

# 自噬 - 溶酶体系统靶向降解蛋白质技术研究进展

沈钦旭\*, 马陇君#

兰州交通大学化学化工学院, 甘肃 兰州

收稿日期: 2023年10月22日; 录用日期: 2023年10月31日; 发布日期: 2023年11月22日

## 摘要

在靶向蛋白降解(TPD)药物开发领域, 利用泛素 - 蛋白酶体系统的蛋白质水解靶向嵌合体(PROTACs)得到了广泛的研究。然而, 泛素 - 蛋白酶体系统仅限于降解可溶性蛋白和膜蛋白的降解, 不包括聚集蛋白/细胞外蛋白和功能失调的细胞器。溶酶体作为一种替代的蛋白质降解途径, 既可通过自噬 - 溶酶体途径, 降解细胞内靶点: 如可溶性蛋白和聚集蛋白; 又能通过核内体 - 溶酶体途径, 降解细胞外靶点: 如膜蛋白和分泌的细胞外蛋白。本文中, 我们重点介绍新兴的溶酶体介导的靶向降解技术, 如AUTAC、ATTEC、AUTOTAC、LYTAC和MoDE-A。

## 关键词

溶酶体, 自噬, 靶向降解, 蛋白质

# Research Progress in Targeted Protein Degradation Technology of Autophagy-Lysosome System

Qinxu Shen\*, Longjun Ma#

School of Chemistry and Chemical Engineering, Lanzhou Jiaotong University, Lanzhou Gansu

Received: Oct. 22<sup>nd</sup>, 2023; accepted: Oct. 31<sup>st</sup>, 2023; published: Nov. 22<sup>nd</sup>, 2023

## Abstract

In the field of Targeted Protein Degradation (TPD) drug development, Protein Targeting Chimeras

\*第一作者。

#通讯作者。

(PROTACs) utilizing the ubiquitin-proteasome system have been extensively studied. However, the ubiquitin-proteasome system is limited to the degradation of soluble and membrane proteins and does not include aggregated proteins/extracellular proteins and dysfunctional organelles. Lysosomes, as an alternative protein degradation pathway, can degrade intracellular targets through the autophagy-lysosome pathway, such as soluble proteins and aggregated proteins, and can also degrade extracellular targets through the endolysosome-lysosome pathway, such as membrane proteins and secreted extracellular proteins. In this article, we focus on emerging lysosome-mediated targeted degradation techniques, such as AUTAC, ATTEC, AUTOTAC, LYTAC, and MoDE-A.

## Keywords

Lysosome, Autophagy, Targeted Degradation, Proteins

Copyright © 2023 by author(s) and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY 4.0).

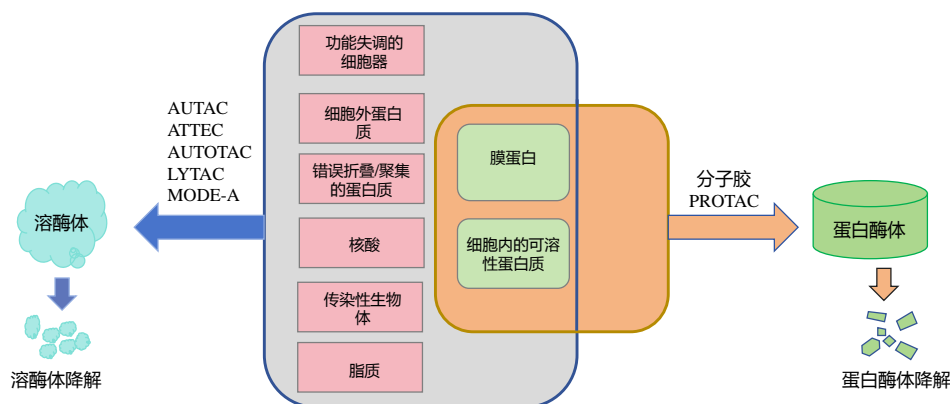
<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

## 1. 引言

泛素-蛋白酶体系统(UPS)和溶酶体系统是蛋白质降解的两个主要且互补的途径。UPS 途径降解胞内、可溶性和寿命短的蛋白质,近十年来,基于 UPS 途径的 PROTACS 药物研发取得了优异的成绩[1] [2]。然而,与 UPS 相关的小分子基础的 PROTAC 仍然存在一些限制,例如,只能降解细胞内、可溶性和寿命短的蛋白质,从而限制了它们在由细胞外蛋白质和蛋白质聚集引起的许多疾病中的应用,如亨廷顿病和阿尔茨海默病[3] [4]。相反,溶酶体系统可以降解许多完全折叠、寿命长的聚集蛋白质、细胞外蛋白质、核酸、脂质、受损的细胞器以及细菌和病毒等传染性生物体。因此,溶酶体降解生物分子可以极大地丰富靶向蛋白质降解(TPD)的工具箱,并扩展其在人类疾病中的应用[5]。如图 1 所示。



**Figure 1.** Two pathways of targeted protein degradation

**图 1.** 靶向蛋白降解的两种途径

基于溶酶体的降解途径可分为以下两种:一是通过自噬被称为自噬-溶酶体途径的方式来降解细胞质蛋白质和受损细胞器;二是通过内吞作用被称为内吞-溶酶体途径的方式来降解细胞外蛋白质[6], 本文将对自噬-溶酶体途径原理及一些以溶酶体为基础的靶向蛋白降解的技术进展进行综述。

