



古菌中蛋白甲基化修饰的研究进展

韩小云, 翟斌元, 申玉龙*

山东大学微生物技术国家重点实验室, 山东 青岛 266200

摘要: 蛋白甲基化修饰是翻译后修饰的主要方式之一, 越来越多的报道证实古菌中存在这类蛋白修饰。目前古菌中一些甲基转移酶已经鉴定出来, 但对其作用机制还不太清楚。本文对目前古菌中已经发现的蛋白质甲基转移酶和甲基化修饰可能的作用进行了总结。古菌中蛋白的甲基化修饰能够提高蛋白稳定性、影响侧链构象变化及与其他分子的相互作用, 涉及 DNA 损伤修复和应激反应等途径。最后, 本文对今后古菌中蛋白甲基化修饰的研究方向进行了展望。

关键词: 古菌, 蛋白质翻译后修饰, 甲基化修饰

蛋白质甲基化修饰普遍存在于三域生物中, 是表观遗传调控的主要修饰方式之一^[1-2], 同磷酸化^[3]、乙酰化和泛素化等蛋白质翻译后修饰一样, 甲基化修饰对蛋白质的生理特性以及生化功能有重要的影响^[4]。

甲基化修饰形式多样, 利用 S 腺苷甲硫氨酸作为供体, 将甲基转移到赖氨酸和精氨酸侧链的 ϵ -氨基上。赖氨酸可以形成单甲基化、双甲基化、三甲基化三种修饰形式, 而精氨酸能够发生单甲基化和双甲基化修饰。其中, 根据两个甲基基团添加在相同或者不同胍基氮原子上, 双甲基化修饰又可分为对称双甲基化和不对称双甲基化修饰^[5]。其中赖氨酸的甲基化修饰最为常见^[6]。真核

生物中组蛋白修饰主要发生在赖氨酸和精氨酸侧链上, 赖氨酸甲基化修饰主要是由一类含有 SET 保守结构域蛋白和 DOT1 家族的蛋白质完成, 而精氨酸甲基化修饰主要是由含高度保守甲基转移酶结构域的 PRMT 家族蛋白完成的。

在真核生物中, 组蛋白的修饰是表观遗传学研究的一个重要研究领域, 且广泛存在于所有真核生物中。组蛋白这种修饰影响异染色质形成、基因印记、X 染色体失活和转录调控等多种生理功能; 而非组蛋白如细胞色素 C、二磷酸核酮糖羧化酶、核蛋白、转录因子 p53 等的甲基化修饰的功能还不太清楚^[7-11]。在细菌中, 已知的甲基化修饰只发生在一些鞭毛蛋白和核糖体蛋白

基金项目: 国家自然科学基金(31670061, 31470184)

*通信作者。Tel: +86-532-58631562; E-mail: yulgshen@sdu.edu.cn

收稿日期: 2018-06-29; 修回日期: 2018-09-10; 网络出版日期: 2018-09-17

上^[2,12-13], 这些蛋白的修饰使其对蛋白酶具有更强的抗性^[2,14], 但对其详细功能也还不十分清楚。

作为第三种生命形式, 古菌虽然独立于真核生物和细菌, 但同时兼备细菌和真核生物的特征^[15]。在细胞形态、物质和能量代谢等方面, 古菌接近于细菌, 并且拥有独特的糖代谢途径。而 DNA 修复、复制、转录和翻译等遗传信息加工过程类似于真核生物, 很多古菌中参与 DNA 代谢的蛋白可以在真核生物中找到同源蛋白^[16-18]。由于其独特的进化地位、分布范围以及特殊的生长环境, 古菌已成为生物学研究中非常重要的一个对象^[19]。最近利用宏基因组测序及单细胞基因组技术, 科学家已发现多种之前未被鉴定的古菌, 极大拓展了古菌的分类。新的分类系统中古菌共包括 4 个超门: 广古菌 (Euryarchaeota)、TACK (Thaumarchaeota、Aigarchaeota、Crenarchaeota 和 Korarchaeota)、Asgard 超门 (Heimdallarchaeota、Thorarchaeota、Lokiarchaeota 和 Odinararchaeota) 和 DPANN 超门 (包括 Nanoarchaeota 在内的 9 个门)^[20]。

越来越多的报告显示, 甲基化修饰在古菌中广泛存在, 暗示其在古菌生命活动中具有重要意义^[21], 是近年来古菌研究中十分重要的方向之一。本文主要总结古菌蛋白甲基化修饰的研究现状和进展, 并对今后的研究提出一些展望。

1 古菌中蛋白甲基化修饰的普遍性

广古菌和泉古菌 (Crenarchaeota) 作为古菌的两大门, 分别含有组蛋白 (histone) 和染色体结合蛋白 Cren7/Sul7d^[22]。由于古菌中组蛋白缺乏 N-端和 C-端区域, 因此尚未发现组蛋白甲基化修饰; 但是, 研究发现 Cren7/Sul7d 存在不同程度的甲基化修饰^[23]。此外, 目前已有很多关于其他古菌蛋白

