

蛋白分子O-糖基化的研究进展

徐林 于洪蛟 管栋 殷一博 梁洪生 张相彤*

(哈尔滨医科大学第一附属医院, 哈尔滨 150001)

摘要 蛋白分子的氧连接糖基化(O-糖基化)修饰是生物体内必不可少的转录后化学修饰之一, 其作用方式类似磷酸化, 并且两者之间相互作用, 共同调节生物大分子的活性。O-糖基化修饰在生物体的转录、翻译、核运输、细胞骨架的形成以及调节细胞器的功能中发挥着重要的作用。通过影响细胞信号的传导, 在细胞吞噬、炎症细胞的迁移以及细胞内大分子物质的循环中也起着重要作用。该文主要通过介绍蛋白分子O-糖基化修饰的基础理论以及O-糖基化修饰作用的几个方面, 来简要阐述O-糖基化修饰在生物体内发挥的作用。

关键词 O-糖基化; 磷酸化; 丝氨酸和苏氨酸残基; 乙酰氨基葡萄糖转移酶; β -N-乙酰氨基己糖苷酶

Research Advances in Protein O-GlcNAcylation

Xu Lin, Yu Hongjiao, Guan Dong, Yin Yibo, Liang Hongsheng, Zhang Xiangtong*

(The First Affiliated Hospital of Harbin Medical University, Harbin 150001, China)

Abstract The O-GlcNAc modification of protein is one of the essential post-translational modifications in the body, which modification mode is similar to the phosphorylation, and they interact with each other and work cooperatively to regulate the activity of biomacromolecules. The O-GlcNAc modification plays an important role in the process of transcription, translation, nucleus transport, cytoskeletal formation and regulating the functions of organelles. Through its effects on the intracellular signal transduction pathways, it is also involved in the processes of phagocytosis, inflammatory cell migration and intracellular macromolecules circulation. In this article, we briefly explained the role of O-GlcNAcylation in the organism mainly through introducing the basic theory of protein O-GlcNAcylation and several aspects of its functions.

Key words O-GlcNAcylation; phosphorylation; serine and threonine residues; OGT; OGA

自1984年Torres和Hart发现蛋白分子O-糖基化修饰以来^[1], 已有超过1 000多种蛋白分子被鉴定为O-糖基化修饰的靶分子, 这些蛋白分子几乎涉及细胞代谢的各方面。O-糖基化通过多种方式来影响生物体的生命活动, 比如通过与磷酸化相互作用而改变蛋白分子的生物活性, 通过对蛋白分子的化学修

饰来改变蛋白分子之间的相互作用, 以及对转录因子的O-糖基化修饰来影响细胞的转录过程等。研究发现, 一些已知的O-糖基化修饰位点位于蛋白分子的“PEST”区, 即含有“脯氨酸-谷氨酸-丝氨酸-苏氨酸”的氨基酸序列。这些序列曾被认为与蛋白分子的变性降解有关, 因此O-糖基化的修饰或许起到影

收稿日期: 2013-05-09 接受日期: 2013-07-29

国家自然科学基金(批准号: 81041082)和哈尔滨医科大学附属第一医院院基金(批准号: 2011BS004)资助的课题

*通讯作者。Tel: 0451-85555107, E-mail: zgxtg@sina.com

Received: May 9, 2013 Accepted: July 29, 2013

This work was supported by the National Natural Science Foundation of China (Grant No.81041082) and the First Affiliated Hospital Foundation of Harbin Medical University (Grant No.2011BS004)

*Corresponding author. Tel: +86-451-85555107, E-mail: zgxtg@sina.com

网络出版时间: 2013-10-25 09:51 URL: <http://www.cnki.net/kcms/detail/31.2035.Q.20131025.0951.001.html>

响蛋白分子稳定性、调节蛋白分子降解的作用^[2]。最近研究还证实, O-糖基化修饰调节肿瘤细胞的生长^[3-4]。现简要介绍一下O-糖基化修饰的基本理论及其介导的生命活动的调节。

