DOI: 10.13376/j.cbls/2018058
文章编号：1004-0374(2018)04-0480-11

应万涛，军事科学院军事医学研究院生命组学研究所副研究员 / 硕导、生物质谱与糖蛋白质组学实验室独立 PI。北京市科技新星、总后勤部优秀科技人才扶持对象。1998 年本科毕业于中国人民解放军国防科学技术大学，2004 年获军事医学科学院博士学位。1998 年至今，致力于发展规模化蛋白质分离、鉴定与定量研究的新技术，及其在肿瘤等重大疾病蛋白质组研究中的应用；重点开展糖蛋白质结构解析质谱新方法及其应用、核心岩藻糖修饰规模化鉴定与肿瘤标志物发现等研究工作。以第一作者或通讯作者，发表 SCI 论文 40 余篇，参编 11 部专著或译著。获评国家科技进步奖“创新团队奖”、北京市科学技术奖一等奖各一项。

糖基化蛋白质组学：结构、功能和研究方法

张　勇，沈丙权，秦伟捷，钱小红，应万涛*
(军事科学院军事医学研究院生命组学研究所蛋白质组学国家重点实验室，
北京蛋白质组研究中心，国家蛋白质科学中心-北京，北京 102206)

摘　要：蛋白质糖基化修饰结构多样、分布广泛，以 N- 糖基化、O-GalNAc 糖基化和 O-GlcNAc 糖基化等不同修饰形式存在。糖修饰以各种方式广泛参与基本生物学过程，包括基因转录、蛋白质翻译、信号转导、细胞 - 细胞间以及宿主 - 病原体相互作用等。糖基化修饰的异常变化与多种重要疾病的发生发展相关，包括免疫性疾病、肿瘤、先天性糖缺陷等。该文系统展示几种常见糖修饰的结构、参与的生理病理过程，以及最新的研究方法，尤其是糖修饰蛋白质或肽段的特异性富集方法和基于质谱的序列分析方法进展，以期丰富糖修饰蛋白质的研究手段，为糖蛋白质功能机制研究、疾病治疗靶标或候选标志物的发现提供新视角。

关键词：糖基化修饰；亲和富集；质谱；肿瘤
中图分类号：Q51；R730.23；R917　　**文献标志码**：A

Glycoproteomics: structure, function and methods

ZHANG Yong, SHEN Bing-Quan, QIN Wei-Jie, QIAN Xiao-Hong, YING Wan-Tao*
(State Key Laboratory of Proteomics, Beijing Institute of Lifeomics, Beijing Proteome Research Center,
National Center for Protein Sciences (Beijing), Beijing 102206, China)

Abstract: Glycosylation of proteins is diverse in structure, widely distributed and exists in various forms such as N-glycosylation, O-GalNAcylation and O-GlcNAcylation. Different glycosylations are involved in a variety of biological processes, including gene transcription, protein translation, cell signaling, cell-cell and host-pathogen interactions. Abnormal changes in glycosylation are related to the occurrence and development of various important diseases, such as immune diseases, cancer, and congenital disorders of glycosylation. This article introduces several common types of glycosylation, the physiological and pathological processes they involved, and the advances in

收稿日期：2017-12-18
基金项目：国家重点研发计划(2017YFF0205400，2016YFA0501300)；国家自然科学基金重点项目(81530021)
***通信作者**：E-mail: proteomics@126.com

research methods, specifically the enrichment methods, as well as advances in mass spectrometry. The review is expected to broaden the knowledge on glycoproteomics and to provide novel perspectives for the function of glycoproteins, and drug targets or candidate biomarkers discovery.

Key words: glycosylation; affinity enrichment; mass spectrometry; tumor

1　蛋白质糖基化概述

蛋白质糖基化是一种广泛存在、结构复杂多变的蛋白质翻译后修饰，在细胞和机体内发挥着重要功能，其变化参与调节细胞识别、黏附、信号转导等重要生物学过程，从而导致炎症、肿瘤等疾病的发生[1-3]。根据连接氨基酸残基不同，糖基化主要分为 N- 糖基化和 O- 糖基化两大类，而 O- 糖基化又包括 O-GalNAc、O-GlcNAc、O-Man、O-Fuc、O-Xyl、O-Gal、O-Glc 等。与核酸和蛋白质的生物合成不同，糖基化修饰反应不依赖于模板，是一系列代谢和酶促反应网络、基因和环境等因素影响所导致的结果。目前研究较为深入的 N- 糖基化、O-GalNAc 糖基化以及 O-GlcNAc 糖基化在哺乳细胞内的合成途径如图 1 所示。

N- 糖基化修饰是生物体内最常见和最丰富的蛋白质翻译后修饰之一，在内质网表面经糖基转移酶 (oligosaccharyltransferase, OST) 催化，聚糖分子与新生成蛋白质的天冬酰胺残基通过 N- 糖苷键连接，并进入内质网和高尔基体内发生一系列后续加工[4]。N- 糖基化修饰通常发生在保守的氨基酸基序 Asn-X-Thr/Ser (X ≠ P) 中，根据五糖核心外围糖链的延长方式不同，N- 糖基化修饰又可以分为高甘露糖型、杂合型和复合型 3 种类型，不同种类的糖链结构各自发挥重要的调控功能[5]。

O-GalNAc 糖基化是 O- 糖基化的一种类型，是指氧连接的 β-N- 乙酰半乳糖胺 (O-GalNAc) 单糖以 α-O- 糖苷键与蛋白质上的丝氨酸或苏氨酸残基上 (少数存在于酪氨酸) 的羟基相连接，是蛋白质糖基化修饰中结构最复杂的类型。O-GalNAc 糖基化是从最初产生单个 GalNAc (Tn 抗原) 结构开始并延伸的[6]，在高尔基体和内质网中经系列酶加工而成。哺乳动物细胞中可能表达的 GalNAc 转移酶同工酶 (GalNAc-Ts) 有 20 余种，共同催化产生复杂的糖链结构，常见的 O-GalNAc 修饰核心结构有 8 种，并进一步分枝和延伸形成复杂多样的糖链[7-8]。早期研究认为，O-GalNAc 是聚集发生在黏蛋白上或黏蛋白样结构域中，所以又称为黏蛋白 (mucin) 类型糖基化。如今越来越多的证据表明，O-GalNAc 也广泛地存在于那些不含黏蛋白样结构域的蛋白质中[9]。

氧连接的 β-N- 乙酰葡萄糖胺 (O-GlcNAc) 修饰是由 Torres 和 Hart[10] 于 1984 年首次在鼠淋巴细胞中发现，主要存在于细胞核、细胞质及线粒体中[11]。其以 UDP-GlcNAc 为直接糖供体[12]，在 O-GlcNAc 糖基转移酶 (O-GlcNAc transferase, OGT) 的催化作用下，经 O- 糖苷键将 GlcNAc 连接到蛋白质的丝氨酸或苏氨酸的羟基上，GlcNAc 也可以在 O-GlcNAc 糖苷酶 (O-GlcNAcase, OGA) 的作用下被动态移除[13]。迄今为止，仅发现存在编码序列高度保守的糖基转移酶 OGT 与糖苷酶 OGA 这一对关键酶参与 O-GlcNAc 糖基化修饰调控，推测 O-GlcNAc 调控的分子机制是 OGT 或 OGA 通过与一些重要的辅助蛋白形成蛋白复合体，以实现对成千上万种底物的特异性识别[14-15]。目前已发现 4 000 多种 O-GlcNAc 糖基化蛋白质[16]，包括细胞骨架蛋白、核孔蛋白、转录因子、激酶、组蛋白等。它们以类似磷酸化的作用方式广泛参与多种细胞进程[17]，如信号转导[18]、基因表达[19]、转录调控[20]、细胞代谢[21]、蛋白质降解[22] 和细胞周期调控[23] 等。

