生物医学研究院科研季刊

2021 年第 4 季度

复旦大学生物医学研究院编　　2021 年 12 月 31 日

目　录

- 徐建青、张晓燕教授团队《Journal for ImmunoTherapy of Cancer》报道一种全新的、肿瘤微环境激活杀伤的 CAR-T，有潜力成为不同实体瘤有效治疗手段
- 张炜佳课题组《eLife》开发荧光分子转子 IBS440 探测线粒体局部微环境的变化（2021-10-17）
- 乔亮、曹纬倩合作团队《Nature Communications 》开发 DIA 糖蛋白质组学数据分析工具 GproDIA（2021-10-18）
- Alastair Murchie-陈东戎课题组《Nature Catalysis》发现首个"SAM 依赖的甲基转移酶核酶"（2021-10-21）
- 徐彦辉团队《Cell Discovery》报道 RNA 聚合酶 I 转录调控机制（2021-10-22）
- 徐彦辉团队《Nature Communications》报道 RNA 聚合酶 III 转录终止机制（2021-10-22）
- 贺福初/丁琛团队《Science Advances》报道精密解析染色质开放区域蛋白质-DNA 转录机器的“工具包”（2021-10-27）
- Alastair Murchie-陈东戎课题组《Nucleic Acids Research》报道 Twister 核酶的新生物学功能（2021-11-05）
- 胡晋川/钱茂祥课题组《Nucleic Acids Research 》合作开发单碱基分辨率 DNA 氧化损伤测序方法（2021-11-15）
- 曹纬倩与合作者《Nature Methods》发布蛋白质位点特异性糖基化解析工具 pGlyco3（2021-11-26）
- 卢智刚/罗敏团队等《Cell Research》报道新冠病毒多个新功能性受体（2021-11-27）
- 徐建青/张晓燕团队《PNAS》报道 MYH9 是 SARS-COV-2 感染的共受体——增强 ACE2 依赖性内吞作用以促进感染（2021-12-08）
- 何祥火/梁琳慧团队《Cell Discovery》揭示 RP11-295G20.2 诱导 PTEN 降解的新途径（2021-12-16）
- 柳素玲团队等《Cancer Research》报道肿瘤干细胞标志物 ALDH1A1 通过重塑免疫微环境促进乳腺癌的新机制（2021-12-20）
- 周玉峰团队在《Journal of Allergy and Clinical Immunology》首次揭示环状 RNA 在过敏性皮炎和银屑病中的功能及调控机制（2021-12-23）
- 徐建青教授团队与合作者报道植物乳杆菌冠克株与新冠疫苗联用可显著提升并维持疫苗接种后抗新冠免疫应答（2021-12-25）
- 徐建青团队与合作者《Nature Immunology》揭示病毒特异性 CD4+ T 细胞免疫记忆维持新机制（2021-12-25）

- 徐建青/张晓燕团队等研发了一款能同时抗新型冠状病毒及甲型流感病毒的超广谱疫苗（2021-12-31）
- 王前飞研究员学术报告（10 月 14 日）（2021-10-14）
- 第五届“枫华一作论坛”（10 月 28 日）（2021-10-25）
- 生物医学研究院（IBS）Department Talk 系列（王璐、谢佳颖）（2021-12-03）
- 生物医学研究院（IBS）Department Talk 系列（张海珠、黎琴）（2021-12-10）
- 任振华研究员学术报告（12 月 30 日）（2021-12-30）

徐建青、张晓燕教授团队《Journal for ImmunoTherapy of Cancer》报道一种全新的、肿瘤微环境激活杀伤的 CAR-T，有潜力成为不同实体瘤有效治疗手段

近年来，CAR-T 疗法治疗血液源性肿瘤效果显著，然而在针对实体瘤的临床研究中却遭遇重大挑战。目前 CAR-T 均为靶点激活杀伤，而肿瘤靶点通常也在正常组织低表达，进而产生“on-target, off-tumor”现象、诱生炎症因子风暴、中枢神经毒性等，给 CAR-T 治疗带来严重的安全隐患。肿瘤细胞的异质性进一步导致靶点激活杀伤有效性受到挑战。即目前的靶点激活杀伤的 CAR-T 技术在在治疗实体瘤中，安全性与有效性上均遭遇重大挑战。

如何摆脱靶点依赖、将 CAR-T 技术进化为新一代肿瘤微环境激活杀伤，从而对不同的实体瘤均安全有效是领域内一直追逐的热点、也是该领域的技术高地。

复旦大学生物医学研究院**徐建青**和**张晓燕**教授团队设计了一种缺氧诱导转录放大（hypoxia-inducible transcription amplification, HiTA）系统以严格调控 CAR 分子在肿瘤缺氧微环境的条件性表达，从而首次真正实现严格区分肿瘤与正常组织，该部分工作以 *Conditioned CAR-T cells by hypoxia-inducible transcription amplification (HiTA) system significantly enhances systemic safety and retains antitumor efficacy* 为题于 2021 年 10 月 6 日在 *Journal for Immunotherapy of Cancer* 杂志发表。

Open access Original research

Journal for ImmunoTherapy of Cancer

Conditioned CAR-T cells by hypoxia-inducible transcription amplification (HiTA) system significantly enhances systemic safety and retains antitumor efficacy

Huan He ,[1] Qibin Liao,[1] Chen Zhao,[1] Cuisong Zhu,[1] Meiqi Feng,[1] Zhuoqun Liu,[1] Lang Jiang,[1] Linxia Zhang,[1] Xiangqing Ding,[1] Min Yuan,[2] Xiaoyan Zhang,[1] Jianqing Xu[1]

数据显示：该团队设计的 HiTA-CAR-T 在体外仅在低氧条件下特异性分泌高水平 IL-2、IFN-γ，且对肿瘤靶细胞呈现高效杀伤，而在常氧条件下几乎完全无杀伤活性；而传统的 CAR-T 在常氧与低氧条件下呈现相似的杀伤活性（图 1）。

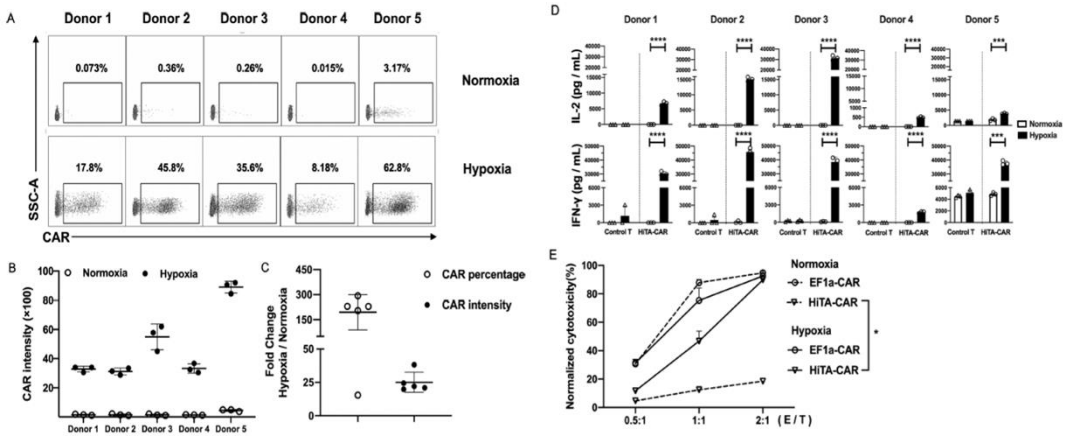


图 1：HiTA-CAR-T 细胞 CAR 的表达、活化和杀伤功能严格受缺氧调控

随后他们在肝脏人源化小鼠安全性评估模型和小鼠皮下移植瘤模型中分别评估了 HiTA-CAR-T 在体内的安全性和抗肿瘤有效性。小鼠血清 AST、ALT 以及 IFN-γ、IL-2、TNF-α 细胞因子检测结果显示，HiTA-CAR-T 细胞在小鼠体内未造成 on-target 肝毒性和全身毒性。相反，传统 CAR-T 细胞对小鼠造成严重的肝损伤和系统毒性（图 2）。更重要的是，HiTA-CAR-T 细胞在小鼠移植瘤模型中显著抑制肿瘤的生长或清除肿瘤，其抗肿瘤效果显著（图 3）。

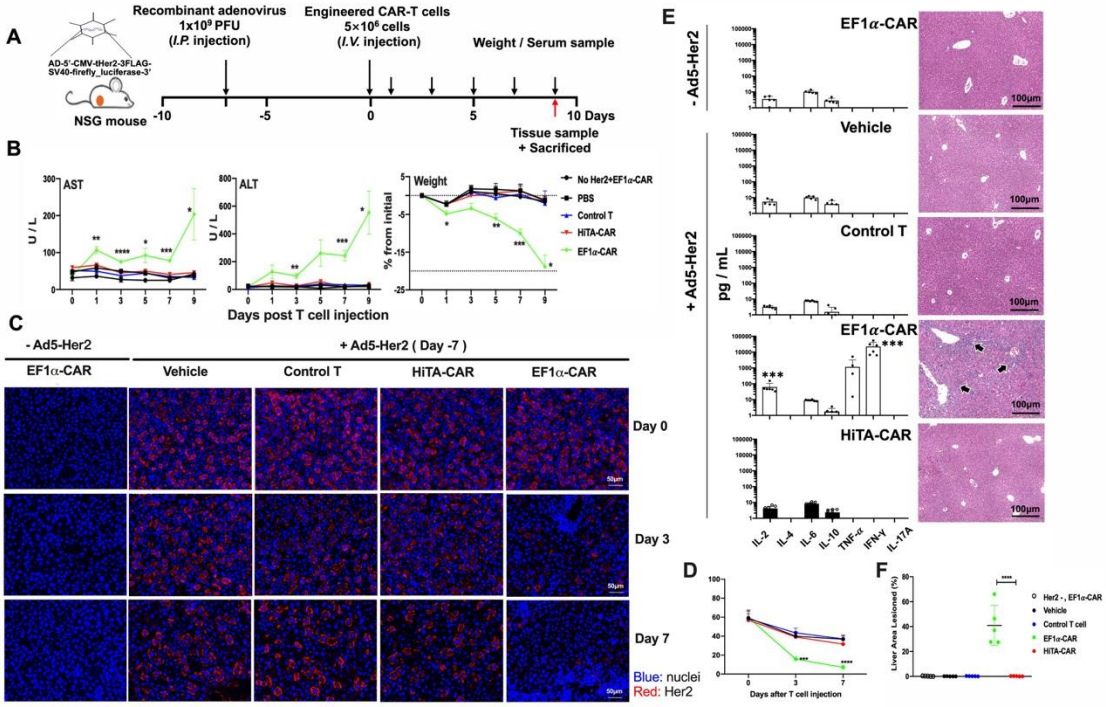


图 3：HiTA-CAR-T 细胞未造成 on-target 肝毒性和系统毒性

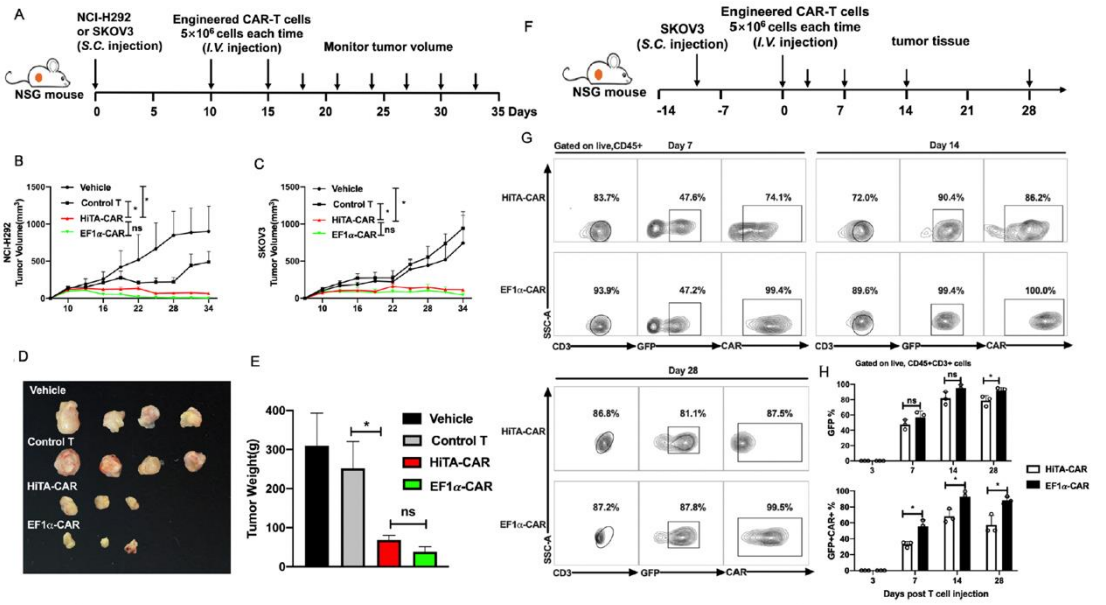


图 4：HiTA-CAR-T 细胞可显著抑制小鼠肿瘤生长

该部分工作的发表标志着不依赖靶点激活，而通过识别肿瘤微环境激活杀伤的新一代 CAR-T 技术成为可能；该技术单独或与溶瘤病毒联合，将有潜力成为不同实体瘤的有效治疗手段。

该文的通讯作者为复旦大学生物医学研究院徐建青研究员、张晓燕研究员，上海市公共卫生临床中心袁敏副主任。复旦大学 IBS 博士研究生何欢和廖启彬为并列第一作者。

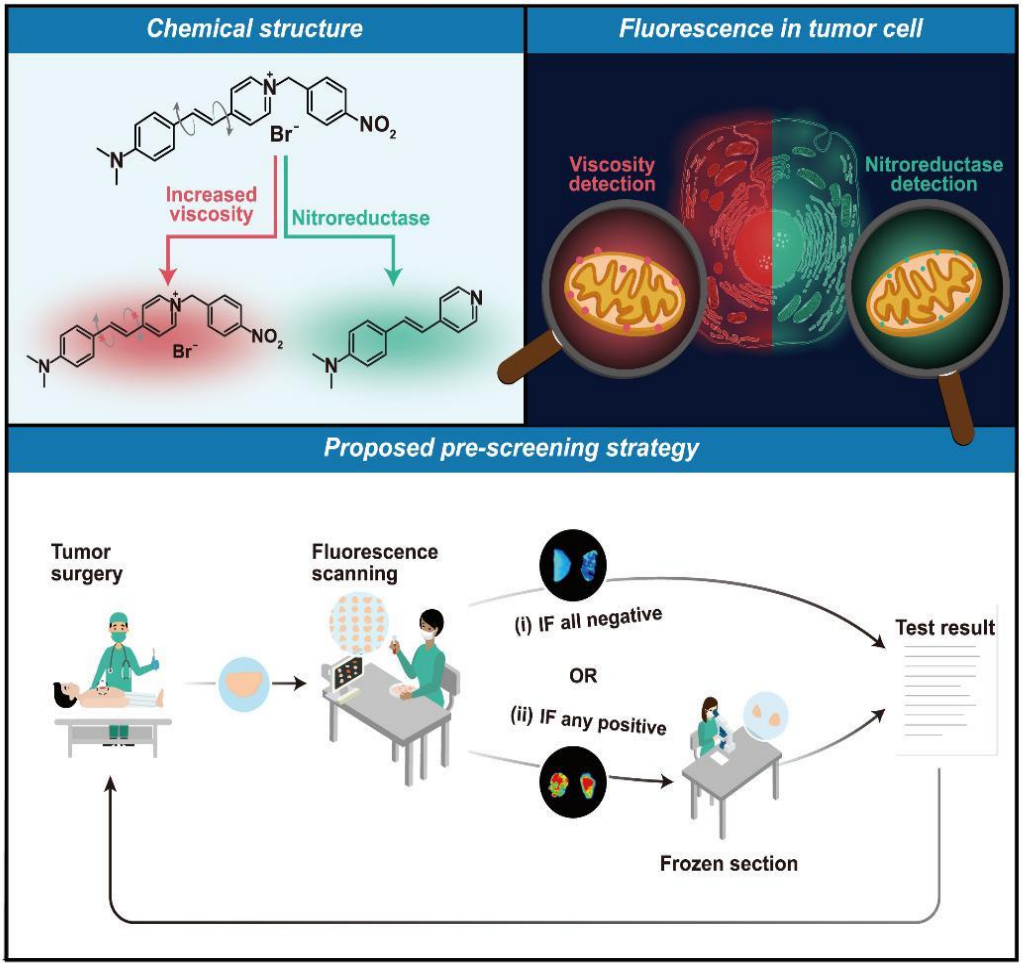
原文链接：

https://jitc.bmj.com/content/9/10/e002755

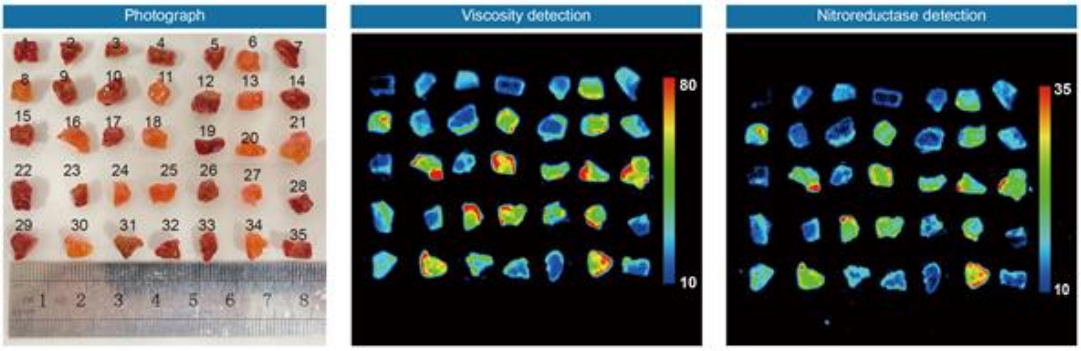
张炜佳课题组《eLife》开发荧光分子转子 IBS440 探测线粒体局部微环境的变化

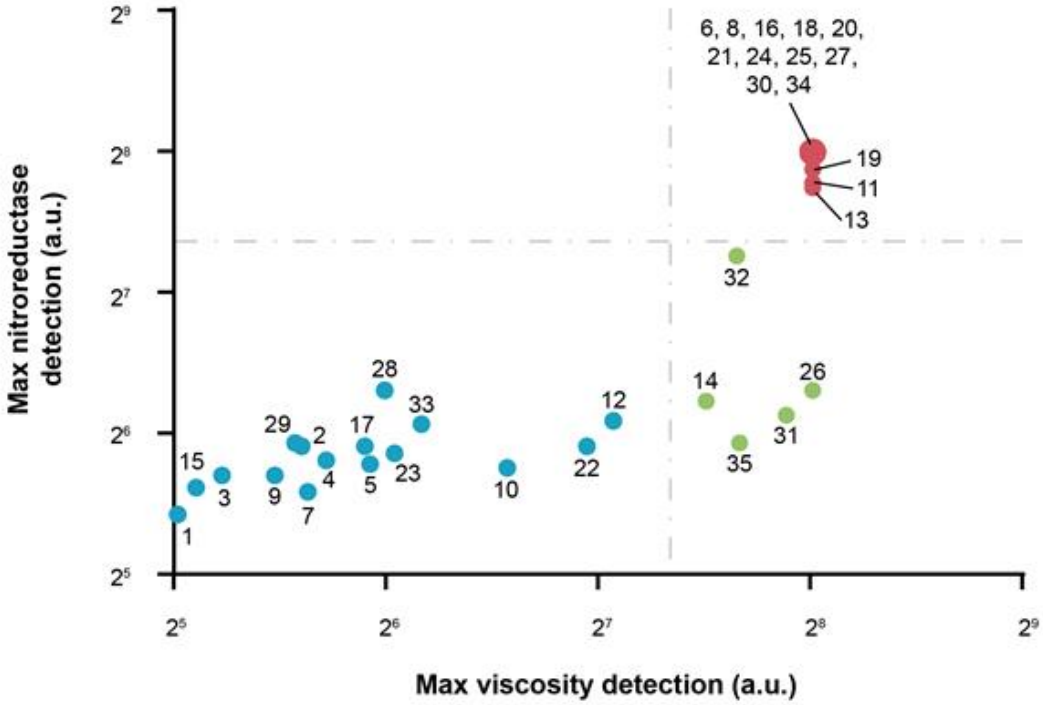
肿瘤细胞异常分裂，神经退行性疾病中的蛋白质错误折叠与聚集等过程，都会造成细胞内微环境液相粘稠度的增加。早在 20 世纪 40 年代，Cancer Research 杂志刊登了题为 *Increased Viscosity of Cells of Induced Tumor*(Cancer Res 1942, 2, 16)的论文，作者设计了一个巧妙的高速离心实验，观察细胞器在细胞质中的分层情况，证明了肿瘤细胞的细胞质粘稠度比正常细胞的高。一直以来，化学生物学家们对细胞内容物的物质密度、粘滞度、缺氧等生物物理性质保持着很大的兴趣和热情。

