

生物医学研究院科研季刊

2021 年第 2 季度

复旦大学生物医学研究院编

2021 年 6 月 30 日

目 录

- 徐彦辉团队《Science》长文揭示转录起始复合物识别启动子及动态组装的分子机制
- 王义平博士《Cell Metabolism》报道细胞代谢调控线粒体自身生物合成机制
- 黄胜林课题组《Advanced Science》和《Nucleic Acids Research》揭示环形 RNA 癌症特异表达和作用并构建 RNA 剪接位点数据库
- 徐彦辉团队《Science》长文揭示完整转录起始超级复合物结构与功能
- 顾宏周课题组《STAR Protocols》报道制备长单链 DNA 的生物法新策略
- 雷群英团队《Autophagy》报道 AHCYL1 可作为代谢物 SAH 的感受器
- 顾宏周课题组《Nucleic Acids Research》报道末端杂交结构促进 DNA 水解自切酶的试管内进化
- 徐彦辉团队的成果登上《Science》杂志封面
- 徐薇/赵世民合作团队《Nature Metabolism》报道营养物信号调控表观遗传新通路

徐彦辉团队《Science》长文揭示转录起始复合物识别启动子及动态组装的分子机制

以人类为代表的高等生物，进化出复杂的基因表达调控机制，利用同一套基因组遗传信息，分化出数百种不同的细胞类型，以应对复杂生长发育过程的需要。转录起始过程发生在几万种不同基因的高度多样化的启动子区。围绕这些启动子区，人体细胞产生极其复杂和精细的调控，如染色质重塑复合物 BAF/PBAF 剔除核小体暴露出启动子 DNA 使转录发生，组蛋白修饰和 DNA 甲基化修饰动态调控转录因子和转录共激活因子招募，3D 基因组背景下的增强子和启动子环化，及近期备受关注的液液相分离等。上述过程的综合结果都是导致抑制或不同程度的促进转录起始复合物在启动子区的组装及后续的转录激活，实现基因差异性表达，决定细胞的表型和发育过程。以转录为核心的异常造成一半以上的人类肿瘤

发生。因此，围绕启动子区转录起始过程的调控，是细胞体系内最为核心的生命过程之一，对其研究一直是生命科学的重大前沿课题。

为实现复杂的基因表达调控，人体细胞中进化出以 RNA 聚合酶 II (Pol II，以下简称聚合酶) 为核心的转录前起始复合物 (preinitiation complex, PIC)，识别几乎所有编码基因和大部分非编码基因的启动子区，响应各种转录调控信号，起始基因转录。数十年的研究提出，在 PIC 复合物的逐步组装过程中，转录因子 TFIID 首先识别基因的启动子，招募聚合酶 Pol II 和通用转录因子 TFIIA, TFIIB, TFIIF 组装形成核心 PIC (core PIC, cPIC)，进一步招募 TFIIE 形成中间态 PIC (intermediate PIC, mPIC)，招募 TFIIH 形成完整最终态 PIC (holo PIC, hPIC)。完整 PIC 包含 50 余个蛋白质，分子量达 2.6 MDa，具有高度的复杂性和动态性，对其进行结构解析一直是领域内的难题。其中 TFIID 复合物是最关键的因子，由 TATA 框结合蛋白 (TATA box-binding protein, TBP) 和 13 个 TBP-相关蛋白 (TBP-associated factor, TAF1-13) 所组成，分子量达到 1.3 MDa，识别启动子并参与整个 PIC 组装过程。

目前的教科书中对转录起始模型是 TBP 特异性识别并弯曲含有 TATA box 的启动子 (TATA box promoter)，招募聚合酶并组装 PIC 启动转录。然而，有超过 85% 的人类基因启动子不含有 TATA box，称为 TATA-less 启动子。并且几乎所有的基因转录过程都需要完整 TFIID 复合物，其功能并不能够被 TBP 所替代。因此，尽管已有大量基于 TBP 的 PIC 复合物结构研究，包含 TFIID 的完整 PIC 是如何在不同类型启动子上进行组装的，一直没有得到阐明。对于超过 85% 以上基因，转录起始是如何发生的，是转录领域长期未能解决的难题。

2021 年 4 月 1 日，我院徐彦辉课题组在 Science 杂志上在线发表了研究长文 (Research Article) “*Structural insights into preinitiation complex assembly on core promoters*” (《结构研究揭示转录前起始复合物识别启动子及动态组装机制》)。该项研究首次报道了包含 TFIID 的完整 PIC 结构，揭示了 PIC 如何识别不同类型启动子并完成多步组装的完整动态过程。

Science

Contents ▾News ▾Careers ▾Journals ▾

SHARE

RESEARCH ARTICLE



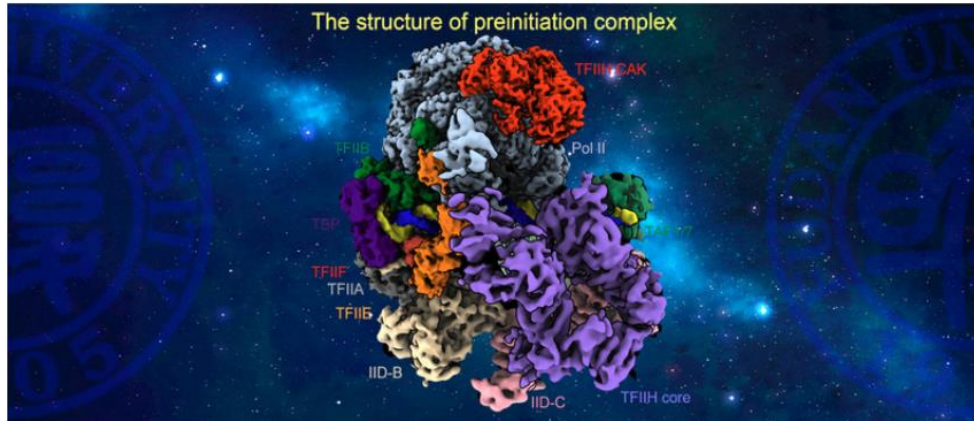
Structural insights into preinitiation complex assembly on core promoters

 Xizi Chen^{1,†},  Yilun Qi^{1,†},  Zihan Wu^{1,†},  Xinxin Wang^{1,†},  Jiabei Li^{1,†},  Dan Zhao^{1,†},  Haifeng Hou^{1,†},  Yan Li¹,  Zishuo Yu¹,  Weida Liu¹,  Mo Wang¹,  Yulei Ren¹,  Ze Li¹,  Huirong Yang¹,  Yanhui Xu^{1,2,3,*}

¹Fudan University Shanghai Cancer Center, Institutes of Biomedical Sciences, State Key Laboratory of Genetic Engineering and Shanghai Key Laboratory of Medical Epigenetics, Shanghai Medical College of Fudan University, Shanghai 200032, China.
²The International Co-laboratory of Medical Epigenetics and Metabolism, Ministry of Science and Technology, China, Department of Systems Biology for Medicine, School of Basic Medical Sciences, Shanghai Medical College of Fudan University, Shanghai 200032, China.
³Human Phenome Institute, Collaborative Innovation Center of Genetics and Development, School of Life Sciences, Fudan University, Shanghai 200433, China.