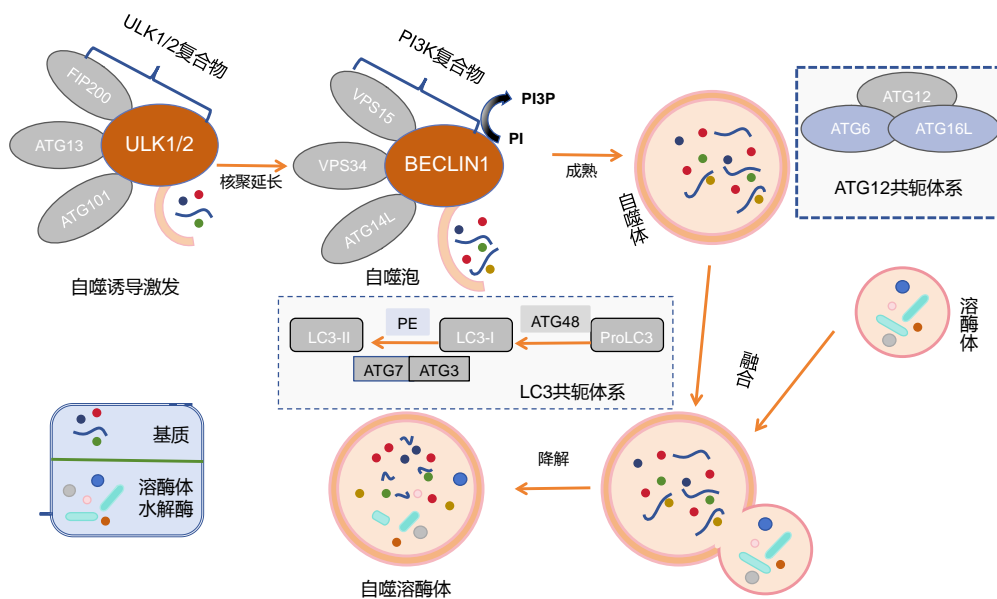
## 2. 自噬 - 溶酶体途径

自噬是一种保守的分解过程,用于细胞质组分的周转和再循环,已在酵母中鉴定出 40 多个自噬相关基因及其编码蛋白质,其中大多数也存在于哺乳动物中,这表明自噬是一种进化保守的过程[7]。自噬在维持细胞的稳态和能量平衡方面发挥着至关重要的作用。根据被降解组分的具体降解机制,自噬又分为三种类型:微自噬[8]、分子伴侣介导的自噬(CMA) [9]和巨自噬[10]。微自噬是将细胞质组分直接包裹在溶酶体内进行降解;而分子伴侣介导的自噬则是降解含有 KFERQ 样序列的特定蛋白质,该序列可以被分子伴侣 HSPA8/HSC70 识别,将蛋白质引导到溶酶体表面蛋白 LAMP2A 中进行溶酶体包裹。巨自噬(以下简称自噬)涉及自噬体——一个双膜囊泡的形成,被定向降解的物质被困在自噬体内,随后通过自噬体和溶酶体之间的膜融合传递到溶酶体中被降解,自噬过程的机制受到自噬相关蛋白质的高度调控[11]。

### 2.1. 自噬的机制和调控

自噬是一种复杂的细胞过程,涉及多个与自噬相关的(ATg)蛋白质,可以分为三个主要阶段:

首先,自噬的诱导阶段是由细胞应激情况触发的,例如养分匮乏、氧化应激和 mTORC1 抑制[12]。这个阶段涉及 ULK1/2 复合物的激活,以及其他蛋白质如 Atg13、Atg101 和 FIP200 的参与。其次,自噬体的核聚合成熟阶段。该阶段需要类 III 磷脂酰肌醇 3-激酶(PI3K)复合物的协助,包括 Beclin1、VPS34、VPS15 和 Atg14L。这一阶段还包括将磷脂酰肌醇(PI)磷酸化为磷脂酰肌醇 3-磷酸(PI3P),以确保正确定位 Atg 蛋白质,如 Atg18 和 Atg2,以促使自噬小体膜的形成[13]。最后,与溶酶体的融合和降解是自噬的终阶段。这个阶段涉及 Rab-SNARE 蛋白质的参与,实现自噬小体与溶酶体的融合,形成自溶小体。自溶小体释放其内部成分,包括内膜和组分,以供溶酶体水解酶进行降解。此外,自噬还依赖于类似泛素的共轭系统,包括 LC3-II 和 Atg12-Atg5-Atg16L。这些系统在伸长/成熟阶段发挥作用,其中 LC3-I 转化为 LC3-II,并与自噬小体膜共价结合,而 Atg12 则与 Atg5 和 Atg16L 结合,促进磷脂醇乙醇胺(PE)的共轭。Atg4B 在 LC3-II 的回收中发挥作用,将其转化回 LC3-I 的形式,这被称为去脂化。LC3-II 还充当自噬受体(如 p62 和 NBR1)的结合平台,将自噬小体运送到溶酶体以进行降解[14] [15]。如图 2 所示。



**Figure 2.** Schematic diagram of autophagy mechanism  
**图 2.** 自噬机制示意图

## 2.2. 自噬体的选择性

尽管最初认为自噬是非选择性的,但最近的研究揭示了某些类型的巨自噬是有选择性的[16]。自噬的选择性普遍由载体受体蛋白负责控制,它们可以识别载体并与分布在隔离膜和吞噬体上的 LC3 蛋白质结合[17]。而细胞器主要是通过承担载体角色不同的细胞器的类型来确定自身的自噬选择性。例如,蛋白质聚集体(聚集体自噬)、病原体(异物自噬)、铁蛋白(铁蛋白自噬)、线粒体(线粒体自噬)、核糖体(核糖自噬)和脂质体(脂肪自噬) [18]-[23]。

哺乳动物中选择性自噬的一般机制途径由自噬受体(例如 p62、NBR1、NDP52、TAX1BP1、OPTN 和 CCT2)调控[24] [25]。在选择性自噬过程中,自噬受体经历翻译后的结构修饰,如泛素化、磷酸化、乙酰化和寡聚化。在泛素依赖的载体选择中,错误折叠的蛋白质标记为多泛素链,这些链通过它们的泛素结合域(UBD)被受体识别并结合,最终送入自噬体。相反,泛素不依赖的途径则是涉及特定载体的识别,如蛋白质、脂类或基于糖的信号由专门的自噬受体识别。例如,Mancias 等人发现铁蛋白的选择性自噬(即,铁蛋白吞噬)是由泛素非依赖受体 NCOA4.5 介导的[26]。

p62/SQSTM1 是一种存在于后生动物中的特定自噬受体蛋白。p62 在泛素化蛋白聚集体的选择性自噬降解中发挥关键作用,并包含了用于结合各种底物的多个保守结构域。p62 的结构域通过与 UBD 结合促进泛素化的载体降解,通过 PB1 结构域自我寡聚化,然后通过与自噬体膜蛋白 LC3 的 LIR (LC3 相互作用区域)相互作用,将蛋白聚集体送入自噬体[27] [28]。除此之外,p62 的 ZZ 结构域还通过对 N-识别蛋白位点的选择性调节和 N-末端降解物的结合(包括 N-末端精氨酸(NT-R)在内)从而在诱导自噬的过程中发挥作用。其中,p62 的 ZZ 结构域可与精氨酸化底物(NT-R)有效结合,这种结合会促进 LC3 与二硫键连接的 p62 的自聚集体进行相互作用,最后促使 p62 及其载体进入自噬过程[28]。

