

· 研究进展 ·

“生物大分子动态修饰与化学干预” 重大研究计划中期研究进展

邢曦雯¹ 陈 鹏² 吴家睿³ 蒋华良⁴ 杨俊林⁵ 张 艳^{5*}

1. 暨南大学 生命科学技术学院, 广州 510632
2. 北京大学 化学与分子工程学院, 北京 100871
3. 中国科学院 分子细胞科学卓越创新中心, 上海 200031
4. 中国科学院 上海药物研究所, 上海 201203
5. 国家自然科学基金委员会 化学科学部, 北京 100085

[摘 要] 重大研究计划“生物大分子动态修饰与化学干预”聚焦核酸和蛋白质等生物大分子的动态修饰, 充分发挥化学和生命科学、医学等多学科交叉合作的优势。经过四年的实施, 发展了一批生物大分子动态化学修饰的特异标记方法和检测手段, 并用这些新技术新方法解析了一系列生物大分子动态修饰的识别机制和调控功能, 发现了一批针对生物大分子动态修饰的潜在药物靶标和有开发前景的先导化合物。同时, 该项目促进了不同专业背景研究人员跨学科合作, 推动了化学生物学等交叉学科的蓬勃发展。本文将从立项背景、科学目标总体布局及已取得的研究成果, 介绍该重大研究计划的中期实施情况, 并提出下一步实施规划的设想与资助方向。

[关键词] 重大研究计划; 生物大分子; 动态修饰; 化学干预

1 立项实施情况

1.1 立项背景

生物大分子的动态修饰是指作为生命体系基本“元件”的生物大分子(蛋白质、核酸、糖、脂等)时刻处于种类多变、位点时空特异和可逆的化学修饰之中。生物大分子化学修饰的这些动态属性在细胞性状的调控中(包括生理活动和病理变化)发挥着关键作用。本重大研究计划旨在通过化学与生命科学、医学、数理科学、材料科学、信息科学等多学科的交叉研究, 发展生物大分子动态化学修饰的特异标记方法和检测手段, 解析生物大分子动态修饰的识别机制和在细胞性状调控中的生物功能, 发掘针对生物大分子动态修饰的潜在药物靶标和相应的先导化合物。



张艳 博士, 教授。曾任国家自然科学基金委员会化学科学部四处副处长兼化学生物学项目主任。



邢曦雯 博士, 暨南大学生命科学技术学院副教授, 研究方向为核酸化学生物学。

1.2 总体科学目标

该项目旨在引领生物大分子动态修饰与化学干预研究, 为生物大分子动态修饰的机制研究提供新工具和新方法, 获得新的靶标和干预分子; 加速从基础研究到药物开发的转化, 为认识生命体系调

控的内在规律,为重大疾病的诊断与防治提供基础性和前瞻性的科学技术储备;培养一支深度学科交叉的研究队伍,提升我国生物大分子动态修饰的基础研究和新药研发应用研究的综合实力,并在国际化学生物学领域和生物医学前沿研究中占有重要地位。

1.3 总体布局和实施思路

生物大分子动态修饰研究的最基本问题是发现和阐明具有重要生命功能的生物大分子化学修饰的动态属性,揭示其调控机制和生物学功能,并实现对生物大分子动态修饰的靶向化学干预。本计划旨在以化学生物学为核心开展多学科交叉研究,发展生物大分子动态化学修饰的特异标记和检测工具,解析生物大分子动态化学修饰的调控机制和功能关系,为药物研发提供潜在的新靶标及干预分子。本计划将组织包括化学、生物、医学、数理、材料、信息等多学科的科学家共同研究,拟解决以下主要科学问题:(1)生物大分子化学修饰的动态属性:对细胞性状具有重要调控功能的动态修饰的化学特征与动态过程;(2)生物大分子动态修饰的调控机制:动态修饰在细胞性状调控中的生物效应和作用规律;(3)生物大分子动态修饰的化学干预:基于动态修饰的新靶标和靶向干预策略。

1.4 学科交叉情况及项目集成

本重大研究计划的实施促进了化学与生命科学和医学等学科的交叉融合,全面推动了化学与生物、医学、信息等学科以及化学内部各学科间的交叉合作。各学科相互渗透,优势互补,既解决了生物学中的重要科学问题,又为重大疾病的诊断治疗提供了理论依据,同时还促进了各学科间相关前沿的研究和深度融合。

至2021年中期评估,该重大研究计划已经完成三个首批集成领域方向遴选,包括:(1)新型核酸修饰的检测鉴定、功能调控与化学干预;(2)蛋白质糖基化和胆固醇化修饰的精准化学标记、合成、编辑与功能研究;(3)染色体蛋白质机器动态修饰与可塑性调控研究。

2 中期实施情况

“生物大分子动态修饰与化学干预”重大研究计划自正式启动以来,始终遵循“有限目标、稳定支持、集成升华、跨越发展”的总体思路,围绕化学与生命科学、医学交叉的前沿开展创新性研究,聚焦核酸和蛋白质等生物大分子的动态修饰,充分发挥化学和

生命科学、医学等多学科交叉合作的优势,在化学生物学工具发展、分子机制研究以及化学生物学干预手段开发等方面进行了深入的研究。本重大研究计划于2017年7月开始实施,至2021年11月中期评估时,共发布指南五次,总计收到申请书814份(其中培育项目738份、重点支持项目70份、集成项目4项、指导专家组战略研究项目2项)。经通讯评审和会议评审,正式资助项目141项(其中培育项目117项、重点支持项目19项、集成项目3项、指导专家组调研项目2项)。本重大研究计划(以下简称“项目”)进展顺利,取得了多项重要进展,产生了重要的国际影响。

2.1 发展核酸动态化学修饰的特异标记与检测工具,解析其调控机制和功能关系

本项目发展了一系列核酸动态化学修饰的特异标记和检测工具,解析了核酸动态化学修饰的调控机制和功能关系,为药物研发提供了潜在干预分子和新靶标;建立和发展了核酸动态修饰的化学标记与检测新方法;探索了核酸修饰、去修饰及动态识别的化学基础和分子机制,揭示了其生物学功能和识别机制等。代表性进展如下:

2.1.1 基因编辑和新型核酸修饰的检测鉴定及检测技术开发

通过优化CRISPR-Cas(Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeats-and CRISPR Associated)基因编辑技术的尺寸,开发了紧凑型St1Cas9^[1]和新型的极小型AsCas12f^[2]新型基因编辑系统,增强了活体递送效率,为开发易于递送的基因治疗方法和表观遗传修饰调控工具奠定了重要基础。发展了基于施陶丁格(Staudinger)还原反应的CRISPR调控体系对细胞内基因编辑进行化学干预调控,当对向导RNA(guide RNA, gRNA)进行有效化学脱保护后,恢复CRISPR系统活性^[3]。发展了特异性化学标记对胞嘧啶碱基编辑器(Cytosine Base Editor, CBE)中间体脱氧尿嘧啶修饰进行检测^[4];开发了可在全基因组水平进行灵敏、高效的基因编辑安全性评估的脱靶检测新技术,基于对脱靶编辑的新理解和认识,进一步发展了更为精准和安全的新型引导编辑新技术“HOPE”^[5]。

