

综 述

DOI:10.13406/j.cnki.cyx.002449

棕榈酰化对蛋白质功能及运输影响的研究进展

简 勇¹, 许 飞², 徐新平²

(1. 江西省新余市人民医院呼吸内科, 新余 338000; 2. 南昌大学第一附属医院呼吸与危重症科、南昌大学第一附属医院江西省呼吸疾病研究所, 南昌 330006)

【摘 要】蛋白质棕榈酰化是蛋白质唯一完全可逆的翻译后脂质化修饰, 作为控制多种蛋白质的性质和功能以及生理过程中普遍存在的机制而出现。棕榈酰化正是通过不稳定的硫酯键将长链脂质酶促加入可溶性跨膜蛋白的细胞内半胱氨酸残基而得到的。脂质的添加导致蛋白质疏水性的增加, 可影响蛋白质结构、组装、成熟、运输和功能。本综述介绍了棕榈酰化的发生过程, 如棕榈酰化位点的预测和棕榈酰化蛋白的获得、棕榈酰化的抑制及活化剂使用, 提出了使用棕榈酰化蛋白纯化联合质谱鉴定的方法来进行棕榈酰化蛋白组学的研究, 突出了对蛋白质功能的调节作用, 并进一步讨论其对蛋白质运输的影响。

【关键词】棕榈酰化; 功能; 运输; 进展

【中图分类号】R34

【文献标志码】A

【收稿日期】2019-10-08

Advances in effects of palmitoylation on protein function and transportation

Jian Yong¹, Xu Fei², Xu Xinping²

(1. Department of Respiratory Medicine, Xinyu People's Hospital; 2. Department of Respiration and Critical Care, Jiangxi Institute of Respiratory Disease, The First Affiliated Hospital of Nanchang University)

【Abstract】Protein palmitoylation is the only fully reversible post-translational lipidation modification for proteins and appears as a ubiquitous mechanism controlling properties and functions of many proteins which exists in physiological processes. Palmitoylation can be achieved by adding long chain lipids into intracellular cysteine residues of soluble transmembrane proteins through unstable thioester bonds. The addition of lipids can increase protein hydrophobicity, which can influence protein structure, assembling, maturation, transportation and function. This review introduces the process of palmitoylation, such as the prediction of palmitoylation sites, the acquisition of palmitoylated proteins, the inhibition of palmitoylation and the use of activators, which brings out the method for combining palmitoylated proteins with mass spectrometry, highlighting the regulatory role of protein function and further discussing its impact on protein transport.

【Key words】palmitoylation; function; transportation; progress

1 引言

真核细胞中蛋白质的脂质化修饰是一类非常重要的翻译后修饰, 可以在细胞膜、细胞质或细胞器发生。蛋白质要经过基因转录、转录后加工、翻译、翻译后加工及转运等多个复杂过程后才具有生理功能。蛋白质的翻译后加工修饰形式包括磷酸化、糖基化、甲基化、羟基化、泛素化及脂质化等^[1-2], 其

作者介绍: 简 勇, Email: jy5759@163.com,

研究方向: 呼吸系统疾病诊治及相关基础研究。

通信作者: 徐新平, Email: xinpingsu@ncu.edu.cn。

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (编号: 81772164、31760038)。

优先出版: <http://kns.cnki.net/kcms/detail/50.1046.R.20200420.1730.004.html>

(2020-04-21)

中脂质化修饰是一种重要的翻译后加工修饰形式^[3-4], 主要包括棕榈酰化、豆蔻酰化、异戊烯化和糖基化磷脂酰肌醇共价结合 4 种方式。本文将主要关注蛋白质的棕榈酰化修饰, 特别强调这种化学修饰如何调节各类型蛋白质的功能, 以及对外周膜蛋白、跨膜蛋白及细胞器蛋白运输的影响, 包括细胞内转运过程及运输路径等^[5]。到目前为止, 已经显示或预测超过 2 000 种人类蛋白质是棕榈酰化的, 约占蛋白质组学的 12%。蛋白质棕榈酰化修饰发生在不同的残基上, 依据其连接方式可以分为 S-棕榈酰化 (也有部分发生在其他残基上的修饰, 如丝氨酸)、N-棕榈酰化^[6]和 O-棕榈酰化^[7-8]。N-棕榈酰化是棕榈酰基与 Gly/Cys 残基通过酰胺键连接^[9], 因酰胺键较稳定, 因此不可逆; O-棕榈酰化是棕榈酰基通过酯键与丝氨酸残基相连; S-棕榈酰化是指含有 16 个碳原子的饱和棕榈

