

多聚唾液酸转移酶 ST8Sia II 的结构和功能域*

Structural and Functional Domains of Polysialyltransferase ST8Sia II Required for Polysialylation of Neural Cell Adhesion Molecules

廖思明¹, 卢波¹, 彭立新¹, 黄纪民¹, 陈东¹, Frederic A. Troy², 黄日波^{1,2**}, 周国平^{1,4**}

LIAO Siming¹, LU Bo¹, PENG Lixin¹, HUANG Jimin¹, CHEN Dong¹, Frederic A. Troy², HUANG Ribo^{1,3}, ZHOU Guoping^{1,4}

(1. 广西科学院, 国家非粮生物质能源工程技术研究中心, 广西南宁 530007; 2. 广西大学, 广西南宁 530004; 3. 美国加利福尼亚大学生物化学和分子生物系, 戴维斯 CA 95616; 4. 美国戈登生命科学研究所, 波士顿 MA 02478)

(1. National Engineering Research Center for Non-food Biorefinery, Guangxi Academy of Sciences, Nanning, Guangxi, 530007, China; 2. Guangxi University, Nanning, Guangxi, 530004, China; 3. Department of Biochemistry and Molecular Medicine, University of California School of Medicine, Davis, CA 95616, USA; 4. Gordon Life Science Institute, Boston, MA 02478, USA)

摘要: ST8Sia II (STX) 和 ST8Sia IV (PST) 是两个来源于哺乳动物细胞的、具有高度同源性的多聚唾液酸酶, 它们已经被克隆, 基因序列也已被测定。这两个酶能催化神经细胞黏附分子(NCAM)的多聚唾液酸化。NCAM是多聚唾液酸(polySIA)的主要载体。在 NCAM 多聚唾液酸化过程中, STX 和 PST 能将活化的胞苷-磷酸-乙酰神经氨酸(CMP-Neu5Ac)传送到 NCAM 糖蛋白受体的 N-和 O-型寡聚糖链上, 从而合成 α -2, 8-多唾液酸聚糖(polySA)。近来我们使用 Phyre 2 软件构建了多聚唾液酸 ST8Sia II 酶的三维结构模型, 给出了该酶中多聚唾液酸转移酶结构域(PSTD)和多聚碱性氨基酸区域(PBR)两个功能域的结构特征, 认为在这两个区域中有几个氨基酸残基在引起多聚唾液酸化过程中起到了关键作用。我们的研究结果为研究 ST8Sia II 酶催化 NCAM 多聚唾液酸化的分子机制提供了新的结构信息, 也为和该酶所联系的肿瘤细胞转移的抑制机制和抑制物/药物的研究和设计, 提供更有价值的理论依据。

关键词: 肿瘤转移 多聚唾液酸(polySia) 多聚唾液酸转移酶结构域(PSTD) 多聚碱性氨基酸区域(PBR)

多聚唾液酸转移酶 IV (PST) 神经细胞黏附分子(NCAM) 多聚唾液酸化 蛋白质三维结构

中图分类号: Q555 **文献标识码:** A **文章编号:** 1005-9164(2017)01-0120-07

Abstract: ST8Sia II (STX) and ST8Sia IV (PST) are two highly homologous mammalian polySTs, which have been cloned, sequenced and shown to catalyze polysialylation of the neural cell adhesion molecule (NCAM), the major carrier protein of polySia. Two Polysialyltransferases (polySTs) catalyze synthesis of α -2, 8-

收稿日期:2017-02-18

作者简介:廖思明(1969—),女,副研究员,主要从事微生物和分子酶学研究。

* 国家自然科学基金项目(31560251),广西自然科学基金项目(2015GXNSFAA139053),广西科学与技术开发计划项目(14123001-19, 15104001-6),和广西科学院基本科研项目(15YJ22SW02)资助。

** 通信作者:黄日波(1958—),男,教授,博士生导师,主要从事微生物与酶学研究,E-mail:rbhuang@gxas.cn;周国平(1945—),男,教授,博士后导师(美国),主要从事生物物理和结构生物学研究,E-mail:gpszhou@gordonlifescience.org。

polysialic acid (polySia) glycans by carrying out the activated CMP-Neu5Ac (Sia) to *N*- and *O*-linked oligosaccharide chains on acceptor glycoproteins. Based on recent published studies, we have determined the 3D model of ST8Sia II using Phyre 2 software, and suggested the critical amino acid residues within the PSTD and PBR motifs of ST8Sia II essential for polysialylation. These results provide new structural information for revealing a detailed mechanisms of polyST-NCAM interaction and polysialylation of NCAM, and the study of the pharmacological inhibition of ST8Sia II in modulating tumor cell migration.