通过在脱氧胸苷三磷酸的4-位引入硒原子,实现了不依赖抗体的单碱基位点N6-甲基腺苷(N6-methyladenosine, m6A)检测^[6]。基于新发现的修饰敏感性RNA内切酶,结合高通量测序和生物信息分析,摆脱传统方法对抗体的依赖,实现全转录组

RNA 修饰的单碱基精度检测^[7]。同时,针对方法重复率低、假阳性高等问题,开发了一套分子和计算流程,通过对比人工合成不含修饰的标准 RNA 负对照库,系统评估了多种核酸修饰检测方法的可信度,并提出了新的校准和定量方法,为未来核酸修饰的精准调控提供研究基础^[8]。利用代谢标记开发了名为 m6A-label-seq 的方法,并成功绘制了人和鼠细胞全转录组 m6A 单碱基分辨率图谱^[9]。开发了单碱基分辨率的 N7-甲基鸟苷 (N7-Methylguanosine, m7G) 高通量测序技术 (m7G-miCLIP-seq), 绘制了真核生物 mRNA 内部的 m7G 分布图谱,发现该修饰具有物种保守性分布特征,为后续 m7G 的功能性研究提供了基本的技术和理论支撑^[10]。

2.1.2 修饰核酸功能调控的生物学研究

斑马鱼母源-合子转换过程 (Maternal-to-zygotic Transition, MZT) 伴随母源 RNA 和蛋白质的降解以及合子基因组激活。项目首次绘制了斑马鱼早期胚胎发育过程中 RNA 的 5-甲基胞嘧啶 (5-methylcytosine, m5C) 修饰图谱,鉴定了新的 m5C 结合蛋白 Y 框结合蛋白 1 (Y-box Binding Protein 1, YBX1), 揭示了 YBX1 通过招募 Pabpc1a 维持 m5C 修饰的母源信使 RNA (Messenger RNA, mRNA) 稳定性从而保证 MZT 有序进行,为全面解析斑马鱼胚胎发育过程中 mRNA 命运调控及细胞分化提供了重要依据^[11]。绘制了膀胱癌组织中 mRNA m5C 修饰图谱,发现癌症通路相关基因的 mRNA 倾向于高甲基化修饰,且与膀胱癌分级、淋巴结转移呈正相关,揭示 NSUN2 和 YBX1 介导 m5C 增强肝癌衍生生长因子 (Hepatoma-derived Growth Factor, HDGF) mRNA 的稳定性并调控实体瘤膀胱癌发生发展的分子机制,为膀胱癌预防和治疗提供了新的研究方向^[12]。

绘制了 SARS-CoV-2 病毒 RNA 的精细 m6A 修饰图谱,发现宿主甲基转移酶样蛋白 3 (Methyltransferase Like 3, METTL3) 主要介导病毒 RNA 3' 末端附近的修饰,使得含有修饰的病毒 RNA 被宿主识别并降解。然而病毒可通过剪接形成不含 m6A 修饰特征序列的 3' 非翻译区 (Untranslated Region, UTR), 来逃逸该降解过程。这一过程揭示了 RNA 甲基化修饰调控宿主细胞内病毒 RNA 滴度的重要调控功能,拓展了防治新型冠状病毒的新方向^[13]。同时, m6A 可改变病毒 RNA 的双链结构,削弱天然免疫识别受体视黄酸诱导基因-I 样受体家族 [Retinoid Acid-inducible

Gene-I (RIG-I)-like receptors, RLRs] 的识别作用,抑制宿主天然免疫信号活化,促进病毒的免疫逃逸^[14],这些研究为拓展病毒防治新方向、病毒 RNA 元件的免疫识别机制提供了新思路。通过对感染布尼亚病毒的病人血液标本进行转录组和表观转录组测序,发现免疫应答、炎症、血小板聚集等通路可能通过 m6A 依赖的途径调控,在病毒感染后 m6A 丰度显著降低,并伴随 m6A 修饰去甲基化酶 FTO 蛋白呈现高表达趋势^[15]。在单子叶植物中引入哺乳动物去甲基化酶 FTO 可以调控植物 m6A 修饰水平,过表达 FTO 可显著促进水稻分蘖形成和根系生长,增强光合作用效率和抗旱能力,从而实现促进植物生长,增大田产量和生物量的目的^[16]。

2.2 蛋白质动态修饰的发现、精准表征及重大疾病机制研究

本项目在新型蛋白质化学修饰发现与分析表征方面取得了可喜的进展。这些进展不仅整合了现有的分析技术,开发了活体状态下的多模态分析方法,还在具备自主知识产权的新型分析技术和仪器平台开发方面取得了突破。更为重要的是,这些新方法、新技术在癌症等重大疾病关键分子机制解析和标志物发现中得到了广泛的应用。代表性进展如下:

2.2.1 基于规模化、高通量生物质谱技术的生物大分子修饰发现

结合生化方法与生物质谱技术,发展了可用于生物体中位点特异性 N-和 O-糖基化以及含有修饰糖单元的完整糖肽鉴定技术^[17];建立了完整糖肽 N-糖链结构解析的新方法和软件,并利用该软件阐明了叶酸受体 FOLR1 的岩藻糖基化在肝癌细胞上皮间充质转化 (Epithelial-mesenchymal Transition, EMT) 进程中的作用^[18];阐明了嗜肺军团菌效应蛋白糖基转移酶 SetA 的底物选择机理^[19];发现糖酵解关键代谢酶 PGK1 上 T255 位点上的 O-GlcNAc 糖基化能显著增强 PGK1 的代谢酶活性,从而促进肿瘤的生长^[20]。

通过亲和纯化-质谱 (Affinity Purification-Mass Spectrometry, AP-MS) 等化学蛋白质组学策略研究蛋白质间的动态相互作用,探索翻译后修饰调控的分子机制。开发了具有高选择性、高时间分辨率的邻近标记蛋白质组学方法,绘制了活细胞中具有分钟级别时间分辨率的酪氨酸磷酸化修饰依赖动态蛋白质相互作用图谱^[21];开发了靶向精氨酸的交联剂,推动了交联质谱技术在复杂蛋白质复合物结构表征方面的应用^[22];发展了基于质量编码纳米

探针的胞内多酶活性质谱监测新方法,提出了信号转导过程中级联蛋白酶的激活顺序与活性水平,提出了一种蛋白激酶响应的人造级联纳米系统,实现激酶活性成像和磷酸化响应的药物释放^[23];开发了通用型的蛋白质瞬时激活技术^[24],实现了对多种生物大分子修饰过程的动态调控,发现了细胞程序性死亡过程中关键蛋白酶的系列底物,为理解和调控细胞程序性死亡提供了有力的工具。

