



# 靶向蛋白翻译后修饰的药物化学生物学研究

陶泓儒<sup>1</sup>, 张元元<sup>2</sup>, 陈文韬<sup>2</sup>, 陈子墨<sup>2</sup>, 徐颖<sup>3</sup>, 李昊<sup>4</sup>, 周璐<sup>5</sup>, 韩记昌<sup>6</sup>, 邓贤明<sup>7</sup>, 李林<sup>6</sup>, 陈国强<sup>8</sup>, 罗成<sup>1,2\*</sup>

1. 国科大杭州高等研究院, 药物科学与技术学院, 杭州 310024

2. 中国科学院上海药物研究所, 化学生物学中心, 上海 201203

3. 上海交通大学医学院, 病理生理学系, 上海 200025

4. 复旦大学附属儿科医院神经外科, 上海 201210

5. 复旦大学药学院药物化学系, 上海 201203

6. 中国科学院分子细胞科学卓越创新中心, 上海 200031

7. 厦门大学生命科学院, 天然产物源靶向药物国家地方联合工程实验室, 厦门 361102

8. 上海交通大学医学院附属仁济医院, 衰老与组织修复研究院, 上海 200127

\*通讯作者, E-mail: cluo@simm.ac.cn

收稿日期: 2025-02-13; 接受日期: 2025-03-14; 网络版发表日期: 2025-03-24

国家自然科学基金(编号: 92253303)资助项目

**摘要** 蛋白质作为生命活动的核心执行者, 其功能多样性主要源于翻译后修饰(PTMs)的动态变化. PTMs如甲基化、磷酸化和SUMO化等, 是分子间相互作用、信号传导和网络调控的关键靶点, 几乎涉及细胞生长、存活和免疫应答等所有生命活动. 这些修饰的异常会导致蛋白质功能失调, 进而引发多种疾病. 随着多组学技术的发展, 与重大疾病相关的蛋白质修饰及其调控酶不断被发现, 这不仅拓展了PTMs在重大疾病中的功能解析, 也推动了靶向PTMs的小分子药物开发. 研究PTMs机制并鉴定相关靶标, 可加速基础研究向药物开发转化, 为重大疾病的诊疗提供理论基础. 本综述旨在: (1) 总结PTMs及其调控酶在肿瘤生长、转移和免疫逃逸中的功能和分子机制; (2) 概括PTMs位点功能预测的前沿技术和新方法; (3) 综述靶向PTMs机制的先导化合物发现策略和研究进展. 本综述将为靶向PTMs开发抗肿瘤药物提供新的干预靶点、创新策略、研究技术和经验参考.

**关键词** 肿瘤, 蛋白翻译后修饰, 功能, 干预靶点, 药物研发

## 1 引言

在生物体中, 蛋白质是各项复杂生命活动的重要载体和主要功能执行者, 蛋白质组的多样性决定了生命活动的复杂性和多样性. 种类繁多的翻译后修饰 (protein post-translational modification, PTM) 极大地增

加了蛋白质结构多样性, 同时也影响着蛋白质的活性、定位与蛋白相互作用等多方面性质. 它不仅是蛋白质动态变化和相互作用的分子基础, 也是信号转导和网络调控的重要靶点. 蛋白翻译后修饰几乎参与了细胞生长、存活、凋亡、运动、血管生成、免疫应答与凋亡等所有的细胞生命活动过程, 在生理过程中发

引用格式: Tao H, Zhang Y, Chen W, Chen Z, Xu Y, Li H, Zhou L, Han J, Deng X, Li L, Chen G, Luo C. Chemical biology research on targeting protein post-translational modifications. *Sci Sin Chim*, 2025, 55: 777-784, doi: 10.1360/SSC-2025-0026

挥了关键的调控作用<sup>[1]</sup>。修饰的异常会直接影响蛋白质功能的执行, 从而引起疾病的发生。

随着蛋白质组学、翻译后修饰组学等技术领域的快速发展, 越来越多的生物大分子动态修饰被鉴定出来并被报道与癌症、艾滋病、神经退行性疾病等多种疾病的发生和发展关系密切。通过对蛋白质的多种翻译后动态修饰的机制研究及相关靶标的鉴定, 进一步开发针对疾病相关蛋白质动态修饰的干预小分子, 可以加速从基础研究到药物开发的转化, 为认识生命体系调控的内在规律、重大疾病的诊疗提供基础性和前瞻性的理论基础。

通过开发蛋白翻译后修饰功能性位点预测模型, 结合翻译后修饰位点功能和分子机制的研究模型, 能够系统性解析特定病理条件下蛋白翻译后修饰位点的生物学功能。利用文库筛选、临近标记靶点垂钓、化学蛋白质组等技术能够深入阐明蛋白翻译后修饰酶与修饰位点的相互作用, 为疾病相关的蛋白质修饰干预提供直接作用靶标。以蛋白翻译后修饰酶与修饰位点相互作用为切入点, 开展小分子抑制剂的开发工作, 能够为特定靶点的临床创新药物研究提供新的策略和方法, 并推动基于蛋白翻译后调控的疾病治疗研究。

## 2 蛋白翻译后修饰功能研究

蛋白甲基化、磷酸化、SUMO化、乙酰化、泛素化等动态修饰的调控规律及分子机制的研究、靶标鉴定及开发干预手段已然成为全球学术界和工业界研究的热点。接下来将对这几种修饰功能研究及抑制剂开发情况进行概括。

