



专论与综述

细菌体内乙酰化修饰研究进展

刘婧^{1,2} 李淑娴^{1,2} 邵雷^{*2,3}

1 上海健康医学院医学技术学院 上海 201318

2 上海健康医学院协同科研中心 上海 201318

3 上海医药工业研究院创新药物与制药工艺国家重点实验室 上海 200040

摘要: 翻译后修饰是指前体蛋白经过一系列加工修饰形成具有多种功能的蛋白质,其可以发生在不同的氨基酸侧链或肽键上,通常是由酶活性介导的。5%的蛋白质组组成的酶介导了超过200多种的翻译后修饰类型,其中乙酰化修饰是一种重要的翻译后修饰途径。乙酰化修饰在真核细胞中被广泛研究,其几乎参与细胞的所有生理活动并且高度保守。最近的很多研究表明,乙酰化修饰在细菌体内也广泛存在,对其生理功能的研究也取得了一定进展。本文对细菌体内的乙酰化修饰途径、功能及检测技术进行了总结。除此之外,我们分析了乙酰化修饰目前存在的问题并对其潜在的应用价值进行展望。

关键词: 细菌, 乙酰化修饰, 去乙酰化, 机制, 功能, 检测技术

Protein acetylation in bacteria

LIU Jing^{1,2} LI Shuxian^{1,2} SHAO Lei^{*2,3}

1 College of Medical Technology, Shanghai University of Medicine and Health Sciences, Shanghai 201318, China

2 Collaborative Research Center, Shanghai University of Medicine and Health Sciences, Shanghai 201318, China

3 State Key Laboratory of New Drug and Pharmaceutical Process, Shanghai Institute of Pharmaceutical Industry, Shanghai 200040, China

Abstract: Post translational modification (PTM) refers to the precursors or proteins undergoing a series of processing modifications to form the protein with multiple functions. PTMs occur at distinct amino acid side chains or peptide linkages, and most are mediated by enzyme activity. Enzymes composed of 5% proteome mediate more than 200 types of post-translational modifications types, among which acetylation is an important PTM pathway. Acetylation modification is widely studied in eukaryotic organisms, it participates in almost all physiological activities of cells and is highly conserved. Many recent studies have shown that acetylation modification is also widespread in bacteria, and the researches related to

Foundation items: National Natural Science Foundation of China (81773616); Shanghai Excellent Technology Leader Program (17XD1423200); Shanghai Education Development Project for Industry-University-Research Practice (A3-2601-20-311001-11); Shanghai Natural Science Foundation (20ZR1424600)

***Corresponding author:** Tel: 86-21-65883825; E-mail: feihusl@163.com

Received: 11-02-2020; **Accepted:** 28-05-2020; **Published online:** 06-10-2020

基金项目: 国家自然科学基金(81773616); 上海市优秀技术带头人计划(17XD1423200); 上海市教发工程产学研践习项目(A3-2601-20-311001-11); 上海市自然科学基金(20ZR1424600)

***通信作者:** Tel: 021-65883825; E-mail: feihusl@163.com

收稿日期: 2020-02-11; **接受日期:** 2020-05-28; **网络首发日期:** 2020-10-06

physiological functions have also made significant progress. This article summarizes the mechanisms, functions of acetylation and detection technology of acetylation modification in bacteria. Besides, we analyze the existing problems and prospects the potential application value of acetylation modification.

Keywords: bacteria, acetylation, deacetylation, mechanism, function, detection technology

蛋白乙酰化修饰是指在生物体内的蛋白质氨基酸残基上加入乙酰基团,是一种重要的可逆并且高度受调控的蛋白质翻译后修饰方式,首次真核生物组蛋白的赖氨酸上被发现^[1]。随着研究的进展,很多非组蛋白(如 P53、转录因子、激素受体等)被证实也存在乙酰化修饰。乙酰化修饰在细胞内广泛存在,并且几乎参与所有的生物学过程^[2],并调控细胞的生理代谢,如 DNA 的转录、mRNA 拼接、细胞凋亡等^[3-5]。乙酰化修饰在真核生物中被广泛报道,直到 1992 年细菌体内的趋化蛋白 CheY 被首次证实存在乙酰化修饰,之后大量的乙酰化修饰蛋白在细菌体内也陆续被发现^[6]。近年来,基于蛋白组学和质谱技术的飞速发展,很多模式菌株乙酰化修饰蛋白质谱已完成^[7-9]。基于乙酰化修饰的重要生物学功能以及在细菌体内的广泛存在,越来越多的学者对细菌体内的乙酰化修饰展开了研究。

1 乙酰基团的转移途径

1.1 乙酰基转移酶种类

蛋白质的翻译后修饰(Post Translational Modification, PTM)通常由酶活性介导,乙酰化修饰是蛋白质翻译后修饰的一种重要形式,几乎所有的真核细胞蛋白质都存在乙酰化修饰。真核细胞的乙酰化最早是在组蛋白中赖氨酸残基 N 末端上检测到的,其中乙酰辅酶 A (Ac-CoA)供体分子提供的乙酰基团在赖氨酸乙酰基转移酶(KATs)的催化下转移至赖氨酸上^[10]。真核生物中有五类主要的乙酰基转移酶:(1) 作用最强的 GNAT (Gcn5-Related N-acetyltransferase)超家族;(2) 与进化有关的 MYST 家族;(3) 核受体辅转录激活因子 P160 家族;(4) 与细胞分化与凋亡关系密切

的 CBP/p300 家族;(5) 转录因子复合体 (TATA-Bindingprotein-Associated Factor, TAF II D)的组成部分 TAF II230/250 家族^[11],其中 GNAT 作用最强,在真核和原核生物体内分布都很广泛。除此之外,还有 YopJ 效应蛋白家族,但这一类酶由细菌Ⅲ型分泌系统分泌至宿主体内,因此其底物是宿主体内的蛋白^[12],在此不做讨论。GNAT 家族乙酰基转移酶首先使赖氨酸底物去质子化,促进对 Ac-CoA 羟基端的亲核攻击,将供体 Ac-CoA 上的乙酰化基团转移到赖氨酸残基上^[13]。研究表明,鼠伤寒沙门菌中的乙酰基转移酶 Pat 所介导的乙酰化修饰发生在 Acs 保守的活性位点,从而使 Acs 失去活性,Acs 是第一个被报道的细菌体内 KAT 的底物^[14-16]。在随后的研究中,乙酰化修饰能够调控 Acs 的活性,在其他种属的细菌以及线粒体内也得到了证实^[17-19]。根据不同 GNAT 蛋白序列及结构域的差异,细菌体内的 GNAT 可分为 3 类,进一步又可细分为 5 种^[20],其中 Pat 及其同源物(也可称为 Pka, *Escherichia coli* 中称为 YfiQ)的研究最为广泛,存在于多种细菌体内。

从乙酰化修饰谱中可以看出,乙酰化修饰存在于大量蛋白质中,并且已知的乙酰基转移酶的特异性较高,比如,当枯草芽孢杆菌的乙酰基转移酶 AcuA 或者大肠杆菌的 YfiQ 失活时,乙酰化修饰谱几乎不受影响^[21-24];细菌体内还存在很多功能未知的蛋白,这些蛋白具有保守 GNAT 结构域,很有可能是未被发现的乙酰基转移酶。乙酰化转移酶 Eis 在结核分枝杆菌中被鉴定出来,但是 Eis 是通过修饰底物 MthU 抑制其与 DNA 的结合来作用的^[25-26]。在大肠杆菌中报道了 4 个新的乙酰基转移酶(YiaC、YjaB、PhnO 和 RimI),质谱结果显