研发了世界首个极紫外激光解离—质谱系统,可为深度挖掘蛋白质修饰信息提供丰富的碎片离子信息;分析了叶绿体膜相关色素—蛋白质复合物光损伤、降解和氧化过程的动态构象,增进了对光损伤分子机制的理解^[25];实现了对癌症免疫共刺激受体 CD28 酪氨酸磷酸化依赖蛋白质复合物的精准表征及功能分析^[26]。

2.2.2 超灵敏、高特异分析示踪技术表征的蛋白质修饰

开发高质量固态纳米孔的制备方法及其低噪声信号处理技术,为生物大分子动态构象变化和动态监测研究提供了新技术,发展了基于荧光和质谱的多模态分析方法,研究氧化应激下活性分子对病理标志蛋白巯基修饰的调控效应,探索其对肝损伤和抑郁症疾病发生发展的影响,为寻找治疗靶点及预后评价提供了新方法^[27];构建了一系列基于贵金属/层状金属有机框架的纳米探针,实现疾病相关活性生物分子及其外泌体等特征靶标的多参数原位精准分析^[28];开发了一种基因编码的二维红外探针 N3Y,实现了酶活性位点飞秒至皮秒的动力学和构象灵活性监测^[29];提出了一种光控蛋白酪氨酸硝化的通用策略,并用于研究酪氨酸硝化对 α -突触蛋白自组装行为的影响^[30]。

针对重大疾病诊疗研究中对有效分子识别工具需求大的现状,发展了系列特异、灵敏的疾病相关标志物的核酸适配体诊疗探针,为癌症等重大疾病的早期诊断和个性化治疗提供重要的技术支持^[31];针对神经生物学领域缺乏高灵敏度、高成像信噪比荧光探针的问题,制备了适用于监测膜电位、神经递质等重要生理信号的复合型荧光膜电位探针^[32];实现了针对活细胞上内源性膜蛋白的配体筛选,并通过基于 DNA 的亲亲和标记技术鉴定组蛋白去乙酰化酶的复合物^[33]。

2.2.3 冷冻电镜结构鉴定技术发现蛋白质新化学修饰

提出冷冻电镜结构鉴定技术可以用于蛋白质新

化学修饰的发现^[34],解析了黏附类 G-蛋白偶联受体 (adhesion G Protein-Coupled Receptors, aGPCR) GPR97 在糖皮质激素激活状态下与 G 蛋白复合物的三维结构,并首次发现 G-蛋白 α -亚基 C 末端上存在棕榈酰化修饰^[35]。改良了冷冻电镜膜蛋白样品处理过程,尽可能减少对蛋白质翻译后修饰的影响,揭示了多个重要膜蛋白中特定位点的不同类型化学修饰;此外还解析了在不同配体结合条件下的人源钙感受体 (Calcium-sensing Receptor, CaSR) 的三维结构,并首次揭示了 CaSR 在 L-色氨酸和钙离子两种激活剂共同协作的激活机制^[36]。

2.3 糖、脂修饰的时空分析和功能研究

项目通过分子探针的开发为研究糖、脂修饰的生物学功能提供有力的化学工具,通过糖脂修饰组学数据的获取为后续的生物学功能研究提供了丰富的信息和线索,通过分析平台的建立为临床疾病标志物的发现和检测提供了技术保障,尤其是多个课题组协同攻关,发挥各自的科研特色和技术优势,交叉合作共同攻克科学难题。代表性进展如下:

2.3.1 糖、脂及衍生化修饰的化学标记

非天然糖代谢标记是广泛用于标记和鉴定蛋白质糖基化的策略,然而目前通常使用的全乙酰化非天然糖探针存在严重的副反应,极大地影响了糖基化修饰底物的检测。项目解析了该类非天然糖产生非酶催化反应的化学机理,并基于此反应机理,设计开发了新一代标记效率和特异性高的非天然糖探针^[37]。细胞内的糖类和脂质分子除了能在蛋白质上直接产生翻译后修饰外,它们在代谢过程中的活性中间产物也会产生次级的衍生化修饰,这些修饰同样在调控蛋白质结构和功能中发挥着重要作用。通过自主开发的可标记衣康酸修饰的化学探针,实现了衣康酸修饰底物蛋白和位点的精准鉴定,并揭示了衣康酸通过翻译后修饰调控细胞坏死通路和细菌能量代谢通路关键蛋白,从而介导其抗炎和抗菌活性的分子机制^[38]。

项目基于空间邻近标记策略发展了新一代底物探针并与非天然糖代谢标记技术相结合,通过串联富集流程分析内质网蛋白质糖基化修饰蛋白^[39];发展了通过光敏化学标记反应在活细胞中捕获和标记生物大分子的技术方法,克服过氧化氢对生命体系的破坏,在纳米尺度下实现生物大分子邻近标记,有望在未来实现活细胞内糖、脂修饰的空间特异性标记和富集^[40]。此外,针对糖、脂修饰的成像,发展了基于点击化学的膨胀显微成像技术 (Expansion

Microscopy, ExM), 提供了一种通用、便捷的策略对各种生物分子进行超分辨荧光成像, 并将该技术应用于原代细胞和脑组织切片等生物体系中, 首次实现了对多种脂质、聚糖以及小分子的 ExM 成像^[41]。

2.3.2 糖、脂修饰的生物功能研究

O-乙酰氨基葡萄糖 (O-linked Beta-N-acetylglucosamine, O-GlcNAc) 修饰是细胞中一种重要的单糖基化修饰, 参与调控细胞分化、发育和免疫反应等众多重要的生物学进程, 与多种疾病的发生和发展密切相关。项目发展了 O-GlcNAc 修饰位点鉴定技术, 发现 O-GlcNAc 动态修饰可调节甲硫氨酸代谢关键酶 AHCY 活性, 进一步影响胚胎干细胞命运决定^[42]; 利用新一代的非天然糖, 还发现干细胞体系中重要转录因子 ESRRB 上的 Ser25 存在糖基化修饰, 可影响胚胎干细胞的多能性和自我更新能力^[37]。

蛋白质的胆固醇修饰是一种独特且罕见的脂基化修饰, 迄今为止仅在两种蛋白 Hedgehog (Hh) 和 Smoothed (SMO) 上被发现。本项目发现胆固醇合成通路的酶 EBP 可以结合 SMO, 抑制其胆固醇化修饰, 从而调控 Hedgehog 信号通路活性, EBP 突变改变了这种调控作用, 导致产生发育疾病; 还发现钙离子可以显著增强 SMO 的胆固醇化修饰, 且在细胞内 Hedgehog 通过增加 SMO 囊泡内的钙离子浓度, 从而使得 SMO 蛋白运输到原初纤毛, 激活下游信号^[43]。

