



分子胶降解剂的研究进展

陈家祺, 邓智亨, 李昊翔, 刘磊*

清华大学化学系, 教育部生物有机磷化学与化学生物学重点实验室, 北京 100084

*通讯作者, E-mail: liu@mails.tsinghua.edu.cn

收稿日期: 2025-09-11; 接受日期: 2025-10-31; 网络版发表日期: 2026-02-27

国家重点基础研究发展规划(编号: 2022YFC3401500)和国家自然科学基金(编号: 22137005, 22227810, T2488301)资助项目

摘要 在靶向蛋白降解(TPD)领域, 分子胶降解剂(MGDs)凭借其优异的成药性, 近年来广受关注. MGDs可特异性招募E3泛素连接酶, 调控疾病相关靶蛋白的泛素化修饰, 使靶蛋白通过泛素-蛋白酶体系统(UPS)降解. 本文围绕以下两个方面综述MGDs的发现历程与作用机制研究: 其一, 系统总结MGDs辅助E3泛素连接酶介导底物蛋白泛素化的作用机制, 详细阐述其通过诱导蛋白质构象改变、重塑分子间相互作用界面, 进而高效促成E3泛素连接酶与靶蛋白的特异性结合, 最终触发后续泛素化级联反应的完整过程; 其二, 系统探讨新型MGDs的开发策略及新底物蛋白的发现方法, 涵盖基于分子文库的高通量筛选、化学蛋白质组学等技术的创新应用以及数据驱动的底物预测模型构建等方向.

关键词 靶向蛋白质降解, 分子胶降解剂, 蛋白质-蛋白质相互作用, E3泛素连接酶, 免疫调节剂

1 引言

细胞是生命活动的基本单位, 其周期调控、物质代谢、增殖分化等生理过程的有序进行, 依赖精准高效的细胞内信号传递. 蛋白-蛋白相互作用(protein-protein interactions, PPI)作为胞内信号传递的决定因素, 是维持细胞正常生理功能、保障生命活动稳定开展的核心基础^[1-3]. PPI异常会直接破坏细胞稳态, 进而在宏观层面导致多种疾病的发生发展. 诸多基因突变也会通过干扰PPI的正常作用模式引发紊乱, 最终诱发疾病^[4,5]. 因此, 靶向PPI是治疗疾病的一类关键的切入策略. 实现PPI的精准调控, 已成为生物医药领域亟待突破的核心挑战之一^[6-8].

靶向蛋白降解(target protein degradation, TPD)技

术^[9-13]为PPI精准调控提供了新方向. 与传统小分子药物通过直接结合或占据靶蛋白(protein of interest, POI)活性位点实现抑制的作用模式不同, TPD通过主动调节细胞内蛋白质稳态平衡, 为传统药物难以靶向的“不可成药”蛋白靶点提供了新干预策略^[9], 重塑了现代药物的研发范式^[14]. 目前, TPD技术主要包含两大分支——分子胶降解剂(molecular glue degraders, MGDs)与蛋白降解靶向嵌合体(proteolysis targeting chimeras, PROTACs), 二者作用机制如图1所示.

MGDs是分子胶(molecular glues, MGs)的一个亚类, 而分子胶是一类可协同结合并稳定PPI界面的单价小分子化合物. 与传统小分子不同, 这类分子无需与一方或多方底物形成强结合作用, 而是通过重塑底物作用界面结构, 增强PPI作用强度^[15-18]. 从作用过程看,

引用格式: Chen J, Deng Z, Li H, Liu L. Progress on molecular glue degraders. *Sci Sin Chim*, 2026, 56: 1278-1302, doi: [10.1360/SSC-2025-0228](https://doi.org/10.1360/SSC-2025-0228)

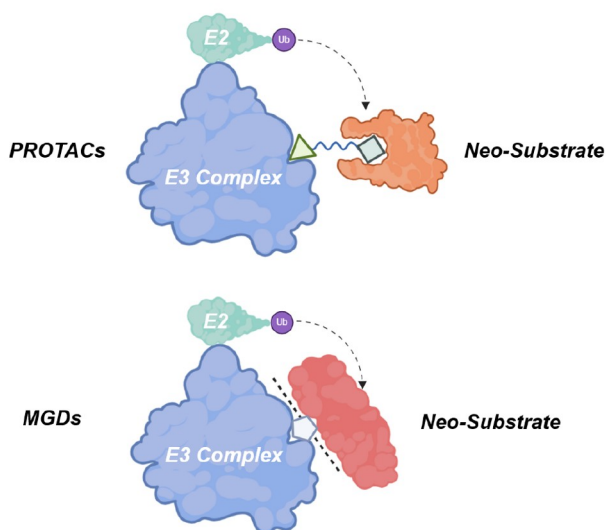


图 1 (网络版彩图) PROTACs与MGDs作用机制对比
Figure 1 (Color online) Comparison of mechanisms between PROTACs and MGDs.

分子胶通常先与呈递蛋白结合, 形成对底物蛋白具有强亲和力的新蛋白实体, 进而诱导产生非天然相互作用^[19,20]. MGDs则在分子胶基础特征之上, 可特异性招募E3泛素连接酶(E3 ligase)复合物^[21,22], 促使E3将泛素分子转移至POI表面并形成泛素链, 再依赖泛素-蛋白酶体系统(ubiquitin-proteasome system, UPS)实现POI的高效降解. 近年来, 围绕蛋白质泛素化修饰的系统性研究取得系列进展, 在泛素化修饰的化学合成、探针构建、分子调控路径、生理功能关联及疾病相关机制解析等方面获得丰富突破, 拓展了该领域的研究边界^[23-44].

TPD技术的另一分支PROTACs, 是一类具有异双功能结构的分子, 通过柔性连接子将POI结合弹头与E3配体连接^[45-50]. PROTACs可基于现有药物文库进行理性设计, 研发路径相对明确^[51]; 而新型MGDs的发现多依赖偶然事件, 目前尚未建立成熟技术体系, 难以针对任意指定PPI定制MGDs, 这已成为限制其发展的主要瓶颈^[52]. 但PROTACs的异双功能结构也存在显著缺陷: 复杂结构与较大分子量导致成药性较差, 溶解度及膜渗透性不佳; 且经典PROTACs普遍存在钩状效应(hook effect)^[53], 可能进一步降低药物作用效率, 并增加脱靶毒性风险. 此外, PROTACs的POI结合弹头多来源于已知靶向性化学分子文库, 难以覆盖文库外靶点, 限制了其应用范围. 相比之下, MGDs凭借低分子量、

高成药性、无钩状效应, 且不要求靶点具备特定结合口袋的独特优势^[54], 有效弥补了PROTACs的不足, 在解决“不可成药”靶点问题、提升药物安全性与有效性方面展现出巨大潜力.

本文综述了分子胶降解剂的发现历程, 阐述了不同类型MGDs的具体作用机制并梳理其临床进展, 随后总结新型MGDs及新底物的设计与筛选策略, 最后讨论了该领域的当前瓶颈, 并展望AI辅助设计、多学科融合趋势对其未来研究的推动作用.

2 各类分子胶降解剂的作用机制

分子胶的发现始于对天然产物作用机制的解析. 1990年前后, 环孢素A (cyclosporin A)、他克莫司(tacrolimus, FK506)、雷帕霉素(rapamycin)等免疫抑制剂被证实可通过稳定蛋白质相互作用, 介导三元复合物的组装(如FKBP12/钙调磷酸酶体系)^[55-61]. 随后, 植物激素领域研究发现, 生长素与茉莉酸可分别增强以TIR1蛋白、COI1蛋白作为F-box蛋白组分的SKP1-CUL1-F-box(SCF) E3泛素连接酶复合物(SCF^{TIR1}和SCF^{COI1})与底物间的结合, 触发靶蛋白降解^[62-65]. 这些发现奠定了分子胶降解剂的理论雏形.

2.1 基于CRL4-CRBN的分子胶降解剂

2.1.1 沙利度胺及其衍生物

20世纪50年代, 沙利度胺(thalidomide)作为镇静剂与止吐药上市并被广泛使用, 却引发了数千名新生儿出现严重肢体畸形(即“海豹婴儿”), 最终被禁用, 这一事件即“反应停”事件^[66]. 后续研究发现, 沙利度胺及其衍生物来那度胺(lenalidomide, CC-5013)、泊马度胺(pomalidomide, CC-4047)等具备免疫调节与抗血管增殖特性, 作为免疫调节剂(immunomodulatory drugs, IMiDs), 在黑色素瘤(melanoma)、多发性骨髓瘤(multiple myeloma, MM)及骨髓增生异常综合征(myelodysplastic syndromes, MDS)等血液系统疾病治疗中展现出疗效^[67-73].

2010年, Ito等^[74]在解析沙利度胺致畸作用机制时发现, 沙利度胺可与Cereblon蛋白(CRBN, 一种E3底物受体)结合, 导致斑马鱼出现胸鳍发育异常表型. 他们进一步观察到, 与胸鳍发育密切相关的上游成纤维细胞生长因子fgf8, 会被CRBN-度胺类药物复合物调控

并降解。2014年, 针对沙利度胺及其衍生物的机制研究^[75~78]证实, 分子胶可对CRBN进行“构象重编程”——改变其原有构象并形成新的表面形态, 使CRBN能与原本无相互作用的IKZF1 (Ikaros)、IKZF3 (Aiolos)产生新的PPI。

2.1.2 CRL4-CRBN复合物组成

细胞内诸多泛素化过程通过Cullin-RING家族E3 (CRLs)实现, 该家族包含CRL 1~5及CRL 7亚型。CRLs属于多亚基泛素连接酶, 它们虽拥有共同的催化核心, 却可以与200多种不同底物受体组装, 负责细胞内约20%蛋白酶体介导的蛋白质降解^[79]。

沙利度胺靶向的CRL4-CRBN E3复合物, 由CUL4 (Cullin4 E3)、RBX1 (Ring-Box蛋白1)、DDB1 (损伤特异性DNA结合蛋白1)及CRBN组成; 其中CUL4、RBX1、DDB1共同构成CRL4, CRBN则是CRL4的配体蛋白。2014年, Fischer等^[75]解析了CRL4-CRBN与沙利度胺及其衍生物形成的复合物晶体结构, 发现沙利度胺及其衍生物可结合于CRBN的羧基末端结构域(CTD); CRBN-CTD含有IMiDs的特异性结合口袋与一个保守的锌离子结合位点, 其总体结构与假尿苷合成酶和古菌素转糖基酶(pseudouridine synthase and archaeosine transglycosylase, PUA)折叠高度近似。

IMiDs结构中的戊二酰亚胺环, 是其结合CRBN羧基末端结构域(CRBN-CTD)口袋的功能基团, 被包埋于CRBN的 β 10、 β 11与 β 13折叠形成的空腔内。其羰基(C2、C6)与中间的酰胺(N1)可分别与CRBN蛋白的His378、Trp380形成氢键; 而戊二酰亚胺环的脂肪族部分(C3、C4、C5), 则与Trp380、Trp386、Trp400及Phe402构成的疏水口袋形成紧密范德华接触, 从而使戊二酰亚胺环在CRBN口袋内稳定锚定(图2)。此外, IMiDs结合口袋的整体形状偏好结合(S)-对映体^[80]。

另一方面, IMiDs结构中的异吲哚啉酮环裸露于CRBN-IMiDs复合物表面, 既能构建新的蛋白质作用界面, 也是IMiDs发挥分子胶活性、实现底物招募的核心模块。其C1位的羰基通过水分子介导的氢键与His359结合, 该氢键与Pro354脂肪族部分提供的堆积相互作用协同, 共同固定邻苯二甲酰环的构象。IMiDs与CRBN结合后, 在调控CRL4-CRBN靶向IKZF1、IKZF3等新底物的同时, 还会阻断CRBN在天然状态下与部分蛋白的相互作用。例如, 转录因子MEIS2原本依

Lenalidomide/CRBN/DDB1 complex

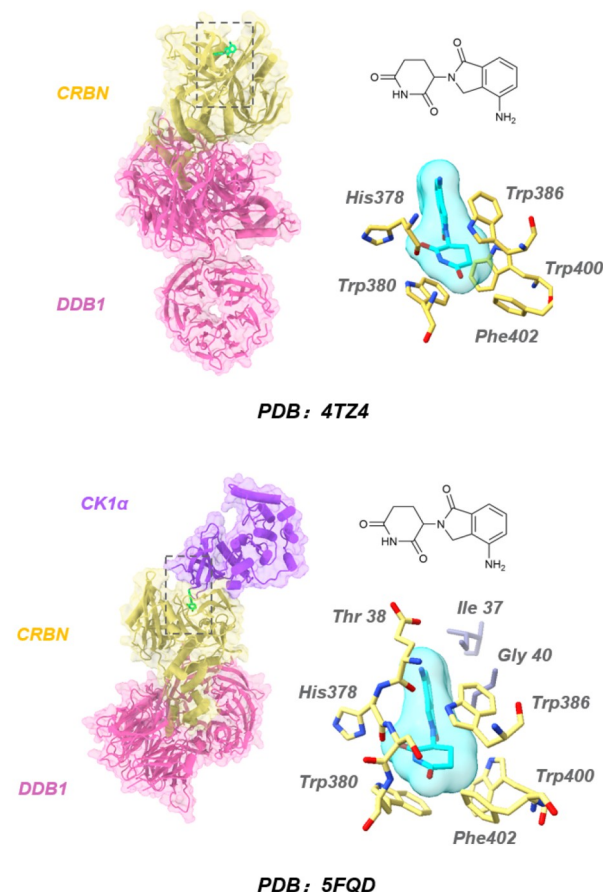


图2 (网络版彩图)来那度胺/CRBN/DDB1三元复合物结构及配体-蛋白互作氨基酸残基

Figure 2 (Color online) Structure of ternary complexes formed by lenalidomide/CRBN/DDB1 and interacting amino acid residues.

赖CRL4-CRBN进行泛素化, 这一进程会被度胺类药物抑制^[75]。

2.1.3 IMiDs的底物多样性与识别机制

IMiDs可招募除IKZF1、IKZF3外的多种底物蛋白。例如, 来那度胺衍生物NVP-DKY709^[81]可选择性降解 IKZF1/3的同源蛋白IKZF2, 对IKZF1、IKZF3则仅表现低活性。Krönke等^[82]利用稳定同位素标记细胞培养定量蛋白质组技术(SILAC)发现, 酪蛋白激酶1 α 可作为来那度胺的底物, 被CRL4-CRBN复合物泛素化降解, 并在5q缺失型骨髓增生异常综合征中发挥疗效。Petzold等^[83]通过解析该过程(图2)发现CK1 α 通过激酶N端的 β -发夹环(β -hairpin G-loop)与来那度胺-

CRBN特异性互作, CRBN的C端结构域与来那度胺共同构成结合界面, 其中CK1 α 的Gly40残基带来的空间位阻, 是决定结合特异性的关键. 该研究结果显示, CK1 α 与IKZF1通过相似的 β -发夹环模式结合CRBN, 证实IMiDs-CRL4-CRBN在底物识别上具有结构保守性.

与CK1 α 的靶向机制类似, Matyskiela等^[84]发现新型度胺类衍生物CC-885可诱导翻译终止因子GSPT1 (G1 to S phase transition 1)降解. 晶体结构显示, GSPT1通过含Gly575的表面转角, 与CC-885及CRBN的Asn351、His357等残基形成氢键; 尽管GSPT1与IKZF1无序列同源性, 但二者均可通过含甘氨酸的结构转角结合CRBN. 上述研究明确了IMiDs-CRL4-CRBN复合物识别底物的结构特征——含甘氨酸残基的 β -发夹环. 尽管IKZF1/3与CK1 α 、GSPT1在结构和功能上无关联, 且无序列同源性, 但三者均具有高度相似的该环结构, 且环内均含一个对结合起关键作用的甘氨酸.

