

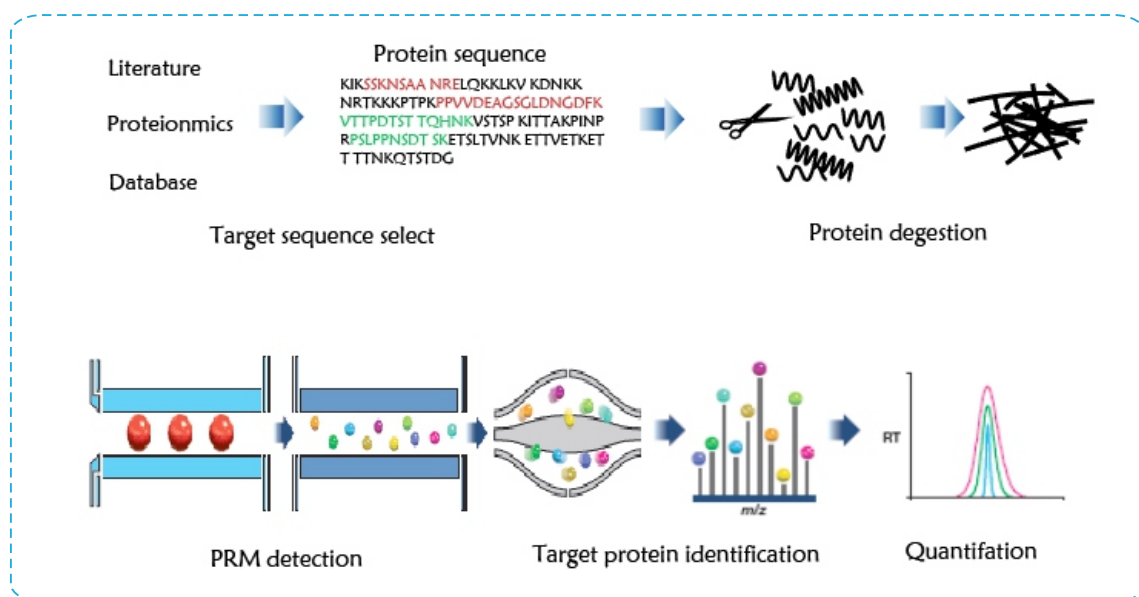
## PRM靶向蛋白组相对/绝对定量

靶向蛋白质组技术，顾名思义是只选取和检测目标蛋白相关的信号，忽略其他无关的信号，因此可以实现对目标蛋白定量的高特异性和高准确性。PRM是Labelfree、iTRAQ/TMT等组学技术的好伙伴。大规模组学技术不可避免地存在定量假阳性的问题，组学结果往往需要采用特异性的检测方法来验证。目前最常规的方法如蛋白水平WB、ELISA，而PRM在后续靶蛋白验证方面具有独特的优势：不依赖抗体，可选择性、特异性地对目标蛋白质进行定性定量分析（或绝对定量分析）。

PRM（平行反应监测，Parallel Reaction Monitoring）是一种基于高分辨、高精度质谱的靶向蛋白质组学技术，能够对目标蛋白质、目标肽段有针对性的选择数据进行质谱数据采集，对于符合目标离子规则的信号进行采集，去除不符合规则的离子信号的干扰。从而实现目标蛋白质/肽段进行定性定量。

### 技术原理

PRM是相对于传统SRM/MRM建立起来的高分辨率离子监测技术。PRM基于Q.Orbitrap为代表的四级杆-高分辨质谱平台,与SRM每次扫描一个Transition不同,PRM每次对一个母离子生的所有Transition进行全扫描,即平行监测了一个母离子对应的所有离子对。（PRM质谱分析经过三个阶段:1.通过MS筛选出与目标分子特异性一致的母离子;2.碰撞碎裂这些母离子,去其他离子的干扰;3.只对选定的特异MS/MS<sup>2</sup>离子进行质谱信号的采集。PRM质谱技术是高精度的蛋白定量鉴定技术,是一次性精准定量研究复杂样品中多个目标蛋白的绝佳方法。如果借助同位素标记的目标肽段作为内参,可以实现蛋白绝对定量鉴定。）



