



Nature Biotechnology | 调控蛋白质稳态，建立蛋白降解靶向(PROTAC)减毒疫苗新策略

时间: 2022-07-05 来源: 合成所

文本大小: 【大|中|小】 【打印】

北京时间7月4日，中国科学院深圳先进技术研究院合成生物学研究所司龙龙课题组，在国际学术期刊Nature Biotechnology上发表了题为“Generation of a live attenuated influenza A vaccine by proteolysis targeting”的研究成果。该团队以流感病毒为模式病毒，建立了蛋白降解靶向病毒作为减毒疫苗的技术（Proteolysis-Targeting Chimeric virus vaccine, PROTAC疫苗），为疫苗开发提供了新思路。司龙龙研究员为本文通讯作者，司龙龙及团队研究助理申权、博士后李静为论文共同第一作者；团队其他成员及合作者均为本研究做出了重要贡献。

nature biotechnology

Explore content v About the journal v Publish with us v

nature > nature biotechnology > articles > article

Article | Published: 04 July 2022

Generation of a live attenuated influenza A vaccine by proteolysis targeting

Longlong Si, Quan Shen, Jing Li, Li Chen, Jinying Shen, Xue Xiao, Haiqing Bai, Tang Feng, Adam Yongxin Ye, Le Li, Chunhe Zhang, Zhen Li, Ping Wang, Crystal Yuri Oh, Atiq Nurani, Siwen Niu, Chengxin Zhang, Xiaoqiong Wei, Wanqiong Yuan, Hao Liao, Xiaojie Huang, Ning Wang, Wen-xia Tian, Hongwei Tian, Li Li, Xiaoheng Liu & Roberto Plebani — Show fewer authors

Nature Biotechnology (2022) | Cite this article

Metrics

文章上线截图

文章链接: <https://www.nature.com/articles/s41587-022-01381-4>

病毒感染与传播严重危害人类健康和社会经济的发展，已引起全球的高度关注。其中，流感是由流感病毒引起的一种呼吸道传染病。流感病毒其抗原性易变，传播迅速，每年可引起季节性流行。每年流感季节性流行在全球可导致300万-500万人重症病例，29万-65万呼吸道疾病相关死亡（Nat Med 25, 212-220 (2019), WHO）。疫苗是预防和控制传染病最为经济有效的手段之一。2021年Science杂志将“下一代疫苗的开发”列为125个前沿科学问题之一（www.science.org/content/resource/125-questions-exploration-and-discovery）。减毒疫苗因其在免疫效果方面具备潜在优势而成为重要发展方向之一，如流感减毒疫苗可采用更为简单、经济、无痛、且与自然感染途径一致的鼻内喷雾方式接种；可保留病毒全部或绝大部分抗原的天然结构，可诱导更广的免疫应答，包括体液免疫、呼吸道黏膜免疫、细胞免疫等；可提供交叉免疫保护作用。

蛋白质作为病毒结构组成和正常生命活动所必需的共性生活物质，为人们操控病毒进而利用病毒提供了重要切入点。基于蛋白质调控的病毒减毒策略，大致可以归纳为两个主要方面：一是抑制或阻断蛋白质合成以减少子代病毒组装所需的“原料”生产，二是加速蛋白质降解以及及时将子代病毒组装所需的“原料”清除。在本研究中，司龙龙团队构建PROTAC病毒，旨在通过操控病毒蛋白质的降解降低病毒的复制能力，将野生型病毒减毒成为疫苗。

宿主细胞内天然存在的蛋白质降解机器“泛素-蛋白酶体系统”为PROTAC病毒疫苗的设计提供了关键生物学基础。近年来，基于泛素-蛋白酶体系统的PROTAC蛋白质靶向降解技术，已经被成功地用于开发基于化学小分子的蛋白降解剂，并成为国际科学研究热点（Nat Biotechnol 40, 12-16 (2022); Nat Rev Drug Discov 21, 181-200 (2022)），即研究人员设计出一种具有两个活性端的小分子化合物，一个活性端可以与需要降解的靶蛋白相结合，而另一个活性端可以与特定的E3泛素连接酶相结合，从而诱导靶蛋白的泛素化，进而被蛋白酶体降解。