### 2.1 蛋白质甲基化修饰研究

蛋白质的甲基化(methylation)是一类重要的翻译后修饰, 主要由甲基转移酶-蛋白质赖氨酸甲基转移酶(protein lysine methyltransferase, PKMTs)/蛋白质精氨酸甲基转移酶(protein arginine methyltransferase, PRMTs)催化, 这些酶将S-腺苷甲硫氨酸(SAM)的甲基转移至蛋白质残基上, 主要是赖氨酸或精氨酸, 也包括组氨酸、半胱氨酸、谷氨酰胺和天冬酰胺等。甲基化修饰是可逆的, 去甲基化由脱甲基转移酶调控。

蛋白质的甲基化从多方面影响蛋白质功能, 如蛋白质-蛋白质相互作用、蛋白质的稳定性、亚细胞定

位及酶活性等, 这对细胞的生长、凋亡及免疫信号响应至关重要。甲基化异常会导致多种疾病如癌症的发生。蛋白质精氨酸甲基转移酶1 (protein arginine methyltransferase 1, PRMT1)通过催化脂质运载蛋白2 (lipocalin-2, LCN2)基因启动子区H4R3me2a甲基化修饰激活其表达及下游pAKT-pRB通路信号传递, 促进肾透明细胞癌恶性增殖及对肾癌一线治疗药物舒尼替尼的耐药<sup>[2]</sup>。在黑色素瘤中, PRMT1通过影响DNA甲基转移酶1 (DNA methyltransferase, DNMT1)增强子区域H4R3me2a甲基化修饰丰度参与黑色素瘤细胞内ERVs-dsRNA-I型干扰素-CXCL9/CXCL10信号轴的调控, 进而影响肿瘤微环境中T细胞的激活与浸润<sup>[3]</sup>。

### 2.2 蛋白质磷酸化修饰研究

磷酸化是生物体内蛋白翻译后修饰最为广泛修饰形式。该过程由蛋白质激酶(kinase)催化, 将ATP或GTP的磷酸基转移到底物氨基酸残基中, 如丝氨酸、苏氨酸和酪氨酸等。同样地, 磷酸化修饰也是一个可逆的过程, 蛋白质的去磷酸化主要由蛋白质磷酸酶催化。

蛋白质磷酸化和去磷酸化是调节和控制蛋白质活力和功能最普遍、也是最重要的调控机制, 参与各种生理和病理过程, 调控细胞的增殖、分化和凋亡, 广泛运用在信号传导、信号通路、发育分化、癌症机理等研究领域。肿瘤细胞中蛋白激酶的扩增、激活突变、活性失调等, 使得激酶的下流底物磷酸化水平发生动态变化, 影响肿瘤的代谢、生长、存活及免疫微环境。

在神经母细胞瘤RAS病毒癌基因同源物(neuroblastoma RAS viral oncogene homolog, NRAS)激活突变的恶性黑色素瘤中, 丝/苏氨酸激酶(serine/threonine kinase 19, STK19)被发现作为NRAS的上游调控因子, 通过磷酸化NRAS第89位丝氨酸促进NRAS的过度活化介导黑色素细胞的恶性转化<sup>[4]</sup>。此外, 在PFA型室管膜瘤中, X染色体开放阅读框6 (chromosome X open reading frame 6, CXorf6)通过竞争性结合BRCA2的伴侣和定位蛋白(partner and localizer of BRCA2, PALB2)抑制DNA同源重组损伤修复通路, 从而通过合成致死原理促进其特异性高表达的PFA型室管膜瘤对PARP抑制剂敏感。进一步研究发现新型蛋白激酶LNK1可能通过影响CXorf6特定位点磷酸化参与PFA型室管膜瘤细胞内DNA同源重组损伤修复通路的调控<sup>[5]</sup>。

除了上述肿瘤外, 在包括子宫平滑肌肉瘤、前列腺癌、神经胶质瘤和乳腺癌等多种癌症中发现一种名为磷酸酶和张力蛋白同源物(phosphatase and tensin homolog, PTEN)的缺失. 该磷酸酶的缺失会促进免疫抑制以及免疫疗法的耐药性. 研究表明, 肿瘤细胞分泌的磷酸酶PTEN蛋白能够通过与巨噬细胞表面的丛蛋白结构域蛋白2 (plexin domain protein 2, PLXDC2)结合, 促进下游的JAK2-STAT1信号激活, 将肿瘤相关巨噬细胞从免疫抑制表型转变为炎症表型, 进而导致CD8<sup>+</sup>T和自然杀伤细胞的激活增强. 这一结果也证明了靶向蛋白质磷酸化作为癌症免疫疗法的治疗潜力<sup>[6]</sup>.

### 2.3 蛋白质的SUMO化修饰研究

SUMO (small ubiquitin-related modifier)修饰是一种类泛素化(ubiquitin-like, UBLs)修饰, 小泛素相关修饰物蛋白在SUMO化的酶催化下与底物蛋白结合. 这一过程需要SUMO特有的E1 (SAE1/SAE2)、E2 (UBC9)和E3连接酶的催化. SUMO化修饰也是一个可逆的过程, 可以被SENP介导其去SUMO化过程.