*Corresponding author. Email: xuyh@fudan.edu.cn
† These authors contributed equally to this work.
- Hide authors and affiliations

Science 01 Apr 2021:
eaba8490
DOI: 10.1126/science.aba8490

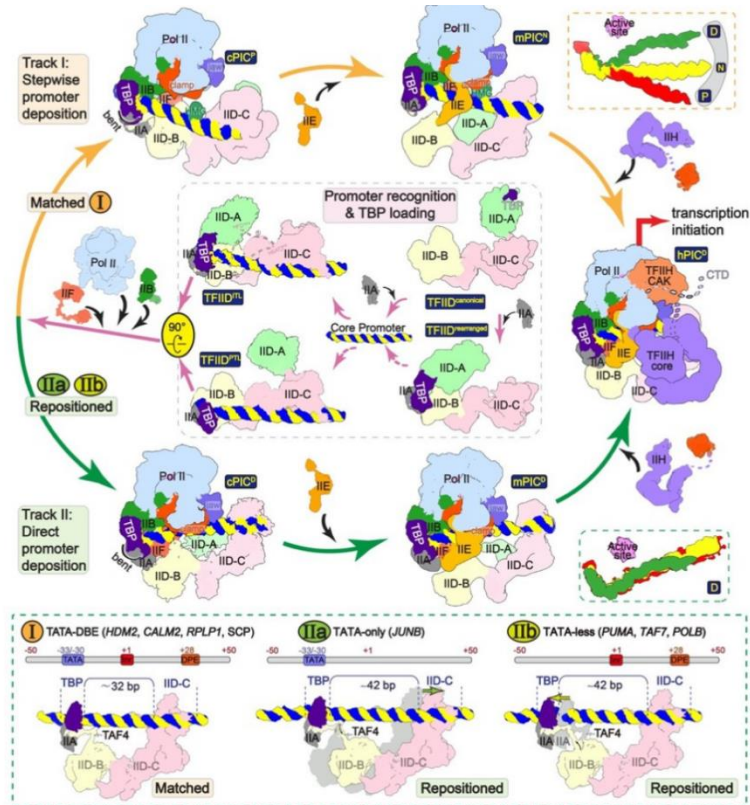


徐彦辉课题组经过多年努力，利用冷冻电镜方法，解析了 PIC 组装过程中所有关键组装步骤和状态的复合物结构。按组装先后顺序包括：单体状态 TFIID (14 种共 20 个蛋白，1.3 MDa) 两种构象，结合启动子的 TFIID 两种构象，核心 cPIC 复合物 (38 个蛋白多肽链，2.1 MDa) 两种构象，中间态 mPIC (40 个蛋白多肽链，2.2 MDa) 两种构象，完整状态 hPIC (50 个蛋白多肽链，2.6 MDa) 两种构象。为研究 PIC 对各种不同类型启动子的识别，研究人员在涵盖所有启动子类型 (三种) 的 8 个启动子及 5 个突变启动子上，组装 PIC 复合物并进行了结构分析。上述共 25 个复合物结构提供了 PIC 组装的不同阶段，不同功能状态，不同启动子类型的全覆盖结构信息。研究分析发现：

(1) TFIID 含有多个 DNA 结合区，具有较高的序列包容度，可识别各种不同类型的基因启动子。TFIID 招募聚合酶 Pol II 和通用转录因子逐步组装成完整 PIC 复合物。令人意外的是，尽管单独 TBP 仅弯折 TATA box 启动子 DNA，但是在 PIC 复合物中，TBP 以相同的方式弯折 TATA box (存在于~15%基因) 和 TATA-less (存在于~85%基因) 启动子，该过程依赖于 TFIID 的存在，因此在以往基于 TBP 的 PIC 研究中，无法观察到。这一发现颠覆了对 TBP 只结合 TATA box 的传统看法，很好解释了 PIC 组装和基因转录为何可发生在几乎所有基因的启动子上。

(2) 针对不同类型启动子，PIC 通过两种方式将启动子推动至聚合酶催化中心上方准备转录，提出“双路径启动子推动”模型 (two-track promoter deposition)。第一种为“三步到位”，既 PIC 组装过程产生 Park, Neutral, Drive 三种启动子构象逐步到位。第二种为“直接到位”，既在组装早期就形成 Drive 构象启动子并一直维持到组装完成。“三步到位”方式的功能有待进一步深入研究，可能的一个解释是作为激活基因表达的检查点，既所有因子都满足条件下才到达 Drive 位置，以避免非必要情况下的转录发生。

(3) 处于 Drive 构象的完整 PIC，为转录起始做好了两方面准备。CDK7 激酶磷酸化聚合酶的 C 端结构域 (CTD)，是转录起始的关键调控步骤。启动子到位后可通过 PIC 中解旋酶使模板链 DNA 进入聚合酶催化中心开始转录。TFIID 促进两种酶活性亚基在 PIC 中的正确定位。



图注：PIC 动态组装的模式图。TFIID 识别启动子（内圈）以及 PIC 对于不同启动子类型的两种组装方式（外圈）。P、N、D 分别代表 Park、Neutral 和 Drive 三种启动子构象。右图：三种复合物状态中启动子构象的比对（红色：cPIC，黄色：mPIC，绿色：hPIC）。下图：cPIC 组装过程中在启动子上 PIC 模块进行匹配（matched modular separation）和重定位（repositioned modular separation）过程模式图。模式图中的结构均来源于本研究工作。DBE：TFIID 结合模块（TFIID-binding element）

该工作是近年来转录领域的重要突破，在分子水平上展示了高度动态的转录起始过程，为后续研究基因表达调控奠定了理论基础。

据悉，复旦大学附属肿瘤医院助理研究员陈曦子（复旦大学生物医学研究院 2014 级博士生）、复旦大学生物医学研究院 2017 级博士生戚轶伦、2016 级博士生武子涵、2020 级博士生王鑫鑫、2016 级博士生李佳蓓、2017 级博士生赵丹、复旦大学附属肿瘤医院副研究员侯海峰为本文共同第一作者，徐彦辉为通讯作者。原文链接：

<https://science.sciencemag.org/content/early/2021/03/31/science.aba8490>

王义平博士《Cell Metabolism》报道细胞代谢调控线粒体自身生物合成机制

线粒体是细胞内一类非常重要的细胞器，具有独立于细胞核的遗传物质（mtDNA）及相应的基因转录和蛋白翻译系统。与此同时，线粒体也是细胞代谢

的重要区室，因其在能量代谢中的重要作用被称为“细胞的能量工厂”。线粒体代谢和生物合成异常在肿瘤、心血管疾病、神经退行性疾病、衰老等疾病的进程中具有关键的调控作用。线粒体量在细胞内被动态调节，并与细胞的代谢状态密切相关。目前对细胞如何感知营养状态调控核编码线粒体基因的表达已有较多认识，并鉴定出了以 PGC1 α 和 NRF2 为代表的多个核转录调控因子。线粒体基因组编码 13 个蛋白（均为电子传递链组分）、2 个核糖体 RNA（rRNA）和 22 个转运 RNA（tRNA）。线粒体如何根据自身代谢状态调控线粒体基因组编码基因的表达及相应的生物合成过程并未完全清楚。

线粒体代谢在细胞代谢网络中处于核心位置，三羧酸循环、氧化磷酸化、脂肪酸氧化、核苷酸合成、氨基酸代谢等均发生于线粒体。因此，线粒体是否可以感知自身代谢通路中特定代谢物的水平进而获知代谢状态并相应调控线粒体基因组依赖的生物合成，也就成为了非常有趣的生物学问题。另一方面，线粒体代谢不仅影响细胞代谢本身，也会通过调控表观遗传修饰和细胞信号转导参与肿瘤等多种疾病的发生发展。因此认识线粒体生物合成的代谢调控过程具有重要的临床意义。

以往的研究提示线粒体生物合成与其代谢状态是高度协调的。例如，美国德克萨斯大学达拉斯西南医学中心的 Ronald A. Butow 教授曾在 2005 的 Science 杂志报道，酵母细胞中三羧酸循环代谢酶顺乌头酸酶 ACO1 可结合线粒体 DNA 并维持其稳定性^[1]。2018 年美国普林斯顿大学化学系 Joshua D. Rabinowitz 教授和纽约大学医学院 Richard Possemato 教授分别在 Nature 和 Molecular Cell 杂志发表文章，报道了丝氨酸分解代谢中的丝氨酸羟甲基转移酶 2（SHMT2）可通过调控一碳单位代谢影响线粒体 tRNA 的甲基化和成熟过程，进而影响 tRNA 在线粒体蛋白翻译中的功能，调节蛋白合成速率^[2]。这些工作充分表明线粒体代谢与其自身生物合成具有密切的相关性。但是线粒体是否可以主动感知自身代谢状态进而调节生物合成速率仍未完全清楚。

