



WIE-biotech

立效生物

糖基化

基础版

方案组

2023/3/31

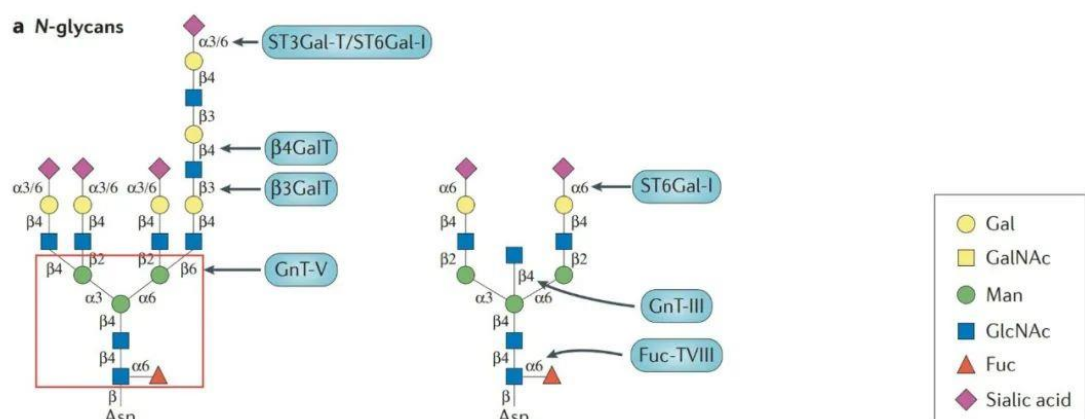
糖基化（glycosylation）

糖基化是一种非常重要的蛋白质翻译后修饰，其中 O-GlcNAcylation 是指在细胞内蛋白质的丝氨酸和/或苏氨酸残基上添加单糖修饰，是真核生物中最普遍的糖基化形式，相关研究也最为深入。O-GlcNAc 转移酶 (OGT) 和 O-GlcNAc 水解酶 (OGA) 分别负责添加和去除 O-GlcNAc 修饰。O-GlcNAcylation 通过对蛋白质稳定性、亚细胞定位、活性以及相互作用等方面进行调控，广泛参与调节关键的细胞生物学过程，包括基因转录、细胞周期进程、DNA 修复、凋亡、病毒出芽和受体内吞，进而调控机体的生理、病理等细胞生物学过程。

一、蛋白质糖基化主要类型与特点

蛋白质糖基化修饰是在糖基转移酶的催化作用下糖链分子与蛋白质氨基酸侧链活性基团反应生成糖苷键，从而使糖链连接到蛋白质上。根据糖基化发生的化学键类型，可将蛋白糖基化修饰主要分为 N-糖基化和 O-糖基化。

N-糖基化修饰发生在肽链的天冬酰胺（Asn）上，是最常见的糖基化修饰类型。N-糖基化具有两个重要特点：（1）位点特异性，N-糖基转移酶能识别特定的氨基酸基序 Asn-X-Thr/Ser，（X 可以是除脯氨酸之外任何氨基酸）进行修饰；（2）五糖核心，N-糖基化糖链都包含一个五糖核心，该核心由 2 个乙酰葡萄糖胺和 3 个甘露糖组成（图 1 红色线框），五糖核心可进一步被修饰上其他糖，形成复杂的 N-糖链结构。这两个特点为 N-糖蛋白/糖肽的解析提供了重要依据。