PRM技术流程图

## 技术优势

- 1、高分辨离子监测，质量精度达ppm级，在不损失灵敏度的情况下，最大程度排除了背景干扰；
- 2、MS2为全扫描，无需事先确定离子对和优化碰撞能量，只需要在数据处理时选择响应最高的一个或几个离子即可提取母离子对的色谱峰进行定量，线性范围可达5-6个数量级；
- 3、同时定性与定量分析，二级全扫描谱图用于定性分析，选择其中最佳的子离子提取离子对即可完成定量分析。

## 与传统WB/ELISA相比有独特优势

	PRM	WB	ELISA
原 理	基于质谱，通过定量肽段，直接反应蛋白水平表达	半定量，基于抗原抗体反应放大蛋白间互作信号，间接反应蛋白表达水平	绝对定量，基于抗原抗体反应放大蛋白间互作信号，间接反应蛋白表达水平
高特异性	绝对特异，可区分PTM、SNP、亚型	受抗体特异性影响，对抗体要求较高	受抗体特异性影响，对抗体要求较高
通 量	高通量（一份样品可分析上百个指标）	一个抗体一次实验只能检测1个指标	一个抗体一次实验能检测一个指标80个样本
灵 敏 度	可检测底至amol级蛋白信号	理论可达ng级实际上受到抗体、显色、转膜等多个因素影响	理论可达pg级实际上受到抗体、显色等多个因素影响
重 复 性	标准化仪器操作，重复性好	人工操作，影响因素多	人工操作，影响因素多

## 应用领域

生物标志物验证；  
 验证蛋白翻译后修饰；  
 验证低丰度蛋白。

## PRM靶向蛋白组学案例解析

KIF5A依赖性轴突转运缺陷对三甲基氯化锡诱导的神经毒性中自噬通量的影响

KIF5A-dependent axonal transport deficiency disrupts autophagic flux in trimethyltin chloride-induced neurotoxicity

研究对象：Neuro-2a细胞

期刊：Autophagy

影响因子：10.1080

发表单位：第三军医大学

### 背景介绍

三甲基氯化锡在工业和农业领域中广泛用作杀菌剂和塑料稳定剂的组成成分，普遍被认为具有有效的神经毒性，尤其是在海马中。然而，三甲基氯化锡诱导神经毒性的机制仍然不清楚。该研究通过蛋白质组学分析揭示了巨自噬/自噬溶酶体机制在三甲基氯化锡诱导的神经毒性中的重要作用，并确定了三甲基氯化锡受损自噬通量的关键靶标KIF5A。

