

本期导读主题：抗体库技术；CRISPR/Cas9 基因组编辑技术；蛋白降解靶向嵌合体技术；深度突变扫描技术；分枝菌酸提取及检测方法；微生物代谢产物的生物合成；组学技术。

抗体库技术

抗体库技术是将编码抗体可变区的基因导入受体菌系统，在受体菌系统表达出有功能的抗体分子，并通过亲和筛选获得特异性抗体编码基因的技术。抗体库技术制备抗体不依赖于体内的免疫反应，操作简单，生产周期短，可用于发现针对几乎所有类型抗原的抗体，在生物医药领域发挥着重要的作用。根据表面展示筛选平台的差异，抗体库技术可以分为噬菌体抗体库技术、酵母展示抗体库技术、哺乳动物细胞展示抗体库技术、核糖体展示抗体库技术和 mRNA 展示抗体库技术等多种技术。在本期，陈瑶等^[1]对表面展示筛选平台在制备单链抗体 (single chain variable fragment, scFv) 时的优缺点进行了全面的分析，使读者对抗体库筛选技术有一个深刻而全面的认识。陈晓阳等^[2]则将重点放在了最为成熟的一种抗体库技术，即噬菌体抗体库技术上；他们首先对噬菌体抗体库技术的发展历程、构建和分类进行了介绍，使读者对噬菌体抗体库技术有一个直观的认识；然后重点阐述了噬菌体抗体库技术在肿瘤治疗中的研究进展，并全面评述了通过噬菌体抗体库技术制备的多种治疗肿瘤的抗体。最后他们对噬菌体抗体库技术的优缺点进行了讨论，并

且展望噬菌体抗体库技术会在未来肿瘤的诊断和治疗领域大放异彩。这两篇综述相得益彰，点面结合，通过阅读这两篇综述，读者可以较为全面地掌握不同抗体库技术的特点及其在医药领域的应用。

除了通用的抗体库技术，本期还有两篇文章分别对具体抗体制备过程的难点进行了探讨。崔亚敏等^[3]对单纯疱疹病毒 HSV-IgM 人鼠嵌合抗体制备及稳定细胞株构建工艺进行了深入的研究，成功获得稳定高表达重组 IgM 抗体的细胞株，为 HSV-IgM 重组抗体质控品的进一步开发奠定了基础。杨忠华等^[4]则研究了影响抗体下游纯化工艺的难点，以 mab-X 单克隆抗体为研究对象，建立了一种基于正辛酸沉淀的单克隆抗体下游纯化工艺，为解决目前传统纯化工艺的问题提供了参考。

CRISPR/Cas9 基因组编辑技术在生物医药领域的应用

CRISPR/Cas9 基因组编辑技术是一种在细菌适应性免疫防御系统上发展起来的基因组编辑技术。常见的 CRISPR/Cas9 系统包括一个 sgRNA (single guide RNA) 和一个具有内切酶活性的 Cas9 蛋白，sgRNA 引导 Cas9 蛋白到基因

组的特定位点完成切割反应。CRISPR/Cas9 基因组编辑技术可以简单高效地实现对基因的定位编辑,改变细胞的活性。它也成为近 10 年最炙手可热的生物技术,被广泛地应用到医药、农业和工业等各个行业。本期有两篇文章分别介绍了 CRISPR/Cas9 技术在生物医药领域的应用。张金睿等^[5]利用 CRISPR/Cas9 基因组编辑技术将长效胰高血糖素样肽-1 编码基因整合到酿酒酵母基因组,成功构建具有显著降糖活性的酿酒酵母。该重组酵母有望开发成为一种口服降糖生物药物,这是 CRISPR/Cas9 基因组编辑技术在生物药物开发中的具体应用。齐赛平等^[6]利用 CRISPR/dCas9 转录激活协同激活介体系统成功构建了内源性着丝粒蛋白 F (centromere protein F, CENPF)稳定过表达的肝细胞癌细胞模型,为研究 CENPF 过表达与肿瘤发生的因果关系奠定了基础。这两项工作可以加深读者对 CRISPR/Cas9 基因组编辑技术原理和具体应用的掌握。