1 O-糖基化修饰的基本理论

1.1 O-糖基化修饰供体的合成

葡萄糖通过葡萄糖转运体进入细胞内,在胞质己糖激酶的作用下转化成6-磷酸葡萄糖,形成的6-磷酸葡萄糖或者进入糖原合成途径,或者在异构酶的作用下转化成6-磷酸果糖进入糖酵解途径。然而有2%~5%的葡萄糖通过己糖胺生物合成途径(HBP,图1)生成尿苷二磷酸-N-乙酰葡糖胺(UDP-GlcNAc)。一部分UDP-GlcNAc在乙酰氨基葡萄糖转移酶(OGT)的作用下将单个脱氧乙酰氨基吡喃葡萄糖苷以 β -O连接的方式,连接到蛋白质丝氨酸或苏氨酸残基上并形成O-糖基化修饰(图2)。与蛋白糖苷的糖

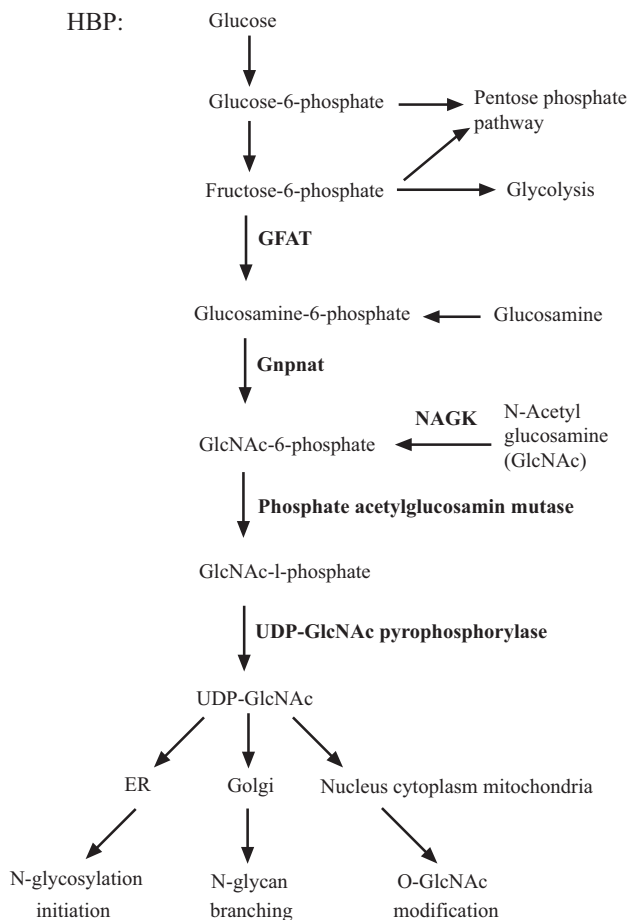


图1 己糖胺生物合成途径(根据参考文献[40]修改)

Fig.1 Hexosamine biosynthetic pathway (modified from reference [40])

侧链形成不同, O-糖基化形成不经过内质网和高尔基体的加工,不形成复杂的天线结构,而是在细胞内两种特异性酶的作用下直接修饰蛋白分子,并且其主要分布于细胞内,而不是分布于细胞表面。

1.2 调节O-糖基化修饰的特异性酶

和超过500多种介导磷酸化的激酶以及150多种磷酸化酶相比^[5],介导O-糖基化的特异性的酶只有两种,即乙酰氨基转移酶(OGT)^[6]和 β -N-乙酰氨基糖苷酶(OGA)^[7]。

编码人OGT的基因位于X染色体上,位置为Xq13.1,具有相对的保守性,与编码哺乳动物的OGT基因在结构上相似,有80%的序列一致。OGT是哺乳动物体内必不可少的酶之一,其作用是促进O-糖基化修饰的生成,且敲除编码OGT的基因对哺乳动物来说是致命的^[8]。人OGT是含有超过1 000个氨基酸残基的大分子蛋白质,其有两个重要的区域,即氨基端的TPR结构域和羧基端的GT结构域^[9]。在氨基端,OGT含有数个TPR结构域,且随OGT在细胞内的分布不同,其包含的重复TPR结构域的数目也不同。ncOGT分布于细胞核和细胞质中,分子量为110 kDa,含有12个TPR重复结构域。而mOGT位于线粒体,分子量为103 kDa,含有9个TPR结构域^[10]。TPR结构域决定OGT糖基化蛋白分子的能力,介导OGT酶与蛋白之间的识别及聚集^[11]。当减少TPR结构域的数目时,就会降低OGT与蛋白分子的连接作用,导致其生物活性的降低,且当因基因突变导致不含TPR结构域时,OGT只能修饰一些分子量小的短肽^[12]。GT结构域是催化反应的主要部位,可将UDP-GlcNAc中的乙酰葡糖胺分子转移到蛋白质丝氨酸或苏氨酸残基上^[13]。

