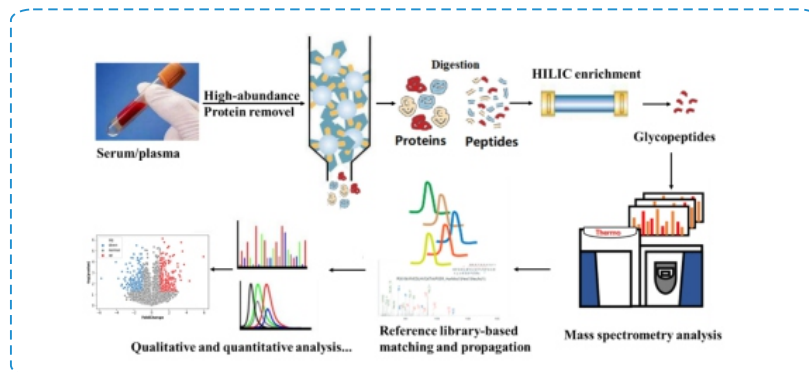


糖基化修饰蛋白质组学

作为一种重要的翻译后修饰，蛋白质糖基化它参与和调控生物体的许多生命活动。随着蛋白质组技术的不断发展，蛋白质糖基化研究越来越受到广泛的重视。

技术原理

亲水相互作用色谱（Hydrophilic interaction liquid chromatography, HILIC）是基于富含多羟基的糖链结构的强亲水特性，采用极性固定相和非极性流动相的色谱技术，利用了糖肽由于糖链的加入而增强的亲水性，糖肽会有较长的保留时间，而使糖肽与非糖基化肽段得以分离的糖肽富集技术。HILIC对不同类型的糖肽没有偏性，且能保持糖链结构的完整性，适合作为完整糖肽结构研究中的富集技术。单一的N-糖蛋白的位点鉴定，蛋白Trypsin酶解成肽段后，HILIC方法富集糖肽，N-糖酰胺酶（PNGase）切除连接在天冬酰胺残基上的糖链（重水），再利用蛋白酶去除PNGase F，质谱分析。复杂样本糖基化蛋白及修饰位点的确定，是运用的Byonic法，Byonic搜索引擎能够灵敏而全面的对肽和蛋白质进行鉴定，其配套的PrewitTM软件，可快速评估肽段质量误差、消化特异性以及Byonic后续全面搜索的修改。



糖基化蛋白质组学数据分析流程图

技术优势

- 1、相关领域专业技术支持；
- 2、经验丰富的实验操作人员；
- 3、独立研发改进的具有技术领先地位的操作方法；
- 4、动物植物多种案例经验累积；
- 5、强大的生物信息分析团队。

应用领域

基础医学、临床诊断：生物标志物，疾病机理机制，疾病分型，个性化治疗等；

生物医药：药物作用机理，药效评价，药物开发等；

微生物领域：致病机理，耐药机制，病原体-宿主相互作用研究等；

海洋水产：渔业资源，海水养殖，渔业环境与水产品安全等；

糖基化修饰蛋白组学案例解析

SARS-CoV-2峰值的位点特异性聚糖分析

Site-specific glycan analysis of the SARS-CoV-2 spike

研究对象：SARS-CoV-2病毒S蛋白 期刊：Science
影响因子：41.845 发表单位：英国南安普敦大学

研究背景

新型冠状病毒SARS-CoV-2（COVID-19的致病因子）的出现对全球人类健康构成了重大威胁。疫苗的开发集中在引起体液免疫反应的靶点，即刺突（S）糖蛋白，它介导细胞进入和膜融合。SARS-CoV-2 S基因编码22个N-连接的糖基序列，可能在蛋白质折叠和免疫逃逸中起作用。该研究采用位点特异性质谱方法，揭示了重组SARS-CoV-2 S免疫原上的聚糖结构，展示了SARS-CoV-2 S聚糖与典型宿主聚糖加工的不同之处，这可能对病毒病理生物学和疫苗设计有影响。

样本策略：纯化的293F细胞重组的新冠病毒S蛋白

技术策略：基于质谱的糖基化蛋白质组技术

结果速递

为了解决SARS-CoV-2 S蛋白的位点特异性糖基化并可视化糖链异质体在整个蛋白表面的分布，研究人员表达纯化了293F细胞重组的新冠病毒S蛋白，SARS-CoV-2 S糖蛋白的示意图如下（图1A）。利用尺寸排阻色谱法纯化含有重组SARS-CoV-2 S的上清液，确保只分析天然的三聚蛋白（图1B）。用电镜负染对纯化的三聚体构象进行验证（图1C）。然后分别用胰蛋白酶、胰凝乳蛋白酶和A裂解蛋白酶将S蛋白酶解成肽段，每个片段包含一种N-糖基片段，使用质谱法确定每个位点的聚糖组成。

