

## 古菌蛋白质修饰研究进展

卢化 金城\*

(中国科学院微生物研究所 北京 100101)

**摘要:** 20 世纪 50 年代中期, 在古菌的表层(S-层)首次发现了糖蛋白; 21 世纪初又在空肠弯曲菌(*Campylobacter jejuni*)中发现了蛋白质 N-糖基化修饰。由此, 同行开始认识到, 蛋白质的糖基化修饰广泛存在于古菌、细菌及真核生物三域中。近十年来, 古菌蛋白质糖基化修饰的研究取得了进展, 特别是古菌蛋白质 N-糖基化修饰研究进展快速。但对古菌糖蛋白 O-糖基化修饰和脂修饰的了解甚少。本文综述了古菌蛋白质糖基化修饰的研究进展。

**关键词:** 糖基化修饰, 脂修饰

## Protein modification in archaeon

LU Hua JIN Cheng\*

(Institute of Microbiology, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100101, China)

**Abstract:** The surface layer (S-layer) protein of archaeon was first discovered as glycoprotein in the middle of 1950s. At the beginning of 21 century, N-glycosylated protein was found in *Campylobacter jejuni*. Since then more and more evidences show that protein glycosylation is a post-translation modification that not only exists in eukaryotes, but also in archaeon and bacteria. During the past 10 years, a great advance has been achieved in post-translation modification of the protein in archaeon such as *Haloferax volcanii*, *Haloarcula japonica*, *Haloarcula marismortui*, *Methanococcus maripaludis* and *Sulfolobus acidocaldarius*, especially N-glycosylation. On the other hand, little is known about the protein O-glycosylation and lipidation in these species. In this article, our present knowledge of protein glycosylation and lipidation in archaeon are reviewed.

**Keywords:** Glycosylation, Lipid modification

### 1 古菌蛋白质的糖基化修饰

古菌 S-层蛋白是古菌细胞表面最常见的结构之一, 可形成一种有孔的晶格状单分子层包被在细胞外<sup>[1]</sup>。古菌不含肽聚糖样的细胞壁结构, S-层作为唯一的细胞表面结构, 对维持菌体形态起重要作用。S-层蛋白从翻译完成到最后整合在细胞膜表面需要经历多种翻译后修饰, 例如信号肽的切除及

N-/O-糖基化修饰, 此外在嗜盐古菌中还发现 C-末端存在类似于真核细胞的脂类修饰, 但目前除 N-糖基化外, 对这些修饰的机制及功能所知甚少<sup>[2]</sup>。对 S-层结构、化学性质、遗传学、组装及功能的研究表明, 这种规则排列的单分子层在生物技术、医药及生物纳米技术等领域具有潜在的广阔应用前景<sup>[3]</sup>。

\*通讯作者: Tel: 86-10-64807425; 信箱: jinc@im.ac.cn

收稿日期: 2013-12-03; 接受日期: 2014-01-14; 优先数字出版日期(www.cnki.net): 2014-01-21

嗜盐古菌 *Halobacterium salinarium* 的 S-层蛋白是原核生物中第一个被发现的糖基化修饰蛋白<sup>[4]</sup>, 打破了人们长期以来认为翻译后修饰仅存在于真核生物中的局限。此外, *Haloferax volcanii*、*Haloarcula japonica*、*Haloarcula marismortui*、*Methanococcus maripaludis* 和 *Sulfolobus acidocaldarius* 的 S-层蛋白均已被鉴定和研究, 从基因序列推测的蛋白质分子量在 80–90 kD 之间, 但在 SDS-PAGE 中 S-层蛋白却迁移异常, 位于 170–200 kD 分子量标准附近, 化学方法测定 S-层蛋白的糖含量达 10%–12%<sup>[4-7]</sup>。经无水氢氟酸脱糖基化后, S-层蛋白电泳迁移仍明显滞后于分子量值, 推测该异常因其亲水性氨基酸含量较高导致 SDS 结合能力降低引起<sup>[5]</sup>。*H. salinarium* S-层蛋白含有 11 个 N-糖基化位点, 连接有两种类型的糖链, Asn-2 位点为硫酸化的五糖重复单位形成的高分子量糖链, 其余 10 个 Asn 位点连接有硫酸化的四糖结构; O-连接的葡萄糖半乳糖双糖集中存在于 S-层蛋白的 C-末端, 该区域由 14 个 Thr 连续排列成串, 形成一个 O-糖链富集区<sup>[8]</sup>。

