

原核生物的蛋白质翻译后修饰*

谭永聪¹⁾ 王启军²⁾ 赵国屏²⁾ 姚玉峰^{1)**}

(¹⁾上海交通大学医学院基础医学院病原生物学教研室, 上海 200025;

(²⁾中国科学院上海植物生理与生态研究所合成生物学实验室, 上海 200032)

摘要 蛋白质翻译后修饰是调节蛋白质生物学功能的关键步骤之一, 是蛋白质动态反应和相互作用的一个重要分子基础, 同时, 它也是细胞信号网络调控的重要靶点。目前, 蛋白质翻译后修饰已经成为国际上蛋白质研究的一个极其重要的热点。在原核生物生命活动中, 蛋白质的翻译后修饰具有十分重要的作用, 如参与细胞信号传导、物质的代谢、蛋白质的降解、致病微生物的致病过程等。综述了经典原核生物蛋白质翻译后修饰的种类、机制和功能, 同时介绍了最近发现的原核生物的全局性乙酰化修饰以及结核分枝杆菌中类泛素化修饰。

关键词 原核生物, 蛋白质翻译后修饰, 糖基化, 磷酸化, 脂质化, 乙酰化, 类泛素化, 甲基化

学科分类号 Q93, Q5

DOI: 10.3724/SP.J.1206.2010.00138

很长时间内, 蛋白质翻译后修饰并未引起足够重视, 直到 2004 年泛素介导蛋白质降解的发现获得诺贝尔奖之后, 这一情形才有明显改观。迄今, 人们已发现多达 200 多种的蛋白质修饰。蛋白质翻译后修饰几乎参与了细胞所有的正常生命活动过程, 并发挥十分重要的调控作用, 目前已经成为国际上蛋白质研究的一个极其重要的领域。但相比真核生物, 对原核生物蛋白质翻译后修饰研究得比较少。目前研究证实, 原核生物的蛋白质可以通过小分子化合物修饰, 比如糖基化、脂基化、甲基化、磷酸化、生物素化、烷基化等几十种类型来改变蛋白质的稳定性、结构和功能。而且随着技术的进步, 最近在原核生物中还发现了类真核的泛素化修饰以及全局性的乙酰化修饰, 以下将详细阐述近年对原核生物中蛋白质修饰的最新发现和研究进展。

1 糖基化

蛋白质的糖基化是蛋白质翻译后修饰中最普遍、最多样的, 是低聚糖以糖苷的形式与蛋白质上特定的氨基酸残基共价结合的过程。曾经一度认为糖基化只存在于真核细胞中, 但研究表明, 原核生物中也存在蛋白质的糖基化修饰, 而且由于在糖基

的单糖结构和组成上的不同而显得比真核生物中的更加丰富多样。

1.1 糖基化的类型

目前已发现超过 70 种细菌蛋白质糖基化修饰, 细菌的蛋白质糖基化和真核生物一样可以按照氨基酸和糖的连接方式分为 4 类: O 位糖基化、N 位糖基化、C 位甘露糖化以及 GPI(glycophosphatidylinositol) 锚定连接, 但是前者在连接方式和结构上不一样, 而且糖基中还含有一些在真核生物当中罕见的单糖, 因而显得更加丰富多彩。下面主要介绍原核生物中蛋白质的 N 位糖基化修饰方式。

在原核生物空肠曲杆菌中, 七庚糖最终与蛋白质的天冬氨酸相连, 通过对其结构的研究发现, 不同于真核生物中多萜醇途径的 N 位糖基化发生在内质网里, 原核生物的 N 位糖基化发生在周质空间里, 而且有它独特的 Pgl 途径, 过程如图 1 所示。