在本研究中，司龙龙团队将宿主细胞蛋白质降解机器可选择性降解靶蛋白的生物学机制，成功拓展至生命体一病毒疫苗的设计构建（图1）。该团队选择流感病毒作为模式病毒，利用宿主细胞中天然存在的蛋白质降解机器，设计可条件性操控病毒蛋白质稳定与降解的元件、工程病毒基因组，使

得相应的病毒蛋白在正常细胞中被泛素-蛋白酶体系统识别而降解，导致病毒复制能力减弱，而成为潜在的疫苗；而在疫苗制备细胞中，病毒蛋白降解诱导元件会被选择性移除，使得病毒蛋白得以保留，因此PROTAC病毒在疫苗制备细胞中可以高效复制而大量制备。

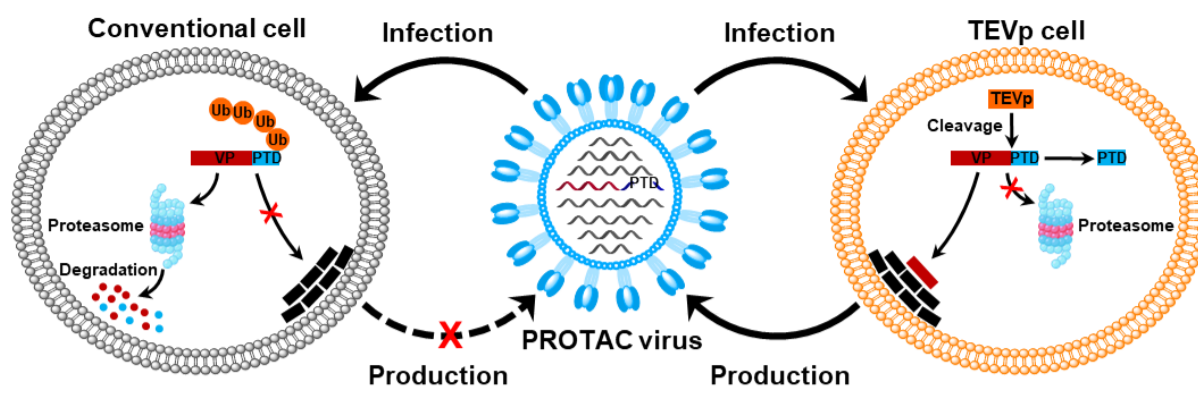
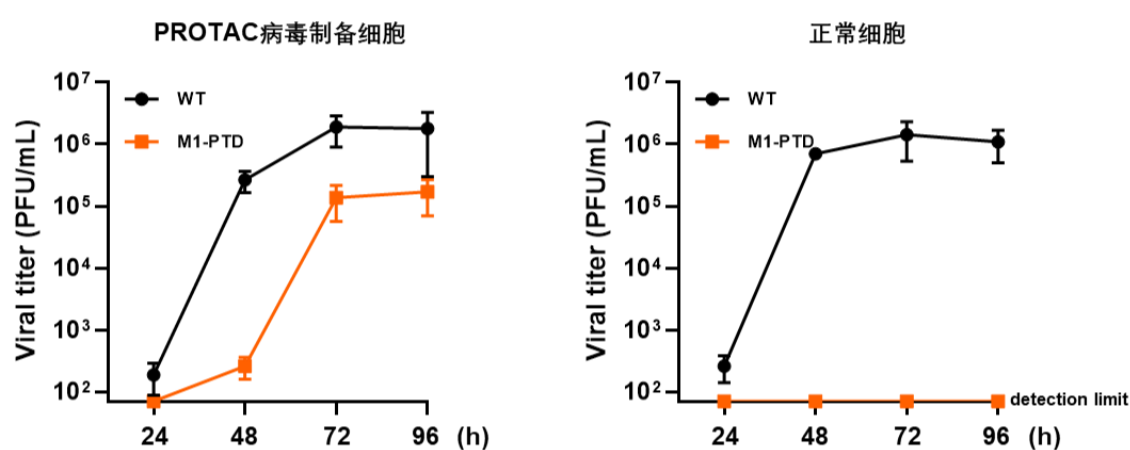