酸和 Cys 共价结合,形成不稳定的硫酯键^[10],S-棕榈酰化是最常见的棕榈酰化方式。棕榈酰化由属于 DHHC(Asp-His-His-Cys)家族的蛋白棕榈酰基转移酶(PAT)介导完成,把棕榈酰基转移到被棕榈酰化的蛋白上,具体方案如图 1 所示。棕榈酰蛋白硫酯酶(APT)是脱酰作用所必需的^[11-12]。

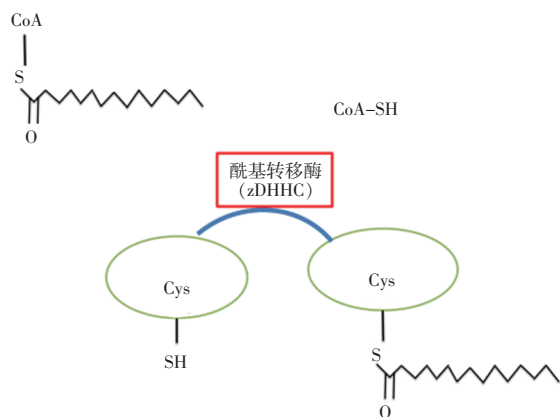


图 1 在棕榈酰基转移酶作用下形成棕榈酰化蛋白

2 棕榈酰化蛋白的研究方法

随着 DHHC 酰基转移酶家族的发现以及用于测定 S-酰化的蛋白质组学技术的应用,棕榈酰化蛋白研究领域的进展迅速。目前对于研究棕榈酰化蛋白的发生过程及功能和调控 S-酰化功能作用的药理学方面的操作,蛋白质组学和遗传工具的范围仍然有限。因此,需要开发用于改进测定和操纵 S-酰化的研究方法,以发展对该 PTM 在健康和疾病中的生理功能的理解。

2.1 棕榈酰化位点的预测和棕榈酰化蛋白的获得

尽管不存在用于 S-酰化的“共识”序列,但是许多免费可用的预测算法,例如 CSS-palm v4.0 提供了计算机预测蛋白质是否具有棕榈酰化位点^[13]。通过预测虽然对于多数已经得到证实的棕榈酰化蛋白具备一致性,但对于一些被预测为具备棕榈酰化位点的“新”的棕榈酰化蛋白,则需要实验进一步证实。放射性标记的棕榈酸酯(通常为 ^3H 以及 ^{14}C 和 ^{125}I 标记的)掺入(代谢标记)已经成为过去 40 年中蛋白质 S-酰化实验验证的主要方法。然而,这种工具虽然有助于研究单个蛋白质的 S-酰化,但它不适合研究完整组织中的蛋白质酰化,缺乏固有的灵敏度(检测可能需要数月),并且不容易接受更高通量蛋白质组学分析。为了克服这些问题,已经开发了一系列替代代谢标记方法和半胱氨酸可及性(半胱氨酸中心)测定的间接测定,这 2 种是互补方法。替代代谢标记是通过 17-ODYA(17-十八炔酸)替代棕榈酰基,结合稳定同位素标记细胞的方法,可以获得细胞中棕榈酰化蛋白的动态变

化,并且能从一系列各种状态的脂酰基修饰中迅速区分出稳定的棕榈酰修饰蛋白,这个方法适合从代谢旺盛的活细胞中分离得到棕榈酰蛋白^[14]。半胱氨酸中心(半胱氨酸可及性)测定指酰基-生物素交换(ABE)和树脂辅助捕获(Acyl-RAC),为了规避标记方法的局限性,需要代谢掺入脂质^[15]。

2.2 棕榈酰化的抑制及活化剂使用

尽管在用于检测 S-酰化蛋白质的测定方面已经取得了显著进步,但与许多其他翻译后修饰相比,在体外和体内操作 S-酰化的药理学方法仍然非常有限。不过目前已经鉴定出来几种可用于抑制 S-棕榈酰化过程的药物分子,如广泛用于 S-酰化功能分析的棕榈酸类似物 2-溴棕榈酸酯(2-BP),广泛使用的脂质抑制剂包括影响脂质代谢许多方面的浅蓝菌素及抑制 N-连接糖基化的衣霉素,这几种分子可以作为棕榈酰基类似物,竞争性地与棕榈酰转移酶(酰基硫酯酶 APT1 和 APT2)结合,从而形成抑制效应^[16]。

