



首页

学院概况

机构设置

教职员工

校友工作

招聘信息

招生信息

学院黄页

其他

- » 活动预告
- » 学院动态
- » 科研动态
- » 友情链接
- » 系所链接
- » 各实验室链接

当前位置：首页 | 其他 | 科研动态

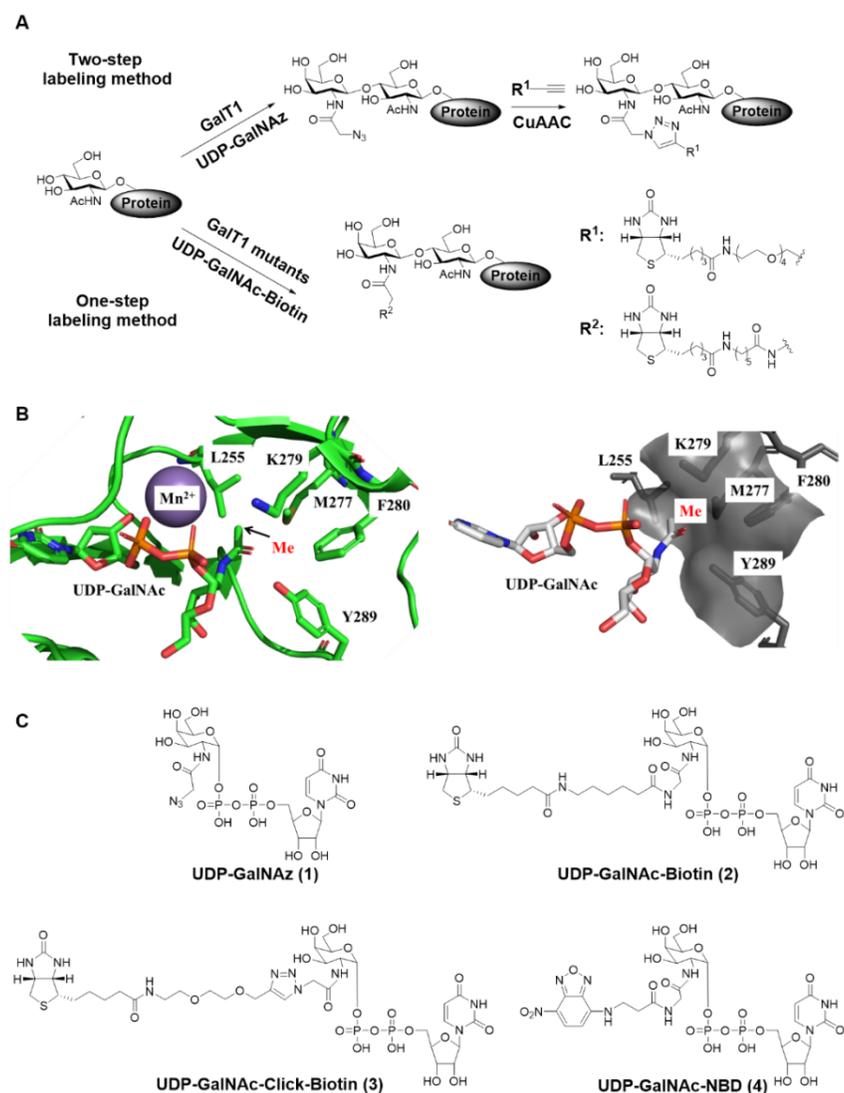
易文教授课题组在Angew. Chem. Int. Ed发文开发了一种新的化学工具来研究O-糖基化修饰的生理功能

时间：2021-10-09 访问次数：518

2021年9月30日，生命科学学院生化所易文教授课题组在化学类权威期刊Angew. Chem. Int. Ed《德国应用化学》上发表了题为“*One-step enzymatic labeling reveals a critical role of O-GlcNAcylation in cell-cycle progression and DNA damage response*”的研究论文。该工作开发和应用了一种新的化学工具来研究O-糖基化修饰的生理功能。

O-GlcNAc糖基化修饰是N-乙酰葡萄糖胺共价连接到蛋白质的丝氨酸或苏氨酸羟基上的一种普遍的翻译后修饰，在许多细胞过程中都起着非常重要的作用，其细胞循环是通过O-GlcNAc转移酶和水解酶的作用来实现的。目前已经发展了一些化学策略来捕获、鉴定细胞内的O-GlcNAc修饰蛋白。例如，通过合成含有生物正交功能基团的GlcNAc类似物，从而进行代谢标记实现O-GlcNAc修饰蛋白的成像和检测；另一种替代策略是通过利用重组半乳糖苷转移酶(GalT)，将含有叠氮基团的N-乙酰半乳糖胺(GalNAz)转移到O-GlcNAc修饰上，随后通过click反应进行捕获和鉴定(图A)。然而，第二步反应可能由于连接缓慢而导致反应不完全，或在细胞复杂环境中发生各种副反应。而越来越多的证据表明，可以通过对糖基转移酶进行改造来扩大其底物范围。研究团队希望开发仅通过一步化学酶法的标记策略来对O-GlcNAc修饰进行鉴定，并提高灵敏度。

作者进一步对GalT的结构进行分析，推测K279A和F280A突变将为C-2位创造更大的容纳空间(图B)。K279A突变体对类似物2(图C)有着较好的活性和特异性，因此被选择用于进一步的细胞研究。作者随后使用K297A突变体和类似物2对HEK293T细胞进行标记和蛋白质组学分析，并与传统的两步标记方法进行了比较。发现一步法成功鉴定到740个蛋白，错误率小于1%；而两步法只能鉴定到570个蛋白，一步法的标记效率更高。



在这些一步法鉴定到的蛋白中，FEN1是此前从未被报导过的O-GlcNAc修饰蛋白，它是一种多功能酶，对DNA复制过程中冈崎片段的合成与碱基切除修复密切相关。通过质谱和点突变实验，作者证实丝氨酸352位是FEN1的主要糖基化位点，而 FEN1的O-GlcNAc糖基化修饰在细胞周期中是动态变化的，G1期的糖基化水平远高于S期。由于在细胞周期的S期，FEN1可通过与增殖细胞核抗原PCNA相互作用从而定位到DNA复制位点，作者分析了FEN1-PCNA的结构，推测S352的糖基化可能破坏FEN1与PCNA的相互作用，导致DNA复制缺陷和DNA损伤的积累，这些假设得到了实验证实。此外，FEN1的O-GlcNAc糖基化能增强细胞对DNA损伤剂的敏感性。

总之，研究团队通过酶改造建立了一步化学酶法标记并捕获O-GlcNAc修饰的策略，并成功鉴定到新的O-GlcNAc修饰蛋白FEN1，揭示了其在DNA损伤修复中的生理功能。

原文链接: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/anie.202110053>

上一篇

下一篇