



生物膜干涉技术 文献集锦

Biolayer Interferometry Publication Booklet



gator 

关于 Gator Bio (小鳄生物)

Gator Bio 是一家全球领先的生物分析技术公司。在硅谷、上海、苏州等多地运营。公司致力于研发、制造和销售创新的生物分析设备、软件、生物传感器、专用耗材和试剂等产品，以协助生物制药和生命科学领域的科学家们更好、更快、更高效地完成工作。

Gator® 系列分析仪器基于新一代生物膜干涉技术 (Biolayer Interferometry, BLI)，通过收集、分析光纤生物传感器表面反射光谱的变化来计算多种生物反应参数。广泛应用于科研各个领域：信号通路研究、结构功能分析、AI 辅助设计、垂钓中药有效成分、分子递送系统、抗体筛选等；可进行动力学常数测定、抗体滴度检测、表位分组、AAV 空壳率和滴度检测等应用，满足多种药物研发和基础研究。

Gator® 系列仪器介绍



性能参数

样本类型 蛋白，抗体，多肽，核酸，脂质体，病毒以及小分子化合物

检测通道数目	4	8	8	8, 16	8, 16, 24, 32
单次最高实验样本量	48	168	456	816	1152
分子量	≥ 100 Da				
结合常数 (k_{on})	$10^1 - 10^7 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$				
解离常数 (k_{off})	$10^{-6} - 10^{-1} \text{ s}^{-1}$				
亲和力常数 (K_D)	$\mu\text{M} - \text{mM}$				
定量浓度范围 (Protein A 探针)	0.02 – 2000 $\mu\text{g/mL}$				
EP 单次最高通量	6x6	12x12	16x16	20x20	32x32
基线噪声 (RMS)	< 3 pm				
基线漂移	< 0.12 nm/hour	< 0.12 nm/hour	< 0.1 nm/hour	< 0.1 nm/hour	< 0.1 nm/hour
数据采集频率	2, 5, and 10 Hz				

仪器基本参数

光谱仪数目	4	8	8	16	32
样品微孔板*	96 孔板 ¹	96 孔板 ^{1,2}	96 或 384 孔板 ^{1,2,3,4}	2x96 或 384 孔板 ^{1,2,3,4}	3x96 或 384 孔板 ^{1,2,3,4}
温度调节	室温 - 40°C (可选配降温模块)	室温 - 40°C (可选配降温模块)	室温 - 40°C (可选配降温模块)	15°C - 40°C	室温 - 40°C
自动化整合	No	No	No	Yes	Yes
最少样品加样量	130 μL^2	130 μL^2	40 μL^4	40 μL^4	40 μL^4
智能监控	No	No	No	Yes	Yes
自清洁功能	No	No	No	Yes	Yes
规格 - 高 x 宽 x 深 (cm)	50 x 68 x 33	48 x 67 x 31	69 x 73 x 44	95 x 87 x 79	84 x 114 x 78
重量 (kg)	31 kg	35 kg	55 kg	130 kg	220 kg

*Gator Bio 提供: ¹96 孔平底板, ²96 孔斜底板, ³384 孔平底板, ⁴384 孔斜底板, 可满足一系列 BLI 相关应用。



BLI 技术原理

生物膜干涉（Biolayer Interferometry, BLI）技术通过测量光纤生物传感器表面反射光的干涉图谱来检测生物分子间相互作用。Gator Bio 光纤生物传感器是先将直径 1 mm 的玻璃光纤的末端镀上专利光学层，再继续镀上特定的化学层，比较光纤生物传感器表面化学层结合生物分子后反射光的干涉图，实时监测由于生物分子积累引起的干涉变化，即可高灵敏地分析和计算目标蛋白质之间的结合和解离速率。

生物膜干涉技术可特异性检测生物分子之间的相互作用，这也使得其成为当今科学研究应用最为广泛的技术之一。

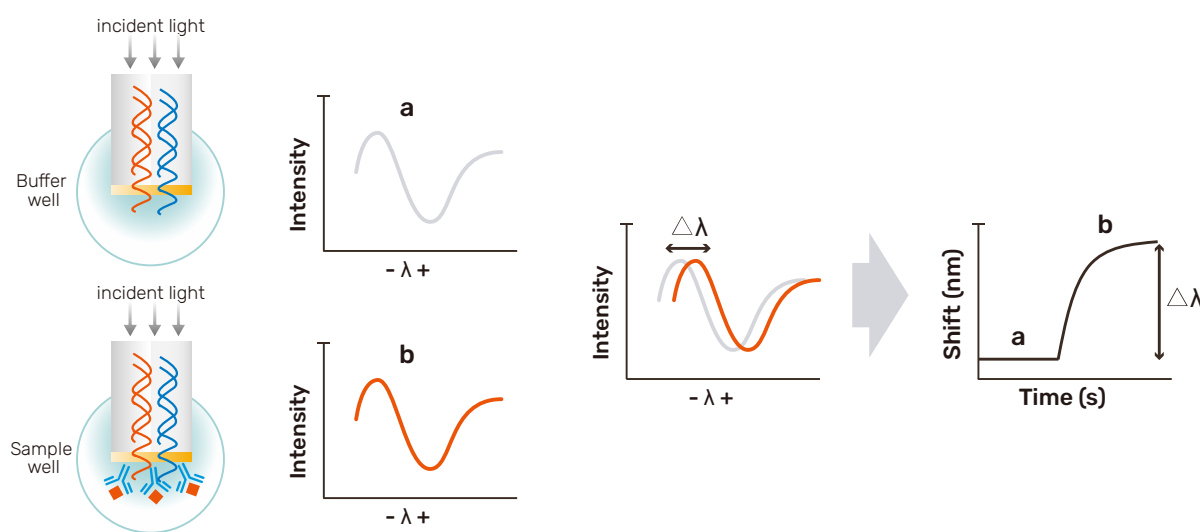


图1. BLI 技术原理

使用 Gator® 系统检测分子间相互作用 —— 5 步法

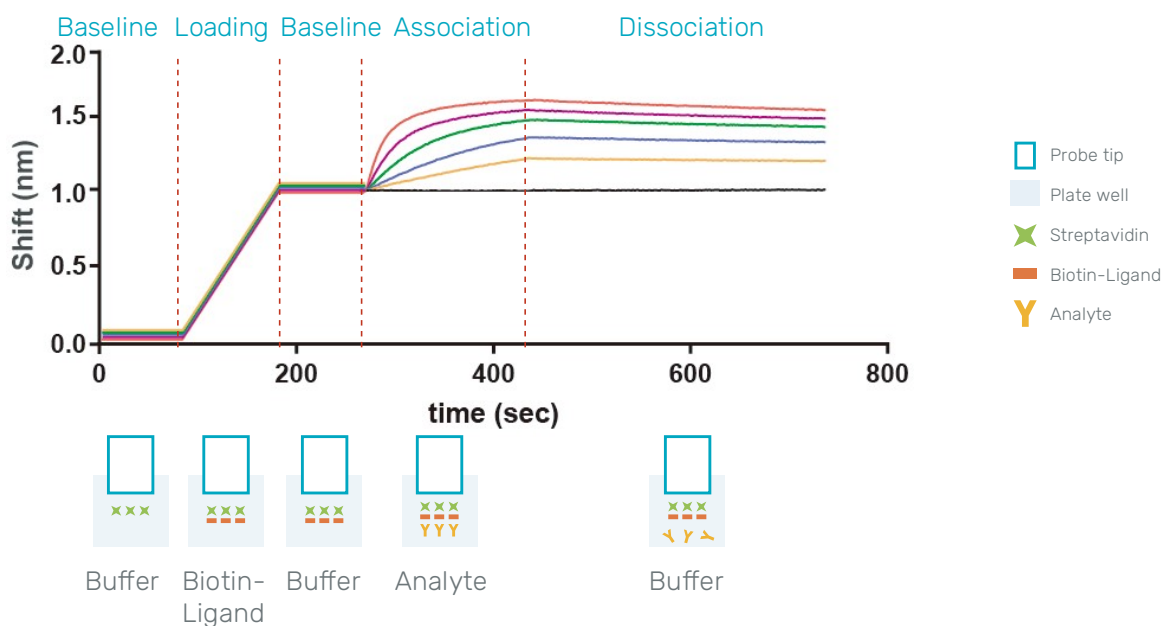


图2. BLI 动力学检测流程

 Gator® BLI 应用目录

01	免疫学研究	1	06	药物递送系统	24
	1.1 信号通路-“cGAS-STING”	1		6.1 脂质体	24
	1.2 信号通路-“cGAS-UPS”	2		6.2 氧化石墨烯	25
	1.3 免疫检查点-LAG3	3		6.3 LNP	26
	1.4 免疫检查点-LILRB4	4		6.4 自组装纳米颗粒	27
	1.5 肿瘤抗体药物研究	5	07	垂钓检测	28
02	病毒及感染研究	6		7.1 垂钓研究-TF/ A β 蛋白	28
	2.1 新冠病毒	6		7.2 垂钓研究-游离轻链	29
	2.2 星状病毒	7	08	临床应用研究	30
	2.3 流感病毒	8		8.1 诊断方法开发-胰腺癌	30
	2.4 博卡病毒	9		8.2 诊断方法开发-淋巴瘤	31
	2.5 刚果出血热病毒	10	09	多肽相关检测	32
	2.6 东方马脑炎病毒	11		9.1 新型荧光多肽	32
	2.7 甲病毒受体研究	12		9.2 TJ 促透剂多肽	33
03	疫苗研究	13		9.3 α -Klotho 多肽探针	34
	3.1 VLP 疫苗	13	10	膜蛋白研究	35
	3.2 mRNA 疫苗	14		10.1 Nanodiscs	35
	3.3 粘膜疫苗	15		10.2 靶向 GPCR 的小分子	36
	3.4 重组蛋白疫苗	16		10.3 去垢剂对 GPCR 影响	37
04	AI 辅助设计	17	11	表观遗传学	38
	4.1 AI 设计蛋白	17		11.1 代谢物调控基因转录	38
	4.2 靶向新表面蛋白设计	18		11.2 组蛋白甲基化	39
	4.3 AI 辅助药物设计	19		11.3 核糖体蛋白乙酰化	40
	4.4 融合蛋白机制研究	20		11.4 蛋白-核小体	41
	4.5 CRISPR	21			
05	基因治疗研究	22			
	5.1 AAV 衣壳改造	22			
	5.2 AAV 抗体	23			

 Gator® BLI 应用目录

12	植物研究	42	19	小分子相关研究	58
	12.1 细胞自噬	42		19.1 PROTAC	58
	12.2 拟南芥抑制剂	43		19.2 小分子化合物	59
	12.3 细胞内复制遗传机制	44		19.3 天然产物	60
	12.4 细胞分裂调控机制	45		19.4 农药	61
13	核酸相关研究	46	20	化工材料	62
	13.1 microRNA	46		20.1 活性超分子聚合	62
	13.2 核酸适配体	47		20.2 自制CRISPR-BLI探针	63
	13.3 RNA-蛋白互作	48	21	细胞检测	64
	13.4 核酸-核酸互作	49		22.1 血红细胞-IgM	64
14	ADC 研究	50	22	浓度定量	65
	14.1 ADC-LIV1	50		20.1 双特异抗体	65
	14.2 ADC-DLL3	51		20.2 抗药抗体	66
15	结构学研究	52			
	15.1 蛋白复合物结构解析	52			
	15.2 HURP 蛋白结构解析	53			
16	酶学研究	54			
	16.1 酶学	54			
17	多糖研究	55			
	17.1 卡拉胶酶催化多糖	55			
18	噬菌体筛选	56			
	18.1 噬菌体展示 scfv	56			
	18.2 噬菌体展示多肽	57			

01 免疫学研究

1.1 信号通路-“cGAS-STING”

Nature

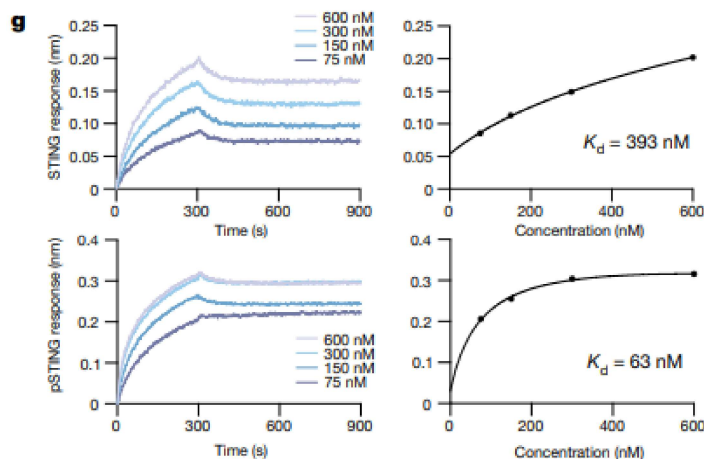
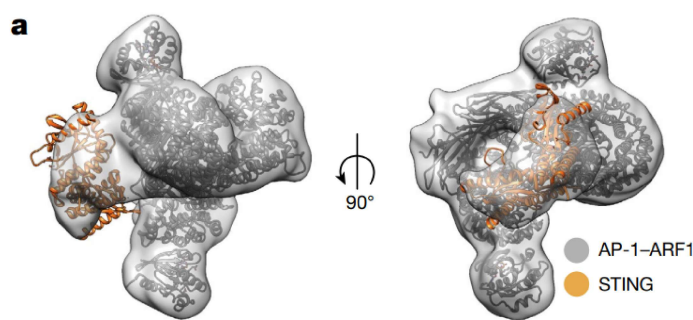
Clathrin-associated AP-1 controls termination of STING signalling

Andrea Ablasser 等, 瑞士洛桑联邦理工大学

关键词: cGAS-STING 信号通路, AP-1 蛋白

天然免疫通路“cGAS-STING”通路由 DNA 感受器 cGAS (Cyclic GMP-AMP synthase) 和其下游效应蛋白 STING (Stimulator of interferon genes) 组成, 在细胞抵抗外界病原体入侵和肿瘤发生过程中发挥重要功能。该研究详细揭示了 STING 信号的负反馈调控: 激活的 STING 被转运到高尔基体上后, 结合 TBK1 并导致 STING C 端的磷酸化。而 AP-1 将磷酸化的 STING 筛选成网格蛋白包裹的转运囊泡, 并运送到内容酶体系统, 而后 STING 被降解。

AP-1 结合指导 STING 降解以限制免疫激活:
AP-1 是在各种生物学相关背景下平衡 STING 反应的关键和保守的介质。TBK1 依赖性磷酸化控制 STING 与 AP-1 的结合: STING 与“解锁”激活的 AP-1 复合物之间的直接相互作用由 STING 双亮氨酸基序的识别介导。



BLI 实验思路:

STING, STING mutants or pSTING 均标记 biotin 后固化到 SA 生物传感器上, 利用 Gator® 测试其与 AP-1 $\Delta\mu$ CTD 或其突变体的动力学。

参考文献

Liu Y, Xu P, Rivara S, Liu C, Ricci J, Ren X, Hurley JH, Ablasser A. Clathrin-associated AP-1 controls termination of STING signalling. Nature, 2022 Oct 19.

01 免疫学研究

1.2 信号通路-“cGAS-UPS”

Nature

The CRL5-SPSB3 ubiquitin ligase targets nuclear cGAS for degradation

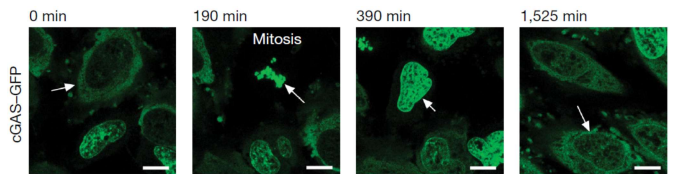
Jonathan Ricci & Andrea Ablasser 等，瑞士洛桑联邦理工大学

关键词：核 cGAS 降解，CRL5-SPSB3 泛素连接酶

环状 GMP-AMP 合成酶（cGAS）通过识别异常 DNA，例如感染、癌症和炎症性疾病中的 DNA，激活强大的先天免疫应答。尽管 cGAS 对 DNA 的序列没有选择性，不能直接区分病原体 DNA 和自身 DNA，但它被核小体结构抑制的机制，可以有效避免在有丝分裂中被自身 DNA 激活。然而，细胞如何调控紧密结合在染色质上的 cGAS 仍不清楚。

本研究揭示了泛素-蛋白酶体系统（UPS）在细胞周期中降解核内 cGAS 的作用，并识别了 SPSB3 作为针对 cGAS 的底物受体，与 CRL5 复合体结合，促使 cGAS 进行泛素化降解。通过干扰 SPSB3 调控核 cGAS 的降解，启动了 I 型干扰素信号传导，增强对 DNA 病毒感染的保护。这项研究将蛋白质降解确定为细胞核中 cGAS 调控的决定因素，并为开发治疗手段提供了对 cGAS 结构的见解。

1) 核内 cGAS 的泛素-蛋白酶体降解：利用活细胞成像分析发现，核内 cGAS 在细胞周期中的丰度逐渐下降，而胞质中的 cGAS 增加。尽管通常认为这是核内 cGAS 转运到胞质中的结果，但通过光转化荧光标签的追踪发现，核 cGAS 实际上从未转运到细胞质中，而是在细胞核内被降解。

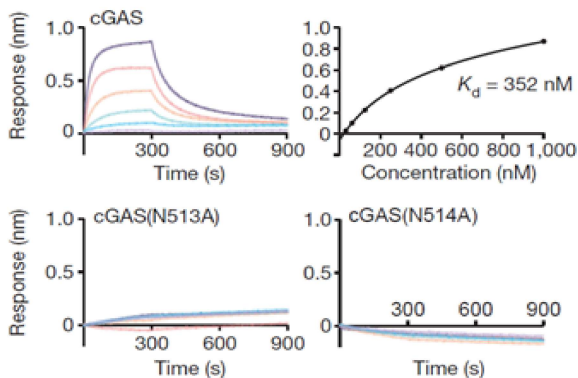


图：cGAS 在细胞中的定位随细胞周期变化

2) CRL5-SPSB3 复合体的识别与泛素化：

研究者发现泛素化连接酶复合物 CUL5，以及一个尚未被研究过的受体 SPSB3 对 cGAS 的核内降解起着重要的调节作用。

3) cGAS 与 SPSB3 的结构基础：冷冻电镜结构分析揭示了 cGAS 与 SPSB3 之间的相互作用界面，并利用 Gator® BLI 发现 cGAS 的 NN 最小降解信号基序是 SPSB3 识别的关键。



BLI 实验思路：

Anti-His 传感器固化 cGAS 或 cGAS 突变体，结合不同浓度的 SPSB3。

4) 核cGAS影响干扰素水平：阻断 cGAS 的 NN 基序或降低 SPSB3 表达水平均可增强细胞内I型 IFN 的信号，对 HSV-1 和 VACV 病毒的感染更具抵抗性。

参考文献

Pengbiao Xu, et al. The CRL5-SPSB3 ubiquitin ligase targets nuclear cGAS for degradation. Nature. 2024.

01 免疫学研究

1.3 免疫检查点 - LAG3

Nature Communications

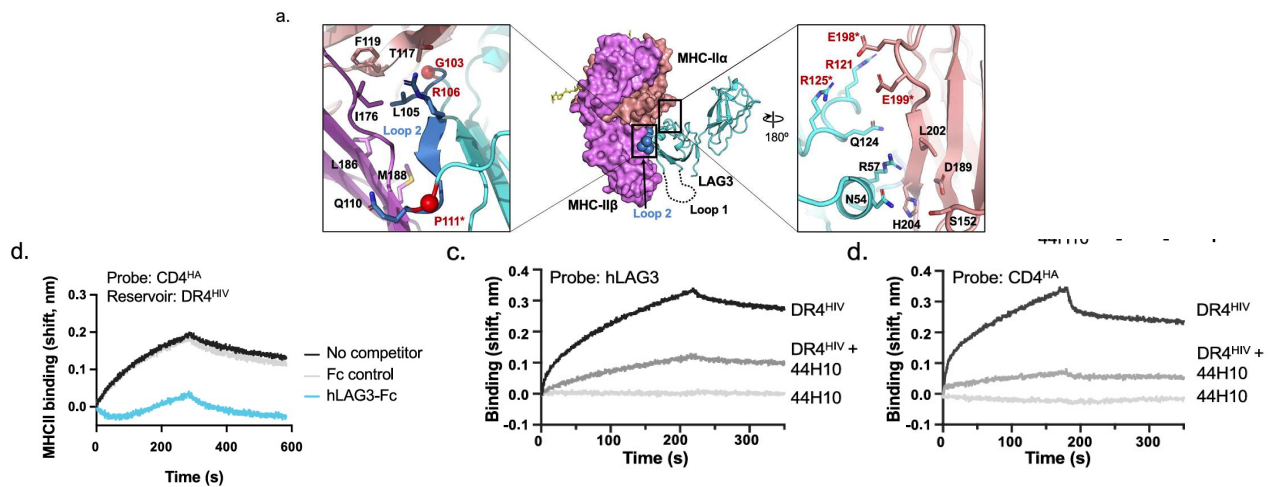
Structural basis for mouse LAG3 interactions with the MHC class II molecule I-A^b

Vincent C. Luca 等，美国 Moffitt 癌症中心和研究所

关键词：LAG3, CD4, MHC-II

淋巴细胞激活基因-3 (LAG3) 是继 CTLA-4、PD-1/L1 之后第三个应用于临床的新一代T细胞免疫检查点 (ICP) 分子。LAG3 和 CD4 有高度相似的同源结构，能与 MHC II 分子结合，且亲和力远高于 CD4 分子，通过结合 MHC II 分子阻断了 TCR 信号。此外 LAG3 尾部信号还通过抑制钙离子通道损害T细胞增殖、细胞因子分泌能力。LAG3 是一个负调节信号，在体内外试验中均能够抑制 T 细胞功能。另外临床数据显示，在多种癌症类型中，如黑色素瘤、结肠癌、乳腺癌等，肿瘤浸润淋巴细胞 (TILs) 表达 LAG3。尽管近年来对 LAG3 的研究越来越多，但我们对 LAG3 的理解仍然非常有限，比如 LAG3 如何在细胞表面与 MHC-II 结合，如何开发靶向 LAG3 的安全、有效药物等。

本研究揭示了 LAG-3 是如何与其他蛋白发生相互作用来控制免疫活动的，尤其是与 MHC II 的结合对免疫抑制非常关键，这也为肿瘤治疗带来了全新认知。通过对 LAG3 与 MHC-II 的结合结构分析，发现了：(1) LAG3 的结构域 1 (D1) 结合 MHC-II 的保守近膜区域。(2) LAG3 的两个分子会发生二聚化，其可能作用是通过亲和力增强来加强 LAG3 与 MHC-II 的结合；且 LAG3 二聚体能改变 MHC II 分子的表面几何形状，扰乱 T 细胞受体信号。(3) LAG-3 会抢占 CD4 与 MHC II 结合的位点，这种空间竞争作用会破坏细胞外的 CD4 的免疫信号传导，从而导致免疫抑制作用。上述这些作用，可以使 T 细胞活性降低并引发免疫耐受，因此也会减弱T细胞的抗肿瘤能力。此外也发现多种 LAG3 抗体抑制剂与 LAG3 与 MHC-II 结合位点不同，表明 LAG3 具有多种免疫抑制机制，这也对未来治疗开发具有重要意义。



BLI 实验思路：

这些结果中有关表位竞争的关键性数据都是通过 Gator® BLI 验证得到：

(1) LAG3 抑制 CD4 与 MHC-II 的结合：CD4HA 可结合人 MHC-II 分子的 DR4HIV，而在加入 hLAG3-Fc 后则抑制了 CD4HA 与 DR4HIV 的结合。

(2) 抗体 44H10 会抑制 LAG3、CD4 与 MHC-II 的相互作用：hLAG3-Fc、CD4HA 可结合 DR4HIV，而在加入 44H10 后则抑制了其结合；此结果也第一次证明了抗体 44H10 是 MHC-II 与 CD4、LAG3 相互作用的双重抑制剂，其在免疫学研究中的是一个有趣的工具。

参考文献

Vincent C. Luca, et al. Structural basis for mouse LAG3 interactions with the MHC class II molecule I-A^b. Nature Communication. 2024.

01 免疫学研究

1.4 免疫检查点 - LILRB4

Cell Reports Medicine

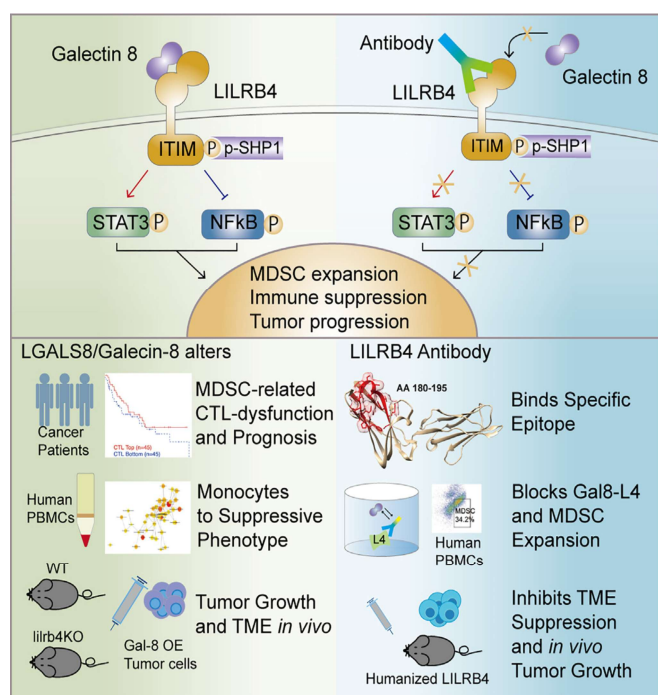
Discovery of galectin-8 as an LILRB4 ligand driving M-MDSCs defines a class of antibodies to fight solid tumors

许杰等，复旦大学生物医学研究院

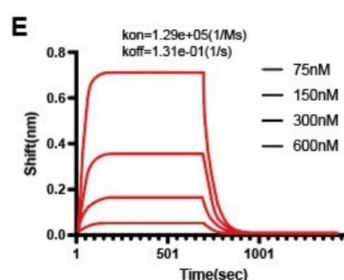
关键词：Galectin-8, LILRB4, 免疫检查点, MDSC

白细胞免疫球蛋白样受体 B4 (LILRB4) 是白细胞 Ig 样受体 (LILRs) 的成员，是髓系单核细胞表面的一种含有 ITIM 结构域的免疫检查点受体，可抑制抗原呈递细胞激活，与 MDSC 介导的肿瘤免疫抑制有关。目前尚不清楚与肿瘤微环境中的 MDSC 相关的 LILRB4 功能性配体，这阻碍了阻断性抗体的开发和伴随诊断。

在本研究中首次报道了 Galectin-8 作为 LILRB4 的肿瘤相关功能性配体，通过激活 STAT3 磷酸化和抑制 NF- κ B，诱导 MDSC，抑制单核细胞吞噬功能，从而促进免疫抑制和肿瘤的生长。接着研发了具有阻断功能的治疗抗体，结果表明阻断 Galectin-8 与 LILRB4 的结合能够减缓多种高表达 Galectin-8 的肿瘤在小鼠体内的生长，具有潜在治疗和转化价值。



研究发现 Galectin-8 与 MDSC 具有相关性，进一步的利用 Gator[®] 显示 Galectin-8 与 LILRB4 以较高亲和力结合，并调控胞内的 SHP-1-STAT3/NF- κ B 通路，诱导 M-MDSC 的增加从而抑制 T 细胞增殖。

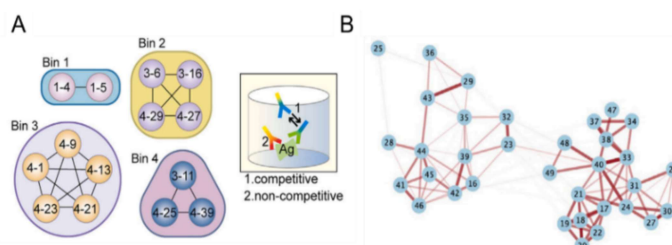


BLI 实验思路：
HFC 探针固化 Fc-tagged LILRB4 ECD 蛋白，结合不同浓度的 Galectin-8。

研究人员证明了 Galectin-8 和 LILRB4 的相互作用后，又分别开发了抗 LILRB4 抗体和抗 Galectin-8 抗体。在两种抗体的筛选过程中，先用 ELISA 筛选出多株与 LILRB4 或 Gal-8 有结合的抗体，再利用 Gator[®] 对多株抗体进行表位分组，后续筛选出阻断作用最强的抗体，再用 Gator[®] 分别检测抗体和 LILRB4 或 Gal-8 的亲和力。

BLI 实验思路：

Gator[®] 对抗体进行表位分组流程：ProA 光纤生物传感器固化抗体 1，结合 LILRB4 或 Gal-8 抗原，再结合抗体 2。若抗体 2 有明显结合，则代表两者结合表位不同；若抗体 2 无明显结合，则表明两者竞争相同表位。



参考文献

Yiting Wang, et al. Discovery of galectin-8 as an LILRB4 ligand driving M-MDSCs defines a class of antibodies to fight solid tumors. Cell Reports Medicine. 2024.

01 免疫学研究

1.5 肿瘤抗体药物研究

Antibody Therapeutics

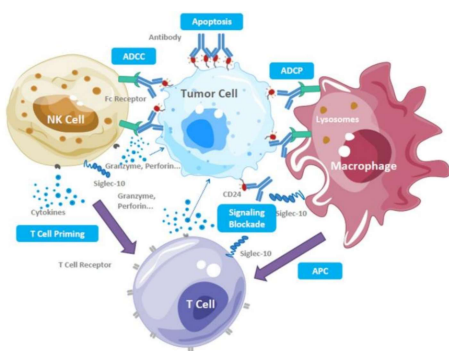
IMM47, a humanized monoclonal antibody that targets CD24, exhibits exceptional anti-tumor efficacy by blocking the CD24/Siglec-10 interaction and can be used as monotherapy or in combination with anti-PD1 antibodies for cancer immunotherapy

Song Li, 宜明昂科生物医药技术（上海）股份有限公司

关键词: CD24, IMM47, CD24/Siglec-10 interaction, cancer immunotherapy

CD24 广泛表达于多种实体瘤，包括乳腺癌、非小细胞肺癌、结直肠癌、肝细胞癌、肾细胞癌和卵巢癌，被认为是这些癌症预后不良的重要标志物，也显示出了巨大的临床研究潜力。

2023 年 7 月 27 日，CDE 官网显示，宜明昂科的 CD24 单抗药物 IMM47 已申报临床并获受理。这是国内首个在华申报临床的 CD24 单抗药物。



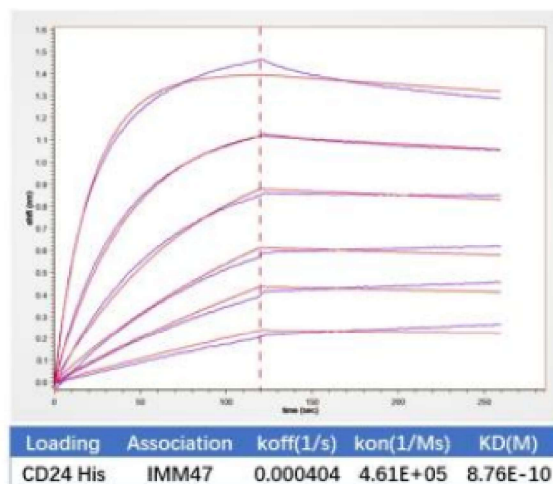
IMM47 是一款人源化 IgG1 CD24 单克隆抗体，IMM47 能够阻断从 CD24/Siglec-10 通路传递至巨噬细胞、自然杀伤细胞（NK）和 T 细胞的免疫抑制信号。CD24-siglec-10 信号在调节巨噬细胞介导的肿瘤免疫方面也发挥重要作用，其可产生一种“别吃我”信号，介导癌细胞对巨噬细胞的免疫逃逸，而阻断 CD24-siglec-10 信号可抑制“别吃我”信号，从而起到肿瘤清除的作用。

体外实验结果表明，IMM47 能够和不同肿瘤细胞表面的 CD24 分子高度特异性结合。同时 IMM47 具有强大的 ADCC、ADCP 及 ADCT 等肿瘤生长抑制活性。临床前动物体内实验研究表明，IMM47 单药或者与免疫检查点药物联用均体现了强大的抗肿瘤疗效。

BLI 实验思路：

文章中 Gator® 所采用的 BLI 技术操作简便、检测迅速。

IMM47 的研究过程中，利用 Gator® 探针先固化 CD24-his 蛋白，再与 IMM47 抗体结合，最后检测出两者之间的亲和力为 0.876 nM。



参考文献

Li S, et al. IMM47, a humanized monoclonal antibody that targets CD24, exhibits exceptional anti-tumor efficacy by blocking the CD24/Siglec-10 interaction and can be used as monotherapy or in combination with anti-PD1 antibodies for cancer immunotherapy. *Antibody Therapeutics*. 2023; 6(4):240-252.

02 病毒及感染研究

2.1 新冠病毒：免疫逃逸

Nature Microbiology

SARS-CoV-2 Delta and Omicron variants evade population antibody response by mutations in a single spike epitope

熊晓犁等，中国科学院广州生物医药与健康研究所

关键词：SARS-CoV-2，广泛中和抗体，免疫逃逸

对于新冠病毒，由于自然感染和疫苗接种诱导的免疫压力，出现了许多 SARS-CoV-2 变体，其突变位点主要存在于刺突蛋白 RBD 区域，其功能是逃避抗体中和。该文章主要阐明了新冠突变株逃逸人群抗体的机制，这对下一代疫苗及抗体药物的设计与开发具有重要意义。

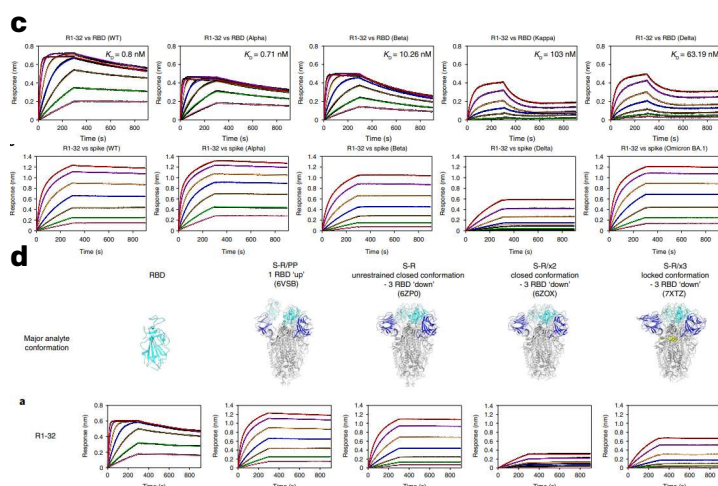
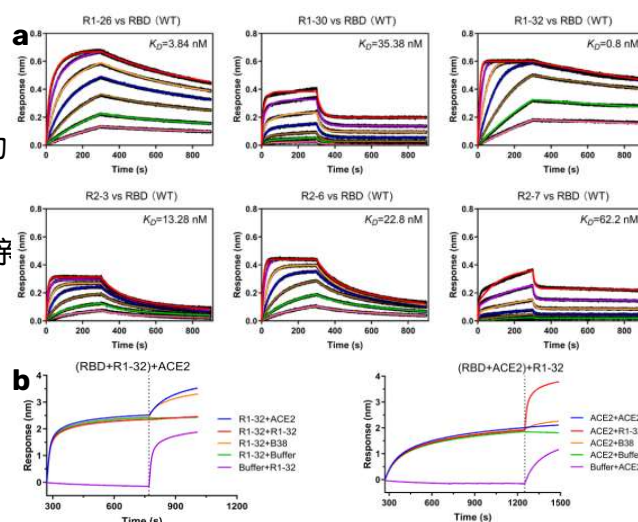
该研究运用冷冻电镜和 BLI 方法等多种技术手段，发现一株靶向 RBD 半隐藏表位并具有高亲和力的人源中和抗体 R1-32。其表位特征较为特殊，主要通过破坏刺突蛋白结构使其无法介导膜融合功能，来抑制病毒进入细胞从而发挥其中和效果。抗体组库分析结果显示由 IGHV1-69 编码的类 R1-32 抗体在新冠感染人群中被广泛诱导。该研究提供了证据显示类 R1-32 抗体谱系特异性靶向 L452 位点可能是促使 Delta 和 Omicron (BA.4/BA.5) 在该位点发生突变的重要原因之一。

该研究中有大量实验结果运用到 BLI 技术：

1) 首先研究人员从 SARS-CoV-2 早期感染者外周血 B 细胞中筛选获得的一株靶向 RBD、非 ACE2 竞争的高亲和力 ($K_D=0.8$ nM) 中和抗体 R1-32 (图 a-b)。

2) 接着亲和实验还发现，R1-32 对野生型 SARS-CoV-2 和 Alpha、Beta、Omicron BA.1 突变株的 RBD 具有强的亲和力 (≤ 10 nM)，而对 Kappa、Delta、Lambda 变体的 RBD 的亲和力则大幅减少 (> 60 nM) (图 c)。

3) 然后为了进一步研究 R1-32 的中和机制，还通过 BLI 技术测试了 R1-32 与不同构象的 RBD/S 蛋白的结合，以及 R1-32 与不同突变位点的 RBD 结合 (图 d)。



BLI 实验思路：

1) 动力学实验：使用 Protein A 生物传感器固化抗体，再与不同结构的 RBD 或 S 蛋白进行结合解离，获得详细的亲和力等动力学参数。

2) 表位竞争实验：使用 Anti-His 生物传感器先固化重组 RBD-his 的蛋白，再结合第一配体（抗体/ACE2）至饱和，最后结合第二配体。

参考文献

Ping He1, et al. SARS-CoV-2 Delta and Omicron variants evade population antibody response by mutations in a single spike epitope. Nature Microbiology, 2022, 7, 1635–1649.