甲基化修饰的报道, 如嗜酸硫化叶菌 (*Sulfolobus acidocaldarius*) 中的铁氧还原蛋白^[24], 硫磺矿硫化叶菌 (*Sulfolobus solfataricus*) 中的 β -糖苷酶、谷氨酸脱氢酶^[25]、天冬氨酸转氨酶^[26]、核糖体蛋白、核糖体蛋白 L11^[27-28]、RFC 的大小亚基、Sso7d 等都发生不同程度的甲基化修饰^[22,29], 其中主要是赖氨酸甲基化修饰^[21,23] (表 1)。

Vorontsov 等在冰岛硫化叶菌 (*Sulfolobus islandicus*) 中鉴定了 1623 个蛋白, 发现其中 872 个蛋白存在 2518 个甲基化位点, 这些蛋白涉及 DNA 转录、修复、重组、细胞分裂、细胞周期调控、信号转导、辅酶转运等过程^[30]。同时他们在鉴定 RNA 聚合酶的甲基化修饰结果发现, RNA 聚合酶的 9 个亚基中, RpoA' 的 K395、K659, RpoB'-C 的 K12、K311、K349, RpoD 的 K115, RpoE' 的 K20、K131、K133、K171、K179, RpoF 的 K54、K102, RpoH 的 K30、K68, RpoL 的 K71、K88, RpoP 的 K19, Rpo13 的 K66、K98、K100 都发生不同程度的单甲基化修饰 (表 1)。核酸结合蛋白 Sis10b、Sac10b、Ssh10b、Sso10b, 染色质蛋白 Cren7, 7-kDa DNA 结合蛋白 Sul7d1、Sul7d2 等都发生不同程度的甲基化修饰^[21]。S. *acidocaldarius* 中的铁氧还原蛋白 K1 的 29 位发生单、双、三甲基化修饰, S. *solfataricus* 中天冬氨酸转氨酶 K202、K384 发生单甲基化修饰, S. *solfataricus* β -糖苷酶 26 个赖氨酸中有 5 个发生甲基化修饰 (表 1)。这些结果显示蛋白甲基化修饰广泛存在于不同功能的蛋白内。

2 古菌中蛋白甲基化修饰的作用

2.1 甲基化修饰可增加蛋白的稳定性

对生活在极端环境中的古菌, 尤其是嗜热古

表 1. 古菌中蛋白甲基化修饰及其作用总结
Table 1. Summary of the protein methylation in archaea

Species	Protein	Methylated sites	Roles of protein methylation	
<i>S. solfataricus</i>	Aspartate aminotransferase ^[26]	K202, K384	Unknown	
	Ribosomal Protein L11 ^[27]	A1, A3, K3, K39	Unknown	
	Cren7 (Sul7d1、Sul7d2) ^[29,44]	K11, K16, K24, K31, K42	Enhance protein thermostability	
	β -Glycosidase ^[23]	K116, 135, 273, 311, 322	Resistance to aggregation and denaturation at physiological pH. Affect lysine side chains conformation.	
<i>S. islandicus</i>	Alba1 protein ^[36]	K16	Located at the dsDNA/dsRNA-binding interface. No effect on the growth of <i>S. solfataricus</i> . Affect genome-wide transcription. Probably affects the interactions of the protein with other molecules.	
	RNA polymerase ^[30]	RpoA': K395, K659 RpoB'-C': K12, K311, K349 RpoD: K115 RpoE': K20, K131, K133, K171, K179 RpoF: K54, K102 RpoH: K30, K68 RpoL: K71, K88 RpoP: K19 Rpo13: K66, K98, K100	Affect the protein physical properties, hydrophilicity and solubility.	
	MCM ^[33]	K280, K281, K545, K546	Stimulates the helicase activity. Enhances the thermostability. Affects protein-protein interactions. Increase the half life the protein.	
	SisPINA	K21, K474, K479, K498, K500	Enhances protein thermostability. May affect the interactions of the proteins with other molecules.	
	<i>S. acidocaldarius</i>	Mre11: Rad50 ^[39]	Mre11: 178, 221, 268, 321, 326, 330, 355, E323 Rad50: K100, K101, K103, K152, K192, K209, K220, E101, E218, E280 and E462	May affect the interactions of the proteins with other molecules and the functional coordination.
		Upon γ -irradiation ^[39]	Mre11: D84 Rad50: E153 E433, D434, K451, D823, E824	Regulation of complex formation in response to DNA damage.
<i>Halobacterium salinarum</i>	Ferredoxin ^[24]	K1, K29	Unknown	
	HtrI ^[40]	Unknown	Modulate the life span of photo-activated signals. Response to changes in extracellular histidine, aspartate and glutamate concentrations. Involved in taxis responses, phototaxis, chemotaxis, and aerotaxis.	
	HtrII ^[40]	Unknown	Involved in the presumed role as a transducer role during serine chemotaxis. Modulate the life span of photo-activated signals. Involved in taxis responses, phototaxis, chemotaxis, and aerotaxis	