## 3. 基于溶酶体的靶向蛋白降解的进展

一些基于自噬机制的新兴技术,如含有 cGMP 的降解标签的自噬靶向嵌合物(Autophagy-Targeting Chimera, AUTAC)、自噬体系连接化合物(Autophagosome-Tethering Compounds, ATTECs)、溶酶体靶向嵌合物(Lysosometargeting Chimera, LYTAC)和含有 p62 配体的自噬靶向嵌合物(Autophagy-Targeting Chimera, AUTOTAC)正在开发中。

### 3.1. AUTACs/AUTOTACs

自噬靶向嵌合体(Autophagy-Targeting Chimera)是 A 组链球菌(GAS)细菌通过 8-nitro-cgmp 的 S-鸟苷化,促进了 K63-链多泛素化,最终信号传导到自噬体,随后进行有选择性的运输和降解[29]。日本东北大学 Arimoto 小组充分利用了 GAS 细菌的选择性降解过程,开发了一种具有靶向蛋白质降解能力的嵌合分子,命名为自噬靶向嵌合体(AUTACs),也称为第一代 AUTACs [30] [31] [32] [33]。AUTACs 分子由三部分组成:一个基于 cGMP 的降解标签、一个 linker、一个靶向蛋白(POI)或细胞器的小分子配体。由于 Fumagillin 能与甲硫氨酸氨肽酶 2 (MetAP2)进行有效共价结合,所以 Arimoto 等人开发的 AUTAC1,选择了甲硫氨酸氨肽酶 2 (MetAP2)蛋白结合物 fumagillin 作为其弹头,并且在细胞实验中,成功地以 1  $\mu$ M 浓度降解了 MetAP2。类似地,AUTAC2 被设计用于降解 FK506 结合蛋白(FKBP12),FKBP 的非共价合成配体(SLF)已被用于通过 AUTAC 系统以 10  $\mu$ M 浓度降解。AUTAC3 也被设计用于靶向核蛋白 BRD4,但其降解效果不如细胞质蛋白 MetAP2 和 FKBP12。最重要的是,AUTAC4 被设计用于有选择性地降解线粒体。AUTAC4 包含一苯基吡啶基团,可结合到位于外线粒体膜(OMM)上的线粒体转运蛋白(TSPO),并可以有选择性地移除功能失调的线粒体。

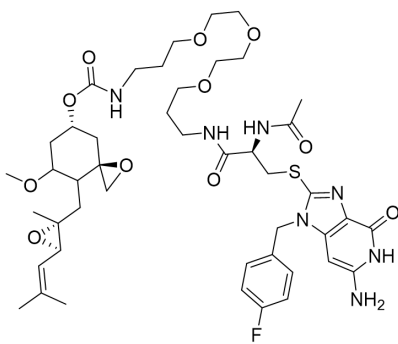
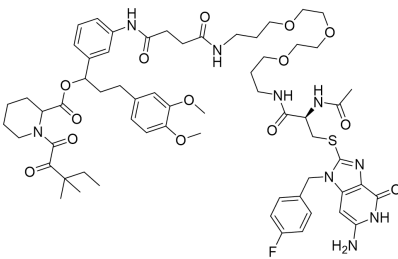
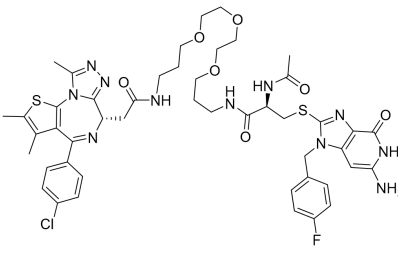
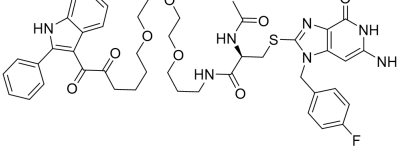
表 1 中四种 AUTAC 分子通过引入不同的靶向蛋白,最终都能对不同目标蛋白产生有效的降解,但

是相比于 AUTAC2 和 AUTAC3, AUTAC1 对靶向蛋白 MetAP2 的降解效果是最好的, 只需要 1  $\mu\text{M}$ 。对比前三种 AUTAC 分子, AUTAC4 则是利用了其结构上的苯基吡啶部分可以于外线粒体膜(OMM)上内源性的线粒体转运蛋白(TSPO)进行非共价结合的特性, 使其对线粒体的降解更有选择性。

总之, AUTAC 分子的一端可以选择性地结合到靶蛋白(POIs), 另一端含有 S-鸟嘌呤基团, 有助于诱导 K63 多泛素化。自噬受体如 p62 识别 K63 多泛素化的蛋白货物, 并将其运送到自噬体以进行后续降解。如表 1 所示。

**Table 1.** Summary of AUTAC molecules

**表 1.** AUTAC 分子汇总

| 化合物名称              | 结构  | 靶向蛋白   | 结合蛋白                 | DC <sub>50</sub> 值                                 |
|--------------------|---|--------|----------------------|--|
| AUTAC1             |    | MetAP2 | P62<br>LC3<br>K63 Ub | 1 $\mu\text{M}$                                    |
| AUTAC2<br>(MTXLSF) |  | FKBP12 | P62<br>LC3<br>K63 Ub | Hela: 10 $\mu\text{M}$<br>MES-SA: 25 $\mu\text{M}$ |
| AUTAC3             |  | BRD4   | P62<br>LC3<br>K63 Ub | -  |
| AUTAC4             |  | TSPO   | P62<br>LC3<br>K63 Ub | -  |