嗜盐古菌的 S-层蛋白在不同种之间具有较高的氨基酸序列相似性, 但某些种之间也存在结构上的差别。目前已经鉴定的嗜盐古菌 S-层都是由单一的蛋白质装配形成的有孔晶格状结构, *H. japonica*、*H. marismortui*、*H. volcanii* 及 *H. salinarium* 的 S-层蛋白一级序列采用 ClustalW 软件比对后发现, 它们

之间的氨基酸序列一致性在 40%–60% 之间。根据比对结果分析发现 S-层蛋白存在 3 个相对保守的区域, 即 N-端的跨膜转运信号肽、邻近 C-端的 Thr 富集区(某些菌中表现为简单串联重复序列)及 C-端的疏水跨膜区(图 1)。新合成的 S-层糖蛋白 N-端有一段疏水的信号肽, 介导 S-层蛋白的跨膜输出, 成熟的 S-层蛋白中该序列被信号肽酶切除。研究表明, 与 *H. salinarium* 一致, *H. volcanii* 的 S-层蛋白 Thr 富集区也是被高度 O-糖基化修饰的, 连接有相同的葡萄糖半乳糖双糖单位<sup>[5]</sup>。该区域临近细胞膜, 推测 O-糖链可能有结构支撑作用, 在细胞膜与 S-层之间形成类似周质空间样的结构, 为细胞膜外表面的酶提供功能发挥所需的空間, 而又不受外界环境的干预<sup>[5]</sup>。在 *H. japonica* 及 *H. marismortui* 中则不含成串的 Thr, 取而代之的分别是 PXTXTXE motif 形成的 6 次串联重复序列。S-层蛋白 C-末端的跨膜区富含疏水性氨基酸, 在这段约 20 个氨基酸形成的区域中含有 PGF-CTERM 信号序列, 是古菌中分类酶(Archaeosortase)的识别位点, 该区域可能被进一步的加工<sup>[9]</sup>。关于成熟的 S-层蛋白是否仍含有 C-末端的跨膜区目前仍是一个有争议的问题, 有待进一步的科学研究。

对几种嗜盐及产甲烷古菌 S-层蛋白 N-糖基化修饰的研究表明, N-糖链的生物合成过程与真核生物相比在活化的单糖载体、发生的空间部位、糖基转移酶的催化机理等方面存在进化中的相似性, 但



图 1 不同嗜盐古菌 S-层蛋白 N-端及 C-端序列比对结果

**Figure 1** N- and C-terminal sequences alignment of the S-layer glycoproteins from different halophilic archaeal strains  
注: Hj: *H. japonica*; Hm: *H. marismortui*; Hv: *H. volcanii*; Hs: *H. salinarium*. *H. japonica* 及 *H. marismortui* 临近 C-端跨膜区存在 6 个 PXTXTXE motif 形成的串联重复序列, 而 *H. volcanii* 及 *H. salinarium* 中则为 Thr cluster.

Note: Hj: *H. japonica*; Hm: *H. marismortui*; Hv: *H. volcanii*; Hs: *H. salinarium*. *H. japonica* and *H. marismortui* contain six PXTXTXE motif near the C-terminus, while *H. volcanii* and *H. salinarium* have a Thr cluster.

不存在 *N*-糖链的共同前体, 单糖的种类更加复杂, 糖基化位点更加多变等<sup>[10]</sup>。因此对古菌蛋白糖基化修饰的深入研究将扩展蛋白质糖基化修饰发生及功能多样性的认识, 也对生命三域系统糖基化修饰的起源及进化研究提供借鉴。

