^[33]。它们的 CTD 由 7 条长度相似的 β -链组成,产生了一个紧凑的、类似于免疫球蛋白超家族结构域的夹层折叠。CTD 的三级结构,特别是其两个末端的 β -链,可能包含 T9SS 易位子识别的信号^[42]。有推测认为,这些蛋白成分与 CTD 信号有不同的亲和力,因此允许货物蛋白从一个成分/结构域依次通过到下一个。已经发现货物蛋白与 PorN 和 PorM 的 3 个外周结构域相关,并且 PorN 和 PorM 可能构成货物蛋白进入 T9SS 的入口^[42]。

4 总结与展望

随着冷冻电镜等技术的发展,研究者对 T9SS 的内部大分子结构的组装、运作有初步的了解。未来进一步研究能量如何从 PorM 通过 PorK/N 环传导到 Sov,了解货物蛋白如何被招募和运输过外膜,以及 T9SS 底物蛋白与 T9SS 组分通过何种交互完成转运,为 T9SS 的功能提供关键的生物学信息,为牙周病的预防和治疗提供新的线索。

【Author contributions】 Zhang RT collected the references, drafted the article, revised the article. Ye W conceptualized the article, guided and critically reviewed the article structures, revised the article. All authors read and approved the final manuscript as submitted.

参考文献

- [1] Villalobos V, Garrido M, Reyes A, et al. Aging envisage imbalance of the periodontium: a keystone in oral disease and systemic health [J]. Front Immunol, 2022, 13: 1044334. doi: 10.3389/fimmu.2022.1044334.
- [2] Singh S, Singh AK. *Porphyromonas gingivalis* in oral squamous cell carcinoma: a review [J]. Microbes Infect, 2022, 24(3): 104925. doi: 10.1016/j.micinf.2021.104925.
- [3] Mu W, Jia Y, Chen X, et al. Intracellular *Porphyromonas gingivalis* promotes the proliferation of colorectal cancer cells via the MAPK/ERK signaling pathway [J]. Front Cell Infect Microbiol, 2020, 10: 584798. doi: 10.3389/fcimb.2020.584798.
- [4] Dominy SS, Lynch C, Ermini F, et al. *Porphyromonas gingivalis* in Alzheimer's disease brains: evidence for disease causation and treatment with small-molecule inhibitors [J]. Sci Adv, 2019, 5(1): eaau3333. doi: 10.1126/sciadv.aau3333.
- [5] Gao L, Guan Z, Gao P, et al. *Cytophaga hutchinsonii* *gldN*, encoding a core component of the type IX secretion system, is essential for ion assimilation, cellulose degradation, and cell motility [J]. Appl Environ Microbiol, 2020, 86(11): e00242 - e00220. doi: 10.1128/AEM.00242-20.
- [6] Jeong J, Oh Y, Jeon J, et al. Effective microbial molecular diagnosis of periodontitis - related pathogen *Porphyromonas gingivalis* from salivary samples using *rgpA* gene [J]. Genomics Inform, 2022, 21(1): e13. doi:10.5808/gi.22076.
- [7] Gabarrini G, Grasso S, van Winkelhoff AJ, et al. Gingimaps: protein localization in the oral pathogen *Porphyromonas gingivalis* [J]. Microbiol Mol Biol Rev, 2020, 84(1): e00032 - e00019. doi: 10.1128/MMBR.00032-19.
- [8] Sato K, Naito M, Yukitake H, et al. A protein secretion system linked to bacteroidete gliding motility and pathogenesis [J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2010, 107(1): 276 - 281. doi: 10.1073/pnas.0912010107.
- [9] Śmiga M, Ślęzak P, Wagner M, et al. Interplay between *Porphyromonas gingivalis* hemophore-like protein HmuY and *kgp/RgpA* gingipains plays a superior role in heme supply [J]. Microbiol Spectr, 2023: e0459322. doi: 10.1128/spectrum.04593-22.
- [10] Takeuchi H, Nakamura E, Yamaga S, et al. *Porphyromonas gingivalis* infection induces lipopolysaccharide and peptidoglycan penetration through gingival epithelium [J]. Front Oral Health, 2022, 3: 845002. doi: 10.3389/froh.2022.845002.
- [11] Lunar Silva I, Cascales E. Molecular strategies underlying *Porphyromonas gingivalis* virulence [J]. J Mol Biol, 2021, 433(7): 166836. doi: 10.1016/j.jmb.2021.166836.
- [12] Lamont RJ, Miller DP. Tyrosine kinases and phosphatases: enablers of the *Porphyromonas gingivalis* lifestyle [J]. Front Oral Health, 2022, 3: 835586. doi: 10.3389/froh.2022.835586.
- [13] Nowakowska Z, Madej M, Grad S, et al. Phosphorylation of major *Porphyromonas gingivalis* virulence factors is crucial for their processing and secretion [J]. Mol Oral Microbiol, 2021, 36(6): 316 - 326. doi: 10.1111/omi.12354.
- [14] Okamoto K, Nakayama K, Kadowaki T, et al. Involvement of a lysine - specific cysteine proteinase in hemoglobin adsorption and heme accumulation by *Porphyromonas gingivalis* [J]. J Biol Chem, 1998, 273(33): 21225-21231. doi: 10.1074/jbc.273.33.21225.
- [15] Saiki K, Konishi K. Identification of a *Porphyromonas gingivalis* novel protein sov required for the secretion of gingipains [J]. Microbiol Immunol, 2007, 51(5): 483 - 491. doi: 10.1111/j.1348 - 0421.2007.tb03936.x.
- [16] Sato K, Yukitake H, Narita Y, et al. Identification of *Porphyromonas gingivalis* proteins secreted by the Por secretion system [J]. FEMS Microbiol Lett, 2013, 338(1): 68-76. doi:10.1111/1574-6968.12028.
- [17] Veith PD, Glew MD, Gorasia DG, et al. Type IX secretion: the generation of bacterial cell surface coatings involved in virulence, gliding motility and the degradation of complex biopolymers [J]. Mol Microbiol, 2017, 106(1): 35-53. doi: 10.1111/mmi.13752.
- [18] Heath JE, Seers CA, Veith PD, et al. PG1058 is a novel multi-