2.3 棕榈酰化蛋白组学的研究——棕榈酰化蛋白的纯化联合质谱鉴定

由 N-乙基马来酰亚胺(NEM)封闭棕榈蛋白链上自由的巯基-SH,再由羟胺(HA)切割链接棕榈酰的脂酰基,释放半胱氨酸自由的巯基,替换生物素活化的 HPDP(biotin-HPDP),结合链霉亲和素标记的珠子,再通过生物素洗脱得到纯化的棕榈酰蛋白,然后进行质谱鉴定。具体蛋白组学方案如图 2 所示,该蛋白质组学方案从复杂蛋白质提取物中纯化和鉴定棕榈酰化蛋白质(即 S-酰化蛋白质)。该方法依赖酰基-生物素基交换化学,其中生物素部分通过 3 个体外化学步骤的序列取代硫酯连接的蛋白质酰基修饰:用 N-乙基马来酰亚胺封闭游离硫醇;用羟胺裂解 Cys-棕榈酰硫代酯键;用羟胺新生成的硫醇标记生物素-HPDP(生物素-HPDP-N-[6-(生物素酰基)己基]-3 ϕ -(2 ϕ -吡啶基二硫代)丙酰胺。生物素化后的蛋白质使用链霉抗生物素蛋白-琼脂糖进行亲和纯化,并通过多维蛋白质鉴定技术(MuDPIT)鉴定,这是一种基于高通量串联质谱(MS/MS)的蛋白质组学技术,能够通过高分辨串联质谱在一个样品中精确测出多个蛋白质。MuDPIT 还提供了半定量分析,可用于评估突变或药物引起全球棕榈酰化谱的总体变化^[17]。

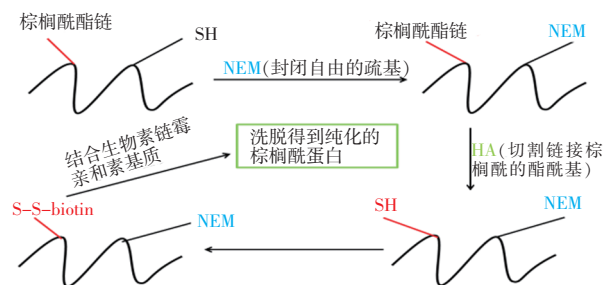


图 2 棕榈酰化蛋白的纯化方案

3 棕榈酰化对蛋白质功能的影响

作为翻译后修饰重要的脂质化修饰,棕榈酰化能够影响目标蛋白的功能、细胞定位及细胞运输等很多重要的生理功能。下面将从不同物种分类阐述研究比较多的棕榈酰化蛋白在细胞和组织生理活动中对其的影响。

3.1 棕榈酰化对植物蛋白功能的影响

与其他物种的棕榈酰基转移酶一样,植物棕榈酰基转移酶是多重跨膜蛋白,其主要特征在于存在可以识别具备DHHC基序的结构域,并且该结构域有棕榈酰基转移酶活性,对其中的C(半胱氨酸)的巯基催化并加上棕榈酰基。植物中的棕榈酰基转移酶的功能结构非常类似,在模式植物拟南芥中已经鉴定出24个棕榈酰基转移酶,这些酶基本上都位于各种膜性结构上,除了少部分分布在内含体、高尔基体、内质网及液泡等膜上,大多数棕榈酰基转移酶定位在细胞膜上,表面棕榈酰化蛋白的发生多数是细胞模式^[18]。而且大多数动物(21/24)和酵母(5/7)的棕榈酰基转移酶主要在内质网或高尔基体中发现,表明高尔基体或内质网是作为动物或酵母的S-棕榈酰化中心,而大多数植物棕榈酰转移酶在质膜上发现(12/24),虽然也在植物的内质网和高尔基体上发现棕榈酰转移酶并具备发生S-酰化的能力,但细胞膜上的S-酰化在植物中的作用显然更为重要,比在动物和真菌中能发挥更大的作用。总之,植物中S-棕榈酰化的发生及调节作用与在动物和真菌中的作用并不相同^[19-20]。

3.2 棕榈酰化对动物蛋白功能的影响

动物中的棕榈酰转移酶活性中心识别DHHC(天冬氨酸-组氨酸-组氨酸-半胱氨酸)基序与其他生物类似,然而这些棕榈酰转移酶的细胞定位于哺乳动物细胞中的几个细胞器的膜位置,包括内质网和高尔基体,以及少量定位在细胞膜上。定点突变分析表明,DHHC序列对于棕榈酰化转移酶催化活性是必需的,并且预测该结构域是细胞质定向的。DHHC蛋白本身是棕榈酰化的,DHHC基序不仅对底物棕榈酰化是重要的,而且对DHHC蛋白中的其他半胱氨酸的自身棕榈酰化也是很重要的^[21-22]。动物中的棕榈酰转移酶异常或缺失会导致个体发育的异常和寿命明显缩短,比如小鼠中的DHHC13缺失导致小鼠提前衰老,包括脱发、骨质疏松和全身性淀粉样本,最终导致早期死亡。DHHC17和DHHC21分别导致小鼠神经元功能丧失和毛囊退化^[23-25]。棕榈酰化转移酶无疑对动物体内蛋白功能的正常发挥具有至关重要的作用。其中一个重要的一氧化氮合成酶(eNOS或NOS3)如果不能被准确棕榈酰化,会导致动物体内心血管疾病——高血压、血管生成受损和动脉粥样硬化^[26]。突触分化诱导的基因I