* 国家自然科学基金(30870100)和国家重点基础研究发展计划(973)(2009CB522605)资助项目。

** 通讯联系人。

Tel: 021-64671226, E-mail: yfyao@sjtu.edu.cn

收稿日期: 2010-07-22, 接受日期: 2010-10-11

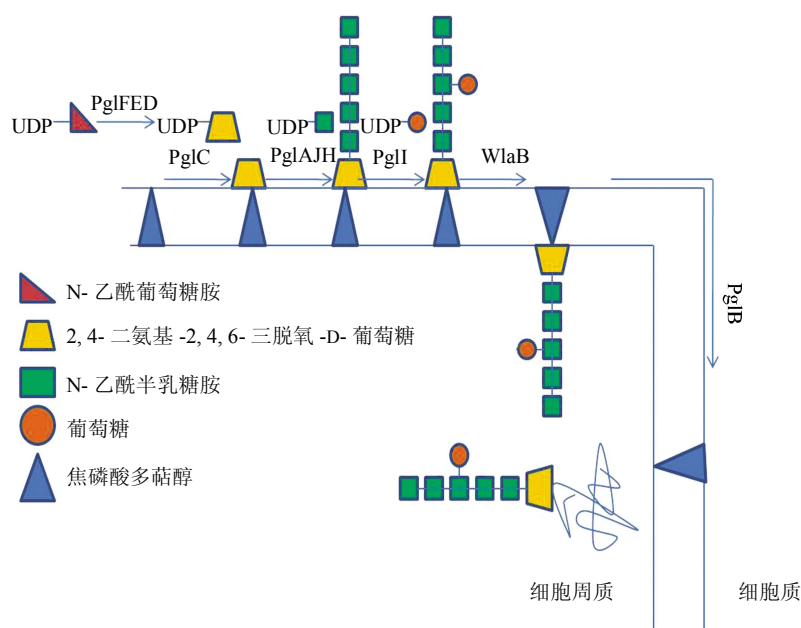


Fig. 1 N-glycosylation of proteins through the Pgl pathway in prokaryotes

图 1 原核生物中蛋白质 N 位糖基化的 Pgl 途径

这个过程主要依赖 *pgl* 基因簇编码的各种酶来完成, *pgl* 编码 PglA, Pgl C, PglH, PglI, PglJ, 这 5 个糖基化转移酶负责对脂质载体上七庚糖的组装, 各自发挥不同的作用. 它还编码 PglF, UDP-N-乙酰葡萄糖胺 C6 脱水酶, PglD, N-乙酰转移酶, PglE, C-4 氨基转移酶, 这 3 个酶负责将 UDP-GlcNAc 转换为 UDP-Bacillosamine. WlaB 被认为是 ATP 结合和运输蛋白, 它能将糖基从胞质翻转到周质内, PglB 则负责将糖基转移到蛋白质上^[1].

研究发现, Pgl 系统中最主要的酶是寡糖转移酶(OST), PglB, 它是一种细胞膜整合蛋白, 只有一种组分, 大小 82 ku, 有高度保守的氨基酸序列 W-W-D-Y-G, 而且它的氨基酸序列和 SST3(真核生物寡糖转移酶中功能非常重要的组分^[2])相似性非常高, 它能将脂质载体上的七庚糖转移到蛋白质上使其糖基化. 关于糖基化位点, 普遍认为原核生物 N 位糖基化发生在蛋白质序列 D/E-Z-N-X- S/T 上, 其中 Z 和 X 可以是除了脯氨酸之外的任何氨基酸^[3].

1.2 糖基化对原核生物的作用

类似于真核细胞, 原核生物中蛋白质的糖基化对其生命活动也产生很重要的影响, 比如: 蛋白质三级结构的维持和稳定、细胞识别、粘着和吸附、

致病性等. 例如, 用枯草杆菌肽和盐生盐杆菌一起温育, 此种物质可阻止外膜蛋白的糖基化, 结果发现, 菌体发生了变化, 从柱状变成了球状, 说明外膜蛋白的糖基化能维持和稳定菌体的形状^[4].

目前研究比较深入的糖蛋白大多来自病原菌, 而且发现它们与病原菌的毒力紧密相关. 在淋病奈瑟菌中, 通过蛋白质上第 63 位丝氨酸残基和 Gal-GlcNAc 形成的 O 位糖基化蛋白是其菌毛上主要的骨架成分, 它和该细菌的抗原性、组织特异性以及对宿主细胞的侵入密切相关^[5].

2 脂基化

原核生物中蛋白质以不同的方式通过共价连接形成暂时或持久性的脂基化修饰, 脂基基团可以是肉豆蔻酸、棕榈酸等长链脂肪酸. 在原核生物中发现了很类型的脂基化蛋白.

2.1 脂基化蛋白的种类

2.1.1 脂蛋白. 盐杆菌中在分子质量很小的蓝铜蛋白的基本序列上有普遍的脂蛋白修饰, Leu-Ala-Gly-Cys 是它的基本序列, 位于信号序列的氨基端, 推测跟蛋白质的定位有密切关系^[6]. 另外, 在革兰氏阳性细菌中, 细胞膜上用于结合和运载底物的 ABC 运载体是多亚基组成的, 其中结合底物的亚基也是脂蛋白^[7].

2.1.2 异戊二烯化蛋白. 在盐杆菌中用放射性标记的异戊二烯前体甲羟戊酸培养, 最终发现存在于细胞膜上的一些糖蛋白上, 后来通过放射性的脉冲示踪技术发现, 它能够促进糖蛋白的成熟和正确定位^[8], 而且糖蛋白的这种修饰也像脂蛋白一样基于相似的基本序列, 因此推测糖蛋白的这种异戊二烯修饰在原核生物中是普遍存在的.