2021 年 10 月 11 日，我院**张炜佳**团队在 ***eLife*** 发表了题为 *A Pre-Screening Strategy to Assess Resected Tumor Margins by Imaging Cytoplasmic Viscosity and Hypoxia* 的研究性文章。**该研究设计和合成了一种被命名为 IBS440 的荧光分子转子。IBS440 分子能够靶向细胞线粒体，响应线粒体微环境中的高粘稠度和缺氧，以此特征可以区分肿瘤细胞和非肿瘤细胞，或其他疾病细胞如神经性退休疾病细胞。进而，该研究将 IBS440 分子用于了肿瘤术中样本切缘阳性率的初筛，提出另一种现行肿瘤术中病理分析的改良策略。**



首先，作者们通过对分子转子的设计改造，获得了能够通过扩散进入细胞，靶向线粒体荧光探针；该分子对液相粘滞度和硝基还原酶产生响应，从两个维度上识别肿瘤细胞和组织。之后使用多种肿瘤细胞、肿瘤模型小鼠的样本进行了分子性质的测试。最后，将肝癌、肺癌、肾癌、口腔癌四个癌症数十例手术样本，分成了训练集和测试集进行验证，阴性准确率达 100%。





复旦大学生物医学研究院 2019 级博士生黄晖为第一作者，上海交通大学第九人民医院张陈平教授、刘剑楠、韩婧医生，复旦大学附属中山医院肝外科高强教授、博士生林友培，泌尿外科胡骁轶等老师和同学对本研究做出了重要贡献。IBS 生物医学技术支撑平台为本研究提供了技术服务支持，张炜佳为通信作者。原文链接：

https://elifesciences.org/articles/70471

乔亮、曹纬倩合作团队《Nature Communications 》开发 DIA 糖蛋白质组学数据分析工具 GproDIA

蛋白质糖基化修饰的精准分析对于疾病机制研究、生物标志物发现，以及药物和疫苗开发至关重要。完整糖肽分析能获得特定糖基化位点与糖链的对应关系信息，是现代糖蛋白质组学研究中十分重要而极具挑战性的组成部分。目前，糖肽分析最常用的质谱采集模式是数据依赖性采集（DDA），存在母离子选择随机

性的问题，其结果中存在较多的缺失值。近年来出现的数据非依赖性采集（DIA）模式能弥补 DDA 的缺点，已开始初步应用于糖蛋白质组学领域。然而，现有的糖肽 DIA 分析方法缺乏可靠的质控，难以处理多种糖肽在隔离窗口中共碎裂的复杂情况。

2021 年 10 月 18 日，与我院**曹纬倩**团队与复旦大学化学系乔亮团队课题组在 *Nature Communications* 在线发表了题为“GproDIA enables data-independent acquisition glycoproteomics with comprehensive statistical control”的研究论文。**文章详细介绍了一种全新的完整糖肽 DIA 数据分析工具 GproDIA。该工具将以肽段为中心 DIA 分析的概念扩展到完整糖肽分析，通过二维错误发现率（FDR）和糖型推断算法提供全面的统计质控，实现糖肽的精准鉴定和定量。**

nature COMMUNICATIONS

ARTICLE

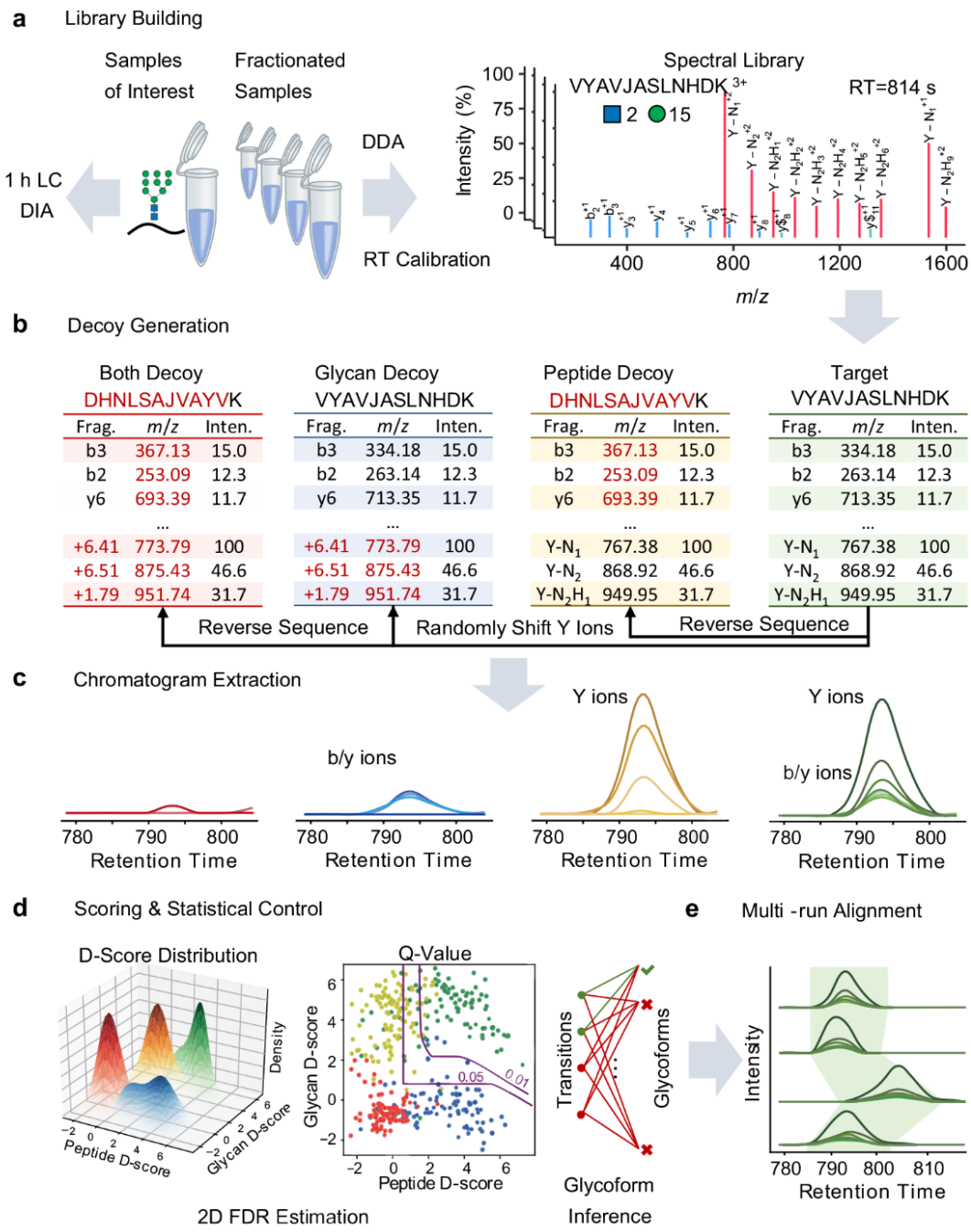
https://doi.org/10.1038/s41467-021-26246-3 OPEN

Check for updates

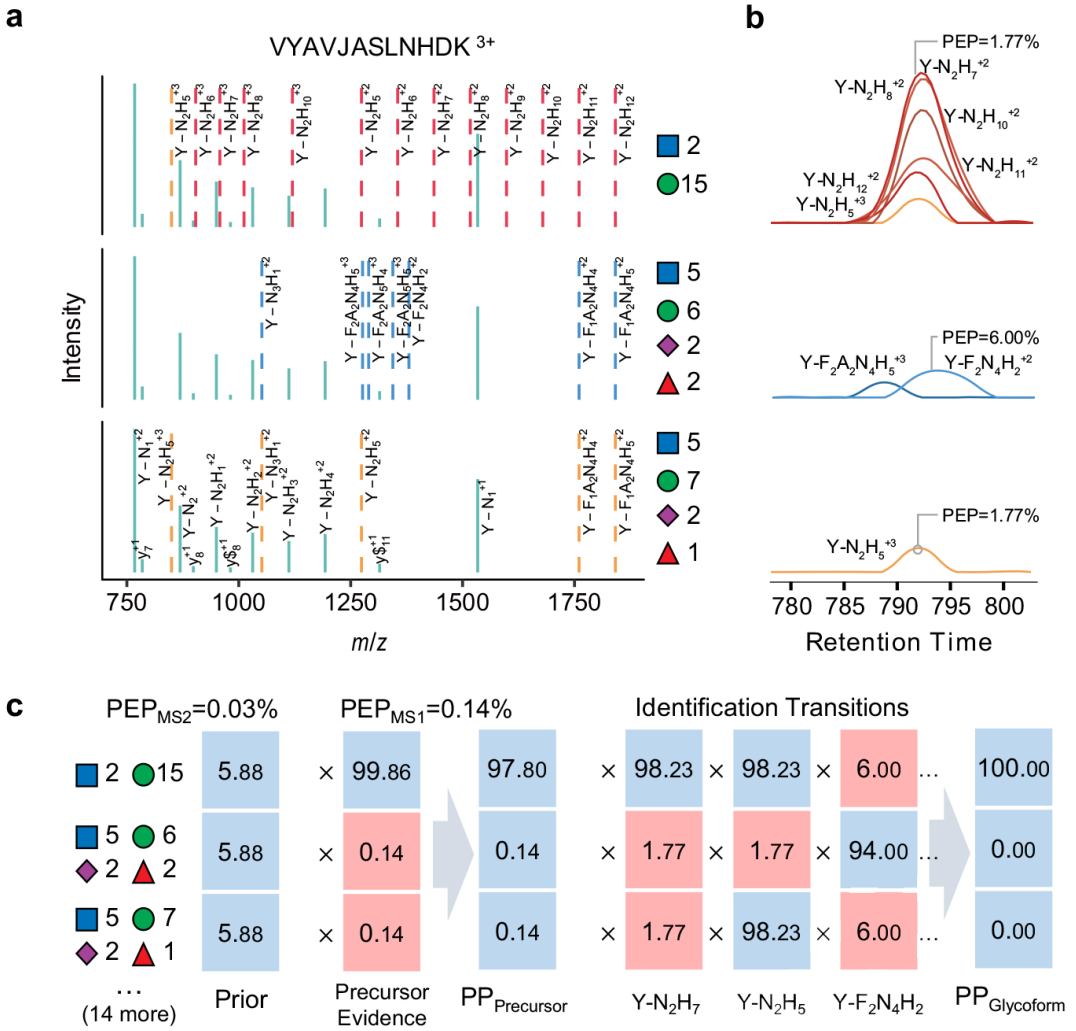
GproDIA enables data-independent acquisition glycoproteomics with comprehensive statistical control

Yi Yang[1,5], Guoquan Yan[1], Siyuan Kong[1], Mengxi Wu[1], Pengyuan Yang[1,2,3,4], Weiqian Cao[1,2,3,4,5]✉ & Liang Qiao[1]✉

二维 FDR 算法首先为谱图库中目标糖肽生成肽段诱饵、糖链诱饵和糖肽双诱饵，从 DIA 数据中提取目标糖肽和三种类型诱饵的谱图信息并对肽段和糖链部分分别进行评分。然后采用双变量四组分混合模型拟合目标糖肽和诱饵的得分分布，由此估计每个目标糖肽匹配结果中肽段、糖链部分错误或两者都错误的概率（即局部 FDR）和所报告全部结果的整体错误率（即全局 FDR）。



对于复杂样品，糖肽的鉴定会受到隔离窗口中相同肽段序列上的其他糖型的潜在干扰。为此，研究人员进一步提出了一种糖型推断算法。该算法首先为 DIA 隔离窗口内的潜在糖型生成鉴定离子，从 DIA 数据中提取这些鉴定离子和目标糖肽母离子的谱图信息进行评分，然后采用贝叶斯层次模型将目标糖肽原先的得分同母离子和鉴定离子的得分加以整合，得到糖型的得分，从而对糖型的错误率进行质控。



研究人员将 GproDIA 在酵母和人血清 N-糖肽样品的 DIA 数据上进行测试。结果表明，GproDIA 在糖肽鉴定数、数据完整性，以及定量的准确性和精密度方面均优于现有基于 DDA 的方法。与现有的糖肽 DIA 分析方法相比，GproDIA 不仅能排除肽段部分的错误鉴定结果，还能对糖链部分进行良好的质控，实现了更准确的糖肽鉴定。

作为迄今为止第一种为肽段和糖链部分都提供全面质控的 DIA 数据分析工具，GproDIA 解决了 DIA 在完整糖肽分析中面临的一项重要难题，有望推广 DIA 在糖蛋白质组学领域的应用，促进蛋白质糖基化相关疾病机制和生物标志物的研究。

乔亮、曹纬倩合作团队的主要研究方向是蛋白质组学和糖蛋白质组学方法开发。此前，乔亮研究员和曹纬倩副研究员曾在 *Nature Communications* 分别发表研究论文报道基于深度学习预测谱图库的 DIA 分析工具 DeepDIA（doi:10.1038/s41467-019-13866-z）和完整糖肽 DDA 数据搜索引擎鉴定技术

pGlyco 2.0（doi:10.1038/s41467-017-00535-2）。本工作是他们在该研究领域合作取得的又一重要成果。

全文链接：

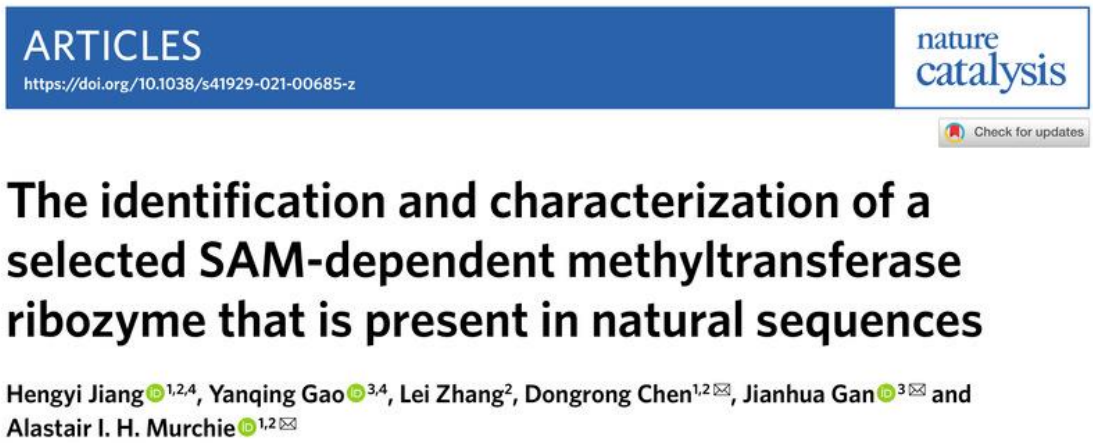
https://doi.org/10.1038/s41467-021-26246-3

Alastair Murchie-陈东戎课题组《Nature Catalysis》发现首个"SAM 依赖的甲基转移酶核酶"

RNA 的甲基化具有多种生物学功能，在生物体内参与重要生命过程的核糖体 RNA 和转运 RNA 都是高度甲基化；信使 RNA(mRNA)的帽子结构的鸟嘌呤有 N-7 甲基的；近年的研究发现： mRNA 的内部的碱基的甲基化参与多种生物学功能的调控，这些研究已逐渐演化成一个全新的学科称为表观转录组学(Epitranscriptome)。目前研究中在生物体内催化 RNA 甲基化的都是蛋白质，它们利用体内普遍存在的硫腺苷甲硫氨酸(SAM) 作为甲基供体，催化 RNA 甲基化。

核酶是具有催化功能的 RNA，在生物体内存在天然核酶催化多种关键反应，包括核糖体催化的蛋白质肽键的形成，以及 I-类、II-类内含子的自我剪切反应等。运用人工筛选 SELEX 技术，人们发现了 RNA 能够在体外催化多种化学反应。最近德国和奥地利科学家相继发现了以 m6G 以及 m6PreQ1 作为甲基供体的核酶，然而这二者都非生物体内天然的甲基供体。

2021 年 10 月 20 日，我院 **Alastair Murchie-陈东戎**课题组与复旦大学生命科学院**甘建华**课题组合作在 ***Nature Catalysis*** 表题为 *"The identification and characterization of a selected SAM-dependent methyltransferase ribozyme that is present in natural sequences"* 的研究成果，**发现了首个 SAM 依赖的甲基转移酶核酶。**

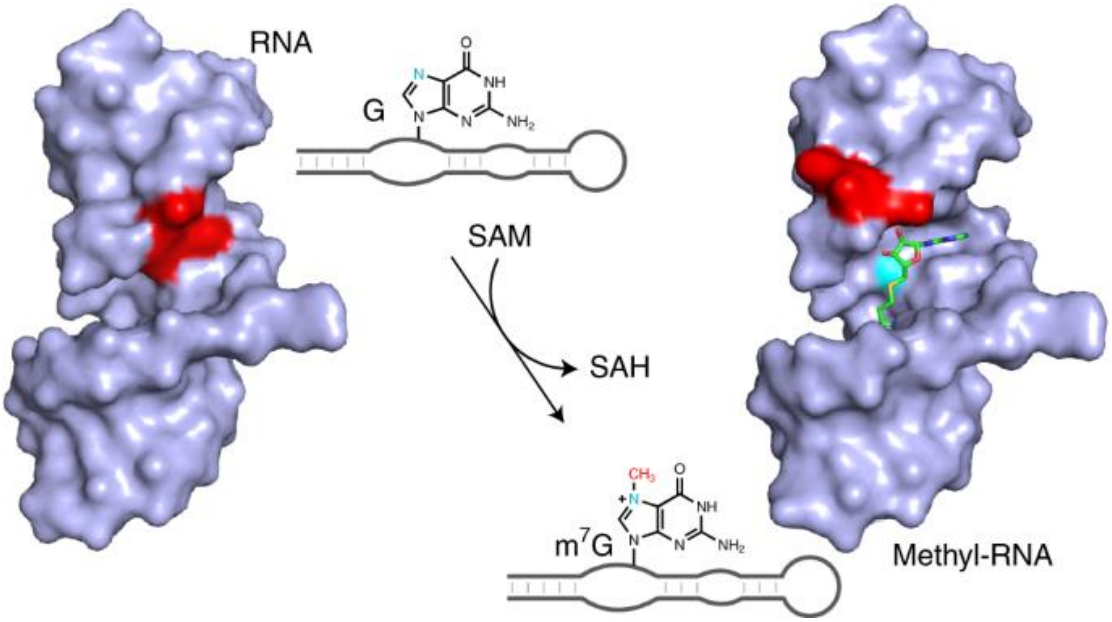

ARTICLES
https://doi.org/10.1038/s41929-021-00685-z
nature catalysis
Check for updates

