

DOI: 10.13376/j.cbls/2014122

文章编号: 1004-0374(2014)08-0852-06

## *O*-GlcNAc修饰对蛋白质泛素化降解途径的影响

周 丰<sup>1</sup>, 刘晓燕<sup>2</sup>, 王玉秋<sup>2</sup>, 张连文<sup>2\*</sup>

(1 天津大学药物科学与技术学院, 天津 300072; 2 南开大学药学院, 天津 300071)

**摘要:** *O*-GlcNAc 修饰是一种特殊的糖基化修饰, 几乎参与生物体内所有细胞过程的调控。该修饰与泛素化作为两种重要的蛋白质翻译后修饰形式, 都与 2 型糖尿病、神经退行性疾病、癌症等疾病密切相关。*O*-GlcNAc 修饰对蛋白质泛素化降解途径的影响主要体现在 4 个方面: (1) *O*-GlcNAc 修饰能够抑制 26S 蛋白酶体的 ATPase 活性; (2) *O*-GlcNAc 修饰会减少某些底物蛋白的泛素化降解; (3) *O*-GlcNAc 修饰泛素化相关酶并调节其功能; (4) 某些蛋白质 (包括调控因子) 发生 *O*-GlcNAc 修饰后间接影响蛋白质泛素化。

**关键词:** *O*-GlcNAc 糖基化; 泛素化; 蛋白酶体途径; 蛋白质间相互作用

**中图分类号:** Q55      **文献标志码:** A

## *O*-GlcNAcylation influences ubiquitin proteasome degradation of protein

ZHOU Feng<sup>1</sup>, LIU Xiao-Yan<sup>2</sup>, WANG Yu-Qiu<sup>2</sup>, ZHANG Lian-Wen<sup>2\*</sup>

(1 School of Pharmaceutical Science and Technology, Tianjin University, Tianjin 300072, China;

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

**Abstract:** *O*-GlcNAcylation is a special protein glycosylation, which plays crucial roles in various cellular events. Both *O*-GlcNAcylation and ubiquitination are important post-translational modification. They are closely related to type 2 diabetes, neurodegenerative diseases, cancer and other diseases. The cross-talk between *O*-GlcNAcylation and ubiquitination could be divided into four categories: (1) *O*-GlcNAcylation of the 26S proteasome regulatory subunit inhibits its ATPase activity; (2) *O*-GlcNAcylation on some proteins could decrease their ubiquitin proteasome degradation; (3) *O*-GlcNAcylation of ubiquitination enzymes regulates their functions; (4) *O*-GlcNAcylation on some protein (including regulatory factors) affects ubiquitination process indirectly.

**Key words:** *O*-GlcNAcylation; ubiquitination; UPP; cross-talk

翻译后修饰 (post-translational modification) 是蛋白质生物合成过程中的重要步骤, 蛋白质在核糖体由 mRNA 翻译成多肽链, 多肽链经过翻译后修饰继而成为成熟的蛋白质产物。对于真核生物的大部分蛋白质, 翻译后修饰是蛋白质生物合成过程中比较靠后的步骤, 对蛋白质的活性的调节起着重要作用。翻译后修饰主要有糖基化、泛素化、磷酸化、乙酰化、烷基化等, 不同形式的翻译后修饰之间存在相互影响。

*O*-连接  $\beta$ -*N*-乙酰葡萄糖胺修饰 (*O*-GlcNAc 修饰) 是一种特殊的 O 糖基化, 与其他翻译后修饰之间有很多联系, 如 *O*-GlcNAc 修饰与磷酸化有相互作用关系, 这种作用体现在信号转导、转录、慢性

疾病方面<sup>[1]</sup>; Sakabe 和 Hart<sup>[2]</sup>证实, *O*-GlcNAc 修饰影响组蛋白的甲基化和乙酰化以及精氨酸甲基转移酶 (CARM1) 的活性; Allison 等<sup>[3]</sup>发现 RelA 在 T305 位点的 *O*-GlcNAc 修饰会促进 K310 位点的乙酰化; Fujiki 等<sup>[4]</sup>证实, 组蛋白赖氨酸甲基转移酶 (MLL5) 的 *O*-GlcNAc 修饰能够促进 H3K4 甲基化从而实现其功能。

泛素化与其他翻译后修饰之间也有很多联系,

收稿日期: 2014-04-01; 修回日期: 2014-05-06

基金项目: 国家重点基础研究发展计划 (“973” 项目) (2012CB910300); 国家自然科学基金项目 (30970644)

