



蛋白质棕榈酰化异常在神经退行性疾病中的致病机制及潜在治疗靶点*

刘文颖¹⁾ 王舒衡¹⁾ 贾建平^{1,2,3,4,5)**}

¹⁾ 首都医科大学宣武医院神经疾病高创中心, 国家老年疾病临床医学研究中心, 北京 100053;

²⁾ 老年认知障碍疾病北京市重点实验室, 北京 100053; ³⁾ 首都医科大学神经变性病与记忆障碍疾病临床诊疗与研究中心, 北京 100053;

⁴⁾ 北京脑重大疾病研究院阿尔茨海默病研究所, 北京 100053; ⁵⁾ 教育部神经变性病重点实验室, 北京 100053)

摘要 蛋白质棕榈酰化 (palmitoylation) 是一种常见的 S-酰化修饰, 通过将蛋白质锚定在细胞膜上, 动态且可逆地调节其在膜上的分布, 这对于神经系统的正常功能至关重要。越来越多的证据表明, 特定的 ZDHHC (zinc finger Asp-His-His-Cys motif-containing) 蛋白酰基转移酶 (以下简称 ZDHHC 酶) 在神经元发育和可塑性中发挥关键作用, 而棕榈酰化失调则是多种神经系统疾病的潜在病因。本文综述了 ZDHHC 酶在神经系统中不同脑区和细胞类型的表达及功能差异, 探讨了蛋白质棕榈酰化的调控机制及其在神经退行性病变中的新兴作用。研究表明, ZDHHC 酶在蛋白质序列上存在显著差异, 并且其在神经系统中的表达具有区域特异性和细胞类型依赖性。这种异质性可能是调节神经元功能和突触传递的关键机制之一。多种神经退行性疾病中的关键病理蛋白 (如淀粉样蛋白和亨廷顿蛋白) 及其相关蛋白 (如淀粉样前体蛋白和 β 位点切割酶 1) 都可以被棕榈酰化。异常的棕榈酰化可能通过影响这些蛋白质的稳态, 加速神经退行性病变的进程。因此, 通过调节这些病理蛋白的棕榈酰化状态, 可能抑制其异常聚集及随之而来的神经毒性反应, 进而为治疗神经退行性疾病提供新的潜在靶点。然而, 当前的棕榈酰化检测技术仍存在一些限制, 特别是在量化方面尚未有简便的方法。现有的棕榈酰化检测方法主要基于棕榈酸和半胱氨酸的标记和分析, 但这些方法通常复杂且成本较高。此外, 不同的检测方法可能会导致棕榈酰蛋白质的结果存在差异, 这进一步增加了研究的挑战性。深入理解棕榈酰化在神经系统疾病中的作用机制, 并开发更有效的检测技术, 对于揭示其致病机制和开发新的治疗策略至关重要。

关键词 棕榈酰化, 阿尔茨海默病, 棕榈酰基转移酶, 酰基生物素交换

中图分类号 R741

DOI: 10.16476/j.pibb.2024.0261

蛋白质棕榈酰化 (palmitoylation) 是真核细胞中最普遍的一种蛋白质 S-酰化形式, 在神经系统中广泛发生^[1-2]。这一过程涉及将棕榈酸可逆性地连接到底物蛋白的半胱氨酸 (cysteine, Cys) 残基, 值得注意的是, 这种可逆性使得蛋白质能够在细胞内不同的隔室之间穿梭, 或者响应生理变化而重新定位^[1, 3]。棕榈酸的快速周转可以影响局部的、动态的细胞活动, 例如在神经元活动中的蛋白质运输, 而较慢的周转率与蛋白质在细胞膜上的长期定位有关^[1, 4-5]。棕榈酰化主要由一系列含有保守的天冬氨酸-组氨酸-组氨酸-半胱氨酸 (aspartate-histidine-histidine-cysteine, DHHC) 基序的多通道跨膜蛋白促进, 这一基序对于它们作为棕榈酰基转

移酶 (palmitoyltransferase, PAT) 功能至关重要^[6-7]。这个 DHHC 催化基序位于一个富含半胱氨酸的锌指状结构域内, 因此形成了“ZDHHC”命名法^[8]。人类基因组编码 23 种含锌指和 DHHC 基序的酶 (ZDHHC 酶), 而小鼠基因组则编码 24 种 ZDHHC 酶^[9]。去棕榈酰化与棕榈酰蛋白硫酯酶 (palmitoyl-protein thioesterases, PPTs) 密切相关,

* 国家自然科学基金 (U20A20354, 31627803, 81530036), 北京市科学技术委员会 (Z201100005520016, Z201100005520017), 科技创新2030重大项目 (2021ZD0201802) 和首都医学科学创新中心 (CX23YZ15) 资助。

** 通讯联系人。

Tel: 010-83199449, E-mail: jiajp@vip.126.com

收稿日期: 2024-06-20, 接受日期: 2024-08-24

这些酶具有 α/β 水解酶结构域 (α/β -hydrolase domains, ABHD), 包括棕榈酰蛋白硫酯酶 1 (palmitoyl protein thioesterase 1, PPT1)、酰基蛋白硫酯酶 1 (acyl-protein thioesterases 1, APT1) 和酰基蛋白硫酯酶 2 (acyl-protein thioesterases 2, APT2) [10]。

棕榈酰化在调节神经元蛋白运输和细胞内信号转导的多个方面发挥作用 [11-13]。大约 45% 的突触蛋白是棕榈酰化的底物, 包括多种黏附分子、骨架蛋白、突触囊泡释放相关蛋白、信号分子、神经递质受体和激酶等 [14]。一方面, 它促进胞浆周围蛋白质与膜的附着 (membrane attachment)。例如, ZDHHC3 可以棕榈酰化 α -氨基-3-羟基-5-甲基-4-异唑受体 (α -amino-3-hydroxy-5-methyl-4-isoxazole-propionic acid receptor, AMPARs) 的亚单位, 主要是 GluA1 和 GluA2 两个亚基, 进而调节 AMPARs 的表面表达 [15-16]。突触后致密区 95 (postsynaptic density-95, PSD-95), 作为一种骨架蛋白, 可被多种 ZDHHC 棕榈酰化, 同时也能被 ABDH17A 去棕榈酰化, 影响突触后膜受体的招募 [17-18]。最近研究显示, ZDHHC8 能够棕榈酰化 PICK1, 可能增强 GluA2 的运输并促进其在膜微区的靶向定位 (membrane microdomains) [19]。ZDHHC7 和 ZDHHC21 蛋白作为 PATs 通过介导雌激素受体 (estrogen receptor, ER)、孕激素受体 (progesterone receptor, PR) 和雄激素受体 (androgen receptor, AR) 的棕榈酰化, 影响其膜定位, 进而使这些受体能够迅速发挥信号作用 [20]。另一方面, 棕榈酰化还显著影响着跨膜蛋白, 调节其在细胞内各个隔室之间的穿梭和精确的微区分配 (如脂筏), 或者改变其构象以调节其活性和与其他蛋白质的相互作用, 确保蛋白质在正确的细胞位置发挥功能 [21]。棕榈酰化的适应性和可控性特征使其成为倍受关注的生物机制, 特别是在神经元中 [22]。值得关注的是, 棕榈酰化异常与神经退行性疾病关联紧密, 二者之间的联系主要存在于棕榈酰化介导的关键疾病相关蛋白质的运输和稳态中 [23-29]。在帕金森病 (Parkinson's disease, PD) 以及亨廷顿病 (Huntington disease, HD) 患者的大脑皮层中已经发现了广泛的蛋白质棕榈酰化变化 [26]。我们前期在一个家族性阿尔茨海默病 (family Alzheimer's disease, FAD) 家系中的研究发现了 ZDHHC21 的 T209S 点突变引起淀粉样前体蛋白 (amyloid precursor protein, APP) 以及酪氨

酸激酶 Fyn (tyrosine-protein kinase Fyn, Fyn) 棕榈酰化增强进而促进 A β 沉积以及突触功能障碍 [27]。这些发现支持了棕榈酰化异常与神经退行性疾病之间可能存在直接因果联系的假设以及其作为治疗靶点的潜在可能。

然而, 目前蛋白质棕榈酰化检测技术仍然存在一定局限性, 主要分为两类: 以棕榈酸为中心 (palmitate-centric) 的方法和以半胱氨酸为中心 (cysteine-centric) 的方法 [30-32]。以棕榈酸为中心的方法包括利用放射性标记的棕榈酸代谢物、棕榈酸类似物代谢物, 或基于叠氮基或炔基化合物的方法, 将其标记或转化为可点击脂质, 然后通过凝胶电泳 (用于放射性标记) 或点击化学后的富集 (用于可点击脂质) 进行分析。而以半胱氨酸为中心的方法则主要采用酰基生物素交换 (acyl-biotin exchange, ABE) 技术, 通过将棕榈酰化位点的脂肪酸基团替换为更易检测的生物素或其他标记。在二者的基础上结合质谱 (mass spectrum, MS), 这些方法使得发现大量新的棕榈酰化蛋白成为可能, 有助于描绘不同条件下细胞或组织的棕榈酰化景观。然而, 不同方法识别出的棕榈酰化蛋白之间往往存在差异, 这也反映了当前技术的局限性。

本文系统总结了 ZDHHC 酶在神经系统中不同脑区和细胞类型的表达及功能差异, 阐述了其异质性在调节神经元功能和突触传递的作用机制。同时, 本文深入探讨了蛋白质棕榈酰化在神经系统中的调控机制, 及其在神经退行性病变中的新兴作用, 特别强调了其作为潜在治疗靶点的前景。此外, 本文还介绍了几种常用的棕榈酰化检测技术, 并分析了这些技术所面临的挑战, 旨在推动开发更安全、更有效的干预策略。

1 棕榈酰化机制在神经系统研究现状

目前广泛用于研究棕榈酰化的模型主要包括酵母、果蝇和小鼠 3 种。酵母是首个用于识别棕榈酰化底物的模型系统, 目前主要应用于 S-棕榈酰化蛋白质组的高通量筛选 [33-35] 以及棕榈酰化抑制剂的开发 [36]。Qiu 等 [37] 利用酵母模型开发了用于检测 ZDHHC 体外活性的棕榈酰转移酶探针 (palmitoyl transferase probes, PTPs), 能够提供直接、敏感和简单的酶活性读数。相比于酵母模型, 果蝇和小鼠模型能够进一步反应生物体内的变化, 为神经系统中棕榈酰化酶的作用提供了宝贵的见解。果蝇 (*Drosophila melanogaster*) 模型中允许在生物体水

平上进行复杂的遗传操作和分子分析，并可以结合各种行为测验^[38]。PATs在果蝇神经系统中广泛表达，目前已有22个PATs及其表达谱被报道。在果蝇衍生的S2R+细胞中进行的S-棕榈酰化蛋白质组学研究发现，大约3.5%的基因表达产物是棕榈酰化蛋白^[39]，提示棕榈酰化在神经系统及广泛生理过程中发挥重要作用。此外，Bamji团队^[40]通过RNA-seq测序构建了BrainPalmSeq (<http://brainpalmseq.med.ubc.ca/>)，揭示了小鼠神经系统中ZDHHC酶及其底物在特定细胞类型和脑区中的表达模式，以及这些模式与去棕榈酰化酶和其他大脑表达基因之间的相关性。这一发现尤为重要，因为ZDHHC酶在细胞中具有多样的亚细胞定位，包括高尔基体、内质网、内体和质膜^[14, 40]。对不同亚细胞隔室中的PATs和PPTs进行转录调控，可能是理解S-棕榈酰化蛋白底物的亚细胞定位和功能的关键途径。

