

DOI: 10.13376/j.cbls/2015194

文章编号: 1004-0374(2015)11-1403-06



李家大, 中南大学生命科学学院副院长、细胞生物学系主任, 教授, 博士生导师。2010年被聘为湖南省“芙蓉学者”特聘教授。2011年获得教育部“新世纪优秀人才计划”资助。在 *Science*、*PNAS*、*Journal of Neuroscience*、*JBC* 等国际学术期刊发表多篇研究论文。研究方向为在生物化学、分子生物学、细胞以及模式动物水平来研究疾病致病基因的功能, 探讨疾病的病理机制, 建立疾病的动物模型以及筛选新型药物。正在进行的研究包括: (1) 生物节律与睡眠的神经生物学基础及其与疾病的关系; (2) 孤独症小鼠模型的建立与表型分析; (3) O-GlcNAc 糖基化修饰与神经变性疾病的关系。

O-GlcNAc修饰调节生物节律研究进展

麻砚涛, 罗浑金, 靳倩, 张树菊, 李家大*

(中南大学生命科学学院医学遗传学国家重点实验室, 长沙 410078)

摘要: 生物体的睡眠/觉醒、进食等行为以及各种生理、生化、代谢过程都遵循着大约 24 h 的周期性变化, 称为昼夜节律 (circadian rhythms)。昼夜节律与能量代谢之间存在着紧密的联系。位于下丘脑视交叉上核 (suprachiasmatic nuclei, SCN) 的中枢生物钟与外周组织细胞中的生物钟共同组成了哺乳动物的昼夜节律系统。以 CLOCK/BMAL1 异二聚体为核心的转录/翻译负反馈环保障了节律系统的正常运行。各种蛋白质翻译后修饰参与了昼夜节律的调控。综述了氧连 β -N-乙酰葡萄糖胺修饰 (O-GlcNAcylation) 在调节昼夜节律中发挥的重要作用。O-GlcNAc 修饰可以增强一些生物钟蛋白的稳定性及转录活性, 也可以影响其他一些生物钟蛋白的磷酸化及细胞定位。抑制生物钟蛋白的 O-GlcNAc 修饰导致细胞节律衰弱和多种节律基因表达下调。研究表明, O-GlcNAc 作为机体能量代谢的感受器参与了多条细胞代谢相关信号转导通路的调节, O-GlcNAc 修饰为能量代谢影响昼夜节律提供了一条新的途径。

关键词: 昼夜节律; 核心钟基因; O-GlcNAcylation; 营养代谢

中图分类号: Q418; Q513.2 **文献标志码:** A

Roles of O-GlcNAcylation on the regulation of circadian rhythms

MA Yan-Tao, LUO Hun-Jin, JIN Qian, ZHANG Shu-Ju, LI Jia-Da*

(State Key Laboratory of Medical Genetics, School of Life Sciences, Central South University, Changsha 410078, China)

Abstract: Various physiological, biochemical and metabolic processes and behaviors show a circadian rhythm of about 24 hours. There is a close relationship between circadian rhythms and metabolism. In mammals, the circadian system is organized in a highly hierarchical architecture, composed of a central pacemaker in the brain's suprachiasmatic nuclei (SCN) and subsidiary clocks in peripheral organs. Transcription/translation negative feedback loops involving CLOCK/BMAL1 heterodimer are considered as the prime molecular mechanism

收稿日期: 2015-04-06

基金项目: 国家自然科学基金项目(31371187); 高等学校博士学科点专项科研基金(博导类, 20110162110035)

*通信作者: E-mail: lijiaada@sklmg.edu.cn

sustaining intracellular rhythms. Post-translational modifications play important roles in regulating circadian core proteins. Here, we review that core clock proteins are modified with an O-linked β -N-acetylglucosamine (O-GlcNAc). O-GlcNAcylation of clock proteins may modulate the stabilities, transcriptional activities, phosphorylation and cellular location. Conversely, inhibition of O-GlcNAcylation results in damped circadian rhythms of clock gene expression. As O-GlcNAcylation is sensitive to the glucose level, such modification may provide a new mechanism linking metabolism to circadian rhythms.