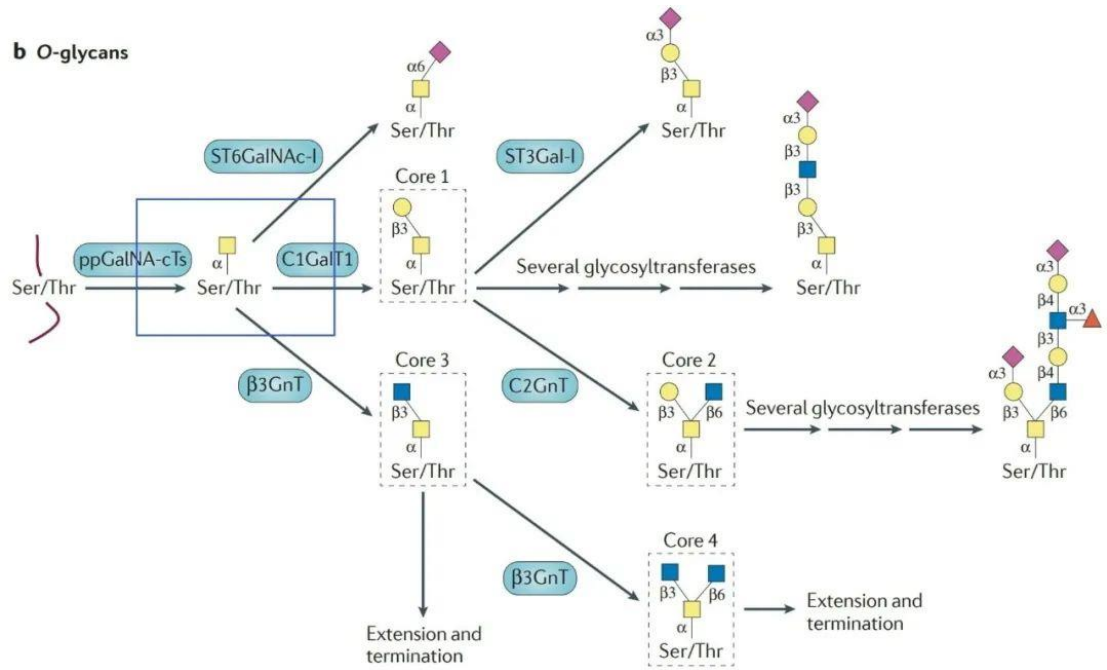


图 1 | N-糖, O-糖结构与糖基转移酶 (Salomé S. Pinho and Celso A. Reis, 2015, Nature Reviews[1])

O-糖基化修饰通常发生在肽链的丝氨酸/苏氨酸(Ser/Thr)上,糖链与 Ser/Thr 侧链羟基在酶催化下产生 O-糖苷键。最常见的一种 O-糖基化修饰起始于 GalNAc, 形成 O-GlcNAc 键, 被称为 mucin 类 O-糖基化 (图 1 蓝色线框)。除此之外, O-糖基化修饰还能起始于甘露糖等糖型。