1.1 ZDHHC的脑区分布特点与功能

人类基因组编码23种ZDHHC酶，而小鼠基因组则编码24种。ZDHHC酶含有1个典型的天冬氨酸-组氨酸-组氨酸-半胱氨酸(Asp-His-His-Cys, DHHC)四肽基序(tetrapeptide motif)，该基序位于由51个氨基酸残基组成的富含半胱氨酸的域(cysteine-rich domain, CRD)中，即DHHC-CRD^[41](表1)。在DHHC-CRD之外，另外3个保守的序列基序包括：天冬氨酸-脯氨酸-甘氨酸(Asp-Pro-Gly, DPG)基序、苏氨酸-苏氨酸-Xxx-谷氨酸(Thr-Thr-Xxx-Glu, TTxE)基序和棕榈酰转移酶保守的C端(palmitoyltransferase conserved C-terminal, PaCCT)基序。这3个基序都位于膜的胞质面，其中DPG基序紧接在DHHC-CRD之前，而TTxE和PaCCT基序位于DHHC-CRD的C端。ZDHHC酶均为整合膜蛋白，至少包含4个跨膜结构域(transmembrane domain, TMD)。DHHC-CRD位于第2和第3个TMD之间^[42]。值得注意的是，这种组织形式存在变异，其中ZDHHC4和ZDHHC24预测有5个TMD，ZDHHC13、ZDHHC17和ZDHHC23预测包含6个TMDs^[42]。对于ZDHHC4，3个TMD位于胞质面DHHC-CRD之前，而在ZDHHC24中，额外的TMD位于C端结构域(C-terminal domain, CTD)附近^[43-44]。除了DHHC-CRD和保守基序外，ZDHHC酶在蛋白质序列上表现出显著的差异。全长序列的系统发生分析将人类ZDHHC蛋白分成几

个亚家族。蛋白质的大小范围从ZDHHC22的263个氨基酸到ZDHHC8的768个氨基酸。酶-蛋白质底物相互作用被认为涉及DHHC-CRD之外的残基。已知的蛋白质-蛋白质相互作用特征包括ZDHHC6的Src同源域3(Src homology 3, SH3)和ZDHHC13及ZDHHC17的Akr(ankyrin repeat domain)域。ZDHHC5、ZDHHC8和ZDHHC14的PDZ结合基序中的残基被发现对底物招募起作用^[45-47]。通过序列分析，PDZ结合基序在ZDHHC3、ZDHHC7、ZDHHC16、ZDHHC17、ZDHHC20和ZDHHC21中预测具有类似功能^[48]。

基于BrainPalmSeq (<https://brainpalmseq.med.ubc.ca/>)整合的多项RNA-seq数据，研究者们发现，ZDHHC基因不仅在神经系统中广泛表达，而且其分布具有区域特异性，并在不同的metacell类型和簇之间高度变异^[40](表1)。ZDHHC1在嗅球高表达，细胞内定位主要位于内质网(endoplasmic reticulum, ER)和初级内体(early endosome, EE)^[40]。ZDHHC4在神经系统中广泛表达，脑区分布无显著差异。ZDHHC11、ZDHHC12、ZDHHC16和ZDHHC19也定位于内质网。目前，这5种酶在神经系统中的研究较少。值得注意的是，近期研究发现，ZDHHC4、ZDHHC9、ZDHHC12、ZDHHC15和ZDHHC23在胶质瘤中的表达与正常脑组织相比存在异常，其在胶质瘤中的表达模式和潜在的生物学功能尚未得到充分的探讨^[49]。ZDHHC2和ZDHHC5均在视网膜中高表达，前者定位于海马树突、质膜和内质网-高尔基体，而后者定位于质膜和树突轴(dendritic shafts)中的内体。值得注意的是，体内外研究均表明，ZDHHC5调节兴奋性突触的形成和/或维持，而不影响抑制性突触^[50]。ZDHHC3，也称为高尔基体特异性DHHC锌指蛋白(GODZ)，已被证明能够棕榈酰化AMPA、N-甲基-D-天冬氨酸受体(N-methyl-D-aspartic acid receptor, NMDAR)和 γ 氨基丁酸亚型A受体(type-A γ -aminobutyric acid receptor, GABAAR)，从而控制它们在突触的运输。ZDHHC3在下丘脑、海马和基底节中高表达。此外，ZDHHC3还可以棕榈酰化一些参与控制神经元形态发生的蛋白质，如 $\alpha 6$ 整合素亚基($\alpha 6$ integrin subunit)、Gas和Gaq蛋白，以及微管解聚蛋白(stathmins)^[51]。ZDHHC6是唯一具有SH3结构域的蛋白质，也是第一个被报道能够发生PAT级联反应的蛋白质，能够被ZDHHC16棕榈酰化^[52]。

在稳态下, 未被棕榈酰化的 ZDHHC6 是细胞系中的主要形式, 其细胞内定位主要在高尔基体, 并在视网膜、海马及下丘脑中均有表达^[52]。ZDHHC7 与 ZDHHC21 互为同源物, 均具有 PDZ 结合域 (type II), 并在海马、下丘脑、基底节、嗅球和胼胝体中高表达。两者在细胞内主要定位于高尔基体, ZDHHC21 还定位于质膜。它们能够棕榈酰化性激素受体, 这种快速的信号转导进一步影响神经解剖结构、突触传递和可塑性、细胞内信号级联反应以及下游基因表达^[53]。ZDHHC8 也具有 PDZ 域 (type II), 主要表达与杏仁体、海马和皮层, 定位于成熟神经元的核周区域和树突轴中, 在这些位置与 PSD-95 部分共定位^[46]。ZDHHC13 (HIP14L) 和 ZDHHC17 (HIP14) 属于同一进化树, 二者均具有 Akr 域, 并且都与亨廷顿蛋白 (Huntingtin, HTT) 有紧密关联。尽管它们在脑区的基因表达相似, 但 ZDHHC17 在垂体中的表达水平较低, 而 ZDHHC13 在胼胝体中的表达量相对较少。在细胞内定位方面, ZDHHC13 主要分布于内质网, 而 ZDHHC17 则主要存在于细胞内囊泡、突触前末端和高尔基体^[54]。ZDHHC14 在海马区域高表达^[55], 甚至可能是该脑区表达最高的 PAT^[56]。ZDHHC14 也是人类不耐受功能基因突变丧失的 4 个 PAT 之一, 这可能与 ZDHHC14 独特的预测 PDZ 结合域 (type I) 有关^[57]。RNA-seq 结果提示, ZDHHC14 在杏仁体、基底节以及小脑高表达^[40, 58]。ZDHHC9 和 ZDHHC15 也与兴奋性和抑制性突触的形成密切相关。ZDHHC9 在胼胝体中高表达, 而 ZDHHC15 在胚胎阶段高表达, 成年大脑中表达减少, 但在下丘脑中仍高表达。二者在海马中也有表达。ZDHHC9 功能缺失会导致兴奋性与抑制性突

触比例增加, 表现出自发的高频峰活动; ZDHHC9 功能缺失会导致兴奋性与抑制性突触比例增加, 并表现出自发的高频峰活动; 在 ZDHHC9 基因敲除小鼠的急性脑切片中, CA1 海马神经元显示自发和微型兴奋性及抑制性突触后电流的频率和幅度增加^[59]。敲低海马培养物中的 ZDHHC15 可减少树突和脊柱的成熟。同时, ZDHHC15 敲低会显著降低兴奋性突触的密度, 这可能是由于 PSD-95 棕榈酰化及其转运到树突的减少所致^[60]。

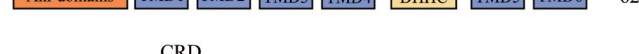
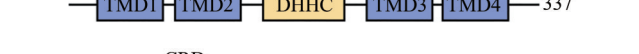
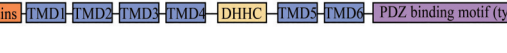
在小鼠神经系统中, ZDHHC 酶在外周神经系统 (peripheral nervous systems, PNS) 的神经元和中枢神经系统 (central nervous system, CNS) 的胆碱能/单胺能神经元和后脑 (hindbrain) 神经元中表达较高。在皮层神经元中, ZDHHC2、ZDHHC9、ZDHHC17 和 ZDHHC22 表达较高。Brigidi 等^[61]报道, 在海马神经元培养中, ZDHHC5 存在于 80% 的兴奋性突触和 47% 的抑制性突触中。同样, ZDHHC9 和 ZDHHC15 也在兴奋性和抑制性突触标记物的颗粒中表达^[59-60]。在非神经元的 metacell 簇中, 少突胶质细胞中 ZDHHC9 和 ZDHHC20 表达最高^[62]。而在星形胶质细胞中, 则以 ZDHHC4、ZDHHC17 和 ZDHHC24 的表达为主^[40]。在小胶质细胞中, ZDHHC9 的表达最高。ZDHHC20 是所有细胞类型簇中表达最丰富的 ZDHHC 酶, 其次是 ZDHHC2、ZDHHC17、ZDHHC3 和 ZDHHC21, 而 ZDHHC11、ZDHHC19 和 ZDHHC25 在神经细胞中表达较低^[40]。未来研究需要深入探讨这些特定 ZDHHC 表达模式与神经元亚型中的动态棕榈酰化循环之间的关系, 以及某些 ZDHHC 的高表达如何影响神经元功能。

Table 1 The structure and regional distribution of ZDHHC enzymes in the brain

表1 ZDHHC酶结构及脑区分布

ZDHHC酶	结构域和基序	细胞内定位	脑区分布
ZDHHC1		内质网, 初级内体 ^[63]	嗅球、小脑、广泛皮层、杏仁体等 ^[40]
ZDHHC2		内质网, 质膜, 树突 ^[64]	视网膜、下丘脑等 ^[40]
ZDHHC3		高尔基体 ^[63, 65]	下丘脑、海马、基底节、广泛皮层等 ^[40]
ZDHHC4		内质网, 高尔基体 ^[63]	胼胝体、下丘脑、海马、基底节、丘脑、杏仁体等 ^[40]

续表1

ZDHHC酶	结构域和基序	细胞内定位	脑区分布
ZDHHC5		质膜，树突轴内体 ^[45, 63]	视网膜 ^[40]
ZDHHC6		内质网 ^[63]	视网膜、海马、丘脑、中脑等 ^[40]
ZDHHC7		高尔基体 ^[63]	海马、下丘脑、基底节、胼胝体、嗅球、广泛皮层等 ^[40]
ZDHHC8		核周区域，树突轴 ^[45, 66]	广泛皮层、杏仁体、海马等 ^[40, 67]
ZDHHC9		内质网，高尔基体 ^[68]	胼胝体 ^[40, 69]
ZDHHC11		内质网，质膜 ^[70]	尚不明确
ZDHHC12		内质网，高尔基体 ^[63]	胼胝体、视网膜等 ^[40]
ZDHHC13		内质网 ^[63]	嗅球、海马、下丘脑、基底节、小脑、广泛皮层等 ^[40]
ZDHHC14		内质网 ^[63]	海马、杏仁体、基底节、小脑等 ^[40, 56]
ZDHHC15		高尔基体 ^[63]	下丘脑、海马等 ^[40]
ZDHHC16		内质网 ^[63]	视网膜、小脑等 ^[40]
ZDHHC17		高尔基体，胞间囊泡，突触前末梢 ^[63, 71]	中脑、嗅球、海马、下丘脑、基底节、小脑、广泛皮层等 ^[40]
ZDHHC18		高尔基体 ^[63]	嗅球、基底节、杏仁体等 ^[40]
ZDHHC19		内质网 ^[63]	尚不明确
ZDHHC20		质膜 ^[63]	脑桥及延髓、中脑、下丘脑等 ^[40]
ZDHHC21		质膜，高尔基体 ^[63, 72]	下丘脑、嗅球、海马、广泛皮层、小脑等 ^[40]
ZDHHC22		尚不明确	丘脑、海马、广泛皮层、下丘脑等 ^[40]
ZDHHC23		内质网，质膜 ^[70]	海马 ^[40]
ZDHHC24		内质网 ^[63]	小脑、杏仁体、海马、脑桥及延髓等 ^[40]

