

文章编号: 1004-0374(2011)07-0643-05

N-乙酰氨基葡萄糖转移酶(OGT)研究进展

孙红, 马晓峰, 任飞飞, 张连文, 王鹏*

(南开大学药学院, 天津 300071)

摘要: *O*-GlcNAc 是一种广泛存在于蛋白质丝/苏氨酸残基上的动态、可逆的蛋白质翻译后修饰, 广泛分布在细胞浆和细胞核中, 参与调节多种细胞途径。研究表明蛋白质的 *O*-GlcNAc 糖基化与神经退行性疾病、糖尿病和癌症等疾病相关。在体内, *O*-GlcNAc 动态修饰由 *N*-乙酰氨基葡萄糖转移酶 (OGT) 和 *N*-乙酰氨基葡萄糖苷酶 (OGA) 协同完成。近年来, OGT 逐渐成为糖生物学领域的研究热点, 在其结构、作用机制及晶体学方面取得了较大进展。

关键词: *O*-GlcNAc 糖基化; *N*-乙酰氨基葡萄糖转移酶 (OGT); 作用机制; 晶体结构

中图分类号: Q55 **文献标志码:** A

A review on *N*-acetylglucosamine transferase (OGT)

SUN Hong, MA Xiao-Feng, REN Fei-Fei, ZHANG Lian-Wen, WANG Peng*

(College of Pharmacy, Nankai University, Tianjin 300071, China)

Abstract: *N*-acetylglucosamine (*O*-GlcNAc) modification on protein serines/threonines is a dynamic, inducible and abundant post-translational modification, which is found on numerous cytoplasm and nucleus proteins, regulating many cellular processes. It has been demonstrated that *O*-GlcNAc plays important roles in some human diseases, such as diabetes and neurodegenerative diseases. *O*-GlcNAcylation is regulated by *O*-GlcNAc transferase (OGT) and *O*-GlcNAcase (OGA) *in vivo*. The past decades has seen a mass of research on OGT, include studies on the protein structure and the mechanism linked to many important diseases. Recently, OGT is becoming the spotlight in glyco-biological research.

Key words: *O*-GlcNAc modification; *N*-acetylglucosamine transferase (OGT); mechanism of action; crystallography

1 *O*-GlcNAc糖基化现象

Hart 于 1984 年发现了蛋白质的 *O*-GlcNAc 糖基化现象^[1]。迄今为止, 科学家在这个领域做了大量的研究工作, 但 *O*-GlcNAc 糖基化在生物体内的具体功能仍不清楚。*O*-GlcNAc 糖基化是 *O*-GlcNAc 基团通过 β -*O* 连-糖苷键连接到蛋白质的丝氨酸或苏氨酸上的一种蛋白质翻译后修饰方式。这种糖基化方式存在于所有高等真核生物中, 与其他的蛋白质糖基化不同, 蛋白质的 *O*-GlcNAc 糖基化同时存在于胞核和胞浆中。目前已发现的 *O*-GlcNAc 修饰蛋白有近千种, 而且其数量还在不断增加^[2-3]。许多 *O*-GlcNAc 修饰的蛋白质是细胞内的功能蛋白, 包括: 转录因子 (Sp1、p53 和 c-myc^[4-5])、细胞骨架

蛋白 (α -微管蛋白和神经纤维蛋白^[6-7])、核孔蛋白 (p62 和 p180^[8-9])、分子伴侣 (HSP70^[6]) 和各种酶类 (RNA 聚合酶 II 和蛋白酶^[10]) 等。

蛋白质的 *O*-GlcNAc 糖基化与许多疾病密切相关, 如 2 型糖尿病、神经退行性疾病和癌症等。胰岛素抗性是 2 型糖尿病的主要症状之一, 控制蛋白质的 *O*-GlcNAc 糖基化水平则可以有效减轻胰岛素抗性^[11]。tau 蛋白是一种分布在中枢神经系统内的