示 YiaC、YjaB 具有广泛的底物, 而 PhnO 和 Rim I 催化的底物较少^[27]。

1.2 非酶学催化途径

糖酵解过程中产生的乙酰磷酸(AcP)能够不依赖酶催化而直接将乙酰基团转移至底物发生反应, 这种乙酰基转移方式属于非酶学途径^[24], 已在多个细菌中证明, 胞内次生代谢产物 AcP 的浓度与蛋白质乙酰化水平密切相关^[24,28-29]。此外, 从定量质谱的结果可以看出, 大肠杆菌中只有小部分(<10%)的乙酰化修饰位点受到乙酰基转移酶 YfiQ 调控, 绝大多数的乙酰化修饰位点依赖 AcP^[24,30]。这些研究表明, AcP 途径介导了枯草芽孢杆菌和大肠杆菌体内绝大多数的乙酰化修饰, 是更为广泛的乙酰基转移途径。真核细胞的线粒体中报道了 Ac-CoA 能够作为乙酰基团供体, 直接乙酰化修饰底物的非酶学途径^[31]。由于 Ac-CoA 是细菌必需的, 无法敲除后在体内开展研究, 目前对于该乙酰化修饰途径的报道较少^[32-33]。内共生假说认为真核生物吞噬了 α 变形杆菌, 由于机缘巧合形成了互益的关系, 经过长期的一种共生的存在, α 变形杆菌丢掉了部分原有但不再必要的基因, 然后逐渐演化成了其宿主的一个线粒体细胞器, 由此得出细菌中也普遍存在由 Ac-CoA 介导的非酶学催化途径的假说^[34]。

相比于酶学催化途径, 依赖于 AcP 的非酶学乙酰基转移途径具有低特异性、高全局性的特点。非酶学催化途径需要 AcP 与蛋白质结合, 赖氨酸残基反应活性也需要增强^[35]。

1.3 去乙酰化酶

N α 乙酰化是不可逆的, 存在于大多数真核细胞蛋白中, 然而在原核生物中十分罕见。已经报道的原核生物 N α 乙酰化修饰存在于大肠杆菌的核糖体蛋白亚基 L12、S5 和 S18, 以及分枝杆菌的核糖体蛋白亚基 L12 中^[36-37]。N ϵ 乙酰化是可逆的, 其可逆性是由于去乙酰化酶的作用可以去除乙酰基团, 其中赖氨酸残基上乙酰化修饰研究最多,

在真核和原核生物中都存在多种赖氨酸乙酰化蛋白。去乙酰化酶按照作用机制的不同可分为两类: (1) 依赖 Zn^{2+} 的去乙酰化酶(KDACs); (2) 依赖 NAD^+ 的 Sirtuins 家族^[38-40] (图 1)。KDACs 在真核生物中有多种, 但在细菌中只有 2 个, 即: 位于枯草芽孢杆菌中的 AcuC 和沼泽红假单胞菌中的 LdaA^[41-42]。Sirtuins 家族高度保守, 其同源物在原核生物中也参与多项生理过程^[38-39]。例如, Sirtuins 蛋白在哺乳动物细胞中可抑制病毒生长, 随后在细菌中也证实有此功能^[43]。CobB 属于 Sirtuins 家族, 在细菌中被广泛研究^[44-45]。CobB 可以去除酶学和非酶学方式转移的乙酰基^[46]。真核生物与原核生物蛋白质乙酰化修饰方式存在差异, 乙酰基转移酶和去乙酰化酶的种类和数量也不同(表 1)。

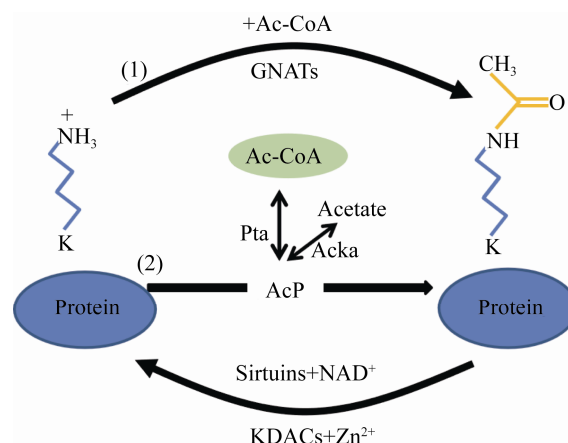


图 1 细菌体内乙酰化/去乙酰化修饰途径

Figure 1 Acetylation/Deacetylation pathways in bacteria

注: 细菌体内的乙酰化修饰有 2 种途径, 第 1 种是依赖乙酰基转移酶将辅因子乙酰辅酶 A 上的乙酰基团转移至底物, 第 2 种是非酶学途径, 乙酰磷酸直接将其自身的乙酰基团转移至底物。乙酰基团的去除由去乙酰化酶负责, 包括 NAD^+ 依赖的 Sirtuins 家族和 Zn^{2+} 依赖的 KDAC

Note: Acetylation occurs in two different pathways in bacteria. The first one is enzymatic, relying on acetyltransferases to catalyze the donation of an acetyl group from acetyl-coenzyme A to substrates. The second one is nonenzymatic, acetyl-phosphate acetylates lysine residues chemically. Acetyllysine can be removed by NAD^+ dependent or Zn^{2+} dependent deacetylase

表 1 真核生物与原核生物乙酰化修饰差异比较
Table 1 Comparison the differences in acetylation modification between eukaryote and prokaryote

生物乙酰化修饰过程 Bioacetylation modification process	真核生物 Eukaryote	原核生物 Prokaryote	参考文献 References
蛋白质乙酰化修饰方式 Protein acetylation modification method	Nα 乙酰化不可逆, 普遍存在 Nα acetylation is irreversible and universal	Nα 乙酰化不可逆, 少见 Nα acetylation is irreversible and rare	[1,6]
乙酰基转移酶 Acetyltransferase	Nε 乙酰化可逆, 常见 Nε reversible acetylation is common 复杂, 种类多 Complex and many types MYST 家族 MYST family P160 家族 P160 family CBP/p300 家族 CBP/p300 family TAF II230/250 家族 TAF II230/250 family	Nε 乙酰化可逆, 常见 Nε reversible acetylation is common 简单, 种类较少 Simple and less variety 乙酰化酶 Pat、YfiQ、Eis、YiaC、YjaB、PhnO 和 RimI Acetylases Pat, YfiQ, Eis, YiaC, YjaB, PhnO and RimI	[10,12,14,20]
去乙酰化酶 Deacetylase	Zn ²⁺ 依赖的: Class I HDACs: HDAC1, 2, 3, 8; Class II HDACs: HDAC4, 5, 6, 7, 9, 10; Class IV HDAC: HDAC11 The types of Zn ²⁺ dependent deacetylases (KDACs) are: Class I HDACs: HDAC1, 2, 3, 8; Class II HDACs: HDAC4, 5, 6, 7, 9, 10; Class IV HDAC: HDAC11 NAD ⁺ 依赖的 Class III HDAC: SIRT1-T7 NAD ⁺ dependent Class III HDAC: SIRT1-T7	Zn ²⁺ 依赖的 KDACs: AcuC, LdaA Zn ²⁺ dependent deacetylases (KDACs): AcuC, LdaA Sirtuins 家族: CobB Sirtuins family: CobB	[38-42]