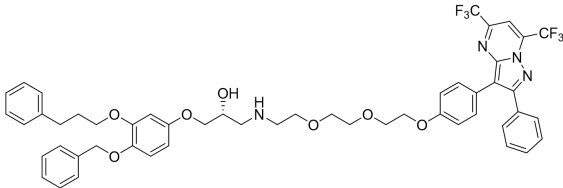
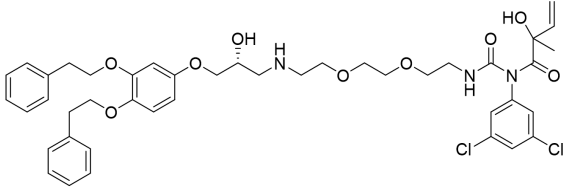
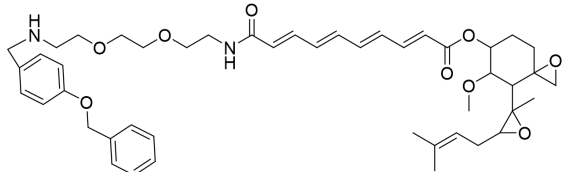
2022 年, 韩国首尔大学 Yong Tae Kwon 团队开发了第二代自噬靶向嵌合体称为 AUTOTACs (AUTophagy-Targeting Chimera) [34], 不同于 AUTAC 分子的泛素依赖降解机制, AUTOTACs 可以直接将受体 p62 绑在靶向降解组分上并诱导选择性自噬降解。AUTOTACs 也是一种双功能分子, 包含一个自噬靶向配体(ATL)以及一个靶向蛋白配体(TBL)。自噬靶向配体(ATL)与 p62 结合遵循 N-末端规则途径, ATL

结合到自噬载体受体 p62-ZZ 结构域上, 使非激活状态的 p62 激活为自噬兼容形式, p62 暴露其 PB1 结构域, 用于与 TBL 结合的蛋白进行自体聚合, 并暴露其 LIR 结构域, 用于与自噬膜上的 LC3 相互作用, 诱导了自噬体的形成和靶蛋白降解。

Yong Tae Kwon 团队的工作中, 选择了雌激素受体  $\beta$  (ER $\beta$ )、雄激素受体(AR)和蛋氨酸氨肽酶-2 (MetAP2)三种作为靶向蛋白, 使用能和它们靶向结合的配体 PHTPP-1304、Vinclozolin M2 和 Fumagillin 作为靶向配体(TBLs)设计了三种 AUTOTACs 分子, 经过测试, 这三种分子都可以实现纳摩尔级别降解其相应的靶向蛋白质。虽然 ATL 和 TBL 也可以对单独对这些靶蛋白进行降解, 但是其效果对比三种 AUTOTACs 分子的降解效率是远远不如的。AUTOTAC 还可以用于自噬清除广泛的细胞内靶向蛋白质。它不仅可以将靶向单体蛋白质, 还可以靶向具有持续功效的聚合寡聚体蛋白质。AUTOTAC 的另一个特点是, 与 PROTAC 不同, 它的效力不严重依赖于连接子长度, 因此能够进行直接的 AUTOTAC 设计。如表 2 所示。

**Table 2.** Summary of AUTOTACs molecules

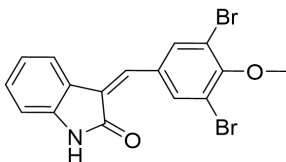
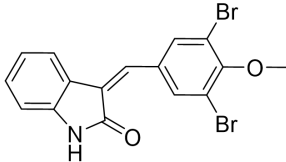
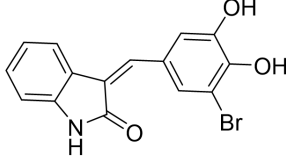
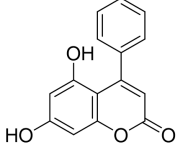
**表 2.** AUTOTACs 分子汇总

| 化合物名称               | 结构   | 靶向蛋白       | 结合蛋白       | DC <sub>50</sub> 值 |
|---------------------|--|------------|------------|--------------------|
| PHTPP-1304          |   | ER $\beta$ | P62<br>LC3 | 1.48 nM            |
| Vinclozolin M2-2204 |  | AR         | P62<br>LC3 | 211.08 nM          |
| Fumagillin-105      |  | MetAP2     | P62<br>LC3 | 0.701 $\mu$ M      |

### 3.2. ATTECs

自噬体系连接化合物(Autophagosome-Tethering Compounds, ATTECs)。2019年, 复旦大学鲁伯坝小组开发了一种名为自噬体拴系化合物(ATTECs)的靶向蛋白质降解的新方法[35]。ATTECs 是一种双功能的嵌合化合物, 将靶标蛋白(POD)连接到特定的蛋白质降解机制(PDM)组分, 例如自噬体膜蛋白 LC3。这些化合物对特定蛋白质具有等位基因选择性。鲁伯坝小组还设计了一个小分子微阵列筛选, 用于筛选与 LC3 和导致亨廷顿疾病的突变亨廷顿蛋白(mHTT)相互作用的化合物, 突变亨廷顿蛋白(mHTT)具有扩展的多谷氨酸(PolyQ)区域[36]。通过微阵列筛选, 该团队鉴定出四种等位基因选择性化合物(10O5、8F20、AN1 和 AN2), 它们只能与 mHTT 相互作用, 而不能与野生型(WT)HTT 相互作用。这些化合物还导致了一些其他含多谷氨酸(PolyQ)结构扩展域蛋白质的降解, 如 ATXN3。一旦 ATTEC 分子通过 LC3 结构域将具有扩展的多谷氨酸(PolyQ)区域的蛋白质连接到自噬体中, 它就会被定向进行后续降解[35]。如表 3 所示。

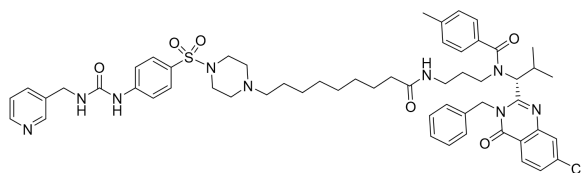
**Table 3.** ATTECs for selective degradation of mHTT**表 3.** 选择性降解 mHTT 的 ATTECs

| 化合物名称 | 结构   | 靶向蛋白 | 结合蛋白 | DC <sub>50</sub> 值 |
|-------|--|------|------|--------------------|
| 10O5  |   | mHTT | LC3  | 7.7 μM             |
| 8F20  |   |      |      | 29.2 nM            |
| AN1   |   |      |      | 9.8 μM             |
| AN2   |  |      |      | 7.0 μM             |