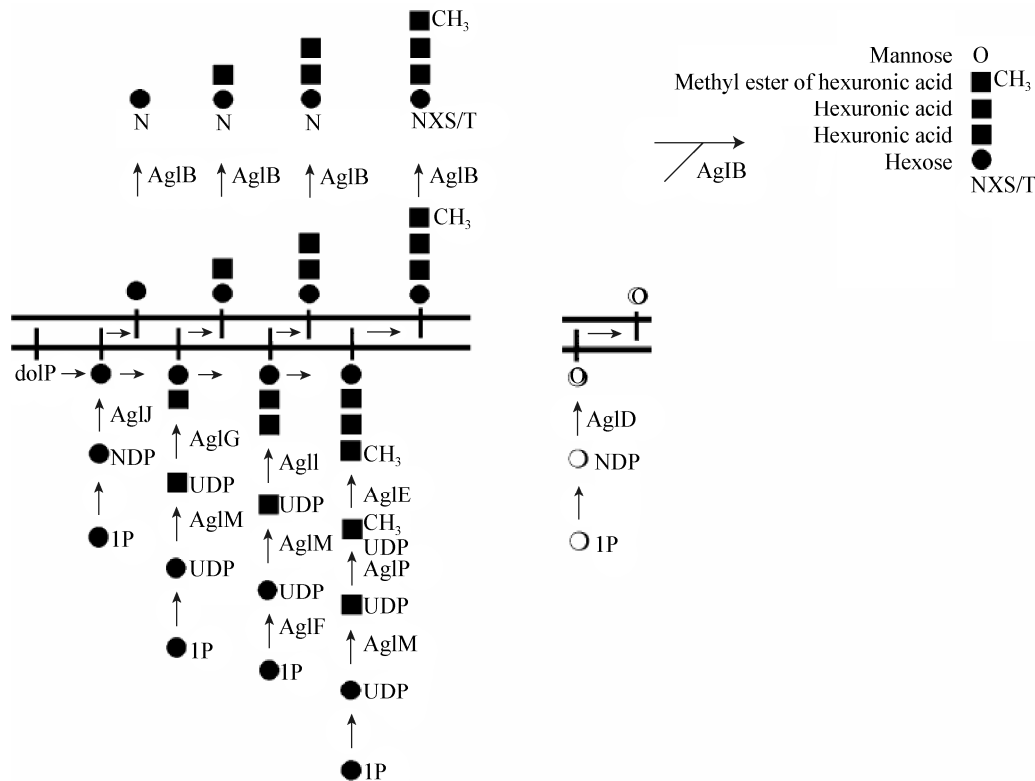
与真核生物类似, 古菌 *N*-糖链也依靠多萜醇磷酸作为载体, 然而不同的是古菌中存在多萜醇单磷酸及多萜醇焦磷酸两种结构, 而真核生物则仅有多萜醇焦磷酸糖链载体。1976 年, Matthew Mescher 等发现在 *H. salinarium* 中存在多萜醇单磷酸连接的葡萄糖、甘露糖以及多萜醇焦磷酸连接的氨基乙酰葡萄糖<sup>[11]</sup>。随后的研究发现, 杆菌肽(Bacitracin, 可抑制多萜醇焦磷酸载体的再生)可抑制 *H. salinarium* S-层蛋白 Asn-2 位点硫酸化五糖重复单位的合成, 菌体形态由杆状变为球状, 表明该糖链的合成需要多萜醇焦磷酸载体, 且对维持 S-层的结构起重要作用; 而利用多萜醇单磷酸作为载体的 *N*-硫酸化四糖及 *O*-糖链仍可合成<sup>[12]</sup>。1995 年, Betty Zhu 等发现 *H. volcanii* 糖蛋白及糖脂的合成需要多萜醇单磷酸作为载体<sup>[13]</sup>, 而最近的一项研究也证明 *H. volcanii* 含有一系列 C<sub>55</sub> 及 C<sub>60</sub> 多萜醇单磷酸连接的单糖及寡糖链参与 S-层蛋白 *N*-糖基化修饰<sup>[14]</sup>。

与真核生物发生在内质网腔内外的 *N*-糖链装配及修饰过程相比, 古菌多萜醇磷酸连接的糖链首先在细胞质中装配完成, 翻转至细胞膜外侧后由寡糖基转移酶转至蛋白质糖基化位点<sup>[15]</sup>, 二者存在进化中的保守性。*H. volcanii* S-层蛋白 *N*-糖链的生物合成途径目前已有较深入的研究, 现有多种参与 *N*-糖链合成的酶通过基因敲除、生化性质分析结合质谱解析 S-层糖链变化的方法被鉴定<sup>[16]</sup>。*H. volcanii* S-层蛋白 *N*-糖链为五糖结构, AglJ、AglG、AglI 及 AglE 分别负责前四个活化单糖在多萜醇磷酸上的组装, 末端的甘露糖则由 AglD 负责连接在另一多萜醇磷酸载体上。寡糖基转移酶 AglB 首先将四糖单位转移至 S-层蛋白的 Asn 位点, 而后再引入糖链末端的甘露糖。另有 AglF、AglM、AglP

