

生化与药用试剂

cGAS 蛋白的翻译后修饰及其在药物研发中的意义

杨琳¹, 王京², 赵剑男³, 陈明杰³, 张磊^{*1,2}

(1. 遵义医科大学 药学院, 贵州 遵义 563006; 2. 凯里学院 大健康学院 黔东南苗族侗药现代化研究重点实验室, 贵州 凯里 556011; 3. 上海交通大学 药学院, 上海 201240)

摘要: cGAS 是细胞中重要的模式识别受体蛋白, 可以识别胞质中的双链 DNA, 并通过 cGAS-STING 信号通路介导体内的一系列免疫反应。近年来, 众多研究表明 cGAS 蛋白在病毒、细菌感染, 自身免疫性疾病和细胞衰老等过程中发挥重要作用。翻译后修饰是体内调控蛋白质功能的主要过程, 研究翻译后修饰对 cGAS 生物学功能的影响可以揭示 cGAS 在体内的调控机制, 加深对 cGAS-STING 通路的了解。综述了 cGAS 蛋白翻译后修饰的研究进展及在药物研发中的重要意义。

关键词: cGAS; cGAS-STING 信号通路; 翻译后修饰; 泛素化; 药物研发

中图分类号: O65 **文献标识码:** A **文章编号:** 0258-3283(2025)03-0032-07

DOI: 10.13822/j.cnki.hxsj.2024.0447

Post-translational Modifications of cGAS Proteins and Their Significance in Drug Discovery and Development YANG

Lin¹, WANG Jing², ZHAO Jian-nan³, CHEN Ming-jie³, ZHANG Lei^{*1,2} (1. School of Pharmacy, Zunyi Medical University, Zunyi 563006, China; 2. Key Laboratory for Modernization of Qiongzhusan Miao & Dong Medicine, School of Life and Health Science, Kaili University, Kaili 556011, China; 3. School of Pharmacy, Shanghai Jiao Tong University, Shanghai 201240, China)

Abstract: cGAS is an important pattern recognition receptor protein in cells that recognizes double-stranded DNA in the cytoplasm and mediates a series of immune responses *in vivo* through the cGAS-STING signaling pathway. In recent years, numerous studies have demonstrated that cGAS protein has played crucial roles in viral and bacterial infections, autoimmune diseases, and cellular aging. Post-translational modification is a major procedure that regulates protein function *in vivo*. Studying the effects of post-translational modification on the biological function can reveal the regulatory mechanism of cGAS *in vivo* and deepen the understanding of the cGAS-STING pathway. This research summarizes the progress on post-translational modification of cGAS proteins and their significance in drug discovery and development.

Key words: cGAS; cGAS-STING signaling pathway; post-translational modifications; ubiquitination; drug discovery

环核苷酸合成酶 (Cyclic GMP-AMP Synthase, cGAS) 是一种双链 DNA (dsDNA) 的模式识别受体, 主要位于细胞质中^[1]。cGAS 蛋白能够识别并结合病原微生物入侵或细胞受损时细胞质中产生的 DNA 异常聚集。cGAS 与 dsDNA 结合后被激活, 启动下游信号通路, 进而介导细胞中的一系列免疫响应^[2]。由于 cGAS 重要的生物学功能, 研究翻译后修饰如何调控 cGAS 的功能对 cGAS 生物学研究具有重要意义。本文阐述了 cGAS 蛋白相关翻译后修饰及其功能, 初步总结了其在药物研发中的潜在应用。

1 cGAS 蛋白与 cGAS-STING 信号通路

cGAS 的氨基酸末端包含两个不同的 DNA 结

合位点^[3], 但根据其其与 DNA 结合形成的复合物晶体结构, 两者之间并不存在特异性识别^[4]。研究表明^[5], cGAS 识别 DNA 的方式是通过与 dsDNA 的糖骨架结合, 而未与碱基对发生特异性相互作用, 因此 cGAS 的激活与 dsDNA 的碱基序列并无关系。此外, 人源 cGAS 需要与一定长度的 dsDNA 协同结合, 最短识别的双链 DNA 序列为 45 bp, 这显示出了对 dsDNA 长度的选择性^[6]。关于 cGAS 在细胞内的定位, 2013 年 Sun 等^[1]通

收稿日期: 2024-10-31; 修回日期: 2024-11-23

基金项目: 黔科合基础项目 (ZK(2023)499)。

作者简介: 杨琳 (2000-), 女, 苗族, 贵州黔西人, 硕士生, 主要研究方向为药物化学。

通讯作者: 张磊, E-mail: lzhang0412@163.com。

过免疫印迹和共聚焦成像发现细胞质中有大量 cGAS 蛋白。随后,Barnett 等^[7]证实 cGAS 是一种由 N 端磷酸酯介导定位的膜蛋白,而非胞浆蛋白。Gentili 等^[8]进一步研究发现,cGAS 的 N 端分布在细胞核中,并可通过与特定氨基酸残基的相互作用,定位于细胞质,而非之前报道的细胞膜。与此同时,Volkman 等^[9]发现 cGAS 在细胞周期的各个阶段均锚定于细胞核,与自身状态的激活与否无关。近期,Pryde 等^[10]在对癌细胞中线粒体的研究中发现,cGAS 主要定位于线粒体,通过抑制线粒体分裂从而抑制铁死亡。因此,cGAS 蛋白在细胞内具有复杂的定位特性,它既可以存在于细胞质,也可以锚定于细胞核。