2　糖基化修饰蛋白质组学研究方法

2.1　糖基化修饰鉴定的技术挑战

蛋白质可能含有多个糖修饰位点，每个位点上糖链种类 (O- 糖或 N- 糖) 及糖链占用率可能不同 (宏观不均一性)，而在某一个位点上可能包含多种不同的糖链结构 (微观不均一性)[28]。如人结合珠蛋白含有 4 个 N- 糖基化位点，每个位点糖链占用率以及含有的糖型数目和种类又各不相同[29]；从人 C1 抑制剂上鉴定到 10 个 O- 糖基化位点，而每个位点上主要是核心 1 型的 O- 糖[30]；IgA1 分子具有 2 个 N 糖基化位点，同时在其铰链区聚集地存在 9 个潜在 O- 糖基化位点，每个位点糖型也各异[31]。上述糖链结构的宏观和微观不均一性需要在糖蛋白结构分析中逐个解析，因此给分析技术带来了巨大的挑战。

对糖基化修饰的结构鉴定及表达丰度定量变化的监控[32-33]，可以促进对糖修饰在生理与病理过程

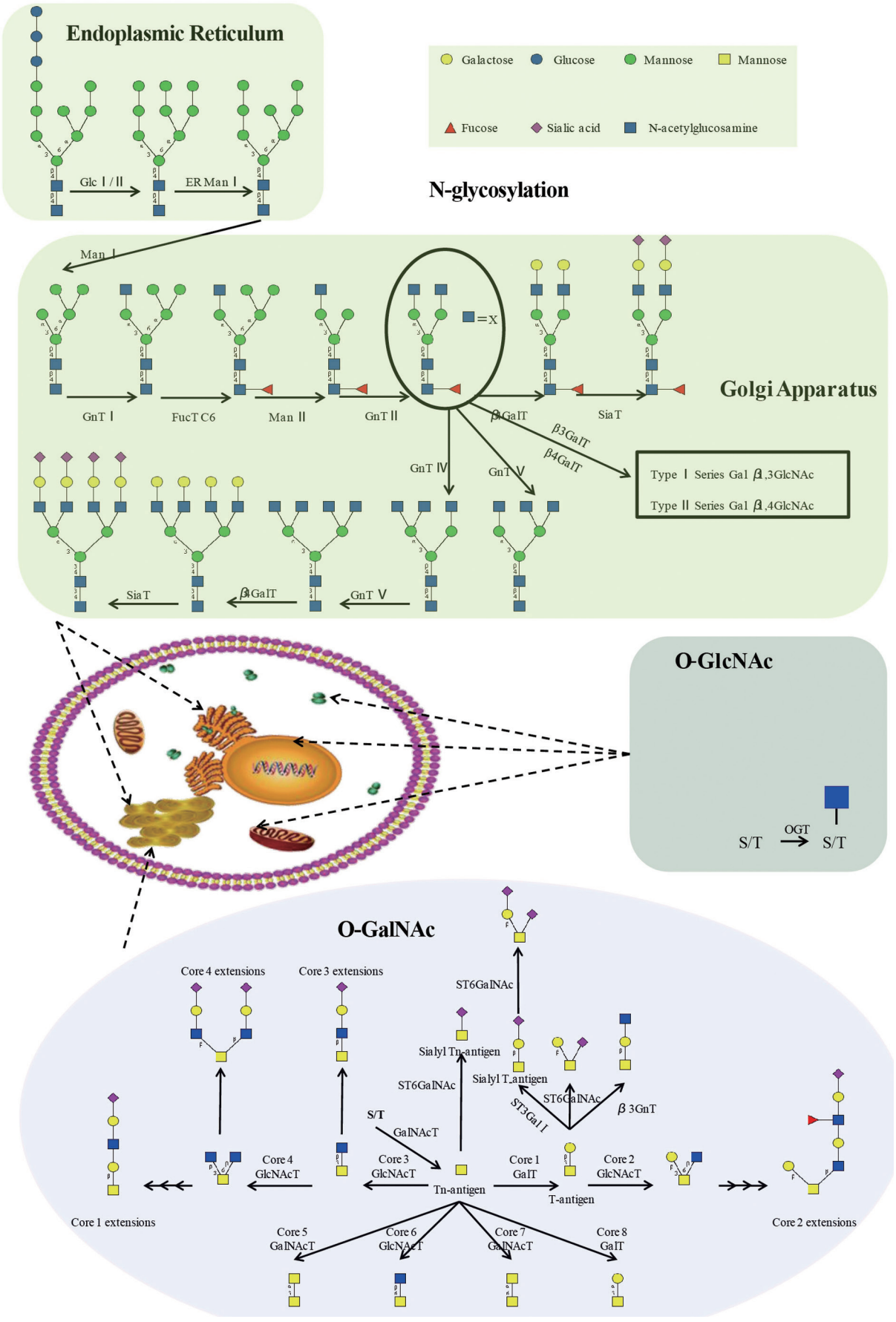

图1 哺乳动物细胞内糖基化(N-糖基化、O-GalNAc和O-GlcNAc)的合成途径[24-27]

中功能的全面认识。针对糖基化修饰研究的技术策略常分为两种，一种是将糖链释放，糖链与修饰位点分别解析；另一种则是直接开展完整糖肽的结构解析。近年来的研究更多地关注完整糖肽的分离分析。完整糖肽结构解析的优点是保留了肽段和糖链的全部信息，但同时对研究技术也提出了较高的挑战：(1) 完整糖肽糖型种类复杂，大部分糖肽丰度水平很低，要求特异性的富集和高灵敏度鉴定技术；(2) 在质谱分析中，糖链可能优先碎裂或发生中性丢失现象，导致肽段碎裂不充分；(3) 某些糖基化修饰是动态变化的 (如 O-GlcNAc)，并且在细胞裂解过程中糖苷键容易被破坏；(4) 完整糖肽的谱图更为复杂，需要合适的数据库搜索软件和解析工具。鉴于上述挑战，建立高效、高特异性、高灵敏度的糖基化修饰规模化富集和分析方法是对糖基化进行深入研究的关键。

2.2　糖修饰蛋白质/肽段富集方法

为了降低非糖肽的干扰，提高低丰度糖肽的检测效果，糖蛋白质分析需要重点解决的是糖肽的特异性富集，然后是发展针对性的质谱序列解析方法 [33-35]。针对 N- 糖和 O-GalNAc 修饰肽段的富集方法，常用的有基于凝集素与糖链特异性识别的凝集素亲和富集、基于硼原子与顺式临位二醇反应的硼酸亲和富集、基于糖链亲水特征的亲水色谱富集以及基于糖肽质量数的分子排阻色谱等 [36]。上述富集方法都保留了糖链与肽段的完整结构，属于非破坏性富集技术。与其对应的是将糖链临位二醇开环氧化形成二醛的肼化学富集方法，虽然该技术具备针对糖肽较高的特异性，但该方法破坏了糖环的天然结构，导致其难以满足完整糖肽的结构鉴定和定量的需求 [37]。

