

## 邱丽萍——未来三年研究计划

### 1. 立项依据

肿瘤免疫治疗被认为是治愈肿瘤的终极手段，因其卓越的疗效和创新性，在2013年被《科学》杂志评为年度最重要的科学突破。肿瘤免疫治疗的进一步发展，在很大程度上取决于免疫作用机理基础研究的突破。其中，免疫细胞是免疫系统的核心组成部分，对其功能行为机制的研究是解析免疫作用机理的关键。然而，免疫细胞是高度异质性的细胞群体，每一个免疫应答过程（比如，细胞因子的分泌）都是众多异质性细胞生理功能的综合体现。常规的研究方法（例如，酶联免疫吸附试验、质谱和流式细胞术等）得到的都是群体行为的平均结果，难以发现个体细胞在其中的贡献。从单细胞水平上精确动态分析免疫细胞的功能行为，深入剖析细胞的异质性，对复杂免疫作用机理的研究有着突破性的意义。

然而，单细胞具有组分复杂、含量低、其生命活动涉及微观层次的动态分子过程等特征。常规的生化分析手段已无法满足单细胞分析的苛刻要求，迫切需要科研工作者开发高灵敏度、高选择性、高通量、高时空分辨的传感检测新方法和新工具，以迎接单细胞生物学时代的到来。核酸适体（Aptamer）是指从人工合成的DNA/RNA文库中通过指数富集配体系统进化法（Systematic evolution of ligands by exponential enrichment, SELEX）筛选得到的、能够折叠形成特定的三维结构与生物靶标高特异性结合的功能核酸序列。它们的出现，突破了传统意义上关于核酸只是遗传信息存储和转运载体的认识，表明利用其结构的多样性可实现类似抗体的分子识别配体和分子探针的功能。此外，由于核酸适体本身所具有的靶分子范围广，可实现自动化大规模合成，易于进行生物化学修饰，化学稳定性高，无毒免疫原性小，以及便于引入各种核酸扩增技术及生物纳米技术进行信号放大等优点，为在单细胞水平上研究免疫细胞的功能行为提供了理想的分子探针。

针对单免疫细胞分析的迫切需求和挑战，在前期研究的基础上，本项目拟以核酸适体为分子识别单元，引入亚细胞定位功能团、核酸循环信号放大技术或生物纳米技术，设计开发多种高灵敏、高选择性、高时空分辨的荧光传感检

测方案，并结合微流控芯片技术构建单免疫细胞研究平台，在单细胞水平上实时获取免疫细胞功能行为的特征信息，为免疫系统的作用机制、癌症发生发展机理及癌症治疗新方法等领域的研究提供可靠的理论依据和有利的技术支持。

## 2. 研究内容

### 1) 筛选针对特定细胞因子的核酸适体

从单细胞水平上研究免疫细胞功能行为机制的迫切需求出发，以细胞因子的分泌和传递作为切入点，利用SELEX技术筛选出重要细胞因子的核酸适体，并揭示其与靶标物的分子识别机理。

### 2) 发展基于核酸适体的荧光传感探针

设计开发高灵敏、高选择性、快速响应的荧光检测探针；通过引入亚细胞定位功能团、核酸循环信号放大反应或纳米材料等手段，进一步提高检测方案的响应性能；考察所构建的核酸适体探针对免疫细胞自身分泌的细胞因子的响应性能。

### 3) 构建单细胞研究平台

结合微流控芯片技术，构建基于核酸适体的单细胞研究平台；考察优化细胞的进样浓度和进样速度，提高微液滴的单细胞装载效率；考察评估微液滴环境对细胞正常生理状态的影响。

### 4) 在单细胞水平上研究免疫细胞的动态功能行为

在单细胞水平上，实时监测免疫细胞在不同肿瘤相关条件的刺激下，重要细胞因子的动态分泌情况。

## 3. 研究特色与创新性

本项目的主要特色与创新之处在于：

1) 针对重要细胞因子（如，干扰素 $\alpha$ 、白介素-12、白介素-10、转化生长因子- $\beta$ 等）缺乏有效分子识别工具的现状，利用 SELEX 技术筛选能够高特异性、高结合力识别靶标细胞因子的核酸适体，系统深入研究核酸适体分子识别基础，

阐述分子识别体系的构-效关系与相关的理论模型，指导基于核酸适体的细胞因子检测方法的理性设计。

2) 利用核酸适体易于修饰与标记的特性，将核酸适体转化为人工设计的多功能化生物分子探针。通过结合亚细胞定位功能团、纳米生物技术、核酸循环信号放大技术，为高灵敏、高通量、高时空分辨、高选择性的单细胞分析方法的建立提供机遇。

3) 利用微流控芯片技术对微量液体的精确操控，结合核酸适体荧光探针优异的分析性能，构建高灵敏、高选择性、高通量的单细胞研究平台。从传统对群体细胞行为的静态分析转变到对单细胞行为的动态分析，为生物学研究的革新提供新思路和新方法，可望成为免疫作用机理研究的重要技术手段。