在细胞内,cGAS 蛋白主要通过 cGAS-STING 通路传递相关免疫信号。cGAS-STING 信号通路及其相关衔接子在免疫系统对微生物和内源性 DNA 的反应中发挥着重要作用,并与多种免疫相关疾病密切相关^[11]。外来病原体(如 HSV-1 病毒)或细胞 DNA 损伤产生的 dsDNA 被 cGAS 蛋白识别并激活 cGAS,随后招募 GTP 和 ATP 作为底物,催化合成 2'3'-环状二核苷酸(cGAMP)^[12]。然后 cGAMP 作为第二信使和内源性配体与内质网上的二聚体(Stimulator of Interferon Genes, STING)蛋白结合。被激活的 STING 形成寡聚体并转移至高尔基体,招募 TANK 结合激酶(TANK Bind Kinase, TBK1)和 I κ B 激酶(I κ B Kinase, IKK)^[13]。被激活的 TBK1 诱导干扰素调节因子 3(Interferon Regulatory Factor 3, IRF3)磷酸化,使 IRF3 二聚并转移到细胞核,驱动分泌干扰素

刺激基因(Interferon-Stimulated Genes, ISGs)和干扰素(Type I Interferons, IFNs)^[14,15]。此外,NF- κ B 途径也能被 cGAS-STING 通路激活,产生促炎症细胞因子,激活机体固有免疫和适应性免疫反应^[16]。

近年来,研究发现 cGAS-STING 信号通路不仅可以被非自身 DNA(如 DNA 病毒或逆转录病毒的 DNA 等)激活,还可以被进入细胞膜的线粒体和核 DNA 激活^[17]。癌症、放疗和细胞衰老过程中,小胶质细胞的线粒体受损^[18]以及自身免疫性疾病^[19-21](如类风湿性关节炎、Aicardi-Goutières 综合症和系统性红斑狼疮)相关的核酸内切酶的突变均会使胞内 DNA 水平增加,导致 cGAS-STING 信号通路构成性和系统性的激活,从而导致慢性炎症和病变^[22]。因此,对 cGAS 蛋白的调控成为研究和治疗免疫系统紊乱的重要手段。

2 cGAS 的翻译后修饰

细胞内蛋白的翻译后修饰(Post-Translational Modifications, PTM)是蛋白功能调控的主要方式^[23]。cGAS 蛋白作为重要的胞质 DNA 感受器,其功能受多种 PTMs 的调控^[24],如(去)泛素化、类泛素化、磷酸化、乙酰化、谷氨酰化和甲基化等(表 1)。

2.1 cGAS 的(去)泛素化

泛素化和去泛素化是蛋白质功能调控的重要方式^[25]。研究表明,cGAS 的(去)泛素化可以对其稳定性和功能进行调控。

表 1 cGAS 的翻译后修饰^注

Tab.1 Post-translational modifications of cGAS

Amino acid residue sites ¹⁾	Types of PTM ²⁾	Enzyme	Function
Lys414	Ubiquitination(K48)	Unknown	Induction of autophagy degradation ^[26]
	Deubiquitination	TRIM14/USP14	Increase in protein stability ^[27]
Unknown	Deubiquitination(K48)	USP27x	Increase in protein stability ^[27]
Unknown	Deubiquitination(K48)	USP29	Increase in protein stability ^[28]
Lys335	Mono-ubiquitination	TRIM56	Induces protein dimerization and enhances activity ^[29]
Lys217、Lys409(Lys231、Lys421)	Ubiquitination	RNF111	Induces protein dimerization and enhances activity ^[30]
Lys173、Lys384	Ubiquitination(K27)	RNF185	Enhancement of enzyme activities ^[31]
Unknown	Mono-ubiquitination	RINCK	Inhibition of protein activity ^[32]
Lys217、Lys464	SUMOylation	TRIM38	Inhibition of polyubiquitination and degradation ^[33]
	De-SUMOylation	SEN2	Reduced stability of cGAS ^[33]
Lys335、Lys372、Lys382	De-SUMOylation	SEN2	Enhancement of protein activity ^[34]
Ser291(Ser305)	Phosphorylation	Akt	Inhibition of protein activity ^[35]
Ser420(Ser435)	Dephosphorylation	PPP6C	Inhibition of protein activity ^[36]