- domain protein component of the bacterial type IX secretion system [J]. PLoS One, 2016, 11(10): e0164313. doi: 10.1371/journal.pone.0164313.
- [19] Gorasia DG, Veith PD, Reynolds EC. The type IX secretion system: advances in structure, function and organisation [J]. Microorganisms, 2020, 8(8): 1173. doi: 10.3390/microorganisms8081173.
- [20] Dorgan B, Liu Y, Wang S, et al. Structural model of a *Porphyromonas gingivalis* type IX secretion system shuttle complex [J]. J Mol Biol, 2022, 434(23): 167871. doi: 10.1016/j.jmb.2022.167871.
- [21] Fuchsbauer O, Lunar Silva I, Cascales E, et al. Structural and functional analyses of the *Porphyromonas gingivalis* type IX secretion system PorN protein [J]. J Biol Chem, 2022, 298(3): 101618. doi: 10.1016/j.jbc.2022.101618.
- [22] Gorasia DG, Glew MD, Veith PD, et al. Quantitative proteomic analysis of the type IX secretion system mutants in *Porphyromonas gingivalis* [J]. Mol Oral Microbiol, 2020, 35(2): 78-84. doi: 10.1111/omi.12283.
- [23] Saiki K, Konishi K. Identification of a novel *Porphyromonas gingivalis* outer membrane protein, PG534, required for the production of active gingipains [J]. FEMS Microbiol Lett, 2010, 310(2): 168-174. doi: 10.1111/j.1574-6968.2010.02059.x.
- [24] Madej M, Nowakowska Z, Ksiazek M, et al. PorZ, an essential component of the type IX secretion system of *Porphyromonas gingivalis*, delivers anionic lipopolysaccharide to the PorU sortase for transpeptidase processing of T9SS cargo proteins [J]. mBio, 2021, 12(1): e02262-e02220. doi: 10.1128/mBio.02262-20.
- [25] Vincent MS, Canestrari MJ, Leone P, et al. Characterization of the *Porphyromonas gingivalis* type IX secretion trans-envelope PorKLMNP core complex [J]. J Biol Chem, 2017, 292(8): 3252-3261. doi: 10.1074/jbc.M116.765081.
- [26] Gorasia DG, Veith PD, Hanssen EG, et al. Structural insights into the PorK and PorN components of the *Porphyromonas gingivalis* type IX secretion system [J]. PLoS Pathog, 2016, 12(8): e1005820. doi: 10.1371/journal.ppat.1005820.
- [27] Leone P, Roche J, Vincent MS, et al. Type IX secretion system PorM and gliding machinery GldM form Arches spanning the periplasmic space [J]. Nat Commun, 2018, 9(1): 429. doi: 10.1038/s41467-017-02784-7.
- [28] Shrivastava A, Berg HC. A molecular rack and pinion actuates a cell-surface adhesin and enables bacterial gliding motility [J]. Sci Adv, 2020, 6(10): eaay6616. doi: 10.1126/sciadv.aay6616.
- [29] James RH, Deme JC, Kjær A, et al. Structure of a proton-powered molecular motor that drives protein transport and gliding motility [J]. bioRxiv, 2020. doi: 10.1101/2020.05.11.089193.
- [30] Nelson SS, Bollampalli S, McBride MJ. SprB is a cell surface component of the *Flavobacterium johnsoniae* gliding motility machinery [J]. J Bacteriol, 2008, 190(8): 2851-2857. doi: 10.1128/JB.01904-07.