1.2 ZDHHC与神经元及突触蛋白

目前，几乎一半的已知突触蛋白是棕榈酰化底物，这提示棕榈酰化可能是调节神经元发展的关键

过程，而ZDHHC的异质性很可能是调节神经元功能和突触传递的关键机制之一^[73]。SNAP-25是最早被报道的棕榈酰化底物之一，其4个半胱氨酸残

基 (Cys85、Cys88、Cys90、Cys92) 均能被棕榈酰化^[74-75], 突变后其膜结合能力几乎完全消失^[76]。部分突触蛋白可以是多个PATs的底物。PSD-95在两个半胱氨酸残基 (Cys3 和 Cys5) 上被棕榈酰化^[77] 影响其在突触后致密区 (postsynaptic density, PSD) 上的聚集和膜支架功能, 进而调节NMDAR、AMPA等受体的稳定性^[78]。PSD-95的棕榈酰化主要由海马神经元中的ZDHHC2和ZDHHC3介导, 不同的ZDHHC对突触蛋白的影响也不同。它们在海马神经元中发挥不同的作用: 当突触活性被阻断时, PSD95的棕榈酰化将促进AMPA的突触聚集, 这一过程由树突ZDHHC2介导, 而非位于高尔基体的ZDHHC3^[17]。AMPA和NMDAR的亚基也受棕榈酰化调控, 影响它们的表面表达和定位。AMPA的GluA1和GluA2在Cys811和Cys836处的棕榈酰化会导致其在高尔基体中的积累并抑制表面表达^[79]。与AMPA类似, NMDAR的棕榈酰化具有特定亚基的特异性, 并在活动依赖性方式下动态调节。NMDAR的NMDAR2A和NMDAR2B亚基在其C端区域发生棕榈酰化^[80-83], 影响其突触后膜表达和酪氨酸磷酸化状态^[83-84]。GABAAR的 $\gamma 2$ 亚基在胞质区域的多个半胱氨酸残基上发生棕榈酰化, 由ZDHHC3介导, 影响其在神经元表面的定位和功能, 从而调节GABA能抑制性传递^[85-86]。该亚基在胞质区域的多个半胱氨酸残基上发生棕榈酰化, 这一机制调控了神经元细胞表面GABAAR的正常表达^[86]。通过使用显性负突变或RNAi方法干扰ZDHHC3的功能或表达水平, 导致微抑制性突触后电流 (miniature inhibitory postsynaptic currents, mIPSCs) 的振幅显著减少, 这归因于突触后GABAAR数量的减少。同样, 免疫荧光分析显示, 转染了ZDHHC3特异性shRNA载体的神经元中, $\gamma 2$ 亚基的点状免疫反应显著减少, 且突触后锚蛋白 (gephyrin) 染色丢失, 而对照shRNA转染的神经元则没有这些变化^[65, 87]。此外, 棕榈酰化也在Src家族激酶 (Src family kinase, SFK) 的信号转导中起作用。Fyn激酶通过棕榈酰化定位于突触膜, 调节包括NMDAR2B亚基和PSD-95等关键突触蛋白的功能^[88]。Fyn的磷酸化作用被认为能够稳定该亚基在神经元细胞表面的定位^[89]。突触支架蛋白PSD-95和PSD-93也是Fyn的结合底物^[90]。同时, Fyn在信号转导中的重要作用不仅限于兴奋性突触, 因为Fyn还是结合并磷酸化GABAAR $\gamma 2$ 亚基的Src家族

激酶之一^[91], 进一步表明其在神经元信号转导中的广泛作用。

2 ZDHHC是神经系统疾病治疗的潜在靶点

几乎所有已知的ZDHHC酶都在大脑中表达, 并呈现出独特的空间和发育模式。这些表达模式影响了ZDHHC酶的底物特异性, 并调节其功能, 参与并调控各种神经细胞的分化和成熟、神经回路的形成, 以及神经可塑性的调节。多种神经退行性疾病中的关键病理蛋白及其相关蛋白质都可以被棕榈酰化, 而异常的棕榈酰化可能通过影响这些蛋白质的稳态, 促进神经退行性病变的进程 (图1)。值得注意的是, 近期研究发现, ZDHHC酶在衰老过程中也会发生变化。例如, Guo等^[92]研究了人类和非人灵长类动物衰老的大脑, 发现ZDHHC5的表达水平显著下降。此外, 衰老和神经退行性疾病中的氧化应激也可能导致异常的半胱氨酸氧化, 进而影响蛋白质的结构和功能, 最终导致神经变性^[93]。

2.1 棕榈酰化与神经退行性疾病关键病理蛋白沉积

蛋白质错误定位 (mislocalization) 是神经退行性疾病的重要特征, 通常与蛋白质稳态缺陷相关, 可能导致错误折叠的蛋白质或受损细胞器的积聚, 最终引发细胞死亡。棕榈酰化是调节神经元中蛋白质定位和稳态的关键机制。这一过程类似于磷酸化, 是高度动态且严格受控的。棕榈酰化使蛋白质锚定在膜上, 并可逆地调节蛋白质在膜上的分布, 这对于神经系统功能维持尤为重要。因为神经元轴突可能长达数米, 任何蛋白质运输的扰动都会产生严重后果, 例如HD^[23]。许多神经退行性疾病相关的蛋白质都可被棕榈酰化^[2, 26], 且棕榈酰化异常可能与疾病进展密切相关^[26]。棕榈酰化还能与自噬等细胞机制协同作用, 影响细胞健康和蛋白质修饰。值得关注的是, 部分研究提示蛋白质棕榈酰化可能存在性别二态模式 (sexually dimorphic pattern)^[94]。

HD中的HTT棕榈酰化程度较低, 与突变HTT的聚集和细胞毒性有关。正常的HTT促进脑源性神经营养因子 (brain-derived neurotrophic factor, BDNF) 的转录, 并在皮层-纹状体轴突中促进BDNF的转运。当BDNF释放到皮层-纹状体突触时, 会激活纹状体上的TrkB受体, 导致TrkB的内吞。内吞的TrkB与Dynein、Dynactin及Kinesin-1

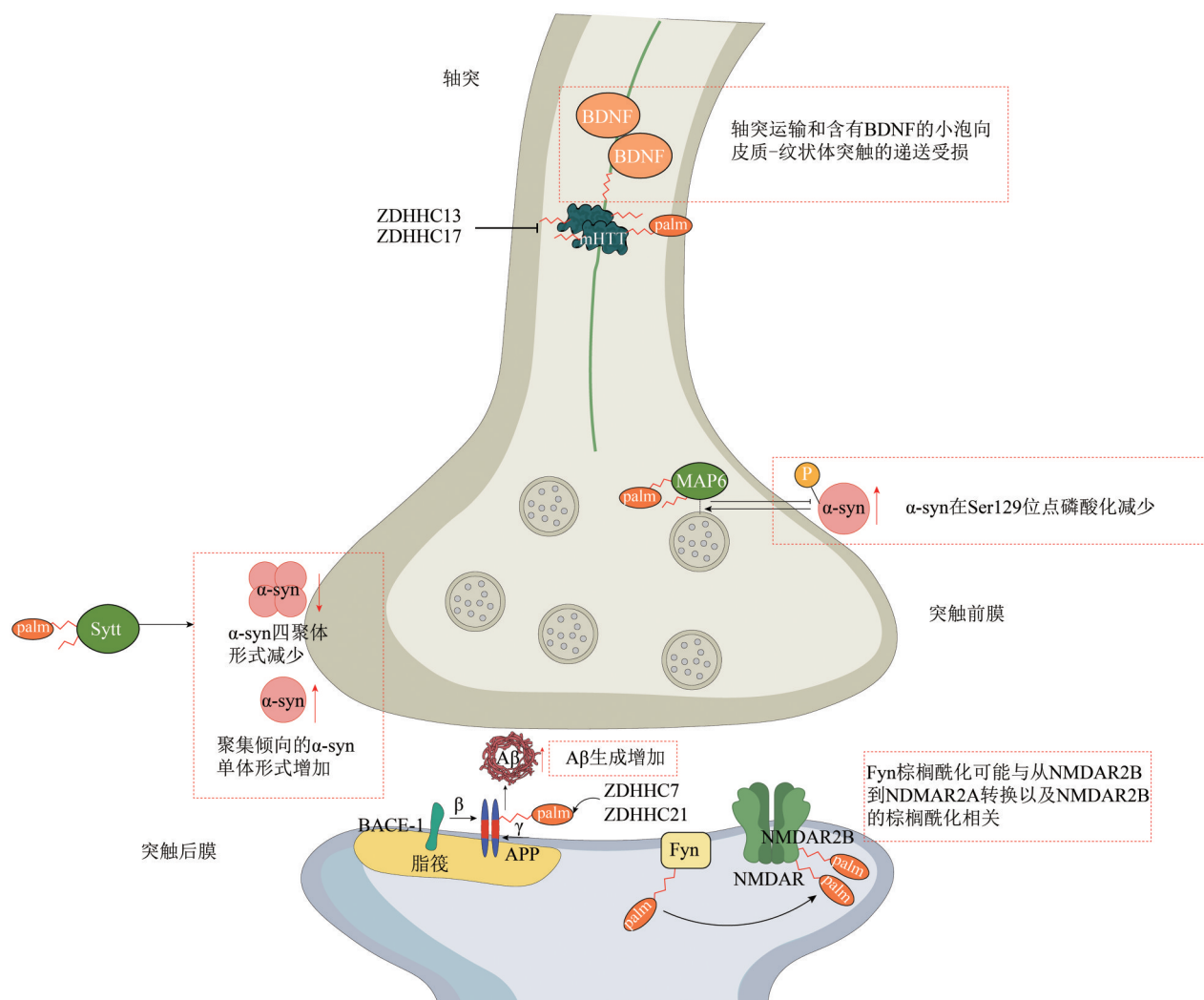


Fig. 1 The role and mechanism of aberrant palmitoylation of key pathological proteins in neurodegenerative diseases

图1 关键病理蛋白棕榈酰化异常在神经退行性病变中的作用机制

在神经退行性病变中，棕榈酰化异常将引起蛋白质稳态缺陷，导致突触运输、蛋白质异常生成及聚集。在HD中的HTT棕榈酰化程度较低，突变HTT由于棕榈酰化水平降低，易于聚集，进而导致BDNF在神经元轴突运输障碍和纹状体退化。在PD中， α -syn与突触相关蛋白的棕榈酰化存在相互作用，并影响 α -syn的磷酸化与聚集。在AD中，BACE1和APP的棕榈酰化受到多种ZDHHC酶的调节，影响A β 生成。此外，Fyn激酶的棕榈酰化影响突触后膜受体的定位与功能。HD：亨廷顿病；HTT：亨廷顿蛋白；BDNF：脑源性神经营养因子；PD：帕金森病； α -syn： α 突触核蛋白；AD：阿尔茨海默病；BACE1： β 位点切割酶1；APP：淀粉样前体蛋白；A β ： β 淀粉样蛋白。

共同形成复合体，激活ERK1/2，促进神经元的存活。突变HTT则可能导致BDNF运输障碍和纹状体退化^[95-96]。HTT在Cys214位点被ZDHHC17和ZDHHC13棕榈酰化。通过将Cys214替换为丝氨酸进一步减少突变HTT的棕榈酰化，导致异源和原代神经元培养物中的HD表型增加^[95, 97]。值得注意的是，研究发现，随着年龄增长，HTT的棕榈酰化减少，这在HD小鼠模型和患者衍生细胞中都有观察到^[95]。这表明衰老和HD突变均可能对HTT棕榈酰化水平产生影响，但衰老和HD突变的

