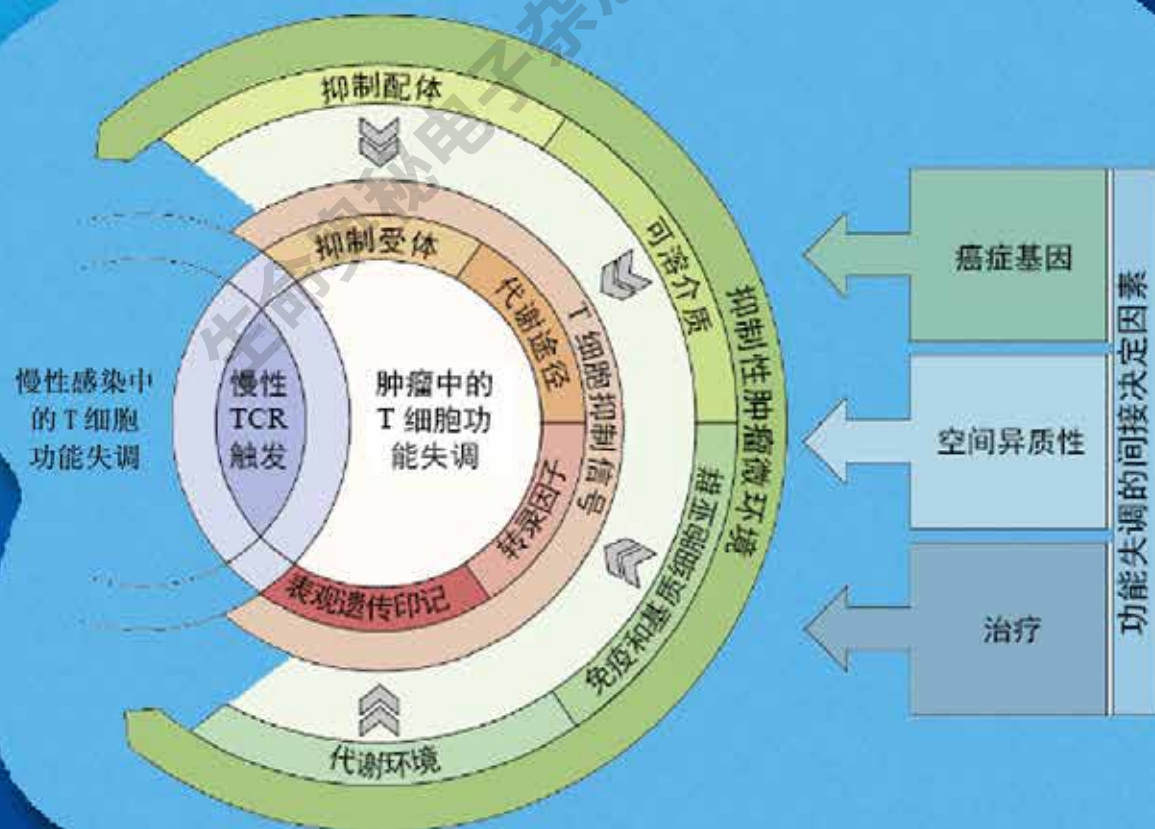


生命奥秘

总 134 期 / 2021/05

LIFEOMICS

竞争性消耗关键氨基酸致使一
肿瘤免疫逃逸新机制——



无奇不有

生命世界

解读生命

走进科学

目录 CONTENTS

专题：肿瘤免疫逃逸新机制 ——竞争性消耗关键氨基酸致使 T细胞功能失调

前言	01
一、概述	02
1. 肿瘤中T细胞功能异常现象	02
2. 导致肿瘤中T细胞功能异常的各种因素	03
二、肿瘤细胞影响T细胞甲硫氨酸代谢和组蛋白甲基化	05
1. 肿瘤细胞竞争性消耗T细胞甲硫氨酸	05
2. 低甲硫氨酸导致T细胞中H3K79me2减少	10
3. H3K79me2减少影响STATS表达	14
4. 补充甲硫氨酸可增加H3K79me2和STATS表达并恢复相关功能	18
三、甲硫氨酸代谢与肿瘤免疫的关系	20
1. 肿瘤通过SLC43A2损害肿瘤免疫	20
2. 其他相关研究	23
四、讨论	25
1. 甲硫氨酸代谢对肿瘤免疫的意义	25
2. 临床应用前景	27

专题

肿瘤免疫逃逸新机制 ——竞争性消耗关键氨基酸致使 T细胞功能失调

特约编辑:

叶景佳, 女, 博士, 研究方向: 肿瘤生物治疗及发病机制

前言

肿瘤细胞的增殖和代谢需要消耗包括甲硫氨酸(methionine)在内的大量营养物质。近期的一项研究表明肿瘤细胞还能通过竞争性消耗甲硫氨酸导致T细胞功能失调, 进而实现免疫逃逸。基于上述机制, 研究者提出一种新的治疗策略, 即给予足量的甲硫氨酸, 使T细胞恢复功能并发挥用来抑制肿瘤生长, 而不是像以往的研究中那样通过控制甲硫氨酸摄入来抑制肿瘤生长。类似的机制在自体免疫疾病中也有发现。

一、概述

1. 肿瘤中T细胞功能异常现象

细胞毒性CD8 T细胞能清除感染了病原体或者发生恶变的肿瘤细胞。但肿瘤浸润的CD8 T细胞会发生功能和表型上的变化，导致出现抑制性受体表达升高、效应细胞因子产生受损等一系列状态，这种状态称为衰竭(exhaustion)。

在肿瘤免疫治疗中，重新激活肿瘤特异性T细胞可极大地提升临床疗效。然而，在许多患者身上，这种疗效并不持久。研究表明，肿瘤微环境(Tumor Microenvironment, TME)中存在多种多样的抑制信号，其造成了瘤内T细胞的功能失调，进而影响抗肿瘤免疫的效果。

具体地说，肿瘤细胞中累积了各种因素(如暴露于紫外线、烟草烟雾或DNA修复缺陷等)导致的基因改变。这些基因改变通常都能在小鼠模型和癌症患者中引起肿瘤活性T细胞反应。尽管在多种实体瘤中，肿瘤浸润淋巴细胞(TIL)的存在——特别是CD8⁺ T细胞的存在——是积极的预后标记，但这些细胞仍不足以有效清除癌细胞。而免疫控制失败的原因之

一就是肿瘤微环境(Tumor Microenvironment, TME)中广泛存在的免疫抑制机制，这些机制通过不同途径削弱了肿瘤浸润T细胞的效应功能，影响了T细胞的抗肿瘤功能。

其中，T细胞的程序性细胞死亡蛋白1(programmed cell death-1, PD-1)的表达上调就是T细胞功能失调的一个主要标记。

PD-1 和它的配体 PD-L1 属于免疫检查点蛋白家族，它们通过抑制或限制 T 细胞应答，确保仅在适当的时间激活免疫系统，将自体免疫炎症的可能性降至最低。但肿瘤细胞上表达的 PD-L1 与T 细胞上的 PD-1 受体结合，抑制了T细胞发挥抗肿瘤作用。有不少研究表明，通过阻断PD-1或其配体PD-L1可成功恢复T细胞功能，而且，针对PD-1/PD-L1的抗体在多种癌症类型，包括在黑色素瘤、非小细胞肺癌(NSCLC)、肾癌(RCC)、尿路上皮癌和头颈部鳞状细胞癌(HNSCC)中表现出显著活性。虽然研究表明该疗法有15%-34%的客观疗效并可明显改善患者预后，但大多数患者仍对该疗法没

有反应或缺乏持久的反应。

这类缺乏(持久)反应的现象可以部分地由T细胞中存在其它功能抑制途径来解释。例如研究发现有的T细胞可同时表达不同的抑制受

体(即所谓的免疫检查点),且表达水平与T细胞功能失调的程度呈正相关。即使在缺乏PD-1的情况下,T细胞仍能进入衰竭状态。

2. 导致肿瘤中T细胞功能异常的各种因素

由于瘤内T细胞暴露于许多不同的免疫抑制机制,因此可能会出现一系列T细胞功能失调的状态,此外,由于肿瘤的微环境会与慢性感染部位的微环境部分重叠,这也会导致T细胞的功能失调状态,下图展示了肿瘤中与T细胞功能障碍相关的各种因素(图1)。

这种梳理对修复免疫系统的抗肿瘤功能,理解导致T细胞功能失调的各种过程至关重要。

早在近一个世纪前, Otto Warburg已证实,癌细胞能依赖糖酵解,即使在有氧的情况下,也能将丙酮酸转化为乳酸。这个过程虽然不如氧化反应高效,但却使肿瘤细胞能够通过中间产物穿梭于各种生物合成途径,为其快速生长和增殖提供能量。当然,葡萄糖并不是癌

细胞唯一的能量来源。事实上,大量摄取氨基酸,特别是谷氨酰胺,是癌细胞新陈代谢的另一个特征。以上两种途径导致肿瘤微环境中葡萄糖和氨基酸的耗竭及代谢废物的积累。而活化的T细胞与癌细胞在代谢方面有许多相似之处。T细胞也需要增加对葡萄糖和氨基酸的摄取,这对T细胞的增殖和功能获取至关重要。2020年9月Bian等人发表在*Nature*杂志上的论文,又为癌症和免疫细胞之间的竞争提供了一个有趣的例子,并证明了这一过程是如何损害肿瘤浸润的CD8 T细胞的。

他们首次揭示了肿瘤微环境中甲硫氨酸(methionine)代谢、表观遗传修饰和T细胞功能失调之间的联系,提出了一种肿瘤免疫逃逸的新机制,为肿瘤免疫治疗提供了新的思路。

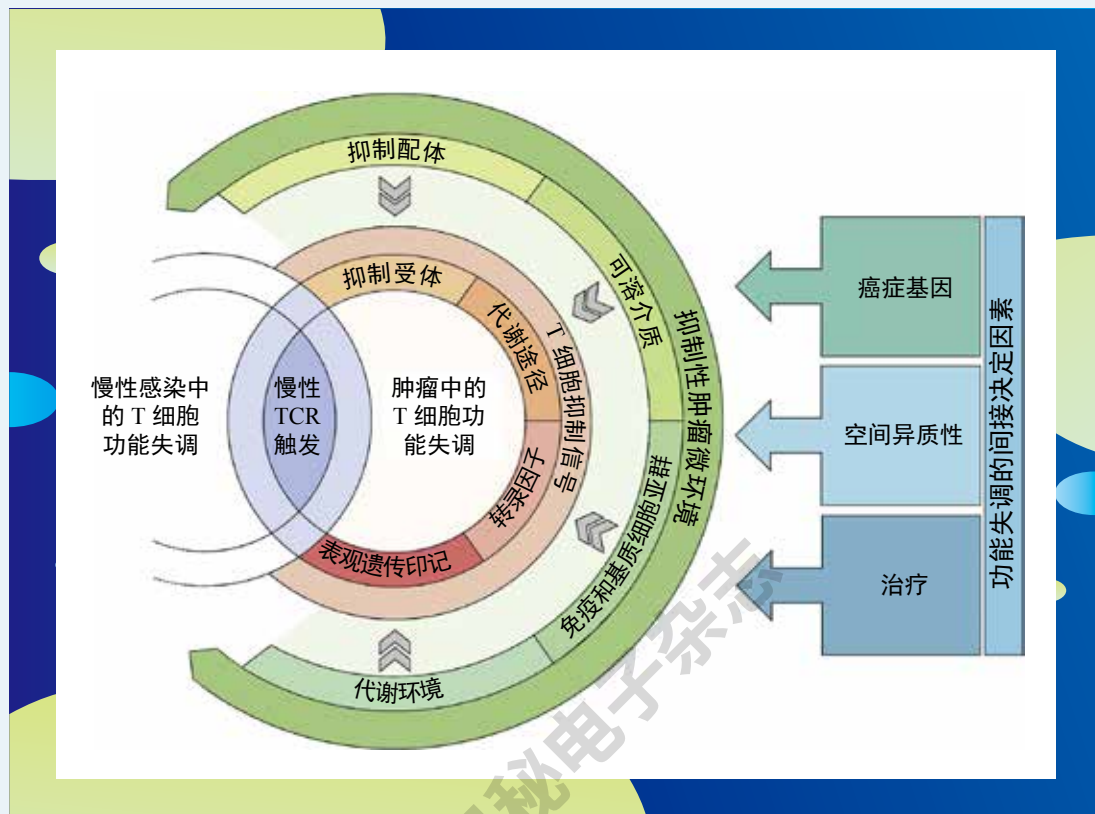


图1. 肿瘤中T细胞功能障碍的驱动因素。肿瘤中功能失调的T细胞与慢性感染中的功能失调的T细胞具有相同的核​​心衰竭特征，至少部分是由慢性T细胞受体 (T cell receptor, TCR) 刺激引起的。慢性TCR信号传递的后果进一步受到TME中多种免疫抑制信号的调节，包括抑制性配体、抑制性可溶介质、细胞亚群和代谢因子。这些不同信号的强度由各种参数决定，包括癌细胞的特定突变，肿瘤成分的空间分布，以及治疗引起的TME改变。总而言之，TME中的免疫抑制信号通过影响抑制受体表达、改变代谢途径、修改表观遗传状态和调整转录因子谱，形成瘤内T细胞的功能(失调)状态。

图片来源: Daniela S. Thommen, and Ton N. Schumacher. (2018) T Cell Dysfunction in Cancer. *Cancer Cell*, 33:547- 562.