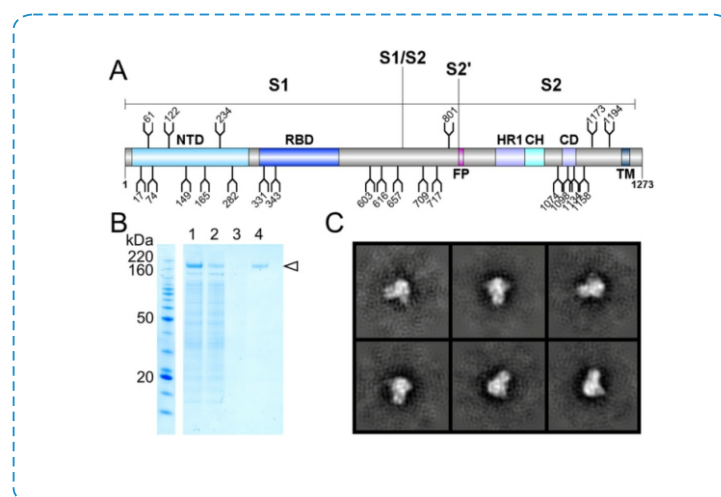


图1. SARS-CoV-2S糖蛋白的表达及验证

通过质谱方法测定出S蛋白上的22个N-糖基化位点（图2），其中18个糖基化位点在SARS病毒S蛋白中是保守的。研究人员发现S蛋白糖基化位点的糖链修饰分为寡甘露糖型、杂合型和复合型三种糖链类型，其中复合型糖链占比较高，不同糖基化位点的多糖种类和丰度差别较大。饼图总结了这些多糖的定量。根据寡甘露糖型聚糖含量将其着色，标记为绿色(80–100%)、橙色(30–79%)和粉红色(0–29%)的多糖位点。条形图表示三个生物学重复的平均值，误差条表示平均值的标准误差。

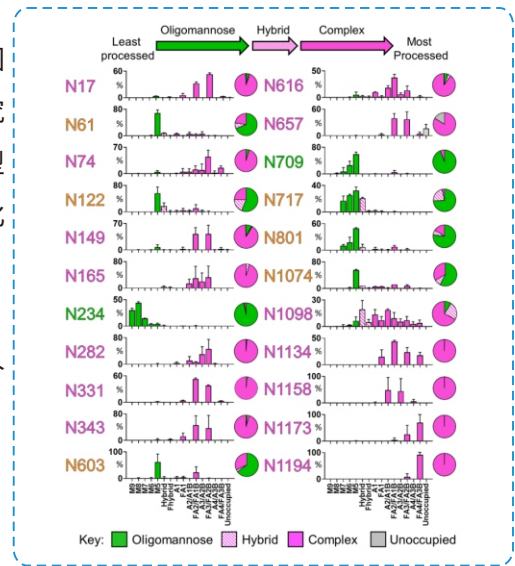


图2. SARS-CoV-2 S糖蛋白的位点特异性N-糖基化

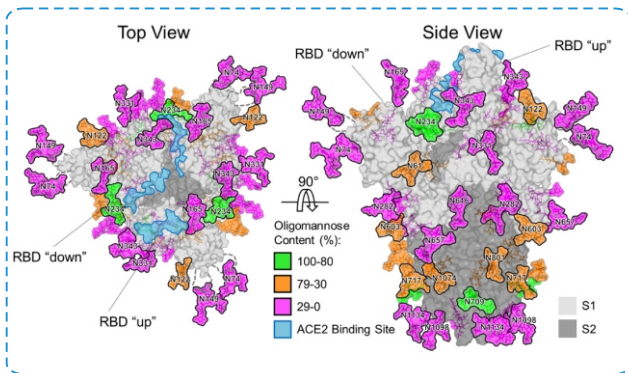


图3. 基于结构的SARS-CoV-2 S N-连接的聚糖图谱

研究人员利用S蛋白的电镜结构，将糖基化状态映射到了整个病毒S蛋白三聚体上，揭示了N-糖基化如何在SARS-CoV-2 S蛋白整个表面上封闭不同的区域。结果表明SARS-CoV-2 S蛋白与其他病毒糖蛋白相比糖基化程度较低，形成的“糖盾”较少，这有利于开发中和抗体。此外，复合型聚糖的处理是免疫原工程中的重要考虑因素。

该研究对SARS-CoV-2的糖基化分析提供了天然折叠的三聚体刺突蛋白特有的位点特异性聚糖特征。随着越来越多基于糖蛋白的候选疫苗的开发，其详细的糖基分析为比较免疫原完整性提供了一条途径，并且随着生产规模扩大到临床用途，对监测也很重要。因此，在血清学检测试剂盒的生产中，聚糖谱分析也将是抗原质量的重要指标。最后随着以核苷酸为基础的疫苗出现，了解这些传递机制如何影响免疫原的加工和呈递至关重要。

参考文献

Watanabe Y, Allen JD, Wrapp D, et al. Site-specific glycan analysis of the SARS-CoV-2 spike[J]. Science, 2020, 369:330-333.

北京青莲百奥生物科技有限公司

蛋白质组学技术服务

- 抗体测序
- 精确分子量
- N/C端测序

定性蛋白质组学

- 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

定量蛋白质组学

- 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

修饰蛋白质组学

- 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

特殊蛋白质组学

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