(SynDIG1)在突触发育过程中起关键作用,SynDIG1的棕榈酰化在调节自身稳定性和亚细胞定位中发挥重要作用^[27]。肺泡蛋白是子囊网络(SPN)的主要组成部分。SPN是一种皮层细胞骨架,主要为细胞提供机械强度。研究发现,肺泡蛋白的棕榈酰化通过脂质锚定加强SPN与相邻内膜复合物之间的连接,从而增强细胞骨架功能^[28]。Ras家族蛋白是单体GTP酶,横跨动植物及真菌等物种,在动物体内,Ras蛋白功能是将细胞外信号偶联到细胞内效应途径,并且在控制多种生物功能中起作用,包括增殖、分化和存活等,这些功能完全需要被准确棕榈酰化后才能发挥,Ras蛋白突变导致不能被棕榈酰化从而丧失正常的蛋白功能,从而导致动物癌症的发生^[29],故Ras蛋白可以作为检测肿瘤产生的标志之一。SNAP蛋白是研究较多的蛋白,其能否被准确棕榈酰化是能否定位和发挥功能最关键的修饰^[30-31]。

3.3 棕榈酰化对真菌蛋白功能的影响

在真菌中,研究较多的蛋白质棕榈酰化与棕榈酰蛋白质在各种细胞膜和内部细胞器膜上的时间/空间运动有关。Ras蛋白是真菌中研究比较多的棕榈酰化蛋白,其细胞定位与棕榈酰化程度密切相关,在棕榈酰化发生前或被抑制的情况下,该Ras蛋白是个位于细胞浆中的胞质蛋白,但在棕榈酰化后,Ras蛋白位于细胞膜上发挥功能^[32-35]。烟曲霉中的RasA棕榈酰化对于烟曲霉的极化形态发生、细胞壁稳定性和毒力至关重要。Ras GTPases是与膜相关的二元开关,可控制多种信号转导途径的活性^[36-37]。

最新有研究发现,在丝状真菌中参与黑色素合成的相关蛋白与棕榈酰化有密切关系。研究者通过利用生物信息学预测和棕榈酰蛋白组的研究方法发现,在烟曲霉菌分生孢子形成期间参与合成黑色素合酶的4种早期黑色素酶都是被棕榈酰化的。进一步的生物信息学分析预测,烟曲霉中的所有聚酮化合物和非核糖体肽合成有关的聚酮合酶PKS和非核糖体多肽合酶NRPS都具备棕榈酰化位点^[38]。

3.4 棕榈酰化对病毒蛋白功能的影响

棕榈酰化通常能增强病毒跨膜蛋白的疏水性,调节这些蛋白的胞内运输及定位,进一步影响病毒感染过程中的膜融合、病毒颗粒装配及释放等步骤。病毒蛋白的棕榈酰化通常也发生在含DHHC(Asp-His-His-Cys)的结构域,DHHC保守序列的Cys富集区(cysteine-rich domain,CRD)。含DHHC-CRD结构的蛋白广泛存在于从低等真核生物如酵母到包括人在内的哺乳动物细胞中,最常发生棕榈酰化的I型病毒膜蛋白包括流感病毒的血凝素、人类免疫缺陷病毒的包膜蛋白、冠状病毒的棘突蛋白等^[39]。此外,副黏病毒F蛋白、披膜病毒包膜糖蛋白、杆状病毒gp64等也可发生棕榈酰化^[40]。此外,在多种病毒中均发现棕榈酰化对病毒蛋白的侵入、复制、包装和裂解释放密切相关^[41-44]。

4 棕榈酰化对蛋白运输的影响

4.1 对外周膜蛋白运输的影响力

Ras 家族蛋白是单体 GTP 酶,其将细胞外信号偶联到细胞内效应途径,并且在控制多种生物功能中起作用,包括增殖、分化和存活等。Ras 蛋白过度活化突变是癌症的标志,RAS 基因中的这些功能获得性突变在 20%~35% 的人类癌症中被发现,这导致了干扰 Ras 功能的机制得到进一步研究。存在 4 种 Ras 同种型,即 H-Ras、N-Ras、K-Ras4A 和 K-Ras4B,尽管它们具有超过 90% 的同源性,但他们的功能并不是多余的^[45]。所有这些同种型都具有 CAAX 序列。