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

如磷酸化和泛素化之间的相互作用<sup>[5]</sup>; 赖氨酸残基乙酰化和泛素化之间的相互作用对控制蛋白质稳定性起到重要作用<sup>[6]</sup>; 组蛋白的甲基化和泛素化之间的相互作用会影响基因表达和蛋白质稳定性<sup>[7]</sup>。

本文关注 *O*-GlcNAc 修饰对蛋白质泛素化降解途径的影响。*O*-GlcNAc 修饰与泛素化作为两种重要的蛋白质翻译后修饰形式, 都与 2 型糖尿病、神经退行性疾病、癌症等疾病密切相关。近年来越来越多的报道集中于两者的关系, 对两者关系的研究是十分重要的, 为阐明一些分子机制以及治疗相关慢性疾病起到重要作用。

## 1 *O*-GlcNAc修饰概述

*O*-连接  $\beta$ -*N*-乙酰葡萄糖胺修饰称为 *O*-GlcNAc 修饰 (*O*-GlcNAcylation), 它是最早由 Torres 和 Hart<sup>[8]</sup> 发现的一种以 *O*-糖苷键将单个 *N*-乙酰葡萄糖胺 (GlcNAc) 连接到蛋白质的丝氨酸、苏氨酸羟基上的一种蛋白质翻译后修饰。随着质谱技术的发展, 已知的 *O*-GlcNAc 修饰蛋白质的数量日趋增长, 根据 Ma 和 Hart<sup>[9]</sup> 2014 年的最新报道, *O*-GlcNAc 修饰蛋白质已达 4 000 种之多。它们几乎参与生物体内所有细胞过程的调控, 包括基因转录、信号转导、细胞周期调控、蛋白质酶解等<sup>[10-11]</sup>。*O*-GlcNAc 修饰与 2 型糖尿病、神经退行性疾病、癌症、心血管疾病等密切相关<sup>[12]</sup>。

与磷酸化拥有大量的蛋白激酶和磷酸酶不同的是, *O*-GlcNAc 糖基化的调控过程只需要两个酶的参与:  $\beta$ -*N*-乙酰氨基葡萄糖转移酶 (*N*-acetylglucosaminyl transferase, OGT) 和  $\beta$ -*N*-乙酰氨基葡萄糖苷酶 ( $\beta$ -*N*-acetylglucosaminidase, OGA)。其中, OGT 负责 *O*-GlcNAc 的添加, 而 OGA 则负责 *O*-GlcNAc 的移除。

人体内主要存在 3 种类型的  $\beta$ -*N*-乙酰氨基葡萄糖转移酶 (OGT): ncOGT (nuclear cytoplasmic, 主要存在于核质)、mOGT (mitochondrial, 主要存在于线粒体) 以及 sOGT (short isoform, 截短型 OGT), 三者的 C 端催化结构域完全相同, 而区别在于 N 端结构域 34 肽重复序列 (tetratricopeptide repeats, TPR) 的数量, 其中以 ncOGT TPR 数量最多, 而 sOGT 最少 (图 1)<sup>[13]</sup>。2011 年, Sakaidani 等<sup>[14]</sup> 在果蝇体内发现了一种全新的 OGT——EOGT (主要存在于内质网), 它主要负责细胞外的 *O*-GlcNAc 修饰, 通过对细胞外分泌蛋白和细胞膜糖蛋白的修饰来介导细胞间或细胞与胞外基质的相互作用。在小鼠体内也发现了 EOGT 的同源基因<sup>[15]</sup>。Cohen

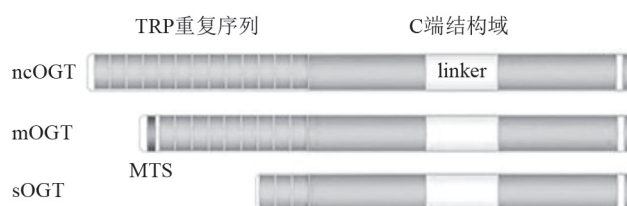


图1 不同亚型OGT示意图

等<sup>[16]</sup> 在 2014 年发现亚当奥利弗综合征 (Adams-Oliver syndrome, 常染色体隐性遗传病) 与 EOGT 的突变有关, 但机制尚不清楚。

ncOGT 和 sOGT 是细胞内两种主要的 OGT 类型, 但两者修饰的底物蛋白有很大差异。Feng 等<sup>[17]</sup> 通过瞬时过表达 OGT 和 western blot 检测, 发现表达 ncOGT 和 sOGT 的 HEK-293 细胞中 *O*-GlcNAc 修饰蛋白存在明显差异, 推测不同亚型 OGT 可能修饰不同的底物蛋白, 特别是一些转录因子。