The identification and characterization of a selected SAM-dependent methyltransferase ribozyme that is present in natural sequences

Hengyi Jiang[1,2,4], Yanqing Gao[3,4], Lei Zhang[2], Dongrong Chen[1,2]✉, Jianhua Gan[3]✉ and Alastair I. H. Murchie[1,2]✉

Alastair Murchie-陈东戎课题组运用人工筛选 SELEX 技术筛选到了以 SAM 最为甲基供体的核酶，它可以催化特定序列的鸟嘌呤的 7-位 N 原子发生甲基化。

课题组和生命科学院甘建华课题组合作，通过 X-射线晶体衍射技术，解析了该核酶的结构。**该结构总体呈现一个发夹形状，局部具有两个"假三联体" 结构的堆叠，在 SAM 加入后，该"假三联体"中其中一个腺嘌呤从结构中翻转出去，可以容纳 SAM 的腺嘌呤结构形成堆叠。另外一个面，通过生物信息学的搜索，发现生物体内含有多个与这个核酶类似的序列，其中一些序列的在体外具有活性，这些核酶序列在生物体内的生物学功能还待进一步的研究。**



该研究成果扩展了 RNA 作为催化剂的催化谱，演示了核酶参与体内 RNA 甲基化的以及其调控生命过程的可能性，为 RNA 作为工具在表观转录层面调控生命过程提供了一个新的思路：以核酶精细调控 RNA 或者 DNA 的甲基化来进行基因表达的调控。

该研究主要由生物医学研究院助理研究员蒋恒义、生命科学研究博士后高延清共同完成，张磊负责质谱检测实验，Alastair Murchie、陈东戎、甘建华为共同通讯作者。生物医学研究院周新文、张成为本研究提供质谱方面帮助，上海交通大学张薇指导下完成 DSC 实验，上海光源提供了 X-射线衍射设施。该工作得到了国家自然科学基金和国家重点研发计划项目的资助。

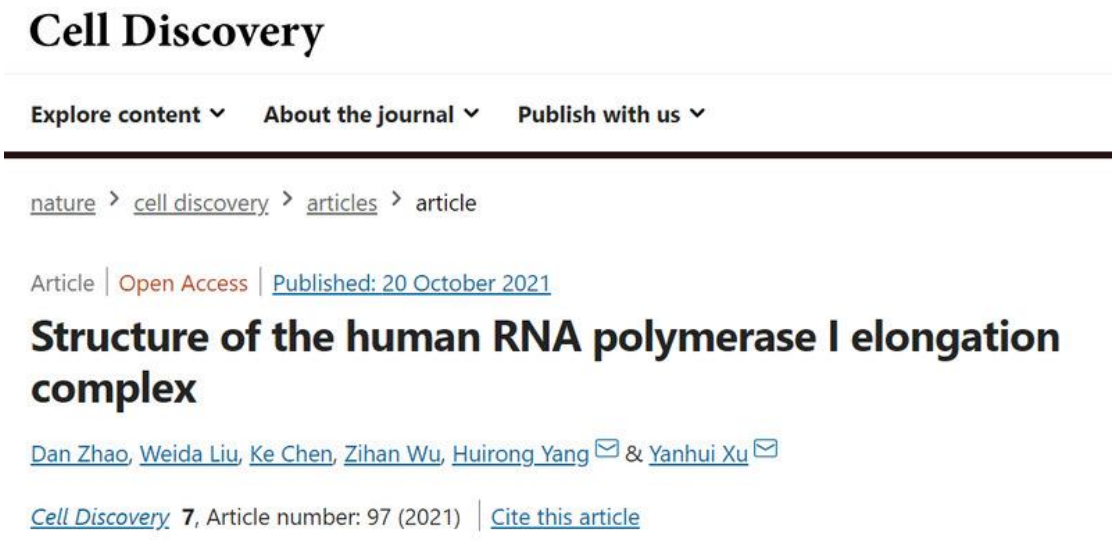
原文链接：https://www.nature.com/articles/s41929-021-00685-z#citeas

徐彦辉团队《Cell Discovery》报道 RNA 聚合酶 I 转录调控机制

在真核生物中，三种结构保守的 RNA 聚合酶（Pol I，Pol II 和 Pol III）分别介导不同基因的转录，合成不同类型的 RNA。其中 Pol I 定位在细胞核核仁中，主要转录 rRNA，其转录活动可达整个胞内转录活动的 60%，对于核糖体合成至关重要。临床研究证明，Pol I 的突变会导致特雷彻·柯林斯综合征、面骨发

育不全以及严重神经变性等疾病的发生，此外 Pol I 转录机制被认为是重要的抗癌治疗的药物靶点之一，因此人源 Pol I 的结构研究具有十分重要的意义。

2021 年 10 月 20 日，院**徐彦辉**团队在 *Cell Discovery* 杂志在线发表研究论文 *"Structure of the human RNA polymerase I elongation complex"*。该研究**首次解析了原子分辨率的人源 Pol I 转录延伸复合物的三种状态**（post-translocation，pre-translocation，backtracked）**的高分辨三维结构，揭示其复合物组装和调控机理。**


Cell Discovery

Explore content ⌄ About the journal ⌄ Publish with us ⌄

nature > cell discovery > articles > article

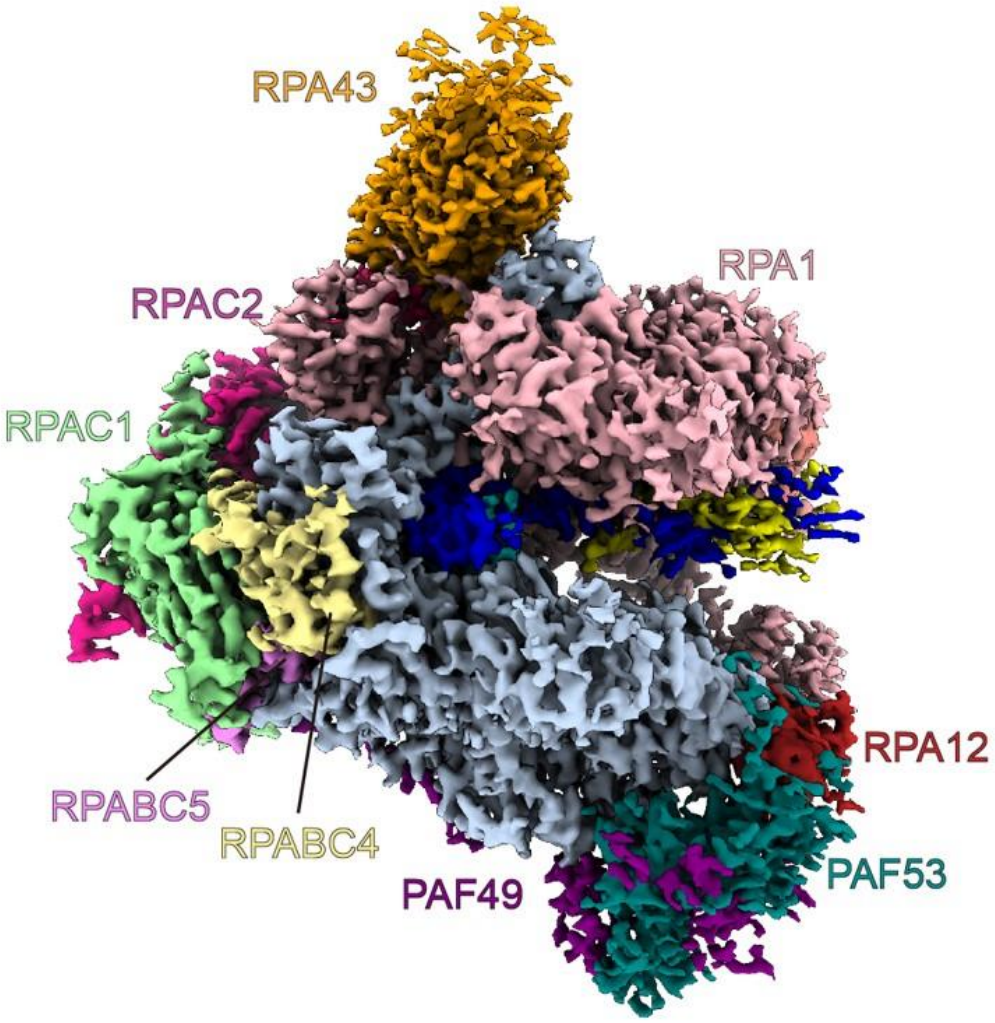
Article | Open Access | Published: 20 October 2021

Structure of the human RNA polymerase I elongation complex

Dan Zhao, Weida Liu, Ke Chen, Zihan Wu, Huirong Yang & Yanhui Xu

Cell Discovery **7**, Article number: 97 (2021) | Cite this article

该研究表明，人源 Pol I 分为结构保守的催化核心模块和外周调控模块，有紧凑的 clamp 可结合 rDNA。Post/pre-translocation 两种构象的延伸复合物均揭示了十分保守的活性催化中心。Backtracked 构象首次从结构上解释了 Pol I 通过具有核酸内切酶活性的亚基 RPA12 进行转录校对的机制。以上结构研究揭示了人源 Pol I 的结构特征，为其转录调控机制以及相关疾病研究提供了结构基础。



人源 RNA 聚合酶 I 延伸复合物的冷冻电镜结构

博士生赵丹、刘维达和陈柯为本文共同第一作者，徐彦辉研究员和杨慧蓉副研究员为共同通讯作者。复旦大学电镜中心对上述研究的数据收集给予了重要支持。

原文链接：https://www.nature.com/articles/s41421-021-00335-5

徐彦辉团队《Nature Communications》报道 RNA 聚合酶 III 转录终止机制

真核生物基因转录可分为起始，延伸和终止过程。其中终止过程涉及聚合酶减慢速度至停止，然后从基因组上解离。但相关研究比较有限，没有明确的分子机制模型。

2021 年 11 月 21 日，我院**徐彦辉**团队在 *Nature Communications* 杂志在线发表题为 *Structural insights into RNA polymerase III-mediated transcription termination through trapping poly-deoxythymidine* 的研究成果，报道 RNA 聚合酶 III 转录终止机制。

nature COMMUNICATIONS

ARTICLE

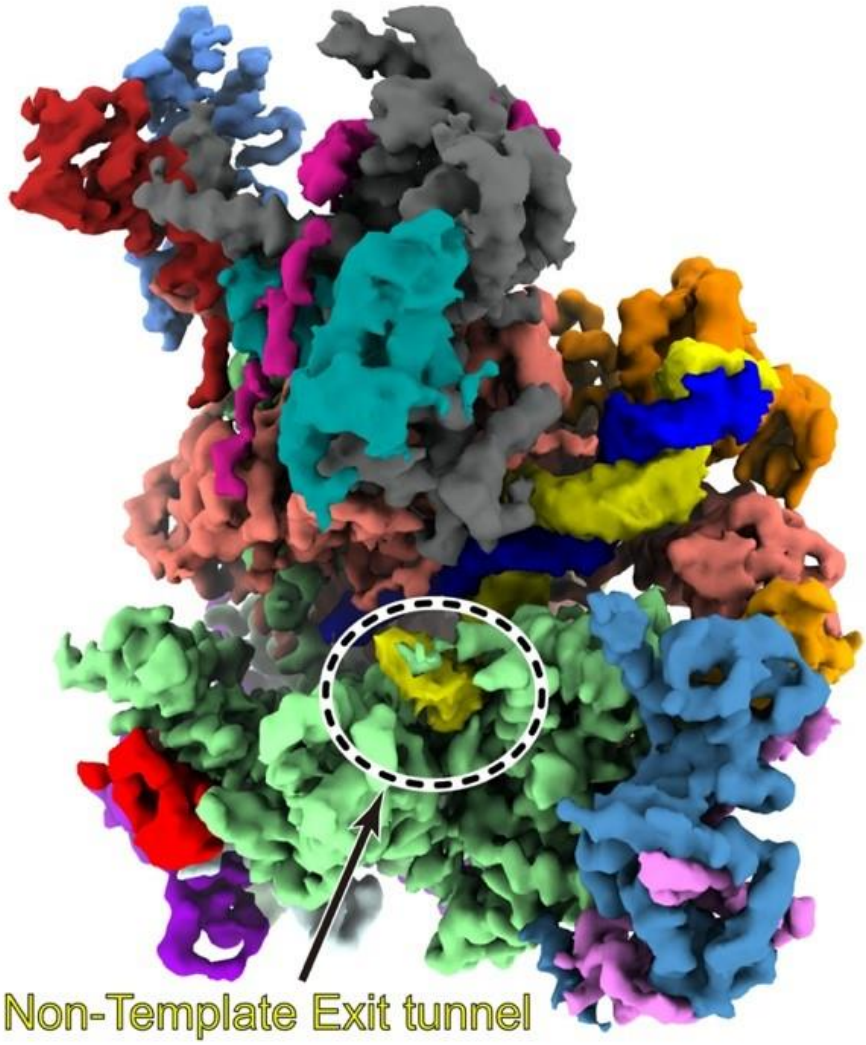
https://doi.org/10.1038/s41467-021-26402-9 OPEN

Structural insights into RNA polymerase III-mediated transcription termination through trapping poly-deoxythymidine

Haifeng Hou[1,5], Yan Li[1,5], Mo Wang[1,5], Aijun Liu[1,5], Zishuo Yu[1], Ke Chen[1], Dan Zhao[1] & Yanhui Xu[1,2,3,4]✉

该研究解析了 3.6 Å 分辨率的人源 Pol III 转录终止前复合物（PTC）的三维结构，结合生化分析，揭示了 Pol III 独特的转录终止机理。为研究转录终止打开了一个突破口并提供了研究的新思路。该工作是徐彦辉课题组前期人源 Pol III 延伸复合物结构研究的延续（*Cell Research*，2021）。

RNA 聚合酶 Pol III 负责转录合成 tRNA、5S rRNA、U6 RNA 等其他非编码小 RNA。Pol III 是真核生物中组成最为复杂的聚合酶，包含 17 个亚基，可分为结构保守的催化核心模块和外周调控模块。临床试验证明，Pol III 的突变和异常组装会导致特雷彻·柯林斯综合征、异染性脑白质营养不良、贝克威斯韦德曼氏症等疾病的发生。Pol III 转录的准确终止对基因的表达调控起着至关重要重要的作用，其失调可导致基因的异常转录。大量的研究表明，与 Pol I 和 Pol II 性对复杂的终止过程不同，Pol III 终止是由 DNA 非模版链（non-template）上连续的 4～7 个脱氧胸腺嘧啶核苷（dT）介导的。然而 Pol III 如何特异识别 poly-dT 而造成转录停止，分子机制尚不清楚。



人源 RNA 聚合酶 III PTC 的冷冻电镜结构

课题组巧妙利用 DNA-RNA 杂交核酸链捕捉到 Pol III PTC 复合物。PTC 结构展示了 poly-dT 结合在 Pol III 聚合酶的 protrusion 和 lobe 结构域之间的狭窄通道中。其中 poly-dT 上的甲基通过疏水作用被 fork loop1（FL1）特异性识别，poly-dT 上的磷酸通过氢键网络结合在 lobe 上。这种双性的紧密相互作用将 lobe 拉向 protrusion，形成狭窄通道和阻碍非模版链迁移的门控系统。Poly-dT 的结合也介导了活性中心 fork loop2（FL2）的构象变化。在 PTC 复合物中，FL2 稳定了转录叉（transcription fork）的模版链和非模版链，进一步阻止了转录过程中模版的迁移。

上述结构分析展示了 Pol III 从转录延伸到终止的动态过程，通过对比 Pol I 和 Pol II 延伸复合物结构，揭示了 Pol I 和 Pol II 不能在 poly-dT 上终止的分子机理，提出“two-gates prevention”的 Pol III 特异的转录终止机制模型。

复旦大学附属肿瘤医院侯海峰副研究员，博士生李妍，汪默，博士后刘爱军为本文共同第一作者，徐彦辉研究员为通讯作者。复旦大学电镜中心对上述研究的数据收集给予了重要支持。

论文链接：https://www.nature.com/articles/s41467-021-26402-9

贺福初/丁琛团队《Science Advances》报道精密解析染色质开放区域蛋白质-DNA 转录机器的“工具包”

转录调控蛋白质机器由转录因子（transcirption factor，TF）、转录辅助因子（transcirptional coregulator， TC）等构成，其在几乎所有生物学进程（如分化、发育、细胞周期控制和细胞凋亡等）中都发挥着关键作用。基因的转录过程依赖于转录调控蛋白质机器与 DNA 结合并行使相应功能，二者的结合是基因启动转录的前提。真核生物基因组中的染色质有一些区域经染色质重塑后呈现出松散的状态，这部分 DNA 区域被称为开放染色质（open chromatin）或可接近性染色质（accessible chromatin），而染色质是否呈疏松结构，是蛋白质机器与 DNA 是否互作的关键因素之一。

在基因组层面，2013 年，斯坦福大学的 Howard Chang 教授开发了 ATAC-seq 技术（Assay for Transposase-Accessible Chromatin with highthroughput sequencing），可以通过高通量测序获得染色质开放区和基因组中活跃转录的调控序列的关键信息。而在蛋白质组水平，由于转录因子和转录共调节因子表达丰度低且缺乏相关富集技术，科学界仍然难以对上述蛋白分子与染色质开放区的结合配对关系进行全景式的精细解析。

2021 年 10 月 22 日，我院**贺福初/丁琛**团队在 *Science Advances* 在线发表了题为 *Proteome-wide profiling of transcriptional machinery on accessible chromatin with biotinylated transposons* 的有关蛋白质-DNA 转录机器的最新研究成果。该成果显示，复旦大学团队在世界范围内首次实现了染色质开放区转录蛋白机器的鉴定及功能研究。

SCIENCE ADVANCES | RESEARCH ARTICLE

SYSTEMS BIOLOGY

Proteome-wide profiling of transcriptional machinery on accessible chromatin with biotinylated transposons

Haizhu Zhang[1†], Zhaoyu Qin[1†], Xuetong Yue[1†], Yang Liu[1], Xiaogang Sun[2], Jinwen Feng[1], Ziyan Xu[1], Jiangyan Zhao[1], Kai Li[1], Jiange Qiu[3], Wenjun Yang[4*], Fuchu He[1,5*], Chen Ding[1,2,3*]

多年来，贺福初/丁琛团队，聚焦这一难题持续开展科研攻关。早在 2013 年，丁琛/秦钧团队开发 catTFRE 技术，首次设计合成了串联各种转录因子的多拷贝双链 DNA 结合元件，从核蛋白中富集具有 DNA 结合活性的内源转录因子及其复合物，对开展转录调控具有重大价值。