SUMO化修饰参与了对减数分裂、发育、衰老等多种生理过程的调节, 其失衡与癌症、心脏病以及先天免疫性疾病等相关. 缺氧诱导因子-1 $\alpha$  (hypoxia inducible factor-1 $\alpha$ , HIF-1 $\alpha$ )是细胞感受氧气变化的重要调控因子, 在肿瘤细胞中普遍高表达. 靶向HIF-1 $\alpha$ 转录活性抑制尚未有上市抗肿瘤药物, 其原因是直接抑制HIF-1 $\alpha$ 转录活性存在较强副作用, 因此发现新型肿瘤相关HIF-1 $\alpha$ 调控机制具有重要研究意义.

HIF-1 $\alpha$ 蛋白稳定性与转录活性受多种蛋白质翻译后修饰的调控, 除了常见羟基化、乙酰化还有SUMO化修饰. 研究发现, 染色体盒蛋白4 (chromobox 4, CBX4)通过增强HIF-1 $\alpha$ 第K391位和K477位SUMO化修饰, 增强HIF-1 $\alpha$ 的转录活性进而促进肝癌组织内新生血管生成, 加速肝癌发展<sup>[7]</sup>.

### 2.4 其他蛋白翻译后修饰研究

乙酰化修饰是一种普遍存在的、可逆且高度调控的蛋白质翻译后修饰方式, 主要发生在蛋白质赖氨酸残基的 $\epsilon$ -NH<sub>2</sub>位. 赖氨酸乙酰转移酶(lysine acetyltransferase, KAT)将乙酰基从乙酰辅酶A转移到赖氨酸的 $\epsilon$ -氨基侧链, 这一过程可以被赖氨酸脱乙酰酶(lysine deacetylase, KDAC)逆转.

已鉴定出KATs根据其结构与功能特征主要归为三个家族: GNAT、CBP/p300与MYST家族. 此外, 还有 $\alpha$ -微管蛋白N-乙酰转移酶1 ( $\alpha$ -tubulin N-acetyltransferase 1, TAT1)、ESCO1和ESCO2, 以及组蛋白乙酰转移酶1 (histone acetyltransferase 1, HAT1). KDACs则可以分为两类: 锌离子依赖的HDAC和NAD<sup>+</sup>依赖的Sirtuin去乙酰化酶.

乙酰化修饰在基因转录、自噬、DNA损伤修复、细胞分裂、信号转导等多种生物学过程中发挥重要功能. 细胞自噬是一种在真核生物中高度保守的细胞稳态维持机制, 是将细胞内受损、变形、衰老或失去功能的蛋白或细胞器运送至溶酶体进行消化降解的过程. LC3家族蛋白是自噬体形成和自噬底物降解至至关重要的核心蛋白. 研究表明, LC3家族蛋白的赖氨酸第49位(K49)和51位(K51)是乙酰化修饰的关键位点. 饥饿条件下LC3家族蛋白K49和K51的去乙酰化是蛋白活化进入自噬, 促使细胞能够应对外部营养匮乏的必要条件<sup>[8]</sup>.

泛素化修饰则是细胞内另一重要的蛋白质翻译后修饰, 也是生物体内蛋白质稳态维持的关键过程, 在癌症、感染性疾病、神经退行性疾病等多种疾病的发生和发展中扮演着关键角色. 泛素化修饰由泛素活化酶(E1)、泛素结合酶(E2)以及泛素连接酶(E3)级联催化完成, 其中E3泛素连接酶能够识别并结合特定的底物蛋白, 促进其泛素化. 人类基因组编码超过600种泛素连接酶E3, 根据结构和功能特点可将其分为RING E3、HECT E3、RBR E3及CRL E3, 这些E3泛素连接酶家族在蛋白质的降解、信号传导、细胞周期控制等多种生物学过程中发挥着重要作用.

E6AP是一种HECT型E3泛素连接酶, 其功能失调不仅能够诱发包括宫颈癌在内的多种肿瘤疾病, 还能造成严重的脑部疾病. 针对E6AP/E6复合物的分辨率结构研究, 首次发现E6AP表面存在的E6识别口袋, 并揭示了E6的结合能够诱导E6AP  $\alpha$ 1-helix的延长, 进而促进E6AP的二聚化并激活E6AP活性. 借助解析的复合物构象连续体和动力学模拟技术, 团队描绘了E6AP泛素转移的动力学行为过程, 为研究病理条件下E6AP活性紊乱介导p53异常修饰的动态机制奠定重要物质基础. 值得注意的是, 一些与天使综合征和孤独症谱系障碍相关的E6AP突变同样位于延伸的 $\alpha$ 1-helix, 提示这些突变可能影响 $\alpha$ 1-helix的稳定性, 进而导致

E6AP功能障碍<sup>[9]</sup>.

Nrdp1则是一种RING型E3泛素连接酶, 研究发现其在肿瘤血管内皮细胞中的低表达能够促进肿瘤细胞发生转移. 具体表现为低氧环境下, 肿瘤细胞分泌的血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)能够激活内皮细胞中E3泛素连接酶CHIP的表达, 而后者通过诱导Nrdp1发生泛素化修饰, 进而使其以蛋白酶体依赖的方式降解. 降解的Nrdp1会导致原本受其以泛素E3连接酶活性非依赖方式调控的激酶Fam20C分泌增加. 分泌增加的Fam20C利用其激酶活性增强基底膜组分磷酸化, 破坏血管基底膜的完整性, 进而促进癌细胞的转移. 在此基础上, 特异性过表达内皮细胞的Nrdp1以及给予Nrdp1激动剂ABPN, 均可以有效抑制小鼠的肿瘤肺部转移<sup>[10]</sup>.