图1. PROTAC病毒疫苗原理。VP, 病毒蛋白(viral protein); Ub, 泛素 (ubiquitin); PTD, 蛋白降解靶向元件 (proteolysis-targeting domain)

据上述设计原理，该团队首先构建了一株PROTAC流感病毒疫苗，命名为M1-PTD。对病毒生长曲线考察发现，M1-PTD只能在PROTAC病毒制备细胞中高效复制而得以制备，而在正常细胞中复制能力显著下降而安全（图2）。此外，免疫荧光实验结果表明，M1-PTD病毒蛋白在正常细胞中被降解；噬斑实验结果表明，M1-PTD仅在PROTAC病毒制备细胞中可以形成噬斑，而在正常细胞中不形成噬斑；细胞病变实验结果表明，M1-PTD在正常细胞中不引起明显病变。所有这些实验结果均表明M1-PTD流感病毒具备成为安全疫苗的潜力。

生长曲线—M1-PTD仅在制备细胞中高效复制



病毒蛋白被正常细胞降解 仅在制备细胞中形成明显噬斑 不引起正常细胞显著病变

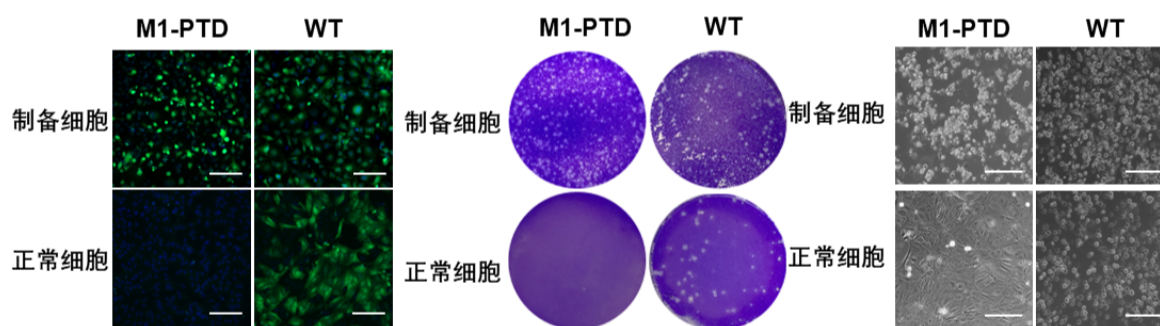


图2. PROTAC流感病毒 (M1-PTD) 在细胞水平的安全性

该团队对构建的PROTAC流感病毒的工作机理进行了验证。结果显示（图3），M1-PTD流感病毒的蛋白在正常细胞中被降解而复制减弱，而宿主细胞蛋白酶体的抑制可以恢复M1-PTD的病毒蛋白水平和复制能力，说明PROTAC流感病毒的蛋白降解和复制减弱是泛素-蛋白酶体途径依赖的，符合设计原理。

