

多种蛋白质相关技术和服务

王敏

(中国科学院水生生物研究所, 湖北 武汉 430072)

摘要: 平台服务的领域完整涵盖了从蛋白质制备到蛋白质功能研究分析的技术条件保障。

关键词: 蛋白质分离;蛋白质纯化

蛋白质科学技术平台依托于中国科学院水生生物研究所分析测试中心,是具有华中地区生命科学研究特色的公共技术支撑平台。平台以“测试、分析”为运行模式,全面开展基于色谱、电泳、质谱等技术的蛋白质新技术、新方法研究与应用,为所内所外承担的重大科研课题提供技术支撑服务或开展合作研究,为国家在水环境保护、生物资源利用和人口健康保护方面的创新性研究和技术创新提供关键技术支撑。蛋白质科学技术平台在优先保障支撑研究所和区域中心成员单位的科研需求的基础上,所有大型仪器均对外开放,实现了大型仪器的合理布局、规范管理、高效共享开放、技术服务、技术培训和技术发展。平台服务的领域涉及蛋白质快速制备、分离纯化与鉴定、表达分析、大规模鉴定和定量研究、分子间相互作用等,各个方向互相支撑,完整涵盖了从蛋白质制备到蛋白质功能研究分析的技术条件保障。蛋白质科学技术平台对研究所内外服务的形式主要有仪器租用、技术开发、技术服务和检测服务。

基于蛋白质科学技术平台的超高分辨生物质谱仪,如 Thermo Q Exactive HF-X、Thermo LTQ Orbitrap Elite 和 AB Sciex TripleTOF6600+等,为武汉区域中心各研究所、企事业单位、高校及科研院所提供了优质的蛋白质组学技术服务,覆盖蛋白质组定性、蛋白质组定量、靶向定量蛋白质组和蛋白质修饰组学等。



图 1 超高分辨生物质谱仪

建立了蛋白质组学 DDA/DIA 技术，支撑国家重点研发计划：精准鉴定技术体系在蛋白质基因组学中的应用研究的顺利开展，同时结合多维分离、多模式酶切及质谱复合碎裂模式，提高了真核生物蛋白质组鉴定的覆盖度和准确度。

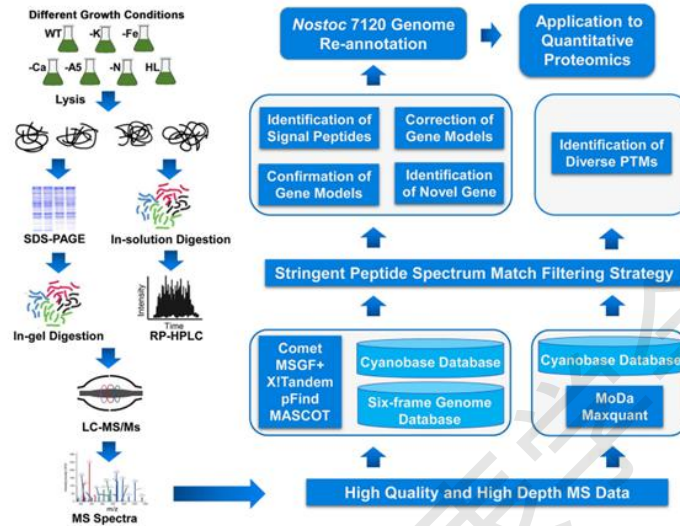


图2 Nostoc 7120 蛋白质基因组分析的工作流程示意图

建立了 TMT 定量蛋白质组学和 PRM 技术分析方法，筛选出斑马鱼大脑中差异表达的蛋白质，验证了 DBDPE 主要在大脑中积累，并证实了 DBDPE 暴露会影响雌性斑马鱼的肌肉收缩和生殖内分泌系统，该研究得到了国家自然科学基金重点项目和淡水生态与生物技术国家重点实验室的支持。