编码OGA的基因位于10号染色体,位置为10q24。OGA为含有916个氨基酸残基的蛋白质分子。与OGT不同的是,其氨基端为具有催化作用的糖苷水解酶结构域,羧基端为组蛋白乙酰基转移酶结构域^[9]。且此酶的功能与OGT相反,将连接在蛋白质分子上的乙酰葡糖胺分子移除,解除O-糖基化修饰。此外,敲除编码OGA的基因时生物体却可以存活。OGA有两种亚型,一种分子量为130 kDa,主要分布于细胞质,另一种亚型分子量为75 kDa,主要分布于细胞核^[10]。然而小分子量的OGA羧基末端不含组蛋白乙酰基转移酶结构域,不具有水解酶的活性,由此可见羧基末端组蛋白乙酰基转移酶结构域

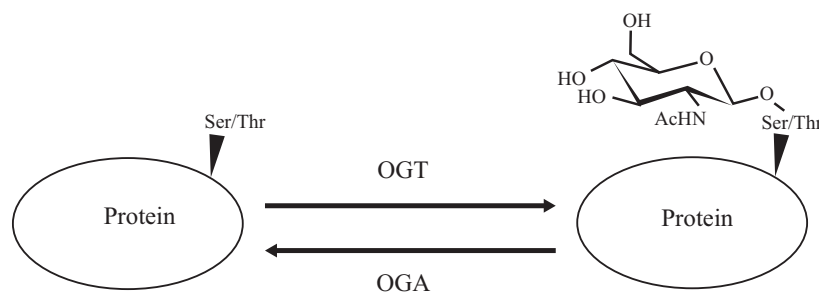


图2 O-糖基化修饰的方式(根据参考文献[39]修改)

Fig.2 The modification mode of O-GlcNAcylation (modified from reference [39])

对酶催化活性的重要性。OGA自身也是OGT作用的靶分子^[14]。因此,这两种酶之间存在某种调控方式,共同调节生物体内的O-糖基化修饰。

1.3 调控O-糖基化修饰的方法

调控O-糖基化的修饰可以从三个方面来考虑。一是促进O-糖基化修饰供体UDP-GlcNAc的生成,从而促进蛋白分子O-糖基化。这方面可以通过干预己糖胺生物合成途径(HBP,图1)来实现。提高该反应中葡萄糖或葡糖胺的水平^[15],或者增加该反应的限速酶“谷氨酰胺:6-磷酸果糖氨基转移酶(GFAT)”的表达来提高HBP的反应效率等,都可在某种程度上生成更多的UDP-GlcNAc并促进O-糖基化修饰的生成;二是调控OGT的表达,干预蛋白分子O-糖基化的生成。通过利用siRNA或TT04(一种OGT抑制剂)来抑制细胞内的OGT的表达来降低O-糖基化的水平^[16]。利用有复制缺陷但能高表达OGT的腺病毒转染细胞^[17-18],或者直接利用高表达OGT的转基因动物^[19],都能够提高O-糖基化的水平;三是抑制OGA的活性,降低其对已被O-糖基化修饰的蛋白分子的酶解作用,增加蛋白分子的O-糖基化修饰。该途径由于特异性高,副反应较前两种方法少,被广泛用于O-糖基化修饰的研究。链脲霉素(streptozotocin, STZ)和GlcNAcstatin及其衍生物曾用于提高生物体内O-糖基化的水平,但由于他们的特异性低,副反应较多,目前已较少用于研究蛋白分子O-糖基化修饰。PUGNAc是目前应用较多的OGA竞争性抑制剂^[20-21],但因其对细胞内溶酶体 β -己糖胺酶也有抑制作用,可导致神经细胞内神经节苷脂GM2含量的增加^[22],致使其应用范围有限。NAG-thiazoline及其衍生物(如NButGT)对OGA的特异性高,且副作用小,现已应用于调控O-糖基化水平^[22-23]。Yuzwa等^[24]通过用胺基来取代NButGT分子中烷基链的第一个亚甲基获得了特异性更高的