我院青年研究员王义平前期研究发现了细胞核中调控线粒体生物合成的代谢感知通路：细胞通过 AMPK 能量感受器调控蛋白精氨酸甲基化酶 PRMT6 介导的 SIRT7 甲基化，组蛋白去乙酰化酶 SIRT7 被甲基化后活性降低，导致组蛋白 H3K18 乙酰化水平升高，进而特异性的促进细胞核中编码线粒体核糖体基因的表达。在哈佛大学 David Scadden 实验室交流学习期间，王义平博士对线粒体如何感知代谢状态调控生物合成展开了研究。2021 年 3 月 25 日，相关工作以“Malic enzyme 2 connects the Krebs cycle intermediate fumarate to mitochondrial biogenesis”为题发表在 Cell Metabolism 杂志上。

Article

Malic enzyme 2 connects the Krebs cycle intermediate fumarate to mitochondrial biogenesis

Yi-Ping Wang,^{1,2,3,4,5} Azeem Sharda,^{1,2,3} Shuang-Nian Xu,⁶ Nick van Gestel,^{1,2,3} Cheuk Him Man,^{1,2,3} Una Choi,¹ Wei Zhong Leong,^{1,2,3} Xi Li,⁶ and David T. Scadden^{1,2,3,7,*}

¹Department of Stem Cell and Regenerative Biology, Harvard University, Cambridge, MA 02138, USA

²Harvard Stem Cell Institute, Cambridge, MA 02138, USA

³Center for Regenerative Medicine, Massachusetts General Hospital, Boston, MA 02114, USA

⁴Fudan University Shanghai Cancer Center, Institutes of Biomedical Sciences, Key Laboratory of Breast Cancer in Shanghai, Cancer Institute, Shanghai Key Laboratory of Medical Epigenetics, Shanghai Medical College, Fudan University, Shanghai 20032, China

⁵Department of Oncology, Shanghai Medical College, Fudan University, Shanghai 20032, China

⁶Department of Hematology, Southwest Hospital, Army Medical University, Chongqing 400038, China

⁷Lead contact

*Correspondence: david_scadden@harvard.edu

<https://doi.org/10.1016/j.cmet.2021.03.003>

急性髓性白血病（AML）是一类高致死率的血液肿瘤。与正常外周血细胞相比，AML 细胞具有更多的线粒体且高度依赖线粒体呼吸。因此 AML 细胞是研究线粒体生物合成的绝佳模型。研究团队首先通过代谢物文库筛选发现，三羧酸循环代谢中间产物延胡索酸处理细胞后会导致 AML 细胞线粒体量明显上升。体内实验发现延胡索酸可以在多个器官中提高线粒体 DNA 的水平，并提高骨髓细胞的呼吸速率。进一步通过 shRNA 文库筛选转导延胡索酸信号的蛋白，发现敲低线粒体代谢酶苹果酸酶 ME2 后延胡索酸不能上调线粒体的量，提示 ME2 感知并转导延胡索酸信号。13C 标记延胡索酸示踪实验表明，ME2 的催化活力在 AML 细胞代谢中功能并不显著，因此推测 ME2 并不主要作为代谢酶而是作为延胡索酸信号转导蛋白发挥作用。进一步工作发现，延胡索酸可促进 ME2 由单体向二聚体转变。ME2 二聚体可以结合并激活线粒体内脱氧尿嘧啶三磷酸核苷水解酶（DUT），促进嘧啶合成从而上调 mtDNA。另一方面，由于线粒体基因组编码的蛋白均定位于线粒体内膜，在电子传递链中发挥功能，因此线粒体核糖体必须通过 MRPL45 蛋白锚定在线粒体内膜以保证蛋白合成后的正确定位。研究发现 ME2 单体可与 MRPL45 结合，进而阻碍其与线粒体内膜的结合，从而破坏线粒体核糖体的正确组装和蛋白合成。延胡索酸介导 ME2 聚合从而解除这种抑制作用，促进线粒体蛋白的合成和表达。进一步的研究表明，ME2 的延胡索酸结合位点受精氨酸甲基化修饰。蛋白精氨酸甲基化酶 PRMT1 可甲基化 ME2，抑制 ME2 对延胡索酸的识别和 ME2 聚合，从而抑制线粒体生物合成。在人源化的 AML 动物（NSG）模型和临床白血病样本中实验发现，ME2 介导的延胡索酸信号转导能够维持白血病细胞的恶性增殖，且在临床样本中处于激活状态。值得注意的是，在多种实体瘤细胞系中也发现延胡索酸以依赖 ME2 的方式上调 mtDNA 水平。这些证据充分说明延胡索酸介导的线粒体生物合成在白血病等肿瘤的发生发展中具有重要作用。干预延胡索酸信号转导可能产生新的抑癌靶点和策略。

王义平博士为该论文的第一作者，哈佛大学 David Scadden 教授为通讯作者，复旦大学生物医学研究院和附属肿瘤医院为合作单位。项目得到了复旦大学雷群英教授的指导和大力支持，中国人民解放军陆军军医大学西南医院副主任医

师徐双年博士为项目开展提供了重要支持。项目同时得到了上海交通大学医学院蔡蓉教授和美国希望之城国家医疗中心 Yanzhong Yang 教授的帮助。哈佛大学质谱中心、复旦大学-上海市重大疾病蛋白质组研究专业技术服务平台和上海交通大学医学院基础医学公共技术平台为该工作提供了技术支撑。

原文链接: <https://doi.org/10.1016/j.cmet.2021.03.003>

黄胜林课题组《Advanced Science》和《Nucleic Acids Research》揭示 环形 RNA 癌症特异表达和作用并构建 RNA 剪接位点数据库

RNA 剪接 (RNA splicing) 是真核生物 RNA 转录后加工的必要环节, 是导致转录组多样性和复杂性的关键步骤。不同的 RNA 剪接方式可产生不同类型的剪接位点, 包括线性剪接位点、反式剪接位点 (环形 RNA) 和融合位点 (融合基因)。因此, 一个基因往往可产生多种形式的转录本, 阐明转录本的具体信息, 是了解基因结构和功能机制的重要基础。其中, 环形 RNA 是一类具有特殊环状结构的 RNA 分子。目前研究表明, 环形 RNA 主要通过发挥 miRNA 海绵、蛋白结合以及翻译短肽等生物学功能, 可参与机体内各种生理和病理过程。大部分的环形 RNA 功能未知, 与宿主 mRNA 的表达、功能和调控关系也尚待解析。

2021 年 5 月 1 日, 我院黄胜林课题组在 Advanced Science 杂志上发表了题为 HNRNPL Circularizes ARHGAP35 to Produce An Oncogenic Protein 的文章, 发现了环形 RNA 与宿主 mRNA 在癌症组织中的异常表达模式, 阐明了环形 RNA circARHGAP35 与 ARHGAP35 mRNA 的相反表达和功能, 通过 m6a 修饰编码一个 1289aa 的大蛋白与转录因子 TFII-1 互作发挥促癌作用, 该研究揭示了环形 RNA 在肿瘤中的特异表达模式以及新的作用方式。

ADVANCED SCIENCE

Open Access

Full Paper |  Open Access |  

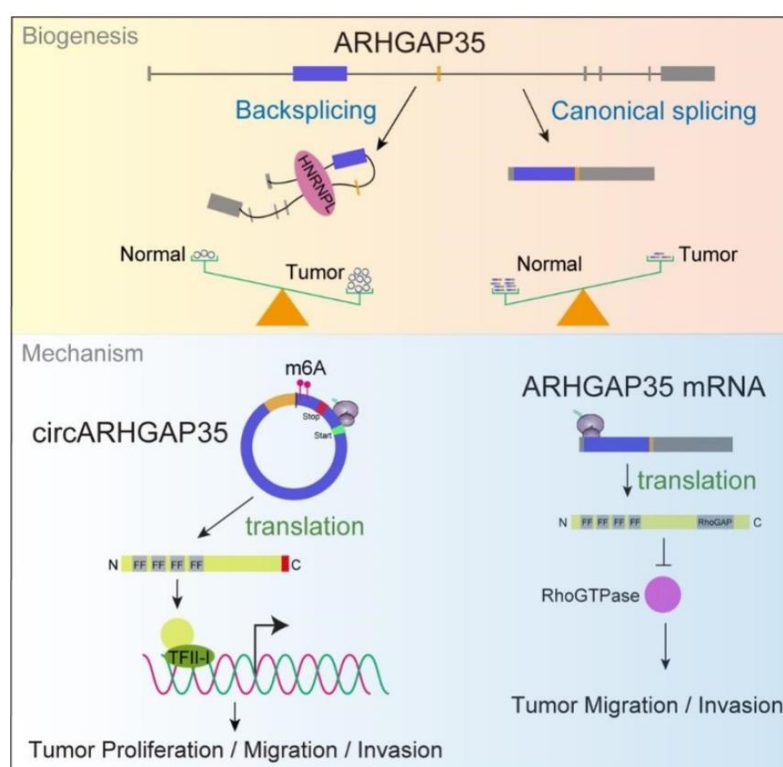
HNRNPL Circularizes ARHGAP35 to Produce an Oncogenic Protein