OGT 也会发生自身糖基化, 这与一些磷酸激酶能够发生自身磷酸化现象类似。Lubas 和 Hanover<sup>[18]</sup> 的体外实验发现, sOGT 不仅能够糖基化其底物蛋白或多肽, 而且它能够进行自身糖基化修饰。许多研究表明, *O*-GlcNAc 修饰会使蛋白质的结构和功能发生变化, 进而对许多细胞途径起到调控作用<sup>[19]</sup>, 但是 *O*-GlcNAc 修饰对 OGT 功能的影响还不清楚。

人体内 OGA 有长、短两种亚型, 长亚型 C 端与乙酰转移酶 (histone acetyltransferase) 有同源性, 被称为 HAT 结构域; 短亚型无此结构。OGA 的 N 端与线虫的透明质酸酶有高度同源性<sup>[20]</sup>。长亚型主要分布于细胞质, 短亚型主要分布于细胞核。至今已开发多种 OGA 特异性小分子抑制剂用于 *O*-GlcNAc 修饰的研究, 如 PUGNAc、LOGNAc、Thiamet-G。这些分子工具已广泛用于 *O*-GlcNAc 修饰的功能研究。

*O*-GlcNAc 修饰的糖供体 UDP-GlcNAc 是通过氨基己糖合成途径 (hexosamine biosynthetic pathway, HBP) 合成的<sup>[21]</sup>, 所以葡萄糖的浓度, 特别是氨基葡萄糖 (glucosamine, GlcN) 的浓度会影响蛋白质的 *O*-GlcNAc 修饰水平<sup>[17]</sup>。这种调节方式的运用为 *O*-GlcNAc 修饰调控提供了另一种途径<sup>[22]</sup>。

从以上可以看出, sOGT、ncOGT 的过表达以及 GlcN 和 OGA 抑制剂 PUGNAc 的加入都会使 *O*-GlcNAc 修饰增加, 但体外研究表明, 这 4 种方式对泛素化相关基因的影响也存在差异<sup>[17]</sup>。

## 2 泛素化修饰概述

泛素化在通过蛋白质的合成降解以及调节一些蛋白质的功能来维持细胞内的内在平衡。泛素化是一个三步酶级联反应,其中包括泛素活化酶(ubiquitin-activating enzyme, E1)、泛素结合酶(ubiquitin-conjugating enzyme, E2)、泛素连接酶(ubiquitin-ligase, E3)参与催化的多步反应,最终将泛素分子连接至靶蛋白的赖氨酸残基上。蛋白酶体系统可以识别已泛素化的蛋白质并将其降解,这就是泛素-蛋白酶体(ubiquitin proteasome pathway, UPP)降解途径。值得一提的是,编码人源的两个E1亚型是单一保守基因,而编码E2的有50个基因,编码E3的则更多,有500多个基因参与编码<sup>[23]</sup>。泛素连接酶E3能识别泛素化底物,是决定泛素化特异性的关键因素。泛素化连接酶E3有3种结构域,即环指型结构域、HECT(homologous to E6-AP carboxyl terminus)型结构域和SCF(skp1-cullin-F-box)复合型结构域。

F-box蛋白是泛素化中一类重要蛋白质,SCF中的F-box蛋白决定了连接酶的底物特异性。已知的人源F-box蛋白有69种,根据其C端二级结构的不同,可分为3类,分别为FBXL、FBXW和FBXO。其中,FBXL是指C端富含亮氨酸重复序列的F-box蛋白;FBXW是指C端含WD重复序列的F-box蛋白;FBXO中的“O”代表其他,是指C端含其他二级结构,如亮氨酸拉链、锌指结构、环指结构、TPR和脯氨酸富集区等。Feng等<sup>[17]</sup>对HEK293细胞O-GlcNAc修饰的研究表明,O-GlcNAc修饰会调节某些泛素化相关的基因特别是会下调某些F-box基因,如FBXW10、FBXO4。

泛素也可以通过特定的酶,将其从泛素化蛋白质上移除,这种酶被称作去泛素化酶(deubiquitinating enzymes, DUB)<sup>[24]</sup>,主要有两大类:泛素特异性修饰酶和泛素羧基端水解酶(ubiquitin COOH-terminal hydrolase, UCH),其原理都是催化水解泛素C端多肽链的连接,从而去泛素化。

