

专访

专访B细胞免疫学领域青年学者——孟飞龙研究员

多样化的免疫受体是适应性免疫系统“以万变应万变”识别外界各种各样抗原的分子基础。脊椎动物进化出V(D)J重排、抗体类型转换、体细胞高频突变及基因转换等多种受体基因多样化策略, 构筑了全面的免疫屏障。在免疫细胞中, 程序性DNA损伤在特定发育阶段集中发生并伴随多套应答通路的协同合作, 最终将单一的抗体基因转变为无穷尽的DNA编码序列组合。这一过程涉及了染色质结构维持、基因转录调控、蛋白质液液相变、碱基修饰、DNA损伤应答、跨损伤DNA合成等一系列基本生物学事件, 也与碱基编辑、蛋白质进化等合成生物学方法、抗体药物发现等技术息息相关。免疫多样化缺陷会导致各种原发性免疫缺陷病的发生, 而淋巴细胞内DNA损伤的失调则会导致免疫系统肿瘤的发生发展。因此, 免疫受体多样化过程是一柄关乎人类健康的“双刃剑”, 其精妙调控机制也引人入胜。本期我们有幸采访到B细胞免疫学领域青年专家孟飞龙研究员, 请他为我们分享他的科研经历以及对免疫受体多样化研究领域的分析。

问题: 请您为读者们简单介绍一下您的科研经历。

回答: 我2003年本科毕业于南开大学生命科学学院。之后, 进入中国科学院上海生物化学与细胞生物学研究所(现中国科学院分子细胞科学卓越创新中心), 在周金秋研究员的指导下攻读博士学位。在博士学习期间, 主要利用酿酒酵母模型研究了真核染色体端粒结构的维持机制。2009年博士毕业后, 加入了哈佛大学医学院Frederick W. Alt教授实验室进行博士后训练, 主要从事B细胞抗体多样化的研究。2015年底, 在国家引智计划青年项目的资助下, 回到中国科学院上海生物化学与细胞生物学研究所(分子细胞科学卓越创新中心)建立独立研究组。目前, 实验室主要运用生物化学、免疫学、功能组学和合成生物学等方法, 结合动物模型和人群样本, 研究B细胞中脱氨酶程序靶向与DNA损伤易错解读机制, 并在机制研究的基础上探索抗体多样化体外重构技术。

问题: 您是如何选择将B细胞免疫学作为您的研究方向的? 这方面研究成果对人类健康有哪些重要意义?

回答: 在博士研究生阶段, 我在周金秋老师的指导下, 利用遗传学、生物化学等手段对酵母染色体顺式元件——端粒进行了深入的研究, 也对在DNA水平上发生的各种生物学过程产生了浓厚的兴趣。作为生命遗传信息的载体, 染色体

DNA如何在其信息传递、解读中保持完整性与稳定性是一个复杂的科学问题, 也是一个引人入胜的领域。在选择实验室进行博士后训练时, 我特别关注了DNA代谢相关的实验室, 我进一步了解到程序性DNA损伤发生于免疫淋巴细胞或神经细胞中。因此, 我有幸加入了哈佛大学医学院Frederick W. Alt教授实验室, 从事B细胞免疫学的研究, 主要研究B细胞如何利用程序性DNA损伤, 将“有限”的抗体基因DNA解读为“无限”的抗体分子。

免疫受体, 包括抗体等分子的多样化过程, 对于机体免疫具有至关重要的作用, 是适应性免疫系统的分子基础之一, 也是生命科学领域核心问题之一。例如, 抗体分子的发现与“白喉”治疗(1901年诺贝尔奖)、抗体蛋白结构的解析(1972年诺贝尔奖)、体细胞抗体基因重组的发现(1987年诺贝尔奖)等都是这一领域的研究成果。同时, 这些成果也直接催生了多项生物技术的发明。例如, 杂交瘤技术(1984年诺贝尔奖)、噬菌体展示技术(2018年诺贝尔奖)、抗体人源化技术等。这一领域也间接孵育了多项生物技术, 例如CRISPR/Cas9技术、碱基编辑技术等。在人类健康方面, 这一领域的研究与各种原发性免疫缺陷疾病、白血病、淋巴瘤等直接相关。

问题: 请您介绍和分析一下免疫受体多样化研究的现状和发展前景。

回答：二十世纪八十年代，Tonegawa关于V(D)J重排的发现开启了免疫受体多样化研究领域；九十年代，Baltimore与Honjo实验室分别克隆了关键酶RAG和AID；之后，Alt、Neuberger等实验室揭示了NHEJ等损伤修复途径的作用。四十多年来，针对免疫受体多样化的研究启迪了生命科学的多个概念，如增强子、基因转录、非编码RNA、环挤压、碱基编辑等，也孕育了多项生物技术，如抗体人源化小鼠模型等。但是，这一领域还存在着许多悬而未决的科学问题。同时，抗体技术仍依赖于动物免疫模型，抗体的发现仍在“靠天吃饭”。因此，开辟新的方向解决长期未决的生物学问题，发展新方法应用于多样化抗体蛋白技术，是这一经典领域目前面临的主要挑战。

问题：请介绍一下您现阶段的研究重点和取得的主要学术成果。

回答：我们实验室目前主要结合经典生物化学方法与遗传学筛选的科研思路，通过提出新原理、发现新因子、开发新方法，探索解决免疫受体多样领域中仍未解决的谜题。目前，我们实验室研究课题选择的第一考虑因素是：这个课题不够“好玩”，有没有可能解决领域里的疑惑。