菌,为使体内蛋白保持活性状态,它们必然采用一些机制来维持蛋白活性^[21,31]。先前的研究证实真核生物中的 p53、FOXO1、DNMT1、SETD7 介导的 FOXO3 甲基化可以增加蛋白质的稳定性^[8]。

Ferdinando 等通过 FT-IR 和比浊分析发现,生理 pH 值下与未甲基化的重组蛋白相比, *S. solfataricus* 甲基化的 β -糖苷酶对蛋白聚集和变性具有更强的抵抗力^[23]。Baumann 等通过质谱鉴定表明 Sso7d 存在甲基化修饰,且其甲基化修饰程度受生长温度的影响,表明蛋白甲基化修饰与热激反应和蛋白的稳定性有关^[32]。Mcafee 等发现 *S. acidocaldarius* 中 Sac7d 有甲基化修饰^[32],他们通过差式扫描电镜法证明天然 Sac7d 在 T_m 值为 100 °C 下发生可逆的解折叠,而重组表达的 Sac7d 在 92.7 °C 下即发生可逆的解折叠,说明甲基化修饰的 Sac7d 比未甲基化的 Sac7d 蛋白具有更高的热稳定性。MCM (mini-chromosome maintenance) 是 AAA+超家族蛋白,具有 3'-5'解旋酶活性,在 DNA 复制起始和延长阶段发挥重要作用。Xia 等报道了 *S. islandicus* MCM 的 K280、K281、K545 和 K546 可以被 aKMT4 单甲基化^[33]。甲基化修饰使得该蛋白在生理温度下具有更高的解旋酶活性,同时该蛋白模拟甲基化也提高了解旋酶活性、表面疏水性和 pKa 值。此外,甲基化的 MCM 比未甲基化的蛋白具有更长的半衰期。总之,甲基化修饰不仅提高蛋白的热稳定性,也对蛋白本身的活性有影响。

2.2 甲基化修饰影响赖氨酸侧链的构象

通过尼罗红荧光分析发现, *S. solfataricus* 中 β -糖苷酶赖氨酸甲基化修饰增加了侧链的 pKa 值,使其具有更强的离子作用力,形成离子相互作用网络。而且它参与氢键的形成,同时可改变蛋白

的亲水性和溶解性^[23]。

2.3 甲基化修饰影响蛋白间的相互作用

甲基是一个疏水基团,位于蛋白表面的甲基化修饰使得蛋白表面具有疏水性,从而影响蛋白间的相互作用^[34]。Erce 等总结了真核生物中甲基化介导蛋白间的相互作用^[34],甲基化依赖的 PHD (plant homeodomain)、WD40 (Tryptophan-Aspartic acid 40)等结构域可以结合到甲基化的赖氨酸或精氨酸残基上,从而使得蛋白质间发生相互作用。然而,蛋白质的甲基化修饰还可能会阻止蛋白间的相互作用,例如不均一核糖核蛋白 K (hnRNK K) 的精氨酸甲基化会阻止它与酪蛋白激酶的相互作用^[35]。

Cao 等发现硫化叶菌核酸结合蛋白 Sso10b、Sis10b 第 16 位赖氨酸发生不同程度的甲基化修饰(单、双、三甲基化修饰)^[36],该位点位于与 dsDNA 和 dsRNA 相互作用的界面^[37]。为了研究 K16 位翻译后甲基化修饰的功能,他们构建了 *S. islandicus* 中该位点的突变菌株,检测菌株的生长发现,甲基化修饰不影响菌株的生长。接着他们又分析了甲基化修饰对体内转录的影响,发现只有非常少的基因发生差异表达,说明甲基化修饰对菌株生长以及转录水平都没有影响。Guo 等的研究结果显示重组 K16A 与野生型蛋白对 dsRNA 的亲和力比为 1 : 3,说明蛋白翻译后修饰可能影响蛋白与其他分子的相互作用^[37]。

Mre11 : Rad50 复合物保守存在于三域中,在 DNA 双链断裂修复中具有重要的作用。该复合体通过 ATP 结合、水解使得构象发生改变,从而影响 Rad50 对 DNA 的结合活性以及 Mre11 的核酸酶活性^[38]。Adrienne 等^[39]在 *S. acidocaldarius* DSM 639 中发现 Mre11 和 Rad50 上一些甲基化的赖氨