相对于 N- 糖和 O-GalNAc 修饰，O-GlcNAc 修饰在 S/T 目标氨基酸上添加单个 GlcNAc 基团，不存在糖链结构的多样性。但较短的糖链结构，降低了糖链亲水能力，加大了选择性富集的难度。因此，针对 O-GlcNAc 修饰，除了凝集素富集和亲水富集方法之外，近年又新发展了代谢标记、化学酶标记、β 消除反应法 (BEMAD) 和抗体法等富集方法。

代谢标记法是指将具有叠氮基 [38-39] 等特殊修饰基团的 GlcNAc 类似物通过细胞培养进入代谢途径，转化成 UDP-GlcNAc 类似物，进而在糖基转移酶 OGT 的催化下发生 O-GlcNAc 糖基化修饰的过程，而叠氮基可与炔基发生特异性化学反应以引入生物素等易于检测或富集的标签，从而确定 O-GlcNAc 糖基化修饰的存在。叠氮基与炔基的反应特异性强，而且叠氮基团小，对代谢类似物稳定性的影响较小，从而得到广泛应用 [40-41]；但是代谢标记方法的也存在缺陷：细胞更倾向于利用内源性 UDP-GlcNAc，对 UDP-GlcNAz 等类似物的利用率较低，代谢类似物在细胞代谢过程中可能标记其他糖修饰，产生假阳性。

化学酶标记法是指利用半乳糖糖基转移酶突变体 GalT-Y289L，在体外催化 UDP-GalNAz 或 UDP-ketoGal 等类似物与 GlcNAc 糖环的 C4 羟基反应从而形成二糖结构，利用叠氮基团或酮基引入生物素等化学标签试剂，利用生物素与链霉亲和素的相互作用实现对 O-GlcNAc 糖基化修饰蛋白 / 多肽的富集 [42-43]。Zhang 等 [44] 引入了温度敏感均相反应体系，利用 Staudinger-azide 的点击化学反应，实现对叠氮标记的 O-GlcNac 修饰肽段的特异富集，鉴定得到超过 1 700 个可信度高的 O-GlcNAc 修饰蛋白，从而获得目前细胞水平研究中最大规模的 O-GlcNAc 数据集。

BEMAD 法是指将蛋白质丝氨酸或苏氨酸残基上的 O-GlcNAc 糖基化修饰在碱性条件下进行 β 消除反应，在 α 碳和侧链碳原子之间形成不饱和双键，然后与二硫苏糖醇发生米氏加成反应，从而将多肽的 O-GlcNAc 糖基化修饰替换成 DTT 修饰 [45]，常用于 O-GlcNAc 糖基化修饰多肽的富集和修饰位点的鉴定 [46]；但 O-GalNAc 等其他翻译后修饰也会发生 BEMAD 反应而产生假阳性，需要加入样品处理或者对照实验等方法以降低假阳性。

抗体因其比凝集素具有更强的特异性和更高的亲和力，而被广泛应用于 O-GlcNAc 糖基化修饰蛋白的检测与富集。研究人员针对 O-GlcNAc 糖基化修饰已开发出多种抗体 [47]，目前最常用的两种抗体是 RL2[48] 和 CTD110.6[49]，已经成为研究 O-GlcNAc 糖基化修饰的常备工具 [50]。由于制备这些抗体的抗原主要选择特定蛋白或肽段，而糖的免疫原性又很低，导致产生的抗体具有亲和力较弱、偏爱 O-GlcNAc 修饰丰度较高或簇生的蛋白、具有一定的肽段序列依赖性等问题 [51-52]，并且 CTD110.6 属于 IgM 抗体，不容易被固定到胶珠或其他固相介质上，不利于后续的亲和富集。因此，制备亲和性强、选择性好、非底物氨基酸序列依赖的 O-GlcNAc 糖基化修饰特异性抗体仍然是该领域的迫切需求。

2.3　糖修饰肽段质谱鉴定方法

生物质谱是最常用的糖链结构解析工具，常用

的技术包括基质辅助激光解吸附离子化 - 飞行时间质谱 (MALDI-TOF-MS) 以及液相色谱 - 电喷雾串联质谱 (LC-MS/MS) 等，常用的串联质谱肽段碎裂模式包括碰撞诱导解离 (CID)、高能诱导解离 (HCD)、电子转移解离 (ETD) 等 [53]。目前基于质谱的糖蛋白 / 糖肽结构鉴定技术取得了长足发展，包括样品制备、质谱采集、数据分析等，而且有多篇综述 [54-58]，本文不再赘述，但是该领域仍然存在诸多挑战，需要继续发展针对性的质谱分析方法和工具。典型的方法有将 ETD 和 HCD 联用的质谱碎裂技术 EThcD，可以有效提高 O- 糖蛋白质组的鉴定通量、覆盖深度和位点指认的准确度 [59-60]，相信该技术在糖修饰蛋白质组研究中也将获得更为广泛的应用。

3 糖基化修饰广泛参与生理病理过程

3.1 N-糖基化修饰

研究表明，N- 糖基化修饰对于蛋白质的正确折叠、功能定位、胞内运输等起着重要作用，参与信号转导、细胞黏附、细胞 - 细胞相互作用等诸多重要生命过程。在免疫系统中重要的分子，如 IgA、IgD、IgE、IgG、IgM 等都是糖蛋白 [61]，其中研究最深入的蛋白质之一是免疫球蛋白 IgG，该蛋白质在不同的生理和病理条件下，糖基化修饰会发生改变 [62]。Selman 等 [63] 发现，B 细胞在其活化和分化期间接受不同刺激可以调节分泌型 IgG1 的 Fc 区糖基化，但不影响一般的细胞糖基化机制 [64]。据报道，IgG1 的 297 位天冬酰胺上聚糖的类型决定抗体的效应功能，一些聚糖如末端是 GlcNAc 而没有半乳糖的 G0 糖是促炎的，而末端是两个半乳糖的 G2 糖则是抗炎的 [65-66]。除了 IgG 的糖基化会影响受体结合之外，人类白细胞受体Ⅲ a (hFcγR Ⅲ a) 在 162 位天冬酰胺处糖基化也会影响与 IgG 的结合方式 [67]；而其他糖蛋白如 IgA 和 IgM，其糖基化修饰行使的重要功能及与疾病的关联研究仍在探索中。

