

糖基化RNA的研究进展及与肿瘤疾病关系的探讨

冯 陆, 段卫明*

苏州大学附属第一医院肿瘤科, 江苏 苏州

收稿日期: 2026年3月23日; 录用日期: 2026年4月18日; 发布日期: 2026年4月23日

摘 要

糖基化是将聚糖结构通过酶促反应共价连接在生物分子上的过程, 在分子及细胞层面, 糖基化是一种重要的后翻译修饰, 介导细胞识别及信号传导; 在生物个体层面, 糖基化参与调节多种生理病理过程, 发挥多种生物学效应。糖基化蛋白及糖脂的研究已历时多年, 推动糖生物学、糖组学及生物正化学的发展。基于这些研究基础, 最新突破性研究表明, 糖基化修饰同样存在于RNA分子上, 这种新发现的糖基化RNA拓展了我们对RNA转录后修饰的认知框架。在既往的研究中, 糖基化参与调节肿瘤细胞的迁徙、侵袭过程及其引发的免疫效应, 如抗原识别、免疫细胞募集、细胞间通讯等, 糖基化RNA的发现为这些生物学过程提供了全新的见解。这一重大发现是细胞学和遗传学的全新领域, 并可为肿瘤的诊疗提供新的理论依据和治疗靶点。糖基化RNA的研究内容、研究方法及相关组学正加速发展中。

关键词

糖基化RNA, 转录后修饰, 肿瘤

Research Progress on GlycoRNA and Its Relationship with Tumor Diseases

Lu Feng, Weiming Duan*

Department of Oncology, The First Affiliated Hospital of Soochow University, Suzhou Jiangsu

Received: March 23, 2026; accepted: April 18, 2026; published: April 23, 2026

Abstract

Glycosylation is a process wherein glycan structures are covalently attached to biomolecules

*通讯作者。

文章引用: 冯陆, 段卫明. 糖基化 RNA 的研究进展及与肿瘤疾病关系的探讨[J]. 临床医学进展, 2026, 16(4): 4428-4438.
DOI: 10.12677/acm.2026.1641712

through enzymatic reactions. At the molecular and cellular levels, glycosylation serves as a critical post-translational modification, mediating cell recognition and signal transduction. At the organismal level, it regulates diverse physiological and pathological processes, exerting multifaceted biological effects. The study of glycoproteins and glycolipids has spanned decades, driving advancements in glycobiology, glycomics, and bioorthogonal chemistry. Building upon this foundational research, groundbreaking studies have recently revealed that glycosylation modifications also occur on RNA molecules. This newly discovered glycoRNA expands our understanding of post-transcriptional RNA modifications. Previous research established that glycosylation regulates tumor cell migration, invasion, and associated immune responses including antigen recognition, immune cell recruitment and intercellular communication. The discovery of glycoRNA provides novel insights into these biological processes, and represents an emerging frontier in cell biology and genetics, offering new theoretical frameworks and therapeutic targets for cancer diagnosis and treatment. Research on glycoRNA—including its mechanisms, methodologies, and related omics technologies is rapidly advancing.

Keywords

GlycoRNA, Post-Transcriptional Modifications, Tumor

Copyright © 2026 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

既往研究表明,糖基化进程广泛存在于真核及部分原核生物体内,是重要的蛋白质翻译后修饰及脂质合成修饰方式。至少 700 个人类基因组基因参与聚糖生物合成[1]。从分子层面来看,糖基化修饰直接影响蛋白质的折叠过程、空间构象稳定性以及理化性质;在细胞生物学层面,糖基化参与调控蛋白质的细胞内运输、膜定位及分泌过程;并通过影响蛋白质-蛋白质相互作用、受体-配体识别以及信号转导途径等方面广泛参与细胞间通讯、免疫应答、细胞粘附等多项重要的生物学过程[2]。这一修饰过程的异常与多种人类疾病的发生发展密切相关,尤其对肿瘤疾病的病理过程起到核心调控作用,影响肿瘤增殖、迁徙、侵袭等一系列行为。

人体内的糖基化修饰种类多样,其中绝大多数为 O-糖基化和 N-糖基化蛋白修饰。N-糖基化蛋白是以 N-乙酰葡萄糖(GlcNAc)与天冬氨酸残基共价连接的糖蛋白,具有保守核心糖链结构及侧链[3]。N-糖基化蛋白的核心糖链经寡糖基转移酶(oligosaccharyltransferase, OST)与多肽链共价连接,随后糖蛋白被转运至高尔基体,在多种酶作用下形成成熟的侧链结构[4];蛋白质的 O-糖基化是糖基通过 O-糖苷键与多肽链中氨基酸(主要为丝/苏氨酸)侧链羟基相连的糖基化方式。与 N-糖基化蛋白不同, O-糖基化蛋白的糖基在细胞质中合成、活化,在内质网或高尔基体中通过多种糖基转移酶(glycosyltransferases, GTase)及糖苷酶与多肽连结并修饰成熟[5]。O-糖基化蛋白被分为多种类型,其中最常见的是粘蛋白型(mucin-type),其第一个糖基是 N-乙酰半乳糖胺(GalNAc),粘蛋白的糖链末端往往以唾液酸或岩藻酸残基结束[6]。

随着糖基化蛋白及糖脂的研究不断深入,相关的研究手段和技术不断发展。在糖链标记及解析领域,生物正交化学标记及基于数据非依赖采集质谱(DIA-MS)的定性定量研究不断发展[7] [8],为进一步拓宽糖基化合物研究领域创造了条件。在 2021 年,有研究通过叠氮化合物标记糖链的方式发现了一类被糖基化修饰的 RNA,并进一步鉴定出这种糖基化发生于非编码小 RNA (sncRNA)上,深刻影响了糖生物学的发展[9]。本文整合了目前糖基化 RNA (glycoRNA)的研究历程,介绍 glycoRNA 与肿瘤可能存在的复杂关

系, 并强调了未来的研究方向和治疗机遇。

2. GlycoRNA 的发现

RNA 的转录后修饰(Post-Transcriptional Modifications, PTMs)极为复杂, 目前已发现超过 170 种 PTMs, 广泛存在于编码与非编码 RNA 中[10]。这些修饰显著增强了 RNA 的化学多样性, 并扩展了其作为遗传物质的生物学功能。PTMs 的检测依赖于多种技术, 如基于抗体的富集方法(例如 meRIP-seq)、化学处理法以及液相色谱-串联质谱联用(LC-MS/MS)等[11]。然而, 现有技术存在诸多不足, 如 meRIP-seq 可检出修饰种类有限, 单分子分辨率不足; LC-MS/MS 操作复杂, 应用范围较窄, 等等。因此, 尽管在蛋白的翻译后修饰过程中糖基化普遍存在, 除了少数基于单糖的 tRNA 修饰[12], 以往尚未在 RNA PTMs 中发现多聚糖修饰的证据。