酸位于它们相互作用的区域。Rad50 铰链结构 (coiled coil) 在与 Mre11 形成复合物以及与其他蛋白相互作用时发挥作用, 铰链结构处的赖氨酸甲基化可能会调节分子内 2 个螺旋结构的相互作用, 影响 Rad50 形成二聚体时分子间的相互作用。目前这些甲基化修饰在体内的具体作用还不清楚, 推测甲基化修饰会中和氨基酸侧链带电状况、影响蛋白的疏水性以及蛋白间的相互作用。目前, 古菌中还没有具体实验证明甲基化修饰会影响蛋白质间的相互作用, 但鉴于真核生物非组蛋白甲基化修饰作用的研究结果推测, 古菌中甲基化修饰也可能影响蛋白质间的相互作用, 从而调控蛋白的功能。

此外, Adrienne 等在研究 Mre11:Rad50 复合物的翻译后甲基化修饰时发现, 在正常生理条件下, Rad50 含有 37 个甲基化赖氨酸残基, 占有 Rad50 赖氨酸残基的 30%; Mre11 有 8 个甲基化位点, 占有 Mre11 赖氨酸残基的 30%。除了赖氨酸残基的甲基化外, 这两个蛋白都含有谷氨酸甲基化修饰位点, 其中 Mre11 的 E323 和 Rad50 的 E101、E218、E280 及 E462 位均发生了甲基化修饰。他们发现当 γ 射线处理细胞后, DNA 损伤修复过程中的 Mre11:Rad50 复合物都出现额外的天冬氨酸和谷氨酸甲基化: Mre11 的 D84 发生甲基化修饰, 该残基位于蛋白 5 个磷酸酯酶基序上复

合物形成时的柔性接头处; Rad50 上位于耦合螺旋处的 E153, 位于锌钩处的 E433、D434 和 K451, 位于 Walker B 基序处的 D823 和 E824, 都发生额外的甲基化修饰。这些结果显示蛋白翻译后甲基化修饰参与 DNA 损伤修复。

在盐杆菌 (*Halobacterium salinarum*) 中, 研究人员已经发现趋化性、趋光性和趋氧性反应与蛋白甲基化修饰有关^[40]。两个光感受器视紫红质 I 和视紫红质 II 激活引起趋光反射, 这些信号随后分别传给它们的感应蛋白 HtrI 和 HtrII。在趋光性过程中, 这些蛋白都发生甲基化修饰, 来调控趋光信号的生命周期。HtrII 蛋白的甲基化也参与丝氨酸趋化性。当细胞外组氨酸、天冬氨酸和谷氨酸浓度发生变化时, 细胞质 HtrI 感受器发生甲基化或去甲基化修饰。膜结合感受器 HtrVIII 在趋氧性反应中也存在甲基化修饰。可见, 甲基化修饰参与应激反应。

我们实验室最近通过硫酸铵沉淀和 Ni-NTA 亲和柱从 *S. islandicus* 细胞中发现并鉴定了一种新型的 ATPase, 命名为 SisPINA (PIN domain ATPase from *S. islandicus*)^[41]。质谱分析结果表明 SisPINA 具有磷酸化修饰和甲基化修饰。有趣的是磷酸化修饰的位点只有一个而甲基化修饰的位点有 5 个, 其中 4 个甲基化位点集中在羧基端的 KH 结构域 (图 1)。另外我们也证实了 SisPINA 的 KH

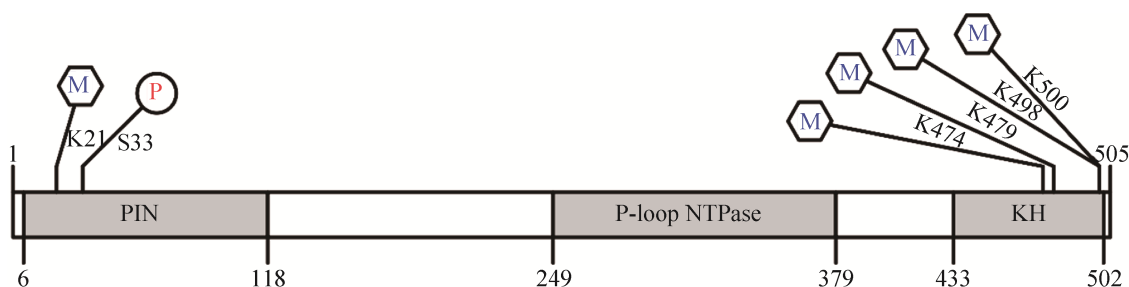


图 1. SisPINA 磷酸化和甲基化翻译后修饰位点示意图

Figure 1. Schematic to show the sites of post-translational methylation and phosphorylation of SisPINA.