## 2.5 靶向蛋白翻译后修饰抑制剂开发及存在问题

鉴于蛋白质翻译后修饰在蛋白质功能与重大疾病发生发展中的重要的作用, 针对其抑制剂的开发广泛受到学界和工业界的青睐. 其中针对甲基化转移酶EZH2抑制剂EPZ-6438等; I型PRMTs抑制剂GSK3368715及PRMT5抑制剂GSK3326595已经进入适应症为血液病、黑色素瘤等临床实验阶段; 包括ABL酪氨酸在内76种激酶抑制剂已经获批上市; 多类SENPs抑制剂在体外表现出较好的抗癌活性; 针对蛋白去乙酰化HDACs开发的抑制剂伏立诺他(Vorinostat)等已经被批准用于T细胞淋巴瘤的治疗. 虽然靶向蛋白翻译后修饰调控酶抑制剂的研发已经取得了重大进展, 但靶向甲基修饰、蛋白去乙酰化修饰酶和SUMO化抑制剂仍存在选择性较差、靶向磷酸化的激酶抑制剂由于靶蛋白二次突变、旁路激活等原因导致肿瘤患者出现耐药性等问题.

为了进一步提升靶向蛋白翻译后修饰抑制剂的活性与选择性, 克服临床激酶抑制剂耐药性问题, 挖掘新的作用靶标, 发现并阐明蛋白翻译后修饰新功能与新机制显得尤为重要.

## 3 蛋白翻译后修饰位点的功能预测和药物靶点发现

蛋白质组学与翻译后修饰组学的发展极大地推动了蛋白翻译后修饰位点和功能的研究. 研究人员利

用液相色谱-质谱联用(LC-MS/MS)等技术, 过去十多年间, 人体中鉴定到的蛋白质磷酸化修饰位点数目已超过50万条<sup>[11]</sup>. 然而, 由于生物功能实验的复杂性, 目前具有功能注释信息的磷酸化位点数目仍不足一万条, 这使得磷酸化位点的功能研究成为翻译后修饰位点研究中的“瓶颈”. 为应对这一挑战, Liang等<sup>[11]</sup>通过检索PSP、EPSD、iPTMnet以及PTMD数据库, 收集了人类具有功能注释信息的磷酸化位点, 并基于这些数据构建了深度学习模型FuncPhos-SEQ<sup>[11]</sup>和FuncPhos-STR<sup>[12]</sup>. 这些模型利用特征统计来预测磷酸化位点的功能, 为深入理解磷酸化修饰在细胞生理和病理过程中的作用提供了新的工具和方法. 通过这种方式, 研究人员能够更高效地识别和研究具有潜在生物学意义的磷酸化位点, 从而加速从基础研究到临床应用的转化.

其中, FuncPhos-SEQ主要基于蛋白质序列信息, 结合PPI信息对人类蛋白质组水平的磷酸化位点开展功能预测. 结果表明, FuncPhos-SEQ在不同的测试集上均能对磷酸化位点的功能(包括调控活性、调控互作及非特异功能)获得较好的预测效果. 在模型验证方面, Liang等<sup>[12]</sup>以NADK为例, 通过FuncPhos-SEQ对NADK上的磷酸化位点进行打分, 并通过实验鉴定出ERK1/2可以结合并磷酸化NADK第48/50位丝氨酸, 并激活NADK活性. 基于FuncPhos-SEQ框架, 使用FuncPhos-STR通过进一步整合磷酸化位点基于AlphaFold蛋白质结构和动力学信息来预测其功能. 通过整合蛋白质不同维度的特征信息, 发现FuncPhos-STR在预测准确度上具有明显的优势. 使用FuncPhos-STR对磷酸化位点进行功能打分, 结果表明位于小分子结构口袋区域内的磷酸化位点可以获得更高的功能分数, 理论上支持这类磷酸化位点对蛋白质功能的调控作用及模型的合理性. 根据两类模型Liang等<sup>[12]</sup>构建了名为FuncPhos-SEQ及FuncPhos-STR的深度学习框架在线资源, 用于人类蛋白质组水平的磷酸化位点的功能预测和结构可视化.

除了基于计算预测的方法, Chen等<sup>[7]</sup>近期还发展了基于高内涵的高通量筛选方法, 并对筛选发现的苗头化合物进行结构优化改造, 并以优化改造后的先导化合物作为分子探针揭示了Cbx4参与HIF-1 $\alpha$ 的SUMO化动态修饰的调控机制. 研究发现, XZA类化合物通过激活羟脂酰辅酶A脱氢酶(hydroxyacyl-CoA dehydro-

genase, HADH)增加其产物乙酰乙酰辅酶A的含量从而乙酰乙酰化修饰Cbx4的K106来抑制其SUMO化活性, 抑制其底物HIF-1 $\alpha$ 的转录活性, 使其靶基因VEGF以及丙酮酸脱氢酶激酶(pyruvate dehydrogenase kinase, PDK)的表达下调.