02 病毒及感染研究

2.2 星状病毒

nature microbiology

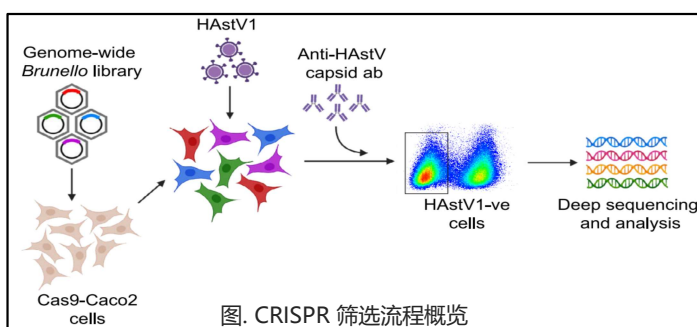
The neonatal Fc receptor is a cellular receptor for human astrovirus

Megan T. Baldrige 等, 华盛顿医学院

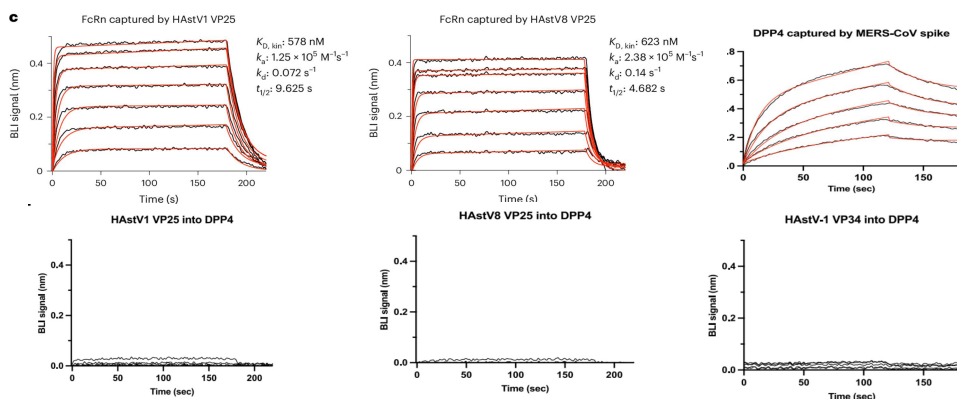
关键词: 人类星状病毒, 新生儿 Fc 受体 (FcRn), 二肽基肽酶 IV (DPP4)

人类星状病毒 (Human astroviruses, HAsVs) 是一类小型、无包膜的单链RNA病毒, 属于星状病毒科。该病毒是引起婴幼儿、老年人及免疫功能低下者急性病毒性肠炎的重要病原之一。尽管 HAsVs 具有重要的临床特征和高流行率, 但其感染宿主机制尚不清楚, 这导致疫苗和抗病毒药物的研发面临较大困难。

该研究利用基于 CRISPR-Cas9 的互补基因敲除和激活筛选技术, 鉴定出新生儿 Fc 受体 (FcRn) 和二肽基肽酶 IV (DPP4) 是 HAsV 体外感染宿主的相关因子。破坏 FcRn 或 DPP4 会减少 HAsV 在易感细胞中的感染, 相反, 在非易感细胞中过表达这些因子足以促进感染。研究结果显示 FcRn 与 HAsV 病毒颗粒及纯化的刺突蛋白直接结合, 但 DPP4 未观察到类似现象。这表明 FcRn 是 HAsVs 的受体, 而 DPP4 是进入的辅助因子。目前临床使用的 DPP4 和 FcRn 抑制剂在细胞系和人肠道类器官中显著抑制了 HAsV 感染。该研究揭示了 HAsV 感染宿主的机制, 为开发抗病毒药物和疫苗提供了潜在靶点。



该研究中利用 Gator BLI 证明 FcRn 可直接结合 HAsV1 刺突蛋白 VP25 (K_D 值为 578 nM) 和 HAsV2 VP25 (K_D 值为 623 nM); 而 DPP4 无法与该两个刺突蛋白结合, 也不能与 HAsV1 VP34 衣壳蛋白结合, 推测 DPP4 的可溶性胞外结构域在 C 端带有标签的表达可能会影响其结构和功能, 或者其需要辅助因子共同作用。



BLI 实验思路:
(1) SA 传感器固化 biotin-HAsV1 或 biotin-HAsV2 VP25, 结合不同浓度的 FcRn 或 DPP4。
(2) Anti-His 固化 his-MERS-CoV spike 蛋白或 VP34 蛋白, 结合 DPP4。

参考文献

Harshad Ingle, et al. The neonatal Fc receptor is a cellular receptor for human astrovirus. nature microbiology. 2024.

02 病毒及感染研究

2.3 流感病毒

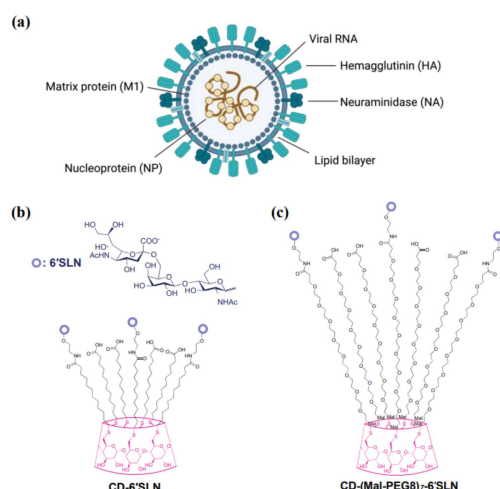
Pharmaceutics

Antiviral Mechanism of Virucidal Sialic Acid Modified Cyclodextrin

Francesco Stellacci 等, 瑞士洛桑联邦理工学院
关键词: 甲型 H1N1 流感病毒, 抗病毒大分子化合物

流感感染影响全球高达 20-30% 的儿童人口和 10% 的成年人口, 每年约造成 29 万至 65 万人死亡, 给全球健康和经济带来严重负担。虽然奥司他韦、扎那米韦和帕拉米韦等抗流感药物已被批准用于临床, 但这些药物的有效性在很大程度上取决于给药时间, 通常需要在症状出现后 48 小时内使用。此外, 由于流感病毒的高突变率, 这些药物面临着耐药性的挑战。因此, 开发具有更长有效治疗时间窗口和更高抗突变性的新型流感抗病毒药物至关重要。

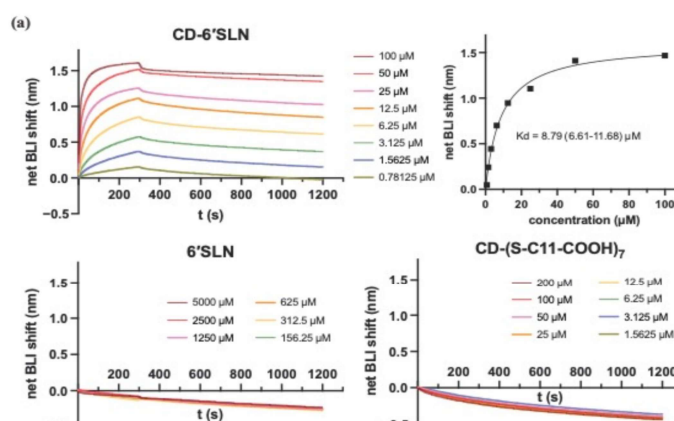
在该研究中, 通过生物膜干涉技术 (BLI) 和酶抑制测定法确定了 CD-6'SLN 靶蛋白是 HA 而不是 NA。最后通过 RNA 暴露和荧光追踪测定等方法检测发现 CD-6'SLN 在与 HA 特异性结合后破坏了病毒包膜的结构, 而基质蛋白层和核蛋白封装保持完整, 使 RNA 无法被酶接近, 即以细胞外机制实现病毒的不可逆抑制。这种基于病毒蛋白和包膜的双重作用的化合物药物, 在未来也可能对新兴流感病毒株有效。



流感病毒粒子由病毒包膜和核糖核蛋白复合物组成 (图 a)。外层包膜是脂质双层, 囊膜上有许多突起糖蛋白 HA 和神经氨酸酶 (NA) 等, 它们分别对介导病毒附着和基因释放至关重要。CD-6'SLN 是一种以 β -环糊精为核心制成的抗病毒大分子化合物 (图 b)。

BLI 实验思路:

使用 Gator[®] 系统可以非常方便地进行分子间相互作用的检测, 文中测定 CD-6'SLN 和 HA 结合亲和力流程: Anti-His 生物传感器先固化重组 H1N1 血凝素蛋白 (HA with His-Tag), 然后结合抗流感药物 CD-6'SLN、单独化合物 6'SLN、CD-(S-C11-COOH), 得到具体的结合解离过程。测定 CD-6'SLN 和 HA 的结合亲和力为 8.79 μM , HA 与 6'SLN、CD-(S-C11-COOH) 无结合。



参考文献

Yong Zhu, Andrey A. Sysoev, et al. Antiviral Mechanism of Virucidal Sialic Acid Modified Cyclodextrin. Pharmaceutics, 2023.

02 病毒及感染研究

2.4 博卡病毒

World Journal of Pediatrics

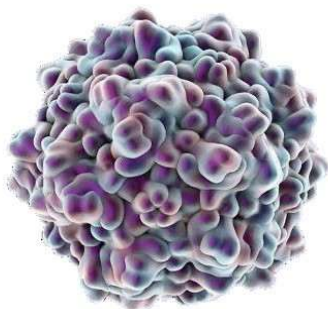
Human bocavirus 1 and 2 genotype-specific antibodies for rapid antigen testing in pediatric patients with acute respiratory infections

Lin-Qing Zhao 等, 军事医学研究院

关键词: 人博卡病毒, 急性呼吸道感染抗原检测

2005 年, 瑞典学者 Allander 等从急性呼吸道感染患儿的鼻咽分泌物中分离得到一种新型细小病毒—人类博卡病毒 (human bocavirus, HBoV), 后命名为 HBoV-1; 2009-2010 年, 研究人员又相继在人粪便样本中发现了 HBoV 2-4。人博卡病毒属于细小病毒科、细小病毒亚科、博卡病毒属, 是一种无包膜的单链线性 DNA 病毒。目前为止发现 4 个基因型 HBoV 1-4。

在该研究中找到了针对 HBoV1 和 HBoV2 基因型特异性抗体, 可用于急性呼吸道感染儿科患者的快速抗原检测。血清学研究在此前已经使用重组 HBoV1 衣壳蛋白作为抗原进行急性呼吸道感染 (ARTI) 的诊断, 但由于缺乏特异性抗体, 并不能排除与其他三种 HBoV 的衣壳蛋白 (特别是 HBoV2) 的交叉反应。



研究人员通过氨基酸比对和结构预测确定了位于衣壳蛋白 VP3 上的分歧区 (DR)。以 DR 推导的肽做为抗原, 获得相应的抗 DR 兔血清。为了确定它们对 HBoV1 和 HBoV2 的基因型特异性, 在蛋白质印迹 (WB)、酶联免疫吸附测定 (ELISA) 和生物膜干涉 (BLI) 测定中, 证实了 VP3 上有四个 DR (DR1-4), BLI 和 IFA 实验证实了抗-DR2 血清的抗体具有基因型特异性结合能力, 其中只有抗 HBoV1 的 DR2 抗体和 HBoV1 阳性的样本反应。最终获得结论: 抗 DR2 抗体的结合区域位于 HBoV1 或 HBoV2 的 VP3 上, 分别对 HBoV1 和 HBoV2 具有基因型特异性。因此, 抗-HBoV1 和抗-HBoV2 DR2 抗体可用于儿童临床样本的快速抗原检测和血清学研究中的基因型特异性抗体检测, 特别是在 ARTI 患者中。

BLI 实验思路:

BLI 技术在检测中发挥了极其重要的作用, 通过将带有 His-标签的 VP3 固化到 Anti-His 生物传感器上, 再直接和兔抗血清中提取的多抗相结合, 根据 BLI 的测定, 可获得十分直观的检测结果: 抗 HBoV1 DR2 抗体结合 HBoV1 VP3 的亲和力约为 8.78 nM, 而抗 HBoV2 DR2 抗体对 HBoV1 VP3 显示无结合; 类似地, 抗 HBoV2 DR2 抗体结合 HBoV2 VP3 的亲和力约为 11.4 nM, 而抗 HBoV1 DR2 抗体对 HBoV2 VP3 无结合。

Binding Pair	Kon (1/Ms)	Koff (1/s)	KD (M)
HBoV1 VP3: anti HBoV1 DR2	7.64 E+04	6.71 E-04	8.78 E-09
HBoV1 VP3: anti-HBoV2 DR2	NA	NA	NA
HBoV2 VP3: anti-HBoV2 VP3	7.11 E+04	8.08 E-04	1.14 E-08
HBoV2 VP3: anti HBoV1 DR2	NA	NA	NA

参考文献

Ri De, Yan-Peng Xu, et al. Human bocavirus 1 and 2 genotype-specific antibodies for rapid antigen testing in pediatric patients with acute respiratory infections. World Journal of Pediatrics, 2023.

02 病毒及感染研究

2.5 刚果出血热病毒

Nature Communications

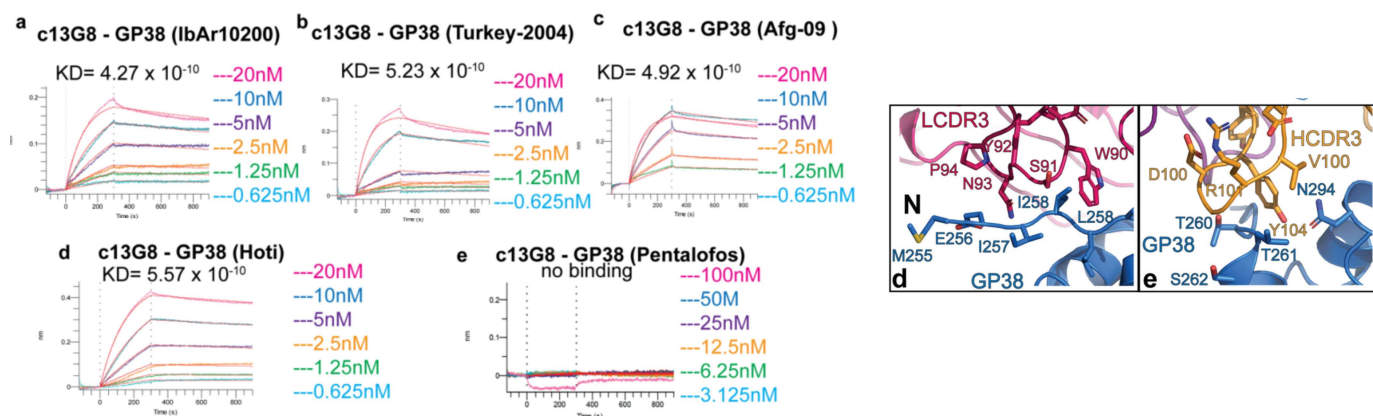
Structural characterization of protective non-neutralizing antibodies targeting Crimean-Congo hemorrhagic fever virus

Éric Bergeron 等, 乔治亚大学

关键词: 刚果出血热病毒, 非中和性抗体

克里米亚-刚果出血热 (CCHFV) 是布尼亚病毒科家族的蜱传病毒 (内罗病毒属) 所导致的一种广泛传播的疾病。克里米亚-刚果出血热病毒会导致严重的病毒性出血热疫情, 病死率为 10-40%。非中和性抗体 13G8 能靶向结合 CCHFV GP38 糖蛋白, 可降低感染小鼠死亡率。该课题研究了人源化的 13G8 和从人类宿主新分离的 CC5-17 单抗与 GP38 结合后结构变化, 并发现该两种抗体结合 GP38 的表位有重合。此外, 为研究该两种抗体的广谱作用, 检测与 Aigai 病毒的作用, 结合实验发现 Aigai 病毒非保守的氨基酸序列会导致 CCHFV 相关抗体无法结合 Aigai GP38 蛋白, 因此难抑制 Aigai 病毒的感染。该研究结果有助于 CCHFV 的单抗药物研发。

研究利用 Gator® 系统确定了 13G8 能与 CCHFV 多种病毒株的 GP38 有 nM 级别亲和力, 而与 Aigai 病毒无明显结合。结构学研究发现 13G8 的 LCDR3 结构域能稳定 Hoti-GP38 N 末端尾部, HCDR3 与 GP38 α -螺旋 2 结合, 插入 GP38 的疏水结构中。



BLI: mAb c13G8 - CCHFV GP38

GP38 Strain	K _a (1/Ms)	K _d (1/s)	KD (M)
Hoti	3.3×10^5	1.4×10^{-4}	4.2×10^{-10}
Turkey-2004	6.9×10^5	3.8×10^{-4}	5.6×10^{-10}
IbAr 10200	4.6×10^5	2.4×10^{-4}	5.2×10^{-10}
Afg09	5.7×10^5	2.8×10^{-4}	4.9×10^{-10}
Aigai Virus*	no binding	no binding	no binding

*Aigai strain Pentalofos

BLI 实验思路:

使用 Protein A 传感器先固化抗体, 再结合不同病毒株的 GP38 蛋白。

参考文献

Ian A. Durie, Zahra R. Tehrani, et al. Structural characterization of protective non-neutralizing antibodies targeting Crimean-Congo hemorrhagic fever virus. Nature Communications, 2022 Nov 26.

02 病毒及感染研究

2.6 东方马脑炎病毒

Cell

Structural and functional basis of VLDLR usage by Eastern equine encephalitis virus

Michael S. Diamond 等，美国华盛顿大学医学院

关键词：东方马脑炎病毒（EEEV），极低密度脂蛋白受体（VLDLR），VLP

东方马脑炎病毒（Eastern equine encephalitis virus, EEEV）为正义单链 RNA 病毒，传播媒介为蚊子。虽然人类感染该病毒的情况很少见——每年在世界范围内报告的病例很少，但大约三分之一的感染者死亡，许多幸存者遭受持久的神经问题。目前，还没有获得批准的针对该病毒的疫苗或治疗该病毒的特定药物。

在该研究中揭示了东部马脑炎病毒（EEEV）使用极低密度脂蛋白受体（very low density lipoprotein receptor, VLDLR）的结构和功能基础，并且设计出一种诱饵分子，这种分子可以保护小鼠免受潜在的 EEEV 致命脑部感染。

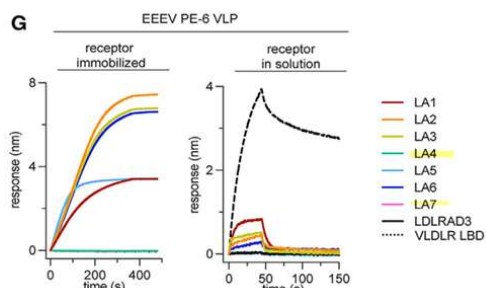


图 1. Gator® 检测 EEEV PE-6 VLP 与 VLDLR 单个 LA 结构域的结合

BLI 实验思路：

利用 Gator®，两种方法检测 EEEV-VLP 与 VLDLR 受体各结构域的相互作用，第一种是使用 anti-human IgG Fc 探针固化 LA-hFc，结合 EEEV-VLP（如图 1 左）；为了避免 avidity 效应，第二种方法先用 anti-mouse IgG Fc 探针固化 EEEV-VLP，结合 LA-hFc（如图 1 右）。

文中研究了这种病毒是如何附着在它的一个关键受体：一种叫做 VLDLR 的分子上，这种分子存在于大脑和身体其他部位的细胞表面。利用 Gator® 检测得到，就 EEEV 而言，病毒表面蛋白上的两三个不同位点能够结合 VLDLR 分子的八个结构域中五个结构域（VLDLR-LA1,2,3,5,6）的任何一个上（如图 1 左），无法结合 VLDLR-LA4 or VLDLR-LA7。同时为了避免有 avidity 亲合效应，还进行反向固化和结合（如图 1 右），双向验证得到该结果。

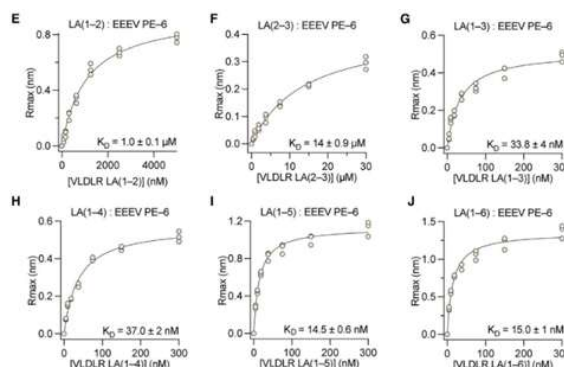


图 2. Gator® 检测 EEEV PE-6 VLP 与不同片段的亲和力

为了阻止附着，作者通过将这八个结构域中的一部分组合在一起，构建出一组诱饵受体（decoy receptor）。这样做的目的是让 EEEV 错误地与诱饵受体而不是细胞上的 VLDLR 结合，然后这种病毒附着的诱饵受体就能被免疫细胞清除。在设计诱饵时，发现单个 LA 结构域分子并没有发挥中和作用。于是后续设计了不同的结构域组合片段，再次利用 Gator® 的稳态分析得到 EEEV PE-6 VLP 与不同的片段结合亲和力（图 2）。

综合 BLI 结合实验以及病毒感染细胞结果，他们测试了三种诱饵的中和效价：一种已知无法中和病毒；一种是由全长分子构成的诱饵；一个是由前两个结构域组成的。所有接受生理盐水溶液、非中和诱饵或全长诱饵的小鼠在感染后 8 天内死亡。所有接受了由前两个结构域制成的诱饵的小鼠都存活了下来，没有任何疾病迹象。

参考文献

Lucas J. Adams, Saravanan Raju, et al. Structural and functional basis of VLDLR usage by Eastern equine encephalitis virus. Cell. 2024.

02 病毒及感染研究

2.7 甲病毒受体研究

Cell

Vertebrate-class-specific binding modes of the alphavirus receptor MXRA8

Michael S. Diamond 等，华盛顿大学

关键词：甲病毒，MXRA8

该研究首次系统阐明了甲病毒与不同脊椎类动物 MXRA8 受体特异性结合的模式，增强了人类对病毒如何进化以感染新宿主的认识。并设计了一种新的嵌合禽类-哺乳动物 MXRA8 的诱饵受体，为抗甲病毒药物和广谱抑制剂的开发提供了新思路。

甲病毒（alphavirus）是一类由蚊虫等节肢动物传播的有囊膜、单链、正义 RNA 的病毒，属于披膜病毒科（Togaviridae）。人类感染甲病毒后可能出现两种临床综合征：（1）急性脑炎和神经系统疾病：由委内瑞拉马脑炎（VEEV）、东部马脑炎（EEEV）和西部马脑炎（WEEV）病毒引起；（2）急性和慢性肌肉骨骼疾病和关节炎：由基孔肯雅病毒（CHIKV）、罗斯河病毒（RRV）、奥氏病毒（ONNV）、马亚罗病毒（MAYV）、塞姆利基森林病毒（SFV）和辛迪比斯病毒（SINV）引起。随着病毒不断进化，目前根据甲病毒 E1 和 E2 蛋白序列，可将以上甲病毒分成四类复合体（图 1）：（1）WEEV 复合体（蓝色）；（2）SFV 复合体（橙色）；（3）EEEV 复合体（紫色）；（4）VEEV 复合体（黄色）。细胞粘附分子 MXRA8（Matrix remodeling-associated protein 8）是哺乳动物、禽类等细胞表面一种保守的甲病毒受体。

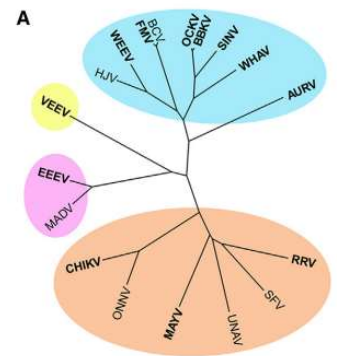


图 1. 基于甲病毒 E1 和 E2 蛋白序列的系统发育树

文章通过系统研究，得到主要结论：（1）禽类（非哺乳动物）MXRA8 是 WEE 复合体甲病毒的进入受体。（2）哺乳动物（非禽类）MXRA8 是 SFV 复合体甲病毒进入受体。（3）禽类和哺乳动物 MXRA8 以相反的方向结合不同的甲病毒。（4）新生成的鸭-小鼠 MXRA8 嵌合体可以抑制来自多个复合体的甲病毒。

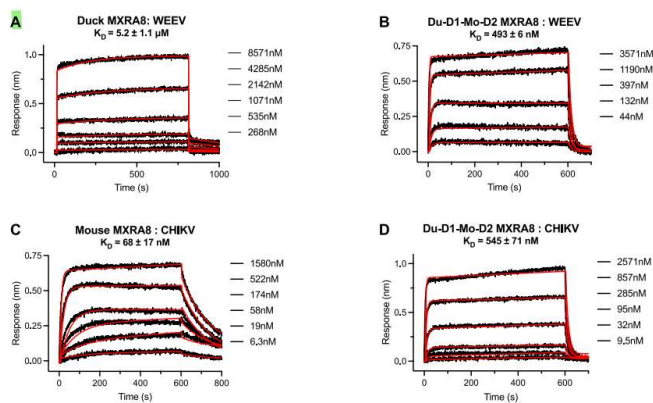


图 2. Gator® 检测受体蛋白和甲病毒 VLP 结合亲和力

文中为了确定设计出的鸭-小鼠 MXRA8 嵌合体在体外中和不同甲病毒的能力，作者生成并纯化了甲病毒的病毒样颗粒（VLP）。使用基于生物膜干涉（BLI）的 Gator® 分子互作分析系统检测 VLP 与受体蛋白的亲和力（图 2），发现：对于 WEEV VLP，Du-D1-Mo-D2 MXRA8 显示出比鸭 MXRA8 更高的亲和力（ K_D 分别为 493 ± 6 nM 和 5.2 ± 1.1 μ M）；对于 CHIKV VLP，小鼠 MXRA8 比 Du-D1-Mo-D2 MXRA8 的结合更强（ K_D 分别是 68 ± 17 nM 和 545 ± 71 nM）。即进一步从体外分子水平验证了鸭-小鼠 MXRA8 嵌合体的广谱受体功能，其能够同时结合 WEEV 和 CHIKV 甲病毒，并具有较高的亲和力。

BLI 实验思路：

Gator® 采用 BLI 技术可以非常方便地对病毒 VLP 与受体蛋白进行相互作用检测，只需将 MXRA8-Fc 融合蛋白固化到探针上，再将探针浸入不同浓度的 VLP 溶液中，即可获得直观的检测结果。

参考文献

Ofer Zimmerman, Michael S. Diamond, et al. Vertebrate-class-specific binding modes of the alphavirus receptor MXRA8. Cell. 2023.

03 疫苗研究

3.1 VLP 疫苗

Signal Transduction and Targeted Therapy

An RBD virus-like particle vaccine for SARS-CoV-2 induces cross-variant antibody responses in mice and macaques

Yuanyuan Li 等，派诺生物技术有限公司

关键词：VLP 纳米颗粒，疫苗，RBDM

VLP 纳米颗粒疫苗的优势主要在于其尺寸——纳米级大小可匹配大多数感染性病毒病原体，免疫原性接近天然病毒，利于激活免疫系统，可通过肌肉注射给药、鼻腔给药等方式操作。此外，VLP 纳米颗粒的空间结构独特，可突出展示多种抗原之间的“保守”表位，从而有效诱导广谱中和抗体。派诺生物开发的 LYB001 是国内唯一进入 3 期临床试验并达到商业化生产要求的 VLP 纳米颗粒新冠疫苗，而在该疫苗研发中 Gator® 也发挥了重要的作用。

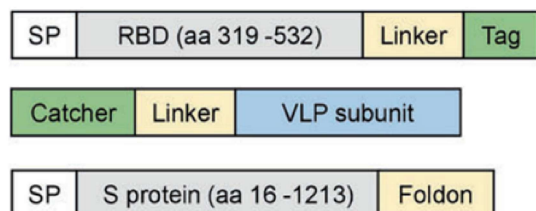


图 1. Schematic representation of the RBD, VLP subunit and S-trimer design.

在此研究中，研究人员设计了一种名为 RBDM 的 VLP 纳米颗粒疫苗（代号 LYB001），将野生型（WT）SARS-CoV-2 刺突糖蛋白（Spike (S) glycoprotein）的受体结合域（RBD）以阵列形式展示于 VLP 纳米颗粒上（如图 1）。研究人员利用专有的 Covalink® 蛋白结合技术实现了模块化的生产流程：RBD 蛋白和 VLP 载体分别在 CHO 细胞和大肠杆菌中高滴度表达（> 3 g/L），再分别经过独立的下游纯化工艺，两个纯化产物高效结合形成稳定的 RBD-VLP（RBDM）原液，最后吸附于氢氧化铝佐剂制备成为 LYB001 疫苗成品。

目前已上市的第一代新冠亚单位疫苗大多是基于“非颗粒”形态的 S 蛋白三聚体（S-Trimer）或 RBD 蛋白抗原设计。对比这些已上市产品，利用 Gator® 检测（如图 2）得到 RBDM 对人体 ACE2 受体极强的结合亲和力（ $K_D < 1 \times 10^{-12} \text{ M}$ ），证实了 VLP 纳米颗粒通过阵列展示可有效提升抗原生物活性。

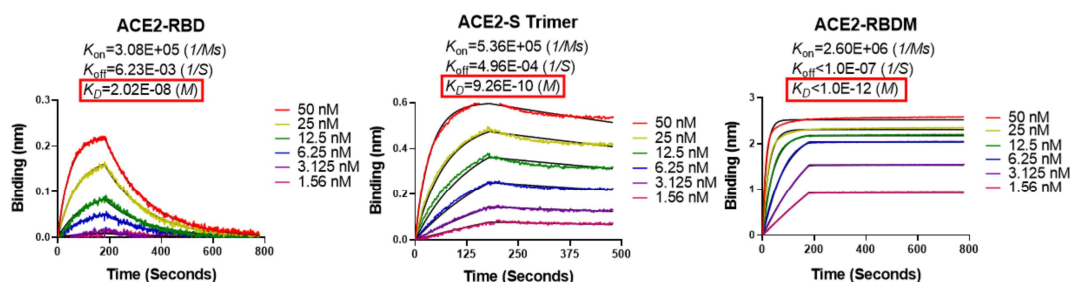


图 2. Bi-layer interferometry (BLI) kinetic assays of RBD monomer, S-Trimer and RBDM against ACE2 were performed.

BLI 实验思路：

研究采用 Gator® HFC II（Anti-Human IgG Fc Gen II）生物传感器固化带 Fc 片段的 ACE2，再分别结合 RBD、S Trimer、RBDM，快速得到不同分子对的动力学参数。HFC II 生物传感器相比 1 代 HFC 生物传感器拥有更优的再生性能，再生次数可达 20 次以上，20 次再生测试 CV 值小于 10%，大大节省了使用者的成本。

参考文献

Li Y, et al. An RBD virus-like particle vaccine for SARS-CoV-2 induces cross-variant antibody responses in mice and macaques. Signal Transduction and Targeted Therapy, 2023; 8(173).

03 疫苗研究

3.2 mRNA 疫苗

Nature
Communications

Evaluation of transplacental transfer of mRNA vaccine products and functional antibodies during pregnancy and infancy

Stephanie L. Gaw 等，加州大学旧金山分校

关键词：mRNA 疫苗，SARS-CoV-2，无标记替代中和试验（sVNT）

在先前的临床试验中，新冠肺炎 mRNA 疫苗可有效预防症状性 2019 冠状病毒病（Covid-19），其中包括 BNT162b2 和 mRNA-1273，但尚缺少这 2 个疫苗对孕妇的安全性和有效性评估，以及对新生儿的影响。因此文章通过研究 20 名在妊娠期接种疫苗的孕妇及其婴儿，评估 mRNA 疫苗产物（刺突蛋白）和功能性抗 SARS-CoV-2 抗体的经胎盘转移的情况。实验发现在孕妇分娩时，没有在母体血液、胎盘组织或脐带血中发现 mRNA 疫苗产物；通过基于 Gator® 系统的（LF-sVNT）方法检测得到，病毒诱导产生的 IgG 和中和抗体可通过胎盘转移至新生儿，并且该有效转移是呈时间依赖性的。后续通过噬菌体免疫沉淀测序，发现 SARS-CoV-2 刺突蛋白表位结合的疫苗特异性特征，该特征在妊娠期间经胎盘转移。因此，怀孕期间接种疫苗的时机对于确保婴儿早期保护性抗体经胎盘转移至关重要。

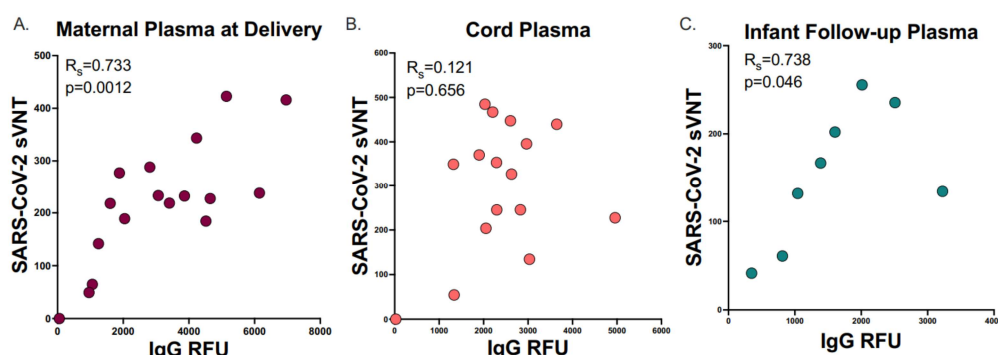
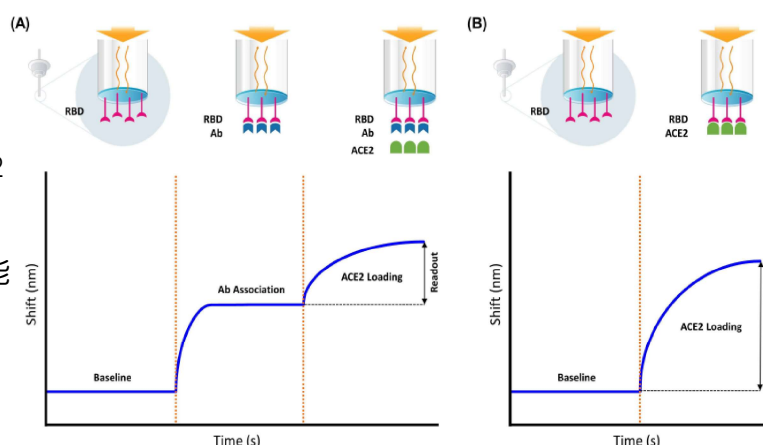
BLI 实验思路：

研究者使用 LF-sVNT 方法，评估了从孕妇到脐带血的胎盘转移中和抗体滴度，具体方法为：

* 抗体中和后 RBD 与 ACE2 的结合能力（R1）：RBD 生物传感器先结合血清中抗体，再与 ACE2 结合。RBD 在不中和情况下的完全结合能力（R0）：RBD 生物传感器直接结合 ACE2。

* 中和指数（中和后残留 RBD 与 ACE2 的结合能力）：R1/R0。

* 血清样品的中和抗体效价（IC50）：将中和指数与稀释度作图，并使用线性插值模型拟合点。将产生 50% 中和指数的稀释度的倒数定义为中和抗体效价。



图：LF-sVNT 方法检测孕妇、脐带血、新生儿中和抗体效价

参考文献

Mary Prah, et al. Evaluation of transplacental transfer of mRNA vaccine products and functional antibodies during pregnancy and infancy. Nature Communications, 2022, 13: 4422.

03 疫苗研究

3.3 粘膜疫苗

Cell Host & Microbe

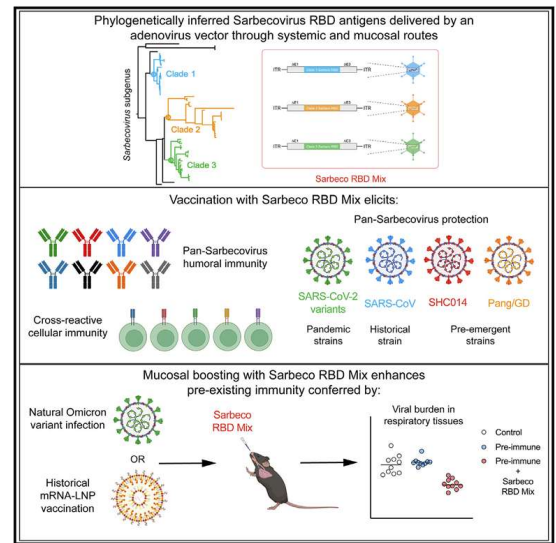
A trivalent mucosal vaccine encoding phylogenetically inferred ancestral RBD sequences confers pan-Sarbecovirus protection in mice

Michael S. Diamond 等，斯坦福大学

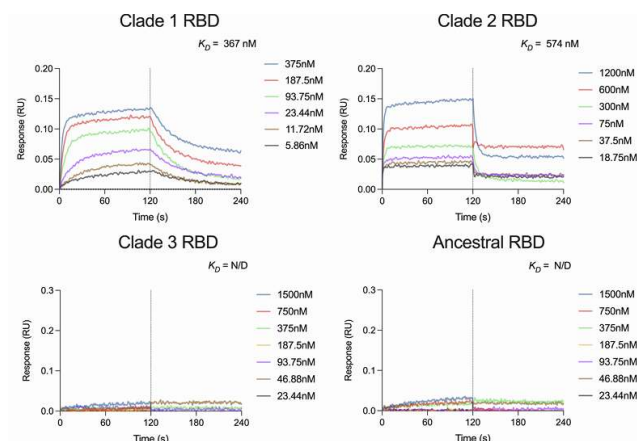
关键词：mRNA 疫苗，SARS-CoV-2，无标记替代中和试验（svNT）

Sarbecoviruses 是 Betacoronavirus 属内的一个亚属，包括 SARS-CoV 和 SARS-CoV-2，以及在蝙蝠和其他哺乳动物中传播的其他 CoV。为了对抗 SARS-CoV-2 变体和未来的CoV 人畜共患病，迫切需要设计出高效、广谱且能抵抗突变体免疫逃逸的疫苗。

在该研究中创新性地将系统发育学算法应用于疫苗设计，成功开发出首个基于 AI 预测的泛冠状病毒疫苗。研究团队通过分析 73 个 Sarbecovirus 序列，重建了三个主要进化分支的 RBD 祖先序列，并将其整合到 ChAd 腺病毒载体中构建三价疫苗。通过“肌肉注射初免+鼻内加强免疫”的创新策略，该疫苗在小鼠模型中展现出卓越的广谱保护效果，不仅能有效预防 SARS-CoV-2 多个变异株，还对包括 SARS-CoV 在内的多种 Sarbecovirus 显示出保护作用。另外首次发现该疫苗介导的保护主要依赖于 T 细胞反应，而非传统认知的中和抗体，其中 CD8+ T 细胞对上呼吸道的保护起关键作用，CD4+ T 细胞则主要负责肺部的保护。更进一步的，该疫苗可与既往感染或 mRNA 疫苗产生的免疫形成协同效应，展现出理想的加强针应用前景。这项研究不仅为应对当前和未来可能出现的冠状病毒提供了新的防控工具，更开创了将 AI 预测与进化生物学结合的疫苗设计新模式，具有重要的科学意义和临床转化价值。



文中使用 Gator BLI 评估了从 73 种 Sarbecovirus 刺突序列中设计出的三个主要 Sarbecovirus 进化支 1、2、3 RBD 序列，以及祖先 RBD 序列重组表达后结合 hACE2 的能力，其中虽然祖先和进化支 3 RBD 蛋白在溶液中与 hACE2 不结合，但进化支 1 和 2 的 RBD 蛋白保留了 hACE2 结合能力，尽管亲和力比 SARS-CoV (5 nM) 和 SARS-CoV-2 报道的亲和力低 73 倍和 478 倍 (1.2 nM)。



BLI 实验思路：

Gator® BLI 检测各种 Sarbecovirus 进化支 RBD 蛋白与 hACE2 的结合能力：使用 Protein A 探针先固化 hACE2-Fc，再结合 RBD，得到 ACE2 与 RBD 结合动力学。

参考文献

Michael S. Diamond, et al. A trivalent mucosal vaccine encoding phylogenetically inferred ancestral RBD sequences confers pan-Sarbecovirus protection in mice. Cell Host & Microbe, 2024.