Key words: tumor metastasis, polysialic acid (polySia), polysialyltransferase domain (PSTD), polybasic region (PBR), ST8Sia IV (PST), neural cell adhesion molecules (NCAM), polysialylation, protein 3D structure

0 引言

在哺乳动物细胞中由 α -2,8 键连接成的多唾液酸聚糖 (polySA), 能够对神经细胞黏附分子 (NCAM) 进行翻译后修饰, 是一类和肿瘤细胞有联系的抗原。polySA 在胚胎发育、突触可塑性形成、突触发生、神经干细胞增殖和分化及肿瘤细胞远端转移等过程中, 对细胞间的相互作用的调节起到关键的作用^[1-4]。NCAM 是多聚唾液酸的主要载体蛋白^[5-9], 其上的 polySA 能在胚胎脑部大量表达。虽然在成人脑组织中大多数 NCAM 含有较低水平的 polySA, 但 polySA 能持续地在成人脑的神经中枢的可塑性区域, 包括与空间认知和记忆有关的海马体、下丘脑等区域^[10-11]表达。此外, 细胞迁移和神经轴索的收缩等现象也和神经细胞黏附分子的多聚唾液酸化有联系^[12]。

PolySA 是由 ST8Sia II (STX) 和 ST8Sia IV (PST) 两种多聚唾液酸转移酶 (polySTs) 催化而成。在多聚唾液酸链延伸过程中, STX 和 PST 把唾液酸残基从其高能活化前体胞苷-磷酸-乙酰神经氨酸 (CMP-Neu5Ac) 转移到神经细胞黏附分子或其他蛋白受体的非还原性末端, 通过 *N*-型和 *O*-型共价键连接到受体糖复合物的寡聚糖链上^[13-21]。

到目前为止, 除了寡聚唾液酸转移酶 ST8Sia III 的晶体结构之外, 用 X 射线晶体学或核磁共振 (NMR) 光谱法还没有获得 ST8Sia 家族中其它成员的三维结构。这主要是由于这些唾液酸酶分子中含有大量的疏水性氨基酸残基, 存在于细胞膜环境中, 以及蛋白中有较多的非结构区域, 这就不易获得理想的实验样品来进行 X 射线晶体学和 NMR 的结构生物学实验^[22]。因此, 至今所得到的有关唾液酸转移酶的结构信息还是很有限的。

然而, 近来我们用 Phyre2 软件^[23]构建成的 ST8Sia IV 多聚唾液酸酶分子结构是一个相当精确的

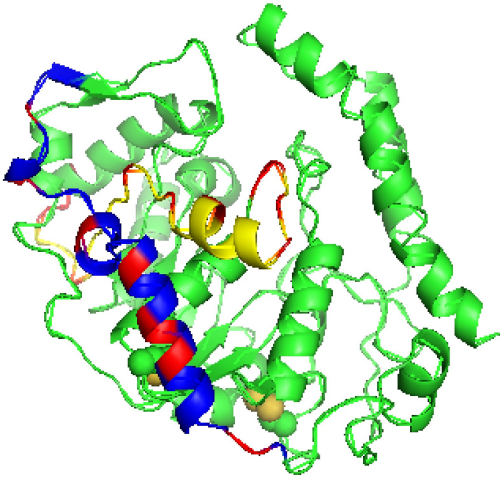
三维结构模型^[22], 这个预测的模型支持了在前面的研究中所提出的推测, 即在 ST8Sia IV 中存在着识别 NCAM 并催化 NCAM 多聚唾液酸化的特定结构区域。通过对这个 ST8Sia IV 模型及其突变体模型之间的比较和分析, 表明在该多聚唾液酸转移酶中的聚碱基多聚唾液酸转移酶结构域 (PSTD) 和聚碱的氨基酸区域 (PBR) 对 NCAM 的多聚唾液酸化起了关键作用^[24]。在 ST8Sia 家族成员结构研究中另一个重要的进展是, 寡聚唾液酸转移酶 ST8Sia III 的 X-射线晶体结构已经被解析出来^[25]。该晶体结构的确定, 不仅有助于我们对 NCAM 多聚唾液酸化分子机制有更清楚的理解, 而且还为构建 ST8Sia 家族中所有其它成员的三维结构提供了更为精确的结构模板。

ST8Sia II 是肿瘤细胞多聚唾液酸化的主要驱动源^[26]。因为多聚唾液酸在癌细胞中的再表达促使肿瘤发生转移^[6], 于是 ST8Sia II 多聚唾液酸酶是一个引起科学家们注意和重视的抗肿瘤靶。为了研究肿瘤细胞的转移、新陈代谢和 NCAM 的多聚唾液酸化等的分子机制, 就必须先确定 ST8Sia II 多聚唾液酸转移酶的三维结构, 并找出其结构与催化功能之间的内在联系, 这将对抑制肿瘤细胞转移的抑制物研究和设计, 以及开发有效的药物提供更有价值的信息。