2021 年, Flynn (Ryan A. Flynn, Harvard University)及团队在使用基于叠氮代谢标记和生物正交反应的糖链染色过程中发现, 糖基的代谢标记富集于高度纯化的 RNA 中。他们首先将一种含有唾液酸基团的叠氮糖化合物(Ac4ManNAz)与细胞在体外环境共培养, 使其作为前体糖进入细胞的糖基化代谢过程, 随后提取细胞总 RNA 并高度纯化, 使用生物素标签与叠氮基团进行正交反应并显影。结果发现在严格对照条件下, 生物素标记信号特异性富集于特定 RNA 条带, 提示在这类 RNA 上含有糖基化修饰。随后不同细胞系的体外实验及动物体内实验均证实, 这种糖基化 RNA 并非细胞培养的人为产物, 它广泛存在于自然条件下多种细胞和组织中, 且丰度各异[9]。

2.1. GlycoRNA 的检测手段

2.1.1. 基于细胞代谢的糖链标记方法

求构建灵敏、特异且适用性强的检测手段。Flynn 团队利用糖基化合物中普遍存在的唾液酸链尾特性, 最初使用 Ac4ManNAz 作为唾液酸原料进行前文所述基于生物素标记的正交反应, 然后利用生物素与链霉亲和素的高特异性结合进行富集或可视化分析。但 Ac4ManNAz 在人体内首先代谢为唾液酸, 并进一步被活化添加进入标记糖链, 在此过程中唾液酸可能进入代谢旁路被消耗, 或对实验结果造成不可控的干扰[13]。为此可使用在细胞内直接转化为 CMP-唾液酸的 9-叠氮唾液酸(9Az-唾液酸) [14]作为代谢标记物, 实验结果与 Ac4ManNAz 标记一致。

Lu (Jun Lu, Yale University)及其团队使用溴尿苷(BrU)与中性粒细胞(Neu)共培养, 使 BrU 进入 RNA 合成途径。此后, 用生物素标记的抗 BrU 抗体和链霉亲和素直接对 Neu 进行染色, 可发现细胞膜表面对 RNaseA 酶敏感的特异性荧光信号可能为 glycoRNA 存在且定位于细胞膜表面的证据[15]。

2.1.2. 非代谢依赖的糖链标记方法

代谢依赖的糖链标记方式具有一些局限性。例如使用的 Ac4ManNAz 中的叠氮基团可能对糖代谢关键酶促反应产生抑制, 影响糖基化进程[16]; 又或代谢标记的前体糖不能充分饱和糖库, 造成对总体糖链标记的不充分。因此, 使用代谢依赖方式的标记策略是片面和局限的, 不足以表征所有类型的 glycoRNA, 为此需要开发以 glycoRNA 为底物, 直接标记糖链的方式。其中一种有效的方式是使用高碘酸盐在唾液酸残基的邻位二醇键(vicinal diols)位置形成醛键, 添加醛反应探针(CRP-Bt)进行生物素标记。这种方式被称之为 rPAL 标记法, 其灵敏度相对代谢标记法提高 25 倍[17]。rPAL 理论上可以标记所有以唾液酸作为糖链尾端的 glycoRNA, 大大提高了对 glycoRNA 表征的全面性。

对于非唾液酸作为糖链尾端的 glycoRNA, 可使用半乳糖氧化酶(GAO)氧化在 N-糖链和 O-糖链末端广泛存在的半乳糖(Gal)和 N-乙酰半乳糖胺(GalNAc), 使其侧链的醇键形成醛键, 并进一步使用 CRP-Bt 进行标记[18]。这种标记方法可与 rPAL 法互为补充。

此外, 原位杂交介导的邻近连接测定法(ARPLA)也可用来实时高效的标记 glycoRNA [19]。该方法包含一个用于结合聚糖唾液酸的单链核酸适配体(aptamer)和一个用于 glycoRNA 原位杂交的 DNA 探针, 分别识别 glycoRNA 的聚糖结构和 RNA 结构, 两者含有的模板单链 DNA (ssDNA)可邻位连接并滚环扩增(RCA), 随后与互补的荧光报告 ssDNA 偶联显影。通过这种方式, 可以实时对单细胞内的 glycoRNA 进行观察, 并通过免疫荧光染色观察 glycoRNA 分子与蛋白、脂质分子的共定位情况。但必须指出的是, 尽管这种方式灵敏度高且耗时很少, 但 aptamer 只能识别唾液酸结构, 不能表征所有的聚糖形式; 且与 RNA 杂交的 DNA 探针依赖 RNA 的序列可知, 这为探索不同 RNA 结构的 glycoRNA 带来了困难。

2.2. GlycoRNA 的亚细胞定位

2.2.1. 细胞膜分布特性

既往的观点认为, RNA 一般定位于细胞核、细胞质及特定的细胞器中, 分别发挥表观遗传修饰、转录、翻译调控、细胞器功能及代谢调控等作用[20]。此外, 细胞外 RNA (exRNA)可以通过出胞途径, 在细胞外脂质囊泡的保护下进入血液循环, 发挥细胞间通讯和调控作用[21]。glycoRNA 的发现扩充了我们对 RNA 亚细胞定位的认识。分离代谢标记细胞的细胞核、细胞质及细胞膜后提取各个部分的总 RNA, 发现 glycoRNA 信号特异性地聚集于膜性细胞结构中, 且这种信号可被无法透膜的唾液酸酶消化, 可推测绝大多数 glycoRNA 存在于细胞膜表面[9]。使用多种方法对细胞膜表面唾液酸化 glycoRNA 进行邻近标记, 也可交叉验证 glycoRNA 定位于细胞膜表面的结论[9] [19]。GlycoRNA 这种特殊的亚细胞定位为我们进一步研究其生物学功能带来了启发。

2.2.2. 合成场所及转运途径

在真核生物中, RNA 主要于细胞核中合成, 少部分来源于线粒体等细胞器。为了形成 glycoRNA, 细胞核中合成的 RNA 需要出核, 在细胞器中组装糖链并向细胞表面运输。在敲除 UDP-半乳糖-4-差向异构酶(UDP-galactose-4-epimerase Gene, GALE)的人源细胞系和 IdID 突变的中国仓鼠卵巢(CHO)细胞系中, 细胞缺乏在内质网或细胞质中合成半乳糖糖基的能力[22] [23], 研究发现这类细胞系中 glycoRNA 的含量明显减少[9]。后续对多种糖链合成关键酶的抑制或对应基因的敲除实验均可使 glycoRNA 信号强度下降[9] [24], 证明 glycoRNA 的糖链合成与糖蛋白类似, 起始于内质网或细胞质内, 在高尔基体内修剪并修饰成熟。然而, 糖链与 RNA 的装配场所是否为内质网或其他细胞器, 目前仍未确定。