2.1.3 酰化蛋白. 在原核生物当中, 通过对全基因组序列研究发现有很多编码脂肪酸合成有关的基因和脂肪酸氧化制造能量的基因, 而且很多蛋白质都经过酰化修饰. 例如, 甲烷杆菌和盐杆菌的亚细胞组分和质谱数据显示很多蛋白质都经过了酰化修饰, 进一步的色谱分析发现, 主要是棕榈酸和硬脂酸, 其他的脂肪酸很少^[9].

2.1.4 GPI 锚定蛋白. GPI(glycosylphosphatidylinositol)锚定主要是通过蛋白质羧基端的脂类修饰使其固定在细胞膜上, 大致过程是 GPI 的重要组成成分磷脂酰肌醇通过与蛋白质的羧基端连接转运到细胞膜上形成未成熟的蛋白质将蛋白质羧基端上游的序列剪切掉之后通过重新连接进而形成成熟的膜蛋白, 这种 GPI 锚定需要 19 种酶的参与才能形成, 在真核生物中是普遍存在的, 可是原核生物中只有在古细菌发现过, 而且通过基因组的分析发现很多古细菌都存在编码 GPI 锚定蛋白的功能^[10].

2.2 脂基化的作用

蛋白质的脂基化能够增强蛋白质在细胞膜上的亲和性, 参与细胞内的信号转导, 调节细胞中蛋白质的相互作用, 而且还能够参与物质的胞外运输. 囊性纤维化患者感染的绿脓假单胞菌是一种条件致病菌, PelC 蛋白是该细菌细胞膜上一种脂基化蛋白, 脂基化不仅与该蛋白质在细胞膜上的快速准确定位密切相关, 而且还能使该蛋白质更有效率地运输荚膜多糖从而影响细菌的致病^[11].

3 甲基化

蛋白质的甲基化是指在甲基转移酶催化下, 甲基基团由 S-腺苷基甲硫氨酸转移至相应蛋白质的过程, 既可以形成可逆的甲基化修饰, 如 O 位羧基端的甲基化修饰, 也可以形成不可逆的甲基化修饰, 如 N-位的甲基化修饰. 在原核生物中也普遍存在蛋白质的甲基化.

3.1 甲基化辅酶 M 还原酶的甲基化

在甲烷杆菌中, 甲烷的产生是通过甲基化辅酶 M 还原酶催化产生的, 通过晶体结构的分析发现,

它是一个六聚体, 其中 α 亚基上 5 个被修饰的氨基酸都位于活性位置, 而且除了其中 1 个是甘氨酸的硫醇修饰外, 其余 4 个都是甲基化修饰的, 分别是 1-N-甲基化组氨酸、5-(S)-甲基化精氨酸、2-(S)-甲基化谷氨酸和 S-甲基化半胱氨酸. 一直认为, 甲基化辅酶 M 还原酶的甲基化是合成之后在这 4 个残基上加上的, 可是从结构上分析, 这 4 个氨基酸残基深深地埋在酶的内部, 甲基转移酶不能靠近它们, 因而不能催化其甲基化, 至今催化的具体机制还不清楚^[12].

3.2 DNA 结合蛋白的甲基化修饰

古细菌与细菌不同, 却有着与真核细胞相似的某些特性, DNA 组装都需要组蛋白的参与. 硫叶菌属的 DNA 结合蛋白按分子质量可以分为 3 类, 分别是 7 ku, 8 ku, 10 ku, 其中最主要的是 7 ku 蛋白, 被称为 Sul7 家族, 通常在赖氨酸上发生甲基化, 这些蛋白质由于被甲基化而使其具有独特的物理特性和功能^[13].

3.3 细菌全局性的蛋白质甲基化修饰

得益于蛋白质质谱技术的进步, Cao 等^[14]通过计算机预测和高分辨率串联质谱首次对一种引起人和多种动物致病的病原体问号钩端螺旋体赖株的蛋白质表达和蛋白质翻译后修饰进行了全面研究, 检测到了 2 540 个蛋白质, 大约占通过基因组预测的蛋白质总数的 64.3%, 而且发现 32 个磷酸化蛋白, 46 个乙酰化蛋白和 155 个甲基化的蛋白质(修饰的位点有赖氨酸、谷氨酸、脱掉酰胺基团的谷氨酰胺和精氨酸, 而且这是首次在原核生物中发现精氨酸的甲基化修饰), 其中包括鞭毛蛋白、转录延伸因子、腺苷酸环化酶、翻译起始因子等, 这说明甲基化修饰在钩端螺旋体中是一个全局性的蛋白质修饰, 和细菌的运动、信号转导、转录和翻译等生命活动密切相关. 进一步研究发现, 这些蛋白质的磷酸化修饰和精氨酸残基上的甲基化修饰与真核生物很相似, 这暗示了钩端螺旋体和真核生物在蛋白质翻译后修饰系统上有很大的相似性.