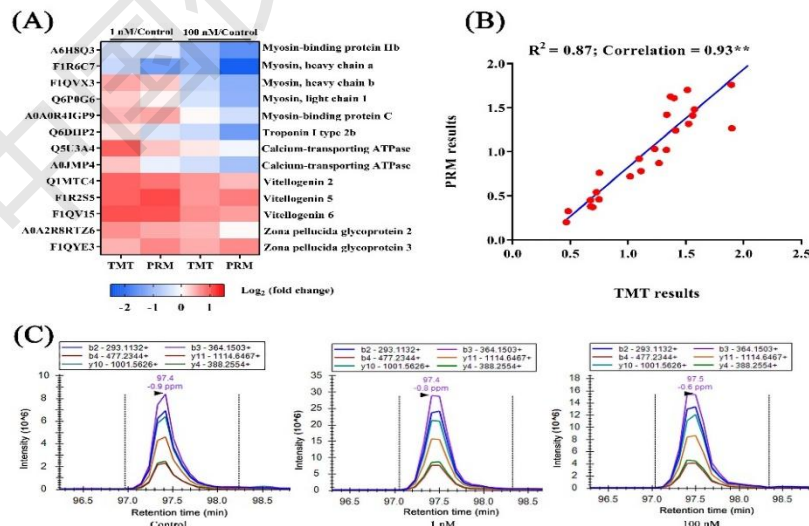


图3 定量蛋白质组学分析显示 DBDPE 主要影响肌肉收缩以及卵子受精等过程

建立了蛋白质修饰组学技术方法，利用高通量质谱技术系统地鉴定了蓝细菌中的丙酰化和乙酰化修饰蛋白，这些修饰蛋白广泛分布于光合作用过程与其它重要的代谢通路中。

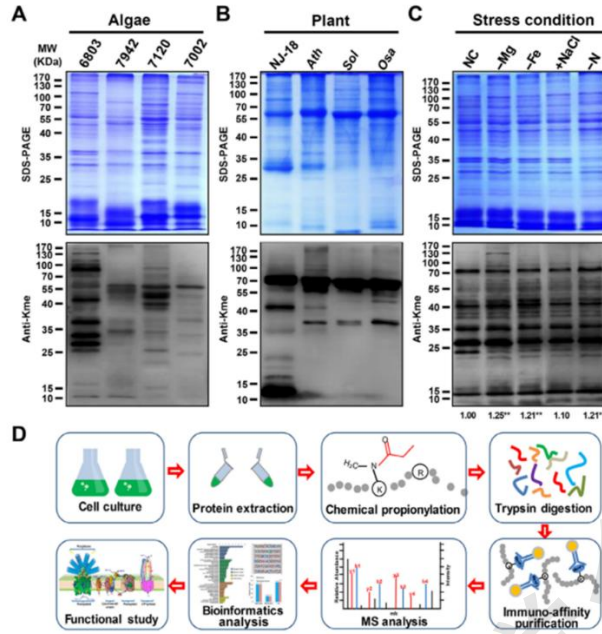


图4 光合作用生物中赖氨酸甲基化修饰的概况

基于物质谱技术的蛋白质组学研究支撑科研成果发表在 *Plant Physiology*、*Microbiol Spectrum*、*Environmental Science & Technology* 和 *Journal of Proteome* 等期刊上。

精通荧光 (FL)、动态光散射 (DLS)、静态光散射 (sls)、差示扫描量热技术 (Nano DSC)、生物膜干涉技术 (BLI)、分析超速离心技术 (AUC) 等多种蛋白质理化性质鉴定技术。



图5 蛋白质理化性质鉴定仪器

依托动态光散射技术 (DLS) 建立了多种生物制药如琥珀酰明胶、聚醚类和蛋白铁的分子量分布的表征方法,并验证了方法的可靠性,解决了企业小试平台样品的大规模检测工作,为企业公司在新药研发阶段监控原料药及制剂的生产工艺提供了持续的数据支持,确保了药品安全。