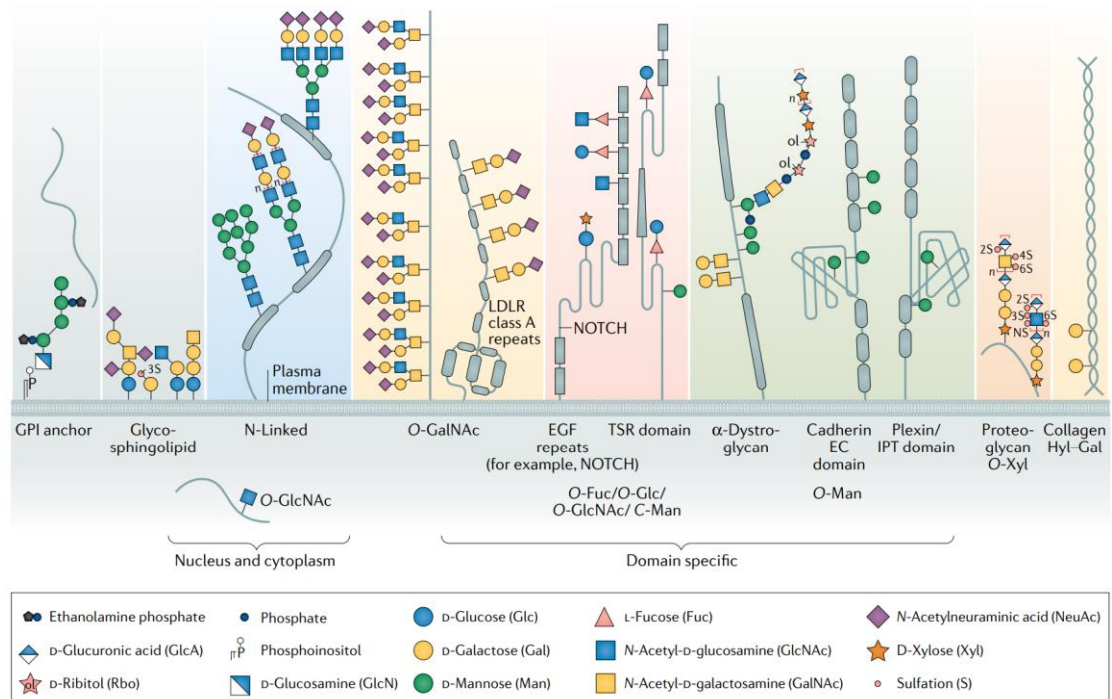


图 2 | 人细胞中常见的糖基化类型（Katrine T. Schjoldager, et,al, 2020, Nature Reviews[2]）

此外，人细胞中还大量存在鞘糖脂和糖基磷脂酰肌醇（GPI）锚定糖蛋白（图 2），本文不做详细展开。

细胞中糖蛋白生物学功能

糖蛋白通过调控细胞黏附，细胞配体结合，受体二聚等过程参与细胞内外的信号转导，细胞间的互动，内吞作用，细菌-宿主识别互动等过程（图 3）。[2]