鲁伯坝小组也将他们的 ATTEC 策略应用于降解非蛋白质生物分子, 如脂滴(LDs), 并开发了一类称为 LD-ATTECs 的新分子。鲁伯坝团队将选择性的 LD 检测探针(例如苏丹染料)与 LC3 结合分子相连接。这些分子在细胞中形成三元复合物, 促使 LD 和自噬体的接近, 从而导致自噬降解。在这个机制中, 只有由油酸诱导的成纤维细胞中的 LD 和分化的脂肪细胞中的内源性 LD 被降解, 其他含脂质的膜没有受到影响。该研究为对抗因脂滴积累引发的疾病, 如肥胖、心血管疾病或脂肪肝病, 提供了一种新方法。尽管 ATTEC 技术在许多细胞类型中可能有效, 但 LC3 中的结合位点尚不为人所知[37]。

2021 年, 四川大学欧阳亮和王冠团队也发展了一种以 LC3 为靶点的自噬嵌合分子, 可以通过自噬途径成功降解 BRD4 蛋白质。他们将可逆的 BET 溴域抑制剂 JQ1 和 LC3 结合物 GW5074 连接起来, 成功地降解了 BRD4 蛋白[38]。2022 年, 第二军医大盛春泉团队应用 ATTEC 原理, 用柔性链将 NAMPT 抑制剂和 LC3 结合物 Ispinesib 连接起来, 开发了第一代尼克酸磷酸核糖转移酶(NAMPT)的自噬降解剂 NAMPT-ATTECs, 并证实了 NAMPT 的降解是通过自噬-溶酶体途径发生的[39]。如表 4 所示。

**Table 4.** ATTECs for selective degradation of NAMPT**表 4.** 选择性降解 NAMPT 的 ATTECs

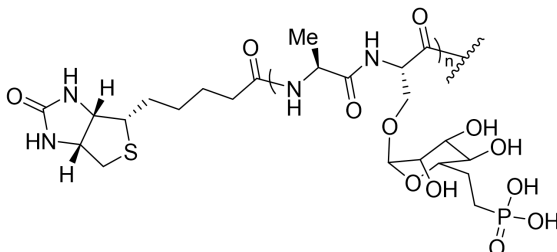
| 化合物名称       | 结构   | 靶向蛋白  | 结合蛋白 | DC <sub>50</sub> 值 |
|-------------|--|-------|------|--------------------|
| Compound A3 |  | NAMPT | LC3  | -                  |

### 3.3. LYTACs 和 MoDE-As

溶酶体靶向嵌合体技术, 称为 LYTACs, 主要由两部分组成, 一部分是与靶点蛋白结合的小分子或者抗体, 另一部分是能与溶酶体靶向受体如无钙依赖的甘露糖 6-磷酸受体(CI-M6PR)或缺乏醛基糖蛋白受体(ASGPR)的结合的聚糖(多肽)配体, 也称为糖标签, LYTACs 可降解胞外分泌蛋白质和与细胞膜相关的蛋白质[40]。该项技术 2020 年由斯坦福大学 Bertozzi 团队开发, 首先 Bertozzi 小组在生物素化的糖多肽配体上连接了荧光标记蛋白 NeutrAvidin-647 (NA-647, 与生物素结合), 确认 LYTACs 体系能够有效地将靶标组分运输到溶酶体中[40]。其次, 他们通过 CRISPR 干扰(CRISPRi)遗传筛选, 发现 LYTACs 降解途径依赖于 CI-M6PR, 内涵体酸化、囊泡运输、内涵体-溶酶体融合等。Bertozzi 小组也证明了带有 poly(M6Pn)的糖多肽偶联到抗体能够快速地将特异性结合的细胞外物质导向溶酶体, 并将该技术进一步应用到载脂蛋白 E4、表皮生长因子受体(EGFR)、CD71 和程序化死亡配体 1 (PD-L1)的降解, 证明了 LYTACs 技术的特异性和普适性[41]。如表 5 所示。

**Table 5.** LYTACs for selective degradation of NA-647

**表 5.** 选择性降解 NA-647 的 LYTACs

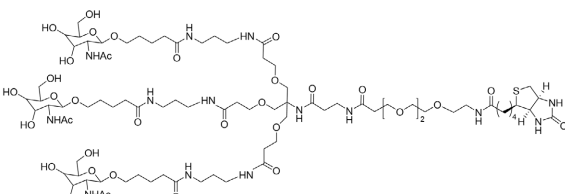
| 化合物名称                     | 结构  | 靶向蛋白   | 结合蛋白    | DC <sub>50</sub> 值 |
|---------------------------|---|--------|---------|--------------------|
| Poly(M6Pn)-biotin (LYTAC) |  | NA-647 | CI-M6PR | -                  |

2021 年, 威斯康星大学麦迪逊分校, Tang 课题组还开发了一种三价 N-乙酰半乳糖(tri-GalNAc)为 ASGPR 配体(tri-GalNAc), 连接到生物素和抗体上, 生成了一类新的 LYTACs, 可以内化和降解整合素和 EGFR [42]。如表 6 所示。

与单独抑制相比, GalNAc-LYTACs 降解 EGFR 并诱导下游激酶信号通路的破坏作用更明显。总而言之, GalNAc-LYTACs 代表了一种受体介导的细胞特异性降解策略, 可应用于与肝脏疾病(如 HCC)相关的不依赖于细胞外显率或载体降解的膜蛋白。

**Table 6.** LYTACs for selective degradation of NA-650

**表 6.** 选择性降解 NA-650 的 LYTACs

| 化合物名称             | 结构   | 靶向蛋白   | 结合蛋白  | DC <sub>50</sub> 值 |
|-------------------|--|--------|-------|--------------------|
| Tri-GalNAc-biotin |  | NA-650 | ASGPR | -                  |