2.4 蛋白质及糖脂动态修饰的离体与在体化学新方法

项目发展蛋白质动态修饰的离体与在体化学新方法, 包括翻译后修饰蛋白质的化学合成、基于基因密码子拓展技术的修饰蛋白质在体合成等, 为解码动态修饰的功能与机制提供了新思路与新策略, 突破了传统遗传学方法的瓶颈, 更好地阐明了蛋白质动态修饰背后的化学事件与化学机制。项目还建立了糖基化合成新方法并开展了其在糖肽合成中的应用。代表性进展如下:

2.4.1 带有特定翻译后修饰的蛋白质的离体、在体合成及动态修饰的分子机制解析

蛋白质化学合成是获取位点特异翻译后修饰蛋白质样品和相关探针分子的重要途径。项目在蛋白酰肼法基础上, 发展了非经典泛素修饰蛋白的化学合成新方法体系, 实现了复杂非经典泛素链及泛素化蛋白样品的高效制备, 如泛素化组蛋白、泛素化-synuclein、泛素化肾上腺素能受体 β_2 (Beta 2-

adrenergic Receptor, β_2 AR) 等^[44]; 使用不可降解泛素链探针识别 K29 链, 筛查泛素链互作蛋白, 开发了 K29 链特异性识别抗体, 实现了 K29 泛素链检测、成像及组学应用^[45]。

在丝氨酸/苏氨酸多肽连接反应基础上, 发展了半胱氨酸/青霉素连接等反应^[46]; 合成了具有丝氨酸侧链磷酸化和赖氨酸侧链乙酰化等翻译后修饰的 HMG1a 蛋白; 发展了光催化不对称合成多种 β -硫代/硒代氨基酸手性对映体的方法; 拓展了自然化学连接技术在蛋白质化学合成中的应用范围^[47]; 高效合成了糖基化新冠病毒刺突蛋白受体结合域^[48]。发展了基于自环化酚羟基保护基 γ -氨基丁酸的可移除骨架修饰策略, 合成了半胱氨酸棕榈酰化跨膜肽^[49] 及半胱氨酸棕榈酰化膜蛋白 IFITM3^[50]; 发展了炔酰胺介导的硫代酰胺取代的多肽片段连接与硫代环肽的合成^[51]。

基因密码子拓展系统的核心是使用具有生物正交性的氨酰 tRNA 合成酶 (Aminoacyl-tRNA Synthetase, aaRS) 和 tRNA 对, 用于翻译后修饰非天然氨基酸的位点特异性在体识别。发明了一种基于嵌合体设计的蛋白质工程改造新方法, 通过对 aaRS/tRNA 系统和非天然氨基酸合成系统的改造, 利用嵌合体基因密码子拓展系统, 将包括酪氨酸羟基化修饰 (L-Dopa) 在内的十余种非天然氨基酸位点特异性地引入到大肠杆菌和哺乳动物细胞的蛋白质中^[52]; 将包含乙酰化、巴豆酰化赖氨酸在内的系列非天然氨基酸位点特异性地高效引入^[53]; 构建了不同环状构型的噬菌体展示多肽库^[54], 并针对细胞内的多种靶标蛋白获得了具有高亲和力和高特异性的多肽识别分子^[55]。

2.4.2 蛋白质离体与在体化学在动态修饰分子机制解析中的应用

利用新方法开发了新型泛素化蛋白探针, 应用于生化评价、组学筛查及生物物理研究。使用化学合成酶促反应中间体模拟物, 解决了 E3 动态催化机制的难题, 阐明了 N 端降解 E3 酶 Ubr1 介导的连续泛素化原理^[56]; 使用化学合成的泛素化底物, 解析了 AAA+ ATPase p97 作用机制, 捕获了 p97 识别配体 Npl4 的动态构象, 及 p97 的 D1 和 D2 环的“动力冲程”构象, 阐明了药物分子抑制 p97 的原理^[57]; 发现了泛素信号异常调控视黄酸代谢等参与人类孤独症谱系障碍自闭症等神经精神系统疾病的新机制^[58]; 解析了泛素信号与细胞自噬调控细胞胁迫反应、肿瘤发生发展、致病微生物感染等分子机制^[59];

阐明了泛素结合自噬受体 Optineurin 识别 TBK1 激酶、线性泛素链和 FIP200 以及受 TBK1 磷酸化调控的分子机制,揭示了 Optineurin 和 TBK1 基因突变引起渐冻症 (Amyotrophic Lateral Sclerosis, ALS) 等神经退行性疾病的机理^[60];发现了促癌转录因子 GFI1 泛素化降解在胃癌发生发展中的功能与调控机制^[61]和泛素—蛋白酶体通过降解 Sin1 调控 mTORC2 活性的新机制^[62]。

2.5 染色质动态修饰的调控机制与功能解析

真核生物染色质具有复杂的化学修饰,参与调控多项与 DNA 相关的生物学过程,其修饰异常是肿瘤等重大疾病发生发展的重要原因。项目在染色质修饰方面取得了多项重要进展,鉴定了多个染色体蛋白质机器修饰的新型阅读器蛋白,阐明多个染色体蛋白质机器动态修饰在染色质高级结构调控、基因转录、细胞分裂与增殖、胚胎发育过程中的作用机制,并获得多个靶向染色体蛋白质机器动态修饰的抑制剂,为肿瘤治疗及抗真菌药物研发提供指导。代表性进展如下:

2.5.1 组蛋白动态修饰的生理病理功能解析

发现了多种细胞在外界信号的刺激下,基因体 (Gene Body) 区的组蛋白 H3.3 第 31 位丝氨酸被激酶 IKK α 磷酸化 (H3.3S31ph),增强组蛋白甲基转移酶 SETD2 的催化活性,使组蛋白 H3.3 第 36 位的赖氨酸被三甲基化 (H3.3K36me3),揭示了组蛋白 H3.3S31ph 促进 H3.3K36me3 顺式激活并促进基因表达的独特调控机理^[63]。

2.5.2 组蛋白新型阅读器蛋白的鉴定及生理病理功能解析

植物组蛋白 H3 第 9 位赖氨酸的二甲基化修饰 (H3K9me2) 是异染色质标记,与 DNA 甲基化修饰相互作用,形成正反馈循环以维持异染色质结构、基因沉默和基因组稳定性。本项目发现拟南芥蛋白 ADCP1 (The Agenet Domain Containing Protein 1) 能特异性识别 H3K9me2,且组蛋白修饰 H3K36me2、DNMT3A 招募和 DNA 甲基化修饰间存在正相关^[64]。