续表

Amino acid residue sites ¹⁾	Types of PTM ²⁾	Enzyme	Function
Tyr215	Phosphorylation	BLK	Promoting nuclear translocation in response to DNA damage ^[37]
Ser291 (Ser305)	Phosphorylation	CDK1	Inhibition of DNA binding ^[38]
	Dephosphorylation	PP1	Promoting DNA binding ^[38]
Ser13, Sere37, Ser64, Tyr69, Tyr91, Ser116, Ser129, Ser143	Phosphorylation	AURKB	Inhibition of DNA binding and liquid phase separation ^[39]
	Dephosphorylation	PP1, PP2A	Inhibition of DNA binding and liquid phase separation ^[39]
Lys384, Lys394, Lys414	Acetylation	Unknown	Inhibition of DNA binding ^[40]
	Deacetylation	HDAC3	Promoting DNA binding ^[40]
Lys47, Lys56, Lys62, Lys83	Acetylation	KAT5	Promoting DNA binding ^[41]
Lys384, Lys414	Acetylation	Unknown	Apoptosis ^[42]
Lys198	Acetylation	Unknown	Enhancement of protein activity ^[42]
Glu286	Polyglutamylation	TTLL6	Inhibition of DNA binding ^[43]
	Deglutamylation	CCP6	Promoting DNA binding ^[43]
Glu314	Monoglutamylation	TTLL4	Inhibition of DNA binding ^[43]
	Deglutamylation	CCP5	Promoting DNA binding ^[43]
Arg124	Methylation	PRMT5	Inhibition of DNA binding ^[44]
Unknown	Methylation	SUV39H1	Inhibition of DNA binding ^[45]

注:1) amino acid residue numbers are murine numbers and corresponding human numbers mentioned in the report are in parentheses;2) PTM species with ubiquitinated linkages in parentheses。

Chen 等^[26]发现,在细胞内,cGAS 蛋白的 Lys414 位置可发生 K48 连接的泛素化,随后泛素化的 cGAS 被自噬相关蛋白 p62 识别,通过自噬-溶酶体途径降解。三重基序蛋白家族成员 TRIM14(Tripartite Motif 14)可以直接与 cGAS 蛋白相互作用,招募去泛素化酶 USP14 切除 Lys414 位置的泛素链,抑制 cGAS 蛋白的选择性自噬,从而增加 cGAS 蛋白的稳定性。TRIM14 基因缺陷的 BMDM 细胞和小鼠,更容易被 HSV-1 病毒感染,证明了 TRIM14 缺陷的细胞中 cGAS 抗病毒功能有所减弱。由于 cGAS-STING 信号通路的产物干扰素- β (IFN- β)可上调 TRIM14 的表达,该研究也证明 cGAS 由 TRIM14 介导的 Lys414 去泛素化调控是一种天然免疫的反馈激活过程。但是,该过程中的泛素化过程由哪种 E3 泛素化酶参与尚未知晓。

除了 TRIM14 所招募的 USP14,对 cGAS 有类似调控机制的去泛素化蛋白还包括 USP27x 和 USP29。Guo 等^[27]报道了去泛素化酶 USP27x 可以与 cGAS 蛋白相互作用,切除 cGAS 蛋白 Lys48 处的 K48 泛素链,稳定 cGAS 蛋白,进而增加 cGAMP 的产生以及下游 STING、TBK1 等蛋白的激活。USP27x 敲除的 RAW264.7 细胞较野生型更易感染 HSV-1 病毒,细胞内的 I 型干扰素的信号明显减弱,但还不清楚 cGAS 上泛素切割位点的具体位置。此外,Zhang 等^[28]发现,去泛素化酶 USP29 同样可以与 cGAS 蛋白相互作用,稳定

cGAS 蛋白。随后他们在多种细胞和小鼠上敲除 USP29 加以验证,证明了 cGAS 的去泛素化是增加 cGAS 蛋白稳定性、增强 cGAS 介导的抗病毒免疫的重要调控方式。

除了对蛋白稳定性的调控,cGAS 蛋白的泛素化还可以调控其催化活性。Seo 等^[29]报道了 TRIM56 蛋白可以介导 cGAS 的单泛素化,增强 cGAS 的催化活性。他们发现 TRIM56 可以诱导 cGAS 蛋白 Lys335 位置的单泛素化,诱导 cGAS 蛋白发生二聚,增强 cGAS 的催化活性,进而增加 cGAMP 的产生,激活下游通路。TRIM56 缺乏的细胞在 HSV-1 侵染的过程中,由 cGAS 介导的 IFN- β 产生明显减少。TRIM56-/-小鼠表现出一型干扰素的分泌减少,对 HSV-1 感染的致死性提升高,但对 A 型流感病毒感染的敏感性不高。

Li 等^[30]报道了泛素连接酶 RNF111(Ring Finger Protein 111)通过泛素化作用增强 cGAS 蛋白的活性,人源 cGAS 的 Lys231 和 Lys421 为该泛素化过程的关键位点。该泛素化激活的机理与 TRIM56 介导的 cGAS 泛素化相似,都是通过泛素化诱导 cGAS 的二聚,提升 cGAS 与 DNA 的结合能力,增强 cGAS-STING 信号通路。

Wang 等^[31]发现 E3 相关的泛素连接酶 RNF185 可以与 cGAS 蛋白相互作用,特异性催化 cGAS 蛋白在 Lys173、Lys384 位置的 K27 连接的多聚泛素化,提升 cGAS 的催化活性。RNF185 敲除的 L929 细胞相比野生型对 HSV-1 病毒的感染

更敏感。Liu 等^[32]报道 E3 连接酶 RINCK (或 TRIM41)可以介导 cGAS 的单泛素化,对 cGAS 活性起关键作用,RINCK 的缺乏会抑制 cGAS 及其下游通路的激活。

