基于核酸的小分子识别、调控及在疾病诊疗中的应用研究

**推荐单位意见**

疾病对人类的健康和生存构成重大威胁，是世界各国面临的最重要的社会问题之一。如何开发出具有自主创新的疾病诊断和治疗新技术，是科学家面临的一项重要任务。

该项目以国家迫切需求为导向，坚持基础研究与应用相结合的理念，以核酸为靶目标，运用化学生物学的方法，在小分子对核酸的识别和调控领域进行了长期、深入的研究工作，取得了开拓性的研究成果，创建了一系列疾病诊断和治疗的新技术，有着十分重要的理论基础和应用潜力，极大地增加了我国在化学生物学领域的地位和开发自主创新的疾病诊疗技术的可能性。

该项目组成员长期坚持从事核酸化学生物学的基础研究和应用基础研究，学风严谨，用于创新，重视国际交流和合作，重视研究生的培养，在国内外会议上作过多次大会邀请报告，曾获得湖北省自然科学一等奖、湖北省科技进步一等奖和药明康德生物化学奖二等奖各一项，受到国内外同行的关注。

推荐该项目申报国家自然科学奖二等奖。

**项目简介**

疾病诊疗新技术的开发是关系国计民生的重要社会需求，而产业基础薄弱是我国目前面临的重要社会问题，因此迫切需要开创自主创新的疾病诊疗新思路。由于大量重大疾病均与核酸密切相关，本项目基于化学生物学手段，面向社会需求，通过小分子对核酸结构识别和功能调控来实现疾病诊断和药物分子获取, 在核酸靶向识别和调控机制领域进行了多年系统深入的研究，并开展了前期临床样本的检测和验证，取得开拓性的科研成果和疾病检测的关键技术和方法。主要科学发现如下：

**1. 揭示小分子对G-四链核酸结构识别和调控的新机制。**合成了选择性识别和稳定不同的G-四链核酸 (G-4) 的大环类衍生物，对肿瘤高表达的端粒酶具有很好抑制并选择性杀死肿瘤细胞，提出了小分子对G-4识别的新机制和抗肿瘤药物设计的新策略。合成的双钌配合物能特异识别G-4产生光响应，创立了目视方法检测G-4的新技术。通过光诱导实现小分子不同异构体对单链和G-4结构的调控。成果被诺贝尔奖获得者Cech教授（RNA具有生物催化作用的发现者）在Nat. Rev. Mol. Cell Bio.评价 “（G-4）在体外限制端粒酶的延伸策略，…..在体内研究可能确实有用”，加拿大皇家科学院院士乐晓春教授和以色列科学院院士Willner教授也对我们工作进行了引述，也被英国皇家学会的Chemical Biology，ChemistryWorld，Chinese Science（专辑），美国化学会ACS的Noteworth Chemistry等追踪报道。研究论文被Angew. Chem. Int. Ed. 编辑选为“Hot Paper”

**2. 实现了小分子对非规则核酸的结构调控新方法。**新型金属钌配合物能高效诱导和调控B-型DNA转变为Z-型DNA（在基因转录的过程起重要作用），突破了传统的Z-DNA诱导剂需要有确定的碱基序列和盐离子浓度的限制，并实现了在活细胞中诱导形成Z-DNA，对揭示由Z-DNA介导的生物学功能具有重要意义。

**3. 创建对肿瘤细胞具有特异杀伤作用的可诱导核酸交联剂新策略。**分别利用光、氧化剂和酶的诱导，苯酚类衍生物可以产生活性中间体而对核酸共价交联，达到选择杀死肿瘤细胞的目的，对于提高药物活性分子选择性、降低毒性具有重要意义。研究成果被ACS的Heart Cut专文重点推荐，评论文章被选为2003年9篇最佳评述文章之一（Best of Heart Cut in 2003）。

**4. 创建基于核酸的疾病诊断新技术。**建立高灵敏度DNA甲基化和羟甲基化的分析方法，发现肝脏组织中5-hmdC明显低于癌旁组织，并与肿瘤分期明显相关。研究成果被Nat. Rev. Cancer和Cell子刊Molecular Cell进行正面评价和引用。醛基修饰核酸是许多疾病的重要标志物，我们创建了醛基修饰核酸的检测方法，实现全基因组中醛基核酸的测定，具有操作简单，检测灵敏等特点，论文被ACS的JACS, JOC, OL联合精选的2014年Nucleic Acids: chemistry and applications 25篇“激动人心（exciting）”文章之一，并被评述为：这种荧光标记的检测方法，将会为破译表观遗传特征的调节机制铺平了道路。利用血红素与G-4形成复合结构，实现突变碱基（许多重大疾病的根源）的检测新技术，并用于结合分枝杆菌利福平耐药可视化检测。针对2型糖尿病基因突变的特点，新发现5种突变位点，成功研制针对糖尿病线粒体基因突变的筛查芯片临床诊断技术，具有操作流程简单、快速、成本低等特点。