Yan Li, Bing Chen, Jingjing Zhao, Qin Li, Siyuan Chen, Tianan Guo, Yuchen Li, Hongyan Lai, Zhiao Chen, Zhiqiang Meng, Weijie Guo , Xianghuo He , Shenglin Huang 

First published: 01 May 2021 | <https://doi.org/10.1002/adv.202001701>

研究者首先通过对肝癌和配对正常组织进行去核糖体 RNA 测序和环形 RNA 分析, 发现环形 RNA 可区分癌和正常组织, 与宿主 mRNA 的表达关联, 鉴定了由抑癌基因 ARHGAP35 的第二、三号外显子共同组成的环形 RNA circARHGAP35, 在肝癌和结直肠癌的样本中高表达, 且和患者的不良预后显著相关, 而 ARHGAP35 mRNA 在癌组织的表达和预后与 circARHGAP35 相反。体内外的功能实验也显示

circARHGAP35 具有促癌细胞增殖和转移作用，而 ARHGAP35 则有抑癌作用。有趣的是，circARHGAP35 序列中包含一个 3,867 碱基的开放阅读框（Open Reading Frame, ORF），并在起始密码子附近含有多个 m6A 的修饰。经过报告载体和蛋白质质谱发现，circARHGAP35 编码了一个包含四个 FF 结构域，且缺少 Rho GAP 蛋白激酶结构域的截短蛋白。进一步发现 circARHGAP35 蛋白在细胞核中与 TFII-I 蛋白结合，发挥其促进肿瘤细胞增殖、迁移和侵袭的能力。通过对 RNA 结合蛋白的筛选，发现 HNRNPL 能促进 circARHGAP35 的生成，并验证了 HNRNPL 在 circARHGAP35 成环序列两侧的结合位点。该研究发现了 RNA 结合蛋白 HNRNPL 介导的环形 RNA circARHGAP35 在肿瘤中与宿主 mRNA 的异常表达模式，阐明了 circARHGAP35 通过编码一个 1289aa 的大蛋白，并在细胞核中与转录因子 TFII-I 结合，进而发挥促癌作用的全新机制。这项作为研究环形 RNA 在肿瘤中的表达规律和功能机制提供了新的思路，同时也揭示了肿瘤转录组的多样性和复杂性。



同时，黄胜林课题组近期还通过自主开发的 RNA 剪接位点识别程序 ASJA 等方法，针对近 1 万个肿瘤样本和 2 万个正常组织转录组，构建了一个包括三种 RNA 剪接位点的数据库 RJunBase (www.RJunBase.org)，展示了一个基因不同的剪接位点信息和表达情况，数据库包括约 68 万个线性剪接位点，22 万个反式剪接（环形）位点，以及 3 万个融合位点，并鉴定了约 3 万个肿瘤特异的剪接位点。该工作发表在 Nucleic Acids Research 杂志上。



以上研究工作主要由复旦大学生物医学研究院黄胜林课题组完成，Advanced Science 文章，李焱副研究员和博士研究生陈兵为共同第一作者，通讯作者还包括何祥火研究员和郭维杰博士；Nucleic Acids Research 文章，博士研究生黎琴和赖洪燕为共同第一作者，博士后胡治祥为共同通讯作者。

原文链接：

<https://doi.org/10.1002/adv.202001701>

徐彦辉团队《Science》长文揭示完整转录起始超级复合物结构与功能

发生在基因启动子区的转录起始过程是基因表达调控的核心，决定着细胞的命运，影响众多生理病理过程。以 RNA 聚合酶 II (Pol II) 为核心的转录前起始复合物 (preinitiation complex, PIC)，识别几乎所有编码基因和大部分非编码基因的启动子区，响应各种转录调控信号，起始基因转录。在今年 4 月初，我院徐彦辉团队在 Science 杂志报道了包含 TFIID 的转录前起始复合物结构，揭示了启动子识别及 PIC 装配的动态过程，该工作一经发表就得到了国内外广大同行的高度认可。

在上世纪 90 年代，科学家们发现一个功能非常重要的转录共激活因子，命名为中介体 (Mediator)。Mediator 由 26 个蛋白所组成，分子量 1.5 兆道尔顿 (MDa)。由于人体中绝大多数活跃基因都需要 Mediator 才能够实现高表达。因此，对 Mediator 及 PIC-Mediator 复合物的研究是转录领域的核心。

2021 年 5 月 6 日，Science 杂志在线发表了徐彦辉课题组的研究长文 (Research Article)《人源中介体复合物及其结合转录前起始复合物的结构研究》(“Structures of the human Mediator and Mediator-bound preinitiation complex”)，报道了首个结构与功能完整的 PIC-Mediator 复合物。结构分析揭示了 PIC-Mediator 的动态组装过程以及 Mediator 调控 Pol II CTD 磷酸化的分子机制。该项工作与徐彦辉团队近期关于 PIC 的研究相呼应，较为全面地回答了

转录起始过程的若干重要科学问题，是国内分子生物学领域的又一重大突破性成果。

Science

Contents ▾News ▾Careers ▾Journals ▾

SHARE

RESEARCH ARTICLE

Structures of the human Mediator and Mediator-bound preinitiation complex

Xizi Chen^{1,†}, Xiaotong Yin^{1,†}, Jiabei Li^{1,†}, Zihan Wu^{1,†}, Yilun Qi^{1,†}, Xinxin Wang^{1,†}, Weida Liu¹, Yanhui Xu^{1,2,3,*}

¹Fudan University Shanghai Cancer Center, Institutes of Biomedical Sciences, State Key Laboratory of Genetic Engineering, Shanghai Key Laboratory of Radiation Oncology, and Shanghai Key Laboratory of Medical Epigenetics, Shanghai Medical College of Fudan University, Shanghai 200032, China.
²International Co-laboratory of Medical Epigenetics and Metabolism, Ministry of Science and Technology, China, Department of Systems Biology for Medicine, School of Basic Medical Sciences, Shanghai Medical College of Fudan University, Shanghai 200032, China.
³Human Phenome Institute, Collaborative Innovation Center of Genetics and Development, School of Life Sciences, Fudan University, Shanghai 200433, China.