03 疫苗研究

3.4 重组蛋白疫苗

NPJ Vaccines

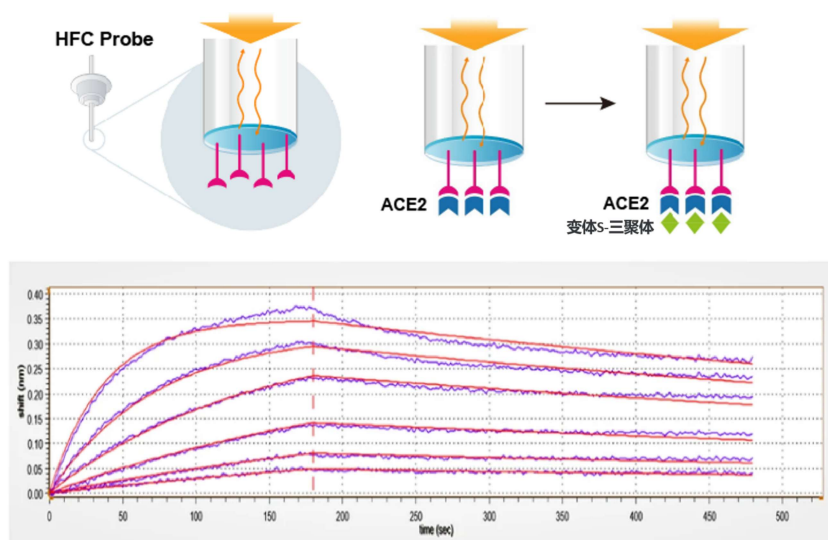
A potent, broadly protective vaccine against SARS-CoV-2 variants of concern

Ziyan Wang 等, 上海泽润生物科技有限公司

关键词: SARS-CoV-2 variants, broadly protective vaccine, S-6P

自 2019 年 12 月首次爆发以来, SARS-CoV-2 一直在不断发展, 世界卫生组织 (WHO) 将五种变异株归类为需要关注变异株 (VOC), 分别表示为阿尔法 (B.1.1.7)、贝塔 (B.1.351)、伽马 (P.1)、德尔塔 (B.1.617.2) 和奥密克戎 (B.1.1.529), 其传播性和免疫逃逸能力增强, 现有疫苗中和效力下降, 亟需开发广谱保护性疫苗。上海泽润生物科技有限公司的 Ziyan Wang 等人研究开发了一种针对 SARS-CoV-2 的强效、广谱保护疫苗。

研究人员利用与原型疫苗相同的技术平台和佐剂系统, 设计并生产了针对 SARS-CoV-2 的疫苗。该疫苗抗原包含了四个热点位点的替换, 即 K417N、E484K、N501Y 和 D614G, 基于 SARS-CoV-2 的前融合稳定的蛋白三聚体 (S-6P), 并采用了氢氧化铝/CpG 7909 双佐剂系统进行配方。免疫原性研究结果显示, 该疫苗引发了针对 SARS-CoV-2 原型 (武汉株) 和 5 个关注变异株的强效交叉中和抗体反应。此外, 它还刺激了 TH1 (T 辅助型 1) 细胞因子谱和大量 CD4⁺T 细胞反应, 在 BALB/c 小鼠和恒河猴中记录到了显著的免疫反应。该疫苗候选品的保护效力在仓鼠和恒河猴 SARS-CoV-2 模型中进行了评估。在被 Beta 或 Delta 株挑战的叙利亚仓鼠中, 疫苗候选品降低了鼻骨和肺组织中的病毒载量, 并伴随着明显的体重增加和肺部炎症缓解。在被原型 SARS-CoV-2 挑战的恒河猴中, 疫苗候选品随时间减少了喉部、肛门、血液拭子的病毒排泄, 降低了支气管和肺组织的病毒载量, 并有效缓解了肺部病理性炎症反应。这些数据突显了这种疫苗的广泛中和活性和保护能力, 有望进一步进行临床开发。



BLI 实验思路:

使用 HFC (Anti-Human IgG Fc) 探针, 先固化人 ACE2, 再结合变体 S-三聚体, 得到结合动力学及动力学参数。

参考文献

Wang Z, et al. A potent, broadly protective vaccine against SARS-CoV-2 variants of concern. NPJ Vaccines. 2022.

04 AI 辅助设计

4.1 AI 设计蛋白

Nature

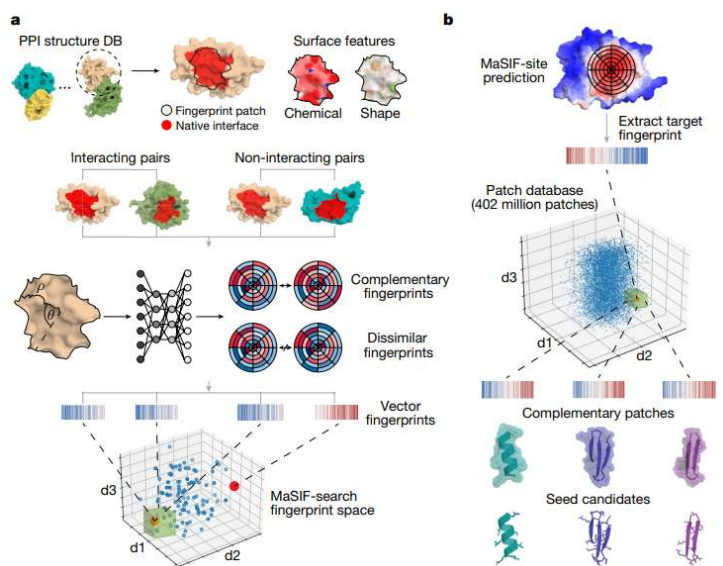
De novo design of protein interactions with learned surface fingerprints

Bruno E. Correia 等，洛桑理工学院、牛津大学、中国科学院微生物研究所

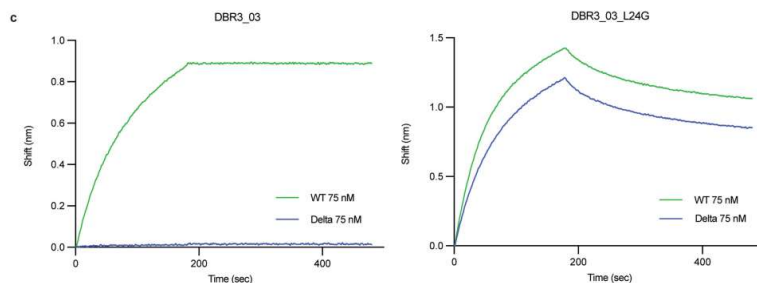
关键词：AI 从头设计蛋白，蛋白-蛋白相互作用（PPI）

在该研究中通过 AI 从头设计蛋白-蛋白间相互作用，直接生成蛋白药物。该团队之前提出了一种基于蛋白质表面互作指纹（MaSIF, Molecular Surface Interaction Fingerprinting）的方法，将蛋白质表面模式转化为数字阵列，用于识别倾向于形成蛋白-蛋白相互作用（PPI）的区域，以及与特定靶点互补的表面。

研究中利用 MaSIF 技术创造了与生物学相关靶标结合的新蛋白质。方法是首先识别蛋白质中的靶点，然后从大型蛋白质表面数据库中识别互补表面。研究人员首先使用公共数据库中可用的蛋白质结构，建立了小蛋白质片段（seed）数据库。使用 MaSIF-site 分析受体蛋白的表面，找到可能被结合的表面区域。通过 MaSIF-seed 基于这些结合热点区域的指纹信息，与数据库中的指纹信息进行匹配，搜索出可能存在互补作用的 seed。然后将这些 seed 作为与目标位点互补区域的基础，使用计算设计将其纳入更大的蛋白质单元中。



在此篇文章中，针对 SARS-CoV-2 S 蛋白研究者利用 MaSIF 的方法经过多轮 binder 优化和筛选，最终选择了亲和力较好的 DBR3_03 binder。分子互作实验表明：融合蛋白 Fc-DBR3_03 可以与多种 SARS-CoV-2 S 蛋白突变体结合，但具有 L452R/Q 突变的突变体除外，因此不能与 Delta 突变株结合。在后续引入单点突变（L24G）后，缓解了 L452R 和 binder 之间的位阻，突变后的 DBR3_03_L24G 可与 Delta 突变株结合。



BLI 实验思路：

Gator® 所采用的 BLI 技术可以非常方便地对 Fc-DBR3_03 与不同突变体的 RBD 进行相互作用检测。将 Fc-DBR3_03 固化到生物传感器上，再将生物传感器浸入不同突变体的 S 蛋白溶液中即可获得直观的检测结果。

参考文献

Michael Bronstein, Bruno E. Correia. De novo design of protein interactions with learned surface fingerprints. Nature, 2023 April 26.

04 AI 辅助设计

4.2 靶向新表面蛋白设计

Nature

Targeting protein–ligand neosurfaces with a generalizable deep learning tool

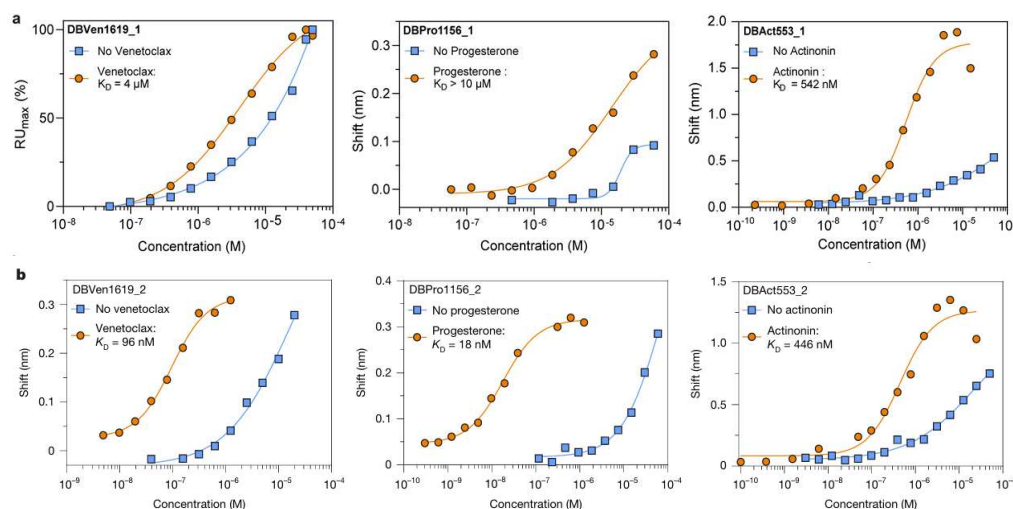
Bruno E. Correia 等, 瑞士洛桑联邦理工学院

关键词: AI 从头设计蛋白, 蛋白-蛋白相互作用 (PPI)

在生命的微观世界中, 蛋白-蛋白相互作用 (PPIs) 是驱动细胞稳态和疾病发生的关键机制。近年来, 科学家们发现小分子可以通过调控 PPIs, 为生物系统提供更高层次的调控机制。然而设计能够精准靶向这些相互作用的计算工具, 一直是领域内的重大挑战。

该研究提出了一种基于几何深度学习的计算策略 – MaSiF (分子表面相互作用指纹识别), 成功解决了这一难题。MaSiF 通过学习蛋白表面的几何和化学特征, 生成“表面指纹”, 并设计出能够靶向 neosurfaces (由蛋白-配体复合物形成的新表面) 的高亲和力蛋白。通过这种 MaSiF-neosurf 框架, 研究人员将小分子药物纳入蛋白表面, 能够预测基于蛋白-小分子新表面指纹的结合蛋白。该框架在 Bcl2-venetoclax、DB3-孕酮和 PDF1-actinonin 三个药物结合的蛋白复合物上进行了实验验证, 设计出的结合蛋白表现出高亲和力和特异性, 并在生物体系中利用这些蛋白对实现了从控制基因表达操纵 CAR-T 细胞活性等多种功能。这一突破为开发出更智能的细胞疗法, 精确调控细胞行为, 甚至构建全新的合成生物学通路开辟了新的可能性。

文中使用 Gator 新一代 BLI 对设计出的蛋白进行了动力学表征和结合位点的验证。(1) 初设计一代蛋白结合亲和力表征: 三种计算机设计生成的蛋白对三个“小分子药物-蛋白”显示出从中纳摩尔到低微摩尔的亲和力, 其中 DBAct553_1 为 542 nM, DBVen1619_1 和 DBPro1156_1 分别显示出 4 μ M 和大于 10 μ M 的亲和力。而对不存在小分子情况下的蛋白结合较弱。(2) 二代蛋白优化突变后结合亲和力验证, 快速锁定关键氨基酸位点: 对三个设计蛋白进行位点突变后, 结合“小分子药物-蛋白”的亲和力显著增强, DBAct553_2 为 96 nM (提高 42 倍), DBVen1619_2 和 DBPro1156_2 分别显示出 18 nM (提高近 3 个数量级) 和大于 446 nM 的亲和力。



BLI 实验思路:
使用 Protein A 探针固化 Fc-设计蛋白, 再分别结合不同浓度的“小分子药物-蛋白复合物”或单独蛋白, 根据稳态结合信号使用非线性四参数曲线拟合分析得到亲和力 K_D 数值。

参考文献

Bruno E. Correia, et al. Targeting protein–ligand neosurfaces with a generalizable deep learning tool. Nature, 2025.

04 AI 辅助设计

4.3 AI 辅助药物设计

Computers in

Biology and Medicine

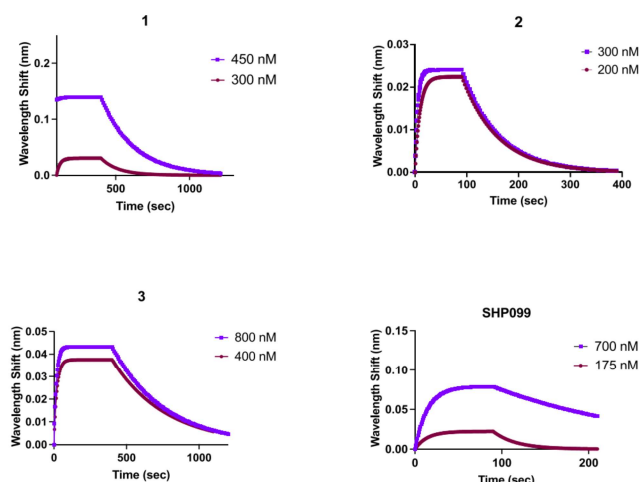
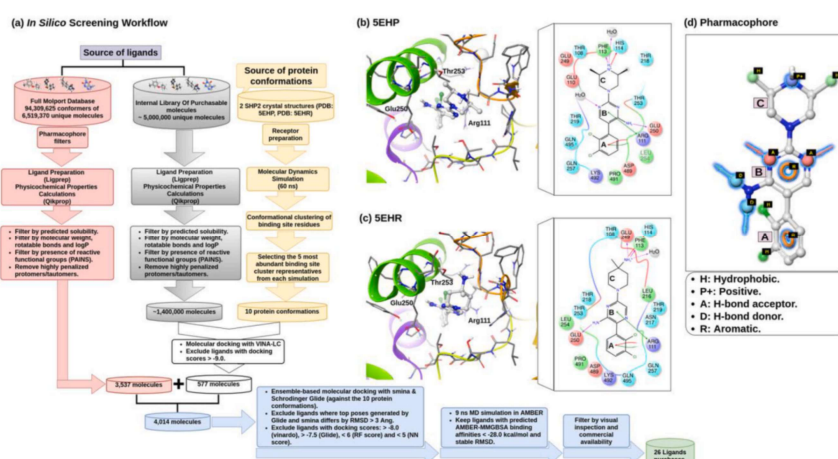
Discovery of allosteric SHP2 inhibitors through ensemble-based consensus molecular docking, endpoint and absolute binding free energy calculations

Khaled H. Barakat 等, 阿尔伯塔大学

关键词: SHP2, 变构抑制剂

SHP2 是一种多结构域的酪氨酸磷酸酶, 在细胞增值与分化中发挥重要作用。SHP2 的失调与多种发育疾病和胃癌、白血病、乳腺癌等多种癌症有关, 使 SHP2 成为非常有潜力的肿瘤治疗靶点。最初研究人员尝试开发 SHP2 催化位点抑制剂, 但因为同家族中磷酸酶活性结构域高度保守, 使催化位点抑制剂在高同源性的 SHP1、SHP2、PTP1B 中缺乏选择性。相比于催化位点抑制剂, 变构抑制剂具有更好的选择性和成药性, 成为 SHP2 抑制剂的新研究方向。

通过分析已报导的 SHP2 蛋白与变构抑制剂三维结构, 研究人员发现变构抑制剂结合在 N-SH2, C-SH2 和 PTP 结构域共同形成的“隧道型”口袋中。综合药效团筛选、结合自由能计算、集成和一致性分子对接等策略, 研究人员使用计算机虚拟筛选了 7 百万种化合物, 最终获得了 26 个苗头化合物 (Hits)。通过 TSA (Thermal Shift Assay) 实验发现加入其中 3 种化合物: Molport-005-593-606 (#1), Molport-005-718-898 (#2), Molport-003-051-027 (#3) 后能够提高 SHP2 蛋白的热稳定性, 预示这 3 种化合物能够结合 SHP2 蛋白。



BLI 实验思路:

研究人员利用基于 BLI 原理的 Gator®, 进一步验证了化合物与蛋白的结合: 使用针对小分子化合物结合实验优化的 SMAP 生物传感器 (Small Molecule Analysis Probe)。SMAP 生物传感器具有更高蛋白载量, 能够提供更高的结合信号和灵敏度。SMAP 生物传感器首先浸入到生物素化 SHP2 蛋白中完成固化, 再检测与不同浓度候选化合物结合和解离的过程。小分子结合往往是快结合快解离过程, 因此可以使用一根生物传感器完成多个浓度的测试。

参考文献

Maryam Jama, Khaled H. Barakat. Discovery of allosteric SHP2 inhibitors through ensemble-based consensus molecular docking, endpoint and absolute binding free energy calculations. Computers in Biology and Medicine, 2022.

04 AI 辅助设计

4.4 融合蛋白机制研究

Nature Communications

A general computational design strategy for stabilizing viral class I fusion proteins

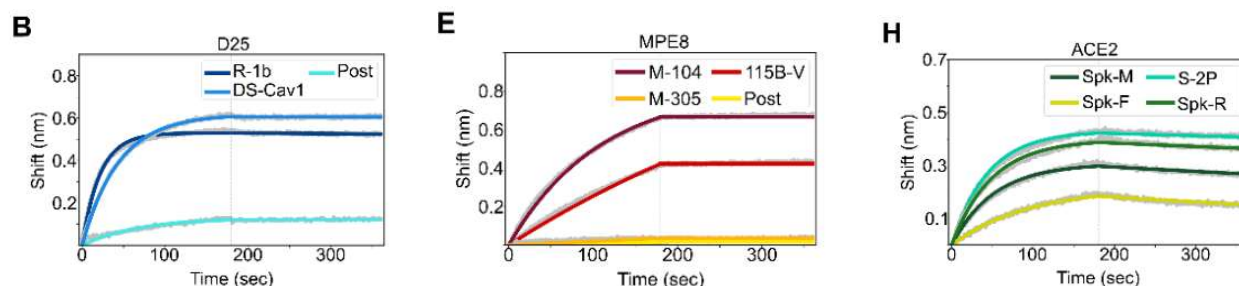
Karen J. Gonzalez 等, 佐治亚大学

关键词: 计算机辅助设计, I 型融合蛋白, 构象抑制药物

在该研究中通过新型计算机辅助设计方法获得了可以稳定在融合前状态的 I 型融合蛋白突变体。I 型融合蛋白介导了病毒和宿主细胞膜的融合, 在病毒侵入宿主细胞过程中发挥重要作用。在膜融合过程中, I 型融合蛋白会经历不可逆的构象变化, 从亚稳态的融合前状态转变为更稳定的融合后状态。因此, 抑制 I 型融合蛋白的构象变化成为一种潜在的抗病毒策略。开发构象抑制药物 (抗体) 首先遇到的难点就在于如何获得突变体, 将 I 型融合蛋白稳定在融合前状态, 而又要尽量保持免疫原性不变。传统的方法依赖于人工设计突变体, 并且要通过实验测试数百种突变体组合, 才能获得稳定的融合前状态蛋白, 费时费力。研究人员基于融合前后蛋白的三维结构, 开发了一种通用的计算机辅助设计方法, 仅需要实验验证 3-4 种突变体组合就可以获得稳定的融合前状态蛋白。

研究人员选择了 RSV (呼吸道合胞病毒), hMPV (猴痘病毒) 和 SARS-CoV-2 的型融合蛋白进行方法验证。结果表明 3 个 RSV 突变体中的 1 个 (R-1b); 4 个 hMPV 突变体中的 2 个 (M-104 和 M-305); 以及全部 3 个 SARS-CoV-2 突变体 (Spk-M, Spk-F 和 Spk-R) 获得了稳定表达的三聚体蛋白。

为了验证这些突变体是否依然保有融合前特有表位, 研究人员使用基于 BLI 原理的 Gator Bio 分子互作设备, 进行了突变体与已知融合前状态特定结合物的互作研究 (RSV 使用的是 D25 和 AM14 抗体 (图 B); hMPV 使用的是 MPE8 和 465 抗体 (图 E); SARS-CoV-2 使用的是 Fc-ACE2 蛋白 (图 H))。结果表明这些突变体都能与结合物发生紧密的相互作用。



BLI 实验思路:

实验时所有结合物可以很方便的直接固化到 ProA 探针上, 不同突变体以及阳性、阴性对照进行梯度稀释后加入到微孔板中。整体实验共计测试了 18 对相互作用, 仅需要花费约 4 个小时。

参考文献

Karen J. Gonzalez, Eva-Maria Strauch. A general computational design strategy for stabilizing viral class I fusion proteins. Nature Communications. 2024.

04 AI 辅助设计

4.5 CRISPR

Nucleic Acids
Research

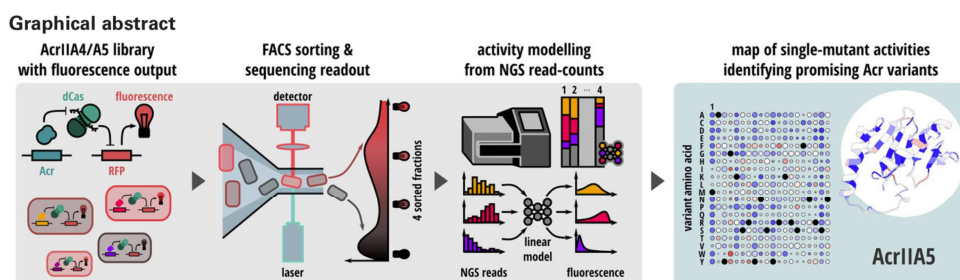
A deep mutational scanning platform to characterize the fitness landscape of anti-CRISPR proteins

Dominik Niopek 等, 德国海德堡大学

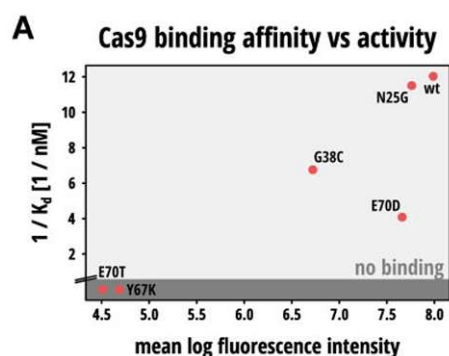
关键词: DMS, CRISPR, ACR

深度突变扫描 (DMS) 是一种高通量测量蛋白质突变的方法, 用于蛋白质功能解剖和结构机制分析。抗 CRISPR (Acr) 蛋白是天然的 CRISPR-Cas 抑制剂, 并且在细菌微生物的共同进化中发挥重要作用, 通过 DMS 将促进对其进行深入表征和优化。

在该研究中开发出了一个强大的抗 CRISPR 深度突变扫描管道, 该管道将基于 CRISPR 干扰的合成基因电路与流式细胞术耦合测序和数学建模相结合, 通过深度突变扫描来检查抗 CRISPR 蛋白的突变适应情况。该管道应用于针对化脓性链球菌 (Spy)Cas9 的 AcrIIA4 和 AcrIIA5 (Cas9 的两种有效抑制剂), 成功创建了关于单个氨基酸交换对 CRISPR-Cas9 抑制以及整体 ACR 突变耐受性影响的全面数据集。接着将 DMS 数据与已知的序列和结构特征进行了比对, 从而进一步表征了观察到的突变耐受性。最后选择了几个可以改善、保存或调节 ACR 功能的突变, 并在哺乳动物细胞基因编辑试验和体外亲和力测量中交叉验证了其活性。综上本文所建立的深度突变扫描可作为抗 CRISPR 蛋白表征和优化的强大方法。



文中使用 BLI 方法验证了突变诱导的 Cas9 抑制的调节是否与 Cas9 结合亲和力的变化相关。测试纯化的野生型 AcrIIA 4 以及不同活性的五种 AcrIIA 4 突变体 (N25G、G38C、Y67K、E70D 和 E70T) 与 Cas9 RNP 的结合亲和力, 并将获得的亲和力与 DMS 分析的抑制效力进行比较。结果显示 Y67K 和 E70T 突变体无结合, 且这两种突变体具有最低的平均对数荧光强度, 其他 3 个突变体和野生型都有较高亲和力。这些结果表明突变的功能影响主要是由于 Cas9 结合亲和力的改变, 而不是其他性质, 如蛋白质稳定性或表达水平。



BLI 实验思路:

使用 Ni-NTA 探针固化带有 his 标签的 Acr 蛋白 (野生型或突变型), 再结合不同浓度 CRISPR-Cas9 RNP, 得到结合动力学和动力学参数 k_{on} 、 k_{off} 、 K_D 。

参考文献

Dominik Niopek, et al. A deep mutational scanning platform to characterize the fitness landscape of anti-CRISPR proteins. Nucleic Acids Research. 2024.

05 基因治疗研究

5.1 AAV 衣壳改造 – 突破血脑屏障

Science

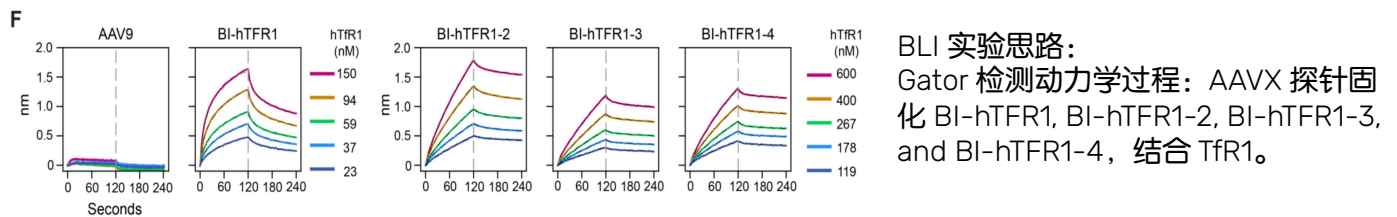
An AAV capsid reprogrammed to bind human transferrin receptor mediates brain-wide gene delivery

Benjamin E Deverman 等，麻省理工学院和哈佛大学布罗德研究所

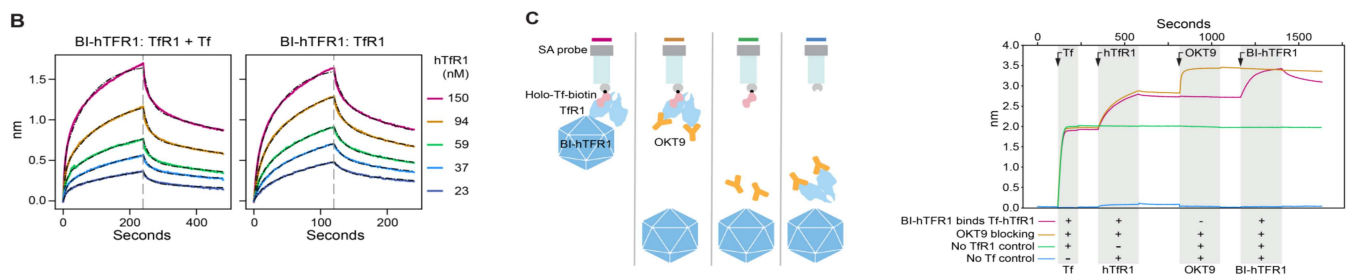
关键词：AAV 病毒衣壳改造，人转铁蛋白受体 (TfR1)，血脑屏障

几十年来，载体通过血脑屏障一直是阻碍脑部疾病基因疗法的难题之一。虽然基因疗法有可能治疗一系列严重的遗传性脑部疾病，但是，FDA 批准的最常用的用于包装和运送这些治疗药物到靶细胞的载体：腺相关病毒 (AAV)，不能有效地高水平穿过血脑屏障并运送治疗货物。该研究团队通过改造 AAV 递送载体，与人转铁蛋白受体 (TfR1，在人体血脑屏障中高表达) 结合，精准穿透血脑屏障，介导有效的中枢神经系统范围内的基因传递，为人类脑病治疗带来变革。

研究首先通过改造 AAV9 衣壳 (随机在 VP1 588-589 残基序列中，插入 7-Mer-AAV9，筛选了 4 种衣壳蛋白，利用 Gator 分别检测 BI-hTfR1, BI-hTfR1-2, BI-hTfR1-3, and BI-hTfR1-4 与 TfR1 的结合 (如图 F)。并且细胞实验证明，对比 AAV9，这四种重组衣壳 AAV 在脑内皮细胞系中转导效率更高。综合结合能力以及细胞转导效率，团队选择 BI-hTfR1 进行后续的实验。



为了判断 BI-hTfR1 增加脑内皮细胞转导是否和 TfR1 有关以及 BI-hTfR1 与 TfR1 的结合位点，研究团队使用 2 种 Anti-TfR1 的抗体 (OKT9：单抗、结合 TfR1 顶端结构域，AF2474：多抗，与 Transferrin 竞争性结合) 进行阻断实验，发现增加 OKT9 的浓度 (而不是 AF2474 的浓度) 能抑制细胞转导，并且 Gator® BLI 结果表明 OKT9 直接与 BI-hTfR1 竞争结合纯化的人 TfR1。因此也证明 BI-hTfR1 结合 TfR1 顶端结构域从而介导细胞转导。



BLI 实验思路：Gator® BLI 完成多元竞争关系检测：

二元竞争检测：HFCII 光纤传感器固化 Fc-hTfR1，结合 BI-hTfR1，再结合 OKT9；看在有 BI-hTfR1 结合下 OKT9 是否还有结合信号，若有则代表两者不是竞争，若信号极弱或没有，则代表两者是竞争关系。

三元竞争检测：SA 光纤传感器固化 biotin-TF 或未固化，结合 rh TfR1 后与 OKT9 结合，再与 BI-hTfR1 结合。比较不同条件下，是否阻断 TfR1 与 BI-hTfR1 的结合。

参考文献

Qin Huang, et al, An AAV capsid reprogrammed to bind human transferrin receptor mediates brain-wide gene delivery. Science. 2024.

05 基因治疗研究

5.2 AAV 抗体

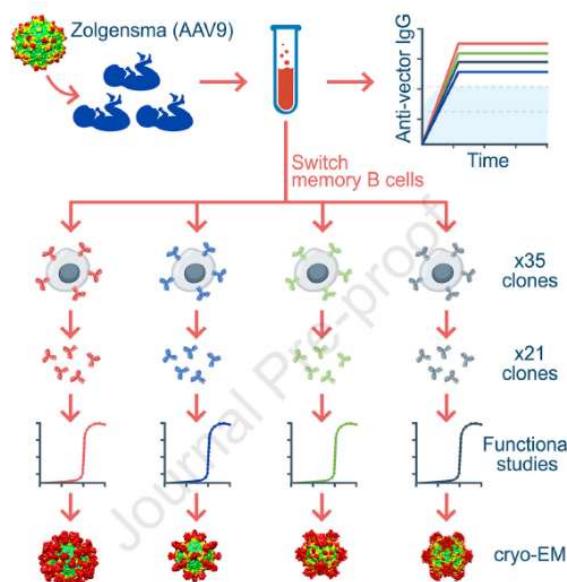
Molecular Therapy

Structural and functional characterization of capsid binding by anti-AAV9 monoclonal antibodies from infants after SMA gene therapy

Grant J Logan, 悉尼大学、悉尼儿童医院

关键词: 脊髓性肌萎缩症 (SMA), AAV

Zolgensma 治疗的疾病叫脊髓性肌萎缩 (Spinal Muscular Atrophy, SMA)。SMA 患者 Smn1 基因发生突变, 导致运动神经元异常, 肌肉退化, 呼吸和进食困难, 最终危及生命。Zolgensma 把 Smn1 基因包装在 AAV9 病毒中, 通过静脉输注的方式将 Smn1 基因的全功能拷贝靶向递送到运动神经元细胞中。输注一次 Zolgensma 可使 Smn 蛋白在儿童运动神经元中表达, 从而改善肌肉运动和功能, 并提高 SMA 患儿的存活期。



AAV 作为药物载体, 存在的主要问题之一就是患者体内针对 AAV 病毒的预存免疫和治疗引发的体液免疫反应。悉尼大学、悉尼儿童医院等单位的研究人员首次深入研究了接受 Zolgensma 治疗后婴儿体内产生的抗衣壳蛋白抗体。

在这项研究中, 科研人员首先发现 6 位接受治疗的婴儿血清中都存在抗 AAV9 抗体, 此外这些抗体对其他 AAV 亚型也存在交叉反应。通过 RT-PCR 和基因测序, 研究人员从 3 位患者中获得了 35 个抗 AAV9 抗体的序列, 制备了其中 21 个抗体的 Fab 片段, 并通过冷冻电镜技术解析了 Fab 和 AAV9 复合物的三维结构。电镜结果发现抗体结合位置分为 2, 3, 5 重对称轴和 2/5 重面, 其中 76% 的 Fab 结合在 2 重对称轴附近, 占主导地位。

Table 2: Binding kinetics of the Fabs (average of n=3 experiments)

Fab	kD (nM)	Fab	kD (nM)	Fab	kD (nM)
1-1	0.30	2-1	0.22	3-1	0.24
1-2	0.23	2-2	1.29	3-2	0.18
1-3	0.28	2-3	24.80	3-3	0.05
1-4	2.30	2-4	2.57	3-4	6.12
1-5	0.15	2-5	0.26	3-5	26.40
1-6	0.25	2-6	2.94	3-6	0.18
1-7	199.50	2-7	14.46	3-7	30.60
ADK9	0.21	HL2368	1.87	HL2372	0.29

BLI 实验思路:

为了更深入的了解这些抗体的特性, 研究人员使用基于 BLI 技术的 Gator® Prime 系统, 通过 AAVX 生物传感器, 测定了所有 21 个抗体与 AAV9 病毒之间的亲和力。结果发现亲和力在 0.2-200 nM 之间, 并且亲和力强弱与结合的位置没有直接关系。另外三个鼠源的抗体 (ADK9, HL2368, HL2372) 亲和力也在这个范围之内。

参考文献

Logan G, et al. Structural and functional characterization of capsid binding by anti-AAV9 monoclonal antibodies from infants after SMA gene therapy. Molecular Therapy, 2023; S1525-0016(23)00165-X.

06 递送系统研究

6.1 脂质体

Pharmaceutical Research

Surface Ligand Valency and Immunoliposome Binding: when More Is Not Always Better

李慧敏, 张宁等, 上海交通大学药学院, 国家药品监督管理局药品审评中心

关键词: 脂质体, 抗体偶联脂质体, CD3

文中将纳米药物递送系统设计为表面包含配体（用于“主动靶向”的抗体）的抗体偶联脂质体（即免疫脂质体（ILs））。其中每个纳米颗粒上的配体数量，称为“价”，被认为是“靶向”性质的关键决定因素。文中使用 ILs 作为模型来了解效价和结合特性之间的相关性。实验结果表明，含有少量抗 CD3 抗体的脂质体已经能够与 CD3 阳性表面显著结合。结合可以是单价或多价的，取决于表面配体密度。免疫脂质体上更多的抗 CD3 抗体可能会显著降低结合 k_{off} ，但对 k_{on} 的改善有限。当 CD3 表面密度适中时，如大多数细胞表面，表面抗体价少于 10 的脂质体在结合靶细胞表面时表现出良好有效性。

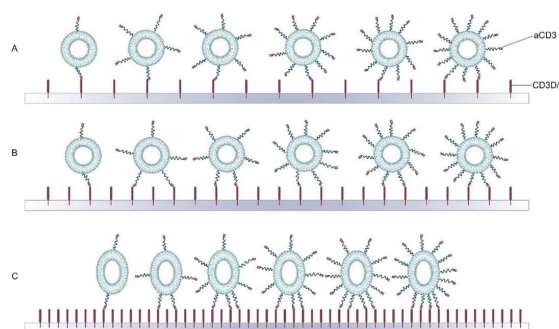
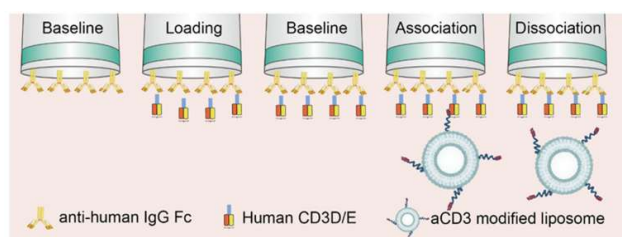


Fig. 6 Schematic drawing of anti-CD3-liposome binding to probe surfaces with different CD3 densities.