3.4 蛋白质甲基化的作用

甲基基团虽然不能明显改变整个氨基酸的电荷, 只是替代了氨基上的 H 原子, 但却减少了氢键的形成数量, 而且甲基化的加入增加了空间阻力, 影响了底物与蛋白质的相互作用. 蛋白质甲基化已经被证明有很多的功能: 蛋白质之间的相互作用、蛋白质和 RNA 之间的相互作用、蛋白质的定位、RNA 加工、细胞信号转导以及致病性等^[15].

蛋白质的甲基化修饰跟原核生物的致病性存在很密切的关系。在结核分枝杆菌中, 细胞表面存在一种肝素结合血凝素蛋白 HBHA, 其羧基端功能区含有很多富含赖氨酸的重复序列, 而且每个赖氨酸残基上都被不同程度的甲基化修饰, 这些修饰能保护这个功能区不被蛋白酶降解从而介导细菌与宿主的识别、结合以及致病。而且血凝素作为预防结核的疫苗候选因子, 研究证明甲基化修饰和免疫原性相关, 只有正确的甲基化修饰的血凝素才能对结核起到一定的预防作用^[16]。

4 磷酸化

蛋白质的磷酸化是指通过酶促反应将磷酸基团转移到目的蛋白特定的氨基酸残基上的过程, 是可逆的。这是生物体内存在的一种普遍的调节方式, 在细胞信号的传递过程中占有极其重要的地位。

4.1 3种主要的蛋白质磷酸化修饰机制

第一种是 ATP 或 GTP 依赖的蛋白质磷酸化修饰。与真核生物类似, 这种修饰也是通过在激酶的作用下, 将 ATP 的磷酸基团转移到目的蛋白特定氨基酸残基上, 主要是丝氨酸, 其次是苏氨酸和酪氨酸。这种磷酸化修饰在生物界中广泛存在, 大约有三分之一的蛋白质是经过这种磷酸化方式修饰的。

第二种是双组分磷酸化修饰。在这种磷酸化修饰中, 一种叫做感受激酶的蛋白质能够感受外界的信号刺激, 利用 ATP 将自己的组氨酸残基发生磷酸化, 然后这个磷酸基团被转移到下一个叫做受体蛋白的天冬氨酸残基上, 最终引起细胞在代谢上的一系列反应。进一步研究发现, 在不同的原核生物中, 双组分中的第一个蛋白质有着共同的保守序列, 这个保守序列位于蛋白质的 C 端, 含有大概 250 个氨基酸残基, 第二个组分在 N 端含有大概 100 个氨基酸残基的保守区^[17]。

第三种是磷酸化丙酮酸(PEP): 糖类磷酸化转移酶系统(简称 PTS)。PEP 将磷酸基团转移至 EnZ 蛋白, 然后通过 HPr、II A、II B 和 II C 最后转移到一个五碳糖上, 这些蛋白质磷酸位点通常都是组氨酸残基, 只有 HPr 蛋白磷酸化位点是组氨酸或者丝氨酸残基^[18]。

其实, 这 3 种磷酸化转移酶系统不是孤立存在的, 它们之间共同对某些生命活动产生影响。例如, 在枯草芽孢杆菌中, *sac* 操纵子是受 PTS 和双组分磷酸转移酶系统双重控制的^[19]。

4.2 磷酸化在原核生物中的作用

在原核生物中, 蛋白质的磷酸化修饰主要通过上述 3 种磷酸化修饰机制影响着蛋白质的功能, 特别是双组分系统(TCS), 它能感受外界环境细微的变化进而调控着不同基因的表达, 和一些特殊致病菌的致病性有密切的关系。例如在结核分枝杆菌中, PhoR-PhoP 双组分系统中的 PhoR 能感受外界二价阳离子浓度或 pH 等环境变化, 自身磷酸化后, 将磷酸基团转移到 PhoP 氨基端第 71 位天冬氨酸残基上, 引起羧基端结构的变化从而更好地和相关基因的启动子结合, 表达一些应对环境的蛋白质以及一些毒力蛋白^[20]。迄今为止, 通过 *phoP* 突变株和野生株的蛋白质谱比较发现, PhoR-PhoP 系统直接和间接调控着大量基因的表达, 包括转录调控因子、脂质代谢、细胞膜成分合成、毒力蛋白等相关基因, 对其侵入宿主细胞、在宿主细胞中的存活以及应对各种压力环境等发挥着关键的作用^[21]。