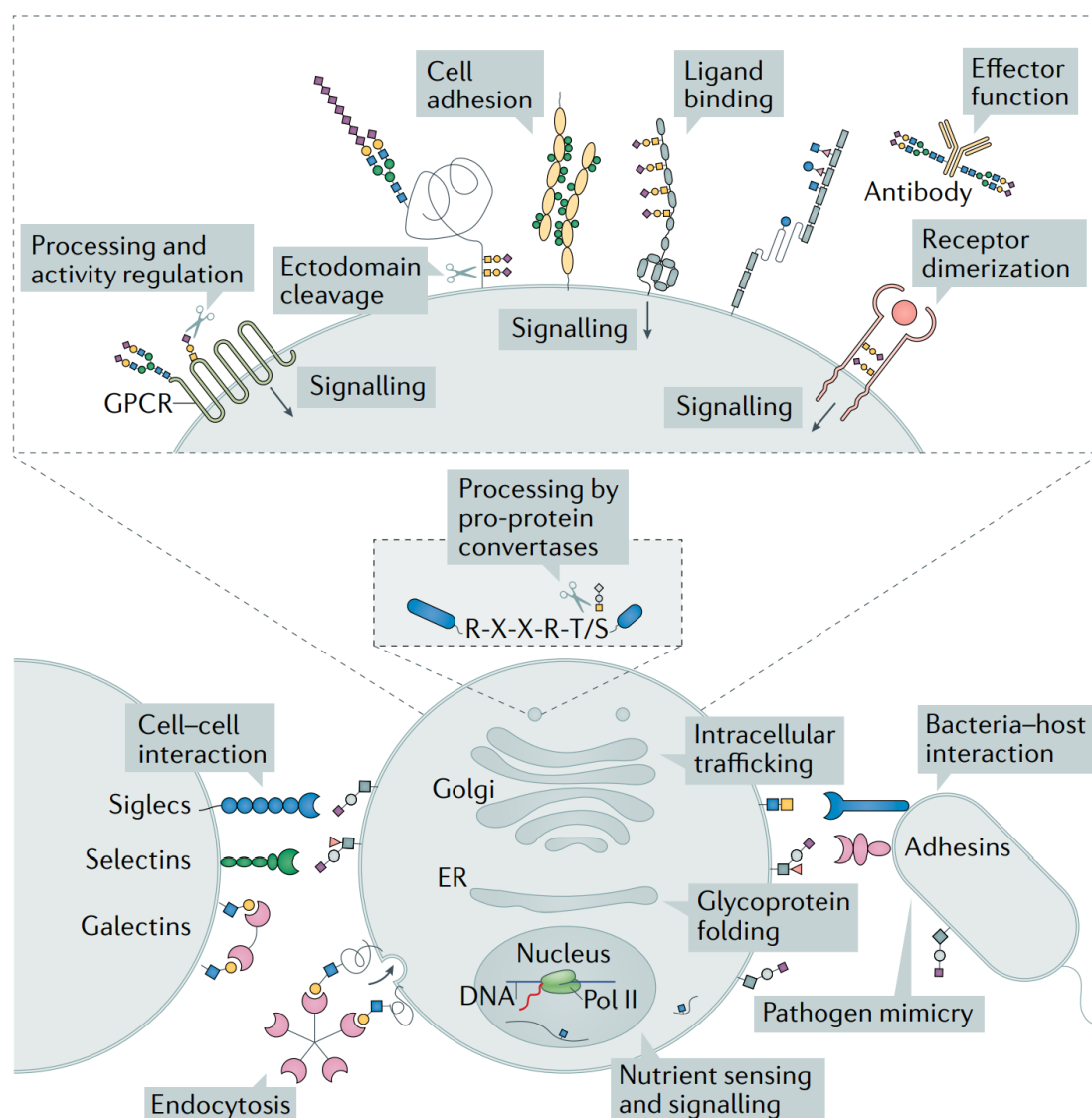


图 3 | 糖基化修饰调控多种蛋白功能

（Katrine T. Schjoldager, et,al, 2020, Nature Reviews[2]）

糖基化与癌症

与正常细胞相比，肿瘤细胞糖基化会发生大范围且多层次的变化。特别是在糖链结构方面出现糖链合成不完整或异常合成增多的现象，异常糖基化导致了癌症的发生。此外，在癌症发生、恶化过程中，糖链扮演重要角色。癌细胞表达的特异糖基化修饰帮助癌细胞破坏细胞黏连，促进其解离，激活信号通路促进肿瘤生长，帮助癌细胞入侵血管，促进癌症转移（图 4）。[1]