值得注意的是, 不同IMiDs的底物谱存在差异, 底物选择性与敏感度显著不同. 例如, Hagner等^[85]发现, 来那度胺可同时高效降解CK1 α 与IKZF1, 而沙利度胺衍生物CC-122虽能高效降解IKZF1, 却对CK1 α 无作用. 这种差异源于分子胶化学结构的细微变化对CRBN底物结合界面的重塑, 这与Matyskiela等^[84]观察到的CC-885特异性靶向GSPT1的现象一致. 该结果表明分子胶的化学结构决定其降解底物谱^[82,84], 提示通过优化分子胶药物可实现对特异靶点的高选择性降解. 此外, 作为人为干预手段, IMiDs也被证实可在一定程度上模仿E3识别底物蛋白降解子^[86](degron)的天然细胞生理过程^[19,87,88]. Ichikawa等^[89]报道, C-末端环状酰亚胺修饰^[90]作为一种翻译后修饰(PTM), 可作为蛋白的降解子, 募集CRL4-CRBN复合物启动泛素化降解.

由于IMiDs的已知底物IKZF1、IKZF3属于Cys2-His2 (C2H2)锌指蛋白家族, Sievers等^[91]推测其他C2H2锌指结构域也可能被IMiDs-CRL4-CRBN复合物识别, 从而拓宽潜在成药靶点范围. 他们构建了人源锌指蛋白文库(每个锌指蛋白与eGFP融合), 通过荧光激活细胞分选(FACS)结合高通量测序, 筛选经沙利度胺及其衍生物处理后eGFP信号降低的细胞, 最终鉴定出11个可被IMiDs诱导降解的锌指结构域. 这些锌指结构与IMiDs-CRL4-CRBN复合物的结合机制, 与此前报道的 β -发夹环作用模式一致. 此外, 该研究还发现, 锌

指降解子的选择性不仅依赖于其与IMiDs-CRBN界面的形状互补, 还与锌指结构域上残基和药物分子的直接相互作用有关. 例如, IKZF3的Gln147通过水分子介导与泊马度胺形成氢键, 该位点突变会显著降低降解效率; 而不同药物通过改变这一相互作用, 可靶向原本不被降解的锌指. 例如, CC-220可特异性降解IKZF2/4的锌指, 而IKZF2/4对沙利度胺、泊马度胺等其他沙利度胺衍生物不敏感.

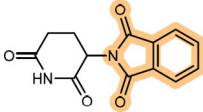
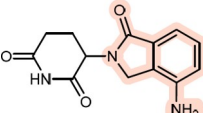
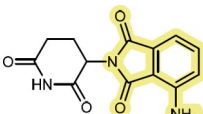
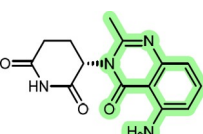
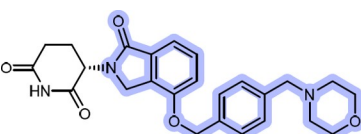
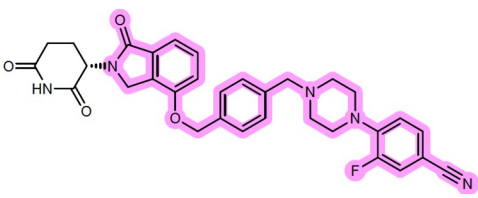
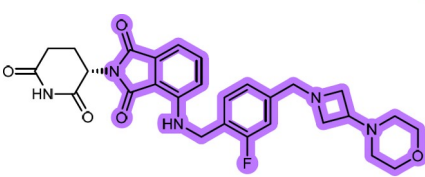
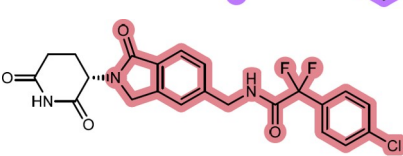
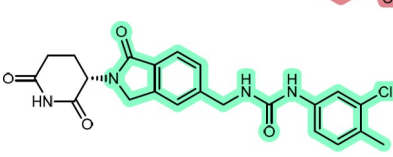
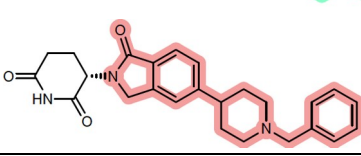
此外, 最新研究发现, 泊马度胺与CC-122可在黑色素瘤、肝癌细胞等体系中, 诱导ARID2、ZMYM2等促癌蛋白降解^[92,93]. 2024年, Ting等^[94]针对镰状细胞白血病的重要治疗靶点胎儿血红蛋白(HbF), 筛选出分子胶降解剂dWIZ-1/2; dWIZ-1/2可高选择性降解转录抑制因子Wingsless相关锌指蛋白(WIZ), 从而高效诱导成红细胞中HbF的产生, 有望成为治疗镰状细胞病的新疗法. Razumkov等^[95]于同年利用Groebke-Blackburn-Bienaymé (GBB)反应基于HRZ-1分子的化学骨架衍生得到了一系列Wee1样蛋白激酶(Wee1-like protein kinase, WEE1)特异性的分子胶降解剂. 2025年, Chen等^[96]与Sylvain等^[97]先后报道了两种结构不同的NIMA相关激酶7 (NIMA-related kinase 7, NEK7)降解剂LC-04-045与NK7-902, NEK7在之前的研究中被确认为NOD样受体热蛋白结构域相关蛋白3 (NOD-like receptor thermal protein domain associated protein 3, NLRP3)的上游调控元件, 上述研究为调控NLRP3驱动的炎症反应与细胞焦亡提供了新的途径, 并为理解NEK7参与NLRP3激活的具体机制提供了新的认知. 如表1所示, 我们总结了度胺类药物的基础信息.

2.1.4 CRBN构象受IMiDs调控并影响降解效率

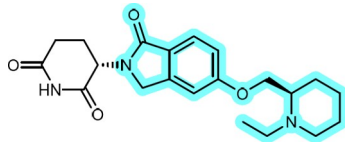
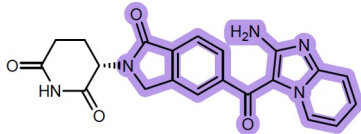
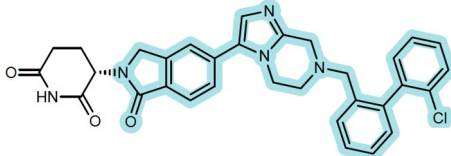
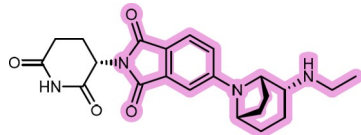
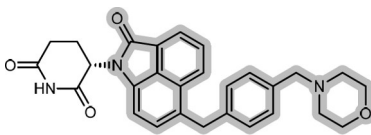
2022年, Watson等^[107]发现IMiDs可直接调控CRBN的构象. 该研究利用冷冻电子显微镜(cryo-EM)对比分析了CRBN-DDB1空载复合物(apo复合物)及存在/不存在底物时IMiDs-DDB1-CRBN复合物的结构差异. 结果显示, 空载状态下CRBN-DDB1复合物仅呈现CRBN开放的构象, 其沙利度胺结合域(thalidomide binding domain, TBD)与Lon蛋白酶样结构域分离, 且TBD内直接与IMiDs及新底物结合的 β -发夹“传感环”结构(sensor loop, 对应残基341~361位)与CRBN的螺旋束(helical bundles, HB)结构域及DDB1的 β -螺旋桨C (β -propeller domain C, BPC)结构域相互作用以维持开

表 1 度胺类药物基础信息^{a)}

Table 1 Basic information on thalidomide-derived drugs

命名	化学结构特征	靶点	适应证	参考文献
Thalidomide		SALL4 PLZF	Myeloma, cutaneous leprosy	[74,98,99]
Lenalidomide (CC-5013)		CK1 α	Chromosome 5q deletion syndrome	[76,82]
Pomalidomide (CC-4047)		ARID2	Relapse multiple myeloma	[92]
Avadomide (CC-122)		ZMYM2	Non-Hodgkin lymphoma	[93]
Iberdomide (CC-220)		IKZF1/3 IKZF2/4	Multiple myeloma	[100,101]
Mezigdomide (CC-92480)		ZFP91	Multiple myeloma	[102]
Golcadomide (CC-99282)		IKZF1/3	Follicular lymphoma, non-Hodgkin lymphoma	[103,104]
Eragidomide (CC-90009)		GSPT1	Relapsed acute myeloid leukemia	[105]
CC-885		GSPT1	Acute myeloid leukemia	[84]
NVP-DKY709		IKZF2	Colorectal cancer, melanoma	[81]

(续表1)

命名	化学结构特征	靶点	适应证	参考文献
dWIZ-1/2		WIZ	Sickle cell disease	[94]
HRZ-1 derivatives		WEE1	Leukemia, colorectal adenocarcinoma	[95]
LC-04-045		NEK7	Inflammatory diseases	[96]
NK7-902		NEK7	Inflammatory diseases	[97]
Cemsidomide (CFT7455)		IKZF1/3	Multiple myeloma	[106]

a) Avadomide (CC-122): 阿伐度胺; iberdomide (CC-220): 伊贝度胺; mezigdomide (CC-92480): 美兹度胺; golcadomide (CC-99282): 高尔卡度胺; eragidomide (CC-90009): 埃拉吉度胺; CC-885: 一种GSPT1降解剂; NVP-DKY709: 来那度胺衍生物; dWIZ-1/2: 一种WIZ降解剂; HRZ-1衍生物: 一种WEE1降解剂; LC-04-045和NK7-902: 两种结构不同的NEK7降解剂; cemsidomide (CFT7455): 塞姆西度胺; SALL4: spalt样发育转录因子4; PLZF: 早幼粒细胞白血病锌指蛋白; CK1 α : 酪蛋白激酶1 α ; cutaneous leprosy: 皮肤型麻风; chromosome 5q deletion syndrome: 5号染色体长臂缺失综合征; relapsed multiple myeloma: 复发多发性骨髓瘤; non-Hodgkin lymphoma: 非霍奇金淋巴瘤; follicular lymphoma: 滤泡性淋巴瘤; relapsed acute myeloid leukemia: 复发急性髓系白血病; colorectal cancer: 结直肠癌; sickle cell disease: 镰状细胞病; leukemia: 白血病; colorectal adenocarcinoma: 结直肠腺癌; inflammatory diseases: 炎症疾病。

放态。

IMiDs与CRBN的TBD结合后, 会诱导CRBN发生别构重排, 使其从开放构象转变为晶体结构中观察到的闭合构象。IKZF1仅能与CRBN的闭合构象结合, 这表明底物与CRBN的结合依赖于CRBN的构象差异。为验证复合物构象与分子胶效力的关联, 研究团队对比了泊马度胺、伊贝度胺、美兹度胺对CRBN构象的影响, 结果证实二者存在高度正相关性: 泊马度胺仅能诱导约20%的CRBN呈现闭合构象; 伊贝度胺对IKZF1的亲合力较泊马度胺提升约20倍, 降解能力增强约24倍, 且能使近50%的CRBN呈闭合构象(图3); 美兹度胺可使所有的CRBN处于闭合构象, 这与其更快的底物降解效率相符。该研究阐明了别构效应的潜在作用及构

象控制对CRBN分子胶降解剂的重要性, 而CRBN开放/闭合构象的解析, 也为IMiDs的结构设计优化提供了可能。

2.1.5 CRBN-新底物复合物具备决定IMiDs结合能力的第二结合口袋

本课题组在最新研究^[108]中, 借助蛋白质化学合成及基于活性的化学捕获技术, 清晰地捕捉到IMiDs作用于完整且具催化活性的CRL4-CRBN、底物、E2结合酶及泛素的完备复合物的全面分子图景, 突破了以往仅从部分三元复合物结构分析获取机制认知的局限。八种不同IMiDs诱导形成、具备催化活性的N8CRL4A-CRBN-IKZF3-E2复合物的冷冻电子显微镜

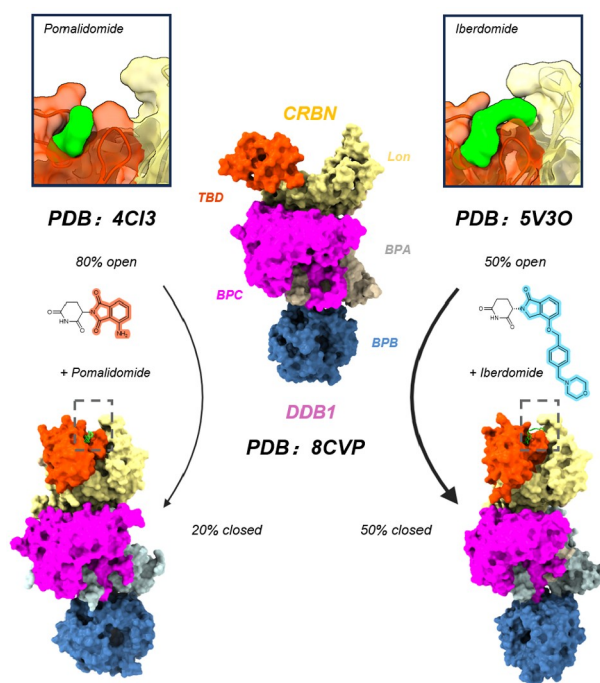


图3 (网络版彩图)泊马度胺与伊贝度胺对CRBN开放构象向闭合构象的转变调控差异

Figure 3 (Color online) The regulatory differences between pomalidomide and iberdomide in the transition of CRBN from the open conformation to the closed conformation.

结构,揭示了驱动新底物修饰的泛素化机制存在保守结构.经结构与功能分析发现,IKZF3的非降解结构域ZF3基序发挥着意外的调控作用.先前研究表明,IKZF3的ZF2是药物结合与接受泛素化修饰的主要位点^[91],但关于IKZF3 ZF3在IMiDs结合CRL4-CRBN过程中的具体机制尚不明确.此次结构解析显示,IKZF3的ZF3基序强化了泛素化区域的紧凑结构,提升了IMiDs诱导的泛素化效率.与缺乏激活的N8CRL4A-CRBN-E3复合物或E2~Ub偶联物的三元复合物(其中ZF3未被解析或定位不同)不同,在完全组装的底物-E3复合物中,ZF3作为“蛋白质胶”,填补了CRBN Lon结构域与RBX1/E2~Ub催化模块间的沟槽,与CRBN共同形成了胶连驱动界面(glu-ing-driven interfacial, GDI),其作为第二结合口袋,显著增强了IMiDs的结合强度(图4).

与仅结合CRBN-TBD口袋的单价IMiDs (monovalent IMiDs, MvIMiDs) (如泊马度胺、来那度胺等)相比,桥接IMiDs (bridging IMiDs, BdIMiDs)如伊贝度胺、高尔卡度胺、美兹度胺可同时作用于TBD和GDI

口袋,形成额外相互作用,进而提升降解效率与靶标选择性.此外,利用完全组装的CRL4-CRBN泛素化复合物进行软件模拟对接,发现BdIMiDs在IKZF3的对接上匹配度更高,并通过新发现的IMiDs-GDI口袋相互作用阐释了构效关系(structure-activity relationship, SAR),这是以往三元复合物模型无法实现的.此前,绝大多数基于CRBN的分子胶降解剂仅依赖保守的邻苯二甲酰亚胺-戊二酰亚胺与TBD口袋的相互作用,这限制了基于结构的分子设计在调节底物选择性、减少脱靶效应方面的化学空间.而桥接IMiDs与GDI口袋相互作用的发现,有望为基于结构的IMiDs设计开辟新范式.

2.1.6 IMiDs类药物临床进展与沙利度胺致畸机制

如表2所示,目前有多款IMiDs进入临床试验阶段或获批上市,如沙利度胺^[67,70,71]、来那度胺(CC-5013)^[76,78,82]、泊马度胺(CC-4047)^[76,78,82]、阿伐度胺(CC-122)^[82,85]、伊贝度胺(CC-220)^[100,101]、美兹度胺(CC-92480)^[102,109]、高尔卡度胺(CC-99282)^[103,104]、埃拉吉度胺(CC-90009)^[105]及塞姆西度胺(CFT7455)^[106].这些药物在多发性骨髓瘤、骨髓增生异常综合征、滤泡性淋巴瘤、急性白血病等疾病治疗中,均展现出优异的临床表现^[110,111].

Donovan等^[98,112,113]对沙利度胺致畸性的来源展开探索,鉴定出沙利度胺的另一底物,即同属C2H2锌指蛋白家族的spalt样发育转录因子4 (SALL4).该蛋白在胚胎发育期会被沙利度胺介导的泛素化途径降解,进而导致胚胎肢体发育障碍;而SALL4-泊马度胺-CRBN-DDB1复合物结构解析,也为设计低致畸风险的IMiDs提供了更多合理依据^[114].Furihata等^[113]的研究进一步补充了这一机制.沙利度胺在体内经细胞色素P450酶转化生成的代谢产物5-羟基沙利度胺,除降解SALL4外,还可通过降解新底物PLZF,共同介导致畸作用.