RNA 在细胞内的转运方式与蛋白质不同。既往研究中, sncRNA 不存在类似蛋白质的加工转运途径, 如进入糙面内质网腔折叠、进入高尔基体加工成熟、通过转运蛋白及囊泡跨膜或出胞等等[25]。sncRNA 主要通过转运复合体、核转运受体或出口蛋白进入细胞质, 进一步通过多种核酸酶加工剪切或降解[26], 这并不能解释 glycoRNA 的细胞膜表面定位。

在对秀丽隐杆线虫(*Caenorhabditis elegans*, *C. elegans*)的研究中发现, 细胞通过 SID1/SID2 蛋白摄取外源性的双链 RNA 进行基因转录后调控[27]。这种使双链 RNA 穿过质膜的转运蛋白保守同源物存在于多数生物中, 如在人类细胞中的同源蛋白为 SIDT1 和 SIDT2, 它们定位于细胞膜、内质网及溶酶体膜上, 参与多种生理过程[28] [29]。近期的研究证实 SIDT1/2 蛋白与 glycoRNA 的表达及细胞膜定位关系密切[15]。人类 SIDT1/2 蛋白的结构已经被冷冻电镜充分表征, 其多螺旋跨膜结构域及胞外结构域共同维持两者的二聚体或寡聚体化, 并以 pH 依赖的方式转运 dsRNA、小 RNA 等多种非编码 RNA 成分[30]。此外, 有研究表明 SID1 与 dsRNA 共定位于囊泡颗粒的亚细胞器结构, 提示 SID1 蛋白家族可能作为 dsRNA 等双链 RNA 的受体, 介导包吞作用对其进行运输[28]。这些研究可以为 glycoRNA 在细胞内的转运、合成机制提供线索, 提示 glycoRNA 可能通过 SIDT1/2 等转运蛋白进入内质网进行糖基化加工及囊泡分泌。此外, 近期的研究表明, 外泌体中存在一类 glycoRNA 参与细胞间物质递送和细胞间调控[31], 这可能是

转运 glycoRNA 至细胞膜表面的另一种机制。但总的来说, 目前并没有直接证据表明 glycoRNA 的糖链装配过程发生在内质网/高尔基体这样的经典糖修饰场所中, 其潜在的糖基化位点是否可以像腔内暴露的新生肽链一样被糖基转移酶接触也未可知。未来的研究可能需要跳出经典糖修饰的思维定势, 寻找 glycoRNA 代表的特殊修饰蛋白酶体系。

3. GlycoRNA 的结构

3.1. 可被糖基化修饰的 RNA 种类

PTMs 可发生于几乎所有种类的 RNA 分子表面。在非编码 RNA 中, 转运 RNA (tRNA) 的 PTMs 种类最多[32]。糖基化修饰作为新发现的 RNA PTMs 种类, 亟需明确其修饰 RNA 的类型, 从而为进一步研究其功能奠定生化基础。

在对 HeLa 细胞内总 RNA 进行代谢标记, 分离大小 RNA 后发现 glycoRNA 信号总是富集在小 RNA 内; 进一步使用链霉亲和素磁珠富集 glycoRNA, 构建 RNA 测序文库并进行转录本测序, 发现 glycoRNA 富集于 Y RNA、小核 RNA (snRNA)、核糖体 RNA (rRNA)、小核仁 RNA (snoRNA) 和 tRNA 中[9]。此外, 在鼠源中性粒细胞中提取总 RNA, 使用凝集素下拉唾液酸修饰的 RNA 构建 glycoRNA 文库, 得到了与上述 HeLa 细胞中一致的结果[15]。这充分证实 glycoRNA 是一类普遍存在的非编码小 RNA 分子。

3.2. GlycoRNA 的糖链结构及与 RNA 的连接方式

众所周知, 真核生物糖蛋白的 N-糖链在内质网中合成, 再通过糖苷键共价连接在肽链的天冬酰胺(Asn)上, 形成具有五碳糖骨架的特定结构。由于 N-糖链的这种合成途径高度保守[33], glycoRNA 中很可能也存在类似的 N-糖基化合成途径, 这被后续的实验所证实(见 2.2.2)。使用具有 N-糖链核心特异性的不同糖苷内切酶消化, 或敲除 N-糖基化的关键酶 OST 后, glycoRNA 的代谢标记信号明显减少; 对多种细胞的 glycoRNA 糖链的质谱分析也发现了多种唾液酸或岩藻酸化的 N-糖链结构[9]。综上, glycoRNA 中存在 N-糖基化 RNA。

有研究将 N-糖基化的 glycoRNA 使用不同的酶消化策略消化, 分离含有糖链的碱基, 并进行精确的亚结构质谱分析(SWATH-MS), 发现 acp3U 丰度很高, 这种包含核苷酸与氨基酸的超修饰碱基上存在一个被羧化的氨基酸残基, 这正是糖链连接的特征性痕迹。后续进一步的质谱分析证实了 acp3U 是 N-糖链连接到 RNA 核苷酸上的“锚点”[17]。这一发现揭示了 N-糖基化 RNA 的关键糖基化位点, 为后续 glycoRNA 的功能研究提供了分子生物学依据。

由于酶水解策略难以获得完整的 O-糖链结构[34], 在研究 glycoRNA 中是否存在 O-聚糖修饰时, 研究者使用高碘酸氧化-β 消除法释放 glycoRNA 上可能存在的 O-糖链, 并通过 DIA-MS 质谱分析糖链结构, 与基于 GlycanDIA 建立的糖数据库[35]进行比对, 发现了多种 O-糖链结构; 且逐步敲除 O-聚糖修饰的关键糖基转移酶对 rPAL 标记信号均有不同程度的影响。使用对 O-糖链敏感的凝集素-生物素结合细胞膜表面的 O-糖链, 并对附近的 RNA 进行邻近标记, 可见与 O-糖链相邻的 RNA 存在。但目前并没有 O-糖基化 RNA 存在的直接证据, 也没有揭示这种可能存在的 glycoRNA 的具体分子结构。

4. GlycoRNA 的生物学功能及与肿瘤疾病的关系

4.1. GlycoRNA 可能发挥选择素配体的作用

选择素(selectin)是一类涉及细胞间相互作用和信号转导的凝集素, 在人体血液细胞及内皮细胞表面广泛存在。选择素一般被分为 E-选择素(E-selectin)、L-选择素(L-selectin)和 P-选择素(P-selectin), 它们是针对高度异质的细胞外表面糖萼的重要受体, 并参与诸如炎症反应、免疫细胞黏附等多种生物学过程[36]。