深入研究 N- 糖基化在肿瘤中扮演的角色，有助于理解肿瘤的发生机制并提供候选诊断标志物和治疗靶点 [68]。肿瘤细胞的糖链结构和糖基化表达水平与正常细胞相比明显不同，常见的变化包括整体唾液酸化程度增高 (如 SLe^x 和 SLe^a)、核心岩藻糖化过表达等。唾液酸化在细胞的识别、细胞黏附和细胞通信方面起着重要作用，在很多恶性肿瘤中 (如结肠癌、胃癌、卵巢癌等)，唾液酸化程度增高 [69-70]。核心岩藻糖化是一些癌症 (如肺癌、肝癌、乳腺癌等) 的重要特征，如甲胎蛋白的核心岩藻糖化是早期肝癌诊断和监测的生物标志物 [71]，表皮生长因子受体 (EGFR) 核心岩藻糖化增加也是乳腺癌的重要特征 [72-73]。Ren 等 [74] 证实 IgG 半乳糖基化分布变化是 12 种癌症 (胃癌、肝癌、肺癌、卵巢癌、结直肠癌、食管癌、胰腺癌、肾癌、前列腺癌、膀胱癌、乳腺癌和宫颈癌) 筛查的一个极有前景的生物标记物。有报道显示，在肿瘤细胞解离和侵袭过程中，上皮钙黏蛋白 (依赖钙离子的Ⅰ型跨膜蛋白) 上的 β1,6-GlcNAc 分枝的 N- 糖链修饰水平的提高可促进肿瘤细胞侵袭 [75]。在肿瘤转移和化学耐药等过程中，免疫球蛋白家族Ⅰ型跨膜蛋白 CD147 可能过表达并高度糖基化 [76]，介导肿瘤相关分子与整合素、亲环素、E 选择素、单羧酸转运蛋白和小窝蛋白 1 的相互作用，从而影响肿瘤的发展进程 [77-79]。在其他一些疾病，如类风湿关节炎 [80]、HIV 感染 [81]、Lambert-Eaton 肌无力综合征 [82]、青少年关节炎 [80]、系统性红斑狼疮 [83] 和全身性血管炎等 [84]，均发现重要蛋白质 N- 糖基化异常变化。导致糖链变化的因素可能包括糖基转移酶的高表达或低表达、糖基转移酶在高尔基体中的定位变化、初期糖链和肽段骨架三维构象的变化、多种受体底物的变异，以及糖核苷受体和辅因子的丰度与可用性等 [85]；同时，糖基转移酶或水解酶突变也会导致严重的糖缺乏糖蛋白综合征 (CDGs)[86]，此类疾病常以转铁蛋白异常 N- 聚糖谱为特征。

生物药 (如单克隆抗体和 Fc 抗体融合蛋白) 是快速发展的一类治疗性药物 [87]，大部分生物药携带糖基化修饰，尤其是 N- 糖修饰。其中重组单抗药物主要是 IgG 型抗体，其包括识别抗原性表位的 Fab 片段和招募分子等作用的 Fc 片段，Fc 片段的 CH_2 区 (Asn297) 和 Fab 片段都可能发生糖基化。其中 Fc 片段糖基化可以促进单抗药物的稳定性和可溶性，减少形成聚体的趋势，并且糖基化水平可以促进或消除抗体的效应子功能 [88]。如无核心岩藻糖可以提高 IgG 与 FcγR Ⅲ a 受体的亲和力，增强抗体依赖的细胞介导的毒性作用 (ADCC)[89]；糖链末端半乳糖苷的存在可以增强补体依赖的细胞毒性作用 (CDC)；唾液酸化程度会影响 ADCC 活性和抗体结构稳定性；末端 GlcNAc 残基可提高 CH_2 区的热稳定性；末端高甘露糖残基对单克隆药物的药代动力学有显著影响等 [90]。随着基因编辑技术的发展，人们可以构建一系列敲除或敲低单个基因或一系列基因的工程细胞用于生产重组单抗药物。例如，Yang 等 [90] 通过 ZFNs 敲除 CHO 细胞的一系列糖基

转移酶，产生了不同种类、糖型一致的重组蛋白人红细胞生成素 (EPO)，如 α-2,3 连接唾液酸加帽的糖链。Rillahan 等 [91] 利用 RNAi 技术在水生植物小浮萍中敲低 α-1,3- 岩藻糖基转移酶和 β-1,2- 木糖基转移酶基因的表达，从而优化了抗人 CD30 的单克隆抗体的糖基化，产生的单克隆抗体糖型均一，ADCC 和效应子功能更强。鉴于生物药糖修饰受到生产工艺等多种因素的影响，要产生理想且一致性的糖修饰，对生产工艺要求极高。而针对糖基化的结构和批次一致性分析也是生物药质量监控的重要一环。

3.2　O-GalNAc糖基化修饰

O-GalNAc 糖基化广泛分布于呼吸道、胃肠道和泌尿生殖道等组织分泌的黏蛋白上，对于黏蛋白凝胶化功能和保护屏障作用必不可少 [92]。例如，已经从各种冷水鱼中鉴定到“抗冷冻”的糖蛋白，在低温水中可抑制“成核中心”的形成，防止活体组织的冻伤 [93]。研究还发现一些病原体微生物，如流感病毒可以通过结合 O- 聚糖特定位点从而感染宿主 [94]。一些糖残基或其修饰可掩盖潜在的抗原或受体，如唾液酸化的 Tn (Sial-Tn) 抗原中，唾液酸残基的 O- 乙酰基修饰会阻止抗 Sial-Tn 抗体的识别 [95-96]。O-GalNAc 糖基化也在精卵结合中发挥作用。例如，哺乳动物精子 - 卵子识别的分子基础一般认为是卵细胞周围的透明带 (ZP) 中的聚糖配体与精子表面受体结合，但是 Gahlay 等 [97] 提出的模型认为精卵识别取决于 ZP2 的切割状态，而不是受精后释放的聚糖配体。

在一些疾病的发生发展过程中，O-GalNAc 糖基化起着至关重要的作用。比如，Kato 等 [98] 发现，编码参与 O-GalNAc 糖基化起始的糖基转移酶多肽 GalNAc-T3 基因的突变是家族性肿瘤样钙质沉着症的原因之一，并证明成纤维细胞生长因子 23 (FGF23) 的分泌需要发生 O- 糖基化，且 GalNAc-T3 通过 O- 糖基化前蛋白转化酶枯草杆菌蛋白酶，从而阻断 FGF23 的加工。此外，研究还发现杯状细胞和黏蛋白的减少与胃溃疡有关 [99]。而在肿瘤细胞中，截短型 O- 糖 (如 T 抗原、Tn 抗原、ST 抗原、STn 抗原) 的过表达是其常见的特征之一，开发靶向这些 O- 糖链的疫苗已成为治疗癌症新思路 [100]。在癌组织 (胃癌、胰腺癌、乳腺癌、卵巢癌、膀胱癌等) 中，由于 ST6GalNAc-1 的过表达引起 STn 的高表达，进而可能降低癌细胞黏附和促进癌细胞生长、迁移、侵袭等 [101]。此外，肿瘤细胞表面 O- 糖基化异常还可能诱导 ADCC 作用，以及与 DC-SIGN、巨噬细胞半乳糖型 C 型凝集素相互作用等 [102]。

3.3　O-GlcNAc糖基化修饰

蛋白 O-GlcNAc 糖基化修饰是一种 S/T 动态修饰，与磷酸化 [103]、甲基化 [104]、泛素化 [105]、乙酰化 [106] 等翻译后修饰之间存在相互作用，共同调控蛋白的活性与功能 [107]。其中以与磷酸化修饰之间的相互作用研究较多，两者彼此依赖而又相互竞争，被称之为“阴阳”关系 [108]。例如，用磷酸酶抑制剂或蛋白激酶激动剂处理细胞后，蛋白质 O-GlcNAc 糖基化修饰水平显著下降；反之，激酶抑制剂处理细胞却能提高蛋白质整体的 O-GlcNAc 糖基化修饰水平 [109]。而对于特定蛋白 O-GlcNAc 糖基化修饰，与磷酸化修饰之间的互作，至少有 4 种不同的作用方式 [110]：(1) 同一个位点的竞争性修饰，即蛋白的某一位点既可以发生 O-GlcNAc 糖基化修饰，也可以发生磷酸化修饰，两者之间是替代性和竞争性的关系 [111]；(2) 不同位点之间的选择性和竞争性占有，即一个位点的 O-GlcNAc 糖基化修饰或磷酸化修饰抑制邻近位点或远隔位点的磷酸化修饰或 O-GlcNAc 糖基化修饰 [112]；(3) 两种修饰在不同位点同时存在 [113]；(4) 位点依赖的竞争性修饰与共存式修饰等方式同时存在 [114]。

