

生物医学研究院科研季刊

2019年第3季度

复旦大学生物医学研究院编

2019年9月30日

目 录

- 复旦温文玉组揭示 HECT 型 E3 连接酶的一种多锁酶活调控机制
- 复旦大学生物医学研究院徐彦辉课题组报道 ATM 激酶活性调节的分子机制
- 黄胜林/何祥火团队发现肿瘤特异转录本在肝癌中广泛表达及其意义
- 我院储以微老师荣获 2019 年复旦大学“钟扬式好老师”称号
- 国家重点研发计划“发育编程及其代谢调节”重点专项启动会召开

复旦温文玉组揭示 HECT 型 E3 连接酶的一种多锁酶活调控机制

泛素连接酶 E3 选择特异靶蛋白和位点，因而决定了泛素化修饰的特异性。HECT 型 E3 在多种生理过程中发挥重要作用，包括细胞周期进程、细胞增殖、自噬和炎症，其调节异常与癌症、免疫紊乱和神经系统病变等人类疾病密切相关，作为潜在的治疗靶标引起了广泛关注。HECT 型 E3 的 C 端含有特征的由 N/C 两个 lobe 组成的 HECT 结构域，能够接受从 E2 转移的泛素并随后将泛素转移至特定底物。基于不同的 N 端结构域，HECT 型 E3 可分为几个亚家族，其中最大的家族 Nedd4 有 9 个成员（WWP1 / 2, Nedd4 / 4L, Smurf1 / 2, NEDL1 / 2 和 Itch），其 N 端由一个负责亚细胞定位的 C2 结构域和 2-4 个负责底物识别的 WW 结构域组成。

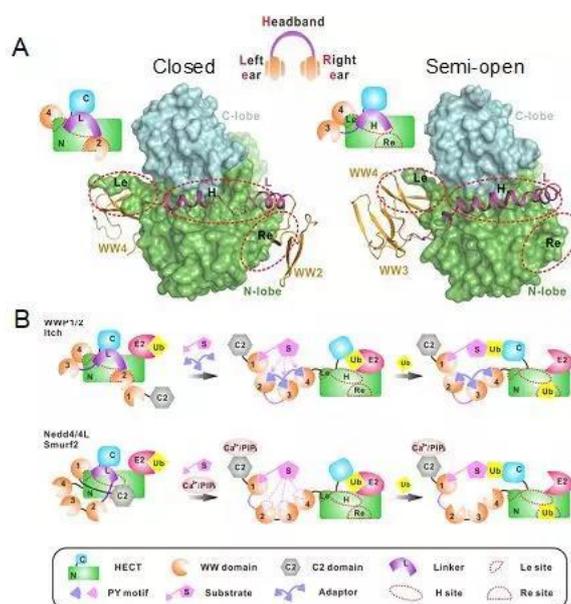
为了防止底物和自身过度泛素化，HECT 型 E3 通常利用分子内或分子间相互作用来抑制自身的活性。近期，Philip A. Cole 组（Mol Cell, 2017）与温文玉组（EMBO Rep, 2017; JBC, 2018）分别报道了 WWP2、Itch 及其果蝇同源蛋白 Su(dx) 的自抑制机制，结果表明 WW2 结构域及随后的一段 Linker（L）通过占据 HECT 上的泛素结合位点及限制 C-lobe 的自由度来抑制它们的活性。这种 WW2L 介导的自抑制可以通过 WW 结构域结合含多个 PY motif 的接头蛋白 Ndfip1、或 JNK1 介导的磷酸化、或者 L 的磷酸化来释放。然而许多问题仍然存在，如 HECT 类 E3 是否存在共同的调节机制？WW2L 是否参与调控其他 Nedd4 家族成员的活性？HECT 结构域是否存在其他的调控位点？

2019 年 7 月 18 日，复旦大学生物医学研究院/华山医院神经外科温文玉课题组在 Nature Communications 杂志上发表了题为“A multi-lock inhibitory mechanism for fine-tuning enzyme activities of the HECT family E3 ligases”

