

走在生命科学的前沿

——ABI 公司蛋白质组研究技术平台简介

彭立新 韩爱明

(美国应用生物系统(ABI) 中国公司)

摘要 本文介绍了美国应用生物系统公司蛋白质组研究技术平台的技术途径和关键技术及其应用,并提供了相关文献供读者查阅。

2000年6月26日美国 Celera 公司和国际人类基因组研究组织共同宣布人类基因组草图绘制完成,标志着基因组测序这一庞大工程的基本完成,也表明以蛋白质组研究为代表的后基因组研究的真正来临。目前蛋白质组研究在全世界刚起步即成为热点,这为广大生命科学家提供了新的机遇和挑战。蛋白质组研究的目的是阐明基因组所表达的真正执行生命活动的全部蛋白质的表达规律和生物功能,它的意义和原因在于:

基因功能的信息通过基因所编码的蛋白质来表现;蛋白质为生物功能的执行者;大多数疾病与蛋白质的非正常表达相关;蛋白质本身就是药物作用的靶点,许多蛋白质本身就是药物;疾病需在蛋白质水平上进行治疗;蛋白质的空间性、时效性、修饰、不稳定性和复杂的相互作用等等决定了蛋白质的研究远比基因组研究复杂;蛋白质组研究将阐明基因产物的调控机理、生化路径和蛋白质的相互作用机理,从而阐明遗传信息与生命活动之间的确切联系,从此将翻开新药开发的新篇章。

美国应用生物系统公司(Appliedbiosystems,简称ABI公司,下同)和其姊妹公司塞莱拉公司(Celera)已在基因组研究技术中所确立的领先地位和取得的巨大成果,结合公司在蛋白质的新药研究技术中的传统优势,再次走在生命科学的前沿——在蛋白质组研究和新药发现中又成为领头军。

ABI公司以其先进、灵活的技术为生命科学家建立了蛋白质组研究的技术平台,此平台既可以充分利用科学家已有的传统技术手段如2-D胶、SDS-PAGE技术、图像分析技术,又可在在此基础上配置电喷雾液相色谱质谱(Electrospray ionization-Mass Spectrometry, ESI-MS)和基质辅助激光解

析电离飞行时间质谱技术(Matrix Assisted Laser Desorption Ionization-Flight Mass Spectrometry, MALDI-TOF),亦可运用全景式蛋白质定量技术进行“Gel-Free”技术路径的建立(图1),全面探索蛋白质组和新药发现领域的奥秘。

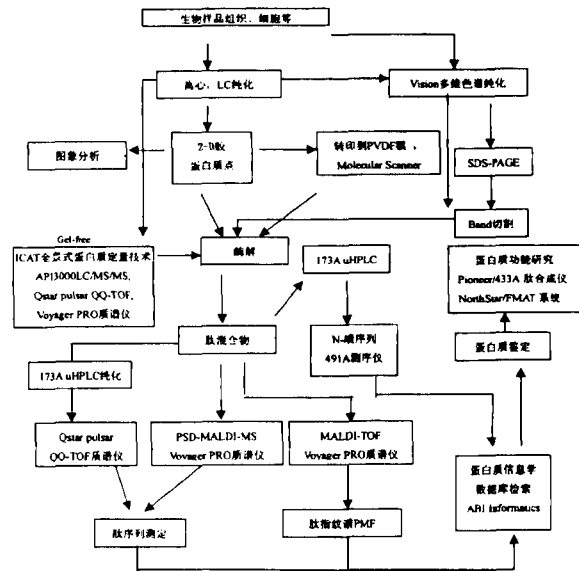


图1 蛋白质组研究的技术路线流程图

1 生物质谱技术—蛋白质组学研究的核心工具

ABI公司首先在20世纪90年代初提出了生物质谱的概念并推出了Mariner API-TOF和Voyager DE MALDI-TOF系列生物质谱仪用于生物大分子的鉴定,并于1995年首先发明了“延迟引出技术”(Delayed Extraction)极大地提高了生物质谱仪的性能,成为飞行时间质谱技术的开拓者,现在ABI公司形成了从液相色谱-电喷雾电离-三极四极杆串联质谱(API-MS/MS)系列到基质辅助激光解析电离飞行时间质谱(Voyager DE MALDI-TOF)系列以及高分辨液相色谱-电喷雾电离/基质