在本次发表的最新成果中，科研人员基于 ATAC-seq 技术，开发出直接富集和定量内源性染色质开放区域实时原位转录的转录蛋白机器的新方法 ATAC-MS（图 1）。该技术利用生物素化的高活性 Tn5 转座子，特异性结合染色质开放区暴露的 DNA，将 DNA 片段化并进行生物素（biotin）标记。而后通过链霉亲和素偶联的磁珠与生物素化的 DNA 反应，分离纯化出 DNA 及 DNA 上结合的转录复合物。对上述复合物分别进行蛋白质酶解-肽段纯化与 DNA 纯化-文库构建，可用于平行的质谱鉴定与二代测序分析，由此可直接观测获得转录调控蛋白质机器信息及其结合序列 motif 信息。

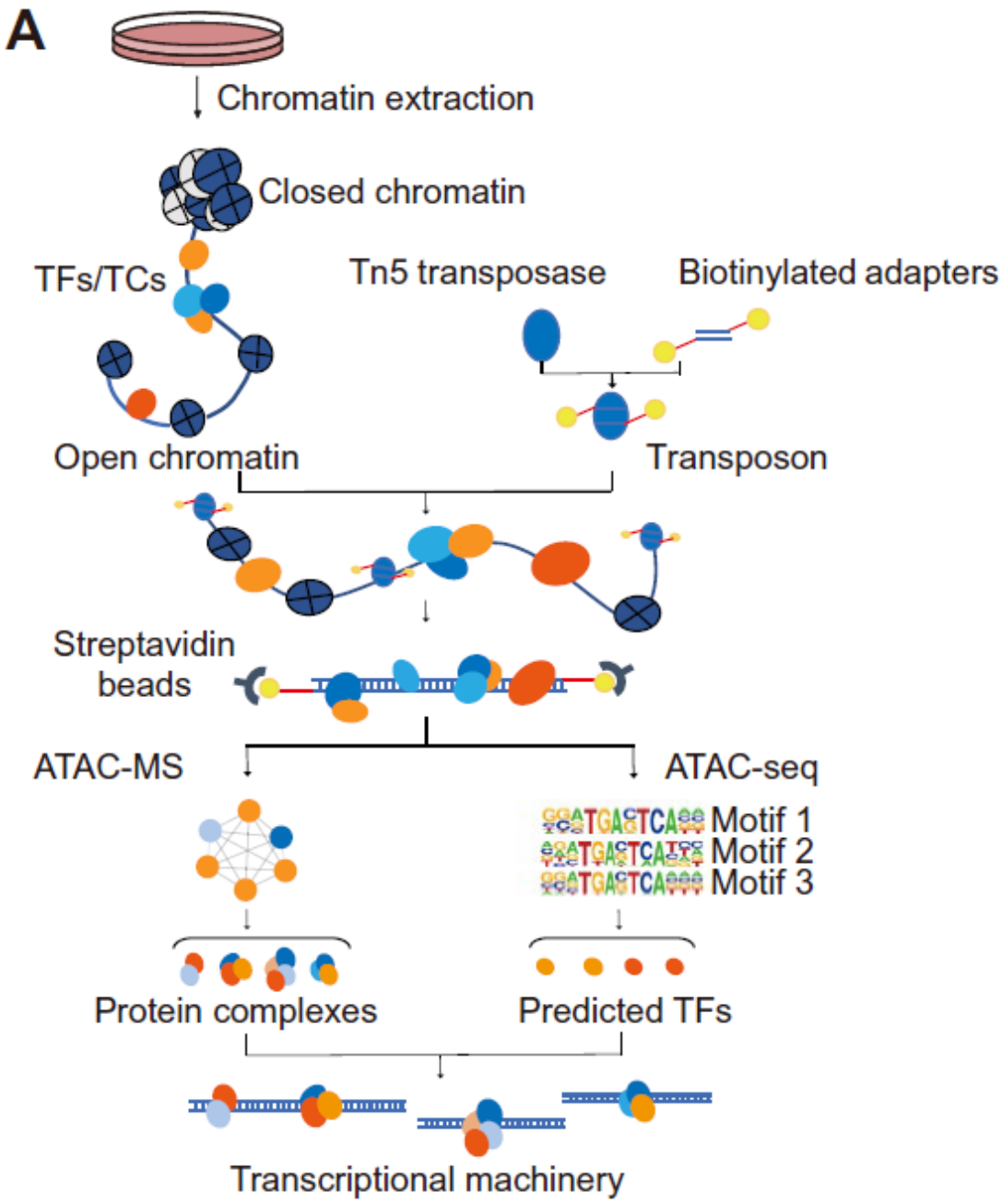


图 1. ATAC-MS 原理示意图

该方法在使用低至 5×105 的细胞量时，便可对转录因子和转录共调控因子的鉴定有着较好的灵敏性和特异性（图 2）。与 ATAC-seq 检测到转录因子结合序列不同，ATAC-MS 可以直接捕获转录因子(TF)及与之共同作用的转录复合物。

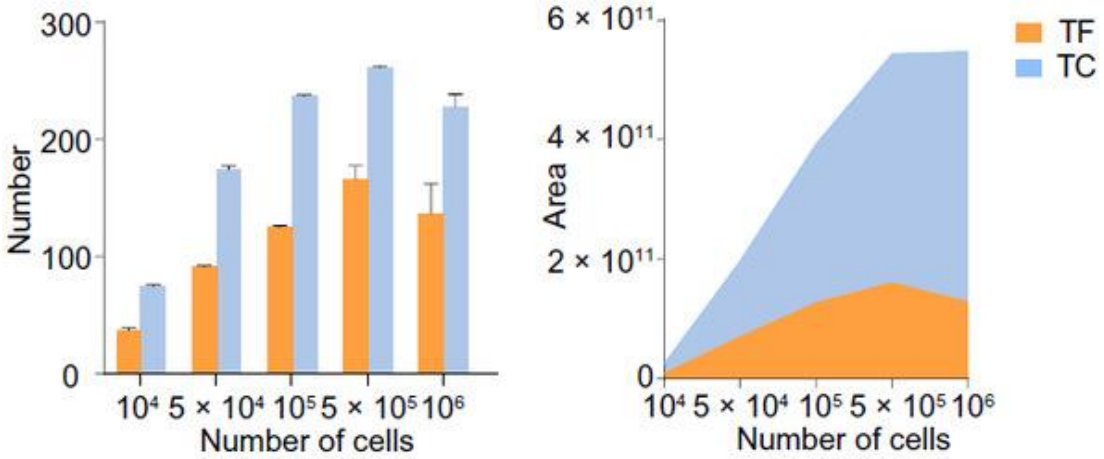


图 2. ATAC-MS 对 TF、TC 的检测灵敏度检测

使用肿瘤坏死因子（TNF-α）对 HeLa 细胞进行刺激后，ATAC-MS 成功鉴定到转录因子 NFKB 家族及与其相互作用的 TFs 的变化（图 3）。此外，使用雌激素受体 17β 雌二醇（E2)及其拮抗物 4-羟基他莫昔芬（4-Hydroxytamoxifen）刺激 MCF7 细胞时，ATAC-MS 不仅能检测到核心转录因子 ESR1 的变化，还能观测到 E2 的刺激导致与 ESR1 共同作用转录共激活因子（coactivator），如 NCOA3，EP300 等的富集。而在 4-HT 的刺激下，转录共抑制因子（corepressor）如 NCOR1，HDAC2 等也可被 ATAC-MS 成功捕获。这证实了对于转录共调节因子的高富集能力是 ATAC-MS 技术的优势。

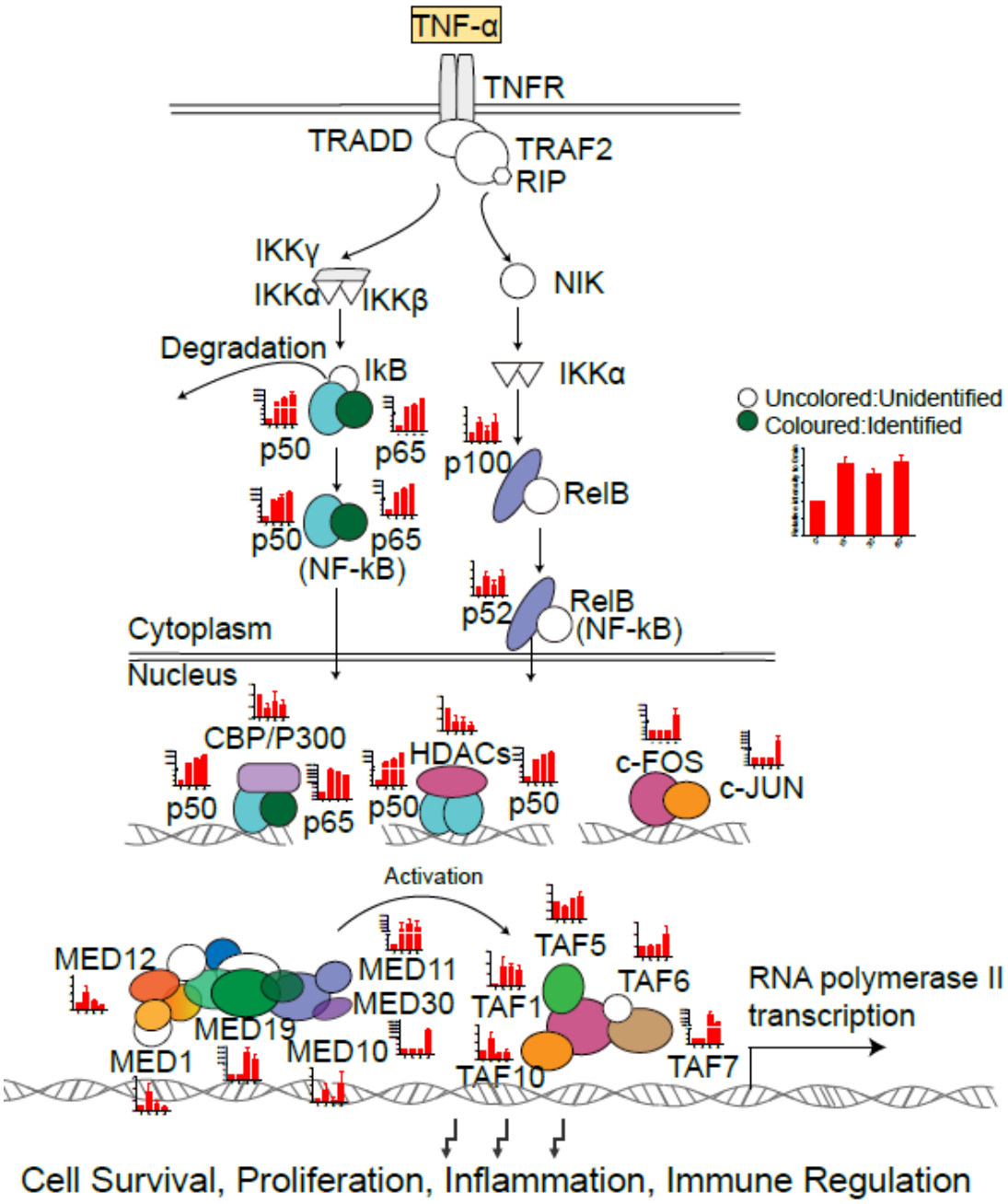


图 3. ATAC-MS 检测 TNF-α 刺激应答转录因子复合物

进一步的，该团队将 ATAC-MS 技术与阴离子交换技术结合，开发出高分辨率 ATAC-MS 解析技术（fractionation ATAC-MS，fATAC-MS）。利用不同浓度盐溶液洗脱，将 DNA-转录机器复合物分成不同组分，降低复杂度，提供更高分辨率的转录蛋白-DNA 图谱。实验显示，不同组分中的共洗脱蛋白质/DNA 成分显示出特征性的功能和特征性的 DNA 结合基序。一些具有保守功能的蛋白质复合物，如 RNA 聚合酶 II 相关蛋白和染色质修饰酶（HDACs 等）在所有组分中被广泛洗脱和鉴定。这些发现显示了 fATAC-MS 在全基因组范围内进行高分辨率蛋白质机器-DNA

互作关系解析的应用潜能。这展示了 ATAC-MS 可用于在全基因组水平绘制蛋白质-DNA 转录调控复合物图谱。

进一步的，作者设计并表达了一种新型 Tn5-dCas9 融合蛋白，将 ATAC-MS 升级为具有靶向性的 ctATAC-MS(dCas9 targeted ATAC-MS)。在没有 sgRNA 的情况下，Tn5-dCas9 融合蛋白作为 Tn5 转座子与开放染色质结合,由此可用于全基因组水平的转录调控蛋白质机器；而在有 sgRNA 的指导下，Tn5-dCas9 对特定靶向的 DNA 序列具有亲和力，可精确揭示特定位点的转录调控蛋白质复合物。升级的 ctATAC-MS 方法系统地描述了在小鼠肝脏昼夜节律时钟中靶向 E-box 的转录过程，揭示了不同转录因子在昼夜节律中的潜在机制。

综上，贺福初/丁琛团队**本次发表的研究提供了一个包括 3 种全新方法——ATAC-MS、fATAC-MS 和 ctATAC-MS 在内的转录调控复合物解析“工具包”，使得我们既能够在全基因组层面绘制活跃的转录调控蛋白质机器图谱，也可以在特定基因组位点上探究蛋白质-DNA 转录调控复合物。**该工具包将使该领域的研究人员能够深入挖掘不同层次的转调控机制，并具有兼顾体内/体外反应的特点，在临床活检、多种组织标本检测和不同物种检验等领域具有广泛的应用潜能。

该研究得到上海市市级科技重大专项“国际人类表型组计划（一期）”的支持。复旦大学生物医学研究院 2017 级博士生张海珠、复旦大学人类表型组研究院副研究员秦兆宇、复旦大学生物医学研究院 2018 级博士生岳雪彤为本文共同第一作者。上海交通大学医学院附属新华医院杨雯隽研究员，中国科学院院士、遗传工程国家重点实验室和复旦大学生物医学研究院特聘 PI 及人类表型组研究院特聘导师贺福初教授，复旦大学人类表型组研究院副院长、遗传工程国家重点实验室、生命科学学院及生物医学研究院丁琛研究员为该论文的共同通讯作者。论文链接：https://doi.org/10.1126/sciadv.abh1022

Alastair Murchie-陈东戎课题组《Nucleic Acids Research》报道 Twister 核酶的新生物学功能

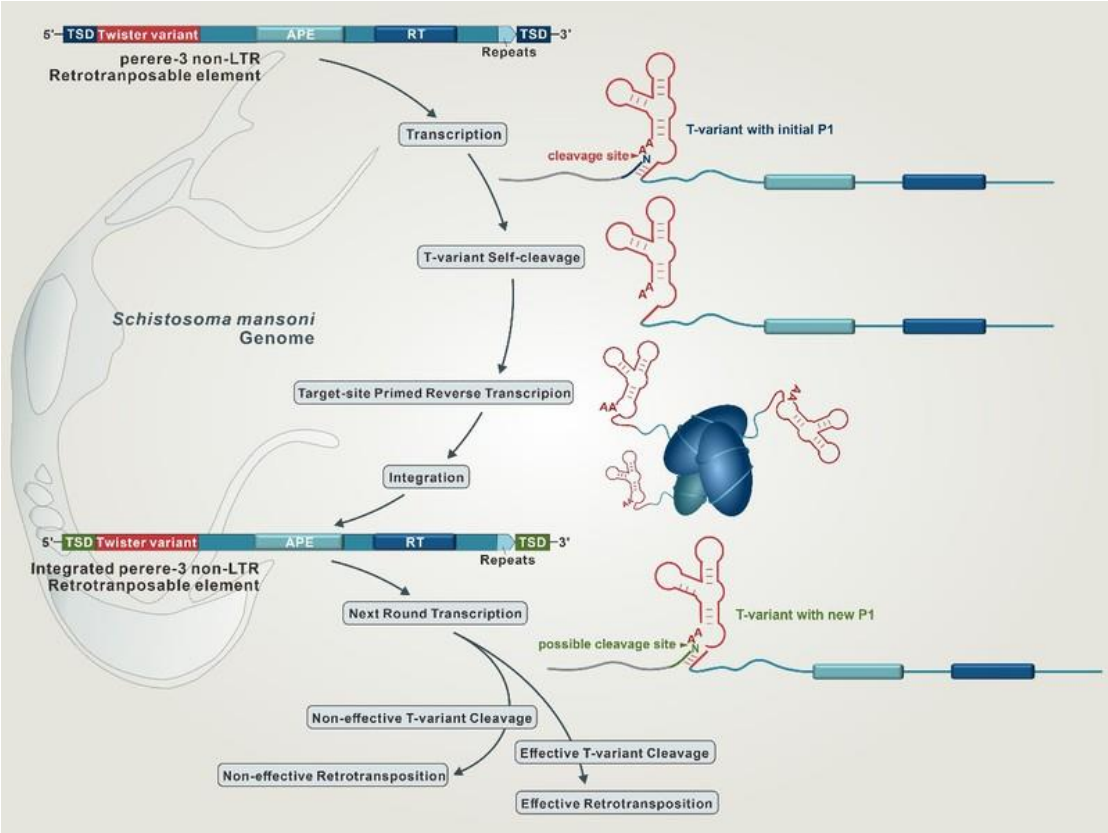
核酶指有催化功能的 RNA。Twister 核酶是生物信息学揭示的天然自剪切核酶，分布广泛且催化效率高，被应用于核糖开关、环状 RNA 表达载体等分子工具的研究，但目前 Twister 核酶的天然生物学功能未知。

逆转座元件指通过 RNA 中间体从基因组一个地方转移到另一个地方的 DNA 序列,转座元件在原核和真核生物中分布都极其广泛,在基因组中占比往往很高，如线虫基因组中转座元件占约 12%，人类中则占 45%。曼氏血吸虫（Schistosoma

mansoni）基因组中逆转座元件占比超过 20%。Repbase 中共收录 17 种 S.mansoni 逆转座元件。

2021 年 9 月 22 日，我院 **Alastair Murchie-陈东戎**课题组在 ***Nucleic Acids Research*** 发表题为 *"The function of twister ribozyme variants in non-LTR retrotransposition in Schistosoma mansoni"* 的研究成果，报道了 Twister 核酶参与 S.mansoni 基因组中 perere-3 non-LTR 逆转座的生物学功能。

Alastair Murchie-陈东戎课题组运用 RNABOB 生物信息学方法和基因功能批量预测揭示了 S.mansoni 基因组中的 Twister 核酶变体序列位于 perere-3 non-LTR 逆转座元件的 5'末端，且具备体内、外自剪切活性。T-variant 和 perere-3 在体内共转录，且 T-variant 的剪切产物 RNA 具备抵御降解并起始下游蛋白翻译的功能。T-variant 剪切位点在基因组中紧邻逆转座插入位点重复序列（Target Site Duplications，TSDs），为 T-variant 剪切产物和逆转座元件 RNA 共同参与 Target-primed reverse transcription（TPRT），并插入新的基因组位点提供了证据。



该研究首次报道了 twister 核酶的天然生物学功能，Twister 变体的发现拓宽了 twister 核酶的定义和分布范围，为揭示同类型自剪切核酶变体的功能提供了新思路。此外，Twister 变体集中分布在导致肝脏和肠血吸虫病的主要病原体 S.mansoni 中，通过干扰 Twister 核酶自剪切，可能实现血吸虫基因组逆转座的调控，从而破坏病原体侵染宿主的能力、适应性以及抗药性。

