

项目名称：高时间分辨的蛋白质在体激活技术

项目主要经费来源及数额：

科技部国家重点研发计划（2016YFA0501500），2768 万

国家自然科学基金创新研究群体项目（21521003），1050 万

国家自然科学基金重大研究计划（91753000），350 万

国家自然科学基金应急管理项目（21740001），180 万

国家自然科学基金重大项目（81490741），150 万

国家自然科学基金面上项目（21778004），65 万

所属领域（在代码前打“√”）

01 数学、物理、天文、力学；√02 化学、化工、纺织；03 材料、冶金；
04 计算机、自动化、电子、通讯、仪器科学与技术；05 与人体研究有关的生物学、医学、药学；06 农学、林学、畜牧兽医学、水产学和与以上
研究内容相关的生物学；07 地球、海洋、大气、资源、矿业；08 环境、
土木、建筑、水利；09 能源、交通；10 航空航天、机械、电气；11 管理
科学；12 国际合作

合作单位（排序）：

无

项目简介（严格限 500 字以内）：

- 1、立项依据
- 2、主要创新点
- 3、标志性成果

蛋白质是生命功能的主要执行者，在活体细胞或组织内实现蛋白质功能的实时和原位调控具有重要的科学意义和应用价值。与“失活”策略相比，发展**蛋白质的原位激活技术可以更直接地调控和影响生命活动进程，是探究众多科学问题的“利器”。**然而对于绝大多数蛋白目前仍缺乏**高效、普适的在体激活方法。**

针对这一极受关注的科学挑战，陈鹏和王初课题组综合运用遗传密码子拓展、生物正交脱笼和计算机辅助设计等技术，合作**发展了一种通用便捷的化学生物学新方法，能够为活细胞内不同类型的蛋白质安装“调控开关”，实现它们的瞬时原位激活。**

在蛋白激酶、水解酶、金属酶等多种蛋白上验证这一方法的普适性后，他们利用该技术原位激活的优势，在活细胞内建立了激酶正交激活和信号转导系统，在活体组织内实现了细菌毒素蛋白的激活和肿瘤靶向杀伤。此外，他们利用该技术瞬时激活的特点，发展了具有高时间分辨率的蛋白质组学方法，发现了多个全新的在细胞凋亡初期被切割的蛋白质底物，为研究这一重要生物学事件的动态过程提供了丰富的线索。

相关成果于 2019 年 5 月在国际顶级学术期刊《Nature》杂志发表，多位国内外知名专家在 Nature、National Science Review、BioArts 等专业学术媒体上为本工作撰写亮点介绍并给予了高度评价。

主持人及主要完成人简介：

陈鹏：北京大学化学与分子工程学院教授、博士生导师、北大-清华生命科学联合中心高级研究员、化学生物学系主任、前沿交叉学科研究院副院长、中国化学会化学生物学专业委员会副主任、国家杰出青年基金项目获得者并入选中组部首批青年拔尖人才支持计划、“万人计划”青年拔尖人才、教育部长江学者特聘教授。陈鹏教授以“活细胞上的蛋白质化学反应”为研究主线，建立了一支具有国际水准的化学生物学研究队伍，发展了活体操纵和标记、研究蛋白质的“工具箱”，并取得了一系列令人瞩目的科研成果。目前已经在北京大学发表学术论文 50 多篇，包括 Nature 一篇，Nature 子刊文章 7 篇，PNAS 1 篇，JACS 和 ACIE 共 13 篇等。部分工作受到了国际同行的广泛关注和认可，被美国化学会 Chemical & Engineering News，英国皇家化学会 Chemistry World 及 Faculty 1000 等专业学术媒体做了报道或推荐，全部论文在近 5 年内的总他引次数 1100 次。陈鹏教授曾获教育部青年科学奖、陈嘉庚青年科学奖、中国青年科技奖、北京市青年五四奖章、科学探索奖、谈家桢生命科学奖、教育部自然科学一等奖等奖励。陈鹏教授于 2014 年获得的英国皇家化学会 Chem Soc Rev 新科学家奖，该奖项每年面向全球授予化学领域的一位青年科学家。2017 年，获得国际生物无机化学会青年成就奖(Society of Biological Inorganic Chemistry Early Career Award)，是该国际奖项首次颁发给来自亚洲的科学家。