结构域是与 Hjc 相互作用的一个重要界面^[42], 因此, SisPINA 的 KH 结构域甲基化修饰可能会影响其与其他蛋白的相互作用。差式扫描量热仪分析实验初步证明 Sis PINA 甲基化修饰会提高蛋白的热稳定性。体外甲基化反应、质谱鉴定初步判断 Sis PINA 蛋白可以被 aKMT4 甲基转移酶甲基化, 并可能会影响 Sis PINA 与其他蛋白如 Hjc、Hjm 等的相互作用。课题组正在开展对冰岛硫化叶菌中预测的各个蛋白激酶之间的相互作用及调控网络的研究, 并找到两个能磷酸化多个其他蛋白激酶的蛋白激酶^[43]。今后我们将对磷酸化修饰与甲基化交互作用以及这些修饰对 Sis PINA 蛋白功能的影响开展研究。

3 古菌中的甲基转移酶

2005 年 Manzur 等在产甲烷菌 (*Methanosarcinamazei*) 中鉴定了古菌中的第一个 SET 甲基转移酶 Go1-SET^[1,44], 它可以选择性甲基化 DNA 结合蛋白 MC1- α 的第 37 位赖氨酸, 但该酶只存在于少数产甲烷菌中。泉古菌中第一个甲基转移酶 aKMT 是 Chu 等在 *S. islandicus* 中鉴定得到的^[1]。该酶是细菌中核蛋白 L11 甲基转移酶的同源物^[45], 具有广泛的底物特异性, 体外除了可以甲基化染色质蛋白 Cren7 外, 还可以甲基化 *S. solfataricus* 重组蛋白 Sso7d2、核糖体蛋白 L11、RFC 大小亚基、Topo III、GINS15、Pri1/Pri2、PolB1、PCNA1/PCNA2、Dpo4 和 FEN1 等蛋白。免疫共沉淀实验发现 aKMT 敲除菌株的蛋白甲基化水平比野生型菌株的明显降低, 说明 aKMT 是 *S. islandicus* 中重要的赖氨酸甲基转移酶。

Niu 等在 *S. islandicus* 中发现甲基转移酶 aKMT4^[1], 它的同源蛋白存在于很多古菌中, 所

有的泉古菌基因组都编码此蛋白。aKMT4 为酿酒酵母 yDot1 的同源蛋白, 属于 Dot1 家族, 与真核 KMT4/Dot1 家族具有结构和酶学相似性。该研究结果为真核生物甲基转移酶起源于古菌的假说提供了强有力的证据。由于缺乏底物识别基序, 其底物特异性比较低, 因此该酶能够甲基化很多蛋白, 包括染色质蛋白、核糖体蛋白和 RNA 核内体的各个亚基, 参与染色体结构和功能的调控、DNA 复制和转录。然而, 有些蛋白如 Alba 的赖氨酸却不能被其甲基化修饰, 说明在发挥功能时, 即使底物特异性很低, 但依然存在某种机制来调节酶的活性, 或者体内还存在其他甲基转移酶来发挥作用。目前为止, 研究人员只是通过同源比对来鉴定古菌中的甲基转移酶, 通过基因组序列分析还没有发现有编码其他赖氨酸甲基转移酶的基因。因此, 今后还需要采用其他方法如甲基化蛋白的免疫共沉淀结合质谱分析, 发现和鉴定更多的甲基转移酶。

4 总结和展望

古菌中蛋白的甲基化修饰能够提高蛋白稳定性、影响侧链构象及与其他分子相互作用, 涉及 DNA 损伤修复和应激反应等途径。越来越多的报道证明古菌中存在蛋白质的甲基化修饰, 然而目前对古菌中甲基转移酶的研究还比较少, 研究最多的甲基转移酶主要集中在泉古菌中, 其中最重要的是 aKMT4。由于较低的底物特异性, aKMT4 可以催化一系列诸如与 DNA 装配、复制、转录、翻译、修复相关的蛋白的甲基化, 因此对其进行研究可以为今后甲基化修饰机制以及作用的研究奠定重要的基础。真核生物蛋白翻译后甲基化修饰已经取得很大的进展, 细菌中甲基化修饰只局

限在一些蛋白内。古菌中蛋白甲基化修饰主要是赖氨酸残基上, 很少一部分发生在精氨酸和谷氨酸残基上。目前已经在 *S. islandicus* 中分离、鉴定得到甲基化转移酶, 它缺乏底物特异性, 可以甲基化很多蛋白, 但它并不是泉古菌唯一的甲基转移酶。因此分离、鉴定其他可能的甲基转移酶, 构建完整的甲基转移酶-底物作用网络也是今后古菌甲基化修饰研究工作的重点之一。