基于 BLI 原理的 Gator® 系统可用于表征脂质体结合，对检测少量结合在生物传感器表面的脂质体具有很高的灵敏度，实时记录干涉波长的变化，用于分析结合动力学。最重要的是，能在传感器上覆盖不同密度的靶抗原，以模仿不同抗原表达水平的靶细胞。

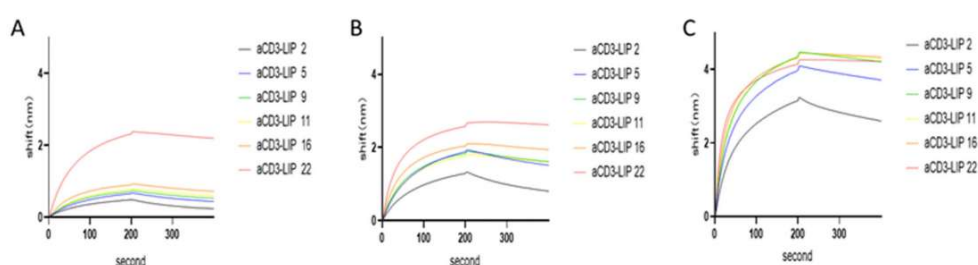


Fig. 3 BLI signal recording of the association and dissociation processes of anti-CD3-liposomes onto probe surfaces coated under different CD3D/E loading concentrations: 0.01 (A), 0.2 (B), and 20 $\mu\text{g/mL}$ (C). The anti-CD3-liposomes were added at the lipid concentration of 1 mg/mL.

BLI 实验思路:

使用 HFC (Anti-human IgG Fc) 生物传感器固化 CD3D/E-Fc 重组蛋白，结合不同配体价的 anti-CD3 脂质体，检测亲和力水平。

参考文献

Li H, Di J X, Peng B W, et al. Surface Ligand Valency And Immunoliposome Binding: When more is not always better[J]. Pharm Res, 2021, 38(9): 1593-1600.

06 递送系统研究

6.2 氧化石墨烯

Nano Today

Graphene oxide-based plasma membrane-philic delivery platform to generate tolerogenic dendritic cells in GVHD immunotherapy

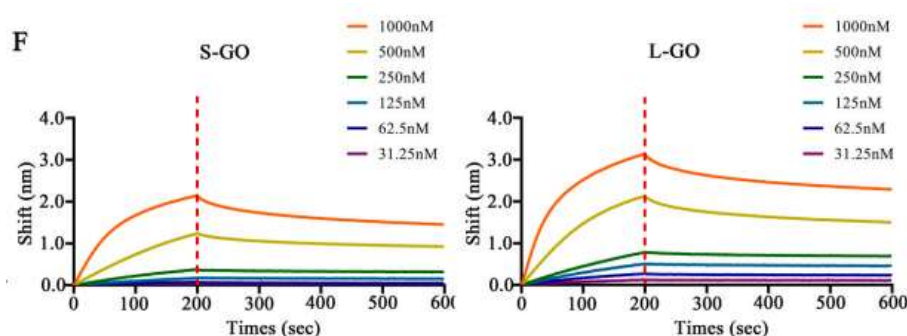
Linsheng Zhan, Xiaohui Wang 等, 郑州大学华大基因学院, 珠海市人民医院

关键词: 氧化石墨烯, UCN, GVHD

异基因造血干细胞移植 (allo-HSCT) 是治疗多种血液系统疾病的有效方法, 在过去的十年中, 移植物抗宿主病 (GVHD) 的防治尽管获得了较大进展, 但 GVHD 仍然是 allo-HSCT 的主要合并症和死亡原因, 其一线治疗为糖皮质激素, 但是会引发一系列的后遗症。近几年免疫治疗发现, 耐受型树突状细胞 (TDC) 通过促进 CTL 的耗竭和 Treg 细胞增殖, 降低免疫排斥反应, 从而有利于 GVHD 治疗。

在该研究中以氧化石墨烯为递送平台, 通过吸附作用与 urocortin (UCN) 结合, 利用 Gator® 检测该结合可达到 nM 级别的亲和力。该 UCN@L-GO 复合物与未成熟 DC 细胞膜受体 CRHR2 结合, 促进 CREB 磷酸化, 诱导 TDC 分化; 通过 Rho A/ROCK 通路和提高 CCR7 表达, 改变细胞骨架, 促进 TDC 归巢至淋巴结; 有效抑制细胞杀伤性 T 细胞产生, 增加 Treg 细胞产生。该研究提供了一种新颖的亲细胞膜生物大分子输送系统, 还可作为 GVHD 免疫治疗中 TDC 诱导剂的候选药物。

基于 BLI 技术的 Gator® 系统可检测多种分子间的相互作用, 分子量低至 150 Da 的小分子, 到高达 1×10^6 Da 的 VLP、氧化石墨烯等, 应用领域广泛。



BLI 实验思路:

使用 Protein A 生物传感器固化氧化石墨烯 (S-GO 或 L-GO), 检测其与 UCN 的亲和力水平, 得到 L-GO $K_D = 39.6$ nM, S-GO $K_D = 56.7$ nM。

参考文献

Linsheng Zhan, Xiaohui Wang. Graphene oxide-based plasma membrane-philic delivery platform to generate tolerogenic dendritic cells in GVHD immunotherapy[J]. Nano Today, 2022.

06 递送系统研究

6.3 LNP

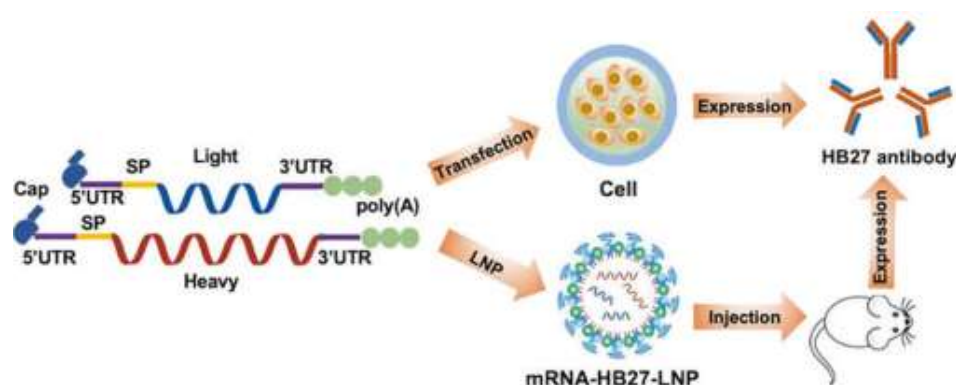
Cell Research

Lipid nanoparticle-encapsulated mRNA antibody provides long term protection against SARS-CoV-2 in mice and hamsters

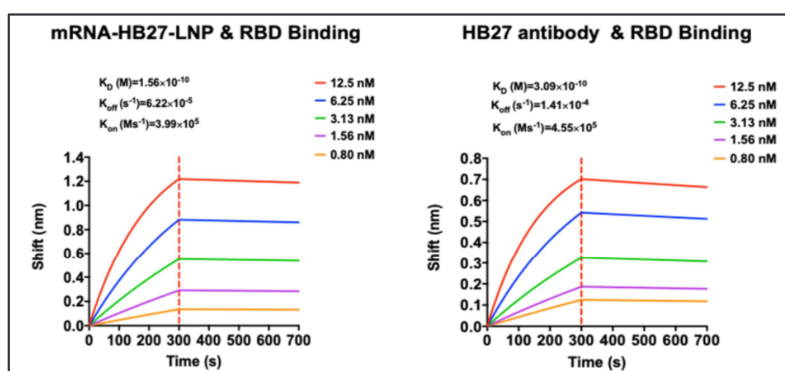
秦成峰等，中国科研团队

关键词：新冠病毒，LNP，mRNA

文章中利用成熟的 mRNA-LNP 技术平台，成功开发了“长效型”新冠病毒 mRNA 抗体。该研究利用 mRNA-LNP 工艺，制备了包裹编码 HB27 重链和轻链的两个 mRNA 分子的 LNP 制剂（命名为 mRNA-HB27-LNP）。



实验结果表明，体外转染细胞和小鼠静脉单次给药 mRNA-HB27-LNP，都可迅速产生具有中和作用的 HB27 抗体。各项实验证明此 mRNA 中和抗体能减少肺部病毒载量，可抑制新冠病毒接触传播，并且在药代动力学方面显著优于传统蛋白抗体，实现单次给药 63 天后，仍对致死量的新冠病毒攻击提供有效保护。



BLI 实验思路：

基于 BLI 技术的 Gator® 分子互作分析仪检测结果表明，mRNA-HB27-LNP ($K_D=0.156$ nM) 作用小鼠体内表达的 HB27 抗体能与 RBD 段结合，并且其亲和水平优于传统 CHO 细胞制备技术所获得的重组蛋白抗体 ($K_D=0.309$ nM)。

参考文献

Deng Y Q, Zhang N N, Zhang Y F, et al. Lipid nanoparticle-encapsulated mRNA antibody provides long-term protection against SARS-CoV-2 in mice and hamsters[J]. Cell Research, 2022, 24; 1-8.

06 递送系统研究

6.4 自组装纳米颗粒

Biomaterials

Design and development of novel self-assembled catechol-modified bile acid conjugates as pH-responsive apical sodium-dependent bile acid transporter targeting nanoparticles

Jooho Park 等, 韩国建国大学

关键词: 胆汁酸 (BA), 顶端钠依赖性胆汁酸转运蛋白 (ASBT), 脂质代谢

胆汁酸的肝肠循环: 肝脏会产生胆固醇 (需要 HMG-CoA 还原酶作用), 胆固醇的消耗途径主要通过产生的胆汁酸 (BA), 胆汁酸会进入小肠中可促进脂质消化, 一部分又可以在结肠中被重吸收再返回肝脏, 至此完成肝肠循环; 其中负责重吸收的主要转运蛋白是顶端钠依赖性胆汁酸转运蛋白 (ASBT), 可与胆汁酸结合促进吸收。由此对应就可以有两种方案来抑制胆固醇产生, 促进脂质代谢: (1) 通过抑制 HMG-CoA 还原酶从而直接抑制肝脏中胆固醇的合成; (2) 通过抑制 BA 与 ASBT 的结合来抑制 BA 的肝肠循环, 进而新的 BA 就必须从胆固醇合成, 以此增加已有胆固醇的消耗。

在该研究中首次开发了一种新的口服 ASBT 抑制剂 (ASBTi): 儿茶酚修饰的胆汁酸纳米颗粒 (CMBA), 由熊去氧胆酸 (UDCA) 与多巴胺 (DOPA) 合成。其中 UDCA 可以结合 ASBT, DOPA 具有儿茶酚 (邻苯二酚), 作为生物材料具有良好生物相容性, 这两者结合而成的 CMBA 具有多种功能: (1) CMBA 的邻苯二酚结构在体外表现出自组装成纳米颗粒的功能 (取决于不同的 pH 条件); (2) CMBA 纳米颗粒在体外和体内表现出与 ASBT 的强结合, 并通过 ASBT 介导的加速细胞摄取而被吸收到细胞中; (3) 口服给药的 CMBA 在肝脏中停留的时间较长, 对胆汁酸的代谢起着至关重要的作用, 并有效地减轻了高脂饮食喂养小鼠模型肝脏中的脂质储存。这些功能表明, pH 响应性 CMBA 纳米颗粒有效地促进了与肠道 ASBT 的相互作用, 作为新的 ASBT 抑制剂, 为涉及脂质代谢的治疗干预提供了新的治疗潜力 (图 1)。

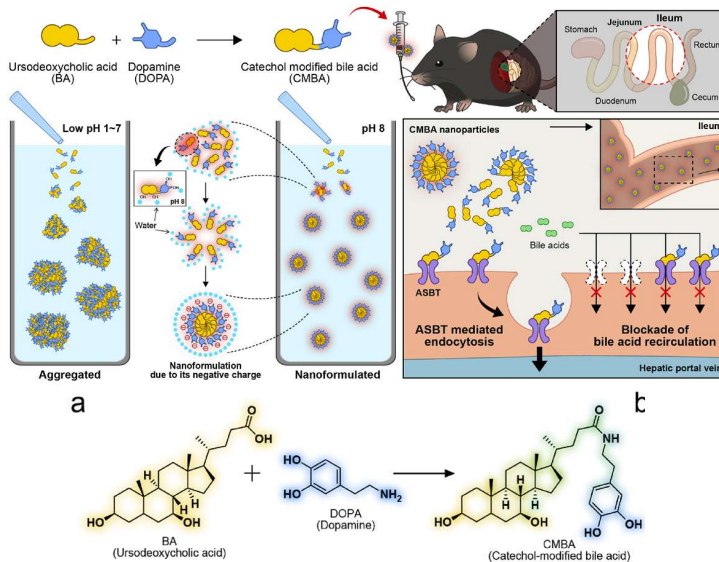
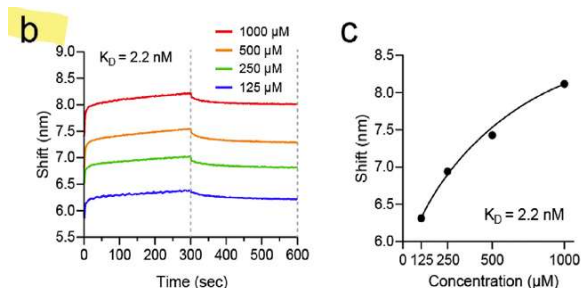


图 1. 自组装 CMBA 纳米颗粒作用流程图

文中使用 Gator® BLI 方法检测对比了 ASBT 与 CMBA、BA 分子之间的结合亲和力。发现 CMBA 与 ASBT 亲和力为 2.2 nM, 略高于 BA 的 4.84 nM, 直接证明了 CMBA 与靶 ASBT 蛋白的结合, 为 CMBA 可有效抑制胆汁酸的重吸收增加胆固醇的消耗提供功能验证依据。



BLI 实验思路:

Gator® BLI 检测纳米颗粒药物与靶蛋白的结合。使用 AR 探针固定 ASBT 蛋白, 再结合不同浓度的 CMBA, 得到相互作用动力学及亲和力数值。

参考文献

Jooho Park, et al. Design and development of novel self-assembled catechol-modified bile acid conjugates as pH-responsive apical sodium-dependent bile acid transporter targeting nanoparticles. Biomaterials. 2024.

07 垂钓检测

7.1 垂钓研究 - Tf/A β 蛋白

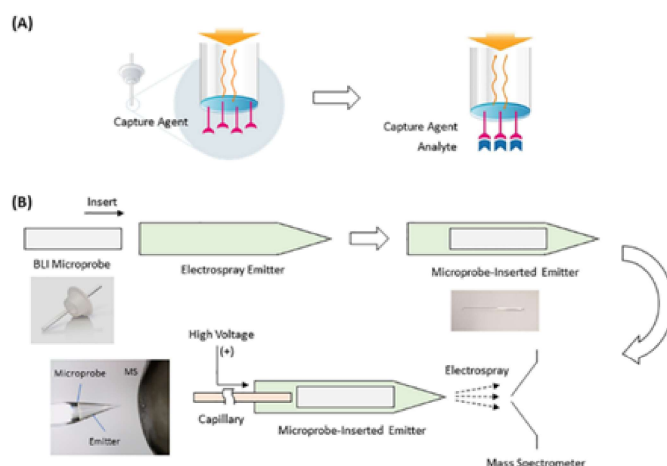
Analytical Chemistry

Microprobe-Capture In-Emitter Elution: An Affinity Capture Technique to Directly Couple a Label-Free Optical Sensing Technology with Mass Spectrometry for Protein Analysis

Yiqi Ruben Luo, 斯坦福大学

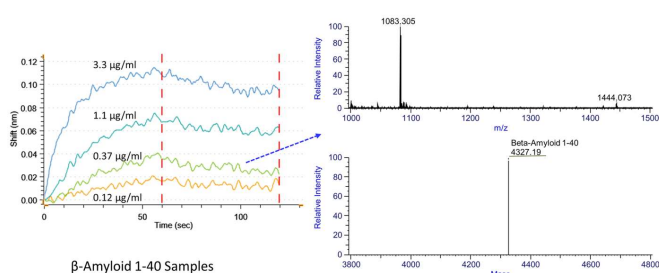
关键词: MPE-ESI-MS, β -amyloid 1-40, transferrin

样品制备是制约质谱 (MS) 分析的最大瓶颈问题之一。斯坦福大学的 Ruben 团队利用生物膜干涉技术 (BLI), 通过实时采集光干涉信号变化, 检测分子之间的结合, 特异性捕获目的分子, 轻松完成样品制备。后续联用电喷雾质谱法 (Electrospray ionization, ESI, 一种使用电喷雾向液体施加高电压产生气溶胶来生成用于质谱分析离子的技术), 创立了 MPE-ESI-MS 方法, 可高效完成样品质谱分析。

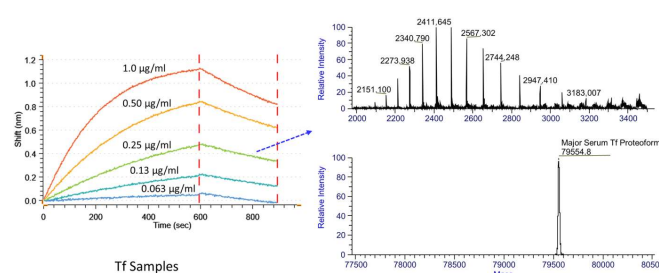


MPE-ESI-MS 实验流程

该研究以 β -amyloid 1-40 (A β 1-40) 和 transferrin (Tf) 以及对应的抗体进行验证, 对纯化样本以及血样、脑脊液中 A β 1-40 和 Tf 进行质谱分析。质谱分析得到 A β 1-40 主峰在 4327.1 Da, 与理论值 (4327.148 Da) 相符; 血液里的 Tf 主峰在 79554 Da, 和理论分子量 (79554.71) Da 接近; 证明该方法的可行性和准确性。同时获得 A β 1-40 与其抗体的亲和力常数 (K_D) 为 6.6×10^{-8} M。



MPE-ESI-MS analysis of A β 1-40



MPE-ESI-MS analysis of Tf

BLI 实验思路:

MPE-ESI-MS 实验流程 (以 A β 1-40 和 anti-A β 1-40 为例):

1. SA 生物传感器固化 biotin 标记的 anti-A β Ab, 接着与 A β 1-40 样本结合
2. 在 PBST-B 缓冲液中洗掉非特异结合
3. 电喷雾发射器充满鞘液, 将 BLI 的生物传感器用鞘液冲洗 10 s, 插入到发射器中
4. 发射器安装在 ESI 离子源中, 高压电场的作用下, 样品溶液从毛细管中喷出, 形成带电液滴
5. MS 开始进行数据采集, 并注射洗脱液液体 (80% 乙腈和 2% 甲酸的水溶液)

参考文献

Luo Y, et al. Microprobe-Capture In-Emitter Elution: An Affinity Capture Technique to Directly Couple a Label-Free Optical Sensing Technology with Mass Spectrometry for Protein Analysis. Analytical Chemistry, 2023; 95(13): 5494-5499.

07 垂钓检测

7.2 垂钓研究 – 血清游离轻链

Clinical Chemistry

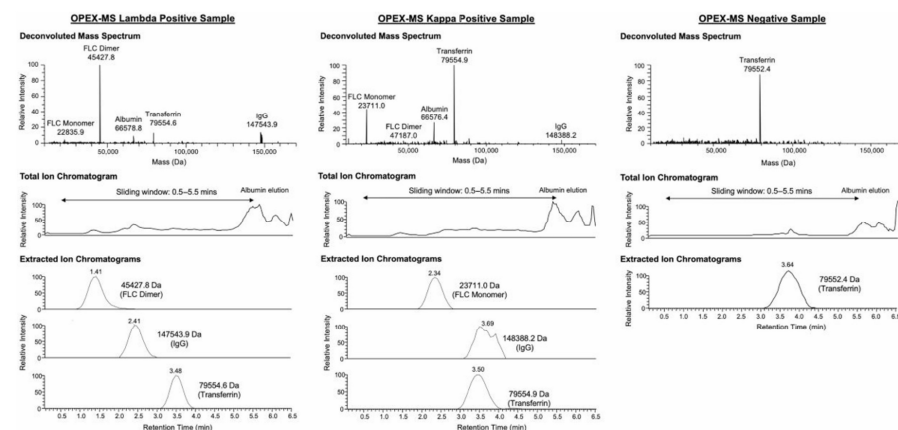
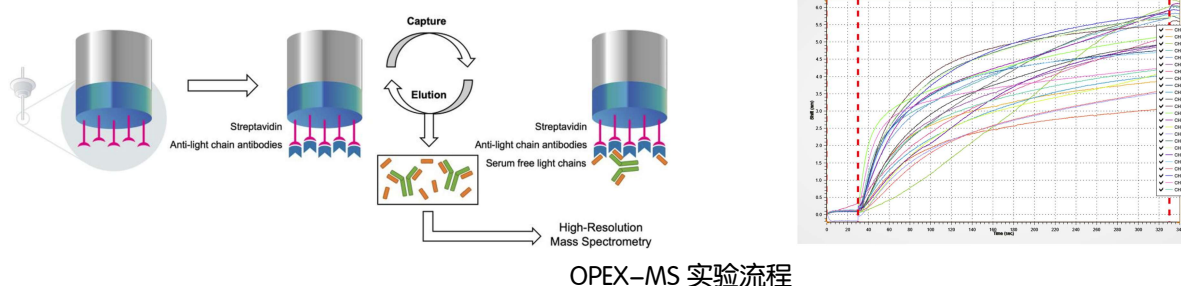
Clonality Determination by Detecting Unmodified Monoclonal Serum Free Light Chains Using On-Probe Extraction Coupled with Liquid Chromatography-High-Resolution Mass Spectrometry

Yiqi Ruben Luo, 斯坦福大学

关键词: OPEX-MS, 血清游离轻链 (FLC), 免疫测定

血清游离轻链 (FLC) 即不与重链结合的循环抗体轻链, 是浆细胞肿瘤患者诊断和监测的重要临床生物标志物。目前广泛使用的定量 FLC 的方法为免疫测定方法, 但此方法依赖于总 κ/λ 的比率来间接推断单克隆丙种球蛋白病的发生, 其包括单克隆 FLC 以及多克隆 FLC, 这在一些慢性疾病、炎症性疾病或肾功能障碍患者中容易导致高假阳性或假阴性的出现。

在该研究中创新性建立了一种免疫捕获质谱方法: OPEX-MS, 将基于 BLI 的探针提取 (on-probe extraction, OPEX) 与液相色谱-高分辨质谱 (LC-HR-MS) 联用, 以直接测定 FLC 的克隆性。使用这种方法对已有免疫测定 FLC 结果的样本进行检测, 研究发现, 49 份 kappa FLC 升高样本中有 16 份 (33%), 100 份 kappa 和 lambda 双重 FLC 升高样本中有 83 份 (83%) 不含单克隆 FLC, 这与患者病史及临床表现结果一致, 即 FLC 免疫测定结果轻度升高的样本中通常不含克隆群体。此 OPEX-MS 方法可作为一种补充方法, 直接测定 FLC 免疫测定结果难以解释的患者的克隆性。另外 OPEX-MS 也可进一步用作提取蛋白质生物标志物用于质谱分析的平台。



BLI 实验思路:

OPEX-MS 具体检测流程:

- 1) 利用 Gator BLI 方法的 SA 探针先固化生物素标记的 anti-light chain antibody (κ 或 λ), 然后在稀释 20X 的血清中捕获 5min, 接着在 PBST buffer 中清洗 15s, 最后用 0.3% 甲酸将捕获的蛋白洗脱 30s 到样本孔中, 此捕获步骤重复 30 轮。
- 2) 对洗脱得到的样本用偶联 Vanquish Flex HPLC 的 Q-Exactive Plus 质谱仪进行进一步组分分析。其中得到 IgG λ 阳性、IgG κ 阳性、阴性多发性骨髓瘤患者的质谱和色谱结果如左图。

参考文献

Yiqi Ruben Luo, et al. Clonality Determination by Detecting Unmodified Monoclonal Serum Free Light Chains Using On-Probe Extraction Coupled with Liquid Chromatography-High-Resolution Mass Spectrometry. Clinical Immunology. 2024.

08 临床应用研究

8.1 临床诊断开发 – 胰腺癌

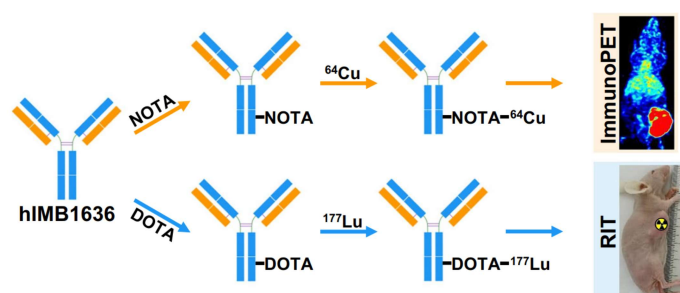
**European Journal
of Nuclear Medicine
and Molecular Imaging**

Theranostic application of $^{64}\text{Cu}/^{177}\text{Lu}$ -labeled anti-Trop2 monoclonal antibody in pancreatic cancer tumor models

Jigang Yang 等, 首都医科大学附属友谊医院

关键词: 胰腺癌早期诊断, 滋养层细胞表面抗原 2 (Trop2)

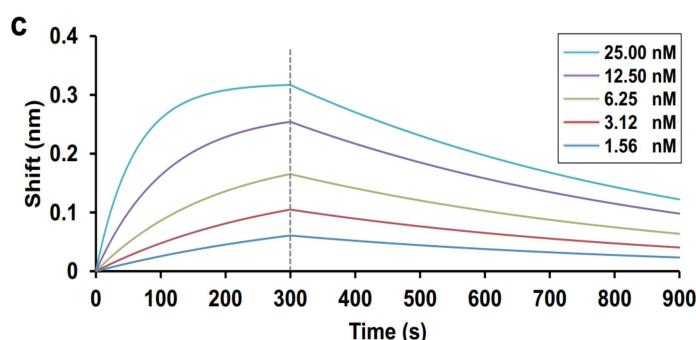
胰腺癌的早期症状隐匿导致确诊时往往已经达到晚期, 不能进行手术切除, 再加上胰腺癌极具侵袭性且易发生转移, 这是导致胰腺癌患者高死亡率的原因之一。滋养层细胞表面抗原 2 (trophoblast cell surface antigen 2, Trop2), 是一种 I 型跨膜细胞表面糖蛋白, 是 TACSTD2 基因编码的蛋白产物。Trop2 表达与肿瘤恶性程度及预后有关, 人胰腺癌组织分化程度越低, Trop2 阳性表达程度越高, 与患者年龄和性别无关。该研究通过杂交瘤技术生成抗体, 并结合 Gator® 筛选出与 Trop2 具有高亲和力水平的 hIMB1636 抗体, 并对该抗体进行放射性核素 ^{64}Cu -NOTA-hIMB1636 和 ^{177}Lu -DOTA-hIMB1636 标记, 分别完成 PET 成像、RIT 治疗和 SPECT 成像, 利用该方法能够快速筛选出高亲和力抗体, 有利于后期用于临床诊断。



IHC、生物分布实验得到结果与 PET 一致, 证明靶向 Trop2 的 PET 成像, 可用来诊断 Trop2 阳性的胰腺癌; 使用 ^{177}Lu -DOTA-hIMB1636 的 RIT 治疗能显著抑制小鼠肿瘤组织生长; 并且该标记抗体对小鼠本身生物毒性较小; 因此使用该抗体有助于完成胰腺癌早期诊断和治疗。

BLI 实验思路:

使用 HFC 生物传感器 (Anti-human IgG Fc) 固化 hIMB1636, 结合不同浓度的 Trop2 抗原, 得到动力学参数: $k_{\text{on}}=6.08 \times 10^5 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$, $k_{\text{off}}=1.59 \times 10^{-3} \text{ s}^{-1}$, $K_D=2.61 \times 10^{-9} \text{ M}$ 。



参考文献

Cuicui Li, et al. Theranostic application of $^{64}\text{Cu}/^{177}\text{Lu}$ -labeled anti-Trop2 monoclonal antibody in pancreatic cancer tumor models. European Journal of Nuclear Medicine and Molecular Imaging, 2022.

08 临床应用研究

8.2 临床诊断开发 – 淋巴瘤

European Journal of Nuclear Medicine and Molecular Imaging

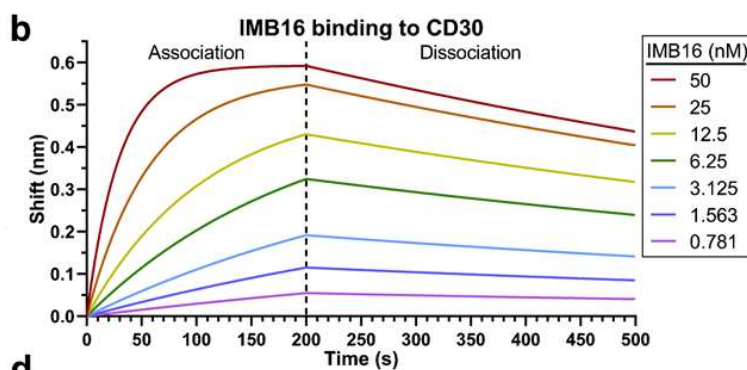
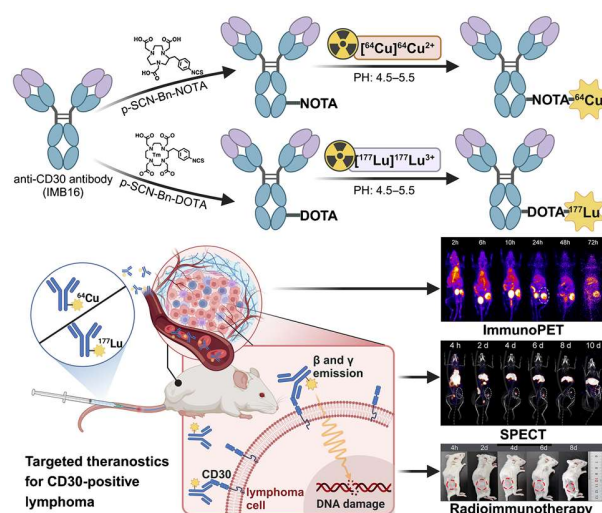
Theranostic application of $^{64}\text{Cu}/^{177}\text{Lu}$ -labeled anti-Trop2 monoclonal antibody in pancreatic cancer tumor models

Jigang Yang 等, 首都医科大学附属友谊医院

关键词: CD30, 淋巴瘤, 单抗, $^{64}\text{Cu}/^{177}\text{Lu}$ 核素标记

淋巴瘤是一种来源于淋巴组织的恶性肿瘤, 其中 CD30 阳性淋巴瘤是一种特定类型的淋巴瘤, 其表面过表达 CD30 抗原。由于 CD30 抗原在 CD30 阳性淋巴瘤中高度表达, 因此成为了靶向治疗的候选靶点。首都医科大学附属北京友谊医院核医学杨志刚团队评估了 $^{64}\text{Cu}/^{177}\text{Lu}$ 标记的抗 CD30 单克隆抗体 (IMB16) 在 CD30 阳性淋巴瘤的治疗和诊断中的潜力。通过前期的体外和体内实验, 研究团队证明了这种标记的 IMB16 在淋巴瘤治疗中具有潜在的疗效, 为进一步的临床应用奠定了基础。

研究人员首先通过生物层干涉技术 (BLI) 和 Western blot 验证了 IMB16 对 CD30 的高亲和力及特异性, 筛选出 CD30 高表达的 Karpas299 细胞模型。随后, IMB16 分别与 NOTA 和 DOTA 螯合剂偶联, 标记 ^{64}Cu 和 ^{177}Lu , 制备放射性探针 (^{64}Cu]-Cu-NOTA-IMB16) 和治疗剂 (^{177}Lu]-Lu-DOTA-IMB16)。在 CD30 阳性淋巴瘤的 NSG 小鼠模型中, 通过免疫 PET 评估肿瘤的 CD30 表达及药物分布, 同时开展放射免疫治疗 (RIT) 实验, 监测肿瘤体积、生物分布及血液学毒性。实验结果显示, ^{64}Cu 标记的 IMB16 在免疫 PET 中可特异性识别 CD30 阳性肿瘤 (24 小时摄取达 19.2% ID/g), 显著优于对照组; ^{177}Lu 标记的 IMB16 在高剂量下显著抑制肿瘤生长 (肿瘤体积标准化至 80.2%), 且中剂量组血液毒性可逆 (如白细胞 10 天后部分恢复)。离体分析显示药物主要富集于肿瘤, 肝脾摄取可控, 组织学证实肿瘤坏死而无严重器官损伤。该研究为 CD30 阳性淋巴瘤的诊断和治疗提供了新的策略, 展示了双核素标记抗体在诊疗一体化中的潜力。



BLI 实验思路:

使用 HFC (Anti-Human IgG Fc) 探针, 先固化 IMB16, 再结合不同浓度梯度的 CD30, 得出 IMB16 与 CD30 有很强的结合亲和力。

参考文献

Yang J, et al. Preclinical evaluation of $^{64}\text{Cu}/^{177}\text{Lu}$ -labelled anti-CD30 monoclonal antibody for theranostics in CD30-positive lymphoma. European Journal of Nuclear Medicine and Molecular Imaging. 2024, 12.

09 多肽相关检测

9.1 新型荧光多肽

New J. Chem.

Peptide probes with high affinity to target protein selection by phage display and characterization using biophysical approaches

雷新响等，中南民族大学

关键词：新型荧光多肽生物传感器，二氢叶酸还原酶（DHFR）

本研究发表了通过噬菌体展示和生物物理表征方法筛选获得新型荧光多肽生物传感器的文章，该方法适用于大多数靶蛋白。

文章中具体研究流程为：

1) 使用噬菌体展示技术筛选活性肽：经过 4 轮筛选筛选出针对二氢叶酸还原酶（DHFR）高结合能力的噬菌体克隆 DHFR-Y1；

2) 使用固相肽合成法（SPPS）合成阳性肽 DHFR-Y1；

3) 对多肽 DHFR-Y1 进行荧光修饰：使用荧光素分别对肽的 N 末端和 C 末端进行化学修饰，产生 N 末端荧光肽 DHFR-Yn 和 C 末端荧光肽 DHFR-Yc；

4) 使用多种体外检测方法（差示扫描荧光法 DSF、饱和转移差 STD-NMR、生物膜干涉技术 BLI）验证多肽与 DHFR 的相互作用：亲和力 DHFR-Yc ($K_D=0.56$ mM) > DHFR-Y1 ($K_D=3.57$ mM) > DHFR-Yn。

5) 使用计算机验证肽-DHFR 相互作用模型：DHFR-Y1 和 DHFR-Yc 与 DHFR 的叶酸结合口袋结合。

通过以上研究表明，DHFR-Yc 具有足够的亲和力，可以作为一种新型荧光生物传感器，并有潜力在未来的医学检测和药物筛选研究中作为强大的荧光信号载体。

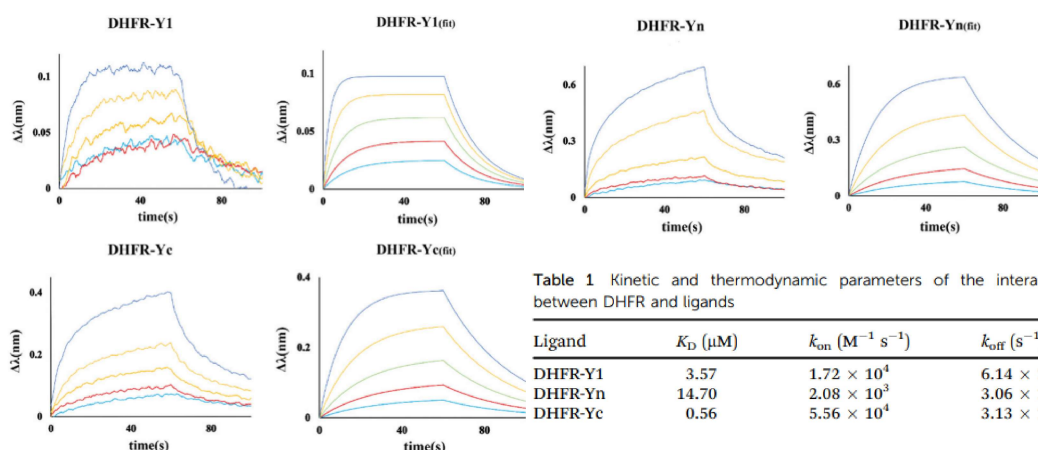
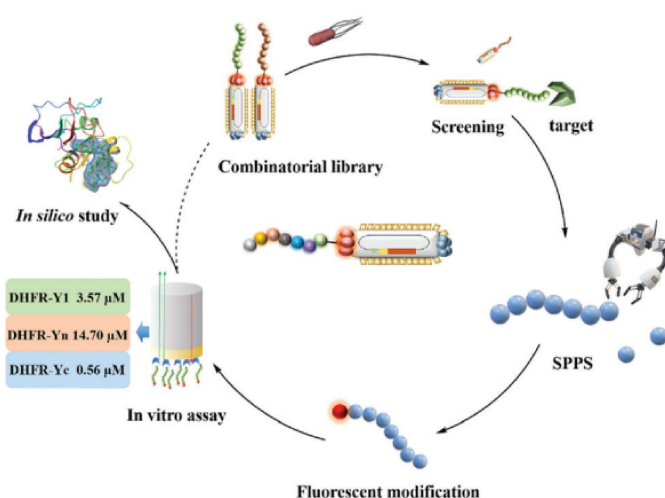


Table 1 Kinetic and thermodynamic parameters of the interaction between DHFR and ligands

Ligand	K_D (μ M)	k_{on} ($M^{-1} s^{-1}$)	k_{off} (s^{-1})
DHFR-Y1	3.57	1.72×10^4	6.14×10^{-2}
DHFR-Yn	14.70	2.08×10^3	3.06×10^{-2}
DHFR-Yc	0.56	5.56×10^4	3.13×10^{-2}

BLI 实验思路：

文中利用 Gator® 验证多肽与 DHFR 结合能力。具体实验流程：使用 SMAP 生物传感器固化 biotin-DHFR (1 mM)，再结合不同浓度的多肽，计算结合动力学参数 k_{on} 、 k_{off} 和 K_D 。

参考文献

Xiao-Qin Yang, Li-Wen Bai. Peptide probes with high affinity to target protein selection by phage display and characterization using biophysical approaches. New J. Chem, 2022.