辅助激光解析电离-四极杆-飞行时间串联质谱(Qstar Pulsar i API/MALDI QQ-TOF)和 TOF-TOF 质谱等一系列生物质谱技术,进行肽指纹谱(Peptide Mass Fingerprinting, PMF)测定、肽序列(Sequencing)串联质谱分析、蛋白质高通量筛选(High-Throughput Screening, HTS)等研究。

Qstar Pulsar i API/MALDI QQ-TOF 生物质谱工作站:

(1)独家离子源结合技术:大气压电离 API 和基质辅助激光解析电离 MALDI 两种电离技术源在一台质谱仪上互换,既可进行液相色谱/串联质谱分析,又可做基质辅助激光解析电离/飞行时间质谱分析,极大地降低了仪器的购置成本。

(2)高分辨率(15000FWHM)、高质量准确度($< 5\text{ppm}$)和高灵敏度(fmole-atmole)、宽质量数范围,分析蛋白质、肽、核酸及未知化合物的强有力工具。

(3)串联质谱(MS/MS)功能,专利离子线性加速技术及新型离子捕捉器,使灵敏度提高 10 倍以上,在同类仪器中达到最高,特别有利于测定蛋白质翻译后修饰。

(4)自动测定所选定的离子的元素组成,得出可能的分子式或肽的氨基酸序列。

(5)解析复杂混合物的成分:测定蛋白质分子量、分析酶解后产生的肽片段混合物的单个组份,蛋白质位点修饰、突变检测,药物代谢分析,中草药学研究等¹⁻⁷。

PS1 (Voyager Proteomics Solution1) MALDI-TOF 生物质谱工作站:

ABI 公司在 2000 年初全球首次推出蛋白组解决方案 1 系统,它是全自动蛋白质快速鉴定分析的平台,全面迎合了全球蛋白和蛋白质组科学工作者的研究方向,成为蛋白质组学研究的首选工具⁸⁻¹⁰。

(1)Symbiot 全自动样品处理和跟踪系统,能全自动完成各种样品的准备和点样,全程序控制,自动链接跟踪 MalDI-TOF 分析和数据结果。

(2)Voyager MalDI-TOF 飞行时间质谱系统,自动逐个进行样品的分析,最新的硬软件设计使 Voyager 系统从上世纪 90 年代初推出至今一直是最成熟可靠的系统,成为蛋白质鉴定的标准式工具。其公认的出色可靠的 PSD、CID 能力,对实际样品极高的灵敏度(低 fmol-atmol),均一稳定的高

分辨率,高质量准确度(小于 5ppm),最大限度地满足了蛋白质,特别是蛋白质组研究的需求。

(3)更值得一提的是其无与伦比的 PS1 软件技术:最新 Macro 技术,自动 PSD 进行序列测定分析;智能化数据检索,自动质量校正,逐级检索,自动谱图整合,自动激光频率调节,自动样品全程分析跟踪等等,无疑使分析速度,精度,可靠性发挥到极至。特别是整合了专用于 ICAT 技术的最佳软体,与 Qstar 最佳匹配,达到了蛋白分析鉴定的又一最佳整合效果。

API2000、API3000LC-MS/MS 液相色谱-四极杆串联质谱仪:

(1)专利抗污染、高灵敏度气帘离子源设计,高通量筛选能力,低运行成本系统,特别适合于低丰度的蛋白质的识别和定量以及转译后修饰的高通量筛选¹¹⁻¹³。

(2)毛细管电泳或毛细管色谱在线分离技术大大降低了蛋白质的分离纯化要求,提高了筛选效率。

(3)超高灵敏度的纳升电喷雾串联质谱技术(nano-spray MS-MS)以其消耗样品量少、电离效率高、灵敏度高等特点得到广泛应用¹⁴,特别适合用于微量样品的质谱分析,并可测定蛋白质的序列。

(4)数据相关采集(Information Dependent Acquisition, IDA)技术提供了即时 MS 和 MS/MS 数据采集功能,直接而自动的肽串联质谱与数据库检索联用,从而实现“猎枪法”(Shotgun)式的混合物中蛋白质的鉴定。

2 ICAT(Isotope Coded Affinity Tags)同位素标记亲和标签技术

全景式蛋白质差异表达分析新技术,无需繁冗的 2D-gel 技术¹⁵⁻¹⁷,对低丰度重要功能蛋白的直接捕获测定等,以及其可靠性,使其成为蛋白质研究又一里程碑式的技术革命,它的好处和意义在于:

(1)将混合样品(来自正常和病变细胞或组织等)直接测试。

(2)快速定性和定量鉴定低丰度蛋白质、尤其是膜蛋白等疏水性蛋白等。

(3)快速找出重要功能蛋白质(疾病相关蛋白质及生物标志分子,进而快速用于疾病诊断。

(4)利用 ABI 公司独有的 MDLC 多维色谱分

离纯化技术快速、高效分离复杂样品。

(5)ABI 公司特有 ICAT 软件及质谱技术平台系统全自动快速鉴定蛋白质。

(6)其机理和实现过程如下:分别用 D0 和 D8 试剂与同种细胞的不同形态中的所有蛋白质反应(如 D0 与正常细胞, D8 与病变细胞),试剂选择性

与半胱氨酸反应,然后把两种反应产物混合在一起进行酶解,用亲和色谱等色谱手段分离被标记的肽段,进行 LC/MS/MS 或 MALDI-TOF 测定,如一对峰相差 8 个质量数,则为同一种蛋白质,由 D0 和 D8 峰的相对强度进行相对定量,从而进一步进行蛋白鉴定(图 2)。