2.2 cGAS 的(去)类泛素化

类泛素化同样是调控 cGAS 蛋白功能的重要方式之一。Hu 等^[33]发现泛素连接酶 TRIM38 可以在未感染病毒和感染早期的细胞中使 cGAS 蛋白类泛素化,增强 cGAS 蛋白的稳定性。在未受刺激的情况下,TRIM38 在 HEK293T 细胞中使鼠源 m-cGAS 蛋白的 Lys217 位置发生类泛素化,并抑制 cGAS 在 Lys271 位 K48 连接的多泛素化和降解。在细胞被 HSV-1 病毒感染初期,TRIM38 则主要促进 m-cGAS 蛋白另一位点 Lys464 的类泛素化,抑制该氨基酸残基处的多聚泛素化。在病毒感染后期的细胞中,去类泛素化蛋白酶 SENP2 会抵消 TRIM38 对 cGAS 蛋白的稳定作用,使 cGAS 蛋白去类泛素化并通过蛋白酶体和溶酶体降解,避免 cGAS-STING 信号通路的持续激活。

类泛素化还可以抑制 cGAS 蛋白的活性。Cui 等^[34]发现 cGAS 蛋白在 Lys335、Lys372、Lys382 位置的类泛素化可以抑制其催化活性。去类泛素化酶 SENP7 可以催化 cGAS 蛋白上的去类泛素化,增强 cGAS 蛋白活性。SENP7 缺乏会导致细胞中 cGAS 蛋白介导的炎症信号减弱,对 HSV-1 病毒和李斯特菌感染的敏感性提高。SENP7 敲除的小鼠对 HSV-1 感染更敏感性、死亡率更高、大脑中 HSV-1 含量更高、炎症相关细胞因子的表达减少。

2.3 cGAS 的(去)磷酸化

在 cGAS-STING 信号通路中,cGAS 蛋白的磷酸化对通路的激活有重要调控作用。Seo 等^[35]发现,苏氨酸蛋白激酶(Akt)可以介导 m-cGAS 蛋白在 Ser291 位置(h-cGAS 在 S305 位置)的磷酸化,且 Akt 的 3 种亚型均可催化 cGAS 的磷酸化。该磷酸化位点与 cGAS 催化活性的关键氨基酸残基 E211、D213 和 E302 接近,能抑制 cGAS 的催化活性。在 L929 细胞中将 cGAS 的 Ser291 突变和使用 Akt 抑制剂均可提升 cGAS 的催化活性,提升对 HSV-1 病毒感染的抗性。

Li 等^[36]发现 m-cGAS 蛋白位于催化位点的 Ser420 氨基酸残基(h-cGAS 的 Ser435)的磷酸化可以增强 cGAS 的催化活性。当小鼠淋巴纤维细

胞未被刺激时,蛋白磷酸酶 6 催化亚基(PPP6C)持续与 cGAS 蛋白相互作用,去除 Ser420 处的磷酸,抑制 cGAS 的激活。当细胞被 DNA 病毒感染后,PPP6C 对 cGAS 的去磷酸化功能受阻,导致 cGAS 的 Ser420 磷酸化激活,与 GTP 有更好的结合作用。在 cGAS 蛋白 Ser420 突变的细胞中,cGAS-STING 信号通路被明显抑制。

在细胞发生 DNA 损伤时,cGAS 的磷酸化对其核转移起到调控作用。Liu 等^[37]报道了 B-淋巴酪氨酸激酶(BLK)在鼠源 cGAS Tyr215 处的磷酸化,可以促进 cGAS 在细胞 DNA 损伤时向细胞核的转移。在无刺激细胞中,BLK 结构性磷酸化 cGAS 蛋白,减弱 cGAS 与 DNA 的结合,维持 cGAS 在细胞质的定位。当细胞发生 DNA 损伤刺激 cGAS 后,cGAS 去磷酸化转移至细胞核,抑制细胞的 DNA 损伤修复过程。

对 cGAS 的磷酸化和去磷酸化也可以在细胞有丝分裂期间调控 cGAS 蛋白活性。Zhong 等^[38]报道周期蛋白依赖性激酶 1(CDK1)可以催化 cGAS 蛋白的磷酸化。在有丝分裂期间,CDK1 与 cGAS 相互作用,磷酸化 h-cGAS 的 Ser305 氨基酸残基(m-cGAS 在 Ser291 处),该磷酸化位点位于 cGAS 蛋白的催化口袋,抑制 cGAS 蛋白在有丝分裂过程中对 DNA 的识别,避免 cGAS 在核膜消失时被自身的 DNA 异常激活。在有丝分裂结束时蛋白磷酸酯酶 1(PP1)催化 cGAS 的去磷酸化,恢复其正常功能。

Li 等^[39]发现 cGAS 的 N 端结构域在有丝分裂过程会发生多磷酸化,导致 cGAS 的活性被选择性抑制。cGAS 蛋白的 N 端是无序的,高度富含带正电的赖氨酸和精氨酸残基,并且对 cGAS 与 DNA 结合和液相分离过程起重要作用。当细胞进入有丝分裂时,cGAS 的 N 端被 Aurora 激酶 B(AURKB)和其他激酶过度磷酸化,磷酸化位点均匀地分布在 N 端,相隔约 13 个氨基酸,包括 Ser13、Sere37、Ser64、Tyr69、Tyr91、Ser116、Ser129 和 Ser143。N 端多磷酸化突变可以显著抑制 cGAS 的活性,而阻断多磷酸化的突变则导致刺激下干扰素基因表达增强。当细胞退出有丝分裂阶段时,PP1 或 PP2A 可能介导了 cGAS 蛋白的去磷酸化,恢复其酶活性。