## 4 靶向蛋白翻译后修饰的分子探针发现

### 4.1 靶向蛋白质磷酸化的分子探针的发现

Wnt信号通路是细胞命运决定的关键信号通路之一, 其调控的靶基因广泛参与细胞生命活动. Wnt信号通路的失调与多种人类疾病, 尤其是与肿瘤的发生和发展密切相关. 为了发现新的Wnt信号调控的磷酸化修饰, Li等<sup>[5]</sup>结合特异性抗体和质谱蛋白质组学技术, 对Wnt信号刺激下的动态磷酸化修饰进行了大数据分析, 鉴定出一批新的或功能未知的磷酸化修饰位点. 其中, 蛋白激酶LNK1的特定定位点磷酸化显著响应Wnt信号刺激. 进一步研究发现, LNK1通过一条新的Wnt信号通路调控DNA损伤修复, 其底物CXorf67直接参与DNA同源重组损伤修复通路, 使PFA型室管膜瘤对PARP抑制剂敏感.

鉴于PFA型室管膜瘤是常见的侵袭性儿科肿瘤, Li等<sup>[5]</sup>与医院合作开展了首个PARP抑制剂联合放疗的临床试验. 考虑到部分患儿不能接受放疗或复发患者不宜二次放疗, 探索了化疗与PARP抑制剂联用的有效性, 并在临床试验中验证了PARP抑制剂与低剂量化疗药物联用的疗效和安全性. 目前, 该治疗方案正在进行二期临床试验, 初步结果表明疗效显著且安全性可控.

黑色素瘤是一种高恶性度的皮肤癌, 其中约20%~30%的病例存在NRAS激活突变, 但目前尚缺乏有效的NRAS靶向治疗方案. 2019年, Yin等<sup>[4]</sup>通过激酶组siRNA文库筛选发现, STK19是NRAS的上游激活因子, 通过磷酸化NRAS的S89位点促进黑色素细胞的恶性转化. 基于此, Deng等<sup>[4]</sup>筛选并优化出STK19特异性抑制剂ZT-12-037-01(1a), 该抑制剂在体外和小鼠模型中均能有效阻断NRAS介导的黑色素瘤生长. 这一发现不仅揭示了STK19在NRAS突变黑色素瘤中的全新调控机制, 还首次验证了STK19作为NRAS介导黑色素瘤治疗靶点的潜力, 为开发新的抗黑色素瘤药物提供了重要线索.

### 4.2 靶向蛋白质的SUMO化修饰的分子探针发现

在前期研究中, Chen等<sup>[7]</sup>发现CBX4不仅是肝癌患者预后的独立生物标志物, 还通过增强HIF-1 $\alpha$ 第K391位和K477位的SUMO化修饰, 增强转录因子HIF-1 $\alpha$ 活性, 进而促进肝癌新生血管生成. 为了筛选抑制CBX4-HIF-1 $\alpha$ 信号轴转录活性的化合物, Chen等<sup>[7]</sup>构建了3 $\times$ Flag-HIF-1 $\alpha$ 与CBX4的双荧光素酶激活体系, 通过高通量筛选得到了苗头化合物.

在对上述苗头化合物进行构效分析后, 选择470和482进行改造, 最终得到了高活性的光亲和探针工具分子XZA-2. 通过靶标垂钓实验、蛋白质谱解析、竞争性pull-down、荧光共定位、敲低和高表达等实验, 确认该XZA-2的作用靶标为羟脂酰辅酶A脱氢酶(hydroxyacyl-CoA dehydrogenase, HADH).

机制研究发现, XZA-2通过增强HADH的酶活性, 提高细胞内乙酰乙酰辅酶A浓度, 进而增加CBX4第K106位乙酰乙酰化修饰丰度抑制其SUMO E3连接酶活性, 最终抑制了HIF-1 $\alpha$  SUMO化修饰强度和转录活性(图1).

### 4.3 靶向蛋白质乙酰化修饰位点的化学探针发现

细胞自噬是一种在真核生物中高度保守的细胞稳态维持机制, 通过将细胞内受损或失去功能的蛋白和细胞器运送至溶酶体进行降解. LC3家族蛋白是自噬体形成和底物降解的核心蛋白, 其K49和K51位点的乙酰化修饰在饥饿条件下通过去乙酰化激活LC3, 促进自噬.

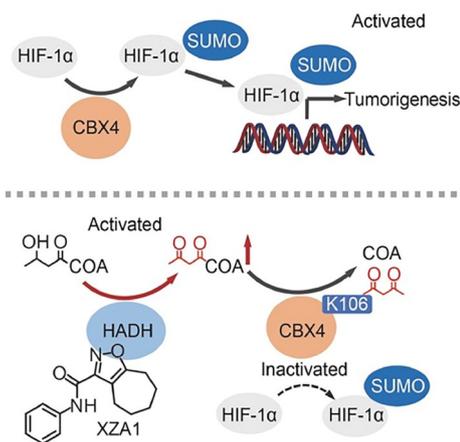


图1 (网络版彩图)作用机制图

Figure 1 (Color online) Mechanism of action diagram.

Luo等<sup>[13]</sup>通过高通量筛选获得了共价结合LC3B K49的小分子探针DC-LC3in, 并设计优化获得了活性提高13倍的小分子DC-LC3in-D5. 该探针通过共价结合乙酰化修饰位点K49选择性靶向LC3A/B, 影响LC3A/B的脂酰化作用(图2), 从而在细胞水平破坏LC3A/B与其互作蛋白P62的相互作用, 最终抑制P62的自噬降解, 实现对P62蛋白的稳态调控.