的研究工作，该研究揭示了 Nedd4 家族 E3 普遍采用一种可变的“多锁”抑制酶活性调控机制，拓展了对 HECT 类泛素连接酶活性调控的认识。



该研究解析了 WWP1 在完全抑制状态(2L34HECT)和部分激活状态(L34HECT)的晶体结构(下图)。结构分析表明, WW2, L 和 WW4 形成类似头戴式耳机的结构,其中 WW2 和 WW4 结合在 HECT N-Lobe 的两侧,而 L 形成 α -螺旋结合在 HECT 的 N-和 C-lobe 之间。WWP1 的 WW2L 结合 HECT 的模式与 WWP2/Itch 非常相似。有趣的是, HECT 的 N 端延伸序列占据了 WW4 结构域中的经典 PY motif 结合位点。这种多位点相互作用通过阻止 E2-E3 的泛素转移过程使 WWP1 保持在完全无活性状态,而 WWP1 众多癌症相关的突变使其转为半开放的构象从而增强了 WWP1 连接酶活性,并可能通过增加 Δ Np63 α 泛素化降解来促进肿瘤细胞迁移。



最后,研究表明这种多锁调节机制在 WWP2 和 Itch 中是保守的,而 Nedd4/4L 和 Smurf2 使用略有不同的多锁抑制机制。总体而言,该研究揭示了 HECT 家族泛素连接酶多样的调控机制。除了先前报道的“Re”和“H”位点,它们分别负责结合 WW2 (WWP2 和 Itch) 或 C2 (Smurf2 和 Nedd4 / 4L) 和 L (WWP2 和 Itch),该研究发现了 HECT 上一个新的“Le”调控位点。通过“Re” / “H”或“Le” / “H”双位点结合, Nedd4 E3 可以保持部分激活状态;当“Re”, “H”和“Le”位点全部被占据时(即多锁调控), Nedd4 E3 处于完全自抑制状态。

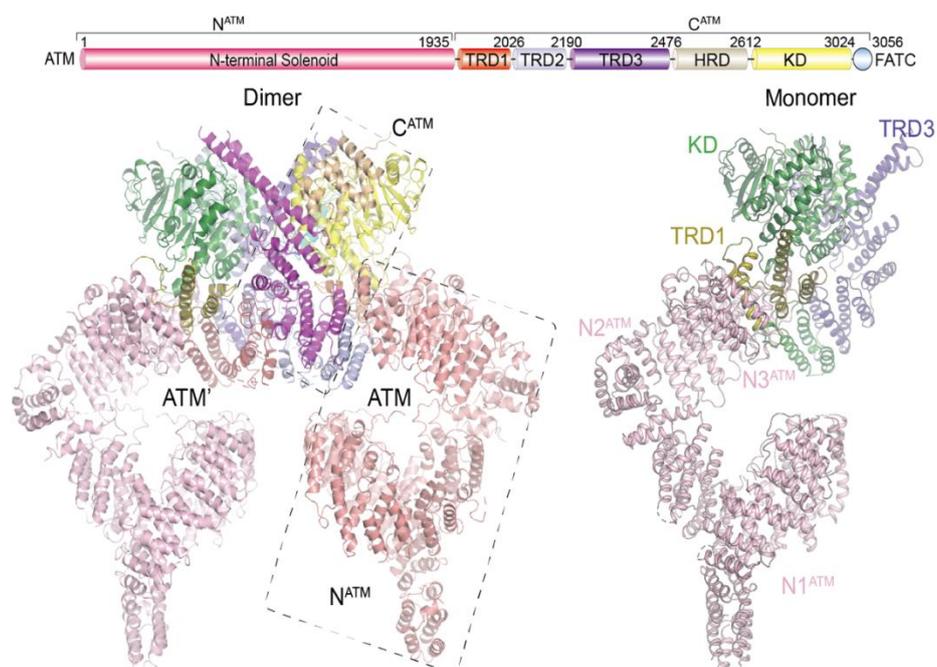
这种多层调节机制可以使 Nedd4 E3 表现出不同的活性，从而更精确地调控细胞的各种生理进程。在这些调节位点处的翻译后修饰或激动剂的结合可以使这些 E3 处于部分或完全活性状态。然而，这些位点的病理性突变则会引起 E3 酶活性的错误调节从而导致许多疾病，如癌症。该研究为理解这些病理性突变提供了可能的分子机制。