蛋白翻译后甲基化修饰广泛存在于古菌中, 甲基化修饰会增加蛋白质的稳定性, 改变蛋白质赖氨酸的构象, 影响蛋白质间的相互作用。与复制、转录相关蛋白的甲基化修饰可能会影响 DNA 复制、转录调控等。蛋白翻译后甲基化修饰是一种普遍的修饰方式, 古菌中已经发现很多蛋白存在甲基化修饰, 然而目前研究还主要集中在泉古菌, 并且对甲基化修饰的作用研究还不太全面。因此, 今后应该进一步拓展古菌甲基化修饰的研究, 了解泉古菌以及其他古菌的甲基化修饰, 同时揭示其具体功能, 促进对古菌蛋白甲基化机制的了解。

蛋白翻译后修饰除了甲基化, 还存在磷酸化、乙酰化、泛素化等修饰, 甲基化修饰是否会与其他修饰相互影响甚至协同发挥生物学功能? 真核生物中已有很多相关的研究, 但在古菌中还尚未有这样的报道。因此, 有必要对蛋白质翻译后甲基化修饰与其他修饰的交互作用展开研究。

参考文献

- [1] Niu YL, Xia YS, Wang SS, Li JN, Niu CY, Li X, Zhao YH, Xiong HY, Li Z, Lou HQ, Cao QH. A prototypic lysine methyltransferase 4 from archaea with degenerate sequence specificity methylates chromatin proteins Sul7d and Cren7 in different patterns. *Journal of Biological Chemistry*, 2013, 288(19): 13728–13740.
- [2] Chu YD, Zhang ZF, Wang Q, Luo YM, Huang L. Identification and characterization of a highly conserved crenarchaeal protein lysine methyltransferase with broad substrate specificity. *Journal of Bacteriology*, 2012, 194(24): 6917–6926.
- [3] Zhong Q, Shen YL, Huang QH. Progress in archaeal protein kinases study. *Acta Microbiologica Sinica*, 2017, 57(9): 1383–1391. (in Chinese)
钟晴, 申玉龙, 黄奇洪. 古菌蛋白激酶的研究进展. *微生物学报*, 2017, 57(9): 1383–1391.
- [4] Xie P, Tian CY, Zhang LQ, An LG, He FC. Progress in the study of histone methyltransferases. *Hereditas*, 2007, 29(9): 1035–1041. (in Chinese)
谢萍, 田春艳, 张令强, 安利国, 贺福初. 组蛋白甲基转移酶的研究进展. *遗传*, 2007, 29(9): 1035–1041.
- [5] Wu Z, Connolly J, Biggar KK. Beyond histones - the expanding roles of protein lysine methylation. *The FEBS Journal*, 2017, 284(17): 2732–2744.
- [6] Lanouette S, Mongeon V, Figeys D, Couture JF. The functional diversity of protein lysine methylation. *Molecular Systems Biology*, 2014, 10(4): 724.
- [7] Kluck RM, Ellerby LM, Ellerby HM, Naiem S, Yaffe MP, Margoliash E, Bredesen D, Mauk AG, Sherman F, Newmeyer DD. Determinants of cytochrome *c* pro-apoptotic activity. The role of lysine 72 trimethylation. *Journal of Biological Chemistry*, 2000, 275(21): 16127–16133.
- [8] Chuikov S, Kurash JK, Wilson JR, Xiao B, Justin N, Ivanov GS, McKinney K, Tempst P, Prives C, Gamblin SJ, Barlev NA, Reinberg D. Regulation of p53 activity through lysine methylation. *Nature*, 2004, 432(7015): 353–360.
- [9] Kruiswijk T, Kunst A, Planta RJ, Mager WH. Modification of yeast ribosomal proteins. Methylation. *Biochemical Journal*, 1978, 175(1): 221–225.
- [10] Polevoda B, Martzen MR, Das B, Phizicky EM, Sherman F. Cytochrome *c* methyltransferase, Ctm1p, of yeast. *Journal of Biological Chemistry*, 2000, 275(27): 20508–20513.
- [11] Ying ZT, Mulligan M, Janney N, Houtz RL. Rubisco small and large subunit N-methyltransferases. Bi- and mono-functional methyltransferases that methylate the small and large subunits of rubisco. *Journal of Biological Chemistry*, 1999, 274(51): 36750–36756.
- [12] Ambler RP, Rees MW. ϵ -N-Methyl-lysine in bacterial flagellar protein. *Nature*, 1959, 184: 56–57.