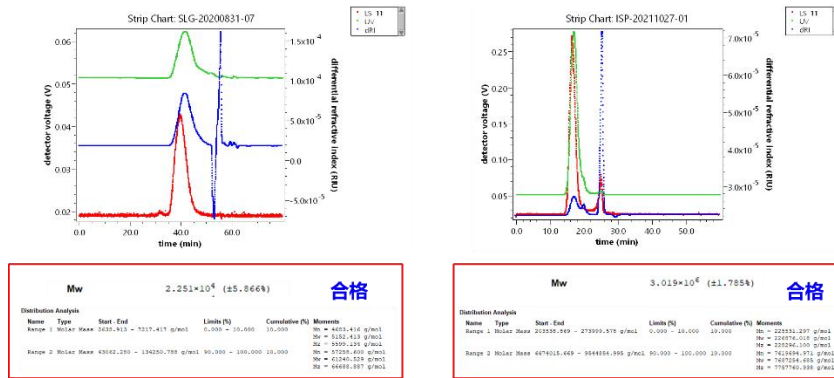


图 6 生物制药制剂动态光散射示意图

同时也通过动态光散射技术 (DLS) 联用 Agilent HPLC 和 GPC/SEC 分离柱, 建立了对 BAZ2A 蛋白和 DNA 的相互作用及比例进行表征分析的方法, 该方法不仅能快速检测两者的绝对分子量, 也可以检测两者反应后的溶液得知互作比例, 经验证, 和此前该蛋白与 DNA 复合物的晶体的冷冻电镜结果一致。

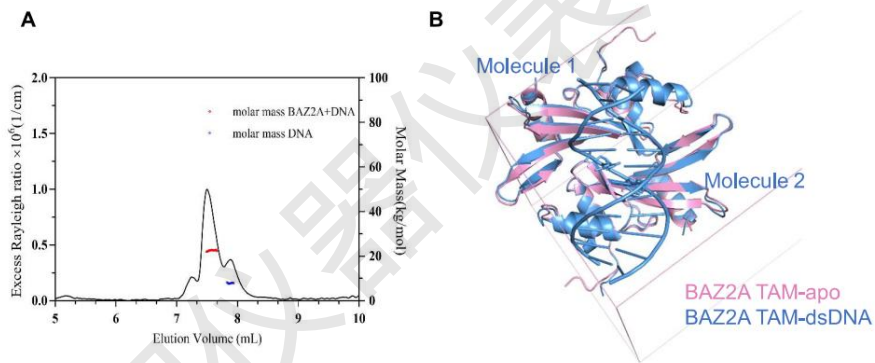


图 7 BAZ2A 蛋白和 DNA 互作表征验证

依托生物膜干涉技术 (BLI) 建立了乙酰胆碱蛋白(AChE)和多种有机磷阻燃剂 (OPFRs) 的动力学检测方法, 检测它们之间的相互作用强度。结果与斑马鱼幼体内试验, 只有芳基 OPFRs 能抑制 AChE, 鉴于 AChE 与中枢神经系统的发育密切相关, 酶抑制可能导致神经发育障碍、生理异常和适应性。因此, 在对 OPFRs 进行环境风险评估时, 应考虑芳基 OPFRs 与发育神经毒性及其他不良结果之间的关系。