2.2 不依赖CRL4-CRBN的分子胶降解剂

2.2.1 芳基磺酰胺类化合物

继IMiDs后,第二类可将新底物募集至E3的分子胶降解剂是剪接抑制剂磺酰胺类化合物.2017年,Han等^[115,116]发现细胞增殖抑制剂*N*-(3-氯-1*H*-吡啶-7-基)-1,4-苯二磺酰胺(indisulam/E7070)^[117]能够促进RNA结

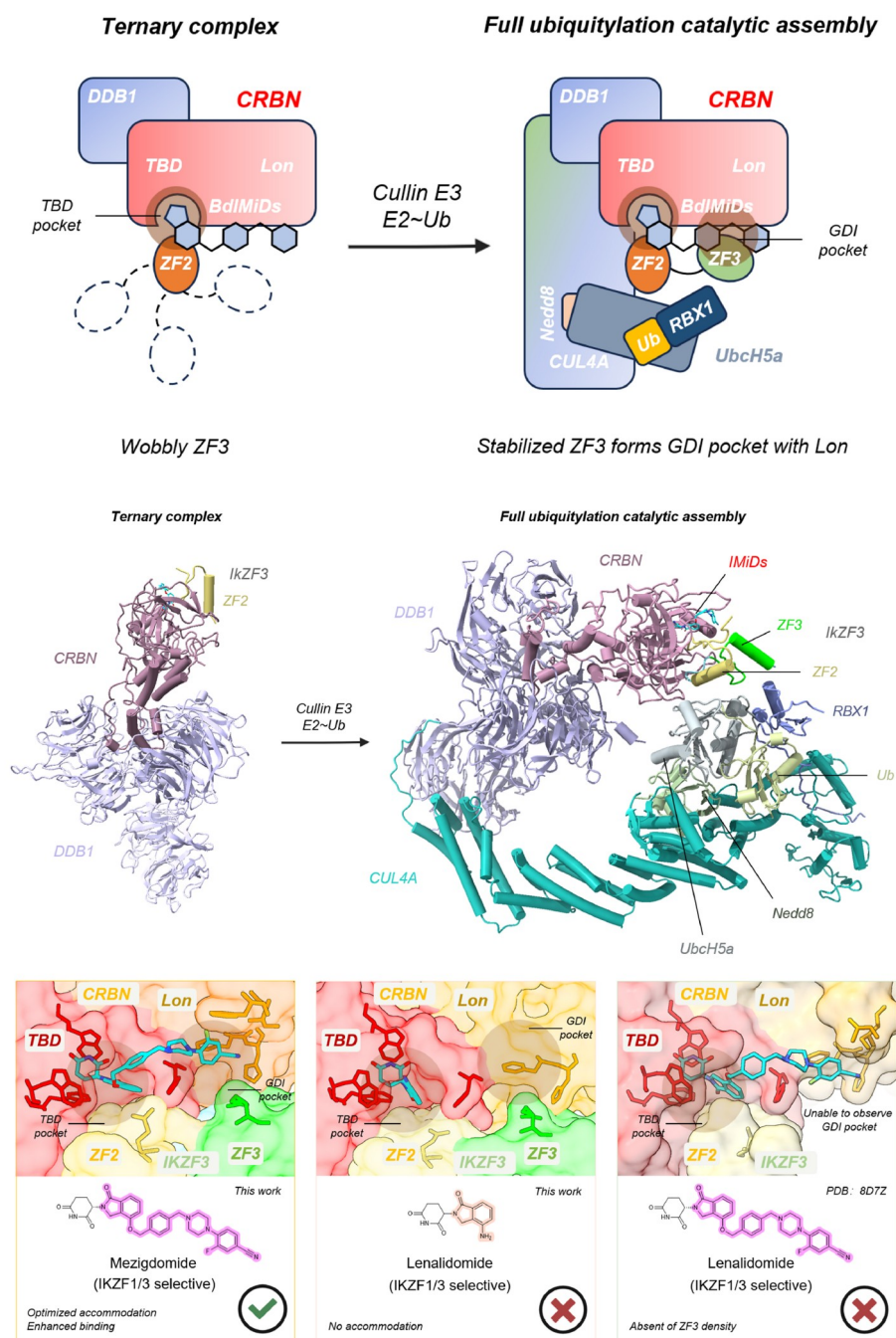


图 4 (网络版彩图)由IKZF3非降解子基序ZF3与CRBN Lon结构域形成的GDI口袋增益BdIMiDs结合强度

Figure 4 (Color online) A cryptic GDI pocket formed by the IKZF3 non-degron motif ZF3 and CRBN Lon domain promotes BdIMiDs' binding affinity.

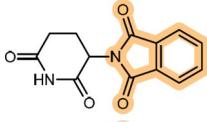
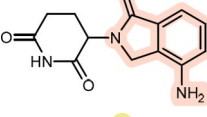
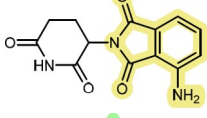
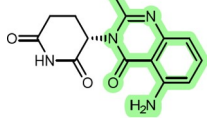
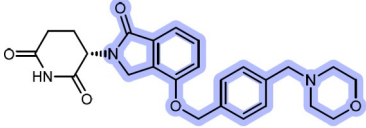
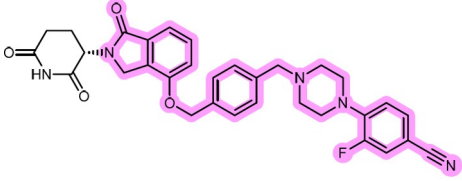
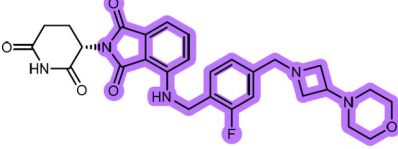
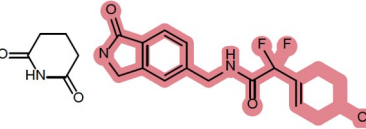
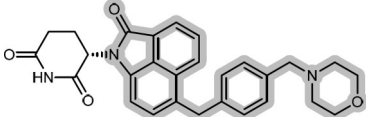
合基序蛋白39 (RNA-binding motif protein 39, RBM39, 又称CAPER α)与E3复合物CUL4-RBX1-DDB1-DCAF15结合, 进而引发RBM39的多泛素化修饰与蛋白酶体降解; 该E3复合物不再以CRBN作为CRL4配

体, 而是依赖DCAF15 (DDB1-and CUL4-associated factor 15)发挥作用。

随后的研究^[118,119]揭示, 磺酰胺类化合物对单个蛋白的亲和力较低, 但可通过结构互补作用增强与分子

表 2 沙利度胺及其部分衍生物的临床应用/试验情况^{a)}

Table 2 Clinical stages of thalidomide and its derivatives

命名	化学结构特征	临床阶段	参考文献
Thalidomide		Approved	[74,98,99]
Lenalidomide (CC-5013)		Approved	[76,82]
Pomalidomide (CC-4047)		Approved	[92]
Avadomide (CC-122)		Phase II	[93]
Iberdomide (CC-220)		Phase II	[100,101]
Mezigdomide (CC-92480)		Phase III	[102]
Golcadomide (CC-99282)		Phase III	[103,104]
Eragidomide (CC-90009)		Phase I	[105]
Cemsidomide (CFT7455)		Phase II	[106]

a) 临床数据截至2025年8月15日; approved=已获批; phase I/II/III分别指I/II/III期临床。

胶-E3-底物复合物的结合，呈现出经典的分子胶结合机制。等温滴定量热法(ITC)测定显示，indisulam与DCAF15/DDB1/DDA1复合物的解离常数(K_d)大于50 μ M，而当RBM39存在时，其 K_d 值降至187 nM。机制

研究表明，芳基磺酰胺类化合物通过结合DCAF15与RBM39的RNA识别基序2 (RRM2)之间的空腔，驱动三元复合物形成：其氯吡啶基团嵌入由DCAF15的Thr230、Phe235、Val559及RBM39的Met265构成的

疏水口袋(图5); 苯基磺酰胺位于多个脂肪族侧链之间; 中心磺酰胺的氧原子与DCAF15的Ala234、Phe235主链形成氢键, 氮原子通过水分子介导与RBM39的Thr262、Asp264形成氢键; 远端磺酰胺的氮原子通过结构水与RBM39的Asn260主链羰基形成氢键. DCAF15与RBM39的相互作用以非极性作用为主: RBM39的中央 α 螺旋与DCAF15结合, Glu271与DCAF15的Arg178形成盐桥, 并协调 π - π 相互作用, 这些作用共同增强复合物的稳定性. 此外, DDA1通过与DDB1、DCAF15的相互作用稳定DCAF15-DDB1复合物, 该过程对indisulam介导的RBM39降解同样至关重要.

2.2.2 激酶抑制剂类化合物

2020年, 多个团队通过不同的文库筛选手段发现了结构不同的小分子均能有效诱导细胞周期蛋白K(Cyclin K)降解. Slabicki等^[120]尝试通过关联数据库中药物敏感性与泛素连接酶组件表达情况, 筛选泛素连接酶依赖性小分子药物. 结果显示, 细胞周期蛋白依赖性激酶(CDK)抑制剂CR8的细胞毒性, 与CUL4衔接蛋白DDB1的mRNA水平存在关联. 进一步机制研究证明, CR8是一种分子胶降解剂, 可促使CDK12-Cyclin K与DDB1形成复合物; 且DDB1与CDK12形成的蛋白质复合物基础亲和力较弱, 而CR8结合后二者亲和力提升500倍.

结构分析表明, CR8会占据CDK12的ATP结合位点, 并结合DDB1的一个 β 螺旋桨结构域. CR8的关键结构特征是疏水性苯基吡啶环系统(图6), 该环结合于激酶表面且暴露于溶剂中, 通过与DDB1的Arg928相互作用, 诱导CDK12与E3连接酶衔接蛋白DDB1形成复合物. Cyclin K结合于CDK12的对侧, 不与DDB1直接相互作用. 结构导向突变分析及时间分辨荧光共振能量转移(TR-FRET)实验结果显示, 当CR8存在时, CDK12扮演底物受体作用将Cyclin K定位到通常由CRL4底物占据的位置; 这种结合模式绕过了对底物受体DCAFs的需求, 且与天然DCAF底物受体存在结合互斥性, 阻碍其他底物的结合与降解.

Mayor-Ruiz等^[121]利用CRL家族E3连接酶的激活依赖NEDD8介导的拟素化修饰(neddylation)这一特性^[122], 构建E3活性受损的低拟素化水平细胞模型, 通过比较拟素化缺陷型与野生型细胞对化合物介导细胞

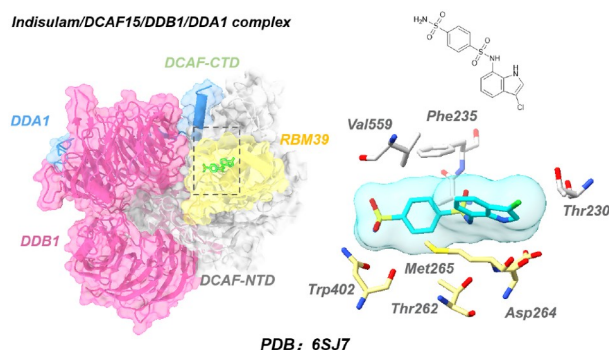


图5 (网络版彩图) Indisulam/DCAF15/DDB1/DDA1复合物结构

Figure 5 (Color online) Structure of complexes formed by indisulam/DCAF15/DDB1/DDA1.

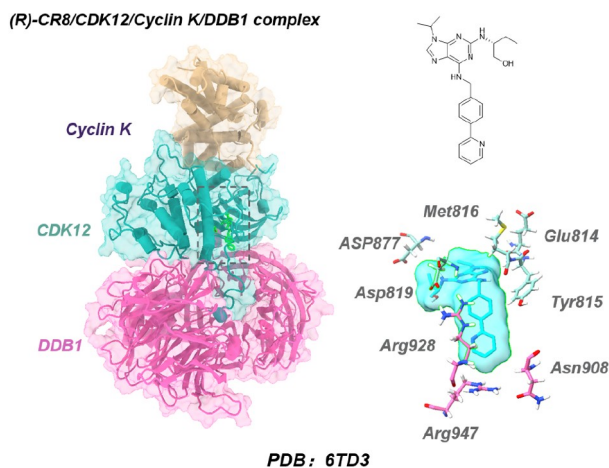


图6 (网络版彩图) (R)-CR8/CDK12/Cyclin K/DDB1复合物结构

Figure 6 (Color online) Structure of complexes formed by (R)-CR8/CDK12/Cyclin K/DDB1.

死亡的敏感性, 筛选潜在分子胶药物. 他们在野生型和拟素化缺陷型细胞系中, 对含2000多种细胞抑制/毒性小分子的文库进行筛选, 发现了部分需依赖正常拟素化水平才能发挥作用的化学骨架. 其中, 新型磺酰胺类化合物dCeMM1可“重编程”CRL4-DCAF15连接酶, 实现RBM39的选择性降解; 此外, 另外三种小分子dCeMM2/3/4均能显著降低Cyclin K的稳定性, 其作为分子胶的底物的结合能力, 经定量蛋白质组学、药物亲和色谱、细胞邻近实验等多种正交实验验证.

此外, Lv等^[123]报道了一种针对NRF2抑制剂的高通量表型筛选方法, 在筛选过程中意外发现小分子HQ461——它同样是可作用于CDK12-Cyclin K复合

物的分子胶降解剂。除上述研究外, 2023年Houles等^[124]还发现已知的CDK12抑制剂SR-4835, 其发挥抑制功能的机制实则为分子胶降解剂机制。

Kozicka等^[125]与Thomas等^[126]于2023年与2024年分别总结了靶向Cyclin K分子胶的结构多样性与设计思路, 并提出针对CR8的优化设计方向。2025年, 基于以上研究案例, Zhuang等^[127]提出了一种靶向CDK的分子胶降解剂设计思路, 通过在CDK12/13双靶点抑制剂中引入疏水芳香环或含双键不饱和烷基链结构可实现抑制剂向分子胶降解剂的转化, 新化合物能够募集DDB1并启动Cyclin K降解。

2.2.3 其他不依赖CRBN的化合物

除芳基磺酰胺类化合物与激酶抑制剂类化合物这两类研究较为广泛的分子胶降解剂外, 近年来更多不依赖CRL4-CRBN的分子胶降解剂也陆续见诸报道。

2022年, Liu等^[128]在肝细胞性肝癌(HCC)模型中研究蟾酥活性成分蟾毒灵(bufalin)的抗癌机制时, 通过人类蛋白质组微阵列, 鉴定出其下游靶点为转录因子蛋白E2F2, 并进一步发现bufalin可介导E2F2降解。随后, 借助免疫共沉淀(Co-IP)实验与SILAC技术分析, 他们明确bufalin作为天然分子胶, 能介导非典型E3连接酶ZFP91与E2F2形成互作界面, 最终诱导E2F2降解。

2024年, Lu等^[129]成功鉴定出一款以三结构域蛋白21 (TRIM21) E3连接酶为靶点的分子胶降解剂。他们首先在 γ -干扰素($\text{IFN}\gamma$)存在的条件下筛选对癌细胞毒性更强的化合物, 发现抗精神病药物乙酰丙嗪(ACE)的代谢物(S)-ACE-OH可抑制部分癌细胞系生长, 随后通过全基因组CRISPR-Cas9筛选, 证实TRIM21是(S)-ACE-OH发挥抑癌作用的关键蛋白, 且细胞内敲降与过表达实验表明, TRIM21对(S)-ACE-OH的调控作用独立于 $\text{IFN}\gamma$, $\text{IFN}\gamma$ 仅影响TRIM21的细胞表达量。借助蛋白质组学等手段, 他们证明(S)-ACE-OH能介导TRIM21降解核孔蛋白NUP98, 并通过谷胱甘肽-S-转移酶融合蛋白沉降技术(GST pull down)等实验验证该代谢物可与TRIM21、NUP98形成三元复合物, 明确其分子胶作用机制。