SUMO (small ubiquitin-related modifier)修饰是一种泛素化(ubiquitin-like, UBLs)修饰, 小泛素相关修饰物蛋白在SUMO化的酶催化下与底物蛋白结合. 这一过程需要SUMO特有的E1 (SAE1/SAE2)、E2 (UBC9)和E3连接酶的催化. SUMO化修饰也是一个可逆的过程, 可以被SENP介导其去SUMO化过程.

基于DC-LC3in-D5, Luo等<sup>[14]</sup>进一步将DC-LC3in系列化合物分为共价弹头与非共价作用区两个部分重点探索构效关系. 并通过将优势片段分子杂交得到了目前活性最强的通过共价结合乙酰化修饰位点K49靶向LC3A/B的小分子化合物LC3in-C42 (IC<sub>50</sub>值为7.6 nM). 在细胞层面上, LC3in-C42也展现出比DC-LC3in-D5更强的P62蛋白的稳态调控能力和自噬抑制能力.

目前, DC-LC3in系列化合物衍生物已申请相关专利, 并与公司进行转让开发合作, 已获准进入临床I期研究阶段, 是目前进展最快的LC3靶向小分子.

#### 4.4 基于蛋白泛素化修饰的分子探针发现

泛素化修饰是关键的翻译后修饰, 由E1泛素激活酶启动, 经E2泛素结合酶传递, 最终由E3泛素连接酶

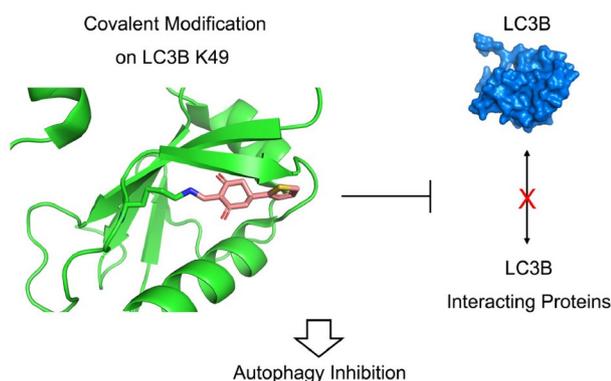


图2 (网络版彩图)共价靶向LC3B K49位策略图

Figure 2 (Color online) Schematic diagram of the covalent targeting strategy for LC3B K49.

附着于靶蛋白上, 调控蛋白质定位、代谢、调节和降解<sup>[15]</sup>. 泛素化探针主要有Cys型DUB和泛素活性探针(ubiquitin activity-based probe, Ub-ABP)及泛素亲和性探针(affinity-based probe, AfBP), 由报告标签、识别基团和活性基团组成, 能特异性识别并影响泛素化蛋白, 对基础研究和药物开发至关重要<sup>[16-18]</sup>.

Lin等<sup>[19]</sup>利用疏水标签设计化合物, 诱导CDK9-cyclin T1复合物降解. LL-K9-3通过多泛素化触发蛋白酶降解, 比CDK9抑制剂SNS032更有效地抑制下游信号传导. 在此基础上, 优化得到LL-CDK9-12, 能够高选择性地诱导CDK9和Cyclin T1降解<sup>[20]</sup>. 此外, Lin等<sup>[21]</sup>还设计了针对CDK8-Cyclin C复合物降解剂, LL-K8-22作为首个双重降解剂, 显著抑制下游靶基因转录与肿瘤细胞增殖, 效力是前体化合物BI-1347的5倍. LL-K8-22有效解决了Cyclin C靶点的不可成药性, 并将有助于研究该靶点在肿瘤发生中的具体功能.

此外, Lin等<sup>[22]</sup>提出双位点分子胶概念, 在CDK12/CDK13抑制剂SR-4835基础上, 设计并合成分子胶化合物-LL-K12-4和LL-K12-18, 这两种化合物显著增强CDK12-DDB1复合物稳定性, 以DDB1介导的泛素-蛋白酶体系统依赖方式诱导Cyclin K降解, 降解效率和抗增殖效果皆优于SR-4835. 这些发现不仅证实了双重点方法在抑制CDK12功能方面的潜力, 还为基于结构的分子胶设计开辟了新途径.

## 5 总结与展望

在生物体中, 蛋白质作为核心分子, 承载并执行着复杂的生命活动. 蛋白质的翻译后修饰, 包括甲基化、磷酸化、SUMO化、乙酰化和泛素化等, 为其化学结构引入动态变化, 极大地丰富了其功能多样性. 这些修饰精细调控着复杂的信号传递, 在细胞生长、存活、免疫应答等所有生命活动中发挥关键作用. 然而, 修饰的异常会导致蛋白质功能失调, 进而可能引发肿瘤等多种重大疾病. 因此, 深入探索蛋白质翻译后修饰位点, 揭示其功能机制, 对于发现新的作用靶点与调控方式至关重要, 有望为疾病的诊断与治疗提供新策略和途径.