收稿日期: 2011-04-07

基金项目: 国家重点基础研究发展计划(“973”计划)(2007CB914403); 国家自然科学基金项目(30970644)

*通信作者: E-mail: pwang@nankai.edu.cn; Tel: 022-23507880

低相对分子质量含磷糖蛋白,而 *O*-GlcNAc 糖基化与磷酸化失调的 tau 蛋白则会失去对微管蛋白的稳定作用,引起阿尔茨海默病 (Alzheimer's disease, AD) 的发生^[12]。抑癌蛋白 p53 和原癌基因的产物 c-myc 均属 *O*-GlcNAc 修饰蛋白,研究表明癌症的发生过程中伴随有 *O*-GlcNAc 修饰的异常^[5,13]。

O-GlcNAc 糖基化与磷酸化一样,是一个动态的过程,不断伴随着 *O*-GlcNAc 的添加和移除^[14]。*O*-GlcNAc 糖基化与磷酸化之间存在着广泛的联系^[15]:*O*-GlcNAc 糖基化和磷酸化可以独立发生在蛋白质的相同位点(如 c-myc 蛋白^[16]);两者也可以竞争结合相邻的位点(如 p53 蛋白^[13])。与磷酸化不同的是,蛋白质的磷酸化需要许多激酶和磷酸酶的参与,而 *O*-GlcNAc 糖基化则只需要两个酶的参与: β -*N*-乙酰氨基葡萄糖转移酶(OGT)和 β -*N*-乙酰氨基葡萄糖苷酶(OGA)。其中 OGT 负责 *O*-GlcNAc 的添加,OGA 负责 *O*-GlcNAc 的移除。

2 OGT的类型与结构

OGT 最早发现于肝脏,肝脏中的 OGT 以三聚体的形式存在,包含 2 个相对分子质量 110 000 的亚基和 1 个相对分子质量 78 000 的亚基^[17]。OGT 存在于几乎所有的组织中,在老鼠和人的体内存在着至少 4 种不同的转录产物及蛋白亚型^[18-19]。OGT 同时存在于细胞核和细胞质中,这与 OGA 的分布相一致,且在胞核和胞浆中均发现了蛋白质 *O*-GlcNAc 糖基化现象的存在^[18]。自然状态下 OGT 是以三聚体的形式存在^[20],但相对分子质量 110 000 的亚基却可以在体外单独完成蛋白质的糖基化^[20-21]。对相对分子质量 110 000 的亚基进行同源序列比对发现其具有两个结构域:一个是含有 13.5 个 34 肽重复序列(TPR)的 N 端结构域^[18,22-23],另一个是具有糖基转移活性的 C 端结构域^[20-21]。

TPR 结构域主要参与调节 OGT 与底物蛋白的结合^[20],能够与不同的蛋白质相互作用,如可以通过与 mSin3A 的结合来识别组蛋白去乙酰化酶复合物^[24]。TPR 结构存在于许多蛋白质中^[22],在许多细胞途径中起着十分重要的作用,如基因转录、蛋白转运和细胞周期等^[22-23,25]。每个 TPR 结构含有 34 个氨基酸,其中有 8 个是高度保守的,其余的氨基酸则具有一定程度的多样性^[22-23]。TPR 结构域常常含有不同数量的 TPR 重复序列(通常是 3~16 个),多个 TPR 序列会形成一种超螺旋结构,这种超螺旋结构参与介导蛋白质间的相互作用。超螺旋的凹