上述研究表明, TPD的相关研究已逐渐摆脱对CRL4-CRBN等少数E3泛素连接酶的依赖, 探索利用更多类型E3连接酶实现靶向降解的可能, 为TPD技术的应用拓展了新空间。

2.3 非经典分子胶降解剂

2.3.1 分子内/分子间分子胶

Kerres等^[130]在筛选致癌转录因子BCL6抑制剂时, 发现小分子BI-3802具备降解BCL6的功能。2020年, Slabicki等^[131]进一步报道了其具体降解机制, 并提出一种全新的分子胶作用模式——小分子诱导靶蛋白聚合介导的降解(图7)。

BCL6-BI-3802复合物结构解析显示: BI-3802结合于BCL6二聚体的BTB (broad-complex, tramtrack, and bric-à-brac)结构域凹槽, 其溶剂暴露部分与相邻BCL6二聚体形成疏水相互作用; 同时, BCL6二聚体间的Arg28与Glu41形成盐桥, 二者共同推动二聚体迭代组装为螺旋丝状多聚体结构; 而与BI-3802结构相似的BCL6抑制剂BI-3812, 因羧酰胺基团存在空间位阻, 无法诱导BCL6聚合, 且不具备降解活性。

通过CRISPR-Cas9筛选发现, 非Cullin家族E3 SIAH1是介导聚合后BCL6降解的关键蛋白: BCL6的249~251位存在SIAH1识别的VxP基序, 该基序缺失会导致BCL6虽能形成聚合体却无法被降解; 而将含VxP基序的BCL6肽段融合至BCL6的BTB结构域, 可恢复BI-3802诱导、SIAH1介导的降解过程。进一步研究表明, BI-3802诱导的BCL6聚合能显著增强BCL6与SIAH1的相互作用, 促进SIAH1对BCL6的泛素化修饰, 且该过程不依赖Cullin-RING家族E3所需的拟素化修饰。他们还检验了BI-3802对BCL6的降解效果, 发现其药效优于非降解型抑制剂BI-3812及BCL6靶向PROTACs, 且诱导的抗增殖效应与BCL6基因敲除效果相当——这为治疗BCL6驱动的非霍奇金淋巴瘤提供了新策略, 也为针对具有内部对称性的难靶向蛋白开发降解剂开辟了新方向。

2023年, Hsia等^[132]报道了另一种分子胶作用模式——分子内双价分子胶(intramolecular bivalent glues, IBGs)。与以往PROTACs和分子胶降解剂机制不同, 这类共价分子胶可同时结合并连接其靶蛋白BRD4的两个相邻结构域(BD1和BD2), BRD4的构象由此发生改变, 被引导至E3 DCAF16处, 进而促进BRD4的泛素化及蛋白酶体降解。冷冻电子显微镜解析的BRD4-IBG1-DCAF16三元复合物结构显示: IBG1的JQ1 (BRD4抑制剂)部分结合BD2的乙酰赖氨酸口袋, E7820^[119]部分结合BD1的等效口袋, 使两个溴结构域同时被占据并

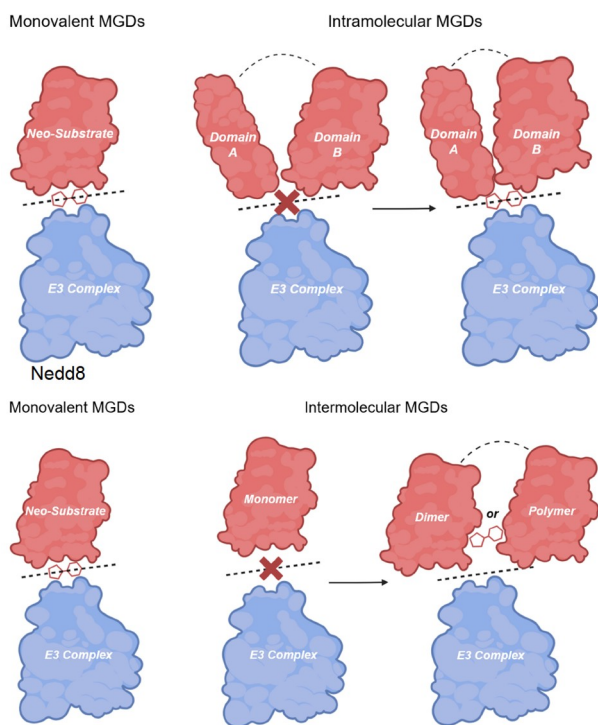


图 7 (网络版彩图)分子内/分子间分子胶作用模式示意图
Figure 7 (Color online) Schematic diagram of the intramolecular and intermolecular molecular glue's mechanism.

聚合, 导致BRD4构象压缩及与DCAF16的表面互补性增强; DCAF16的特定残基形成疏水笼, 包裹IBG1的部分结构, 进一步稳定复合物。此外, BD2的Gly386是决定IBG1对BRD2、BRD4选择性的关键残基——BRD3对应位置为Glu344, 故不被IBG1降解。基于结构优化得到的IBG3 (含两个JQ1单元), 与双溴结构域及DCAF16的亲和力显著增强, 进一步验证了上述机制。该团队设计的另一种降解剂IBG4, 可通过类似机制利用E3连接酶DCAF11降解BRD4, 表明该类共价分子胶策略可扩展至不同的E3配体。

2.3.2 共价分子胶

2019年, Spradlin等^[133]报道了一种共价分子胶作用机制(图8)。借助基于活性的蛋白质谱技术(ABPP), 他们鉴定出印楝树的萜类天然产物Nimbolide能减弱乳腺癌致病性的机制, 来自其对E3泛素连接酶RNF114底物识别域上半胱氨酸基团C8的共价修饰, 从而抑制RNF114对CDKN1A (p21)与CDKN1C (p57)等肿瘤抑制因子的泛素化调控; 由于观察到Nimbolide可靶向

RNF114底物识别域的性质, 他们将Nimbolide与JQ1等抑制剂分子桥接得到分子胶降解剂, 并验证了其降解作用。

2021年, Luo等^[134]在Spradlin等^[133]对Nimbolide研究的基础上, 筛选得到可模拟Nimbolide的EN219。

2023年King等^[135]通过化学蛋白质组技术检索半胱氨酸共价配体文库, 尝试寻找靶向E2泛素结合酶的共价分子胶, 并发现了共价分子胶降解剂EN450——该分子是含半胱氨酸反应性丙烯酰胺弹头的片段配体, 能以拟素化和蛋白酶体依赖的方式抑制白血病细胞活力。

化学蛋白质组学分析显示, EN450可与E2泛素结合酶UBE2D的变构位点Cys111共价结合, 且该位点远离UBE2D中结合泛素的Cys85。定量蛋白质组学研究发现, 转录因子NFKB1是EN450诱导降解的关键靶标; EN450通过促进UBE2D1与NFKB1形成三元复合物, 在CUL4A-RBX1-NEDD8复合物存在的情况下增强NFKB1的泛素化。这一结果验证了EN450独特的作用机制: 不同于IBGs类共价分子胶, 它以E2为靶向对象, 并通过改变E2酶与底物间的PPI发挥功能。

同年, Toriki等^[136]提出一种理性设计分子胶降解剂的策略: 在已知蛋白质靶向配体上连接共价化学手柄, 将其转化为对应靶蛋白的降解剂。他们以CDK4/6抑制剂瑞波西利(ribociclib)为底座, 发现衔接三氟甲基苯基肉桂酰胺手柄可诱导CDK4降解; 在该手柄基础上优化得到的富马酸盐手柄, 可进一步强化CDK4与RING家族E3泛素连接酶RNF126的相互作用。

化学蛋白质组学分析显示, 该富马酸盐手柄主要与RNF126的Cys32结合, 还可与RNF40、MID2等其他RING E3连接酶产生共价相互作用。他们进一步将该富马酸盐手柄移植到多种蛋白质靶向配体上, 成功诱导包括BRD4、BCR-ABL、c-ABL、PDE5、AR/AR-V7、BTK、LRRK2、HDAC1/3及SMARCA2/4在内的多种癌症相关蛋白发生蛋白酶体依赖的降解。例如, 手柄与JQ1衔接得到的分子胶可高效降解BRD4, 连接到雄激素受体DNA结合域配体VPC-14228所得的分子胶可降解AR和AR-V7。该研究为将蛋白质靶向配体(如现有的小分子抑制剂等)转化为共价分子胶降解剂提供了通用设计策略。2024年, Lim等^[137]筛选出具有类似机制与效力的乙烯基磺酰嘧啶手柄, 将可依赖的底物受体拓展至DCAF16, 但其可衍

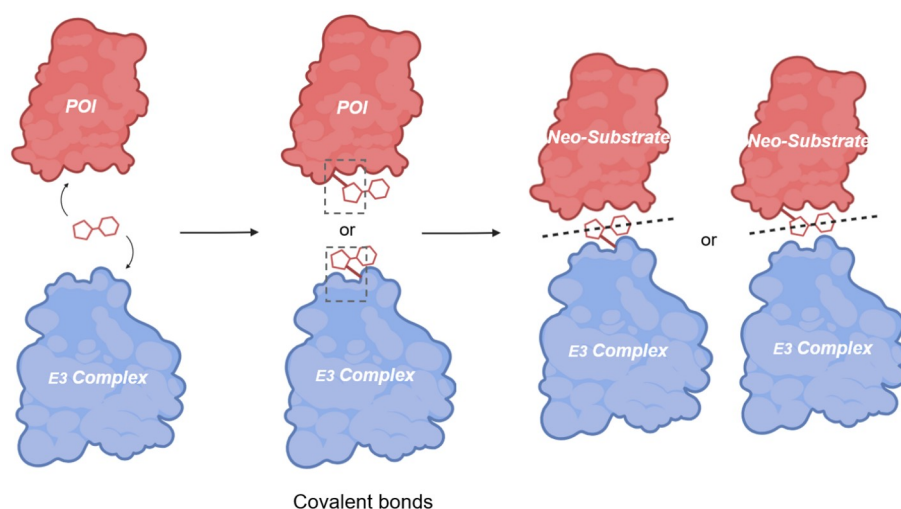


图 8 (网络版彩图)共价分子胶作用模式示意图

Figure 8 (Color online) Schematic diagram of covalent molecular glue's mechanism.

接的靶蛋白配体受限。2025年, Orr等^[138]在富马酸盐手柄的基础上对其进一步优化得到截短体, 利用截短体扩展了基于DCAF16底物受体的可降解新底物蛋白谱。

2.3.3 双分子胶

2025年Xie、Yeo等^[139,140]报道了一种新的“双分子胶”作用机制(图9)。研究发现, 促进造血干细胞(HSC)增殖的小分子激动剂UM171^[141], 可作为分子胶诱导CRL3 E3配体KBTBD4与组蛋白去乙酰化酶HDAC1/2发生相互作用, 引发CoREST辅阻遏复合物降解, 进而促进细胞增殖^[142]。结构分析结果显示, 内源性辅因子肌醇六磷酸(InsP6)作为第二种分子胶, 填补了PPI界面处的空腔, 进一步增强了相互作用强度, 体现出双分子胶同时塑造PPI的独特机制。此外, 他们的研究还发现, 肿瘤内突变的KBTBD4通过结合HDAC1/2驱动CoREST异常降解的过程, 与分子胶作用机理具有相似性, 即突变改变了KBTBD4的结构, 使其与正常KBTBD4结合UM171后的构型高度近似。

3 分子胶与新底物的筛选与设计思路

多数分子胶的发现源于偶然。如何基于现有分子胶拓展其对新底物的适用范围以及如何设计全新分子胶以靶向更多底物, 是该领域当前的挑战。

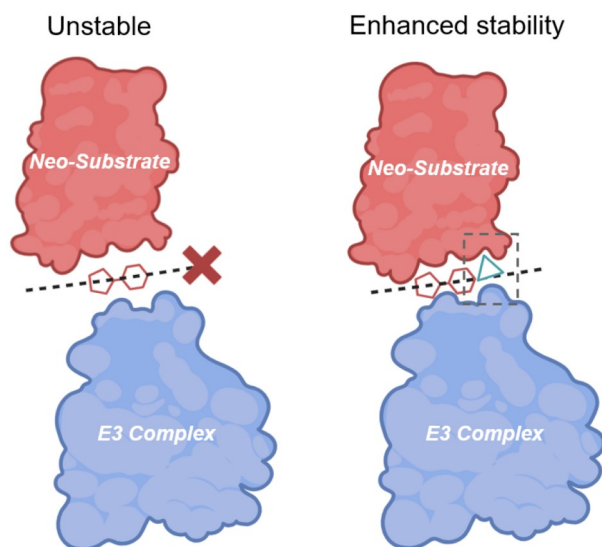


图 9 (网络版彩图)双分子胶作用模式示意图

Figure 9 (Color online) Schematic diagram of double molecular glue's mechanism.

3.1 新分子胶降解剂的发现策略

3.1.1 基于化学改造的新分子胶发现

目前多数分子胶理性设计策略, 均借助药物化学手段, 以现有分子胶药物或靶点抑制剂为基础, 通过结构及成药性优化实现^[143]。例如, Zhuang等^[127]对CDK抑制剂与BRD4抑制剂引入化学胶连结构单元构建分子胶降解剂的改造方案。

2024年, Li等^[144]提出模板辅助共价修饰设计思路: 将E3泛素连接酶与底物间天然存在的互补结构作为模板, 依托现有药物设计可填补结构空隙的共价分子胶. 研究发现, BRD4抑制剂JQ1的衍生物GNE11和其类似物TMX1可降解BRD4, 且该降解过程以BRD4的第二个溴结构域(BRD4 BD2)作为降解子, TMX1降解效力更强, 对BRD4 BD2选择性更高. 通过CRISPR-Cas9筛选及后续验证, 证实这类JQ1衍生物需依赖底物受体DCAF16实现BRD4降解. 此外, 他们以TMX1更换亲电弹头后获得较GNE11更强效力为启发, 进一步合成得到降解能力更高的MMH1、MMH2分子.

由于TMX1在TR-FRET实验中表现出钩状效应, 他们推测TMX1可能与DCAF16间形成共价连接. 进一步机制探究显示, 该类分子通过“模板辅助共价修饰”发挥作用: 借助BRD4 BD2与DCAF16预先存在的结构互补性为模板, JQ1衍生物先结合BRD4 BD2, 再招募DCAF16, 使其亲电弹头(如丙烯酰胺)以最佳方向与DCAF16的半胱氨酸形成共价键, 经系统性丙氨酸扫描确认该位点为DCAF16的Cys58; 该过程稳定了BRD4-JQ1衍生物-DCAF16三元复合物的形成, 最终促进BRD4的泛素化及蛋白酶体降解. 同时, 他们观察到基于JQ1优化得到的强共价性分子胶降解剂(如TMX1、MMH1等)在BRD4 BD2模板下, 可与非靶点DCAF16的蛋白GAK在其Cys87位点产生共价结合, 诱导GAK与BRD4 BD2的相互作用与降解, 说明该策略可推广至更宽的底物谱.

以上基于化学改造的分子胶发现策略依赖于已知的分子骨架, 研发周期相对较短, 但对无已知配体的靶点适用性有限.

3.1.2 基于组合化学的分子文库构建

前文中Razumkov等^[95]即提供了一种围绕GBB反应设计的多组分反应构建候选化合物库的方法, 该方法具备较高的原子经济性并可快速构建结构多样的化合物.

2024年, Shaum等^[145]通过高通量化学合成方法构建分子文库, 结合靶向蛋白降解等表型筛选, 发现可有效地将靶蛋白已知配体转化为分子胶. 研究中以BRD4抑制剂JQ1为例验证了该方法的有效性, 并进一步推广至白血病靶点和转录共激活因子ENL的配体方法进行验证^[146], 利用硫(VI)-氟置换反应(sulfur(VI)-fluor-

ide exchange, SuFEx)^[147]合成得到大量类似物, 筛选得到dHTC1等ENL降解剂. 该研究表明, 借助高通量化学合成构建分子文库也可作为筛选靶向特定蛋白的分子胶降解剂提供新的选项.