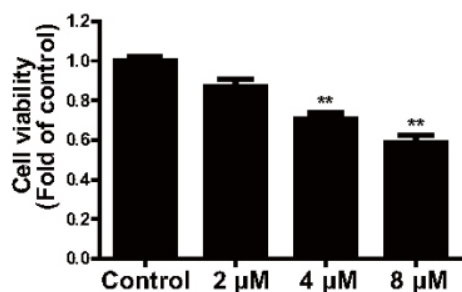
样本策略：三甲基氯化锡处理后的Neuro-2a细胞

技术策略：TMT标记定量+PRM技术

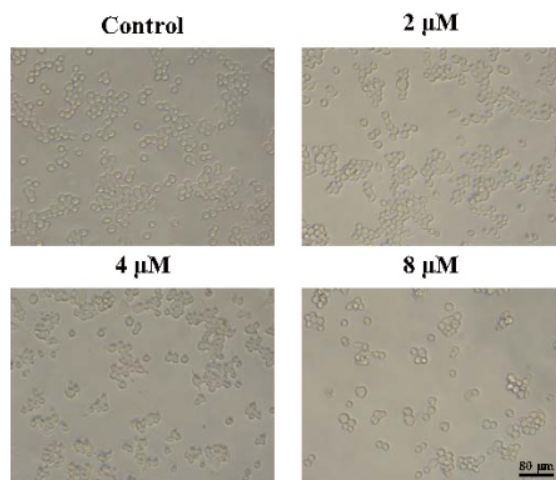
### 结果速递

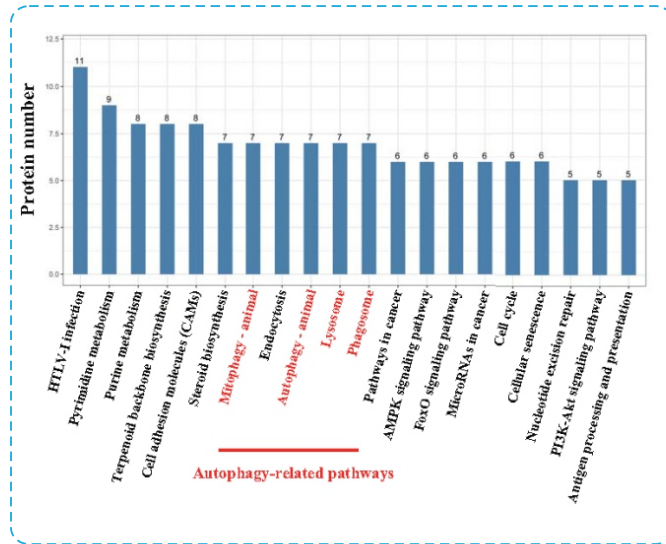
1、通过细胞增殖实验以及Western Blo、荧光共定位实验证明TMT可以抑制细胞自噬及增殖。

A



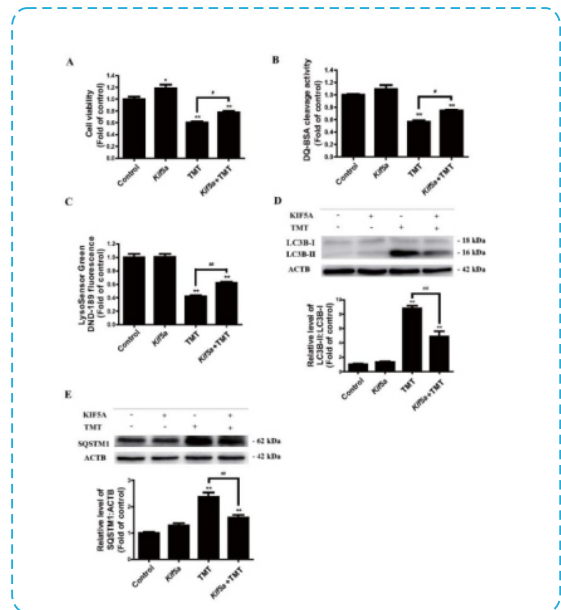
B





2、对细胞样本的蛋白质组学分析中，与对照组相比，三甲基氯化锡组中共有 340种差异蛋白，其中204种蛋白上调，136种蛋白下调。通过对差异蛋白进行KEGG与IPA分析发现，自噬在三甲基氯化锡诱导的神经毒性中起到重要作用，且研究结果证明了三甲基氯化锡在Neuro-2a细胞中是一种有效的自噬抑制剂。

3、对蛋白质组学结果进一步分析，发现参与调节Neuro-2a细胞中三甲基氯化锡损伤自噬通量的关键靶标蛋白KIF5A。进一步自噬通量表型研究发现KIF5A过表达可防止三甲基氯化锡诱导的神经毒性和自噬通量受损。使用基于PRM的靶向蛋白质组学技术对KIF5A过表达进行靶向验证，研究发现三甲基氯化锡诱导的蛋白表达趋势同样可以得到逆转。该研究将有助于理解轴突运输和自噬在环境应激引起的神经系统疾病发展中的作用。