槽里有参与底物结合的氨基酸残基,这些氨基酸残基以特定的方式与底物相结合^[23]。凹槽的大小决定其底物识别范围^[22]。TPR 结构对 OGT 的活性存在一定程度的影响。就多肽底物而言,OGT 的 TPR 序列只有部分是必需的,并非全部,缺失前 3 个或 6 个 TPR 序列不影响 OGT 对多肽的糖基化,而缺失前 9 个或 11 个 TPR 序列时,OGT 的活性便会丧失^[20]。Lubas 和 Hanover^[21]研究了 TPR 结构对不同底物糖基化的影响,发现缺失前 3 个 TPR 序列时,OGT 对多肽底物的活性没有变化,而对核孔蛋白 nup62 的活性有所降低。OGT 与 OIP106(OGT 结合蛋白,相对分子质量 106 000)的结合实验显示,缺失 N 端 2.5 个 TPR 序列不影响 OGT 与 OID 区(OGT 结合区域)的结合,但其催化能力会有所降低;缺失前 5.5 个 TPR 序列时,OGT 对 OID 结合能力便会丧失^[26]。体外重组表达的 TPR 结构能够与 OGT 竞争结合 OID 区域,抑制其糖基化;而对于多肽底物,TPR 结构却达不到抑制糖基化的效果,这再次证实了 TPR 结构域是一个底物结合区域^[26]。另外,OID 和 nup62 在体外也存在相互竞争糖基化的现象^[26]。

OGT 的 C 端是其催化核心,含有 2 个保守的催化结构域(catalytic domain, CD),分别为 CDI 和 CDII。CDI 区域是存在于许多糖基转移酶中的保守区域,研究发现动物、植物和线粒体中的 OGT 都含有相同的 CDI 区域。CDI 区主要含有一个识别 UDP 的口袋及一些催化基团,这些催化基团是一些酸性氨基酸,其主要作用是通过二价阳离子的协同作用来稳定焦磷酸键,研究表明 CDI 区有 4 个保守的天冬氨酸。CDII 区域是类凝集素的结构域,凝集素之所以对碳水化合物有如此强的亲和力是因为其自身含有大量的三聚体结构,虽然 OGT 不需要太大的亲和力去结合碳水化合物,但其 CDII 区还是保留了大量的这种三聚体结构,所以 CDII 区的主要功能是识别并结合 UDP-GlcNAc 中的糖苷部分^[27-29]。Yang 等^[30]研究发现,OGT 的 C 端存在一个磷酸肌醇结合区域,这个区域在糖尿病的发生过程中起着十分重要的作用^[30]。

3 OGT的动力学研究

OGT 是一种翻转型的糖基转移酶,转糖基反应后 *O*-GlcNAc 的空间结构发生翻转,以 β -*O*-GlcNAc 的形式连接到底物蛋白的丝氨酸或苏氨酸上。OGT 的糖供体是尿苷-二磷酸-*N*-乙酰葡萄糖胺(UDP-GlcNAc),而 UDP-GlcNAc 是己糖胺代谢

通路的终产物。进入人体的葡萄糖大约有2%~3%会通过己糖胺代谢途径转化成UDP-GlcNAc^[31]。OGT转糖基反应的最适pH值为6.0, pH低于6.0或高于7.5时,其活性都会明显降低^[17]。与其他糖基转移酶不同,OGT催化的反应不需要二价阳离子的参与^[17]。

OGT的动力学常数比较异常,以UDP-GlcNAc和多肽作为底物时,没有出现应有的底物饱和现象,且已知OGT对UDP-GlcNAc的 K_m 值有3个(6、35、217 $\mu\text{mol/L}$)。不同UDP-GlcNAc浓度下OGT对多肽底物的亲和力是不同的,这表明UDP-GlcNAc的水平可以调节OGT对多肽底物的亲和力^[20]。以nup62为糖受体时,OGT对UDP-GlcNAc的 K_m 值只有一个(UDP-GlcNAc的 K_m 值为0.5 $\mu\text{mol/L}$; nup62的 K_m 值为1.2 $\mu\text{mol/L}$)^[21]。以蛋白质为底物研究OGT要比多肽作底物更为合理,因为OGT在体内的底物是一个完整的蛋白。OGT的底物识别机制和催化反应机制还有待进一步研究。