5 乙酰化

乙酰化修饰首先是在真核生物中发现的, 发生乙酰化的位点是结合在 DNA 上组蛋白的赖氨酸残基 ϵ -NH₂, 对基因转录起到重要的调节作用^[22]。随着研究的深入, 近些年在原核生物中也发现了蛋白质乙酰化修饰。下面将介绍一些重要的原核生物蛋白质乙酰化修饰。

5.1 乙酰辅酶 A 合成酶(ACS)的乙酰化修饰

在真核生物中, Sir2 依赖的蛋白质乙酰化、去乙酰化修饰系统影响着基因的表达和细胞的寿命, 并且在所有类型的真核生物中都发现过, 而在原核生物中之前从未发现过类似的酶。Starai 等^[23]在鼠伤寒沙门氏菌中发现了中心代谢酶乙酰-CoA 合成酶 ACS, 它对生命代谢起着关键的作用, 通过利用醋酸盐、腺嘌呤核苷和 CoA 等来合成乙酰-CoA, 从而被乙酰化酶 Pat 利用以对其他蛋白质进行乙酰化的修饰。同样 ACS 也受乙酰化的调控, 去乙酰化酶 CobB 能够在其第 609 位赖氨酸残基上进行去乙酰化降低其活性从而抑制乙酰-CoA 的合成。

5.2 DNA 结合蛋白的乙酰化修饰

Bell 等^[24]在研究古细菌硫矿硫化叶菌 P2 时发现, 古细菌 DNA 结合蛋白 Alba 存在乙酰化和去乙酰化两种状态, 对 DNA 转录有调节作用, 而且它能够被古细菌的 Sir2 同源蛋白去乙酰化, 如用 Sir2 同源蛋白处理体外重建转录系统, 可以观察到

转录抑制现象. 对 Alba 蛋白的乙酰化进行深入研究发现, 它是在 Lys16 上被乙酰化修饰而受调控的, 对该位点进行乙酰化修饰的是乙酰基转移酶 Pat, 并指出 Pat 的功能是很保守的, 不仅在古细菌中存在, 而且在真细菌中也存在^[25].

5.3 核糖体蛋白的乙酰化修饰

原核生物中的核糖体蛋白 S18, S5 和 L12 能够被 Rim 蛋白, 包括 RimI, RimJ, RimL 分别乙酰化修饰, 其中的 L12 及其乙酰化衍生物 L7 由于它们的物理特性和生物学功能而尤为受到关注^[26]. 在大肠埃希氏菌中, L12 和 L7 是以二聚体形式存在的, 在核糖体中是唯一一个多拷贝的蛋白质, 这种二聚体不直接和 rRNA 作用, 而是通过和 L10 形成另外一种聚合物间接和其发生作用^[27].

5.4 代谢酶的乙酰化修饰

我们通过将菌体总蛋白进行质谱鉴定发现, *S. enterica* 中有 166 个蛋白质的 190 个肽段都是乙酰化修饰的, 其中 134 个蛋白质是已知功能的蛋白质, 而且除了乙酰-CoA 合成酶, 其余都未有相应的报道. 通过对质谱结果归类发现, 其中与代谢有关的蛋白质将近 50%, 几乎覆盖了所有的和生命代谢包括糖酵解、糖异生、柠檬酸循环、乙醛酸循环等有关的酶, 同时发现这些酶的乙酰化水平是受乙酰化酶(Pat)和去乙酰化酶(CobB)严格调控的^[28]. 研究发现乙酰化修饰对菌体协调碳源利用和调控代谢流具有重要作用.

在鼠伤寒沙门氏菌中, 用 5 mmol/L 葡萄糖作为唯一碳源分别对菌进行培养以观察它们的生长速度, 结果发现, 在不同的时间点, *cobB* 缺失、野生菌株(WT)、*pat* 缺失的菌株的 A_{600} 表现为递减, 而用柠檬酸作为唯一碳源时, 情况完全相反. 进一步通过在体外对各种代谢酶乙酰化水平的调节来观察酶的活性, 以考察乙酰化对各种糖类利用的影响. AceA 是异柠檬酸裂解酶, 使得柠檬酸进入 TCA 循环; AceK 是异柠檬酸脱氢酶激酶, 也有磷酸酯酶活性, 它能够磷酸化异柠檬酸脱氢酶(ICDH), 从而使柠檬酸进入乙醛酸途径, 也可以使 ICDH 去磷酸化, 抑制进入乙醛酸途径. 通过体外用 Pat 处理 AceA, 其活性下降 30%, 而用 CobB 处理活性则上升了 24%. 而用 Pat 处理 AceK 提高其乙酰化水平, 发现其抑制 ICDH 的活性下降了 60%, 这说明了 AceK 的乙酰化能够提高其酯酶活性.