基于目前的研究, 体内受到 CobB 调控的乙酰化修饰底物比例在 5%–14%^[21,23,29], 远远少于 AcP 和 YfiQ 的底物数量, 因此, 很可能存在其他类型有待发现的去乙酰化酶。近年来, 在大肠杆菌中报道了一个新型的去乙酰化酶 YcgC 与已知的去乙酰化酶无同源性, 不需要 Zn²⁺ 或 NAD⁺ 作为辅因子^[47], 但随后有研究否定了 YcgC 具有去乙酰化酶的活性^[48]。

2 乙酰化修饰重要的生物学功能

乙酰化修饰的功能早期集中在与 DNA 有关的活动, 比如染色体转录调控和 DNA 修复、重组等^[49], 那是由于乙酰化修饰最早在组蛋白中被发现, 由于组蛋白带正电荷, DNA 带负电荷, 两者易形成紧密的 DNA-组蛋白复合物, 而乙酰化修饰可以中和组蛋白上的正电荷, 使 DNA-组蛋白结合变弱, 转录易于发生。随后大量的非组蛋白

乙酰化修饰被发现, 其越来越多的生物学功能被验证^[50-51]。乙酰化修饰可影响酶活性, 影响细菌趋化性, 影响细菌对压力环境的耐受性等。

2.1 乙酰化调控转录因子与 DNA 的结合

细菌体内许多转录因子的 DNA 结合域上有乙酰化修饰位点。Choudhary 等利用同位素标记氨基酸和质谱技术鉴定出了 40 个乙酰化位点存在于 29 个转录因子上, 细胞的各种生理过程受这些乙酰化的转录因子调控^[3]。在 p53 的乙酰化修饰中, p53 的 C 端 DNA 结合调控区域上存在多个赖氨酸乙酰化修饰位点, 在 p53 基因调控表达中发挥重要作用^[52]。乙酰化中和带正电的赖氨酸残基可能会破坏 p53 羧基末端与核心 DNA 结合结构域之间的相互作用^[53]。Strahl 等发现乙酰化修饰能通过抑制染色体折叠固缩促进基因的表达, 当位于组蛋白 16 位的 Lys 单一位点乙酰化时, 负电荷的乙酰基转移到 Lys 的氨基端, 消除其正电荷,

DNA 与组蛋白的结合减弱, 染色体构型变松散, 利于转录因子结合 RNA 聚合酶, 转录被激活^[54-55]。前期的研究报道了乙酰化修饰参与调控鼠伤寒沙门菌中的转录调控因子 PhoP、HilD 以及 Lrp 的活性。Ren 等发现存在于沙门菌中重要的毒力因子 PhoP 可以作为 CobB、Pat 和 ACP 的共同底物, 其中位于 PhoP 羧基端 DNA 结合域第 102、201 位赖氨酸(K102、K201)的乙酰化修饰, 能够抑制 PhoP 与其下游基因启动子结合, K102 的乙酰化修饰还会影响到 PhoP 的磷酸化, 最终造成沙门菌毒力的显著降低^[56]。当面临恶劣环境, 如低镁离子、酸性 pH 和巨噬细胞杀伤时, 沙门菌为了增强自身在压力条件下的存活, 会通过降低 PhoP 的乙酰化水平来实现^[57]。Sang 等发现乙酰化修饰存在于 HilD 的 HTH (Helix-Turn-Helix) 结构域的 K297 上, 并受 CobB 和 Pat 的共同调节; 从凝胶迁移实验中得出, 当乙酰化修饰发生于 K297 上时, HilD 与 DNA 结合的能力会丧失, 因此, 当在 K297 上模拟乙酰化的突变时, 突变菌株(K297Q)呈现出对 HeLa 细胞实验的侵袭力下降、体内小鼠试验也验证了该菌株毒力减弱^[58]。Qin 等使用细菌双杂交系统筛选鼠伤寒沙门氏菌的基因组文库, 鉴定到一个参与 Pat 和 CobB 介导的乙酰化作用的蛋白: 亮氨酸反应调节蛋白 Lrp; 尤其, Lrp 的 HTH 其 DNA 结构域中赖氨酸残基 K36 被乙酰化, K36 的乙酰化通过改变与靶启动子的亲和力来削弱 Lrp 的功能, 从而影响到 I 型菌毛 *fimZ* 和 *fimA* 的表达^[59]。

研究还发现, 乙酰化修饰能够通过影响复制起始蛋白 DnaA 与复制起始位点 *oriC* 的结合, 从而调控大肠杆菌体内的复制起始过程; 质谱结果表明 DnaA 蛋白中 70% 以上的赖氨酸都存在乙酰化修饰, 其中 K178 和 K243 是 2 个能够影响 DnaA 活性的位点^[60]。当 K178 发生乙酰化修饰时, DnaA 蛋白几乎丧失与 ATP/ADP 结合的能力, 从而与 *oriC* 的结合也受到抑制; 而当 K243 发生乙酰化修饰时, DnaA 虽然保留了结合 ATP/ADP 的能力, 但不

能结合位于 *oriC* 区域上的一些亲和力弱的 DnaA Boxes, 因而与 *oriC* 不能形成完整的起始复合物, 起始复制无法发生^[61]。

还有研究证明位于 GDNF 启动子 II 区的组蛋白 H3k9 存在高度乙酰化, 乙酰化的 H3k9 能显著增加 Egr1 与 GDNF 启动子区的结合, 并增加了 RNA 聚合酶 II 到 GDNF 启动子区的募集, 最终促进 GDNF 在星形胶质瘤细胞中的高转录^[62]。

2.2 乙酰化修饰影响酶的活性

腺苷酸化酶 MbtA 在结核分枝杆菌中催化分枝杆菌素的生物合成, 其活性可被乙酰化和去乙酰化调控。分枝杆菌蛋白赖氨酸乙酰基转移酶 Pat (Rv0998) 以依赖 cAMP 的方式特异性地使赖氨酸 546 上的 MbtA 乙酰化, MbtA 乙酰化可被 NAD⁺ 依赖性脱乙酰基转移酶 Dac (Rv1151c) 逆转, 从而可逆地恢复酶的活性^[63]。大肠杆菌中的 II 类丙氨酰-tRNA 合成酶 (AlaRS) 上的第 73 位赖氨酸存在天然乙酰化修饰, Umehara 等通过利用扩展的遗传密码系统在 AlaRS 的第 73 位掺入 Nε-乙酰基-L-赖氨酸, 建立 AlaRS K73Ac 突变菌株来模拟乙酰化定点突变, 突变菌株与野生菌株相比, 酶活性降低; AlaRS 的酰化作用受 K73 乙酰化的影响, 而且乙酰化修饰对体内脱乙酰酶 CobB 敏感, 大肠杆菌中 CobB 缺失导致 AlaRS K73 乙酰化水平的升高并伴随着酶活的下降^[64]。伯氏疏螺旋体中有 5% 的蛋白被鉴定到具有乙酰化修饰, 大部分底物与中心代谢有关, 其中 2 个酶 GAPDH 和 LDH 在体外与 AcP 进行孵育后, 它们的酶活分别下降了 85% 和 68%^[65]。很多研究证明乙酰化修饰能够抑制酶的活性, 细菌中乙酰化修饰能够提高酶活的报道非常罕见, 但在真核生物中相关研究十分常见。

2.3 乙酰化修饰影响细菌趋化性

细菌的趋化反应是由趋化受体感知环境中的刺激物并引发有运动能力的细菌靠近或远离刺激的行为。CheY-P 与鞭毛马达 FliM 结合, 可以调节鞭毛的旋转而使细菌进行翻转运动。Barak 等证明