*Corresponding author. Email: xuyh@fudan.edu.cn
†† These authors contributed equally to this work.
- Hide authors and affiliations

Science 06 May 2021:
eabg0635
DOI: 10.1126/science.abg0635

该项工作首先报道了人源 Mediator 复合物近原子分辨率的冷冻电镜结构，首次把 26 个 Mediator 亚基进行完全定位和建模（图 1），为后续结构功能研究奠定了坚实基础。研究发现 Mediator 的 Tail 模块可呈现延展构象（Extended）和弯折构象（Bent），两个构象的 Mediator 被分别命名为 MED-E 和 MED-B。其中，MED-E 与以往报道的结构相似，而 MED-B 构象是首次发现，表明 Mediator 本身的动态性。

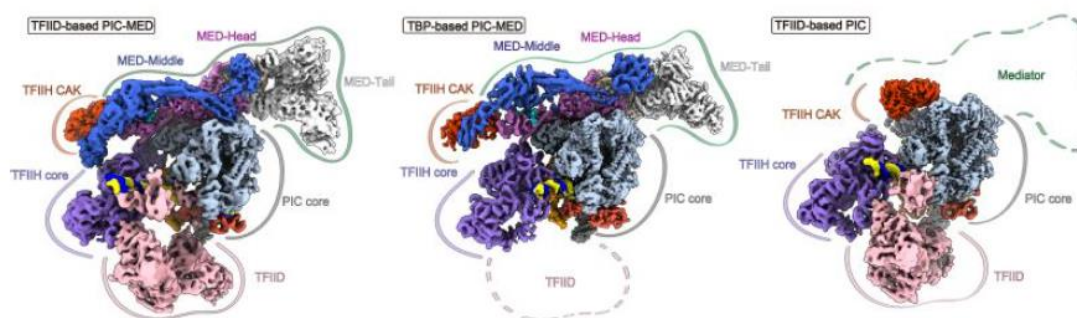


图1： 本研究基于TFIID的完整PIC-Mediator复合物（左），中间为何源组近期发表的基于TBP的PIC-Mediator，右侧为徐彦辉组今年4月份发表的基于TFIID的PIC。

TFIID 赋予了 PIC-Mediator 结构和功能的完整性。在 PIC-Mediator 整体结构中，Mediator 和 TFIID 分别位于 TFIID 的上下两面，两者共同结合并稳定 TFIID，使 TFIID 中 CDK7 激酶和 XPB 移位酶在 PIC-Mediator 中正确定位并发挥活性。其中 XPB 推动启动子 DNA 进入 Pol II 催化中心开始转录，而 CDK7 磷酸化 Pol II 的 CTD 允许 Pol II 聚合酶离启动子区进入转录延伸，二者的活性是转录起始所必须的。TFIID 还赋予了 PIC-Mediator 组装的高度动态性。通过两种代表结

构进行比对，可看出 PIC-Mediator 各个部分都不同程度的发生了模块重排，使其更好地适应高度动态的转录起始过程。上述发现在基于 TBP 的 PIC-Mediator 系统中并未被报道，说明 TFIID 在在转录起始超级复合物 PIC-Mediator 的组装和发挥功能中的关键作用。

该项工作提供了具有生理相关性和功能完整性的 PIC-Mediator 复合物结构，揭示了完整 PIC-Mediator 复合物的动态组装过程，提出了 Mediator 调控 Pol II CTD 磷酸化可能的分子机制。结构及其所提示的功能关联性对后续转录机制研究具有重要的指导意义，将分子生物学领域相关研究推到了一个新的高度。

复旦大学附属肿瘤医院助理研究员陈曦子（复旦大学生物医学研究院 2019 届博士毕业生）、阴晓彤（复旦大学生命科学院 2018 届博士毕业生），复旦大学生物医学研究院 2016 级博士生李佳蓓、2016 级博士生武子涵、2017 级博士生戚轶伦、2017 级博士生王鑫鑫为本文共同第一作者，徐彦辉为通讯作者。

原文链接：

<https://science.sciencemag.org/content/early/2021/05/05/science.abg0635.full>

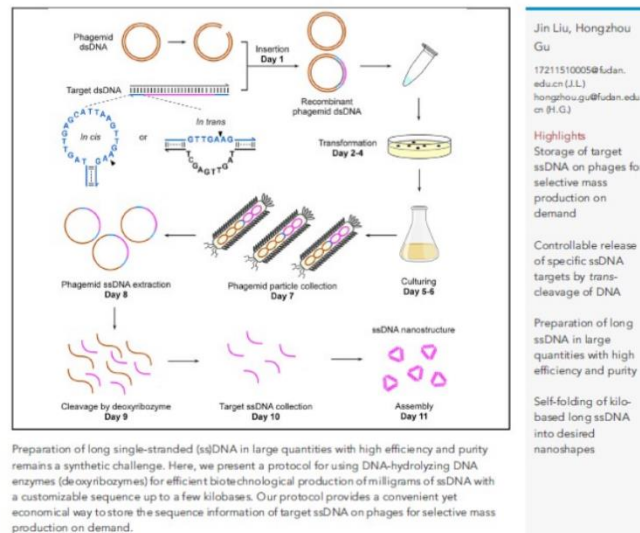
顾宏周课题组《STAR Protocols》报道制备长单链 DNA 的生物法新策略

当前，单链 DNA 序列的体外获取严重依赖于固相化学合成，其技术上已非常成熟，但依然具有明显的局限性。比如，化学合成 DNA 的产率随着序列长度的增加而显著降低，当超过 200 个碱基时，化学合成得到的 DNA 不仅产率/量低下，而且成本较高。换言之，化学合成长单链 DNA 的性价比很低，该缺点严重限制了很多基于长单链 DNA 序列的下游生物技术的应用，如长单链 DNA 模板介导的基因敲入、基于长单链 DNA 锁式探针的长程测序、围绕长单链 DNA 自组装体的载药递送等等。

2021 年 5 月 14 日，我院顾宏周课题组在 Star Protocols 杂志上发表了题为 “Biotechnological production of ssDNA with DNA-hydrolyzing deoxyribozymes” 的文章，报道了一种经济高效地制备序列可定义的长单链 DNA 的生物方法。研究者重组噬菌体基因组，利用生物体系对化学合成的极少量 DNA 模板进行扩增放大，并借助 DNA 自水解酶的顺式或反式作用，在后处理阶段实现了无需蛋白酶参与的单链 DNA 序列的自动切割及与放大体系的分离。该方法可将长单链 DNA 序列的有效制备长度延伸至几千个碱基，产量提升至毫克-克级别，成本比现有的合成技术低 2-3 个数量级以上。

Protocol

Biotechnological production of ssDNA with DNA-hydrolyzing deoxyribozymes



在本文中，研究者以长单链 DNA 自组装体的制备举例。长单链 DNA 自组装是由一条长链 DNA 自我折叠成一定的几何形状，其序列经过特殊设计，长度通常在几百至几千个碱基。研究者设计了三种不同图案的自组装体，分别由 520，680，2200 个碱基的长单链 DNA 序列生成，通过成功地在显微镜下观察到三种正确的 DNA 组装体形貌，证明了“融合噬菌体及 DNA 自水解酶”的生物法高效制备可自定义序列长单链 DNA 的可行性。该工作为长单链 DNA 在更多领域的应用奠定了物质基础。

复旦大学生物医学研究院顾宏周研究员为本文的通讯作者，复旦大学生物医学研究院 2019 级博士生刘瑾为本文第一作者。

原文链接：

<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S26661667210023>

80

雷群英团队《Autophagy》报道 AHCYL1 可作为代谢物 SAH 的感受器

自噬是细胞应对营养缺乏的主要途径，同时也是 MTOR 信号通路调控的主要生物学过程之一。2017 年，Sabatini 课题组报道了 BMT2/SAMTOR 能够感知细胞内 SAM（S-腺苷甲硫氨酸，S-adenosyl methionine）的浓度，在细胞缺乏 SAM 的时候，BMT2 抑制 MTOR 信号通路，当 SAM 充足的时候，SAM 则能够结合 BMT2 避免 BMT2 对 MTOR 蛋白复合物的结合和抑制作用。