温文玉题组的王振和刘子亨博士为该论文的共同第一作者；温文玉研究员为该论文的通讯作者。

复旦大学生物医学研究院徐彦辉课题组报道 ATM 激酶活性调节的分子机制

DNA 损伤 (DNA damage) 是导致基因组不稳定，细胞癌变或凋亡的重要来源。ATM (ataxia telangiectasia-mutated) 是 DNA 损伤修复过程中的关键的蛋白激酶，可以参与激活细胞周期、DNA 损伤修复、转录调节、免疫应答、中枢神经系统发育和代谢的下游通路。人体中 ATM 蛋白活性的缺失会导致多效性神经退行性疾病：共济失调毛细血管扩张症 (AT)，从而引发免疫系统缺陷，癌症易感易发，早衰和胰岛素抵抗型糖尿病。ATM 的功能研究已经有 20 余年，但目前对其激活机制依旧存在很大争议，阻碍了对 DNA 损伤修复机制的充分理解。

徐彦辉课题组利用冷冻电镜单颗粒重构方法，分别解析了 4.3 埃分辨率的二聚体非激活状态和 7.8 埃分辨率的单体激活状态的 ATM 蛋白结构 (下图)，并通过生化分析阐明了在 DNA 双链断裂发生后 ATM 被激活的分子机制。该项工作于 7 月 18 日以 Structural Insights into the Activation of ATM Kinase 为题在线发表于《Cell Research》(细胞研究) 杂志上。



来自徐彦辉课题组的研究人员使用蛋白纯化技术成功分离出单体和二聚状态的 ATM 蛋白，通过结构和生化水平的分析，发现 ATM 二聚体在 DNA 双链断裂损伤后转化为单体状态，使催化位点的自抑制被解除，活性区域的“口袋”张开，从而转化为具有高激酶活性的激活状态。此外，该项研究还发现 DNA 末端可以强烈地激活 ATM 的活性，表明 ATM 的激活是由蛋白构象变化和 DNA 损伤末端共同调节的。上述研究为更好地理解 DNA 损伤修复机制提供了一定的基础。

该项工作由复旦大学徐彦辉课题组与英国 Electron Bio-Imaging Centre 合作完成，肖健雄，刘梦杰，戚轶伦，Yuriy Chaban 和高超为本文共同第一作者，徐彦辉研究员为本文通讯作者。

黄胜林/何祥火团队发现肿瘤特异转录本在肝癌中广泛表达及其意义

恶性肿瘤是目前危害人类健康最严重的一类疾病。鉴定肿瘤特异分子对研究肿瘤发病机制以及肿瘤诊断和治疗都具有极其重要的价值。目前对肿瘤特异分子的研究和发现主要集中于肿瘤基因组 DNA 突变，以及由于肿瘤基因组异位导致的融合基因。然而，很多肿瘤的 DNA 突变频率不高，融合转录本只在少数肿瘤中被验证。深度 RNA 测序已经从一个崭新的视角展现了人类转录组的多样性和复杂性 [1-2]。恶性肿瘤是一种具有高度异质性的复杂疾病，表观遗传和转录加工的异常改变，使得它形成了更加复杂的转录组 [3]。因此，肿瘤中可能存在着正常组织中不表达的特异转录本，目前对这些潜在肿瘤特异转录本 (tumor-specific transcript, TST) 的鉴定和功能机制还有待研究和探索。

近日，我院黄胜林/何祥火团队在 Hepatology 上发表文章

“Tumor-specific Transcripts are Frequently Expressed in Hepatocellular Carcinoma with Clinical Implication and Potential Function”，发现肿瘤特异转录本在肝癌中广泛存在，并且具有重要的临床意义和潜在功能。