最近的研究发现组蛋白 H3 第 5 位谷氨酰胺能被 5-羟色胺修饰 (H3Q5ser),在基因转录激活过程中起着重要作用,但是其阅读器蛋白仍然未知。本项目发现 WDR5 是组蛋白 H3Q5ser 的阅读器蛋白,能特异性识别组蛋白 H3Q5ser 修饰,上调组蛋白 H3K4me3 水平,激活增殖相关基因表达,促进神经母细胞瘤细胞增殖^[65]。

2.6 生物大分子动态修饰的化学干预及应用

项目将生物大分子动态修饰过程中的靶标发现与功能确证和化合物筛选相融合,在新型小分子探针设计及筛选技术开发、发现新型小分子化合物并实现重要靶标动态修饰的化学干预,以及助力药物研究与候选药物开发等方向上都取得了重要进展。代表性进展如下:

2.6.1 开发新型小分子筛选技术,为生物大分子修饰的化学干预提供分子工具和技术平台

项目开发了含有饱和杂环、螺环和大环的 DNA 编码化合物库,探索新型的非传统的小分子的化学空间,并发现了多个重要蛋白质的活性小分子^[66]。实现了活细胞表面膜蛋白靶标的特异性标记。该方法能够更广泛地应用于包括 GPCR 和离子通道等多种膜蛋白靶标,在活细胞环境中实现利用 DEL 来发现新颖的药物先导化合物^[33],并发展了第三代动态 DEL,实现了对 BRD4 等药物靶点在非固载天然环境下的抑制剂筛选^[67]。

2.6.2 发现新型小分子化合物,实现重要蛋白质动态修饰的化学干预

项目基于分子动力学模拟和弹性网络的翻译后修饰位点与功能位点的调控数据库,针对 Rho 亚家族的磷酸化位点,发现了其全新变构调控口袋,并获得其首个共价变构调控小分子化合物 DC-RhoIn^[68];获得修饰 K49 位点化合物,通过小分子-蛋白复合物的晶体结构,获得了调控 LC3 蛋白功能的小分子化合物 DC-LC3in-D5^[69],该成果已转让至企业进行新药研发。

去乙酰化酶 SIRT6 在肿瘤、代谢、炎症等多种病理和生理过程中发挥重要作用。项目获得 SIRT6 小分子别构激动剂 MDL-800,该分子能特异性地激动 SIRT6 的去乙酰化酶活性,通过阻滞肝癌细胞的细胞周期抑制肝癌细胞生长,为探索 SIRT6 去乙酰化在各类生理和病理中的功能和机制研究提供了高特异性探针^[70]。

发现核受体 Nur77 通过募集辅抑制因子复合物以及诱导 HDAC 组蛋白去乙酰化,阻断脂肪吸收和转运因子的转录和表达,重塑脂代谢微环境,抑制乳腺癌细胞生长^[71]。发现未靶激酶 STK19 是 NRAS 的上游关键调控因子,能够磷酸化修饰 NRAS 特异位点 S89,促进黑色素瘤发生发展,进而发展了高活性、高选择性的 STK19 抑制剂,阐明 STK19 调控 NRAS 特异位点磷酸化动态修饰的分子机制,并发展了 SPAK 别构抑制剂 ZT-1a,验证了

激酶 SPAK 作为脑卒中药物靶标的可行性^[72]。

YEATS domain 是一类组蛋白乙酰化修饰的阅读器,能结合组蛋白乙酰化、巴豆酰化等修饰,调控基因转录等,与白血病等疾病的致病因素相关。项目基于 AF9 YEATS domain 的结构,设计并合成了对 AF9 有高选择性的环肽抑制剂,在细胞中能选择性抑制 AF9 与靶基因 myc 的结合,抑制其表达^[73]。

2.6.3 发现新型小分子化合物,实现重要核酸动态修饰的化学干预

项目发现核黄素单核苷酸和嘧啶氧铵盐可以分别作为 m6A 和 i6A RNA 的化学去修饰酶,通过下调细胞中相应的 RNA 修饰水平干预细胞的表型和植物种子的发育状态,揭示了化学分子和生物相容反应可以通过改变表观遗传学状态改变细胞命运和组织发育^[74]。

靶向干预 RNA 修饰酶是国际上药物新靶标研究的前沿领域。发现了 m6A 去甲基化酶 FTO 的抑制剂 FB23-2 选择性抑制急性髓系白血病 (Acute Myelogenous Leukemia, AML) 细胞中 FTO 的功能,上调关键基因 mRNA 上的 m6A 修饰,改变关键蛋白质的丰度,从而抑制 AML 细胞增殖,并且在 PDX 小鼠模型上展现抗 AML 的治疗效果^[75];此外,还发现 FTO 抑制剂 Dac51 调节肿瘤免疫逃逸抗肿瘤新机制^[76]。

2.6.4 助力药物基础研究与候选药物开发

针对糖酵解通路中的一个重要代谢酶 PGAM1,开发了 HKB99 及 KH3 等新型高效特异性 PGAM1 小分子抑制剂;并发现该化合物在多种肿瘤及耐药模型上都展现了优于现有一线药物的疗效,揭示了 PGAM1 可作为一个抗肿瘤的潜在全新药靶^[77],成果已转让至企业进行新药研发。氯胺酮作为大脑内重要的谷氨酸门控离子通道 NMDA 受体的阻断剂,其与受体如何相互作用不清晰。通过分子动力学模拟分析了氯胺酮与受体的结合模式,阐明了氯胺酮与 NMDA 受体结合的分子基础^[78]。根据冠状病毒主蛋白酶结构特征,通过快速设计、合成和活性研究,发现了能强效抑制新冠病毒主蛋白酶和病毒复制的拟肽类候选药物 DC402234 (FB2001)。经美国 FDA 有条件批准,于 2021 年 3 月在 Frontage I 期研究中心启动 I 期临床^[79]。

通过构建人类器官模型,揭示了 SARS-CoV-2 病毒对宿主细胞一级感染与二级感染的途径,并发现宿主细胞应答一级感染与二级感染的潜在机制;利用可视化类器官平台,开展了药效与药代动力学

研究,发现了干预一级感染与二级感染的先导化合物,为口服抗新冠药物的研发奠定基础^[80]。

3 下一步实施规划

本重大研究计划的实施促进了化学与生命、医学等学科的进一步交叉融合,全面推进了以化学生物学为核心的多学科交叉融合。推动了化学与生物、医学、信息等学科以及化学内部各学科的交叉合作。根据本重大研究计划的特点和国际上该领域的发展趋势,未来几年将在以下几个方面继续推进:

(1) 重视培养以化学生物学为核心的交叉研究青年人才,打造多研究方向共同发展的前沿研究人才梯队,进一步扩大我国进行化学与生物、医学、信息等学科交叉的前沿研究队伍;

(2) 在前期项目成果的基础上,继续凝练集成方向。将以灵活多变的方式遴选、组织集成项目,进一步加大化学与其他学科的交叉力度,加强生物大分子动态修饰的化学干预方向的研究;