在脂酰基化后,Ras 移动到高尔基复合体,其中认为棕榈酰化通过 DHHC9/GCP16 复合物和可能通过其他棕榈酰转移酶的作用发生。在酵母中这种反应是由酵母介导的。它的直系同源物 Erf2/4.11 单棕榈酰化或双棕榈酰化显著增加了异戊烯化 Ras 对生物膜的亲和力,这是其细胞内转运所必需的。法尼基化和棕榈酰化的 N-和 H-Ras 移动到与囊泡载体的细胞质小叶相关的质膜上^[46]。然后进入细胞表面,Ras 蛋白就会变成脱唾液酸化并释放回细胞质,在那里通过扩散进入高尔基复合体进行另一轮棕榈酰化和胞外递送到质膜。简而言之,动态酰化循环作为分子开关,调节蛋白质的空间分布、细胞器间转运及膜微区的蛋白质的分离或聚集。

4.2 对跨膜蛋白运输的影响

虽然外周膜蛋白棕榈酰化的作用是调节修饰的蛋白质和膜之间的相互作用,但是整合膜蛋白的棕榈酰化调节它们在膜平面内的作用,这归因于对不同亚结构域的分配及与其他相互作用的调节。在许多情况下,这将影响蛋白质的流量从而会影响其最终的膜定位。

跨膜蛋白的棕榈酰化可根据棕榈酰化半胱氨酸相对于跨膜结构域的位置进行分类。位于胞质环中的半胱氨酸的 S-酰化可能对该蛋白质区域具有结构性影响,导致多种反应,包括相互作用的修饰(分子内或分子间),或分配到不同的脂质结构域^[47]。另一方面,许多单跨膜蛋白和多跨膜蛋白在胞质边界或跨膜结构域内具有保守的半胱氨酸,在许多情况下发现半胱氨酸是棕榈酰化的。后一种棕榈酰化的后果在蛋白质结构中可能产生的变化方面不太明显,这种修饰的作用很可能是由于跨膜结构域溶解度的变化,以及膜中跨膜结构域的倾斜(也会影响溶解度)。最后,棕榈酰化与其他翻译后修饰(如泛素化和磷酸化)之间的相互作用也是蛋白质命运的重要决定因素。大量的 G 蛋白偶联受体在最后一个跨膜结构域后的细胞质尾部的半胱氨酸处被棕榈酰化。这种修饰可能具有多种后果,包括向质膜转运和靶向脂筏的缺陷^[48]。棕榈酰化还控制大量离子通道和转运蛋白的活性^[49]。

4.3 蛋白质棕榈酰化调节细胞内转运过程

除了在多种蛋白质转运中的特定作用外,棕榈酰化还通过影响细胞的运输机制在膜运输中发挥更普遍的作用。下述实例说明了棕榈酰化在细胞内运输中几个阶段的重要性。

c-Jun 氨基末端激酶(JNK)是神经元应激反应的重要参与者。其中,JNK3 同种型在 C 末端的 2 个半胱氨酸中被 S-酰化^[50]。棕榈酰化 JNK3 定位于高尔基复合体独立于其激酶活性,棕榈酰化阻碍轴突生长,这一过程依赖活跃的高尔基体功能。SNAP25 是一种 SNARE 外周蛋白,在富含半胱氨酸的结构域蛋白中含有的 4 个半胱氨酸中棕榈酰化,参与质膜和内体系统的膜融合事件。棕榈酰化控制膜结合和 SNAP25 的定位,从而影响其功能^[51]。SNAP25 和 SNAP23(普遍表达的同源物)在脂筏中的定位与棕榈酰化相关,通过调节 SNARE 功能可间接调节囊泡的胞吐作用。突触前蛋白 CSP 是一种分子伴侣,在调节的胞吐作用途径中发挥重要作用。哺乳动物 CSP 富含半胱氨酸的结构域中大部分半胱氨酸是棕榈酰化的。棕榈酰化对于其与膜、亚细胞运输和活性的关联至关重要。

4.4 棕榈酰化调节顺行路径的机制及作用

众所周知,高尔基体作为蛋白质的修饰和分选中心,用于分泌和递送蛋白质至其他细胞器。关键的分选步骤发生在反式高尔基体网络上,并由蛋白质适配子介导。然而最近的数据表明,在顺式高尔基体中分选也更早发生,并且使用脂质酰化作为调节顺行通量的新方法。本研究分析了棕榈酰化作为调节顺行路径的机制作用。S-棕榈酰化是顺式高尔基体顺行运输的一个重要步骤,所有顺式-高尔基体定位的 DHHC 都在大多数组织中表达,而在反式高尔基体中检测到的则是高度组织特异性的^[52]。如果分类成“筏型”微区可能是蛋白质的主要功能。