1 ST8Sia II 的三维模型及其特征

正如以上分析, Phyre2 服务器对蛋白结构特征进行预测已被证明是一个切实可行的方法, 用该方法能可靠地检测到与目标蛋白很遥远的同源序列。即使序列之间的一致性低到 15%^[23], 也能够构建出一个精确的蛋白模型。我们先前所构建的 ST8Sia IV 的结构模型, 采用来源于哺乳动物细胞中单唾液酸酶和半乳糖- β -1,3-*N*-乙酰半乳糖胺-正-硝基酚的复合物的晶体结构作为模板 (编码为 c2wnfa)^[23], 所获得的预测模型的最大置信值为 100%, 氨基酸序列一致性为 26%。然而当我们采用最近发表的 ST8Sia III

的晶体结构^[25]作为模板再预测 ST8Sia IV 的三维结构时,置信值仍为 100%,但序列一致性已升至 40%。这表明最新的 ST8Sia IV 三维结构模型比原来的更为精准。因此,在本研究中,我们用 ST8Sia III 的晶体结构作为模板(编码为 c5bo6b)来构建 ST8Sia II 的三维模型(图 1)。



多聚唾液酸转移酶结构域(PSTD)和多聚碱性氨基酸区域(PBR)分别用黄色和蓝色表征;在这两个区域中所有的碱性氨基酸标记为红色;两对二硫键的 Cys 原子用球形表征

All basic amino acid residues on the PSTB and PBR are shown in red, and other residues in PSTB and PBR are shown in yellow and blue, respectively; The Cys atoms formed disulfide bonds are shown as spheres

图 1 ST8Sia II 分子主链的三维骨架构象

Fig. 1 The backbone conformation of the 3D structure of ST8Sia II

ST8Sia II 的结构中含有一对反平行 β -折叠,对应的氨基酸序列是从 G120 到 I123,以及从 M133 到 V135,靠近该酶的 N 端,位于蛋白的表面,该反平行 β -折叠的功能目前还不清楚。在 ST8Sia II 的结构中,每个 β -折叠和其邻近 β -折叠的距离为 4.5~5.0 Å,所有 8 个平行的 β -折叠都包埋在蛋白分子内,并处于分子模型的核心区,那里富含疏水性氨基酸。另外,与 ST8Sia IV 结构相似,ST8Sia II (共 375 氨基酸残基)也含有两对二硫键: C157: C307 和 C171: C371。由于这 4 个残基构成的每个二硫键中都有一个半胱氨酸残基非常接近蛋白分子的 C 端,而大多数 C 端氨基酸残基包括 C 末端的 C371 被折叠到蛋白分子的中心或核心区,于是 C371 不是处在 C 末端的无规则卷曲区。这种折叠方式合理地说明了 C371 也是 ST8Sia II 酶活性所需要的残基。以上这些特征提出了 ST8Sia II 的催化区域可能是从残基 85 到 371 的范围内。

这个预测的 ST8Sia II 三维模型,表明了从 N 端

的前 85 个氨基酸残基中,包含有 1 个被认为是跨膜区的、长的 α -螺旋(Leu3~Glu30)^[25]。从第 31 到第 84 个残基中的大多数氨基酸属于无规则卷曲区,在该区域不存在稳定的构象^[27]。此外,与 ST8Sia IV 的模型相似的是,同它们的 C 末端部分相比,ST8Sia II 的 N 端区域远离酶分子模型的核心区。因此,这些区域可能不存在影响酶的活性和对多聚唾液酸化有催化作用的氨基酸残基。

2 影响 NCAM 多聚唾液酸化的功能域及关键氨基酸残基

2.1 PSTD 功能域

ST8Sia II (STX)和 ST8Sia IV (PST)的氨基酸序列的一致性约为 59%,它们的催化区位于高尔基复合体的内腔^[28-32]。Troy 和他的同事发现,在 ST8Sia II 和 ST8Sia IV 中都含有一个由 32 个氨基酸残基组成的多碱性氨基酸区域(pI 值约为 12),位于小唾液酸化(SMS)区域的上游并且紧挨着 SMS^[32]。这个区域是 PSTD。在其它的糖苷转移酶中,包括葡糖氨基葡聚糖的合成或聚合的相关酶类中都不存在 PSTD。虽然 ST8Sia III 能够催化几个神经糖蛋白的寡聚唾液酸化,并与 ST8Sia II 和 ST8Sia IV 有中等程度的同源性,但由于它缺乏 PSTD,所以也不能催化 NCAM 多聚唾液酸化。

前面的研究已经确定了 ST8Sia IV 和 ST8Sia II 中的 PSTD 功能域分别是第 246 到第 277 个氨基酸残基范围和从第 261 至第 292 个氨基酸残基范围(图 2)。ST8Sia IV 的 PSTD 的点突变模型和突变分析表明,此结构域中带正电荷的残基,如 Arg252、Lys276 和 Arg277 对于其多聚唾液酸转移酶的活性是至关重要的^[32],并且我们的模型显示了大多数正电荷的氨基酸残基都位于蛋白分子的表面(图 3b)。在多聚唾液酸化过程中这样的分布可能有利于它们和带有负电荷的唾液产生静电相互作用。