OGA抑制剂——Thiamet-G,其对OGA的选择性较 β -己糖胺酶高37 000倍,不仅口服有效而且可以通过血脑屏障,具有更高的化学稳定性。

2 O-糖基化与磷酸化的相互作用

O-糖基化修饰和磷酸化修饰作用方式相近,两者互相影响,共同调节生物体的生命活动。蛋白分子中的O-糖基化作用位点与磷酸化作用位点相同或临近或相距较远,O-糖基化与磷酸化或者竞争相同的苏氨酸/丝氨酸残基,或者在临近部位通过空间位阻效应改变蛋白分子的化学修饰,或者在相距较远的部位产生协同或拮抗对方的作用。另外,OGT酶可通过其蛋白分子中酪氨酸的磷酸化而被激活,一些激酶也可被O-糖基化而失活^[25]。例如在胰岛素抵抗的糖尿病模型中,内皮一氧化氮合酶Ser-1177位磷酸化水平降低时,其O-糖基化的水平升高^[26]。肿瘤抑制因子p53在Ser-149位被O-糖基化修饰,在Thr-155被磷酸化修饰,而Ser-149的O-糖基化修饰可降低Thr-155的磷酸化修饰,进而防止其被蛋白酶体的降解^[27]。因而可以通过调节蛋白分子的O-糖基化来影响其磷酸化,改变蛋白分子的功能状态和稳定性。

3 O-糖基化修饰发挥的作用

3.1 O-糖基化修饰影响细胞信号的转导

1,4,5-三磷酸肌醇(InsP3)介导细胞内 Ca^{2+} 的释放从而参与生物体的生命活动,包括细胞的生长、受精过程、平滑肌的收缩、神经信号的传导等。1,4,5-三磷酸肌醇通过三磷酸肌醇I型受体(InsP3R-I)来调控细胞内 Ca^{2+} 的释放,而且此受体受到多种化学修饰的调节,如磷酸化、N-糖基化以及被Rengifo等^[28]证实的O-糖基化。当InsP3R-I的O-糖基化水平升高

时,此受体对InsP3的敏感性降低,同时通道的活性降低, Ca^{2+} 的释放将减少。与此同时,加入被灭活的OGA酶,糖基化水平没有受到影响,此受体通道的活性仍保持在较低水平。

3.2 O-糖基化在细胞转录、翻译中的研究

低O-糖基化的转录因子Sp1易被蛋白酶体降解途径所降解,但通过增加外源性的葡糖胺,增加Sp1的O-糖基化水平,改变其与蛋白酶体的接触状态和降低蛋白酶体的降解能力,从而降低蛋白酶体对Sp1的降解程度,延长其半衰期,从而加强蛋白分子的转录过程^[29-30]。另外,当真核细胞翻译起始因子eIF2 α -p67降解为eIF2 α 时,后者被磷酸化,并产生抑制蛋白翻译的效应。但Datta等^[31]研究发现,增加eIF2 α -p67的O-糖基化修饰,不仅可延长其降解的半衰期,还可以与磷酸化相互作用,降低磷酸化对翻译过程的抑制作用,从而加强了蛋白分子的翻译过程,生成较多的生物大分子。

3.3 O-糖基化修饰在应激反应中的作用

当生物体处于应激状态下,其体内的血糖水平便会增高,而且细胞会相应地增加葡萄糖的摄取量,在一定程度上促进了UDP-GlcNAc的生成,进而提高蛋白分子O-糖基化水平,并推断蛋白分子的O-糖基化修饰可能参与生物体的应激反应。Zachara等^[32]在实验中验证了这一点。实验组细胞在过氧化氢、紫外线照射、乙醇、45 °C温度等应激条件下,细胞内的糖基化水平明显升高。不仅如此,还检测到细胞内OGT的表达也增加。另外,该实验从相反的方面进一步验证了O-糖基化参与应激反应。降低细胞内OGT的活性相应的降低了实验细胞抵抗热应激反应的能力,增加细胞内O-糖基化的水平反而增强了细胞的抗热应激效应。与此同时,还检测了热休克蛋白HSP40和HSP70与O-糖基化的关系,即OGT活性的降低伴随着这两种热休克蛋白表达的减少,O-糖基化水平的升高相应地促进了这两种热休克蛋白的表达,从而推断O-糖基化在应激反应的保护作用可能是通过对热休克蛋白HSP40和HSP70的调控来实现的。