- [13] Chang FN, Chang CN, Paik WK. Methylation of ribosomal proteins in *Escherichia coli*. *Journal of Bacteriology*, 1974, 120(2): 651–656.
- [14] Pethe K, Bifani P, Drobecq H, Sergheraert C, Debrie AS, Locht C, Menozzi FD. Mycobacterial heparin-binding hemagglutinin and laminin-binding protein share antigenic methyllysines that confer resistance to proteolysis. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2002, 99(16): 10759–10764.
- [15] Bell SD, Magill CP, Jackson SP. Basal and regulated transcription in Archaea. *Biochemical Society Transactions*, 2001, 29(4): 392–395.
- [16] Bell SD, Jackson SP. Transcription and translation in Archaea: a mosaic of eukaryal and bacterial features. *Trends in Microbiology*, 1998, 6(6): 222–228.
- [17] Grohmann D, Werner F. Recent advances in the understanding of archaeal transcription. *Current Opinion in Microbiology*, 2011, 14(3): 328–334.
- [18] Geiduschek EP, Ouhammouch M. Archaeal transcription and its regulators. *Molecular Microbiology*, 2005, 56(6): 1397–1407.
- [19] Reeve JN, Schleper C. Archaea: very diverse, often different but never bad? *Current Opinion in Microbiology*, 2011, 14(3): 271–273.
- [20] Eme L, Spang A, Lombard J, Stairs CW, Ettema TJG. Archaea and the origin of eukaryotes. *Nature Reviews Microbiology*, 2017, 15(12): 711–723.
- [21] Botting CH, Talbot P, Paytubi S, White MF. Extensive lysine methylation in hyperthermophilic crenarchaea: potential implications for protein stability and recombinant enzymes. *Archaea*, 2010, 2010: 106341.
- [22] Guo L, Feng YG, Zhang ZF, Yao HW, Luo YM, Wang JF, Huang L. Biochemical and structural characterization of Cren7, a novel chromatin protein conserved among Crenarchaea. *Nucleic Acids Research*, 2008, 36(4): 1129–1137.
- [23] Febbraio F, Andolfo A, Tanfani F, Briante R, Gentile F, Formisano S, Vaccaro C, Scirè A, Bertoli E, Pucci P, Nucci R. Thermal stability and aggregation of *Sulfolobus solfataricus* β -glycosidase are dependent upon the N- ϵ -methylation of specific lysyl residues: Critical role of *in vivo* post-translational modifications. *The Journal of Biological Chemistry*, 2004, 279(11): 10185–10194.
- [24] Minami Y, Wakabayashi S, Wada K, Matsubara H, Kerscher L, Oesterhelt D. Amino acid sequence of a ferredoxin from thermoacidophilic archaeobacterium, *Sulfolobus acidocaldarius*. Presence of an N⁶-monomethyllysine and phyletic consideration of archaeobacteria. *The Journal of Biochemistry*, 1985, 97(3): 745–753.
- [25] Maras B, Consalvi V, Chiaraluce R, Politi L, De Rosa M, Bossa F, Scandurra R, Barra D. The protein sequence of glutamate dehydrogenase from *Sulfolobus solfataricus*, a thermoacidophilic archaeobacterium. Is the presence of N- ϵ -methyllysine related to thermostability? *European Journal of Biochemistry*, 1992, 203(1/2): 81–87.
- [26] Zappacosta F, Sannia G, Savoy LA, Marino G, Pucci P. Post-translational modifications in aspartate aminotransferase from *Sulfolobus solfataricus*. Detection of N- ϵ -methyllysines by mass spectrometry. *European Journal of Biochemistry*, 1994, 222(3): 761–767.
- [27] Ramirez C, Shimmin LC, Dennis PP, Matheson AT. Comparison of the structure of archaeobacterial ribosomal proteins equivalent to proteins L11 and L1 from *Escherichia coli* ribosomes. *Protein Sequences & Data Analysis*, 1991, 4(2): 75–79.
- [28] Ramirez C, Shimmin LC, Newton CH, Matheson AT, Dennis PP. Structure and evolution of the L11, L1, L10, and L12 equivalent ribosomal proteins in eubacteria, archaeobacteria, and eucaryotes. *Canadian Journal of Microbiology*, 1989, 35(1): 234–244.
- [29] Baumann H, Knapp T, Lundbäck T, Ladenstein R, Härd T. Solution structure and DNA-binding properties of a thermostable protein from the archaeon *Sulfolobus solfataricus*. *Nature Structural Biology*, 1994, 1(11): 809–819.
- [30] Vorontsov EA, Rensen E, Prangishvili D, Krupovic M, Chamot-Rooke J. Abundant lysine methylation and N-terminal acetylation in *Sulfolobus islandicus* revealed by bottom-up and top-down proteomics. *Molecular & Cellular Proteomics*, 2016, 11(15): 3388–3404.
- [31] Stiefler-Jensen D, Schwarz-Linnet T, de Lichtenberg C, Nguyen TTTN, Rand KD, Huang L, She QX, Teilum K. The extraordinary thermal stability of EstA from *S. islandicus* is independent of post translational modifications. *The Protein Society*, 2017, 26(9): 1819–1827.
- [32] McAfee JG, Edmondson SP, Datta PK, Shriver JW, Gupta R. Gene cloning, expression, and characterization of the Sac7