O-GlcNAc 糖基化修饰常被认为是一种压力感受器，可增强细胞对于来自环境及自身的各种压力的抵抗。提高 OGT 表达水平或抑制 OGA 表达水平，细胞对压力的耐受性增强 [115]；敲除 OGT 或阻断 HBP 途径，则细胞更易趋向凋亡 [116]。Han 等 [117] 发现，SIRT1 的 549 位丝氨酸的 O-GlcNAc 动态修饰可以在体内和体外提高其去乙酰化的活性，在基因毒性、氧化和代谢等压力刺激下，SIRT1 的 O-GlcNAc 修饰显著升高。

O-GlcNAc 糖基化修饰也被认为是一种营养感受器。UDP-GlcNAc 作为己糖胺合成途径的终产物，其水平随着外界环境或营养条件的改变而发生变化。2017 年，Peng 等 [118] 首次报道了 OGT 介导的 O-GlcNAc 糖基化在 Hippo-YAP 通路激活过程中发挥着重要作用，发现了细胞外营养信号调节 Hippo 通路及肿瘤生长的新机制，而且该过程不依赖于 AMPK。

O-GlcNAc 糖基化修饰水平的紊乱与多种重大慢性疾病，如糖尿病 [119-120]、帕金森病 [121- 122]、阿尔兹海默病 [123]、肿瘤 [124] 的发生发展密切相关。在多种类型的癌组织中发现 OGT 表达增高，OGA 表达

下降，从而导致 O-GlcNAc 糖基化修饰水平整体上升[125]。在肿瘤发生和转移过程中，许多与肿瘤相关的蛋白，如 p53[126]、NF-κB[127] 和 c-Myc[128] 等也被检测到发生 O-GlcNAc 糖基化修饰，进而影响肿瘤细胞的增殖、转移和恶性转化[129-130]。鉴于 O-GlcNAc 糖基化修饰的重要功能，系统地对 O-GlcNAc 糖基化修饰蛋白进行检测与分析有利于全面认识 O-GlcNAc 糖基化修饰的生物学意义及其参与疾病发生发展的机制。

4 结语与展望

蛋白质糖基化作为一种复杂多样的翻译后修饰类型，广泛影响着蛋白质的结构和功能，在生物体内发挥着复杂调控作用。尽管与基因组学和蛋白质组学相比还不成熟，但是随着富集方法、质谱鉴定方法和生物信息技术的突破性发展，糖基化蛋白质组学的研究已经呈现飞速发展的势头[131-132]，有助于全面了解糖修饰蛋白的结构和种类，把握糖基化修饰与肿瘤和其他疾病发生发展的关系，并对研发新型糖蛋白药物、发现新的诊断标志物和治疗靶点产生深远影响。

[参 考 文 献]

[1] Ohtsubo K, Marth JD. Glycosylation in cellular mechanisms of health and disease. Cell, 2006, 126: 855-67

[2] Haltiwanger RS, Lowe JB. Role of glycosylation in development. Annu Rev Biochem, 2004, 73: 491-537

[3] 李军, 杜鑫, Hosseini Moghaddam SH, 等. 蛋白质糖基化修饰研究进展. 科技通报, 2009, 25: 773-8

[4] Spiro RG. Protein glycosylation: nature, distribution, enzymatic formation, and disease implications of glycopeptide bonds. Glycobiology, 2002, 12: 43R-56R

[5] Varki A. Biological roles of glycans. Glycobiology, 2017, 27: 3-49

[6] Moreau R, Dausset J, Bernard J, et al. Anémie hémolytique acquisé avec polyagglutinabilité des hématies par un nouveau facteur présent dans le sérum humain normal (anti-Tn). Bull Soc Med Hop Paris, 1957, 73: 569-87

[7] Levery SB, Steentoft C, Halim A, et al. Advances in mass spectrometry driven O-glycoproteomics. Biochim Biophys Acta, 2015, 1850: 33-42

[8] Hurtado-Guerrero R. Recent structural and mechanistic insights into protein O-GalNAc glycosylation. Biochem Soc Tran, 2016, 44: 61-7

[9] Steentoft C, Vakhrushev SY, Joshi HJ, et al. Precision mapping of the human O-GalNAc glycoproteome through simple cell technology. EMBO J, 2013, 32: 1478-88

[10] 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

[11] Wells L, Vosseller K, Hart GW. Glycosylation of nucleocytoplasmic proteins: signal transduction and O-GlcNAc. Science, 2001, 291: 2376-8

[12] Hart GW, Housley MP, Slawson C. Cycling of O-linked β-N-acetylglucosamine on nucleocytoplasmic proteins. Nature, 2007, 446: 1017-22

[13] Fardini Y, Dehennaut V, Lefebvre T, et al. O-GlcNAcylation: a new cancer hallmark? Front Endocrinol: Lausanne, 2013, 4: 99

[14] Lee JS, Zhang Z. O-linked N-acetylglucosamine transferase (OGT) interacts with the histone chaperone HIRA complex and regulates nucleosome assembly and cellular senescence. Proc Natl Acad Sci USA, 2016, 113: E3213-20

[15] Ruan HB, Han X, Li MD, et al. O-GlcNAc transferase/host cell factor C1 complex regulates gluconeogenesis by modulating PGC-1α stability. Cell Metab, 2012, 16: 226-37

[16] Ma J, Hart GW. O-GlcNAc profiling: from proteins to proteomes. Clin Proteomics, 2014, 11: 8

[17] 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

[18] Zachara NE, Hart GW. Cell signaling, the essential role of O-GlcNAc! Biochim Biophys Acta, 2006, 1761: 599-617

[19] Brimble S, Wollaston-Hayden EE, Teo CF, et al. The role of the O-GlcNAc modification in regulating eukaryotic gene expression. Curr Signal Transduct Ther, 2010, 5: 12-24

[20] Mariappa D, Pathak S, Van Aalten DM. A sweet TET-à-tête-synergy of TET proteins and O-GlcNAc transferase in transcription. EMBO J, 2013, 32: 612-3

[21] Yi W, Clark PM, Mason DE, et al. Phosphofructokinase 1 glycosylation regulates cell growth and metabolism. Science, 2012, 337: 975-80

[22] Ruan HB, Nie Y, Yang X. Regulation of protein degradation by O-GlcNAcylation: crosstalk with ubiquitination. Mol Cell Proteomics, 2013, 12: 3489-97

[23] Lefebvre T. O-GlcNAcylation: a sweet thorn in the spindle! Cell Cycle, 2016, 15: 1954

[24] Bennun SV, Hizal DB, Heffner K, et al. Systems glycobiology: integrating glycogenomics, glycoproteomics, glycomics, and other 'omics data sets to characterize cellular glycosylation processes. J Mol Biol, 2016, 428: 3337-52

[25] Neelamegham S, Liu G. Systems glycobiology: biochemical reaction networks regulating glycan structure and function. Glycobiology, 2011, 21: 1541-53