3.1.3 新分子胶降解剂的捕获/筛选手段

对于已有分子文库, 为实现分子胶降解剂的高通量筛选, 可以利用表型筛选构建高通量体系(图10). 表型筛选通过建立可量化药物与E3关联强度的体系^[148], 筛选能通过E3发挥降解作用/细胞毒性的小分子. 例如, 前文提及的Slabicki与Mayor-Ruiz等^[120,121], 在发现靶向Cyclin K分子胶的研究中, 建立了分子胶-表型关联筛选体系, 可淘选依赖E3发挥药效的潜在分子胶降解剂(如将药效与DDB1表达、拟素化水平关联), 再通过机制研究验证其分子胶作用.

2024年, Nishiguchi等^[149]借助基于细胞毒性的表型筛选体系, 针对9种儿童癌症细胞系筛选3630种IMiDs衍生化合物, 得到对CK1 α 具有高选择性、对血液瘤和实体瘤具有广谱抗增殖活性的分子胶SJ3149.

2025年, Chu等^[150]发布了一套基于表型且易于操作的高通量筛选系统DEFUSE. 该系统的运行机制如下: 将条件性自杀蛋白FKBP12-F36V- Δ Caspase9与靶蛋白融合, 再通过病毒载体转入细胞系, 使融合蛋白实现稳定表达. 在小分子文库筛选过程中, 若小分子能降解靶蛋白, 与之衔接的自杀蛋白会随靶蛋白一同被蛋白酶体降解, 细胞最终呈现存活表型; 反之, 加入利米多赛(rimiducid)后, 条件性自杀蛋白会发生二聚化, 促使 Δ Caspase9剪切生成活性Caspase9, 进而诱导细胞死亡. 借助DEFUSE系统, 他们捕获了肿瘤驱动蛋白SKP2的分子胶降解剂SKPer1, 该过程依赖于E3泛素连接酶STUB1.

除基于表型差异进行筛选以外, 也可以直接借助分子胶与底物的亲和力强弱作为分子文库的筛选基准. 2019年, Simonetta等^[151]报道了一类可增强致癌转录因子 β -连环蛋白(β -catenin)与其同源E3连接酶复合物SCF β -TrCP (后文简称 β -TrCP)相互作用的分子胶, 并提供了理性发现分子胶降解剂的思路. Wnt信号通路常在癌症中失调, 伴随多种机制导致下游 β -连环蛋白磷酸降解域残基Ser33、Ser37的磷酸化水平降低; 磷酸化缺失会阻碍 β -连环蛋白与 β -TrCP的有效结合, 进而抑制其正常降解^[152]. 他们通过荧光偏振(FP)实验

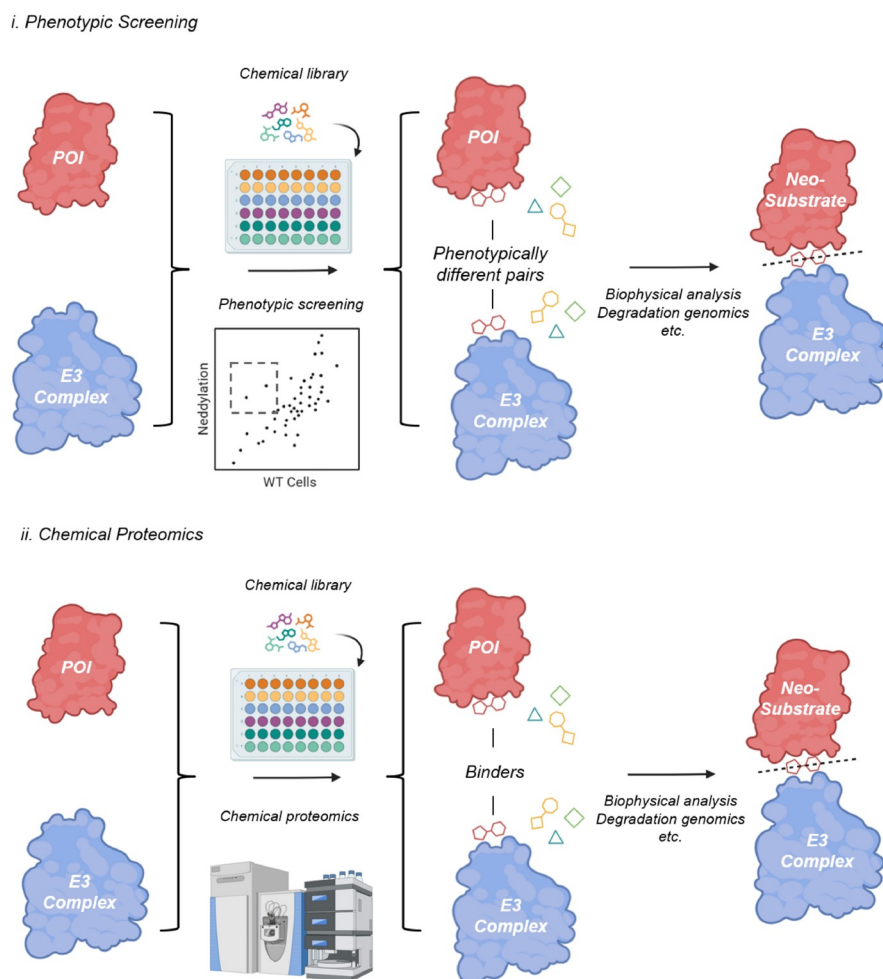


图 10 (网络版彩图)基于分子文库的分子胶降解剂高通量筛选流程图(表型筛选/化学蛋白质组学)

Figure 10 (Color online) High-throughput screening workflow for molecular glue degraders based on chemical library (phenotypic screening/chemical proteomics).

发现, 双磷酸化 β -连环蛋白肽段pSer33/pSer37与 β -TrCP的亲和力较高, 而单磷酸化肽段pSer33/Ser37的结合力显著降低。他们以该亲和力强弱作为基准, 通过高通量筛选化合物文库, 识别出包括NRX-1532、NRX-1933在内的四个结构相关化合物。晶体结构分析显示, NRX-1933结合于 β -连环蛋白与 β -TrCP的界面, 其三氟甲基吡啶酮部分模拟磷酸根, 占据因 β -连环蛋白Ser37去磷酸化暴露的疏水口袋, 并通过与 β -连环蛋白的Leu31、Ile35及 β -TrCP的Ala434、Leu472形成疏水相互作用发挥作用。该研究表明, 对于因基因突变等受阻的天然PPI, 可通过设计分子胶降解剂修复其结合界面。此类筛选得到的分子胶降解剂对突变型 β -连环蛋白具有选择性, 不会干扰正常组织中野生型 β -连环

蛋白; 同时, 该策略可推广至其他因PPI界面突变而减弱的天然PPI, 为针对特定PPI发现对应分子胶提供了理性思路。Deshaies等^[153]也在2025年的综述中从分子动力学角度出发对稳定天然PPI这一策略的可行性与优势做了阐释与延伸。

在化学分子文库的高通量筛选中获得的、具有靶点抑制或降解能力的小分子, 也可借助化学蛋白质组学手段, 确认其是否具备分子胶作用机制。例如, 2021年Dieter等^[154]在针对结直肠癌球状体抑制化合物的筛选中所得到的分子NCT02, 通过热蛋白质组分析(TPP)等化学蛋白质组学手段证实, 其同样具有作为分子胶诱导Cyclin K/CDK12降解的作用模式。前文中, Spradlin等^[133]借助ABPP技术鉴定得到Nimbolide也是化学

蛋白质组学在分子胶降解剂筛选中的良好应用案例。

化学蛋白质组学也可应用于筛选对特定蛋白具有招募/降解功能的分子胶降解剂, 2021年Luo等^[134]借助配体文库与半胱氨酸反应性荧光探针竞争结合RNF114蛋白的方式, 筛选得到可模拟Nimbolide的EN219, 能以手柄的形式衔接靶蛋白配体作为分子胶降解剂使用。2023年King等^[135]发现可降解NFKB的共价分子胶EN450的过程融合了表型筛选与化学蛋白质组学方法: 他们首先对共价配体文库进行抗增殖化合物的表型筛选, 随后针对具有表型差异的分子, 通过反向筛选验证其对Cullin E3泛素酶通路的依赖性, 再利用串联正交基于蛋白水解活性的蛋白质组学(iso-TOP-ABPP)平台, 筛选得到其靶向的蛋白UBE2D。

3.2 新底物的发现策略

3.2.1 实验驱动的新底物捕获与识别

高通量筛选策略不仅可用于新型分子胶的筛选, 还能捕获已有分子胶的未知新底物(图11)。2025年, Tutter等^[155]报道了一种基于蛋白质微阵列(ProtoArray)的分子胶底物的高通量筛选方法, 即利用含9000多种纯化人类蛋白质的高含量功能性蛋白质微阵列, 对靶向Cullin 2 RING E3底物识别亚基VHL的候选小分子进行检测, 发现化合物VH-032可作为分子胶, 诱导VHL与半胱氨酸双加氧酶1 (CDO1)形成三元复合物。表面等离子体共振(SPR)与核磁共振(NMR)等实验证

实, VH-032可结合VHL的HIF1 α 结合口袋, 其叔丁基部分嵌入CDO1的疏水口袋, 羰基部分则结合CDO1的另一疏水腔, 并通过“O环”结构稳定三元复合物。

2024年, Mercer等^[156]提供了一种借助定向进化获取新底物的新颖思路, 开发了基于噬菌体辅助连续进化(PACE)的分子胶复合物进化系统(MG-PACE), 并将其应用于锌指降解子结构域的进化。该系统通过将噬菌体繁殖与分子胶-E3-底物三元复合物的形成相偶联, 经连续进化获得仅含36个氨基酸的ZF蛋白SD40; 在IMiDs衍生物PT-179存在时, SD40可与CRBN紧密结合。在哺乳动物细胞中, PT-179能高效降解N端或C端融合SD40的蛋白, 且SD40的小尺寸使其可通过先导编辑技术(prime editing)^[157,158]精确插入人细胞内源性蛋白编码基因, 实现对天然调控背景下内源性蛋白的低干扰研究。通过冷冻电子显微镜验证了 CRL4-CRBN-PT-179-SD40复合物的形成, 且发现SD40可促使CRBN形成具有活性的闭合构象。这种基于定向进化技术的新底物合成途径, 联合基因编辑技术, 为构建对分子胶产生特异性响应的底物蛋白提供了新思路。

由于分子胶本身是构建邻近相互作用的小分子工具, 基于邻近效应或相互作用捕获分子胶底物、再串联质谱等手段对底物进行识别分析的策略, 成为分子胶新底物筛选的重要方向之一。例如, Baek等^[159]尝试通过高通量免疫共沉淀-亲和层析质谱(IP-MS)捕获现

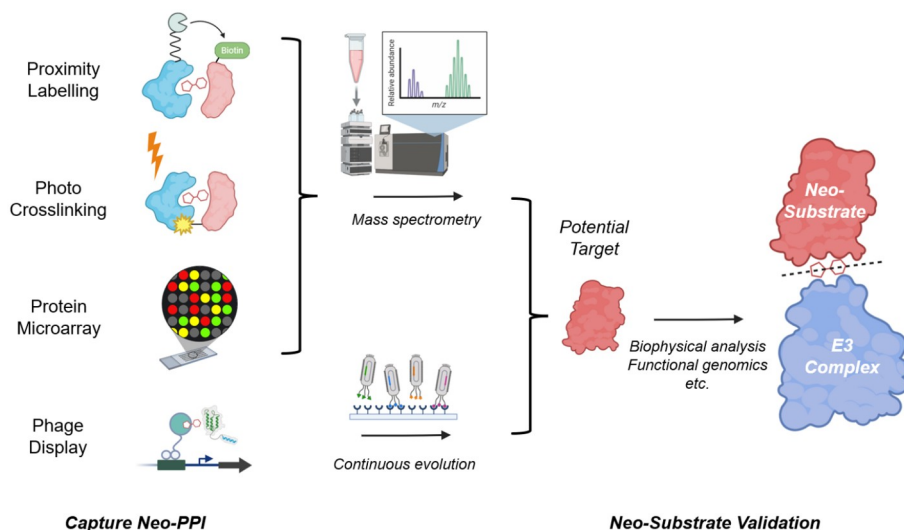


图 11 (网络版彩图)新底物筛选流程图

Figure 11 (Color online) Workflow of the high-throughput screening process for neo-substrates.

有CRBN分子胶降解剂的未知靶点。

2022年, Yamanaka等^[160]设计了一种用于捕获分子胶底物的邻近标记技术。他们构建了AirID (一种新型邻近生物素化酶)^[161]与E3配体的融合蛋白, 利用AirID的高生物素化活性及邻近依赖性, 在小分子药物处理下对相互作用的底物蛋白进行生物素标记。通过质谱分析等手段, 验证了AirID-CRBN在IMiDs存在时可生物素化标记IKZF1、SALL4等已知CRBN新底物; 进一步研究发现, 该方法还能捕获ZMYM2与FGFR1的融合蛋白等未报道新底物, 且泊马度胺可通过诱导ZMYM2-FGFR1降解, 减弱STAT1/3和ERK信号通路。此外, AirID-DCAF15可在Indisulam存在时标记其靶标RBM39, 表明该方法可广泛应用于分子胶诱导的PPI分析。2024年, Huang等^[162]也设计了一种E3-底物泛素特异性邻近标记方法用于新底物捕获。

2025年, Xu等^[163]通过光交联技术建立了结合遗传密码扩展技术与质谱蛋白质组学的方法, 在活细胞中对分子胶降解剂诱导的E3相互作用组进行全局交联分析。该方法突破了此前广泛用于捕获分子胶底物的免疫共沉淀(Co-IP)或亲和层析质谱(AP-MS)等技术需裂解细胞、破坏生理状态的局限。

3.2.2 数据驱动的新底物预测与筛选

检索E3-分子胶复合物已知底物(如IKZF1/3、CK1 α 、GSPT1等)中负责识别作用界面的共性结构特征, 是高效扩展现有分子胶底物文库的重要手段^[91]。2025年, Petzold等^[164]报道了一项显著提升分子胶文库多样性的研究。基于IMiDs-CRBN复合物对 β -发夹G-环(β -hairpin G-loop)的底物识别机制, 以CK1 α 的G-环为模板, 通过匹配算法对蛋白质结构数据库(PDB)和AlphaFold2预测模型数据库开展高通量筛选, 最终识别出1424种含潜在 β -发夹G-环结构的人源蛋白。其中, C2H2锌指蛋白家族占比最高, 同时还包含众多此前被认为难以靶向的激酶、代谢相关蛋白等靶点(约占总体的16%)。

他们进一步放宽基序结构定义范围(仅保留少数关键残基)后, 筛选范围扩展至1633个蛋白, 并发现其中184个含螺旋G-环(helical G-loop)的蛋白同样具备被IMiDs-CRBN识别结合的能力。例如, mTOR的FKBP-雷帕霉素结合(FKBP-rapamycin binding, FRB)结构域可通过螺旋构象模拟经典底物G-环的氢键相互作用

模式, 实现与CRBN的结合。在通过计算手段构建潜在靶点文库后, 他们选取部分候选靶点, 结合Turbo-ID^[165]、TR-FRET与基于NanoLuc的生物发光共振能量转移(NanoBRET)等邻近标记或反应技术, 对靶点与IMiDs-CRBN结合的真实性进行了实验验证。

此外, Petzold借助Gainza等^[166,167]建立的表面匹配算法发现, 存在部分无需经典基序即可与CRBN结合的新底物蛋白, 这些新底物蛋白存在在结构上模仿CRBN经典降解子结构的基序或结构域。他们以筛选出的VAV1为代表开展结构分析, 发现其C端的SH3c结构域可通过RT-环模拟GSPT1的G-环表面特征, 并借助TR-FRET筛选化合物文库得到了可以有效诱导CRBN与VAV1结合的分子胶。该研究揭示了一种全新的分子胶新底物结合模式, 突破了 β -hairpin G-loop的底物结构限制, 拓展了IMiDs-CRBN识别底物的结构多样性, 启发了研究者可基于结构而非序列的相似性开发新的分子胶底物。

上述由数据驱动的预测方法可快速扩大候选底物库(图12), 未来通过优化算法、提升数据集质量可进一步提高其预测效率。

4 总结与展望

分子胶的全新结合模式, 突破了天然蛋白-蛋白相互作用网络的限制, 也打破了传统小分子抑制剂或拮抗剂的瓶颈——分子胶无需结合靶蛋白的活性位点或要求其具备成型结合口袋。上述优势与分子胶在分子量、剂量效应上的优势相结合, 使分子胶降解剂成为当前最具前景的TPD策略与药物类型之一。然而, 分子胶降解剂的发展仍需突破以下三个关键瓶颈。

(1) 分子胶降解剂无法覆盖所有蛋白质靶点。相较于以往仅依赖随机发现的方式, 当前虽已建立起部分理性筛选或设计策略, 但多数靶点仍未纳入现有分子

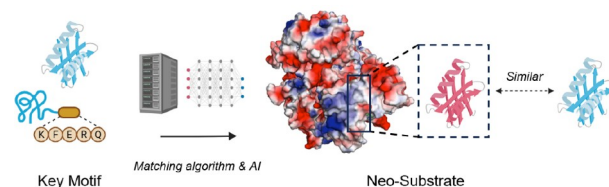


图12 (网络版彩图)数据驱动的新底物预测与筛选流程图
Figure 12 (Color online) Workflow of the data-driven neo-substrate prediction and screening process.