Key words: circadian rhythms; clock gene; O-GlcNAcylation; metabolism

生物的睡眠 / 觉醒、进食等行为以及各种生理、生化、代谢过程遵循着大约 24 h 的周期性变化, 称为昼夜节律 (circadian rhythms) [1-4]。从可进行光合作用的蓝藻到真菌、植物、动物, 昼夜节律是广泛存在于自然界中的重要生命现象, 是地球上各种生命对环境循环变化长期适应和演化的结果。研究发现, 昼夜节律对于调节运动、体温、营养代谢、情绪、激素水平、认知等生理功能具有重要意义, 其紊乱与多种疾病的发生具有密切联系, 包括代谢类疾病, 如肥胖、糖尿病, 以及癌症、精神疾病和老年痴呆等多种神经系统病变。本文综述了与机体营养代谢水平密切相关的氧连 β -N-乙酰葡糖胺 (O-GlcNAc) 修饰在调节昼夜节律中的研究进展。

1 昼夜节律

昼夜节律系统是一个多层次, 整合了外部环境信号与内部自主节律的有机整体。哺乳动物的昼夜节律系统包括位于下丘脑视交叉上核 (suprachiasmatic nuclei, SCN) 的中枢生物钟以及位于外周组织器官, 如肝脏、肾脏、心脏等的生物钟 [5]。表达视黑质 (melanopsin) 的视网膜神经节细胞 [6-7] 将光信号转换为神经电信号, 传导至 SCN 神经元; 而 SCN 神经元投射到一些脑区, 调节动物的各种生理活动 [4]。

细胞内的节律依赖于可自主调节的转录 / 翻译负反馈环 (transcription/translation feedback loops, TTFLs)。在哺乳动物中, 位于 TTFLs 核心的是转录因子 CLOCK (circadian locomotor output cycles protein kaput) 和 BMAL1 (brain and muscle ARNT-like 1), 两者形成异源二聚体, 结合到 E-box 增强子区, 启动下游节律基因 *Period* (*Per1*、*Per2*)、*Cryptochrome* (*Cry1*、*Cry2*) 及其他时钟控制基因 (clock controlled genes, CCGs) 表达。随着 PERs、CRYs 蛋白表达上调, 胞质中不断积聚的 PERs 与 CRYs 被 CK1 ϵ/δ 磷酸化, 磷酸化的 PERs 与 CRYs 形成异源二聚体后转移到核内, 抑制 CLOCK/BMAL1 的转录活性, 从而形

成负反馈调节。此外, CLOCK/BMAL1 下游基因 *Rora*、*Rev-erba* 编码的 RORs 和 REV-ERBs 蛋白可分别增强和抑制 *Bmal1* 的转录, 形成另一个重要的负反馈环路 [2, 8]。果蝇生物钟的 TTFLs 由 dPERIOD (dPER; d: *Drosophila*)、TIMELESS (TIM)、dCLOCK (dCLK) 及 CYCLE (CYC) 所组成。dCLK 与 CYC 类似于哺乳动物的 CLOCK 和 BMAL1, 两者形成异二聚体结合到 E-box 区, 启动下游基因 *dper* 与 *tim* 的转录; dPER 与 TIM 在胞浆中相互作用转入核内, 形成负反馈环路 [9-10]。

蛋白质翻译后修饰在调节蛋白质功能中发挥了重要作用。常见的翻译后修饰包括磷酸化、糖基化、SUMO 化、乙酰化等。研究发现, 多种翻译后修饰可以影响昼夜节律 [11-12]。磷酸化可以调节生物钟蛋白的细胞质 / 核转运以及蛋白质降解 [13-14]。CLOCK 自身具有组蛋白乙酰转移酶活性 [15], 并且可以催化 BMAL1 乙酰化。BMAL1 的 537 位赖氨酸乙酰化增强了其与 CRY1 蛋白的结合, 促进 CRY1 的抑制活性 [16], 而 BMAL1 的 259 位赖氨酸 SUMO 化则增强其转录活性 [17]。Nakahata 等 [18] 发现 NAD⁺ 依赖的去乙酰化酶 SIRT1 节律性地与 CLOCK/BMAL1 异二聚体结合, 使 BMAL1 去乙酰化, 导致 BMAL1 的乙酰化修饰具有节律性。SIRT1 也可催化 PER2 蛋白去乙酰化, 并且增强 PER2 的稳定性 [19]。