趋化蛋白 CheY 可以被纯化的大肠杆菌乙酰辅酶 A 合成酶(Acs)以乙酸作为乙酰基供体进行乙酰化作用^[66], 随后发现 CheY 也可以利用 Ac-CoA 作为乙酰基来源发生自乙酰化修饰^[67]。大肠杆菌可提高趋化反应调节剂 CheY 的乙酰化水平, CheY 乙酰化修饰降低了与马达蛋白 FliM 的结合力, 因此趋化性下降^[68]。研究还证明敲除去乙酰化酶 CobB 的菌株, CheY 乙酰化水平显著增高, 趋化反应能力下降, 由此证明 CheY 乙酰化的确影响细菌的趋化性^[69]。CheY 的磷酸基来源强烈抑制 CheY 的乙酰化, 而 CheY 的乙酰化在 CheZ 作用下得到增强, Acs 可提高 CheA 和 CheY 的磷酸化水平^[70]。可见, 细菌的趋化性受 CheY 磷酸化和乙酰化相互影响、相互调节^[71]。

2.4 乙酰化修饰影响细菌大小和形态

Carabetta 等^[21]研究证明 MreB 蛋白的乙酰化在枯草芽孢杆菌的细胞壁形成和生长中具有重要作用; MreB 蛋白限制了细胞壁的生长和细胞的宽度, 决定了细菌成杆状的形态; 乙酰化修饰具有生物学意义, 比如稳定肌动蛋白应激纤维和促进维管束的捆绑, 其中肌动蛋白同源物 MreB 存在 3 个乙酰化残基: 240、247 和 298; 在细菌进入平台期时只有 K240 的乙酰化水平显著升高; 在对数期时, 野生型菌株与 K240R、*mreB* 敲除菌株长度差异不明显, 模拟的乙酰化菌株 K240Q 明显短于其他菌株, 在进入平台期后野生型的细菌、K240R 和 *mreB* 敲除菌株都呈现变短变窄, 模拟的 K240Q 突变株比野生型更短更窄, 而模拟去乙酰化 K240R 突变株呈现出比野生型更宽; K240 的乙酰化修饰可能通过降低肽聚糖合成的速度从而减小细菌的长度, 同时 K240 乙酰化对于改变细胞壁结构也很重要^[21]。

2.5 乙酰化修饰调节细菌蛋白的稳定性以及 RNA 的代谢

RNase 是重要的核糖核酸酶, 在 RNA 前体的成熟、mRNA 翻转、压力条件下 RNA 的降解等方

面起重要作用。RNase R 能够降解大肠杆菌中结构化的 RNAs, 在对数期不稳定, tmRNA 和 SmpB 蛋白对于 RNase R 的不稳定性起重要作用; 在细菌进入平台期或者在压力条件下 RNase R 稳定性升高^[72]。研究证明, 这些现象受 YfiQ 蛋白催化的乙酰化作用的调节; RNase R 上赖氨酸 Lys544 在对数期被乙酰化, 而在稳定期中不被乙酰化, 该修饰导致 tmRNA-SmpB 与对数期 RNase R 的 C 端区域结合更紧密, 并随后被蛋白酶识别而降解; 去除 Lys544 的正电荷或 C 端区域的负电荷可能会破坏它们的相互作用, 从而促进 tmRNA-SmpB 的结合; 这些发现表明乙酰化可以调节细菌蛋白的稳定性^[73]。另一个重要的 RNase II 上 Lys501 也存在着乙酰化, 在生长缓慢的条件下, RNase II 的乙酰化水平升高, 而 RNase II 的活性降低, 这是 K501 的乙酰化修饰通过抑制 RNase II 与 RNA 底物的结合来实现的, RNase II 的稳定性并未受到影响^[74]。

2.6 乙酰化修饰影响细菌对压力环境的耐受性

细菌能够感知外界环境刺激并作出反应的重要元件是由激酶 RcsC 和调控因子 RcsB 组成的双组分信号转导系统, RcsB 是肠杆菌中一个重要的转录因子, 参与荚膜合成、细胞分裂等多种细胞过程并且与细菌的多种耐受性相关; 研究证明, RcsB 上的 K154 发生乙酰化修饰时能够通过干扰 RcsB 与 DNA 的位点结合来抑制 RcsB 的活性, 导致细菌对抗生素、酸性等的耐受性下降, 经 CobB 去乙酰化后, RcsB 恢复与 *flhCD* 操纵子结合的活性, 细菌对环境的耐受力增强^[75]。Lima 等报道了蛋白质乙酰化参与了葡萄糖诱导的应激启动子的转录; RNA 聚合酶 α 亚基上羧基末端结构域的 K298, 在环境中含有葡萄糖时能够被 YfiQ 乙酰化修饰, 促进周质应激反应启动子 CpxP 的转录, 细菌呈现出对周质空间压力的耐受性增强^[76]。Ma 等报道了细菌的蛋白质被乙酰化时, 细菌会达到更高的细胞密度, 对热和氧化应激具有更高的抵抗力; 实验证明当大肠杆菌中 YfiQ 过表达或者 CobB

基因缺失时, 体内乙酰化水平会升高, 过氧化物酶 KatG 的表达增强, 细菌抗氧化应激增加, 由此得出细菌的乙酰化具有调节应激反应的作用^[77]。

3 细菌体内的乙酰化修饰检测技术

蛋白质乙酰化修饰的检测不能通过原位标记、灵敏的特异性抗体等稳定有效的手段进行检测, 技术上的局限阻碍了蛋白质乙酰化的研究和发展。近年来, 高分辨率质谱技术、乙酰化肽段的免疫富集沉淀技术和生物信息学分析发展为大规模发现乙酰化修饰蛋白提供了一条很好的技术路线, 从而实现了特定蛋白的乙酰化修饰位点或者不同菌株在不同条件下体内乙酰化修饰谱的研究。乙酰化抗体的质量、样品分离策略、免疫沉淀反应的效率、质谱及数据分析方法的选择对通过质谱来鉴定乙酰化修饰的底物数量和质量有着重要的影响。高灵敏度的质谱技术和高特异性的乙酰化抗体显著提高了对乙酰化肽段的富集及鉴定效率。Yu 等通过 Nano-HPLC/MS/MS 质谱技术首次报道了细菌体内的乙酰化修饰谱, 他们在大肠杆菌的 85 种蛋白质中鉴定了 125 个赖氨酸乙酰化位点^[78], 乙酰化位点数目甚至超过了 Macek 等鉴定到的大肠杆菌体内的磷酸化修饰位点数^[79]。近年来, 在鼠伤寒沙门菌^[80]、铜绿假单胞菌^[81]、结核分枝杆菌^[82]、肺炎链球菌^[83]、霍乱弧菌^[84]等致病细菌中的乙酰化修饰组学已有报道。通常在细菌中, 蛋白质组学能鉴定到约 2 000–5 000 个蛋白, 具有乙酰化修饰的蛋白占 5%^[85]。乙酰化蛋白质参与多种细胞功能, 包括蛋白质合成、碳水化合物代谢、TCA 循环、核苷酸和氨基酸代谢及转录等, 因此, 大量乙酰化修饰组学的研究为后续深入探讨该修饰的生物学意义以及对细菌生理功能的影响提供了基础。鉴定到的乙酰化修饰蛋白在不同细菌中存在差异, 蛋白的差异率从 2%–45% 不等, 不同实验室鉴定到的同一种细菌在乙酰化修饰谱上也存在着很大的差异, 因此乙酰化修饰底物的验证十分必要。生物信息学的解读有利于更好地