本项目的研究成果在**PNAS (1篇)，J. Am. Chem. Soc. （6篇），Angew. Chem. Int. Ed. (5篇) ，Nucleic Acids Res.（5篇）**等上发表SCI论文90篇；8篇代表性论文被他引496次，其中SCI他引416次，研究成果被Nature 子刊, Cell子刊和Chem Rev等顶尖杂志多次引用，高度评价，在国际上产生重要影响，提升我国在化学生物学领域的国际地位。已获得国家发明专利4项，获得湖北省自然科学一等奖和湖北省科技进步一等奖各一项，药明康德生物化学奖二等奖一项，项目主要完成者为国家杰出青年基金获得者、教育部长江学者特聘教授。

**客观评价**

**（一）揭示了小分子对G-四链核酸的结构识别和调控的新机制（发现点1）**

1．代表性论文6发表后，被著名刊物Chemical Biology （2007, 2, B58.）以“Is the clock ticking for cancer cells?”为标题进行了专文详细介绍，认为“corrole化合物提供了非常重要的研究新平台”“The corrole system provides a very interesting new platform for this purpose and these cationic corrole derivatives have already exceeded the performance of the standard in the field, TMPyP4”。介绍的内容同时也在英国皇家学会Chemistry World网页（News, July 2007）和Chinese Science (Special issue, RSC, 2008, 6.) 上全文刊登，受到国际学术界好评（评价附件一）。英国皇家学会会员S. Balasubramanian教授和中国科学院院士支志明教授也在论文中引述了我们的工作（评价附件二）。

2．代表性论文6及卟啉类化合物特异识别G-4 (ChemBioChem, 2006, 7, 1155) 的工作发表后，法国居里研究院 (Institut Curie) 化学实验室主任和法国国家科研中心（CNRS）研究部门研究主任Teulade-Fichou教授在“A hitchhiker’s guide to G-quadruplex ligands”(Org. Biomol. Chem., 2008, 6, 627 ) 一文中详细介绍了我们的工作，指出：吲哚并喹啉化合物被证明对端粒和癌基因启动区具有有效的稳定作用（quindolies ..whose efficiency has been demonstrated on telomeric c-myc promoter quadruplex）; 几个结构相关的配合物在过去几年被发现（Several structurally-related ligands have been described over the past years: the porphyrin TQMP68 and ……., as well as structurally-related corroles70 have also been described）（评价附件三）。

3．酞菁配合物特异识别G-4 (ChemBioChem,2007, 8, 775)工作发表后，法国居里研究院 (Institut Curie) 化学实验室主任和国家科研中心（CNRS）研究部门研究主任Teulade-Fichou教授在论文（Org. Biomol. Chem., 2007, 5, 2555）给出评价“给这个领域研究赋予了非常大的促进”“gave much impetus to this approach”；英国帝国学院的Vilar教授认为工作“相比较原来报道的化合物显示出增加的对四链核酸的结合能力”（Angew. Chem. Int. Ed. 2010, 49, 4020 – 4034）（评价附件四）。

4．靶向G-4结构的双钌配合物在Chem. Commun., 2010, 46, 743发表后，美国化学会Noteworthy Chemistry 周刊的点评(由中国科学院院士唐本忠教授点评)，报道我们的工作“发展了一个新的钌配合物，可以高选择性结合G-四链核酸”；并被Yan Xu教授在Chem. Soc. Rev., 2011, 40, 2719 中引用（评价附件五）。

5. 代表性论文7发表后（Nucleic Acids Res., 2011, 39, 6229），诺贝尔奖获得者Cech教授（RNA具有生物催化作用的发现者）在Nat. Rev. Mol. Cell Bio.文章中评价“G-4在体外限制端粒酶的延伸(策略)，……在体内研究可能确实有用”。（“…..this could certainly be useful in vivo”）。（评价附件六）

6．期刊Journal of Molecular Recognition每年对前一年的biosensor会作一个总结，在“Survey of the year 2006 commercial optical biosensor literature”和“Survey of the year 2007 commercial optical biosensor literature”都对我们在G-四链体稳定剂方面的多项工作进行收录（评价附件七）。