09 多肽相关检测

9.2 TJ 促渗剂多肽

Journal of
Controlled Release

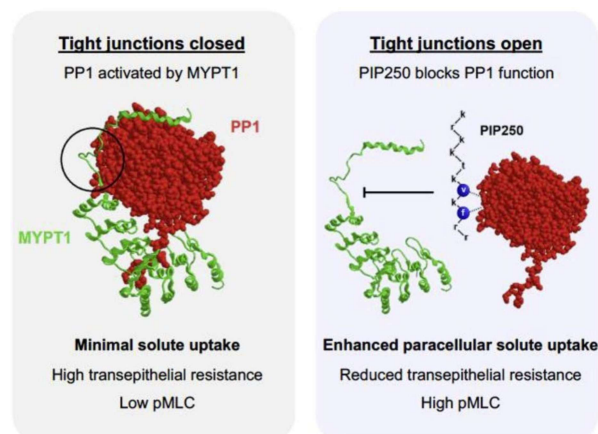
Structure-function analysis of tight junction-directed permeation enhancer PIP250

Randall J. Msrny a 等, 英国巴斯大学

关键词: 紧密连接 (TJ),

肠上皮是一种半渗透屏障, 可限制分子量大于约 500 Da 的亲水分子的非选择性吸收。因此, 如果口服给药, 跨越这一障碍是许多药物的重大障碍。小分子药物可通过跨细胞途径穿过肠细胞, 而大的亲水分子有可能通过肠道细胞旁吸收途径从肠腔进入人体。紧密连接 (TJ) 是一种多蛋白复合物, 组织在肠上皮细胞的顶端颈部, 其功能是限制溶质通过细胞旁途径的运动。目前已经研究了大量的 TJ 调节剂, 以确定一种安全有效的方法来改变上皮细胞的屏障功能, 以改善通过细胞旁途径吸收不良的药物分子的摄取。但这些方法很多在体内应用最终因缺乏疗效或安全性问题而受到限制。由于肌球蛋白轻链 (MLC) 在 Ser-19 位的磷酸化可作为 TJ 通透性的动态调节剂。这种磷酸化事件主要由 MLC 激酶 (MLCK) 和 MLC 磷酸酶 (MLCP) 控制, 磷酸化 MLC (pMLC) 水平又受蛋白磷酸酶 1 (PP1) 和肌球蛋白靶向蛋白 1 (MYPT1) 之间的相互作用影响。

在该研究中发现一种完全 D-氨基酸的渗透磷酸酶抑制剂 (PIP) 肽序列, 可抑制 TJ 细胞质表面的 PP1-MYPT1 相互作用。如 PIP250 可进入肠上皮细胞以定位 TJ 结构, 增加细胞磷酸化 MLC (pMLC) 水平, 其与 PP1 结合, 改变 TJ 蛋白的表达水平, 降低肠上皮屏障功能, 并增强了大鼠体内吸收不良的抗生素庆大霉素的回肠摄取。另外文中通过对 PIP250 关键氨基酸 Phe3 和 Val5 进行突变得得到一系列 PIP250 肽类似物, 发现 Phe3 和 Val5 对其作用机制和增强溶质摄取的性质至关重要。



为了验证 PIP250 与 PP1 结合, 并评估该多肽中关键氨基酸的作用, 文中使用 Gator BLI 表征了 PIP250 系列肽和 PP1 的结合动力学和亲和力。PP1 结合 PIP250 K_D 为 2.5 μM , 其他氨基酸突变的多肽也都能与 PP1 结合, 但亲和力相对于 PIP250 肽有所降低。其中 PIP252、PIP256 与 PIP250 虽然有相似的 K_D , 但其有更大的 k_{on} 和 k_{off} , 结合其他数据表明 PIP252 和 PIP256 在增强渗透性方面与 PIP250 相似, 但肠道屏障恢复更快。PIP254 将疏水残基替换为带电残基 (val5 $\rightarrow$ glu), 对 PP1 的亲和力较低, 显示对 TJ 通透性或 pMLC/MLC 水平没有显著影响。

Sequences of PIP250 series peptides and rationale for modifications.

Peptide	Sequence	Rationale
PIP250 ^{a, b}	rrfkvttkkrk	Parent peptide
PIP251 ^{a, b}	rrakvttkkrk	Specificity of residue binding
PIP252 ^{a, b}	rrfkvttkkrk	Specificity of residue binding
PIP253 ^{a, b}	rrfkvttkkrk	Charge alteration of PIP251
PIP254 ^{a, b}	rrfkvttkkrk	Charge alteration of PIP252
PIP255 ^{a, b}	rrakvttkkrk	Specificity of PIP251 and 252 residues
PIP256 ^{a, b}	rrfkvttkkrk	Specificity of PIP251 residues
PIP257 ^{a, b}	rrakgttkkrk	Specificity of PIP251 and 252 residues
PIP258 ^{a, b}	rrfkgttkkrk	Specificity of 252 residues
PIP259 ^{a, b}	rrakgttkkrk	Specificity of 251 and 252 residues

All peptides are described as the single letter of D-amino acids. Red, bolded amino acids highlight changes made in the original PIP250 sequence.

^a Synthesized at University of Bath.

^b Purchased from GenScript.

Table 3

Binding properties and kinetics on interactions between PIP250-series peptides and immobilized protein phosphatase 1.

Peptide	K_{ON} ($\text{M}^{-1} \text{s}^{-1} \times 10^3$)	K_{OFF} ($\text{s}^{-1} \times 10^{-4}$)	K_D (μM)
PIP250	4.60	1.15	2.50
PIP252	13.1	1.95	1.49
PIP254	1.75	3.52	20.1
PIP256	6.84	5.59	8.17
PIP257	26.7	13.9	5.21
MYPT1 ¹⁻²⁹⁹	14.8	0.39	0.26

PIP = permeant Inhibitor of phosphatase; MYPT1 = myosin targeting protein 1.

BLI 实验思路:

使用 Ni-NTA 探针固化带有 His 标签的 PP1 蛋白, 再结合 PIP 多肽或 MYPT1 蛋白, 得到其结合 k_{on} 、 k_{off} 、 K_D 。

参考文献

Randall J. Msrny a. et al. Structure-function analysis of tight junction-directed permeation enhancer PIP250. Journal of Controlled Release, 2023.

09 多肽相关检测

9.3 -Klotho 多肽探针

JACS Au

Development of an α -Klotho Recognizing High-Affinity Peptide Probe from In-Solution Enrichment

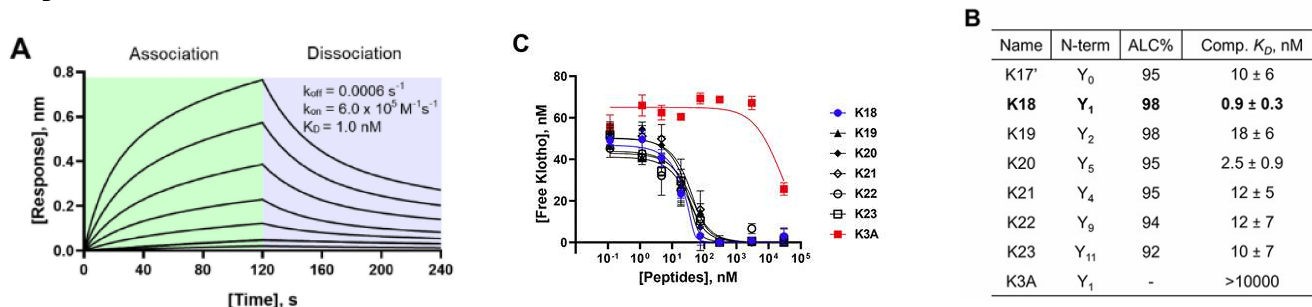
Peiyuan Zhang 等, 麻省理工学院

关键词: α -Klotho, FGF23, peptidemodifications

α -Klotho 是一种与衰老相关的跨膜蛋白, 它作为纤维生长因子 23 (FGF23) 受体复合物的核心受体, 在肾脏、甲状旁腺和脉络丛中表达。近年来的研究表明, α -Klotho 水平的下降与慢性肾脏疾病及其他与年龄相关的疾病密切相关。然而, α -Klotho 在生物流体中的检测一直是科学研究中的一个难题。来自麻省理工学院的 Peiyuan Zhang 等人使用 AS-MS 这种溶液富集的方法发现了高亲和力的肽结合剂探针, 能在复杂的细胞环境中与 Klotho 蛋白结合, 有望成为肾病和衰老相关疾病患者的潜在诊断工具。

研究首先以先前报道的 Pep-10 为基础进行优化, 通过 BLI 测定其与 mKlotho 的结合亲和力, 并对其 N 端修饰和丙氨酸扫描, 确定了关键结合残基。随后, 通过肽段截断和 AS-MS 技术, 从聚焦库中筛选出高亲和性肽段, 如 K12、K17 和 K18。对 K18 进行的一系列实验表明, 它与 α -Klotho 的结合亲和力显著提高, 并且具有选择性。Pull-Down 实验证明 K18 能在细胞和组织裂解液中直接与 Klotho 结合, K18-TAMRA 可在细胞中对 Klotho 进行荧光标记。综上所述, 该研究通过多轮实验筛选和验证, 成功发现了高亲和性和选择性的 α -Klotho 识别肽段 K18, 并将其开发为荧光标记试剂, 为 α -Klotho 的研究提供了重要工具。

文中使用 Gator BLI 实现了众多检测目的: (1) 结合亲和力测定: 直接结合实验: 通过固定化肽 (如 Pep-10-Biotin) 与 Klotho 的结合动力学, 直接测定亲和力 K_D 值 (如 Pep-10 的 K_D 为 2.3 μ M, K18 的 K_D 为 1.0 nM)。(2) 竞争性结合实验: 评估未标记肽 (如 K18) 与固定化肽竞争结合 Klotho 的能力, 确定竞争性 K_D 值 (如 K18 的竞争性 K_D 为 0.9 nM)。(3) 选择性验证: 验证 K18 对其他蛋白质 (如 MDM2、12CAS) 无结合, 确认其特异性。(4) 结合位点分析: 通过竞争性 BLI 实验, 证明 K18 与 FGF23 结合 Klotho 的位点相同, 确认其作用机制。(5) 跨物种结合能力验证: 测定 K18 对人类 α -Klotho (hKlotho) 的结合亲和力 ($K_D=1.5$ nM), 支持其潜在临床应用价值。



BLI 动力学实验思路:

1. 用 SA 探针先固化生物素化肽, 再与不同浓度的 Klotho 结合, 检测亲和力。
2. 用 Anti-HIS 探针先固化 FGF23, 再与不同浓度的 Klotho 结合, 检测亲和力。

BLI 竞争性实验思路: 预混法

1. 用 SA 探针先固化生物素化肽 Pep-10, 再与不同浓度的肽和 Klotho 混合物结合进行竞争性实验检测。
2. 用 Anti-HIS 探针先固化 FGF23, 再与不同浓度的肽和 Klotho 混合物结合进行竞争性实验检测。

参考文献

Zhang P, et al. Development of an α -Klotho Recognizing High-Affinity Peptide Probe from In-Solution Enrichment. JACS Au. 2024, 4, 1334–1344.

10 膜蛋白研究

10.1 Nanodiscs

Science Signaling

PI(4,5)P₂-stimulated positive feedback drives the recruitment of Dishevelled to Frizzled in Wnt-catenin signaling

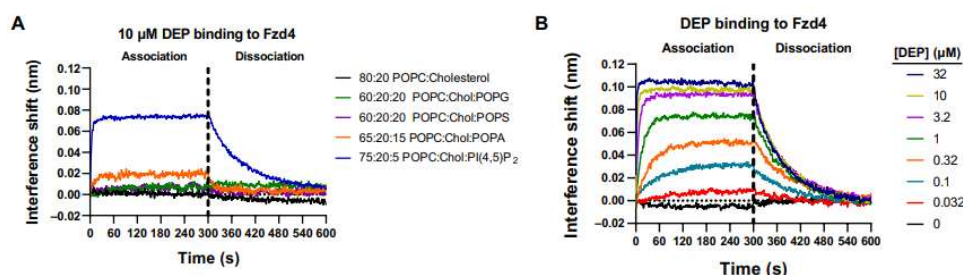
William I. Weis 等，斯坦福大学医学院

关键词：纳米磷脂盘， β -连环蛋白，膜蛋白

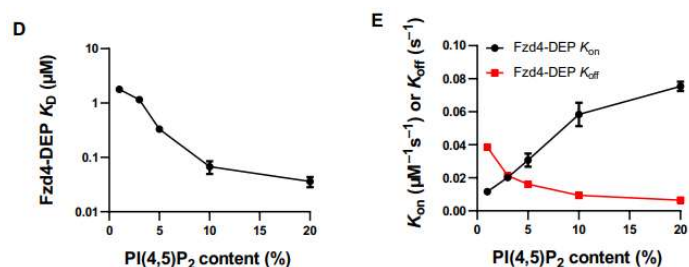
转录共激活因子 β -连环蛋白 (β -catenin) 控制细胞分化和组织再生，失调的 β -catenin 信号传导可导致多种疾病。在无 Wingless/Int1 (Wnt) 分泌生长因子的情况下， β -catenin 结合在一个“破坏复合物”中，使其被泛素化和蛋白水解降解。Wnt 存在时，Wnt 与其共受体 Frizzled (Fzd) 和 LRP5/6 结合，通过募集胞质效应因子 Dishevelled (Dvl) 使 LRP5/6 磷酸化来抑制 β -catenin 的降解；其中 Dvl 是一种多功能支架蛋白，包含三个结构域：DIX、PDZ 和 DEP。

在该研究中利用 BLI 技术通过一系列相互作用实验研究了促进 Dvl 向质膜募集的因素，发现 Fzd 对 Dvl 的亲合力不受 Wnt 配体的影响，提出 Wnt 刺激的局部脂质磷脂酰肌醇 (PI) 4,5-二磷酸 [PI(4,5)P₂] 的产生增强了 Dvl 募集，进一步 PI(4,5)P₂ 的产生促进了 Dvl 聚合、LRP5/6 磷酸化和 β -catenin 稳定，从而以这种正反馈促进 Wnt- β -catenin 信号传导的结论。

文中通过 BLI 技术的具体实验方法是利用之前研究得到的重组的高密度脂蛋白颗粒 (Nanodiscs, 纳米磷脂盘)，将纯化的全长小鼠 Fzd4 插入其中，实验发现当 PI(4,5)P₂ 掺入纳米磷脂盘时，DEP 结构域与 Fzd4 的结合显著增强 (图 A&B)。



增加 PI(4,5)P₂ 的量同时也增强了 DEP 的结合并减缓了其解离，从而增加了 Fzd4-DEP 亲合力 (图 D&E)：含有 20% PI(4,5)P₂ 的磷脂盘，其 DEP 与 Fzd4 的结合亲合力 (K_D 约 40 nM) 比含有 1% PI(4,5)P₂ 的磷脂盘 (K_D 约 2 μ M) 高约 50 倍。



BLI 实验思路：

使用 SA 生物传感器先固化纳米磷脂盘（插入有 Fzd4/5/7）（30 nM，loading 高度 3 nm），再结合 DEP，检测 Fzd4/5/7 与 DEP 的结合亲合力。

参考文献

Mahoney, et al. PI(4,5)P₂-stimulated positive feedback drives the recruitment of Dishevelled to Frizzled in Wnt- β -catenin signaling. Science Signaling, 2022, 15, 748.

10 膜蛋白研究

10.2 靶向 GPCR 的小分子

international
journal of
molecular sciences

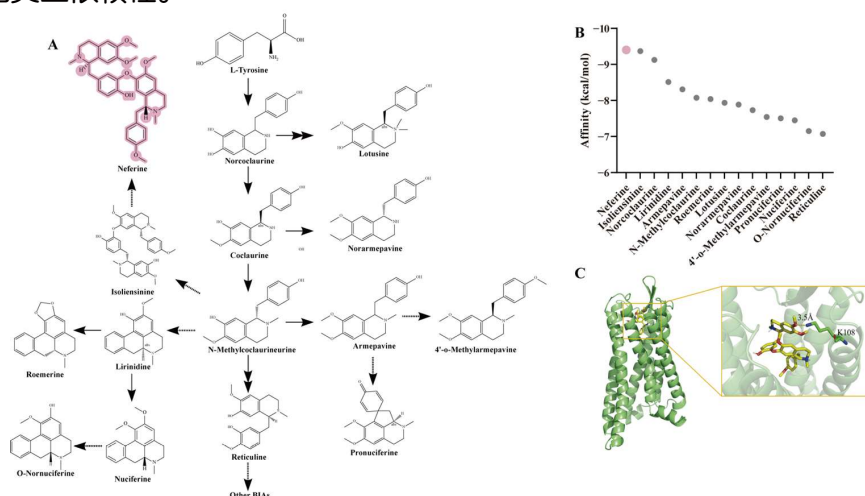
Identification of Neferine as a DOR Agonist Activating G_i and G_z Signaling: In Silico and In Vitro Studies

ShilinChen 等, 成都中医药大学

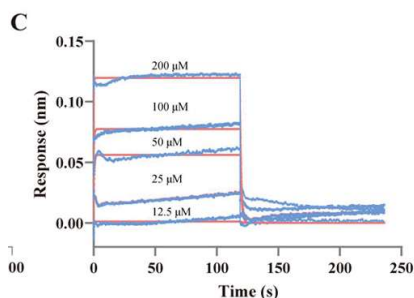
关键词: GPCR, DOR, Neferine

G 蛋白偶联受体 (GPCR) 是人体内最大的膜蛋白家族, 也是超过 30% 已上市药物的靶点, 其中研究发现 delta-opioid (DOR) 受体因其在神经保护和再生中的潜在作用, 成为神经系统疾病治疗的重要靶点。小分子中苯基异喹啉类生物碱 (BIAs) 具有多样的生物活性, 包括神经保护作用, 但其与 DOR 的结合研究较少。

研究人员通过计算机模拟和体外实验从莲子心 (Nelumbo nucifera) 来源的 BIAs 中, 成功筛选出天然 DOR 激动剂配体 Neferine, 为进一步研究其药理潜力提供了参考。具体研究流程包括: (1) 首先进行虚拟筛选, 通过分子对接从 15 种 BIAs 中筛选出 Neferine, 其对 DOR 的结合能最低 (-9.402 kcal/mol), 可与 DOR 的 K108 残基形成稳定氢键。(2) 接下来进行结合验证: 细胞膜色谱显示 Neferine 在 DOR 过表达细胞膜柱上有特异性保留; BLI 定量亲和力确认 Neferine 与 DOR 直接结合, $K_D=37.4$ μ M。(3) 接着验证功能激活: ONE-GO 生物传感器显示 Neferine 通过 DOR 选择性激活 $Gi2$ 、 $Gi3$ 和 Gz 蛋白; cAMP 实验证实 Neferine 剂量依赖性抑制 forskolin 诱导的 cAMP 积累, $EC_{50} = 0.25$ μ M。(4) 最后进行了转录组分析: Neferine 激活 DOR 后, 主要调控细胞周期、DNA 修复、自噬等基础稳态通路; 未直接富集到经典的神经保护相关通路, 提示 DOR 信号可能具有细胞类型依赖性。



文中使用 Gator BLI 首次定量证实了 Neferine 与 DOR 的直接结合, 亲和力 K_D 值为 37.4 μ M, 属于微摩尔级亲和力, 与许多天然产物对 GPCR 的结合特征一致。BLI 的结果与分子对接相互印证, 建立了“从虚拟筛选到功能验证”的桥梁, 确定了 Neferine 作为 DOR 配体的可靠性, 也为天然产物靶点确证提供了关键实验依据。



BLI 检测细胞裂解液 DOR 蛋白与小分子 Neferine 结合流程:

(1) 细胞接种, 转染 DOR 后 48h 收集细胞, 裂解使用 Anti-Flag 亲和胶富集 Flag-strep-DOR 蛋白并洗脱;

(2) 使用 Streptactin XT 探针固定裂解液中 Strep-DOR 蛋白, 再结合不同浓度的 Neferine, 得到结合动力学及亲和力数值。

参考文献

ShilinChen, et al, Identification of Neferine as a DOR Agonist Activating G_i and G_z Signaling: In Silico and In Vitro Studies. international journal of molecular sciences. 2026.

10 膜蛋白研究

10.3 去垢剂对 GPCR 的影响

Protein Science

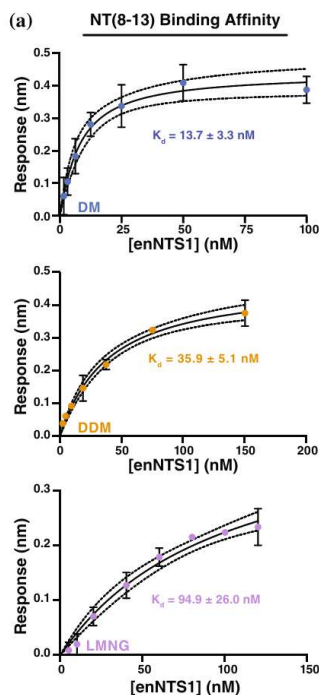
Stabilization versus flexibility: Detergent-dependent trade-offs in neurotensin receptor 1 GPCR ensembles

Joshua J. Ziarek 等, 美国印第安纳大学、西北大学等

关键词: GPCR, 去垢剂

GPCRs 是最大的膜蛋白家族, 也是重要的药物靶点, 但因其构象灵活、膜环境复杂, 纯化与结构解析困难。去垢剂是 GPCR 研究中最常用的膜模拟环境, 尤其是 LMNG 被广泛视为“金标准”, 因其能同时提高受体稳定性和支持高亲和力配体结合。然而去垢剂对受体的稳定作用究竟如何影响其构象自由度与配体结合能力? 是否存在“稳定性 vs 柔性”的权衡?

研究团队以热稳定化神经降压素受体 1 (enNTS1) 为模型, 对比了三种经典去垢剂 (DM, DDM, LMNG), 研究不同的去垢剂如何影响受体的稳定性以及与配体的结合能力。(1) 首先通过 Gator BLI, 检测了不同去垢剂中激动剂与受体的亲和力。结果发现 LMNG 被认为是最稳定的去垢剂但亲和力却最弱; (2) 利用圆二色谱检测二级结构稳定性, LMNG 中受体的二级结构热稳定性最高 ($T_m=82.4^{\circ}\text{C}$), DM 最低 ($T_m=50.4^{\circ}\text{C}$)。结合配体后所有去垢剂中稳定性均提高, 但配体诱导的稳定性增益 (ΔT_m) 在 LMNG 中最小 (仅 15.2°C), 在 DM 中最大 (26.0°C)。更关键的是 LMNG 中配体结合前后斜率几乎不变, 说明受体构象已被去垢剂“刚性化”, 配体几乎无法进一步稳定。(3) 用荧光标记的 NT(8-13) 检测受体在不同温度下能否结合配体, 结果与二级结构一致。(4) 为了解释这一现象, 作者提出一个简单的能量分配框架: $\Delta G_{\text{ligand}} + \Delta G_{\text{conf}}$ 。不同去垢剂中两者的相对比例不同, 在 LMNG 中, ΔG_{conf} 最大, ΔG_{ligand} 贡献最小。(5) 分子动力学模拟进一步证实, LMNG 在受体周围形成更致密、流动性更低去垢剂壳层, 增强了蛋白-去垢剂相互作用能, 同时限制了构象柔性。配体接触模式的重新分布, 特别是神经降压素 Y11 残基的相互作用变化, 进一步揭示了去垢剂依赖的结合口袋调控机制。



这项研究并非否定 LMNG 的价值——它在结构生物学中仍不可替代。但它提醒我们: 如果目标是高分辨率结构解析, LMNG 是优选, 它能锁定受体, 便于结晶或冷冻电镜。如果目标是研究构象动态、激活机制或配体诱导变化, 过度稳定的去垢剂可能掩盖关键状态, 选择 DM 或 DDM 等较柔性环境更合适。

Gator BLI 检测流程:

将 His 标签标记的 NT(8-13) 配体固定在 Ni-NTA 生物传感器上, 将不同浓度的受体 (在对应去垢剂中) 与传感器结合, 记录结合曲线, 通过稳态分析拟合出亲和力常数。

参考文献

Joshua J. Ziarek, et al, Stabilization versus flexibility: Detergent-dependent tradeoffs in neurotensin receptor 1 GPCR ensembles. Protein Science. 2026.

11 表观遗传学

11.1 代谢物调控基因转录

Genome Biology

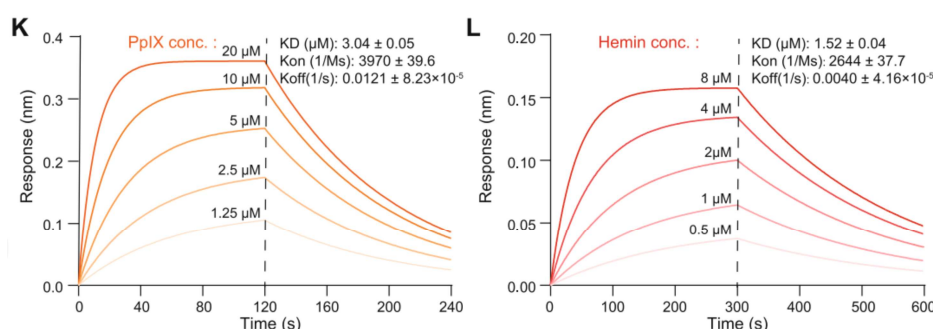
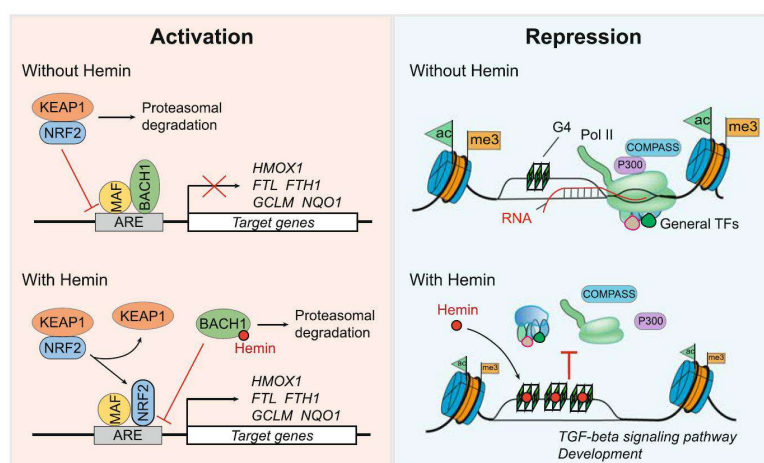
G-quadruplexes sense natural porphyrin metabolites for regulation of gene transcription

梁凯威等，武汉大学

关键词：G-四链体，小分子代谢物，表观遗传修饰

细胞内的代谢物可以调控基因转录和表观遗传修饰。本研究建立了天然卟啉类代谢物在染色质上分布的全基因组检测方法，揭示了 G-四链体作为天然卟啉类代谢物感受器的功能，阐明了 G-四链体介导的代谢物调控基因转录以及组蛋白修饰的新机制，不仅加深了对 G-四链体功能的理解，还为代谢小分子参与基因转录和表观遗传调控的机制研究提供了新思路。

研究人员首先利用生物膜干涉技术测定了卟啉类代谢物血红素（Hemin）及原卟啉（PpIX）与 G-四链体的直接结合，并通过靶向代谢组学技术检测了血红素及原卟啉在不同细胞内的分布及含量，发现血红素分布在染色质组分。利用其它方法发现血红素结合位点与 20-30% 的 G-四链体重叠，并且血红素能够快速促进细胞内这些重叠的 G-四链体的形成，抑制血红素结合的基因启动子区域的转录起始，减少组蛋白 H3K4me3 以及 H3K27ac 修饰，表明了卟啉类代谢物在基因转录调控以及组蛋白修饰调控中的作用。进一步的研究发现，G-四链体的状态与已报道的经典的血红素-BACH1-NRF2 调控的增强子激活无关，说明血红素-G-四链体的转录调控途径有别于经典的转录因子介导的转录调控途径。



BLI 实验思路：

文章利用 Gator® 检测分子互作，实验流程非常简单：一根 SMAP 生物传感器固化生物素化的 G-四链体核酸，分别结合从低浓度至高浓度的 PpIX/Hemin，再用一根生物传感器进行 reference 扣除，2 根生物传感器进行非特异实验，完成双扣除，大大降低使用成本。

参考文献

Conghui Li, Zhinang Yin, et al. G-quadruplexes sense natural porphyrin metabolites for regulation of gene transcription and chromatin landscapes. *Genome Biology*, 2022, 23: 259.

11 表观遗传学

11.2 组蛋白乙酰化

Nature

TNRC18 engages H3K9me3 to mediate silencing of endogenous retrotransposons

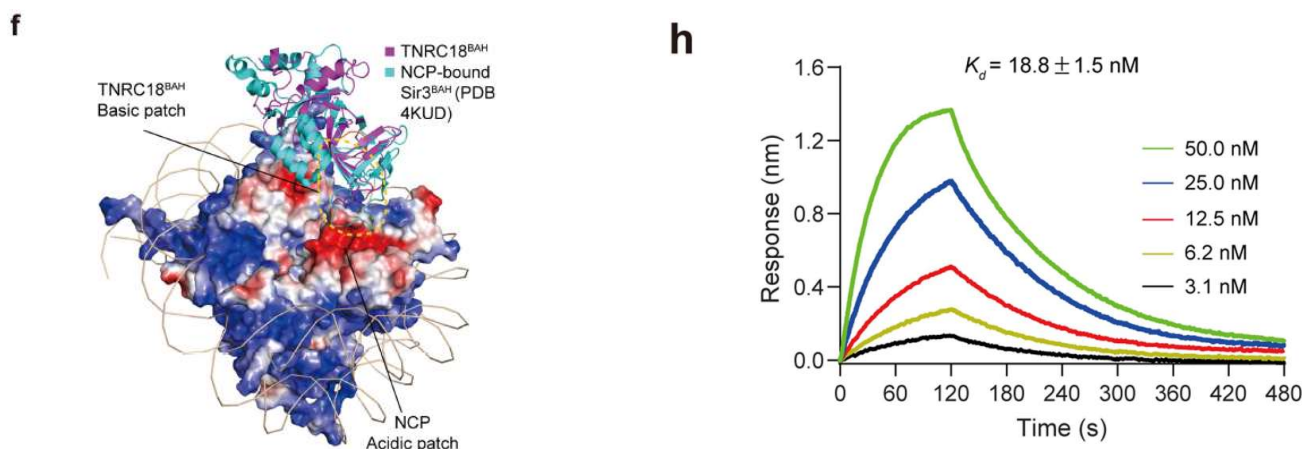
G Greg Wang 等, 杜克大学

关键词: TNRC18, H3K9me3, 核小体

该研究首次报道了一类 ERV 元件特异的 H3K9me3 识别蛋白 TNRC18。TNRC18 是一种 H3K9me3 特异性“阅读器”，通过结合 H3K9me3 介导内源逆转录转座子的沉默，并对宿主基因组完整性、转录调控、免疫和发育产生重大影响。

在此之前，TNRC18 是一种了解较少的染色质调节因子，它识别 H3K9me3 来调控 ERV1 元件（例如 LTR12）的沉默。H3K9me3 对于基因抑制和异染色质形成的调节、细胞命运决定和生物体的发育至关重要。生化、生物物理和结构研究确定了 TNRC18 的 C 端 BAH 结构域——TNRC18 (BAH) 是一种 H3K9me3 特异性“阅读器”。此外，TNRC18 的 N 端是直接招募协同抑制因子（例如 HDAC-Sin3-NCOR 复合物）的平台，从而加强对 H3K9me3 标记的 ERV 的最佳抑制。

点突变破坏了 TNRC18 (BAH) 介导的 H3K9me3 结合，导致新生小鼠死亡，并在多种哺乳动物细胞模型中导致内源逆转录病毒（ERV）表达下调，这影响了顺式调控元件的布局，从而影响了基因表达程序。



使用 Gator® 仪器进行 BLI 测试获得的体外实验结果表明：TNRC18-BAH 与含有组蛋白 H3K9（H3K9me3）的核小体亲和力可以达到约 18.8 nM。

BLI 实验思路：

SA 光纤生物传感器先固化 biotin 标记的 H3K9me3-modified NCP，再结合不同浓度的 TNRC18-BAH，10 分钟内即可完成互作检测。

参考文献

Shuai Zhao, Jiuwei Lu et al. TNRC18 engages H3K9me3 to mediate silencing of endogenous retrotransposons. Nature. 2023.

11 表观遗传学

11.3 核糖体蛋白乙酰化

Nucleic Acids Research

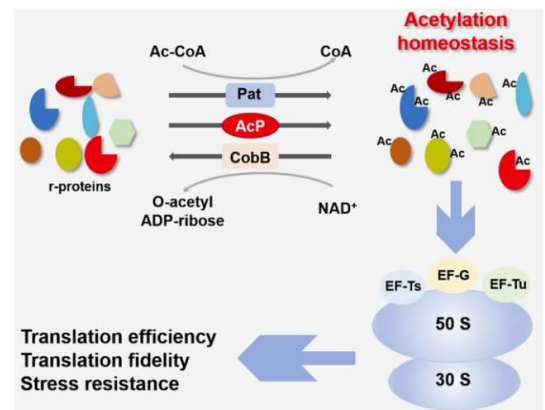
Global profiling of ribosomal protein acetylation reveals essentiality of acetylation homeostasis in maintaining ribosome assembly and function

姚玉峰, 范永强等, 上海交通大学, 东北大学

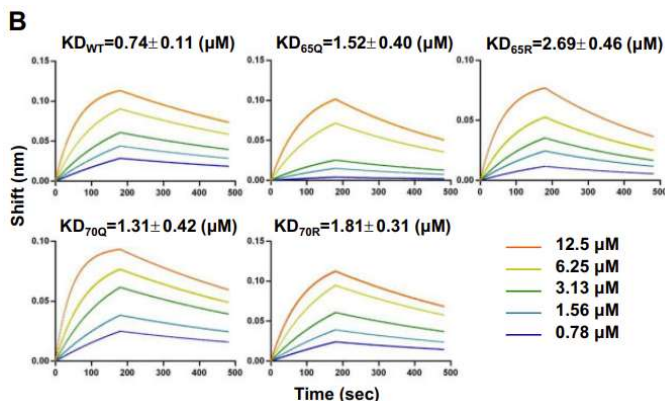
关键词: r-蛋白, 乙酰化, 翻译

乙酰化是一种全局性的翻译后修饰 (PTM), 在调节原核生物和真核生物的细胞过程中起着至关重要的作用。核糖体是将 mRNA 翻译成蛋白质的重要细胞机器, 也是抗生素的常见靶标, 许多临床上重要的抗生素, 如氨基糖苷类、氯霉素类、四环素类和大环内酯类, 可靶向延长周期。细菌乙酰化组学研究揭示了核糖体蛋白的广泛乙酰化。然而, 目前蛋白质合成的效率和保真度的调控尚不完全清楚, 乙酰化在调节核糖体功能中的作用也仍然知之甚少。

在该研究中系统地分析了鼠伤寒沙门菌核糖体蛋白 (r-蛋白) 的乙酰化修饰, 并在 52 个 r-蛋白中共鉴定出 289 个乙酰化赖氨酸残基。研究发现, 乙酰化通过调节 r-蛋白与 rRNA 的结合, 在成熟的 70S 核糖体复合物的组装中起着至关重要的作用。此外, 适当的乙酰化对于延伸因子与多聚核糖体的相互作用, 以及调节核糖体翻译效率和保真度也很重要。乙酰化的失调可以改变细菌对核糖体靶向抗生素的敏感性。



文中通过质谱发现核糖体蛋白 L7/L12 中的 K65 和 K70 可以被 Pat 和 AcP 乙酰化, 另外通过蛋白质印迹发现, L7/L12 中 K65 或 K70 的突变 (K 至 Q 或 K 至 R 突变) 会降低与翻译延伸因子的结合。进一步通过 Gator[®] BLI 测定了核糖体蛋白 (r-蛋白) WT L7/L12 及其突变体与翻译延伸因子 (EF-Tu) 的结合亲和力。结果发现, WT L7/L12 和 EF-Tu 之间的平衡解离常数 (K_D) 值为 $0.74 \pm 0.11 \mu\text{M}$, 而突变体 65Q、65R、70Q 和 70R 与 EF-Tu 的 K_D 分别为 1.52 ± 0.40 、 2.69 ± 0.46 、 1.31 ± 0.42 和 $1.81 \pm 0.31 \mu\text{M}$ 。即 r-蛋白突变体与 EF-Tu 的结合明显弱于 WT L7/L12。这些结果表明, r-蛋白的乙酰化状态对于调节其与翻译延伸因子的结合至关重要, L7/L12 K65 和 K70 的乙酰化与核糖体与 EF-Tu 的结合、翻译效率和保真度有关。



BLI 实验思路:

Gator[®] 采用 BLI 技术可以非常方便、快速的检测核糖体蛋白和翻译延伸因子的亲和力, 具体流程是使用 SA 光纤生物传感器固化生物素标记的 EF-Tu, 再结合不同浓度的 r-蛋白 WT L7/L12, 以及突变体, 仅需花费不到 2 个小时就可以完成 5 对分子互作亲和力对比。

参考文献

Yongqiang Fan, Jie Lu, Yu-Feng Yao, et al. Global profiling of ribosomal protein acetylation reveals essentiality of acetylation homeostasis in maintaining ribosome assembly and function. Nucleic Acids Research. 2023.