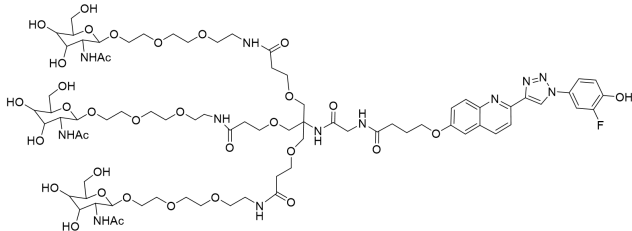
借鉴类似的概念, Spiegel 小组开发了通过无酸性糖蛋白受体(ASGPR)去降解细胞外蛋白的分子去除剂(Molecular Degradors of Extracellular Proteins through the Asialoglycoprotein Receptor (ASGPR), MoDE-As)



[43], 这是以 ASGPR 为靶点的 LYTACs 的小分子版本。MoDE-As 分子可以招募并诱导  $\alpha$ -DNP 抗体和细胞因子 MIF 蛋白的降解。ASGPR 的降解依赖于 ASGPR 通过克拉亨介导的内吞作用 - 溶酶体系统。经过 LYTACs 处理的细胞中, 溶酶体维持稳态稳定性的能力没有受到影响, 这表明这种模式在细胞水平上可能是安全的。LYTACs 的成功是由于针对目标蛋白的内源性蛋白质转运和降解动力学。然而, LYTACs 不能用于靶向降解细胞内蛋白。作为小分子, MoDE-As 可能能够实现比基于抗体的 LYTACs 更深的组织渗透。

与 LYTACs 相比, MoDE-A 化合物具有几个优势: 它们的尺寸相对较小, 单分散且基于非蛋白质。此外, MoDE-A 化合物还能通过将蛋白质引导至肝细胞, 通过肝细胞对内吞蛋白进行降解, 这是 LYTACs 分子所不具有的。此外, 有证据表明, ASGPR 在免疫学上具有耐受性, 这将最大限度地减少对靶蛋白诱导自身免疫反应的可能性。如表 7 所示。

**Table 7.** MoDE-As for selective degradation of MIF  
**表 7.** 选择性降解 MIF 的 MoDE-As

| 化合物名称    | 结构  | 靶向蛋白 | 结合蛋白  | DC <sub>50</sub> 值 |
|----------|---|------|-------|--------------------|
| M-MoDE-A |  | MIF  | ASGPR | -                  |

#### 4. 总结与展望

定向蛋白质降解(TPD)是一种新兴的治疗方法, 对于细胞内蛋白质水平的调控至关重要。异常或致病的蛋白质通常需要被降解以维持细胞健康。尽管 PROTACs 已经被广泛研究, 但 PROTACs 在降解不溶性或复杂的蛋白质聚集体和功能障碍的细胞器和线粒体方面存在局限。

为了解决这些问题, 已经探索了一些新颖的 TPD 方法, 包括 AUTAC、AUTOTAC、ATTEC、和 LYTAC, 它们基于溶酶体介导的降解途径。这些方法能够选择性地识别和运送目标蛋白质和细胞器至溶酶体进行降解, 有望克服泛素 - 蛋白酶体介导降解的局限性。然而, 这些基于溶酶体的 TPD 技术仍然存在一些未解之谜和挑战。例如, AUTAC 如何通过 S-鸟苷化诱导 K63 多泛素化的机制尚不完全清楚, AUTOTAC 激活了自噬货物受体如 p62, 但需要进一步的研究来更好地理解它们的机制, ATTEC 分子与 LC3 的结合机制仍然未知。此外, 与 PROTAC 相比, 基于溶酶体的降解剂往往具有较低的效力, 通常在微摩尔或亚微摩尔范围内。这种差异可能归因于泛素 - 蛋白酶体系统(UPS)和自噬溶酶体系统(ALS)之间的降解动力学差异。

总之, 溶酶体介导的靶向蛋白质降解代表了一种有潜力的 PROTAC 替代技术, 基于溶酶体的降解剂应主要集中在 PROTAC 无法高效降解的目标上, 例如蛋白质的错误折叠、聚集体和功能失调的细胞器。

#### 参考文献

- [1] Ciechanover, A. (2005) Intracellular Protein Degradation: From a Vague Idea, through the Lysosome and the Ubiquitin-Proteasome System, and onto Human Diseases and Drug Targeting (Nobel Lecture). *Angewandte Chemie International Edition*, **44**, 5944-5967. <https://doi.org/10.1002/anie.200501428>
- [2] Dikic, I. (2017) Proteasomal and Autophagic Degradation Systems. *Annual Review of Biochemistry*, **86**, 193-224.