二、肿瘤细胞影响T细胞甲硫氨酸代谢和组蛋白甲基化

在肿瘤微环境中，异常的表现遗传模式与T细胞功能失调密切相关，但这种关联的原因还不明晰。Bian等人提出的一种肿瘤免疫逃逸新机制——肿瘤细胞通过破坏CD8⁺ T细胞中的甲硫氨酸代谢，降低了T细胞内甲硫氨酸和甲基供体S-腺苷甲硫氨酸(S-adenosylmethionine, SAM)的水平，去除了组蛋白赖氨酸H3K79位点处双甲基化(H3K79me₂)，而H3K79me₂缺失造成信号传导及转录激活蛋白5(signal transducer and activator of transcription, STAT5)表达下降——STAT5信号传导是T细胞生存和效应功能的核心途径——进而损害T细胞免疫功能。

1. 肿瘤细胞竞争性消耗T细胞甲硫氨酸

衰竭T细胞拥有特定的组蛋白修饰模式，而且其肿瘤免疫治疗效果也十分有限。为了检测氨基酸代谢异常是否与组蛋白改变及T细胞功能障碍有关，研究者用缺少单个氨基酸成分的培养基培养小鼠CD8⁺ T细胞，并对细胞凋亡标志物annexin V、免疫效应分子IFN γ (免疫活性细胞分泌的细胞因子，在诱导抗病毒免

疫中起着重要的免疫调理作用)和TNF α (肿瘤坏死因子 α ，主要由活化的单核/巨噬细胞产生，能杀伤和抑制肿瘤细胞)进行染色分析。结果显示，甲硫氨酸缺失可十分显著地引起T细胞死亡及功能障碍 (图2)。由此得出了甲硫氨酸对T细胞的存活和功能至关重要的结论。

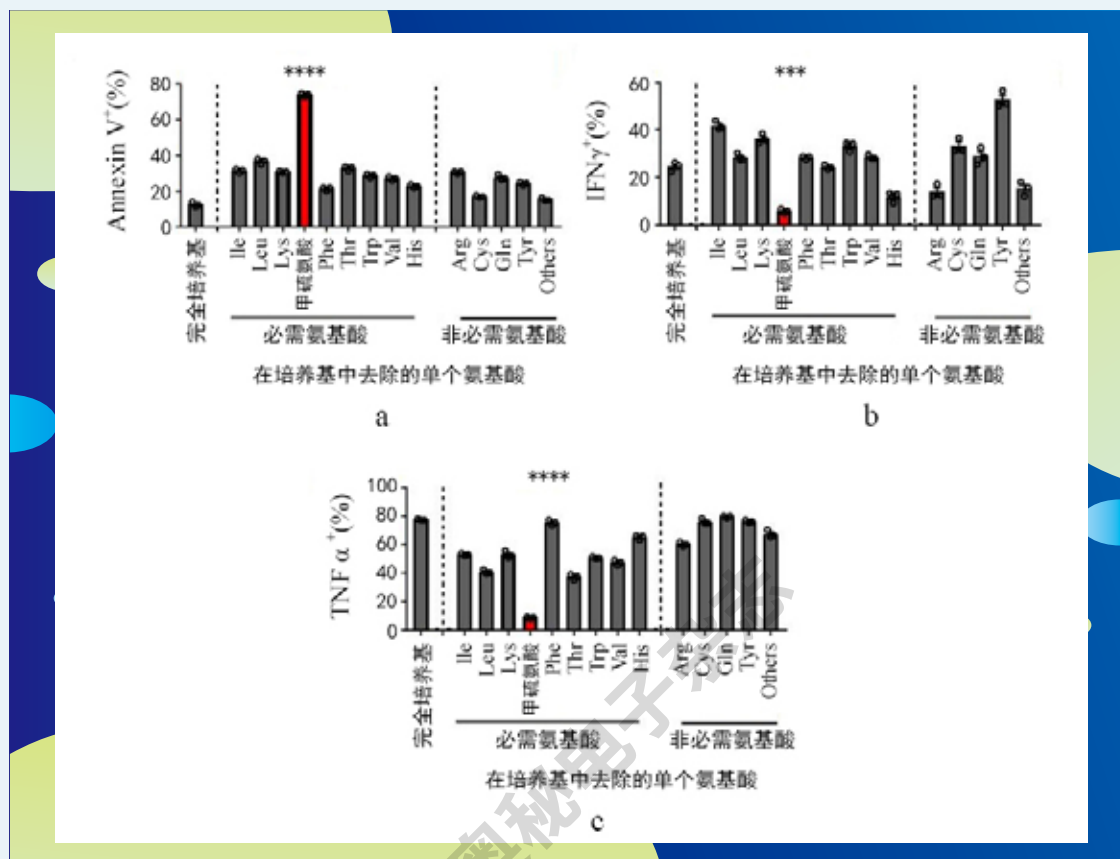


图2. 不同氨基酸对T细胞凋亡和效应细胞因子的影响。将活化的小鼠CD8⁺ T细胞在完全培养基或去掉单个氨基酸的培养基中培养36小时后, 检测其中细胞凋亡标志物Annexin V (a)、免疫效应分子IFN-γ (b)和TNF-α (c) 的表达。

图片来源: Yingjie Bian, Wei Li, Daniel M. Kremer, *et al.* (2020) Cancer SLC43A2 alters T cell methionine metabolism and histone methylation. *Nature*, 585:277–282.

在确认了甲硫氨酸对T细胞的重要性之后, 研究者试图确认不同浓度的甲硫氨酸对CD8⁺ T细胞功能的影响。他们用含有不同浓度(20-100 μM)甲硫氨酸的培养基培养肿瘤细胞ID8和B16F10, 再取上清液培养CD8⁺ T细胞(图3)。结果显示新鲜培养基对T细胞凋亡的影响很小——无论甲硫氨酸浓度如何(图3a, b)。但当原始培养基中甲硫氨酸含量低于100 μM

时, ID8细胞的上清(图3a)或B16F10细胞上清(图3b)就都能诱导CD8⁺ T细胞凋亡。当研究者换成其它肿瘤细胞, 如用MC38或CT26结肠癌细胞上清来培养小鼠CD8⁺ T细胞, 或用A375黑色素瘤细胞上清来培养人CD8⁺ T细胞时, 也得到了类似的结果。上述结果可以证明, 肿瘤细胞通过限制T细胞摄取甲硫氨酸, 损害T细胞的生存和功能。

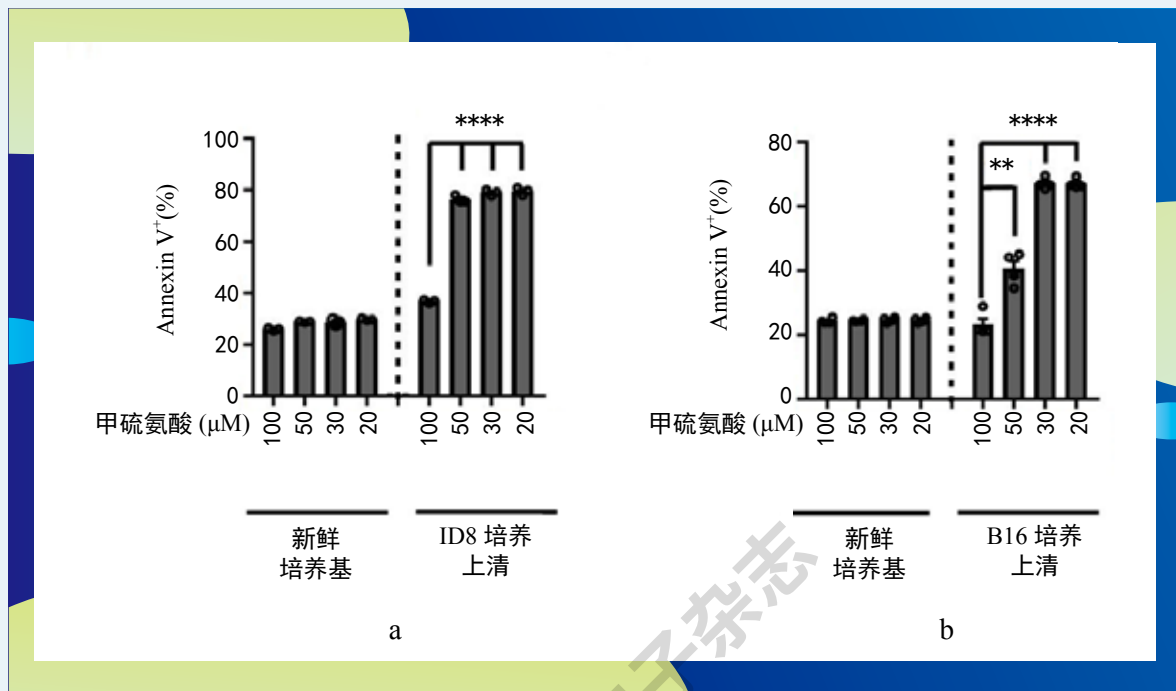


图3. 肿瘤细胞培养上清对T细胞凋亡的影响。将CD8⁺ T细胞用ID8 (a)或B16F10 (b)细胞上清和不同浓度的甲硫氨酸培养36 h后, 检测其中细胞凋亡标志物Annexin V的表达。

图片来源: Yingjie Bian, Wei Li, Daniel M. Kremer, *et al.* (2020) Cancer SLC43A2 alters T cell methionine metabolism and histone methylation. *Nature*, 585: 277–282.