11 表观遗传学

11.4 蛋白-核小体

Nature Communications

Structural basis for the H2AK119ub1-specific DNMT3A-nucleosome interaction

宋吉奎、王刚教授等，加州大学河滨分校、杜克大学

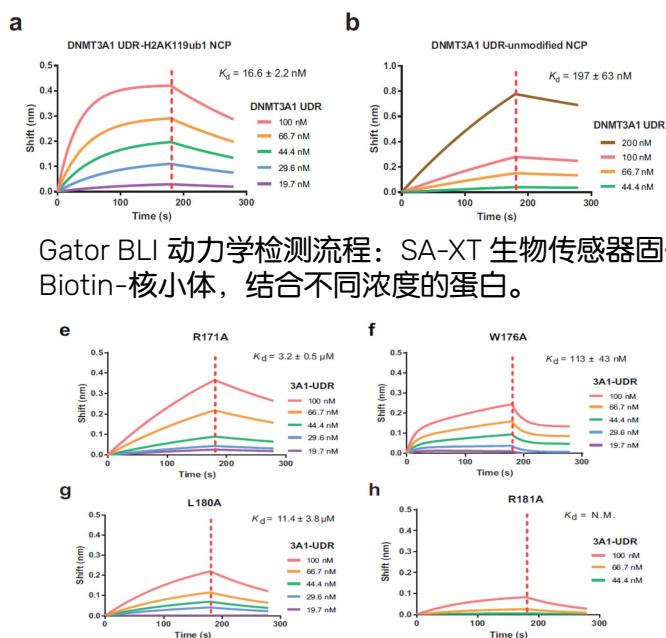
关键词：DNMTs（DNA 甲基转移酶），表观遗传，核小体互作

该研究通过解析 DNMT3A1 与 H2AK119ub1 修饰核小体复合物的冷冻电镜结构，揭示了 DNA 甲基转移酶 DNMT3A1 识别和结合具有 H2AK119ub1 标记的核小体的分子机制。该研究发现，DNMT3A1 的尿嘧啶依赖招募区（UDR）通过与核小体上 H2A-H2B 酸性区域、H2A C 端片段以及 H3 二聚体界面的相互作用，在 H2AK119ub1 的介导下，特异性地结合到核小体上。文中利用 Gator BLI 得到大量数据，验证了这些互作对 DNA 甲基化活性的影响，并且展示了 DNMT3A1 UDR 与 JARID2（一个组蛋白 H3K27me3 印记复合体的成分）之间在结合 H2AK119ub1 核小体上的竞争关系，从而解释了 DNA 甲基化与 H3K27me3 印记之间的调控动态。这项工作不仅深化了我们对 DNA 甲基化调节机制的理解，也为开发针对 DNMT3A 相关疾病的治疗策略提供了新的思路。

1. 利用 Gator BLI 检测得到 DNMT3A1 UDR 结合 H2AK119ub1-modified NCP ($K_D = 16.6 \text{ nM}$)，相比与未修饰的 NCP ($K_D = 197 \text{ nM}$)，亲和力强了接近 12 倍。证明 DNMT3A1 N 端 UDR 以 H2AK119ub1-specific 的方式与核小体相互作用，从而影响 DNA 甲基化。

2. 利用 Gator BLI 结果支持观察到的 DNMT3A1 UDR 与核小体的 H2A-H2B 酸性补丁之间的相互作用。与野生型 (WT) DNMT3A1 UDR 相比，UDR 突变体 R171A、W176A 和 L180A 与 H2AK119ub1-modified NCP 的结合显著受损，测得的亲和力降低了。此外，将 R181A 突变引入 DNMT3A1 的 UDR 几乎完全消除了与 H2AK119ub1-modified NCP 的相互作用。

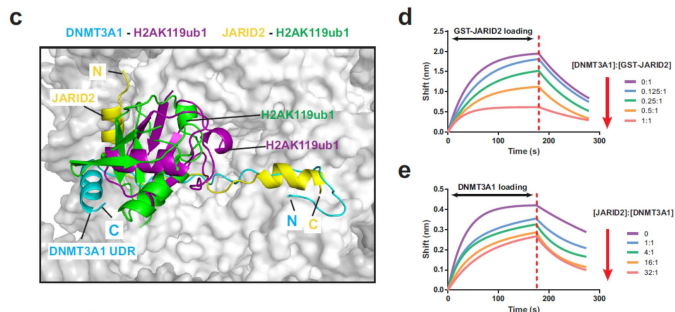
3. 利用 Gator BLI 竞争性实验揭示了 DNMT3A1 UDR 和 JARID21-60 竞争性结合 H2AK119ub1 修饰的核小体。



Gator BLI 动力学检测流程：SA-XT 生物传感器固化 Biotin-核小体，结合不同浓度的蛋白。

Gator BLI 竞争实验检测流程：

- (1) SA-XT 生物传感器固化 Biotin-核小体，结合不同浓度的 DNMT3A1 蛋白，再结合同一浓度 JARID2，看信号差异。
- (2) SA-XT 生物传感器固化 Biotin-核小体，结合不同浓度的 JARID2 蛋白，再结合同一浓度 DNMT3A1，看信号差异。



参考文献

JikuiSong, et al. Structural basis for the H2AK119ub1-specific DNMT3A-nucleosome interaction. 2024.

12 植物研究

12.1 细胞自噬

Autophagy

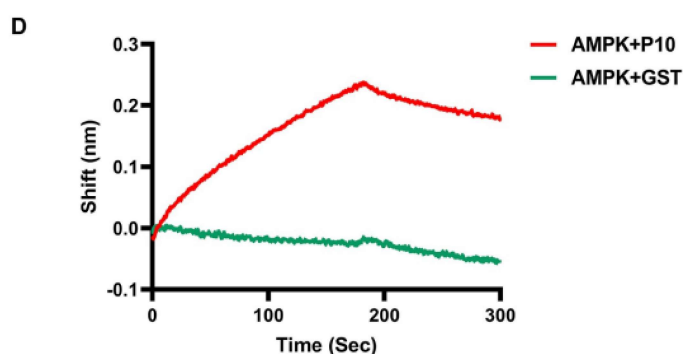
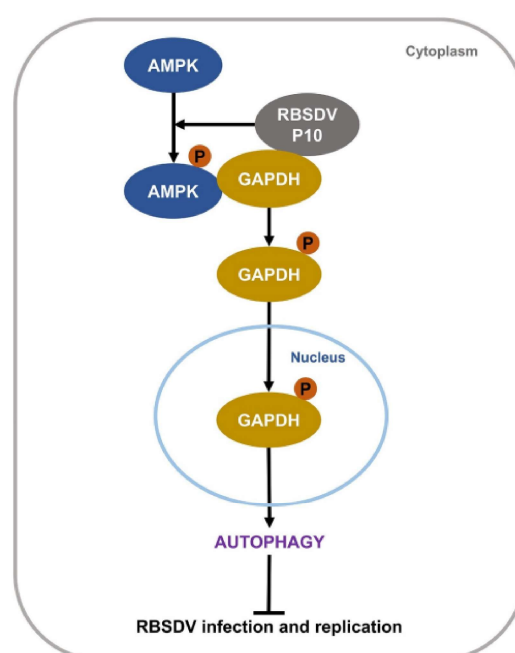
Rice black-streaked dwarf virus P10 promotes phosphorylation of GAPDH (glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase) to induce autophagy in *Laodelphax striatellus*

吴建祥等，浙江大学

关键词：水稻黑条矮缩病毒，灰飞虱细胞，GAPDH，细胞自噬

植物病毒是严重危害作物生产的重要病原。其中由灰飞虱传播的水稻黑条矮缩病毒（rice black-streaked dwarf virus, RBSDV）是禾本科作物上的最重要病毒病原之一，其侵染水稻引起水稻黑条矮缩病，侵染玉米引起玉米粗缩病，侵染小麦引起小麦绿矮病，每年造成我国粮食作物产量的巨大损失。揭示病毒的传播机制对作物病毒病的防控具有十分重要的意义。

该研究结果揭示了 RBSDV 引起传毒介体灰飞虱细胞自噬的分子机制。研究发现，RBSDV 侵染早期能诱导灰飞虱细胞发生自噬，激活灰飞虱体内自噬通路能够抑制 RBSDV 的侵染和复制。进一步研究发现仅病毒编码的主要衣壳蛋白 P10 就能引起灰飞虱和 Sf9 细胞自噬。通过 BLI 等一系列实验结果表明，RBSDV 侵染或 RBSDV P10 能引起 AMPK 磷酸化，磷酸化的 AMPK 能进一步磷酸化 GAPDH，磷酸化的 GAPDH 进核并与 Sir1 互作从而激活自噬。本研究解析了 RBSDV 侵染介体昆虫引起自噬的分子机制，有助于深入了解该病毒与传毒介体的互作关系，并为该病毒病的防控提供新的思路 and 策略。



BLI 实验思路：

文中利用基于 BLI 技术的 Gator® 检测了 RBSDV P10 与 AMPK 的结合，表明 RBSDV P10 可单独促进 AMPK 的磷酸化。具体实验流程：使用 Anti-His 生物传感器先固化 His-AMPK，再结合 GST-P10（20 μg/mL）。

参考文献

Qi Wang, Lina Lu et al. Rice black-streaked dwarf virus P10 promotes phosphorylation of GAPDH (glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase) to induce autophagy in *Laodelphax striatellus*. *Autophagy*, 2022.

12 植物研究

12.2 拟南芥抑制剂

The Plant Cell

Structure-based virtual screening identifies small molecule inhibitors of O-fucosyltransferase SPINDLY in Arabidopsis

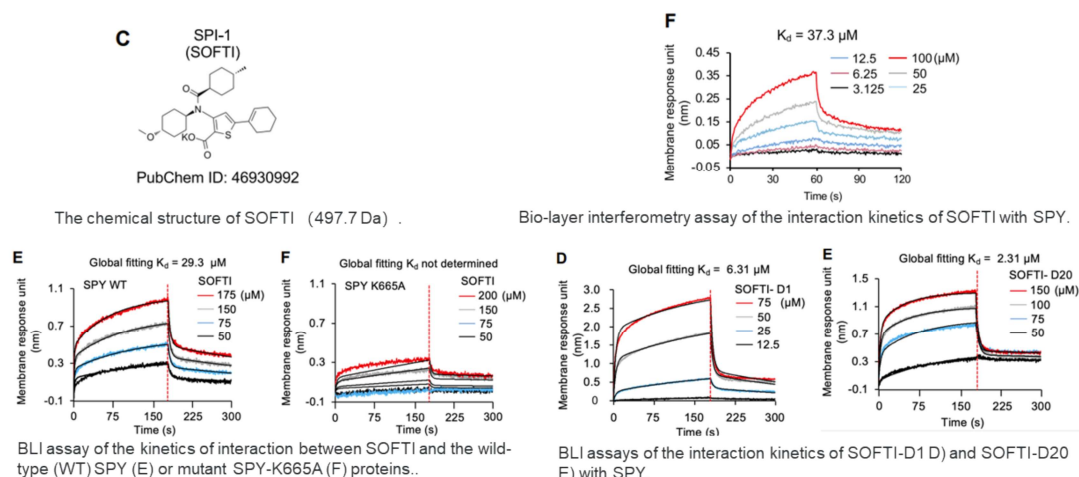
Zhi-Yong Wang 等，斯坦福大学，南方科技大学

关键词：蛋白糖基化，SPY，小分子抑制剂

蛋白质糖基化在植物糖信号转导对维持细胞内稳态以及生长发育调控至关重要。蛋白质 O-糖基化 (O-glycosylation) 是糖信号转导的关键机制。在拟南芥中，SPINDLY (SPY) 及其同源蛋白 SECRET AGENT (SEC) 分别介导细胞内蛋白的岩藻糖 (O-fucose) 和乙酰葡萄糖胺 (O-GlcNAc) 糖基化修饰。开发靶向 SPY 或 SEC 的小分子抑制剂将有助于用可逆的方式对 SPY 或 SEC 的功能进行调节进而研究其功能。

该研究利用 AlphaFold 预测的蛋白结构对小分子库进行虚拟筛选，结合体外互作和酶活实验鉴定到了一个岩藻糖转移酶 SPY 的小分子抑制剂 SOFTI (SPY O-fucosyltransferase inhibitor)。作者通过生物化学、分子生物学、遗传学以及分子动力学手段阐明了 SOFTI 抑制效果的分子机理，并证明了该化合物能有效降低核蛋白的整体岩藻糖修饰水平，为人工干预 SPY 介导的蛋白质糖基化提供了重要的工具。

文中研究人员首先借助计算机对 AlphaFold 预测的 SPY 蛋白结构开展了 13,000 余个小分子化合物的虚拟分子对接。接着使用 BLI 等方法基于预测的结合常数和结合模式选取了 130 个化合物进行了候选化合物与 SPY 蛋白互作和结合常数的湿实验评价，最终选定 SOFTI 作为先导化合物进行后续研究。进一步通过 BLI 测试 SOFTI 与野生型 SPY WT 和突变型 SPY K665 结合，验证了 SOFTI 与 SPY 活性位点的保守残基相互作用。随后，研究人员还搜索了市面上与 SOFTI 拥有相似化学骨架的化合物，使用 BLI 对其中虚拟筛选打分较高的 22 种候选化合物进行体外活性抑制测试，发现 SOFTI-D1 和 SOFTI-D20 能够以相较于 SOFTI 更高的亲和力与 SPY 互作，且表现出更好的体内和体外抑制 SPY 的活性。



BLI 实验思路:

Gator® 采用 BLI 技术可以非常方便、快速的检测蛋白与小分子化合物亲和力，具体流程：使用 SMAP 光纤生物传感器固化蛋白 SPY，再结合小分子化合物 SOFTI (约 497.7 Da) (0-100 μM)，得到具体亲和力值。

参考文献

Yalikunjiang Aizezi, Kai Jiang, Zhi-Yong Wang, et al. Structure-based virtual screening identifies small-molecule inhibitors of O-fucosyltransferase SPINDLY in Arabidopsis. The Plant Cell. 2023.

12 植物研究

12.3 细胞内复制遗传机制

Nature Communications

The CIN-TCP transcription factors regulate endocycle progression and pavement cell size by promoting cell wall pectin degradation

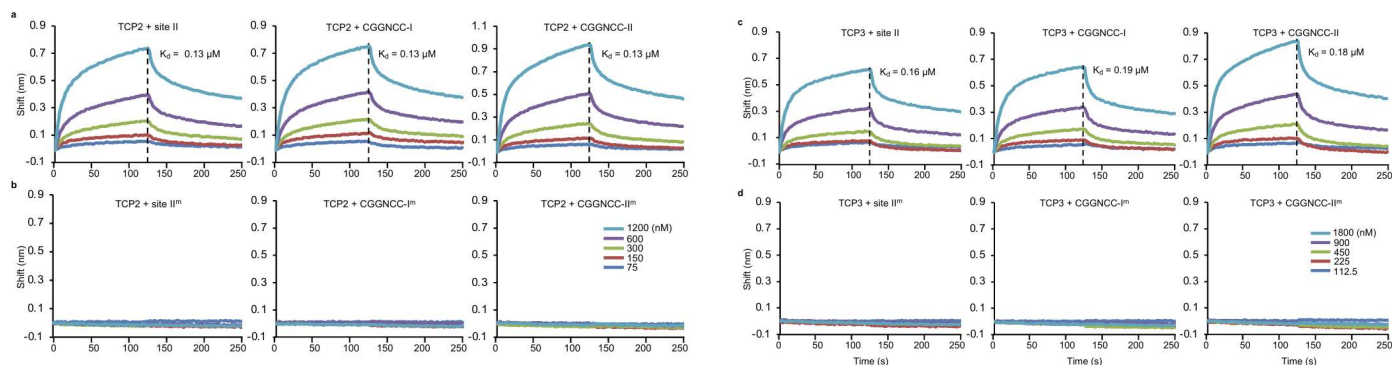
Lei Li 等, 北京大学现代农业研究院

关键词: CIN-TCP 转录因子, 果胶降解酶 PGL1

在植物中, 细胞体积的扩大与内复制 (endocycle) 密切相关——这一过程中, 细胞核 DNA 不断复制但跳过有丝分裂, 导致倍性 (ploidy) 逐步升高 (如 $8C \rightarrow 16C \rightarrow 32C$)。与此同时, 细胞壁的动态重塑 (如果胶降解) 被认为是细胞扩张的关键驱动力。然而, 内复制进程如何与细胞壁代谢协同调控细胞体积, 一直是植物生物学领域的未解之谜。

本文研究揭示了 CIN-TCP 转录因子通过激活果胶降解酶 PGL1, 驱动内复制进程并促进细胞扩张的分子机制。具体核心发现包括: (1) CIN-TCP 缺失导致果胶堆积, 阻碍内复制。CIN-TCP 直接调控聚半乳糖醛酸酶基因 PGL1 的表达, 而 PGL1 的缺失会加剧果胶积累并抑制细胞扩增。(2) PGL1 过表达逆转表型, 证实果胶降解的关键作用。PGL1 通过降低果胶聚合度 (分子量) 和总量, 软化细胞壁, 为细胞扩张提供机械力支持。(3) 内复制进程与果胶代谢独立于起始调控。单纯阻滞起始阶段不影响果胶含量, 凸显果胶特异性调控内复制进程的独特性。该研究不仅揭示了细胞壁力学性质与核内事件 (如倍性变化) 的跨膜协调机制, 还为作物遗传改良提供了新思路: 靶向 CIN-TCP-PGL1 通路, 可优化植物细胞扩增, 提高生物量或果实大小。

为明确 CIN-TCP 如何激活 PGL1, 文中利用 Gator BLI, 对 TCP2/TCP3 蛋白与 PGL1 启动子的结合动力学进行了精准量化: TCP2/TCP3 与 PGL1 DNA 的结合亲和力 K_D 达 $0.1 \mu M$ 级, 而突变结合位点后亲和力显著丧失。即结果证实 CIN-TCP 通过直接结合 PGL1 启动子的 CGGNCC 顺式元件, 激活其转录, 这为机制探索提供了关键证据。



BLI 实验思路:

Gator® BLI 检测 TCP2/TCP3 与 PGL1 DNA 的结合亲和力:

使用 SA 探针先固化 biotin-DNA, 再结合不同浓度的 TCP2/TCP3 蛋白, 得到其结合动力学和具体亲和力数值。

参考文献

Lei Li, et al. The CIN-TCP transcription factors regulate endocycle progression and pavement cell size by promoting cell wall pectin degradation. Nature Communications. 2025.

12 植物研究

12.3 细胞分裂调控机制

nature plants

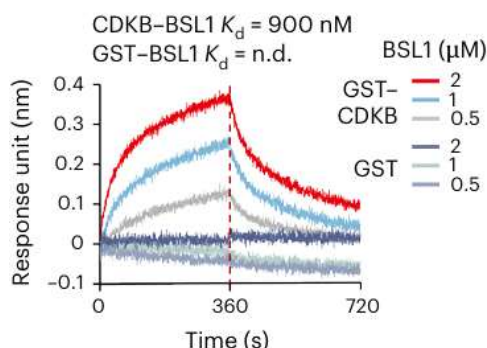
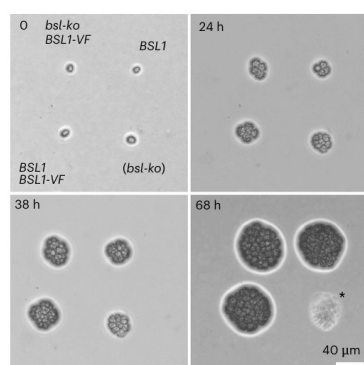
Mitotic entry is controlled by the plant-specific phosphatase BSL1 and cyclin-dependent kinase B

Zhi-Yong Wang 等，斯坦福卡内基研究所

关键词：BSL1 磷酸酶，CDKB，细胞有丝分裂

在动物和真菌细胞中，当 DNA 受到损伤或者未完成复制时，细胞周期调控的关键激酶 (CDK) 被磷酸化失活，从而阻止细胞进入有丝分裂。当细胞完成 DNA 修复和复制时，CDC25 对 CDK 磷酸化启动细胞进入有丝分裂。CDC25 缺失会导致细胞 DNA 复制后无法进入有丝分裂。然而如何调控细胞跨过检查点使细胞进入分裂期是植物细胞生物学的一大谜题。

研究团队发表研究论文，揭示了植物特有的 BSL1 磷酸酶通过去磷酸化 CDKB 调控细胞分裂的新机制。研究人员发现蓝衣藻 BSL1 磷酸酶的突变 (bsl1-1) 造成细胞在 DNA 复制完成后无法正常地进入有丝分裂。对野生型蓝衣藻和 bsl1-1 突变体进行了磷酸蛋白质组学分析，并发现在 bsl1-1 中，CDKB 的一个保守肽段的苏氨酸 14 (Thr14) 和酪氨酸 15 (Tyr15) 位点磷酸化显著增加。随后研究人员纯化了 CDKB 和 BSL1 并通过生物膜干涉实验证明了他们存在直接的互作，同时从植物中免疫沉淀得到的磷酸化形式的 CDKB 可以在体外被 BSL1 直接去磷酸化。研究人员通过将这两个位点突变成模拟磷酸化的谷氨酸 (Glc) 和天冬氨酸 (Asp) 证明了磷酸化抑制 CDKB 的功能。而当这两个位点突变成不能被磷酸化的丙氨酸和苯丙氨酸时，细胞能在培养基上生长，但对 DNA 合成抑制剂超敏感，说明 CDKB 的磷酸化对 DNA 复制未完成时推迟细胞分裂是必须的。



BLI 实验思路:

Anti-GST 探针固化 GST-CDKB 或 GST 空载标签，结合不同浓度的 BSL1 蛋白，得到亲和力 K_D 值为 900 nM。

这些研究结果阐明，与真菌和动物类似，植物细胞分裂也受 Thr14 和 Tyr15 磷酸化控制，用 BSL1 催化 CDKB 去磷酸化来启动有丝分裂，这一发现填补了植物中细胞分裂调控的空白，为植物细胞进入分裂期的调控机制提供了新的见解。

参考文献

Zhi-Yong Wang, et al. Mitotic entry is controlled by the plant-specific phosphatase BSL1 and cyclin-dependent kinase B. *nature plants*. 2025.

13 核酸相关研究

13.1 microRNA

Molecular Therapy

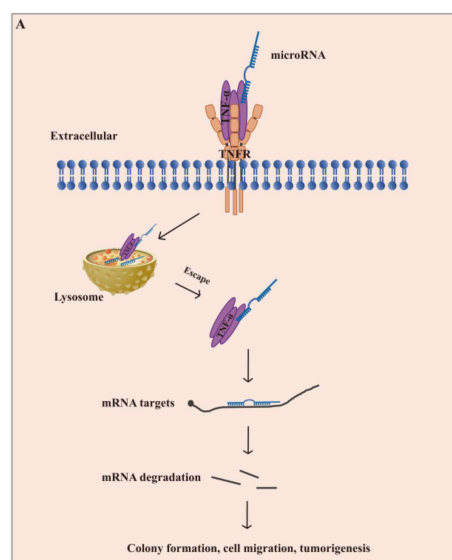
Tumor necrosis factor alpha delivers exogenous inflammation-related microRNAs to recipient cells with functional targeting capabilities

Ningsheng Shao 等, 军事医学研究院

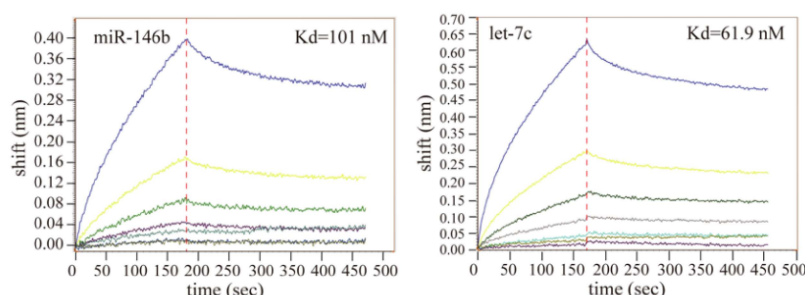
关键词: TNF- α , microRNA, RNA 递送

肿瘤坏死因子 α (TNF- α) 是广泛存在于肿瘤和感染性疾病中的一种关键的促炎细胞因子。军科院科研团队首次表明 TNF- α 在体外和体内均可特异性结合某些细胞内或循环炎症相关的 microRNAs。TNF- α 与 microRNAs 的结合位点位于 TNF- α 的 N 端和 microRNAs 的 3'-GGUU 基序。TNF- α 可以通过 TNF- α 受体 (TNFRs) 将外源性未修饰的单链 microRNAs 递送到受体细胞中, 并稳定其不被细胞中的 Rnase 降解。

通过 TNF- α 递送到 HCT116 细胞中的外源性 miR-146a 或 let-7c 可以从溶酶体中逃逸并特异性下调其靶基因, 从而影响体外细胞增殖和迁移, 以及体内肿瘤发生。基于上述发现, 提出了“非共轭配体介导的 RNA 递送 (ncLMRD)”的概念, 这可能成为未来治疗性 microRNA 递送的一种有前景的策略。



通过 Gator® 可以快速检测 rTNF- α 与 microRNAs 的结合, 对能与 rTNF- α 结合的 microRNAs 进行筛选; 进一步研究中, 可以利用 BLI 技术探索 TNF- α 与 microRNA 结合的关键氨基酸以及特异性序列。



BLI 实验思路:

将不同的 microRNAs 标记 biotin 后固化到 SA 生物传感器上, 再与 TNF- α 进行结合与解离, 即可快速获得动力学常数。

参考文献

Yuechao Zhao, et al. Tumor necrosis factor alpha delivers exogenous inflammation-related microRNAs to recipient cells with functional targeting capabilities[J]. Molecular Therapy, 2022 Sep 7; 30(9).

13 核酸相关研究

13.2 核酸适配体

Talanta

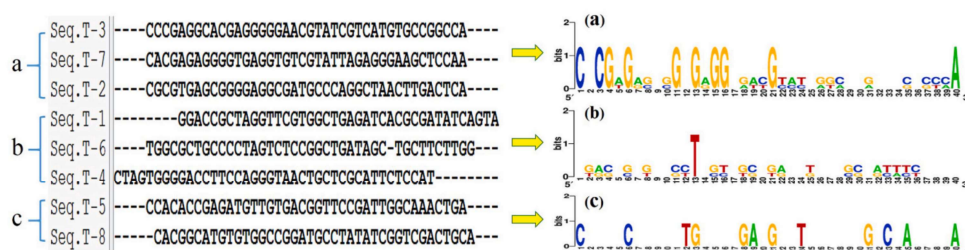
Selection and characterization of an ssDNA aptamer against thyroglobulin

屈峰等：北京理工大学

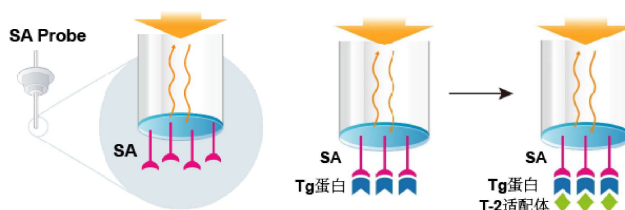
关键词：甲状腺球蛋白 (Tg)，单链 DNA 适配体

甲状腺球蛋白 (Tg)，是甲状腺癌的诊断及术后检测的标志物。如果切除甲状腺后患者的 Tg 水平再次升高，代表患者可能会复发。由于 Tg 是一种分子量较大的糖蛋白 (约 660 kDa)，其对应的高特异性捕获抗体的选择较为复杂，且抗体制备时间长、成本高。而单链 DNA (ssDNA) 适配体作为一种广泛应用的“化学抗体”，其具有良好的亲和力和选择性等优点。

在该研究中通过毛细血管 (CE) 指数富集 (SELEX)：CE-SELEX 技术，经过两轮筛选，得到 8 个抗 Tg 的 ssDNA 适配体。从它们中通过 NECEEM 确定选择了解离常数 (k_{off}) 为 $3.18 \mu\text{M}$ 的高亲和力 Seq.T-2 作为最终 Tg 适配体，并进行一系列表征。



文章具体研究流程：适配体选择 (通过 CE-SELEX) → 高通量测序 HTS (基于 Illumina 平台) 和亲和力表征 (由 NECEEM 确定) → 亲和力确认 (通过 AuNPs 比色测定和 BLI 测定) → 模拟预测 Seq.T-2 和 Tg 的结合位点 (通过 MD 计算机方法模拟) → 基于适配体的 Tg 检测 (基于 CE 的检测)



BLI 实验思路：

文中是通过使用 Gator® 验证了所选适配体 Seq.T-2 的亲和力 $K_D = 4.51 \text{ nM}$ 。

具体流程为使用 SA 生物传感器固化生物素化 Tg 蛋白，再与不同浓度的 T-2 适配体进行亲和力测定。

参考文献

Zhu C, Li L, Fang S, et al. Selection and characterization of an ssDNA aptamer against thyroglobulin[J]. Talanta, 2021, 223(Pt 1): 121690.

13 核酸相关研究

13.3 RNA - 蛋白相互作用研究

Journal of Virology

The subgenomic flaviviral RNA suppresses RNA interference through competing with siRNAs for binding RISC components

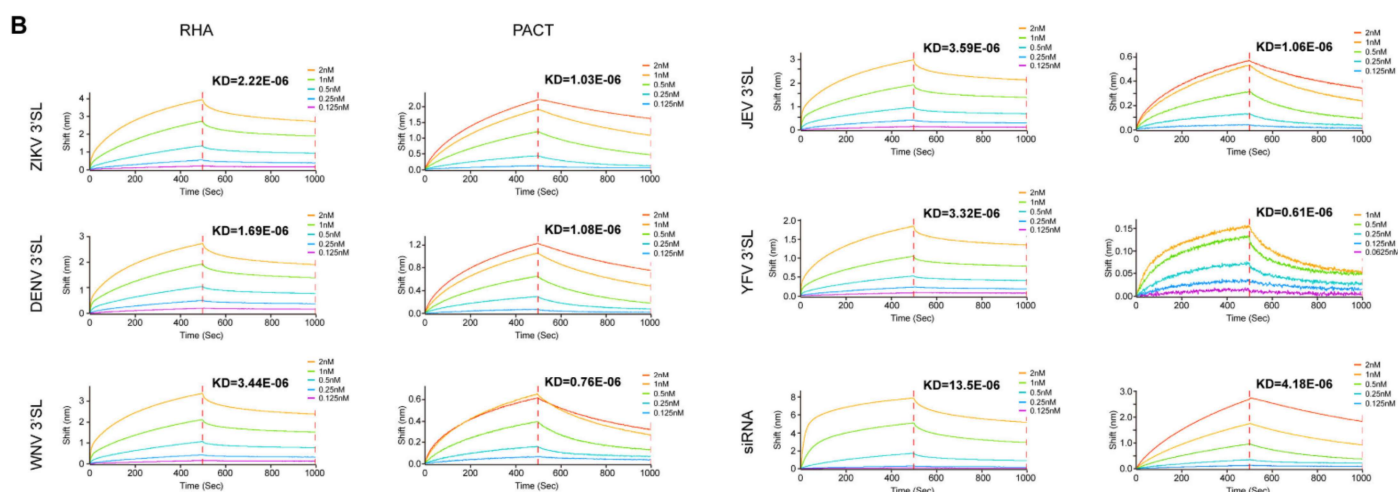
Cheng-Feng Qin 等, 北京微生物与流行病学研究所

关键词: 寨卡病毒 (ZIKV), sfRNA,

寨卡病毒 (ZIKV) 是一种蚊媒黄病毒, ZIKV 感染主要针对人类神经祖细胞 (hNPC), 并诱导细胞死亡和细胞周期失调, 导致小头畸形和其他中枢神经系统异常。RNA 干扰 (RNAi) 在 hNPC 中抗 ZIKV 感染起关键作用。另外 ZIKV 感染会产生大量的亚基因组黄病毒 RNA (sfRNA), ZIKV sfRNA 已在蚊子和哺乳动物体细胞中检测到, 而其是否在 ZIKV 感染的 hNPC 中产生以及其功能仍然未知。

在该研究中通过一系列研究证明了: (1) 在 ZIKV 感染的 hNPC 中可产生丰富的 sfRNA, ZIKV sfRNA 与宿主蛋白 RHA 和 PACT 相互作用, 这两种蛋白都是 RNA 诱导的沉默复合物 (RISC) 组分。(2) 在功能上, ZIKV sfRNA 作为 RNA 形式的有效病毒抑制因子 (VSR), 可与 siRNA 竞争结合 RISC 组分 RHA 或 PACT 以干扰 RNAi, 并促进 ZIKV 在 hNPC 中复制。(3) 进一步发现 sfRNA 的 3' 茎环 (3' SL) 负责结合 RISC 组分并抑制 RNAi。(4) 多种黄病毒 3' SL 与 RISC 组分的结合能力是相互转换的。总之, 其研究结果确定黄病毒 3' SL 是一种有效的 RNA 形式的 VSR, 其在逃避 RNAi 中的新作用, 突出了黄病毒感染期间病毒-宿主相互作用的复杂性。

文中为了验证黄病毒 3' SL 与 RHA 和 PACT 的结合比 siRNA 具有更高的亲和力, 使用 Gator BLI 检测了 3' SL / siRNA 与 RHA / PACT 蛋白相互作用的动力学, 结果表明这些 3' SL 与 RHA 的亲和力约为 $2.5 \times 10^{-6} \text{M}$, 约为 siRNA 与 RHA 结合的 5 倍。与 PACT 的相互作用也有同样类似结果。



BLI 实验思路:

使用 SA 光纤生物传感器固化生物素标记的 RNA, 再结合不同浓度 RHA 或 PACT 蛋白, 仅需花费约 4 个小时就可以完成 12 对分子互作亲和力对比。

参考文献

Cheng-Feng Qin, et al. The subgenomic flaviviral RNA suppresses RNA interference through competing with siRNAs for binding RISC components. Journal of Virology, 2024.

13 核酸相关研究

13.4 核酸 – 核酸相互作用研究

Analytical Chemistry

Enhanced Recognition of a Herbal Compound Epiberberine by a DNA Quadruplex-Duplex Structure

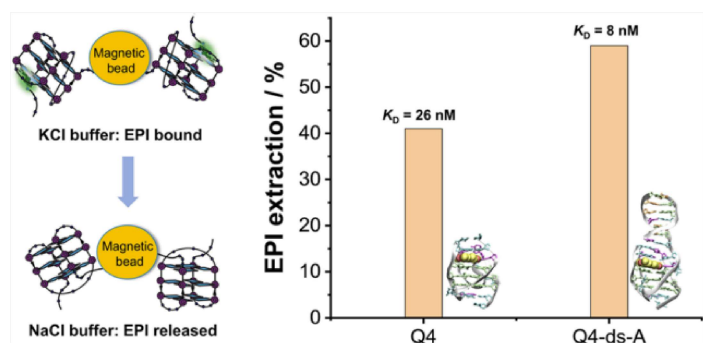
Gang Chen 等, 香港中文大学医学院

关键词: 表小檗碱 (EPI), 肽核酸 (PNA)

小分子表小檗碱 (EPI) 是一种天然生物碱, 具有多种生物活性, 对多种疾病包括癌症和细菌感染具有治疗作用。EPI 可以诱导在具有四个端粒重复序列 (Q4) 的人端粒 Gquadruplex (HTG) 序列的 5' 侧形成独特的结合口袋, 导致纳摩尔结合亲和力 (K_D 约 26 nM), 结合后荧光显著增强。重要的是理解 EPI 结合如何影响 HTG 结构稳定性, 以及如何通过 DNA 结合口袋的工程化实现增强的 EPI 结合。

在该研究中开发了一种基于肽核酸 (PNA) 侵入的方法来量化核酸结构在与小分子配体结合后的结构稳定性。研究发现通过将“双链体结构”延伸到 HTG 序列的 5' 端的 Q4 上, 成功地设计出 Q4 衍生物“Q4-ds-A”, 其可与小分子 EPI 紧密地结合, K_D 为 8 nM。进一步使用 DNA Q4-ds-A 开发了一种新的基于磁珠的亲和纯化系统, 可有效地从黄连提取物中提取 EPI。

文中使用 Gator® BLI 方法测定了 DNA Q4 与 EPI、反义肽核酸 (asPNA) 的结合亲和力, 以及验证了 asPNA 和 EPI 与 Q4 的竞争性结合。

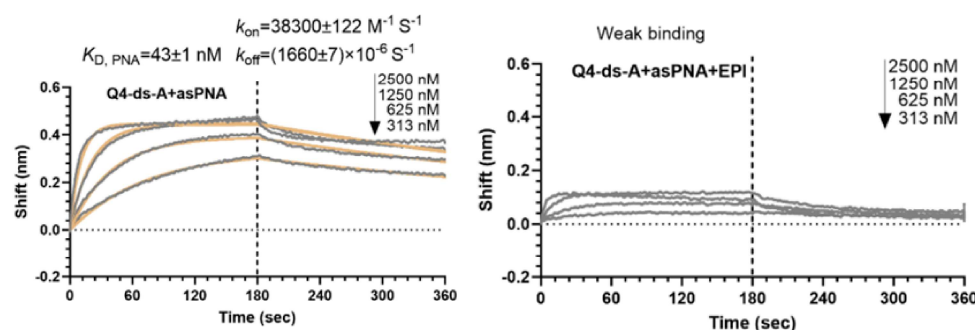


BLI 实验思路:

Gator® 检测 DNA-小分子、DNA-asPNA 结合动力学, 及小分子、asPNA 与 DNA 的竞争结合实验:

(1) 动力学检测: 使用 SA XT 生物传感器固化 biotin-DNA Q4, 再结合不同浓度 EPI 或 asPNA, 得到其结合动力学及动力学参数 k_{on} 、 k_{off} 、 K_D 。

(2) 竞争性结合实验: Q4-ds-A 与 asPNA 结合较强, 当溶液中加入 EPI 后, EPI 与 Q4-ds-A 的紧密结合使得 asPNA 结合变弱。



参考文献

Gang Chen, et al. Enhanced Recognition of a Herbal Compound Epiberberine by a DNA Quadruplex-Duplex Structure. Analytical Chemistry, 2024.

14 ADC 研究

14.1 ADC - LIV1

Pharmaceut Fronts

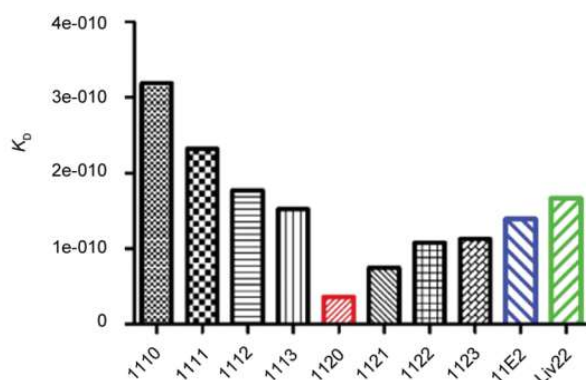
A Potential Antibody-Drug Conjugate Targeting Human LIV1 for the Treatment of Triple-Negative Breast Cancer

You-Jia Hu 等, 中国医药工业研究院

关键词: 三阴性乳腺癌, LIV1, ADC

乳腺癌是最常见的恶性肿瘤之一, 也是女性癌症相关死亡率的主要原因。其中三阴性乳腺癌 (triple-negative breast cancer, TNBC, 人表皮生长因子受体 2 [Her2] 阴性、雌激素受体 [ER] 阴性和孕酮受体 [PR] 阴性) 占癌症发病率的 15% 至 20%, 且 TNBC 的治疗方法非常有限。目前, 化疗、放疗和手术是其一线治疗方法, 缺乏靶向治疗方法。LIV1 (雌激素诱导基因) 在 TNBC 和其他实体瘤中高表达。抗体偶联药物 (Antibody-Drug Conjugate, ADC) 是由靶向特异性抗原的抗体或抗体片段与有效载荷 (payload) 通过连接子 (linker) 偶联而成的一类创新型抗体药物。与传统抗体药物相比, ADC 产品兼具传统小分子药物强效作用及抗体药物的靶向性, 以降低全身毒性并更有选择性地将有效载荷递送至肿瘤细胞、肿瘤微环境或其他靶细胞中。

在该研究中开发了一种新的用于治疗 LIV1 高表达乳腺癌患者的抗 LIV1 的 ADC: Ab1120-vcMMAE。通过体内、体外实验表明, 该 ADC 药物可有效抑制 LIV1 过表达细胞系增殖, 和在乳腺肿瘤小鼠模型中有效的抗肿瘤活性。



文中首先通过杂交瘤技术用人 LIV1 的细胞外 N 末端免疫小鼠, 获得 18 株抗体, 筛选出能够和细胞高亲和力结合的 2 株: L0107-9D11 mAb 和 L1212-11E2 mAb。进一步对小鼠抗体进行人源化。通过 Gator® BLI 对得到的人源化抗体进行与 LIV1 的亲和力表征, 发现 Ab1120 (K_d : 3.6×10^{-11} M) 的亲和力远高于阳性对照 AbLiv22 (K_d : 1.39×10^{-10} M) 和嵌合抗体 Ab11E2 (K_d : 1.66×10^{-10} M)。然后通过可裂解的二肽接头将 Ab1120 与单甲基 auristatin E (vcMMAE) 偶联, 得到 ADC。验证得到 ADC 与 hLIV1 的结合亲和力没有改变。同时研究了 ADC 对体外细胞杀伤作用以及体内活性。总之本研究表明 Ab1120-vcMMAE 对 TNBC 和其他 LIV1 阳性癌症具有潜在的治疗作用。

参考文献

Wei Zhang, You-Jia Hu, et al. A Potential Antibody-Drug Conjugate Targeting Human LIV1 for the Treatment of Triple-Negative Breast Cancer. Pharmaceut Fronts. 2023.