胶降解剂的底物谱. 例如, Petzold等^[164]在最新工作中通过数据驱动的底物预测方法, 突破性地将潜在靶点扩展至一千余种蛋白, 但仍远不足以覆盖人类蛋白质组, 多数重要靶点仍缺乏有效的分子胶调控途径. 因此, 如何获取针对新靶点的分子胶降解剂以及如何扩展现有分子胶降解剂的底物范围是未来的研究重点之一, 现阶段亟需深度更广、精度更高、覆盖更广的检测方法, 对质谱技术与邻近标记技术的优化如以肽段为中心的局部稳定性测定(PELSA)、交联质谱(XL-MS)等技术可以有效推动新靶点及其对应分子胶降解剂的发现.

(2) 尽管部分现有分子胶降解剂与E3泛素连接酶、底物形成的三元复合物结构已被解析, 但对多数分子胶的构效关系仍缺乏清晰认知, 如分子胶-E3连接酶-底物复合物在活细胞内的构象变化、参与底物识别与泛素化过程的辅助元件等问题, 这均需得到进一步阐明. 上述问题的突破, 亟需更多具备更高分辨率(如原子级分辨率)且包含更完整复合物组分(如动态构象中间体)的结构生物学研究, 以填补构效关系认知的空白, 为高效降解剂的理性设计提供更精准的直接依据.

(3) 分子胶降解剂的选择性调控仍是当前领域需突破的核心瓶颈. 一方面, 多数分子胶存在脱靶问题, 会非特异性靶向次要底物, 典型例子如IMiDs类降解剂对IKZF2与IKZF1/3的选择性调控, 目前尚未形成成熟解决方案, 导致靶点区分度不足; 另一方面, 分子胶与E3连接酶或底物的结合, 可能干扰内源性降解通路. 例如, IMiDs会阻断转录因子MEIS2的正常泛素化进程^[75], 抑制其天然降解途径. 无论是非靶点底物的异常降解, 还是天然底物的降解受阻, 均可能引发不可控的副作用, 制约分子胶降解剂的临床转化. 通过深入解析构效关系、合理运用人工智能(artificial intelligence)辅助分子设计和底物预测等技术, 可更精准地实现分子胶降解剂的理性优化. 最后, 分子胶降解剂在临床应用中还存在耐药性问题. 如何通过联合其他疗法、从机制层面规避耐药性, 也是其走向实际应用需克服的挑战.

综上所述, 分子胶降解剂作为新型单价小分子药物, 突破了传统小分子药物及PROTACs等策略的局限, 拥有广阔的研究与临床前景. 若克服其当前发展瓶颈, 将为TPD疗法提供强有力支撑, 进而有力推动个性化精准治疗的快速发展.

参考文献

- Dikic I. *Annu Rev Biochem*, 2017, 86: 193–224
- Zhang QC, Petrey D, Deng L, Qiang L, Shi Y, Thu CA, Bisikirska B, Lefebvre C, Accili D, Hunter T, Maniatis T, Califano A, Honig B. *Nature*, 2012, 490: 556–560
- Lu H, Zhou Q, He J, Jiang Z, Peng C, Tong R, Shi J. *Sig Transduct Target Ther*, 2020, 5: 213
- Lecker SH, Goldberg AL, Mitch WE. *J Am Soc Nephrol*, 2006, 17: 1807–1819
- Cheng F, Zhao J, Wang Y, Lu W, Liu Z, Zhou Y, Martin WR, Wang R, Huang J, Hao T, Yue H, Ma J, Hou Y, Castrillon JA, Fang J, Lathia JD, Keri RA, Lightstone FC, Antman EM, Rabadan R, Hill DE, Eng C, Vidal M, Loscalzo J. *Nat Genet*, 2021, 53: 342–353
- Greenblatt JF, Alberts BM, Krogan NJ. *Cell*, 2024, 187: 6501–6517
- Nada H, Choi Y, Kim S, Jeong KS, Meanwell NA, Lee K. *Sig Transduct Target Ther*, 2024, 9: 341
- Higueruelo AP, Jubb H, Blundell TL. *Curr Opin Pharmacol*, 2013, 13: 791–796
- Hinterndorfer M, Spiteri VA, Ciulli A, Winter GE. *Nat Rev Cancer*, 2025, 25: 493–516
- Teng M, Gray NS. *Cell Chem Biol*, 2023, 30: 864–878
- Wu T, Yoon H, Xiong Y, Dixon-Clarke SE, Nowak RP, Fischer ES. *Nat Struct Mol Biol*, 2020, 27: 605–614
- Bondeson DP, Crews CM. *Annu Rev Pharmacol Toxicol*, 2017, 57: 107–123
- Liu X, Ciulli A. *ACS Cent Sci*, 2023, 9: 1269–1284
- Lai AC, Crews CM. *Nat Rev Drug Discov*, 2017, 16: 101–114
- Konstantinidou M, Arkin MR. *Cell Chem Biol*, 2024, 31: 1064–1088
- Domestegui A, Nieto-Barrado L, Perez-Lopez C, Mayor-Ruiz C. *Chem Soc Rev*, 2022, 51: 5498–5517
- Rui H, Ashton KS, Min J, Wang C, Potts PR. *RSC Chem Biol*, 2023, 4: 192–215

- 18 Cao S, Kang S, Mao H, Yao J, Gu L, Zheng N. *Nat Commun*, 2022, 13: 815
- 19 Schreiber SL. *Cell Chem Biol*, 2024, 31: 1050–1063
- 20 Ng CSC, Banik SM. *Curr Opin Chem Biol*, 2022, 67: 102107
- 21 Zheng N, Shabek N. *Annu Rev Biochem*, 2017, 86: 129–157
- 22 Kannt A, Đikić I. *Cell Chem Biol*, 2021, 28: 1014–1031
- 23 Wu X, Du Y, Liang LJ, Ding R, Zhang T, Cai H, Tian X, Pan M, Liu L. *Nat Commun*, 2024, 15: 1266
- 24 Pan M, Gao S, Zheng Y, Tan X, Lan H, Tan X, Sun D, Lu L, Wang T, Zheng Q, Huang Y, Wang J, Liu L. *J Am Chem Soc*, 2016, 138: 7429–7435
- 25 Tong Z, Wu X, Cai H, Wu S, Zhang T, Deng Z, Xu Z, Yuan R, Ai H, Liu L, Pan M. *Nat Chem Biol*, 2025, doi: 10.1038/s41589-025-01985-2
- 26 Liang LJ, Chu GC, Qu Q, Zuo C, Mao J, Zheng Q, Chen J, Meng X, Jing Y, Deng H, Li YM, Liu L. *Angew Chem Int Ed*, 2021, 60: 17171–17177
- 27 Wu X, Ai H, Mao J, Cai H, Liang LJ, Tong Z, Deng Z, Zheng Q, Liu L, Pan M. *Nat Commun*, 2025, 16: 4313
- 28 Ai H, Tong Z, Deng Z, Shi Q, Tao S, Sun G, Liang J, Sun M, Wu X, Zheng Q, Liang L, Yin H, Li JB, Gao S, Tian C, Liu L, Pan M. *Nat Chem Biol*, 2025, 21: 668–680
- 29 Wu S, Liang J, Wu X, Deng Z, Liu L. *Sci Sin Chim*, 2025, 55: 825–846
- 30 Ai H, Pan M, Liu L. *ACS Cent Sci*, 2024, 10: 1442–1459
- 31 Dong S, Zheng JS, Li Y, Wang H, Chen G, Chen Y, Fang G, Guo J, He C, Hu H, Li X, Li Y, Li Z, Pan M, Tang S, Tian C, Wang P, Wu B, Wu C, Zhao J, Liu L. *Sci China Chem*, 2024, 67: 1060–1096
- 32 Deng Z, Ai H, Sun M, Tong Z, Du Y, Qu Q, Zhang L, Xu Z, Tao S, Shi Q, Li JB, Pan M, Liu L. *Mol Cell*, 2023, 83: 3080–3094.e14
- 33 Tao S, He W, Li C, Liang J, Tong Z, Deng Z, Zhang L, Ai H, Liang LJ, Liu L. *Sci China Chem*, 2025, 68: 5871–5880
- 34 Ai H, Tong Z, Deng Z, Tian J, Zhang L, Sun M, Du Y, Xu Z, Shi Q, Liang L, Zheng Q, Li JB, Pan M, Liu L. *Chem*, 2023, 9: 1221–1240
- 35 Pan M, Zheng Q, Wang T, Liang L, Mao J, Zuo C, Ding R, Ai H, Xie Y, Si D, Yu Y, Liu L, Zhao M. *Nature*, 2021, 600: 334–338
- 36 Gao S, Pan M, Zheng Y, Huang Y, Zheng Q, Sun D, Lu L, Tan X, Tan X, Lan H, Wang J, Wang T, Wang J, Liu L. *J Am Chem Soc*, 2016, 138: 14497–14502
- 37 Tang S, Liang LJ, Si YY, Gao S, Wang JX, Liang J, Mei Z, Zheng JS, Liu L. *Angew Chem Int Ed*, 2017, 56: 13333–13337
- 38 Pan M, Zheng Q, Gao S, Qu Q, Yu Y, Wu M, Lan H, Li Y, Liu S, Li J, Sun D, Lu L, Wang T, Zhang W, Wang J, Li Y, Hu HG, Tian C, Liu L. *CCS Chem*, 2019, 1: 476–489
- 39 Chu GC, Pan M, Li J, Liu S, Zuo C, Tong ZB, Bai JS, Gong Q, Ai H, Fan J, Meng X, Huang YC, Shi J, Deng H, Tian C, Li YM, Liu L. *J Am Chem Soc*, 2019, 141: 3654–3663
- 40 Pan M, Zheng Q, Ding S, Zhang L, Qu Q, Wang T, Hong D, Ren Y, Liang L, Chen C, Mei Z, Liu L. *Angew Chem Int Ed*, 2019, 58: 2627–2631
- 41 Zheng Q, Wang T, Chu GC, Zuo C, Zhao R, Sui X, Ye L, Yu Y, Chen J, Wu X, Zhang W, Deng H, Shi J, Pan M, Li YM, Liu L. *Angew Chem Int Ed*, 2020, 59: 13496–13501
- 42 Yang Z, Xiao Y, Shi Y, Liu L. *Sci China Life Sci*, 2025, 68: 2515–2549
- 43 Chen W, Dai J, Yan M, Ye M. *Sci Sin Chim*, 2025, 55: 847–858
- 44 Tao H, Zhang Y, Chen W, Chen Z, Xu Y, Li H, Zhou L, Han J, Deng X, Li L, Chen G, Luo C. *Sci Sin Chim*, 2025, 55: 777–784
- 45 Sakamoto KM, Kim KB, Kumagai A, Mercurio F, Crews CM, Deshaies RJ. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2001, 98: 8554–8559
- 46 Neklesa TK, Winkler JD, Crews CM. *Pharmacol Ther*, 2017, 174: 138–144
- 47 Gadd MS, Testa A, Lucas X, Chan KH, Chen W, Lamont DJ, Zengerle M, Ciulli A. *Nat Chem Biol*, 2017, 13: 514–521
- 48 Zengerle M, Chan KH, Ciulli A. *ACS Chem Biol*, 2015, 10: 1770–1777
- 49 Lu J, Qian Y, Altieri M, Dong H, Wang J, Raina K, Hines J, Winkler JD, Crew AP, Coleman K, Crews CM. *Chem Biol*, 2015, 22: 755–763
- 50 Winter GE, Buckley DL, Paulk J, Roberts JM, Souza A, Dhe-Paganon S, Bradner JE. *Science*, 2015, 348: 1376–1381
- 51 Békés M, Langle DR, Crews CM. *Nat Rev Drug Discov*, 2022, 21: 181–200
- 52 Kozicka Z, Thomä NH. *Cell Chem Biol*, 2021, 28: 1032–1047
- 53 Zhang NY, Hou DY, Hu XJ, Liang JX, Wang MD, Song Z, Yi L, Wang ZZ, An HW, Xu W, Wang H. *Angew Chem Int Ed*, 2023, 62: e202308049
- 54 Yoon H, Rutter JC, Li YD, Ebert BL. *J Clin Invest*, 2024, 134: e175265