4 OGT的晶体学研究

全长人源OGT晶体结构难于获得,这严重阻碍了OGT作用机理及其抑制剂的研究工作。Jinek等^[32]得到了OGT的N端晶体结构,这段结构只含有11.5个TPR序列,无催化区域;研究表明,这段结构含有nup62结合位点,并能与全长OGT竞争结合底物。TPR结构以右手超螺旋的方式形成同源二聚体,这与全长OGT的三聚体形式不同^[20]。超螺旋凸面的疏水相互作用引导了二聚体的形成,凸面的色氨酸和异亮氨酸在二聚体的形成过程中起到了十分重要的作用,这两个氨基酸的突变会引起二聚体的解聚^[32]。每个TPR序列会形成两个反向螺旋,在其保守区域分布有许多疏水基团,这与其他蛋白质的TPR结构相类似^[32]。OGT的TPR序列会形成不同沟状结构,使其可以识别不同的底物蛋白,在沟状结构的中心分布着许多天冬酰胺^[32],这些天冬酰胺在底物识别方面起着十分重要的作用,能与底物的主链形成氢键^[33-34]。天冬酰胺周围的氨基酸则决定了底物的特异性^[32]。

原核生物的OGT与真核生物的具有一定的同源性,尤其在C端的催化区域。野油菜黄单胞菌中存在一种与OGT相类似的酶(XcGT41),也属于GT41家族,与人源OGT具有36%的相似度,目前已得到其晶体结构^[35-36]。XcGT41的底物还不清楚,其不能对合成的多肽、人或细菌的细胞裂解液

进行O-GlcNAc修饰,但可以对拟南芥中的一种蛋白进行O-GlcNAc修饰^[36]。XcGT41的晶体结构显示,其含有两个结构域,中间为UDP-GlcNAc结合位点^[37-38],N端含有5.5个TPR序列,C端的催化区域则表现出GT-B型糖基转移酶的特性。XcGT41与UDP共结晶显示出核苷二磷酸的结合位点,对这些位点进行突变发现,UDP-GlcNAc结合所必需的基团同时也是催化活性所必需的基团^[35-36]。XcGT41的结构中有一个组氨酸残基是其催化反应所必需的(人源OGT中为His558,XcGT41中为His218),这个组氨酸的缺失会直接导致OGT或XcGT41的失活^[35]。OGT是一种翻转型糖基转移酶,一般采用双分子亲核取代的反应机制,这种机制需要组氨酸对受体的亲核基团去质子化,从而有利于核苷二磷酸的离去^[39]。XcGT41的TPR区域与C端的活性区域存在着一种罕见的相互作用关系。其最后一个TPR序列是不规则的,与活性区域有更大的接触面积,TPR的超螺旋区与催化区的活性位点也更加接近^[35-36]。这样TPR结合的底物就可以直接暴露在催化区域的活性位点之下。Michael等^[40]构建了含有N端4.5个TPR和C端完整催化区域的hOGT_{4.5}并得到其晶体结构。研究表明,OGT的催化区域包含三个结构域:N端催化区域(N-cat)、C端催化区域(C-cat)和一个中间结构域(Int-D)。N-cat与C-cat区域均含有GT-B型糖基转移酶典型的Rossmann样折叠;另外N-cat含有两个额外的螺旋H1和H2,二者构成OGT活性位点的主要组成部分^[40]。C-cat结构域中与N-cat接触面附近有一个疏水口袋,hOGT_{4.5}与UDP共结晶显示,核苷二磷酸就结合于该口袋中,这与之前文献报道的UDP结合于OGT的CD I区有所不同^[27-29]。OGT的N端TPR区域和C端活性区域中间由一个过渡性螺旋(H3)连接,该螺旋位于OGT催化区域的上表面,沿着从C-cat到N-cat的方向螺旋盘绕。OGT的催化区域中有两个保守组氨酸残基(His498和His558),对其进行定点突变发现,这两个组氨酸残基是OGT催化反应所必需的^[40]。全长人源OGT晶体结构的缺乏一直是OGT深入研究的主要障碍,该hOGT_{4.5}晶体结构的获得将对OGT反应的分子机制、底物特异性及其抑制剂的研究起到极其重要的推动作用。