14 ADC 研究

14.2 ADC - DLL3

Journal of Translational Medicine

DB-1314, a novel DLL3-targeting ADC with DNA topoisomerase I inhibitor, exhibits promising safety profile and therapeutic efficacy in preclinical small cell lung cancer models

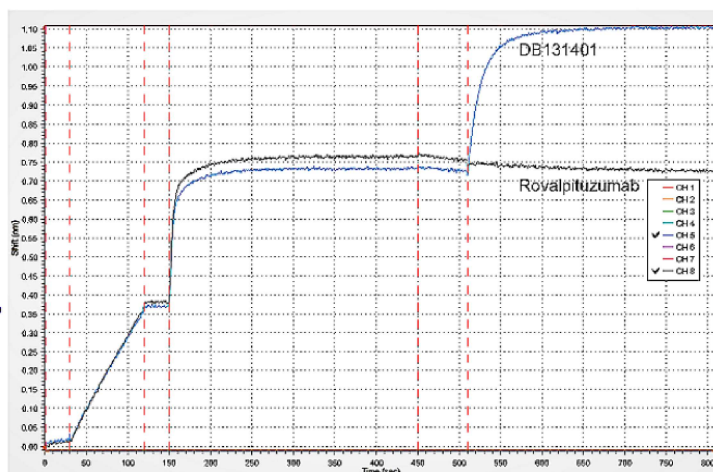
Haiqing Hua 等, 映恩生物

关键词: DLL3, 小细胞肺癌 (SCLC), ADC

δ 样配体 3 (DLL3) 在小细胞肺癌 (SCLC) 细胞表面高度表达, 而在正常组织中表达很少或不表达, 这使其成为 SCLC 的一个潜在靶点。然而目前尚未批准有靶向 DLL3 的 ADC 用于 SCLC 治疗。

在该研究中开发了一种新型抗 DLL3 的 ADC 药物: DB-1314, 是由一种新型人源化抗 DLL3 hIgG1 单抗 (DB131401) 与 8 个分子的 P1021 (拓扑异构酶 I 抑制剂) 偶联组成。DB-1314 在体外细胞和体内细胞/患者来源的异种移植模型中表现出可诱导强效、持久和剂量依赖性的抗肿瘤作用: 1) DB-1314 可与 DLL3 特异性结合并有效内化, 从而在肿瘤细胞内递送和释放 P1021, 进而诱导 DNA 损伤。2) 旁观者效应和 ADCC 也有助于 DB-1314 的抗肿瘤活性。3) DB-1314 在大鼠和食蟹猴中表现出良好的药代动力学和毒代动力学特征。4) DB-1314 在猴中以高达 60 mg/kg 的剂量耐受性。

文中使用 Gator BLI 验证了 DB131401 与 Rovalpituzumab (罗伐匹妥珠单抗) 结合 DLL3 不同表位。



BLI 实验思路:

通过串联法, 使用 Anti-His 探针固化带有 His tag 的人 DLL3 (60 nM), 再结合 100 nM 的 Rovalpituzumab 到饱和, 最后再结合 Rovalpituzumab 或 DB131401。

参考文献

Haiqing Hua, et al. DB-1314, a novel DLL3-targeting ADC with DNA topoisomerase I inhibitor, exhibits promising safety profile and therapeutic efficacy in preclinical small cell lung cancer models. Journal of Translational Medicine. 2024.

15 结构研究

15.1 蛋白复合物结构解析

Nature

Structure of apolipoprotein B100 bound to the low-density lipoprotein receptor

Joseph Marcotrigiano 等, 美国国立卫生研究院 (NIH)

关键词: LDL, B100 (apoB100), LDLR, cytokine secretion, FH, cryo-EM

低密度脂蛋白 (LDL) – 通常被称为“坏胆固醇”，在心血管疾病的发病机制中起着核心作用。载脂蛋白 B100 (apoB100) 是 LDL 的结构成分，也是 LDL 受体 (LDLR) 的配体，但其大小和复杂的脂质关联给结构研究带来了重大挑战

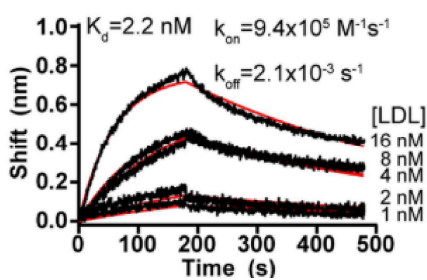
该研究通过冷冻电镜首次解析了 LDL 颗粒上 apoB100 与 LDLR 结合的高分辨率结构，揭示了二者相互作用的分子机制及其在心血管疾病中的关键作用。具体解析了 LDLR 通过两个独立界面 (BS1 和 BS2) 结合 apoB100。BS1 由 LDLR 的 LA3-LA7 模块与 apoB100 β 带上的碱性斑块形成，而 BS2 由 LDLR 的 β -螺旋桨结构域与 apoB100 的 N 端结构域结合。这两个界面共同介导 LDL 二聚化，并解释了 LDLR 在结合与自结合构象间循环的分子基础。研究还发现，LDLR 通过这两个结合界面介导 LDL 的二聚化，并且许多与高 LDL 胆固醇 (LDL-C) 水平相关的家族性高胆固醇血症 (FH) 的突变也位于这两个结合界面上。此外，文章中创新性使用了抗 apoB100 的纳米抗体 (Nb4) 和 Legobody 支架稳定复合物，克服了传统结构解析中 LDL 异质性高的难题，为研究大分子脂蛋白复合物提供了新策略。上述结果为 LDL 细胞摄取的分子机制提供了新的见解，并为心血管疾病的发病机制和治疗提供了新的思路。

文中使用 Gator® BLI 精确量化了 LDL 与 LDLR 的结合，为结构引起的功能变化提供强有力的数据支持。

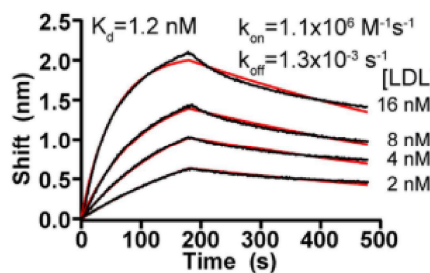
1) LDLR 可与 LDL 高亲和力结合: LDLR 与来自两个不同样本的 LDL 都能以高亲和力 ($K_D = 1.2\text{--}2.2\text{ nM}$)、高结合速率和低解离速率结合。

2) 与 LDL 结合的 legobody 不影响 LDL 与 LDLR 的结合: 选取能够与 LDL 形成非常稳定的高亲和力复合物的 legobody，当不存在和存在 legobody，LDL 与 LDLR 结合的亲和力不变 (1.2 nM 与 1.3 nM)。

b Binding of LDL to LDLR

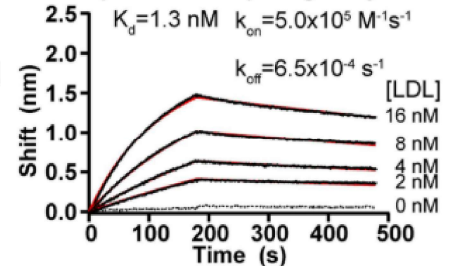


c Binding of LDL to LDLR



Binding of LDL to LDLR

in the presence of $1\text{ }\mu\text{M}$ legobody



BLI 实验思路:

使用 SA XT 探针先固化 biotin-LDLR，再分别结合不同浓度的 LDL，或 legobody 与 LDL 复合物，并做好空白探针与分析物的非特异结合对照。

参考文献

Marcotrigiano J, et al. Structure of apolipoprotein B100 bound to the low-density lipoprotein receptor. Nature. 2024.

15 结构研究

15.2 HURP 蛋白结构解析

nature communications

HURP binding to the vinca domain of β -tubulin accounts for cancer drug resistance

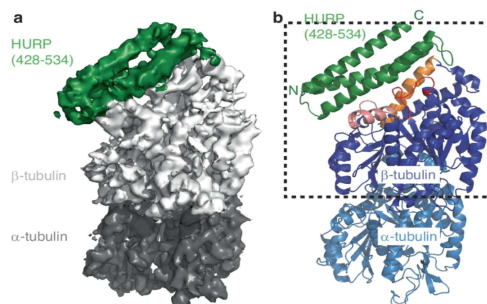
Kuo-Chiang Hsia 等，中国台北中央研究院分子生物学研究所

关键词：HURP（肝癌上调蛋白），微管蛋白，肿瘤耐药性

长春碱类药物是一类与微管结合的抗癌药物，广泛应用于癌症治疗。然而，随着时间的推移，癌细胞对这些药物的耐药性逐渐显现，降低了它们的治疗效果。HURP（Hepatoma up-regulated protein，肝癌上调蛋白）是一种微管相关蛋白，在多种癌症中高表达，且已被证实其过表达能够降低癌细胞对长春碱类药物的敏感性。但 HURP 如何导致这种耐药性，其分子机制尚未完全清楚。

在该研究中发现 HURP 含有一个微管结合域（tubulin-binding domain, TBD），TBD 与微管蛋白的 vinca domain 结合，直接干扰了药物与目标蛋白的相互作用，从而抑制了微管聚合缺陷，缓解了由 vinorelbine 引起的细胞分裂停滞。此外，研究还通过生物物理及结构生物学的方法，解析了 HURP 与微管蛋白复合物的三维结构，HURP 通过其 α 螺旋结构与微管结合，进一步确认了两者之间的交互方式和关键位点。综上所述，该研究不仅阐明了 HURP 介导的抗癌药物抵抗机制，还为开发针对 HURP 的新型抗癌疗法提供了理论基础和技术支持。

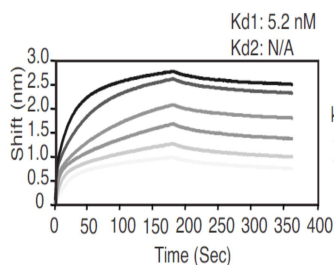
文章实验结果：1) HURP 拥有另一个重要结构域（HURP[200-620]），通过此结构域可以与游离的 α/β 微管蛋白二聚体形成稳定复合物。2) HURP TBD 与 β -tubulin 的长春碱结合位点发生相互作用，并且 HURP 竞争长春碱类药物的结合位点。3) HURP 可以阻止药物引发的微管蛋白异常聚集，并减弱了长春瑞滨对微管组装的抑制作用。4) 删除 HURP 的关键微管结合区域，对抗癌药物长春瑞滨的敏感性显著提高，说明 HURP TBD 在药物耐药性中起到重要作用。



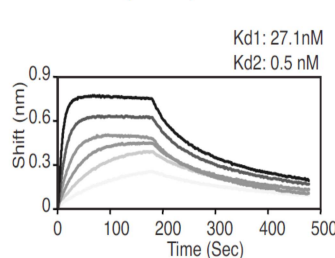
a. HURP (428-534) 与 β -tubulin $\cdot$ α -tubulin 复合物的冷冻电镜结构。
b. HURP 通过一个三 α 螺旋束结构与 β -tubulin 的纵向表面发生相互作用。

文中使用 Gator BLI 证明了 HURP full length 和 HURP (200-620) 分别都能与 α/β -tubulin 二聚体有结合，全长蛋白结合作用相比 HURP (200-620) 更强。

g GFP-HURP FL



h GFP-HURP (200-620)



BLI 实验思路：

使用 NI-NTA 传感器固化 His-GFP-labeled HURP FL, 或 HURP (200-620)，结合不同浓度的 α/β -tubulin 二聚体，采用 2:1 拟合方式进行计算。

参考文献

Athira Saju, et al, HURP binding to the vinca domain of β -tubulin accounts for cancer drug resistance. nature communications.2024.

Nature
Communications

Metabolic pathway assembly using docking domains from type I cis-AT polyketide synthases

马田等, 中科院深圳先进技术研究院

关键词: 聚酮合酶组装, mPKSeal 策略, 虾青素人工合成

天然的生物催化体系通常在微生物细胞这个微型工厂内会形成物理上、空间上组织有序的多酶复合体、酶分子脚手架或者反应微区, 这种类似机器组装的高度组织性带来了高效的催化能力。该研究团队通过模拟天然模块聚酮合酶 (PKS) 高度有序的组装方式, 利用其中研究较多的 I 型 cis-AT 聚酮合酶对接域, 开发了“mimic PKS enzyme assembly line (mPKSeal)”多酶组装策略, 并应用于虾青素合成途径酶的组装, 虾青素的产量最高提高了 2.4 倍 (产量达 16.9 mg/g DCW)。

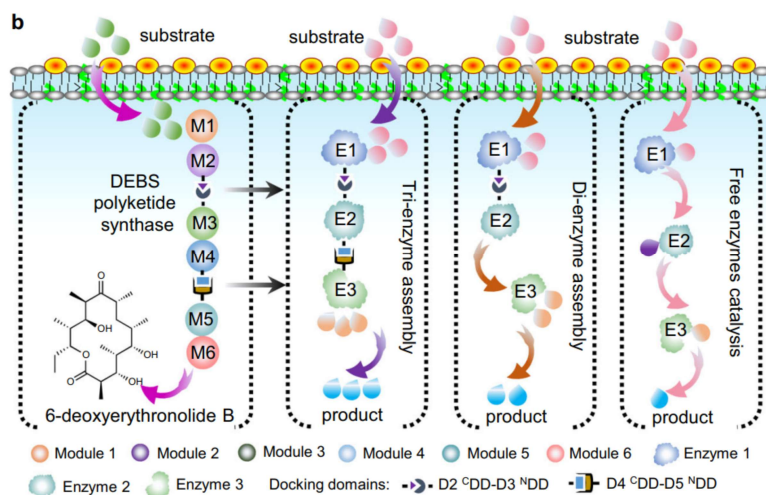


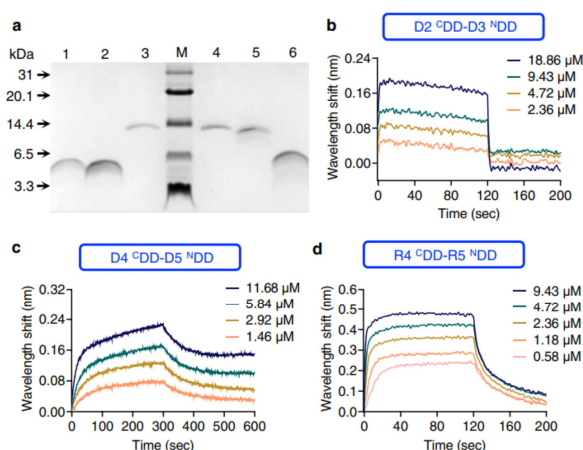
图: mPKSeal 多酶组装策略 (以红霉素聚酮合酶 DEBS 为例)

这是该研究团队继 RIAD/RIDD 双酶组装策略之后的又一多酶组装策略的开发, 前者已在不同报道中显示出其良好的应用潜力, 而 mPK-Seal 策略不再局限于两种酶的组装, 而是可拓展为同一体系中的多种酶有序组装, 且潜在的组装元件个数超万, 可为生物催化、代谢工程及合成生物学等相关领域提供更广泛有效的提高合成效率的解决方案。

为了验证从天然 PKS 系统中剥离出来的相互作用元件-对接域的识别与组装能力, 体外实验通过 Gator[®] 检测了来源于红霉素聚酮合酶 (DEBS) 和雷帕霉素聚酮合酶 (RAPS) 对接域相互作用的动力学参数, 验证了独立于聚酮合酶的对接域仍保持着良好的相互作用能力。

BLI 实验思路:

直接用 NI-NTA 生物传感器固化 D3^NDD 或 R5^NDD, 分别与 D2 或 R4 结合, 测得 D2^CDD-D3^NDD ($14.6 \pm 4.7 \mu\text{M}$), R4^CDD-R5^NDD ($K_D = 0.34 \pm 0.03 \mu\text{M}$)。



参考文献

Xixi Sun, et al. Metabolic pathway assembly using docking domains from type I cis-AT polyketide synthases. Nature Communications, 2022.

17 多糖研究

17.1 卡拉胶酶催化多糖

Engineering the Non-catalytic Domain to Enhance Catalytic Activity and Thermal Stability of a Nk2-Producing κ -Carrageenase

Journal of Agricultural and Food Chemistry

Xiangzhao Mao 等, 中国水产科学研究院黄海水产研究所

关键词: κ -卡拉胶酶, κ -卡拉胶, 非催化结构域

κ -卡拉胶酶对卡拉胶多糖的高值化利用至关重要, 其可通过降解 κ -卡拉胶 (KC) 制备偶数的 κ -新卡拉胶寡糖。之前的报道鉴定并表征了一种 κ -角叉菜聚糖酶 CaKC16B, 其对产生单个 κ -新角叉菜二糖具有高度特异性, 可通过降解 KC 产生单个 κ -新角叉二糖, 但其表现出较差的热稳定性和催化效率。

本文研究团队再次发表文章, 进一步通过工程化改造 κ -卡拉胶酶的非催化结构域 (nonCDs), 显著提升了其催化效率与热稳定性, 即 κ -卡拉胶酶的非催化域改造实现了“一石三鸟”: (1) 催化效率飙升。将耐热 κ -卡拉胶酶 MtKC16A 的非催化结构域 (nonCD) 引入 CaKC16B 的 C 末端, 构建了突变体 CaKC16BUNB 和 CaKC16BUNB, 其催化效率 (kcat/Km) 分别提升 127 倍和 290 倍, 远超原始酶 CaKC16B。同时热稳定性也显著增强, 突变体在 50°C 下孵育 8 小时仍保留 50% 以上活性, 而原始酶在相同条件下几乎失活。(2) 底物特异性切换。突变体对 β/κ -卡拉胶 (B/KC) 的活性提升 34%, 而原始酶对 KC 和 B/KC 的活性无差异, 另外突变体仍能高效生成单一产物 κ -新卡拉二糖 (Nk2), 满足工业化精准制备需求。(3) 机制揭秘: BLI 结果显示, 非催化域 MtUN 与 B/KC 的结合速率 (k_{on}) 和解离速率 (k_{off}) 均高于 KC, 表明其对 B/KC 的“快结合快解离”特性是底物偏好性改变的关键。

文中使用 Gator BLI 首次揭示了卡拉胶酶非催化域与卡拉胶多糖底物的动态结合机制, 为工业酶开发提供了新策略。结果显示, MtKC16A 的非催化结构域 MtUN 与三种类型的卡拉胶多糖 (B/KC、KC、IC) 结合 K_D 值相似, 但 B/KC 表现出比 KC 和 IC 更高的结合和更快的解离。这一发现有助于初步解释为什么将 MtUN 添加到 CaKC16B 的 C-末端增加了其对 B/KC 的相对活性, 以及为什么从 MtKC16A 的 C-末端截短 MtUN 降低了对 B/KC 的相对活性。同时此结果表明 MtUN 也具有与 IC 结合的功能, 这可能为 κ -卡拉胶酶的修饰而不仅仅是 κ -卡拉胶酶的修饰提供思路。

BLI 实验思路:

Gator BLI 检测酶与卡拉胶多糖结合亲和力流程:

- (1) 对 3 种卡拉胶多糖进行生物素标记; 利用一系列化学反应, 先将糖-CHO $\rightarrow$ 糖-COOH, 再进一步将糖-COOH $\rightarrow$ 糖-NH₂, 至此再标记生物素, 即得到 biotin-多糖卡拉胶
- (2) 使用 SA XT 探针固化卡拉胶;
- (3) 再结合不同浓度的 MtUN 蛋白酶, 得到其结合动力学及动力学参数 k_{on} 、 k_{off} 、 K_D 。

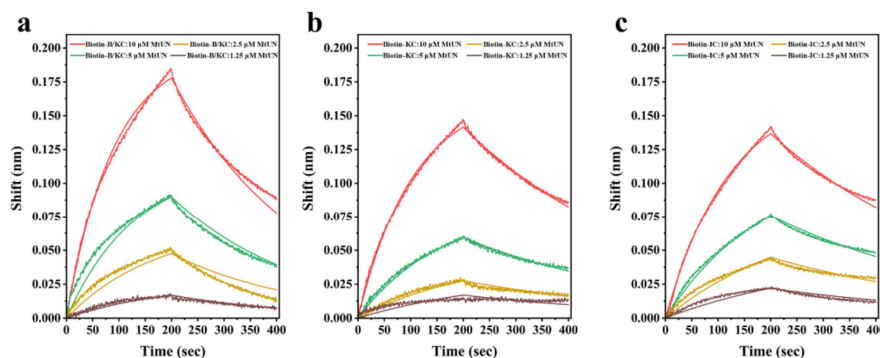


Figure 5. Binding of MtUN to (a) B/KC, (b) KC, and (c) IC, as determined by BLI.

Table 2. Kinetic Parameters of the Interaction between MtUN and Three Types of Carrageenan

binding pair	k_{on} (1/Ms)	k_{off} (1/s)	K_D (M)	full R^2
MtUN: β/κ -carrageenan	7.00×10^2	4.13×10^{-3}	5.90×10^{-6}	0.9918
MtUN: KC	6.84×10^2	2.70×10^{-3}	3.95×10^{-6}	0.9971
MtUN: IC	5.57×10^2	2.56×10^{-3}	4.59×10^{-6}	0.9958

参考文献

Xiangzhao Mao, et al. Engineering the Non-catalytic Domain to Enhance Catalytic Activity and Thermal Stability of a Nk2-Producing κ -Carrageenase. Journal of Agricultural and Food Chemistry. 2024.

18 噬菌体筛选

18.1 蛋白-噬菌体展示 scfv

BMC Immunology

Antagonist anti-LIF antibody derived from naive human scFv phage library inhibited tumor growth in mice

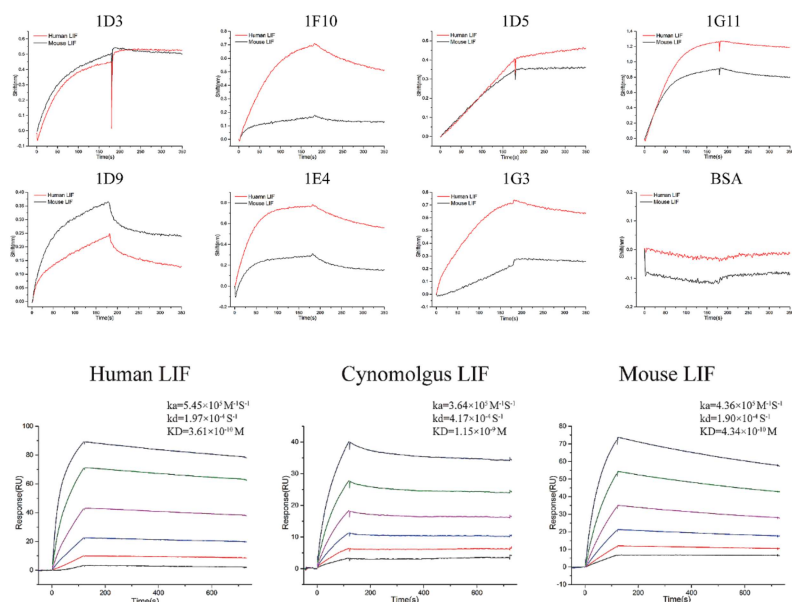
Jinliang Yang 等, 四川大学华西医院

关键词: LIF, 噬菌体筛选, 噬菌体展示 scfv

白血病抑制因子 (LIF) 是 IL-6 细胞因子家族中的一个多功能成员, 通过与细胞表面的 LIFR 和 gp130 组成的异二聚体结合, 促进 Janus 激酶 (JAK) 受体的磷酸化, 从而启动细胞内信号转导。LIF 在多种肿瘤组织 (如胰腺癌、乳腺癌、前列腺癌和结肠直肠癌) 中高度表达, 并促进癌细胞增殖、迁移、侵袭和分化。LIF 是治疗癌症的潜在靶点, 开发靶向 LIF 的单克隆抗体 (mAb) 来破坏下游信号通路可能是癌症治疗的潜在策略。

该研究从天然人源噬菌体单链抗体库中筛选出一系列靶向 LIF 的单链抗体。这些 scFv 以完整 IgG 形式重建并通过哺乳动物瞬时表达系统产生。在这些抗体中, 1G11 表现出与人、食蟹猴和小鼠 LIF 的优异结合活性。功能分析表明, 1G11 特异性阻断 LIF 与 LIFR 的结合而不影响 LIF 与 gp130 的结合, 并在体外和体内抑制 LIF/LIFR/STAT3 信号通路。此外, 1G11 处理有效地抑制了肿瘤细胞增殖并促进了凋亡, 同时还增强了 T 细胞浸润。这些作用最终抑制了小鼠体内的肿瘤生长。整个研究结果表明, 1G11 具有作为抗肿瘤药物的潜力。

文中首先构建了一个天然人源单链抗体噬菌体库 → 用链霉亲和素磁珠筛选与生物素化的 hLIF 结合的噬菌体 → 两轮生物淘选, 选择 96 个噬菌体克隆用于噬菌体 ELISA 分析 → 有 14 个克隆同时识别 hLIF 和 mLIF → 使用 Gator 检测 14 个克隆与 hLIF 和 mLIF 的动力学 → 7 个克隆表现出与 hLIF 和 mLIF 结合动力学良好 → 对 7 个阳性克隆进行可变区序列测定, 并利用 NCBI-BLAST 进行序列分析 → 7 个筛选的 scFv 重组表达为完整的 mlgG 2a 抗体 → 比较 7 个抗体与 LIF 的结合活性, 其中 1G11 结合最强 → 竞争性实验 1G11 可显著阻断 LIF 与 LIFR 的结合, 但不影响 LIF 与 gp130 的结合 → 1G11 的体外特性 (SPR 检测亲和力)、体内抗肿瘤活性。



BLI 实验思路:

使用 Gator® BLI 直接检测人/鼠 LIF 蛋白与噬菌体表面 scFv 的动力学 (消除了对抗体表达的要求): Protein A 探针固化带有 LIF-hFc, 再结合噬菌体上清, 得到其结合动力学。

参考文献

Jinliang Yang, et al. Antagonist anti-LIF antibody derived from naive human scFv phage library inhibited tumor growth in mice. 2024.

18 噬菌体筛选

18.2 蛋白-噬菌体展示多肽

Journal of
Biotech Research

An engineered AAV capsid targeting NK92 cells using CD56-binding peptide identified from phage display

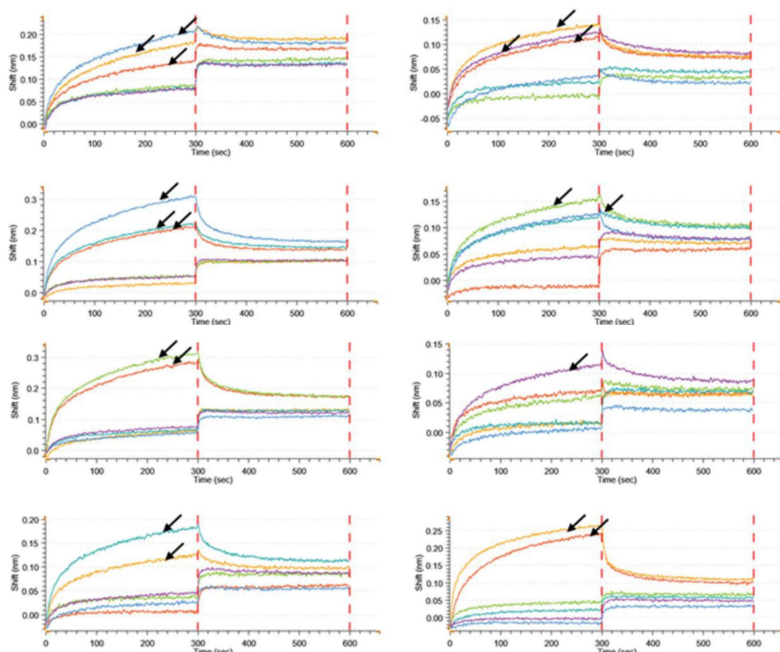
Roger Wang 等，瑞诺元

关键词：NK 细胞，CD56, 噬菌体展示多肽

自然杀伤（NK）细胞对于免疫防御是必不可少的，但由于低病毒易感性限制了其治疗用途。CD56 是一种膜结合蛋白，主要表达在 NK 细胞表面，是增强病毒特异性的潜在靶点。为了增强其治疗潜力，可使用具有不同组织嗜性的各种 AAV 血清型，但 NK 细胞中常用的常规 AAV6 感染效率明显有限。生物技术行业正在积极寻求提高 NK 细胞治疗中基因转导效率的方法。

该研究通过使用噬菌体展示技术筛选得到了可与 NK 细胞标记物 CD56 胞外域特异性结合的多肽，此外通过将这些多肽基因连接到 AAV6 衣壳，同样增强了 AAV6 对 NK 细胞的特异性。这种修饰后的 AAV6 显示对 CD56 阳性 NK92 细胞系的感染性显著增加，而对 CD56 阴性 Jurkat 细胞系无相应的增加。这种创新方法突出了噬菌体衍生多肽在引导基因治疗载体靶向细胞群体中的效用，代表了 NK 细胞工程领域的重大进步，为基因修饰 NK 细胞提供了更有效的工具，并克服了 NK 细胞治疗中转染效率低的关键问题。

文中具体研究流程是先用 Ph.D.TM-7 噬菌体文库中的 M13 噬菌体，在其 PIII 蛋白的末端表达可变的 7aa 的多肽序列，接着使用 Gator BLI 方法对从噬菌体第三轮筛选得到的 64 个克隆进行了与 CD56 结合动力学检测，挑选出 18 个克隆表现出与 CD56 有较好的结合亲和力（快结合和/或缓慢解离）。进一步对这些克隆进行测序发现了 8 个独特的多肽序列。将这 8 个多肽的 DNA 序列掺入 AAV6 衣壳蛋白的编码序列中，检测这些 AAV6 对 NK 细胞的感染性（EGFP 荧光），最终发现有 3 条多肽修饰的 AAV6 实现了超过 10% 的感染率，且只特异性地增强高度表达 CD56 的细胞（如 NK 细胞）中的感染性。



BLI 实验思路：

Gator® BLI 进行噬菌体展示多肽与 CD56 结合筛选：使用 Anti-His 探针先固化 His-CD56，再结合噬菌体，得到 CD56 与噬菌体展示多肽的结合动力学。

参考文献

Roger Wang, et al. An engineered AAV capsid targeting NK92 cells using CD56-binding peptide identified from phage display. 2024.

19 小分子相关研究

19.1 PROTAC

Rewiring cancer drivers to activate apoptosis

Nature

Gerald R. Crabtree 等，斯坦福大学

关键词：CIP，细胞凋亡，转录/表观遗传 CIP（TCIPs）

化学诱导邻近技术（chemical inducers of proximity, CIP）是使用化学小分子诱导两个蛋白靠近并发生蛋白质互作，进而调控细胞进程。这种人为将两个蛋白强行拉在一起并发挥作用的思路已经有了广泛应用，比如著名的 PROTACs 和分子胶。除了在泛素酶体和转录因子上的应用，也可以强行使膜蛋白、溶酶体膜上的蛋白发生互作，是药物设计的关键思路之一。

在这项研究中，他们提出了一类新型分子转录/表观遗传 CIP—TCIPs（Transcriptional/Epigenetic CIP），其一端可结合特定的转录/表观遗传调节因子，另一端可结合靶治疗基因调节区域（图 1a），进而能够招募内源性癌症驱动基因或下游转录因子到细胞死亡基因的启动子上，从而激活其表达。作者从中筛选出了功能最强的分子 TCIP1，其一端小分子 BI3812 可结合 DLBCL（弥漫性 B 细胞淋巴瘤）中的 BCL6（转录抑制因子），另一端小分子 JQ1 可结合 BRD4（转录激活因子）。通过形成三元复合物强烈的激活 BCL6 静默的细胞凋亡通路基因表达（图 1b-c）。

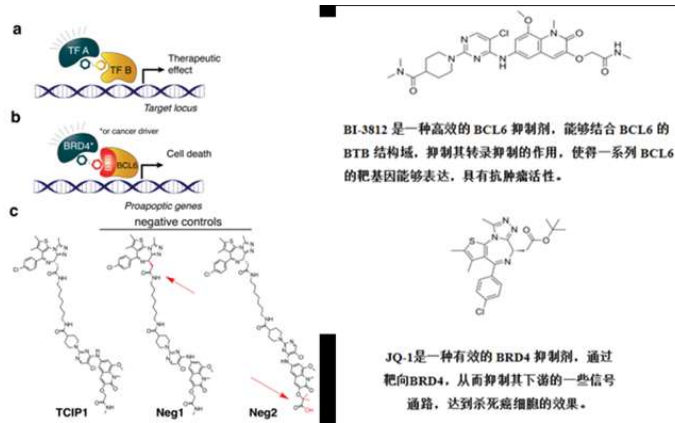


图 1. TCIP1 结构及作用

文中通过一系列研究首先验证了 TCIP1 无论与抑制剂比较还是与靶向降解剂比较，都有低浓度下诱导癌细胞死亡的优势。并且细胞中 BCL-6 表达水平越高，TCIP1 的治疗效果越明显。随后通过竞争实验，验证了只有在 TCIP1 既结合 BRD4 又结合 BCL-6 时，才能发挥其作用。同时又采用等温滴定量热法和 Gator® BLI 方法精确测定了 TCIP1 与 BRD4、BCL-6 之间的结合亲和力。其中 ITC 结果得到二元 BRD4: TCIP1 $K_D = 5.08 \mu\text{M}$; BCL6:TCIP1 $K_D > 1\text{mM}$; 三元复合物 BRD4:TCIP1:BCL6 亲和力 $K_D = 340 \pm 108 \text{ nM}$ ，与 BLI 方法所得三元复合物亲和力 $316 \pm 182 \text{ nM}$ 结果相符（图 2）。这些结果表明，TCIP1 的细胞杀伤作用依赖于三元复合物的形成。总体而言，本文主要提出了二聚体小分子化合物 TCIP1 作为弥漫 B 细胞淋巴瘤乃至更广泛类型癌症的治疗潜力，在未来可能成为一种新型的抗癌药物。

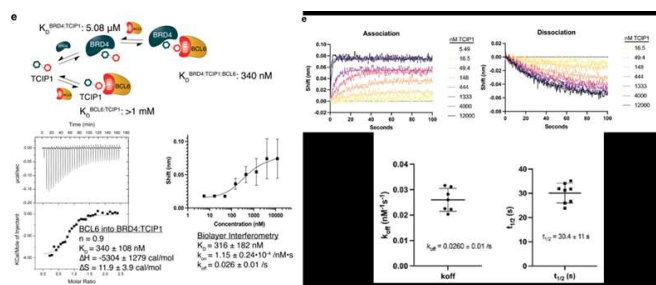


图 2. 等温滴定量热法（左）和生物膜干涉技术 BLI（右）检测

BLI 实验思路：

使用 Gator® BLI 方法可以非常方便、快速的表征 PROTAC、CIP 中二元和三元复合物的动力学。文中检测 TCIP1 与 BRD4、BCL6 三元复合物亲和力的具体流程为：

- 1) 在含有 5.5 nM-12 μM TCIP1 的孔中加入 50 μM BRD4BD1，使 BRD4BD1 过量并促进 BRD4BD1: TCIP1 二元复合物形成。
- 2) 使用 SA 探针，固化 BCL6BTB（100 nM），再结合 BRD4BD1: TCIP1 二元复合物，得到三元复合物的实时动力学，以及动力学参数 k_{on} 、 k_{off} 、 K_D 。

参考文献

Nathanael S. Gray, Gerald R. Crabtree, et al. Rewiring cancer drivers to activate apoptosis. Nature. 2023.

19 小分子相关研究

19.2 小分子化合物 - 口服的 ClpP 激动剂

Journal of Medicinal Chemistry

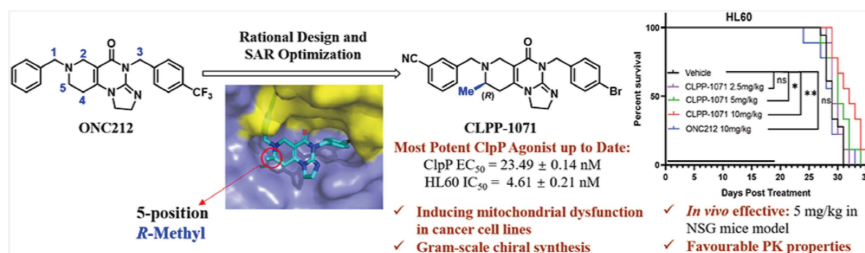
Discovery of CLPP-1071 as an Exceptionally Potent and Orally Efficacious Human ClpP Activator with Strong In Vivo Antitumor Activity

王明亮, 李佳, 周宇波等, 中科中山药物创新研究院

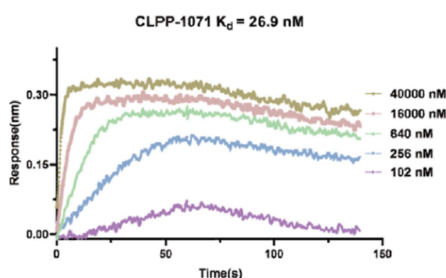
关键词: ClpP, CLPP-1071, 口服有效的人源 ClpP 激动剂

人类源酪蛋白水解蛋白酶 P (ClpP) 是一种重要的线粒体蛋白酶, 负责维持线粒体蛋白质组的稳态, 调节蛋白质质量控制、线粒体代谢和氧化磷酸化的完整性。临床上发现, ClpP 在多发性骨髓瘤、各种淋巴瘤、慢性髓性白血病和某些实体瘤患者中过表达。因此, 调节 ClpP 的活性被认为是一种有前景的癌症治疗策略。尽管已经报道了几种不同类型的激活剂, 但现有的激活剂仍然表现出低酶活性或不利的药代动力学特性, 限制了治疗策略的发展。

研究人员发现: 一种十分强效且口服有效的人源 ClpP 激动剂, 具有强大的体内抗肿瘤活性。该研究基于结构引导的药物设计, 通过在处于 III 期临床试验阶段的 ClpP 激动剂 ONC201 的咪唑酮骨架上引入甲基基团, 发现了一系列的强效 ClpP 激动剂。其中, 最优化合物 CLPP-1071 展现出了十分强大的 ClpP 激动活性 ($EC_{50} = 23.5 \text{ nM}$, 比 ONC201 强 107.1 倍), 并且能够抑制 HL60 细胞的增殖 ($IC_{50} = 4.6 \text{ nM}$, 比 ONC201 强 169.2 倍)。CLPP-1071 通过诱导线粒体功能障碍、细胞周期 G1 期阻滞和凋亡等功能, 使其成为一个极具潜力的癌症治疗候选药物。后续检测得到 CLPP-1071 具有良好的药代动力学特性, 并通过口服给药在老鼠的 MOLM13 和 HL60 异种移植模型中有效延长生存期。CLPP-1071 是迄今为止报道的最有效且口服有效的 ClpP 激动剂。



该研究中利用 Gator® BLI 测定了 CLPP-1071 与 ClpP 的结合亲和力, 发现其解离常数 (K_d) 为 26.9 nM , 表明 CLPP-1071 与 ClpP 的结合非常紧密。这些数据共同证明了 CLPP-1071 不仅能够激活线粒体 ClpP, 还能在细胞内与 ClpP 稳定结合, 从而增强其活性。



BLI 实验思路:

SA XT 探针固化 Biotin-ClpP, 结合不同浓度的 CLPP-1071 或 ONC212。

参考文献

Beijing Chen, et al, Discovery of CLPP-1071 as an Exceptionally Potent and Orally Efficacious Human ClpP Activator with Strong In Vivo Antitumor Activity. Journal of Medicinal Chemistry. 2024.