(3) 持续推进我国化学生物学学科的发展。以化学生物学为代表的交叉学科近年来得到了飞速成长,但相对其它传统学科而言,其发展的时间较短、基础相对薄弱。因此,更需要通过重大研究计划的支持,在注重学科前沿研究与队伍创新能力培养的同时,继续推动化学生物学等交叉学科的发展,扩大在国际上的学术影响力。

致谢 本文根据“生物大分子动态修饰与化学干预”重大研究计划中期汇报内容整理撰写,在此特别向对该重大研究计划做出贡献的指导专家组、管理工作组、秘书组和项目全体参研团队表示衷心的感谢。

参 考 文 献

- [1] Zhang YF, Zhang HY, Xu XX, et al. Catalytic-state structure and engineering of *Streptococcus thermophilus* Cas9. *Nature Catalysis*, 2020, 3(10): 813–823.
- [2] Wu ZW, Zhang YF, Yu HP, et al. Programmed genome editing by a miniature CRISPR-Cas12f nuclease. *Nature Chemical Biology*, 2021, 17(11): 1132–1138.
- [3] Wang SR, Wu LY, Huang HY, et al. Conditional control of RNA-guided nucleic acid cleavage and gene editing. *Nature Communications*, 2020, 11: 91.
- [4] Shu XT, Liu MH, Lu ZK, et al. Genome-wide mapping reveals that deoxyuridine is enriched in the human centromeric DNA. *Nature Chemical Biology*, 2018, 14(7): 680–687.

- [5] Zhuang Y, Liu JL, Wu H, et al. Increasing the efficiency and precision of prime editing with guide RNA pairs. *Nature Chemical Biology*, 2022, 18(1): 29–37.
- [6] Hong TT, Yuan YS, Chen ZG, et al. Precise antibody-independent m6A identification via 4SedTTP-involved and FTO-assisted strategy at single-nucleotide resolution. *Journal of the American Chemical Society*, 2018, 140(18): 5886–5889.
- [7] Zhang Z, Chen LQ, Zhao YL, et al. Single-base mapping of m6A by an antibody-independent method. *Science Advances*, 2019, 5(7): eaax0250.
- [8] Zhang Z, Chen T, Chen HX, et al. Systematic calibration of epitranscriptomic maps using a synthetic modification-free RNA library. *Nature Methods*, 2021, 18(10): 1213–1222.
- [9] Shu X, Cao J, Cheng MH, et al. A metabolic labeling method detects m6A transcriptome-wide at single base resolution. *Nature Chemical Biology*, 2020, 16(8): 887–895.
- [10] Malbec L, Zhang T, Chen YS, et al. Dynamic methylome of internal mRNA N7-methylguanosine and its regulatory role in translation. *Cell Research*, 2019, 29(11): 927–941.
- [11] Yang Y, Wang L, Han X, et al. RNA 5-methylcytosine facilitates the maternal-to-zygotic transition by preventing maternal mRNA decay. *Molecular Cell*, 2019, 75(6): 1188–1202. e11.
- [12] Chen X, Li A, Sun BF, et al. 5-methylcytosine promotes pathogenesis of bladder cancer through stabilizing mRNAs. *Nature Cell Biology*, 2019, 21(8): 978–990.
- [13] Zhang T, Yang Y, Xiang ZC, et al. N6-methyladenosine regulates RNA abundance of SARS-CoV-2. *Cell Discovery*, 2021, 7: 7.
- [14] Qiu WN, Zhang QY, Zhang R, et al. N6-methyladenosine RNA modification suppresses antiviral innate sensing pathways via reshaping double-stranded RNA. *Nature Communications*, 2021, 12: 1582.
- [15] Wang YF, Han SQ, Ran RX, et al. A longitudinal sampling study of transcriptomic and epigenetic profiles in patients with thrombocytopenia syndrome. *Nature Communications*, 2021, 12: 5629.
- [16] Yu Q, Liu S, Yu L, et al. RNA demethylation increases the yield and biomass of rice and potato plants in field trials. *Nature Biotechnology*, 2021, 39(12): 1581–1588.
- [17] Zeng WF, Cao WQ, Liu MQ, et al. Precise, fast and comprehensive analysis of intact glycopeptides and modified glycans with pGlyco3. *Nature Methods*, 2021, 18(12): 1515–1523.
- [18] Shen JC, Jia L, Dang LY, et al. StrucGP: *de novo* structural sequencing of site-specific N-glycan on glycoproteins using a modularization strategy. *Nature Methods*, 2021, 18(8): 921–929.
- [19] Gao L, Song QT, Liang H, et al. *Legionella* effector SetA as a general O-glucosyltransferase for eukaryotic proteins. *Nature Chemical Biology*, 2019, 15(3): 213–216.
- [20] Nie H, Ju HX, Fan JY, et al. O-GlcNAcylation of PGK1 coordinates glycolysis and TCA cycle to promote tumor growth. *Nature Communications*, 2020, 11: 36.
- [21] Ke M, Yuan XA, He A, et al. Spatiotemporal profiling of cytosolic signaling complexes in living cells by selective proximity proteomics. *Nature Communications*, 2021, 12: 71.
- [22] Jones AX, Cao Y, Tang YL, et al. Improving mass spectrometry analysis of protein structures with arginine-selective chemical cross-linkers. *Nature Communications*, 2019, 10: 3911.
- [23] Zheng FF, Meng TT, Jiang DF, et al. Nanomediator-effector cascade systems for amplified protein kinase activity imaging and phosphorylation-induced drug release *in vivo*. *Angewandte Chemie International Edition*, 2021, 60(39): 21565–21574.
- [24] Wang JE, Liu YA, Liu YJ, et al. Time-resolved protein activation by proximal decaging in living systems. *Nature*, 2019, 569(7757): 509–513.
- [25] Zhou Y, Liu ZY, Yao MD, et al. Elucidating the molecular mechanism of dynamic photodamage of photosystem II membrane protein complex by integrated proteomics strategy. *CCS Chemistry*, 2022, 4(1): 182–193.
- [26] Chen X, Ji SP, Liu ZY, et al. Motif-dependent immune coreceptor interactome profiling by photoaffinity chemical proteomics. *Cell Chemical Biology*, 2022, 29(6): 1024–1036. e5.
- [27] Ding Q, Tian Y, Wang X, et al. Oxidative damage of tryptophan hydroxylase-2 mediated by peroxisomal superoxide anion radical in brains of mouse with depression. *Journal of the American Chemical Society*, 2020, 142(49): 20735–20743.
- [28] Wang MN, Chen Y, Cai WJ, et al. *In situ* self-assembling Au-DNA complexes for targeted cancer bioimaging and inhibition. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2020, 117(1): 308–316.
- [29] Wang L, Zhang J, Han MJ, et al. A genetically encoded two-dimensional infrared probe for enzyme active-site dynamics. *Angewandte Chemie International Edition*, 2021, 60(20): 11143–11147.
- [30] Long TF, Liu L, Tao YQ, et al. Light-controlled tyrosine nitration of proteins. *Angewandte Chemie International Edition*, 2021, 60(24): 13414–13422.
- [31] Zheng LY, Hu XX, Wu H, et al. *In vivo* monocyte/macrophage-hitchhiked intratumoral accumulation of nanomedicines for enhanced tumor therapy. *Journal of the American Chemical Society*, 2020, 142(1): 382–391.