所有的选择素都含有保守同源的膜外结构域, 可结合特定的糖基团, 例如含有唾液酸和岩藻酸的四糖结构 sLeX 或 sLeA [37], 从而作为信号转导分子参与肿瘤细胞的迁徙、侵袭和转移过程。肿瘤细胞通过多种机制侵袭血管内皮, 与白细胞或血小板结合形成细胞簇, 从而耐受无附着的生存环境, 逃避免疫细胞的监视, 迁徙到新的部位形成转移。选择素参与了上述过程的各个环节[38]-[43]。

最近的一项研究发现, 通过酶消化或基因敲除(见 2.2.2)等方式消除小鼠中性粒细胞表面的 glycoRNA 后, 中性粒细胞在体外和体内环境中与血管内皮的相互作用下降, 从而使其迁徙能力受到明显影响。细胞表面的 glycoRNA 与 P-选择素糖蛋白配体(PSGL-1)一样, 可作为 P-选择素配体调节细胞在内皮细胞上的滚动及迁徙[15]。由于肿瘤细胞与中性粒细胞具有相似的迁徙方式, 可推测肿瘤细胞表面的 glycoRNA 也可以依靠含有唾液酸或岩藻酸的四糖结构与选择素结合, 调节其在内皮细胞上的滚动迁徙并最终影响肿瘤的转移。相关理论、机制的研究论证亟需进一步完善。

4.2. GlycoRNA 可能发挥唾液酸结合性免疫球蛋白样凝集素配体的作用

唾液酸结合性免疫球蛋白样凝集素(Siglec)是一类可以结合唾液酸聚糖结合的受体家族, 根据对免疫细胞的影响, 可分为抑制型、激活型和无信号传导型 Siglec 受体, 其中大多数 Siglec 是抑制性受体[44] [45]。抑制性 Siglec 受体通过唾液酸聚糖配体结合细胞表面糖链, 并通过一个包含免疫受体酪氨酸抑制基序(ITIM)的胞内结构域进行细胞内信号传导, 抑制免疫细胞的激活, 这与程序性死亡受体 1 (PD-1)与其配体结合后抑制免疫细胞的机制类似[46] [47]。

肿瘤细胞的唾液酸糖基化程度异常升高[48], 其丰富的唾液酸基团成为免疫细胞上 Siglec 受体的配体, 通过免疫抑制促进微环境中肿瘤的生长、侵袭及转移。例如胰腺导管腺癌(PDAC)细胞的高唾液酸化可使单核细胞向促肿瘤巨噬细胞极化, 抑制 T 细胞活性, 促进肿瘤转移[49]; 在非小细胞肺癌和黑色素瘤中, 唾液酸配体能够与肿瘤浸润性 CD8+ T 细胞上表达的 Siglec-9 结合, 抑制细胞免疫[50] [51]; 此外, Siglec-7 可作为唾液酸化 CD43 及 PSGL-1 的受体, 分别抑制自然杀伤细胞对 K562 白血病细胞及骨髓瘤细胞的固有免疫[52] [53], 等等。这样的例子不胜枚举, 揭示肿瘤细胞表面的唾液酸糖基化对固有免疫及适应性免疫的深刻影响。

既往的研究已经证实, glycoRNA 具有丰富的唾液酸残基尾端。由于 siglec 受体与唾液酸残基强烈的结合性, 不难推测 glycoRNA 可作为 siglec 的配体。在对 HeLa 细胞表面 glycoRNA 进行研究的过程中发现, 有 9 种人 Siglec-Fc 受体能够在流式细胞学检测中以高于本底的水平结合 HeLa 细胞, 其中两种 Siglec-Fc 试剂(Siglec-11 和 Siglec-14)的结合对 RnaseA 处理敏感。这些数据支持细胞表面 glycoRNA 可能是 Siglec 配体的假设[9]。此外, 代谢标记人白血病 THP-1 细胞后进行免疫共沉淀显示 Siglec-5 能特异性结合 THP-1 细胞的 glycoRNA, 使用 RnaseA 消化 THP-1 细胞或使用 Siglec-5-Fc 抗体孵育 HUVECs, 均可显著降低 THP-1 细胞与 HUVEC 的黏附效应[54]。在肿瘤微环境(TME)及肿瘤生长、转移的过程中, 肿瘤细胞与免疫细胞、血管内皮细胞的关系错综复杂, glycoRNA 作为 Siglec 的配体, 可能会深刻影响并调控对应的生物学进程。

4.3. GlycoRNA 可被细胞外囊泡运载并参与细胞间通讯或信号传导

细胞穿透肽(Cell-Penetrating peptides, CPPs)是一类特殊的膜活性肽, 能够不依赖受体地将核酸、蛋白质等分子递送至细胞内部, 并保持细胞的完整性[55]。CPPs 主要分为三型: 阳离子型、疏水型和两性型。阳离子 CPPs 可通过正电荷氨基酸与带负电磷脂的静电作用促进肽段内移[56]; 疏水型 CPPs 利用非极性氨基酸残基的低电荷状态及疏水相互作用促进多肽摄取[57]; 两性 CPPs 同时包含极性和非极性氨基酸区域, 通过非共价相互作用穿越磷脂双分子膜, 并发挥细胞间转运能力[58]。

CPPs 在肿瘤治疗中前景广阔, 既能作为载体连接负载药物和生物标记, 又能发挥本身作为肽段的配

体特性, 参与细胞信号传导, 调控细胞增殖和凋亡等关键生理环节[59]。在具体应用中, CPPs 可跨越血脑屏障用于脑瘤的诊断与治疗; 与细胞周期蛋白结合阻滞食管癌细胞周期、诱导凋亡并抑制肿瘤生长; 抗菌肽类 CPPs 能选择性破坏膀胱肿瘤细胞膜, 促进细胞凋亡; 此外, CPPs 可与化疗药物等结合形成递送系统, 能在多种恶性肿瘤治疗中增强药物疗效、提高分子摄取效率, 并且降低化疗药物剂量及副作用[60]。然而, CPPs 及其载物穿透细胞膜的具体分子机制及功能区结构仍不清楚。