2 O-GlcNAc修饰

氧连 β -N-乙酰葡糖胺修饰 (O-linked β -N-acetylglucosaminylation, O-GlcNAcylation) 是一种广泛存在于细胞质 / 核蛋白的翻译后修饰方式, 由 Torres 和 Hart 于 1984 年首次发现, 即单个 N-乙酰葡糖胺 (N-acetylglucosamine, GlcNAc) 以 O-糖苷键与蛋白质的丝氨酸或苏氨酸的羟基相连接 [20]。蛋白质的 O-GlcNAc 修饰是由两个高度保守的酶: 氧连 N-乙酰氨基葡萄糖转移酶 (O-GlcNAc transferase, OGT) 和氧连 N-乙酰氨基葡萄糖水解酶 (O-GlcNAcase, OGA) 协调控制。OGT 将 GlcNAc 基团从底物 UDP-

GlcNAc 转移到蛋白质丝氨酸或苏氨酸残基上, OGA 则将 GlcNAc 基团水解下来。OGT 的氨基酸序列从线虫到人高度保守, 其在人体各个组织中都有表达, 尤其是在对葡萄糖敏感的脑和胰腺中。不同于经典的 N-连接或 O-连接的糖基化修饰, O-GlcNAc 修饰主要有 4 个特征: (1) 修饰的蛋白质种类广泛, 大多数为胞质蛋白或核蛋白, 细胞外蛋白很少^[21]; (2) O-GlcNAc 基团并不进一步延伸形成寡聚糖复合物; (3) O-GlcNAc 修饰具有高度的动态性, 受应激、激素、营养物质等细胞外环境变化的影响而处于快速循环之中^[22-23], 这一点与磷酸化相似; (4) 很多已知的 O-GlcNAc 修饰蛋白也可以被磷酸化修饰, 其修饰的氨基酸位点相同或相近^[24-25], 如 AKT^[26]、CREB^[27] 蛋白, 并且两种修饰存在竞争性抑制关系, 协同作用调节转录因子、激酶等蛋白质的功能, 从而在细胞信号转导过程中起重要作用^[24]。

包括分子伴侣、转录因子、RNA 聚合酶 II、核孔蛋白、RNA 结合蛋白、激酶、细胞骨架蛋白在内的 1 000 多种蛋白质可以被 O-GlcNAc 修饰, 它们参与了转录、翻译、细胞信号转导、细胞周期以及突触可塑性等多种生理过程的调节^[28]。O-GlcNAc 修饰对蛋白质功能的调节主要体现在以下 5 个方面。(1) 调节蛋白质的磷酸化。研究发现, O-GlcNAc 基团和 O-磷酸基团会竞争性地与蛋白质上一些相同或相邻的丝氨酸或苏氨酸残基结合。如应激状态下, 活化的 p53 的 149 位氨基酸被 O-GlcNAc 修饰, 该修饰抑制了 155 位苏氨酸的磷酸化, 而磷酸化水平降低会减弱 p53 与泛素连接酶 Mdm2 的相互作用, 使得 p53 泛素化水平降低^[29]。(2) 影响蛋白质的降解。O-GlcNAc 修饰可通过调节蛋白质泛素化水平或蛋白酶体的活性来调控蛋白质的降解。(3) 改变蛋白质在细胞内的定位。例如, NeuroD1 是表达在神经元和胰岛 β 细胞内的转录因子, 具有控制神经元分化及胰岛素基因表达的功能。当血糖浓度升高后, NeuroD1 的 O-GlcNAc 修饰增强, 随即从胞质转移到核内, 启动胰岛素基因的表达^[30]。(4) 影响蛋白质间的相互作用。例如, 转录因子 SP1 富含谷氨酸的结构域 SpE 被 O-GlcNAc 修饰后, 抑制了 SP1 与 TATA 结合蛋白相关因子 110 (TAF110) 的相互作用^[31]。(5) 调节转录。O-GlcNAc 可修饰细胞内很多转录因子, 并影响它们的转录活性。