蛋白降解靶向嵌合体技术

蛋白降解靶向嵌合体(proteolysis targeting chimera, PROTAC)是一类基于泛素-蛋白酶体系统的蛋白降解剂。PROTAC 是异双功能分子,由两个小分子配体以及连接这两个配体的连接子(linker)组成。其中一个配体靶向要降解的目的蛋白,另一个配体靶向 E3 连接酶。PROTAC 分子通过两个配体同时结合靶蛋白和 E3 连接酶,并拉近靶蛋白和 E3 连接酶的距离,利用募集的 E3 连接酶对靶蛋白进行泛素化修饰,导致其被蛋白酶体系统降解,同时释放出 PROTAC 分子进行下一轮的靶蛋白降解。和传统的小分

子抑制剂不同的是,PROTAC 分子可以靶向不可成药的靶点蛋白,是一种新颖的药物治疗手段。经过近 20 年的发展和完善,PROTAC 技术进展迅速,取得了显著的成果。本期两篇综述从不同的角度对 PROTAC 技术进行了介绍。吴小波等^[7]在介绍传统多肽型 PROTAC 和小分子型 PROTAC 基础上,重点介绍了靶向递送型 PROTAC 在癌症治疗中的最新研究进展,并对 PROTAC 的成药性进行了展望。刘昭祥等^[8]根据靶点蛋白的细胞定位,系统总结了 PROTAC 分子在核内蛋白、跨膜蛋白和胞浆蛋白 3 种蛋白靶点中的应用,概述了不同靶点蛋白相关 PROTAC 药物的研发情况,并对 PROTAC 药物的研发前景进行了展望,为全面掌握 PROTAC 药物的现状及发展趋势提供了借鉴。

深度突变扫描技术

氨基酸是蛋白质的基本组成单位,解析每个氨基酸对蛋白质功能的影响对于阐明蛋白质的作用机制意义重大。深度突变技术就是对蛋白质全长或某一区域的氨基酸进行饱和突变,生成大量的蛋白质饱和突变体库,然后通过高通量筛选方法对突变体库进行功能鉴定,确定每一个氨基酸与蛋白质功能的关系。通过这种技术,可以阐明蛋白质作用的机制,创造具有新的活性的蛋白质,明确蛋白之间的相互作用。自 2010 年提出至今,这种技术取得了长足的进展,被广泛地用于蛋白功能鉴定、蛋白进化、抗体改造和靶点鉴定等领域。在本期论文中,李怡凡等^[9]全面系统地介绍了深度突变扫描技术在蛋白质研究中的应用,更重点介绍了这种技术在哺乳动物细胞中的应用,同时分析了目

前的技术瓶颈。感兴趣的读者可以认真阅读这篇综述。

分枝菌酸提取及检测方法

分枝菌酸(mycolic acid, MA)是存在于分枝杆菌细胞壁中的一种含有极长碳链(C60–C90)的 α -烷基- β -羟基脂肪酸,其合成通路是重要的抗结核药物筛选的靶点。传统的MA检测方法是采用放射性薄层层析或色谱-质谱技术,但这些技术要求必须具备操作放射性元素的实验条件和资质,对仪器和检测场所的要求较高,很难成为普通实验室的常规检测技术。因此,建立一种简单有效的分析分枝菌酸的方法成为分枝菌酸通路研究中的一个挑战。基于此,徐思悦等^[10]建立了一种可在普通生物实验室分析检测分枝菌酸的非放射性薄层层析法。相较于放射性薄层层析,该方法不需要使用放射性元素,安全性更高;相较于色谱-质谱技术,该方法对样品处理步骤更简便,仪器限制少。当然,作为一种新的方法,该技术还存在差异灵敏性较低、误差较大等不足。