7. 光调控G-4的工作 (Angew. Chem. Int. Ed., 2010, 49, 5305) 被编辑选为“Hot Paper”（评价附件八）被选为“Hot Paper”的标准是：在具有高度意义的研究领域的重要工作。（Hot Papers are chosen by the Editors for their importance in a rapidly evolving field of high current interest）

**（二）创建对肿瘤细胞具有特异杀伤作用的可诱导核酸交联剂新策略（发现点3）**

1．代表性论文1在发表以后，被美国化学会Heart Cut（2003年3月17日）专栏上，以“Light-induced cross-linking of DNA strands”为题对该工作做了推荐介绍。在Heart Cut（2003 年11 月24 日）期刊里，该评论文章被评为当年最好的评论文之一（Best of Heart Cut in 2003, 共评出九篇），其它被评为最佳的评论文是分别评论发表在Nature, J. Am. Chem. Soc., Angew. Chem., Int. Ed.等杂志上的文章）。（评价附件九）

2．代表性论文1在发表以后，德国科学家Fuhrhop教授在Chemical Reviews (2004, 104, 2901)上撰写的综述“Bolaamphiphiles”中对该工作进行了充分肯定及详细介绍，认为是“提供了一个清楚的核酸交联范例”（It is water soluble and cross links DNA upon UV irradiation. It provides an example that clearly demonstrates what bolas essentially are, extended cross-linkers (Scheme 10)）。芝加哥大学著名化学生物学家何川教授也评价该化合物“exert their effects by creating DNA interstrand cross-links (J. Am. Chem. Soc. 2008, 130, 14398)”（评价附件十）。

3．代表性论文1, 3发表后，被 Wiley出版社2009年出版的由美国马里兰大学化学与生物化学系Rokita教授（现在美国约翰霍普金斯大学化学系任职）主编的专著“Quinone Methides”对我们的工作也进行了多次引用和报导。在两个不同的章节中都引用了我们的工作，其中代表性论文1被介绍了两次。书中几个图表中也出现了我们设计合成的系列核酸交联剂分子。（评价附件十一）

**（三）创建基于核酸的疾病诊断新技术。（发现点4）**

1．建立高灵敏度DNA甲基化和羟甲基化的分析方法，发现肝脏组织中5-hmdc明显低于癌旁组织，并与肿瘤分期明显相关。(Clin Chem. 2013，59, 824). 研究成果被Feinberg教授（Nat. Rev. Cancer, 2013评价为：“尽管修饰DNA在大多数组织细胞中含量很低，但是最近建立的质谱分析方法实现了对组织细胞中低含量的修饰DNA高灵敏定量分析，并发现了修饰DNA在癌组织中降低的规律”。哈佛医学院的Mostoslavsky教授在Cell子刊Molecular Cell也评价该文“确实,研究在各种人类肿瘤中5hmC的减少作为表观遗传的特征”。（评价附件十二）

2. 创建醛基修饰核酸的检测方法(Org. Lett. 2013, 15, 3266)，具有操作简单，检测灵敏等特点，相关论文被美国化学会ACS的JACS, JOC, OL联合精选的2014年Nucleic Acids: chemistry and applications 25篇“激动人心（exciting）”文章之一，并被评述为：这种荧光标记的检测方法，将会为破译表观遗传特征的调节机制铺平了道路(J. Org. Chem., 2013 78, 12283)。（评价附件十三）

3．代表性论文2发表后，被Indraneel Ghosh在J. Am. Chem. Soc. 2010, 132, 11692评价为一种“精巧策略”（elgant DNA-directed approach）的方法。被X. Chris Le(加拿大皇家科学院院士)在Chem. Rev. 2013, 113, 2812中引用; 被以色列科学院院士、德国科学院院士、欧洲科学院院士Willner教授在Chem. Rev. 2014, 114, 2881在论文中也引用我们的成果进行阐述。（评价附件十四）