蛋白酶体抑制恢复M1-PTD的M1蛋白水平

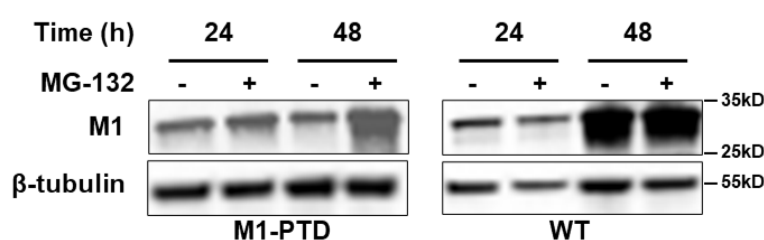
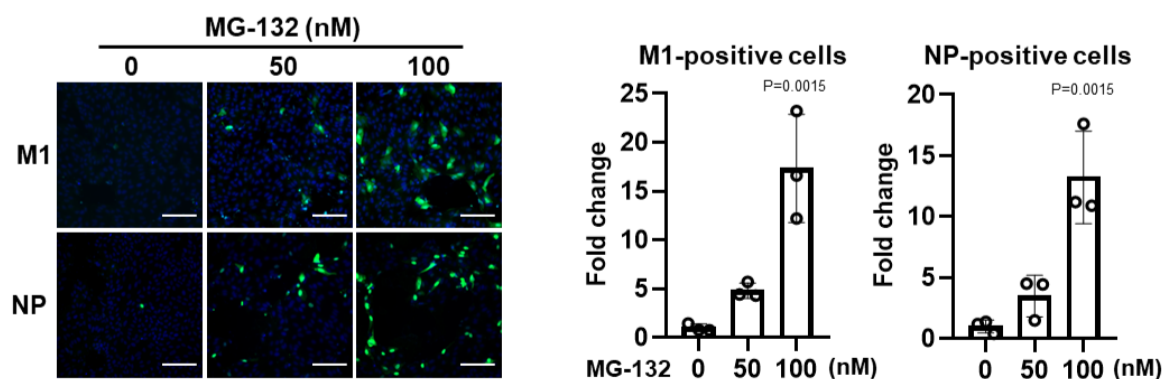


图3. 泛素-蛋白酶体系统介导M1-PTD蛋白降解和复制能力减弱

该团队使用小鼠、雪貂动物模型对构建成功的M1-PTD流感病毒进行了安全性评价。将M1-PTD病毒或野生型流感病毒以滴鼻的方式接种于动物，监测动物的死亡率和体重，并检测动物鼻洗液、气管、肺中的病毒滴度。结果显示（图4），与野生型病毒相比，M1-PTD在动物体内的复制能力显著降低，且不会引起小鼠死亡或体重下降，说明其在动物体内具备安全性。