微生物代谢产物的生物合成

微生物种类繁多、分布广泛,其代谢产物常常具有新颖的结构及显著的活性,是创新药物的重要来源之一。在本文文章中,葛祥宇等^[11]介绍了一种来自致病性放线菌巴西诺卡菌(*Nocardia brasiliensis*) IFM 0406的二萜糖苷类化合物 brasilicardin A (BraA)。这种化合物具有显著免疫抑制作用($IC_{50}=0.057$ mg/mL),有可能被开发成新型免疫抑制剂,具有较好的药用前景。在这篇综述中,葛祥宇等^[11]全面总结了

BraA的结构性质、药理活性、化学合成方法、生物合成机制及应用,指出了BraA研究中遇到的困难和瓶颈,并对今后的研究方向进行了展望,这篇综述为BraA的深入开发提供了参考。

Xanthocillin是一种真菌来源的、含有异腈基的天然产物,具有显著的广谱抗菌活性。王雯静等^[12]从蛇足石杉(*Huperzia serrata*)产黄青霉菌(*Penicillium chrysogenum*) MT-40中挖掘出一个有可能合成xanthocillin类似物的基因簇for。通过在米曲霉(*Aspergillus oryzae*) NSAR1中的异源表达,成功鉴定了for基因簇中基因forB和forG的功能。同时表达forB与forG的重组菌株*A. oryzae*/forBG可以产生xanthocillin类似物。这个工作为xanthocillin类似物的生物合成研究奠定了基础。

组学技术及其在医药领域的创新应用

常见的组学技术包括基因组学技术、转录组学技术、蛋白质组学技术和代谢组学技术等。随着高通量测序技术、分子生物学技术和质谱技术的进步,组学技术也得到了迅猛发展,被广泛地应用到生命医药领域的各个方面。

转录组学技术是从整体水平上研究组织或细胞中所有基因转录及转录调控的技术。从提出概念至今,转录组学技术发展迅速,许多新的概念和技术层出不穷。单细胞转录组学技术是新发展起来的一种转录组学测序技术。不同于最初的普通转录组学测序技术,单细胞转录组学技术可以检测细胞之间的基因表达差异,因此常被用于探究细胞异质性。在本期的文章中,张佳琪等^[13]采用单细胞转录组测序技术初

步探讨了背根神经节内非神经元细胞的异质性与发育时间点的问题,进一步拓宽了单细胞转录组学技术的应用范围。

蛋白质组学技术是以组织中所有蛋白质为研究对象,通过质谱技术对蛋白质进行检测和分析的技术。通过质谱获得的蛋白质谱图一般采用 2 种常用的数据采集模式,即数据依赖采集(data-dependent acquisition, DDA)和数据非依赖采集(data-independent acquisition, DIA)。DIA 是一种高通量、无偏性的质谱数据采集方法,其结果定量的重复性和准确性好,适用于低丰度蛋白质的分析,被广泛应用于大队列蛋白质组学研究。DIA 数据分析主要是以谱图为中心和以肽为中心的两种方法。张莹莹等^[14]对以肽为中心的 DIA 数据分析方法进行了全面的总结,通过阅读这篇综述,读者可以了解以肽为中心的 DIA 数据分析流程以及该方法的优缺点。DIA 是一种很重要的蛋白定量技术,在定量蛋白质组学中有很好的应用,引领了定量蛋白质组学技术的发展。在本文文章中,涂博丹等^[15]全面系统地介绍了定量蛋白质组学技术的发展及其在急性高原病研究中的应用进展。这篇综述可以加深读者对定量蛋白质组学技术应用的了解。