在我们的 ST8Sia II 模型的 PSTD 区域内(K261~R292)含有 11 个碱性氨基酸残基。它们是 Lys261、H262、H263、R267、R274、H277、R280、K287、H289、K291 和 R292。这些碱性氨基酸也都处于蛋白分子的 CPK 模型的表面(图 3a),因此,它们有可能和负电荷的唾液酸分子之间发生静电相互作用。所以我们的 ST8Sia II 三维模型支持了前面研究提出的假设,即 ST8Sia II 中 PSTD 区域内的碱性氨基酸残基对 NCAM 的多聚唾液酸化起到关键作用。

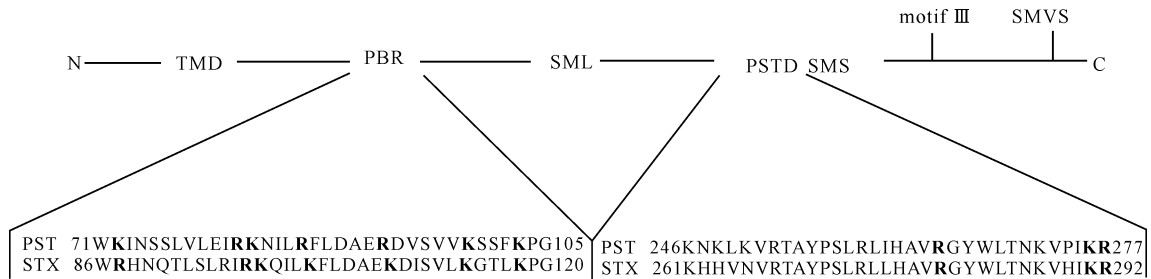
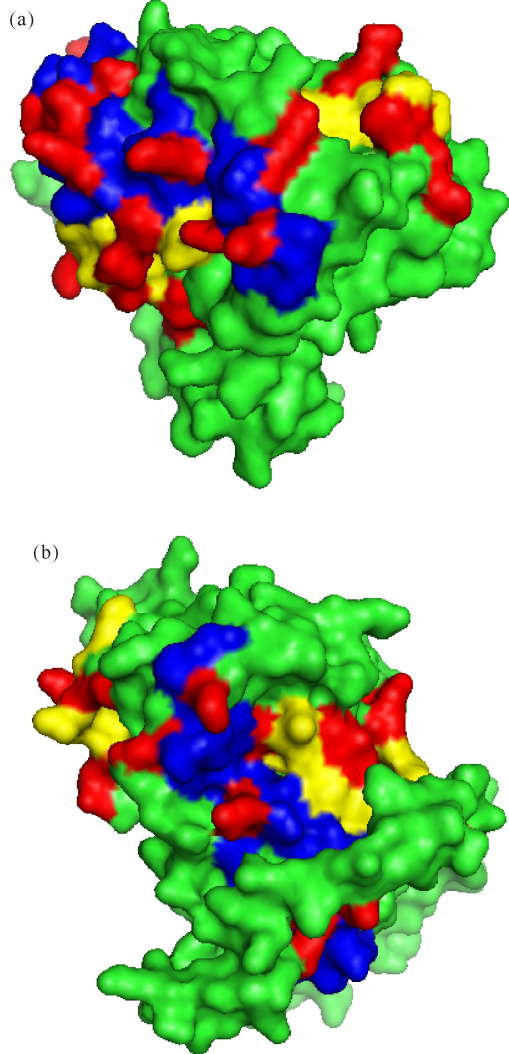


图 2 在 ST8Sia II (STX) 和 ST8Sia IV (PST) 中的多聚唾液酸转移酶结构域 (PSTD) 和多聚碱性氨基酸区域 (PBR), 以及其它唾液酸组分^[22]。

Fig. 2 The polybasic regions (PSTB and PBR) and sialyl motifs in STX (ST8Sia II) and ST8Sia IV (PST)^[22]



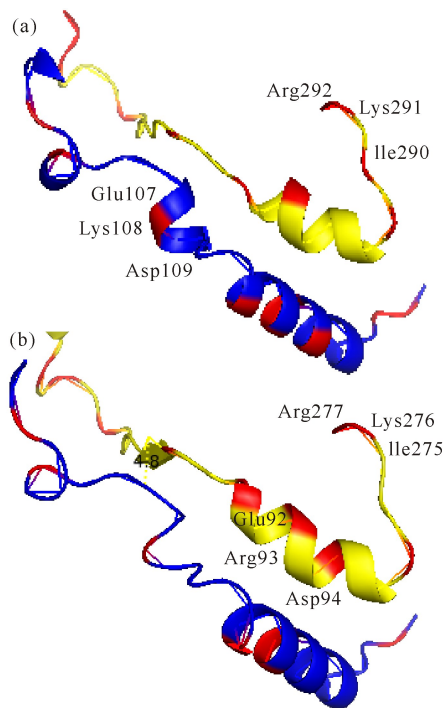
多聚唾液酸转移酶结构域 (PSTD) 和多聚碱性氨基酸区域 (PBR) 被分别用黄色和蓝色表征; 在这两个区域中所有的碱性氨基酸被标记为红色