5 OGT研究的困境及展望

目前,糖基转移酶的研究相对滞后,这是由于

其结构比水解酶类复杂,多属于膜蛋白,难以进行重组表达、表征测定和晶体学研究。OGT 的研究也相对滞后于 OGA 和其他同源蛋白^[41-42],难以体外表达和检测方法有限是其研究滞后的主要原因。

人源 OGT 的体外表达比较困难。Hanover 等^[21]在体外用原核表达系统成功表达出全长及截短型的 OGT 蛋白,但由于人源 OGT 基因中含有很多原核生物中所没有的稀有密码子,所以在原核系统中的表达量比较低。通过分段表达,成功在大肠杆菌中表达出具有酶催化功能的含有 5 个 TPR 序列的截短 OGT。

目前用于检测 O-GlcNAc 糖基化的方法还不是太多,主要有 UDP-³[H]Gal 标记法、凝集素和抗体法、 β -消除-马氏加成 (BEMAD) 法和 QUIC-Tag 法等。这些方法虽然都能在一定程度上检测 O-GlcNAc 修饰,但却存在各自的缺陷。UDP-³[H]Gal 标记法对蛋白质样品的需要量大,凝集素和抗体法灵敏度低、特异性弱, β -消除-马氏加成 (BEMAD) 法存在较多的假阳性,QUIC-Tag 法过于繁琐。

以上这些方法多用于检测 O-GlcNAc 糖基化的蛋白及其糖基化位点,而没法定量检测 OGT 活性。在定量检测 OGT 酶活方面,如今比较成熟的方法是 Lubas 等^[43]发展的放射性标记法。这种方法灵敏度较好,但其对实验条件要求较高,并且 O-GlcNAc 修饰是一种不太稳定的修饰,所以通过检测 O-GlcNAc 修饰来测 OGT 活性是不太精确的。本课题组创新性地发展了一种通过检测 UDP 的生成量来测 OGT 活性的新方法——酶偶联法,并通过这种方法成功检测出 OGT 对 UDP-GlcNAc 和九肽的 K_m 值分别是 0.17 mmol/L 和 0.16 mmol/L,其中 OGT 对 UDP-GlcNAc 的 K_m 值与文献报道的在同一水平^[44]。

由于蛋白质的 O-GlcNAc 糖基化与许多疾病密切相关,所以对 OGT 进行深入研究意义重大。目前,OGT 的研究还处于起始阶段,对其具体作用机理及功能的认识比较浅显,还有待进一步研究。OGT 的晶体学及抑制剂方面将是今后研究的重点。

[参 考 文 献]