REFERENCES

- [1] 陈遥,舒星富,赵钰,张博文,马忠仁,张海霞. 单链抗体展示系统研究进展[J]. 生物工程学报, 2023, 39(9): 3681-3694.
CHEN Y, SHU XF, ZHAO Y, ZHANG BW, MA ZR, ZHANG HX. Single chain antibody fragment display systems: a review[J]. Chinese Journal of Biotechnology, 2023, 39(9): 3681-3694 (in Chinese).
- [2] 陈晓阳,安瑞珩,黄菊,梁有洋,张文静,郝明炫,郭蕊,李小宁,李永超,应璐,杨昭. 噬菌体抗体库技术在肿瘤治疗中的研究进展及应用[J]. 生物工程学报, 2023, 39(9): 3644-3669.
CHEN XY, AN RH, HUANG J, LIANG YF, ZHANG WJ, HAO MX, GUO R, LI XN, LI YC, YING L, YANG Z. Phage antibody library technology in tumor therapy: a review[J]. Chinese Journal of Biotechnology, 2023, 39(9): 3644-3669 (in Chinese).
- [3] 崔亚敏,田晓平,孙静静,王志强,赵巧辉,李桂林. HSV-IgM 人-鼠嵌合抗体制备及稳定细胞株构建工艺开发[J]. 生物工程学报, 2023, 39(9): 3887-3898.
CUI YM, LI XY, TIAN XP, SUN JJ, WANG ZQ, ZHAO QH, LI GL. Preparation of HSV-IgM human-mouse chimeric antibody and development of stable recombinant cell line[J]. Chinese Journal of Biotechnology, 2023, 39(9): 3887-3898 (in Chinese).
- [4] 杨忠华,周建芹. 正辛酸沉淀在单克隆抗体纯化中的工艺优化与应用[J]. 生物工程学报, 2023, 39(9): 3757-3771.
YANG ZH, ZHOU JQ. Optimization and application of caprylic acid precipitation in the purification of monoclonal antibody[J]. Chinese Journal of Biotechnology, 2023, 39(9): 3757-3771 (in Chinese).
- [5] 张金睿,杨佳明,孟钰杰,邢曙光,刘奇奇,李明刚. 运用 CRISPR/Cas9 技术构建表达 10 α GLP-1 的降糖酵母[J]. 生物工程学报, 2023, 39(9): 3747-3756.
ZHANG JR, YANG JM, MENG YJ, XING SG, LIU QQ, LI MG. Construction of a 10 α GLP-1-expressing glucose-lowering *Saccharomyces cerevisiae* by CRISPR/Cas9 technique[J]. Chinese Journal of Biotechnology, 2023, 39(9): 3747-3756 (in Chinese).
- [6] 齐赛平,李潇瑾,周冬虎,黄坚. 基于 CRISPR 转录激活系统构建内源性着丝粒蛋白 F 稳定过表达的肝细胞癌细胞模型[J]. 生物工程学报, 2023, 39(9): 3738-3746.
QI SP, LI XJ, ZHOU DH, HUANG J. Construction of a stable centromere protein F overexpression cell model of hepatocellular carcinoma using CRISPR activation system[J]. Chinese Journal of Biotechnology, 2023, 39(9): 3738-3746 (in Chinese).
- [7] 吴小波,赵婕,高远,姚庆鑫,谢建军. 靶向递送蛋白水解靶向嵌合体在癌症治疗中的研究进展[J]. 生物工程学报, 2023, 39(9): 3628-3643.
WU XB, ZHAO J, GAO Y, YAO QX, XIE JJ. Advances in targeted delivery of proteolysis targeting chimeras in cancer therapy[J]. Chinese Journal of Biotechnology, 2023, 39(9): 3628-3643 (in Chinese).
- [8] 刘昭祥,刘森. 蛋白降解靶向嵌合体临床前及临床研究进展[J]. 生物工程学报, 2023, 39(9): 3615-3627.
LIU ZX, LIU S. Advances in the preclinical and

