

# 曹婵一三年研究计划

## 科学问题

TNFR 家族免疫激活型受体跨膜区如何参与受体激活

## 研究背景

通过自身协同或多元协同聚集实现生理功能是细胞膜表面受体的普遍特征。例如当今生物医药研究领域中的重要药物靶点肿瘤坏死因子 TNFR 家族中的免疫激活型受体（如 4-1BB, OX40, TNFR2 等）对杀伤性 T 细胞激活具有重要作用，是抗肿瘤药物研发的重要靶点，但是由于跨膜-近膜区分子信息的缺失，其激活机制还存在多种争议。申请人拟从受体聚集激活机制为切入点，在原子-分子尺度探讨其在激活过程中跨膜区的动态变化特征，探索关键调控位点。

## 实施方案

本项目将分为以下几部分进行实施：1) 建立免疫激活型受体近膜-跨膜区与全长膜蛋白研究体系；2) 以 TNFR 家族 4-1BB、OX40、TNFR2 为代表研究其寡聚状态与相互作用界面，定点引入化学标签并研究其配体激活过程中的动态变化；3) 细胞水平验证实验结论，总结普适性规律。

## 研究难点：

1) 跨膜受体研究体系问题：跨膜区含 20-30 个强疏水氨基酸，不溶于水，含跨膜区的受体或配体难以获得，无法建立高质量研究体系。2) 研究工具问题：TNFR II 型受体分子量大多在 25-35kDa 之间，受体跨膜区分子量仅 3-5kDa，且被磷脂双分子层包围，通过常规生物手段（如冷冻电镜，超分辨显微成像等）很难监测到其原子-分子尺度的精细动态变化，这为受体激活机制的阐释提出了挑战。申请人希望可以利用自身研究背景，借助化学标签可提供高灵敏性化学环境变化信息的特点，克服以上两大挑战

## 研究创新点

1) 对免疫激活型受体近膜-跨膜区是否参与聚集激活进行探讨。肿瘤坏死因子 TNFR 家族在膜环境中的寡聚状态存在决定了其是否参与受体聚集激活。但是由于其分子量较小、柔性较大，且跨膜区样品的制备具有较高的技术壁垒，传统分析手段难以实现。本项目将发展一种新型跨膜样品制备与分析技术对这一问题进行研究。

2) 利用化学标签研究配体激活过程中受体动态变化。申请人定点引入化学标签，利用化学标签的高灵敏性对配体激活过程中免疫激活型受体的动态变化进行研究，并构建相应荧光素酶报告细胞系，在细胞层面进一步验证。

3) 系统研究 CD137、OX40 与 TNFR2 等免疫激活型受体总结普适性规律。本研究借助具有技术壁垒的研究体系对 TNFR 家族免疫激活型受体多个分子的聚集激活机制进行系统性研究，总结普适性规律。

## 预期成果

本项目将利用化学标签、膜体系构建等化学手段解决 TNFR 免疫激活型受体聚集激活机制这一生命科学问题，既是化学生物学技术应用的拓展，也是分子机制认知的推动。随着该项目的实施，预计发表 2-4 篇国际高水平论文，申请专利 1-2 项，培养 10-12 名具有化学与生物学科交叉背景的博士与硕士，助力复合型人才的发展。