- [1] Torres CR, Hart GW. Topography and polypeptide distribution of terminal N-acetylglucosamine residues on the surfaces of intact lymphocytes. Evidence for O-linked GlcNAc. *J Biol Chem*, 1984, 259: 3308-17
- [2] Wells L, Vosseller K, Hart GW. Glycosylation of nucleocytoplasmic proteins: signal transduction and O-GlcNAc. *Science*, 2001, 291: 2376-8
- [3] Hart GW, Housley MP, Slawson C. Cycling of O-linked beta-N-acetylglucosamine on nucleocytoplasmic proteins. *Nature*, 2007, 446: 1017-22
- [4] Jackson SP, Tjian R. O-glycosylation of eukaryotic transcription factors: implications for mechanisms of transcriptional regulation. *Cell*, 1988, 55: 125-33
- [5] Chou TY, Dang CV, Hart GW. Glycosylation of the c-Myc transactivation domain. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1995, 92: 4417-21
- [6] Walgren JL, Vincent TS, Schey KL, et al. High glucose and insulin promote O-GlcNAc modification of proteins, including α -tubulin. *Am J Physiol Endocrinol Metab*, 2003, 284: E424-34
- [7] Hagmann J, Grob M, Burger MM. The cytoskeletal protein talin is O-glycosylated. *J Biol Chem*, 1992, 267: 14424-8
- [8] Hanover JA, Cohen CK, Willingham MC, et al. O-linked N-acetylglucosamine is attached to proteins of the nuclear pore. Evidence for cytoplasmic and nucleoplasmic glycoproteins. *J Biol Chem*, 1987, 262: 9887-94
- [9] Davis LI, Blobel G. Nuclear pore complex contains a family of glycoproteins that includes p62: glycosylation through a previously unidentified cellular pathway. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1987, 84: 7552-6
- [10] Zhang F, Su K, Yang X, et al. O-GlcNAc modification is an endogenous inhibitor of the proteasome. *Cell*, 2003, 115: 715-25
- [11] McClain DA, Lubas WA, Cooksey RC, et al. Altered glycan-dependent signaling induces insulin resistance and hyperleptinemia. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2002, 99: 10695-9
- [12] Liu F, Iqbal K, Grundke-Iqbal I, et al. O-GlcNAcylation regulates phosphorylation of tau: a mechanism involved in Alzheimer's disease. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2004, 101: 10804-9
- [13] Yang WH, Kim JE, Nam HW, et al. Modification of p53 with O-linked N-acetylglucosamine regulates p53 activity and stability. *Nat Cell Biol*, 2006, 8: 1074-83
- [14] Slawson C, Housley MP, Hart GW. O-GlcNAc cycling: how a single sugar post-translational modification is changing the way we think about signaling networks. *J Cell Biochem*, 2006, 97: 71-83
- [15] Wang Z, Gucek M, Hart GW. Cross-talk between GlcNAcylation and phosphorylation: site-specific phosphorylation dynamics in response to globally elevated O-GlcNAc. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2008, 105: 13793-8
- [16] Kamemura K, Hayes BK, Comer FI, et al. Dynamic interplay between O-glycosylation and O-phosphorylation of nucleocytoplasmic proteins: alternative glycosylation/phosphorylation of THR-58, a known mutational hot spot of c-Myc in lymphomas, is regulated by mitogens. *J Biol Chem*, 2002, 277: 19229-35
- [17] Haltiwanger RS, Blomberg MA, Hart GW. Glycosylation of nuclear and cytoplasmic proteins. Purification and characterization of a uridine diphospho-N-acetylglucosamine: polypeptide β -N-acetylglucosaminyl