随着多组学技术的发展, 尤其是质谱技术的应用, 蛋白翻译后修饰新位点的发现速度得到了极大的提升. 这些发现为开发针对重大疾病相关的功能性蛋白

翻译后修饰位点及相关修饰酶抑制剂提供了巨大的潜力,有望为疾病的诊断和治疗带来新的突破.在这一背景下,功能性修饰位点注释性深度模型的出现,为功能性翻译后修饰位点的发现提供了有力工具.本综述总结了Liang等<sup>[11,12]</sup>发展的深度学习模型FuncPhos-SEQ和FuncPhos-STR,这些模型通过蛋白序列信息、蛋白-蛋白互作信息有效预测磷酸化位点的功能.学习模型与实验模型的结合准确揭示了ERK1/2对底物蛋白烟酰胺腺嘌呤二核苷酸激酶(nicotinamide adenine dinucleotide kinase, NADK)的磷酸化激活作用.这一工具的发展有助于科研人员更高效地识别和研究具有潜在生物学意义的磷酸化位点,加速从基础研究到临床应用的转化.高效翻译后修饰靶点功能预测模型,也是该领域未来发展的又一重要方向.

特定疾病进程、生理功能中功能性蛋白翻译后修饰、修饰酶的发现与功能解析,不仅拓展重大疾病相关靶标的发现,也加速了靶向蛋白翻译后修饰及其相关靶点的小分子药物开发进程.本综述详细描述了蛋

白磷酸化、SUMO化、乙酰化、泛素化修饰位点与相关修饰酶在肿瘤进程中的作用功能和与机制,根据修饰动态调控的特征开展靶向激酶LNK1相关WNT信号通路、激酶STK19、HIF-1 $\alpha$  SUMO化修饰、LC3A/B K49乙酰化修饰以及CDK8-CyclinC与CDK12-DDB1复合体的小分子抑制剂开发.其中,LC3A/B抑制剂LC3in-D5通过K49位点选择性靶向LC3A/B,影响其脂酰化作用,通过进一步结构优化的LC3in-C42展现出比DC-LC3in-D5更强的活性<sup>[13]</sup>.目前DC-LCin系化合物已经获准进入临床试验.此外,利用泛素-蛋白酶体系开发的双重降解抑制剂LL-K8-22通过泛素化修饰诱发CDK8-CyclinC复合体的降解,有效解决了CyclinC靶点的不可成药性<sup>[21]</sup>.双位点分子胶化合物LL-K12-4和LL-K12-18则通过稳定CDK12-DDB1复合物,促进Cyclin K以DDB1介导的泛素-蛋白酶体系依赖方式降解<sup>[22]</sup>.这些抑制剂的开发,不仅为靶向动态修饰的抗肿瘤新靶标提供了新的高活性干预小分子,还为克服临床中靶点不可成药性提供了新思路.

## 参考文献

- Nussinov R, Tsai CJ, Xin F, Radivojac P. *Trends Biochem Sci*, 2012, 37: 447–455
- Wang J, Wang C, Xu P, Li X, Lu Y, Jin D, Yin X, Jiang H, Huang J, Xiong H, Ye F, Jin J, Chen Y, Xie Y, Chen Z, Ding H, Zhang H, Liu R, Jiang H, Chen K, Yao Z, Luo C, Huang Y, Zhang Y, Zhang J. *Theranostics*, 2021, 11: 5387–5403
- Tao H, Jin C, Zhou L, Deng Z, Li X, Dang W, Fan S, Li B, Ye F, Lu J, Kong X, Liu C, Luo C, Zhang Y. *Cancer Res*, 2024, 84: 419–433
- Yin C, Zhu B, Zhang T, Liu T, Chen S, Liu Y, Li X, Miao X, Li S, Mi X, Zhang J, Li L, Wei G, Xu Z, Gao X, Huang C, Wei Z, Goding CR, Wang P, Deng X, Cui R. *Cell*, 2019, 176: 1113–1127.e16
- Han J, Yu M, Bai Y, Yu J, Jin F, Li C, Zeng R, Peng J, Li A, Song X, Li H, Wu D, Li L. *Cancer Cell*, 2020, 38: 844–856.e7
- Zhang C, Ma HM, Wu S, Shen JM, Zhang N, Xu YL, Li CX, He P, Ge MK, Chu XL, Zhang YX, Zheng JK, Chen GQ, Shen SM. *Dev Cell*, 2024, 59: 3072–3088.e8
- Li J, Xu Y, Long XD, Wang W, Jiao HK, Mei Z, Yin QQ, Ma LN, Zhou AW, Wang LS, Yao M, Xia Q, Chen GQ. *Cancer Cell*, 2014, 25: 118–131
- Huang R, Xu Y, Wan W, Shou X, Qian J, You Z, Liu B, Chang C, Zhou T, Lippincott-Schwartz J, Liu W. *Mol Cell*, 2015, 57: 456–466
- Wang Z, Fan F, Li Z, Ye F, Wang Q, Gao R, Qiu J, Lv Y, Lin M, Xu W, Luo C, Yu X. *Nat Commun*, 2024, 15: 3531
- Li QQ, Guo M, He GH, Xi KH, Zhou MY, Shi RY, Chen GQ. *Oncogene*, 2024, 43: 1836–1851
- Liang Z, Liu T, Li Q, Zhang G, Zhang B, Du X, Liu J, Chen Z, Ding H, Hu G, Lin H, Zhu F, Luo C. *Cell Rep*, 2023, 42: 113048
- Zhang G, Zhang C, Cai M, Luo C, Zhu F, Liang Z. *Int J Biol Macromol*, 2024, 266: 131180
- Fan S, Yue L, Wan W, Zhang Y, Zhang B, Otomo C, Li Q, Lin T, Hu J, Xu P, Zhu M, Tao H, Chen Z, Li L, Ding H, Yao Z, Lu J, Wen Y, Zhang N, Tan M, Chen K, Xie Y, Otomo T, Zhou B, Jiang H, Dang Y, Luo C. *Angew Chem Int Ed*, 2021, 60: 26105–26114
- Zhou Z, Huang S, Fan S, Li X, Wang C, Yu W, Du D, Zhang Y, Chen K, Fu W, Luo C. *J Med Chem*, 2024, 67: 12184–12204
- Komander D, Rape M. *Annu Rev Biochem*, 2012, 81: 203–229
- Yau R, Rape M. *Nat Cell Biol*, 2016, 18: 579–586
- Xu L, Wei C, Lu X, Li X. *Prog Biochem Biophys*, 2024, 51: 598–623 (in Chinese) [许玲, 魏翠娜, 鲁显福, 李宜明. 生物化学与生物物理进展,