O-GlcNAc 修饰的供体尿苷二磷酸 -N- 乙酰氨基葡萄糖 (UDP-GlcNAc) 是氨基己糖生物合成途径 (hexosamine biosynthetic pathway, HBP) 的代谢终产

物。人体内 1%~5% 的葡萄糖参与此代谢途径。HBP 的限速酶是葡糖胺 - 果糖 -6- 磷酸氨基转移酶 (glutamine:fructose-6-phosphate amidotransferase 1, GFAT1), 其将 6-磷酸果糖转换为 6-磷酸葡糖胺。GFAT1 受到酶促反应产物 6-磷酸葡糖胺及 HBP 终产物 UDP-GlcNAc 的负反馈调节^[20, 32]。UDP-GlcNAc 在细胞内的丰度受到葡萄糖、游离脂肪酸、尿苷、谷氨酰胺含量的影响。当体内葡萄糖、谷氨酰胺含量升高时, UDP-GlcNAc 含量随之升高。OGT 对于 UDP-GlcNAc 在细胞内的微量变化十分敏感, 当 UDP-GlcNAc 由于营养物质过剩略有升高时, OGT 就会催化体内大量蛋白发生 O-GlcNAc 修饰。因此, 越来越多的研究表明, O-GlcNAc 可作为营养物质的感受器对机体营养代谢产生调节作用^[22-23]。

3 O-GlcNAc修饰调节昼夜节律

3.1 O-GlcNAc修饰核心生物钟蛋白

自 2011 年起, 国内外研究相继报道了核心生物钟蛋白可以被 O-GlcNAc 修饰。Durgan 等^[33] 在小鼠肝脏组织中检测到 BMAL1 和 PER1 蛋白的 O-GlcNAc 修饰; Ma 等^[34] 在 HEK293 细胞及小鼠肝脏中证明 BMAL1 可以被 O-GlcNAc 修饰; Li 等^[35] 在 U2OS、HEK293T 细胞及小鼠肝脏中证明 BMAL1 和 CLOCK 可以被 O-GlcNAc 修饰; Kim 等^[36] 在果蝇中证明 dPER 蛋白的 O-GlcNAc 修饰; Kaasik 等^[37] 在果蝇 S2 细胞中证明 dCLK、dPER 可以被 O-GlcNAc 修饰, 同时在 HEK293 细胞中证明 PER2、CLOCK 蛋白可以被 O-GlcNAc 修饰。体外及体内实验均证明生物钟蛋白 BMAL1、CLOCK、dCLK、dPER 的 O-GlcNAc 修饰具有节律性。

Durgan 等^[33] 在小鼠心脏中检测到 *Ogt* 基因在 mRNA 和蛋白质水平呈节律性表达, mRNA 在 ZT12 (ZT: zeitgeber time) 时达到峰值, OGT 蛋白在 ZT18 时达到峰值。而在心肌细胞特异性突变 *Clock* 基因的小鼠中, *Ogt* 基因的 mRNA 和蛋白质水平的节律消失。Li 等^[35] 在小鼠肝脏中同样发现 *Ogt* 基因 mRNA 表达具有节律性。Kaasik 等^[37] 发现小鼠肝脏中 OGA 蛋白表达水平具有节律性, 在 CT8 (CT: circadian time) 时表达最高。虽然肝脏中 OGT 蛋白表达水平不具有节律性, 但是由于其催化活性受到 GSK3 β 激酶以及 OGT 自身 O-GlcNAc 糖基化调节, 结果导致其活性表现出节律性。