- [32] Liu SZ, Lin C, Xu YX, et al. A far-red hybrid voltage indicator enabled by bioorthogonal engineering of rhodopsin on live neurons. *Nature Chemistry*, 2021, 13 (5): 472—479.
- [33] Huang YR, Meng L, Nie QG, et al. Selection of DNA-encoded chemical libraries against endogenous membrane proteins on live cells. *Nature Chemistry*, 2021, 13(1): 77—88.
- [34] Jiang HL. Cryo-EM structure determination captures new chemical modification of protein. *Science China Life Sciences*, 2021, 64(10): 1781—1783.
- [35] Ping YQ, Mao CY, Xiao P, et al. Structures of the glucocorticoid-bound adhesion receptor GPR97-Go complex. *Nature*, 2021, 589(7843): 620—626.
- [36] Ling SL, Shi P, Liu SL, et al. Structural mechanism of cooperative activation of the human calcium-sensing receptor by Ca²⁺ ions and L-tryptophan. *Cell Research*, 2021, 31 (4): 383—394.
- [37] Qin K, Zhang H, Zhao ZQ, et al. Protein S-glycosylation through an elimination-addition mechanism. *Journal of the American Chemical Society*, 2020, 142(20): 9382—9388.
- [38] Qin W, Zhang YL, Tang HA, et al. Chemoproteomic profiling of itaconation by bioorthogonal probes in inflammatory macrophages. *Journal of the American Chemical Society*, 2020, 142(25): 10894—10898.
- [39] Li Y, Tian CP, Liu KK, et al. A clickable APEX probe for proximity-dependent proteomic profiling in yeast. *Cell Chemical Biology*, 2020, 27(7): 858—865. e8.
- [40] Wang PC, Tang W, Li ZY, et al. Mapping spatial transcriptome with light-activated proximity-dependent RNA labeling. *Nature Chemical Biology*, 2019, 15 (11): 1110—1119.
- [41] Sun DE, Fan XQ, Shi YJ, et al. Click-ExM enables expansion microscopy for all biomolecules. *Nature Methods*, 2021, 18(1): 107—113.
- [42] Zhu Q, Cheng XJ, Cheng YX, et al. O-GlcNAcylation regulates the methionine cycle to promote pluripotency of stem cells. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2020, 117 (14): 7755—7763.
- [43] Qiu ZP, Hu A, Song BL. The 3-beta-hydroxysteroid-delta (8), delta (7)-isomerase EBP inhibits cholesterylation of smoothened. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular and Cell Biology of Lipids*, 2021, 1866 (12): 159041.
- [44] Li YL, Heng JE, Sun DM, et al. Chemical synthesis of a full-length G-protein-coupled receptor β_2 -adrenergic receptor with defined modification patterns at the C-terminus. *Journal of the American Chemical Society*, 2021, 143(42): 17566—17576.
- [45] Yu YY, Zheng QY, Erramilli SK, et al. K29-linked ubiquitin signaling regulates proteotoxic stress response and cell cycle. *Nature Chemical Biology*, 2021, 17 (8): 896—905.
- [46] Tan Y, Li JS, Jin K, et al. Cysteine/penicillamine ligation independent of terminal steric demands for chemical protein synthesis. *Angewandte Chemie International Edition*, 2020, 59(31): 12741—12745.
- [47] Yin H, Zheng M, Chen H, et al. Stereoselective and Divergent Construction of beta-Thiolated/Selenolated Amino Acids via Photoredox-Catalyzed Asymmetric Giese Reaction. *Journal of the American Chemical Society*, 2020, 142(33): 14201—14209.
- [48] Ye FR, Zhao J, Xu P, et al. Synthetic homogeneous glycoforms of the SARS-CoV-2 spike receptor-binding domain reveals different binding profiles of monoclonal antibodies. *Angewandte Chemie International Edition*, 2021, 60(23): 12904—12910.
- [49] Huang DL, Montigny C, Zheng Y, et al. Chemical synthesis of native S-palmitoylated membrane proteins through removable-backbone-modification-assisted Ser/thr ligation. *Angewandte Chemie International Edition*, 2020, 59(13): 5178—5184.
- [50] Huang DL, Li Y, Liang J, et al. The new salicylaldehyde S, S-propanedithioacetal ester enables N-to-C sequential native chemical ligation and Ser/thr ligation for chemical protein synthesis. *Journal of the American Chemical Society*, 2020, 142(19): 8790—8799.
- [51] Yang JH, Wang CL, Xu SL, et al. Ynamide-mediated thiopeptide synthesis. *Angewandte Chemie International Edition*, 2019, 58(5): 1382—1386.
- [52] Ding WL, Zhao HX, Chen YL, et al. Chimeric design of pyrrolysyl-tRNA synthetase/tRNA pairs and canonical synthetase/tRNA pairs for genetic code expansion. *Nature Communications*, 2020, 11: 3154.
- [53] Wu D, Zhang YF, Tang ZH, et al. Creation of a yeast strain with co-translationally acylated nucleosomes. *Angewandte Chemie International Edition*, 2022, 61 (30): e202205570.
- [54] Lu SM, Wu YP, Li JJ, et al. Directed disulfide pairing and folding of peptides for the *de novo* development of multicyclic peptide libraries. *Journal of the American Chemical Society*, 2020, 142(38): 16285—16291.