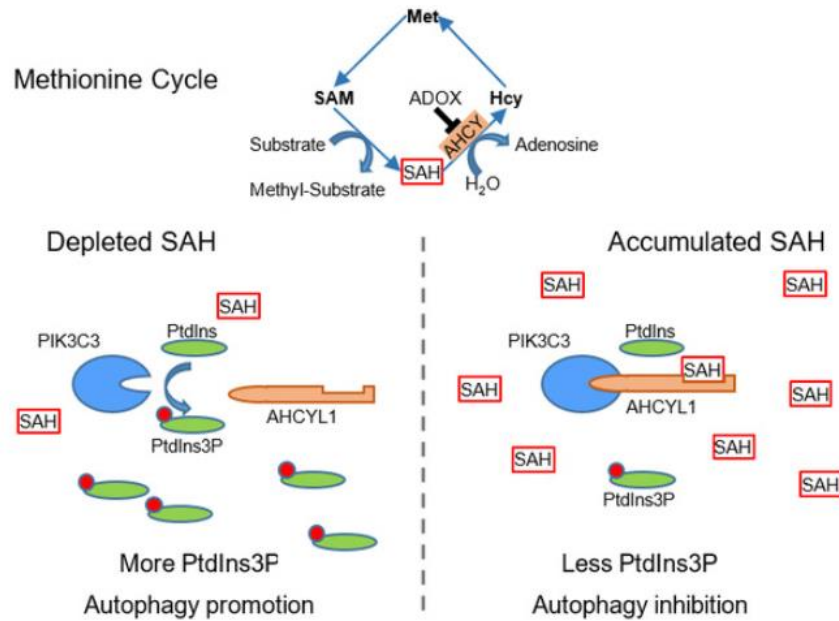
SAM 是细胞内最主要的甲基供体，而 SAH（S-腺苷同型半胱氨酸）则是 SAM 在甲基转移反应过程中的代谢产物。由于 SAH 和 SAM 结构非常类似，SAH 对所有依赖于 SAM 的甲基转移酶具有很强的抑制作用。一般认为 SAH 一旦生成应该迅速被分解，避免抑制甲基转移反应。那么 SAH 是否有可能像 SAM 一样作为信号分子调控某些生物学过程呢？

2021 年 5 月 16 日，我院雷群英团队在 Autophagy 杂志发表题为“AHCYL1 senses SAH to inhibit autophagy through interaction with PIK3C3 in an MTORC1-independent manner”的研究论文，发现了代谢物 SAH 通过 AHCYL1（adenosylhomocysteinase like 1，类腺苷高半胱氨酸酶）抑制细胞自噬的分子机制，并且该调控过程不依赖于经典的 MTOR 信号通路。该研究发现 AHCYL1 可作为代谢物 SAH 的感受器（sensor），SAH 不仅仅是一碳单位循环的中间产物，还可以作为信号分子通过 AHCYL1 调控自噬等生物学过程。



由于自噬能够直接应对细胞的营养缺乏状态，同时 SAM 和 SAH 的结构高度相似，于是推测 SAH 可能和 SAM 一样通过 MTOR 参与了细胞自噬的调控。由于 SAM 和 SAH 都不能自由穿越细胞膜，通过 SAM 合酶的抑制剂 cLEU 和 AHCY 的抑制剂 ADOX 分别降低胞内 SAM 的浓度和积累 SAH。和之前的报道一致，减少 SAM 能够通过抑制 MTOR 激活自噬，而高浓度的 SAH 能够抑制自噬却不改变 MTOR 的活性。敲低 AHCY 也能够抑制细胞自噬。

进一步在多株细胞系中用 ADOX 和 MTOR 的抑制剂 Torin1 或 Rapamycin 共同处理细胞，发现 ADOX 抑制自噬确实不依赖于 MTOR 信号通路。于是推测细胞中存在 SAH 的感受器，并且该感受器调控自噬的靶点在 MTOR-ULK1 的下游。AHCY 蛋白家族的另两个成员 AHCYL1 和 AHCYL2 都含有高度保守的 AHCY-like 结构域，却不具有水解 SAH 的酶活，可能是 SAH 的感受器。PIK3C3 催化生成的 PtdIns3P 对于自噬体的形成非常重要，同时 PIK3C3 受到 ULK1 的调控。有文献报道 PIK3C3 可能是 AHCYL1 的结合蛋白，在验证了 AHCYL1 和 PIK3C3 的相互作用之后，推测 SAH 通过调控 AHCYL1 和 PIK3C3 的结合抑制自噬。进一步发现 AHCYL1 和 SAH 发生特异性结合，并且 SAH 显著增强 AHCYL1 和 PIK3C3 的相互作用，进而抑制 PIK3C3 的酶活，减少 PtdIns3P 的生成，从而抑制自噬。该调控机制在细胞以及斑马鱼中都得到了证实。



该研究发现了代谢物 SAH 的感受器 AHCYL1，阐明了 SAH 除了作为代谢中间产物之外，还能够通过 AHCYL1 调控自噬等生物学过程。该发现不仅拓展了对细胞感知代谢物的认识，而且丰富了 SAH 的生物学功能。

雷群英教授为该文章通讯作者，博士后黄威和李娜为共同第一作者。该课题得到了国家重点研发计划，国自然重大、重点、面上、青年项目，上海市教委科创计划项目和中国博士后科学基金等资助。IBS 的质谱平台对该研究给予了重要支持。

原文链接: <https://doi.org/10.1080/15548627.2021.1924038>

顾宏周课题组《Nucleic Acids Research》报道末端杂交结构促进 DNA 水解自切酶的试管内进化

与 RNA 和蛋白质一样，DNA 具备酶的活性，尽管这一特性目前只在体外得到确认。在 DNA 的众多酶活特性中，可水解切割 DNA 的 DNA（DNA 水解自切酶）因其具备作为新型基因编辑工具的潜能受到更多关注。现有的 DNA 水解自切酶都是从人工合成的包含随机序列（N）的单链（ss）DNA 文库中筛选得到的；大约十年前，耶鲁大学的 Breaker 团队建立了一套强大的体外筛选策略，借助环化酶 CircLigase 催化线性 DNA 成环，从环形 ssDNA 文库中分离出可在 DNA 骨架任意位点发生水解自切割的 DNA 序列（图 1）。基于此策略，已发现两类（I&II）高活性的特异感应 Zn 离子的 DNA 水解自切酶，其中 I 类酶在多项生物技术的开发中得到了广泛应用。

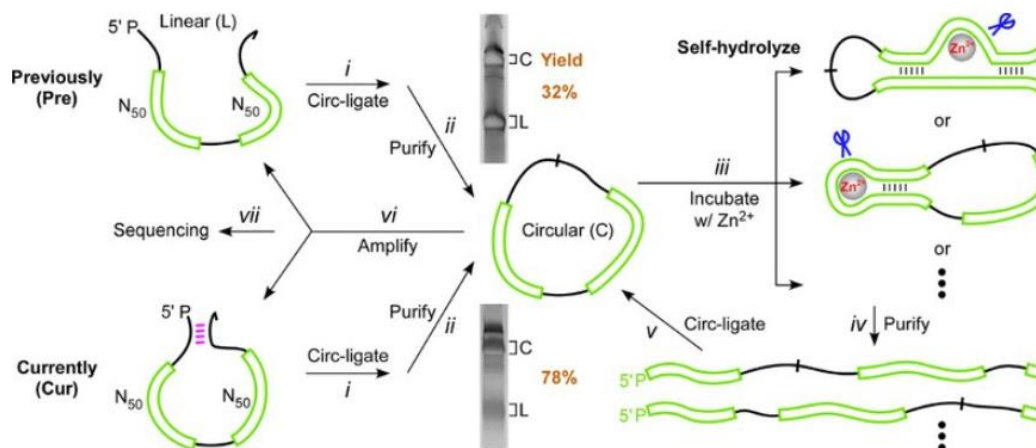


图1. 体外筛选可水解切割DNA的DNA

2021年5月31日，我院**顾宏周**团队在 *Nucleic Acids Research* 期刊上发表题为“New DNA-hydrolyzing DNAs isolated from an ssDNA library carrying a terminal hybridization stem”的工作，通过在 ssDNA 文库的末端简单地引入互补配对杂交序列，不仅提升了环形 ssDNA 文库的制备产率（从 32%到 78%），而且从结构上赋予了文库更多的功能潜力。在双重利好的促进下，两类(III&IV)新型 DNA 水解自切酶序列被体外筛选所揭示。

Nucleic Acids Research

[Issues](#)
[Section browse ▼](#)
[Advance articles](#)
[Submit ▼](#)
[Purchase](#)
[About ▼](#)

All Nucleic Acids R...