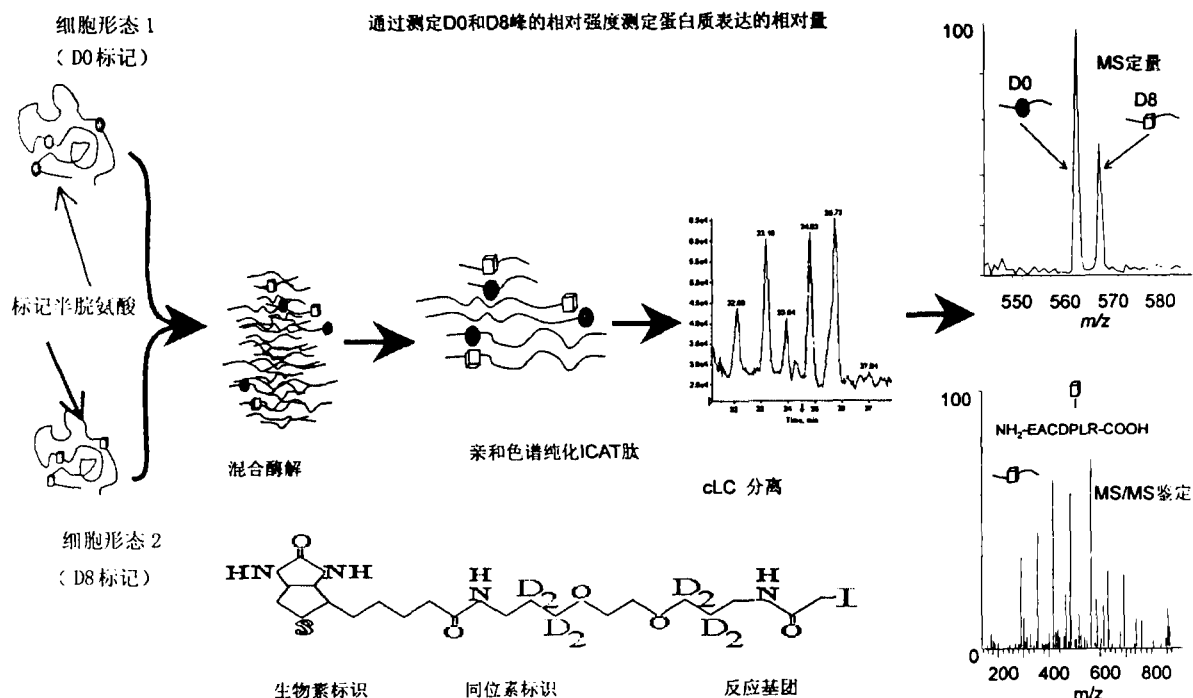


图 2 ICAT 技术机理和实现途径

3 Vision 多维色谱纯化工作站——蛋白质研究的首选工具

在蛋白质分离纯化领域,ABI 公司一直占据着高端市场,其系统无与伦比的自动化程度,开放性,最优分离纯化模板,出色的快速分离填料等,特别是公司在上世纪 90 年代首次提出的 MDLC (Multidimensional Liquid Chromatography) 多维全自动纯化技术,在蛋白和蛋白组研究日益活跃的今天,当然成为蛋白质研究的首选工具。它的特点主要有:

(1)MDLC 多维纯化技术可以实现多步纯化的多组分自动上样,自动分离(如离子交换),自动收集,再机器人重新组分自动上样,再自动分离(如反相),自动收集,自动分析等等,大大简化了复杂样品的分离程序,提高了分离效率。

(2)它不同于实验室常用的常规蛋白层析系统,在完成 MDLC 等的同时,其宽广的压力和流量

范围,对所有色谱行为和色谱柱的开放性,自动的柱子筛选,缓冲液混合,各种阀门切换,检测器切换等,特别是其简单易学而又复杂的分离分析模板,全程的参数实时跟踪,数据的跟踪和自动批处理组群分析等,彻底突破了传统分离纯化的瓶颈,使分离纯化倍感轻松。

(3)Vision 系统除了一般的蛋白,它对疏水性蛋白、碱性蛋白、特别是低丰度蛋白等的分离能力,也成为传统基于 2D-Gel 的蛋白组研究以外的又一途径。

(4)Vision 系统全面满足了 ICAT 技术和蛋白组分离技术的要求,成为其技术平台和路线中必不可少的工具。

Vision 系统正如其具有想象力的名字一样,全面迎合了科技和研究发展的需求,成为蛋白组研究技术平台中不可缺少的工具。

综上所述,ABI 公司是一个在生命科学和药物开发等领域不断创新的公司,它从不沿袭现有

的传统技术,而是努力解决现有技术发展的瓶颈问题,它在 Boston 成立了蛋白组研究中心,它提出的蛋白组解决方案中,从完备一流的质谱鉴定系统,ICAT 差异表达定量分析技术,MDLC 多维色谱技术,更有最新推全球首推的 TOF-TOF 系统,即将推出的分子扫描技术(Molecular Scanner)等,还有成熟的肽合成技术,蛋白质序列测定技术,最新的 ABI Tropics 活性筛选系统等,ABI Informatics 技术,以及其姊妹公司 Celera 在基因组和蛋白组上的全球领航着角色,虽然由于篇幅限制无法一一介绍,无不印证了 ABI 公司在蛋白质和蛋白组研究技术上的领路者地位。

参考文献

- 1 A. Pandey, M. Mann, Nature, 2000, 405: 837 ~ 846
- 2 M. Stoeckli, P. Chaurand, D. E. Hallahan, R. M. Caprioli, Nature Medicine, 7(4), 493 ~ 496
- 3 H. Steen, Anal. Chem., 2001 73: 1440 ~ 1448
- 4 R. Aebersold, D. R. Goodlett, Chemical review, 2001, 101: 269 ~ 295
- 5 A. N. Krutchinsky, Wenzhu Zhang, B. T. Chait, Journal of American Society for Mass Spectrometry, 2000, 11(6): 493 ~ 504
- 6 A. A. Loboda, A. Shevchenko, W. Ens, K. G. Standing, Anal.