- [55] Zheng XL, Li ZR, Gao W, et al. Condensation of 2-((alkylthio)(aryl)methylene) malononitrile with 1, 2-aminiothiol as a novel bioorthogonal reaction for site-specific protein modification and peptide cyclization. *Journal of the American Chemical Society*, 2020, 142(11): 5097–5103.
- [56] Pan M, Zheng QY, Wang TA, et al. Structural insights into Ubr1-mediated N-degron polyubiquitination. *Nature*, 2021, 600(7888): 334–338.
- [57] Pan M, Yu YY, Ai HS, et al. Mechanistic insight into substrate processing and allosteric inhibition of human p97. *Nature Structural & Molecular Biology*, 2021, 28(7): 614–625.
- [58] Hao ZJ, Wu QH, Li ZW, et al. Maternal exposure to triclosan constitutes a yet unrecognized risk factor for autism spectrum disorders. *Cell Research*, 2019, 29(10): 866–869.
- [59] Lu Y, Qiu Y, Chen P, et al. ER-localized Hrd1 ubiquitinates and inactivates Usp15 to promote TLR4-induced inflammation during bacterial infection. *Nature Microbiology*, 2019, 4(12): 2331–2346.
- [60] Zhou ZX, Liu JP, Fu T, et al. Phosphorylation regulates the binding of autophagy receptors to FIP200 Claw domain for selective autophagy initiation. *Nature Communications*, 2021, 12: 1570.
- [61] Kuai XL, Li L, Chen R, et al. SCFFBXW7/GSK3 β -mediated GFI1 degradation suppresses proliferation of gastric cancer cells. *Cancer Research*, 2019, 79(17): 4387–4398.
- [62] Cui BH, Gong LY, Chen M, et al. CUL5-SOCS6 complex regulates mTORC2 function by targeting Sin1 for degradation. *Cell Discovery*, 2019, 5: 52.
- [63] Armache A, Yang SA, Martinez de Paz A, et al. Histone H3.3 phosphorylation amplifies stimulation-induced transcription. *Nature*, 2020, 583(7818): 852–857.
- [64] Weinberg DN, Papillon-Cavanagh S, Chen HF, et al. The histone mark H3K36me2 recruits DNMT3A and shapes the intergenic DNA methylation landscape. *Nature*, 2019, 573(7773): 281–286.
- [65] Zhao JE, Chen WB, Pan Y, et al. Structural insights into the recognition of histone H3Q5 serotonylation by WDR5. *Science Advances*, 2021, 7(25): eabf4291.
- [66] Wang XA, Liu JX, Yan ZQ, et al. Diversified strategy for the synthesis of DNA-encoded oxindole libraries. *Chemical Science*, 2021, 12(8): 2841–2847.
- [67] Deng YQ, Peng JZ, Xiong F, et al. Selection of DNA-encoded dynamic chemical libraries for direct inhibitor discovery. *Angewandte Chemie International Edition*, 2020, 59(35): 14965–14972.
- [68] Sun ZY, Zhang H, Zhang YY, et al. Rho family proteins: covalent inhibitors allosterically block the activation of rho family proteins and suppress cancer cell invasion. *Advanced Science*, 2020, 7(14): 2070079.
- [69] Fan SJ, Yue LY, Wan W, et al. Inhibition of autophagy by a small molecule through covalent modification of the LC3 protein. *Angewandte Chemie International Edition*, 2021, 60(50): 26105–26114.
- [70] Huang ZM, Zhao JX, Deng W, et al. Identification of a cellularly active SIRT6 allosteric activator. *Nature Chemical Biology*, 2018, 14(12): 1118–1126.
- [71] Yang PB, Hou PP, Liu FY, et al. Blocking PPAR γ interaction facilitates Nur77 interdiction of fatty acid uptake and suppresses breast cancer progression. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2020, 117(44): 27412–27422.
- [72] Zhang JW, Bhuiyan MIH, Zhang T, et al. Modulation of brain cation-Cl-cotransport via the SPAK kinase inhibitor ZT-1a. *Nature Communications*, 2020, 11: 78.
- [73] Jiang YX, Chen GC, Li XM, et al. Selective targeting of AF $_9$ YEATS domain by cyclopeptide inhibitors with preorganized conformation. *Journal of the American Chemical Society*, 2020, 142(51): 21450–21459.
- [74] Lan L, Sun YJ, Jin XY, et al. A light-controllable chemical modulation of m6A RNA methylation. *Angewandte Chemie International Edition*, 2021, 60(33): 18116–18121.
- [75] Huang Y, Su R, Sheng Y, et al. Small-molecule targeting of oncogenic FTO demethylase in acute myeloid leukemia. *Cancer Cell*, 2019, 35(4): 677–691. e10.
- [76] Liu Y, Liang GH, Xu HJ, et al. Tumors exploit FTO-mediated regulation of glycolytic metabolism to evade immune surveillance. *Cell Metabolism*, 2021, 33(6): 1221–1233. e11.
- [77] Huang K, Liang Q, Zhou Y, et al. A novel allosteric inhibitor of phosphoglycerate mutase 1 suppresses growth and metastasis of non-small cell lung cancer. *Cell Metabolism*, 2019, 30(6): 1107–1119. e8.
- [78] Zhang YY, Ye F, Zhang TT, et al. Structural basis of ketamine action on human NMDA receptors. *Nature*, 2021, 596(7871): 301–305.
- [79] Dai W, Zhang B, Jiang X-M, et al. Structure-based design of antiviral drug candidates targeting the SARS-CoV-2 main protease. *Science*, 2020, 368(6497): 1331–1335.
- [80] Wang W, Yang F, Lin J, et al. Modeling of COVID-19 disease disparity in gastric organoids revealed the spatiotemporal dynamics of SARS-CoV-2 infectivity. *Journal of Molecular Cell Biology*, 2022, 14(2): mjac007.

Medium-term Research Development of Major Research Plan “Dynamic Modifications of Biomacromolecules and Chemical Intervention”

Xiwen Xing¹ Peng R. Chen² Jiarui Wu³ Hualiang Jiang⁴ Junlin Yang⁵ Yan Zhang^{5*}

1. *College of Life Science and Technology, Jinan University, Guangzhou 510632*

2. *College of Chemistry and Molecular Engineering, Peking University, Beijing 100871*

3. *Center for Excellence in Molecular Cell Science, Chinese Academy of Sciences, Shanghai 200031*

4. *Shanghai Institute of Materia, Chinese Academy of Sciences, Shanghai 201203*

5. *Department of Chemical Sciences, National Natural Science Foundation of China, Beijing 100085*

Abstract The major research project “Dynamic Modifications of Biomacromolecules and Chemical Intervention” focused on the dynamic modification of nucleic acid, protein and other biomacromolecules, giving full play to the advantages of interdisciplinary cooperation in chemistry, life science and medicine. After four years of implementation, a number of specific labeling methods and detection methods for dynamic chemical modification of biomacromolecules have been developed. Utilizing these new techniques and new methods, the recognition mechanism and regulatory functions of a series of dynamic modifications of biomacromolecules have been analyzed. And a number of potential drug targets and promising lead compounds for dynamic modifications of biomacromolecules have been found. Furthermore, the project facilitates interdisciplinary cooperation among researchers with different professional backgrounds and promotes the vigorous development of interdisciplines such as chemical biology. This paper summarized the medium-term implementation of this major research plan from the background of the project establishment, the overall layout of scientific objectives and research achievement, and put forward the tentative plan for the next implementation plan and the funding direction.

Keywords Major Research Plan; biomacromolecules; dynamic modifications; chemical intervention

(责任编辑 刘敏 姜钧译)

* Corresponding Author, Email: zhangyan@nsfc.gov.cn