3.2 O-GlcNAc修饰调节昼夜节律

将受 *Bmal1* 启动子调控的荧光素酶导入细胞,

在同步化之后, 可以观察到荧光素酶活性的节律变化, 从而在细胞水平来研究昼夜节律^[38]。当用 O-GlcNAc 修饰的抑制剂 DON (6-diazo-5-oxo-L-norleucine) 或者重氮乙酰丝氨酸处理细胞之后, *Bmal1* 启动子调控的荧光素酶节律下降, 而且节律周期延长; 而 RNA 干扰 OGT 表达后, 细胞的节律也明显减弱^[34-35]。本课题组的研究发现, 在 NIH3T3 细胞中加入 O-GlcNAc 修饰的抑制剂 DON 导致一些生物钟基因表达降低^[34]。Li 等^[35] 通过改变培养基中葡萄糖浓度 (5 mmol/L 和 25 mmol/L) 来调节蛋白质的 O-GlcNAc 修饰水平, 结果发现, 低糖条件 (5 mmol/L) 下, *Bmal1*、*Cry1* 基因的 mRNA 表达水平降低; RNA 干扰 HBP 的限速酶 GFAT1 和 OGT 出现相同现象。有意思的是, Kaasik 等^[37] 利用来源于 *Per2-luciferase* 基因敲入小鼠的原代胚胎成纤维细胞进行研究, 发现 OGT 抑制剂 Alloxan 使得细胞节律周期缩短, 而 OGA 抑制剂 PUGNAc 则延长了节律周期。

在果蝇的节律神经元中干扰 dOGT 或过表达 OGA 后, 果蝇的昼夜节律周期明显缩短, 由近似 24 h 缩短到 21.7 h, 而过表达 OGT 或 RNA 干扰 OGA 的果蝇其活动期增长至 26.5 h^[36-37]。因此, O-GlcNAc 修饰可以调节昼夜节律的周期长短和振幅高低。

3.3 O-GlcNAc修饰调控节律蛋白的转录活性

Ma 等^[34] 研究表明, DON 处理细胞后, *Bmal1*、*Dbp*、*Per2*、*Rev-erba* 基因表达下调; 荧光素酶报告实验表明, 过表达 OGA 或加入 DON 均可抑制 BMAL1/CLOCK 的转录活性。Li 等^[35] 研究发现, U2OS 细胞中提高 OGT 蛋白表达水平可增强节律基因 *Per2*、*Cry1* 表达; 小鼠原代肝脏细胞敲除 OGT 后, CLOCK / BMAL1 靶基因 *Per1*、*Per2*、*Cry1* 及 *Rorc* 表达明显下调。利用腺病毒载体在小鼠肝脏过表达 OGT 后, 肝脏组织中 CLOCK / BMAL1 下游节律基因表达也增强。然而, 在果蝇中, O-GlcNAc 修饰对生物钟蛋白转录活性的调节与哺乳动物有所不同。Kaasik 等^[37] 发现过表达 OGT 导致 dCLK 转录活性降低, 而过表达 OGA 导致 dCLK 转录活性升高。不仅如此, 糖基化修饰增强了 dPER 对 dCLK 转录活性的抑制效应。过表达 OGT 后, dCLK 靶基因 *tim*、*dper* 的表达水平下调, 节律时相延后。RNAi 干扰 OGT 表达时, *tim*、*dper*、*Vri* 基因表达上调, 且时相提前。

3.4 O-GlcNAc修饰增强节律蛋白稳定性

本课题组的研究发现, O-GlcNAc 修饰抑制剂

DON 处理 NIH3T3 细胞后, 细胞内源性 BMAL1 蛋白半衰期明显缩短, 蛋白质的稳定性降低, 过表达 OGA 后观察到相似现象^[34]。Li 等^[35] 研究发现, OGA 抑制剂 PUGNAc 处理细胞导致 BMAL1 蛋白泛素化水平下降, O-GlcNAc 修饰位点 (S418) 发生突变的 BMAL1 突变体 (S418A) 较野生型泛素化水平升高。过表达 OGT 可增强 CLOCK 蛋白稳定性, 并明显降低其泛素化水平。

果蝇模型中, 过表达 OGT 使得 dPER、dCLK 蛋白丰度增加, 而干扰 OGT 则使生物钟蛋白的表达水平降低。果蝇的 DOUBLE TIME (DBT) 蛋白可催化胞浆中的 dPER 蛋白磷酸化, 进而被蛋白酶体降解。当过表达 OGT 时, dPER 经 DBT 介导的蛋白质降解过程被阻抑^[36]。