3.4 O-糖基化对炎症反应的影响

炎症反应参与生物体内多种疾病的发生与发展,且炎症反应机制涉及多种细胞因子以及细胞信号转导,炎症因子介导的炎症细胞浸润在组织损伤中发挥重要的作用。考虑到O-糖基化水平调节多种

信号转导并改善生物体抗应激的能力,研究者们试图探索O-糖基化与炎症反应之间的关系。在Zou等^[33]构建的实验模型中,通过使用PUGNAc来提高心肌细胞内的O-糖基化水平,显著改善了实验动物的心脏输出功能[(12.3 \pm 1.3) mL/min vs. (25.5 \pm 2.0) mL/min],增加了肝脏、肾脏等重要脏器的血流灌注。另外,实验发现O-糖基化作用抑制炎症因子的表达[IL-6: (864 \pm 112) $\times 10^{-6}$ $\mu\text{g/mL}$ vs. (392 \pm 188) $\times 10^{-6}$ $\mu\text{g/mL}$; TNF- α : (216 \pm 21) $\times 10^{-6}$ $\mu\text{g/mL}$ vs. (94 \pm 11) $\times 10^{-6}$ $\mu\text{g/mL}$]。在Xing等^[34]的研究中也验证了O-糖基化修饰抑制炎症因子的表达,同时还检测到O-糖基化抑制炎症细胞的浸润。在实验中发现,损伤24 h的颈动脉外膜中有明显的炎症细胞浸润,HIS48+粒细胞和ED1+单核细胞计数分别为(305 \pm 15)/mm²和(402 \pm 25)/mm²,而在GlcN和PUGNAc的对照组中,其粒细胞和单核细胞计数分别为(112 \pm 41)/mm²和(215 \pm 46)/mm²、(150 \pm 44)/mm²和(270 \pm 38)/mm²,明显减少了炎症细胞的浸润,而且这两组实验动脉在两周后的检测中却检测不到动脉外膜浸润的炎症细胞,由此进一步证明了O-糖基化修饰对炎症反应的影响。

3.5 O-糖基化对免疫系统的影响

机体适应性免疫是在呈递细胞的参与下由T淋巴细胞和B淋巴细胞介导,由这两种细胞特异性的受体(TCR、BCR)所识别,被激活后促进其细胞内的一些细胞因子和免疫因子的表达,从而发挥吞噬、分泌以及特异性杀伤致病原的作用。已发现的与T细胞和B细胞激活反应相关的NF- κ B和NFAT两种细胞因子都被O-糖基化修饰,并且参与调控这两种细胞的活化反应。当T细胞受体和B细胞受体被激活后,NF- κ B和NFAT的O-糖基化水平相应的提高;相反,通过siRNA来消除OGT酶的T细胞的活化过程明显受到了抑制^[35]。另外在TCR被激活后,T细胞内O-糖基化的NFAT明显增加,并且在激活后的5~10 min,O-糖基化的NFAT主要分布在胞质内,在10~15 min时便转移到细胞核,然后便降低。由此可见,淋巴细胞内O-糖基化的修饰受到了某种特别信号转导途径的精密调控,而不仅仅受细胞内UDP-GlcNAc水平的影响^[36]。最近的研究发现,通过高表达OGT酶提高T细胞内Sp1转录因子的O-糖基化水平可增强T细胞对HIV病毒活性的抑制^[37]。

3.6 O-糖基化影响细胞器的功能

蛋白酶体包括20S大亚基和19S小亚基两部分,

当OGT作用于19S小亚基时,使其O-糖基化的水平增加,蛋白酶体降解蛋白分子的能力则受到了抑制,比如降低转录因子Sp1和一些疏水蛋白的降解,且随着蛋白酶体19S部分糖基化修饰的增加,其降解蛋白分子的能力相应地降低,因而抑制了蛋白酶体的降解能力,延长了一些功能蛋白的半衰期^[30]。