王初：北京大学化学与分子工程学院特聘研究员、课题组长、博士生导师、化学生物学系副主任、北大-清华生命科学联合中心研究员，入选 2014 年中组部第五批“青年千人计划”和 2019 年度国家杰出青年科学基金建议资助项目申请人名单。王初教授基于化学生物学、蛋白质谱和理论计算等技术，发展和建立了一系列“化学和计算驱动的功能蛋白质组学”新方法，为在复杂生命体系的蛋白质功能研究提供了有力的工具。在北京大学独立工作以来共发表学术论文 30 余篇，在 Nature, Nat Chem Biol, JACS, ACIE, PNAS 等高水平国际期刊发表（共同）通讯论文 20 篇。部分成果被 Nat. Methods, ACS Editor's Choice, JACS Spotlight 和 Faculty1000 等专业杂志与网站进行亮点报道，并入选“ACS Future of Biochemistry”专刊。王初研究员在 2018 年获得国际化学生物学学会青年化学生物学家奖，该奖项每年在全球范围内授予 3 位优秀青年化学生物学家。

对完成项目有特别贡献的 45 岁以下的其他学术骨干情况介绍

王杰：博士，北京大学博士后。主要研究领域为非天然氨基酸与蛋白质化学、生物正交断键反应及蛋白质在体激活技术的开发。

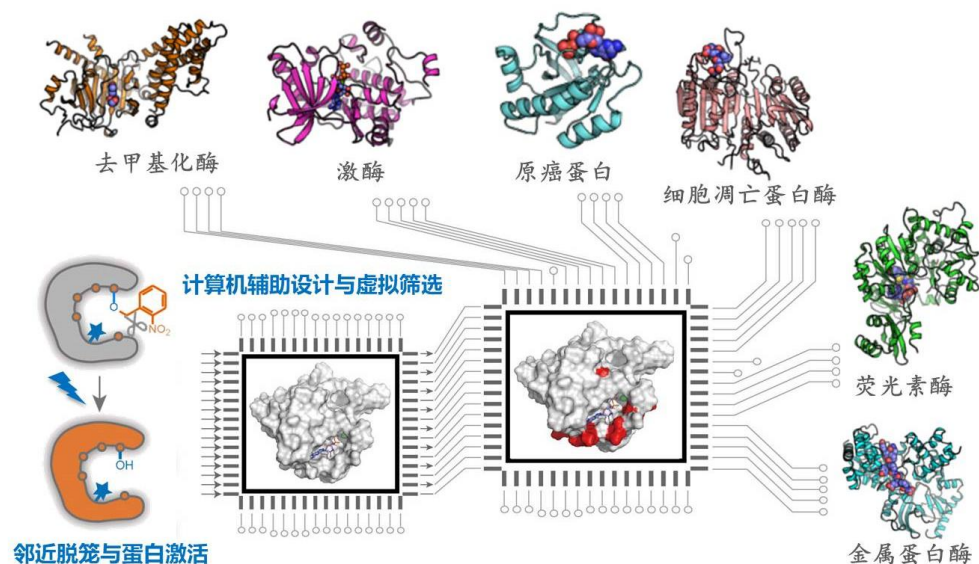
刘源：博士，北京大学博士后。主要研究领域为质谱数据分析以及蛋白质三维结构建模等计算方向的工作。

刘衍军：北京大学博士研究生。主要研究领域为生物正交断键反应在活体中的应用。

项目的特色、创新点及标志性成果

陈鹏课题组长期致力于发展“活细胞上的化学反应”，提出了“生物正交断键反应（Bioorthogonal bond-cleavage reaction）”这一全新概念，极大地拓展了生物正交反应的类型及应用。基于此，陈鹏课题组先前提出的“化学脱笼”策略，可通过对蛋白质关键残基的化学保护和脱保护反应，实现对其活性的“关—开”调控（*Nat. Chem. Biol.* **2016**, 12, 129）。利用这一技术，他们先后在赖氨酸（*Nat. Chem.*, **2014**, 6, 352; *Nat. Chem. Biol.*, **2014**, 10, 1003）、酪氨酸（*J. Am. Chem. Soc.*, **2016**, 138, 15118）等天然氨基酸侧链上实现了生物正交断键反应和化学脱笼，开展了激酶等蛋白质家族的特异激活和机制研究（*ACS Cent. Sci.* **2016**, 2, 325, *ACS Cent. Sci.* 2019, 5, 145）。