进一步通过不同种类(如葡萄糖和柠檬酸)和浓

度的碳源培养鼠伤寒沙门氏菌, 观察不同生长时期在 *pat* 和 *cobB* 的转录水平, 结果发现两个基因在对数期的转录水平最高, 而且各个时期总体具有相同的变化趋势, 说明 Pat 和 CobB 共同调控着蛋白质的乙酰化.

6 类泛素化

在真核生物中, 存在一种泛素(ubiquitin)修饰介导的蛋白质降解机制, 可以通过共价键将含有 76 个氨基酸残基的泛素基团结合到一些折叠不正确或功能缺失的蛋白质上, 从而作为一种降解信号让蛋白酶体识别并降解^[29]. 而 2008 年之前在原核生物中只发现了蛋白酶体, 却从未发现泛素或类泛素的蛋白质的修饰, 因此一度认为蛋白酶体对原核生物蛋白质的降解完全依赖于蛋白质自身的组成和结构^[30], 但最近两年通过对结核分枝杆菌的研究, 发现了 Pup 修饰, 而且能介导蛋白质的降解.

Pearce 等^[31]发现, 在离体条件下, FabD(丙二酰 CoA- 酰基载体蛋白)和蛋白酶体(含 Mpa, Mpa 是一种 ATP 依赖的激酶, 存在于蛋白酶体的顶端, 能识别目的蛋白并将其输送到蛋白酶体核心降解区域)一起温育, 发现 FabD 未被降解, 推测其降解还需要另外一种辅助因子. 进一步研究, 通过在大肠杆菌中进行细菌双杂交, 发现 Mpa 能和 *rv2111c* 编码的蛋白 Pup 相互作用, 而且这个蛋白质和蛋白酶体的核心蛋白在同一个顺反子中被同时表达, 因此推测 Pup 参与了蛋白质的降解. 另外对 *pafA* (*rv2097*)的突变也导致 FabD 不能被降解, 而它具有有一种连接赖氨酸和谷氨酸的连接酶活性, 因此推测 Pup 是通过 PafA 蛋白连接在目的蛋白上的.

真核生物的泛素和类泛素在羧基端通常含有 Gly-Gly 两个甘氨酸, 反应时需要经过降解其他氨基酸将这两个氨基酸暴露才能和目的蛋白的 Lys 位点发生结合, 而在原核生物中蛋白质的 Pup 修饰有其独特的途径. 通过对 *pup* 基因序列进行分析发现, Pup 含有 64 个氨基酸残基, 大小在 6.9 ku. Striebel 等^[32]通过质谱结果分析发现, Pup 羧基端 Gly-Gly-Gln 的谷氨酰胺必须经过脱酰胺作用变成谷氨酸, 然后才能和目的蛋白上的赖氨酸发生结合, 其中脱酰胺酶是 Dop(*rv2112* 编码), 它的缺失导致目的蛋白的大量堆积以及 Pup 修饰的蛋白质检测不到, 因此它的脱酰胺作用是 Pup 修饰必需的^[33].

通常类泛素之间在序列上相似度很低, 但是在 3D 结构上却有很高的保守性^[34]. 但作为在原核生

物中发现的第一种类泛素修饰,通过结构预测,结合 CD 和 NMR 技术发现它在结构上和真核类泛素很不一样,是一种无序结构的蛋白质,只是在羧基端存在一些小的类似螺旋的结构^[35].

原核生物类泛素修饰不仅能和泛素修饰系统一样作为一种蛋白质降解信号参与蛋白质的降解,而且也有可能参与其他生命活动. Festa 等^[36]对结核分枝杆菌的蛋白质进行了质谱分析,发现了 55 个被 Pup 修饰的蛋白质,其中很多蛋白质在降解功能缺失的 *mpa* 突变菌株中也没有富集,这说明蛋白质的 Pup 修饰除了能作为一种蛋白质降解信号外,还有其他的功能. 质谱的归类结果证实了这一点,这 55 个被 Pup 修饰的蛋白质包括了 8 种功能的蛋白质,如中间代谢、脂类代谢、信号转导、毒力等. 这暗示着 Pup 修饰很可能是一种全局性的修饰,而且通过修饰介导了原核生物的各种生命活动过程.

7 展 望

在原核生物中,随着蛋白质组学研究的迅猛发展,如今,一些在原核生物中从未发现过的蛋白质翻译后修饰接连不断地呈现出来. 原核生物中蛋白质翻译后修饰的种类、结构、机制和功能的研究,将让我们对原核生物蛋白质的各种特性有更进一步的了解,为我们深入理解原核生物生命活动的调控机制提供必要的信息. 同时为人类将来更好地利用微生物为工农业生产服务,为各种感染性疾病的预防和治疗提供了强有力的科学依据.