## 3 O-GlcNAc修饰蛋白质泛素化降解途径的影响

根据文献报道,O-GlcNAc修饰对泛素化降解途径的影响主要体现在4个层次:(1)蛋白酶体活性;(2)底物蛋白的翻译后修饰;(3)泛素化相关酶;(4)转录因子及某些其他蛋白质。

### 3.1 O-GlcNAc修饰抑制26S蛋白酶体的ATPase活性

最普遍的蛋白酶体形式是26S蛋白酶体,其包

含有一个20S核心颗粒和两个19S调节颗粒,其中19S调节颗粒与O-GlcNAc之间的关系最为密切。2003年,Zhang等<sup>[25]</sup>提出O-GlcNAc修饰对蛋白酶体有内源性抑制作用,其机理是26S蛋白酶体活性可以被O-GlcNAc修饰抑制。O-GlcNAc修饰是通过抑制26S蛋白酶体的ATPase活性来抑制转录因子Sp1和疏水肽的蛋白质水解。哺乳动物蛋白酶体19S帽子的RPT2 ATPase可以被O-GlcNAc修饰,随其修饰的增加,蛋白酶体功能降低。

桥粒斑珠蛋白(plakoglobin)是钙黏素和肌动蛋白的连接部分,也是一个重要的桥粒,参与由E-钙黏素(E-cadherin)介导的细胞间黏附与信号转导两大功能。Hu等<sup>[26]</sup>对小鼠的角质细胞的研究表明,O-GlcNAc修饰水平升高(过表达OGT)会调节plakoglobin翻译后的稳定性和角质形成细胞间的黏附作用,使plakoglobin的半衰期延长,其机理是26S蛋白酶体受O-GlcNAc修饰,从而抑制大鼠肾细胞中某些蛋白质降解,延长plakoglobin的半衰期<sup>[25]</sup>。

### 3.2 O-GlcNAc修饰能够减少某些底物蛋白的泛素化降解

很多基因同时受O-GlcNAc修饰、磷酸化以及泛素化的调控。O-GlcNAc修饰和磷酸化之间的关系相对明显,两者具有相同的修饰位点,在翻译后修饰的过程中存在竞争和相互抑制的关系。O-GlcNAc修饰位点常定位在与蛋白质降解相关的PEST序列[序列富含脯氨酸(P)、谷氨酸(E)、丝氨酸(S)和苏氨酸(T)],PEST序列是泛素蛋白酶体通路中瞄准的靶蛋白质的信号<sup>[27]</sup>。PEST序列的激活通常发生在磷酸化修饰后<sup>[28]</sup>,由于O-GlcNAc和磷酸化的竞争关系,可以假定O-GlcNAc修饰抵消磷酸化作用,从而保护蛋白质<sup>[29]</sup>。另外,Dias等<sup>[30]</sup>在2012年发现,O-GlcNAc修饰可以直接调节大量的激酶,说明O-GlcNAc修饰和磷酸化在细胞信号转导中的复杂关系。

肿瘤抑制蛋白P53的O-GlcNAc修饰可抑制它的泛素化降解,增加P53的稳定性。Yang等<sup>[31]</sup>发现P53蛋白的S149位点能够发生O-GlcNAc修饰,修饰后P53蛋白与泛素连接酶的相互作用显著减弱,泛素化修饰减少,从而减少了P53蛋白被蛋白酶体途径降解,提高了P53蛋白的稳定性。通过定点突变的方法,发现P53的S149位点上的O-GlcNAc糖基化与T155位点上的磷酸化相竞争,削弱了磷酸化修饰对蛋白质降解的促进作用<sup>[32-34]</sup>。

组蛋白 H2B 是核小体的基本结构单位。Fujiki 等<sup>[35]</sup>通过体外和细胞实验证明, 组蛋白 H2B 的 S112 是 *O*-GlcNAc 修饰位点, *O*-GlcNAc 修饰部分可以作为组蛋白 H2B 泛素连接酶识别的锚点, 组蛋白 H2B 的 S112 位点 *O*-GlcNAc 修饰促进了 H2B K120 的单点泛素化, 推测为转录激活作用。Chen 等<sup>[36]</sup>在 2013 年用蛋白质亲和纯化的方法发现, TET2 (ten eleven translocation enzymes 2) 能直接与 OGT 作用, 虽然这种特殊的相互作用不能调节 TET2 的酶活性, 但有利于 OGT 依赖性组蛋白 *O*-GlcNAc 糖基化。此外, OGT 与 TET2 的转录起始位点相关。TET2 的下调会减少组蛋白 H2B S112 位点的 *O*-GlcNAc 标记, 从而影响 H2B K120 的单点泛素化。