3.5 O-GlcNAc修饰调节dPER在细胞内的定位

果蝇脑内小腹外侧神经元 (s-LNvs) 是维持果蝇 24 h 运动节律的中枢。Kim 等^[36] 发现, 在 ZT18、19 时, 野生型果蝇 s-LNvs 内的 dPER 蛋白主要分布在胞质中; 从 ZT20 开始, dPER 开始向细胞核内转移; 到 ZT22 时, dPER 几乎定位于核内。而在沉默 *Ogt* 基因的果蝇中, dPER 在细胞内的转运时相整体提前: ZT18 时, 胞质与胞核中均可以检测到 dPER; 而在 ZT21 时, dPER 就已经完全转移到细胞核内。

3.6 O-GlcNAc修饰改变PER2的磷酸化水平

Kaasik 等^[37] 发现人 PER2 蛋白的 662 与 671 位丝氨酸被 O-GlcNAc 修饰, 正好位于 PER2 蛋白磷酸化区域 (622~674)。过表达 OGT 导致 PER2 蛋白丝氨酸 662 磷酸化水平降低。在高糖 (25 mmol/L) 条件下, PER2 蛋白 O-GlcNAc 糖基化水平升高, 同时其 662、665、668 丝氨酸磷酸化水平降低。由于 PER2 的磷酸化对于蛋白质转移入核, 完成对 CLOCK / BMAL1 的负反馈调节具有重要意义, O-GlcNAc 修饰可能通过改变节律蛋白的磷酸化水平参与昼夜节律的调节。

4 展望

昼夜节律和能量代谢之间存在着密切联系。一方面, 昼夜节律调控能量代谢^[39-42]。通过分析哺乳动物肝脏、骨骼肌、棕色和白色脂肪组织的基因表达, 发现有 3% ~ 20% 的基因表达表现出昼夜节律。在这些节律性表达的基因中, 许多都参与到包括胆固醇和脂质代谢、糖酵解、糖异生、氧化磷酸化及肝脏解毒过程中。不仅这些直接参与机体生化代谢反应的基因节律性表达, 许多与营养代谢相关的转录

因子的表达也具有节律性^[43-45]。越来越多的研究发现, 昼夜节律对于维持身体的能量代谢稳态具有重要意义。Hatori 等^[46]发现, 给小鼠喂食高脂食物导致肥胖的主要原因是影响了进食时间, 即小鼠在白天(安静期)的摄食增多; 如果将小鼠的摄食时间控制在晚上, 在摄入相同热量的情况下, 并没有表现出肥胖、高胰岛素血症、肝脂质沉积等代谢异常。Marcheva 等^[47]发现, *Clock* 基因突变小鼠的胰岛减小, 功能缺损, 进而出现高血糖症及饮食诱导的肥胖。胰腺特异性敲除 *Bmal1* 的小鼠表现出严重的高血糖、葡萄糖耐受损伤及进行性胰岛 β 细胞死亡。

另一方面, 机体的营养代谢也反过来影响昼夜

节律, 特别是外周组织生物钟。一个明显的例子就是, 将小鼠摄食的时间限制在白天(安静期)时, 外周生物钟的时相与正常情况下几乎相反, 但是介导营养代谢调节昼夜节律的分子基础并不十分清楚。目前研究发现, PGC-1 α ^[48]、PARP-1^[49] 等都可能参与该调节途径。蛋白质 O-GlcNAc 修饰受到细胞内葡萄糖、游离脂肪酸、尿苷、谷氨酰胺含量的影响。已有的研究表明, O-GlcNAc 修饰可以从多个方面影响生物钟蛋白的功能(表1)。因此, O-GlcNAc 修饰为机体营养代谢调节昼夜节律提供了新的分子机制, 也为治疗代谢疾病与昼夜节律紊乱提供了新的药物靶点。

表1 O-GlcNAc修饰对生物钟蛋白功能的调节作用

O-GlcNAc修饰蛋白	修饰位点	功能调节	参考文献
哺乳动物			
CLOCK	?	转录活性、稳定性	[36,38]
BMAL1	Ser418	转录活性、稳定性	[34-36]
PER1	?	?	[34]
PER2	Ser662	稳定性	[38]
	Ser671	蛋白质磷酸化	
果蝇			
dCLK	?	转录活性	[38]
dPER	?	稳定性、亚细胞定位	[37-38]

[参 考 文 献]