联合在减少棕榈酰化水平方面是否具有叠加作用尚不明确。近期，Lemarié等^[98]通过构建带有半胱氨酸到丝氨酸突变的HTT质粒并将其转染至细胞中，使用免疫共沉淀结合酰基生物素交换法（immunoprecipitation and acyl-biotin exchange, IP-ABE）和生物正交标记测定法测量HTT的棕榈酰化水平，调查了全长HTT蛋白中的其他棕榈酰化位点，发现了4个新的S-乙酰化位点：Cys105、Cys433、Cys3134和Cys3144。然而，这些新位点的S-乙酰化如何影响突变HTT的聚集和毒性，以

及是否所有细胞类型中所有半胱氨酸都同样进行S-酰基化, 目前尚不清楚。

在PD, 虽然 α -syn缺乏半胱氨酸无法进行棕榈酰化^[99], 但病理性 α -syn与突触相关蛋白的棕榈酰化相互作用。PD患者大脑皮层中许多蛋白质的棕榈酰化水平发生变化, 这些蛋白质与PD发病机制密切相关^[26, 99]。Cervilla-Martínez等^[26]发现, 相比于对照组, PD患者大脑皮层中有84种蛋白质的棕榈酰化水平发生变化, 这些差异棕榈酰化的蛋白质主要集中在PD通路(hsa05012), 并与 α -syn、LRRK2、DJ-1、PINK1、GBA和UCHL1等与PD发病机制密切相关的蛋白质相互作用, 这表明异常的棕榈酰化调节在PD中是一种普遍现象。 α -syn可加速MAP6的棕榈酸周转, 影响MAP6与囊泡的结合。通过抑制APT1增强MAP6的棕榈酰化可能减轻 α -syn的磷酸化和神经毒性^[100]。此外, syt11的棕榈酰化增强了 α -syn与细胞内膜的结合, 增加了易聚集的单体 α -syn的丰度^[25]。这些结果提示, 棕榈酰化可以促进或抑制 α -syn的聚集, 但具体效果取决于所涉及的蛋白质。这也表明, 干预参与 α -syn异常聚集的蛋白质的棕榈酰化可能是治疗PD的一种可行措施。

在AD中, β 淀粉样蛋白(amyloid β protein, A β)的生成和沉积是主要病理特征^[101-102]。淀粉样前体蛋白(amyloid precursor protein, APP)被 β 位点切割酶1(β -site cleaving enzyme 1, BACE1)和 γ 分泌酶(γ -secretase)顺序切割产生A β 。研究表明, BACE1(Cys474、Cys478、Cys482、Cys485; 由DHHC4、DHHC7、DHHC15和DHHC20调节)和APP(Cys186、Cys187; 由ZDHHC7和ZDHHC21调节)的棕榈酰化在不同程度上影响A β 的病理过程^[103]。Bhattacharyya等^[104]首次报道, APP在内质网中发生棕榈酰化后会定位于脂筏, 成为BACE1的优先裂解底物。当APP棕榈酰化降低时, APP滞留在内质网中, 成熟速度减慢。使用棕榈酰化抑制剂可以阻止APP的棕榈酰化并减少A β 的生成。Andrew等^[105]发现, 在AD淀粉样变性小鼠模型中, 缺乏BACE1-棕榈酰化显著减少了脑内的淀粉样负担和变性神经突中的BACE1积累。同样, 使用PATs抑制剂也有效降低了A β 的生成^[106-108]。然而, 部分研究发现, 缺乏棕榈酰化的BACE1在非脂筏区域定位, 对APP的处理和A β 的分泌没有明显影响^[109-110]。这可能与A β 生成的亚细胞位置(胞体与轴突的APP水解)和神经活动区

域差异有关^[111-112]。BACE1棕榈酰化对A β 生成和沉积的区域性作用可能与这些差异有关。此外, Fyn在AD中与tau的磷酸化(Tyr18)有关^[113]。Fyn在C3和C6位点的棕榈酰化(由ZDHHC21调节)对于其正确的亚细胞定位和功能是必需的^[114]。棕榈酰化缺陷的Fyn无法正确定位到质膜和树突棘上, 而是积聚在细胞内室和内涵体中^[88]。在PPT1敲除的小鼠上观察到NMDAR2B和Fyn的过度棕榈酰化^[115]。既往研究也发现, NMDAR2B的棕榈酰化增强了Fyn介导的Tyr1472磷酸化, 从而抑制其内化^[83]。Fyn的过度激活可能不仅导致PPT1敲除神经元中NMDAR2B到NMDAR2A切换的失调, 还可能通过Fyn激酶的过度棕榈酰化进一步增强包含NMDAR2B的NMDAR的磷酸化和表面滞留, 同时限制其他去棕榈酰化酶的作用, 导致NMDAR2B的过度棕榈酰化^[115]。

2.2 棕榈酰化有望成为治疗神经退行性疾病的潜在调节靶点

棕榈酰化在神经退行性疾病的蛋白质定位和功能调控中起关键作用, 提供了新的治疗靶点(表2)。接下来, 将主要探讨棕榈酰化在神经退行性疾病治疗中的具体应用及其前景。Virlogeux等^[24]通过蛋白质组学分析和计算机模拟发现, HD患者中棕榈酰化缺陷与皮层-纹状体BDNF运输障碍有关。他们通过抑制APT1增加整体棕榈酰化水平, 恢复了HD神经元的运输功能, 并改善了HD小鼠的行为表型和神经病理学。此外, 棕榈酰化调节在PD病理蛋白保护中也表现出潜力。Moors等^[94]研究发现, 抑制3K α -syn小鼠的去棕榈酰化, 恢复了突触可塑性并增加了 α -syn的溶解度, 改善了认知和运动症状。值得注意的是, 尽管3K小鼠总体上显示出比人类E46K或野生型过表达小鼠更严重的表型, 但有趣的是, 3K雌性小鼠显示出比雄性小鼠更轻的运动表型。在大脑中, 尽管3K α -syn的表达谱相似, 但与雌性相比, 雄性中较少的突触核蛋白病也可能促进神经突纤维密度增高。这表明雌性性别部分减轻了3K小鼠中由过量 α -syn单体和脂质相互作用导致的病理变化。此外, 通过增加脑内雌二醇增加了 α -syn的溶解性和减少聚集也支持雌激素的保护作用。在癫痫治疗方面, 增加GABRG2蛋白 γ 2-G257R变异体的棕榈酰化水平, 恢复了p.G257R变体 γ -2亚基的膜运输和突触后膜聚集, 显示出一定的治疗潜力^[28]。我们团队通过全外显子组测序(whole exome sequencing, WES)在中

国家族性阿尔茨海默病网络 (Chinese Familial Alzheimer's Disease Network, CFAN) [116] 的一个家系中发现了 *ZDHHC21* 基因的新突变 p.T209S, 该突变导致 Fyn 和 APP 棕榈酰化增强, 促进了 NMDAR2B 的过度激活和 A β 的生成 [27]。使用 2-BP 抑制棕榈酰化有效减轻了原代神经元的死亡

和钙超载 [27]。尽管目前已经开发出了针对部分去棕榈酰化酶的抑制剂并展示出治疗潜力, 但尚未发现基于特定 ZDHHC 酶或其特定底物的抑制剂。目前的难点在于, 缺乏高分辨率的 ZDHHC 酶与其蛋白质底物结合的结构, 同时也缺乏每个 PATs 和 PPTs 的完整靶向图谱。

Table 2 Palmitoylation sites and functional changes of key pathology-related proteins in neurodegenerative diseases					
表2 神经退行性疾病中关键病理相关蛋白的棕榈酰化修饰位点及功能变化					
神经退行性疾病	主要病理相关蛋白	棕榈酰化位点	棕榈酰化前后功能变化	主要参与的 ZDHHC 酶	潜在治疗靶点
AD	APP	Cys186、Cys187	棕榈酰化后促进A β 生成	ZDHHC7、ZDHHC12、ZDHHC21	抑制APP棕榈酰化
	BACE1	Cys474、Cys47, Cys482、Cys485	棕榈酰化后促进A β 产生	ZDHHC3、ZDHHC4、ZDHHC7、DHHC15、ZDHHC20	抑制BACE1棕榈酰化
	Fyn	C3、C6	棕榈酰化使其定位于膜和树突棘, 调节tau和NMDAR2B磷酸化	ZDHHC2、ZDHHC3、ZDHHC7、ZDHHC15、ZDHHC20、ZDHHC21	调节Fyn棕榈酰化
HD	HTT	Cys214	棕榈酰化降低促进HTT聚集和毒性	ZDHHC13、DHHC17	增加HTT棕榈酰化
PD	α -syn	无	未发生棕榈酰化, 但相关蛋白质的棕榈酰化影响其功能	无	调节相关蛋白质棕榈酰化
	MAP6	尚不明确	棕榈酰化影响囊泡结合, 调节 α -syn的聚集	APT1	调节MAP6棕榈酰化
	Syt11	Cys39、Cys40	棕榈酰化增强膜结合, 影响 α -syn的聚集	尚不明确	调节sy11棕榈酰化

3 棕榈酰化检测技术及存在问题

近年来, 虽然在棕榈酰化研究领域取得了一定的进展, 但现有的棕榈酰化检测技术仍然存在一些局限性。首先, 目前缺乏简便的量化方法, 也没有像磷酸化抗体那样专门用于棕榈酰化检测的抗体。现有的棕榈酰化检测方法主要分为以棕榈酸为核心 (palmitate-centric) 的方法和以半胱氨酸为核心 (cysteine-centric) 的方法 (图2), 每种方法都有其独特的优势, 并提供了不同的信息。前者在研究代谢标记的蛋白质组学中的棕榈酰化蛋白方面更具优势, 而后者则有助于检测更广泛的棕榈酰化蛋白质组。然而, 这两种方法均不适用于活细胞成像分析 [117]。ABE、树脂辅助捕获 (resin-assisted capture S-acylated proteins, RAC-acyl) 和代谢标记可以揭示蛋白质是否可以进行 S-酰基化。通过使用羟胺作为对照, 可以确保检测到的信号源自半胱氨酸的硫酯键。通过定点突变将蛋白质中的特定半胱氨酸残基替换为其他氨基酸 (通常是丝氨酸或丙氨酸) 可以用来确认蛋白质中的特定半胱氨酸是否

参与了棕榈酰化修饰。质谱分析能够精确定位脂肪酸附着的半胱氨酸残基。然而, 由于样品量有限性、分离脂化蛋白质 (尤其是跨膜蛋白质) 的难度, 以及硫酯修饰固有的不稳定性, 往往难以实现这种精确识别。此外, 不同方法鉴定出的棕榈酰化蛋白也可能存在差异。

最早的棕榈酰化检测方法依赖于放射性标记的脂肪酸代谢结合到蛋白质中, 结合免疫沉淀法来检测目标棕榈酰化蛋白 [118-120]。然而, 这种方法存在曝光时间长、灵敏度低的问题, 并且放射性物质对人体有一定的危害。随着叠氮化物和炔烃脂肪酸探针的开发, 基于非放射性点击化学的化学探针被广泛应用, 展现出较好的细胞脂肪酰化蛋白标记能力 [121-125]。这类可点击脂肪酸探针在脂肪酸的 ω 端或甲基端引入小型化学标记 (如炔烃或叠氮化物), 通过细胞生物合成机制, 在天然棕榈酰化位点被代谢性地整合进细胞蛋白中。随后, 通过 Cu(I)-催化的 Huisgen 1,3-偶极环加成反应, 将脂肪酸修饰的蛋白质与荧光团或亲和标签 (如生物素) 结合, 通过生化方法 (一抗从细胞裂解液沉淀