$\beta$ -淀粉样肽 (amyloid- $\beta$ ) 是阿尔兹海默症的关键因素, 其前体淀粉样前体蛋白 (amyloid precursor protein, APP) 既可以被 *O*-GlcNAc 修饰, 也可以被 SUMO 修饰, 这两种修饰的增加都会降低  $\beta$ -淀粉样肽的集聚水平<sup>[37]</sup>。

热休克蛋白 70 (70-kDa heat-shock protein family, Hsc70) 是热休克蛋白家族中重要成员, 其在正常细胞中表达水平较低, 而在应激状态下会明显升高。Guinez 等<sup>[29]</sup>在 HepG2 细胞热应激实验中发现, 细胞受到热应激之后, *O*-GlcNAc 修饰和泛素化都会增加, 其机理可能是 OGT 和 Hsp70 在阻止蛋白质聚集和降解中发挥协同作用, 这种协同作用可通过结合 Hsp70 中 GlcNAc 暴露的部分抑制蛋白酶体活性从而保护靶蛋白质。

Guinez 等<sup>[29]</sup>提出一个假说: *O*-GlcNAc 修饰起保护信号作用。一些蛋白质符合这一假说, 如 Han 和 Kudlow<sup>[38]</sup>的研究发现, Sp1 的 *O*-GlcNAc 修饰降低会使其易被蛋白酶体降解; Cheng 和 Hart<sup>[39]</sup>发现  $\beta$ -雌激素受体 ( $\beta$ -estrogen receptor,  $\beta$ -ER) 的糖基化形式比非糖基化形式更不易被蛋白酶体降解。

### 3.3 *O*-GlcNAc修饰泛素化相关酶并调节其功能

*O*-GlcNAc 修饰调节泛素化相关酶的功能, 如泛素活化酶 E1<sup>[40]</sup>、NEDD4-1<sup>[41]</sup>、RBP2<sup>[42]</sup>、RING1、RNF2<sup>[43]</sup> 和一些去泛素化酶<sup>[44-45]</sup> (UCHL1)。

Guinez 等<sup>[29]</sup>在实验中发现, 细胞受到热击胁迫时, 细胞总的 *O*-GlcNAc 修饰水平升高, 但 *O*-GlcNAc 修饰的蛋白质并没有通过抑制蛋白酶体的活性增加蛋白质稳定性, 由于泛素活化酶 E1 被 *O*-GlcNAc 修饰, E1 的 *O*-GlcNAc 修饰水平的升高对泛素化降解途径起到激活作用, 促进了蛋白质的

降解。Guinez 等<sup>[29]</sup>最终推论: 泛素与 *O*-GlcNAc 的比例可能是一个开关, 能控制蛋白质进入降解路径或修复路径, 当 *O*-GlcNAc 修饰不稳定时 (上调或下调), 泛素化也遵循同样的变化。

Zaro 等<sup>[41]</sup>利用 GlcNAk (炔基修饰的葡萄糖类似物, alkynyl-modified GlcNAc analog) 来标记 *O*-GlcNAc 修饰, 首次发现连接酶 NEDD4-1 上的 *O*-GlcNAc 修饰位点, 这种修饰对 NEDD4-1 的功能影响还未见报道, 但可以推测 *O*-GlcNAc 修饰对 NEDD4-1 的稳定性、定位, 以及与底物的相互作用有关。

Cole 和 Hart<sup>[45]</sup>用蛋白质组学分析的方法, 首次证明泛素羧基端水解酶 L1 (ubiquitin COOH-terminal hydrolase-L1, UCHL1) 上的 *O*-GlcNAc 修饰位点。但 *O*-GlcNAc 修饰对其功能的影响还未见报道。

### 3.4 某些蛋白质受*O*-GlcNAc修饰后间接影响其他蛋白质泛素化

某些蛋白质受 *O*-GlcNAc 修饰后通过蛋白质间的相互作用, 从而影响了某些基因或蛋白质的表达水平, 也包括一些转录因子。

FBXW10 是 F-box 蛋白家族成员, 参与核纤层蛋白诱导的某些 HP1 亚型的蛋白酶体降解<sup>[46]</sup>。Feng 等<sup>[17]</sup>实验表明, sOGT、ncOGT 的过表达以及 GlcN 和 OGA 抑制剂 PUGNAc 的加入等四种使 *O*-GlcNAc 修饰增加的方式, 都会使 FBXW10 在转录和翻译水平下调, 但其机理并不清楚, 可能是通过某些转录因子发挥作用。

