

[首页](#)
[招聘信息](#)[学院概况](#)
[学位与课程](#)[师资力量](#)
[学生园地](#)[课题组](#)
[学报期刊](#)[系所中心](#)
[党建](#)[重点实验室](#)
[安全](#)[测试平台](#)
[工会](#) [招聘信息](#) [学生园地](#) [办公服务导航](#) [重点实验室](#) [校友会](#)[科研进展](#)[首页](#) » [科研进展](#) » [陈鹏课题组和邹鹏课题组合作开发亚细胞磷酸化蛋白质组学新技术SubMAPP](#)

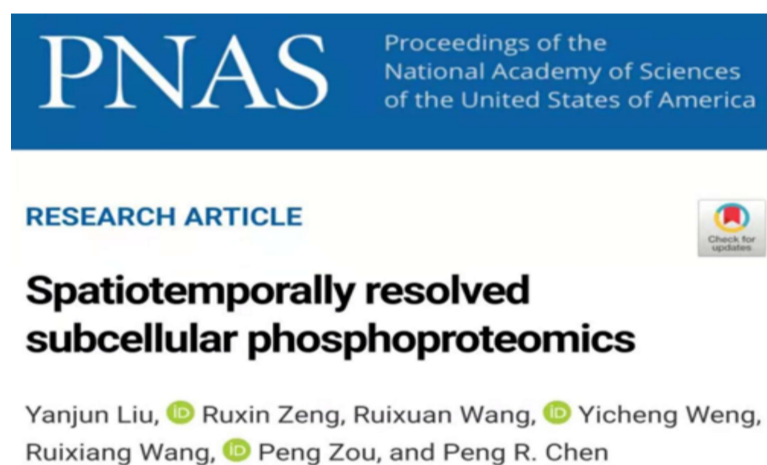
陈鹏课题组和邹鹏课题组合作开发亚细胞磷酸化蛋白质组学新技术SubMAPP

时间: 2021-06-21 16:55:00 来源: 作者: 访问量:

蛋白质磷酸化是最重要的翻译后修饰之一，在细胞信号转导、分化增殖、应激响应等生命过程中都扮演着极为重要的角色，更直接影响了包括肿瘤在内等诸多疾病的发生发展过程。在过去的几十年中，得益于质谱技术的飞速发展，磷酸化蛋白质组学技术日趋完善，并在生命科学和医学领域得到了广泛的应用【1】。

众所周知，真核细胞在结构上呈现高度区室化的特征，其中生物大分子的空间分布具有很强的异质性。精准解读不同细胞器和亚细胞区域的蛋白质磷酸谱，能够极大的促进我们对于磷酸化功能的认知【2】。然而，现有的磷酸化蛋白质组技术并不具备亚细胞水平的空间分辨率，难以实现对亚细胞区域磷酸化蛋白质谱的深度绘制。

近日，北京大学化学与分子工程学院陈鹏课题组与邹鹏课题组在 *PNAS* 上合作发表题为“Spatiotemporally resolved subcellular phosphoproteomics”的论文，利用生物正交剪切反应和化学脱笼策略，构建了可控激活的邻近标记酶，并进一步与磷酸化富集技术相偶联，开发了首个基于生物正交邻近标记的亚细胞磷酸化蛋白质组捕获技术——SubMAPP (Subcellular-specific uncaging-assisted biotinylation and Mapping of PhosphoProteome)，成功实现了活细胞中亚微米分辨率下的磷酸化蛋白质组捕获，并将其拓展至神经元及活体动物等复杂体系。



近年来，以过氧化物酶 (APEX/HRP) 和生物素连接酶 (TurboID/BioID) 为代表的邻近标记酶，因其优异的空间分辨率和普适性，在空间蛋白质组学领域受到了广泛关注【3】。然而，现有方法局限于表征蛋白质的丰度，无法进行亚细胞水平的翻译后修饰组学研究，因而不能体现出蛋白质翻译后修饰可逆和动态的特性。例如，APEX和HRP需要高达1 mM的过氧化氢诱发标记反应，而Turbo在细胞中的表达会造成大规模的蛋白质生物素化，这些都会在一定程度上影响蛋白质的翻译后修饰谱【4,5】。因此，迫切需要一种生物正交、时空可控的化学标记工具，用于开展亚细胞水平的蛋白质翻译后修饰组学研究。

受此启发，陈鹏课题组基于在蛋白质生物正交激活领域的前期积累【6】，与邹鹏课题组合作，利用遗传密码子拓展技术实现新一代生物素连接酶Turbo的光控激活 (photoTurbo) 和化学激活 (chemoTurbo)。通过对酶活性的直接调控，而非生物素的补充来控制其蛋白质的标记，生物正交激活Turbo显著降低了野生型Turbo利用内源生物素标记的背景，消除了内源蛋白质过度生物素化，以及生物素剥夺对蛋白质翻译后修饰产生的干扰。同时，在亚细胞蛋白质组的特异性和覆盖率上，生物正交激活Turbo也毫不逊色于野生型Turbo。