预测蛋白质的功能及整体理解生物体复杂的调控网络。2011 年, Lu 等利用生物信息学方法整体分析了乙酰化蛋白的功能并预测了蛋白质的二级结构, 而且预测了对乙酰化修饰可能影响蛋白质的磷酸化、甲基化和泛素化状态^[86]。乙酰化和其他 PTMs 之间存在着相互影响, 这些串扰共同调节细胞功能。另外, 用于蛋白质组学研究的蛋白质芯片技术也应用于乙酰化的研究。大肠杆菌中 Pat 蛋白的乙酰化底物和 CobB 的去乙酰化底物都是利用该技术发现的^[87]。蛋白质芯片技术为将来寻找新的去乙酰化酶以及乙酰化底物的鉴定、全局性研究乙酰化蛋白与其他蛋白的相互作用、最终构成一个乙酰化调控网络提供了强大的技术支持。

4 细菌体内乙酰化修饰的应用

乙酰化修饰在调节抗生素的生物合成中起着关键作用。比如, 解淀粉芽孢杆菌对控制植物病原体非常有效, 乙酰化修饰存在于该菌的抗菌多酮类化合物和脂蛋白的酶上, 乙酰化可能会影响脂肽和聚酮化合物合成途径中酶的相对活性, 并调节代谢通量以用于次生代谢产物的生物合成^[88]。代谢酶的可逆乙酰化可确保细胞感知细胞能量状态并灵活调节反应速率来响应环境变化, 这些结果表明, 可逆的乙酰化在解淀粉芽孢杆菌的抗生素合成中起着直接的调节作用^[89]; 乙酰化修饰存在于红色糖多胞菌中参与合成红霉素的酶中^[90]; 链霉菌属生产市场上超过 2/3 的抗生素, 这些次级代谢产物生物合成酶上存在乙酰化修饰位点, 例如非核糖体肽合成酶、异羟肟酸酯铁氧体和次磷酸天然产物生物合成所必需的酶, 这暗示了乙酰化在这些过程中的重要作用^[91]。深入研究乙酰化修饰如何影响这些细胞过程, 对指导工业生产上提高抗生素等次级代谢产物的生产效率和产量具有重要意义。

此外, 蛋白质乙酰化修饰与衰老和某些疾病(心血管疾病、癌症、神经紊乱等)紧密关联。KAT 被认为是一个潜在的很好的疾病治疗靶点, 在白

色念珠菌中, 组蛋白 H3 上 Lys56 乙酰化具有真菌特异性酶乙酰基转移酶 Rtt109p 的修饰, 降低 H3 上 K56 乙酰化水平, 导致白色念珠菌对遗传毒性和抗真菌剂敏感, 由此得出乙酰化水平显著影响白色念珠菌毒力的结论^[92]。此外, Mahon 等证明表面赖氨酸乙酰化修饰能够影响整体蛋白的稳定性和晶体结构^[93], 因此抗体的生物学活性及免疫原性可能改变, 这为探索改善抗体应用于临床中的安全性和有效性提供了新的思路^[94]。在细菌中, 已有相关研究报道了乙酰化修饰与铜绿假单胞菌、欧文氏菌、伤寒沙门菌属、结合分枝杆菌的毒力有关^[56,82,95-98], 深入研究乙酰化修饰如何调控细菌毒力机制可为今后针对性治疗病原菌感染提供新的方案。

5 结语及展望

近年来, 由于技术的进步与发现, 在细菌领域的蛋白质乙酰化修饰取得了很大的进展, 然而乙酰化修饰的精确机制尚不清楚。乙酰化修饰研究中很多问题亟待解决, 比如: 虽然很多新的乙酰化修饰底物被鉴定出来, 但是它们生理功能需要探索; 需要开发新技术去发现更多的乙酰化与去乙酰化酶; 乙酰化修饰与其他翻译后修饰之间的互相影响等。这些问题的解决对深入了解乙酰化修饰对细菌的生物学作用具有重要的意义。

REFERENCES

- [1] Allfrey VG, Faulkner R, Mirsky AE. Acetylation and methylation of histones and their possible role in the regulation of RNA synthesis[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 1964, 51(5): 786-794
- [2] Kouzarides T. Acetylation: a regulatory modification to rival phosphorylation?[J]. The EMBO Journal, 2000, 19(6): 1176-1179
- [3] Choudhary C, Kumar C, Gnäd F, Nielsen ML, Rehman M, Walther TC, Olsen JV, Mann M. Lysine acetylation targets protein complexes and co-regulates major cellular functions[J]. Science, 2009, 325(5942): 834-840
- [4] Kim SC, Sprung R, Chen Y, Xu YD, Ball H, Pei JM, Cheng T, Kho Y, Xiao H, Xiao L, et al. Substrate and functional diversity of lysine acetylation revealed by a proteomics survey[J]. Molecular Cell, 2006, 23(4): 607-618
- [5] Zhao SM, Xu W, Jiang WQ, Yu W, Lin Y, Zhang TF, Yao J, Zhou L, Zeng YX, Li H, et al. Regulation of cellular metabolism by protein lysine acetylation[J]. Science, 2010, 327(5968): 1000-1004
- [6] Barak R, Welch M, Yanovsky A, Oosawa K, Eisenbach M. Acetyladenylate or its derivative acetylates the chemotaxis protein CheY *in vitro* and increases its activity at the flagellar switch[J]. Biochemistry, 1992, 31(41): 10099-10107
- [7] Ravikumar V, Nalpas NC, Anselm V, Krug K, Lenuzzi M, Šestak MS, Domazet-Lošo T, Mijakovic I, Macek B. In-depth analysis of *Bacillus subtilis* proteome identifies new ORFs and traces the evolutionary history of modified proteins[J]. Scientific Reports, 2018, 8(1): 17246
- [8] Schilling B, Christensen D, Davis R, Sahu AK, Hu LI, Walker-Peddakotla A, Sorensen DJ, Zemaitaitis B, Gibson BW, Wolfe AJ. Protein acetylation dynamics in response to carbon overflow in *Escherichia coli*[J]. Molecular Microbiology, 2015, 98(5): 847-863
- [9] Henriksen P, Wagner SA, Weinert BT, Sharma S, Bačinskaja G, Rehman M, Juffer AH, Walther TC, Lisby M, Choudhary C. Proteome-wide analysis of lysine acetylation suggests its broad regulatory scope in *Saccharomyces cerevisiae*[J]. Molecular & Cellular Proteomics, 2012, 11(11): 1510-1522
- [10] Hu LI, Lima BP, Wolfe AJ. Bacterial protein acetylation: the dawning of a new age[J]. Molecular Microbiology, 2010, 77(1): 15-21
- [11] Murray K. The occurrence of ϵ -N-methyl lysine in histones[J]. Biochemistry, 1964, 3(1): 10-15
- [12] Ma KW, Ma WB. YopJ family effectors promote bacterial infection through a unique acetyltransferase activity[J]. Microbiology and Molecular Biology Reviews, 2016, 80(4): 1011-1027
- [13] Vetting MW, De Carvalho LPS, Yu M, Hegde SS, Magnet S, Roderick SL, Blanchard JS. Structure and functions of the GNAT superfamily of acetyltransferases[J]. Archives of Biochemistry and Biophysics, 2005, 433(1): 212-226
- [14] Starai VJ, Gardner JG, Escalante-Semerena JC. Residue Leu-641 of Acetyl-CoA synthetase is critical for the acetylation of residue Lys-609 by the protein acetyltransferase enzyme of *Salmonella enterica*[J]. The Journal of Biological Chemistry, 2005, 280(28): 26200-26205
- [15] Starai VJ, Celic I, Cole RN, Boeke JD, Escalante-Semerena JC. Sir2-dependent activation of acetyl-CoA synthetase by deacetylation of active lysine[J]. Science, 2002, 298(5602): 2390-2392
- [16] Starai VJ, Escalante-Semerena JC. Identification of the protein acetyltransferase (Pat) enzyme that acetylates acetyl-CoA synthetase in *Salmonella enterica*[J]. Journal of Molecular Biology, 2004, 340(5): 1005-1012
- [17] VanDrisse CM, Escalante-Semerena JC. In *Streptomyces lividans*, acetyl-CoA synthetase activity is controlled by O-serine and N^ε-lysine acetylation[J]. Molecular Microbiology, 2018, 107(4): 577-594
- [18] Liimatta K, Flaherty E, Ro G, Nguyen DK, Prado C, Purdy