该研究主要由生物医学研究院博士后刘格彤完成，Alastair Murchie、陈东戎、为共同通讯作者。该工作得到了国家自然科学基金和国家重点研发计划项目的资助。

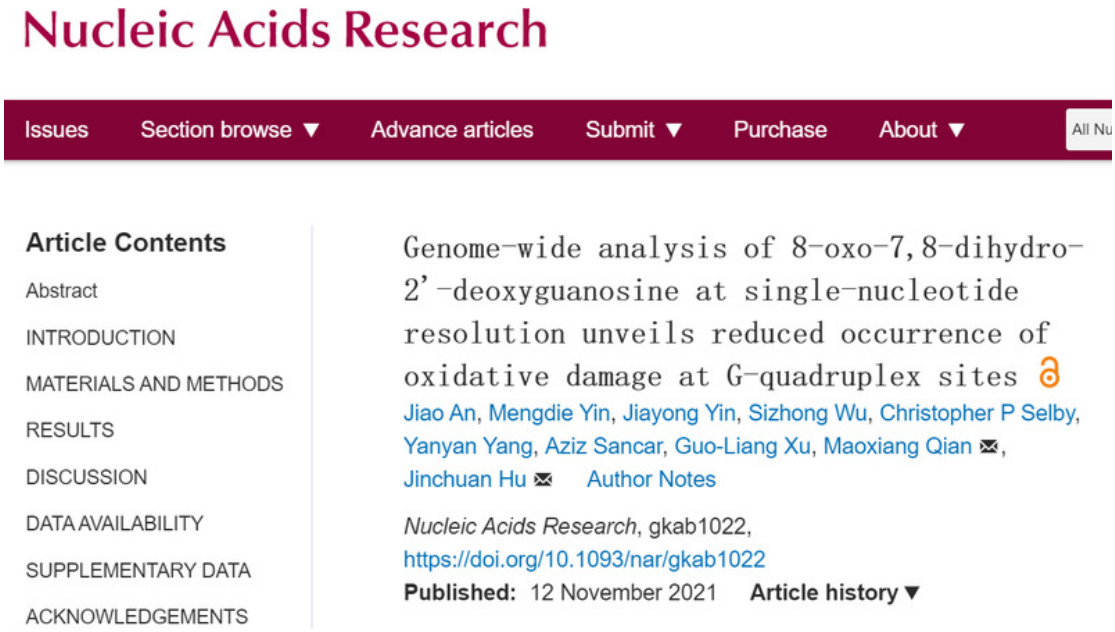
原文链接：https://academic.oup.com/nar/article/49/18/10573/6374148

胡晋川/钱茂祥课题组《Nucleic Acids Research 》合作开发单碱基分辨率 DNA 氧化损伤测序方法

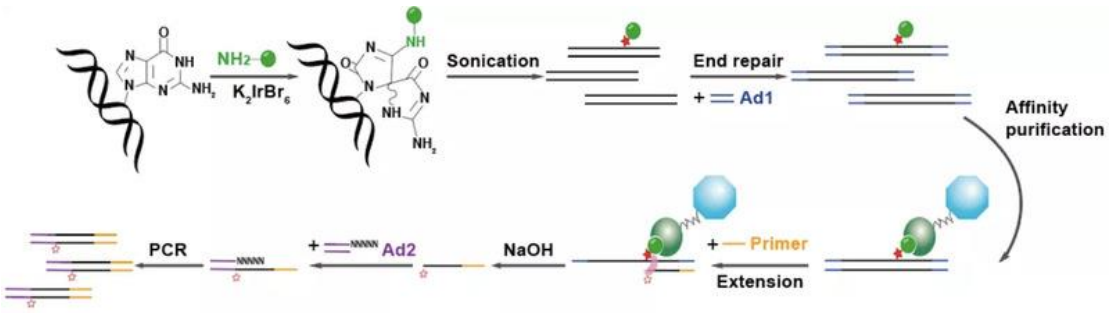
生命活动需要氧化反应提供能量，这一过程同时会产生活性氧物质（ROS）。ROS 能诱导多种 DNA 氧化损伤，其中最常见的是 8-oxo-7,8-dihydro-2'-deoxyguanosine (OG)，被视为氧化压力的标志物。如果没有被及时修复，OG 可能引起 G→T 突变，与多种癌症、神经退行性疾病和衰老相关。除此之外，OG 也有类似于表观遗传修饰的作用，可以通过几种不同的方式调控基因表达，例如 OG

的修复中间体 apurinic (AP) site 可以通过促进和稳定富含 G 碱基的 DNA 二级结构 G 四链体（G-quadruplexes, G4）来影响转录。

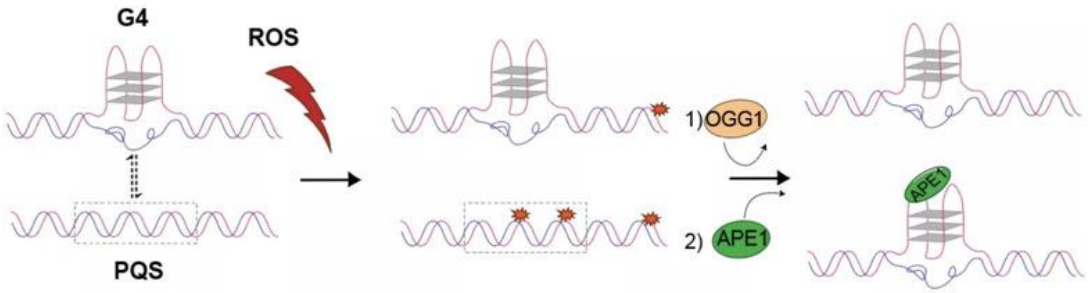
OG 的上述生物学功能与其在基因组上的分布密切相关，因此检测 OG 在基因组上准确位置对研究相关科学问题有重要意义。2021 年 11 月 12 日，复旦大学生物医学研究院的**胡晋川**课题组和**钱茂祥**课题组合作在 ***Nucleic Acids Research*** 杂志在线发表了题为 *Genome-wide analysis of 8-oxo-7,8-dihydro-2'-deoxyguanosine at single-nucleotide resolution unveils reduced occurrence of oxidative damage at G-quadruplex sites* 的研究论文，**开发了一种能以单碱基分辨率特异性检测 OG 损伤的测序方法 CLAPS-seq** (Chemical Labeling And Polymerase Stalling Sequencing)，**检测了 HeLa 细胞中内源和外源 OG 损伤的分布，发现了 G4 结构会阻碍 OG 损伤的形成。**



OG 损伤的测序有几个技术难题，首先内源 OG 损伤的频率小于每百万碱基一个，实现特异性和单碱基分辨率具有很高的挑战性；其次 G 碱基很容易被氧化，如何避免样品处理过程中次生氧化的干扰是所有 OG 检测方法的共同困难。CLAPS-seq 在提取 DNA 之后，立即通过一个高选择性的化学反应给 OG 标记上生物素，从而避免了后续处理过程中次生氧化的干扰。生物素标记的 DNA 片段被链霉亲和素磁珠捕捉，随后用高保真 DNA 聚合酶进行引物延伸。因为聚合酶会被准确阻挡在损伤前一位碱基，对延伸产物测序可以确定损伤的准确位置（图 2）。从测序结果看，无论是内源损伤还是外源损伤，检测到的损伤位点上大部分碱基都是 G，表明 CLAPS-seq 首次实现了以单碱基分辨率检测人类细胞中内源 OG 损伤的准确分布。



作者分析了 OG 损伤与局部 GC 含量、染色质状态以及基因分布的关系，发现在 GC 富集的转录起始位点附近 OG 反而比较少，且 OG 与 G4 结构的分布具有负相关性；另一方面，没有形成 G4 结构的“潜在四链体序列”（Potential Quadruplex Sequence, PQS）却成为 OG 的热点。这些结果为 OG 和 G4 的关系提示了一种可能的机制：由于 G4 结构上的 OG 难以被修复，G4 结构抑制 OG 形成可以降低突变的风险，保护基因组的完整性；与之相反，未形成 G4 的 PQS 上的 OG 可以被正常识别，其修复中间体 AP 位点可以促进 G4 结构的形成，从而起到氧化压力感受器的作用，调控下游基因表达（图 3）。



复旦大学生物医学研究院青年研究员胡晋川和钱茂祥是论文的共同通讯作者，复旦大学生物医学研究院 19 级博士研究生安娇、研究助理殷梦蝶和 19 级硕士研究生尹家勇为论文的共同第一作者，复旦大学生物医学研究院徐国良教授和美国北卡大学教堂山分校医学院 Aziz Sancar 教授为本研究提供了重要帮助。

原文链接：

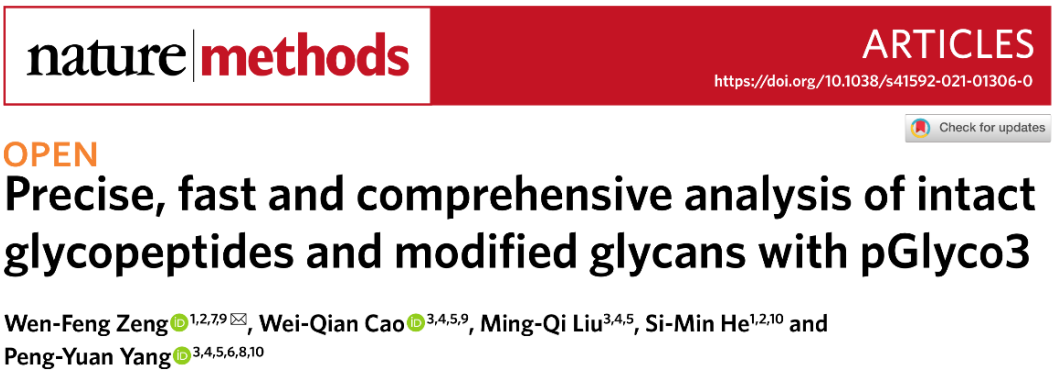
https://academic.oup.com/nar/advance-article/doi/10.1093/nar/gkab1022/6426063

曹纬倩与合作者《Nature Methods》发布蛋白质位点特异性糖基化解析工具 pGlyco3

蛋白质位点特异性糖基化的精准解析对于研究蛋白质糖基化功能、发现疾病潜在标志物及药物靶标十分重要。大规模、高准确性完整糖肽解析一直是蛋白质后修饰分析领域极具挑战性的工作。近年来，完整糖肽解析在生物质谱分析及计算糖蛋白质组领域都取得了重要进展；然而，目前解析方法仍有明显的局限性：

大部分工具无法对糖链鉴定进行质控，尤其是复杂的糖型；检索速度慢；无法对多个糖基化位点精准定位；无法鉴定含有修饰糖单元的完整糖肽等问题。

2012 年 11 月 25 日，我院曹纬倩博士与中科院计算所曾文锋博士等合作在 *Nature Methods* 上在线发表了题为 *"Precise, Fast and Comprehensive Analysis of Intact Glycopeptides and Modified Saccharide Units with pGlyco3"* 的研究论文。文章**介绍了一种可用于完整糖肽及修饰糖精准、快速解析的工具 pGlyco3。该工具提出了糖链优先的搜索策略（glycan-first search），大大提高了鉴定精度和检索速度。**


nature methods ARTICLES
https://doi.org/10.1038/s41592-021-01306-0
Check for updates
OPEN
Precise, fast and comprehensive analysis of intact glycopeptides and modified glycans with pGlyco3
Wen-Feng Zeng[1,2,7,9], Wei-Qian Cao[3,4,5,9], Ming-Qi Liu[3,4,5], Si-Min He[1,2,10] and Peng-Yuan Yang[3,4,5,6,8,10]

当前大部分解析工具都是通过修改常规蛋白质搜索引擎，使得引擎能够支持糖链的检索。但是这些软件不容易对糖链鉴定进行质控，尤其是复杂的糖型。研究者提出了糖链优先的检索策略，其特色就是先搜索糖链部分，通过糖链鉴定的质控，缩小搜索空间从而提高检索速度，并且过滤掉不可靠的糖型从而提高鉴定精度。

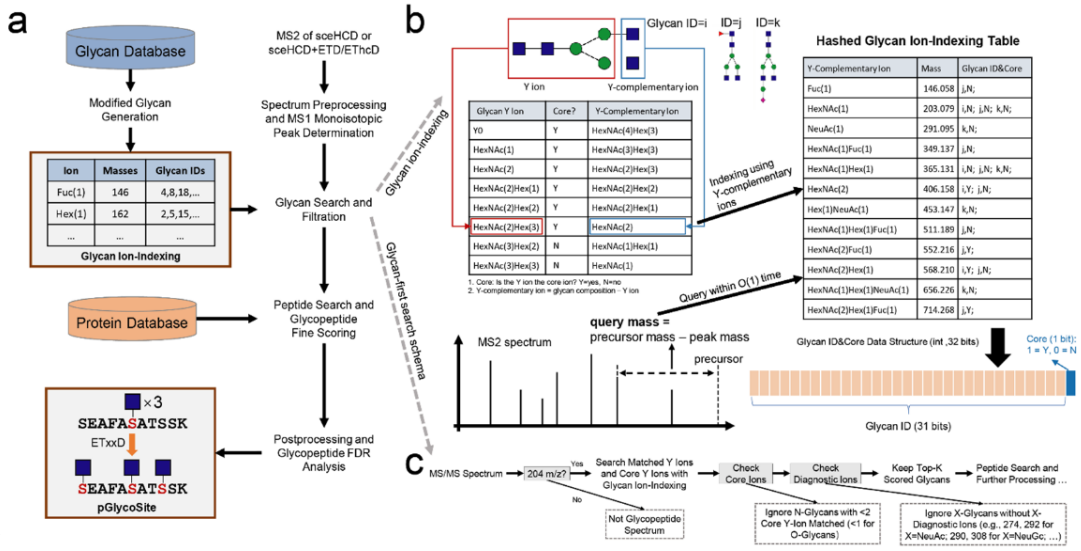
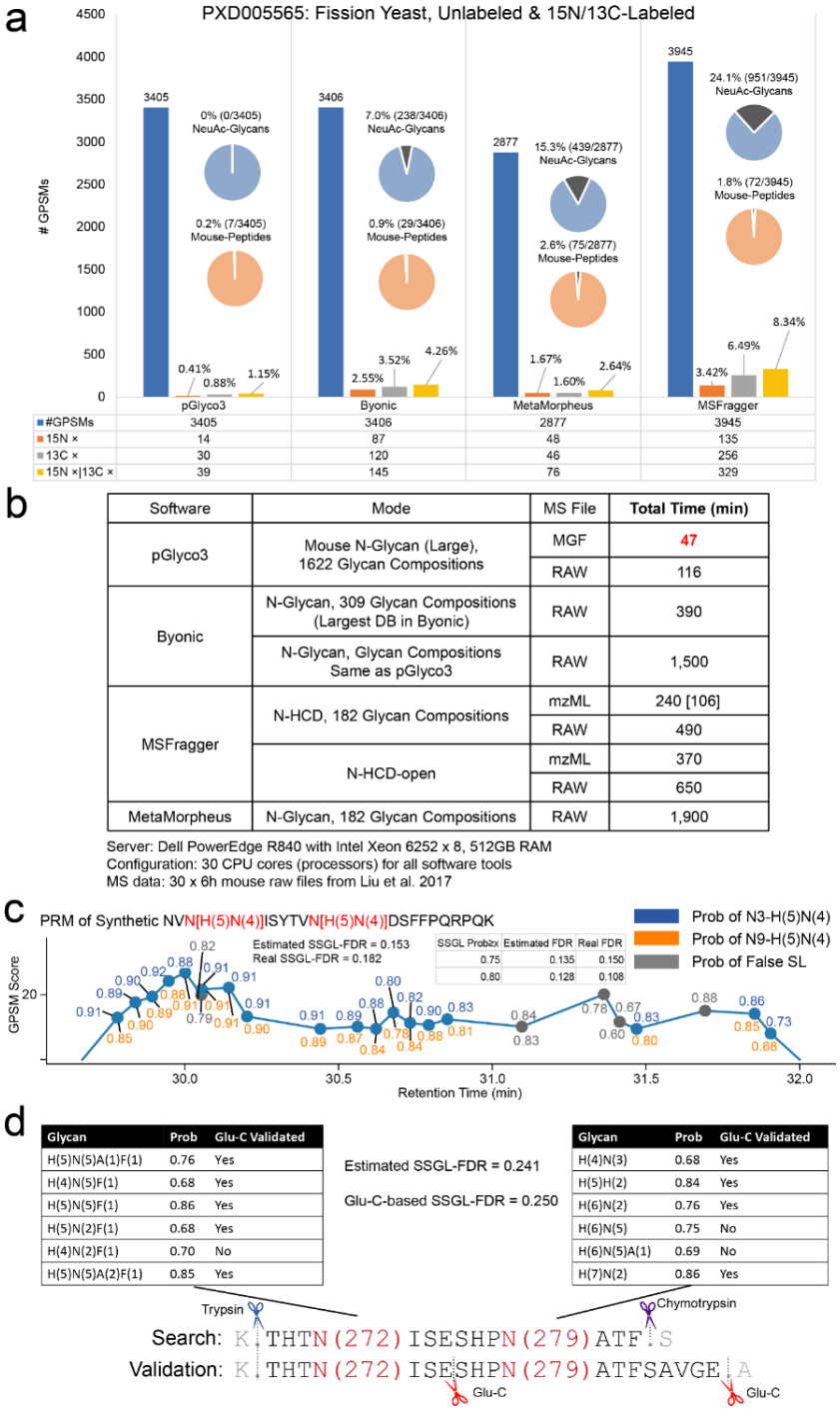


图 1. pGlyco3 解析流程。图片来源 Nat Methods

研究人员采用他们前期开发的基于重标技术的糖肽鉴定及陷阱库检索的质控流程，在复杂样本酵母中，客观地比较了不同检索引擎汇报糖肽结果的假阳性率（包括常见糖肽检索引擎 Byonic，O-Pair 和 MSFragger-Glyco），同时比较了不同检索引擎的检索速度，证明 pGlyco3 不管是在鉴定准确性还是检索速度方面都有更好的表现。



Software	Mode	MS File	Total Time (min)
pGlyco3	Mouse N-Glycan (Large), 1622 Glycan Compositions	MGF	47
		RAW	116
Byonic	N-Glycan, 309 Glycan Compositions (Largest DB in Byonic)	RAW	390
	N-Glycan, Glycan Compositions Same as pGlyco3	RAW	1,500
MSFragger	N-HCD, 182 Glycan Compositions	mzML	240 [106]
		RAW	490
	N-HCD-open	mzML	370
		RAW	650
MetaMorpheus	N-Glycan, 182 Glycan Compositions	RAW	1,900

Server: Dell PowerEdge R840 with Intel Xeon 6252 x 8, 512GB RAM
Configuration: 30 CPU cores (processors) for all software tools
MS data: 30 x 6h mouse raw files from Liu et al. 2017

图 2. pGlyco3 鉴定结果比较和位点准确性验证。图片来源 Nat Methods

此外，pGlyco3 糖库中糖链采用线性编码，用户可以根据经验构建样品特异性的糖库，进行完整糖肽上含有修饰糖单元的鉴定。采用该方法，研究者在他们的酵母数据中发现了大量（约 50%）的氨基修饰的糖单元，以及部分磷酸修饰的糖单元；在其它公开的数据中也发现了氨基修饰的糖单元。

对于含有多个糖基化修饰位点的糖肽，pGlyco3 采用动态规划算法得到最优匹配路径，并且估计最优匹配为随机匹配的概率，从而实现糖基化位点的精准定位。与已有的位点特异性糖链定位算法相比，pGlyco3 的定位速度和精度都有大幅提升。同时研究人员分别采用合成的含双糖基化位点的标准完整糖肽，以及多种酶切策略对位点鉴定的准确性进行了有效验证。

pGlyco3 是继该团队发展的 pGlyco 2.0（*Nat Commun*，2017）后的又一重要突破，解决了基于数据库检索的完整糖肽解析中面临的准确性、多位点定位、修饰糖鉴定的重要难题，为糖蛋白质组分析领域提供了重要的鉴定策略和检索工具，有望促进蛋白质糖基化相关功能和生物标志物的研究。