[26] Katrine TBS, Clausen H. Site-specific protein O-glycosylation modulates proprotein processing—deciphering specific functions of the large polypeptide GalNAc-transferase gene family. Biochim Biophys Acta, 2012, 1820: 2079-94

[27] Johnson JL, Jones MB, Ryan SO, et al. The regulatory power of glycans and their binding partners in immunity. Trends Immunol, 2013, 34: 290-8
[28] Dwek RA. A high-performance liquid chromatography based strategy for rapid, sensitive sequencing of N-linked oligosaccharide modifications to proteins in sodium dodecyl sulphate polyacrylamide electrophoresis gel bands. Proteomics, 2001, 1: 285-94
[29] Chandler KB, Pompach P, Goldman R, et al. Exploring site-specific N-glycosylation microheterogeneity of haptoglobin using glycopeptide CID tandem mass spectra and glycan database search. J Proteome Res, 2013, 12: 3652-66
[30] Stavenhagen K, Kayili HM, Holst S, et al. N- and O-glycosylation analysis of human C1-inhibitor reveals extensive mucin-type O-glycosylation. Mol Cell Proteomics, 2017: mcp. RA117. 000240
[31] Takahashi K, Smith AD, Poulsen K, et al. Naturally occurring structural isomers in serum IgA1 O-glycosylation. J Proteome Res, 2012, 11: 692-702
[32] Pasing Y, Sickmann A, Lewandrowski U. N-glycoproteomics: mass spectrometry-based glycosylation site annotation. Biol Chem, 2012, 393: 249-58
[33] Thaysen-Andersen M, Packer NH. Advances in LC-MS/MS-based glycoproteomics: getting closer to system-wide site-specific mapping of the N- and O-glycoproteome. Biochim Biophys Acta, 2014, 1844: 1437-52
[34] Lee LY, Moh ES, Parker BL, et al. Toward automated N-glycopeptide identification in glycoproteomics. J Proteome Res, 2016, 15: 3904-15
[35] Darula Z, Sherman J, Medzihradszky KF. How to dig deeper? Improved enrichment methods for mucin core-1 type glycopeptides. Mol Cell Proteomics, 2012, 11: O111. 016774
[36] Zhang Y, Zhao Y, Ying WT, et al. Progress of O-glycoprotein and O-glycoproteome analysis in secretion system (in Chinese). Sci Sin Vitae, 2017, 47: 1-10
[37] Nakakita S, Sumiyoshi W, Miyanishi N, et al. A practical approach to N-glycan production by hydrazinolysis using hydrazine monohydrate. Biochem Biophys Res Commun, 2007, 362: 639-45
[38] Hang HC, Yu C, Kato DL, et al. A metabolic labeling approach toward proteomic analysis of mucin-type O-linked glycosylation. Proc Natl Acad Sci USA, 2003, 100: 14846-51
[39] Vocadlo DJ, Hang HC, Kim EJ, et al. A chemical approach for identifying O-GlcNAc-modified proteins in cells. Proc Natl Acad Sci USA, 2003, 100: 9116-21
[40] 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: 8146-51
[41] Hahne H, Sobotzki N, Nyberg T, et al. Proteome wide purification and identification of O-GlcNAc-modified proteins using click chemistry and mass spectrometry. J Proteome Res, 2013, 12: 927-36
[42] Alfaro JF, Gong CX, Monroe ME, et al. Tandem mass spectrometry identifies many mouse brain O-GlcNAcylated proteins including EGF domain-specific O-GlcNAc transferase targets. Proc Natl Acad Sci USA, 2012, 109: 7280-5
[43] Parker BL, Gupta P, Cordwell SJ, et al. Purification and identification of O-GlcNAc-modified peptides using phosphate-based alkyne CLICK chemistry in combination with titanium dioxide chromatography and mass spectrometry. J Proteome Res, 2011, 10: 1449-58
[44] Zhang W, Liu T, Dong H, et al. Synthesis of a highly azide-reactive and thermosensitive biofunctional reagent for efficient enrichment and large-scale identification of O-GlcNAc proteins by mass spectrometry. Anal Chem, 2017, 89: 5810
[45] Wells L, Vosseller K, Cole RN, et al. Mapping sites of O-GlcNAc modification using affinity tags for serine and threonine post-translational modifications. Mol Cell Proteomics, 2002, 1: 791-804
[46] Ma J, Banerjee P, Whelan SA, et al. Comparative proteomics reveals dysregulated mitochondrial O-GlcNAcylation in diabetic hearts. J Proteome Res, 2016, 15: 2254-64
[47] Teo CF, Ingale S, Wolfert MA, et al. Glycopeptide-specific monoclonal antibodies suggest new roles for O-GlcNAc. Nat Chem Biol, 2010, 6: 338-43
[48] Snow CM, Senior A, Gerace L. Monoclonal antibodies identify a group of nuclear pore complex glycoproteins. J Cell Biol, 1987, 104: 1143-56
[49] Comer FI, Vosseller K, Wells L, et al. Characterization of a mouse monoclonal antibody specific for O-linked N-acetylglucosamine. Anal Biochem, 2001, 293: 169-77
[50] Zhao P, Viner R, Teo CF, et al. Combining high-energy C-trap dissociation and electron transfer dissociation for protein O-GlcNAc modification site assignment. J Proteome Res, 2011, 10: 4088-104
[51] Chalkley RJ, Burlingame AL. Identification of GlcNAcylation sites of peptides and α-crystallin using Q-TOF mass spectrometry. J Am Soc Mass Spectrom, 2001, 12: 1106-13
[52] Khidekel N, Arndt S, Lamarre-Vincent N, et al. A chemoenzymatic approach toward the rapid and sensitive detection of O-GlcNAc posttranslational modifications. J Am Chem Soc, 2003, 125: 16162-3
[53] Toghi Eshghi S, Yang W, Hu Y, et al. Classification of tandem mass spectra for identification of N- and O-linked glycopeptides. Sci Rep, 2016, 6: 37189
[54] Lee LY, Moh ES, Parker BL, et al. Toward automated N-glycopeptide identification in glycoproteomics. J Proteome Res, 2016, 15: 3904-15
[55] Bao H, Xie L, Lu H. Research advances of enrichment approaches based on chemical reactions in glycoproteomics. Chn J Chromatogr, 2016, 12: 004
[56] Campbell MP. A review of software applications and databases for the interpretation of glycopeptide data. Trends Glycosci Glycotechnol, 2017, 29: E51-62
[57] Hu H, Khatri K, Klein J, et al. A review of methods for