正常情况下, 人血清中甲硫氨酸的生理浓度约为30 μM, 但癌症患者血清中甲硫氨酸的浓度低于健康人。为检测甲硫氨酸在正常生理范围内的消耗, 研究者又用含有30 μM甲硫氨酸的培养基培养B16F10细胞, 并分析上清液中氨基酸的浓度。结果显示肿瘤细胞消耗了大部分氨基酸, 包括甲硫氨酸和色氨酸。随后, 他们在B16F10细胞的培养上清中添加了不同种类的单个氨基酸, 用于培养小鼠CD8⁺ T细胞。在额外添加的氨基酸中, 只有甲硫氨酸阻止了T细胞凋亡并恢复了IFN γ 和 TNF α 的

表达(图4)。在人类CD8⁺ T细胞中也获得了类似的结果。由于肿瘤糖酵解也可调节T细胞功能, 研究者还在培养T细胞的肿瘤细胞上清液内添加了葡萄糖——与甲硫氨酸作对比。最终发现只有甲硫氨酸恢复了T细胞的生存和细胞因子的表达, 葡萄糖并没有起到类似的作用, 而且同时添加葡萄糖和甲硫氨酸也没有增强这一效果。因此研究者得出结论, 肿瘤细胞就是通过消耗甲硫氨酸来损害T细胞的存活和功能的。

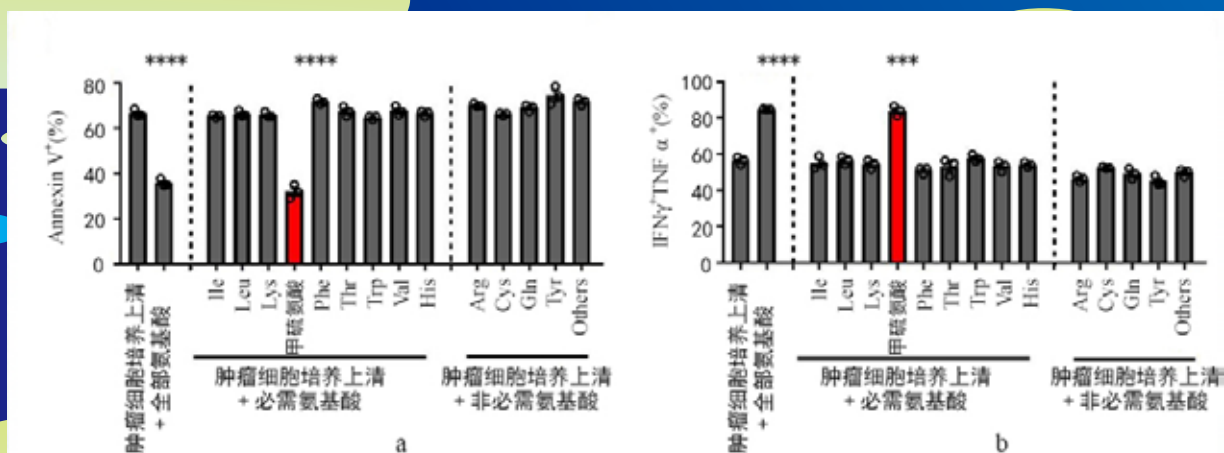


图4. 肿瘤细胞培养上清中补充氨基酸对T细胞凋亡和细胞因子产生的影响。将CD8⁺ T细胞放在添加了不同氨基酸的B16F10细胞培养上清中培养36 h, 检测其中细胞凋亡标志物Annexin V (a)、免疫效应分子IFN γ 和TNF α (b)的表达。

图片来源: Yingjie Bian, Wei Li, Daniel M. Kremer, *et al.* (2020) Cancer SLC43A2 alters T cell methionine metabolism and histone methylation. *Nature*, 585: 277–282.

通过在Transwell系统中共培养B16F10肿瘤细胞和CD8⁺ T细胞(图5a), 研究者发现高浓度甲硫氨酸(100 μ M)对肿瘤细胞或CD8⁺ T细胞的凋亡影响都极小, 但低浓度的甲硫氨酸(30 μ M)可引起CD8⁺ T细胞的凋亡, 却不引起肿瘤细胞的凋亡(图5b, c)。然后, 研究者计算了甲硫氨酸维持CD8⁺ T和肿瘤细胞存

活的半最大有效浓度(half-maximal effective concentration, EC₅₀), 从它们不同的EC₅₀值(表1)可以看出小鼠和人的CD8⁺ T细胞都比肿瘤细胞对去甲硫氨酸更敏感。因此可以得出结论, 肿瘤细胞通过竞争性消耗甲硫氨酸来损害T细胞的生存和功能。

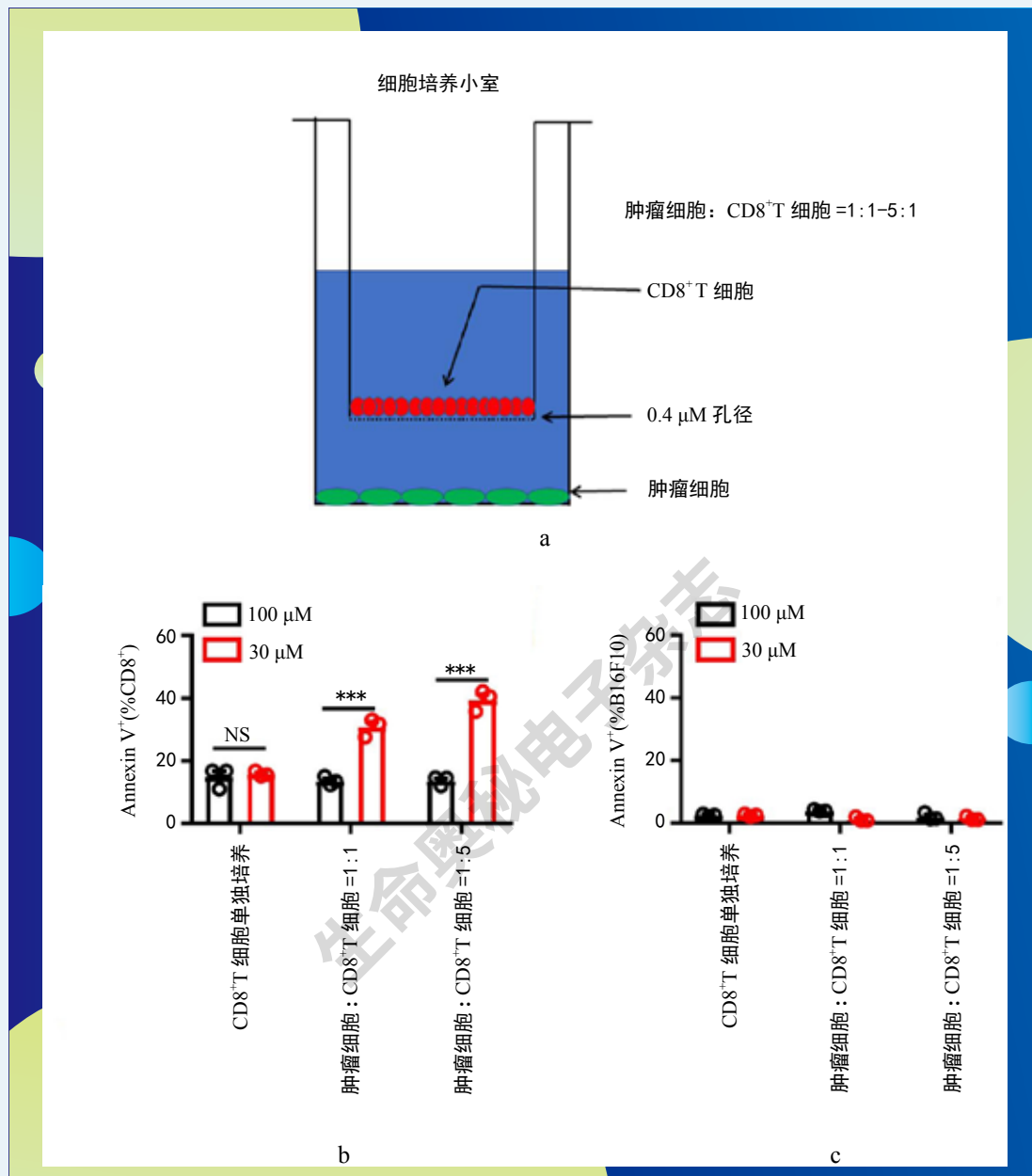


图5. 甲硫氨酸竞争性消耗导致的T细胞和肿瘤细胞的凋亡。Transwell系统中肿瘤细胞和T细胞共培养示意图(a)。将B16F10肿瘤细胞和CD8⁺ T细胞按不同比例在含30或100 μM甲硫氨酸的Transwell细胞共培养系统中培养72 h, 检测CD8⁺ T细胞(b)和B16F10肿瘤细胞(c)中凋亡标志物Annexin V的表达。NS, 差异不显著。

图片来源: Yingjie Bian, Wei Li, Daniel M. Kremer, *et al.* (2020) Cancer SLC43A2 alters T cell methionine metabolism and histone methylation. *Nature*, 585: 277–282.

表1. CD8⁺ T和肿瘤细胞中甲硫氨酸的EC₅₀

细胞	甲硫氨酸EC ₅₀ (μM)
小鼠CD8 ⁺ T cells	7.728
MC38	0.668
B16F10	0.735
ID8	2.325
人CD8 ⁺ T cells	4.288
A375	0.533

数据来源: Yingjie Bian, Wei Li, Daniel M. Kremer, *et al.* (2020). Cancer SLC43A2 alters T cell methionine metabolism and histone methylation. *Nature*, 585: 277–282.

2. 低甲硫氨酸导致T细胞中H3K79me2减少

既已明确了甲硫氨酸在肿瘤免疫逃避中的作用，接下来研究者便开始着手探索该作用的机制。为此，他们用新鲜培养基、B16F10上清和B16F10上清加甲硫氨酸三种液体培养CD8⁺T细胞，然后对不同处理的T细胞进行RNA测序。结果显示，肿瘤上清液影响了与代谢、功能和生存相关的多条信号通路。基

因集富集分析(gene set enrichment analysis, GSEA)结果也显示，当用肿瘤上清培养T细胞时，后者凋亡信号富集且T细胞受体(TCR)信号减弱，而补充甲硫氨酸可在很大程度上修复这种表型。此外，肿瘤上清培养的CD8⁺ T细胞在碳代谢过程和甲硫氨酸循环(图6)中都出现了缺陷，而添加甲硫氨酸后可以恢复。

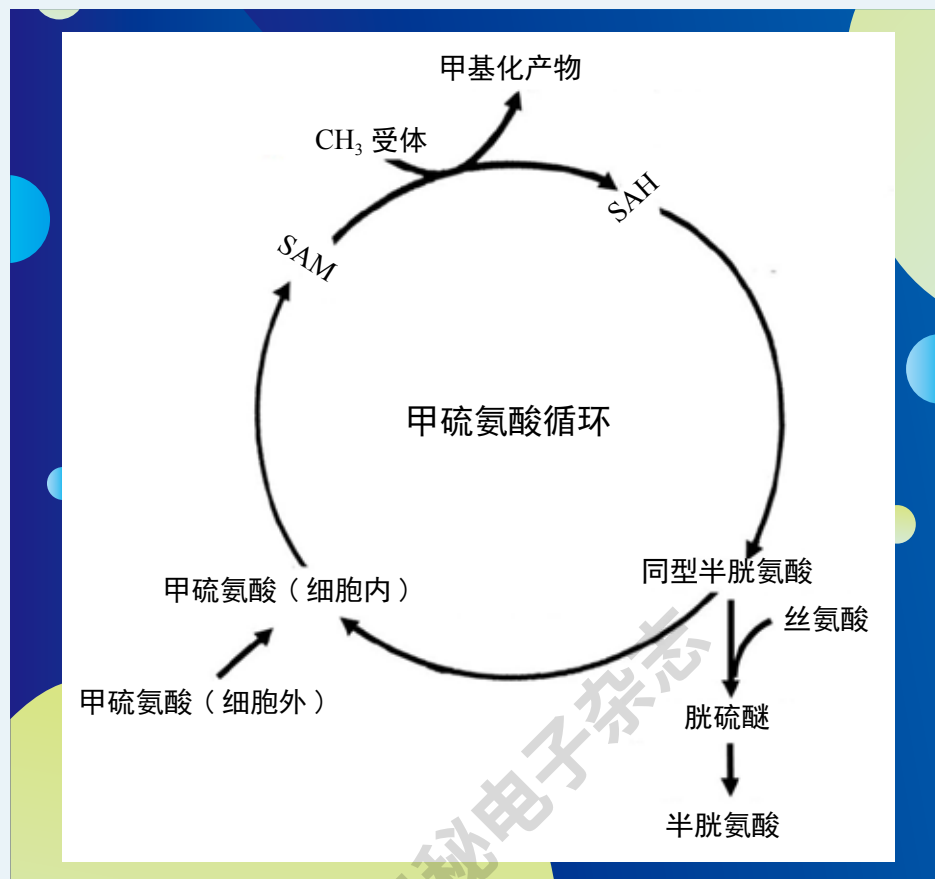


图6. 甲硫氨酸循环图解。甲硫氨酸与 ATP 反应生成 S-腺苷甲硫氨酸(SAM)，SAM 去甲基后生成 S-腺苷同型半胱氨酸(SAH)，SAH 在水解酶作用下生成同型半胱氨酸(Homocysteine, HCY)，HCY 重新生成甲硫氨酸，该过程称为甲硫氨酸循环。此过程广泛参与体内蛋白质等物质的合成并为体内各种化合物的甲基化提供甲基来源。

图片来源: Yingjie Bian, Wei Li, Daniel M. Kremer, *et al.* (2020) Cancer SLC43A2 alters T cell methionine metabolism and histone methylation. *Nature*, 585: 277–282.