Ngoh等^[38]用携带OGT基因但有复制缺陷的腺病毒转染新生小鼠的心肌细胞,以此引起心肌细胞内糖基化水平的高表达,并用布雷菲尔德菌素A和衣霉素来诱导心肌细胞的内质网应激。结果内质网应激的主要标志物——促凋亡转录因子(CHOP, C/EBP转录因子家族成员)的表达量较对照组明显降低,且明显减少心肌细胞的死亡数量。由此证明糖基化的修饰参与内质网应激并产生抑制作用。

3.7 O-糖基化在肿瘤细胞代谢中的作用

肿瘤细胞的不断扩增导致其细胞微环境处于动态的变化中,然而为保证快速增长的肿瘤细胞新陈代谢的需要,快速而有效的生理应答是不可避免的。肿瘤抑制因子的突变和一些致癌途径的作用虽能够改变肿瘤细胞的新陈代谢表型,以促进肿瘤细胞的生长,但这种适应方式效率较低。相比之下,针对不断变化的细胞微环境,蛋白分子翻译后的化学修饰能够实现快速调节。Yi等^[4]在研究中发现,对于缺氧反应,肿瘤细胞内磷酸果糖激酶-1分子中Ser-529位O-糖基化修饰表达增加,并且O-糖基化修饰抑制磷酸果糖激酶-1的活性,促使葡萄糖的代谢向磷酸戊糖途径转变,生成较多的NADPH和核苷酸,为肿瘤细胞的生长提供更有利的代谢途径。通过磷酸戊糖途径,肿瘤细胞生成更多的NADPH,以维持细胞内谷胱甘肽的含量和抵抗氧化应激导致的细胞死亡。另外,实验中还验证了抑制磷酸果糖激酶-1的O-糖基化,肿瘤细胞的扩增也会受到抑制。

4 小结

蛋白分子O-糖基化修饰反驳了蛋白分子的糖基化仅限于细胞表面、细胞外基质以及一些分泌因子的教条,为生物大分子的化学修饰增添了新的神秘面纱。和传统的O-连接或N-连接的糖基化修饰不同,这种蛋白分子的修饰主要分布于细胞内,不形成像细胞表面的糖苷那样的复杂结构,其化学修饰方式类似磷酸化,由单个GlcNAc分子作用于蛋白分子上的丝氨酸或苏氨酸残基,并通过OGT和OGA两种

特异性酶的调节来改变生物大分子的活性,与蛋白分子的磷酸化之间通过协同或拮抗作用共同调节蛋白分子的生物活性。从细胞的转录、翻译到细胞与细胞间的信号转导,O-糖基化修饰几乎涉及生命活动的各个环节,目前我们只发现了O-糖基化修饰中的一小部分,是否还存在其他功能或其他的修饰位点仍是未知数,这需要我们不断地去探索。

参考文献 (References)