- AE. A putative acetylation system in *Vibrio cholerae* modulates virulence in arthropod hosts[J]. Applied and Environmental Microbiology, 2018, 84(21): e01113-18
- [19] Schwer B, Bunkenborg J, Verdin RO, Andersen JS, Verdin E. Reversible lysine acetylation controls the activity of the mitochondrial enzyme acetyl-CoA synthetase 2[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 2006, 103(27): 10224-10229
- [20] Christensen DG, Baumgartner JT, Xie X, Jew KM, Basisty N, Schilling B, Kuhn ML, Wolfe AJ. Mechanisms, detection, and relevance of protein acetylation in prokaryotes[J]. mBio, 2019, 10(2): e02708-18
- [21] Carabetta VJ, Greco TM, Tanner AW, Cristea IM, Dubnau D. Temporal regulation of the *Bacillus subtilis* acetylome and evidence for a role of MreB acetylation in cell wall growth[J]. Msystems, 2016, 1(3): e00005-16
- [22] Castaño-Cerezo S, Bernal V, Post H, Fuhrer T, Cappadona S, Sánchez-Díaz NC, Sauer U, Heck AJR, Altelaar AM, Cánovas M. Protein acetylation affects acetate metabolism, motility and acid stress response in *Escherichia coli*[J]. Molecular Systems Biology, 2014, 10(11): 762
- [23] Kosono S, Tamura M, Suzuki S, Kawamura Y, Yoshida A, Nishiyama M, Yoshida M. Changes in the acetylome and succinylome of *Bacillus subtilis* in response to carbon source[J]. PLoS One, 2015, 10(6): e0131169
- [24] Weinert BT, Iesmantavicius V, Wagner SA, Schölz C, Gummeson B, Beli P, Nyström T, Choudhary C. Acetyl-phosphate is a critical determinant of lysine acetylation in *E. coli*[J]. Molecular Cell, 2013, 51(2): 265-272
- [25] Ghosh S, Padmanabhan B, Anand C, Nagaraja V. Lysine acetylation of the *Mycobacterium tuberculosis* HU protein modulates its DNA binding and genome organization[J]. Molecular Microbiology, 2016, 100(4): 577-588
- [26] Green KD, Biswas T, Pang AH, Willby MJ, Reed MS, Stuchlik O, Pohl J, Posey JE, Tsodikov OV, Garneau-Tsodikova S. Acetylation by eis and deacetylation by Rv1151c of *Mycobacterium tuberculosis* HupB: biochemical and structural insight[J]. Biochemistry, 2018, 57(5): 781-790
- [27] Christensen DG, Meyer JG, Baumgartner JT, D'Souza AK, Nelson WC, Payne SH, Kuhn ML, Schilling B, Wolfe AJ. Identification of novel protein lysine acetyltransferases in *Escherichia coli*[J]. mBio, 2018, 9(5): e01905-18
- [28] Suzuki S, Kondo N, Yoshida M, Nishiyama M, Kosono S. Dynamic changes in lysine acetylation and succinylation of the elongation factor Tu in *Bacillus subtilis*[J]. Microbiology, 2019, 165(1): 65-77
- [29] Post DMB, Schilling B, Reinders LM, D'Souza AK, Ketterer MR, Kiel SJ, Chande AT, Apicella MA, Gibson BW. Identification and characterization of AckA-dependent protein acetylation in *Neisseria gonorrhoeae*[J]. PLoS One, 2017, 12(6): e0179621
- [30] Kuhn ML, Zemaitaitis B, Hu LI, Sahu A, Sorensen D, Minasov G, Lima BP, Scholle M, Mrksich M, Anderson WF, et al. Structural, kinetic and proteomic characterization of acetyl phosphate-dependent bacterial protein acetylation[J]. PLoS One, 2014, 9(4): e94816
- [31] Pougovkina O, Te Brinke H, Ofman R, Van Cruchten AG, Kulik W, Wanders RJA, Houten SM, De Boer VCJ. Mitochondrial protein acetylation is driven by acetyl-CoA from fatty acid oxidation[J]. Human Molecular Genetics, 2014, 23(13): 3513-3522
- [32] Yoshida A, Yoshida M, Kuzuyama T, Nishiyama M, Kosono S. Protein acetylation on 2-isopropylmalate synthase from *Thermus thermophilus* HB27[J]. Extremophiles, 2019, 23(4): 377-388
- [33] Barak R, Yan JS, Shainskaya A, Eisenbach M. The chemotaxis response regulator CheY can catalyze its own acetylation[J]. Journal of Molecular Biology, 2006, 359(2): 251-265
- [34] Kurland CG, Andersson SGE. Origin and evolution of the mitochondrial proteome[J]. Microbiology and Molecular Biology Reviews, 2000, 64(4): 786-820
- [35] Carabetta VJ, Cristea IM. Regulation, function, and detection of protein acetylation in bacteria[J]. Journal of Bacteriology, 2017, 199(16): e00107-17
- [36] Tanka S, Matsushita Y, Yoshikawa A, Isono K. Cloning and molecular characterization of the gene *rimL* which encodes an enzyme acetylating ribosomal protein L12 of *Escherichia coli* K12[J]. Molecular and General Genetics MGG, 1989, 217(2/3): 289-293
- [37] Xu H, Hegde SS, Blanchard JS. Reversible acetylation and inactivation of *Mycobacterium tuberculosis* acetyl-CoA synthetase is dependent on cAMP[J]. Biochemistry, 2011, 50(26): 5883-5892
- [38] Grozinger CM, Schreiber SL. Deacetylase enzymes: biological functions and the use of small-molecule inhibitors[J]. Chemistry & Biology, 2002, 9(1): 3-16
- [39] North BJ, Verdin E. Sirtuins: Sir2-related NAD-dependent protein deacetylases[J]. Genome Biology, 2004, 5(5): 224
- [40] Frye RA. Phylogenetic classification of prokaryotic and eukaryotic Sir2-like proteins[J]. Biochemical and Biophysical Research Communications, 2000, 273(2): 793-798
- [41] Gardner JG, Escalante-Semerena JC. In *Bacillus subtilis*, the sirtuin protein deacetylase, encoded by the *srtN* gene (formerly *yhdZ*), and functions encoded by the *acuABC* genes control the activity of acetyl coenzyme A synthetase[J]. Journal of Bacteriology, 2009, 191(6): 1749-1755
- [42] Crosby HA, Heiniger EK, Harwood CS, Escalante-Semerena JC. Reversible N^ε-lysine acetylation regulates the activity of acyl-CoA synthetases involved in anaerobic benzoate catabolism in *Rhodopseudomonas palustris*[J]. Molecular Microbiology, 2010, 76(4): 874-888
- [43] Koyuncu E, Budayeva HG, Miteva YV, Ricci DP, Silhavy TJ, Shenk T, Cristea IM. Sirtuins are evolutionarily conserved viral restriction factors[J]. mBio, 2014, 5(6): e02249-14
- [44] Zhao KH, Chai XM, Marmorstein R. Structure and substrate binding properties of cobB, a Sir2 homolog protein deacetylase from *Escherichia coli*[J]. Journal of Molecular