2.4 cGAS 的(去)乙酰化

蛋白的乙酰化是调节蛋白质功能的重要翻译后修饰^[46]。Dai 等^[40]发现,cGAS 的 Lys384、

Lys394 和 Lys414 的乙酰化可以抑制 cGAS 的催化活性。Lys384 位于 cGAS 的 DNA 结合位点附近, Lys394 位于 cGAS 二聚表面, Lys414 位于 cGAS 的活性口袋, 3 者与 cGAS 和 DNA 的相互作用和 cGAMP 的产生有关。这些氨基酸残基上的乙酰化将降低 cGAS 与 DNA 的结合, 抑制 cGAS 的催化活性。在细胞使用 DNA 刺激后, 去乙酰化酶 HDAC3 可以催化 cGAS 蛋白的去乙酰化, 增强 cGAS 蛋白活性。随后他们发现, 乙酰水杨酸(阿司匹林)可以直接乙酰化 cGAS, 抑制 cGAS 介导的 IFNs 产生。使用阿司匹林治疗 *Trex1*^{-/-} 小鼠, 小鼠组织中 cGAS 被明显乙酰化、自身免疫反应明显下降、生存时间得以延长。同时, Aicardi-Goutières 综合症患者外周血单核细胞的过度免疫反应也能够被阿司匹林明显抑制。

据 Song 等^[41]报道, 赖氨酸乙酰转移酶 5 (KAT5) 可以使 cGAS 乙酰化, 增强 DNA 病毒感染时的 cGAS 介导的自身免疫活性。KAT5 直接与 cGAS 相互作用, 使 cGAS N 端结构域的 Lys47、Lys56、Lys62 和 Lys83 乙酰化, 增强 cGAS 与 DNA 的结合, 提升 cGAS 蛋白的催化活性。对于 KAT5 缺陷的小鼠, HSV-1 病毒感染诱导的 cGAMP 产生、相关蛋白磷酸化、以及 IFN- β 、CXCL10 和 IL-6 的分泌被显著抑制。

Song 等^[42]在报道 cGAS 磷酸化位点的同时报道了一系列 cGAS 的乙酰化位点。其中, Lys384 和 Lys414 的乙酰化突变与 cGAS 诱导的细胞凋亡有关、Lys198 处的乙酰化可以增强 cGAS 依赖的干扰素信号。细胞被 DNA 病毒感染时 cGAS 的 Lys198 乙酰化减少, 证明该残基可能是病毒感染期间 cGAS 活性的调节点之一。

2.5 cGAS 的(去)谷氨酰化

cGAS 的谷氨酰化也对 cGAS 的活性具有调节功能。Xia 等^[43]发现两个催化 cGAS 谷氨酰化和去谷氨酰化的 cGAS 活性调控过程。在 BMDM 细胞中, TLL6 可以使 cGAS 蛋白在 Glu286 位置多聚谷氨酰化, 抑制 cGAS 的 DNA 结合能力。相反, CCP6 蛋白可以去除 cGAS 在该位置的多聚谷氨酰化, 恢复 cGAS 的酶活性。另一方面, TLL4 介导了 cGAS 活性位点附近 Glu314 的单谷氨酰化, 抑制 cGAS 的催化活性。该谷氨酰化过程也被 CCP5 蛋白通过去谷氨酰化反向调节。CCP5 和 CCP6 缺乏的细胞和小鼠更易被 HSV-1 病毒感染; TLL6 和 TLL4 缺乏的小鼠 IFN- β 表达量

更高, 对 HSV-1 的抵抗力更强。证明 cGAS 谷氨酰化对 cGAS 介导的抗病毒和抗炎能力的重要影响。

2.6 cGAS 的(去)甲基化

蛋白的甲基化修饰对 cGAS 活性的调控也有着重要作用。Ma 等^[44]报道了精氨酸甲基转移酶 PRMT5 可以催化 cGAS 蛋白 124 位精氨酸的二甲基化, 抑制 cGAS 的抗病毒活性。在未被病毒感染、处于止息状态的细胞中, PRMT5 的 MTase 结构域与 cGAS 的 N 端结构域直接相互作用, 在 cGAS 蛋白 Arg124 处结构性甲基化, 抑制 cGAS 的 DNA 结合能力。当细胞被病毒感染, cGAS 被去甲基化, 恢复活性并介导细胞的抗病毒响应。对小鼠使用 PRMT5 抑制剂, 可以提升小鼠在 HSV-1 病毒感染时 I 型 IFN 的产生, 免受病毒感染。Fang 等^[45]研究发现, 甲基转移酶 SUV39H1 能够催化 cGAS 的甲基化修饰, 进而阻断其 DNA 结合与二聚化来抑制 cGAS 活性。他们在多种细胞与小鼠敲除 SUV39H1 的实验发现, 通过短期剥夺甲硫氨酸或靶向抑制 SUV39H1, 可降低 cGAS 的甲基化水平, 促使其从染色质解离并进入细胞质, 从而增强抗肿瘤免疫反应, 但对 cGAS 蛋白甲基化的具体位置尚未研究。