HEPATOLOGY



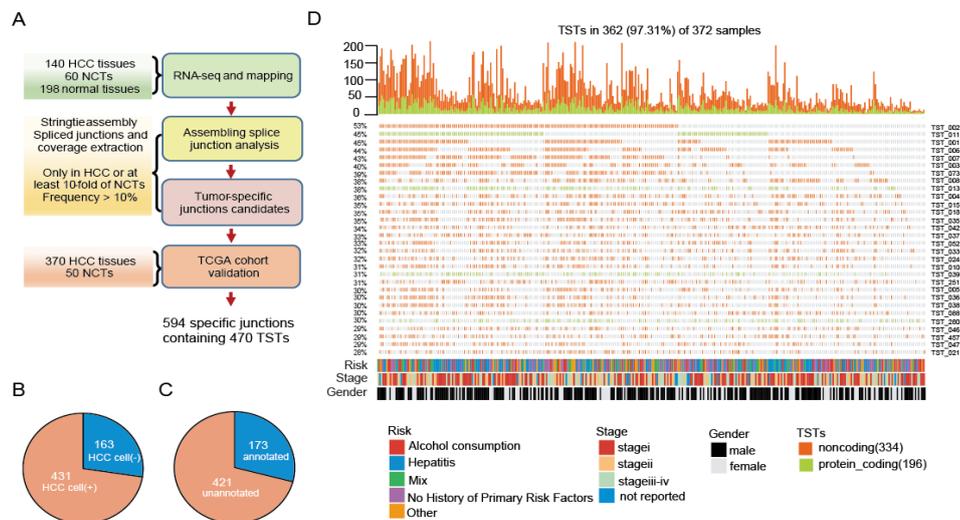
HEPATOLOGY, VOL. 0, NO. 0, 2019

Tumor-Specific Transcripts Are Frequently Expressed in Hepatocellular Carcinoma With Clinical Implication and Potential Function

Qiupeng Zheng,^{1,2*} Jingjing Zhao,^{1*} Hui Yu,^{2,4} Huajie Zong,² Xigan He,^{2,3} Yiming Zhao,^{2,3} Yan Li,^{1,2} Yu Wang,¹ Yichao Bao,¹ Yuchen Li,^{1,2} Bing Chen,^{1,2} Weijie Guo,^{1,2} Yilin Wang,^{2,3} Zhiao Chen,^{1,2} Yingjun Zhao,^{1,2} Lu Wang,^{2,3} Xianghuo He^{1,2} and Shenglin Huang^{1,2}

该研究采用一种自主研发的识别 RNA 剪切位点的分析和定量方法 (Assembling Splice Junctions Analysis, ASJA; <https://github.com/HuangLab-Fudan/ASJA>) [4]，可高效获得 RNA 测序数据中

的全部剪切位点和表达信息，并进行大样本处理和比较分析。通过该方法，整合分析了近千个正常组织和肝癌组织的 RNA 测序数据，发现肝癌中存在数百个特异转录本（TSTs），超过一半是未被注释的新转录本和非编码 RNA。许多 TSTs 存在于基因间（基因组暗区），由携带长末端重复序列 LTR 元件的新转录起始位点产生。肝癌病人可分为 TST-high 和 TST-low 两种分子亚型，TST-high 亚型增殖和干性能力强，病人预后差。功能筛选揭示了一个新的非编码 TST（称为 TST1），可调控肝癌细胞的增殖和成瘤能力。TST1 由受 DNA 甲基化和视黄酸相关药物调节的 LTR12C 启动子产生，视黄酸能够显著抑制 TST1 的表达并提示在 TST1 表达肝癌病人中的应用。此外，在肝癌患者的血浆中外囊泡中也能检测到 TSTs 的表达，提示潜在的诊断价值。