研究发现, 在传统观念中存在于细胞核内的许多 RNA 结合蛋白(RBPs)也存在于细胞表面, 称为细胞表面 RBPs (csRBPs), 它们属于细胞表面蛋白家族。共聚焦超分辨率成像显示, 他们在细胞表面形成纳米簇, 并与其他细胞表面蛋白, 如主要组织相容复合物蛋白(MHC)等在空间上分离。进一步研究发现许多双链 RNA 与 csRBPs 簇共定位, 而这些双链 DNA 抗体标记的细胞表面 RNA 可以被生物素-苯胺邻近标记, 被证实为含有唾液酸的 glycoRNA。这种与 csRBPs 共定位的 glycoRNA 在很大程度上介导了 CPPs (例如 TAT)穿过细胞膜进入胞内的过程[61], 说明 glycoRNA-csRBPs 蛋白簇复合结构是 CPPs 穿透细胞膜的重要分子载体和功能区。这一发现可以为 CPPs 载药抗肿瘤治疗提供新的分子靶点和生物学标志物, 并为进一步优化药物分子结构提供重要的生化依据。

4.4. GlycoRNA 可被细胞外囊泡运载并参与细胞间通讯或信号传导

细胞外囊泡(EVs)是由细胞释放的包含细胞成分的膜结构, 其磷脂膜构成与细胞质膜类似, 表面暴露脂质及跨膜蛋白的胞外域, 内部包裹蛋白质、核酸的细胞质成分[62]。在真核细胞中, 部分 EVs 以内体途径形成, 通过多泡体与质膜融合后以外泌体形式释放; 另一些如微囊泡、凋亡小体等则直接由质膜出芽产生。由于携带来源于母细胞的特定成分, EVs 可作为能够溯源的循环生物标志物。

EVs 具有多种重要的生物学功能。例如, EVs 表面的配体可以与靶细胞上的同源受体结合, 启动信号级联反应; 内化的 EVs 在被降解后, 释放的内容物可转移至邻近靶细胞的细胞质中发挥作用, 甚至能通过血液或淋巴管将内容物传递给远处的靶细胞; 此外, EVs 还可作为细胞与细胞外基质(ECM)互相调控的媒介[63]。EVs 的这些生理功能成为肿瘤细胞间通讯的关键介质。在肿瘤发展早期, 癌基因会改变肿瘤生态位中 EVs 的释放、大小及其组成[64], 抑癌基因如 P53 的激活则会促进 EVs 的释放[65], 此外, 增殖通路的关键调控基因如突变型 RAS 基因还通过胞饮作用诱导 EVs 进入癌细胞, 并促进上皮细胞的间质转化[66] [67]。在肿瘤转移过程中, 进入循环的 EVs 可通过改变血管通透性、调控免疫细胞、重塑 ECM、活化基质细胞等方式, 促进转移生态位的形成[68]。综上, EVs 及其中的内含物质参与肿瘤发生发展全过程。

最近, 研究人员使用叠氮基糖类似物(Ac4GalNAz, Ac4ManNAz, Ac4GlcNAz)代谢标记细胞中 glycoRNA 糖基上的不同位点, 并分离细胞的胞质、膜细胞器及外泌体, 发现除了 Ac4ManNAz 标记的含唾液酸 glycoRNA 主要存在于细胞表面外, Ac4GalNAz 标记的 glycoRNA 几乎完全存在于外泌体中, 可被递送至受体细胞, 实现细胞间 glycoRNA 的转移[30]。鉴于外泌体及其携带的糖基化分子与肿瘤发生发展的密切关系, glycoRNA 很可能通过外泌体参与肿瘤微环境的构成和调节, 并可能成为潜在的治疗靶点及肿瘤检测和诊断的新方式。此外, 不同患者个体或不同类型肿瘤的 glycoRNA 谱系不同, 其特异性有助于推动个体化治疗。总之, 外泌体中广泛存在的 glycoRNA 为深入理解肿瘤糖生物学开辟了新的方向。

5. 总结与展望

GlycoRNA 的发现起始于偶然的点击化学实验, 但又有其内在的必然性。糖基化是高度保守的生物分子修饰, 其基本机制在真核生物中高度保守, 体现了糖基化修饰在进化历程中的重要地位; 糖基化又是高度可变和可塑的, 为生物多样性和复杂性的演化提供了基础, 赋予生物体适应环境变化和基因压力的能力。糖基化的调控精准而迅速, 这种动态特性允许细胞迅速响应环境变化。RNA 是存在大量转录后

修饰的重要的生物分子, 基于上述糖基化修饰的种种特点, 其在 RNA 上的缺席让人难以置信。这种困惑和由此催生出的研究动机最终导致 glycoRNA 的发现, 并吸引了无数团队的研究热情。目前, 关于 glycoRNA 我们仍然知之甚少, glycoRNA 的精确分子结构、合成途径、细胞定位、生物学功能等许多关键问题还很模糊, 其与多种疾病, 尤其是免疫系统疾病、代谢疾病及肿瘤的关系还不明确。但我们针对糖基化蛋白、糖脂及 RNA 转录后修饰的多年研究, 积累了丰富的经验与先进技术, 这将有力推进 glycoRNA 研究进程。

针对 glycoRNA 的研究突破, 将依赖于跨学科技术的融合与创新, 如加快构建 glycoRNA 组学, 结合基于点击化学探针的高效糖链富集、基于非数据依赖的精确质谱与高通量的 RNA 测序技术, 绘制不同细胞类型、组织乃至不同癌种或疾病模型中的“glycoRNA 图谱”, 鉴定出作为疾病诊断治疗标志物的关键 glycoRNA 分子; 利用 CRISPR 筛选、蛋白质组学等技术, 鉴定负责特定 RNA 糖基化的关键糖基转移酶、合成酶及其调控因子, 为开发靶向 glycoRNA 通路的抑制剂或调节剂提供精准的药物靶点; 探索 glycoRNA 与蛋白质糖基化、脂质代谢以及经典 RNA 修饰(如 m⁶A 修饰)之间的潜在调控网络, 更加深入地理解其在细胞信号调节和表型调控中的角色, 等等。这些研究将逐步揭开 glycoRNA 复杂的生物学面纱, 为理解免疫识别、肿瘤演进、神经退行性病变等众多生理与病理过程提供全新视角, 指导未来的医学实践。