等蛋白负责单糖前体的活化或修饰<sup>[7,16]</sup>(图 2)。这种利用多个多萜醇磷酸载体的糖链合成途径与真核生物内质网腔内的 *N*-糖链合成过程类似。目前, 以多萜醇磷酸甘露糖为底物、负责 *N*-糖链末端甘露糖合成的糖基转移酶仍未被鉴定。相反, 与 *H. volcanii* 在同一生境分离到的 *H. marismotui* 的 S-层蛋白虽具有相同的 *N*-糖链结构, 但该五糖结构是在同一多萜醇磷酸载体上装配完成的<sup>[7]</sup>。

蛋白质翻译后修饰对古菌适应极端的生存环境可能起一定作用, 但大多数情况下对古菌中某个蛋白翻译后修饰的原因仍不清楚。已有的研究表明嗜盐古菌中 S-层蛋白的 *N*-糖基化修饰与其在高盐环境中的生存能力有关, 极端嗜盐菌与中性嗜盐菌 S-层蛋白的 *N*-糖链相比含有硫酸化修饰的酸性糖, 增加了 S-层蛋白表面所带的负电荷量, 起到屏蔽和保护作用<sup>[17]</sup>。在中度嗜盐菌 *H. volcanii* 中敲除 *N*-糖链合成途径中的糖基转移酶 AglB 或 AglD 之后, 菌体仍可存活, 但在高盐环境下生长缓慢, S-层蛋白的规则排列及稳定性受到影响<sup>[18]</sup>。此外, 最新的研究表明, 采用不同嗜盐古菌来源的同源蛋白取代 *H. volcanii* 自身蛋白可以合成不同的 S-层蛋白 *N*-糖链<sup>[19]</sup>; 此外, *H. volcanii* 生长在不同的盐浓度下 S-层蛋白的 *N*-糖链结构及修饰位点均有变化<sup>[20]</sup>。这些新发现进一步证实了古菌 *N*-糖基化修饰的多样性及适应性, 但负责该盐浓度下 *N*-糖链合成的基因仍然未知, 古菌寡糖基转移酶如何识别多种不同的 *N*-糖链及 *N*-糖基化位点的选择机制也有待深入研究。

与 *N*-糖基化修饰相比, 迄今为止, 对古菌 *O*-糖链的合成途径仍完全未知。早期在 *H. salinarium* 中的研究表明, 加入杆菌肽后 S-层蛋白 *O*-糖基化修饰水平也有所降低, 但仍无法排除 *O*-糖链的减少是否是因 *N*-糖链合成被抑制而导致<sup>[10]</sup>; 在全细胞提取物中未能检测到多萜醇磷酸连接的半乳糖或半乳糖葡萄糖<sup>[11]</sup>; 而以 UDP-Gal 和含 *O*-糖基化位点的多肽也无法直接合成 *O*-糖链<sup>[11]</sup>。古菌 *O*-糖基化修饰的合成途径及功能有待深入研究。

图2 *H. volcanii* S-层蛋白 N-糖链合成途径<sup>[16]</sup>Figure 2 N-glycosylation of the S-layer glycoprotein in *H. volcanii*<sup>[16]</sup>

## 2 古菌蛋白质的脂修饰

除糖基化外,蛋白质的脂修饰是另外一种重要的翻译后修饰。根据脂类成分及连键类型的不同可分为多种类型,较为常见的有豆蔻酰化(Myristoylation)、棕榈酰化(Palmitoylation)、异戊烯化(Prenylation)及糖基磷脂酰肌醇化修饰(Glycosylphosphatidylinositol, GPI)<sup>[21]</sup>。豆蔻酰化目前只发现存在于真核生物及病毒中,通过酰胺键与蛋白质 N-端的甘氨酸相连,在少数情况下也存在硫醚键型<sup>[22]</sup>。棕榈酰化是目前发现的唯一一种可逆的、动态调控的脂修饰类型,可通过硫酯键、酯键及酰胺键与蛋白 C-或 N-末端相连<sup>[22]</sup>。异戊烯化可通过 C<sub>15</sub> 法尼基(Farnesyl group)或 C<sub>20</sub> 牻牛儿牻牛儿基(Geranylgeranyl group)与蛋白 C-末端的半胱氨酸形成硫醚键<sup>[23]</sup>。