All basic amino acid residues on the PSTB and PBR are shown in red, and other residues in PSTB and PBR are shown in yellow and blue, respectively

图 3 ST8Sia II (a) 和 ST8Sia IV (b) 的三维空间充填原子球体模型

Fig. 3 The critical residues within the PSTD and PBR domains required for polysialylation of NCAM in the wild-type 3D space-filling model of ST8Sia II (a) and ST8Sia IV (b)

由于 PSTD 和 PBR 结构域中的氨基酸顺序对于 ST8Sia II 和 ST8Sia IV 来说是高度保守的^[32], 我们构建的 ST8Sia II 和 ST8Sia IV 的三维模型也显示了这两个多聚唾液酸转移酶的相应的 PSTD 和 PBR 区域具有相似的构象 (图 4), 所以不难理解, ST8Sia IV 中的 PSTD 和 PBR 结构域与 ST8Sia II 中相应的 PSTD 和 PBR 应当有相似的功能。在 ST8Sia IV 的 PSTD 末端的最后 3 个氨基酸残基 (I275-K276-R277) 与 ST8Sia II 的 PSTD 的最后 3 个氨基酸残基 (I290-K291-R292) 是完全相同的。因为在前面的突变实验和点突变模型已经证明了 ST8Sia IV 中的非极性氨基酸 I275 对 ST8Sia IV 的活性有重要影响, 所以我们可以合理地推测, 在 ST8Sia II 的 PSTD 中末



在这两个区域中所有的碱性氨基酸被表标记为红色

All basic residues in these motifs are shown by red

图 4 从 ST8Sia II (a) 和 ST8Sia IV (b) 三维结构中抽离出的 PBR (蓝色) 和 PSTD (黄色) 的结构

Fig. 4 The conformations of the corresponding PBR (blue) and PSTD (yellow) motifs of ST8Sia II and IV

端的非极性氨基酸残基 I290 对于 NCAM 多聚唾液酸化作用也是十分重要的。

通过比较野生型的 ST8Sia IV 的模型 (I275-K276-R277) 及其两个突变分子的模型 (I275K (K275-K276-R277) 和 K276R/R277K (I275-R276-K277)), 或者野生型的 ST8Sia II 模型及其两个突变体分子模型 I290K (K290-K291-R292) 和 R291K/R292K (I290-R291-K292), 我们发现每一个多聚唾液酸化酶的野生型模型及其突变体分子模型之间在构象上具有显著差异, 特别是在它们的 PSTD 结构域上有不同的构型。这些发现说明在 ST8Sia IV 中的 I275-K276-R277 和在 ST8Sia II 中的 I290-R291-K292 具有专一性的构型。在此之前, Nakata 等^[32] 已经通过突变实验分析发现即使 I275 突变为 K275 后, 或者将 K276-R277 的位置对换为 R276-K277 后, 酶的活性反而降低。虽然在 ST8Sia IV 中的 I275 或在 ST8Sia II 中的 I290 是一个没有电荷的疏水性残基, 但是它们和 K(Lys) 及 R(Arg) 组成的专一性顺序 (I-K-R) 对酶的活性有重要影响。所以我们的野生型和突变体分子模型分析和以上的突变体实验分析是一致的, 表明这 3 个残基 (I-K-R) 在位置上的专一性决定了它们特定的构型。由于分子突变引起的构象变化可能解释了为什么突变的 polyST 的催化活性减弱。这些结果也再次支持原来的分析, 即 PSTD 结构域中的碱性氨基酸残基并不是唯一的对 ST8Sia IV 或 II 酶活性起重要作用的氨基酸。

2.2 PBR 结构域

几年前 Foley 等^[33] 在多聚唾液酸化酶中发现了另一个多碱性氨基酸功能区域, 并命名为 PBR 结构域。在 PST 和 STX 中的 PBR 顺序也是保守的。PBR 结构域含有 35 个氨基酸残基, 其中 7 个为碱性氨基酸。Foley 等^[33] 发现, 两个多聚唾液酸化酶的 PBR 中用氨基酸 Ala 替代两个氨基酸残基 (PST 中的 Arg82 和 Arg93, STX 中的 Arg97 和 Lys108) 后, 这两个酶的自动多聚唾液酸化能力和对 NCAM 的多聚唾液酸化的催化作用显著减弱。通过分析相关的实验数据, 他们确定了在 PBR 中含有的对 NCAM 蛋白多聚唾液酸化活性作用所需要的特定的氨基酸残基。