- 55 Harding MW, Galat A, Uehling DE, Schreiber SL. *Nature*, 1989, 341: 758–760
- 56 Bierer BE, Somers PK, Wandless TJ, Burakoff SJ, Schreiber SL. *Science*, 1990, 250: 556–559
- 57 Kallen J, Spitzfaden C, Zurini MGM, Wider G, Widmer H, Wüthrich K, Walkinshaw MD. *Nature*, 1991, 353: 276–279
- 58 Michnick SW, Rosen MK, Wandless TJ, Karplus M, Schreiber SL. *Science*, 1991, 252: 836–839
- 59 Spencer DM, Wandless TJ, Schreiber SL, Crabtree GR. *Science*, 1993, 262: 1019–1024
- 60 Zheng XF, Fiorentino D, Chen J, Crabtree GR, Schreiber SL. *Cell*, 1995, 82: 121–130
- 61 Stanton BZ, Chory EJ, Crabtree GR. *Science*, 2018, 359: eaao5902
- 62 Gray WM, Kepinski S, Rouse D, Leyser O, Estelle M. *Nature*, 2001, 414: 271–276
- 63 Sheard LB, Tan X, Mao H, Withers J, Ben-Nissan G, Hinds TR, Kobayashi Y, Hsu FF, Sharon M, Browse J, He SY, Rizo J, Howe GA, Zheng N. *Nature*, 2010, 468: 400–405
- 64 Milroy LG, Grossmann TN, Hennig S, Brunsvelde L, Ottmann C. *Chem Rev*, 2014, 114: 4695–4748
- 65 Tan X, Calderon-Villalobos LIA, Sharon M, Zheng C, Robinson CV, Estelle M, Zheng N. *Nature*, 2007, 446: 640–645
- 66 Vargesson N. *Birth Defects Res Pt C*, 2015, 105: 140–156
- 67 Singhal S, Mehta J, Desikan R, Ayers D, Roberson P, Eddlemon P, Munshi N, Anaissie E, Wilson C, Dhodapkar M, Zeldis J, Siegel D, Crowley J, Barlogie B. *N Engl J Med*, 1999, 341: 1565–1571
- 68 Martiniani R, Di Loreto V, Di Sano C, Lombardo A, Liberati AM. *Adv Hematol*, 2012, 2012: 1–11
- 69 Zhu YX, Kortuem KM, Stewart AK. *Leukemia Lymphoma*, 2013, 54: 683–687
- 70 D'Amato RJ, Loughnan MS, Flynn E, Folkman J. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1994, 91: 4082–4085
- 71 Franks ME, Macpherson GR, Figg WD. *Lancet*, 2004, 363: 1802–1811
- 72 List A, Kurtin S, Roe DJ, Buresh A, Mahadevan D, Fuchs D, Rimsza L, Heaton R, Knight R, Zeldis JB. *N Engl J Med*, 2005, 352: 549–557
- 73 Bartlett JB, Dredge K, Dalglish AG. *Nat Rev Cancer*, 2004, 4: 314–322
- 74 Ito T, Ando H, Suzuki T, Ogura T, Hotta K, Imamura Y, Yamaguchi Y, Handa H. *Science*, 2010, 327: 1345–1350
- 75 Fischer ES, Böhm K, Lydeard JR, Yang H, Stadler MB, Cavadini S, Nagel J, Serluca F, Acker V, Lingaraju GM, Tichkule RB, Schebesta M, Forrester WC, Schirle M, Hassiepen U, Ottl J, Hild M, Beckwith REJ, Harper JW, Jenkins JL, Thomä NH. *Nature*, 2014, 512: 49–53
- 76 Krönke J, Udeshi ND, Narla A, Grauman P, Hurst SN, McConkey M, Svinkina T, Heckl D, Comer E, Li X, Ciarlo C, Hartman E, Munshi N, Schenone M, Schreiber SL, Carr SA, Ebert BL. *Science*, 2014, 343: 301–305
- 77 Lu G, Middleton RE, Sun H, Naniong MV, Ott CJ, Mitsiades CS, Wong KK, Bradner JE, Kaelin Jr WG. *Science*, 2014, 343: 305–309
- 78 Gandhi AK, Kang J, Havens CG, Conklin T, Ning Y, Wu L, Ito T, Ando H, Waldman MF, Thakurta A, Klippel A, Handa H, Daniel TO, Schafer PH, Chopra R. *Br J Haematol*, 2014, 164: 811–821
- 79 Soucy TA, Smith PG, Milhollen MA, Berger AJ, Gavin JM, Adhikari S, Brownell JE, Burke KE, Cardin DP, Critchley S, Cullis CA, Doucette A, Garnsey JJ, Gaulin JL, Gershman RE, Lublinsky AR, McDonald A, Mizutani H, Narayanan U, Olhava EJ, Peluso S, Rezaei M, Sintchak MD, Talreja T, Thomas MP, Traore T, Vyskocil S, Weatherhead GS, Yu J, Zhang J, Dick LR, Claiborne CF, Rolfe M, Bolen JB, Langston SP. *Nature*, 2009, 458: 732–736
- 80 Lopez-Girona A, Mendy D, Ito T, Miller K, Gandhi AK, Kang J, Karasawa S, Carmel G, Jackson P, Abbasian M, Mahmoudi A, Cathers B, Rychak E, Gaidarova S, Chen R, Schafer PH, Handa H, Daniel TO, Evans JF, Chopra R. *Leukemia*, 2012, 26: 2326–2335
- 81 Bonazzi S, d'Hennezel E, Beckwith REJ, Xu L, Fazal A, Magracheva A, Ramesh R, Cernijenko A, Antonakos B, Bhang HC, Caro RG, Cobb JS, Ornelas E, Ma X, Wartchow CA, Clifton MC, Forseth RR, Fortnam BH, Lu H, Csibi A, Tullai J, Carbonneau S, Thomsen NM, Larrow J, Chie-Leon B, Hainzl D, Gu Y, Lu D, Meyer MJ, Alexander D, Kinyamu-Akunda J, Sabatos-Peyton CA, Dales NA, Zécri FJ, Jain RK, Shulok J, Wang YK, Briner K, Porter JA, Tallarico JA, Engelman JA, Dranoff G, Bradner JE, Visser M, Solomon JM. *Cell Chem Biol*, 2023, 30: 235–247. e12
- 82 Krönke J, Fink EC, Hollenbach PW, MacBeth KJ, Hurst SN, Udeshi ND, Chamberlain PP, Mani DR, Man HW, Gandhi AK, Svinkina T, Schneider RK, McConkey M, Järås M, Griffiths E, Wetzler M, Bullinger L, Cathers BE, Carr SA, Chopra R, Ebert BL. *Nature*, 2015, 523: 183–188
- 83 Petzold G, Fischer ES, Thomä NH. *Nature*, 2016, 532: 127–130
- 84 Matyskiela ME, Lu G, Ito T, Pagarigan B, Lu CC, Miller K, Fang W, Wang NY, Nguyen D, Houston J, Carmel G, Tran T, Riley M, Nosaka LA, Lander GC, Gaidarova S, Xu S, Ruchelman AL, Handa H, Carmichael J, Daniel TO, Cathers BE, Lopez-Girona A, Chamberlain PP. *Nature*,

- 2016, 535: 252–257
- 85 Hagner PR, Man HW, Fontanillo C, Wang M, Couto S, Breider M, Bjorklund C, Havens CG, Lu G, Rychak E, Raymon H, Narla RK, Barnes L, Khambatta G, Chiu H, Kosek J, Kang J, Amantangelo MD, Waldman M, Lopez-Girona A, Cai T, Pourdehnad M, Trotter M, Daniel TO, Schafer PH, Klippel A, Thakurta A, Chopra R, Gandhi AK. *Blood*, 2015, 126: 779–789
- 86 Xu C, Fan X, Gao X, Qi W. *Sci Sin Chim*, 2025, 55: 748–760
- 87 Guharoy M, Bhowmick P, Sallam M, Tompa P. *Nat Commun*, 2016, 7: 10239
- 88 Koren I, Timms RT, Kula T, Xu Q, Li MZ, Elledge SJ. *Cell*, 2018, 173: 1622–1635.e14
- 89 Ichikawa S, Flaxman HA, Xu W, Vallavoju N, Lloyd HC, Wang B, Shen D, Pratt MR, Woo CM. *Nature*, 2022, 610: 775–782
- 90 Xu W, Zhao Z, Su M, Jain AD, Lloyd HC, Feng EY, Cox N, Woo CM. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2025, 122: e2415976121
- 91 Sievers QL, Petzold G, Bunker RD, Renneville A, Slabicki M, Liddicoat BJ, Abdulrahman W, Mikkelsen T, Ebert BL, Thomä NH. *Science*, 2018, 362: eaat0572
- 92 Yamamoto J, Suwa T, Murase Y, Tateno S, Mizutome H, Asatsuma-Okumura T, Shimizu N, Kishi T, Momose S, Kizaki M, Ito T, Yamaguchi Y, Handa H. *Nat Chem Biol*, 2020, 16: 1208–1217
- 93 Renneville A, Gasser JA, Grinshpun DE, Jean Beltran PM, Udeshi ND, Matyskiela ME, Clayton T, McConkey M, Viswanathan K, Tepper A, Guirguis AA, Sellar RS, Cotteret S, Marzac C, Saada V, De Botton S, Kiladjian JJ, Cayuela JM, Rolfe M, Chamberlain PP, Carr SA, Ebert BL. *Blood Cancer Discov*, 2021, 2: 250–265
- 94 Ting PY, Borikar S, Kerrigan JR, Thomsen NM, Aghania E, Hinman AE, Reyes A, Pizzato N, Fodor BD, Wu F, Belew MS, Mao X, Wang J, Chitnis S, Niu W, Hachey A, Cobb JS, Savage NA, Burke A, Paulk J, Dovala D, Lin J, Clifton MC, Ornelas E, Ma X, Ware NF, Sanchez CC, Taraszka J, Terranova R, Knehr J, Altorfer M, Barnes SW, Beckwith REJ, Solomon JM, Dales NA, Patterson AW, Wagner J, Bouwmeester T, Dranoff G, Stevenson SC, Bradner JE. *Science*, 2024, 385: 91–99
- 95 Razumkov H, Jiang Z, Baek K, You I, Geng Q, Donovan KA, Tang MT, Metivier RJ, Mageed N, Seo P, Li Z, Byun WS, Hinshaw SM, Sarott RC, Fischer ES, Gray NS. *J Am Chem Soc*, 2024, 146: 31433–31443
- 96 Chen L, Huang L, Wen W, Zeng P, Wu Y, Han Q, Chen X, Guo Z, Yu H, Lu W, Jiang B. *Angew Chem Int Ed*, 2025, 64: e202500169
- 97 Sylvain A, Stoehr N, Ma F, Cernijenko A, Schröder M, Khoshouei M, Vogelsanger M, Schoenboerner M, Burke A, Rao P, Solomon JM, Paulk J, Xu L, Dawson J, Begue D, Lefeuvre P, Ahme E, Hofmann A, Dickson CJ, Arabin P, Zimmerlin A, Kiffe M, Froehlicher M, Boersig T, Elhajouji A, Brichet M, Menon S, Liu S, Mueller M, Wartchow CA, Lin J, Gloria YC, Dickhöfer S, Weber ANR, Welzel T, Kuemmerle-Deschner J, Farady CJ, Pulz R, Bornancin F, Buckley DL, Bassi ZI. *Cell Chem Biol*, 2025, 32: 955–968.e13
- 98 Matyskiela ME, Couto S, Zheng X, Lu G, Hui J, Stamp K, Drew C, Ren Y, Wang M, Carpenter A, Lee CW, Clayton T, Fang W, Lu CC, Riley M, Abdubek P, Blease K, Hartke J, Kumar G, Vessey R, Rolfe M, Hamann LG, Chamberlain PP. *Nat Chem Biol*, 2018, 14: 981–987
- 99 Yamanaka S, Murai H, Saito D, Abe G, Tokunaga E, Iwasaki T, Takahashi H, Takeda H, Suzuki T, Shibata N, Tamura K, Sawasaki T. *EMBO J*, 2021, 40: e105375
- 100 Bjorklund CC, Kang J, Amantangelo M, Polonskaia A, Katz M, Chiu H, Couto S, Wang M, Ren Y, Ortiz M, Towfic F, Flynt JE, Pierceall W, Thakurta A. *Leukemia*, 2020, 34: 1197–1201
- 101 Matyskiela ME, Zhang W, Man HW, Muller G, Khambatta G, Baculi F, Hickman M, LeBrun L, Pagarigan B, Carmel G, Lu CC, Lu G, Riley M, Satoh Y, Schafer P, Daniel TO, Carmichael J, Cathers BE, Chamberlain PP. *J Med Chem*, 2018, 61: 535–542
- 102 Richardson PG, Trudel S, Popat R, Mateos MV, Vangsted AJ, Ramasamy K, Martinez-Lopez J, Quach H, Orlowski RZ, Arnao M, Lonial S, Karanes C, Pawlyn C, Kim K, Oriol A, Berdeja JG, Rodríguez Otero P, Casas-Avilés I, Spirli A, Poon J, Li S, Gong J, Wong L, Lamba M, Pierce DW, Amantangelo M, Peluso T, Maciag P, Katz J, Pourdehnad M, Bahlis NJ. *N Engl J Med*, 2023, 389: 1009–1022
- 103 Carrancio S, Grocock L, Janardhanan P, Jankeel D, Galasso R, Guarinos C, Narla RK, Groza M, Leisten J, Pierce DW, Rolfe M, Lopez-Girona A. *Blood*, 2021, 138: 1200
- 104 Michot JM, Chavez JC, Carpio C, Ferrari S, Feldman TA, Morillo D, Kuruvilla J, Pinto A, Ribrag V, Bachy E, Buchholz TJ, Carrancio S, Guarinos C, Wu F, Li S, Patah P, Pourdehnad M, Nastoupil L. *Blood*, 2021, 138: 3574
- 105 Hansen JD, Correa M, Alexander M, Nagy M, Huang D, Sapienza J, Lu G, LeBrun LA, Cathers BE, Zhang W, Tang Y, Ammirante M, Narla RK, Piccotti JR, Pourdehnad M, Lopez-Girona A. *J Med Chem*, 2021, 64: 1835–1843
- 106 Thomenius MJ, Perino S, Kirby J, Agafonov R, Chaturvedi P, Eron S, Good A, Hart JA, He M, Phillips A, Proia DA, Henderson JA, Nasveschuk C, Fisher SL, Pollock RM. *Hematological Oncol*, 2023, 41: 550–551

- 107 Watson ER, Novick S, Matyskiela ME, Chamberlain PP, H. de la Peña A, Zhu J, Tran E, Griffin PR, Wertz IE, Lander GC. *Science*, 2022, 378: 549–553
- 108 Deng Z, Ai H, Shi Q, Liang J, He Z, Zheng J, Li H, Zhang L, He W, Tao S, Zheng Q, He W, Pan M, Liu L. A cryptic interfacial pocket uncovered in full CRL4^{CRBN}-IKZF3 ubiquitylation complex enhances IMiD efficacy. 2025, bioRxiv: 2025.2006.2008.658527
- 109 Hansen JD, Correa M, Nagy MA, Alexander M, Plantevin V, Grant V, Whitefield B, Huang D, Kercher T, Harris R, Narla RK, Leisten J, Tang Y, Moghaddam M, Ebinger K, Piccotti J, Havens CG, Cathers B, Carmichael J, Daniel T, Vessey R, Hamann LG, Leftheris K, Mendy D, Baculi F, LeBrun LA, Khambatta G, Lopez-Girona A. *J Med Chem*, 2020, 63: 6648–6676
- 110 Kong NR, Jones LH. *Clin Pharma Ther*, 2023, 114: 558–568
- 111 Sasso JM, Tenchov R, Wang DS, Johnson LS, Wang X, Zhou QA. *Biochemistry*, 2023, 62: 601–623
- 112 Donovan KA, An J, Nowak RP, Yuan JC, Fink EC, Berry BC, Ebert BL, Fischer ES. *eLife*, 2018, 7: e38430
- 113 Furihata H, Yamanaka S, Honda T, Miyauchi Y, Asano A, Shibata N, Tanokura M, Sawasaki T, Miyakawa T. *Nat Commun*, 2020, 11: 4578
- 114 Matyskiela ME, Clayton T, Zheng X, Mayne C, Tran E, Carpenter A, Pagarigan B, McDonald J, Rolfe M, Hamann LG, Lu G, Chamberlain PP. *Nat Struct Mol Biol*, 2020, 27: 319–322
- 115 Han T, Goralski M, Gaskill N, Capota E, Kim J, Ting TC, Xie Y, Williams NS, Nijhawan D. *Science*, 2017, 356: eaal3755
- 116 Uehara T, Minoshima Y, Sagane K, Sugi NH, Mitsunashi KO, Yamamoto N, Kamiyama H, Takahashi K, Kotake Y, Uesugi M, Yokoi A, Inoue A, Yoshida T, Mabuchi M, Tanaka A, Owa T. *Nat Chem Biol*, 2017, 13: 675–680
- 117 Owa T, Yoshino H, Okauchi T, Yoshimatsu K, Ozawa Y, Sugi NH, Nagasu T, Koyanagi N, Kitoh K. *J Med Chem*, 1999, 42: 3789–3799
- 118 Bussiere DE, Xie L, Srinivas H, Shu W, Burke A, Be C, Zhao J, Godbole A, King D, Karki RG, Hornak V, Xu F, Cobb J, Carte N, Frank AO, Frommlet A, Graff P, Knapp M, Fazal A, Okram B, Jiang S, Michellys PY, Beckwith R, Voshol H, Wiesmann C, Solomon JM, Paulk J. *Nat Chem Biol*, 2020, 16: 15–23
- 119 Faust TB, Yoon H, Nowak RP, Donovan KA, Li Z, Cai Q, Eleuteri NA, Zhang T, Gray NS, Fischer ES. *Nat Chem Biol*, 2020, 16: 7–14
- 120 Slabicki M, Kozicka Z, Petzold G, Li YD, Manojkumar M, Bunker RD, Donovan KA, Sievers QL, Koeppl J, Suchyta D, Sperling AS, Fink EC, Gasser JA, Wang LR, Corsello SM, Sellar RS, Jan M, Gillingham D, Scholl C, Fröhling S, Golub TR, Fischer ES, Thomä NH, Ebert BL. *Nature*, 2020, 585: 293–297
- 121 Mayor-Ruiz C, Bauer S, Brand M, Kozicka Z, Siklos M, Imrichova H, Kaltheuner IH, Hahn E, Seiler K, Koren A, Petzold G, Fellner M, Bock C, Müller AC, Zuber J, Geyer M, Thomä NH, Kubicek S, Winter GE. *Nat Chem Biol*, 2020, 16: 1199–1207
- 122 Reitsma JM, Liu X, Reichermeier KM, Moradian A, Sweredoski MJ, Hess S, Deshaies RJ. *Cell*, 2017, 171: 1326–1339.e14
- 123 Lv L, Chen P, Cao L, Li Y, Zeng Z, Cui Y, Wu Q, Li J, Wang JH, Dong MQ, Qi X, Han T. *eLife*, 2020, 9: e59994
- 124 Houles T, Boucher J, Lavoie G, MacLeod G, Lin S, Angers S, Roux PP. *Cell Death Discov*, 2023, 9: 459
- 125 Kozicka Z, Suchyta DJ, Focht V, Kempf G, Petzold G, Jentzsch M, Zou C, Di Genua C, Donovan KA, Coomar S, Cigler M, Mayor-Ruiz C, Schmid-Burgk JL, Häussinger D, Winter GE, Fischer ES, Slabicki M, Gillingham D, Ebert BL, Thomä NH. *Nat Chem Biol*, 2023, 20: 93–102
- 126 Thomas KL, Bouguenina H, Miller DSJ, Sialana FJ, Hayhow TG, Choudhary JS, Rossanese OW, Bellenie BR. *ACS Chem Biol*, 2024, 19: 173–184
- 127 Zhuang Z, Byun WS, Kozicka Z, Donovan KA, Dwyer BG, Thornhill AM, Jones HM, Jiang Z, Zhu X, Fischer ES, Thomä NH, Gray NS. *Angew Chem Int Ed*, 2025, 64: e202508427
- 128 Liu TT, Yang H, Zhuo FF, Yang Z, Zhao MM, Guo Q, Liu Y, Liu D, Zeng KW, Tu PF. *eBioMedicine*, 2022, 86: 104353
- 129 Lu P, Cheng Y, Xue L, Ren X, Xu X, Chen C, Cao L, Li J, Wu Q, Sun S, Hou J, Jia W, Wang W, Ma Y, Jiang Z, Li C, Qi X, Huang N, Han T. *Cell*, 2024, 187: 7126–7142.e20
- 130 Kerres N, Steuer S, Schlager S, Bader G, Berger H, Caligiuri M, Dank C, Engen JR, Ettmayer P, Fischerauer B, Flotzinger G, Gerlach D, Gerstberger T, Gmaschitz T, Greb P, Han B, Heyes E, Jacob RE, Kessler D, Kölle H, Lamarre L, Lancia DR, Lucas S, Mayer M, Mayr K, Mischerikow N, Mück K, Peinsipp C, Petermann O, Reiser U, Rudolph D, Rumpel K, Salomon C, Scharn D, Schnitzer R, Schrenk A, Schweifer N, Thompson D, Traxler E, Varecka R, Voss T, Weiss-Puxbaum A, Winkler S, Zheng X, Zoephel A, Kraut N, McConnell D, Pearson M, Koegl M. *Cell Rep*, 2017, 20: 2860–2875
- 131 Slabicki M, Yoon H, Koeppl J, Nitsch L, Roy Burman SS, Di Genua C, Donovan KA, Sperling AS, Hunkeler M, Tsai JM, Sharma R, Guirguis A, Zou C, Chudasama P, Gasser JA, Miller PG, Scholl C, Fröhling S, Nowak RP, Fischer ES, Ebert BL. *Nature*, 2020, 588: 164–168
- 132 Hsia O, Hinterndorfer M, Cowan AD, Iso K, Ishida T, Sundaramoorthy R, Nakasone MA, Imrichova H, Schätz C, Rukavina A, Husnjak K,