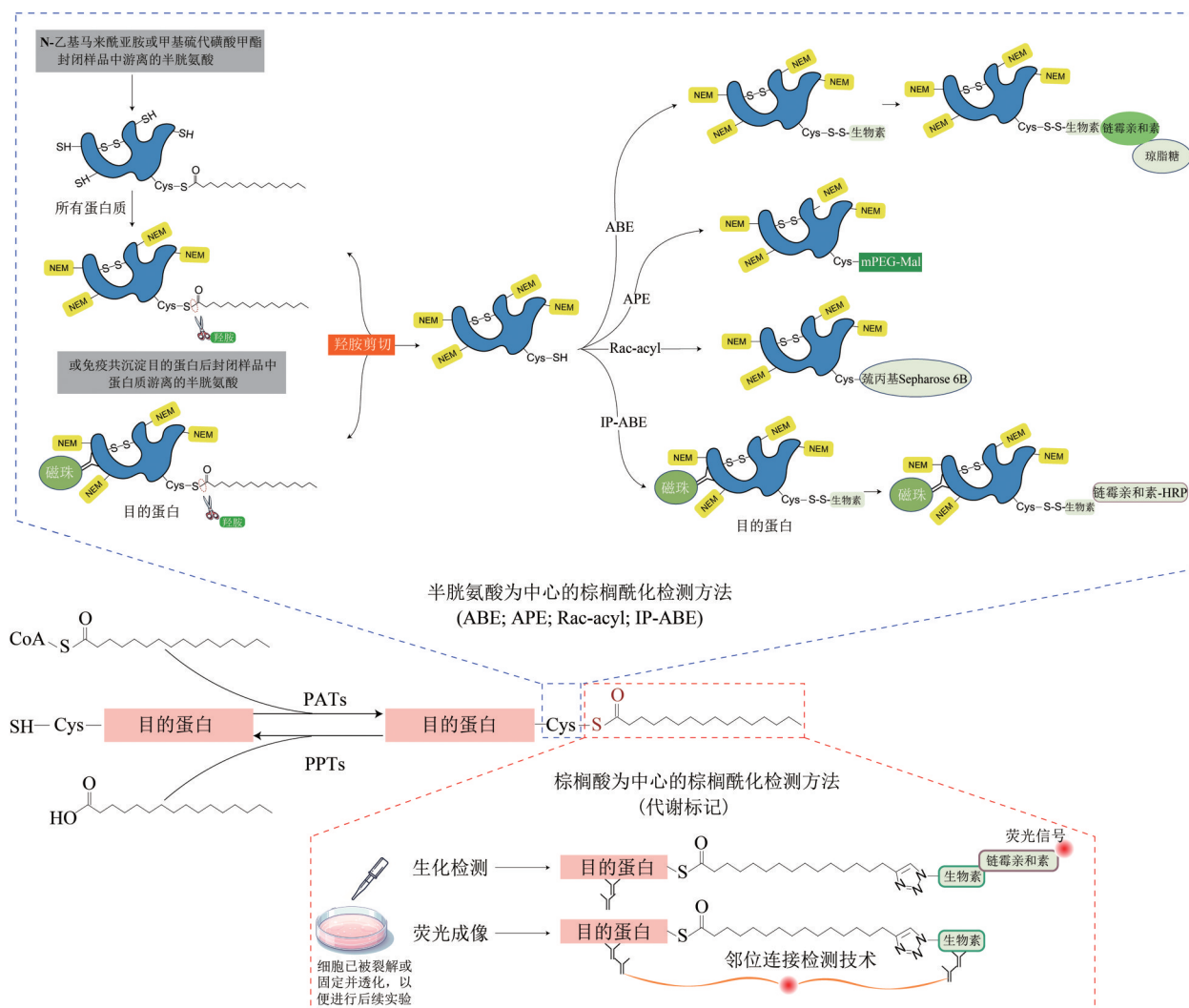


Fig. 2 Major palmitoylation detection methods: two detection methods respectively centered on palmitic acid and cysteine

图2 主要的棕榈酰化检测方法：以棕榈酸为中心和以半胱氨酸为中心的两种检测方法

以棕榈酸为中心的方法在研究代谢标记蛋白质组学中的棕榈酰化蛋白具有优势，而以半胱氨酸为中心有利于检测广泛的棕榈酰化蛋白质组。

目的蛋白后进行电泳分离，带有生物素标记的棕榈酸基团的目标蛋白通过链霉亲和素结合的荧光染料检测)或荧光显微镜(细胞被固定、透化，并进行点击化学处理与叠氮基标记的生物素结合)，然后通过探针邻位连接检测技术(proximity ligation assay, PLA)进行可视化，检测棕榈酰化修饰的蛋白^[121-124, 126]。Hang等^[122, 124]开发了叠氮基脂肪酸探针，鉴定出了大鼠肝线粒体基质中的21种棕榈酰化蛋白。Charron团队^[121, 125]随后开发的炔基脂肪酸探针同样显示出有效的生物正交标记脂肪酰化蛋白的能力。这些探针保留了蛋白质棕榈酰基团的完整性，有助于识别新的棕榈酰化位点及其亚细胞分布^[32, 127-128]。此外，可点击脂肪酸探针还可以

与细胞培养中的氨基酸稳定同位素标记等定量蛋白质组学方法结合，以量化蛋白质棕榈酰化^[129-130]。

与点击脂肪酸探针相比，以半胱氨酸为核心的方法则采取了另一种策略。Driscoll等^[131]和Wan等^[31]首次提出了将棕榈酰化位点的脂肪酸基团替换为其他标记(如生物素)的方法，即ABE方法。其主要步骤包括：用N-乙基马来酰亚胺(NEM)或甲基硫代磺酸甲酯(MMTs)封闭所有已存在的自由巯基；使用羟胺裂解脂肪酰基与棕榈酰化位点半胱氨酸残基的硫酯键，暴露具有自由巯基的半胱氨酸残基；最后用巯基特异性试剂(如生物素-BMCC、btm-PEO-马来酰亚胺或btm-PEO-碘乙酰胺)标记新生成的自由巯基，或使用可裂解的生物

素化试剂（如生物素-HPDP）。这一方法的生物素化允许使用亲和树脂纯化蛋白质或其水解片段。在此基础上，进一步发展出了RAC-acyl方法。该方法与ABE类似，但通过直接使用疏丙基琼脂糖6B（thiopropyl Sepharose 6B）捕获羟胺处理后暴露的半胱氨酸，缩短了实验时间，减少了步骤，提高了灵敏度^[132]。Brigidi和Bamji^[133]基于ABE开发了IP-ABE方法，通过免疫沉淀纯化原代海马神经元中的棕榈酰化蛋白，使用特异抗体进行ABE和蛋白质印迹（Western blot），以直接测量该蛋白质的棕榈酰化水平。这一方法虽然能够更快地纯化和检测棕榈酰化蛋白，但可能仅适用于IP级抗体，且检测蛋白质数量有限。在ABE和RAC-acyl方法的基础上，又发展出了APE（acyl-PEG exchange, APE）方法。该方法不是用亲和和标签标记硫酯修饰的蛋白质位点，而是用长PEG分子进行质量标记，然后通过蛋白质印迹分析，比较凝胶中未修饰和修饰条带的相对信号，以揭示修饰位点的大致化学剂量。尽管如此，该方法与ABE和RAC-acyl一样，不能确定硫酯修饰的类^[134]。

关于不同方法在棕榈酰化蛋白检测中的差异性，一直存在争议。Matthew团队^[135]分别使用ABE和RAC-acyl方法检测并富集大鼠脑的棕榈酰化蛋白，并通过质谱比较了两种方法的识别结果。研究发现，一种方法识别的大多数结果使用另一种方法未能检测到，意味着部分识别结果是某一方法独有的，这也表明至少部分发表的棕榈酰蛋白质组的差异可能来源于不同的方法学。需要注意的是，未被ABE或RAC-acyl检测到的蛋白质并不意味着它们绝对不被棕榈酰化。在上述研究中，一些已被证明的棕榈酰化蛋白未被任何方法检测到，例如SNAP-23和H-Ras。可能的原因之一是组织特异性表达差异，例如SNAP-23在大脑中的表达水平较低，而神经元SNAP-25的表达水平较高。同时，这也可能反映了半胱氨酸为中心的方法在检测棕榈酸快速循环蛋白（如Ras家族成员）方面的相对劣势。因此，在棕榈酰化蛋白检测过程中，不仅需要关注特定蛋白的组织特异性和物种间的差异，还需要关注不同检测方法的固有变异性。这些因素可能部分解释了为何绝大多数棕榈酰化蛋白的识别仅在单一研究中被发现。

4 总结与展望

棕榈酰化在细胞的多个生理过程中发挥着重要

作用，尤其在神经元中，对蛋白质的定位和稳态具有显著影响。它也因此神经退行性疾病的治疗中展现出巨大的潜力。然而，大多数ZDHHC酶和去棕榈酰化酶的正常功能依赖于棕榈酰化和去棕榈酰化的动态循环。棕榈酰化酶与去棕榈酰化酶之间存在复杂的相互作用，而这些酶的底物又涉及许多通路的调节。因此，有必要进一步明确这些酶与其底物之间的靶向关系，并且完善和优化棕榈酰化的定量检测方法。同时如何特异性靶向调节ZDHHC酶活性也是未来需要关注的问题。同时不可忽略的是，目前棕榈酰化检测仍然存在一定的局限性，特别是缺乏能够在活细胞中实时监测或可视化棕榈酰化动态变化的工具。此外，尚未开发出类似于检测特定磷酸化蛋白质的棕榈酰化特异性抗体。这些挑战阻碍了我们对棕榈酰化精细调控机制的深入理解和应用。因此，未来的研究应着重开发新的棕榈酰化检测工具和方法，以更好地监测和可视化蛋白质的棕榈酰化状态，并解析酶与其底物之间的高分辨率结构。此外，还需绘制每个PATs和PPTs的完整靶向图谱，并开发针对特定ZDHHC酶或底物棕榈酰化的抑制剂。这些进展不仅将促进对棕榈酰化精细调控的理解，有助于解释疾病的分子机制，还将推动其作为神经退行性疾病治疗新靶点的应用。

参 考 文 献

- [1] Fukata Y, Fukata M. Protein palmitoylation in neuronal development and synaptic plasticity. *Nat Rev Neurosci*, 2010, **11**(3):161-175
- [2] Yuan Y, Li P, Li J, *et al.* Protein lipidation in health and disease: molecular basis, physiological function and pathological implication. *Signal Transduct Target Ther*, 2024, **9**(1): 60
- [3] Liao D, Huang Y, Liu D, *et al.* The role of S-palmitoylation in neurological diseases: implication for zDHHC family. *Front Pharmacol*, 2023, **14**: 1342830
- [4] Iwanaga T, Tsutsumi R, Noritake J, *et al.* Dynamic protein palmitoylation in cellular signaling. *Prog Lipid Res*, 2009, **48**(3/4): 117-127
- [5] Wu X, Xu M, Geng M, *et al.* Targeting protein modifications in metabolic diseases: molecular mechanisms and targeted therapies. *Signal Transduct Target Ther*, 2023, **8**(1): 220
- [6] Elliot Murphy R, Banerjee A. *In vitro* reconstitution of substrate S-acylation by the zDHHC family of protein acyltransferases. *Open Biol*, 2022, **12**(4): 210390
- [7] Salaun C, Locatelli C, Zmuda F, *et al.* Accessory proteins of the zDHHC family of S-acylation enzymes. *J Cell Sci*, 2020, **133**(22): jcs251819
- [8] Zmuda F, Chamberlain L H. Regulatory effects of post-