据悉，北京中科院计算所毕业的曾文锋博士（现为德国马克斯普朗克生物化学研究所博士后）和我院曹纬倩副研究员为该论文共同第一作者。曾文锋博士为通讯作者，同时计算所贺思敏研究员和我院**杨芃原**教授（1949.6.12-2021.5.31）共同指导了本研究项目的开展；刘铭琪博士做出了重要贡献。该项目得到国家重点研发计划，国家自然科学基金委重大研究计划培育项目，以及上海市高水平地方高校创新研究团队的支持。

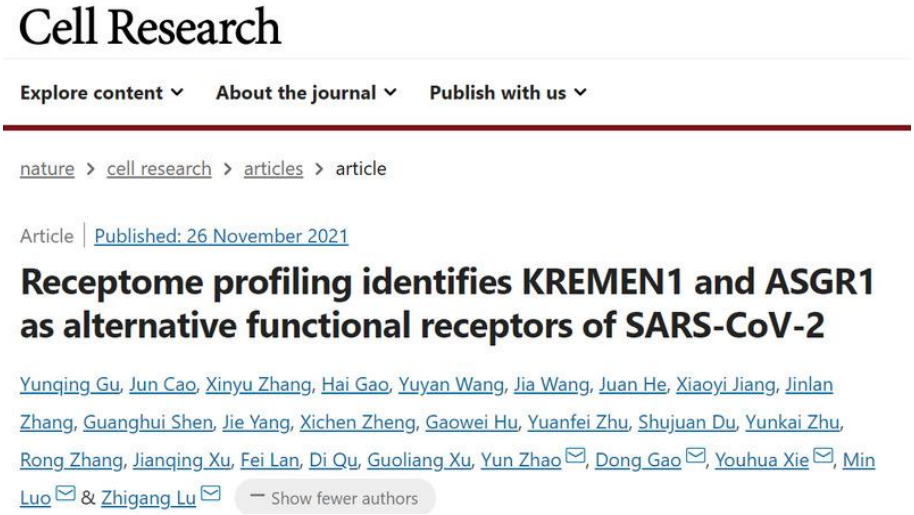
原文链接：https://www.nature.com/articles/s41592-021-01306-0

卢智刚/罗敏团队等《Cell Research》报道新冠病毒多个新功能性受体

新型冠状病毒（SARS-CoV-2）引起的全球 COVID-19 爆发严重威胁人类健康。SARS-CoV-2 具有多器官嗜性，可引起发烧，咳嗽，严重的呼吸道疾病和多器官衰竭。宿主细胞受体是病毒嗜性和引发疾病的关键决定因素。但目前为止，被广泛认可的 SARS-CoV-2 受体仅有 ACE2。而 ACE2 的表达相对局限在胃肠道、肾脏、心脏等器官，难以解释 SARS-CoV-2 的多器官嗜性。另外，SARS-CoV 和 SARS-CoV-2 都利用 ACE2 作为主要入侵受体，但二者在噬性和临床特征上表现出明显差别，这些都提示存在其他受体来介导 SARS-CoV-2 与宿主的相互作用。因此，系统性分析 SARS-CoV-2 的宿主细胞受体谱系、寻找未知功能性受体，对于深入了解 SARS-CoV-2 的致病机理和药物开发都具有重要作用。

2021 年 11 月 26 日，复旦大学生物医学研究院**卢智刚/罗敏**团队领衔，与**徐国良**院士团队、复旦大学谢幼华团队、以及中国科学院分子细胞科学卓越创新中

心高栋团队和赵允团队等合作，在 *Cell Research* 杂志发表了一篇题为 *"Receptome profiling identifies KREMEN1 and ASGR1 as alternative functional receptors of SARS-CoV-2"* 的研究论文，报道了 SARS-CoV-2 与人宿主的相互作用受体谱系，并发现了新冠病毒多个新功能性受体。


Cell Research

Explore content ⌄ About the journal ⌄ Publish with us ⌄

nature > cell research > articles > article

Article | Published: 26 November 2021

Receptome profiling identifies KREMEN1 and ASGR1 as alternative functional receptors of SARS-CoV-2

Yunqing Gu, Jun Cao, Xinyu Zhang, Hai Gao, Yuyan Wang, Jia Wang, Juan He, Xiaoyi Jiang, Jinlan Zhang, Guanghui Shen, Jie Yang, Xichen Zheng, Gaowei Hu, Yuanfei Zhu, Shujuan Du, Yunkai Zhu, Rong Zhang, Jianqing Xu, Fei Lan, Di Qu, Guoliang Xu, Yun Zhao, Dong Gao, Youhua Xie, Min Luo & Zhigang Lu — Show fewer authors

研究团队基于细胞水平的配体-受体相互作用研究方法，建立了一个全基因组水平的分泌组学相互作用筛选系统；该系统保持了膜蛋白的全长和功能，能够在生理条件下对靶蛋白的受体或配体进行全基因组水平筛选。研究共获得包括 ACE2 在内的 12 种受体类因子。这些因子与 SARS-CoV-2 S 蛋白特异结合，Kd 范围从 12.4-525.4nM。ACE2 仅结合 S 蛋白的 RBD 结构域，但其他多数因子能够同时与 S 蛋白的多个结构域发生相互作用，其中 RBD 和 NTD 为主要结合位点，提示这两个结构域在 SARS-CoV-2-宿主相互作用中都具有重要作用。

ASGR1 和 KREMEN1 能够直接介导不依赖 ACE2 的 SARS-CoV-2 感染，但对 SARS 和 MERS 的感染没有作用。ASGR1 和 KREMEN1 能够与多个 S 蛋白结构域发生相互作用，其中 KREMEN1 能够结合 RBD、NTD 和 S2，而 ASGR1 结合 RBD 和 NTD；二者与 SARS 的 S 蛋白没有特异结合。因此，ASGR1 和 KREMEN1 是 SARS-CoV-2 的特异性受体，这也在一定程度上解释了 SARS-CoV-2 在嗜性和临床表现上更为复杂的原因，同时也提示这两个受体很有可能是目前靶向 NTD 表位的 SARS-CoV-2 中和抗体的潜在作用靶点。

研究人员将能够介导 SARS-CoV-2 入侵的 ACE2、ASGR1 和 KREMEN1 统称为 ASK 受体，并从细胞系水平、COVID-19 病人上呼吸道的单细胞测序水平，以及病人组织感染水平，发现生理条件下同时存在依赖和不依赖 ACE2 的两种感染途径，而 ASGR1 和 KREMEN1 在后一途径中发挥重要作用；SARS-CoV-2 利用不同的受体入侵不同类型的细胞，ASK 受体共同构成了 SARS-CoV-2 细胞和组织嗜性的分子基础。

随后研究人员开发了 ASGR1 和 KREMEN1 的阻断型单克隆抗体，能够特异性抑制相应受体所介导的 S 蛋白结合和病毒入侵。这些抗体均能显著抑制病毒感染人肺类器官（organoid），表明在肺类器官中，ASGR1 和 KREMEN1 所介导的 SARS-CoV-2 感染也发挥重要作用。更为重要的是，**相比任一单靶向抗体，同时靶向 ACE2/ASGR1/KREMEN1 的鸡尾酒抗体能够更为显著的抑制新冠病毒感染肺类器官。**

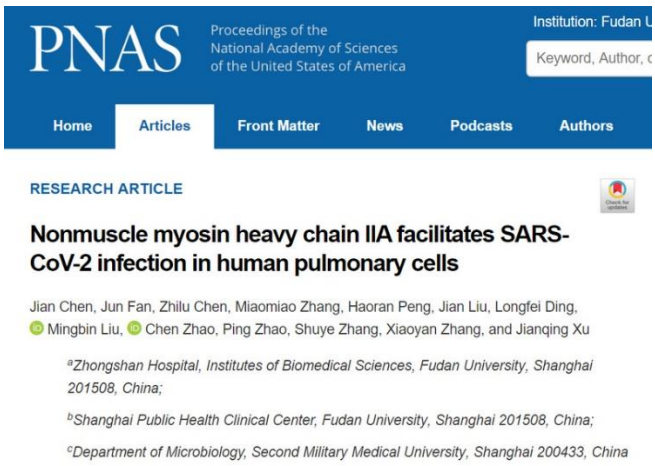
这项研究鉴定了 SARS-CoV-2 与人发生特异相互作用的细胞受体谱系，这些受体类分子表现出不同的 S 蛋白结合特征，以及生物学功能和组织表达分布的多样性；同时证明了 ASGR1 和 KREMEN1 是 SARS-CoV-2 新的功能性受体，在不依赖 ACE2 的病毒感染中发挥重要作用；SARS-CoV-2 利用不同的 ASK 受体入侵不同细胞，同时靶向阻断 ASK 受体与 S 蛋白结合的鸡尾酒抗体能够在肺类器官水平更为显著的抑制病毒感染。不同受体或受体样分子很有可能在不同的环境或生理条件下与 SARS-CoV-2 发生相互作用，引发不同的信号，最终导致病毒的感染和宿主免疫反应等，从而促进病毒的致病进程。这项研究为解释和深入了解 SARS-CoV-2 的嗜性和致病机制提供了重要信息和线索，同时也为针对 COVID-19 的药物研发提供了新的靶点和治疗策略。

该项目受到国家自然科学基金委和科技部的经费支持。

原文链接：https://doi.org/10.1038/s41422-021-00595-6

徐建青/张晓燕团队《PNAS》报道 MYH9 是 SARS-COV-2 感染的共受体——增强 ACE2 依赖性内吞作用以促进感染

2021 年 12 月 6 日，我院**徐建青/张晓燕**团队与第二军医大学赵平教授团队联合在 *PNAS* 杂志上发表了题为 *Nonmuscle myosin heavy chain IIA facilitates SARS-CoV-2 infection in human pulmonary cells* 的文章。文章发现人非肌肉肌球蛋白重链 IIA (MYH9)是 SARS-CoV-2 感染人肺细胞的辅助受体。



自 2019 年 12 月以来，导致严重急性呼吸综合征的新型冠状病毒（SARS-CoV-2）引发了 COVID-19 的全球大流行，迄今已导致超过 2.65 亿人感染。已有研究证明，SARS-CoV-2 病毒具有组织嗜性，能优先感染呼吸道上皮细胞，且在多种人体器官包括肺、咽、心、肝、脑、肾脏及消化系统器官中均能检测到病毒的存在。新型冠状病毒感染能引起人的上呼吸道疾病、发烧及严重肺炎。

冠状病毒组织嗜性的决定因素是病毒 S 蛋白，S 蛋白通过与宿主细胞上的膜受体结合介导病毒感染细胞，并可被宿主细胞的蛋白酶如 TMPRSS2 和 Furin 切割为 N 端 S1 及 C 端 S2 亚单位。研究表明，ACE2 是非典病毒（SARS-CoV）的感染受体，且能与 SARS-CoV-2 的 S 蛋白结合使 SARS-CoV-2 病毒进入细胞。然而，ACE2 并不能完全解释 SARS-CoV-2 感染的组织嗜性，因为病毒在肝脏、大脑、血液，特别是肺脏等组织中复制，其中仅部分细胞表达 ACE2，且 ACE2 表达量较低。近期 NRP1 及硫酸乙酰肝素 HS 已被确定为能够增强 ACE2 依赖性 SARS-CoV-2 感染的辅助因子，而酪氨酸蛋白激酶受体（AXL）和 CD147 被鉴定为不依赖 ACE2 而独立参与了 SARS-CoV-2 进入细胞的受体。这从机制出发解答了新冠病毒的高传染性及新冠疫情蔓延是因为 SARS-CoV-2 能够依赖多种途径感染宿主细胞。

为进一步探寻 SARS-CoV-2 感染人肺部组织细胞的具体机制，作者利用抗环血酸过氧化物酶（APEX2）邻近标记技术筛选与 SARS-CoV-2 病毒 S 蛋白存在相互作用的宿主蛋白，并通过质谱鉴定得到了一个与 SARS-CoV-2 病毒 S 蛋白存在相互作用的宿主蛋白 Nonmuscle myosin heavy chain IIA（MYH9），后续用免疫共沉淀实验进一步证明了 MYH9 分子与 S 蛋白能够直接结合。随后作者对 MYH9 分子在 SARS-CoV-2 感染人类细胞这一过程中的功能进行验证：利用 CRISPR/Cas9 技术敲除野生型人类肺癌细胞系 A549 细胞及 Calu-3 细胞中的 MYH9 基因后，发现能显著抑制 SARS-CoV-2 感染，而 MYH9 的过表达增强了野生型 A549 和 H1299 细胞中的感染。用免疫荧光实验证明 MYH9 分子能与 S 蛋白共定位，且两种蛋白的结合是通过 MYH9 的 C 端结构域（被称作 PRA）直接结合 SARS-CoV-2 的 S2 亚单位及 S1 亚单位的 N 末端结构域（NTD）实现。在宿主细胞中过表达 PRA，发现对多种冠状病毒进入细胞有着广谱的促进作用。

进一步的实验表明，内体或肌球蛋白抑制剂能有效地阻断 SARS-COV-2 的病毒进入 PRA-A549 细胞，而 TMPRSS2 和组织蛋白酶 B 和 L（CatB/L）抑制剂无效，表明 MYH9 分子促进 SARS-CoV-2 病毒的内吞是绕过 TMPRSS2 和 CatB/L 途径的。事实上，作者发现过表达 MYH9 并不增强 ACE2 敲除 A549 细胞中的 SARS-CoV-2 假病毒感染，仅增加了野生型 A549 细胞中的病毒感染。但敲除 MYH9 分子显著降低了 ACE2-A549 细胞中 SARS-CoV-2 假病毒及真病毒感染。这些数据表明，MYH9 不

是单独作为 SARS-CoV-2 病毒受体，而是在 ACE2 表达低的细胞中作为 ACE2 的共受体。最后作者又证明了 MYH9 的缺失同样可以减少 SARS-CoV-2 真病毒感染 Calu-3 和 ACE2-H1299 等细胞。

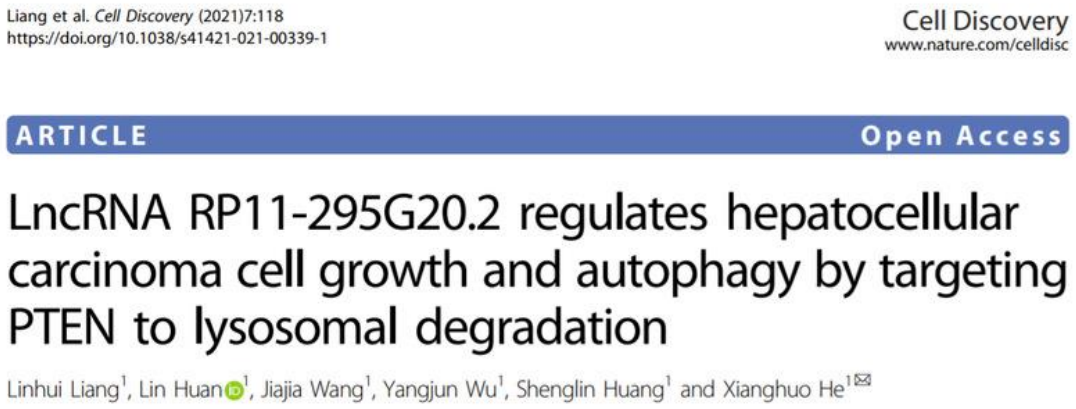
综上所述，**MYH9 是 SARS-CoV-2 的进入细胞的共受体，显著提升 ACE2 依赖性内吞作用而促进感染，独立于 TMPRSS2 及 CatB/L 之外，其作用在低表达 ACE2 的细胞尤为重要，如肺组织细胞，故而 MYH9 分子可能作为未来临床干预策略的又一重要的潜在靶点。**

原文链接：https://www.pnas.org/content/118/50/e2111011118

何祥火/梁琳慧团队《Cell Discovery》揭示 RP11-295G20.2 诱导 PTEN 降解的新途径

PTEN 是一个关键的抑癌基因，其蛋白在肿瘤中经常发生缺失。PTEN 蛋白的缺失可由遗传学和表观遗传学因素导致，但在肿瘤中 PTEN 蛋白的缺失比例常常比其基因突变、缺失比例要高很多，因此 PTEN 蛋白的降解成为肿瘤中研究的一个热点问题。以往研究发现，PTEN 蛋白可受到多种翻译后修饰并转移到蛋白酶体进行降解，也有少量研究发现 PTEN 可经由溶酶体途径降解，但 PTEN 溶酶体降解的具体分子机制尚不清楚。

2021 年 12 月 14 日，我院**何祥火/梁琳慧**团队在 *Cell Discovery* 杂志发表题为 *"LncRNA RP11-295G20.2 regulates hepatocellular carcinoma cell growth and autophagy by targeting PTEN to lysosomal degradation"* 的研究文章，**揭示了长链非编码 RNA RP11-295G20.2 直接结合 PTEN 蛋白，增加 PTEN/p62 蛋白的结合，从而使 PTEN 蛋白经由自噬-溶酶体途径发生降解的全新分子机制。**


Liang et al. *Cell Discovery* (2021)7:118
https://doi.org/10.1038/s41421-021-00339-1

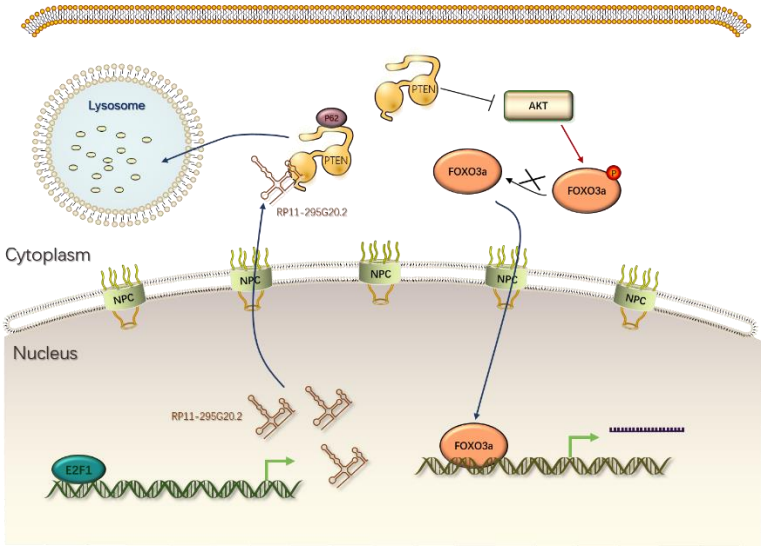
Cell Discovery
www.nature.com/celldisc

ARTICLE Open Access

LncRNA RP11-295G20.2 regulates hepatocellular carcinoma cell growth and autophagy by targeting PTEN to lysosomal degradation

Linhui Liang[1], Lin Huan[1], Jiajia Wang[1], Yangjun Wu[1], Shenglin Huang[1] and Xianghuo He[1]

研究人员发现 RP11-295G20.2 在肝癌组织中表达显著上调，且其高表达与肝癌患者的预后差密切相关。RP11-295G20.2 可促进肝癌细胞的体内外生长和克隆形成能力。进一步研究发现 RP11-295G20.2 可抑制肝癌细胞的基础自噬水平。通过生物信息学分析发现 RP11-295G20.2 调控的基因主要富集在受 PTEN 调控的基因。因此研究者通过多种研究方法发现 RP11-295G20.2 可直接结合 PTEN 蛋白，并促进其与 p62 蛋白的结合，并经由自噬-溶酶体途径进行降解。该研究揭示了肝癌中 PTEN 蛋白降解的全新分子机制，有望为肝癌的治疗提供新的靶点。