研究者沿着代谢过程和甲硫氨酸循环的线索进一步探究，通过代谢组学分析，他们观察到用肿瘤上清培养T细胞引起的代谢变化，也可以被甲硫氨酸的添加所修正(图7)。研究者发现在肿瘤上清培养的CD8⁺ T细胞内，甲硫氨酸、SAM和SAH的含量明显降低，而补充甲硫氨酸可恢复细胞内的甲硫氨酸、SAM

和SAH(图7a-c)，并引起丝氨酸和L-胱硫醚(l-cystathionine)的减少。为了测试哪种代谢物才是影响T细胞存活和功能的关键因素，研究者分别用补充了甲硫氨酸、SAM、SAH或L-胱硫醚的肿瘤上清培养CD8⁺ T细胞。发现补充甲硫氨酸或SAM均可防止CD8⁺ T细胞凋亡，并恢复其细胞因子表达(图7d, e)。

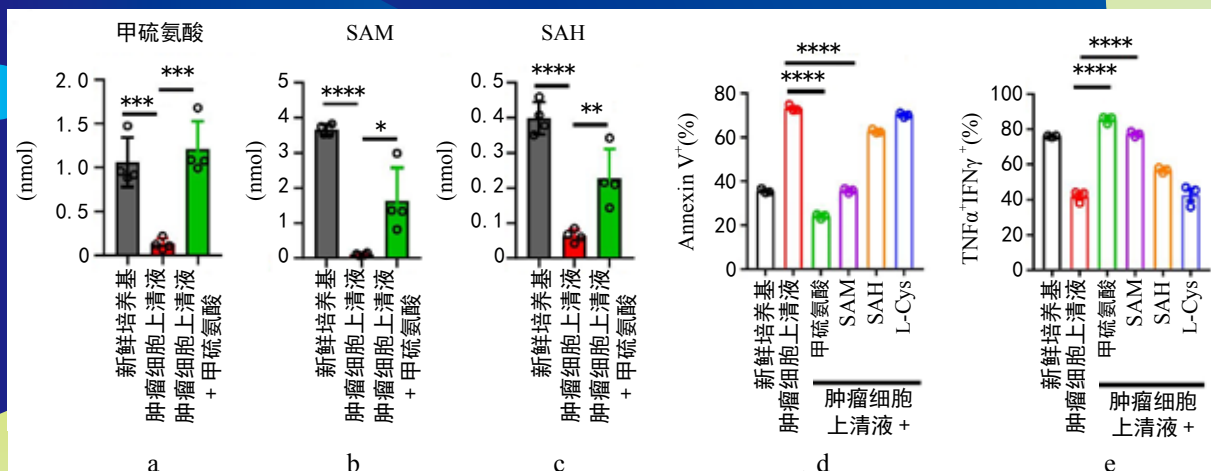


图7. 肿瘤细胞改变CD8⁺T细胞甲硫氨酸代谢。利用质谱法分析细胞内甲硫氨酸(a)、SAM(b)和SAH(c)的浓度。d, e为肿瘤细胞上清培养的CD8⁺T细胞补充代谢物对细胞凋亡(d)和细胞因子产生(e)的影响。

图片来源: Yingjie Bian, Wei Li, Daniel M. Kremer, *et al.* (2020) Cancer SLC43A2 alters T cell methionine metabolism and histone methylation. *Nature*, 585: 277–282.

细胞内SAM由甲硫氨酸转化而来,是表观遗传甲基化的供体。而组蛋白甲基化是一种重要的组蛋白修饰形式,可导致表观遗传学的改变。其中组蛋白H3基团第79号赖氨酸(histone H3 lysine 79 peptide, H3K79)可由SAM提供甲基,经类端粒沉默干扰体1 (Disruptor of telomeric silencing 1-like, DOT1L)催化,形成一甲基化H3K79(H3K79me1)、二甲基化H3K79 (H3K79me2)和三甲基化H3K79 (H3K79me3)三种产物。这三种甲基化产物的生理功能不尽相同,其中H3K79me2被认为与肿瘤密切相关。Bian等人检测了T细胞

组蛋白标记,发现肿瘤细胞培养上清导致了H3K79me2的显著下降,且补充甲硫氨酸可维持H3K79me2水平(图8)。在用肿瘤细胞CT26或MC38的上清液培养的小鼠CD8⁺T细胞和用A375上清液培养的人CD8⁺T细胞中都得到了类似的结果。而且,H3K79me2的减少可以通过补充甲硫氨酸和SAM得到恢复(但补充SAH或L-胱硫醚则没有这种效果)。由此可得出结论,肿瘤细胞通过消耗甲硫氨酸,减少了CD8⁺T细胞中的甲基供体SAM,进而减少了H3K79me2。

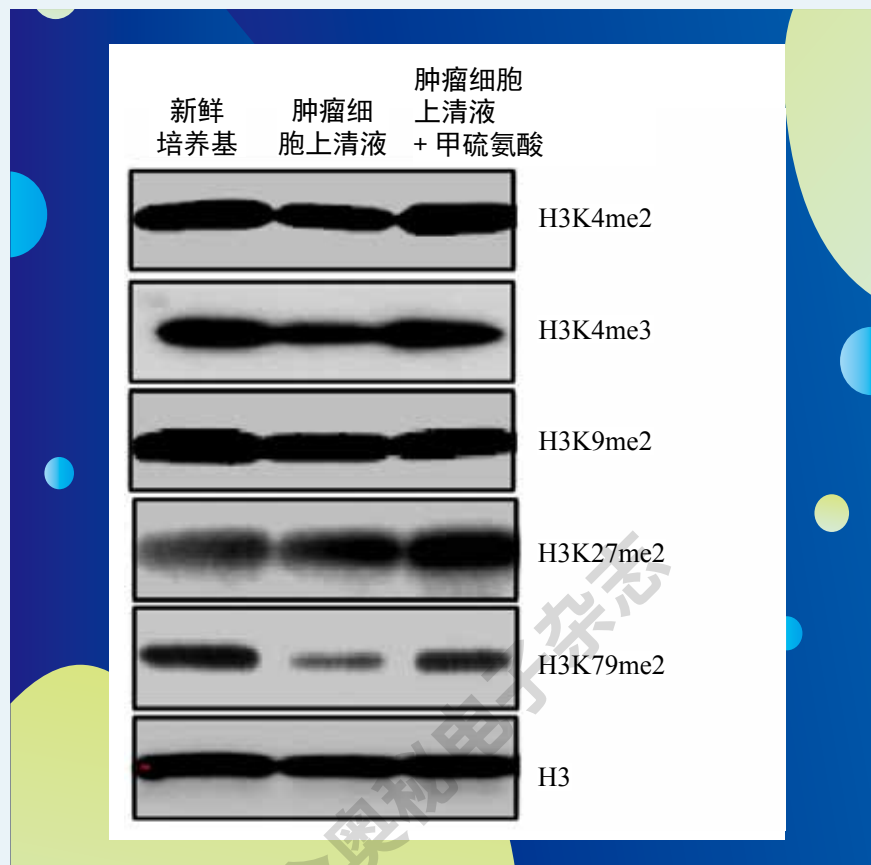


图8. 在CD8⁺T细胞中肿瘤上清对组蛋白甲基化的影响。

图片来源: Yingjie Bian, Wei Li, Daniel M. Kremer, *et al.* (2020) Cancer SLC43A2 alters T cell methionine metabolism and histone methylation. *Nature*, 585: 277–282.

3. H3K79me2减少影响STATS表达

为明确H3K79me2的作用机制,研究者利用转基因小鼠开展了进一步研究。已知类端粒沉默干扰体1 (Disruptor of telomeric silencing 1-like, DOT1L)是唯一催化H3K79的赖氨酸甲基转移酶,其抑制剂EPZ004777可在CD8⁺ T细胞中抑制H3K79me2,诱导细胞凋亡,并以剂量依赖的模式抑制细胞因子表达。为了在遗传水平上探究H3K79me2的作用,研究者将条件化*Dot1l*等位基因(*Dot1l*^{+/+})小鼠与CD4-Cre转基因小鼠杂交,并在小鼠中特异性删除了T细胞

中的*Dot1l*(标记为*Dot1l*^{-/-})。他们发现小鼠T细胞中*Dot1l*的缺失引起了H3K79me2缺失、细胞凋亡增加(尤其是在激活后)和CD8⁺ T细胞功能受损的现象(图9)。RNA阵列分析显示,*Dot1l*^{-/-}CD8⁺ T细胞与甲硫氨酸缺乏的T细胞相似。例如,*Dot1l*^{-/-}T细胞也表现出丰富的凋亡基因标记和受损的T细胞受体(TCR)功能基因标记。这些数据表明,因甲硫氨酸缺乏或因DOT1L依赖的组蛋白甲基化受损引起的T细胞功能失调具有相同的机制。

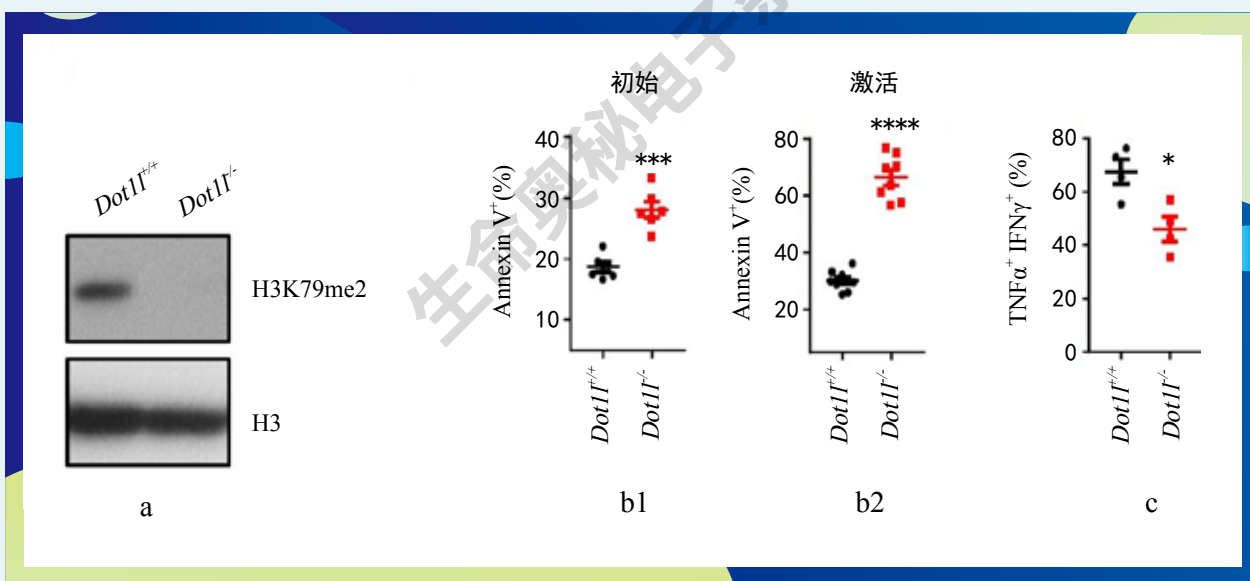
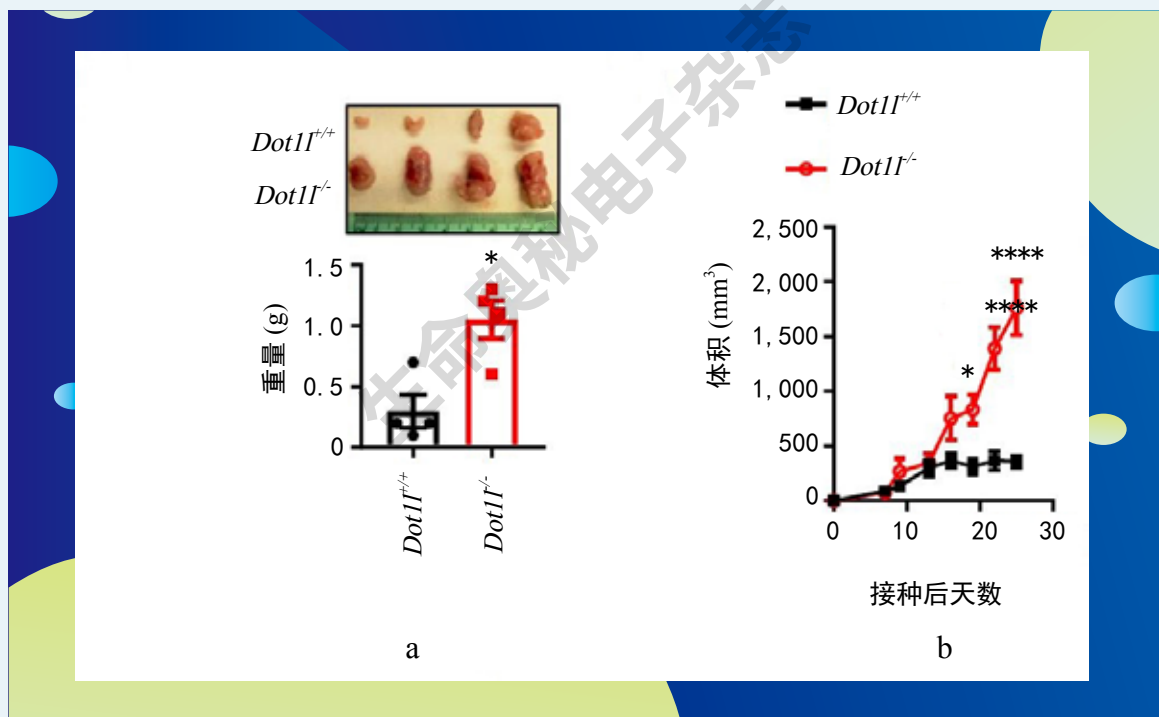


图9. DOT1L缺失对CD8⁺T细胞的影响。DOT1L缺失对CD8⁺T细胞H3K79me2水平(a)、凋亡水平(b1, b2)和细胞因子产生(c)的影响。

图片来源: Yingjie Bian, Wei Li, Daniel M. Kremer, *et al.* (2020) Cancer SLC43A2 alters T cell methionine metabolism and histone methylation. *Nature*, 585: 277–282.