- <https://doi.org/10.1146/annurev-biochem-061516-044908>
- [3] Rousseau, A. and Bertolotti, A. (2018) Regulation of Proteasome Assembly and Activity in Health and Disease. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, **19**, 697-712. <https://doi.org/10.1038/s41580-018-0040-z>
- [4] Varshavsky, A. (2005) Regulated Protein Degradation. *Trends in Biochemical Sciences*, **30**, 283-286. <https://doi.org/10.1016/j.tibs.2005.04.005>
- [5] Lilienbaum, A. (2013) Relationship between the Proteasomal System and Autophagy. *International Journal of Biochemistry and Molecular Biology*, **4**, 1-26.
- [6] Wang, F., Gómez-Sintes, R. and Boya, P. (2018) Lysosomal Membrane Permeabilization and Cell Death. *Traffic*, **19**, 918-931. <https://doi.org/10.1111/tra.12613>
- [7] Li, X., He, S. and Ma, B. (2020) Autophagy and Autophagy-Related Proteins in Cancer. *Molecular Cancer*, **19**, Article No. 12. <https://doi.org/10.1186/s12943-020-1138-4>
- [8] Mizushima, N., Levine, B., Cuervo, A.M. and Klionsky, D.J. (2008) Autophagy Fights Disease through Cellular Self-Digestion. *Nature*, **451**, 1069-1075. <https://doi.org/10.1038/nature06639>
- [9] Kaushik, S. and Cuervo, A.M. (2012) Chaperone-Mediated Autophagy: A Unique Way to Enter the Lysosome World. *Trends in Cell Biology*, **22**, 407-417. <https://doi.org/10.1016/j.tcb.2012.05.006>
- [10] Mizushima, N. and Yoshimori, T. (2007) How to Interpret LC3 Immunoblotting. *Autophagy*, **3**, 542-545. <https://doi.org/10.4161/auto.4600>
- [11] Yorimitsu, T. and Klionsky, D.J. (2005) Autophagy: Molecular Machinery for Self-Eating. *Cell Death & Differentiation*, **12**, 1542-1552. <https://doi.org/10.1038/sj.cdd.4401765>
- [12] Kroemer, G., Mariño, G. and Levine, B. (2010) Autophagy and the Integrated Stress Response. *Molecular Cell*, **40**, 280-293. <https://doi.org/10.1016/j.molcel.2010.09.023>
- [13] Russell, R.C., Tian, Y., Yuan, H., Park, H.W., Chang, Y.Y., Kim, J., Kim, H., Neufeld, T.P., Dillin, A. and Guan, K.L. (2013) ULK1 Induces Autophagy by Phosphorylating Beclin-1 and Activating VPS34 Lipid Kinase. *Nature Cell Biology*, **15**, 741-750. <https://doi.org/10.1038/ncb2757>
- [14] Tanida, I., Ueno, T. and Kominami, E. (2004) LC3 Conjugation System in Mammalian Autophagy. *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology*, **36**, 2503-2518. <https://doi.org/10.1016/j.biocel.2004.05.009>
- [15] Tsuboyama, K., Koyama-Honda, I., Sakamaki, Y., Koike, M., Morishita, H. and Mizushima, N. (2016) The ATG Conjugation Systems Are Important for Degradation of the Inner Autophagosomal Membrane. *Science*, **354**, 1036-1041. <https://doi.org/10.1126/science.aaf6136>
- [16] Faruk, M.O., Ichimura, Y. and Komatsu, M. (2021) Selective Autophagy. *Cancer Science*, **112**, 3972-3978. <https://doi.org/10.1111/cas.15112>
- [17] Zaffagnini, G. and Martens, S. (2016) Mechanisms of Selective Autophagy. *Journal of Molecular Biology*, **428**, 1714-1724. <https://doi.org/10.1016/j.jmb.2016.02.004>
- [18] Lamark, T. and Johansen, T. (2012) Aggrephagy: Selective Disposal of Protein Aggregates by Macroautophagy. *International Journal of Cell Biology*, **2012**, Article ID: 736905. <https://doi.org/10.1155/2012/736905>
- [19] Lemasters, J.J. (2005) Selective Mitochondrial Autophagy, or Mitophagy, as a Targeted Defense against Oxidative Stress, Mitochondrial Dysfunction, and Aging. *Rejuvenation Research*, **8**, 3-5. <https://doi.org/10.1089/rej.2005.8.3>
- [20] Bauckman, K.A., Owusu-Boaitey, N. and Mysorekar, I.U. (2015) Selective Autophagy: Xenophagy. *Methods*, **75**, 120-127. <https://doi.org/10.1016/j.ymeth.2014.12.005>
- [21] Wyant, G.A., Abu-Remaileh, M., Frenkel, E.M., Laqtom, N.N., Dharamdasani, V., Lewis, C.A., Chan, S.H., Heinze, I., Ori, A. and Sabatini, D.M. (2018) NUFIP1 Is a Ribosome Receptor for Starvation-Induced Ribophagy. *Science*, **360**, 751-758. <https://doi.org/10.1126/science.aar2663>
- [22] Cebollero, E., Reggiori, F. and Kraft, C. (2012) Reticulophagy and Ribophagy: Regulated Degradation of Protein Production Factories. *International Journal of Cell Biology*, **2012**, Article ID: 182834. <https://doi.org/10.1155/2012/182834>
- [23] Wilson, C.J., Myer, V.E., Porter, J.A., Bussiere, D.E., Finan, P.M., Labow, M.A., Mao, X., Hamann, L.G., Manning, B.D., Valdez, R.A., Nicholson, T., Schirle, M., Knapp, M.S., Keaney, E.P. and Murphy, L.O. (2014) Selective VPS34 Inhibitor Blocks Autophagy and Uncovers a Role for NCOA4 in Ferritin Degradation and Iron Homeostasis *in Vivo*. *Nature Cell Biology*, **16**, 1069-1079. <https://doi.org/10.1038/ncb3053>
- [24] Johansen, T. and Lamark, T. (2020) Selective Autophagy: ATG8 Family Proteins, LIR Motifs and Cargo Receptors. *Journal of Molecular Biology*, **432**, 80-103. <https://doi.org/10.1016/j.jmb.2019.07.016>
- [25] Ma, X., Lu, C., Chen, Y., Li, S., Ma, N. and Tao, X. (2022) CCT2 Is an Aggrephagy Receptor for Clearance of Solid Protein Aggregates. *Cell*, **185**, 1325-1345.E22. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2022.03.005>