总体来说, cGAS 在抗病毒感染、自身免疫性疾病和肿瘤免疫中起到关键作用, 甲基化与去甲基化修饰对 cGAS 活性的影响可能作为免疫应答调节的关键开关, 值得深入探索。

3 cGAS 翻译后修饰在药物研发中的意义

随着对 cGAS 蛋白调控机制的深入研究, cGAS 的 PTMs 的种类和发生的位点不断被发现, 但这些复杂的修饰对 cGAS 的功能调控网络, 尤其是介导疾病发生发展的关系目前还不清楚, 需要更多的研究和投入。同时, 发展靶向这些 PTM 的小分子调节剂极为重要, 一方面, 以这些调节剂为化学探针, 可以进一步阐释 cGAS 翻译后修饰的生物机制; 另一方面, 通过小分子调节剂调控 cGAS 介导的生理过程, 扩展 cGAS 药物的开发维度, 进而发现调控 cGAS 介导的疾病的翻译后修饰新靶标和新的治疗药物。然而, 靶向 cGAS 翻译后修饰的小分子调节剂的研发还处于早期阶段, 存在着活性弱、选择性低、成药性不理想、以及 cGAS 蛋白种属差异大等问题^[47]。近年来, 基于 cGAS 抑制剂和翻译后修饰抑制剂的联用, 以及靶

向 cGAS 泛素降解的 PRORACs 逐渐引起人们的关注,有望实现靶向 cGAS 信号通路药物研究的突破。

3.1 药物联用和双靶标药物

药物联用是临床上常用的治疗策略,可以实现不同药物的联合增效或克服彼此的副作用,以提升药物治疗效果^[48]。cGAS 蛋白的多种翻译后修饰都对其活性和功能有较大影响,但由于对 PTM 的调控往往不具有特异性,单独使用翻译后修饰相关蛋白的调节剂存在多种风险。因此,cGAS 调节剂和 PTM 相关蛋白调节剂的联用有望提升 cGAS 药物的治疗效果。同时,设计靶向 cGAS 和其重要翻译后修饰相关蛋白(如 PRMT5、HDAC 等)的双靶标药物也可能成为调控 cGAS 功能和其相关疾病治疗的重要手段。

3.2 双功能分子

靶向嵌合体类的双功能分子将靶蛋白配体和翻译后修饰相关蛋白配体相连,诱导靶蛋白的翻译后修饰。与双靶标药物不同,三元复合物的形成是该类双功能分子发挥作用的核心^[49]。这些双功能分子可以利用细胞内的生物活动调控蛋白功能,成为近些年来研究热点。目前,基于 PTMs 的双功能分子有诱导泛素化降解的 PROTAC^[50]、诱导蛋白磷酸化的 PhoTAC^[51]、诱导蛋白去磷酸化的 AKTi-PDP1^[52]以及诱导蛋白去泛素化的 DUBTAC^[53]。其他的 PTMs 如甲基化、谷氨酰化、乙酰化等双功能分子还有待开发。利用双功能分子诱导 cGAS 蛋白发生翻译后修饰有望特异性调控 cGAS 的活性,并为 cGAS 的生物研究提供工具。

4 总结与展望

胞质模式识别受体 cGAS 蛋白介导了多种天然免疫响应,与一系列免疫相关疾病关系密切。细胞中 cGAS 蛋白存在多种 PTMs,包括泛素化、磷酸化、类泛素化、乙酰化、谷氨酰化和甲基化。cGAS 的 PTMs 调节表现出多位点、多机制、正反向两方面调节等特点,是一系列复杂的生理过程。研究 PTMs 的调节机制不仅能为 cGAS 生物学功能的深入研究开辟道路,也为靶向 cGAS 的小分子药物研发提供新的思路。同时,PTMs 的研究也为药理研究、联合用药研究以及基于细胞内翻译后修饰的双功能小分子的研发打下基础,为新药研发也提供了有力的理论依据。目前,PTMs

对 cGAS 功能的影响主要集中在抗病毒功能上,PTMs 对 cGAS 其他功能,如自身免疫性疾病、肿瘤、神经系统疾病等的影响还有待深入研究,并且基于 cGAS 翻译后修饰的小分子调节剂也还有待进一步的研发。

参考文献:

- [1] Sun L, Wu J, Du F, Chen X, Chen Z J. *Science*, 2013, **339**(6 121):786-791.
- [2] Civril F, Deimling T, De-Oliveira-Mann C C, Ablasser A, Moldt M, Witte G, Hornung V, Hopfner K P. *Nature*, 2013, **498**(7 454):332-337.
- [3] Wu S, Gabelli S B, Sohn J. *Nat. Commun.*, 2024, **15**(1):4 012.
- [4] Chen Q, Sun L, Chen Z J. *Nat. Immunol.*, 2016, **17**(10):1 142-1 149.
- [5] Gao P, Ascano M, Wu Y, Barchet W, Gaffney B L, Zillinger T, Serganov A A, Liu Y, Jones R A, Hartmann G, Tuschl T, Patel D J. *Cell*, 2013, **153**(5):1 094-1 107.
- [6] Zhou W, Whiteley A T, De-Oliveira-Mann C C, Morehouse B R, Nowak R P, Fischer E S, Gray N S, Mekalanos J J, Kranzusch P J. *Cell*, 2018, **174**(2):300-311.
- [7] Barnett K C, Coronas-Serna J M, Zhou W, Erandes M J, Cao A, Kranzusch P J, Kagan J C. *Cell*, 2019, **176**(6):1 432-1 446.
- [8] Gentili M, Lahaye X, Nadalin F, Nader G P F, Puig L E, Herve S, De-Silva N S, Rookhuizen D C, Zueva E, Goudot C, Maurin M, Bochnakian A, Amigorena S, Piel M, Fachinetti D, Londoño-Vallejo A, Manel N. *Cell Rep.*, 2019, **26**(9):2 377-2 393.
- [9] Volkman H E, Cambier S, Gray E E, Stetson D B. *eLife*, 2019, **8**:e47 491.
- [10] Pryde D C, Middya S, Banerjee M, Shrivastava R, Basu S, Ghosh R, Yadav D B, Surya A. *Eur. J. Med. Chem.*, 2021, **209**:112 869.
- [11] Islam S, Islam M M, Akhand M R N, Park B Y, Akanda M R. *Med. Oncol.*, 2024, **41**(11):291.
- [12] Zhao B, Xu P, Rowlett C M, Jing T, Shinde O, Lei Y, West A P, Liu W R, Li P. *Nature*, 2020, **587**(7 835):673-677.
- [13] Ishikawa H, Barber G N. *Nature*, 2008, **455**(7 213):674-678.
- [14] Song J, Yang R R, Chang J, Liu Y D, Lu C H, Chen L F, Guo H, Zhang Y H, Fan Z S, Zhou J Y, Zhou G Z, Zhang K K, Luo X M, Chen K X, Jiang H L, Zhang S L, Zheng M Y. *Acta Pharmacol. Sin.*, 2023, **44**(4):791-800.
- [15] Dvorkin S, Cambier S, Volkman H E, Stetson D B. *Immunity*, 2024, **57**(4):718-730.
- [16] Decout A, Katz J D, Venkatraman S, Ablasser A. *Nat.*