- Ishida N, Kaneko M, Allada R. Biological clocks. Proc Natl Acad Sci USA, 1999, 96(16): 8819-20
- Reppert SM, Weaver DR. Coordination of circadian timing in mammals. Nature, 2002, 418(6901): 935-41
- Albrecht U, Eichele G. The mammalian circadian clock. Curr Opin Genet Dev, 2003, 13(3): 271-7
- Dibner C, Schibler U, Albrecht U. The mammalian circadian timing system: organization and coordination of central and peripheral clocks. Annu Rev Physiol, 2010, 72: 517-49
- Mohawk JA, Green CB, Takahashi JS. Central and peripheral circadian clocks in mammals. Annu Rev Neurosci, 2012, 35: 445-62
- Guler AD, Ecker JL, Lall GS, et al. Melanopsin cells are the principal conduits for rod-cone input to non-image-forming vision. Nature, 2008, 453(7191): 102-5
- Hattar S, Liao HW, Takao M, et al. Melanopsin-containing retinal ganglion cells: architecture, projections, and intrinsic photosensitivity. Science, 2002, 295(5557): 1065-70
- Albrecht U. Timing to perfection: the biology of central and peripheral circadian clocks. Neuron, 2012, 74(2): 246-60
- Allada R, Chung BY. Circadian organization of behavior and physiology in *Drosophila*. Annu Rev Physiol, 2010, 72: 605-24
- Williams JA, Sehgal A. Molecular components of the circadian system in *Drosophila*. Annu Rev Physiol, 2001, 63: 729-55
- Lim C, Allada R. Emerging roles for post-transcriptional regulation in circadian clocks. Nat Neurosci, 2013, 16(11): 1544-50
- Mehra A, Baker CL, Loros JJ, et al. Post-translational modifications in circadian rhythms. Trends Biochem Sci, 2009, 34(10): 483-90
- Meng QJ, Logunova L, Maywood ES, et al. Setting clock speed in mammals: the CK1 epsilon tau mutation in mice accelerates circadian pacemakers by selectively destabilizing PERIOD proteins. Neuron, 2008, 58(1): 78-88
- Lamia KA, Sachdeva UM, DiTacchio L, et al. AMPK regulates the circadian clock by cryptochrome phosphorylation and degradation. Science, 2009, 326(5951): 437-40
- Doi M, Hirayama J, Sassone-Corsi P. Circadian regulator CLOCK is a histone acetyltransferase. Cell, 2006, 125(3): 497-508
- Hirayama J, Sahar S, Grimaldi B, et al. CLOCK-mediated acetylation of BMAL1 controls circadian function. Nature, 2007, 450(7172): 1086-90