2024, 51: 598–623]

- 18 Sanman LE, Bogoy M. *Annu Rev Biochem*, 2014, 83: 249–273
- 19 Li J, Liu T, Song Y, Wang M, Liu L, Zhu H, Li Q, Lin J, Jiang H, Chen K, Zhao K, Wang M, Zhou H, Lin H, Luo C. *J Med Chem*, 2022, 65: 11034–11057
- 20 Lin R, Yang J, Liu T, Wang M, Ke C, Luo C, Lin J, Li J, Lin H. *Chem Biodivers*, 2023, 20: e202300769
- 21 Wang M, Lin R, Li J, Suo Y, Gao J, Liu L, Zhou L, Ni Y, Yang Z, Zheng J, Lin J, Zhou H, Luo C, Lin H. *J Med Chem*, 2023, 66: 4932–4951
- 22 Zhang Z, Li Y, Yang J, Li J, Lin X, Liu T, Yang S, Lin J, Xue S, Yu J, Tang C, Li Z, Liu L, Ye Z, Deng Y, Li Z, Chen K, Ding H, Luo C, Lin H. *Nat Commun*, 2024, 15: 6477

## Chemical biology research on targeting protein post-translational modifications

Hongru Tao<sup>1</sup>, Yuanyuan Zhang<sup>2</sup>, Wentao Chen<sup>2</sup>, Zimo Chen<sup>2</sup>, Ying Xu<sup>3</sup>, Hao Li<sup>4</sup>, Lu Zhou<sup>5</sup>, Jichang Han<sup>6</sup>, Xianming Deng<sup>7</sup>, Lin Li<sup>6</sup>, Guoqiang Chen<sup>8</sup>, Cheng Luo<sup>1,2\*</sup>

<sup>1</sup> School of Drug Science and Technology, Hangzhou Institute for Advanced Study, University of Chinese Academy of Sciences, Hangzhou 310024, China

<sup>2</sup> Center for Chemical Biology, Shanghai Institute of Materia Medica, Chinese Academy of Sciences, Shanghai 201203, China

<sup>3</sup> Department of Pathophysiology, Shanghai Jiao Tong University School of Medicine, Shanghai 200025, China

<sup>4</sup> Department of Neurosurgery, Children's Hospital of Fudan University, Shanghai 201210, China

<sup>5</sup> Department of Medicinal Chemistry, School of Pharmacy, Fudan University, Shanghai 201203, China

<sup>6</sup> Center for Excellence in Molecular Cell Science, Chinese Academy of Sciences, Shanghai 200031, China

<sup>7</sup> School of Life Sciences, National and Local Joint Engineering Laboratory of Natural Products-Derived Targeted Drugs, Xiamen University, Xiamen 361102, China

<sup>8</sup> Institute of Aging and Tissue Repair, Renji Hospital, Shanghai Jiao Tong University School of Medicine, Shanghai 200127, China

\*Corresponding author (email: [clu@sim.ac.cn](mailto:clu@sim.ac.cn))

**Abstract:** Proteins, as the core executors of biological activities, exhibit diverse functions primarily due to the dynamic changes in post-translational modifications (PTMs), such as methylation, phosphorylation, and SUMOylation. These PTMs are critical targets for molecular interactions, signaling, and network regulation, and are involved in nearly all biological activities, including cell growth, survival, and immune response. Aberrant PTMs can lead to protein dysfunction and subsequent diseases. The development of multi-omics technologies has led to the continuous identification of disease-related PTMs and regulatory enzymes, expanding the understanding of PTMs in major diseases and promoting the development of small-molecule drugs targeting PTMs. Investigating PTM mechanisms and identifying relevant targets can accelerate the translation of basic research into drug development, providing a theoretical basis for the diagnosis and treatment of major diseases. This review aims to: (1) summarize the functions and mechanisms of PTMs and regulatory enzymes in tumor growth, metastasis, and immune evasion; (2) outline cutting-edge technologies and new methods for predicting PTM site functions; (3) review strategies and progress in discovering lead compounds targeting PTM mechanisms. Ultimately, it provides new intervention targets, innovative strategies, research technologies, and references for the development of anti-tumor drugs targeting PTMs.

**Keywords:** tumor, protein post-translational modification, function, target intervention, drug development

doi: [10.1360/SSC-2025-0026](https://doi.org/10.1360/SSC-2025-0026)