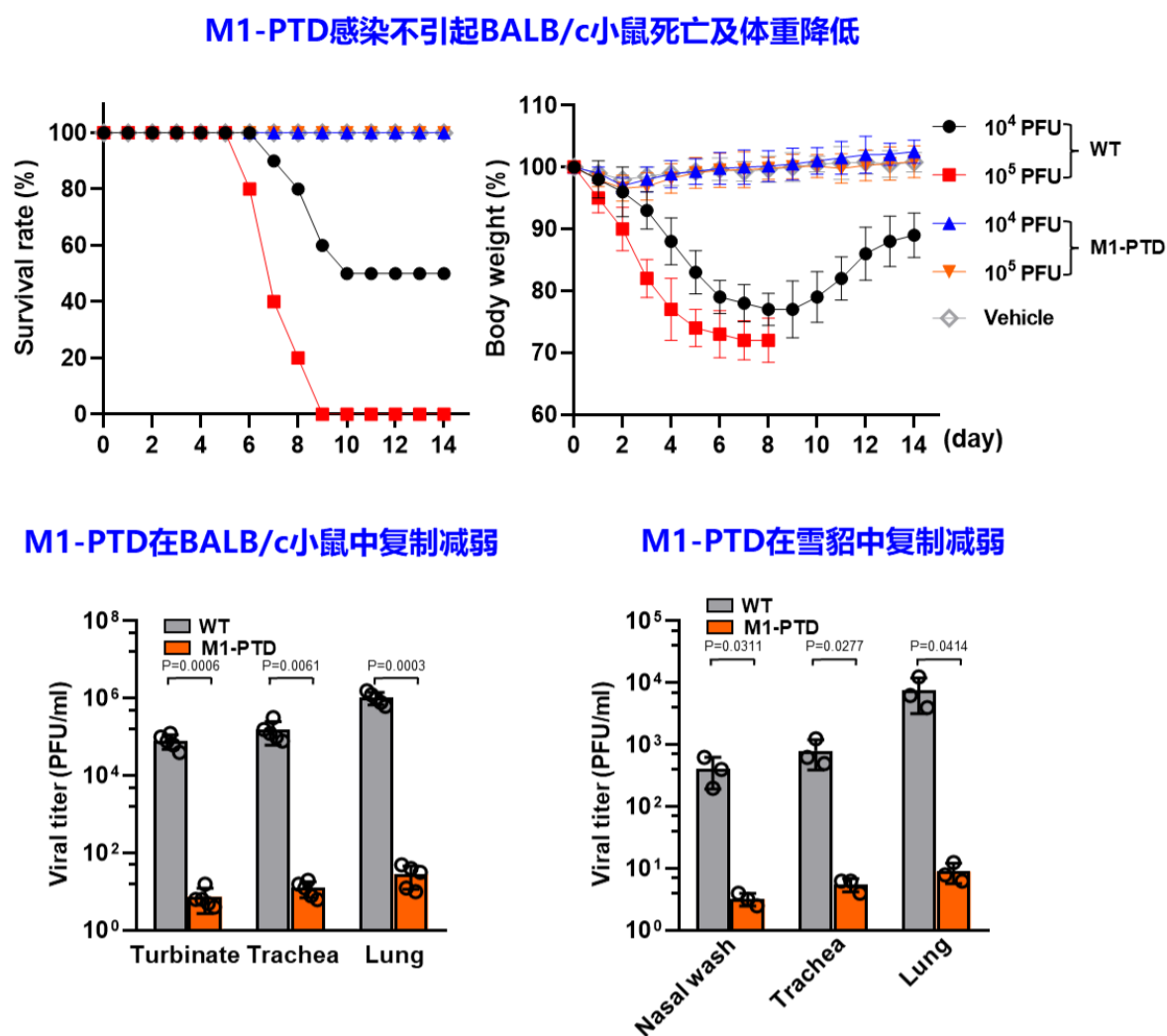


图4. PROTAC流感病毒(M1-PTD)在BALB/c小鼠、雪貂模型中的安全性

该团队在小鼠、雪貂动物模型中对M1-PTD流感疫苗进行了免疫效果评价。结果显示（图5），M1-PTD可以诱导广泛的免疫应答，包括体液免疫、黏膜免疫、细胞免疫应答；且M1-PTD可以提供良好的交叉免疫保护。