进一步评估T细胞DOT1L在肿瘤免疫中的作用后,研究者发现在 $Dot1l^{-/-}$ 小鼠中MC38肿瘤的生长速度比在 $Dot1l^{+/+}$ 小鼠中更快(图10a, b)。与此同时,在 $Dot1l^{-/-}$ 小鼠中,肿瘤引流淋巴结和肿瘤组织中的CD8⁺ T细胞凋亡增加,且肿瘤浸润CD8⁺ T细胞分泌TNF α 、IFN γ 和颗粒酶B(granzyme B)减少。此外,PD-L1阻断对 $Dot1l^{+/+}$ 小鼠的肿瘤生长有抑制作用,但对 $Dot1l^{-/-}$ 小鼠没有抑制作用。研究者在B16F10

肿瘤中也得到了类似的结果。为了证实甲硫氨酸在T细胞中的积极作用依赖于DOT1L,研究者在肿瘤上清中加入甲硫氨酸,培养 $Dot1l^{+/+}$ 和 $Dot1l^{-/-}$ T细胞,发现补充甲硫氨酸并不能保护 $Dot1l^{-/-}$ T细胞免于凋亡或恢复其细胞因子的产生(图10c-e)。由此可以得出结论,是DOT1L介导了H3K79me2甲基化,它的缺失削弱了抗肿瘤T细胞的免疫功能。



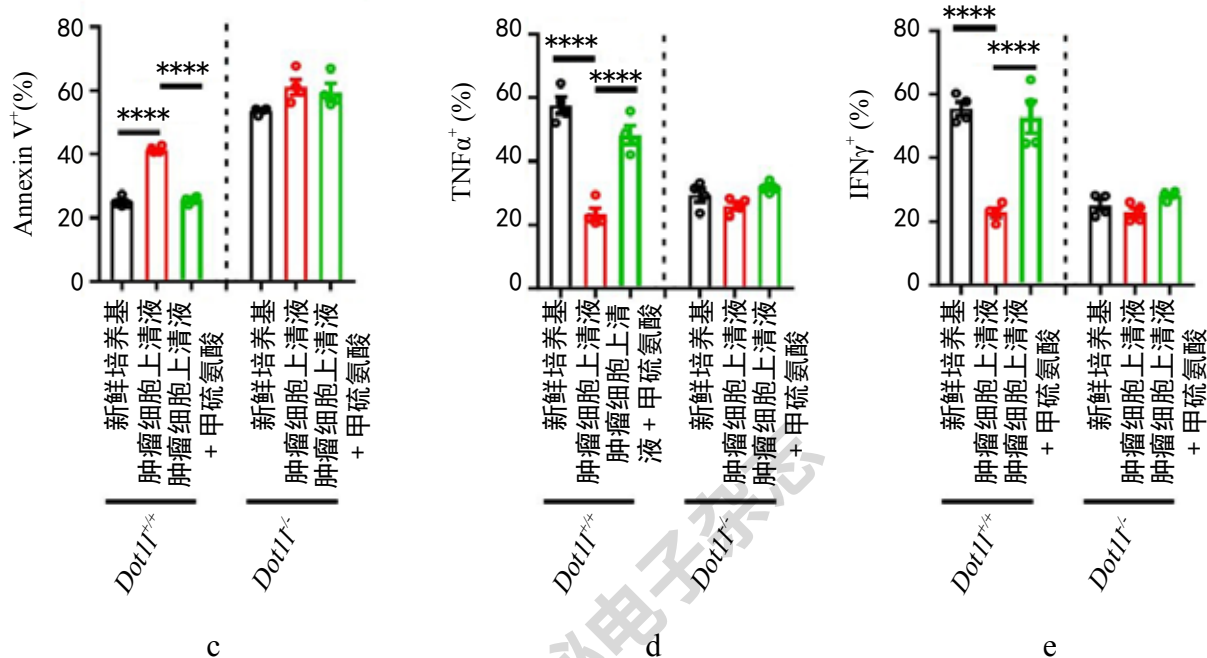


图10. DOT1L缺失对MC38肿瘤生长的影响，以及在*Dot1l*^{+/+}和*Dot1l*^{-/-}T细胞中补充甲硫氨酸对细胞生存和功能的影响。在*Dot1l*^{+/+}小鼠和*Dot1l*^{-/-}小鼠中接种MC38肿瘤细胞25天时肿瘤重量(a)及肿瘤体积变化(b)。在*Dot1l*^{+/+}和*Dot1l*^{-/-}T细胞中补充甲硫氨酸后，检测细胞凋亡标志物Annexin V(c)、免疫效应分子TNF α (d)和IFN γ (e)的表达。

图片来源: Yingjie Bian, Wei Li, Daniel M. Kremer, *et al.* (2020) Cancer SLC43A2 alters T cell methionine metabolism and histone methylation. *Nature*, 585: 277–282.

接下来研究者又探索了H3K79me2的缺失是通过何种途径导致T细胞的功能障碍的。在*Dot1l*^{-/-} CD8⁺ T细胞中显示出凋亡基因表达的增高。已知JAK-STAT通路可调节T细胞存活及其功能。在*Dot1l*^{-/-} T细胞中，H3K79me2的缺失对JAK-STAT通路中的*Stat5*的表达影响最大；总STAT5和磷酸化STAT5 (p-STAT5)表达均降低，而其他STAT均未降低。在B16F10上清培养的小鼠CD8⁺ T细胞中，*Stat5*转录产物、总

STAT5和p-STAT5均降低。这些效应可以通过补充甲硫氨酸(Met)或SAM——而非SAH或L-胱硫醚(L-Cys)——得到逆转(图11)。此外，用DOT1L抑制剂SGC0946处理的人CD8⁺ T细胞的RNA-seq数据显示*STAT5*表达减少，凋亡基因表达增加，T细胞信号通路受损。由此可见，肿瘤细胞竞争性消耗甲硫氨酸，导致CD8⁺ T细胞中H3K79me2减少并引起*STAT5*表达降低，阻碍了JAK-STAT信号传导通路。

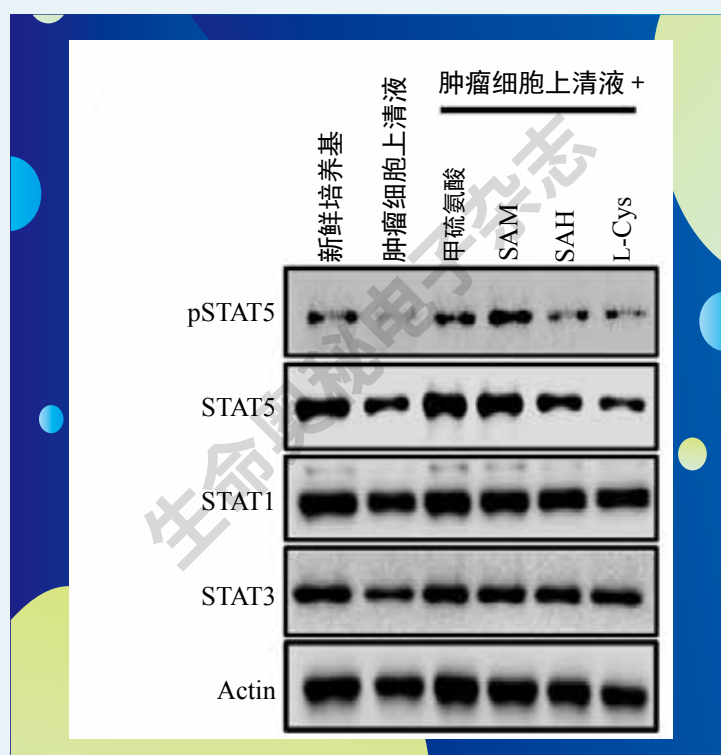


图11. H3K79me2缺失对JAK-STAT通路中不同蛋白分子表达的影响。Western blot 检测CD8⁺ T细胞在不同培养基(新鲜培养基、肿瘤细胞上清液或肿瘤细胞上清液加入不同代谢物)作用下总STAT5和磷酸化STAT5 (p-STAT5)的表达。

图片来源: Yingjie Bian, Wei Li, Daniel M. Kremer, *et al.* (2020) Cancer SLC43A2 alters T cell methionine metabolism and histone methylation. *Nature*, 585: 277–282.

H3K79me2是哺乳动物细胞中的活性基因标记，出现在转录活性基因的启动子区和5' 编码区。染色质免疫沉淀和测序(ChIP-seq)数据显示，H3K79me2富集于小鼠和人的*STAT5B*启动子关键调控区。芯片分析也显

示*Stat5*启动子上存在高水平的H3K79me2，在B16F10上清培养的T细胞中，这种结合减弱，补充甲硫氨酸后恢复(图12)。可见，H3K79me2参与了CD8⁺ T细胞中STAT5转录的直接调控。

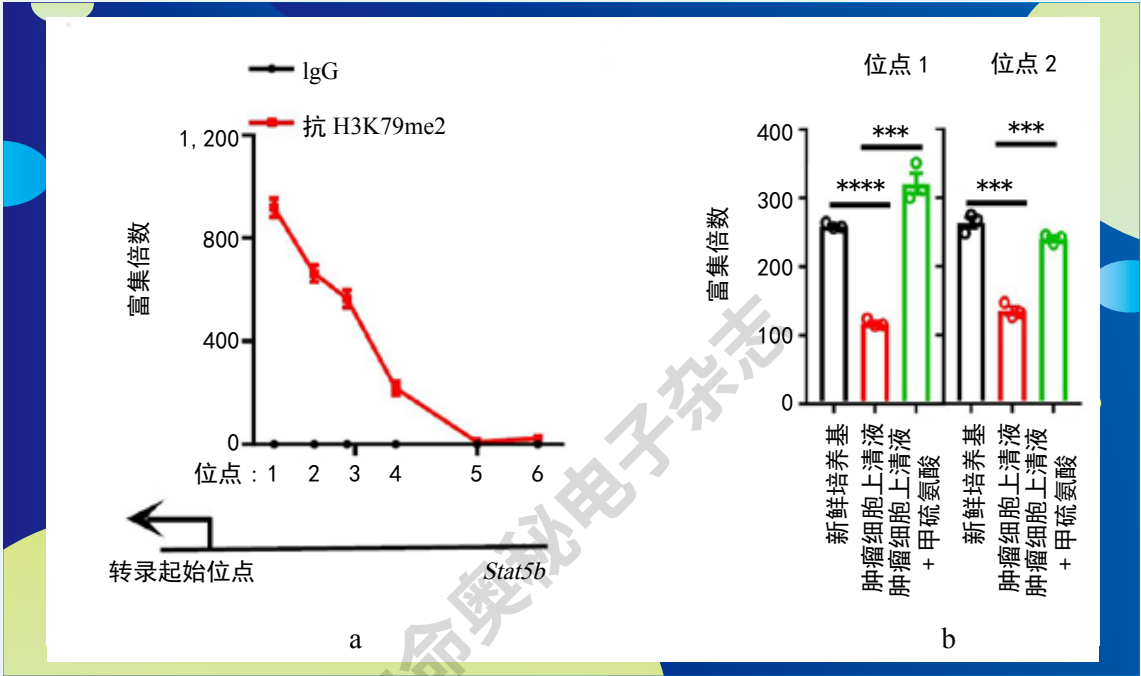


图12. *Stat5b*启动子调控区的H3K79me2。a,芯片检测发现H3K79me2富集于CD8⁺ T细胞*Stat5b*启动子调控区。TSS，转录起始位点。b, 芯片检测结果显示，在新鲜培养基、肿瘤细胞上清液或添加甲硫氨酸的上清液培养的CD8⁺ T细胞中，H3K79me2在*Stat5b*启动子区域的分布变化。
图片来源: Yingjie Bian, Wei Li, Daniel M. Kremer, *et al.* (2020) Cancer SLC43A2 alters T cell methionine metabolism and histone methylation. *Nature*, 585: 277–282.