无细胞高尔基体转运所需的最小组分的无细胞系统研究表明,顺式高尔基体供体膜中的棕榈酰辅酶 A 极大地促进了顺行蛋白质生成和运输。这表明棕榈酰化可能不仅仅是将蛋白质分选到筏膜结构域。高尔基体内存在鞘脂和胆固醇的梯度,反式高尔基体/ TGN 表现出最高浓度的 2 种脂类。如果 S-棕榈酰化用于将顺行蛋白质分类为“筏状”膜,则可能是 DHHC 酶应该定位的地方^[14]。

5 展 望

本综述主要强调了蛋白质棕榈酰化这种必要的翻译后修饰控制下对蛋白质功能及运输的影响。目前主要目标和挑战是了解控制棕榈酰化的机制、脂质的共价添加如何控制蛋白质的不同特性、如何进行时空协调,以及棕榈酰化在系统和整个生物体水平上的生理相关性。为了解决这些问题,迫

切需要新的研究方法。最近开发的新蛋白质组学、化学生物学、成像和遗传方法使研究能够在多个分析水平上理解和分析棕榈酰化。

对蛋白棕榈酰化的研究,不仅可以加深对蛋白质组学的认识程度,还可以为某些疾病的诊断和治疗提供新的方法。虽然棕榈酰化的破坏与多种主要疾病有关,但对正常衰老过程中棕榈酰化如何动态控制、对稳态激发的反应或疾病状态如何被破坏的理解仍然不成熟。更清楚地了解调节棕榈酰化的机制,对于如何操纵棕榈酰化及获得相关疾病途径的潜在治疗机会都将起到关键作用^[33-56]。

期待新兴技术以更系统的方式探索蛋白质脂肪酸酰化,包括棕榈酰化及这些共翻译和翻译后修饰的体内动力学。PAT 和 APT 的特异性激活剂和抑制剂的开发对该领域至关重要,并且以后肯定会开辟新的相关研究途径,特别是探索蛋白质棕榈酰化对提高解决其中涉及酰化或错误调节疾病的机会。更重要的是,这些技术方法代表了开发合理疗法以控制由酰化蛋白质驱动致癌途径的实质性进展。本领域仍有待阐明的一个重要方面是确定具有多个棕榈酰化位点的蛋白质中棕榈酰化的化学计量和动力学,该过程最关键的是 PAT 和 APT 活性之间的相互作用。目前来说,酰化物种异质分布的生理或病理学意义被低估和研究不足的原因主要是由于方法学上的限制,这种情况在不久的将来肯定会得到改善。