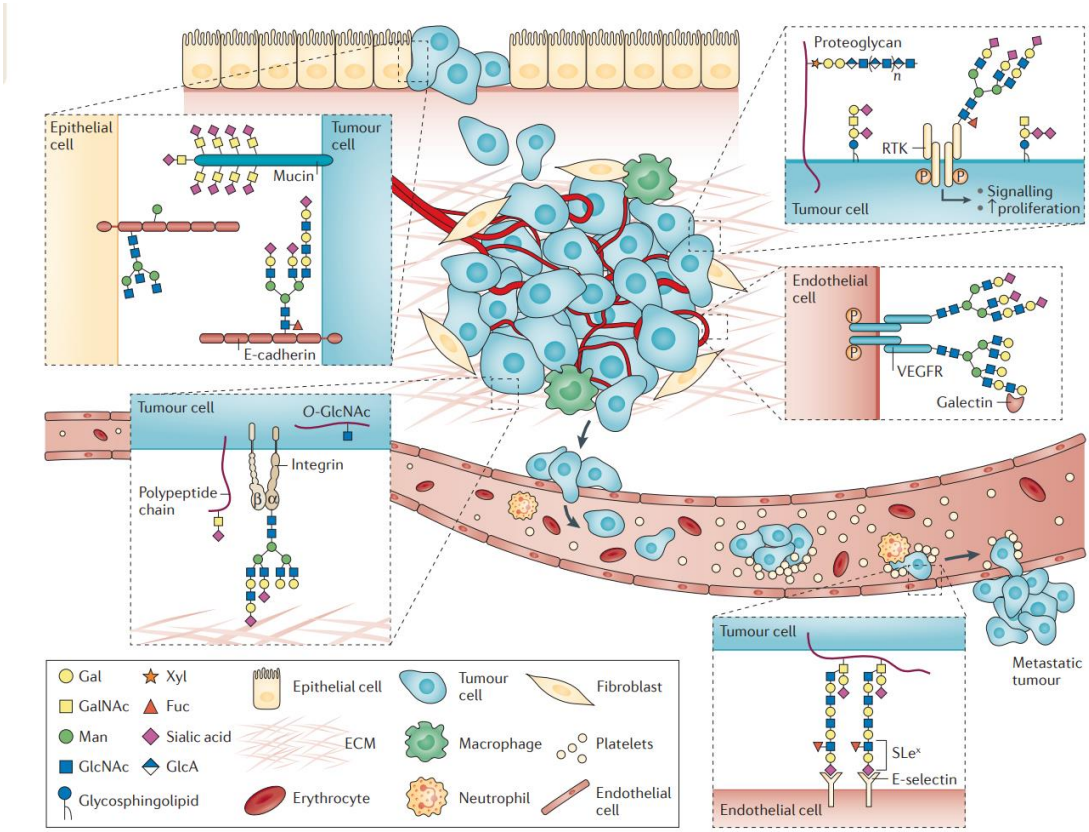


图 4 | 糖链与癌症的发生恶化

（Salomé S. Pinho and Celso A. Reis, 2015, Nature Reviews[1]）

当然，在癌症的诊断与治疗中，糖蛋白也具有非常重要的作用。目前发现十余个糖蛋白血清学标志物用于癌症临床诊断。在癌症的免疫治疗中，糖蛋白和糖肽参与了包括抗-肿瘤特异糖链疫苗、抗体抑制免疫疗法、ADC 药物靶向疗法、CAR-T 细胞疗法及 DC 细胞靶向疗法，并发挥重要功能（图 5）。[3]