4. 补充甲硫氨酸可增加H3K79me2和STAT5表达并恢复相关功能

为了充分证明体内肿瘤细胞和T细胞之间存在甲硫氨酸竞争关联，研究者还进行了四项

补充研究。
首先，他们发现在肿瘤浸润性CD8⁺细胞

中H3K79me2和STAT5的表达水平低于引流淋巴结和脾脏中的T细胞。

其次，他们还证实来自人卵巢癌大网膜、恶性腹水等肿瘤的肿瘤浸润CD8⁺ T细胞与外周T细胞相比，H3K79me2和STAT5的表达都有所降低。为了检验甲硫氨酸对人肿瘤浸润T细胞的影响，他们用含有或不含甲硫氨酸的培养液培养人结直肠癌浸润T细胞，发现甲硫氨酸的加入增强了T细胞效应细胞因子、H3K79me2和STAT5的表达。

其三，他们将甲硫氨酸注射到小鼠的B16F10肿瘤中，发现补充甲硫氨酸可延缓肿瘤生长，并增强肿瘤浸润CD8⁺ T细胞中H3K79me2和STAT5的表达，促进T细胞存活并增加多功能细胞因子的表达。往小鼠体内的ID8肿瘤中注射甲硫氨酸也延缓了肿瘤进展，

增强了T细胞(但不是肿瘤细胞)的存活，提高了肿瘤腹水和肿瘤浸润的CD8⁺ T细胞中的效应细胞因子水平。注射补充甲硫氨酸后，他们在ID8腹水中检测到高水平的甲硫氨酸。他们还用甲硫氨酸、抗PD-L1或两者联合治疗CT26肿瘤小鼠，发现与单独治疗相比，甲硫氨酸加抗PD-L1具有协同抗肿瘤作用。同时伴有T细胞肿瘤浸润增加和T细胞凋亡减少。

其四，研究者还为结直肠癌患者补充甲硫氨酸。研究发现补充甲硫氨酸可导致CD8⁺ T细胞中H3K79me2和p-STAT5的增加，增强T细胞IL-2的产生和CD8⁺ T细胞多功能细胞因子的表达，减少CD8⁺ T细胞的凋亡。所有这些数据均表明，甲硫氨酸缺乏会降低H3K79me2和STAT5在T细胞中的表达并损害T细胞功能。



资讯 · 频道

www.LifeOmics.com

三、甲硫氨酸代谢与肿瘤免疫的关系

一旦确认肿瘤细胞通过竞争性消耗甲硫氨酸促使T细胞凋亡并损害T细胞功能，研究者又着手确认肿瘤细胞具体通过何种途径或手段“碾压”T细胞，摄取到更多的甲硫氨酸，进而影响肿瘤免疫的效果。

1. 肿瘤通过SLC43A2 损害肿瘤免疫

甲硫氨酸通过转运蛋白家族(solute carrier family, SLC)被转运到细胞中，SLC包括L型和A型两种。研究者分别用L型转运蛋白抑制剂BCH和A型转运蛋白抑制剂MeAIB培养B16F10细胞。然后，用这两种上清液培养CD8⁺ T细胞并分析结果。他们发现是L型转运蛋白抑制剂BCH，而非A型转运蛋白抑制剂MeAIB，阻止了T细胞凋亡，并恢复受损的细胞因子表达。由此判断，L型转运蛋白可能与肿瘤对甲硫氨酸的消耗有关。

接下来，研究者比较了CD8⁺T细胞和肿瘤细胞中的SLC转录产物，发现两种L型转运蛋白的转录产物(*SLC7A5*和*SLC43A2*)在肿瘤细胞中的含量相对较高。Western blot结果显示，*SLC7A5*蛋白在CD8⁺T细胞和一些肿瘤细胞中表达水平相当，而*SLC43A2*蛋白在CD8⁺T细胞中的表达量比在肿瘤细胞中要低许多(图13)。*SLC43A2*在肿瘤和CD8⁺ T细胞中的表达差异表明，肿瘤细胞可能通过*SLC43A2*在甲硫氨酸的摄取和消耗方面优于T细胞。

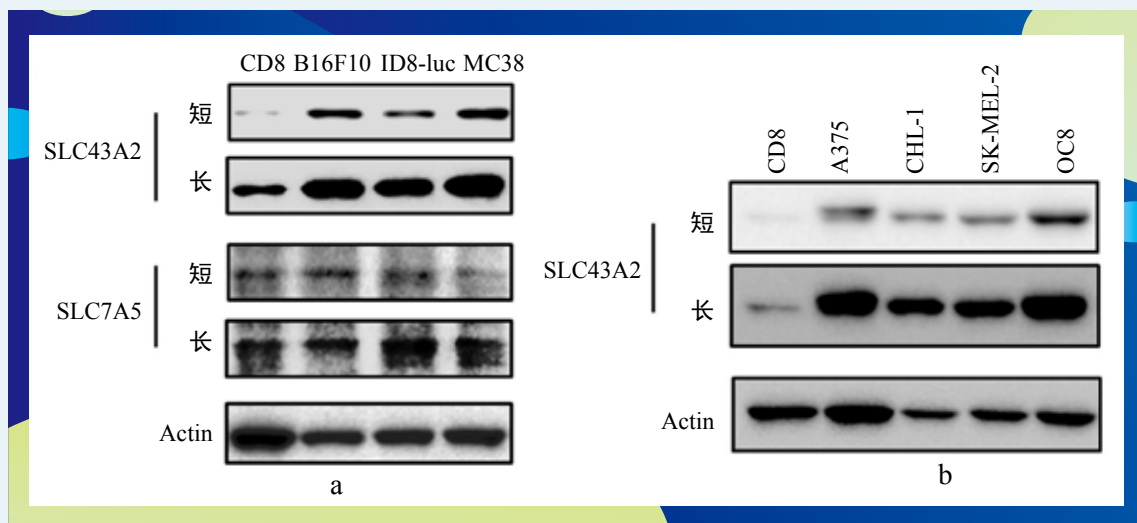


图13. SLC7A5和SLC43A2在T细胞及一些肿瘤细胞中的表达。 a. Western Blot检测SLC43A2和SLC7A5蛋白在活化的CD8⁺ T细胞和肿瘤细胞中的表达。 b. Western Blot检测SLC43A2蛋白在人CD8⁺ T细胞和肿瘤细胞中的含量。

图片来源: Yingjie Bian, Wei Li, Daniel M. Kremer, *et al.* (2020) Cancer SLC43A2 alters T cell methionine metabolism and histone methylation. *Nature*, 585: 277–282. methionine metabolism and histone methylation. *Nature*, 585: 277–282.

为了验证这一可能性, 研究者针对 *SLC43A2* 设计发夹RNA (shRNA)——sh*SLC43A2*——用于在B16F10细胞中敲除 *SLC43A2*, 并发现敲除 *SLC43A2* 表达后, 细胞对甲硫氨酸的消耗减少。然后, 使用表达 sh*SLC43A2* 或随机序列shRNA的肿瘤上清液培养CD8⁺ T细胞。使用sh*SLC43A2*细胞上清液培养CD8⁺ T细胞时, T细胞凋亡减少, 多种细胞因子表达增强。在Transwell系统中将表达 sh*SLC43A2* 或随机序列shRNA的肿瘤细胞与T细胞共培养, 发现与使用随机序列shRNA处理的肿瘤细胞相比, 与表达sh*SLC43A2*的肿瘤细胞共培养可使T细胞凋亡减少, 细胞因子

的产生增多, 同时H3K79me2表达增加。由此可知, 肿瘤细胞正是通过*SLC43A2*竞争性消耗甲硫氨酸, 并影响了T细胞组蛋白甲基化和功能。

接下来, 研究者将sh*SLC43A2*处理的B16F10细胞或随机序列shRNA(对照)注射到*Dot1l*^{+/+}和*Dot1l*^{-/-}C57BL/6小鼠中。携带sh*SLC43A2* B16F10细胞的*Dot1l*^{+/+}小鼠的肿瘤生长速度比携带对照B16F10细胞的小鼠慢。然而, *SLC43A2*的敲除并不影响*Dot1l*^{-/-}小鼠的肿瘤进展。这提示肿瘤*SLC43A2*与T细胞DOT1L在抗肿瘤免疫中功能上具有一定联系。此外, sh*SLC43A2*敲除对*Rag1*^{-/-}小鼠(*Rag1*^{-/-}

小鼠不能产生成熟的T、B淋巴细胞)的肿瘤生长没有影响。因此,在shSLC43A2处理的肿瘤中,肿瘤免疫有助于实现对肿瘤的抑制。与此相一致的是,与对照野生型C57BL/6小鼠中的肿瘤相比,shSLC43A2处理的肿瘤中,肿瘤部位的T细胞浸润和效应分子增加。抗PD-L1进一步抑制了shSLC43A2 B16F10肿瘤的生长。

研究者也对接种了经shSLC43A2处理的ID8肿瘤细胞的小鼠进行了研究。与B16F10肿瘤中一致,shSLC43A2对接种了ID8肿瘤细胞的Rag1^{-/-}小鼠的肿瘤生长没有影响,但在野生型小鼠实验中,与接种ID8肿瘤细胞的野生型小鼠相比,接种了经shSLC43A2处理的ID8肿瘤细胞的野生型小鼠,肿瘤生长减缓,且

CD8⁺ T细胞浸润增加。这些数据表明,药物靶向SLC43A2或许能促进抗肿瘤免疫。考虑到尚无特异性SLC43A2抑制剂,研究者用L型转运蛋白抑制剂BCH处理B16F10的荷瘤小鼠,同时检测添加或未加抗PD-L1的结果(图14),数据显示,单独用BCH或抗PD-L1处理都可以部分抑制肿瘤生长,两者联用则能产生协同效应——诱导出最高的T细胞浸润,并在肿瘤浸润的CD8⁺ T细胞中表达最多的效应分子。联合治疗还能在ID8荷瘤小鼠中协同抑制肿瘤生长,并通过肿瘤浸润CD8⁺ T细胞促进细胞因子产生增多。上述结果表明,靶向肿瘤SLC43A2并联合检查点阻断或许是一种有效的抗癌方法。

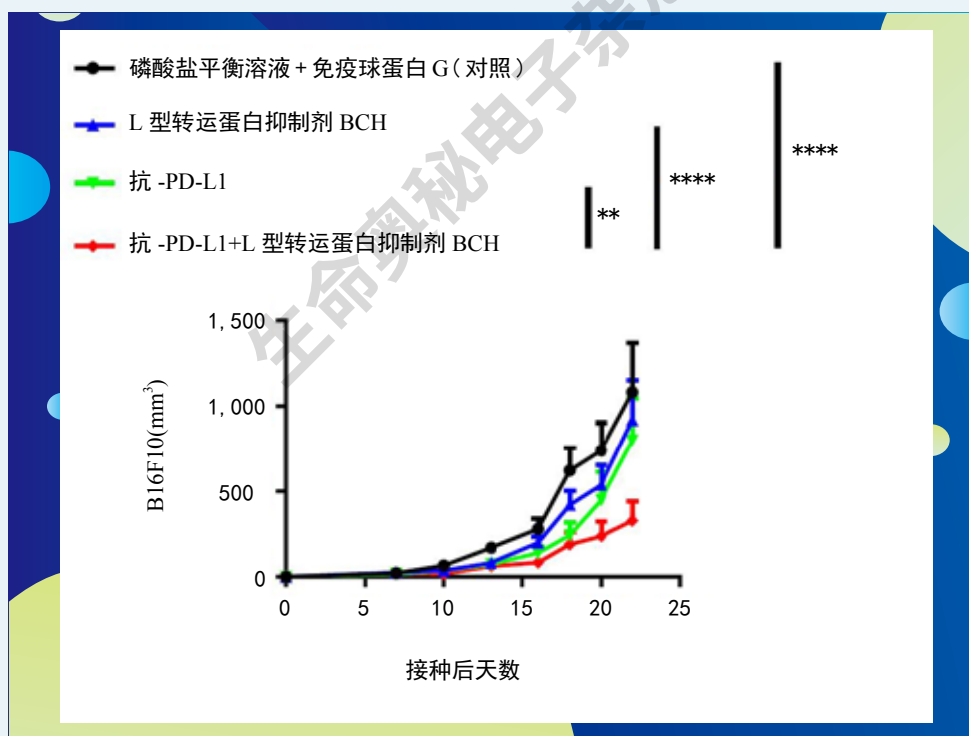


图14. BCH联合抗PD-L1治疗对B16F10荷瘤小鼠肿瘤体积的影响。

图片来源: Yingjie Bian, Wei Li, Daniel M. Kremer, *et al.* (2020) Cancer SLC43A2 alters T cell methionine metabolism and histone methylation. *Nature*, 585: 277–282.