- [31] Gorasia D, Chreifi G, Seers C, et al. *In situ* structure and organisation of the type IX secretion system [J]. bioRxiv, 2020, 5(13): 094771. doi: 10.1101/2020.05.13.094771.
- [32] Lauber F, Deme JC, Lea SM, et al. Type 9 secretion system structures reveal a new protein transport mechanism [J]. Nature, 2018, 564(7734): 77-82. doi: 10.1038/s41586-018-0693-y.
- [33] Mizgalska D, Goulas T, Rodríguez-Banqueri A, et al. Intermolecular latency regulates the essential C-terminal signal peptidase and sortase of the *Porphyromonas gingivalis* type-IX secretion system [J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2021, 118(40): e2103573118. doi: 10.1073/pnas.2103573118.
- [34] Veith PD, Shoji M, O'Hair RAJ, et al. Type IX secretion system cargo proteins are glycosylated at the C terminus with a novel linking sugar of the wbp/vim pathway [J]. mBio, 2020, 11(5): e01497-e01420. doi: 10.1128/mBio.01497-20.
- [35] Gorasia DG, Veith PD, Chen D, et al. *Porphyromonas gingivalis* type IX secretion substrates are cleaved and modified by a sortase-like mechanism [J]. PLoS Pathog, 2015, 11(9): e1005152. doi: 10.1371/journal.ppat.1005152.
- [36] Glew MD, Veith PD, Peng B, et al. PG0026 is the C-terminal signal peptidase of a novel secretion system of *Porphyromonas gingivalis* [J]. J Biol Chem, 2012, 287(29): 24605-24617. doi: 10.1074/jbc.M112.369223.
- [37] Jiang C, Yang D, Hua T, et al. A PorX/PorY and σ^P feedforward regulatory loop controls gene expression essential for *Porphyromonas gingivalis* virulence [J]. mSphere, 2021, 6(3): e0042821. doi: 10.1128/mSphere.00428-21.
- [38] Yang D, Jiang C, Ning B, et al. The PorX/PorY system is a virulence factor of *Porphyromonas gingivalis* and mediates the activation of the type IX secretion system [J]. J Biol Chem, 2021, 296: 100574. doi: 10.1016/j.jbc.2021.100574.
- [39] Chow YC, Yam HC, Gunasekaran B, et al. Implications of *Porphyromonas gingivalis* peptidyl arginine deiminase and gingipain R in human health and diseases [J]. Front Cell Infect Microbiol, 2022, 12: 987683. doi: 10.3389/fcimb.2022.987683.
- [40] Sato K, Kakuda S, Yukitake H, et al. Immunoglobulin-like domains of the cargo proteins are essential for protein stability during secretion by the type IX secretion system [J]. Mol Microbiol, 2018, 110(1): 64-81. doi: 10.1111/mmi.14083.
- [41] Veillard F, Sztukowska M, Nowakowska Z, et al. Proteolytic processing and activation of gingipain zymogens secreted by T9SS of *Porphyromonas gingivalis* [J]. Biochimie, 2019, 166: 161-172. doi: 10.1016/j.biochi.2019.06.010.
- [42] de Diego I, Ksiazek M, Mizgalska D, et al. The outer-membrane export signal of *Porphyromonas gingivalis* type IX secretion system (T9SS) is a conserved C-terminal β -sandwich domain [J]. Sci Rep, 2016, 6: 23123. doi: 10.1038/srep23123.

(编辑 罗燕鸿)



官网