- Biology, 2004, 337(3): 731-741
- [45] Mikulik K, Felsberg J, Kudrnáčová E, Bezoušková S, Šetinová D, Stodůlková E, Zídková J, Zidek V. CobB1 deacetylase activity in *Streptomyces coelicolor*[J]. Biochemistry and Cell Biology, 2012, 90(2): 179-187
 - [46] AbouElfetouh A, Kuhn ML, Hu LI, Scholle MD, Sorensen DJ, Sahu AK, Becher D, Antelmann H, Mrksich M, Anderson WF, et al. The *E. coli* sirtuin CobB shows no preference for enzymatic and nonenzymatic lysine acetylation substrate sites[J]. Microbiologyopen, 2015, 4(1): 66-83
 - [47] Tu S, Guo SJ, Chen CS, Liu CX, Jiang HW, Ge F, Deng JY, Zhou YM, Czajkowsky DM, Li Y, et al. YcgC represents a new protein deacetylase family in prokaryotes[J]. eLife, 2015, 4: e05322
 - [48] Kremer M, Kuhlmann N, Lechner M, Baldus L, Lammers M. Comment on 'YcgC represents a new protein deacetylase family in prokaryotes'[J]. eLife, 2018, 7: e37798
 - [49] Bannister AJ, Kouzarides T. Regulation of chromatin by histone modifications[J]. Cell Research, 2011, 21(3): 381-395
 - [50] Christensen DG, Xie XS, Basisty N, Byrnes J, Mcsweeney S, Schilling B, Wolfe AJ. Post-translational protein acetylation: an elegant mechanism for bacteria to dynamically regulate metabolic functions[J]. Frontiers in Microbiology, 2019, 10: 1604
 - [51] Narita T, Weinert BT, Choudhary C. Functions and mechanisms of non-histone protein acetylation[J]. Nature Reviews Molecular Cell Biology, 2019, 20(3): 156-174
 - [52] Glozak MA, Sengupta N, Zhang XH, Seto E. Acetylation and deacetylation of non-histone proteins[J]. Gene, 2005, 363: 15-23
 - [53] Goodman RH, Smolik S. CBP/p300 in cell growth, transformation, and development[J]. Genes & Development, 2000, 14(13): 1553-1577
 - [54] Strahl BD, Allis CD. The language of covalent histone modifications[J]. Nature, 2000, 403(6765): 41-45
 - [55] Shogren-Knaak M, Ishii H, Sun JM, Pazin MJ, Davie JR, Peterson CL. Histone H4-K16 acetylation controls chromatin structure and protein interactions[J]. Science, 2006, 311(5762): 844-847
 - [56] Ren J, Sang Y, Tan YC, Tao J, Ni JJ, Liu ST, Fan X, Zhao W, Lu J, Wu WJ, et al. Acetylation of lysine 201 inhibits the DNA-binding ability of PhoP to regulate *Salmonella* virulence[J]. PLoS Pathogens, 2016, 12(3): e1005458
 - [57] Ren J, Sang Y, Qin R, Su Y, Cui ZL, Mang ZG, Li H, Lu SY, Zhang J, Cheng S, et al. Metabolic intermediate acetyl phosphate modulates bacterial virulence via acetylation[J]. Emerging Microbes & Infections, 2019, 8(1): 55-69
 - [58] Sang Y, Ren J, Qin R, Liu ST, Cui ZL, Cheng S, Liu XY, Lu J, Tao J, Yao YF, et al. Acetylation regulating protein stability and DNA-binding ability of HilD, thus modulating *Salmonella typhimurium* virulence[J]. Journal of Infectious Diseases, 2017, 216(8): 1018-1026
 - [59] Qin R, Sang Y, Ren J, Zhang QF, Li SX, Cui ZL, Yao YF. The bacterial two-hybrid system uncovers the involvement of acetylation in regulating of lrp activity in *Salmonella typhimurium*[J]. Frontiers in Microbiology, 2016, 7: 1864
 - [60] Zhang QF, Zhou AP, Li SX, Ni JJ, Tao J, Lu J, Wan BS, Li S, Zhang J, Zhao SM, et al. Reversible lysine acetylation is involved in DNA replication initiation by regulating activities of initiator DnaA in *Escherichia coli*[J]. Scientific Reports, 2016, 6: 30837
 - [61] Li SX, Zhang QF, Xu ZH, Yao YF. Acetylation of lysine 243 inhibits the *oriC* binding ability of DnaA in *Escherichia coli*[J]. Frontiers in Microbiology, 2017, 8: 699
 - [62] Zhang BL, Guo TW, Gao LL, Ji GQ, Gu XH, Shao YQ, Yao RQ, Gao DS. Egr-1 and RNA POL II facilitate glioma cell GDNF transcription induced by histone hyperacetylation in promoter II[J]. Oncotarget, 2017, 8(28): 45105-45116
 - [63] Vergnolle O, Xu H, Tufariello JM, Favrot L, Malek AA, Jacobs Jr WR, Blanchard JS. Post-translational acetylation of MbtA modulates mycobacterial siderophore biosynthesis[J]. Journal of Biological Chemistry, 2016, 291(42): 22315-22326
 - [64] Umehara T, Kosono S, Söll D, Tamura K. Lysine acetylation regulates alanyl-tRNA synthetase activity in *Escherichia coli*[J]. Genes, 2018, 9(10): 473
 - [65] Bontemps-Gallo S, Gaviard C, Richards CL, Kentache T, Raffel SJ, Lawrence KA, Schindler JC, Lovelace J, Dulebohn DP, Cluss RG, et al. Global profiling of lysine acetylation in *Borrelia burgdorferi* B31 reveals its role in central metabolism[J]. Frontiers in Microbiology, 2018, 9: 2036
 - [66] Barak R, Eisenbach M. Acetylation of the response regulator, CheY, is involved in bacterial chemotaxis[J]. Molecular Microbiology, 2001, 40(3): 731-743
 - [67] Barak R, Prasad K, Shainskaya A, Wolfe AJ, Eisenbach M. Acetylation of the chemotaxis response regulator CheY by acetyl-CoA synthetase purified from *Escherichia coli*[J]. Journal of Molecular Biology, 2004, 342(2): 383-401
 - [68] Fraiberg M, Afanizar O, Cassidy CK, Gabashvili A, Schulten K, Levin Y, Eisenbach M. CheY's acetylation sites responsible for generating clockwise flagellar rotation in *Escherichia coli*[J]. Molecular Microbiology, 2015, 95(2): 231-244
 - [69] Li R, Gu J, Chen YY, Xiao CL, Wang LW, Zhang ZP, Bi LJ, Wei HP, Wang XD, Deng JY, et al. CobB regulates *Escherichia coli* chemotaxis by deacetylating the response regulator CheY[J]. Molecular Microbiology, 2010, 76(5): 1162-1174
 - [70] Stewart RC, VanBruggen R. Phosphorylation and binding interactions of CheY studied by use of Badan-labeled protein[J]. Biochemistry, 2004, 43(27): 8766-8777
 - [71] Barak R, Eisenbach M. Co-regulation of acetylation and phosphorylation of CheY, a response regulator in chemotaxis of *Escherichia coli*[J]. Journal of Molecular Biology, 2004, 342(2): 375-381
 - [72] Liang WX, Deutscher MP. A novel mechanism for ribonuclease regulation: transfer-messenger RNA (tmRNA) and its associated protein SmpB regulate the stability of RNase R[J]. Journal of Biological Chemistry, 2010, 285(38): 28538-28544