值得注意的是，该研究团队在 2018 年 Cell Reports 也报道了一个癌基因 LIN28B 全新的转录本 LIN28B-TST，在肝癌、肺癌等多种癌症中特异表达，阐明了 LIN28B-TST 在癌症中激活的表观调控机制，并揭示 LIN28B-TST 作为癌症治疗靶点的潜在价值[5]。肿瘤特异转录本的发现为研究癌症发病机制开拓了全新思路，为癌症的诊断和治疗提供新的靶点，具有重要的科学价值和临床应用前景。该论文通讯作者是我院的黄胜林研究员和何祥火研究员，以及附属肿瘤医院王鲁主任，研究助理郑秋鹏博士和硕士研究生赵晶晶为该论文的第一作者。

我院储以微老师荣获 2019 年复旦大学“钟扬式好老师”称号



9月9日下午，复旦大学庆祝新中国成立70周年暨2019年教师节表彰大会在光华楼举行，大会授予我院储以微老师“钟扬式好老师”称号。校党委书记焦扬出席大会并讲话，校长许宁生，校党委副书记袁正宏、尹冬梅，副校长陈志敏等校党政领导及上海医学院党政领导，各院系部处相关负责人，复旦大学2019年“钟扬式”好老师、“钟扬式”好团队获得者，从教30年教师代表，新入职教师代表，老教师、老同志代表等400余人出席大会。大会由袁正宏主持。

2019年“钟扬式”好老师	
院系	姓名
外国语言文学学院	万江波
哲学学院	郑召利
法学院	王伟
数学科学学院	郭坤宇
物理学系	周磊
信息科学与工程学院	郭睿倩
材料科学系	李劲
生命科学学院	鲁伯坝
生物医学研究院	储以微

储以微，生物医学研究院党委书记，免疫学教授，博士生导师，是上海医科大学与复旦大学共同培养的从学生、青年教师到教学经验丰富的一线教师，浸染于“严谨、求实、团结、创新”、“博学而笃志，切问而近思”的校训校风，秉承“正谊明道、为人群服务”的信念，从事一线教学30年，她治学严谨，创新教学方法，课堂效果突出，学生评价优秀。储以微老师更是因为教学任务，由我院杨芑原教授出席大会代为接受表彰，以实际行动书写“钟扬式”好老师的篇章。

国家重点研发计划“发育编程及其代谢调节”重点专项启动会召开

由复旦大学附属妇产科医院赵世民教授负责的国家重点研发计划“发育编程及其代谢调节”重点专项“组织器官发育中重要新型代谢物鉴定及其功能（项目号：2018YFA0800300）”，以及由复旦大学生物医学研究院徐薇副研究员负责的“核酸同型半胱氨酸修饰在胚胎发育编程的调节机理（项目号：2018YFA0801300）”项目联合启动会于2019年9月25日在复旦大学召开。



“发育编程及其代谢调节”重点专项的总体目标是针对生命体发育的编程和重编程及其代谢调节机制这一核心科学问题的国家级重大知识创新项目，以揭示发育与代谢疾病的发生机制和寻找诊治策略为出口开展的战略性和前瞻性基础和应用基础研究，目的在于增强我国发育与代谢研究的核心竞争力，在细胞谱系编程、组织器官间的发育偶联与对话机制、组织器官损伤修复的发育及代谢机制、营养与环境对发育和稳态的调控作用等研究方向发现一些重大规律，形成新的理论，揭示重要的发病机制，发现新的发育与代谢标志物和新靶点。同时，形成具有可持续创新能力的研究队伍，力争产生世界一流科学家。复旦大学所获得资助的这两个项目围绕代谢物的信号调控方向，研究代谢物失衡通过改变蛋白质和DNA性状的病理机制，是国际前沿研究领域。复旦大学在此领域居国际引领地位。

来自国家科技部、复旦大学、复旦大学附属妇产科医院、复旦大学生物医学研究院的领导，项目跟踪专家中科院动物所段恩奎研究员、项目指导专家组清华大学王志新院士等专家和项目骨干参加了启动会。与会专家对项目的研究目标、研究方案、组织方式和预期成果等进行了充分的讨论和指导，以保证项目在今后5年中的高质量实施。