由于细胞内蛋白质的种类繁多，之前的方法无法适用于所有蛋白质。最新的研究成果中，陈鹏课题组与王初课题组合作提出了“邻近脱笼”的新策略，利用该策略可以实现对整个酶活口袋的“掩蔽”和“脱笼”，能够为细胞内的各种不同的蛋白质机器安装“调控开关”，使得蛋白质的激活不再受限于活性中心的催化残基的种类。



通过实验验证，该方法在蛋白激酶、GTP 酶、去甲基化酶、水解酶、金属酶以及毒素蛋白等一系列不同类型的蛋白质上均能实现原位激活，成功展示了其普适性。

该技术不仅在酶的种类上适用性广泛，基于技术本身的特点，在研究不同的生物学问题上也展示了其广阔的应用潜力。首先，利用其额外引入的酪氨酸突变，该技术可以实现对工程化激酶的正交激活。在实现邻近脱笼并激活蛋白的基础上，通过引入的酪氨酸突变，可以产生对天然抑制剂的抗性。基于该方法，可以在抑制细胞内源激酶、排除内源酶活干扰的同时，实现工程化的激酶的正交激活，并对目标激酶和相关信号转导通路进行特异研究与靶向干预。其次，利用其原位激活的特点，该技术还可以在小鼠体内对炭疽致死毒素蛋白（LF）进行可控激活，将毒素蛋白发展为基于蛋白质的前体药物，通过光控激活 LF 的毒性实现对癌细胞的选择性杀伤。由于结合

了紫外光的区域选择性，这一多重靶向系统可以确保 LF 选择性地杀死肿瘤细胞，对正常细胞无害，显著地提升了其作为前药的治疗窗口。最后，利用其高时间分辨的优势，该技术还可以实现时间分辨的蛋白质组学研究，并用于对细胞凋亡这一动态生物学过程中的蛋白质水解底物进行系统性鉴定。通过该方法，他们发现了多个新的底物，为理解细胞凋亡的动态过程提供了有力支撑。

2019年5月8日，相关研究成果在《Nature》杂志发表，并相继被光明日报、科技日报、新华网等多家媒体报道。本领域国际著名专家美国北卡罗来纳大学教堂山分校的 Klaus Michael Hahn 教授在 Nature 为本文撰写了亮点介绍（如下图所示）。我国化学与生命科学交叉领域的多位专家也对该工作给予了高度评价（<https://mp.weixin.qq.com/s/IehHGMuHVzdilAWkjrTISg>）。

NEWS & VIEWS

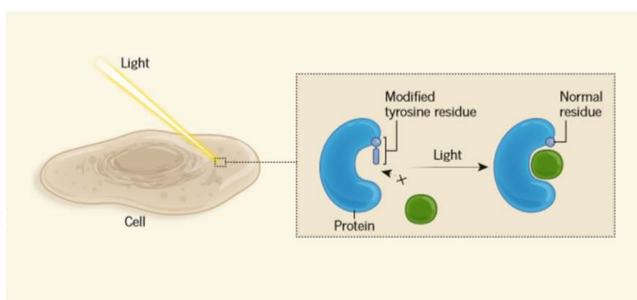
CHEMICAL BIOLOGY

An 'on' switch for proteins

Current methods for producing proteins that can be activated by light require knowledge of the protein's active site, or can reduce the protein's functionality. A technique that overcomes these issues has been devised. SEE ARTICLE P.509

KLAUS MICHAEL HAHN

Figure 1 | A method for activating proteins using light. Wang et al. report a technique that they call computationally aided and genetically encoded proximal decaging (CAGE-prox), which activates proteins in cells. In CAGE-prox, an amino-acid residue close to a protein's active site is replaced by a modified tyrosine residue. The modified residue carries a bulky group on its side chain, which prevents the protein's substrate (in this case, another protein; green) from binding in the active site. Light clips off the bulky side chain, leaving a normal tyrosine residue that allows substrate binding, thereby activating the protein.



代表性论文：

Wang J, Liu Y, Liu YJ, Zheng S, Wang X, Zhao J, Yang F, Zhang G, Wang C*, Chen P*. Time-resolved protein activation by a universal proximal decaging strategy in living systems. *Nature*, 2019, 569, 509-13.