- 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(5): 3308-17.
- 2 Hart GW, Housley MP, Slawson C. Cycling of O-linked β -N-acetylglucosamine on nucleocytoplasmic proteins. *Nature* 2007; 446(7139): 1017-22.
- 3 Kang JG, Park SY, Ji S, Jang I, Park S, Kim HS, *et al.* O-GlcNAc protein modification in cancer cells increases in response to glucose deprivation through glycogen degradation. *J Biol Chem* 2009; 284(50): 34777-84.
- 4 Yi W, Clark PM, Mason DE, Keenan MC, Hill C, Peters EC, *et al.* Phosphofructokinase-1 glycosylation regulates cell growth and metabolism. *Science* 2012; 337(6097): 975-80.
- 5 Forrest AR, Ravasi T, Taylor D, Huber T. Phosphoregulators: Protein kinases and protein phosphatases of mouse. *Genome Res* 2003; 13(6B): 1443-54.
- 6 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.
- 7 Gao Y, Wells L, Comer FI, Parker GJ, Hart GW. Dynamic O-glycosylation of nuclear and cytosolic proteins: Cloning and characterization of a neutral, cytosolic beta-N-acetylglucosaminidase from human brain. *J Biol Chem* 2001; 276(13): 9838-45.
- 8 Shafi R, Lyer SP, Ellies LG, O'Donnell N, Marek KW, Chui D. The O-GlcNAc transferase gene resides on the X chromosome and is essential for embryonic stem cell viability and mouse ontogeny. *Proc Natl Acad Sci USA* 2000; 97(11): 5735-9.
- 9 Davies GJ, Martinez-Fleites C. The O-GlcNAc modification: Three-dimensional structure, enzymology and the development of selective inhibitors to probe disease. *Biochem Soc Trans* 2010; 38(5): 1179-88.
- 10 Hanover JA, Yu S, Lubas WB, Shin SH, Kochran J, Love DC, *et al.* Mitochondrial and nucleocytoplasmic isoforms of O-linked GlcNAc transferase encoded by a single mammalian gene. *Arch Biochem Biophys* 2003; 409(2): 287-97.
- 11 Lyer SP, Hart GW. Dynamic nuclear and cytoplasmic glycosylation: Enzymes of O-GlcNAc cycling. *Biochemistry* 2003; 42(9): 2493-9.
- 12 Clarke AJ, Hurtado-Guerrero R, Pathak S, Schüttelkopf AW. Structural insights into mechanism and specificity of O-GlcNAc transferase. *EMBO J* 2008; 27(20): 2780-8.
- 13 Lairson LL, Henrissat B, Davies GJ, Withers SG. Glycosyltransferases: Structures, functions, and mechanisms. *Annu Rev Biochem* 2008; 77: 521-55.