- transferase. *J Biol Chem*, 1992, 267: 9005-13
- [18] Kreppel LK, Blomberg MA, Hart GW. Dynamic glycosylation of nuclear and cytosolic proteins. Cloning and characterization of a unique O-GlcNAc transferase with multiple tetratricopeptide repeats. *J Biol Chem*, 1997, 272: 9308-15
- [19] Nolte D, Müller U. Human O-GlcNAc transferase (OGT): genomic structure, analysis of splice variants, fine mapping in Xq13.1. *Mamm Genome*, 2002, 13: 62-4
- [20] Kreppel LK, Hart GW. Regulation of a cytosolic and nuclear O-GlcNAc transferase. Role of the tetratricopeptide repeats. *J Biol Chem*, 1999, 274: 32015-22
- [21] Lubas WA, Hanover JA. Functional expression of O-linked GlcNAc transferase. Domain structure and substrate specificity. *J Biol Chem*, 2000, 275: 10983-8
- [22] Blatch GL, Lässle M. The tetratricopeptide repeat: a structural motif mediating protein-protein interactions. *Bioessays*, 1999, 21: 932-9
- [23] D'Andrea LD, Regan L. TPR proteins: the versatile helix. *Trends Biochem Sci*, 2003, 28: 655-62
- [24] Yang X, Zhang F, Kudlow JE. Recruitment of O-GlcNAc transferase to promoters by corepressor mSin3A: coupling protein O-GlcNAcylation to transcriptional repression. *Cell*, 2002, 110: 69-80
- [25] Lamb JR, Tugendreich S, Hieter P. Tetratricopeptide repeat interactions: to TPR or not to TPR? *Trends Biochem Sci*, 1995, 20: 257-9
- [26] Iyer SP, Hart GW. Roles of the tetratricopeptide repeat domain in O-GlcNAc transferase targeting and protein substrate specificity. *J Biol Chem*, 2003, 278: 24608-16
- [27] Roos MD, Hanover JA. Structure of O-linked GlcNAc transferase: mediator of glycan-dependent signaling. *Biochem Biophys Res Commun*, 2000, 271: 275-80
- [28] Hazes B. The (QxW) 3 domain: a flexible lectin scaffold. *Protein Sci*, 1996, 5(8): 1490-501
- [29] Imberty A, Piller V, Piller F, et al. Fold recognition and molecular modeling of a lectin-like domain in UDP-GalNAc:polypeptide N-acetyl galactosaminyltransferases. *Protein Eng*, 1997, 10: 1353-6
- [30] Yang X, Ongusaha PP, Miles PD, et al. Phosphoinositide signalling links O-GlcNAc transferase to insulin resistance. *Nature*, 2008, 451: 964-9
- [31] Marshall S, Bacote V, Traxinger RR. Discovery of a metabolic pathway mediating glucose-induced desensitization of the glucose transport system. Role of hexosamine biosynthesis in the induction of insulin resistance. *J Biol Chem*, 1991, 266: 4706-12
- [32] Jinek M, Rehwinkel J, Lazarus BD, et al. The superhelical TPR-repeat domain of O-linked GlcNAc transferase exhibits structural similarities to importin α . *Nat Struct Mol Biol*, 2004, 11: 1001-7
- [33] Conti E, Uy M, Leighton L, et al. Crystallographic analysis of the recognition of a nuclear localization signal by the nuclear import factor karyopherin α . *Cell*, 1998, 94: 193-204
- [34] Huber AH, Weis WI. The structure of the β -catenin/E-cadherin complex and the molecular basis of diverse ligand recognition by β -catenin. *Cell*, 2001, 105: 391-402
- [35] Martinez-Fleites C, Macauley MS, He Y, et al. Structure of an O-GlcNAc transferase homolog provides insight into intracellular glycosylation. *Nat Struct Mol Biol*, 2008, 15: 764-5
- [36] Clarke AJ, Hurtado-Guerrero R, Pathak S, et al. Structural insights into mechanism and specificity of O-GlcNAc transferase. *EMBO J*, 2008, 27: 2780-8
- [37] Lazarus BD, Roos MD, Hanover JA. Mutational analysis of the catalytic domain of O-linked N-acetylglucosaminyl transferase. *J Biol Chem*, 2005, 280: 35537-44
- [38] Wrabl JO, Grishin NV. Homology between O-linked GlcNAc transferases and proteins of the glycogen phosphorylase superfamily. *J Mol Biol*, 2001, 314: 365-74
- [39] Lairson LL, Henrissat B, Davies GJ, et al. Glycosyltransferases: structures, functions, and mechanisms. *Annu Rev Biochem*, 2008, 77: 521-55
- [40] Lazarus MB, Nam Y, Jiang J, et al. Structure of human O-GlcNAc transferase and its complex with a peptide substrate. *Nature*, 2011, 469(7331): 564-7
- [41] Coutinho PM, Deleury E, Davies GJ, et al. An evolving hierarchical family classification for glycosyltransferases. *J Mol Biol*, 2003, 328: 307-17
- [42] Davies GJ. Sweet secrets of synthesis. *Nat Struct Biol*, 2001, 8: 98-100
- [43] Lubas WA, Smith M, Starr CM, et al. Analysis of nuclear pore protein p62 glycosylation. *Biochemistry*, 1995, 34(5): 1686-94
- [44] Zhang L, Ren F, Li J, et al. A modified coupled-enzyme method for O-linked GlcNAc transferase activity assay. *Biol Proced Online*, 2009, 11(1): 170-83