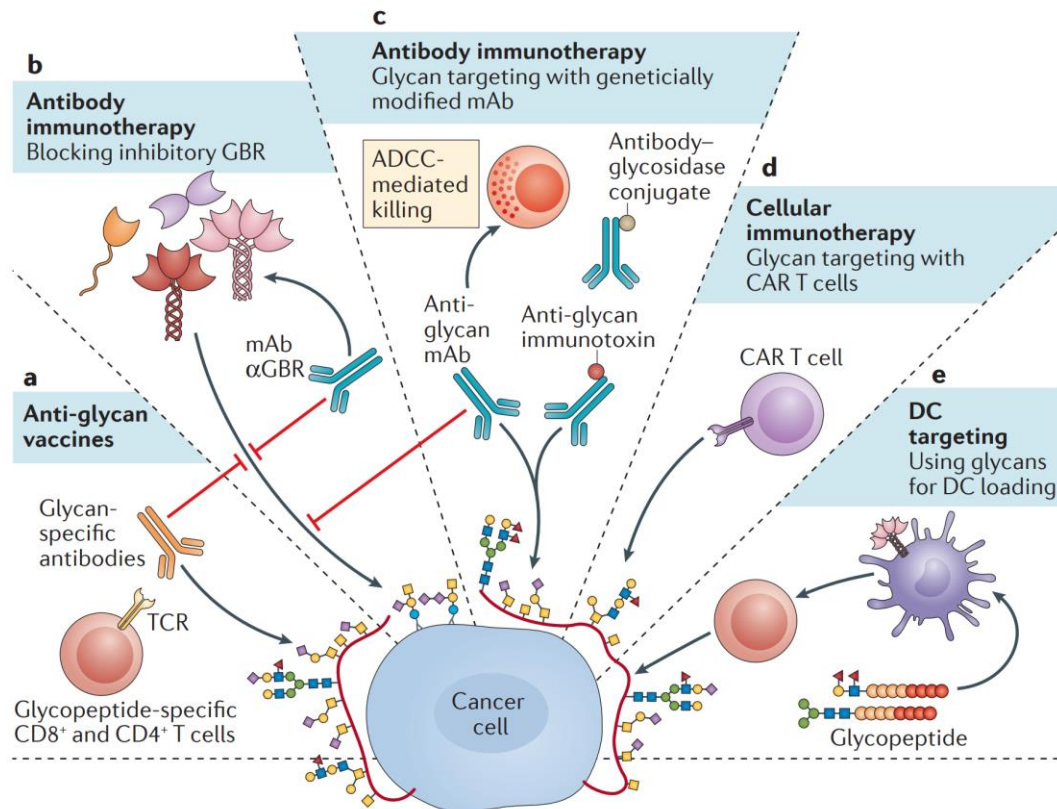


图 5 | 糖链参与细胞免疫治疗(Ernesto Rodríguez, Sjoerd T. T. Schetters & Yvette van Kooyk Nature Reviews Immunology[3])

蛋白糖基化研究的重要意义

蛋白糖基化修饰是一个复杂多步反应，自然界存在 200 多种糖基化转移酶决定哪些蛋白、哪些位点被糖基化，以及形成怎样的糖链结构。而且，糖链与蛋白的初始链接通过表达不同的糖基化转移酶而被精密调控，因此，蛋白糖基化与细胞的来源和功能需求响应都有关。

通过对蛋白进行复杂蛋白糖基化修饰，细胞产生了极大丰度的蛋白质类型；通过对各类糖基化信号途径的精密调控，细胞中蛋白质的功能得到极大拓展。

此外，糖基化修饰的改变与诸多病理过程密切相关，例如癌症的发生、转移；包括治疗性抗体在内的糖蛋白在肿瘤免疫治疗方面发挥重要作用。

综上，对细胞中的蛋白糖基化类型、位点、含量变化开展全面、深入研究具有重大的科研与临床转化价值。

二、几种机制

1、（抑制复合物形成）SynGAP 的 T1306 位被糖基化修饰（O-GlcNAcylation），O-GlcNAcylation 破坏了 SynGAP 和 PSD-95 之间的结合，从而抑制 SynGAP/PSD-95 LLPS 的形成。而且，O-GlcNAcylation 以显性负向方式抑制 SynGAP/PSD-95 LLPS，从而使亚化学计量的 O-GlcNAcylation 具有重要的调控作用。此外，SynGAP 的 O-GlcNAcylation 是可逆的，由 O-GlcNAc transferase (OGT) 和 O-GlcNAcase (OGA) 催化形成糖基化修饰和去糖基化修饰。此项研究揭示了 O-GlcNAc 修饰对神经系统发育与突触可塑性等过程中的重要功能以及生物学机制。（PMID: 35637289）

2、（促进靶基因的活性）Kras 突变显著上调 Gln 代谢酶苹果酸脱氢酶 1（Malate dehydrogenase 1, MDH1）第 189 位丝氨酸的糖基化修饰（O-GlcNAcylation）。糖基化修饰促进了 MDH1 底物结合口袋的稳定性和加强了 MDH1 与底物结合的能力，从而促进了其活性和 Gln 代谢。下调 MDH1 糖基化修饰会破坏 Gln 代谢，使肿瘤细胞对 ROS 更加敏感，抑制细胞增殖。此项研究揭示了 O-GlcNAc 修饰对细胞代谢的调控机制。（PMID: 35879546）

3、（激活转录活性）当蠕虫感染肠道时，糖基化转移酶（O-GlcNAc transferase, OGT）催化 STAT6 发生糖基化修饰（O-GlcNAcylation），糖基化修饰激活 STAT6 转录活性，一方面促进 POU2F3 基因 Tuft 细胞分化过程中的表达和 IL-25 的释放，另一方面促进 GSDMC 蛋白表达，GSDMC 在细胞膜上形成膜孔，促进 IL-33 的释放。进而参与抗蠕虫反应和肠道炎症反应。本研究揭示，蛋白糖基化修饰具有作为人类二型炎症反应相关疾病的治疗靶标的潜力。（PMID: 35385697）