最后,研究者调查了肿瘤SLC43A2表达、T细胞特征与癌症患者临床结果之间的潜在关系。使用来自癌症基因组图谱(TCGA)数据库的数据,他们发现肿瘤中SLC43A2的转录产物含量高于相应的正常组织,而且肿瘤中SLC43A2的高表达与低生存率相关。黑色素瘤患者的肿瘤浸润性T细胞和癌细胞的单细胞RNA测序结果显示肿瘤细胞中SLC43A2的转录水平高于T细胞。根据SLC43A2在肿瘤中的表达水平的高低将患者分为两组进行基因富集分析(GSEA),结果显示,SLC43A2高表达的黑色素瘤细胞中甲硫氨酸代谢信号基因的表达更丰富。在同一肿瘤中,肿瘤SLC43A2水平与CD8和IFNG转录产物的含量呈负相关。此外,与肿瘤SLC43A2表达水平低的患者相比,

肿瘤SLC43A2表达水平高的患者T细胞中甲硫氨酸代谢和组蛋白甲基化信号均较弱,效应基因表达水平也较低。可见肿瘤中SLC43A2的高表达与患者的T细胞免疫反应降低有关。

虽然Bian等人明确指出,甲硫氨酸减少导致SAM水平降低,并进一步引起CD8 T细胞中DOT1L依赖性组蛋白甲基化受损,但这并不排除甲硫氨酸饥饿导致的其他表观遗传效应。最近Roy等人发表在《细胞代谢》(*Cell Metabolism*)杂志上的一项研究表明,在甲硫氨酸饥饿的情况下,另一个组蛋白标记H3K4me3也发生了选择性丢失。事实上,Bian等人的研究数据(图8中关于H3K4me3的部分)也支持这一发现。

2. 其他相关研究

与Bian等人不同,Roy等人的研究是围绕自身免疫性疾病展开的。自身免疫疾病由炎症免疫细胞特别是T辅助(Th)细胞驱动,这些细胞通过靶向健康组织导致症状出现。Roy等人发现在实验性自身免疫脑脊髓炎(experimental autoimmune encephalomyelitis, EAE)小鼠模型中,简单的饮食干预——甲硫氨酸限制——便可限制自身免疫性症状。Roy等人的研究证明,甲硫氨酸是产生S腺苷甲硫氨酸(SAM)所必需的,SAM是调节T细胞基因表达的代谢物。减少甲硫氨酸的供应可以抑制Th细胞增殖并减少其细胞因子的产生,从而减少了致病性Th细胞浸润到脑组织中,进而阻止EAE疾病的发生和进展。这些数据表明,限制甲硫氨酸可作为一种代谢干预治疗自身免疫性疾病,如多发性硬化症(Multiple Sclerosis, MS)等。

在多发性硬化症等疾病中,CD4⁺ T辅助细

胞是自身免疫病理的主要驱动因素。而甲硫氨酸是影响CD4⁺ T辅助细胞表观遗传调控的关键营养物质。Roy等人的研究表明甲硫氨酸被活化的T细胞迅速吸收,作为通用甲基供体SAM生物合成的主要底物,甲硫氨酸维持了T细胞内的SAM池。限制摄入甲硫氨酸可降低Th17细胞的H3K4甲基化(H3K4me3)——细胞增殖和细胞因子产生的关键基因启动子区组蛋白,抑制Th细胞生长和细胞因子产生(图15),限制病理免疫细胞在中枢神经系统的增殖和浸润,减少与EAE相关的神经炎症,延缓整体EAE疾病的进展并降低疾病的严重程度。在多发性硬化症(实验性自身免疫性脑脊髓炎)小鼠模型中,限制摄入甲硫氨酸减少了致病性Th17细胞在体内的增长,从而减少了T细胞介导的神经炎症和疾病的发生。

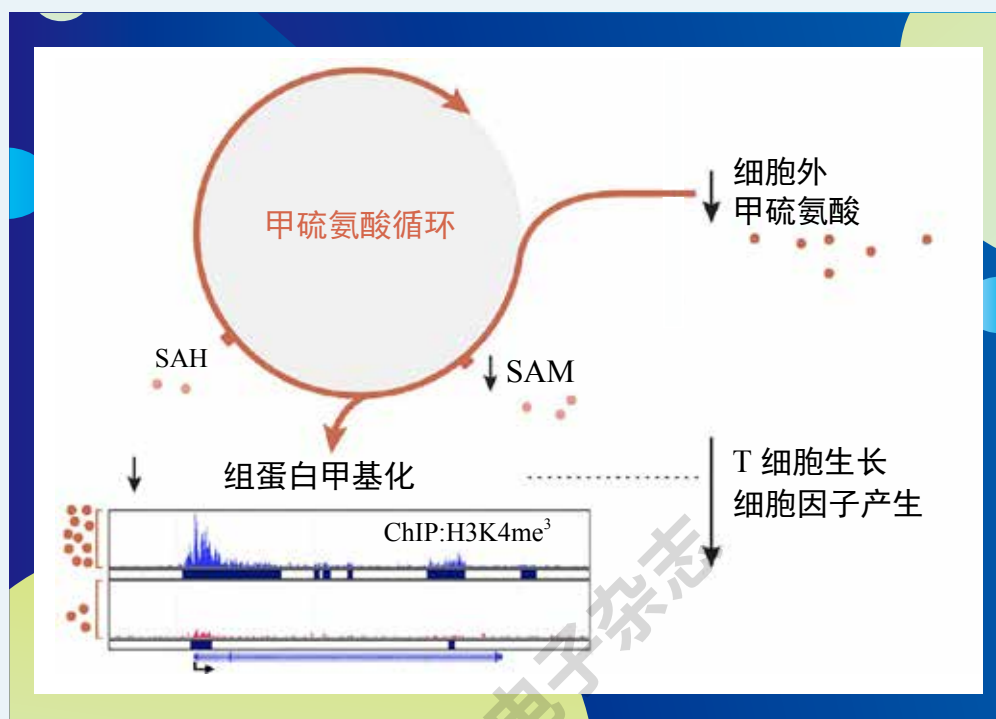


图15. 甲硫氨酸代谢通过表观遗传调控改变辅助T细胞反应。活化的T细胞利用外源性甲硫氨酸合成甲基供体SAM。限制甲硫氨酸的摄入降低了T细胞内SAM和H3K4me3水平。3K4me3水平下降限制了T细胞的生长和细胞因子的产生。

图片来源: Dominic G. Roy, Jocelyn Chen, Victoria Mamane, *et al.* (2020) Methionine Metabolism Shapes T Helper Cell Responses through Regulation of Epigenetic Reprogramming. *Cell Metabolism*, 31: 250–266.

上述两项研究都指出,特定甲基转移酶对甲硫氨酸限制的影响是由于它们对SAM底物的不同亲和力造成的。事实上,组蛋白甲基转移酶的活性对细胞内SAM浓度的微小变化非常敏感,这表明它们的活性直接受到SAM水平的调节。DOT1L的米氏常数(K_m)值(酶促反应的最大速度一半时的基质浓度)相对较低,说明它

只需要少量的SAM就能达到饱和,也可表明其它 K_m 值较高的甲基转移酶会首先受到SAM浓度降低的影响。 K_m 值也可近似地反映酶与底物的亲和力大小, K_m 值小,则提示亲和力大。目前尚不清楚底物调控的特异性是如何实现的。

四、讨论

1. 甲硫氨酸代谢对肿瘤免疫的意义

在肿瘤中功能失调的T细胞呈现出各种不同的细胞状态，这些状态由持续的TCR触发引起，并受到T细胞内外各种因素的影响，包括TME中进行的各种免疫抑制过程。为了恢复抗肿瘤免疫，了解这些引起和维持T细胞功能失调的过程是十分必要的。从细胞水平上对这些功能失调的T细胞进行表征，结合针对肿瘤反应性和肿瘤成分的空间分布的评估，将有助于实现这一目标，并促进针对功能失调T细胞治疗策略的发展。

近年来的研究已经开始探索氨基酸在T细胞活化和表观遗传调控中的作用。甲硫氨酸是一种必需氨基酸，由甲基转移酶将其转化为甲基供体SAM，SAM可用于包括组蛋白甲基化修饰在内的各种甲基化过程。基于此，SAM可表明甲硫氨酸代谢和表观遗传调控之间的联系。功能失调的T细胞表现出包括组蛋白修饰在内的独特的表观遗传学特征。因此，异常的甲硫氨酸代谢可导致T细胞中特定的组蛋白修饰，并导致它们在肿瘤微环境中发生功能障碍。

Bian等人已经证明肿瘤细胞和T细胞之间直接竞争甲硫氨酸，从而导致包括SAM在内一系列单碳代谢底物减少。由于DOT1L是H3K79唯一的甲基转移酶，而且对于SAM的Km相对较低，从而导致H3K79甲基化对甲硫氨酸和SAM剥夺的敏感性，并解释了为什么T细胞的H3K79me2对被肿瘤改变了的甲硫氨酸代谢十分敏感。研究者还验证了人和小鼠肿瘤浸润T细胞中甲硫氨酸、H3K79me2和STAT5之间的机制存在关联。值得注意的是，由于肿瘤细胞的异常增殖和代谢需要大量的甲硫氨酸，GAO等人的研究表明限制摄入甲硫氨酸可在免疫缺陷小鼠模型中抑制肿瘤生长。而Bian等人的研究表明，人和小鼠的效应T细胞都对甲硫氨酸敏感。进一步得出结论：特异性限制肿瘤对甲硫氨酸的摄取对维持癌症患者的T细胞免疫至关重要。而且体内体外实验都表明，在肿瘤细胞存在的情况下，补充甲硫氨酸，可恢复T细胞生长和抗肿瘤功能，这些为肿瘤免疫治疗提

供了新的思路。

H3K79me2是活跃的组蛋白转录标志，对DOT1L的抑制可阻断H3K79me2和STAT5，导致T细胞凋亡和功能失调。从机制上讲，H3K79me2在CD8⁺T细胞中控制了STAT5的转录。如此，研究者就在特定的组蛋白改变(H3K79me2)和转录因子(STAT5)之间确认了一种生物学上的因果联系，而这种联系对T细胞的表型来说是至关重要的。而且，肿瘤细胞通过甲硫氨酸转运蛋白SLC43A2与T细胞竞争甲硫氨酸(图16)。虽然SLC43A2在各种不同遗传背景下的人类和小鼠肿瘤中高表达，但肿瘤中SLC43A2异常表达及其相关的甲硫氨酸代