**代表性论文专著目录**

|  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| 序号 | 论文专著  名称/刊名  /作者 | 影响因子 | 年卷页码  （xx年xx卷  xx页） | 发表时间年月日 | 通讯作者 | 第一作者 | 国内作者 | SCI  他引次数 | 他引总次数 | 知识产权是否归国内所有 |
| 1 | A Potent Water-soluble and Photoinducible DNA Cross-linking Agent, *J. Am. Chem. Soc*., Ping Wang, Renpeng Liu, Xiaojun Wu, Hongjuan Ma, Xiaoping Cao, Ping Zhou, Jiangye Zhang, Xiaocheng Weng, Xiao-Lian Zhang, Jun Qi, Xiang Zhou,\*, and Linhong Weng | **13.038** | **2003**, 125, 1116 | 2003  -02  -05 | 周翔 | 汪萍 | 汪萍，刘仁鹏，吴晓军，马红娟，曹小平，周平，张剑晔，翁小成，章晓联，周翔，翁林红 | 55 | 66 | 是 |
| 2 | Highly Effective Colorimetric and Visual Detection of Nucleic Acids Using an Asymmetrically Split Peroxidase DNAzyme, *J. Am. Chem. Soc*. Minggang Deng, Dan Zhang, Yangyang Zhou, Xiang Zhou\* | **13.038** | **2008**, 130, 13095. | 2008  -10  -01 | 周翔 | 邓明刚 | 邓明刚，章丹，周泱泱，周翔 | 152 | 176 | 是 |
| 3 | Synthesis and Biological Studies of New Inducible DNA Cross-linking Agents”, *Angew. Chem. Int. Ed*. Xiaocheng Weng, Lige Ren, Liwei Weng, Jing Huang, Shugao Zhu, Xiang Zhou,\* and Linhong Weng | **11.709** | **2007**, 46, 8020 | 2007  -09  -13 | 周翔 | 翁小成 | 翁小成，任丽鸽，翁立伟，黄静，朱书高，周翔，翁林红 | 37 | 50 | 是 |
| 4 | Kinetic and Thermo- dynamic Control of G- quadruplex Folding / *Angew. Chem. Int.Ed*. Yong Xue, Jiaquan Liu, Kewei Zheng, Zhong yuan Kan, Yuhua Hao and Zheng Tan\* | **11.709** | **2011**, 50, 8046-8050 | 2011  -07  -14 | 谭诤 | 薛勇 | 薛勇，刘珈泉，郑克威，阚中原，郝玉华，谭铮 | 23 | 24 | 是 |
| 5 | Telomere- and telomerase-interacting protein that unfolds telomere G-quadruplex and promotes telomere extension in mammalian cells, *PNAS*, Feng Wang, Mingliang Tang, Zhixiong Zeng, Renyi Wu, Yong Xue, Yu-hua Hao, DaiWen Pang, Yong Zhao, and Zheng Tan\* | **9.423** | **2012**, 109 , 20413-20418 | 2012  -10  -31 | 谭诤/赵勇 | 王峰/汤明亮/曾志雄 | 王峰，汤明亮，曾志雄，吴任乙，薛勇，郝玉华，庞代文，赵勇，谭铮 | 10 | 20 | 是 |
| 6 | Cationic Corrole Derivatives: A New Family of G-quadruplex Inducing and Stabilising Ligands, *Chem. Commun*. Boqiao Fu, Jing Huang, Lige Ren, Xiaocheng Weng, Yangyang Zhou, Yuhao Du, Xiaojun Wu, Xiang Zhou\*， Guangfu Yang, | **6.567** | **2007**, 3264. | 2007  -06  -06 | 周翔 | 付伯桥 | 付伯桥，黄静，任丽鸽，翁小成，周泱泱，杜宇昊，吴晓军，周翔，杨光富 | 59 | 50 | 是 |
| 7 | G-quadruplex formation at the 3' end of telomere DNA inhibits its extension by telomerase, polymerase and unwinding by helicase. *Nucleic Acids Res.*, Quan Wang, Jiaquan Liu, Zhao Chen, Ke-wei Zheng, Changyue Chen, Yuhua Hao and Zheng Tan\* | **9.202** | **2011**, 39, 6229-6237 | 2011  -03  -25 | 谭诤 | 汪泉 | 汪泉，刘珈泉，陈钊，郑克威，陈昌岳，郝玉华，谭铮 | 43 | 54 | 是 |
| 8 | Quantification of 5-Methylcytosine and 5-  Hydroxymethylcytosine in Genomic DNA from Hepatocellular Carcinoma Tissues by Capillary Hydrophilic-Interaction Liquid Chromatography/ Quadrupole TOF Mass Spectrometry, *Clin Chem.* Mingluan Chen, Fan Shen, Wei Huang, Jiahui Qi, Yinsheng Wang, Yuqi Feng\*, Songmei Liu\*, and Bifeng Yuan\* | **7.45** | **2013**, 59, 824–832 | 2013  -05  -04 | 刘松梅/袁必锋/冯钰琦 | 陈鸣蛮 | 陈鸣蛮, 沈璠, 黄维, 齐佳会, 王迎申,冯钰锜, 刘松梅，袁必锋 | 37 | 55 | 是 |
| 合计 | | | | | | | |  |  |  |