我们的模型表明, ST8Sia IV 和 ST8Sia II 的 PBR 结构域具有相似的构象, 它们都含有一个长螺旋和两个短螺旋 (图 4)。已知 ST8Sia IV 的长螺旋中的 Arg82 位于螺旋的外侧, 它是 NCAM 多聚唾液酸化过程中的关键氨基酸残基。同样, 在 ST8Sia II 中的 Lys95 和 Lys105 也位于长螺旋的外侧, 所以这两个碱性氨基酸残基也可能是 NCAM 多聚唾液酸化的

关键氨基酸。

Foley 等^[33] 报道了 ST8Sia IV 的 Arg93 两侧分别是 Glu92 和 Asp94 (图 4b), 同样地, ST8Sia II 的 PBR 结构域中的 Lys108 两侧也分别是 Asp 和 Glu 氨基酸残基 (图 4a)。早期的研究表明, 当 Glu92 和 Asp94 替换成 Ala 时, ST8Sia IV 的自动多聚唾液酸化能力降低并失去对 NCAM 的多聚唾液酸化作用。相反, 当 Glu92 替换成 Asp92, Asp94 替换成 Glu94 后, 则该酶的自动多聚唾液酸化的能力明显增强 (为对照的 123%), 而其对 NCAM 的多聚唾液酸化作用并没有恢复。

此外, 结合突变实验结果和点突变模型, 我们已经确定 ST8Sia IV 中的 Arg82、Glu92-Arg93-Asp94、Lys99 和 Lys103 是多聚唾液酸化作用所需要的关键氨基酸。因此, 根据 ST8Sia IV 和 ST8Sia II 这两个多聚唾液酸化转移酶在 PBR 结构域中的相似性, 也可合理地推断, ST8Sia II 中的 Lys95、Lys105、Glu107-Lys108-Asp109、Lys114 和 Lys118 也是其自动多聚唾液酸化和对 NCAM 多聚唾液酸化作用所需要的关键氨基酸。

3 结论

我们用 Phyre2 软件构建成的 ST8Sia II 多聚唾液酸化酶分子结构是一个相当精确的三维结构模型。ST8Sia II 和 IV 在它们 PSTD 和 PBR 功能区的氨基酸顺序是高度保守的, 在构型上也是相似的, 于是根据前面有关 ST8Sia IV 多聚唾液酸化转移酶的突变分析结果, 同时结合目前的 ST8Sia II 三维结构模型的特征分析, 我们初步确定了在 ST8Sia II 的 PSTD 和 PBR 结构域中对 NCAM 多聚唾液酸化起关键作用的氨基酸, 这将在下一步的 NMR 实验研究中得到进一步证实。ST8Sia II 三维模型的构建, 不仅有助于我们深入理解多聚唾液酸化转移酶调控 NCAM 多聚唾液酸化过程中的分子机制, 也对该酶影响的肿瘤细胞转移具有抑制作用的抑制物和药物的发现和设计提供了重要的理论依据。

参考文献:

- [1] NAKAYAMA J, FUKUDA M. A human polysialyltransferase directs in vitro synthesis of polysialic acid[J]. *J Biol Chem*, 1996, 271(4): 1829-1832.
- [2] ANGATA K, FUKUDA M. Polysialyltransferases: Major players in polysialic acid synthesis on the neural cell adhesion molecule[J]. *Biochimie*, 2003, 85(1/2): 195-206.
- [3] SCHACHNER M, MARTINI R. Glycans and the modu-