在古菌中也存在脂修饰的蛋白。1994 年,

Hiroshi Sagami 等发现在培养基中加入放射性同位素标记的甲羟戊酸(Mevalonic acid)后, *H. salinarium* 合成的若干种蛋白质中可掺入放射性异戊烯类成分<sup>[24]</sup>,而后通过质谱鉴定该脂类结构证实为一种新型的通过硫醚键与蛋白半胱氨酸相连的二植烷酰甘油(Diphytanylglyceryl group)结构<sup>[25]</sup>。1999 年该研究组又发现,在 *H. salinarium* 培养基中加入更多种类的放射性标记物(如牻牛儿牻牛儿单磷酸、法尼基等),其 S-层糖蛋白也可被标记, S-层蛋白的 C-末端连接有二植烷酰甘油磷酸(Diphytanylglyceryl phosphate group)结构<sup>[26]</sup>,但具体的连接位点及连键类型目前仍未知。2001 年, Jerry Eichler 等在 *H. volcanii* 中的研究表明,新合成的 S-层蛋白在跨膜转运之后要经历一个成熟过程,该过程是镁离子依赖性的,表现为 S-层蛋白分子量的增加及疏水性的增强,并与 S-层蛋白整合入细胞膜的过程有关<sup>[27]</sup>。2002 年,后续的研究

发现谟维诺林(Mevinolin, 3-羟-3-甲基戊二酰辅酶 A 还原酶的抑制剂)可抑制该异戊烯结构的合成, 从而阻碍 S-层蛋白的成熟, 证实了 S-层蛋白的成熟过程与异戊烯修饰有关<sup>[28]</sup>。鉴于在 *H. salinarium* 及 *H. volcanii* 中都存在 S-层蛋白的异戊烯类修饰, 且不同嗜盐古菌的 S-层蛋白具有类似的 C-末端结构(图 1), 推测该修饰在嗜盐古菌中可能具有普遍性。

除异戊烯修饰外, 在古菌中还存在其它类型的脂修饰。在 *H. salinarium* 及 *Methanobacterium thermoautotrophicum* 中通过亚细胞分级分离及化学方法分析发现有硬脂酰、棕榈酰、豆蔻酰等脂酰基修饰的蛋白存在, 可能通过酰胺键或酯键连接<sup>[29]</sup>。此外, 含糖基磷脂酰肌醇化(GPI)修饰的蛋白也在 *Sulfolobus acidocaldarius* 中发现<sup>[30]</sup>, 而对嗜盐古菌脂类成分的分析未发现肌醇, 推测 GPI 结构在嗜盐古菌中是不存在的<sup>[31]</sup>。

有研究表明, 古菌中的分类酶 ArtA (Archaeosortase)可能参与 S-层蛋白 C-末端的脂类修饰。基于质谱技术对多种古菌蛋白质组分析, 作者认为成熟 S-层蛋白 C-末端跨膜区被 ArtA 蛋白切除, 仅通过脂类结构锚定在细胞膜上<sup>[9]</sup>。最近的一项研究显示, *H. volcanii* 的 S-层蛋白在合成之初为膜蛋白, 随后蛋白的胞外部分从跨膜结构域上释放, 并被转移到脂上(可能为 Archaeidic acid)<sup>[32]</sup>。这些研究结果实际上提示了 S-层蛋白可能是一种通过脂类锚定在细胞膜上的糖蛋白, 并且与糖基化修饰一样在 S-层蛋白的成熟、转运、组装及发挥功能方面起重要的作用, 但目前关于脂修饰的连键类型、机制及功能仍所知甚少。

### 3 展望

与真核生物相比, 古菌糖链的结构多样性最为丰富, 其次为细菌, 而真核生物中蛋白质糖基化的结构较为保守。因此, 对古菌糖基化修饰的研究, 从进化的角度上有助于揭示蛋白质糖基化修饰的结构与功能的起源与进化, 为深入理解高等生命中