谢不太可能是由共同的原癌基因驱动。抑制肿瘤细胞SLC43A2可使效应T细胞的甲硫氨酸代谢恢复正常，并恢复其功能，还能在临床前模型中提升自发抗肿瘤免疫和检查点阻断引起的抗肿瘤免疫。这些研究工作不仅加深了人们对T细胞内转运蛋白家族的认识，同时将肿瘤SLC43A2鉴定为引起肿瘤病人免疫逃逸的关键因子。在实际研究中，研究者还在肿瘤患者中确认了肿瘤细胞SLC43A2表达水平、肿瘤浸润T细胞组蛋白甲基化和同一肿瘤组织中效应器功能特征之间的负相关关系。这些结果也为以SLC43A2等为靶点，研究肿瘤免疫治疗的新策略新方法提供了依据。

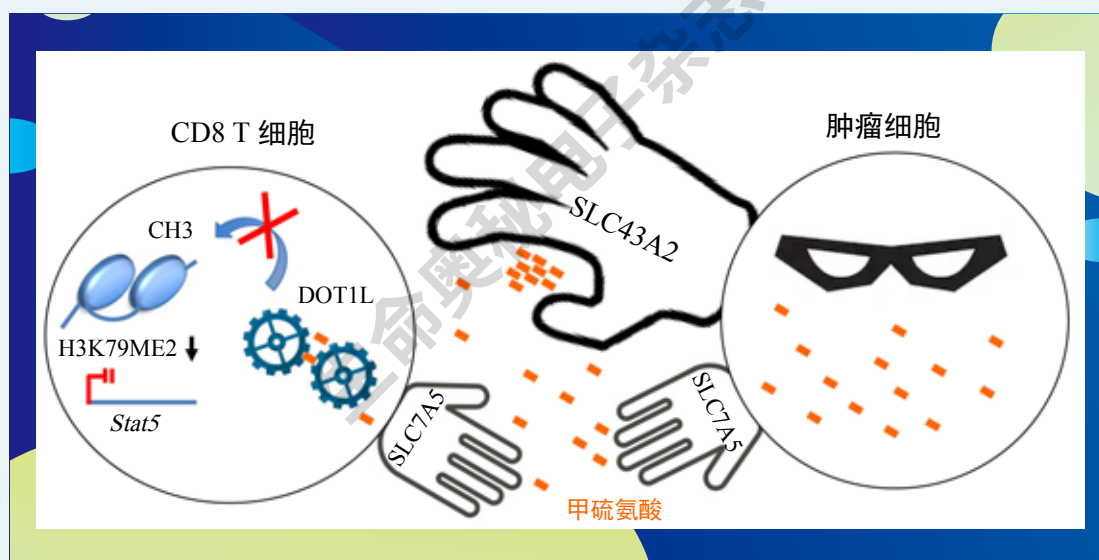


图16. 肿瘤细胞从CD8 T细胞中窃取甲硫氨酸。肿瘤细胞和T细胞均表达甲硫氨酸转运蛋白SLC7A5。而肿瘤细胞通过额外表达甲硫氨酸转运蛋白SLC43A2，在摄取甲硫氨酸的竞争中超过了CD8 T细胞。在CD8 T细胞中，较低的甲硫氨酸浓度导致赖氨酸甲基转移酶DOT1L活性和H3K79me2水平降低。Stat5启动子中H3K79me2水平降低，导致STAT5表达和活性的降低，进而影响T细胞的存活和免疫功能。

图片来源: Patrick M Gubser & Axel Kallies. (2020) Methio “mine” ! Cancer cells steal methionine and impair CD8 T-cell function. *Immunology & Cell Biology*, 98: 623–625.

2. 临床应用前景

Bian等人的研究发现了肿瘤细胞可通过竞争性消耗甲硫氨酸，从代谢和表观遗传学的方面影响T细胞功能和肿瘤免疫，并论证了长久以来让人困惑的肿瘤浸润T细胞在代谢、组蛋白模式和功能特征之间的相互影响和干扰，同时建立了过去未知的肿瘤中甲硫氨酸代谢和表观遗传介导的T细胞功能障碍之间的联系。在此基础上，特异性靶向肿瘤甲硫氨酸代谢也许可成为肿瘤免疫治疗的一条有效途径。例如寻找可特异性抑制肿瘤细胞中甲硫氨酸转运蛋白的药物，来干扰肿瘤细胞中甲硫氨酸代谢途径，从而促进T细胞功能恢复。

此外，如果从甲硫氨酸供应的角度来抑制肿瘤，一个需要解决的问题是：究竟应该在癌症患者中补充，还是限制甲硫氨酸。Bian等人的研究表明，补充甲硫氨酸恢复了携带B16F10小鼠的T细胞免疫功能，并抑制了肿瘤的生长。然而，在同一研究中，L系统转运蛋白抑制剂BCH联合抗PD-L1治疗抑制甲硫氨酸摄取也抑制了肿瘤的生长。与限制甲硫氨酸具有有益作用相一致，GAO等人发表在《自然》(Nature)杂志上的一项研究表明，当老鼠被喂食限制甲硫氨酸的饮食时，肿瘤生长会减慢。当然，上述研究都是在有限时间范围内进行的，而甲硫氨酸作为一种人体必需氨基酸，长期限制摄入可能会导致一系列非预期生理病理现象出现。此外，有研究表明过量摄入甲硫氨酸将对肝脏或心血管系统产生不良影响，其中间代谢产物同型半胱氨酸(HCY)被认为是导致心血管疾病的危险因素之一。未来的研究还需解决如何安全有效地调节氨基酸代谢来促进癌症免疫治疗。

对于自身免疫疾病(如EAE)而言，Roy等

人发现，限制甲硫氨酸摄入可通过减少CD4⁺T细胞中的SAM，来降低致病性Th17细胞的增殖并抑制其功能。这表明甲硫氨酸代谢也具有作为T细胞驱动的自身免疫性疾病代谢疗法的治疗靶点的潜力。

在研究如何通过调整甲硫氨酸代谢来治疗特定疾病的同时，还需要考虑以下问题：

1. 已有研究主要集中在甲硫氨酸对特定T细胞中组蛋白甲基化的影响上，但甲硫氨酸的摄取还会影响包括蛋白质合成在内的其它许多细胞过程，尤其是一些依赖于SAM的细胞过程，例如多胺生物合成和DNA / RNA甲基化，调整甲硫氨酸的摄入可能会导致出现非预期的免疫细胞表型。
2. 以利用shRNA阻断T细胞中特定基因表达为例，shRNA构建体对不同T细胞存在转导效率上的差异，可能需要通过构建不同的动物模型用于在不同免疫组织中抑制或敲除相关基因来解决这些问题。
3. 对于限制甲硫氨酸摄入而言，尽管已有研究显示暂时性限制甲硫氨酸摄入对谱系特异性转录因子的表达影响很小，但尚不清楚长时间暴露于低甲硫氨酸条件下是否会导致T细胞表型改变，如Th17细胞H3K4me3或其它甲基化标志的改变，从而影响Th细胞谱系稳定性及其相应的功能变化。

其中转导效率方面的问题可以通过进一步研究或更新技术手段加以解决，而甲硫氨酸过高或过低对机体的各种影响，以及与可能发挥的抗肿瘤作用之间的利弊，还需要更多的研究加以分析。总的来说，甲硫氨酸对T细胞功能的调节机制的发现，更新了人们对抗肿瘤免疫的认识，为抗肿瘤治疗设计新的治疗策略，选择新的治疗靶点提供了理论依据，开拓了新的研究方向。

参考文献

1. Yingjie Bian, Wei Li, Daniel M. Kremer, *et al.* (2020) Cancer SLC43A2 alters T cell methionine metabolism and histone methylation. *Nature*, 585:277–282.
2. Patrick M Gubser & Axel Kallies. (2020) Methio “mine” ! Cancer cells steal methionine and impair CD8 T-cell function. *Immunology & Cell Biology*, 98: 623–625.
3. Daniela S. Thommen, and Ton N. Schumacher. (2018) T Cell Dysfunction in Cancer. *Cancer Cell*, 33:547- 562.
4. Dominic G. Roy, Jocelyn Chen, Victoria Mamane, *et al.* (2020) Methionine Metabolism Shapes T Helper Cell Responses through Regulation of Epigenetic Reprogramming. *Cell Metabolism*, 31:250–266.

特约编辑招聘启事

为了及时收集生命科学最新资讯、提高《生命奥秘》办刊质量，现面向从事生命科学或对这学科有浓厚兴趣的科研人员、学生诚聘特约编辑（兼职）。

岗位职责：

独立完成《生命奥秘》专题的策划：对基因组学、蛋白组学、生物信息学和细胞生物学等学科的发展以及生物医学领域相关技术（例如基因诊断技术、干细胞和克隆技术、生物芯片技术等）的应用进行翻译及深入评述。

选题要求内容新颖、评述精辟、注重时效和深入浅出。尤其欢迎以自身系统研究为基础的高水平译述与评论，结合所从事的科研工作提出自己的见解、今后设想或前瞻性展望。

要求：

- 1.具备基因组学、蛋白组学、生物信息学、细胞生物学等生命科学学科背景；
- 2.具备良好的生命科学前沿触觉；
- 3.具备较高的外文文献翻译、编译水平；
- 4.具备较强的选题策划、资料搜集、组织能力，以及专业稿件撰写能力；
- 5.具有高级职称；或者拥有（正在攻读）该领域的最高学位。

有意者请将个人简历发送至 editor@lifeomics.com

万物复苏 莫失春机

促销时间：2021年3月1日-5月31日

一、克隆

- | | |
|--------------|-------|
| 1、ORF克隆 | 500元起 |
| 2、Next-Day克隆 | 489元起 |

二、qPCR系列产品

- | | |
|-------------------------------|------|
| 1、CytoCt™ 细胞裂解直接RT-qPCR 系列 | 6折起 |
| 2、BlazeTaq™ SYBR® mRNA qPCR系列 | 买一赠一 |
| 3、BlazeTaq™ Probe qPCR Mix | 买一赠一 |
| 4、All-in-One™ miRNA qPCR系列 | 6折起 |
| 5、mRNA引物 | 6折 |
| 6、miRNA引物 | 8折 |

三、荧光素酶检测试剂

- | | |
|---|--------|
| 1、非分泌型 Luc-Pair™ Luciferase Assay Kits | 8折加送载体 |
| 2、分泌型 Secrete-Pair™ Luciferase Assay Kits | 8折 |
| 3、同一订单加购 miTarget™ miRNA 靶标 (3' UTR) 克隆或 Gluc-ON™ 启动子报告克隆 | 再享折上9折 |

四、外泌体解决方案

- | | |
|--------------------|------|
| 1、外泌体相关标记慢病毒 | 7.5折 |
| 2、外泌体相关miRNA表达检测阵列 | 7折 |

五、病毒相关产品和服务

- 1、慢病毒包装小规格 -----2000元
- 2、慢病毒包装大规格 -----7折起
- 3、热门预制慢病毒 -----7.5折
 - ◆ CRISPR 相关预制慢病毒
 - ◆ 诱导 iPSC 重编程预制慢病毒
 - ◆ 细胞永生化预制慢病毒
 - ◆ 外泌体预制慢病毒
- 4、AAV包装 -----8.5折
 - ◆ 定制纯化AAV病毒颗粒（12种血清型可选高安全性，高滴度）
 - ◆ AAV血清型筛选试剂盒
- 5、病毒包装相关试剂 -----任意2件，9.5折；任意3件，8.5折；任意4件或以上7.5折
 - ◆ 慢病毒包装试剂
 - ◆ 慢病毒滴度检测试剂
 - ◆ 慢病毒浓缩试剂
 - ◆ AAV滴度检测试剂盒
 - ◆ 支原体检测试剂盒（生物化学发光法/PCR法）

六、细胞株

- 1、预制稳转株 -----8.5折；加送STR鉴定
- 2、哺乳动物细胞系 -----8.5折；加送STR鉴定

七、转染试剂

- 1、EndoFectin™ Max -----7折
- 2、EndoFectin™ Lenti -----7折
- 3、EndoFectin™ Expi293 -----7折
- 4、CRISPR-Fectin™ -----7折



让科研更高效 让实验更顺利

合办专题专刊
网站广告合作
邮件群发推广

请致电 (020) 32051255



生命奥秘电子杂志

www.LifeOmics.com