- translational modifications on zDHHC S-acyltransferases. *J Biol Chem*, 2020, **295**(43): 14640-14652
- [9] Gadalla M R, Veit M. Toward the identification of ZDHHC enzymes required for palmitoylation of viral protein as potential drug targets. *Expert Opin Drug Discov*, 2020, **15**(2): 159-177
- [10] Tabaczar S, Czogalla A, Podkalicka J, *et al.* Protein palmitoylation: palmitoyltransferases and their specificity. *Exp Biol Med*, 2017, **242**(11): 1150-1157
- [11] Hayashi T. Post-translational palmitoylation of ionotropic glutamate receptors in excitatory synaptic functions. *Br J Pharmacol*, 2021, **178**(4): 784-797
- [12] Gundersen C B. Cysteine string proteins. *Prog Neurobiol*, 2020, **188**: 101758
- [13] Zaręba-Kozioł M, Figiel I, Bartkowiak-Kaczmarek A, *et al.* Insights into protein S-palmitoylation in synaptic plasticity and neurological disorders: potential and limitations of methods for detection and analysis. *Front Mol Neurosci*, 2018, **11**: 175
- [14] Globa A K, Bamji S X. Protein palmitoylation in the development and plasticity of neuronal connections. *Curr Opin Neurobiol*, 2017, **45**: 210-220
- [15] Song J, Gao T, Li W, *et al.* The palmitoylation/depalmitoylation cycle is involved in the inhibition of AMPA receptor trafficking induced by aluminum *in vitro*. *Biol Trace Elem Res*, 2023, **201**(3): 1398-1406
- [16] Yang G, Xiong W, Kojic L, *et al.* Subunit-selective palmitoylation regulates the intracellular trafficking of AMPA receptor. *Eur J Neurosci*, 2009, **30**(1): 35-46
- [17] Noritake J, Fukata Y, Iwanaga T, *et al.* Mobile DHHC palmitoylating enzyme mediates activity-sensitive synaptic targeting of PSD-95. *J Cell Biol*, 2009, **186**(1): 147-160
- [18] Lin D T S, Conibear E. ABHD17 proteins are novel protein depalmitoylases that regulate N-Ras palmitate turnover and subcellular localization. *eLife*, 2015, **4**: e11306
- [19] Greaves J, Prescott G R, Gorleku O A, *et al.* The fat controller: roles of palmitoylation in intracellular protein trafficking and targeting to membrane microdomains (Review). *Mol Membr Biol*, 2009, **26**(1): 67-79
- [20] Pedram A, Razandi M, Deschenes R J, *et al.* DHHC-7 and-21 are palmitoylacyltransferases for sex steroid receptors. *Mol Biol Cell*, 2012, **23**(1): 188-199
- [21] Levental I, Lingwood D, Grzybek M, *et al.* Palmitoylation regulates raft affinity for the majority of integral raft proteins. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2010, **107**(51): 22050-22054
- [22] Shang S, Liu J, Hua F. Protein acylation: mechanisms, biological functions and therapeutic targets. *Signal Transduct Target Ther*, 2022, **7**(1): 396
- [23] Lemarié F L, Caron N S, Sanders S S, *et al.* Rescue of aberrant huntingtin palmitoylation ameliorates mutant huntingtin-induced toxicity. *Neurobiol Dis*, 2021, **158**: 105479
- [24] Virlogeux A, Scaramuzzino C, Lenoir S, *et al.* Increasing brain palmitoylation rescues behavior and neuropathology in Huntington disease mice. *Sci Adv*, 2021, **7**(14): eabb0799
- [25] Ho G P H, Wilkie E C, White A J, *et al.* Palmitoylation of the Parkinson's disease-associated protein synaptotagmin-11 links its turnover to α -synuclein homeostasis. *Sci Signal*, 2023, **16**(772): eadd7220
- [26] Cervilla-Martínez J F, Rodríguez-Gotor J J, Wypijewski K J, *et al.* Altered cortical palmitoylation induces widespread molecular disturbances in Parkinson's disease. *Int J Mol Sci*, 2022, **23**(22): 14018
- [27] Li W, Pang Y, Wang Y, *et al.* Aberrant palmitoylation caused by a ZDHHC21 mutation contributes to pathophysiology of Alzheimer's disease. *BMC Med*, 2023, **21**(1): 223
- [28] Reinthaler E M, Dejanovic B, Lal D, *et al.* Rare variants in γ -aminobutyric acid type A receptor genes in rolandic epilepsy and related syndromes. *Ann Neurol*, 2015, **77**(6): 972-986
- [29] Ouyang P, Cai Z, Peng J, *et al.* SELENOK-dependent CD36 palmitoylation regulates microglial functions and A β phagocytosis. *Redox Biol*, 2024, **70**: 103064
- [30] Lu H, Fang C. Methodology for detecting protein palmitoylation. *Adv Exp Med Biol*, 2020, **1248**: 425-430
- [31] Wan J, Roth A F, Bailey A O, *et al.* Palmitoylated proteins: purification and identification. *Nat Protoc*, 2007, **2**(7): 1573-1584
- [32] Gao X, Hannoush R N. A decade of click chemistry in protein palmitoylation: impact on discovery and new biology. *Cell Chem Biol*, 2018, **25**(3): 236-246
- [33] Lobo S, Greentree W K, Linder M E, *et al.* Identification of a Ras palmitoyltransferase in *Saccharomyces cerevisiae*. *J Biol Chem*, 2002, **277**(43): 41268-41273
- [34] Edmonds M J, Morgan A. A systematic analysis of protein palmitoylation in *Caenorhabditis elegans*. *BMC Genomics*, 2014, **15**(1): 841
- [35] Roth A F, Wan J, Bailey A O, *et al.* Global analysis of protein palmitoylation in yeast. *Cell*, 2006, **125**(5): 1003-1013
- [36] Coronel Arrechea C, Giolito M L, García I A, *et al.* A novel yeast-based high-throughput method for the identification of protein palmitoylation inhibitors. *Open Biol*, 2021, **11**(8): 200415
- [37] Qiu T, Azizi S A, Brookes N, *et al.* A high-throughput fluorescent turn-on assay for inhibitors of DHHC family proteins. *ACS Chem Biol*, 2022, **17**(8): 2018-2023
- [38] Nitta Y, Sugie A. Studies of neurodegenerative diseases using *Drosophila* and the development of novel approaches for their analysis. *Fly*, 2022, **16**(1): 275-298
- [39] Porcellato E, González-Sánchez J C, Ahlmann-Eltze C, *et al.* The S-palmitoylome and DHHC-PAT interactome of *Drosophila melanogaster* S2R+ cells indicate a high degree of conservation to mammalian palmitoylomes. *PLoS One*, 2022, **17**(8): e0261543
- [40] Wild A R, Hogg P W, Flibotte S, *et al.* Exploring the expression patterns of palmitoylating and de-palmitoylating enzymes in the mouse brain using the curated RNA-seq database BrainPalmSeq. *eLife*, 2022, **11**: e75804
- [41] Malgapo M I P, Linder M E. Substrate recruitment by zDHHC protein acyltransferases. *Open Biol*, 2021, **11**(4): 210026
- [42] Rana M S, Kumar P, Lee C J, *et al.* Fatty acyl recognition and

- transfer by an integral membrane *S*-acyltransferase. *Science*, 2018, **359**(6372): eaao6326
- [43] Rana M S, Lee C J, Banerjee A. The molecular mechanism of DHHC protein acyltransferases. *Biochem Soc Trans*, 2019, **47**(1): 157-167
- [44] Zaballa M E, van der Goot F G. The molecular era of protein *S*-acylation: spotlight on structure, mechanisms, and dynamics. *Crit Rev Biochem Mol Biol*, 2018, **53**(4): 420-451
- [45] Thomas G M, Hayashi T, Chiu S L, *et al.* Palmitoylation by DHHC5/8 targets GRIP1 to dendritic endosomes to regulate AMPA-R trafficking. *Neuron*, 2012, **73**(3): 482-496
- [46] Thomas G M, Hayashi T, Huganir R L, *et al.* DHHC8-dependent PICK1 palmitoylation is required for induction of cerebellar long-term synaptic depression. *J Neurosci*, 2013, **33**(39): 15401-15407
- [47] Sanders S S, Hernandez L M, Soh H, *et al.* The palmitoyl acyltransferase ZDHHC14 controls Kv1-family potassium channel clustering at the axon initial segment. *eLife*, 2020, **9**: e56058
- [48] Thomas G M, Hayashi T. Smarter neuronal signaling complexes from existing components: how regulatory modifications were acquired during animal evolution: evolution of palmitoylation-dependent regulation of AMPA-type ionotropic glutamate receptors. *Bioessays*, 2013, **35**(11): 929-939
- [49] Liu Z Y, Lan T, Tang F, *et al.* ZDHHC15 promotes glioma malignancy and acts as a novel prognostic biomarker for patients with glioma. *BMC Cancer*, 2023, **23**(1): 420
- [50] Braschi B, Denny P, Gray K, *et al.* Genenames.org: the HGNC and VGNC resources in 2019. *Nucleic Acids Res*, 2019, **47**(D1): D786-D792
- [51] Lievens P M J, Kuznetsova T, Kochlamazashvili G, *et al.* ZDHHC3 tyrosine phosphorylation regulates neural cell adhesion molecule palmitoylation. *Mol Cell Biol*, 2016, **36**(17): 2208-2225
- [52] Abrami L, Dallavilla T, Sandoz P A, *et al.* Identification and dynamics of the human ZDHHC16-ZDHHC6 palmitoylation cascade. *eLife*, 2017, **6**: e27826
- [53] Hohoff C, Zhang M, Ambrée O, *et al.* Deficiency of the palmitoyl acyltransferase ZDHHC7 impacts brain and behavior of mice in a sex-specific manner. *Brain Struct Funct*, 2019, **224**(6): 2213-2230
- [54] Kang R, Wang L, Sanders S S, *et al.* Altered regulation of striatal neuronal *N*-methyl-D-aspartate receptor trafficking by palmitoylation in Huntington disease mouse model. *Front Synaptic Neurosci*, 2019, **11**: 3
- [55] Cembrowski M S, Wang L, Sugino K, *et al.* Hipposeq: a comprehensive RNA-seq database of gene expression in hippocampal principal neurons. *eLife*, 2016, **5**: e14997
- [56] Cajigas I J, Tushev G, Will T J, *et al.* The local transcriptome in the synaptic neuropil revealed by deep sequencing and high-resolution imaging. *Neuron*, 2012, **74**(3): 453-466
- [57] Monkol L, Karczewski Konrad J, Minikel Eric V, *et al.* Analysis of protein-coding genetic variation in 60, 706 humans. *Nature*, 2016, **536**(7616): 285-291
- [58] Sjöstedt E, Zhong W, Fagerberg L, *et al.* An atlas of the protein-coding genes in the human, pig, and mouse brain. *Science*, 2020, **367**(6482): eaay5947
- [59] Shimell J J, Shah B S, Cain S M, *et al.* The X-linked intellectual disability gene *Zdhhc9* is essential for dendrite outgrowth and inhibitory synapse formation. *Cell Rep*, 2019, **29**(8): 2422-2437.e8
- [60] Shah B S, Shimell J J, Bamji S X. Regulation of dendrite morphology and excitatory synapse formation by ZDHHC15. *J Cell Sci*, 2019, **132**(13): jcs230052
- [61] Brigidi G S, Santyr B, Shimell J, *et al.* Activity-regulated trafficking of the palmitoyl-acyl transferase DHHC5. *Nat Commun*, 2015, **6**: 8200
- [62] Batiuk M Y, Tyler T, Dragicevic K, *et al.* Upper cortical layer-driven network impairment in schizophrenia. *Sci Adv*, 2022, **8**(41): eabn8367
- [63] Ohno Y, Kihara A, Sano T, *et al.* Intracellular localization and tissue-specific distribution of human and yeast DHHC cysteine-rich domain-containing proteins. *Biochim Biophys Acta*, 2006, **1761**(4): 474-483
- [64] Greaves J, Gorleku O A, Salaun C, *et al.* Palmitoylation of the SNAP25 protein family: specificity and regulation by DHHC palmitoyltransferases. *J Biol Chem*, 2010, **285**(32): 24629-24638
- [65] Fang C, Deng L, Keller C A, *et al.* GODZ-mediated palmitoylation of GABA(A) receptors is required for normal assembly and function of GABAergic inhibitory synapses. *J Neurosci*, 2006, **26**(49): 12758-12768
- [66] Jun M, Hui L, Burt R A, *et al.* Evidence that the gene encoding ZDHHC8 contributes to the risk of schizophrenia. *Nat Genet*, 2004, **36**(7): 725-731
- [67] Yang Q, Zheng F, Hu Y, *et al.* ZDHHC8 critically regulates seizure susceptibility in epilepsy. *Cell Death Dis*, 2018, **9**(8): 795
- [68] Swarthout J T, Lobo S, Farh L, *et al.* DHHC9 and GCP16 constitute a human protein fatty acyltransferase with specificity for H- and N-Ras. *J Biol Chem*, 2005, **280**(35): 31141-31148
- [69] Bathelt J, Barnes J, Raymond F L, *et al.* Global and local connectivity differences converge with gene expression in a neurodevelopmental disorder of known genetic origin. *Cereb Cortex*, 2017, **27**(7): 3806-3817
- [70] Saitoh F, Tian Q B, Okano A, *et al.* Nidd, a novel DHHC-containing protein, targets neuronal nitric-oxide synthase (nNOS) to the synaptic membrane through a PDZ-dependent interaction and regulates nNOS activity. *J Biol Chem*, 2004, **279**(28): 29461-29468
- [71] Singaraja R R, Hadano S, Metzler M, *et al.* HIP14, a novel ankyrin domain-containing protein, links huntingtin to intracellular trafficking and endocytosis. *Hum Mol Genet*, 2002, **11**(23): 2815-2828
- [72] Fernández-Hernando C, Fukata M, Bernatchez P N, *et al.* Identification of Golgi-localized acyl transferases that palmitoylate and regulate endothelial nitric oxide synthase. *J Cell Biol*, 2006, **174**(3): 369-377
- [73] Sanders S S, Martin D D, Butland S L, *et al.* Curation of the