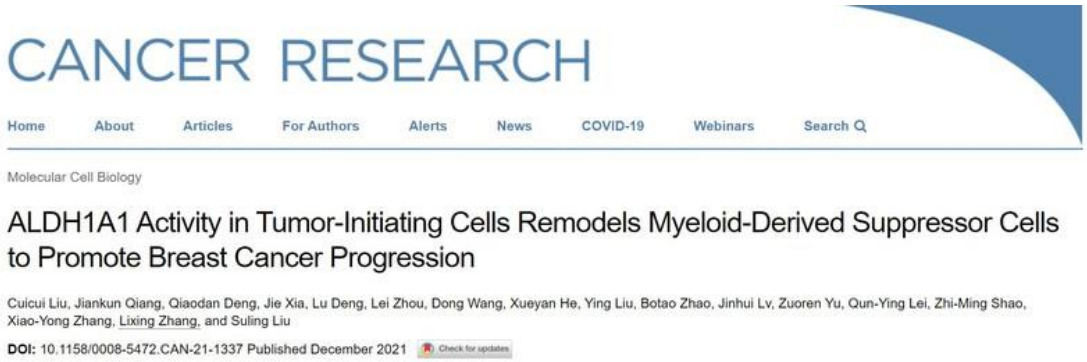
该论文的第一作者是生物医学研究院副研究员梁琳慧，还林博士和硕士生王家佳为共同一作，通讯作者为何祥火教授。该论文受到了国家自然科学基金多个项目的支持。

原文链接：https://www.nature.com/articles/s41421-021-00339-1

柳素玲团队等《Cancer Research》报道肿瘤干细胞标志物 ALDH1A1 通过重塑免疫微环境促进乳腺癌的新机制

越来越多的研究表明，在多种肿瘤组织内存在一小部分致瘤能力特别强、分化程度极低并具有干细胞的自我更新及多向分化特性的细胞，称为“肿瘤干细胞（Cancer Stem Cells，CSCs）”。醛脱氢酶 1A1（Aldehyde dehydrogenas 1A1，ALDH1A1）是乳腺肿瘤干细胞（Breast Cancer Stem Cells，BCSCs）的重要生物标志物之一。研究发现，ALDH1A1 同时也是乳腺癌发生发展和不良预后的预测分子，其表达及酶活性对肿瘤发生发展具有重要的调控作用。然而，ALDH1A1 是如何促进乳腺癌进展及如何维持 BCSC 特性的具体机制尚不清楚，解决这一问题将为我们设计靶向肿瘤干细胞的特异性抗肿瘤药物带来新的希望。

2021 年 12 月 1 日，我院**柳素玲**团队在 *Cancer Research* 杂志在线发表了题为 *ALDH1A1 activity in tumor-initiating cells remodels myeloid-derived suppressor to promote breast cancer progression* 的研究性论文，**揭示了 ALDH1A1 依赖其酶活性对乳腺癌免疫微环境的重塑和促肿瘤作用及其具体分子机制，帮助我们更好的阐明了 BCSC 标志物 ALDH1A1 对乳腺肿瘤发生发展的影响，为恶性乳腺癌的临床治疗提供了新的思路。**


CANCER RESEARCH

Home About Articles For Authors Alerts News COVID-19 Webinars Search Q

Molecular Cell Biology

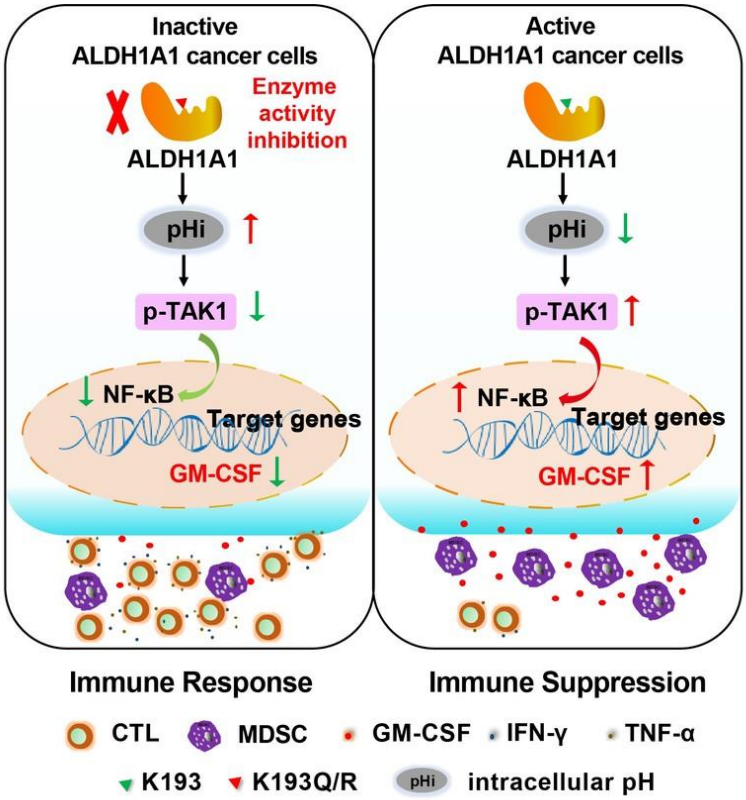
ALDH1A1 Activity in Tumor-Initiating Cells Remodels Myeloid-Derived Suppressor Cells to Promote Breast Cancer Progression

Cuicui Liu, Jiankun Qiang, Qiaodan Deng, Jie Xia, Lu Deng, Lei Zhou, Dong Wang, Xueyan He, Ying Liu, Botao Zhao, Jinhui Lv, Zuoren Yu, Qun-Ying Lei, Zhi-Ming Shao, Xiao-Yong Zhang, Lixing Zhang, and Suling Liu

DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-21-1337 Published December 2021 Check for updates

为了解析 ALDH1A1 对乳腺癌免疫微环境的重塑作用，作者构建过表达了野生型 ALDH1A1（有酶活）和 K193Q/R 突变体（无酶活）的三阴性乳腺癌稳定细胞株，通过体外细胞增殖功能试验及体内乳腺原位移植瘤试验发现，ALDH1A1 依赖于其醛脱氢酶活性发挥对 BCSC 自我更新以及肿瘤生长的促进作用。免疫细胞染色和流式细胞分析结果显示，ALDH1A1 依赖酶活促进了肿瘤微环境中 MDSCs 的富集，进而 MDSCs 抑制了 CD8+ T 细胞免疫活性以促进肿瘤的生长；而且，抑制 ALDH1A1 酶活性及敲低其表达都展示出了相反的效果。由于 CSCs 的低增殖率和对免疫介导的杀伤的高抗性，当大量普通肿瘤细胞被免疫系统清除时，CSCs 仍然可以逃避免疫系统的损害，而在这个免疫逃逸的过程中，除了肿瘤干细胞异质性和遗传变异的持续增加，肿瘤免疫微环境的改变也发挥了不可或缺的作用；本研究发现了 BCSC 生物标志物 ALDH1A1 对 MDSCs 和活性 CD8+T 细胞的调控作用。

机制上，他们发现 ALDH1A1 依赖其酶活降低肿瘤细胞内的 pH 值，进而激活 TAK1-NFkB 信号通路，使得肿瘤细胞中粒细胞巨噬细胞刺激因子（GM-CSF）分泌增加，继而诱导肿瘤微环境中 MDSCs 的增加，MDSCs 的增加最终抑制了 CD8+ T 细胞的抗肿瘤免疫活性以促进乳腺肿瘤生长。



针对 ALDH1A1 发挥促进乳腺癌的具体机制，他们设计了一种联合治疗策略以更高效的靶向治疗恶性乳腺癌。他们使用可以清除 MDSCs 的化疗药物吉西他滨和抑制 ALDH1A1 酶活的抑制剂双硫仑，单独或联合处理免疫功能健全的小鼠乳腺原位移植瘤及免疫缺陷的人源乳腺肿瘤移植瘤（PDX）小鼠模型。结果显示，联合治疗效果优于任何一个单药治疗效果，联合使用具有更好的抗肿瘤作用，更有效地抑制乳腺肿瘤的生长；同时，联合治疗可以更好地抑制肿瘤组织中 ALDH＋ BCSCs 和免疫微环境中 MDSCs 的浸润。

总体上，**本研究发现 ALDH1A1 依赖于酶活性降低乳腺肿瘤细胞内 pHi 以激活 TAK1-NFkB 信号通路，进而导致 GM-CSF 分泌增加，诱导 MDSC 扩增并降低抗肿瘤免疫，从而促进乳腺肿瘤的发展。**这些研究结果帮助我们更好的阐明了 BCSC 标志物 ALDH1A1 对乳腺癌发生发展的影响及其具体分子机制，为证明具有 ALDH 酶活的 BCSC 和 MDSCs 互作提供了直接证据，为乳腺癌的临床治疗提供了新的有效治疗靶点。论文一发表，Lorenzo Galluzzi 等人在 *Trends in Immunity* 杂志上以 *"MDSCs sneak CSCs out of immune-surveillance"* 为题对他们的工作进行了全文评述，给予很高的评价，**认为这项研究为打破 CSCs 招募 MDSCs，MDSCs 反过来促进 CSCs 干性的恶性循环提供了新的视角，打破这种恶性循环可以重塑机体对 CSCs 的免疫监视，从而控制肿瘤的进展。**

复旦大学附属肿瘤医院博士研究生刘翠翠为论文第一作者；复旦大学生物医学研究院/附属肿瘤医院柳素玲教授，复旦大学附属肿瘤医院张立行副研究员，复旦大学脑科学研究院张孝勇教授和复旦大学附属肿瘤医院邵志敏教授为本文的共同通讯作者。

原文链接：

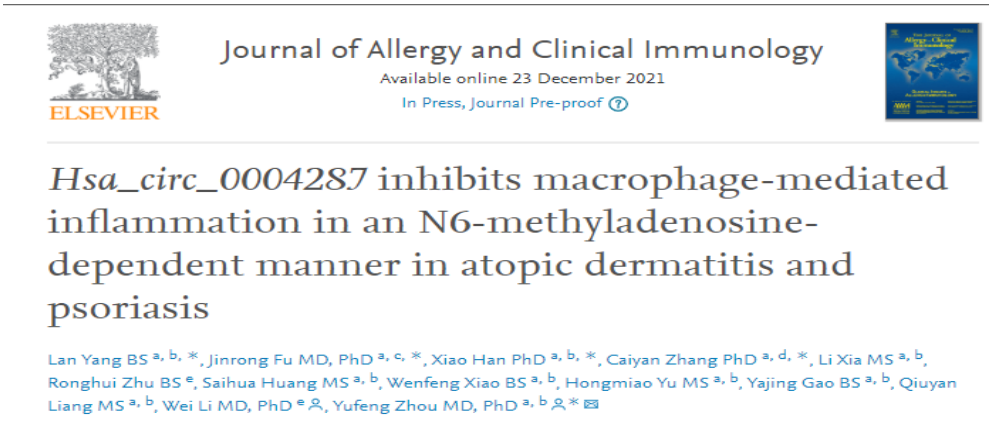
https://cancerres.aacrjournals.org/content/81/23/5919.short?casa_token=pPNLisAmSu8AAAAA:6PvaWH1_YEmyHq3KOUiqvLh16lMuuKYMLd9N9M_lHeG36BSphGOxN9ziIlMk-2Idi6jdp9Pj6bv8aalXpw#

周玉峰团队在《Journal of Allergy and Clinical Immunology》首次揭示环状 RNA 在过敏性皮炎和银屑病中的功能及调控机制

过敏性皮炎（atopic dermatitis，AD）也称特应性皮炎，是一种慢性复发性的皮肤炎症性疾病，发病率在儿童中高达 20-30%，成人为 3-10%。主要临床表现为皮肤屏障功能受损、瘙痒和慢性皮肤炎症。AD 的病因复杂，病情迁延不愈，极大地影响了患者的生活质量。近年来的研究表明除遗传因素外，环境和表观遗传学因素也在一定程度上影响着 AD 的发病过程。此外，“过敏性进程”理论揭示婴幼儿期的 AD 有可能随着病程的迁延，逐渐演变为哮喘、过敏性鼻炎等其他过敏性疾病。因此，早期治疗 AD 对切断过敏进程具有十分重要的意义。

银屑病，俗称牛皮癣，是一种自身免疫性的皮肤炎症性疾病，发病率为 2-3%。临床表现以红斑，鳞屑为主。银屑病不仅是一种皮肤病，更是一种系统性的疾病，常伴随银屑病关节炎等多种疾病的发生。尽管银屑病和过敏性皮炎的发病机制不同，但皮肤炎性浸润是二者共同的病理特征。

环状 RNA（circRNA）是近年来非编码 RNA 领域的研究热点，也是一种新兴的表观遗传学调控方式，被报道参与多种疾病的发生发展。然而目前 circRNA 在 AD 和银屑病中的作用还尚未报道。2021 年 12 月 23 日，我院**周玉峰**团队在过敏科学领域期刊 *Journal of Allergy and Clinical Immunology* 杂志上在线发表了一篇题为“*Hsa_circ_0004287 inhibits macrophage-mediated inflammation in an N6-methyladenosine-dependent manner in atopic dermatitis and psoriasis*”的论文，**首次揭示了 circRNA 在过敏性皮炎及银屑病中的功能及调控机制。**



作者首先对 AD 病人的外周血单个核细胞（PBMC）进行 circRNA 芯片分析，筛选出在 AD 病人中显著上调的 hsa_circ_0004287 分子，进一步的研究发现炎症条件下 hsa_circ_0004287 分子主要来源于巨噬细胞，并且 hsa_circ_0004287 表达水平与 AD 病人 IL-6、TNF-α 等炎症介质的表达水平以及 SCORAD 评分呈现明显负相关，提示 hsa_circ_0004287 可能在 AD 中发挥抑炎的作用（图 1）。

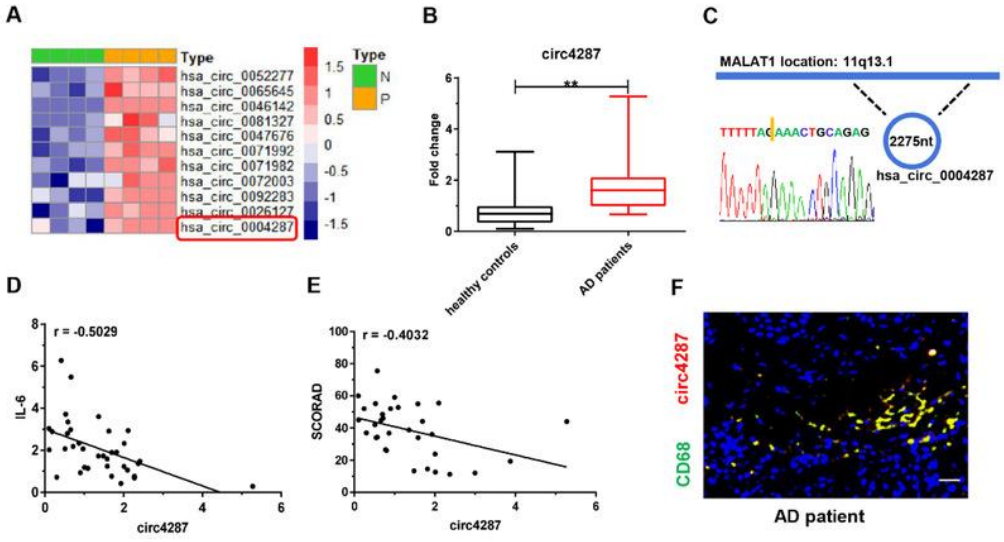


图 1. AD 病人 PBMC 中 hsa_circ_0004287 表达上调且与 IL-6 及 SCORAD 呈现负相关

紧接着，作者分别构建了卡泊三醇（MC903）和 2，4-二硝基氯苯（DNCB）诱导的小鼠急性和慢性皮炎模型，然后将 hsa_circ_0004287 过表达质粒借助体内转染试剂局部涂抹至小鼠皮肤，结果表明局部应用 hsa_circ_0004287 质粒明显改善小鼠的皮肤炎症。为了进一步明确 hsa_circ_0004287 的治疗作用是通过巨噬细胞发挥的，作者又构建了巨噬细胞特异性过表达的 hsa_circ_0004287 质粒，发现局部涂抹巨噬细胞特异性过表达的 hsa_circ_0004287 质粒同样具有缓解炎症的作用（图 2）。

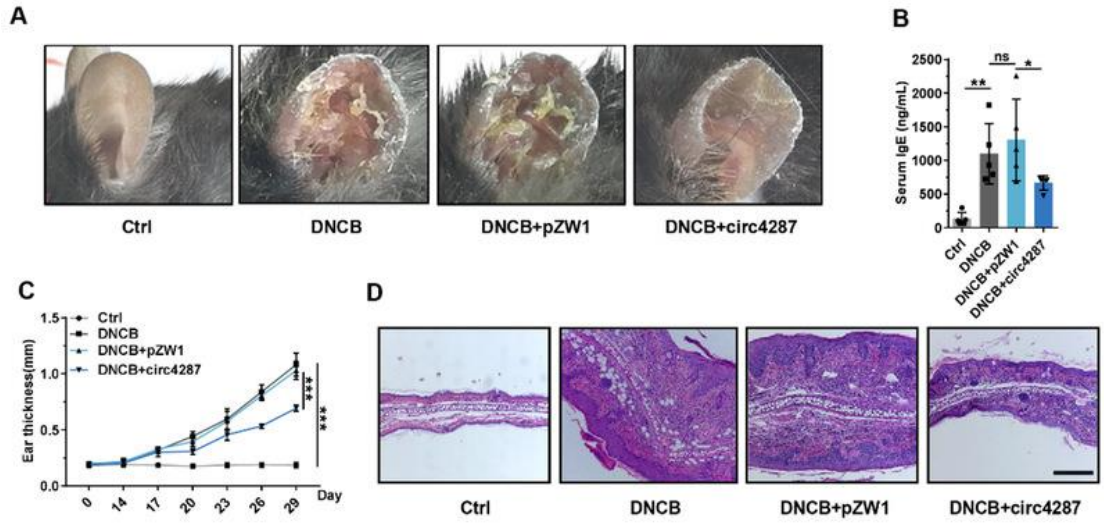


图 2. 局部涂抹 hsa_circ_0004287 过表达质粒明显改善 DNCB 诱导的小鼠皮炎症状

进一步，作者通过在 THP1 来源的巨噬细胞、Raw264.7 以及小鼠骨髓来源的巨噬细胞（BMDM）中敲低和过表达 hsa_circ_0004287，证明 hsa_circ_0004287 能够抑制 LPS 诱导的巨噬细胞 M1 活化。机制研究表明定位于细胞核内的 hsa_circ_0004287 通过与其母本基因 MALAT1 竞争结合 IGF2BP3 蛋白促进了 MALAT1 的降解；而 IGF2BP3 这一经典的 m6A reader 蛋白，可以通过识别 MALAT1 上的 m6A 位点增加 MALAT1 的稳定性。以往的研究表明 S100A8 和 S100A9 蛋白在 AD 和银屑病病人的皮损中显著高表达，其主要通过被分泌至胞外作为 TLR4 配体参与炎症过程。而该研究首次发现 MALAT1 可以抑制 S100A8/S100A9 的泛素-蛋白酶体降解途径，从而促进其下游的 p38/MAPK 通路以及 M1 型巨噬细胞的活化，揭示了 S100A8/S100A9 在细胞核内的促炎功能。除此之外，研究人员还发现炎症条件下 FUS 和 EIF4A3 蛋白在上游协调调控 hsa_circ_0004287 的生成（图 3）。