Neuro-2a细胞暴露于TMT，通过蛋白质组分析其神经毒性的潜在靶标。发现自噬相关蛋白质在TMT作用后表达水平显著改变，表明自噬参与TMT诱导神经毒性这一过程。为探究TMT破坏Neuro-2a细胞内自噬流的分子机制，通过IPA分析分子作用网络，提示KIF5A很可能是TMT破坏自噬流的关键因子。进一步通过在体实验探究KIF5A在TMT破坏自噬流过程中的作用。在小鼠腹腔内注射TMT后，发现小鼠产生癫痫现象，小鼠海马体大量神经元缺失，溶酶体蛋白酶活性受损。最后，通过小鼠的尾静脉注射AAV PHP.eB-Kif5a过表达KIF5A，发现自噬流紊乱恢复并逆转TMT诱导的神经毒性。

## 参考文献

Liu M, Pi H, Xi Y, et al. KIF5A-dependent axonal transport deficiency disrupts autophagic flux in trimethyltin chloride-induced neurotoxicity[J]. *Autophagy*, 2020, 1-22. IF 11. 059

北京青莲百奥生物科技有限公司

蛋白质组学技术服务

- 定性蛋白质组学
  - 抗体测序
  - 精确分子量
  - N/C端测序

- 定量蛋白质组学
  - TMT 16标记定量蛋白质组学
  - label free非标记定量蛋白质组学
  - DIA定量蛋白质组学
  - PRM/MRM靶向蛋白质组学
  - 多肽/寡肽组学

- 修饰蛋白质组学
  - N/O糖基化修饰蛋白质组学
  - 琥珀酰化修饰蛋白质组学
  - 二硫键蛋白质组学
  - 磷酸化修饰蛋白质组学
  - 乙酰化修饰蛋白质组学
  - 泛素化修饰蛋白质组学
  - 半胱氨酸氧化修饰蛋白质组学

- 特殊蛋白质组学
  - 单细胞蛋白质组学
  - 外泌体蛋白质组分析
  - 宏蛋白质组分析
  - 泛囊泡蛋白质组分析
  - 石蜡包埋蛋白质组分析
  - 空间蛋白质组分析

代谢组学技术服务

- 非靶向代谢组学
  - 有机酸类、有机胺类、核苷、离子型样品、核苷酸、多胺、胆汁酸、神经递质、水溶性维生素、抗生素、植物激素
- 非靶脂质代谢组学
- 靶向代谢组学
  - 氨基酸、短链脂肪酸、中长链脂肪酸、有机酸、激素类、酰基肉碱类、神经递质、抗生素、胆汁酸水溶性激素、植物激素
- NMR

NGS技术服务

- 微生物测序
  - 宏基因组测序
  - 16S/18S/ITS扩增子测序
- RNA测序
  - mRNA转录组测序
  - lncRNA/circRNA/sRNA非编码测序
  - 全转录组测序

生物信息分析

- 生物信息数据挖掘
- 多组学联合分析方案
  - 蛋白+修饰组学联合分析
  - 蛋白+转录组学联合分析
  - 蛋白+代谢组学联合分析
  - 转录+代谢组学联合分析
  - 代谢+宏组学联合分析



## 公司简介

北京青莲百奥生物科技 2013 年成立于中关村生命科学园，由“国家级人才计划”领军人才开创，团队整合多交叉学科高素质人才，于 2018 年获得国家高新技术企业证书。公司拥有完善的设备、先进的仪器，自有独立实验室。公司目前拥有四大业务板块：科研服务、药学服务、转化医学、大数据处理。

青莲百奥同国内外科研院所建立了长期稳步的合作，并有多篇 Nature、Cell 等高影响因子文章发表。现阶段专注于系统生物学，以蛋白质组学及代谢组学为技术核心，同时涵盖高通量测序等科研服务，未来将致力于临床检测、医学服务等人类健康产业。青莲百奥将依靠自身优秀、专业的服务团队，凭借先进的生物技术及强大的质谱联盟，为科学前沿客户及合作伙伴提供卓越的服务及整体解决方案。

**青莲文化：**领跑智慧多组学，助力科研新发现

**青莲使命：**步骤虽繁必不敢省人工，试剂虽贵必不敢减物力

**青莲价值观：**创新、专业、价值、责任