19 小分子相关研究

19.3 天然产物激活抗癌免疫

Cell Death and Disease

Scutellarin activates IDH1 to exert antitumor effects in hepatocellular carcinoma progression

陈鹏等，中国中医科学院

关键词：Scutellarin（野黄芩苷），IDH1（异氯酸脱氢酶）， α -酮戊二酸

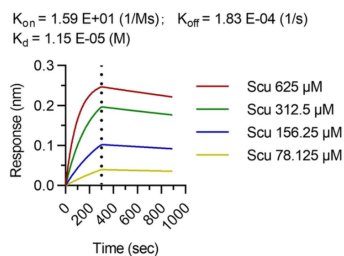
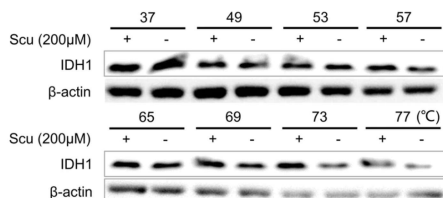
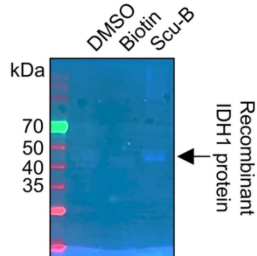
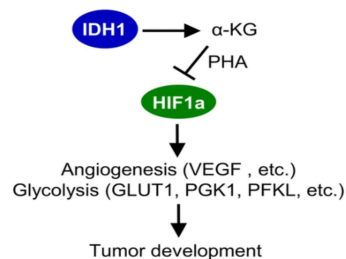
在当今社会，癌症一直是备受关注的话题，尤其是肝癌。然而，当前研究领域存在一个问题，即如何寻找一种新的方法来抑制肝癌的生长。中医科学院杨洪军、陈鹏等人合作在一项研究发现了一种天然小分子，可以激活重要的代谢酶（异氯酸脱氢酶，IDH1），从而对肝细胞癌的生长产生抑制作用。

研究人员发现，IDH1 在肝细胞癌细胞中可以限制糖酵解，从而激活肿瘤免疫微环境。通过蛋白质组微阵列分析，他们发现了一种天然小分子，名为 Scutellarin (野黄芩苷)，是从黄芩中分离到的黄酮类物质，可以激活 IDH1 并抑制肝细胞癌细胞的生长。Scu 通过选择性修饰 Cys297，促进 IDH1 活性二聚体形成，增加 α -酮戊二酸 (α -KG) 的产生，导致 HIF1a 的泛素化和降解。HIF1a 的丧失进一步导致肝细胞癌细胞糖酵解的抑制。Scu 激活 IDH1 可以显著增加肿瘤组织中 α -KG 的水平，下调 HIF1a 信号通路，并在体内激活肿瘤免疫微环境

1、利用蛋白质组芯片确定 Scu 作用靶点是 IDH1，小鼠过表达 IDH1 可显著减小肿瘤体积。

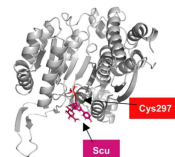
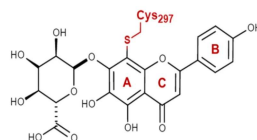
2、过度表达 IDH1，可以增加 α -KG 生成，降低 HIF 1a 以及下游通路蛋白表达，降低肿瘤细胞糖酵解。Scu 可以激活 IDH1 并抑制肝细胞癌细胞的生长。

3、pull-down, CETSA, Gator BLI 多种方法验证 Scu 靶向结合 IDH1，Gator[®] BLI 得到亲和力为 $K_D=11.5 \mu\text{M}$ 。



BLI 实验思路：
SMAP 探针固化
Biotin-IDH1，结合不同浓度的 Scu。

4、Scu 通过选择性修饰 Cys297，促进 IDH1 活性二聚体形成。



这项研究揭示了 IDH1- α -KG-HIF1a 对肝细胞癌细胞生长的抑制作用，并评估了 Scu 的抑制作用，这是第一个 IDH1 小分子激动剂，为涉及激活 IDH1 的癌症免疫疗法提供了参考。也为开发新的肝癌治疗方法提供了新的思路，为更好地了解肿瘤生长的机制提供了重要线索。

参考文献

Zhao Cui, et al, Scutellarin activates IDH1 to exert antitumor effects in hepatocellular carcinoma progression. Cell Death and Disease. 2024.

19 小分子相关研究

19.4 小分子农药 – 谷维菌素抑菌机制

International Journal of Biological Macromolecules

Natural product guvermectin inhibits guanosine 5' - monophosphate synthetase and confers broad-spectrum antibacterial activity

向文胜等, 中国农业科学院植物保护研究所

关键词: Guvermectin (谷维菌素), 鸟嘌呤合成关键酶 GMPs

谷维菌素 (Guvermectin, GV) 是中国农业科学院植物保护研究所向文胜教授团队前期从重楼根际微生物链霉菌 *Streptomyces* sp. NEAU6 发酵液中提纯得到的活性成分, 2021 年获得新农药登记证。前期研究发现 GV 对水稻等作物具有良好的促生作用, 但 GV 对病害防控是否有效, 防控机制等研究尚属空白。

目前, 向文胜教授研究团队揭示了天然产物农药谷维菌素对植物病原细菌的抑菌机制, 以及对细菌性病害的防控潜力评价。该研究不仅深入解析了 GV 的抑菌机制, 还揭示了 GV 作为杀菌剂应用于农业生产中的潜力, 进一步拓宽了 GV 的应用领域。

1) 该团队围绕 GV 的抑菌机制及其防效开展深入研究, 首次发现 GV 对植物病原细菌 *Pst* DC3000 具有良好的抑菌活性, 但没有影响细胞膜的完整性。

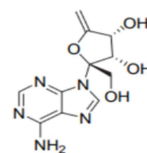


图: 谷维菌素结构式

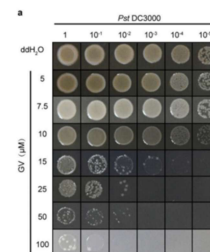
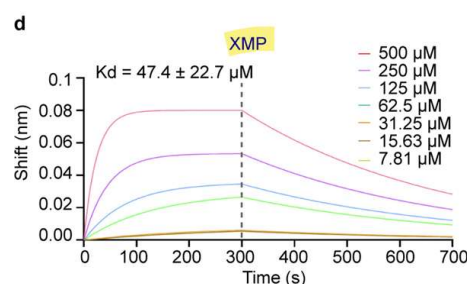
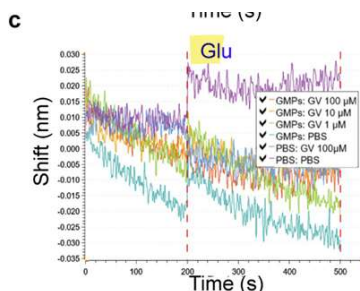
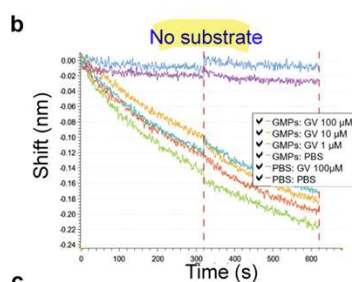


图: 不同浓度下 GV 对 *Pst* DC3000 的抑菌作用

2) 后续研究发现 GV 通过靶向细菌中鸟嘌呤合成关键酶 GMPs, 抑制谷氨酸合成, 发挥抑菌作用。并利用 Gator® BLI 直接检测 GV 与 GMPs 的结合, 发现 GV 无法与 GMPs 直接结合, 而是需要在溶液中加入 XMP 才能结合, 亲和力 K_d 值为 $47.4 \pm 22.7 \mu\text{M}$ 。并且利用分子对接实验以及检测 GV 对不同 GMPs 单点突变的 *Pst* DC3000 的抑制作用, 确定 Q334A 是结合的关键残基。



BLI 实验思路:

Gator® BLI 检测流程: SMAP 传感器固化 biotin-GMPs, 在没有或含有底物的情况下 (1 mM XMP, 和 5 mM Glu), 结合 GV。

3) 研究进一步发现 GV 能有效防控水稻白叶枯病、番茄青枯病、猕猴桃溃疡病等毁灭性病害, 并对其病原菌水稻黄单胞菌 *Xoo*、番茄青枯菌 *R.s*、猕猴桃溃疡病菌 *Psa* 均有抑制作用。田间防效实验表明 GV 能显著降低番茄叶斑病的田间发病程度, 且防效远高于春雷霉素。

参考文献

Manman Zhang et al, Natural product guvermectin inhibits guanosine 5' - monophosphate synthetase and confers broad-spectrum antibacterial activity. International Journal of Biological Macromolecules. 2024.

21 化工材料

21.1 活性超分子聚合

PNAS

Living/controlled supramolecular protein polymerization

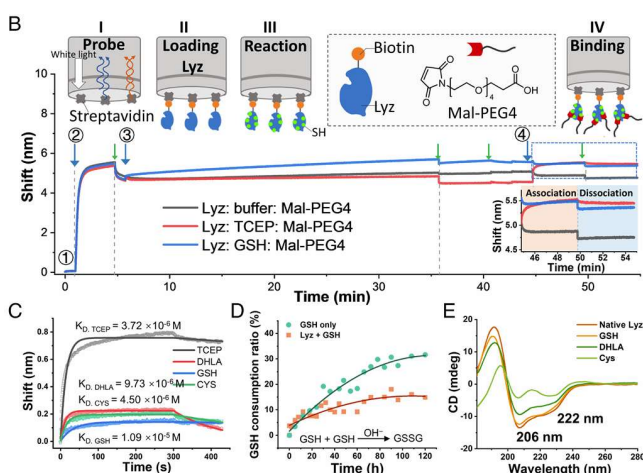
Peng Yang 等, 陕西师范大学

关键词: TRIPA, 溶菌酶 (Lyz), 还原剂, two state

“活性超分子聚合”的概念逐渐发展起来, 成为构筑尺寸精确可控、结构多样的超分子组装体的重要策略。但将蛋白质作为单体用于超分子聚合仍面临重大挑战。这是因为蛋白质的结构复杂性与构象异质性, 极大限制了当前体外方法的可扩展性与可控性。

受活性聚合原理启发, 研究人员提出一种硫醇调控界面蛋白聚集 (TRIPA) 策略, 具有活性/可控超分子聚合 (LCSP) 特征。该策略利用含二硫键的球状蛋白与多种硫醇类试剂 (R-SH) 的反应, 来生成用于可控聚合的活化单体。通过巯基试剂 (R-SH) 与二硫键之间的可逆交换反应, 触发球状蛋白进入非折叠状态, 蛋白质单体在熵驱动的吸附和构象转变作用下, 部分展开并在气-水界面或固-水界面 (AWI/SWI) 发生组装。该过程可随时间重复进行, 沿循“单体-寡聚体-二维组装体”的路径在界面处形成二维纳米薄膜。在反应体系中逐步加入天然蛋白质时, 膜厚以线性方式周期性增加。这种在界面处实现的蛋白质活性/可控超分子聚合 (LCSP) 能够合成具有明确平整形貌、超高模量以及纳米至宏观尺度可控厚度的纳米薄膜。所得蛋白质纳米膜可进一步附着于多种柔性与刚性材料表面, 形成稳定的结构色涂层。

在该研究中利用 Gator BLI 完成大量实验验证: 1、文章以溶菌酶 (Lyz) 为例, 直接检测不同还原剂处理的溶菌酶表面巯基暴露量, 显示 TCEP 处理组 (不可逆还原) 的 Mal-PEG4 结合量显著高于巯基试剂处理组, 证明 TRIPA 中巯基的可逆消耗特性。2、利用 Gator “two state” 新算法拟合溶菌酶和 GSH 结合后形成的构象变化以及在不同温度下的亲和力 K_D 值, 计算出熵变和焓变。揭示了界面熵驱动吸附引发两步聚集: 快速吸附→构象转变→ β -折叠富集。



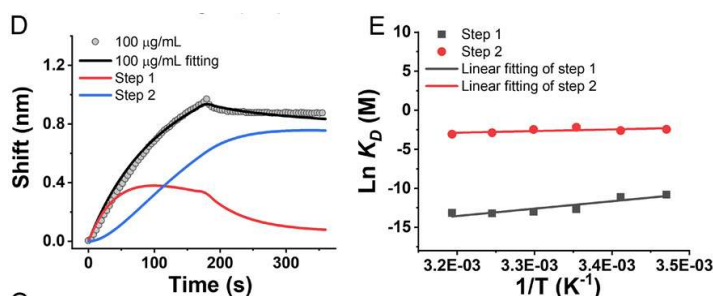
Name	Conc. (nM)	k_{off} (1/s)	k_{on} (1/Ms)	K_D (M)
TCEP	1.00E+06	2.64E-04	7.09E+01	3.72E-06
DHLA	1.00E+06	7.90E-03	8.12E+01	9.73E-05
GSH	1.00E+06	3.20E-04	2.94E+01	1.09E-05
CYS	1.00E+06	2.70E-03	6.01E+01	4.50E-05

Gator BLI 进行多步骤检测流程:

使用 SMAP 传感器固化 biotin-Lyz, 浸入含有 “TCEP、DHHLA、GSH和CYS” 的 buffer 中 30 min, 于 buffer 中洗涤 4 min, 再与 Mal-PEG4 结合, 检测结合信号变化。

Gator BLI 进行 “two state” 检测流程:

APS 传感器吸附 “Lyz+GSH” 混合物 (0-100 $\mu g/ml$), 于水中进行解离。利用 two state 算法 (定义: 分析物-配体先 1:1 结合, 继而发生构象转变或形成新稳定复合物) 拟合 “吸附-构象变化” 的动力学过程。并在 15/20/25/30/35 $^{\circ}C$ 下, 拟合得到不同温度下的 K_D 值用于熵变焓变计算。



参考文献

Peng Yang, et al. Living/controlled supramolecular protein polymerization. PNAS, 2025.

21 化工材料

21.1 自制 CRISPR-BLI 探针用于 HPV 快检

Microchemical Journal

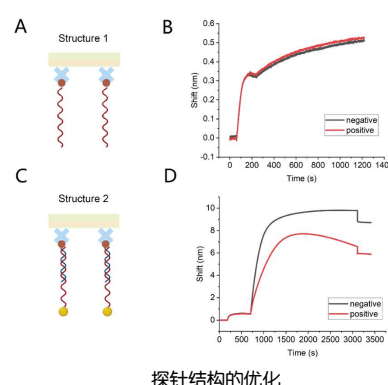
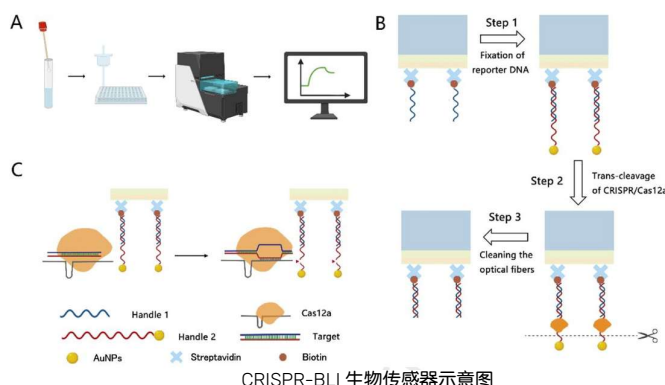
A CRISPR/Cas12a-mediated BioLayer interferometry biosensor for rapid and specific detection of HPV16 and HPV18

Lei Chen 等, 北京化工大学

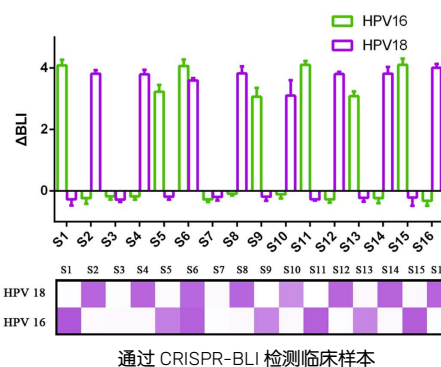
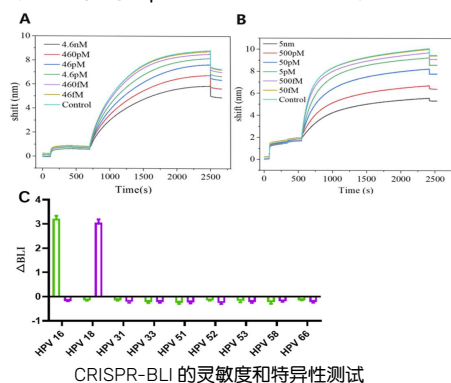
关键词: HPV, CRISPR-Cas12a, BLI, Amplification-free, AuNPs

人乳头瘤病毒 16 型和 18 型是导致宫颈癌的主要高危型别, 占全球宫颈癌病例的 70% 以上。现有检测方法如 qPCR 灵敏度高但依赖复杂温控设备, 等温扩增技术虽简化了操作但易产生气溶胶污染导致假阳性。因此, 亟需开发一种快速、灵敏、无扩增、无假阳性的 HPV 检测方法。

研究人员在线发表文章, 首次将 BLI 与 CRISPR/Cas12a 结合, 创新开发了一种 CRISPR-BLI 生物传感器, 能够实现 HPV16/18 的高灵敏度快速检测, 无需扩增且避免气溶胶污染, 特异性提升并缩短至 40 min。具体检测方法流程为: (1) CRISPR-BLI 生物传感器构建: ssDNA H2 5' 端生物素化, 固定在链霉亲和素 (SA) 生物传感器上; H1 与 H2 互补配对, 3' 端连接金纳米颗粒 (AuNPs); 通过杂交形成直立于传感器表面的双链结构, AuNPs 用于信号放大。(2) 样本 CRISPR/Cas12a 反应体系: 将筛选出的针对 HPV16 和 HPV18 的 crRNA, 与 Cas12a 以摩尔比 1:1 混合, 将待测样本 DNA 加入 Cas12a/crRNA 混合液中, 37°C 预孵育 20min, 激活 Cas12a 的反式切割活性。(3) Gator BLI 仪器进行信号检测: ① 传感器于 PBSP 中建立基线; ② 传感器浸入预孵育后的 CRISPR 反应液, Cas12a 切割 ssDNA 导致 AuNPs 脱落, 实时记录信号下降; ③ 传感器移入 PBSP 洗脱被切割的 AuNPs, 进一步放大信号变化。记录信号下降幅度 ($\Delta\lambda$), 与靶标浓度呈正相关。



这种 CRISPR-BLI 生物传感器检测 HPV16/18 的创新突破在于: (1) 创新性采用“减信号”模式, 通过信号下降幅度定量检测 HPV16/18 靶标 DNA, 有效避免假阳性。(2) AuNPs 信号放大使检测灵敏度达到飞摩尔级 (HPV16 460 fM / HPV18 500 fM)。(3) 检测时间仅 40 分钟, 无需核酸扩增。(4) 对 16 份临床样本进行检测, 结果与 qPCR 100% 一致, 证实方法可靠。



参考文献

Lei Chen, et al. A CRISPR/Cas12a-mediated BioLayer interferometry biosensor for rapid and specific detection of HPV16 and HPV18. Microchemical Journal, 2026.

22 细胞检测

22.1 红细胞-IgM

Nature

Communications

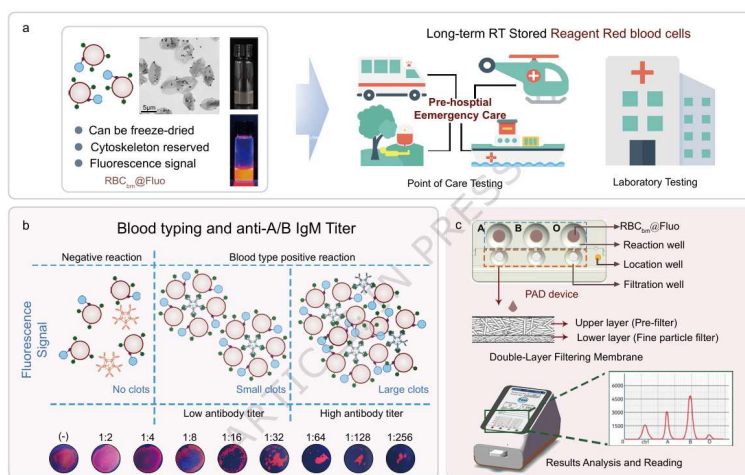
Paper-based fluorescent assay for blood typing and antibody titer determination using long-term ambient-stored bioengineered RBCs

Xiaohui Wang 等, 军事科学院

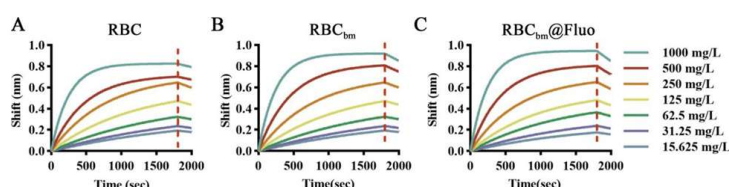
关键词: 血型鉴定, 抗体滴度, 红细胞

血型鉴定及抗体滴度检测是临床输血安全的核心前提, 当前床旁血型鉴定及抗体滴度检测方法面临诸多瓶颈: (1) 红细胞试剂需依赖冷链储存和运输, 增加了检测成本和应用限制; (2) 系列稀释操作耗时费力, 难以满足急诊快速检测需求; (3) 视觉判读结果易受人为因素影响, 主观性强、准确性难以保证。这些问题在急诊及资源有限地区尤为突出, 严重制约了输血决策的及时性和准确性, 给临床输血安全带来挑战。

研究人员在床旁血型鉴定及抗体滴度检测技术研究中取得了新进展。针对现有检测方法依赖冷链、操作繁琐、判读主观等局限性, 开发了一种基于生物工程红细胞(RBC_{bm}@Fluo)的用于血型鉴定及抗体滴度检测的新型手持式纸基检测 POCT 方法: (1) 通过生物工程技术构建了去除血红蛋白但保留 ABO 表面抗原的红细胞膜, 用荧光纳米颗粒标记后进行冻干处理, 成功实现试剂在室温下至少 2 年的稳定储存, 摆脱了对冷链的依赖; (2) 同时, 利用双层纸垫捕获血凝反应, 结合荧光定量技术, 将检测时间缩短至约 8 分钟, 无需进行耗时的系列稀释操作。(3) 为验证该方法的临床性能, 团队开展了注册临床试验 (ChiCTR2300078864), 以凝胶微柱法为参照, 在 641 名受试者中实现了 100% 的 ABO 血型鉴定一致性, 抗体滴度检测与参照方法的符合率达 80.75% (κ 值 = 0.8623), 具备临床级检测性能。该研究开发的手持式纸基检测方法, 可同时完成 ABO 血型鉴定和定量抗体滴度检测, 且不依赖冷链、操作便捷、结果精准, 为规模化生产、跨机构标准化应用提供了可能, 尤其适用于急诊及资源有限场景, 为临床输血决策提供了可靠支持。



基于 RBC_{bm}@Fluo 的 POCT 系统的示意设计及应用



Bio-Layer Interferometry

Group	K_{on} (1/s)	K_{off} (1/ms)	K_d (M)	Full R^2
RBC	7.01×10^{-4}	9.90×10^3	7.07×10^{-8}	0.985
RBCbm	5.77×10^{-4}	8.24×10^3	7.00×10^{-8}	0.987
RBCbm@Fluo	2.01×10^{-4}	8.69×10^3	2.31×10^{-8}	0.984

Kon: association rate constant Koff: dissociation rate constant

BLI 实验思路:

- (1) 使用 SA 探针固化 Bio-WGA (20 μ g/mL);
- (2) 然后结合 RBC、RBC_{bm} 和 RBC_{bm}@Fluo 红细胞 (稀释至 1×10^8 cells/mL);
- (3) 再结合 IgM (1000 μ g/mL 最高, 2 倍梯度系列稀释, 7 个浓度)。

参考文献

Xiaohui Wang, et al. Paper-based fluorescent assay for blood typing and antibody titer determination using long-term ambient-stored bioengineered RBCs. Nature Communications, 2026.

20 定量研究

20.1 双特异性抗体

Cell

Broad neutralization of SARS-CoV-2 variants by an inhalable bispecific single-domain antibody

应天雷等, 复旦大学

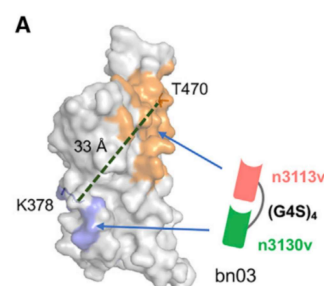
关键词: 间接定量, SARS-CoV-2, 双特异性抗体

自新冠疫情爆发以来, 一系列流行的新冠变异株迭次出现。奥密克戎是传播力极强的变异株, 该变异株的刺突蛋白 (Spike) 发生了超过 30 个位点突变, 其中在 RBD 区 (受体结合域) 就发生了 15 个突变, 陆续发现很多具有良好中和活性的新冠抗体对其几乎完全失效, 新冠疫苗的保护效果也被削弱; 另一方面, 市面上大多单抗药物都是通过静脉或皮下注射给药, 而新冠病毒的感染往往集中在呼吸道和肺部, 血液中病毒很少, 使得抗体难以有效发挥阻断作用。

该研究报道了一种抗新冠病毒的广谱双特异性全人源纳米抗体, 该研究报告了 Omicron 变体 RBD 上两个区域未发生明显的免疫逃逸, 一个是其朝向外侧的侧面区的一部分, 另一个隐藏在三聚体内部。研究生成了一种双特异性单域抗体 (bn03), 能够协同性结合单个 Omicron 变体 RBD 上的这两个区域。此外, 与经典的单抗不同, 这种双特异性抗体可以通过吸入给药有效地输送到肺部, 并在 SARS-CoV-2 感染的小鼠模型中表现出出色的中和能力和治疗效果, 有望成为首个通过雾化给药方式的广谱全人源纳米抗体药物, 用于新冠肺炎的特效治疗。

该研究利用 Gator® 系统, 直接检测吸入给药后各个时间段, 血液和肺脏里 bn03 的浓度, 证明了这种双特异性抗体可以通过吸入方式有效地输送到肺部。Gator® 可直接检测血清/肺脏匀浆等复杂的粗样品, 同时还能保证高灵敏度和特异性。

bn03 电镜结构示意图



bn03 双抗由 n311v、n3130v 以及连接的 linker (G4S) 4 组成, 共同识别 RBD 的侧面和隐藏在刺突蛋白三聚体内部的两个表位。

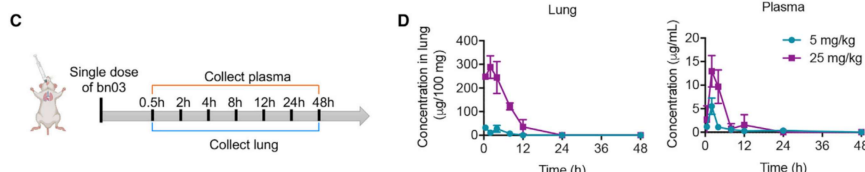
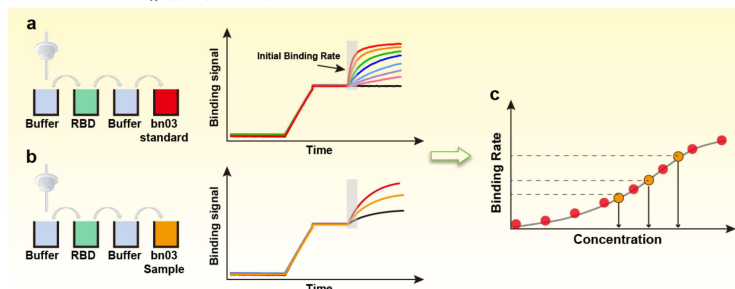


图: BLI方法定量血清/肺脏中 bn03 的浓度



BLI 实验思路:

定量血清/肺脏中 bn03 的浓度:

1. 使用 Ni-NTA 生物传感器先固化 his-tagged RBD, 再结合 bn03 标准品 (图 a) 或血清/肺脏匀浆中的 bn03 双抗 (图 b)
2. 通过 bn03 标准品实时曲线的起始斜率 (Initial Binding Rate) 与浓度建立标准曲线, 再根据样本的起始斜率代入标准曲线, 进而回算出样品中 bn03 的浓度 (图 c)

参考文献

Liu Y, Xu P, Rivara S, Liu C, Ricci J, Ren X, Hurley JH, Ablasser A. Clathrin-associated AP-1 controls termination of STING signalling. Nature, 2022 Oct 19.

20 定量研究

20.2 抗药抗体 (ADA)

Clinical Chemistry

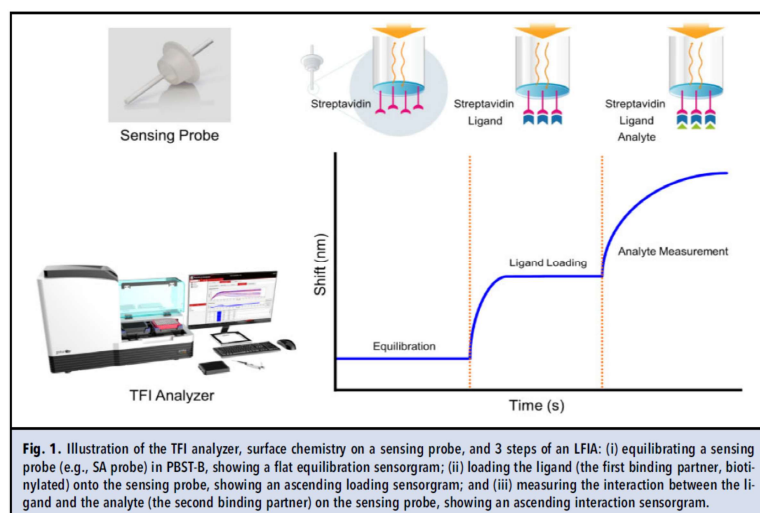
Development of Label-Free Immunoassays as Novel Solutions for the Measurement of Monoclonal Antibody Drugs and Antidrug Antibodies

Yiqi Ruben Luo 等, 加利福尼亚大学, 扎克伯格旧金山总医院

关键词: 间接定量, 抗药物抗体, 治疗性药物检测

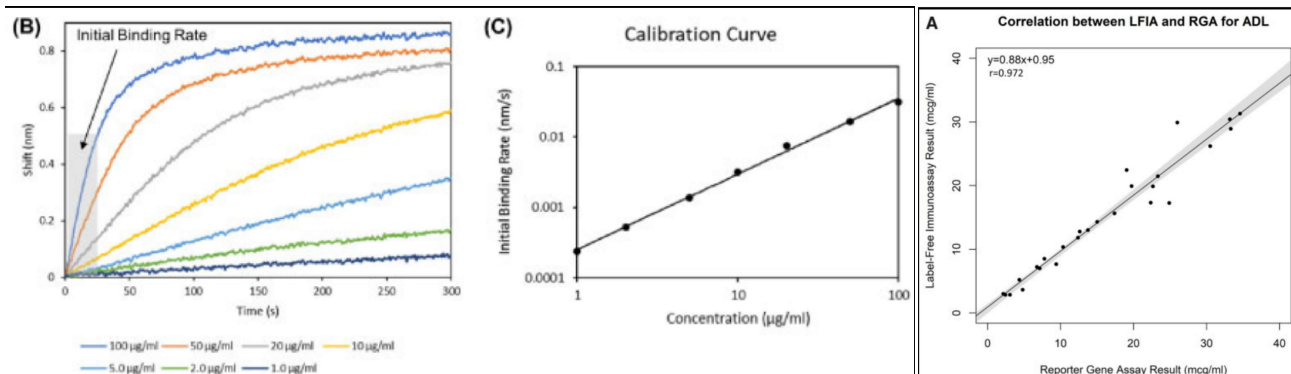
单克隆抗体治疗是现在最热门的生物药物治疗方法之一, 其中在治疗过程中对 mAb 药物的治疗性药物监测 (TDM, Therapeutic Drug Monitoring) 是尤为重要的环节; TDM 包括了对药物浓度和抗药物抗体 (ADA, Antidrug Antibody) 的检测。

本文基于非标记免疫测定 (LFIA) 即 BLI 技术, 完成了阿达木单抗 (ADL) 和英夫利昔单抗 (IFX) 的定量分析; 以及其对应的抗药抗体 (ADL-ADAs 和 IFX-ADAs) 的检测, 为 TDM 的临床诊断提供了一种创新的方法, 可快速定量单抗药物浓度及其 ADA 浓度。



BLI 实验思路 (以检测 ADL 为例): SA 生物传感器抓取带 biotin 标记的 TNF- α 再结合 ADL 的标准品或稀释后的血清样本计算结合起始斜率, 绘制标准曲线, 进行定量分析。

该方法检测精密度 (CV%) 和灵敏度都较好, 检测线性范围 (AMR) 也可达到检测要求, 与 RGA 对比结果一致性好。本文证明 BLI 技术可以用于粗样品的精确检测, 而且成本低, 速度快。



参考文献

Luo Y R, Chakraborty I, Lazar-Molnar E, et al. Development of Label-Free Immunoassays as Novel Solutions for the measurement of monoclonal antibody drugs and antidrug antibodies[J]. Clinical Chemistry, 2020, 66(10): 1319-1328.

Gator® 传感器

Gator® 传感器		应用		定量	动力学	表位分组	动态范围 (µg/mL)	能否再生
抗体传感器								
Pro A	通过 Protein A 与 Fc 之间结合测定 IgG 的浓度	●		●			0.02 - 2000	●
Pro G	通过 Protein G 与 Fc 之间结合测定 IgG 的浓度	●		●			0.02 - 2000	●
Pro L	通过 Protein L 与轻链之间的结合测定抗体以及抗体片段的浓度	●		●			0.02 - 2000	●
HFC	通过结合人源 Fc 融合蛋白或人源 IgG 进行定量或动力学分析		●	●				●
 HFC Gen II	通过结合人源 Fc 融合蛋白或人源 IgG 进行定量或动力学分析	●	●	●			0.3 - 6000	●
MFC	通过结合鼠源 Fc 融合蛋白或鼠源 IgG 进行定量或动力学分析	●	●	●			0.02 - 6000	●
 MFC XT	通过结合鼠源 Fc 融合蛋白或鼠源 IgG 进行定量或动力学分析	●	●	●			0.025 - 10000	●
Anti-Rabbit Fc	结合兔源 Fc 进行定量或动力学分析	●	●	●			0.05 - 4000	
Anti-FAB	通过结合 CH1 进行定量或动力学分析	●	●	●			0.3 - 3000	●
 IgM	结合人源 IgM	●	●				0.4 - 300	●
 Anti-VHH	结合不同骆驼科动物纳米抗体	●	●				0.05 - 10	●
纯化标签								
Anti-His	结合带有 His 标签的蛋白	●	●	●			~1 - 100	●
 Anti-His XT	结合带有 His 标签的蛋白	●	●	●			0.2 - 1000	●
Ni-NTA kit	结合带有 His 标签的蛋白	●	●	●			~1 - 100	●
 Strep-Tactin XT	结合带有 Twin-Strep-tag® 标签的蛋白 (seq: SAWSHPPQFEKGGSGGGSGGSAWSHPPQFEK)	●	●	●			~0.02 - 20	●
Anti-GST	结合带有 GST 标签的蛋白	●	●	●			0.5 - 300	●
Anti-FLAG	结合带有 FLAG 标签的蛋白		●					
链霉亲和素系列								
SA	通过链霉亲和素与生物素化蛋白高亲和力结合进行动力学分析		●	●				
 SAS	通过链霉亲和素与生物素化蛋白高亲和力结合进行蛋白/小分子动力学分析		●	●				
 SA XT	通过链霉亲和素结合生物素化多肽、核酸、蛋白或脂质纳米颗粒等分子量超过 2 MDa 的样品		●	●				
 SMAP	通过链霉亲和素结合更多生物素化蛋白进行小分子动力学分析		●					
 FlexSA kit	通过链霉亲和素结合生物素化蛋白进行动力学分析且可以多次再生		●					●
细胞和基因治疗								
AAVX/AAV9	快速定量血清型 AAV 衣壳滴度	●	●				7E ⁹ - 1E ¹⁴ vp/ml	
 HSA VAVX/AAV9 kit	高灵敏度定量血清型 AAV 衣壳滴度	●					1E ⁷ - 1E ⁹ vp/ml	
 AAV Ratio kit	AAVX 探针捕获病毒，高温裂解，SSB 探针结合 ssDNA，得到信号值进行 E/F ratio 分析	●					5 - 100% full	
 Anti-PEG	结合聚乙二醇化的脂质分子、蛋白		●					
定制化解决方案								
AR	共价结合蛋白质氨基进行动力学分析		●					
APS	利用疏水性直接结合蛋白质		●					
 Custom	根据客户需求定制	●	●	●			Varies	Varies

Only available with Gator® Bio.



欢迎与我们联系

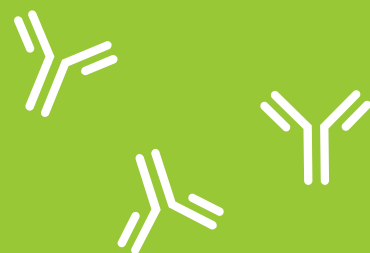
我们随时为您提供帮助

info@gatorbio.cn
400-998-2881

www.gatorbio.cn

© Copyright 2026 Gator Bio





Gator Bio 上海



地址：上海市张江高科园区华佗路 68 号 4 幢东

电话：400-998-2881

邮箱：Info@gatorbio.cn

网址：www.gatorbio.cn