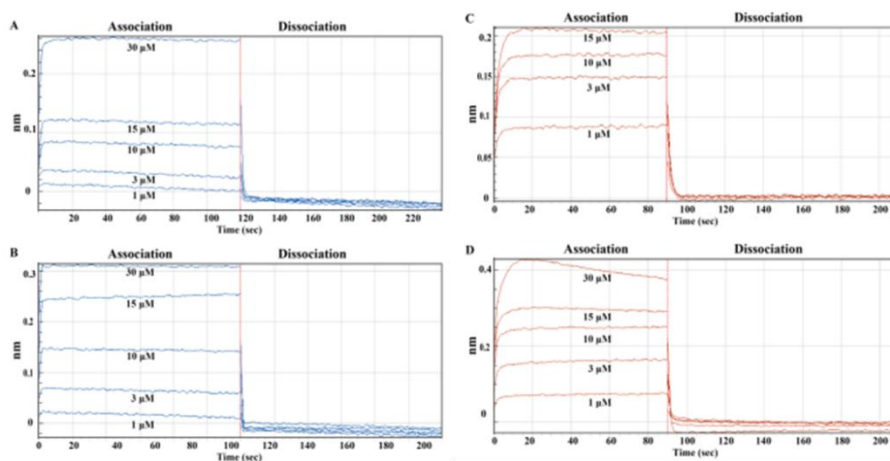


图8 BLI测定芳基OPFRs与AChE的结合

基于蛋白质理化性质鉴定技术的研究支撑科研成果发表在 *Journal of Biological Chemistry*、*Life* 和 *Journal of Hazardous Materials* 等期刊上。

依托于细胞超声破碎仪、分离纯化系统、真空离心浓缩仪和冷冻干燥机等仪器，开展蛋白质高通量提取；蛋白质无标签纯化、亲和标签纯化、活性组分纯化等多种分离纯化；蛋白质浓缩干燥储存等科研辅助工作。



图9 蛋白质的制备纯化仪器

建立了共聚焦拉曼光谱测定水体、土壤和组织中的微塑料的分析方法，配套微塑料数据库，解决了复杂基质里微塑料种类区分的难点问题，比如研究中国重要湖滨淡水养殖区不同类型养殖池塘水中微塑料的组成，支撑科研成果发表在 *Environmental Pollution* 和 *Chemosphere* 等期刊上。



图10 共聚焦拉曼光谱仪

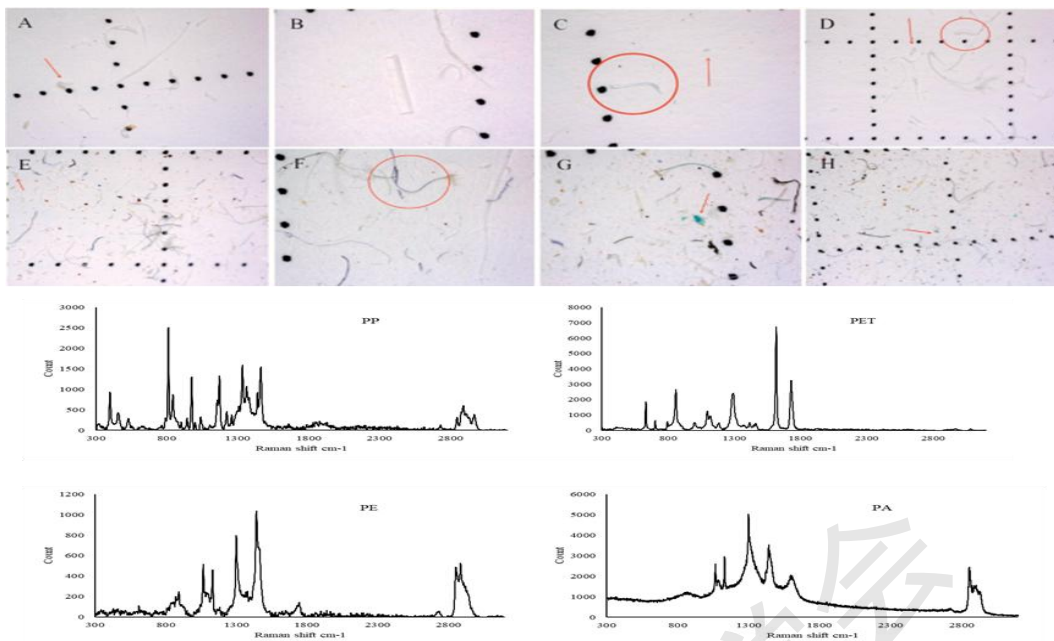


图 11 共聚焦拉曼光谱仪视野下的微塑料及图谱表征

中国仪器仪表表