interpretation of glycopeptide tandem mass spectral data. Glycoconjugate J, 2016, 33: 285-96
[58] Chandler KB, Costello CE. Glycomics and glycoproteomics of membrane proteins and cell-surface receptors: present trends and future opportunities. Electrophoresis, 2016, 37: 1407-19
[59] Zhang Y, Xie X, Zhao X, et al. Systems analysis of singly and multiply O-glycosylated peptides in the human serum glycoproteome via EThcD and HCD mass spectrometry. J Proteomics, 2018, 170: 14-27
[60] Bilan V, Leutert M, Nanni P, et al. Combining higher-energy collision dissociation and electron-transfer/higher-energy collision dissociation fragmentation in a product-dependent manner confidently assigns proteomewide ADP-ribose acceptor sites. Anal Chem, 2017, 89: 1523-30
[61] Rudd PM, Elliott T, Cresswell P, et al. Glycosylation and the immune system. Science, 2001, 291: 2370-6
[62] 张芳, 许之珏, 徐颖姣, 等. IgG糖基化与疾病相关性研究进展. 生命科学, 2017, 29: 319-30
[63] Selman MH, McDonnell LA, Palmblad M, et al. Immunoglobulin G glycopeptide profiling by matrix-assisted laser desorption ionization fourier transform ion cyclotron resonance mass spectrometry. Anal Chem, 2010, 82: 1073-81
[64] Wang J, Balog CI, Stavenhagen K, et al. Fc-glycosylation of IgG1 is modulated by B-cell stimuli. Mol Cell Proteomics, 2011, 10: M110. 004655
[65] Jefferis R. Glycosylation as a strategy to improve antibody-based therapeutics. Nat Rev Drug Discov, 2009, 8: 226-34
[66] Maverakis E, Kim K, Shimoda M, et al. Glycans in the immune system and the altered glycan theory of autoimmunity: a critical review. J Autoimmun, 2015, 0: 1-13
[67] Zeck A, Pohlentz G, Schlothauer T, et al. Cell type-specific and site directed N-glycosylation pattern of FcγRIIIa. J Proteome Res, 2011, 10: 3031-9
[68] Fuster MM, Esko JD. The sweet and sour of cancer: glycans as novel therapeutic targets. Nat Rev Cancer, 2005, 5: 526-42
[69] Dall'Olio F, Chiricolo M. Sialyltransferases in cancer. Glycoconjugate J, 2001, 18: 841-50
[70] Wang PH. Altered glycosylation in cancer: sialic acids and sialyltransferases. J Cancer Mol, 2005, 1: 73-81
[71] Trevisani F, D'Intino PE, Morselli-Labate AM, et al. Serum α-fetoprotein for diagnosis of hepatocellular carcinoma in patients with chronic liver disease: influence of HBsAg and anti-HCV status. J Hepatol, 2001, 34: 570-5
[72] Matsumoto K, Yokote H, Arao T, et al. N-Glycan fucosylation of epidermal growth factor receptor modulates receptor activity and sensitivity to epidermal growth factor receptor tyrosine kinase inhibitor. Cancer Sci, 2008, 99: 1611-7
[73] Liu YC, Yen HY, Chen CY, et al. Sialylation and fucosylation of epidermal growth factor receptor suppress its dimerization and activation in lung cancer cells. Proc Natl Acad Sci USA, 2011, 108: 11332-7
[74] Ren S, Zhang Z, Xu C, et al. Distribution of IgG galactosylation as a promising biomarker for cancer screening in multiple cancer types. Cell Res, 2016, 26: 963
[75] Pinho SS, Figueiredo J, Cabral J, et al. E-cadherin and adherens-junctions stability in gastric carcinoma: functional implications of glycosyltransferases involving N-glycan branching biosynthesis, N-acetylglucosaminyl-transferases III and V. Biochimica Biophysica Acta, 2013, 1830: 2690-700
[76] Weidle UH, Scheuer W, Eggle D, et al. Cancer-related issues of CD147. Cancer Genomics-Proteomics, 2010, 7: 157-69
[77] Dai JH, Dou KF, Wang CH, et al. The interaction of HAb18G/CD147 with integrin α6β1 and its implications for the invasion potential of human hepatoma cells. BMC Cancer, 2009, 9: 337
[78] Yurchenko V, Constant S, Eisenmesser E, et al. Cyclophilin–CD147 interactions: a new target for anti-inflammatory therapeutics. Clin Exp Immunol, 2010, 160: 305-17
[79] Kato N, Yuzawa Y, Kosugi T, et al. The E-selectin ligand basigin/CD147 is responsible for neutrophil recruitment in renal ischemia/reperfusion. J Am Soc Nephrol, 2009, 20: 1565-76
[80] Parekh R, Isenberg D, Ansell B, et al. Galactosylation of IgG associated oligosaccharides: reduction in patients with adult and juvenile onset rheumatoid arthritis and relation to disease activity. Lancet, 1988, 331: 966-9
[81] Moore JS, Wu X, Kulhavy R, et al. Increased levels of galactose-deficient IgG in sera of HIV-1-infected individuals. Aids, 2005, 19: 381-9
[82] Selman MH, Niks EH, Titulaer MJ, et al. IgG Fc N-glycosylation changes in Lambert-Eaton myasthenic syndrome and myasthenia gravis. J Proteome Res, 2010, 10: 143-52
[83] Hashii N, Kawasaki N, Itoh S, et al. Alteration of N-glycosylation in the kidney in a mouse model of systemic lupus erythematosus: relative quantification of N-glycans using an isotope-tagging method. Immunology, 2009, 126: 336-45
[84] Holland M, Yagi H, Takahashi N, et al. Differential glycosylation of polyclonal IgG, IgG-Fc and IgG-Fab isolated from the sera of patients with ANCA-associated systemic vasculitis. Biochim Biophys Acta, 2006, 1760: 669-77
[85] Gill DJ, Chia J, Senewiratne J, et al. Regulation of O-glycosylation through Golgi-to-ER relocation of initiation enzymes. J Cell Biol, 2010: 189: 843-58
[86] Marquardt T, Ullrich K, Zimmer P, et al. Carbohydrate-deficient glycoprotein syndrome (CDGS)--glycosylation, folding and intracellular transport of newly synthesized glycoproteins. Eur J Cell Biol, 1995, 66: 268-73
[87] 徐沙, 中西秀树, 高晓冬. 糖蛋白药物表达系统糖基化研究进展. 微生物学报, 2013, 53: 221-9
[88] Batra J, Rathore AS. Glycosylation of monoclonal antibody products: Current status and future prospects. Biotechnol Progr, 2016, 32: 1091-102