- mammalian palmitoylome indicates a pivotal role for palmitoylation in diseases and disorders of the nervous system and cancers. *PLoS Comput Biol*, 2015, **11**(8): e1004405
- [74] Hess D T, Slater T M, Wilson M C, *et al.* The 25 kDa synaptosomal-associated protein SNAP-25 is the major methionine-rich polypeptide in rapid axonal transport and a major substrate for palmitoylation in adult CNS. *J Neurosci*, 1992, **12**(12): 4634-4641
- [75] Risinger C, Blomqvist A G, Lundell I, *et al.* Evolutionary conservation of synaptosome-associated protein 25 kDa (SNAP-25) shown by *Drosophila* and Torpedo cDNA clones. *J Biol Chem*, 1993, **268**(32): 24408-24414
- [76] Lane S R, Liu Y. Characterization of the palmitoylation domain of SNAP-25. *J Neurochem*, 1997, **69**(5): 1864-1869
- [77] Ho G P H, Selvakumar B, Jun M, *et al.* S-nitrosylation and S-palmitoylation reciprocally regulate synaptic targeting of PSD-95. *Neuron*, 2011, **71**(1): 131-141
- [78] Verpelli C, Schmeisser M J, Sala C, *et al.* Scaffold proteins at the postsynaptic density. *Adv Exp Med Biol*, 2012, **970**: 29-61
- [79] Hayashi T, Rumbaugh G, Huganir R L. Differential regulation of AMPA receptor subunit trafficking by palmitoylation of two distinct sites. *Neuron*, 2005, **47**(5): 709-723
- [80] Xia T, Cui Y, Shi H, *et al.* The effect of NR2B subunit palmitoylation at the spinal level after chronic dorsal root Ganglia compression in rats. *Anesth Analg*, 2014, **119**(5): 1208-1214
- [81] Jeyifous O, Lin E I, Chen X, *et al.* Palmitoylation regulates glutamate receptor distributions in postsynaptic densities through control of PSD95 conformation and orientation. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2016, **113**(52): E8482-E8491
- [82] Mattison H A, Hayashi T, Barria A. Palmitoylation at two cysteine clusters on the C-terminus of GluN2A and GluN2B differentially control synaptic targeting of NMDA receptors. *PLoS One*, 2012, **7**(11): e49089
- [83] Hayashi T, Thomas G M, Huganir R L. Dual palmitoylation of NR2 subunits regulates NMDA receptor trafficking. *Neuron*, 2009, **64**(2): 213-226
- [84] Hubalkova P, Ladislav M, Vyklicky V, *et al.* Palmitoylation controls NMDA receptor function and steroid sensitivity. *J Neurosci*, 2021, **41**(10): 2119-2134
- [85] Luscher B, Maguire J L, Rudolph U, *et al.* GABAA receptors as targets for treating affective and cognitive symptoms of depression. *Trends Pharmacol Sci*, 2023, **44**(9): 586-600
- [86] Vithlani M, Terunuma M, Moss S J. The dynamic modulation of GABA(A) receptor trafficking and its role in regulating the plasticity of inhibitory synapses. *Physiol Rev*, 2011, **91**(3): 1009-1022
- [87] Keller C A, Yuan X, Panzanelli P, *et al.* The gamma2 subunit of GABA(A) receptors is a substrate for palmitoylation by GODZ. *J Neurosci*, 2004, **24**(26): 5881-5891
- [88] Gottlieb-Abraham E, Gutman O, Pai G M, *et al.* The residue at position 5 of the N-terminal region of Src and Fyn modulates their myristoylation, palmitoylation, and membrane interactions. *Mol Biol Cell*, 2016, **27**(24): 3926-3936
- [89] Trepanier C H, Jackson M F, MacDonald J F. Regulation of NMDA receptors by the tyrosine kinase Fyn. *FEBS J*, 2012, **279**(1): 12-19
- [90] Nada S, Shima T, Yanai H, *et al.* Identification of PSD-93 as a substrate for the Src family tyrosine kinase Fyn. *J Biol Chem*, 2003, **278**(48): 47610-47621
- [91] Jurd R, Tretter V, Walker J, *et al.* Fyn kinase contributes to tyrosine phosphorylation of the GABA(A) receptor gamma2 subunit. *Mol Cell Neurosci*, 2010, **44**(2): 129-134
- [92] Guo R, Liu J, Min X, *et al.* Reduction of DHHC5-mediated beclin 1 S-palmitoylation underlies autophagy decline in aging. *Nat Struct Mol Biol*, 2024, **31**(2): 232-245
- [93] Gu L, Robinson R A S. Proteomic approaches to quantify cysteine reversible modifications in aging and neurodegenerative diseases. *Proteomics Clin Appl*, 2016, **10**(12): 1159-1177
- [94] Moors T E, Li S, McCaffery T D, *et al.* Increased palmitoylation improves estrogen receptor alpha-dependent hippocampal synaptic deficits in a mouse model of synucleinopathy. *Sci Adv*, 2023, **9**(46): ead1454
- [95] Martin D D O, Sanders S S. Let's get fat: emergence of S-acylation as a therapeutic target in Huntington disease. *Biochem Soc Trans*, 2024, **52**(3): 1385-1392
- [96] Saudou F, Humbert S. The biology of huntingtin. *Neuron*, 2016, **89**(5): 910-926
- [97] Yanai A, Huang K, Kang R, *et al.* Palmitoylation of huntingtin by HIP14 is essential for its trafficking and function. *Nat Neurosci*, 2006, **9**(6): 824-831
- [98] Lemarié F L, Sanders S S, Nguyen Y, *et al.* Full-length huntingtin is palmitoylated at multiple sites and post-translationally myristoylated following caspase-cleavage. *Front Physiol*, 2023, **14**: 1086112
- [99] Gupta R, Sahu M, Srivastava D, *et al.* Post-translational modifications: regulators of neurodegenerative proteinopathies. *Ageing Res Rev*, 2021, **68**: 101336
- [100] Ho G P H, Ramalingam N, Imberdis T, *et al.* Upregulation of cellular palmitoylation mitigates α -synuclein accumulation and neurotoxicity. *Mov Disord*, 2021, **36**(2): 348-359
- [101] Hardy J. Alzheimer's disease: the amyloid cascade hypothesis: an update and reappraisal. *J Alzheimers Dis*, 2006, **9**(3 Suppl): 151-153
- [102] Liu W, Gauthier S, Jia J. Alzheimer's disease: current status and perspective. *Sci Bull*, 2022, **67**(24): 2494-2497
- [103] Cho E, Park M. Palmitoylation in Alzheimer's disease and other neurodegenerative diseases. *Pharmacol Res*, 2016, **111**: 133-151
- [104] Bhattacharyya R, Barren C, Kovacs D M. Palmitoylation of amyloid precursor protein regulates amyloidogenic processing in lipid rafts. *J Neurosci*, 2013, **33**(27): 11169-11183
- [105] Andrew R J, Fernandez C G, Stanley M, *et al.* Lack of BACE1 S-palmitoylation reduces amyloid burden and mitigates memory deficits in transgenic mouse models of Alzheimer's disease. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2017, **114**(45): E9665-E9674
- [106] Parsons R B, Austen B M. Protein-protein interactions in the assembly and subcellular trafficking of the BACE (beta-site