糖基化修饰的复杂功能奠定基础。另一方面, 除糖蛋白外, 古菌还合成多种结构多样的细胞壁与细胞外多糖, 这些糖链在古菌的生长及其与环境、其他物种互作过程中发挥重要作用, 因此这些多糖的生物合成与功能研究也是一个热点, 不仅能揭示微生物多糖在生长过程中的生物学作用, 还能提供更为多样的糖合成酶类, 有利于对现有工程化的体内与体外糖基化修饰系统进行优化和发掘, 从而使结构多样的、在工业与医药应用方面有重要意义的重组糖蛋白的大规模生产成为可能, 展示了其在糖链的组合生物合成、糖蛋白合成生物学方面的巨大前景。毫无疑问, 未来糖链组合生物合成与合成生物学的应用将革命性地改变糖缀合物疫苗的生产方式。

### 参考文献

- [1] Tachel R, Pum D. II. Fine structure of S-layers[J]. FEMS Microbiology Reviews, 1997, 20(1/2): 13-23.
- [2] Eichler J, Adams MW. Posttranslational protein modification in Archaea[J]. Microbiology and Molecular Biology Reviews, 2005, 69(3): 393-425.
- [3] Sleytr UB. I. Basic and applied S-layer research an overview[J]. FEMS Microbiology Reviews, 1997, 20(1/2): 5-12.
- [4] Mescher MF, Strominger JL. Purification and characterization of a prokaryotic glycoprotein from the cell envelope of *halobacterium salinarum*[J]. The Journal of Biological Chemistry, 1976, 251: 2005-2014.
- [5] Sumper M, Berg E, Mengele T. Primary structure and glycosylation of the S-layer protein of *Haloferax volcanii*[J]. Journal of Bacteriology, 1990, 172(12): 7111-7118.
- [6] Nakamura S, Aono R, Mizutani S, et al. The cell surface glycoprotein of *Haloarcula japonica* TR-1[J]. Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry, 1992, 56: 996-998.
- [7] Calo D, Guan Z, Eichler J, et al. Different routes to the same ending: comparing the N-glycosylation processes of *Haloferax volcanii* and *Haloarcula marismortui*, two halophilic archaea from the Dead Sea[J]. Molecular Microbiology, 2011, 81(5): 1166-1177.
- [8] Lechner J, Sumper M. The primary structure of a prokaryotic glycoprotein. Cloning and sequencing of the cell surface glycoprotein gene of halobacteria[J]. Journal of Biological Chemistry, 1987, 262(20): 9724-9729.
- [9] Haft DH, Payne SH, Selengut JD. Archaeosortases and exosortases are widely distributed systems linking membrane transit with posttranslational modification[J]. Journal of Bacteriology, 2012, 194(1): 36-48.
- [10] Calo D, Kaminski L, Eichler J. Protein glycosylation in