- [26] Mancias, J.D., Wang, X., Gygi, S.P., Harper, J.W. and Kimmelman, A.C. (2014) Quantitative Proteomics Identifies NCOA4 as the Cargo Receptor Mediating Ferritinophagy. *Nature*, **509**, 105-109. <https://doi.org/10.1038/nature13148>
- [27] Kumsta, C., Chang, J.T., Lee, R., Tan, E.P., Yang, Y., Loureiro, R., Choy, E.H., Lim, S.H.Y., Saez, I., Springhorn, A., Hoppe, T., Vilchez, D. and Hansen, M. (2019) The Autophagy Receptor P62/SQST-1 Promotes Proteostasis and Longevity in *C. elegans* by Inducing Autophagy. *Nature Communications*, **10**, Article No. 5648. <https://doi.org/10.1038/s41467-019-13540-4>
- [28] Zhang, Y., Mun, S.R., Linares, J.F., Ahn, J., Towers, C.G., Ji, C.H., Fitzwalter, B.E., Holden, M.R., Mi, W., Shi, X., Moscat, J., Thorburn, A., Diaz-Meco, M.T., Kwon, Y.T. and Kutateladze, T.G. (2018) ZZ-Dependent Regulation of P62/SQSTM1 in Autophagy. *Nature Communications*, **9**, Article No. 4373. <https://doi.org/10.1038/s41467-018-06878-8>
- [29] Ito, C., Saito, Y., Nozawa, T., Fujii, S., Sawa, T., Inoue, H., Matsunaga, T., Khan, S., Akashi, S., Hashimoto, R., Aikawa, C., Takahashi, E., Sagara, H., Komatsu, M., Tanaka, K., Akaike, T., Nakagawa, I. and Arimoto, H. (2013) Endogenous Nitrated Nucleotide Is a Key Mediator of Autophagy and Innate Defense against Bacteria. *Molecular Cell*, **52**, 794-804. <https://doi.org/10.1016/j.molcel.2013.10.024>
- [30] Takahashi, D. and Arimoto, H. (2020) Targeting Selective Autophagy by AUTAC Degraders. *Autophagy*, **16**, 765-766. <https://doi.org/10.1080/15548627.2020.1718362>
- [31] Takahashi, D. and Arimoto, H. (2021) Selective Autophagy as the Basis of Autophagy-Based Degraders. *Cell Chemical Biology*, **28**, 1061-1071. <https://doi.org/10.1016/j.chembiol.2021.05.006>
- [32] Takahashi, D., Moriyama, J., Nakamura, T., Miki, E., Takahashi, E., Sato, A., Akaike, T., Itto-Nakama, K. and Arimoto, H. (2019) AUTACs: Cargo-Specific Degraders Using Selective Autophagy. *Molecular Cell*, **76**, 797-810.E10. <https://doi.org/10.1016/j.molcel.2019.09.009>
- [33] Klionsky, D.J., Abdelmohsen, K., Abe, A. and Abedin, M.J. (2016) Guidelines for the Use and Interpretation of Assays for Monitoring Autophagy (3rd Edition). *Autophagy*, **12**, 1-222. <https://doi.org/10.1080/15548627.2015.1100356>
- [34] Ji, C.H., Kim, H. ., Lee, M.J., Heo, A.J., Park, D.Y., Lim, S., Shin, S., Ganipiseti, S., Yang, W.S., Jung, C.A., Kim, K.Y., Jeong, E.H., Park, S.H., Bin Kim, S., Lee, S.J., Na, J.E., Kang, J.I., Chi, H.M., Kim, H.T., Kim, Y.K., Kim, B.Y. and Kwon, Y.T. (2022) The AUTOTAC Chemical Biology Platform for Targeted Protein Degradation via the Autophagy-Lysosome System. *Nature Communications*, **13**, Article No. 904. <https://doi.org/10.1038/s41467-022-28520-4>
- [35] Li, Z., Wang, C., Wang, Z., Zhu, C., Li, J., Sha, T., Ma, L., Gao, C., Yang, Y., Sun, Y., Wang, J., Sun, X., Lu, C., DiFiglia, M., Mei, Y., Ding, C., Luo, S., Dang, Y., Ding, Y., Fei, Y. and Lu, B. (2019) Allele-Selective Lowering of Mutant HTT Protein by HTT-LC3 Linker Compounds. *Nature*, **575**, 203-209. <https://doi.org/10.1038/s41586-019-1722-1>
- [36] Ding, Y., Fei, Y. and Lu, B. (2020) Emerging New Concepts of Degradation Technologies. *Trends in Pharmacological Sciences*, **41**, 464-474. <https://doi.org/10.1016/j.tips.2020.04.005>
- [37] Fu, Y., Chen, N., Wang, Z., Luo, S., Ding, Y. and Lu, B. (2021) Degradation of Lipid Droplets by Chimeric Autophagy-Tethering Compounds. *Cell Research*, **31**, 965-979. <https://doi.org/10.1038/s41422-021-00532-7>
- [38] Pei, J., Pan, X., Wang, A., Shuai, W., Bu, F., Tang, P., Zhang, S., Zhang, Y., Wang, G. and Ouyang, L. (2021) Developing Potent LC3-Targeting AUTAC Tools for Protein Degradation with Selective Autophagy. *Chemical Communications*, **57**, 13194-13197 <https://doi.org/10.1039/D1CC04661F>
- [39] Dong, G., Wu, Y., Cheng, J., Chen, L., Liu, R., Ding, Y., Wu, S., Ma, J. and Sheng, C. (2022) Ispinesib as an Effective Warhead for the Design of Autophagosome-Tethering Chimeras: Discovery of Potent Degraders of Nicotinamide Phosphoribosyltransferase (NAMPT). *Journal of Medicinal Chemistry*, **65**, 7619-7628. <https://doi.org/10.1021/acs.jmedchem.1c02001>
- [40] Banik, S.M., Pedram, K., Wisnovsky, S., Ahn, G., Riley, N.M. and Bertozzi, C.R. (2020) Lysosome-Targeting Chimaeras for Degradation of Extracellular Proteins. *Nature*, **584**, 291-297. <https://doi.org/10.1038/s41586-020-2545-9>
- [41] Ahn, G., Banik, S.M., Miller, C.L., Riley, N.M., Cochran, J.R. and Bertozzi, C.R. (2021) LYTACs That Engage the Asialoglycoprotein Receptor for Targeted Protein Degradation. *Nature Chemical Biology*, **17**, 937-946. <https://doi.org/10.1038/s41589-021-00770-1>
- [42] Zhou, Y., Teng, P., Montgomery, N.T., Li, X. and Tang, W. (2021) Development of Triantennary N-Acetylgalactosamine Conjugates as Degradation for Extracellular Proteins. *ACS Central Science*, **7**, 499-506. <https://doi.org/10.1021/acscentsci.1c00146>
- [43] Caianiello, D.F., Zhang, M., Ray, J.D., Howell, R.A., Swartzel, J.C., Branham, E.M.J., Chirkin, E., Sabbasani, V.R., Gong, A.Z., McDonald, D.M., Muthusamy, V. and Spiegel, D.A. (2021) Bifunctional Small Molecules That Mediate the Degradation of Extracellular Proteins. *Nature Chemical Biology*, **17**, 947-953. <https://doi.org/10.1038/s41589-021-00851-1>