- clinical research of proteolysis targeting chimera[J]. Chinese Journal of Biotechnology, 2023, 39(9): 3615-3627 (in Chinese).
- [9] 李怡凡, 王怡, 张凯丽, 李帅. 深度突变扫描技术在蛋白研究中的应用[J]. 生物工程学报, 2023, 39(9): 3710-3723.
LI YF, WANG Y, ZHANG KL, LI S. Application of deep mutational scanning technology in protein research[J]. Chinese Journal of Biotechnology, 2023, 39(9): 3710-3723 (in Chinese).
- [10] 徐思悦, 狄玉昌, 迟明哲, 胡酉炜, 张潇, 张雪莲. 一种改良的分枝菌酸提取及其非放射性 TLC 检测方法[J]. 生物工程学报, 2023, 39(9): 3827-3837.
XU SY, DI YC, CHI MZ, HU YW, ZHANG X, ZHANG XL. An improved extraction and nonradioactive thin-layer chromatography detection method of mycolic acid[J]. Chinese Journal of Biotechnology, 2023, 39(9): 3827-3837 (in Chinese).
- [11] 葛祥宇, 史社坡, 王娟. 新型免疫抑制剂 brasilicardin A 的研究进展[J]. 生物工程学报, 2023, 39(9): 3605-3614.
GE XY, SHI SP, WANG J. Advances of the novel immunosuppressant brasilicardin A[J]. Chinese Journal of Biotechnology, 2023, 39(9): 3605-3614 (in Chinese).
- [12] 王雯静, 张蓓蓓, 张明亮, 张泽坤, 王阳, 葛祥宇, 杜宇, 张晓雪, 刘晓, 王娟, 王晓晖, 史社坡. 蛇足石杉内生真菌产黄青霉菌 MT-40 中 xanthocillin 类似物生物合成基因簇的挖掘及鉴定[J]. 生物工程学报, 2023, 39(9): 3814-3826.
WANG WJ, ZHANG BB, ZHANG ML, ZHANG ZK, WANG Y, GE XY, DU Y, ZHANG XX, LIU X, WANG J, WANG XH, SHI SP. Mining and identification of a biosynthetic gene cluster producing xanthocillin analogues from *Penicillium chrysogenum* MT-40, an endophytic fungus of *Huperzia serrata*[J]. Chinese Journal of Biotechnology, 2023, 39(9): 3814-3826 (in Chinese).
- [13] 张佳琪, 刘俊华, 马洁, 沈馨, 朱云平, 杨冬. 基于单细胞转录组数据解析大鼠背根神经节在出生后发育中非神经元细胞变化特征[J]. 生物工程学报, 2023, 39(9): 3772-3786.
ZHANG JQ, LIU JH, MA J, SHEN P, ZHU YP, YANG D. Deciphering the dynamic characteristics of non-neuronal cells in dorsal root ganglion of rat at different developmental stage based on single cell transcriptome data[J]. Chinese Journal of Biotechnology, 2023, 39(9): 3772-3786 (in Chinese).
- [14] 张莹莹, 舒坤贤, 常乘. 基于数据非依赖采集的以肽为中心分析算法和软件的研究进展[J]. 生物工程学报, 2023, 39(9): 3579-3593.
ZHANG YY, SHU KX, CHANG C. Advances of peptide-centric data-independent acquisition analysis algorithms and software tools[J]. Chinese Journal of Biotechnology, 2023, 39(9): 3579-3593 (in Chinese).
- [15] 涂博丹, 魏雪, 尚慧莹, 刘作旭, 王一豪, 高月. 定量蛋白质组学在急性高原病研究中的应用进展[J]. 生物工程学报, 2023, 39(9): 3594-3604.
TU BD, WEI X, SHANG HY, LIU ZX, WANG YH, GAO Y. Application of quantitative proteomics in the study of acute mountain sickness[J]. Chinese Journal of Biotechnology, 2023, 39(9): 3594-3604 (in Chinese).

(本文责编 陈宏宇)