TOP



Subcellular-specific uncaging-assisted biotinylation and Mapping of Phospho-Proteomics(SubMAPP)

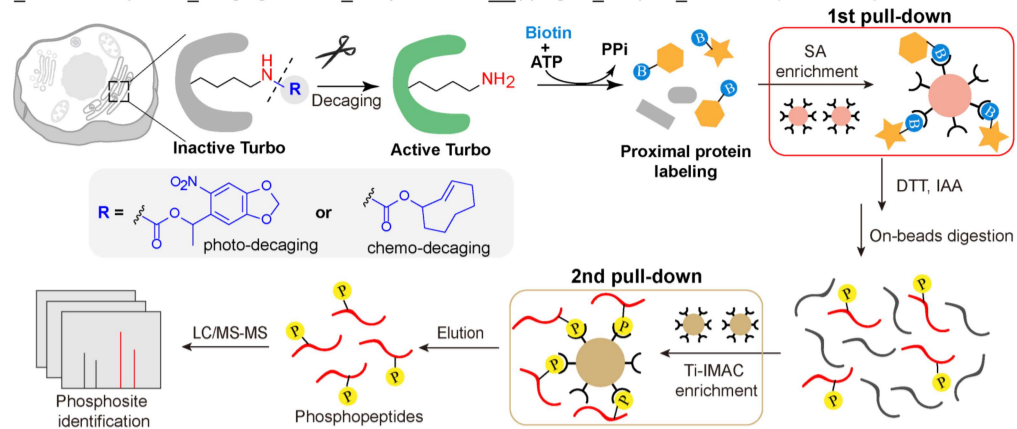


图1. SubMAPP工作流程

在此基础上，作者进一步发展了“串联富集”的策略，将邻近标记酶介导的空间蛋白质组学技术与特定蛋白质翻译后修饰富集技术有效整合，实现了亚细胞区域特定翻译后修饰蛋白质组的深度捕获。他们成功富集了活细胞内质网腔中的磷酸化蛋白质组，确定了分泌途径中主要的磷酸化氨基酸残基序列为S-P-E，并鉴定到了部分已知分泌相关激酶FAM20C的底物和新的磷酸化修饰蛋白/位点。随后，作者应用该技术解析了在内质网应激条件下，腔内蛋白质组和磷酸化蛋白质组的动态变化。有趣的是，通过设计的“脉冲-追踪”实验，他们揭示了内质网应激条件下内质网-线粒体之间的“蛋白质穿梭”现象。最后，作者还将SubMAPP技术拓展到了体外培养的大鼠神经元和活体小鼠水平，进一步展示了该技术的高效性和普适性。

综上，该项研究构建了一种生物正交、时空可控的邻近标记酶，并结合磷酸化串联富集策略，发展了亚细胞磷酸化蛋白质组学新技术。未来，该策略有望拓展至其他翻译后修饰类型，在亚细胞水平绘制多种蛋白质翻译后修饰谱。

北京大学化学与分子工程学院博士后刘衍军、博士研究生曾如馨为该论文的共同第一作者，北京大学化学与分子工程学院、北大-清华生命科学联合中心陈鹏教授和邹鹏研究员为该论文的共同通讯作者。该工作得到了国家自然科学基金委、科技部、北京分子科学国家研究中心以及北大-清华生命科学联合中心的资助。

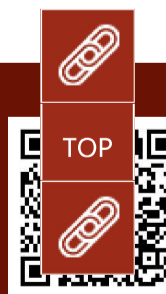
原文链接：<https://doi.org/10.1073/pnas.2025299118>

1. Humphrey, S., Azimifar, S. & Mann, M. High-throughput phosphoproteomics reveals in vivo insulin signaling dynamics. *Nat. Biotechnol.*, 33, 990–995 (2015)
2. Altelaar, A. F. M., Munoz, J. & Heck, A. J. R. Next-generation proteomics: towards an integrative view of proteome dynamics. *Nat. Rev. Genet.*, 14, 35–48 (2013).
3. Zhou, Y., Zou, P. The evolving capabilities of enzyme-mediated proximity labeling. *Curr. Opin. Chem. Biol.*, 60, 30–38 (2021).
4. Vepa, S. et al. Hydrogen peroxide stimulates tyrosine phosphorylation of focal adhesion kinase in vascular endothelial cells. *Am. J. Physiol.* 277, 150–158 (1999).
5. Madsen, C. T. et al. Biotin starvation causes mitochondrial protein hyperacetylation and partial rescue by the SIRT3-like deacetylase Hst4p. *Nat. Comm.*, 6, e7726 (2015)
6. Wang, J., Wang, X., Fan, X., Chen, P. R. Unleashing the Power of Bond Cleavage Chemistry in Living Systems. *ACS Cent. Sci.*, (2021). DOI: 10.1021/acscentsci.1c00124.



教师FTP
试剂平台
在线办公
信件通知

办公电话
北京大学分析测试中心
书记信箱
院长信箱



北大化学微信