参 考 文 献

- [1] Eichler J, Adams M W. Posttranslational protein modification in *Archaea*. Microbiol Mol Biol Rev, 2005, **69**(3): 393–425
- [2] Sharon N. Celebrating the golden anniversary of the discovery of bacillosamine, the diamino sugar of a *Bacillus*. Glycobiology, 2007, **17**(11): 1150–1155
- [3] Kowarik M, Young N M, Numao S, *et al.* Definition of the bacterial N-glycosylation site consensus sequence. EMBO J, 2006, **25**(9): 1957–1966
- [4] Lechner J, Wieland F. Structure and biosynthesis of prokaryotic glycoproteins. Annu Rev Biochem, 1989, **58**: 173–194
- [5] Banerjee A, Wang R, Supernavage S L, *et al.* Implications of phase variation of a gene (*pgtA*) encoding a pilin galactosyl transferase in gonococcal pathogenesis. J Exp Med, 2002, **196**(2): 147–162
- [6] Mattar S, Scharf B, Kent S B, *et al.* The primary structure of halocyanin, an archaeal blue copper protein, predicts a lipid anchor for membrane fixation. J Biol Chem, 1994, **269**(21): 14939–14945
- [7] Sutcliffe I C, Russell R R. Lipoproteins of gram-positive bacteria. J Bacteriol, 1995, **177**(5): 1123–1128
- [8] Eichler J. Post-translational modification of the S-layer glycoprotein occurs following translocation across the plasma membrane of the haloarchaeon *Haloferax volcanii*. Eur J Biochem, 2001, **268**(15): 4366–4373
- [9] Pereto J, Lopez-Garcia P, Moreira D. Ancestral lipid biosynthesis and early membrane evolution. Trends Biochem Sci, 2004, **29**(9): 469–477
- [10] Eisenhaber B, Bork P, Eisenhaber F. Post-translational GPI lipid anchor modification of proteins in kingdoms of life: analysis of protein sequence data from complete genomes. Protein Eng, 2001, **14**(1): 17–25
- [11] Vasseur P, Soscia C, Voulhoux R, *et al.* PelC is a *Pseudomonas aeruginosa* outer membrane lipoprotein of the OMA family of proteins involved in exopolysaccharide transport. Biochimie, 2007, **89**(8): 903–915
- [12] Grabarse W, Mahler F, Shima S, *et al.* Comparison of three methyl-coenzyme M reductases from phylogenetically distant organisms: unusual amino acid modification, conservation and adaptation. J Mol Biol, 2000, **303**(2): 329–344
- [13] Baumann H, Knapp S, Lundback T, *et al.* Solution structure and DNA-binding properties of a thermostable protein from the archaeon *Sulfolobus solfataricus*. Nat Struct Biol, 1994, **1**(11): 808–819
- [14] Cao X J, Dai J, Xu H, *et al.* High-coverage proteome analysis reveals the first insight of protein modification systems in the pathogenic spirochete *Leptospira interrogans*. Cell Res, 2010, **20**(2): 197–210
- [15] Bedford M T, Richard S. Arginine methylation an emerging regulator of protein function. Mol Cell, 2005, **18**(3): 263–272
- [16] Host H, Drobecq H, Locht C, *et al.* Enzymatic methylation of the *Mycobacterium tuberculosis* heparin-binding haemagglutinin. FEMS Microbiol Lett, 2007, **268**(2): 144–150
- [17] Parkinson J S, Kofoed E C. Communication modules in bacterial signaling proteins. Annu Rev Genet, 1992, **26**: 71–112
- [18] Postma P W, Lengeler J W, Jacobson G R. Phosphoenolpyruvate: carbohydrate phosphotransferase systems of bacteria. Microbiol Rev, 1993, **57**(3): 543–594
- [19] Traugh J A, Traut R R. Phosphorylation of ribosomal proteins of *Escherichia coli* by protein kinase from rabbit skeletal muscle. Biochemistry, 1972, **11**(13): 2503–2509
- [20] Sinha A, Gupta S, Bhutani S, *et al.* PhoP-PhoP interaction at adjacent PhoP binding sites is influenced by protein phosphorylation. J Bacteriol, 2008, **190**(4): 1317–1328
- [21] Walters S B, Dubnau E, Kolesnikova I, *et al.* The *Mycobacterium tuberculosis* PhoPR two-component system regulates genes essential for virulence and complex lipid biosynthesis. Mol Microbiol, 2006, **60**(2): 312–330
- [22] Allfrey VG, Faulkner R, Mirsky AE. Acetylation and methylation of histones and their possible role in the regulation of Rna synthesis. Proc Natl Acad Sci USA, 1964, **51**(5): 786–794
- [23] Starai V J, Celic I, Cole R N, *et al.* Sir2-dependent activation of