E-钙黏蛋白 (E-cadherin) 是肿瘤发生和转移过程中的重要因子。宓文义<sup>[47]</sup>在研究 *O*-GlcNAc 修饰对肿瘤转移机制的影响时发现, *O*-GlcNAc 修饰促进了 E-cadherin 的降解。其机理是 P120 蛋白与 E-cadherin 相互作用能够稳定 E-cadherin, 而 P120 的 *O*-GlcNAc 修饰增加抑制其与 E-cadherin 的相互作用, 促进 E-cadherin 的泛素化。*O*-GlcNAc 修饰通过 P120 蛋白来影响 E-cadherin 的泛素化从而使 E-cadherin 走向泛素蛋白酶体途径的降解, 进而影响了 *O*-GlcNAc 对肿瘤发生与转移的影响。

Delta-乳铁蛋白 (Delta-Lf) 是 Skp1 的转录因子, 它可以上调 DcpS、SKP1 和 Bax 基因, 引起细胞周期阻滞和凋亡。Hardiville 等<sup>[48]</sup>通过 Delta-Lf 的糖基化突变体发现, S10 位点的 *O*-GlcNAc 修饰能够阻断泛素化依赖性蛋白质的水解作用, 从而增加 Delta-Lf 的稳定性和转录活性。他们还发现 (391)

KSQQSSDPDPNCVD (404) 的序列作为功能性 PEST 序列负责 Delta-Lf 降解, L379 位点作为多聚泛素的修饰位点。

#### 4 展望

*O*-GlcNAc 修饰的研究与其他研究较成熟的翻译后修饰 (例如: 磷酸化、*N*-糖基化、乙酰化和泛素化) 相比处于起步阶段<sup>[9]</sup>; 但它对其他翻译后修饰有重要的影响, 其中 *O*-GlcNAc 修饰与磷酸化之间的关系研究地较多, 而与泛素化修饰之间的关系却研究相对较少, 在本文中, *O*-GlcNAc 修饰对泛素化降解途径的影响主要体现在 4 个层次: (1) 蛋白酶体活性; (2) 底物蛋白翻译后修饰; (3) 泛素化相关酶; (4) 转录因子及某些其他蛋白质。其中蛋白酶体活性层次的影响是最直接的, 而底物蛋白翻译后修饰层次的影响, 特别是与磷酸化相互作用而产生的影响是最普遍的。随着证实的 *O*-GlcNAc 修饰蛋白质数量的增多, *O*-GlcNAc 修饰的泛素化相关酶这类蛋白质会不断增多, 其影响机理也会日益明晰。转录因子及某些其他蛋白质这一层次的例证较少, 这是因为影响的复杂性以及很多分子机制未阐明而导致的, 但这种方式的影响将会是最广泛的。相信随着 *O*-GlcNAc 修饰相关研究的不断深入, 新的检测技术的不断发展, 泛素化相关酶和转录因子及其他某些蛋白质这两类将会成为研究的重点, 实例将会越来越多, 其中的复杂机理也会更加明晰, 也将为阐明一些分子机制以及治疗与两者有密切联系的疾病 (2 型糖尿病、神经退行性疾病、癌症等) 起到重要作用。