参考文献

- [1] Schjoldager, K.T., Narimatsu, Y., Joshi, H.J. and Clausen, H. (2020) Global View of Human Protein Glycosylation Pathways and Functions. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, **21**, 729-749. <https://doi.org/10.1038/s41580-020-00294-x>
- [2] Zhong, Q., Xiao, X., Qiu, Y., Xu, Z., Chen, C., Chong, B., *et al.* (2023) Protein Posttranslational Modifications in Health and Diseases: Functions, Regulatory Mechanisms, and Therapeutic Implications. *MedComm*, **4**, e261. <https://doi.org/10.1002/mco2.261>
- [3] Schwarz, F. and Aebi, M. (2011) Mechanisms and Principles of N-Linked Protein Glycosylation. *Current Opinion in Structural Biology*, **21**, 576-582. <https://doi.org/10.1016/j.sbi.2011.08.005>
- [4] Aebi, M. (2013) N-Linked Protein Glycosylation in the ER. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)—Molecular Cell Research*, **1833**, 2430-2437. <https://doi.org/10.1016/j.bbamcr.2013.04.001>
- [5] Corfield, A. (2017) Eukaryotic Protein Glycosylation: A Primer for Histochemists and Cell Biologists. *Histochemistry and Cell Biology*, **147**, 119-147. <https://doi.org/10.1007/s00418-016-1526-4>
- [6] Bennett, E.P., Mandel, U., Clausen, H., Gerken, T.A., Fritz, T.A. and Tabak, L.A. (2012) Control of Mucin-Type O-Glycosylation: A Classification of the Polypeptide Galnac-Transferase Gene Family. *Glycobiology*, **22**, 736-756. <https://doi.org/10.1093/glycob/cwr182>
- [7] Saxon, E. and Bertozzi, C.R. (2001) Chemical and Biological Strategies for Engineering Cell Surface Glycosylation. *Annual Review of Cell and Developmental Biology*, **17**, 1-23. <https://doi.org/10.1146/annurev.cellbio.17.1.1>
- [8] Dong, M., Lih, T.M., Ao, M., Hu, Y., Chen, S., Egeuz, R.V., *et al.* (2021) Data-Independent Acquisition-Based Mass Spectrometry (DIA-MS) for Quantitative Analysis of Intact N-Linked Glycopeptides. *Analytical Chemistry*, **93**, 13774-13782. <https://doi.org/10.1021/acs.analchem.1c01659>
- [9] Flynn, R.A., Pedram, K., Malaker, S.A., Batista, P.J., Smith, B.A.H., Johnson, A.G., *et al.* (2021) Small RNAs Are Modified with N-Glycans and Displayed on the Surface of Living Cells. *Cell*, **184**, 3109-3124.e22. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2021.04.023>
- [10] Boccaletto, P., Stefaniak, F., Ray, A., Cappannini, A., Mukherjee, S., Purta, E., *et al.* (2022) MODOMICS: A Database of RNA Modification Pathways. 2021 Update. *Nucleic Acids Research*, **50**, D231-D235. <https://doi.org/10.1093/nar/gkab1083>
- [11] Björkbohm, A., Lelyveld, V.S., Zhang, S., Zhang, W., Tam, C.P., Blain, J.C., *et al.* (2015) Bidirectional Direct Sequencing of Noncanonical RNA by Two-Dimensional Analysis of Mass Chromatograms. *Journal of the American Chemical Society*, **137**, 14430-14438. <https://doi.org/10.1021/jacs.5b09438>
- [12] Suzuki, T., Ogizawa, A., Ishiguro, K. and Nagao, A. (2025) Biogenesis and Roles of tRNA Queuosine Modification and Its Glycosylated Derivatives in Human Health and Diseases. *Cell Chemical Biology*, **32**, 227-238. <https://doi.org/10.1016/j.chembiol.2024.11.004>
- [13] Luchansky, S.J., Argade, S., Hayes, B.K. and Bertozzi, C.R. (2004) Metabolic Functionalization of Recombinant

- Glycoproteins. *Biochemistry*, **43**, 12358-12366. <https://doi.org/10.1021/bi049274f>
- [14] Kosa, R.E. and Gross, H.J. (1993) Modification of Cell Surfaces by Enzymatic Introduction of Special Sialic Acid Analogues. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, **190**, 914-920. <https://doi.org/10.1006/bbrc.1993.1136>
- [15] Zhang, N., Tang, W., Torres, L., Wang, X., Ajaj, Y., Zhu, L., *et al.* (2024) Cell Surface RNAs Control Neutrophil Recruitment. *Cell*, **187**, 846-860.e17. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2023.12.033>
- [16] Liu, F., Chen, H., Armstrong, Z. and Withers, S.G. (2022) Azido Groups Hamper Glycan Acceptance by Carbohydrate Processing Enzymes. *ACS Central Science*, **8**, 656-662. <https://doi.org/10.1021/acscentsci.1c01172>
- [17] Xie, Y., Chai, P., Till, N.A., Hemberger, H., Lebedenko, C.G., Porat, J., *et al.* (2024) The Modified RNA Base acp3U Is an Attachment Site for N-Glycans in glycoRNA. *Cell*, **187**, 5228-5237.e12. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2024.07.044>
- [18] Li, J., Yue, S., Gao, Z., Hu, W., Liu, Z., Xu, G., *et al.* (2023) Novel Approach to Enriching Glycosylated RNAs: Specific Capture of GlycoRNAs via Solid-Phase Chemistry. *Analytical Chemistry*, **95**, 11969-11977. <https://doi.org/10.1021/acs.analchem.3c01630>
- [19] Ma, Y., Guo, W., Mou, Q., Shao, X., Lyu, M., Garcia, V., *et al.* (2024) Spatial Imaging of glycoRNA in Single Cells with ARPLA. *Nature Biotechnology*, **42**, 608-616. <https://doi.org/10.1038/s41587-023-01801-z>
- [20] Biayna, J. and Dumbović, G. (2025) Decoding Subcellular RNA Localization One Molecule at a Time. *Genome Biology*, **26**, Article No. 45. <https://doi.org/10.1186/s13059-025-03507-8>
- [21] O'Brien, K., Breyne, K., Ughetto, S., Laurent, L.C. and Breakefield, X.O. (2020) RNA Delivery by Extracellular Vesicles in Mammalian Cells and Its Applications. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, **21**, 585-606. <https://doi.org/10.1038/s41580-020-0251-y>
- [22] Kingsley, D.M., Kozarsky, K.F., Hobbie, L. and Krieger, M. (1986) Reversible Defects in O-Linked Glycosylation and LDL Receptor Expression in a UDP-Gal/UDP-GalNAc 4-Epimerase Deficient Mutant. *Cell*, **44**, 749-759. [https://doi.org/10.1016/0092-8674\(86\)90841-x](https://doi.org/10.1016/0092-8674(86)90841-x)
- [23] Schumann, B., Malaker, S.A., Wisnovsky, S.P., Debets, M.F., Agbay, A.J., Fernandez, D., Wagner, L.J.S., Lin, L., Choi, J., Fox, D.M., *et al.* (2019) Chemical Precision glyco-Mutagenesis by Glycosyltransferase Engineering in Living Cells.
- [24] Kins, C.P., Jin, C., *et al.* (2024) O-Glycosylation Contributes to Mammalian glycoRNA Biogenesis.
- [25] Nickel, W. (2010) Pathways of Unconventional Protein Secretion. *Current Opinion in Biotechnology*, **21**, 621-626. <https://doi.org/10.1016/j.copbio.2010.06.004>
- [26] Chen, L. and Kim, V.N. (2024) Small and Long Non-Coding RNAs: Past, Present, and Future. *Cell*, **187**, 6451-6485. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2024.10.024>
- [27] Feinberg, E.H. and Hunter, C.P. (2003) Transport of dsRNA into Cells by the Transmembrane Protein SID-1. *Science*, **301**, 1545-1547. <https://doi.org/10.1126/science.1087117>
- [28] Zhang, J., Zhan, C., Fan, J., Wu, D., Zhang, R., Wu, D., *et al.* (2024) Structural Insights into Double-Stranded RNA Recognition and Transport by SID-1. *Nature Structural & Molecular Biology*, **31**, 1095-1104. <https://doi.org/10.1038/s41594-024-01276-9>
- [29] Nguyen, T.A., Smith, B.R.C., Elgass, K.D., Creed, S.J., Cheung, S., Tate, M.D., *et al.* (2019) SIDT1 Localizes to Endolysosomes and Mediates Double-Stranded RNA Transport into the Cytoplasm. *The Journal of Immunology*, **202**, 3483-3492. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.1801369>
- [30] Zheng, L., Yang, T., Guo, H., Qi, C., Lu, Y., Xiao, H., *et al.* (2024) Cryo-EM Structures of Human SID-1 Transmembrane Family Proteins and Implications for Their Low-pH-Dependent RNA Transport Activity. *Cell Research*, **34**, 80-83. <https://doi.org/10.1038/s41422-023-00893-1>
- [31] Sharma, S., Jiao, X., Yang, J., Kwan, K.Y. and Kiledjian, M. (2025) Extracellular Exosomal RNAs Are glyco-Modified. *Nature Cell Biology*, **27**, 983-991.
- [32] Liu, W., Zheng, S., Li, T., Fei, Y., Wang, C., Zhang, S., *et al.* (2024) RNA Modifications in Cellular Metabolism: Implications for Metabolism-Targeted Therapy and Immunotherapy. *Signal Transduction and Targeted Therapy*, **9**, Article No. 70. <https://doi.org/10.1038/s41392-024-01777-5>
- [33] Varki, A., Cummings, R.D., Esko, J.D., *et al.* (2022) Essentials of Glycobiology. 4th Edition, Cold Spring Harbor Laboratory Press.
- [34] Wilkinson, H. and Saldova, R. (2020) Current Methods for the Characterization of O-Glycans. *Journal of Proteome Research*, **19**, 3890-3905. <https://doi.org/10.1021/acs.jproteome.0c00435>
- [35] Xie, Y., Liu, X., Yi, L., Wang, S., Lin, Z., Zhao, C., *et al.* (2025) Development and Application of GlycanDIA Workflow for Glycomic Analysis. *Nature Communications*, **16**, Article No. 7075. <https://doi.org/10.1038/s41467-025-61473-y>
- [36] Varki, A. (2017) Biological Roles of Glycans. *Glycobiology*, **27**, 3-49. <https://doi.org/10.1093/glycob/cww086>
- [37] Tvaroška, I., Selvaraj, C. and Koča, J. (2020) Selectins—The Two Dr. Jekyll and Mr. Hyde Faces of Adhesion