- lation of neural - recognition molecule function [J]. Trends Neurosci, 1995, 18(4):183-191.
- [4] PARK K H, YEO S W, TROY F A. Expression of polysialylated neural cell adhesion molecules on adult stem cells after neuronal differentiation of inner ear spiral ganglion neurons [J]. Biochem Biophys Res Commun, 2014, 453(2):282-287. DOI: 10.1016/j.bbrc.2014.05.035.
- [5] INOUE S, IWASAKI M. Isolation of a novel glycoprotein from the eggs of rainbow trout: Occurrence of disialosyl groups on all carbohydrate chains [J]. Biochem Biophys Res Commun, 1978, 83(3):1018-1023.
- [6] FINNE J. Occurrence of unique polysialosyl carbohydrate units in glycoproteins of developing brain [J]. J Biol Chem, 1982, 257(20):11966-11970.
- [7] EDELMAN G M. Modulation of cell adhesion during induction, histogenesis, and perinatal development of the nervous system [J]. Annu Rev Neurosci, 1984, 7:339-377.
- [8] RUTISHAUSER U, LANDMESSER L. Polysialic acid in the vertebrate nervous system: A promoter of plasticity in cell-cell interactions [J]. Trends Neurosci, 1996, 19(10):422-427.
- [9] KISS J Z, ROUGON G. Cell biology of polysialic acid [J]. Curr Opin Neurobiol, 1997, 7(5):640-646.
- [10] SEKI T, ARAI Y. Distribution and possible roles of the highly polysialylated neural cell adhesion molecule (NCAM-H) in the developing and adult central nervous system [J]. Neurosci Res, 1993, 17(4):265-290.
- [11] HU H Y, TOMASIEWICZ H, MAGNUSON T, et al. The role of polysialic acid in migration of olfactory bulb interneuron precursors in the subventricular zone [J]. Neuron, 1996, 16(4):735-743.
- [12] SEKI T, RUTISHAUSER U. Removal of polysialic acid - neural cell adhesion molecule induces aberrant mossy fiber innervation and ectopic synaptogenesis in the hippocampus [J]. J Neurosci, 1998, 18(10):3757-3766.
- [13] MCCOY R D, VIMR E, TROY F A. CMP-Neu5Ac: poly- α -2,8-sialosyl sialyltransferase and the biosynthesis of polysialosyl units in neural cell adhesion molecules [J]. J Biol Chem, 1985, 260(23):12695-12699.
- [14] KITAZUME S, KITAJIMA K, INOUE S, et al. Developmental expression of trout egg polysialoglycoproteins and the prerequisite α 2,6-, and α 2,8-sialyl and α 2,8-polysialyltransferase activities required for their synthesis during oogenesis [J]. J Biol Chem, 1984, 259(14):10330-10340.
- [15] KOJIMA N, TACHIDA Y, YOSHIDA Y, et al. Characterization of mouse ST8Sia II (SIA8SIA II) as a neural cell adhesion molecule-specific polysialic acid synthase. Requirement of core α 1,6-linked fucose and a polypeptide chain for polysialylation [J]. J Biol Chem, 1996, 271(32):19457-19463.
- [16] KITAZUME-KAWAGUCHI S, KABATA S, ARITA M. Differential biosynthesis of polysialic or disialic acid structure by ST8Sia II and ST8Sia IV [J]. J Biol Chem, 2001, 276(19):15696-15703.
- [17] SEVIGNY M B, YE J, KITAZUME-KAWAGUCHI S, et al. Developmental expression and characterization of the α 2,8-polysialyltransferase activity in embryonic chick brain [J]. Glycobiology, 1998, 8(9):857-867.
- [18] ZHOU G P, TROY F A. Characterization by NMR and molecular modeling of the binding of polyisoprenols (PI) and polyisoprenyl recognition sequence (PIRS) peptides: 3D structure of the complexes reveals sites of specific interactions [J]. Glycobiology, 2003, 13(2):51-71.
- [19] ZHOU G P, TROY F A. NMR study of the preferred membrane orientation of polyisoprenols (dolichol) and the impact of their complex with polyisoprenyl recognition sequence peptides on membrane structure [J]. Glycobiology, 2005, 15(4):347-359.
- [20] ZHOU G P, TROY F A. NMR studies on how the binding complex of polyisoprenol recognition sequence peptides and polyisoprenols can modulate membrane structure [J]. Curr Protein Pept Sci, 2005, 6(5):399-411.
- [21] NAKAYAMA J, FUKUDA M N, HIRABAYASHI Y, et al. Expression cloning of a human GT3 synthase. GD3 AND GT3 are synthesized by a single enzyme [J]. J Biol Chem, 1996, 271(7):3684-3691.
- [22] ZHOU G P, HUANG R B, TROY F A. 3D Structural conformation and functional domains of polysialyltransferase ST8Sia IV required for polysialylation of neural cell adhesion molecules [J]. Protein Pept Lett, 2015, 22(2):137-148.
- [23] KELLEY L A, STERNBERG M J E. Protein structure prediction on the web: A case study using the Phyre server [J]. Nat Protoc, 2009, 4(3):363-371.
- [24] CLOSE B E, MENDIRATTA S S, GEIGER K M, et al. The minimal structural domains required for neural cell adhesion molecule polysialylation by PST/ST8Sia IV and STX/ST8Sia II [J]. J Biol Chem, 2003, 278(33):30796-30805.
- [25] VOLKERS G, WORRALL L J, KWAN D H, et al. Structure of human ST8Sia III sialyltransferase provides insight into cell-surface polysialylation [J]. Nat