- proteins from the hyperthermophile *Sulfolobus acidocaldarius*. *Biochemistry*, 1995, 34(31): 10063–10077.
- [33] Xia YS, Niu YL, Cui JM, Fu Y, Chen XJ, Lou HQ, Cao QH. The helicase activity of hyperthermophilic archaeal MCM is enhanced at high temperatures by lysine methylation. *Frontiers in Microbiology*, 2015, 6: 1247.
- [34] Erce MA, Pang CNI, Hart-Smith G, Wilkins MR. The methylproteome and the intracellular methylation network. *Proteomics*, 2012, 12(4/5): 564–586.
- [35] Bedford MT, Frankel A, Yaffe MB, Clarke S, Leder P, Richard S. Arginine methylation inhibits the binding of proline-rich ligands to Src Homology 3, but not WW, domains. *The Journal of Biological Chemistry*, 2000, 275(21): 16030–16036.
- [36] Cao JJ, Wang Q, Liu T, Peng N, Huang L. Insights into the post-translational modifications of archaeal Sis10b (Alba): lysine-16 is methylated, not acetylated, and this does not regulate transcription or growth. *Molecular Microbiology*, 2018, 109(2): 192–208.
- [37] Bell SD, Botting CH, Wardleworth BN, Jackson SP, White MF. The interaction of Alba, a conserved archaeal chromatin protein, with Sir2 and its regulation by acetylation. *Science*, 2002, 296(5565): 148–151.
- [38] Lammens K, Bemeleit DJ, Möckel C, Clausing E, Schele A, Hartung S, Schiller CB, Lucas M, Angermüller C, Söding J, Sträßer K, Hopfner KP. The Mre11: rad50 structure shows an ATP-dependent molecular clamp in DNA double-strand break repair. *Cell*, 2011, 145(1): 54–66.
- [39] Kish A, Gaillard JC, Armengaud J, Elie C. Post-translational methylations of the archaeal Mre11:Rad50 complex throughout the DNA damage response. *Molecular Microbiology*, 2016, 100(2): 362–378.
- [40] Eichler J, Adams MWW. Posttranslational protein modification in Archaea. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 2005, 69(3): 393–425.
- [41] Zhai BY, Duprez K, Doukov TI, Li H, Huang MT, Shang GJ, Ni JF, Gu LC, Shen YL, Fan L. Structure and function of a novel ATPase that interacts with Holliday junction resolvase Hjc and promotes branch migration. *Journal of Molecular Biology*, 2017, 429(7): 1009–1029.
- [42] Zhai BY, Duprez K, Han XY, Yuan ZL, Ahmad S, Xu C, Gu LC, Ni JF, Fan L, Shen YL. The archaeal ATPase PINA interacts with the helicase Hjm via its carboxyl terminal KH domain remodeling and processing replication fork and Holliday junction. *Nucleic Acids Research*, 2018, 46(13): 6627–6641.
- [43] Huang QH, Zhong Q, Mayaka JBA, Ni JF, Shen YL. Autophosphorylation and cross-phosphorylation of protein kinases from the crenarchaeon *Sulfolobus islandicus*. *Frontiers in Microbiology*, 2017, 8: 2173.
- [44] Manzur KL, Zhou MM. An archaeal SET domain protein exhibits distinct lysine methyltransferase activity towards DNA-associated protein MC1- α . *FEBS Letters*, 2005, 579(17): 3859–3865.
- [45] Guo L, Brügger K, Liu C, Shah SA, Zheng HJ, Zhu YQ, Wang SY, Lillestøl RK, Chen LM, Frank J, Prangishvili D, Paulin L, She QX, Huang L, Garrett RA. Genome analyses of icelandic strains of *Sulfolobus islandicus*, model organisms for genetic and virus-host interaction studies. *Journal of Bacteriology*, 2011, 193(7): 1672–1680.

Research progress in protein methylation in archaea

Xiaoyun Han, Binyuan Zhai, Yulong Shen*

State Key Laboratory of Microbial Technology, Shandong University, Qingdao 266200, Shandong Province, China

Abstract: Protein modification by methylation is one of the main ways of protein post-translational modification. More and more reports have confirmed the existence of protein methylation in archaea. Methyltransferases that are involved in the post-translational modification in archaea have been identified but their mechanism is still unclear. This article summarizes the methyltransferases reported so far and the possible roles of protein methylation. Protein methylation in archaea can improve the protein stability, affect side chain conformational changes, and facilitate interaction with other molecules. The modified proteins include those in DNA damage repair and stress response. Finally, future research directions of archaeal protein methylation are proposed.

Keywords: archaea, protein post-translational modification, methylated modification

(本文责编: 张晓丽)

Supported by the National Natural Science Foundation of China (31670061, 31470184)

*Corresponding author. Tel: +86-532-58631562; E-mail: yulgshen@sdu.edu.cn

Received: 29 June 2018; Revised: 10 September 2018; Published online: 17 September 2018