Chem. 2000, 72: 2132 ~ 2141

- 7 P. Verhaert, S. Uttenweiler-Joseph, M. De Vries, A. Loboda, W. Ens, K. G. Standing, Proteomics, 2001, 1, 118 ~ 131
- 8 C. E. Doneanu, D. A. Griffin, E. L. Barofsky, D. F. Barofsky, J Journal of American Society for Mass Spectrometry, 2001, 12 (11): 1205 ~ 1213
- 9 Shiping Fang, T. Takao, Y. Satomi, Wenjun Mo, Y. Shimomoshi, Journal of American Society for Mass Spectrometry, 2000, 11(4): 345 ~ 351
- 10 D. E. Ehmann, J. W. Trauger, T. Stachelhaus, C. T. Walsh, Chemistry & Biology, 2000, 7(10) 765 ~ 772
- 11 I. K. Chu, Xu Guo, Tai-Chu Lau, K. W. Michael Siu, Anal. Chem. 1999, 71, 2364 ~ 2372
- 12 M. J. Magear, J. M. Lacey, B. Casetta, P. Rinaldo, Clinical Chemistry, 1999, 45(9), 1517 ~ 1522
- 13 J. Zweigenbaum, K. Heinig, S. Steinborner, T. Wachs, J. Herion, Anal. Chem. 1999, 71: 2294 ~ 2300
- 14 G. J. Scott, J. Zhao, ASMS2001, # 189
- 15 S. P. Gygi, B. Rist, S. A. Gerber, F. Turecek, M. H. Gelb, R. Aebersold, Nat Biotechnol. 1999, 17(10): 994 ~ 999
- 16 T. J. griffin, S. P. Gygi, B. Rist, R. Aebersold, Anal. Chem, 2001, 73: 978 ~ 996
- 17 K. Tago, T. Nakamura, M. Nishita, J. Hyodo, S. Nagai, Y. Murata, S. Adachi, S. Ohwada, Y. Morishita, H. Shibuya, T. Akiyama, GenesDev. 2000, 14(14): 1741 ~ 1749

专业的机构组织专业的盛会邀请专业的人士参与
第二届中国计量测试设备暨自动化仪器仪表展览会

主办单位:中国计量测试学会
办承单位:深圳市质量技术监督局质量保证中心
 深圳市计量测试学(协)会
时 间:2001年11月16~19日
地 点:深圳市高交会展览中心
展示范围:计量测试器具设备
 性能试验设备
 工业自动化仪表及控制装置
 各类科学分析仪器
 电子检测仪表
 衡器
 通用仪器仪表
 计量标准器具及标准物质
 其它各类计量测试相应产品

咨询联系:深圳市华强南路无线电管理大厦九楼
 深圳市质量保证中心
邮 编:518033
联系电话:(0755)3202931
传 真:(0755)3202919
联系人:曹荣 王伟洪 王静 郭赞强

宣传媒体:《深圳特区报》《晶报》《深圳商报》《中国仪电报》《中国计量》《中国质量报》《自动化仪表》《工业计量》《传感器世界》《自动化博览》《广东质量》《国外电子测量技术》《现代仪器》《仪器仪表商情》《现代科学仪器》

回 执 表	参展 <input type="checkbox"/>	索取资料 <input type="checkbox"/>	参观 <input type="checkbox"/>	索取门票 <input type="checkbox"/>
	单位名称		电话	
	地址		邮编	
	传真		联系人	