- Archaea: sweet and extreme[J]. *Glycobiology*, 2010, 20(9): 1065-1076.
- [11] Mescher MF, Hansen U, Strominger JL. Formation of lipid-linked sugar compounds in *Halobacterium salinarum*. Presumed intermediates in glycoprotein synthesis[J]. *Journal of Biological Chemistry*, 1976, 251(23): 7289-7294.
- [12] Mescher MF, Strominger JL. Glycosylation of the surface glycoprotein of *Halobacterium salinarum* via a cyclic pathway of lipid-linked intermediates[J]. *FEBS Letters*, 1978, 89(1): 37-41.
- [13] Zhu BC, Drake RR, Schweingrube H, et al. Inhibition of glycosylation by amphotycin and sugar nucleotide analogs PP36 and PP55 indicates that *Haloferax volcanii* beta-glucosylates both glycoproteins and glycolipids through lipid-linked sugar intermediates: evidence for three novel glycoproteins and a novel sulfated dihexosyl-archaeol glycolipid[J]. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 1995, 319(2): 355-364.
- [14] Guan Z, Naparstek S, Eichler J, et al. Distinct glycan-charged phosphodolichol carriers are required for the assembly of the pentasaccharide N-linked to the *Haloferax volcanii* S-layer glycoprotein[J]. *Molecular Microbiology*, 2010, 78(5): 1294-1303.
- [15] Plavner N, Eichler J. Defining the topology of the N-glycosylation pathway in the halophilic archaeon *Haloferax volcanii*[J]. *Journal of Bacteriology*, 2008, 190(24): 8045-8052.
- [16] Eichler J, Calo D, Kaminski L, et al. Salty and sweet: protein glycosylation in *Haloferax volcanii*[M]. *Halophiles and Hypersaline Environments*. 1<sup>st</sup> edition, Berlin: Springer, 2011: 227-235.
- [17] Madern D, Ebel C. Halophilic adaptation of enzymes[J]. *Extremophiles*, 2000, 4(2): 91-98.
- [18] Abu-Qarn M, Yurist-Doutsch S, Eichler J, et al. *Haloferax volcanii* AgIB and AgID are involved in N-glycosylation of the S-layer glycoprotein and proper assembly of the surface layer[J]. *Journal of Molecular Biology*, 2007, 374(5): 1224-1236.
- [19] Calo D, Guan Z, Eichler J. Glyco-engineering in Archaea: differential N-glycosylation of the S-layer glycoprotein in a transformed *Haloferax volcanii* strain[J]. *Microbial Biotechnology*, 2011, 4(4): 461-470.
- [20] Kaminski L, Guan Z, Eichler J, et al. Two distinct N-glycosylation pathways process the *Haloferax volcanii* S-layer glycoprotein upon changes in environmental salinity[J]. *MBio*, 2013, 4(6): 716-724.
- [21] Kuhlmann J. Protein lipidation[J]. *Methods in Molecular Biology*, 2004, 283: 217-220.
- [22] Triola G, Waldmann H, Hedberg C. Chemical biology of lipidated proteins[J]. *ACS Chemical Biology*, 2012, 7(1): 87-99.
- [23] McTaggart SJ. Isoprenylated proteins[J]. *Cellular and Molecular Life Sciences*, 2006, 63(3): 255-267.
- [24] Sagami H, Kikuchi A, Nishino T, et al. Novel isoprenoid modified proteins in *Halobacteria*[J]. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 1994, 203(2): 972-978.
- [25] Sagami H, Kikuchi A, Ogura K. A novel type of protein modification by isoprenoid-derived materials. Diphytanylglycerylated proteins in *Halobacteria*[J]. *Journal of Biological Chemistry*, 1995, 270(25): 14851-14854.
- [26] Kikuchi A, Sagami H, Ogura K. Evidence for covalent attachment of diphytanylglyceryl phosphate to the cell-surface glycoprotein of *Halobacterium halobium*[J]. *Journal of Biological Chemistry*, 1999, 274(25): 18011-18016.
- [27] Eichler J. Post-translational modification of the S-layer glycoprotein occurs following translocation across the plasma membrane of the haloarchaeon *Haloferax volcanii*[J]. *European Journal of Biochemistry*, 2001, 268(15): 4366-4373.
- [28] Konrad Z, Eichler J. Lipid modification of proteins in Archaea: attachment of a mevalonic acid-based lipid moiety to the surface-layer glycoprotein of *Haloferax volcanii* follows protein translocation[J]. *The Biochemical Journal*, 2002, 366(Pt 3): 959-964.
- [29] Pugh EL, Kates M. Acylation of proteins of the archaeobacteria *Halobacterium cutirubrum* and *Methanobacterium thermoautotrophicum*[J]. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1994, 1196(1): 38-44.
- [30] Kobayashi T, Nishizaki R, Ikezawa H. The presence of GPI-linked protein(s) in an archaeobacterium, *Sulfolobus acidocaldarius*, closely related to eukaryotes[J]. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1997, 1334(1): 1-4.
- [31] Koga Y, Nishihara M, Akagawa-Matsushita M, et al. Ether polar lipids of methanogenic bacteria: structures, comparative aspects, and biosyntheses[J]. *Microbiological Reviews*, 1993, 57(1): 164-182.
- [32] Kandiba L, Guan Z, Eichler J. Lipid modification gives rise to two distinct *Haloferax volcanii* S-layer glycoprotein populations[J]. *Biochimica et Biophysica Acta*, 2013, 1828: 938-943.