参 考 文 献

- [1] Gunnoo SB, Madder A. Chemical protein modification through cysteine[J]. *ChemBiochem*, 2016, 17(7): 529–553.
- [2] Lin H, Carroll KS. Introduction: posttranslational protein modification[J]. *Chem Rev*, 2018, 118(3): 887–888.
- [3] Iwanaga T, Tsutsumi R, Noritake J, et al. Dynamic protein palmitoylation in cellular signaling[J]. *Prog Lipid Res*, 2009, 48(3–4): 117–127.
- [4] Ernst AM, Toomre D, Bogan JS. Acylation—a new means to control traffic through the golgi[J]. *Front Cell Dev Biol*, 2019, 7: 109.
- [5] Daniotti JL, Pedro MP, Taubas JV. The role of S-acylation in protein trafficking[J]. *Traffic*, 2017, 18(11): 699–710.
- [6] 秦安东, 徐林. 蛋白质的棕榈酰化修饰[J]. *生命的化学*, 2012, 32(4): 332–336.
- [7] Takada R, Satomi Y, Kurata T, et al. Monounsaturated fatty acid modification of Wnt protein: its role in Wnt secretion[J]. *Dev Cell*, 2006, 11(6): 791–801.
- [8] Yang J, Brown MS, Liang G, et al. Identification of the acyltransferase that octanoylates ghrelin, an appetite-stimulating peptide hormone[J]. *Cell*, 2008, 132(3): 387–396.
- [9] 方彩云, 张晓勤, 陆豪杰. 蛋白质棕榈酰化修饰的分析方法进展[J]. *分析化学*, 2014, 42(4): 616–622.
- [10] 冯晨, 冯磊. 蛋白质棕榈酰化对离子型谷氨酸受体运输的调节作用[J]. *中国生物化学与分子生物学报*, 2010, 26(8): 683–689.
- [11] Tabaczar S, Czogalla A, Podkalicka J, et al. Protein palmitoylation: palmitoyltransferases and their specificity[J]. *Exp Biol Med (Maywood)*, 2017, 242(11): 1150–1157.
- [12] Rana MS, Lee CJ, Banerjee A. The molecular mechanism of DHHC protein acyltransferases[J]. *Biochem Soc Trans*, 2019, 47(1): 157–167.
- [13] Ren J, Wen L, Gao X, et al. CSSPalm 2.0: an updated software for palmitoylation sites prediction[J]. *Protein Eng Des Sel*, 2008, 21: 639–644.
- [14] Martin BR, Wang C, Adibekian A, et al. Global profiling of dynamic protein palmitoylation[J]. *Nat Methods*, 2011, 9(1): 84–89.
- [15] Wan J, Savas JN, Roth AF, et al. Tracking brain palmitoylation change: predominance of glial change in a mouse model of Huntington's disease[J]. *Chem Biol*, 2013, 20(11): 1421–1434.
- [16] Adibekian A, Martin BR, Chang JW, et al. Confirming target engagement for reversible inhibitors *in vivo* by kinetically tuned activity-based probes[J]. *Am Chem Soc*, 2012, 134(25): 10345–10348.
- [17] Upadhyay S, Xu X, Lin X. Interactions between melanin enzymes and their atypical recruitment to the secretory pathway by palmitoylation[J]. *mBio*, 2016, 7(6): e01925.
- [18] Hemsley PA. An outlook on protein S-acylation in plants: what are the next steps?[J]. *J Exp Bot*, 2017, 68(12): 3155–3164.
- [19] Brigidi GS, Santyr B, Shimell J, et al. Activity-regulated trafficking of the palmitoyl-acyl transferase DHHC5[J]. *Nat Commun*, 2015, 6: 8200.
- [20] Li Y, Scott R, Doughty J, et al. Protein S-acyltransferase 14: a specific role for palmitoylation in leaf senescence in Arabidopsis[J]. *Plant Physiol*, 2016, 170(1): 415–428.
- [21] Greaves J, Salaun C, Fukata Y, et al. Palmitoylation and membrane interactions of the neuroprotective chaperone cysteine-string protein[J]. *J Biol Chem*, 2008, 283(36): 25014–25026.
- [22] Prescott GR, Gorleku OA, Greaves J, et al. Palmitoylation of the synaptic vesicle fusion machinery[J]. *J Neurochem*, 2009, 110(4): 1135–1149.
- [23] Saleem AN, Chen YH, Baek HJ, et al. Mice with alopecia, osteoporosis, and systemic amyloidosis due to mutation in Zdhc13, a gene coding for palmitoyl acyltransferase[J]. *PLoS Genet*, 2010, 6(6): e1000985.
- [24] Yanai A, Huang K, Kang R, et al. Palmitoylation of huntingtin by HIP14 is essential for its trafficking and function[J]. *Nat Neurosci*, 2006, 9(6): 824–831.
- [25] Mill P, Lee AWS, Fukata Y, et al. Palmitoylation regulates epidermal homeostasis and hair follicle differentiation[J]. *PLoS Genet*, 2009, 5(11): e1000748.
- [26] Fulton D, Gratton JP, McCabe TJ, et al. Regulation of endothelium-derived nitric oxide production by the protein kinase Akt[J]. *Nature*, 1999, 399(6736): 597–601.