- Wegner M, Correa-Sáez A, Craigon C, Casement R, Maniaci C, Testa A, Kaulich M, Dikic I, Winter GE, Ciulli A. *Nature*, 2024, 627: 204–211
- 133 Spradlin JN, Hu X, Ward CC, Brittain SM, Jones MD, Ou L, To M, Proudfoot A, Ornelas E, Woldegiorgis M, Olzmann JA, Bussiere DE, Thomas JR, Tallarico JA, McKenna JM, Schirle M, Maimone TJ, Nomura DK. *Nat Chem Biol*, 2019, 15: 747–755
- 134 Luo M, Spradlin JN, Boike L, Tong B, Brittain SM, McKenna JM, Tallarico JA, Schirle M, Maimone TJ, Nomura DK. *Cell Chem Biol*, 2021, 28: 559–566.e15
- 135 King EA, Cho Y, Hsu NS, Dovala D, McKenna JM, Tallarico JA, Schirle M, Nomura DK. *Cell Chem Biol*, 2023, 30: 394–402.e9
- 136 Toriki ES, Papatzimas JW, Nishikawa K, Dovala D, Frank AO, Hesse MJ, Dankova D, Song JG, Bruce-Smythe M, Struble H, Garcia FJ, Brittain SM, Kile AC, McGregor LM, McKenna JM, Tallarico JA, Schirle M, Nomura DK. *ACS Cent Sci*, 2023, 9: 915–926
- 137 Lim M, Cong TD, Orr LM, Toriki ES, Kile AC, Papatzimas JW, Lee E, Lin Y, Nomura DK. *ACS Cent Sci*, 2024, 10: 1318–1331
- 138 Orr LM, Tomlinson SJ, Grupe HR, Lim M, Ho E, Yilmaz H, Zhou G, Leon B, Olzmann JA, Nomura DK. *ACS Cent Sci*, 2025, 11: 1207–1217
- 139 Xie X, Zhang O, Yeo MJR, Lee C, Tao R, Harry SA, Payne NC, Nam E, Paul L, Li Y, Kwok HS, Jiang H, Mao H, Hadley JL, Lin H, Batts M, Gosavi PM, D’Angiolella V, Cole PA, Mazitschek R, Northcott PA, Zheng N, Liao BB. *Nature*, 2025, 639: 241–249
- 140 Yeo MJR, Zhang O, Xie X, Nam E, Payne NC, Gosavi PM, Kwok HS, Iram I, Lee C, Li J, Chen NJ, Nguyen K, Jiang H, Wang ZA, Lee K, Mao H, Harry SA, Barakat IA, Takahashi M, Waterbury AL, Barone M, Mattevi A, Carr SA, Udeshi ND, Bar-Peled L, Cole PA, Mazitschek R, Liao BB, Zheng N. *Nature*, 2025, 639: 232–240
- 141 Chagraoui J, Girard S, Spinella JF, Simon L, Bonnell E, Mayotte N, MacRae T, Coulombe-Huntington J, Bertomeu T, Moison C, Tomellini E, Thibault P, Tyers M, Marinier A, Sauvageau G. *Cell Stem Cell*, 2021, 28: 48–62.e6
- 142 Chen Z, Ioris RM, Richardson S, Van Ess AN, Vendrell I, Kessler BM, Buffa FM, Busino L, Clifford SC, Bullock AN, D’Angiolella V. *Cell Death Differ*, 2022, 29: 1955–1969
- 143 Teng M, Lu W, Donovan KA, Sun J, Krupnick NM, Nowak RP, Li YD, Sperling AS, Zhang T, Ebert BL, Fischer ES, Gray NS. *J Med Chem*, 2022, 65: 747–756
- 144 Li YD, Ma MW, Hassan MM, Hunkeler M, Teng M, Puvar K, Rutter JC, Lumpkin RJ, Sandoval B, Jin CY, Schmoker AM, Ficarro SB, Cheong H, Metivier RJ, Wang MY, Xu S, Byun WS, Groendyke BJ, You I, Sigua LH, Tavares I, Zou C, Tsai JM, Park PMC, Yoon H, Majewski FC, Sperling HT, Marto JA, Qi J, Nowak RP, Donovan KA, Slabicki M, Gray NS, Fischer ES, Ebert BL. *Nat Chem Biol*, 2024, 20: 1640–1649
- 145 Shaum JB, Steen EA, Muñoz Ordoño M, Wenge DV, Cheong H, Hunkeler M, Bilotta EM, Rutter Z, Barta PA, Milosevich N, Hargis LM, Janowski J, Bishop TR, Carter TR, da Camara B, Hinterndorfer M, Dada L, He WJ, Offensperger F, Furihata H, Schweber SR, Hatton C, Wen Y, Cravatt BF, Engle KM, Melillo B, Kitamura S, Ciulli A, Armstrong SA, Fischer ES, Winter GE, Erb MA. High-throughput diversification of protein-ligand surfaces to discover chemical inducers of proximity. 2024, bioRxiv: 2024.2009.2030.615685
- 146 Wan L, Wen H, Li Y, Lyu J, Xi Y, Hoshii T, Joseph JK, Wang X, Loh YHE, Erb MA, Souza AL, Bradner JE, Shen L, Li W, Li H, Allis CD, Armstrong SA, Shi X. *Nature*, 2017, 543: 265–269
- 147 Li S, Wu P, Moses JE, Sharpless KB. *Angew Chem Int Ed*, 2017, 56: 2903–2908
- 148 Xiao Y, Yuan Y, Liu Y, Lin Z, Zheng G, Zhou D, Lv D. *J Med Chem*, 2024, 67: 11580–11596
- 149 Nishiguchi G, Mascibroda LG, Young SM, Caine EA, Abdelhamed S, Kooijman JJ, Miller DJ, Das S, McGowan K, Mayasundari A, Shi Z, Barajas JM, Hiltenbrand R, Aggarwal A, Chang Y, Mishra V, Narina S, Thomas M, Loughran AJ, Kalathur R, Yu K, Zhou S, Wang X, High AA, Peng J, Pruett-Miller SM, Daniels DL, Urh M, Shelat AA, Mullighan CG, Riching KM, Zaman GJR, Fischer M, Kleo JM, Rankovic Z. *Nat Commun*, 2024, 15: 482
- 150 Chu Y, Chen S, Yang M, Chen Y, Fang H, Huang P, Xie Y, Sun C, Chen Y, Zhang B, Li L, Mu H, Song D, Cheng W, Wang C, Jiang W, Xu X, He Z, Chen S, Liu M, Ma J, Yang M, Cao J, Gao J, Shen J, Zhang L, Bai Y, Liu Z, Chen J, Dai S, Zeng YA, Zhao Y, Zhou H, Chen C, Ru H, Tan L, Chi X, Wang F, Gao D, Lin M, Deng X, Jiang H. *Nat Biotechnol*, 2025, doi: 10.1038/s41587-025-02793-8
- 151 Simonetta KR, Taygerly J, Boyle K, Basham SE, Padovani C, Lou Y, Cummins TJ, Yung SL, von Soly SK, Kayser F, Kuriyan J, Rape M, Cardozo M, Gallop MA, Bence NF, Barsanti PA, Saha A. *Nat Commun*, 2019, 10: 1402
- 152 Nusse R, Clevers H. *Cell*, 2017, 169: 985–999
- 153 Deshaies RJ, Potts PR. *Science*, 2025, 389: eadx3595
- 154 Dieter SM, Siegl C, Codó PL, Huerta M, Ostermann-Parucha AL, Schulz E, Zowada MK, Martin S, Laaber K, Nowrouzi A, Blatter M, Kreth S, Westermann F, Benner A, Uhrig U, Putzker K, Lewis J, Haegebarth A, Mumberg D, Holton SJ, Weiske J, Toepper LM, Scheib U, Siemeister G, Ball CR, Kuster B, Stoeck G, Hahne H, Johannes S, Lange M, Herbst F, Glimm H. *Cell Rep*, 2021, 36: 109394

- 155 Tutter A, Buckley D, Golosov AA, Ma X, Shu W, McKay DJJ, Darsigny V, Dovala D, Beckwith R, Solomon J, Rao P, Xu L, Fazal A, Lingel A, Wartchow C, Cobb JS, Hachey A, Tullai J, Michaud GA. *Nat Chem Biol*, 2025, 21: 1688–1696
- 156 Mercer JAM, DeCarlo SJ, Roy Burman SS, Sreekanth V, Nelson AT, Hunkeler M, Chen PJ, Donovan KA, Kokkonda P, Tiwari PK, Shoba VM, Deb A, Choudhary A, Fischer ES, Liu DR. *Science*, 2024, 383: eadk4422
- 157 Anzalone AV, Randolph PB, Davis JR, Sousa AA, Koblan LW, Levy JM, Chen PJ, Wilson C, Newby GA, Raguram A, Liu DR. *Nature*, 2019, 576: 149–157
- 158 Chen PJ, Liu DR. *Nat Rev Genet*, 2023, 24: 161–177
- 159 Baek K, Metivier RJ, Roy Burman SS, Bushman JW, Yoon H, Lumpkin RJ, Ryan JK, Abeja DM, Lakshminarayan M, Yue H, Ojeda S, Xiong Y, Che J, Verano AL, Schmoker AM, Gray NS, Donovan KA, Fischer ES. *Nat Commun*, 2025, 16: 6831
- 160 Yamanaka S, Horiuchi Y, Matsuoka S, Kido K, Nishino K, Maeno M, Shibata N, Kosako H, Sawasaki T. *Nat Commun*, 2022, 13: 183
- 161 Kido K, Yamanaka S, Nakano S, Motani K, Shinohara S, Nozawa A, Kosako H, Ito S, Sawasaki T. *eLife*, 2020, 9: e54983
- 162 Huang HT, Lumpkin RJ, Tsai RW, Su S, Zhao X, Xiong Y, Chen J, Mageed N, Donovan KA, Fischer ES, Sellers WR. *Nat Chem Biol*, 2024, 20: 1227–1236
- 163 Xu Y, Zhao W, Nie HJ, Wang J, Fu J, Hu H, Liu Z, Tao S, Zhang M, Zhou Y, Li J, Tan M, Chen XH. *Angew Chem Int Ed*, 2025, 64: e202505053
- 164 Petzold G, Gainza P, Annunziato S, Lamberto I, Trenh P, McAllister LA, DeMarco B, Schwander L, Bunker RD, Zlotosch M, SriRamaratnam R, Gilberto S, Langousis G, Donckele EJ, Quan C, Strande V, De Donatis GM, Alabi SB, Alers J, Matysik M, Staehly C, Dubois A, Osmont A, Garskovas M, Lyon D, Wiedmer L, Oleinikovas V, Lieberherr R, Rubin NT, Lam DT, Lucas X, Liardo E, Widlund NI, Ritzén A, Caceres RM, Vigil D, Tsai J, Wallace O, Peluso M, Sadok A, Tiedt R, Paterson AM, Zarayskiy V, Fasching B, Bonenfant D, Warmuth M, Castle JC, Townson SA. *Science*, 2025, 389: eadt6736
- 165 Branon TC, Bosch JA, Sanchez AD, Udeshi ND, Svinkina T, Carr SA, Feldman JL, Perrimon N, Ting AY. *Nat Biotechnol*, 2018, 36: 880–887
- 166 Gainza P, Sverrisson F, Monti F, Rodolà E, Boscaini D, Bronstein MM, Correia BE. *Nat Methods*, 2020, 17: 184–192
- 167 Gainza P, Wehrle S, Van Hall-Beauvais A, Marchand A, Scheck A, Hartevelt Z, Buckley S, Ni D, Tan S, Sverrisson F, Goverde C, Turelli P, Raclet C, Teslenko A, Pacesa M, Rosset S, Georgeon S, Marsden J, Petruzzella A, Liu K, Xu Z, Chai Y, Han P, Gao GF, Oricchio E, Fierz B, Trono D, Stahlberg H, Bronstein M, Correia BE. *Nature*, 2023, 617: 176–184

Progress on molecular glue degraders

Jiaqi Chen, Zhiheng Deng, Haoxiang Li, Lei Liu^{*}

Ministry of Education Key Laboratory of Bioorganic Phosphorus Chemistry and Chemical Biology, Department of Chemistry, Tsinghua University, Beijing 100084, China

**Corresponding author (email: lliu@mail.tsinghua.edu.cn)*

Abstract: In the field of targeted protein degradation (TPD) therapy, molecular glue degraders (MGDs) have attracted widespread attention in recent years due to their excellent druggability. MGDs can specifically recruit E3 ubiquitin ligases, thereby regulating the function of the ubiquitin-proteasome system. In this article we review the research progress on the discovery history and mechanism of action of existing MGDs from two aspects: First, we systematically summarize the mechanism by which MGDs assist E3 ubiquitin ligases in mediating the ubiquitination of substrate proteins, and elaborate in detail the complete process in which MGDs induce conformational changes in proteins and remodel intermolecular interaction interfaces, thereby effectively facilitating the specific binding between E3 ubiquitin ligases and target proteins, and finally triggering the subsequent ubiquitination cascade reaction; Second, we systematically discuss the development strategies of novel MGDs and the discovery methods for new substrate proteins, covering the innovative application of technologies such as high-throughput screening based on molecular libraries and chemical proteomics, as well as the development of data-driven substrate prediction models.

Keywords: targeted protein degradation, molecular glue degraders, protein-protein interactions, E3 ubiquitin ligases, immunomodulatory drugs

doi: [10.1360/SSC-2025-0228](https://doi.org/10.1360/SSC-2025-0228)