#### [参 考 文 献]

- [1] Hart GW, Slawson C, Ramirez-Correa G, et al. Cross talk between *O*-GlcNAcylation and phosphorylation: roles in signaling, transcription, and chronic disease. *Annu Rev Biochem*, 2011, 80: 825-58
- [2] Sakabe K, Hart GW. *O*-GlcNAc transferase regulates mitotic chromatin dynamics. *J Biol Chem*, 2010, 285(45): 34460-8
- [3] Allison DF, Wamsley JJ, Kumar M, et al. Modification of *relA* by *O*-linked *N*-acetylglucosamine links glucose metabolism to NF- $\kappa$ B acetylation and transcription. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2012, 109(42): 16888-93
- [4] Fujiki R, Chikanishi T, Hashiba W, et al. GlcNAcylation of a histone methyltransferase in retinoic-acid-induced granulopoiesis. *Nature*, 2009, 459(7245): 455-9
- [5] Hunter T. The age of crosstalk: phosphorylation, ubiquitination, and beyond. *Mol Cell*, 2007, 28(5): 730-8
- [6] Caron C, Boyault C, Khochbin S. Regulatory cross-talk between lysine acetylation and ubiquitination: role in the control of protein stability. *Bioessays*, 2005, 27(4): 408-15
- [7] Shukla A, Chaurasia P, Bhaumik SR. Histone methylation and ubiquitination with their cross-talk and roles in gene expression and stability. *Cell Mol Life Sci*, 2009, 66(8): 1419-33
- [8] 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(5): 3308-17
- [9] Ma J, Hart GW. *O*-GlcNAc profiling: from proteins to proteomes. *Clin Proteomics*, 2014, 11(1): 8
- [10] Hwang JY, Mangala LS, Fok JY, et al. Clinical and biological significance of tissue transglutaminase in ovarian carcinoma. *Cancer Res*, 2008, 68(14): 5849-58
- [11] Tapia MA, Gonzalez-Navarrete I, Dalmases A, et al. Inhibition of the canonical IKK/NF- $\kappa$ B pathway sensitizes human cancer cells to doxorubicin. *Cell Cycle*, 2007, 6(18): 2284-92
- [12] Liu F, Shi J, Tanimukai H, et al. Reduced *O*-GlcNAcylation links lower brain glucose metabolism and tau pathology in Alzheimer's disease. *Brain*, 2009, 132(Pt 7): 1820-32
- [13] Lazarus BD, Love DC, Hanover JA. Recombinant *O*-GlcNAc transferase isoforms: identification of *O*-GlcNAcase, yes tyrosine kinase, and tau as isoform-specific substrates. *Glycobiology*, 2006, 16(5): 415-21
- [14] Sakaidani Y, Nomura T, Matsuura A, et al. *O*-linked-*N*-acetylglucosamine on extracellular protein domains mediates epithelial cell-matrix interactions. *Nat Commun*, 2011, 2: 583
- [15] Sakaidani Y, Ichianagi N, Saito C, et al. *O*-linked-*N*-acetylglucosamine modification of mammalian notch receptors by an atypical *O*-GlcNAc transferase Eogt1. *Biochem Biophys Res Commun*, 2012, 419(1): 14-9
- [16] Cohen I, Silberstein E, Perez Y, et al. Autosomal recessive adams-oliver syndrome caused by homozygous mutation in EOGT, encoding an EGF domain-specific *O*-GlcNAc transferase. *Eur J Hum Genet*, 2014, 22(3): 374-8
- [17] Feng Z, Hui Y, Ling L, et al. FBXW10 is negatively regulated in transcription and expression level by protein *O*-GlcNAcylation. *Biochem Biophys Res Commun*, 2013, 438(2): 427-32
- [18] Lubas WA, Hanover JA. Functional expression of *O*-linked GlcNAc transferase. Domain structure and substrate specificity. *J Biol Chem*, 2000, 275(15): 10983-8
- [19] Riu IH, Shin IS, Do SI. Sp1 modulates ncOGT activity to alter target recognition and enhanced thermotolerance in *E. coli*. *Biochem Biophys Res Commun*, 2008, 372(1): 203-9
- [20] Heckel D, Comtesse N, Brass N, et al. Novel immunogenic antigen homologous to hyaluronidase in meningioma. *Hum Mol Genet*, 1998, 7(12): 1859-72
- [21] Kreppel LK, Hart GW. Regulation of a cytosolic and nuclear *O*-GlcNAc transferase. Role of the tetratricopeptide repeats. *J Biol Chem*, 1999, 274(45): 32015-22
- [22] Federici M, Menghini R, Mauriello A, et al. Insulin-