Article Contents

Abstract

INTRODUCTION

MATERIALS AND METHODS

RESULTS AND DISCUSSION

New DNA-hydrolyzing DNAs isolated from an ssDNA lib. carrying a terminal hybridization stem

Canyu Zhang, Qingting Li, Tianbin Xu, Wei Li, Yungang He, Hongzhou Gu ✉

Nucleic Acids Research, gkab439, <https://doi.org/10.1093/nar/gkab439>

Published: 31 May 2021 [Article history ▼](#)

环形 ssDNA 制备产率的提升可为文库中的初始序列多样性提供更好的保障，而末端杂交序列的存在减轻了筛选中 DNA 二级结构进化的压力，这一点反映在 III 类 DNA 水解自切酶直接雇佣了末端杂交序列作为其催化中心的关键支撑元素（图 2 左）。

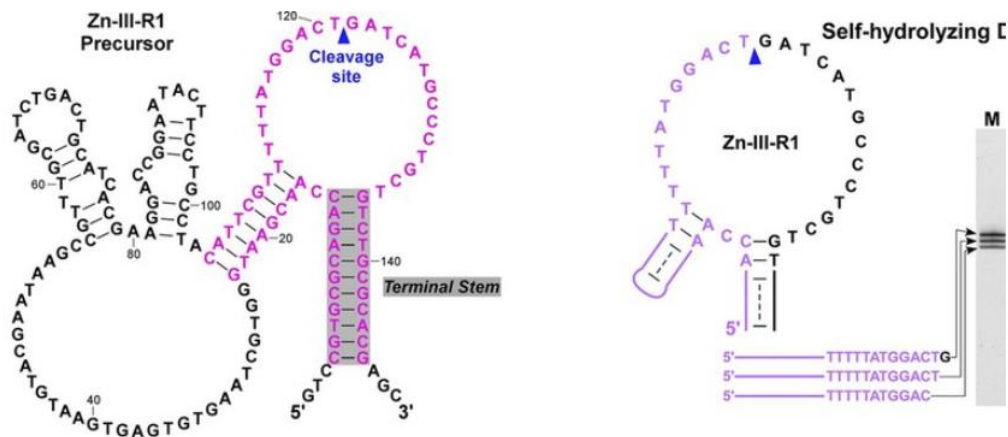


图2. 筛选出的Zn²⁺依赖型III类DNA水解自切酶在文库母体序列中的定位和二级结构（左）以及水解切割位点的确认（右）

研究者发现 III 和 IV 类 DNA 水解自切酶均特异感应锌离子，各自在特定位点水解切割 DNA（图 2 右）；两类酶在中性 pH 条件下催化 DNA 水解切割的半衰期约为 15 分钟。通过试管内退化再进化的筛选方式，研究者进一步勾勒出这两类酶的最小二级结构，并确认它们的催化核心均包含约 20 个高度保守的核苷酸（图 3）。

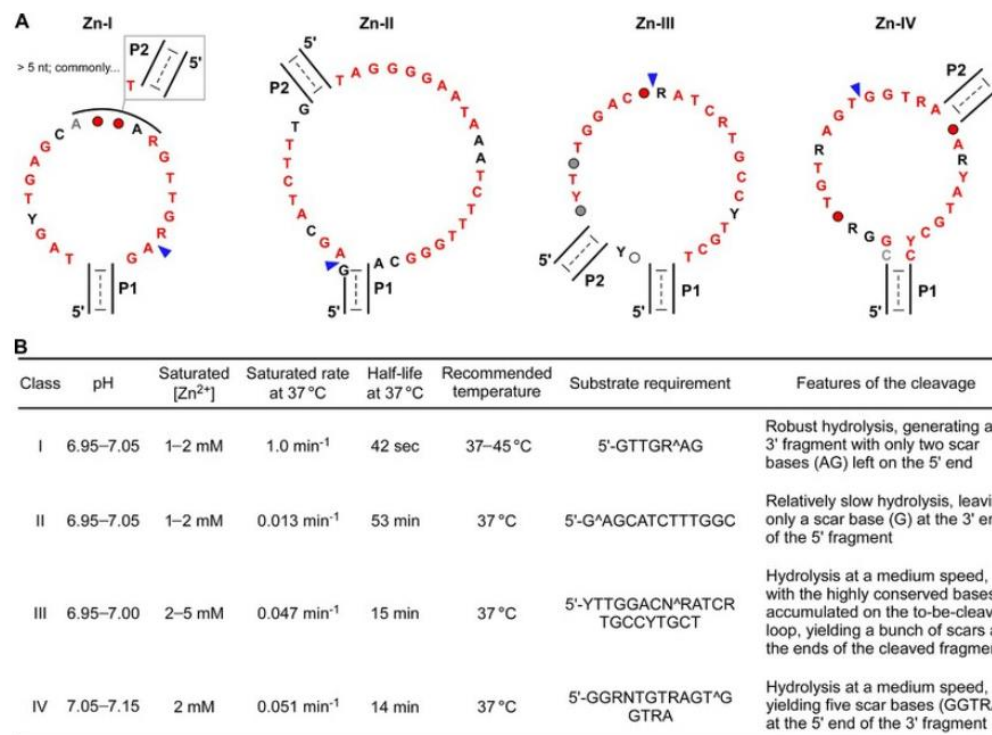


图3. Zn²⁺依赖型III类和IV类DNA水解自切酶的二级结构及保守序列

有意思的是，在由两条序列链配对形成的双分子构建体中，III 类酶的保守序列全部集中在被切割的那条 DNA 链上（图 3 左）。基于这一特点，研究者展示了可根据任意目标 DNA 序列（E1&E2），设计相应的 III 类 DNA 探针（S1&S2），经