**主要完成人情况**

|  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| 姓名 | 排名 | 行政职务 | 技术职称 | 工作单位 | 完成单位 | 对本项目技术创造性贡献 |
| 周翔 | 1 | 院长 | 教授 | 武汉大学 | 武汉大学 | 对本项目主要学术贡献：项目总负责人。全面负责项目总体方向的确定、研究思路的提出以及研究方案的设计。对发现点1（部分）、发现点2、发现点3和发现点4（部分）做出创造性贡献。设计系列能识别核酸的小分子，提出可诱导核酸交链的新原理和小分子对不同二级核酸结构的识别和调控的新方法和新策略。  是代表性论文1，2，3，6中的通讯作者，工作量占本人工作量的80%。 |
| 谭铮 | 2 |  | 研究员 | 中国科学院动物研究所 | 中国科学院动物研究所，武汉大学 | 利用小分子与四链核酸的相互作用，发现了端粒的3’端的大小和长度可以影响四链核酸的形成，端粒 DNA 在分子拥挤条件下经酶促反应释放后的折叠过程，发现不同于以往认为的折叠成热力学平衡条件下的反平行构象。发现点1主要贡献者，是代表性论文4, 5，7的通讯作者，工作量占本人工作量的80%。 |
| 翁小成 | 3 |  | 副教授 | 武汉大学 | 武汉大学 | 项目主要参加人，在以核酸为靶标的含硒小分子的设计、合成、抗肿瘤活性评价、构效关系及作用机制等方面开展了系统研究工作。发现点3的部分贡献者，是代表性论文3第一作者，代表性论文1第八作者， 代表性论文6第四作者，工作量占本人工作量的40%。 |
| 刘松梅 | 4 |  | 副教授 | 武汉大学 | 武汉大学 | 项目主要参加人，在肝癌、乳腺癌和糖尿病的基因诊断及发病机制等方面开展了系统研究工作。发现点4的部分贡献者，是代表性论文8通讯作者，工作量占本人工作量的40%。 |
| 郝玉华 | 5 |  | 高级实验师 | 中国科学院动物研究所 | 中国科学院动物研究所 | 利用小分子与四链核酸的相互作用，发现了端粒 DNA 在分子拥挤条件下经酶促反应释放后的折叠过程，发现新的折叠成热力学平衡条件下的反平行构象。发现点1主要贡献者，是代表性论文4, 5，7的作者，工作量占本人工作量的40%。 |

**完成任务合作关系说明**

第一完成人与第二完成人长期合作，曾经获得重大研究计划项目重点项目（化学小分子探针对染色体端粒DNA结构、生物学活性及相关信号转导的干预和影响90813031）共同主持人，合作发表学术论文5篇（ChemBioChem, 2006, 7, 1155（共同通讯作者）；ChemBioChem, 2007, 8, 775； J. Am. Chem. Soc., 2011,133, 1475； Talanta, 2011, 87, 216； Angew. Chem. Int. Ed., 2014, 53, 13110）；作者二的论文Angew. Chem. Int. Ed., 2011, 50, 8046； J. Am. Chem. Soc. 2011, 133, 15036等论文是由第一完成人团队提供小分子给第二完成人开展工作的；在前期工作基础上，2014年第一和第二完成人合作获得国家自然科学基金委重点项目（题目：小分子与核酸的相互识别和调控作用，共同主持人）资助。

第三完成人翁小成的成果是在第一完成人指导下读博士期间完成的，现在是第一完成人团队的主要成员之一。

第四完成人刘松梅与第一完成人长期合作并为第一完成人国家科技部973项目（2012CB720600 基于核酸的重大疾病诊断新策略和新技术研究）的主要参加者，已合作发表多篇学术论文（Chem. Commun., 2012, 48, 10031；Chem.Comm., 2013, 49, 75；Chem. Eur. J., 2013,19, 92；Chem. Comm., 2013, 49, 10085；Chem. Commun., 2013, 49, 2652; ACS Appl. Mater. Interfaces, 2016, 8, 23542.）。

第五完成人郝玉华是第一完成人主持项目（2012CB720600 基于核酸的重大疾病诊断新策略和新技术研究）主要参与者，第五完成人是第二完成人团队主要成员之一。

**知情同意证明**

21