- 14 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.
- 15 Marshall S, Nadeau O, Yamasaki K. Dynamic actions of glucose and glucosamine on hexosamine biosynthesis in isolated adipocytes: Differential effects on glucosamine 6-phosphate UDP-N-acetylglucosamine, and ATP levels. *J Biol Chem* 2004; 279(34): 35313-9.
- 16 Zafir A, Readnower R, Long BW, McCracken J, Aird A, Alvarez A, *et al.* Protein O-GlcNAcylation is a novel cytoprotective signal in cardiac stem cells. *Stem Cells* 2012; 31(4): 765-75.
- 17 Clark RJ, McDonough PM, Swanson E, Trost SU, Suzuki M, Fukuda M, *et al.* Diabetes and the accompanying hyperglycemia impairs cardiomyocyte calcium cycling through increased nuclear O-GlcNAcylation. *J Biol Chem* 2003; 278(45): 44230-7.
- 18 Ngoh GA, Hamid T, Prabhu SD, Jones. O-GlcNAc signaling attenuates ER stress-induced cardiomyocyte death. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2009; 297(5): H1711-9.
- 19 McClain DA, Lubas WA, Cooksey RC, Hazel M, Parker GJ, Love DC, *et al.* Altered glycan-dependent signaling induces insulin resistance and hyperleptinemia. *Proc Natl Acad Sci USA* 2002; 99(16): 10695-9.
- 20 Slawson C, Zachara NE, Vosseller K, Cheung WD, Lane MD, Hart GW. Perturbations in O-linked beta-N-acetylglucosamine protein modification cause severe defects in mitotic progression and cytokinesis. *J Biol Chem* 2005; 280(38): 32944-56.
- 21 Zou L, Yang S, Hu S, Chaudry IH, Marchase RB, Chatham JC. The protective effects of PUGNAc on cardiac function after trauma-hemorrhage are mediated via increased protein O-GlcNAc levels. *Shock* 2007; 27(4): 402-8.
- 22 Macauley MS, Bubb AK, Martinez-Fleites C, Davies GJ, Vocadlo DJ. Elevation of global O-GlcNAc levels in 3T3-L1 adipocytes by selective inhibition of O-GlcNAcase does not induce insulin resistance. *J Biol Chem* 2008; 283(50): 34687-95.
- 23 Dennis RJ, Taylor EJ, Macauley MS, Stubbs KA, Turkenburg JP, Hart SJ, *et al.* Structure and mechanism of a bacterial beta-glucosaminidase having O-GlcNAcase activity. *Nat Struct Mol Biol* 2006; 13(4): 365-71.
- 24 Yuzwa SA, Macauley MS, Heinonen JE, Shan X, Dennis RJ, He Y, *et al.* A potent mechanism-inspired O-GlcNAcase inhibitor that blocks phosphorylation of tau *in vivo*. *Nat Chem Biol* 2008; 4(8): 483-90.
- 25 Hu P, Shimoji S, Hart GW. Site-specific interplay between O-GlcNAcylation and phosphorylation in cellular regulation. *FEBS Lett* 2010; 584(12): 2526-38.
- 26 Musicki B, Kramer MF, Becker RE, Burnett AL. Inactivation of phosphorylated endothelial nitric oxide synthase(Ser-1177) by O-GlcNAc in 37 diabetes-associated erectile dysfunction. *Proc Natl Acad Sci USA* 2005; 102(33): 11870-5.
- 27 Yang WH, Kim JE, Nam HW, Ju JW, Kim HS, Kim YS, *et al.* Modification of p53 with O-linked N-acetylglucosamine regulates p53 activity and stability. *Nat Cell Biol* 2006; 8(10): 1074-83.
- 28 Rengifo J, Gibson CJ, Winkler E, Collin T, Ehrlich BE. Regulation of the Inositol 1,4,5-Trisphosphate Receptor Type1 by O-GlcNAc Glycosylation. *J Neurosci* 2007; 27(50): 13813-21.
- 29 Han I, Kudlow JE. Reduced O-glycosylation of Sp1 is associated with increased proteasome susceptibility. *Mol Cell Biol* 1997; 17(5): 2550-8.
- 30 Zhang F, Su K, Yang X, Bowe DB, Paterson AJ, Kudlow JE. O-GlcNAc modification is an endogenous inhibitor of the proteasome. *Cell* 2003; 115(6): 715-25.
- 31 Datta R, Choudhury P, Bhattacharya M, Soto Leon F, Zhou Y, Datta B. Protection of translation initiation factor eIF2 phosphorylation correlates with eIF2-associated glycoprotein p67 levels and requires the lysine-rich domain I of p67. *Biochimie* 2001; 83(10): 919-31.
- 32 Zachara NE, O'Donnell N, Cheung WD, Mercer JJ, Marth JD, Hart GW. Dynamic O-GlcNAc modification of nucleocytoplasmic proteins in response to stress. A survival response of mammalian cells. *J Biol Chem* 2004; 279(29): 30133-42.
- 33 Zou L, Yang S, Hu S, Chaudry IH, Marchase RB, Chatham JC. The protective effects of PUGNAc on cardiac function after trauma-hemorrhage are mediated via increased protein O-GlcNAc levels. *Shock* 2007; 27(4): 402-8.
- 34 Xing D, Feng W, Nöt LG, Miller AP, Zhang Y, Chen YF, *et al.* Increased protein O-GlcNAc modification inhibits inflammatory and neointimal responses to acute endoluminal arterial injury. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2008; 295(1): H335-42.
- 35 Golks A, Tran TT, Goetschy JF, Guerini D. Requirement for O-linked N-acetylglucosaminyltransferase in lymphocytes activation. *EMBO J* 2007; 26(20): 4368-79.
- 36 Pappa A, Guerini D. Immune Regulation by the Posttranslational Modification O-GlcNAc. *Current Signal Transduction Therapy* 2010; 5(1): 41-8.
- 37 Jochmann R, Thureau M, Jung S, Hofmann C, Naschberger E, Kremmer E, *et al.* O-linked N-acetylglucosaminylation of Sp1 inhibits the human immunodeficiency virus type 1 promoter. *J Virol* 2009; 83(8): 3704-18.
- 38 Ngoh GA, Hamid T, Prabhu SD, Jones SP. O-GlcNAc signaling attenuates ER stress-induced cardiomyocyte death. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2009; 297(5): H1711-9.
- 39 Rexach JE, Clark PM, Hsieh-Wilson LC. Chemical approaches to understanding O-GlcNAc glycosylation in the brain. *Nat Chem Biol* 2008; 4(2): 97-106.
- 40 Wellen KE, Lu C, Mancuso A, Lemons JM, Ryczko M, Dennis JW, *et al.* The hexosamine biosynthetic pathway couples growth factor-induced glutamine uptake to glucose metabolism. *Genes Dev* 2010; 24(24): 2784-99.