- [27] Kaur I, Yarov-yarovoy V, Kirk LM, et al. Activity-dependent palmitoylation controls syndig1 stability, localization, and function[J]. *J Neurosci*, 2016, 36(29):7562–7568.
- [28] Tremp AZ, Al-khattaf FS, Dessens JT. Palmitoylation of Plasmodium alveolins promotes cytoskeletal function[J]. *Mol Biochem Parasitol*, 2017, 213:16–21.
- [29] Resh MD. Palmitoylation of proteins in cancer[J]. *Biochem Soc Trans*, 2017, 45(2):409–416.
- [30] Holz RW, Zimmerberg J. Dynamic relationship of the SNARE complex with a membrane[J]. *Biophys J*, 2019, 117(4):627–630.
- [31] Kádoková A, Radecke J, Sørensen JB. The SNAP-25 protein family[J]. *Neuroscience*, 2019, 420:50–71.
- [32] Pentland DR, Piper-Brown E, Mühlischlegel FA, et al. Ras signalling in pathogenic yeasts[J]. *Microb Cell*, 2017, 5(2):63–73.
- [33] Nichols CB, Ost KS, Grogan DP, et al. Impact of protein palmitoylation on the virulence potential of *Cryptococcus neoformans*[J]. *Eukaryot Cell*, 2015, 14(7):626–635.
- [34] Chang YC, Lamichhane AK, Garraffo HM, et al. Molecular mechanisms of hypoxic responses via unique roles of Ras1, Cdc24 and Ptp3 in a human fungal pathogen *Cryptococcus neoformans*[J]. *PLoS Genet*, 2014, 10(4):e1004292.
- [35] Calvete CL, Martho KF, Felizardo G, et al. Amino acid permeases in *Cryptococcus neoformans* are required for high temperature growth and virulence; and are regulated by Ras signaling[J]. *PLoS One*, 2019, 14(1):e0211393.
- [36] Martin-Vicente A, Souza ACO, Al Abdallah Q, et al. SH3-class Ras guanine nucleotide exchange factors are essential for *Aspergillus fumigatus* invasive growth[J]. *Cell Microbiol*, 2019, 21(6):e13013.
- [37] Al Abdallah Q, Martin-Vicente A, Souza ACO, et al. C-terminus proteolysis and palmitoylation cooperate for optimal plasma membrane localization of RasA in *Aspergillus fumigatus*[J]. *Front Microbiol*, 2018, 9:562.
- [38] Upadhyay S, Xu X, Lowry D, et al. Subcellular compartmentalization and trafficking of the biosynthetic machinery for fungal melanin[J]. *Cell Rep*, 2016, 14(11):2511–2518.
- [39] Rocks O, Gerauer M, Vartak N, et al. The palmitoylation machinery is a spatially organizing system for peripheral membrane proteins[J]. *Cell*, 2010, 141(3):458–471.
- [40] Branigan PJ, Day ND, Liu C, et al. The cytoplasmic domain of the F protein of human respiratory syncytial virus is not required for cell fusion[J]. *J Gen Virol*, 2006, 87(Pt 2):395–398.
- [41] Hundt J, Li Z, Liu Q. Post-translational modifications of hepatitis C viral proteins and their biological significance[J]. *World J Gastroenterol*, 2013, 19(47):8929–8939.
- [42] Frénal K, Kemp LE, Soldati-Favre D. Emerging roles for protein S-palmitoylation in toxoplasma biology[J]. *Int J Parasitol*, 2014, 44(2):121–131.
- [43] Blanc M, Blaskovic S, Van Der Goot FG. Palmitoylation, pathogens and their host[J]. *Biochem Soc Trans*, 2013, 41(1):84–88.
- [44] Veit M. Palmitoylation of virus proteins[J]. *Biol Cell*, 2012, 104(9):493–515.
- [45] Hobbs GA, Der CJ, Rossman KL. RAS isoforms and mutations in cancer at a glance[J]. *J Cell Sci*, 2016, 129(7):1287–1292.
- [46] Salaun C, Ritchie L, Greaves J, et al. The C-terminal domain of zDHHC2 contains distinct sorting signals that regulate intracellular localisation in neurons and neuroendocrine cells[J]. *Mol Cell Neurosci*, 2017, 85:235–246.
- [47] Aicart-Ramos C, Valero RA, Rodriguez-Crespo I. Protein palmitoylation and subcellular trafficking[J]. *Biochim Biophys Acta*, 2011, 1808(12):2981–2994.
- [48] Chamberlain LH, Shipston MJ. The physiology of protein S-acylation[J]. *Physiol Rev*, 2015, 95(2):341–376.
- [49] Shipston MJ. Ion channel regulation by protein S-acylation[J]. *J Gen Physiol*, 2014, 143(6):659–678.
- [50] Yang G, Liu Y, Yang K, et al. Isoform-specific palmitoylation of JNK regulates axonal development[J]. *Cell Death Differ*, 2012, 19(4):553–561.
- [51] Greaves J, Carmichael JA, Chamberlain LH. The palmitoyl transferase DHHC2 targets a dynamic membrane cycling pathway: regulation by a C-terminal domain[J]. *Mol Biol Cell*, 2011, 22(11):1887–1895.
- [52] Ohno Y, Kihara A, Sano T, et al. Intracellular localization and tissue-specific distribution of human and yeast DHHC cysteine-rich domain-containing proteins[J]. *Biochim Biophys Acta*, 2006, 1761(4):474–483.
- [53] Yeste-Velasco M, Linder ME, Lu YJ. Protein S-palmitoylation and cancer[J]. *Biochim Biophys Acta*, 2015, 1856(1):107–120.
- [54] Lin DTS, Davis NG, Conibear E. Targeting the Ras palmitoylation/depalmitoylation cycle in cancer[J]. *Biochem Soc Trans*, 2017, 45(4):913–921.
- [55] Koster KP, Yoshii A. Depalmitoylation by palmitoyl-protein thioesterase 1 in neuronal health and degeneration[J]. *Front Synaptic Neurosci*, 2019, 11:25.
- [56] Holland SM, Thomas GM. Roles of palmitoylation in axon growth, degeneration and regeneration[J]. *J Neurosci Res*, 2017, 95(8):1528–1539.

(责任编辑:冉明会)