- acetyl-CoA synthetase by deacetylation of active lysine. *Science*, 2002, **298**(5602): 2390–2392
- [24] Bell S D, Botting C H, Wardleworth B N, *et al.* The interaction of Alba, a conserved archaeal chromatin protein, with Sir2 and its regulation by acetylation. *Science*, 2002, **296**(5565): 148–151
- [25] Marsh V L, Peak-Chew S Y, Bell S D. Sir2 and the acetyltransferase, Pat, regulate the archaeal chromatin protein, Alba. *J Biol Chem*, 2005, **280**(22): 21122–21128
- [26] Tanaka S, Matsushita Y, Yoshikawa A, *et al.* Cloning and molecular characterization of the gene rimL which encodes an enzyme acetylating ribosomal protein L12 of *Escherichia coli* K12. *Mol Gen Genet*, 1989, **217**(2–3): 289–293
- [27] Mohr D, Wintermeyer W, Rodnina M V. GTPase activation of elongation factors Tu and G on the ribosome. *Biochemistry*, 2002, **41**(41): 12520–12528
- [28] Wang Q, Zhang Y, Yang C, *et al.* Acetylation of metabolic enzymes coordinates carbon source utilization and metabolic flux. *Science*, 2010, **327**(5968): 1004–1007
- [29] Hershko A, Ciechanover A. The ubiquitin system. *Annu Rev Biochem*, 1998, **67**: 425–479
- [30] Darwin K H. Prokaryotic ubiquitin-like protein (Pup), proteasomes and pathogenesis. *Nat Rev Microbiol*, 2009, **7**(7): 485–491
- [31] Pearce M J, Mintseris J, Ferreyra J, *et al.* Ubiquitin-like protein involved in the proteasome pathway of *Mycobacterium tuberculosis*. *Science*, 2008, **322**(5904): 1104–1107
- [32] Striebel F, Imkamp F, Sutter M, *et al.* Bacterial ubiquitin-like modifier Pup is deamidated and conjugated to substrates by distinct but homologous enzymes. *Nat Struct Mol Biol*, 2009, **16** (6): 647–651
- [33] Imkamp F, Rosenberger T, Striebel F, *et al.* Deletion of dop in *Mycobacterium smegmatis* abolishes pupylation of protein substrates *in vivo*. *Mol Microbiol*, 2010, **75**(3): 744–754
- [34] Shang Q, Xu C, Zhang J, *et al.* Solution structure of SUMO from *Trypanosoma brucei* and its interaction with Ubc9. *Proteins*, 2009, **76**(1): 266–269
- [35] Liao S, Shang Q, Zhang X, *et al.* Pup, a prokaryotic ubiquitin-like protein, is an intrinsically disordered protein. *Biochem J*, 2009, **422** (2): 207–215
- [36] Festa R A, McAllister F, Pearce M J, *et al.* Prokaryotic ubiquitin-like protein (Pup) proteome of *Mycobacterium tuberculosis*. *PLoS One*, 2009, **5**(1): e8589

Protein Post-translational Modification in Prokaryotes*

TAN Yong-Cong¹⁾, WANG Qi-Jun²⁾, ZHAO Guo-Ping²⁾, YAO Yu-Feng^{1)**}

¹⁾ Department of Medical Microbiology and Parasitology, Shanghai Jiao Tong University School of Medicine, Shanghai 200025, China;

²⁾ Laboratory of Synthetic Biology, Institute of Plant Physiology and Ecology, Shanghai Institute for Biological Sciences, The Chinese Academy of Sciences, Shanghai 200032, China)

Abstract Post-translational modification of proteins is a key step in the process of regulating their biological functions and it's an important molecular basis in the dynamic response and interaction of proteins, meanwhile, it can be considered as important targets to regulate the cell signaling networks. At present, post-translational modification of protein has become a critical area in the research of proteins. In prokaryotes, post-translational modification of proteins can play a crucial role in the life activities, such as cell signal transduction, metabolism, protein degradation, pathogenicity of pathogenic microorganisms and so on. The types, mechanisms and functions of the classical post-translational modification of proteins in prokaryotes were summarized and the recently discovered global acetylation in *Salmonella enterica*, as well as the ubiquitin-like modification in *Mycobacterium tuberculosis*, were also introduced.

Key words prokaryote, post-translational modification, glycosylation, phosphorylation, lipid modification, acetylation, ubiquitin-like modification, methylation

DOI: 10.3724/SP.J.1206.2010.00138

*This work was supported by grants from The National Natural Science Foundation of China (30870100) and National Basic Research Program of China (2009CB522605).

**Corresponding author.

Tel: 86-21-64671226, E-mail: yfyao@sjtu.edu.cn

Received: July 22, 2010 Accepted: October 11, 2010