- Rev. Immunol.*, 2021, **21**(9): 548-569.
- [17] Motwani M, Pesiridis S, Fitzgerald K A. *Nat. Rev. Genet.*, 2019, **20**(11): 657-674.
- [18] Gulen M F, Samson N, Keller A, Schwabenland M, Liu C, Glück S, Thacker V V, Favre L, Mangeat B, Kroese L J, Krimpenfort P, Prinz M, Ablasser A. *Nature*, 2023, **620**(7 973): 374-380.
- [19] Gao D, Li T, Li X D, Chen X, Li Q Z, Wight-Carter M, Chen Z J. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2015, **112**(42): E5 699-E5 705.
- [20] Crow Y J, Manel N. *Nat. Rev. Immunol.*, 2015, **15**(7): 429-440.
- [21] Xiao N, Wei J, Xu S, Du H, Huang M, Zhang S, Ye W, Sun L, Chen Q. *J. Autoimmun.*, 2019, **100**: 84-94.
- [22] Saeed A F U H, Ruan X, Guan H, Su J, Ouyang S. *Adv. Sci.*, 2020, **7**(6): 1 902 599.
- [23] Mazmanian K, Sargsyan K, Lim C. *J. Am. Chem. Soc.*, 2020, **142**(22): 9 861-9 871.
- [24] Ablasser A, Chen Z J. *Science*, 2019, **363**(6 431): 8 657.
- [25] Dikic I. *Annu. Rev. Biochem.*, 2017, **86**: 193-224.
- [26] Chen M, Meng Q, Qin Y, Liang P, Tan P, He L, Zhou Y, Chen Y, Huang J, Wang R F, Cui J. *Mol. Cell*, 2016, **64**(1): 105-119.
- [27] Guo Y, Jiang F, Kong L, Li B, Yang Y, Zhang L, Liu B, Zheng Y, Gao C. *J. Immunol.*, 2019, **203**(8): 2 049-2 054.
- [28] Zhang Q, Tang Z, An R, Ye L, Zhong B. *Cell Res.*, 2020, **30**(10): 914-927.
- [29] Seo G J, Kim C, Shin W J, Sklan E H, Eoh H, Jung J U. *Nat. Commun.*, 2018, **9**(1): 613.
- [30] Li C, Zhang L, Qian D, Cheng M, Hu H, Hong Z, Cui Y, Yu H, Wang Q, Zhu J, Meng W, Xu J F, Sun Y, Zhang P, Wang C. *PLoS Pathog.*, 2021, **17**(3): e1 009 401.
- [31] Wang Q, Huang L, Hong Z, Lv Z, Mao Z, Tang Y, Kong X, Li S, Cui Y, Liu H, Zhang L, Zhang X, Jiang L, Wang C, Zhou Q. *PLoS Pathog.*, 2017, **13**(3): e1 006 264.
- [32] Liu Z S, Zhang Z Y, Cai H, Zhao M, Mao J, Dai J, Xia T, Zhang X M, Li T. *Cell Biosci.*, 2018, **8**(1): 35.
- [33] Hu M M, Yang Q, Xie X Q, Liao C Y, Lin H, Liu T T, Yin L, Shu H B. *Immunity*, 2016, **45**(3): 555-569.
- [34] Cui Y, Yu H, Zheng X, Peng R, Wang Q, Zhou Y, Wang R, Wang J, Qu B, Shen N, Guo Q, Liu X, Wang C. *PLoS Pathog.*, 2017, **13**(1): e1 006 156.
- [35] Seo G J, Yang A, Tan B, Kim S, Liang Q, Choi Y, Yuan W, Feng P, Park H S, Jung J U. *Cell Rep.*, 2015, **13**(2): 440-449.
- [36] Li M, Shu H B. *Protein Cell*, 2020, **11**(8): 584-599.
- [37] Liu H, Zhang H, Wu X, Ma D, Wu J, Wang L, Jiang Y, Fei Y, Zhu C, Tan R, Jungblut P, Pei G, Dorhoi A, Yan Q, Zhang F, Zheng R, Liu S, Liang H, Liu Z, Yang H, Chen J, Wang P, Tang T, Peng W, Hu Z, Xu Z, Huang X, Wang J, Li H, Zhou Y, Liu F, Yan D, Kaufmann S H E, Chen C, Mao Z, Ge B. *Nature*, 2018, **563**(7 729): 131-136.
- [38] Zhong L, Hu M M, Bian L J, Liu Y, Chen Q, Shu H B. *Cell Discov.*, 2020, **6**: 26.
- [39] Li T, Huang T, Du M, Chen X, Du F, Ren J, Chen Z J. *Science*, 2021, **371**(6 535): eabc5 386.
- [40] Dai J, Huang Y J, He X, Zhao M, Wang X, Liu Z S, Xue W, Cai H, Zhan X Y, Huang S Y, He K, Wang H, Wang N, Sang Z, Li T, Han Q Y, Mao J, Diao X, Song N, Chen Y, Li W H, Man J H, Li A L, Zhou T, Liu Z G, Zhang X M, Li T. *Cell*, 2019, **176**(6): 1 447-1 460.
- [41] Song Z M, Lin H, Yi X M, Guo W, Hu M M, Shu H B. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2020, **117**(35): 21 568-21 575.
- [42] Song B, Greco T M, Lum K K, Taber C E, Cristea I M. *Mol. Cell. Proteomics*, 2020, **19**(7): 1 193-1 208.
- [43] Xia P, Ye B, Wang S, Zhu X, Du Y, Xiong Z, Tian Y, Fan Z. *Nat. Immunol.*, 2016, **17**(4): 369-378.
- [44] Ma D, Yang M, Wang Q, Sun C, Shi H, Jing W, Bi Y, Shen X, Ma X, Qin Z, Lin Y, Zhu L, Zhao Y, Cheng Y, Han L. *Sci. Adv.*, 2021, **7**(13): eabc1 834.
- [45] Fang L, Hao Y, Yu H, Gu X, Peng Q, Zhuo H, Li Y, Liu Z, Wang J, Chen Y, Zhang J, Tian H, Gao Y, Gao R, Teng H, Shan Z, Zhu J, Li Z, Liu Y, Zhang Y, Yu F, Lin Z, Hao Y, Ge X, Yuan J, Hu H G, Ma Y, Qin H L, Wang P. *Cancer Cell*, 2023, **41**(6): 1 118-1 133.
- [46] Verdin E, Ott M. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.*, 2015, **16**(4): 258-264.
- [47] Ding C, Song Z, Shen A, Chen T, Zhang A. *Acta Pharm. Sin. B*, 2020, **10**(12): 2 272-2 298.
- [48] Wang B, Warden A R, Ding X. *Drug Discov. Today*, 2021, **26**(11): 2 646-2 659.
- [49] Pettersson M, Crews C M. *Drug Discov. Today Technol.*, 2019, **31**: 15-27.
- [50] Wang C, Zhang Y, Xing D, Zhang R. *Bioorg. Chem.*, 2021, **114**: 105 109.
- [51] Chen P H, Hu Z, An E, Okeke I, Zheng S, Luo X, Gong A, Jaime-Figueroa S, Crews C M. *ACS Chem. Biol.*, 2021, **16**(12): 2 808-2 815.
- [52] Yamazoe S, Tom J, Fu Y, Wu W, Zeng L, Sun C, Liu Q, Lin J, Lin K, Fairbrother W J, Staben S T. *J. Med. Chem.*, 2019, **63**(6): 2 807-2 813.
- [53] Henning N J, Boike L, Spradlin J N, Ward C C, Liu G, Zhang E, Belcher B P, Brittain S M, Hesse M J, Dovala D, McGregor L M, Valdez M R, Plasschaert L W, Rowlands D J, Wang F, Frank A O, Fuller D, Estes A R, Randal K L, Panidapu A, McKenna J M, Tallarico J A, Schirle M, Nomura D K. *Nat. Chem. Biol.*, 2022, **18**(4): 412-421.