[89] Yamane-Ohnuki N, Kinoshita S, Inoue-Urakubo M, et al. Establishment of FUT8 knockout Chinese hamster ovary cells: an ideal host cell line for producing completely defucosylated antibodies with enhanced antibody-dependent cellular cytotoxicity. Biotechnol Bioeng, 2004, 87: 614-22
[90] Yang Z, Wang S, Halim A, et al. Engineered CHO cells for production of diverse, homogeneous glycoproteins. Nat Biotechnol, 2015, 33: 842-4
[91] Rillahan CD, Antonopoulos A, Lefort CT, et al. Global metabolic inhibitors of sialyl- and fucosyltransferases remodel the glycome. Nat Chem Biol, 2012, 8: 661-8
[92] Gill DJ, Clausen H, Bard F. Location, location, location: new insights into O-GalNAc protein glycosylation. Trends Cell Biol, 2011, 21: 149-58
[93] Furukawa Y, Inohara N, Yokoyama E. Growth patterns and interfacial kinetic supercooling at ice/water interfaces at which anti-freeze glycoprotein molecules are adsorbed. J Cryst Growth, 2005, 275: 167-74
[94] Mendelson M, Tekoah Y, Zilka A, et al. NKp46 O-glycan sequences that are involved in the interaction with hemagglutinin type 1 of influenza virus. J Virol, 2010, 84: 3789-97
[95] Varki NM, Varki A. Diversity in cell surface sialic acid presentations: implications for biology and disease. Lab Invest, 2007, 87: 851-7
[96] Wasik BR, Barnard KN, Ossiboff RJ, et al. Distribution of O-acetylated sialic acids among target host tissues for influenza virus. Msphere, 2017, 2: e00379-16
[97] Gahlay G, Gauthier L, Baibakov B, et al. Gamete recognition in mice depends on the cleavage status of an egg's zona pellucida protein. Science, 2010, 329: 216-9
[98] Kato K, Jeanneau C, Tarp MA, et al. Polypeptide GalNAc-transferase T3 and familial tumoral calcinosis secretion of fibroblast growth factor 23 requires O-glycosylation. J Biol Chem, 2006, 281: 18370-7
[99] Matsukura N, Suzuki K, Kawachi T, et al. Distribution of marker enzymes and mucin in intestinal metaplasia in human stomach and relation of complete and incomplete types of intestinal metaplasia to minute gastric carcinomas 2. J Natl Cancer Inst, 1980, 65: 231-40
[100] Dalziel M, Crispin M, Scanlan CN, et al. Emerging principles for the therapeutic exploitation of glycosylation. Science, 2014, 343: 1235681
[101] Ju T, Lanneau GS, Gautam T, et al. Human tumor antigens Tn and sialyl Tn arise from mutations in Cosmc. Cancer Res, 2008, 68: 1636-46
[102] Lavrsen K, Madsen CB, Rasch MG, et al. Aberrantly glycosylated MUC1 is expressed on the surface of breast cancer cells and a target for antibody-dependent cell-mediated cytotoxicity. Glycoconjugate J, 2013, 30: 227-36
[103] Leney AC, El Atmioui D, Wu W, et al. Elucidating crosstalk mechanisms between phosphorylation and O-GlcNAcylation. Proc Natl Acad Sci USA, 2017, 114: E7255-61
[104] Chu CS, Lo PW, Yeh YH, et al. O-GlcNAcylation regulates EZH2 protein stability and function. Proc Natl Acad Sci USA, 2014, 111: 1355-60
[105] Fujiki R, Hashiba W, Sekine H, et al. GlcNAcylation of histone H2B facilitates its monoubiquitination. Nature, 2011, 480: 557-60
[106] Hayakawa K, Hirosawa M, Tani R, et al. H2A O-GlcNAcylation at serine 40 functions genomic protection in association with acetylated H2AZ or γH2AX. Epigenet Chromatin, 2017, 10: 51
[107] 邓瑞萍, 郭书娟, 陶生策. O-GlcNAc糖基化功能研究最新进展. 生命科学, 2013, 25: 502-10
[108] 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
[109] Griffith LS, Schmitz B. O-linked N-acetylglucosamine levels in cerebellar neurons respond reciprocally to pertubations of phosphorylation. Eur J Biochem, 1999, 262: 824-31
[110] Zeidan Q, Hart GW. The intersections between O-GlcNAcylation and phosphorylation: implications for multiple signaling pathways. J Cell Sci, 2010, 123: 13-22
[111] Fong JJ, Nguyen BL, Bridger R, et al. β-N-Acetylglucosamine (O-GlcNAc) is a novel regulator of mitosis-specific phosphorylations on histone H3. J Biol Chem, 2012, 287: 12195-203
[112] Tarrant MK, Rho HS, Xie Z, et al. Regulation of CK2 by phosphorylation and O-GlcNAcylation revealed by semisynthesis. Nat Cheml Biol, 2012, 8: 262-9
[113] Klein AL, Berkaw MN, Buse MG, et al. O-linked N-acetylglucosamine modification of insulin receptor substrate-1 occurs in close proximity to multiple SH2 domain binding motifs. Mol Cell Proteomics, 2009, 8: 2733-45
[114] Dias WB, Cheung WD, Wang Z, et al. Regulation of calcium/calmodulin-dependent kinase IV by O-GlcNAc modification. J Biol Chem, 2009, 284: 21327-37
[115] Sohn KC, Lee KY, Park JE, et al. OGT functions as a catalytic chaperone under heat stress response: a unique defense role of OGT in hyperthermia. Biochem Biophys Res Commun, 2004, 322: 1045-51
[116] Zachara NE, O'Donnell N, Cheung WD, et al. Dynamic O-GlcNAc modification of nucleocytoplasmic proteins in response to stress a survival response of mammalian cells. J Biol Chem, 2004, 279: 30133-42
[117] Han C, Gu Y, Shan H, et al. O-GlcNAcylation of SIRT1 enhances its deacetylase activity and promotes cytoprotection under stress. Nat Commun, 2017, 8: 1491
[118] Peng C, Zhu Y, Zhang W, et al. Regulation of the Hippo-YAP pathway by glucose sensor O-GlcNAcylation. Mol Cell, 2017, 68: 591-604.e5
[119] Banerjee PS, Ma J, Hart GW. Diabetes-associated dysregulation of O-GlcNAcylation in rat cardiac mitochondria. Proc Natl Acad Sci USA, 2015, 112: 6050-5
[120] Erickson JR, Pereira L, Wang L, et al. Diabetic hyperglycaemia activates CaMKII and arrhythmias by O-linked glycosylation. Nature, 2013, 502: 372-6
[121] Wang P, Lazarus BD, Forsythe ME, et al. O-GlcNAc

cycling mutants modulate proteotoxicity in *Caenorhabditis elegans* models of human neurodegenerative diseases. Proc Natl Acad Sci USA, 2012, 109: 17669-74

[122] Wani WY, Ouyang X, Benavides GA, et al. O-GlcNAc regulation of autophagy and α-synuclein homeostasis; implications for Parkinson's disease. Mol Brain, 2017, 10: 32

[123] Zhu Y, Shan X, Yuzwa SA, et al. The emerging link between O-GlcNAc and Alzheimer disease. J Biol Chem, 2014, 289: 34472-81

[124] Trinca GM, Hagan CR. O-GlcNAcylation in women's cancers: breast, endometrial and ovarian. J Bioenerg Biomembr, 2017 [Epub ahead of print]

[125] Slawson C, Hart GW. O-GlcNAc signalling: implications for cancer cell biology. Nat Rev Cancer, 2011, 11: 678-84

[126] de Queiroz RM, Madan R, Chien J, et al. Changes in O-linked N-acetylglucosamine (O-GlcNAc) homeostasis activate the p53 pathway in ovarian cancer cells. J Biol Chem, 2016, 291: 18897-914

[127] Yang WH, Park SY, Nam HW, et al. NFκB activation is associated with its O-GlcNAcylation state under hyperglycemic conditions. Proc Natl Acad Sci USA, 2008, 105: 17345-50

[128] Itkonen HM, Minner S, Guldvik IJ, et al. O-GlcNAc transferase integrates metabolic pathways to regulate the stability of c-MYC in human prostate cancer cells. Cancer Res, 2013, 73: 5277-87

[129] Rao X, Duan X, Mao W, et al. O-GlcNAcylation of G6PD promotes the pentose phosphate pathway and tumor growth. Nat Commun, 2015, 6: 8468

[130] Ferrer CM, Lynch TP, Sodi VL, et al. O-GlcNAcylation regulates cancer metabolism and survival stress signaling via regulation of the HIF-1 pathway. Mol Cell, 2014, 54: 820-31

[131] Liu MQ, Zeng WF, Fang P, et al. pGlyco 2.0 enables precision N-glycoproteomics with comprehensive quality control and one-step mass spectrometry for intact glycopeptide identification. Nat Commun, 2017, 8: 438

[132] Liu G, Cheng K, Lo CY, et al. A comprehensive, open-source platform for mass spectrometry-based glycoproteomics data analysis. Mol Cell Proteomics, 2017, 16: 2032-47