最后，作者发现银屑病病人 PBMC 中 hsa_circ_0004287 的表达也上调，局部应用巨噬细胞特异性的 hsa_circ_0004287 过表达质粒同样可以改善咪喹莫特（IMQ）诱导的小鼠银屑病症状。

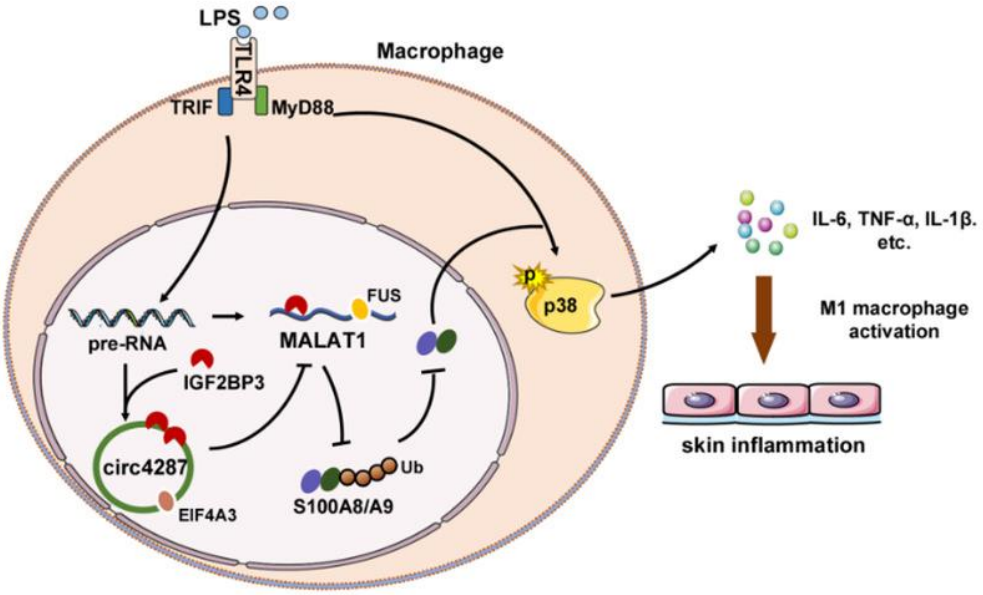


图 3. hsa_circ_0004287 的作用模式图

该研究首次发现了 hsa_circ_0004287-IGF2BP3-MALAT1-S100A8/S100A9 轴在 M1 型巨噬细胞活化及 AD 和银屑病中的作用；首次从 circRNA 和 m6A 修饰两个层面揭示了表观遗传学因素在皮肤炎症性疾病中的角色，为 AD 和银屑病的发病机制研究和临床治疗提供了新的思路。

复旦大学生物医学研究院博士研究生杨兰、附属儿科医院付劲蓉主治医师、副研究员韩晓和助理研究员张彩艳为该文的共同第一作者；周玉峰研究员和附属华山医院皮肤科李巍教授为共同通讯作者。

原文链接：

https://doi.org/10.1016/j.jaci.2021.11.024

徐建青教授团队与合作者报道植物乳杆菌冠克株与新冠疫苗联用可显著提升并维持疫苗接种后抗新冠免疫应答

接种新型冠状病毒（SARS-CoV-2）疫苗是预防和阻断新冠病毒传播的关键手段。国内外众多研究表明，接种新冠疫苗者的血清抗体均存在下降迅速，维持时间短的问题，从而影响疫苗对接种人群的免疫保护效果。因此，提高并维持 SARS-CoV-2 疫苗接种者的免疫应答水平成为我国与国际上新冠病毒防控亟需解决的一个关键问题。

2021 年 12 月 22 日，我院**徐建青**教授团队与中国疾病预防控制中心徐建国院士开展合作研究，在 *Frontier In Nutrition* 在线发表题为*“Boosting vaccine-elicited respiratory mucosal and systemic COVID-19 immunity in mice with the oral Lactobacillus plantarum”*的研究论文。

Boosting Vaccine-Elicited Respiratory Mucosal and Systemic COVID-19 Immunity in Mice With the Oral *Lactobacillus plantarum*

Jianqing Xu[1,2†], Zhihong Ren[2,3†], Kangli Cao[1†], Xianping Li[3], Jing Yang[3], Xuelian Luo[3], Lingyan Zhu[2], Xiangwei Wang[2], Longfei Ding[2], Junrong Liang[3], Dong Jin[3], Tingting Yuan[2], Lianfeng Li[2] and Jianguo Xu[3,4]*

[1] Zhongshan Hospital, Institutes of Biomedical Sciences, Shanghai Medical College, Fudan University, Shanghai, China, [2] Shanghai Public Health Clinical Center, Fudan University, Shanghai, China, [3] State Key Laboratory for Infectious Disease Prevention and Control, National Institute for Communicable Disease Control and Prevention, Chinese Center for Disease Control and Prevention, Research Units of Discovery of Unknown Bacteria and Function (2018 RU010), Chinese Academy of Medical Sciences, Beijing, China, [4] Institute of Public Health, Nankai University, Tianjing, China

该研究团队通过检测与监测植物乳杆菌 GUANKE 株对新冠疫苗免疫后小鼠的抗体水平与 T 细胞应答的影响，发现实验组小鼠 7 天后血清结合抗体水平比对照组增高 7 倍，中和抗体增高 2 倍；肺灌洗液中结合抗体和中和抗体均比对照组增高 10 倍；同时实验组小鼠的脾细胞和肺灌洗液细胞中的 T 细胞应答维持比对照组更为持久。该团队进一步对脾细胞和纵膈、肠系膜淋巴结及肠道组织进行转录组分析发现摄入该植物乳杆菌冠克株可显著促进机体的干扰素应答、抑制凋亡与炎症应答；促进 B 与 T 细胞的激活、增殖、分化和记忆等，这解释该菌为何能促进宿主免疫应答。

该植物乳杆菌分离自健康人粪便标本，属于国家卫生健康委员会颁布的“可用于食品的菌种名单”。该菌株携带任何抗生素耐药基因或毒力基因，大量食用对宿主不会导致任何组织病理损伤和异位定植。该菌株可应用于食用菌的产品研发，有望应用于疫苗接种人群后，可显著提升新冠疫苗的保护效果。同时，由于该冠克株具有显著的抑制炎症作用，而新冠的主要致病机制是通过促进炎症导致的，因而，该冠克株在新冠感染的临床治疗中亦可发挥重要作用。

原文链接：https://doi.org/10.3389/fnut.2021.789242

徐建青团队与合作者《Nature Immunology》揭示病毒特异性 CD4+ T 细胞免疫记忆维持新机制

免疫记忆是适应性免疫的标志性特征。适应性免疫的记忆能力，使得宿主能够在面对病原微生物的再次入侵时，发动机体内更迅速、更高效的免疫应答。记忆性 CD4 和 CD8 T 淋巴细胞共同协调构建了 T 细胞免疫，为机体提供长久有效的免疫保护。记忆性 T 细胞具有静息、长生命周期，以及对再次应答的高反应性等特征。记忆性 CD8 T 细胞能在机体内保持稳定的数目，维持更长的时间，而记忆性 CD4 T 细胞则表现出缓慢的、逐步减少的数量。近年来，CD8 T 细胞免疫记忆建立与维持的机制研究取得了长足的进展，而记忆性 CD4 T 细胞的长期维持机制

知之甚少。理解并探究 CD4 T 细胞免疫记忆的建立及长效维持机制是一项亟待深入的重要工作。

2021 年 12 月 23 日，我院**徐建青**教授与陆军军医大学的叶丽林教授团队以及暨南大学转化医学研究院尹芝南教授在 *Nature Immunology* 上发表题为 *The kinase complex mTORC2 promotes the longevity of virus-specific memory CD4+ T cells by preventing ferroptosis* 的研究论文，**该论文报道了 mTORC2 信号通过抑制铁死亡发生，促进记忆性 CD4 T 细胞长效维持的新机制。**

nature immunology

ARTICLES

https://doi.org/10.1038/s41590-021-01090-1

Check for updates

The kinase complex mTORC2 promotes the longevity of virus-specific memory CD4+ T cells by preventing ferroptosis

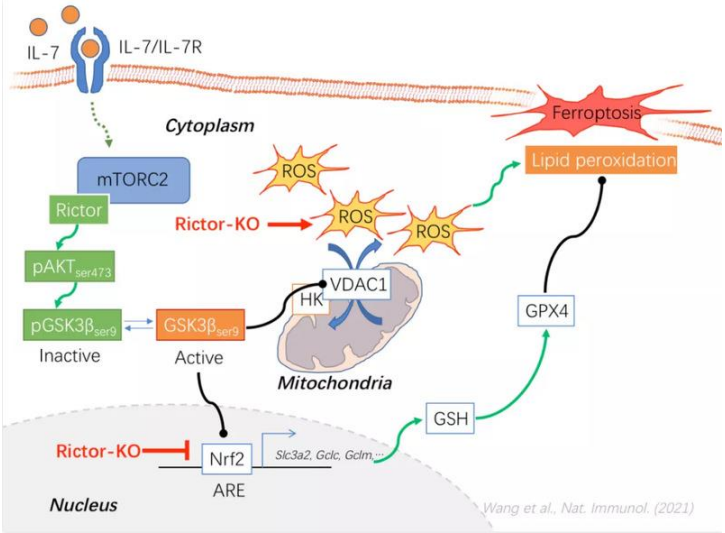
Yifei Wang[1,2,8], Qin Tian[3,8], Yaxing Hao[3,8], Wei Yao[3], Jinjin Lu[1,3], Cheng Chen[3], Xiangyu Chen[1], Yao Lin[3], Qizhao Huang[1,4], Lifan Xu[3], Jianjun Hu[3], Shun Lei[3], Zhengping Wei[3], Yuan Luo[3], Zhirong Li[3], Li Hu[3], Jianfang Tang[3], Qing Wu[3], Xinyuan Zhou[3], Yuzhang Wu[3], Zhinan Yin[5,6]✉, Jianqing Xu[7]✉ and Lilin Ye[3]✉

研究人员首先通过淋巴细胞脉络丛脑膜炎病毒（LCMV）建立急性病毒感染，结合骨髓嵌合模型（BMC），在记忆性 CD4 T 细胞建立阶段（Day21）以及维持阶段(Day 41)，通过敲除 Rictor 基因来阻断 mTORC2 信号，发现 mTORC2 信号受阻会导致病毒特异性记忆性 CD4 T 细胞显著减少。同时，LCMV 病毒特异性 CD4 T 细胞 SMARTA 细胞的过继转移模型结合 mTOR 抑制剂（Torin1&Rapamycin）的应用，进一步验证了 mTORC2 信号为记忆性 CD4 T 细胞维持所必须。接下来，研究人员通过实验发现，mTORC2 信号受阻并未改变记忆性 CD4 T 细胞的增殖能力，却导致死亡的记忆性 CD4 T 细胞显著增多。这种死亡方式并非凋亡(apoptosis)、坏死(necroptosis)、焦亡（pyroptosis）等方式，而是近年来愈加受到关注的铁死亡（ferroptosis）。

铁死亡于 2012 年，由哥伦比亚大学的 Brent Stockwell 教授团队首次定义。铁死亡是一种因细胞生物膜上铁依赖性过氧化脂质过度积累导致的细胞死亡。铁死亡的发生是由多聚非不饱和脂肪酸（PUFA）过度氧化成为毒性的过氧化脂质（PL-PUFA-OOH），这一过程依赖于芬顿反应（Fenton reaction）提供的自由基（hydroxyl radicals），而细胞内芬顿反应的底物则主要来自于线粒体代谢产生活性氧(ROS)。本论文的研究者通过流式细胞术检测过氧化脂质(Bodipy C11)、GSEA 分析铁死亡通路的富集，以及透射电镜检测铁死亡形态学特征等多种手段，验证了铁死亡这一表型。同时，亲脂性过氧化羟自由基清除剂(α－Tocopherol)

或铁死亡特异性抑制剂（Liproxstatin-1）可够拯救 mTORC2 信号受阻导致的病毒特异性记忆性 CD4 T 细胞减少。并且，研究者通过对铁死亡通路关键酶 GPX4 的敲除和过表达实验，进一步证明了 mTORC2 缺陷情况下，记忆性 CD4 T 细胞死亡的主要形式为铁死亡。

机制上，研究人员发现记忆性 CD4 T 细胞在 IL-7/IL-7R 信号通路的影响下，维持着相对低但持续（tonic）的 mTORC2 信号活性。而这一 mTORC2-pAKTSer473-pGSK3βSer9 信号轴通过两条通路抑制记忆性 CD4 T 细胞铁死亡的发生。如下示意图所示：一方面，mTORC2-pAKTSer473-pGSK3βSer9 通过调节细胞质内调控己糖激酶（HK2）与线粒体膜上离子通道（VDAC）的结合，以维持线粒体正常功能、避免线粒体来源的 ROS 过度积累，进而抑制铁死亡的发生。另一方面，mTORC2-pAKTSer473-pGSK3βSer9 通过调控氧化应激通路中的关键因子 NRF2 的入核转录功能，进而保障 NRF2 下游参与维持 GPX4 酶活性的靶基因（slc3a2, gclc, gclm）的表达水平。其中，Slc3a2 编码的 SLC3A2 是胱氨酸与半胱氨酸转运的反向转运体 system xc-的关键亚基，为下游还原性谷胱甘肽（GSH）合成提供原料，Gclc 和 Gclm 编码的 GCLC 以及 GCLM 则为 GSH 合成的限速酶；而 GSH 与氧化型谷胱甘肽 (GSSG) 的互相转化为 GPX4 清除过度积累的过氧化脂质提供动力，是 GPX4 发挥其抗过氧化脂质酶活性的必要条件。



综上，**这一研究首次揭示了 mTORC2 通路在记忆性 CD4 T 细胞长效维持中的作用及机制，为研发长效疫苗，及针对机体内持续性存在的致病性 CD4 T 细胞制定治疗自身免疫疾病新策略，提供了全新的研究基础和思路。**

通讯作者为陆军军医大学全军免疫学研究所叶丽林教授、暨南大学转化医学研究院尹芝南教授和复旦大学生物医学研究院徐建青教授。

原文链接：https://doi.org/10.1038/s41590-021-01090-1

徐建青/张晓燕团队等研发了一款能同时抗新型冠状病毒及甲型流感病毒的超广谱疫苗

自 2019 年 12 月以来，导致严重急性呼吸综合征的新型冠状病毒（SARS-CoV-2）引发了 COVID-19 的全球大流行，迄今已导致超过 2.79 亿人感染。虽然全球已经有多款疫苗投入使用，但随着变异株的不断出现，疫苗防控效果也有不同程度的削弱，因此一款能同时抵御各种变异株的疫苗是目前所急需的。同时，新冠病毒的致病性与甲型流感越来越接近，若是能够研发一款同时对抗这两类呼吸道病毒的疫苗无疑将对公共卫生防疫与临床诊治均有重要意义。

2021 年 12 月 15 日，我院**徐建青/张晓燕**团队、天津医科大学周东明教授团队以及第二军医大学赵平教授团队联合在 *Journal of Virology*(JVI)杂志上发表了题为 *"A single vaccine protects against SARS-CoV-2 and influenza virus in mice"* 的文章。文章中介绍了一款能同时广谱抗新型冠状病毒及甲型流感病毒的疫苗。

为了能够构建一款同时抗新型冠状病毒及流感病毒的疫苗，作者采用新冠病毒的受体结合域（RBD）与 H7N9 血凝素的保守茎部区域（HA2）进行融合，并引入人铁蛋白(ferritin)进一步提高其免疫原性，随后将该融合免疫原(CoV/Flu)通过黑猩猩腺病毒 68 型（AdC68）进行表达（AdC68-CoV/Flu）。作者在小鼠体内验证了该疫苗的免疫原性，发现其能够诱导针对多种新冠病毒变异株的中和抗体，其中针对 Alpha 株与野生株的中和抗体滴度相似，而针对 Beta 株的中和抗体滴度相比于野生株也只轻微降低，远低于目前其他疫苗或康复者血清的下降水平。同时该疫苗在小鼠体内也能诱导较强的针对 RBD 的 T 细胞应答。在 SARS-CoV-2 攻毒模型中，疫苗组相比于对照组肺组织中的病毒载量下降了 3.7 Log，且肺组织病理明显好转，这也体现在了生存和体重上--在对照组全部死亡的情况下，疫苗组 100%存活。

针对流感病毒的数据显示，该疫苗在小鼠体内能诱导高水平的针对 H7 的抗体应答，且较强的针对 H3 的抗体应答。在随后的攻毒实验中，发现，疫苗对 H7N9 的致死性攻击有完全的保护、对 H3N2 的致病性攻击同样保护良好。

综上所述，AdC68-CoV/Flu 能够在小鼠体内同时提供针对 SARS-CoV-2 和甲型流感病毒的保护，为呼吸道疾病的广谱疫苗的研发开辟了新的思路。

原文链接：

https://journals.asm.org/doi/10.1128/JVI.01578-21

王前飞研究员学术报告（10 月 14 日）

第五届“枫华一作论坛”

复旦大学生物医学研究院
Institutes of Biomedical Sciences (IBS)
第五届
枫华一作论坛
地点：复旦大学枫林校区明道楼二楼多功能厅
时间：2021年10月28日 13:30-18:00
扫码报名
特邀嘉宾
刘聪
中国科学院上海有机化学研究所生物与化学交叉研究中心研究员，博士生导师
讲座主题：蛋白病理性聚集与帕金森病
一作嘉宾
钱鎏佳：西湖大学生命科学学院，Cell一作
徐文绮：复旦大学生物医学研究院 Nature 一作
周 阳：华东师范大学生命学院 Nature Biotechnology 一作
平玉奇：中国科学院上海药物研究所 Nature 一作
刘秀秀：中国科学院上海生物化学与细胞生物学研究所 Science一作
主办：复旦大学研究生院
复旦大学研工部
复旦大学上海医学院学工部
承办：复旦大学生物医学研究院
协办：复旦大学生物医学研究院研究生会

生物医学研究院（IBS）Department Talk 系列（王璐、谢佳颖）

生物医学研究院（IBS）Department Talk 系列（张海珠、黎琴）

任振华研究员学术报告（12 月 30 日）

复旦大学生物医学研究院

Institutes of Biomedical Sciences (IBS), Fudan University

邀 请 报 告

报告题目：The Next Generation of Cancer Immunotherapy

报告人：任振华 研究员

主持人：罗 敏 研究员

【任振华研究员简介】

任振华，2010年毕业于中国农业大学，获学士学位；2016年毕业于中国科学院生物物理研究所，获博士学位。2016-2021年在美国德州大学西南医学中心从事博士后研究。即将加入昌平国家实验室任研究员，主要研究方向是肿瘤免疫治疗，包括细胞因子治疗和抗体治疗。主要研究以第一或共第一作者发表于***Clinical Cancer Research***，***Cancer Cell***，***Science Translational Medicine***，***Cancer Discovery***等。近期重点关注细胞因子改造，抗体改造，抗体与细胞因子融合蛋白以及靶向肿瘤微环境的免疫治疗新策略的研究。

时 间：2021年12月30日（周四） 上午10: 30

地 点：复旦大学上海医学院2号科研楼A3-001

承办单位：上海市医学表观遗传学重点实验室