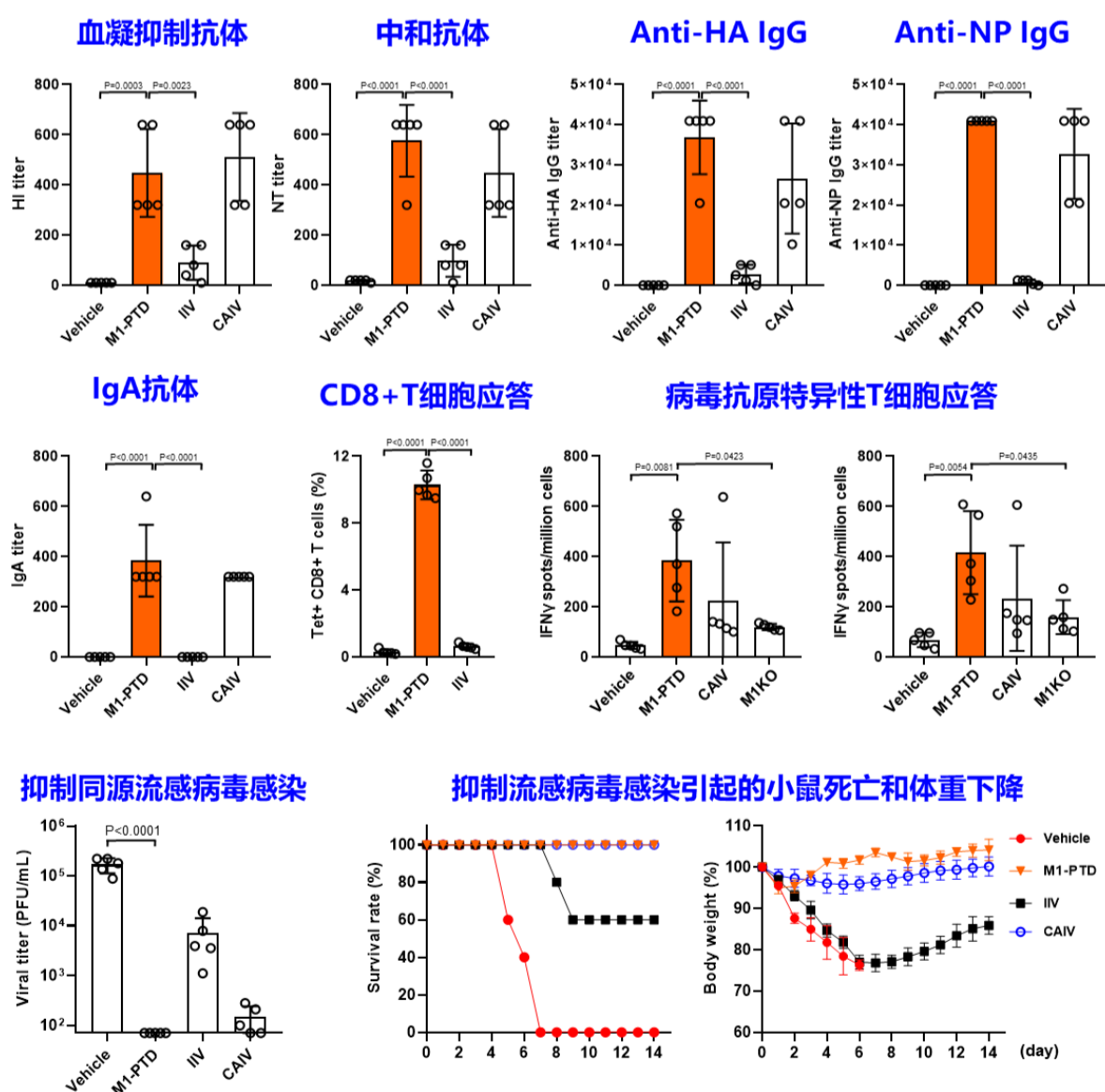


图5. PROTAC流感病毒(M1-PTD)在小鼠模型中的免疫原性和攻毒保护效果

该研究基于合成生物学理念，将细胞的蛋白质降解机器生物学机制拓展至生命体一病毒疫苗的设计，不仅为病毒疫苗开发提供了新思路，丰富了人类抵御病毒的疫苗技术武器库，也有助于促进细胞蛋白质降解机器基础生物学研究与疫苗研发医学转化的深度交叉融合。同时该团队指出，虽然该研究在细胞和动物模型中证明了PROTAC病毒疫苗概念的可行性，但PROTAC病毒作为疫苗的潜在应用仍需要大量的优化和探索。