- Molecules—A Review. *Molecules*, **25**, Article No. 2835. <https://doi.org/10.3390/molecules25122835>
- [38] Schwarz, S., Gockel, L.M., Naggi, A., Barash, U., Gobec, M., Bendas, G., *et al.* (2020) Glycosaminoglycans as Tools to Decipher the Platelet Tumor Cell Interaction: A Focus on P-Selectin. *Molecules*, **25**, Article No. 1039. <https://doi.org/10.3390/molecules25051039>
- [39] McDonald, B., Spicer, J., Giannais, B., Fallavollita, L., Brodt, P. and Ferri, L.E. (2009) Systemic Inflammation Increases Cancer Cell Adhesion to Hepatic Sinusoids by Neutrophil Mediated Mechanisms. *International Journal of Cancer*, **125**, 1298-1305. <https://doi.org/10.1002/ijc.24409>
- [40] Witz, I.P. (2008) The Selectin-Selectin Ligand Axis in Tumor Progression. *Cancer and Metastasis Reviews*, **27**, 19-30. <https://doi.org/10.1007/s10555-007-9101-z>
- [41] Edwards, E.E., Oh, J., Anilkumar, A., Birmingham, K.G. and Thomas, S.N. (2017) P-, but Not E- or L-, Selectin-Mediated Rolling Adhesion Persistence in Hemodynamic Flow Diverges between Metastatic and Leukocytic Cells. *Oncotarget*, **8**, 83585-83601. <https://doi.org/10.18632/oncotarget.18786>
- [42] Kannagi, R., Izawa, M., Koike, T., Miyazaki, K. and Kimura, N. (2004) Carbohydrate-Mediated Cell Adhesion in Cancer Metastasis and Angiogenesis. *Cancer Science*, **95**, 377-384. <https://doi.org/10.1111/j.1349-7006.2004.tb03219.x>
- [43] Kim, Y.J., Borsig, L., Han, H., Varki, N.M. and Varki, A. (1999) Distinct Selectin Ligands on Colon Carcinoma Mucins Can Mediate Pathological Interactions among Platelets, Leukocytes, and Endothelium. *The American Journal of Pathology*, **155**, 461-472. [https://doi.org/10.1016/s0002-9440\(10\)65142-5](https://doi.org/10.1016/s0002-9440(10)65142-5)
- [44] Adams, O.J., Stanczak, M.A., von Gunten, S. and Läubli, H. (2018) Targeting Sialic Acid-Siglec Interactions to Reverse Immune Suppression in Cancer. *Glycobiology*, **28**, 640-647. <https://doi.org/10.1093/glycob/cwx108>
- [45] Bochner, B.S. and Zimmermann, N. (2015) Role of Siglecs and Related Glycan-Binding Proteins in Immune Responses and Immunoregulation. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, **135**, 598-608. <https://doi.org/10.1016/j.jaci.2014.11.031>
- [46] van de Wall, S., Santegoets, K.C.M., van Houtum, E.J.H., Büll, C. and Adema, G.J. (2020) Sialoglycans and Siglecs Can Shape the Tumor Immune Microenvironment. *Trends in Immunology*, **41**, 274-285. <https://doi.org/10.1016/j.it.2020.02.001>
- [47] Lin, X., Kang, K., Chen, P., Zeng, Z., Li, G., Xiong, W., *et al.* (2024) Regulatory Mechanisms of PD-1/PD-L1 in Cancers. *Molecular Cancer*, **23**, Article No. 108. <https://doi.org/10.1186/s12943-024-02023-w>
- [48] Stowell, S.R., Ju, T. and Cummings, R.D. (2015) Protein Glycosylation in Cancer. *Annual Review of Pathology: Mechanisms of Disease*, **10**, 473-510. <https://doi.org/10.1146/annurev-pathol-012414-040438>
- [49] Rodriguez, E., Boelaars, K., Brown, K., Eveline Li, R.J., Kruijssen, L., Buijns, S.C.M., *et al.* (2021) Sialic Acids in Pancreatic Cancer Cells Drive Tumour-Associated Macrophage Differentiation via the Siglec Receptors Siglec-7 and Siglec-9. *Nature Communications*, **12**, Article No. 1270. <https://doi.org/10.1038/s41467-021-21550-4>
- [50] Stanczak, M.A., Siddiqui, S.S., Trefny, M.P., Thommen, D.S., Boligan, K.F., von Gunten, S., *et al.* (2018) Self-Associated Molecular Patterns Mediate Cancer Immune Evasion by Engaging Siglecs on T Cells. *Journal of Clinical Investigation*, **128**, 4912-4923. <https://doi.org/10.1172/jci.120612>
- [51] Haas, Q., Boligan, K.F., Jandus, C., Schneider, C., Simillion, C., Stanczak, M.A., *et al.* (2019) Siglec-9 Regulates an Effector Memory CD8+ T-Cell Subset That Congregates in the Melanoma Tumor Microenvironment. *Cancer Immunology Research*, **7**, 707-718. <https://doi.org/10.1158/2326-6066.cir-18-0505>
- [52] Wisnovsky, S., Möckl, L., Malaker, S.A., Pedram, K., Hess, G.T., Riley, N.M., *et al.* (2021) Genome-Wide CRISPR Screens Reveal a Specific Ligand for the Glycan-Binding Immune Checkpoint Receptor Siglec-7. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, **118**, e2015024118. <https://doi.org/10.1073/pnas.2015024118>
- [53] Daly, J., Sarkar, S., Natoni, A., Stark, J.C., Riley, N.M., Bertozzi, C.R., *et al.* (2022) Targeting Hypersialylation in Multiple Myeloma Represents a Novel Approach to Enhance NK Cell-Mediated Tumor Responses. *Blood Advances*, **6**, 3352-3366. <https://doi.org/10.1182/bloodadvances.2021006805>
- [54] Li, Y., Qian, Y., Huang, E., Schwarz, Z., Tai, H., Tillock, K., *et al.* (2025) GlycoRNA-L and glycoRNA-S Mediate Human Monocyte Adhesion via Binding to Siglec-5. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)—Molecular Cell Research*, **1872**, Article ID: 120017. <https://doi.org/10.1016/j.bbamcr.2025.120017>
- [55] Avci, F.G., Sariyar Akbulut, B. and Ozkirimli, E. (2018) Membrane Active Peptides and Their Biophysical Characterization. *Biomolecules*, **8**, Article No. 77. <https://doi.org/10.3390/biom8030077>
- [56] Green, M., Ishino, M. and Loewenstein, P.M. (1989) Mutational Analysis of HIV-1 Tat Minimal Domain Peptides: Identification of Trans-Dominant Mutants That Suppress HIV-LTR-Driven Gene Expression. *Cell*, **58**, 215-223. [https://doi.org/10.1016/0092-8674\(89\)90417-0](https://doi.org/10.1016/0092-8674(89)90417-0)
- [57] Song, J., Qian, Z., Sahni, A., Chen, K. and Pei, D. (2019) Cyclic Cell-Penetrating Peptides with Single Hydrophobic Groups. *ChemBioChem*, **20**, 2085-2088. <https://doi.org/10.1002/cbic.201900370>