- amyloid precursor protein-cleaving enzyme) complex of Alzheimer's disease. *Biochem Soc Trans*, 2007, **35**(Pt 5): 974-979
- [107] Sidera C, Parsons R, Austen B. Proteolytic cascade in the amyloidogenesis of Alzheimer's disease. *Biochem Soc Trans*, 2004, **32**(Pt 1): 33-36
- [108] Song J, Yuan C, Li W, *et al.* APP palmitoylation is involved in the increase in A β_{1-42} induced by aluminum. *Brain Res*, 2022, **1774**: 147709
- [109] Vetrivel K S, Meckler X, Chen Y, *et al.* Alzheimer disease Abeta production in the absence of S-palmitoylation-dependent targeting of BACE1 to lipid rafts. *J Biol Chem*, 2009, **284**(6): 3793-3803
- [110] Motoki K, Kume H, Oda A, *et al.* Neuronal β -amyloid generation is independent of lipid raft association of β -secretase BACE1: analysis with a palmitoylation-deficient mutant. *Brain Behav*, 2012, **2**(3): 270-282
- [111] Bero A W, Yan P, Roh J H, *et al.* Neuronal activity regulates the regional vulnerability to amyloid- β deposition. *Nat Neurosci*, 2011, **14**(6): 750-756
- [112] Lee E B, Zhang B, Liu K, *et al.* BACE overexpression alters the subcellular processing of APP and inhibits Abeta deposition *in vivo*. *J Cell Biol*, 2005, **168**(2): 291-302
- [113] Briner A, Götz J, Polanco J C. Fyn kinase controls tau aggregation *in vivo*. *Cell Rep*, 2020, **32**(7): 108045
- [114] Mill P, Lee A W, Fukata Y, *et al.* Palmitoylation regulates epidermal homeostasis and hair follicle differentiation. *PLoS Genet*, 2009, **5**(11): e1000748
- [115] Koster K P, Francesconi W, Berton F, *et al.* Developmental NMDA receptor dysregulation in the infantile neuronal ceroid lipofuscinosis mouse model. *eLife*, 2019, **8**: e40316
- [116] Jia L, Fu Y, Shen L, *et al.* PSEN1, PSEN2, and APP mutations in 404 Chinese pedigrees with familial Alzheimer's disease. *Alzheimers Dement*, 2020, **16**(1): 178-191
- [117] Hannoush R N, Sun J. The chemical toolbox for monitoring protein fatty acylation and prenylation. *Nat Chem Biol*, 2010, **6**(7): 498-506
- [118] Peseckis S M, Deichaite I, Resh M D. Iodinated fatty acids as probes for myristate processing and function. Incorporation into pp60v-src. *J Biol Chem*, 1993, **268**(7): 5107-5114
- [119] Deichaite I, Berthiaume L, Peseckis S M, *et al.* Novel use of an iodo-myristyl-CoA analog identifies a semialdehyde dehydrogenase in bovine liver. *J Biol Chem*, 1993, **268**(18): 13738-13747
- [120] Berthiaume L, Deichaite I, Peseckis S, *et al.* Regulation of enzymatic activity by active site fatty acylation. A new role for long chain fatty acid acylation of proteins. *J Biol Chem*, 1994, **269**(9): 6498-6505
- [121] Charron G, Zhang M M, Yount J S, *et al.* Robust fluorescent detection of protein fatty-acylation with chemical reporters. *J Am Chem Soc*, 2009, **131**(13): 4967-4975
- [122] Hang H C, Geutjes E J, Grotenbreg G, *et al.* Chemical probes for the rapid detection of Fatty-acylated proteins in mammalian cells. *J Am Chem Soc*, 2007, **129**(10): 2744-2745
- [123] Hannoush R N, Arenas-Ramirez N. Imaging the lipidome: omega-alkynyl fatty acids for detection and cellular visualization of lipid-modified proteins. *ACS Chem Biol*, 2009, **4**(7): 581-587
- [124] Kostiuk M A, Corvi M M, Keller B O, *et al.* Identification of palmitoylated mitochondrial proteins using a bio-orthogonal azido-palmitate analogue. *FASEB J*, 2008, **22**(3): 721-732
- [125] Martin B R, Cravatt B F. Large-scale profiling of protein palmitoylation in mammalian cells. *Nat Methods*, 2009, **6**(2): 135-138
- [126] Yap M C, Kostiuk M A, Martin D D O, *et al.* Rapid and selective detection of fatty acylated proteins using omega-alkynyl-fatty acids and click chemistry. *J Lipid Res*, 2010, **51**(6): 1566-1580
- [127] Grammel M, Hang H C. Chemical reporters for biological discovery. *Nat Chem Biol*, 2013, **9**(8): 475-484
- [128] Liu Z, Yang T, Li X, *et al.* Integrative chemical biology approaches for identification and characterization of "erasers" for fatty-acid-acylated lysine residues within proteins. *Angew Chem Int Ed*, 2015, **54**(4): 1149-1152
- [129] Peng T, Thinin E, Hang H C. Proteomic analysis of fatty-acylated proteins. *Curr Opin Chem Biol*, 2016, **30**: 77-86
- [130] Storck E M, Serwa R A, Tate E W. Chemical proteomics: a powerful tool for exploring protein lipidation. *Biochem Soc Trans*, 2013, **41**(1): 56-61
- [131] Drisdell R C, Alexander J K, Sayeed A, *et al.* Assays of protein palmitoylation. *Methods*, 2006, **40**(2): 127-134
- [132] Forrester M T, Hess D T, Thompson J W, *et al.* Site-specific analysis of protein S-acylation by resin-assisted capture. *J Lipid Res*, 2011, **52**(2): 393-398
- [133] Brigidi G S, Bamji S X. Detection of protein palmitoylation in cultured hippocampal neurons by immunoprecipitation and acyl-biotin exchange (ABE). *J Vis Exp*, **2013**(72): 50031
- [134] Percher A, Ramakrishnan S, Thinin E, *et al.* Mass-tag labeling reveals site-specific and endogenous levels of protein S-fatty acylation. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2016, **113**(16): 4302-4307
- [135] Edmonds M J, Geary B, Doherty M K, *et al.* Analysis of the brain palmitoyl-proteome using both acyl-biotin exchange and acyl-resin-assisted capture methods. *Sci Rep*, 2017, **7**(1): 3299

Pathological Consequences of Altered Palmitoylation in Neurodegenerative Disorders and Its Potential as a Therapeutic Target*

LIU Wen-Ying¹⁾, WANG Shu-Heng¹⁾, JIA Jian-Ping^{1,2,3,4,5)**}

¹⁾Innovation Center for Neurological Disorders and Department of Neurology, Xuanwu Hospital, Capital Medical University,

National Clinical Research Center for Geriatric Diseases, Beijing 100053, China;

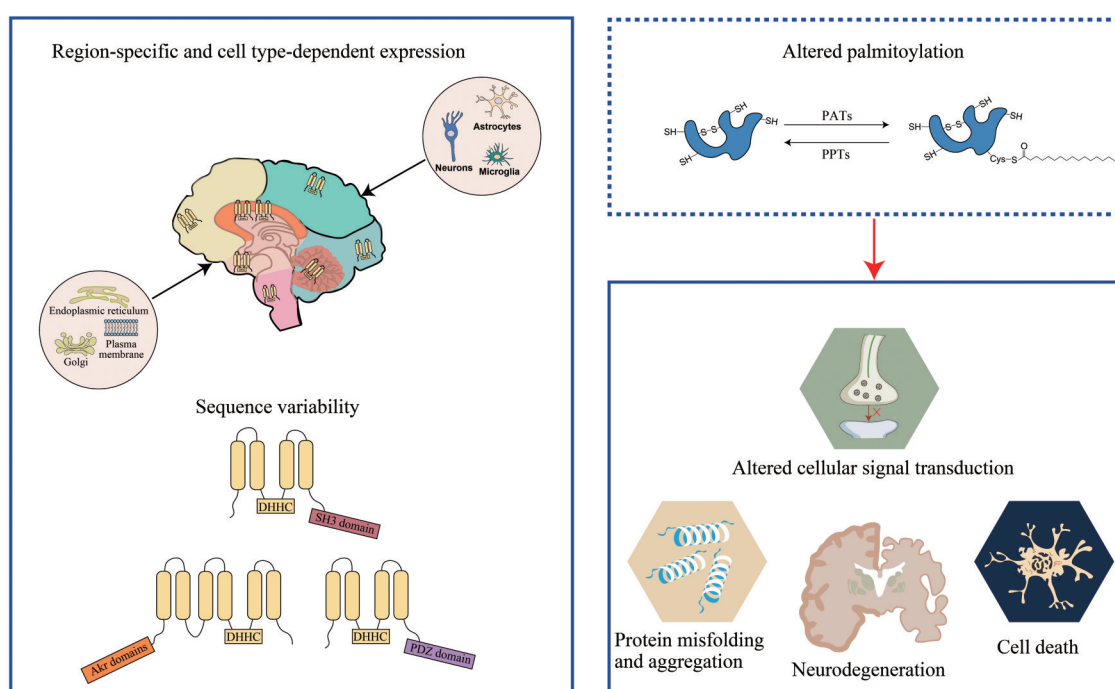
²⁾Beijing Key Laboratory of Geriatric Cognitive Disorders, Beijing 100053, China;

³⁾Clinical Center for Neurodegenerative Disease and Memory Impairment, Capital Medical University, Beijing 100053, China;

⁴⁾Center of Alzheimer's Disease, Beijing Institute of Brain Disorders, Collaborative Innovation Center for Brain Disorders, Capital Medical University, Beijing 100053, China;

⁵⁾Key Laboratory of Neurodegenerative Diseases, Ministry of Education, Beijing 100053, China)

Graphical abstract



Abstract Protein palmitoylation, a prevalent and dynamic form of S-acylation modification, plays a critical role in maintaining the functionality of the nervous system. This reversible process involves the attachment of palmitic acid to cysteine residues in proteins, anchoring them to cellular membranes and regulating their spatial

* This work was supported by grants from The National Natural Science Foundation of China (U20A20354, 31627803, 81530036), Beijing Brain Initiative from Beijing Municipal Science & Technology Commission (Z201100005520016, Z201100005520017), STI2030-Major Projects (2021ZD0201802), and the Chinese Institutes for Medical Research (CX23YZ15).

** Corresponding author.

Tel: 86-10-83199449, E-mail: jjajp@vip.126.com

Received: June 20, 2024 Accepted: August 24, 2024

distribution. The functioning of palmitoylation is crucial for normal neuronal activities, influencing key processes such as signal transduction, synaptic function, and protein trafficking. Recent research has increasingly underscored the significance of specific zinc finger Asp-His-His-Cys motif-containing (ZDHHC) S-acyltransferases in neuronal development and synaptic plasticity. These enzymes, which catalyze the palmitoylation of proteins, have emerged as pivotal regulators of brain function. Dysregulation of palmitoylation by these enzymes is now recognized as a potential contributor to the pathogenesis of various neurodegenerative diseases. This review provides an in-depth analysis of the expression patterns and functional diversity of ZDHHC enzymes across different brain regions and cell types. ZDHHC enzymes exhibit significant sequence variability and demonstrate region-specific and cell type-dependent expression. Such heterogeneity suggests that these enzymes may have specialized roles in different areas of the nervous system, making them crucial modulators of neuronal function and synaptic transmission. The review also explores the regulatory mechanisms of protein palmitoylation and their implications in neurodegenerative disease onset and progression. Altered palmitoylation can lead to the destabilization and subsequent aggregation of these proteins, exacerbating neurodegenerative processes. Abnormal palmitoylation of α -synuclein can either promote or inhibit its aggregation in Parkinson's disease pathology. Proteins related to these key pathological factors, including amyloid precursor protein (APP) and beta-secretase 1 (BACE1), are also influenced by palmitoylation, contributing to the formation of amyloid plaques through the aggregation of A β . Additionally, ZDHHC13 and ZDHHC17, which are abundantly and widely expressed in the brain, play crucial roles in this process. For instance, reduced interaction between ZDHHC17 and huntingtin could significantly contribute to the pathogenesis of Huntington's disease. Thus, modulating the palmitoylation status of these proteins presents a promising therapeutic strategy to prevent their toxic aggregation and mitigate neuronal damage. Actually, regulating palmitoylation has shown potential for therapeutic interventions in neurodegenerative diseases, with studies demonstrating that modulation of palmitoylation can restore neuronal function and improve disease symptoms. Regulating palmitoylation holds significant promise for therapeutic strategies in neurodegenerative diseases, as modulation of this process can restore neuronal function and ameliorate disease symptoms. However, progress is hindered by the lack of high-resolution structural data and comprehensive targeting maps for specific ZDHHC enzymes. Additionally, current detection methods for palmitoylation, which focus on labeling and analyzing palmitic acid and cysteine residues, are often complex and time-consuming, and may produce inconsistent palmitoyl-proteomic profiles. These methodological challenges underscore the need for more robust and efficient detection technologies. A deeper understanding of palmitoylation's role in neurological diseases, coupled with the development of improved detection methods, is essential for advancing our knowledge of the molecular underpinnings of these conditions and for the creation of innovative therapeutic strategies aimed at combating neurodegenerative diseases.

Key words palmitoylation, Alzheimer's disease, palmitoyl acyltransferases, acyl-biotin exchange

DOI: 10.16476/j.pibb.2024.0261