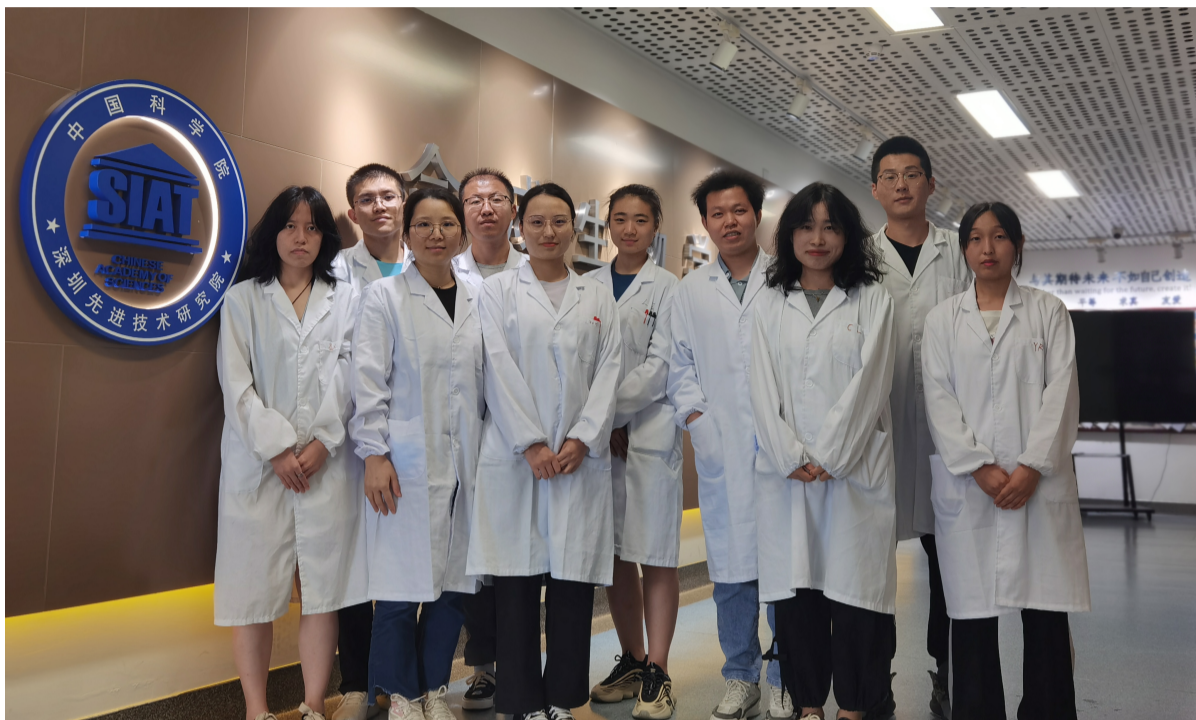
该研究得到了国家自然科学基金委、中国科学院、深圳合成生物学创新研究院的资助。

PI与课题组简介:

司龙龙博士, 中国科学院深圳先进技术研究院合成生物学研究所研究员。博士毕业于北京大学, 随后在哈佛大学Wyss研究所、哈佛医学院作为博士后、Wyss Technology Development Fellow从事研究工作。

实验室致力于病毒感染及防治研究的新策略和新系统的开发及应用研究。近年来代表性研究成果以通讯作者、第一作者(含共同一作)发表于Science、Nature Biotechnology、Nature Biomedical Engineering、Nature Communications、Science Advances、Biomaterials等专业期刊, 申请和授权专利20余项, 合作开发的一个抗新冠药物已进入临床II期试验。

课题组长期面向1) 病毒定向工程、新型病毒疫苗策略开发和应用, 2) 人器官体外仿生系统-人器官芯片、类器官的开发优化及医学应用方向招聘博士后和助理研究员, 有意申请者请将个人简历(要求为PDF)以邮件方式发送至 ll.si@siat.ac.cn。



团队成员(从左至右): 肖雪(研究助理)、申权(研究助理)、李静(博士后)、王平(博士)、张春贺(博士)、李楨(博士)、沈金影(研究助理)、陈丽(研究助理)、李乐(博士)、蔚荣(硕士)

机构设置	研究队伍	学院	科学研究	合作交流	研究生/博士后	科研支撑	产业化	科学传播
机构简介	人才概况	计算机科学与技术工程学院	IBT介绍	国际合作	教育概况	实验动物管理	运行结构	工作动态
院长致辞	人才招聘	生物医学工程学院	论文	院地合作	招生信息	分析测试中心	转移转化	科普园地
理事会	人才动态	生命健康学院	专利		教学培养	实验室建设...	投资基金	科学教育
现任领导		药学院	项目		联合培养	日常环保工作	案例分享	
历任领导		合成生物学院	科研道德与伦理		学生活动		专利运营	
机构导航		材料科学与能源工程学院	集成技术期刊		博士后			



中国科学院
CHINESE ACADEMY OF SCIENCES

版权所有 中国科学院深圳先进技术研究院 粤ICP备09184136号-3

地址: 深圳市南山区西丽深圳大学城学苑大道1068号 邮编: 518055 电子邮箱: info@siat.ac.cn