- dependent activation of endothelial nitric oxide synthase is impaired by *O*-linked glycosylation modification of signaling proteins in human coronary endothelial cells. *Circulation*, 2002, 106(4): 466-72
- [23] Bhat KP, Greer SF. Proteolytic and non-proteolytic roles of ubiquitin and the ubiquitin proteasome system in transcriptional regulation. *Biochim Biophys Acta*, 2011, 1809(2): 150-5
- [24] Nakayama K. Growth and progression of melanoma and non-melanoma skin cancers regulated by ubiquitination. *Pigment Cell Melanoma Res*, 2010, 23(3): 338-51
- [25] Zhang F, Su K, Yang X, et al. *O*-GlcNAc modification is an endogenous inhibitor of the proteasome. *Cell*, 2003, 115(6): 715-25
- [26] Hu P, Berkowitz P, Madden VJ, et al. Stabilization of plakoglobin and enhanced keratinocyte cell-cell adhesion by intracellular *O*-glycosylation. *J Biol Chem*, 2006, 281(18): 12786-91
- [27] Rechsteiner M, Rogers SW. PEST sequences and regulation by proteolysis. *Trends Biochem Sci*, 1996, 21(7): 267-71
- [28] Martinez LO, Agerholm-Larsen B, Wang N, et al. Phosphorylation of a pest sequence in ABCA1 promotes calpain degradation and is reversed by ApoA-I. *J Biol Chem*, 2003, 278(39): 37368-74
- [29] Guinez C, Mir AM, Dehennaut V, et al. Protein ubiquitination is modulated by *O*-GlcNAc glycosylation. *FASEB J*, 2008, 22(8): 2901-11
- [30] Dias WB, Cheung WD, Hart GW. *O*-GlcNAcylation of kinases. *Biochem Biophys Res Commun*, 2012, 422(2): 224-8
- [31] 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(10): 1074-83
- [32] Lim K, Chang HI. *O*-GlcNAc modification of Sp1 inhibits the functional interaction between Sp1 and Oct1. *FEBS Lett*, 2009, 583(3): 512-20
- [33] Zachara NE. Detection and analysis of (*O*-linked  $\beta$ -*N*-acetylglucosamine)-modified proteins. *Methods Mol Biol*, 2009, 464: 227-54
- [34] Wang Z, Udeshi ND, O'Malley M, et al. Enrichment and site mapping of *O*-linked *N*-acetylglucosamine by a combination of chemical/enzymatic tagging, photochemical cleavage, and electron transfer dissociation mass spectrometry. *Mol Cell Proteomics*, 2010, 9(1): 153-60
- [35] Fujiki R, Hashiba W, Sekine H, et al. GlcNAcylation of histone H2B facilitates its monoubiquitination. *Nature*, 2011, 480(7378): 557-60
- [36] Chen Q, Chen Y, Bian C, et al. TET2 promotes histone *O*-GlcNAcylation during gene transcription. *Nature*, 2013, 493(7433): 561-4
- [37] Zhang YQ, Sarge KD. Sumoylation of amyloid precursor protein negatively regulates A $\beta$  aggregate levels. *Biochem Biophys Res Commun*, 2008, 374(4): 673-8
- [38] Han I, Kudlow JE. Reduced *O*-glycosylation of Sp1 is associated with increased proteasome susceptibility. *Mol Cell Biol*, 1997, 17(5): 2550-8
- [39] Cheng X, Hart GW. Alternative *O*-glycosylation/*O*-phosphorylation of serine-16 in murine estrogen receptor  $\beta$ : post-translational regulation of turnover and transactivation activity. *J Biol Chem*, 2001, 276(13): 10570-5
- [40] Guinez C, Mir AM, Dehennaut V, et al. Protein ubiquitination is modulated by *O*-GlcNAc glycosylation. *FASEB J*, 2008, 22(8): 2901-11
- [41] Zaro BW, Yang YY, Hang HC, et al. Chemical reporters for fluorescent detection and identification of *O*-GlcNAc-modified proteins reveal glycosylation of the ubiquitin ligase NEDD4-1. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2011, 108(20): 8146-51
- [42] Wang ZI, Udeshi ND, Slawson C, et al. Extensive cross talk between *O*-GlcNAcylation and phosphorylation regulates cytokinesis. *Sci Signal*, 2010, 3(104): Ra2
- [43] Teo CF, Ingale S, Wolfert MA, et al. Glycopeptide-specific monoclonal antibodies suggest new roles for *O*-GlcNAc. *Nat Chem Biol*, 2010, 6(5): 338-43
- [44] Klement E, Lipinszki Z, Kupihar Z, et al. Enrichment of *O*-GlcNAc modified proteins by the periodate oxidation-hydrazide resin capture approach. *J Proteome Res*, 2010, 9(5): 2200-6
- [45] Cole RN, Hart GW. Cytosolic *O*-glycosylation is abundant in nerve terminals. *J Neurochem*, 2001, 79(5): 1080-9
- [46] Chaturvedi P, Parnaik VK. Lamin A rod domain mutants target heterochromatin protein 1alpha and beta for proteasomal degradation by activation of F-box protein, FBXW10. *PLoS One*, 2010, 5(5): e10620
- [47] 宓文义. *O*-GlcNAc糖基化修饰在肿瘤发生与转移过程中的作用及其机制研究[D]. 青岛: 中国海洋大学, 2011
- [48] Hardiville S, Hoedt E, Mariller C, et al. *O*-GlcNAcylation/phosphorylation cycling at Ser10 controls both transcriptional activity and stability of  $\delta$ -lactoferrin. *J Biol Chem*, 2010, 285(25): 19205-18