
钟声团队开发PROPER-seq测序技术大规模揭示蛋白质相互作用

作者：writer 来源：爱科学

本文原地址：<https://www.iikx.com/news/progress/14993.html>

本文仅供学习交流之用，版权归原作者所有，请勿用于商业用途！

钟声团队开发PROPER-seq测序技术大规模揭示蛋白质相互作用。蛋白质是生命活动的主要承担者，它不仅是生物体的基本构成物质之一，更是众多生物功能的关键执行者，数万种蛋白质通过复杂的相互作用呈现了丰富多彩的生命活动。因此，绘制蛋白质相互作用图谱对于深入理解生命活动机理以及探索疾病靶标和设计药物都有重要意义，一直是一个活跃的重要研究领域。

2021年8月3日，美国加州大学圣地亚哥分校钟声教授团队在Molecular Cell在线发表研究论文，报道了基于高通量测序的蛋白质相互作用图谱绘制技术——PROPER-seq (protein-protein interaction sequencing)。其团队Kara Johnson博士、戚志杰、严章明博士、文星罍是论文的主要作者。

Technology

Revealing protein-protein interactions at the transcriptome scale by sequencing

Kara L. Johnson^{1,5}, Zhijie Qi^{1,5}, Zhangming Yan¹, Xingzhao Wen², Tri C. Nguyen¹, Kathia Zaleta-Rivera¹, Chien-Ju Chen², Xiaochen Fan¹, Kiran Sriram³, Xueyi Wan⁴, Zhen Bouman Chen³, Sheng Zhong^{1,6}  

¹ Department of Bioengineering, University of California, San Diego, La Jolla, CA 92093, USA

² Bioinformatics and Systems Biology Graduate Program, University of California, San Diego, La Jolla, CA 92093, USA

³ Department of Diabetes Complications and Metabolism, Beckman Research Institute, City of Hope, Duarte, CA 91010, USA

⁴ Division of Biological Sciences, University of California, San Diego, La Jolla, CA 92093, USA

钟声教授团队近年来开发了MARIO、MARGI等测序技术用于绘制RNA-RNA、RNA-DNA相互作用图谱，经过多年的探索，最终将蛋白质-蛋白质相互作用的检测转化成易于通过测序解决的问题，PROPER-seq应运而生，它能够高效地在一次实验中完成10,000 × 10,000对蛋白质的相互作用检测。

总体来说，PROPER-seq可分为三个关键步骤，分别是SMART-display，INLISE（Incubation, ligation and sequencing）以及PROPERseqTools的测序数据处理。首先，SMART-display通过精巧设计的引物（primer）、接头（adapter）和连接（linker）以及体外翻译系统，将直接来自于细胞的mRNA转变为带有各自mRNA标记尾巴的蛋白质，从而构建出接近于来源细胞全转录组水平的蛋白质-RNA融合体展示库（display library）。之后，在INLISE步骤中，需要两个SMART-display生成的蛋白质-RNA融合体展示库，其中之一利用嘌呤霉素连接（linker）上的生物素将蛋白质-RNA融合体固定到链霉亲和素磁珠上，并使用Template Switching Oligos和限制性内切酶将磁珠上的蛋白质-RNA融合体转变为蛋白质-DNA融合体，这个库被称为诱饵库，另一个库被称为猎物库，它的蛋白质-RNA融合体也同样被转变成蛋白质-DNA融合体，并且DNA末端连接上了特定的带有生物素的相互作用linker。每个库包含大约30,000个蛋白质-DNA融合体，混合两个库促使蛋白质相互作用发生，相互作用蛋白的DNA标记序列会发生邻近连接反应（proximity ligation），从而最终得到cDNA1-linker-cDNA2形式的嵌合序列并建库进行高通量双端测序。最后，使用定制的PROPERseqTools软件处理测序数据，筛选、解码嵌合序列并通过统计学方法得到高置信度的蛋白质-蛋白质相互作用网络。

研究团队将PROPER-seq应用于人胚胎肾细胞（HEK）、白血病T淋巴细胞（Jurkat）和脐静脉内皮细胞（HUVEC），整合得到了一个包含8,635种蛋白质之间210,518对相互作用的网络，被称为

PROPER v.1.0，并建立了查询与数据库（<https://genemo.ucsd.edu/proper>）。

迄今为止，人类已验证的蛋白质相互作用只是全局图谱中的一小部分，不同的实验技术因偏好性不同而得到的结果也大不相同，因此研究团队需要设计多角度的分析与实验来检验PROPER v.1.0的可靠性。首先，比较PROPER v.1.0与已发表的多组人类蛋白质相互作用数据，发现PROPER v.1.0有约四千对蛋白质相互作用得到了数据支持。然后，通过实验成功验证了在PROPER v.1.0中发现的DNA修复功能关键蛋白PARP1的四对未曾被报道过的蛋白质相互作用。此外，近年来随着深度学习等计算科学领域的蓬勃发展，计算预测蛋白质结构以及相互作用成为了热点，然而大量算法预测的蛋白质相互作用尚未得到实验验证，研究团队通过比较PROPER v.1.0与PrePPI算法预测得到的蛋白质相互作用，发现PROPER v.1.0支持了一万七千多对尚未经实验验证的相互作用，表明基于结构的相互作用预测算法是有重要价值的。

最后，研究团队从生物学功能角度分析，一方面，发现PROPER v.1.0中有100对相互作用与人类合成致死基因对重叠，暗示了一部分遗传相互作用与蛋白质物理相互作用可能存在直接关联，另一方面，分析了PROPER v.1.0中三种不同细胞类型的特异性子网络的功能富集情况，发现子网络能够反映细胞特异性的功能特征。这些研究结果从不同角度支持了PROPER-seq鉴定蛋白质相互作用的可行性以及PROPER v.1.0的可靠性。当然，研究团队在论文中也总结了目前PROPER-seq技术还存在的限制和不足，比如不能完全分离binary和non-binary相互作用，无法检测依赖翻译修饰的蛋白质相互作用等。

PROPER-seq技术提供了一种无需特定抗体，可以直接应用于各种细胞，在转录组水平上简单高效的检测蛋白质相互作用的方法，基于PROPER-seq建立的PROPER v.1.0为绘制人类蛋白质相互作用图谱提供了新的数据资源。研究团队希望PROPER-seq可以帮助研究人员更快速、便捷地鉴定、筛选感兴趣的蛋白质相互作用，拓展已知的蛋白质相互作用网络，阐明细胞类型特异性的蛋白质相互作用。（来源：科学网）

相关论文信息：<https://doi.org/10.1016/j.molcel.2021.07.006>

作者：钟声等 来源：《分子细胞》

更多科学进展 请访问 <https://www.iikx.com/news/progress/>

本文版权归原作者所有，请勿用于商业用途，[爱科学iikx.com](https://www.iikx.com)转发