-
- [58] Váňová, J., Hejtmánková, A., Kalbáčová, M.H. and Španielová, H. (2019) The Utilization of Cell-Penetrating Peptides in the Intracellular Delivery of Viral Nanoparticles. *Materials*, **12**, Article No. 2671. <https://doi.org/10.3390/ma12172671>
- [59] Borrelli, A., Tornesello, A., Tornesello, M. and Buonaguro, F. (2018) Cell Penetrating Peptides as Molecular Carriers for Anti-Cancer Agents. *Molecules*, **23**, Article No. 295. <https://doi.org/10.3390/molecules23020295>
- [60] Vale, N., Duarte, D., Silva, S., Correia, A.S., Costa, B., Gouveia, M.J., *et al.* (2020) Cell-Penetrating Peptides in Oncologic Pharmacotherapy: A Review. *Pharmacological Research*, **162**, Article ID: 105231. <https://doi.org/10.1016/j.phrs.2020.105231>
- [61] Perr, J., Langen, A., Almahayni, K., Nestola, G., Chai, P., Lebedenko, C.G., *et al.* (2025) RNA-Binding Proteins and glycoRNAs Form Domains on the Cell Surface for Cell-Penetrating Peptide Entry. *Cell*, **188**, 1878-1895.e25. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2025.01.040>
- [62] Jeppesen, D.K., Fenix, A.M., Franklin, J.L., Higginbotham, J.N., Zhang, Q., Zimmerman, L.J., *et al.* (2019) Reassessment of Exosome Composition. *Cell*, **177**, 428-445.e18. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2019.02.029>
- [63] van Niel, G., D'Angelo, G. and Raposo, G. (2018) Shedding Light on the Cell Biology of Extracellular Vesicles. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, **19**, 213-228. <https://doi.org/10.1038/nrm.2017.125>
- [64] Kilinc, S., Paisner, R., Camarda, R., Gupta, S., Momcilovic, O., Kohnz, R.A., *et al.* (2021) Oncogene-Regulated Release of Extracellular Vesicles. *Developmental Cell*, **56**, 1989-2006.e6. <https://doi.org/10.1016/j.devcel.2021.05.014>
- [65] Yu, X., Harris, S.L. and Levine, A.J. (2006) The Regulation of Exosome Secretion: A Novel Function of the p53 Protein. *Cancer Research*, **66**, 4795-4801. <https://doi.org/10.1158/0008-5472.can-05-4579>
- [66] Lin, S. and Gregory, R.I. (2015) MicroRNA Biogenesis Pathways in Cancer. *Nature Reviews Cancer*, **15**, 321-333. <https://doi.org/10.1038/nrc3932>
- [67] Melo, S.A., Sugimoto, H., O'Connell, J.T., Kato, N., Villanueva, A., Vidal, A., *et al.* (2014) Cancer Exosomes Perform Cell-Independent microRNA Biogenesis and Promote Tumorigenesis. *Cancer Cell*, **26**, 707-721. <https://doi.org/10.1016/j.ccell.2014.09.005>
- [68] Kalluri, R. and McAndrews, K.M. (2023) The Role of Extracellular Vesicles in Cancer. *Cell*, **186**, 1610-1626. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2023.03.010>