- [26] AL-SARAIREH Y M J, SUTHERLAND M, SPRING-ETT B R, et al. Pharmacological inhibition of polysialyltransferase ST8Sia II modulates tumour cell migration[J]. PLoS One, 2013, 8(8): e73366.
- [27] SMITH L J, FIEBIG K M, SCHWALBE H, et al. The concept of a random coil: Residual structure in peptides and denatured proteins[J]. Fold Des, 1996, 1(5): R95-R106.
- [28] KOJIMA N, YOSHIDA Y, TSUJI S. A developmentally regulated member of the sialyltransferase family (ST8Sia II, STX) is a polysialic acid synthase[J]. FEBS Lett, 1995, 373(2): 119-122.
- [29] ECKHARDT M, MÜHLENHOFF M, BETHE A, et al. Molecular characterization of eukaryotic polysialyltransferase-1[J]. Nature, 1995, 373(6516): 715-718.
- [30] SCHEIDEGGER E P, STERNBERG L R, ROTH J, et al. A human STX cDNA confers polysialic acid expression in mammalian cells[J]. J Biol Chem, 1995, 270(39): 22685-22688.
- [31] NAKAYAMA J, FUKUDA M N, FREDETTE B, et al. Expression cloning of a human polysialyltransferase that forms the polysialylated neural cell adhesion molecule present in embryonic brain[J]. P Natl Acad Sci USA, 1995, 92(15): 7031-7035.
- [32] NAKATA D, ZHANG L R, TROY F A. Molecular basis for polysialylation: A novel polybasic polysialyltransferase domain (PSTD) of 32 amino acids unique to the $\alpha 2, 8$ -polysialyltransferases is essential for polysialylation[J]. Glycoconj J, 2006, 23(5): 423-436.
- [33] FOLEY D A, SWARTZENTRUBER K G, COLLEY K J. Identification of sequences in the polysialyltransferases ST8Sia II and ST8Sia IV that are required for the protein-specific polysialylation of the neural cell adhesion molecule, NCAM[J]. J Biol Chem, 2009, 284(23): 15505-15516.

(责任编辑:陆雁)

投稿指南

1 来稿要求

1.1 稿件要素

稿件内容必须包括题目、作者姓名、作者所在单位、作者所在省份和城市、邮政编码、中文摘要、关键词、英文题目、作者英文姓名、作者英文单位、英文摘要、英文关键词、正文、致谢(非必选)、参考文献等内容。

1.2 题目

应以简明、确切的语言反映稿件的重要思想和内容,一般不超过 20 字。

1.3 作者与单位

多位作者姓名用逗号隔开。所有作者均须注明所在单位全称、省份城市及邮编。

1.4 汉语姓名译法

姓在前名在后,姓用大写字母,名首字母大写(如:欧阳奋发, OUYANG Fenfa)。

1.5 中、英文摘要

用第三人称撰写,应完整准确概括论文的实质性内容,试验研究论文摘要须标注【目的】……【方法】……【结果】……【结论】……4 个要素。英文摘要与中文摘要内容相对应(Abstract:【Objective】……【Methods】……【Results】……【Conclusion】……)。

1.6 首页脚注标识要素

资助项目;项目名称(项目编号)。作者简介包括姓名(出生年-),性别,职称或职务,主要研究方向。如有通讯作者,请注明×××为通讯作者,包括姓名(出生年-),性别,职称或职务,主要研究方向, E-mail。

1.7 稿件正文

试验研究论文应包括引言、材料与与方法、结果与分析、讨论、结论等要素。引言须标注【研究意义】……【前人研究进展】……【本研究切入点】……【拟解决的关键问题】……等基本内容,“讨论”与“结论”部分须分开阐述。各层次标题用阿拉伯数字连续编号,如 0; 1, 1. 1, 1. 1. 1……; 2, 2. 1, 2. 1. 1……层次划分一般不超过 3 级。

1.8 参考文献

所有类型的中文文献须对应翻译成英文。编排格式如下:

- [1] 陈宝玲, 宋希强, 余文刚, 等. 濒危兰科植物再引入技术及其应用[J]. 生态学报, 2010, 30(24): 7055-7063.

CHEN B L, SONG X Q, YU W G, et al. Re-introduction technology and its application in the conservation of endangered orchid[J]. Acta Ecologica Sinica, 2010, 30(24): 7055-7063.

1.9 图和表

稿件可附必要的图和表,表用三线表表示,忌与文字表述重复,表的主题标题要明确。图表名、图表注及图表中所有的中文须有英文对照。图要大小适中,清晰,标注完整;照片尽量选用黑白照片。

1.10 量和单位

量名称及其符号须符合国家标准,采用法定计量单位(用国际通用符号,如面积单位“亩”换算成“公顷 hm^2 ”)。书写要规范化,并注明外文字母的大小写、正斜体及上下角标。容易混淆的字母、符号,请特别注明。

2 注意事项

2.1 本刊已开通网络投稿系统,投稿请登陆 <http://gxkk.cbpt.cnki.net/>,使用网上投稿和查稿系统。我刊审稿周期为 1 个月,1 个月后未收到审稿结果可另投他刊。

2.2 稿件一经采用,酌收版面费;刊登后,付稿酬含(《中国学术期刊(光盘版)》、中国期刊网、万方数据网及台湾华艺 CEPS 中文电子期刊服务网等)网络发行的稿酬,同时赠送样刊 2 本。

2.3 本刊入编《中国学术期刊(光盘版)》、中国期刊网、万方数据网及台湾华艺 CEPS 中文电子期刊数据库并已签订 CNKI 优先数字出版合作协议。

2.4 囿于人力、物力有限,我刊只通过期刊采编系统发送“稿件处理意见”,如需纸质意见,请向编辑部索取。