4、（促进蛋白稳定性）SIRT7 在胰腺癌（Pancreatic Ductal Adenocarcinoma, PDAC）中高表达，且提示更差的预后。质谱数据显示，SIRT7 与糖基化转移酶（O-GlcNAc transferase, OGT）相互结合，且其第 136 位丝氨酸被糖基化修饰，糖基化修饰增强了 SIRT7 的稳定性，从而下调组蛋白 H3K18 乙酰化，抑制抑癌基因表达，促进肿瘤发生发展。本研究阐述了 SIRT7 在 PDAC 发生发展中的作用及分子机制，提示 SIRT7 具有作为 PDAC 治疗靶点的潜力。（PMID: 35422493）

5、(抑制蛋白互作) 葡萄糖饥饿导致 LARS1 (leucine sensor leucyl-tRNA synthetase 1) 的 1042 位丝氨酸被糖基化修饰 (O-GlcNAcylation)。修饰抑制了 LARS1 与 RagD GTPase 的相互作用, 并通过自噬激活激酶 ULK1 促进其亮氨酸结合位点的磷酸化, 降低 LARS1 对亮氨酸的亲和力, 从而抑制 mTORC1 的活性。LARS1 O-GlcNAcylation 的缺乏持续性地激活 mTORC1, 促进其感知亮氨酸的能力, 并在葡萄糖饥饿下解除对蛋白质合成和亮氨酸分解代谢的调节。这项工作表明 LARS1 整合了亮氨酸和葡萄糖的可用性来调节 mTORC1 和亮氨酸的代谢命运。(PMID: 35614056)

6、(增强磷酸化修饰) SIRT1 flox/Cre+小鼠脑中 O-GlcNA 酶(OGA) 减少和 O-GlcNAc 转移酶(OGT)蛋白水平升高, 从而触发 tau 的 O-GlcNA 增强, 促进 tau 位点特异性磷酸化的增加。另外, 小鼠大脑中 SIRT1 缺失改变了位点特异性磷酸化 tau 在突触体中的分布, 造成树突棘缺陷和突触功能障碍, 引起学习和记忆缺陷。本文为 SIRT1 作为临床 tau 蛋白病的潜在治疗靶点提供了理论依据。(PMID: 35879403)

7、(增强蛋白稳定性) 增加的 O-GlcNAcylation 在早期阶段促进破骨细胞分化, 而其下调是破骨细胞成熟所必需的。在分子水平上, O-GlcNAcylation 影响多种细胞信号通路, 包括氧化磷酸化和细胞-细胞融合。TNF α 通过促进 O-GlcNAcylation 的动态调控促进炎症性关节炎中的破骨细胞生成。药物或者基因靶向 O-GlcNAc 转移酶(OGT)或 O-GlcNAcase (OGA)分别在分化早期和成熟后期阻止破骨细胞分化, 并改善实验性关节炎的骨丢失。敲低 O-GlcNAcylation 的靶基因 NUP153, 具有与抑制 OGT 相似的作用, 都可以抑制破骨细胞生成。这些发现凸显 O-GlcNAcylation 在破骨细胞生成中的重要作用, 并可能为靶向干预病理性骨吸收提供潜在的治疗方法。(PMID: 35879285)

8、(引诱转录激活) eIF3a 响应营养缺乏而经历动态糖基化修饰 (O-GlcNAcylation)。应激诱导的去 O-GlcNAcylation 修饰促进 eIF3 保留在伸长的核糖体上并促进激活转录因子 4 (activating transcription factor 4, ATF4) 重新启动。即使在营养丰富的条件下, 通过 CRISPR 基因组编辑从 eIF3a 中突变修饰位点也会诱导 ATF4 重

新启动。本研究结果阐述了一种平衡核糖体循环和再启动的机制，从而将营养应激反应和翻译重编程联系起来。（PMID: 34887587）