配对后形成 III 类 DNA 酶的二级结构，从而触发 DNA 探针序列的自水解切割，实现对任意 DNA 目标序列的特异感应和检测（图 4）。

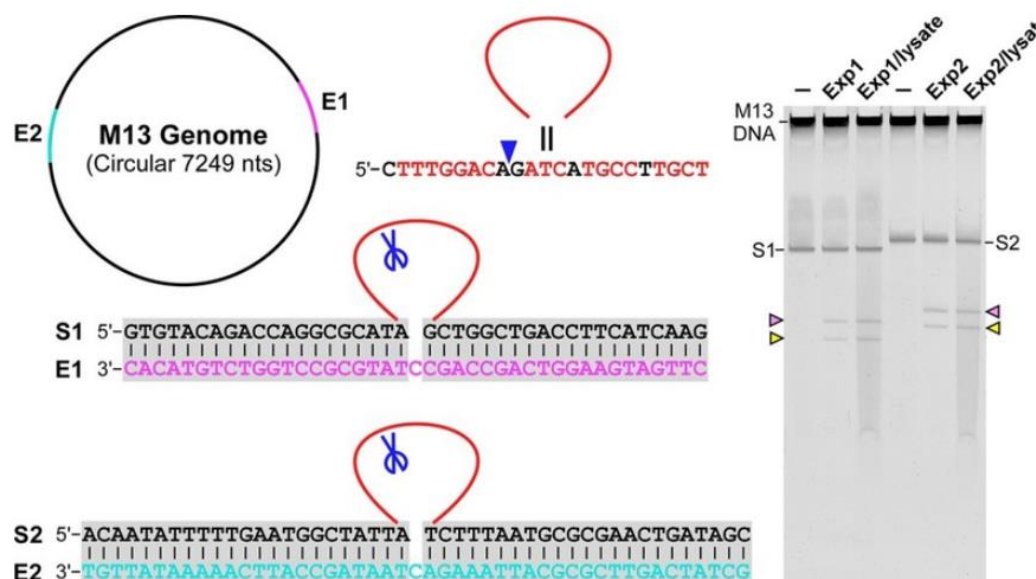


图4. 设计Zn-III用于潜在的DNA序列检测

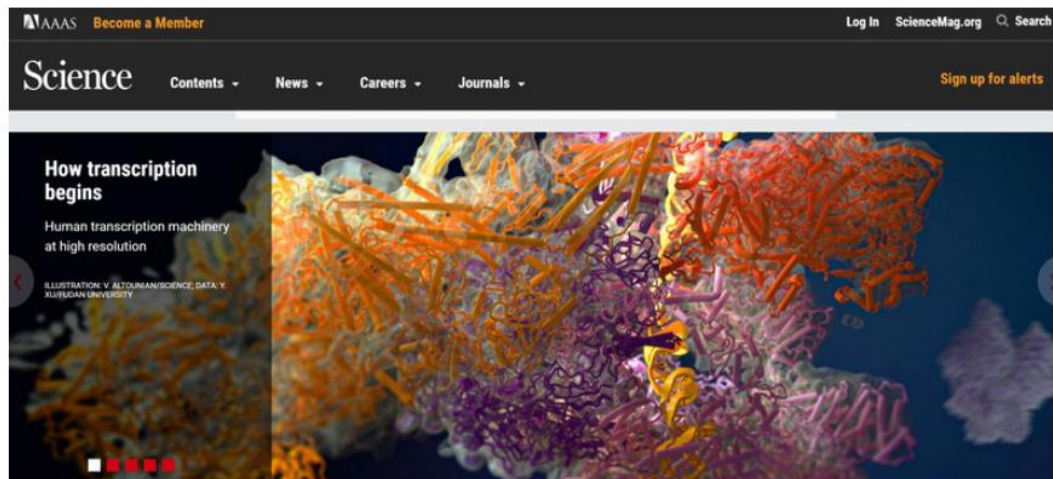
总之，该工作进一步优化了 DNA 水解自切酶的体外进化策略，为筛选依托一系列辅因子的 DNA 水解自切酶奠定了基础；该工作同时揭示了两类新的锌离子依赖型的 DNA 水解自切酶，并展示了 DNA 水解自切酶在生物传感检测中的应用潜力。

据悉，复旦大学生物医学研究院顾宏周研究员为本文的通讯作者，复旦大学生物医学研究院 2019 级直博生张灿钰为本文的第一作者，复旦大学生物医学研究院何云刚青年研究员为本文提供了数据分析的支持。

原文链接：<https://doi.org/10.1093/nar/gkab439>

徐彦辉团队的成果登上《Science》杂志封面

6 月 4 日出版的 Science 杂志的封面介绍为 “How transcription begins”（转录是如何开始的），研究论文来自我院徐彦辉研究团队此前在线发表的研究《人源中介体复合物及其结合转录前起始复合物的结构研究》（Structures of the human Mediator and Mediator-bound preinitiation complex），报道了首个结构与功能完整的 PIC-Mediator 复合物。该工作在线发表后曾引发了国内外学术同行极大的关注，并给予了极高的评价。据了解，徐彦辉课题组在不到 1 年半的时间里，先后四次在 Science 杂志发表研究长文，该系列具有重大国际影响力的成果极大的提升了生物医学研究院的学术影响力。



Science 杂志封面：人源转录前起始复合物（PIC；粉色和红色）和多亚基的中介体复合物（橘黄色，左边）在 DNA 的启动子区域（黄色卷曲，中间）组装成超级复合物（76 个多肽，总分子量为 4.1 兆道尔顿）起始基因转录。在 PIC 中，中介体结合到 RNA 聚合酶 II（紫色）并激活 C 末端结构域（白色），这是转录起始的关键事件。Illustration: V. Altounian/Science; Data: 徐彦辉/复旦大学

链接: <https://science.sciencemag.org/content/372/6546>

徐薇/赵世民合作团队《Nature Metabolism》报道营养物信号调控表观遗传新通路

足够的营养是细胞增殖和组织发育的必要条件。细胞增殖和组织发育需要上调组蛋白乙酰化来激活基因转录。二者之间的联系，也就是：“营养物信号如何被传递到组蛋白乙酰化？”这个基础生物医学问题，长期未能得到阐明。

2021 年 6 月 17 日，生物医学研究院徐薇团队与复旦大学附属妇产科医院/代谢与整合生物医学研究院赵世民（生物医学研究院双聘 PI）团队合作在 Nature Metabolism 杂志上发表文章 Nuclear dihydroxyacetone phosphate signals nutrient sufficiency and cell cycle phase to global histone acetylation, 发现代谢物信号和细胞周期信号共同调控组蛋白乙酰化，实现基因转录激活。

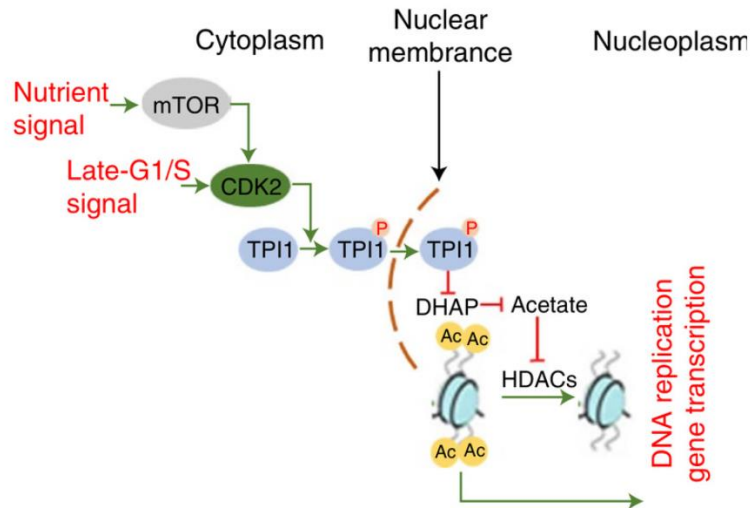


Nuclear dihydroxyacetone phosphate signals nutrient sufficiency and cell cycle phase to global histone acetylation

Jiao-Jiao Zhang^{1,2,7}, Ting-Ting Fan^{1,7}, Yun-Zi Mao^{1,7}, Jun-Li Hou³, Meng Wang^{1,4}, Min Zhang³, Yan Lin^{1,2}, Lei Zhang¹, Guo-Quan Yan¹, Yan-Peng An¹, Jun Yao¹, Cheng Zhang¹, Peng-Cheng Lin⁵, Yi-Yuan Yuan^{1,2}, Jian-Yuan Zhao^{1,2}, Wei Xu^{1,2,4} and Shi-Min Zhao^{1,2,5,6}

在营养代谢物丰富的条件下，细胞内的富营养感知器 mTORC1 信号被激活，使细胞处于可以进行合成代谢和增殖的状态。然而，细胞并不是随时可以增殖，只有当细胞处于第一间歇期（G1 期）时，细胞才能够合成积累增殖所需的合成原料。mTORC1 信号因此将富营养信号传递给细胞周期依赖性激酶 2 (Cyclin-dependent kinases, CDK2)。由于 CDK2 只在 G1 期出现，因此富营养信号只在 G1 期被传递到细胞核内，参与组蛋白乙酰化和转录激活。

接收了富营养信号的 CDK2 并不直接进入核内，它通过磷酸化名为磷酸丙糖异构酶（TPI1）的糖酵酶并将其引入细胞核。进入核内的 TPI1 可以通过生成全新的代谢物乙酰磷酸二羟丙酮 (Acetyl-DHAP, dihydroxyacetone phosphate) 来降低 DHAP 对组蛋白去乙酰化的促进，进而导致组蛋白乙酰化和基因转录的激活，实现细胞增殖(下图)。



该研究发现了一条可以整合营养信号、细胞周期信号和转录激活通的全新信号通路，为代谢环境改变细胞表观性状调控细胞增殖揭示了全新机理，也为包括癌症等代谢失调相关疾病的干预提供了新思路。

赵世民团队/徐薇团队长期从事蛋白质乙酰化研究，原创发现了蛋白质乙酰化是代谢调控新机制（Science 2010a, Science 2010b），蛋白质乙酰化调控葡萄糖平衡（Molecular Cell 2011, Cell Metabolism 2012）以及蛋白质乙酰化调控肿瘤发生（Nature Communications 2017）等。代谢物和细胞周期信号对组蛋白乙酰化的调控加深了对乙酰化生理病理重要性的认识。

复旦大学生命科学学院博士生张娇娇、毛云子，生物医学研究院博士生樊婷婷为本文共同第一作者，复旦大学生物医学研究 PI 徐薇研究员，复旦大学附属妇产科医院/代谢与整合生物医学研究院/遗传工程国家重点实验室赵世民教授为本研究共同通讯作者。

原文链接：

<https://doi.org/10.1038/s42255-021-00405-8>