- [17] Cardone L, Hirayama J, Giordano F, et al. Circadian clock control by SUMOylation of BMAL1. *Science*, 2005, 309(5739): 1390-4
- [18] Nakahata Y, Kaluzova M, Grimaldi B, et al. The NAD⁺-dependent deacetylase SIRT1 modulates CLOCK-mediated chromatin remodeling and circadian control. *Cell*, 2008, 134(2): 329-40
- [19] Asher G, Gattfield D, Stratmann M, et al. SIRT1 regulates circadian clock gene expression through PER2 deacetylation. *Cell*, 2008, 134(2): 317-28
- [20] Hart GW, Housley MP, Slawson C. Cycling of O-linked β -N-acetylglucosamine on nucleocytoplasmic proteins. *Nature*, 2007, 446(7139): 1017-22
- [21] 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
- [22] Ruan HB, Singh JP, Li MD, et al. Cracking the O-GlcNAc code in metabolism. *Trends Endocrinol Metab*, 2013, 24(6): 301-9
- [23] Bond MR, Hanover JA. O-GlcNAc cycling: a link between metabolism and chronic disease. *Annu Rev Nutr*, 2013, 33: 205-29
- [24] 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
- [25] 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(37): 13793-8
- [26] Wang S, Huang X, Sun D, et al. Extensive crosstalk between O-GlcNAcylation and phosphorylation regulates Akt signaling. *PLoS One*, 2012, 7(5): e37427
- [27] Rexach JE, Clark PM, Mason DE, et al. Dynamic O-GlcNAc modification regulates CREB-mediated gene expression and memory formation. *Nat Chem Biol*, 2012, 8(3): 253-61
- [28] Zachara NE, Hart GW. Cell signaling, the essential role of O-GlcNAc! *Biochim Biophys Acta*, 2006, 1761(5-6): 599-617
- [29] 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
- [30] Andrali SS, Qian Q, Ozcan S. Glucose mediates the translocation of NeuroD1 by O-linked glycosylation. *J Biol Chem*, 2007, 282(21): 15589-96
- [31] Roos MD, Su K, Baker JR, et al. O glycosylation of an Sp1-derived peptide blocks known Sp1 protein interactions. *Mol Cell Biol*, 1997, 17(11): 6472-80
- [32] Hanover JA, Krause MW, Love DC. The hexosamine signaling pathway: O-GlcNAc cycling in feast or famine. *Biochim Biophys Acta*, 2010, 1800(2): 80-95
- [33] Durgan DJ, Pat BM, Laczy B, et al. O-GlcNAcylation, novel post-translational modification linking myocardial metabolism and cardiomyocyte circadian clock. *J Biol Chem*, 2011, 286(52): 44606-19
- [34] Ma YT, Luo H, Guan WJ, et al. O-GlcNAcylation of BMAL1 regulates circadian rhythms in NIH3T3 fibroblasts. *Biochem Biophys Res Commun*, 2013, 431(3): 382-7
- [35] Li MD, Ruan HB, Hughes ME, et al. O-GlcNAc signaling entrains the circadian clock by inhibiting BMAL1/CLOCK ubiquitination. *Cell Metab*, 2013, 17(2): 303-10
- [36] Kim EY, Jeong EH, Park S, et al. A role for O-GlcNAcylation in setting circadian clock speed. *Genes Dev*, 2012, 26(5): 490-502
- [37] Kaasik K, Kivimae S, Allen JJ, et al. Glucose sensor O-GlcNAcylation coordinates with phosphorylation to regulate circadian clock. *Cell Metab*, 2013, 17(2): 291-302
- [38] Izumo M, Johnson CH, Yamazaki S. Circadian gene expression in mammalian fibroblasts revealed by real-time luminescence reporting: temperature compensation and damping. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2003, 100(26): 16089-94
- [39] Asher G, Schibler U. Crosstalk between components of circadian and metabolic cycles in mammals. *Cell Metab*, 2011, 13(2): 125-37
- [40] Bass J. Circadian topology of metabolism. *Nature*, 2012, 491(7424): 348-56
- [41] Bass J, Takahashi JS. Circadian integration of metabolism and energetics. *Science*, 2010, 330(6009): 1349-54
- [42] Green CB, Takahashi JS, Bass J. The meter of metabolism. *Cell*, 2008, 134(5): 728-42
- [43] Akhtar RA, Reddy AB, Maywood ES, et al. Circadian cycling of the mouse liver transcriptome, as revealed by cDNA microarray, is driven by the suprachiasmatic nucleus. *Curr Biol*, 2002, 12(7): 540-50
- [44] Panda S, Antoch MP, Miller BH, et al. Coordinated transcription of key pathways in the mouse by the circadian clock. *Cell*, 2002, 109(3): 307-20
- [45] Storch KF, Lipan O, Leykin I, et al. Extensive and divergent circadian gene expression in liver and heart. *Nature*, 2002, 417(6884): 78-83
- [46] Hatori M, Vollmers C, Zarrinpar A, et al. Time-restricted feeding without reducing caloric intake prevents metabolic diseases in mice fed a high-fat diet. *Cell Metab*, 2012, 15(6): 848-60
- [47] Marcheva B, Ramsey KM, Buhr ED, et al. Disruption of the clock components CLOCK and BMAL1 leads to hypoinsulinaemia and diabetes. *Nature*, 2010, 466(7306): 627-31
- [48] Liu C, Li S, Liu T, et al. Transcriptional coactivator PGC-1 α integrates the mammalian clock and energy metabolism. *Nature*, 2007, 447(7143): 477-81
- [49] Asher G, Reinke H, Altmeyer M, et al. Poly(ADP-ribose) polymerase 1 participates in the phase entrainment of circadian clocks to feeding. *Cell*, 2010, 142(6): 943-53