- 29054-29058
- [73] Liang WX, Malhotra A, Deutscher MP. Acetylation regulates the stability of a bacterial protein: growth stage-dependent modification of RNase R[J]. *Molecular Cell*, 2011, 44(1): 160-166
- [74] Song LM, Wang GY, Malhotra A, Deutscher MP, Liang WX. Reversible acetylation on Lys501 regulates the activity of RNase II[J]. *Nucleic Acids Research*, 2016, 44(5): 1979-1988
- [75] Hu LI, Chi BK, Kuhn ML, Filippova EV, Walker-Peddakotla AJ, Bäsell K, Becher D, Anderson WF, Antelmann H, Wolfe AJ. Acetylation of the response regulator RcsB controls transcription from a small RNA promoter[J]. *Journal of Bacteriology*, 2013, 195(18): 4174-4186
- [76] Lima BP, Antelmann H, Gronau K, Chi BK, Becher D, Brinsmade SR, Wolfe AJ. Involvement of protein acetylation in glucose-induced transcription of a stress-responsive promoter[J]. *Molecular Microbiology*, 2011, 81(5): 1190-1204
- [77] Ma Q, Wood TK. Protein acetylation in prokaryotes increases stress resistance[J]. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 2011, 410(4): 846-851
- [78] Yu BJ, Kim JA, Moon JH, Ryu SE, Pan JG. The diversity of lysine-acetylated proteins in *Escherichia coli*[J]. *Journal of Microbiology and Biotechnology*, 2008, 18(9): 1529-1536
- [79] Macek B, Gnad F, Soufi B, Kumar C, Olsen JV, Mijakovic I, Mann M. Phosphoproteome analysis of *E. coli* reveals evolutionary conservation of bacterial Ser/Thr/Tyr phosphorylation[J]. *Molecular & Cellular Proteomics*, 2008, 7(2): 299-307
- [80] Wang QJ, Zhang YK, Yang C, Xiong H, Lin Y, Yao J, Li H, Xie L, Zhao W, Yao YF, et al. Acetylation of metabolic enzymes coordinates carbon source utilization and metabolic flux[J]. *Science*, 2010, 327(5968): 1004-1007
- [81] Gaviard C, Broutin I, Cosette P, Dé E, Jouenne T, Hardouin J. Lysine succinylation and acetylation in *Pseudomonas aeruginosa*[J]. *Journal of Proteome Research*, 2018, 17(7): 2449-2459
- [82] Liu FY, Yang MK, Wang XD, Yang SS, Gu J, Zhou J, Zhang XE, Ge F. Acetylome analysis reveals diverse functions of lysine acetylation in *Mycobacterium tuberculosis*[J]. *Molecular & Cellular Proteomics*, 2014, 13(12): 3352-3366
- [83] Liu YT, Pan Y, Lai FB, Yin XF, Ge RG, He QY, Sun XS. Comprehensive analysis of the lysine acetylome and its potential regulatory roles in the virulence of *Streptococcus pneumoniae*[J]. *Journal of Proteomics*, 2018, 176: 46-55
- [84] Jers C, Ravikumar V, Lezyk M, Sultan A, Sjöling Å, Wai SN, Mijakovic I. The global acetylome of the human pathogen *Vibrio cholerae* V52 reveals lysine acetylation of major transcriptional regulators[J]. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, 2017, 7: 537
- [85] Kim GW, Yang XJ. Comprehensive lysine acetylomes emerging from bacteria to humans[J]. *Trends in Biochemical Sciences*, 2011, 36(4): 211-220
- [86] Lu ZK, Cheng ZY, Zhao YM, Volchenboum SL. Bioinformatic analysis and post-translational modification crosstalk prediction of lysine acetylation[J]. *PLoS One*, 2011, 6(12): e28228
- [87] Colak G, Xie ZY, Zhu AY, Dai LZ, Lu ZK, Zhang Y, Wan XL, Chen Y, Cha YH, Lin HN, et al. Identification of lysine succinylation substrates and the succinylation regulatory enzyme CobB in *Escherichia coli*[J]. *Molecular & Cellular Proteomics*, 2013, 12(12): 3509-3520
- [88] Chen XH, Scholz R, Borriß M, Junge H, Mogel G, Kunz S, Borriß R. Difficidin and bacilysin produced by plant-associated *Bacillus amyloliquefaciens* are efficient in controlling fire blight disease[J]. *Journal of Biotechnology*, 2009, 140(1/2): 38-44
- [89] Liu L, Wang GY, Song LM, Lv BN, Liang WX. Acetylome analysis reveals the involvement of lysine acetylation in biosynthesis of antibiotics in *Bacillus amyloliquefaciens*[J]. *Scientific Reports*, 2016, 6: 20108
- [90] Minas W, Brünker P, Kallio PT, Bailey JE. Improved erythromycin production in a genetically engineered industrial strain of *Saccharopolyspora erythraea*[J]. *Biotechnology Progress*, 1998, 14(4): 561-566
- [91] Liao GJ, Xie LX, Li X, Cheng ZY, Xie JP. Unexpected extensive lysine acetylation in the trump-card antibiotic producer *Streptomyces roseosporus* revealed by proteome-wide profiling[J]. *Journal of Proteomics*, 2014, 106: 260-269
- [92] Wurtele H, Tsao S, Lépine G, Mullick A, Tremblay J, Drogaris P, Lee EH, Thibault P, Verreault A, Raymond M. Modulation of histone H3 lysine 56 acetylation as an antifungal therapeutic strategy[J]. *Nature Medicine*, 2010, 16(7): 774-780
- [93] Mahon BP, Lomelino CL, Salguero AL, Driscoll JM, Pinard MA, McKenna R. Observed surface lysine acetylation of human carbonic anhydrase II expressed in *Escherichia coli*[J]. *Protein Science*, 2015, 24(11): 1800-1807
- [94] Walsh G, Jefferis R. Post-translational modifications in the context of therapeutic proteins[J]. *Nature Biotechnology*, 2006, 24(10): 1241-1252
- [95] Xie LX, Wang XB, Zeng J, Zhou ML, Duan XK, Li QM, Zhang Z, Luo HP, Pang L, Li W, et al. Proteome-wide lysine acetylation profiling of the human pathogen *Mycobacterium tuberculosis*[J]. *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology*, 2015, 59: 193-202
- [96] Wu X, Vellaichamy A, Wang DP, Zamdborg L, Kelleher NL, Huber SC, Zhao YF. Differential lysine acetylation profiles of *Erwinia amylovora* strains revealed by proteomics[J]. *Journal of Proteomics*, 2013, 79: 60-71
- [97] Ouidir T, Cosette P, Jouenne T, Hardouin JL. Proteomic profiling of lysine acetylation in *Pseudomonas aeruginosa* reveals the diversity of acetylated proteins[J]. *Proteomics*, 2015, 15(13): 2152-2157
- [98] Sang Y, Ren J, Ni JJ, Tao J, Lu J, Yao YF. Protein acetylation is involved in *Salmonella enterica* serovar Typhimurium virulence[J]. *The Journal of Infectious Diseases*, 2016, 213(11): 1836-1845