例如，在1981年，Baltimore及Hood实验室分别报道了抗体细胞高频突变中互补决定区(complementarity determining region, CDR)更易积累突变的现象。进而，Baltimore与Rajewsky等共同提出了CDR偏好性突变的假说。在过去的四十多年中，尽管这一现象在免疫学教科书中被详细的描述，但是其背后的分子机制仍不是十分清楚。针对这一问题，我们首先从生物化学实验开始进行了研究，通过对经典酶活体系的“升级改造”，我们发现，CDR区域序列是脱氨酶突变活性的最优底物。进一步，我们与合作者利用多种方法，包括分子动力学模拟、单分子生化实验以及小鼠模型，从计算模拟、体外实验、体内验证等多角度证实了单链DNA的柔度决定了CDR高突变的现象(Cell, 2023)。目前，学界对于DNA力学性质在细胞内的生理功能尚处于起步阶段，我们希望未来更多的研究力量能够投入到这个方向中来。

又如，抗体类型转换可完成如IgM到IgG的转换，从而丰富特异性抗体的下游免疫效应。在抗体类型转换重组中，上游断裂偏好与下游断裂发生“中间片段删减式”连接。这种方向特异性重组保障>90%的B细胞成功表达抗体基因，大大提高了损伤修复效率。从二十世纪九十年代对这一现象的初步描述以来，到2015年方向特异性重组分子生物学证据的明确，再到染色质高级结构模型的提出，这一科学问题一直是领域内的热点。我们研究组通过融合CRISPR和小分子遗传学筛选方法，构建了B细胞中DNA损伤修复的遗传图谱，并发现ERCC6L2是方向特异性重组的关键因子(Cell Res, 2020)。

问题：在您的科研道路上有哪些人或事对您产生过较大影响？

回答：我非常幸运，博士生和博士后阶段的两位导师引导我走出了如今的人生轨迹。当时做学生或博后时，有一些导师教导我的话很难理解，现在看来，都是他们人生经验的无私分享。建立自己独立研究组后，在我的每一个决定之前，我都会想“周老师会怎么想”“Fred会不会认为这是一个Stupid Idea”。虽然我的两位导师个人风格不同，但在培养学生方面却一致的成功。我同样希望我能够像他们一样教育好我的学生。在科研品味上，周老师总是鼓励我去追逐“好玩”的科学问题，Fred会追问我这个科学问题是不是最重要的问题。“好玩而又重要”已成为我在科学问题选择上的“品味”。

问题：在您的科研道路上是否遇到过困难或挫折，您是如何克服的？

回答：对于科研人员，在实验开展中遇到困难或挫折是一种常态。但是，每一个小的挫折都是人生宝贵的财富。在我刚刚进入博士后阶段，由于从酵母遗传学背景转入小鼠遗传模型的研究，常常面临实验的失败、想法的失误等。这些困难，其实在博士阶段也面临过。在以往经验的基础上，积极正面思考往往能够快速解决眼前的困难。所以，人生是一个不断成长磨炼的过程，困难或挫折会让我们成长得更加坚强。在实验室研究工作中，我也希望能把我的人生经验传授给学生们——遇到挫折，并不可怕，可怕的是过早

放弃。

问题：您认为科研工作者需要有什么样的特质？您对研究生或年轻科研工作者有什么建议？

回答：在2023年，由我负责在研究所开设了一门面向一年级研究生的“科学家精神及科研基本素养”课程。多位资深科学家、专家从研究所史、上海改革开放精神等讲起，希望研究生能够树立正确的价值观，体会到生命科学的

“美”。同时，也邀请了多位青年科学家从科研的基本素养讲起，希望能够快速教会他们在科学研究中的基本本领。在我看来，除了从事一般工作的基本素质外，科研工作者应对自身有更高的道德要求、追求卓越的梦想。正如李林院士在课程中所讲，科学家应该具有“敢于挑战前沿极限的境界、把握科学目标的视野、解决科学技术难题的志气”。



孟飞龙，中国科学院分子细胞科学卓越创新中心，研究员、研究组长。2003年于南开大学获得学士学位，2009年于中国科学院上海生物化学与细胞生物学研究所获博士学位，2009至2015年在哈佛大学医学院接受博士后训练，2015年底加入中国科学院上海生物化学与细胞生物学研究所(分子细胞科学卓越创新中心)任研究员、研究组长。主要从事B细胞抗体多样化研究。研究组通过免疫学、生物化学、功能组学和合成生物学等方法，结合动物模型和人群样本，研究B淋巴细胞中程序性DNA损伤的靶向和解读分子机制，并在此基础上探索抗体发现迭代技术。近五年，解决了抗体亲和力成熟中CDR区域特异性高频突变、抗体类型转换中方向特异性重组机制等领域经典谜题，揭示了DNA通过柔性行使非编码功能的新概念和鉴定了DNA损伤非同源末端连接途径新因子；代表性研究成果发表于*Cell*(2023)、

EMBO J(2022)、*Cell Res*(2020)、*Nat Commun*(2020)、*Cell Rep*(2018)等期刊；多次受邀或组织国际会议等，为国际期刊审稿等。先后得到中组部海外引智计划(青年项目)、基金委优秀青年科学基金、国家重点研发计划青年项目、基金委重大项目(课题负责人)、中国科学院青年创新交叉团队项目等资助；已培养博士、博士后6名。