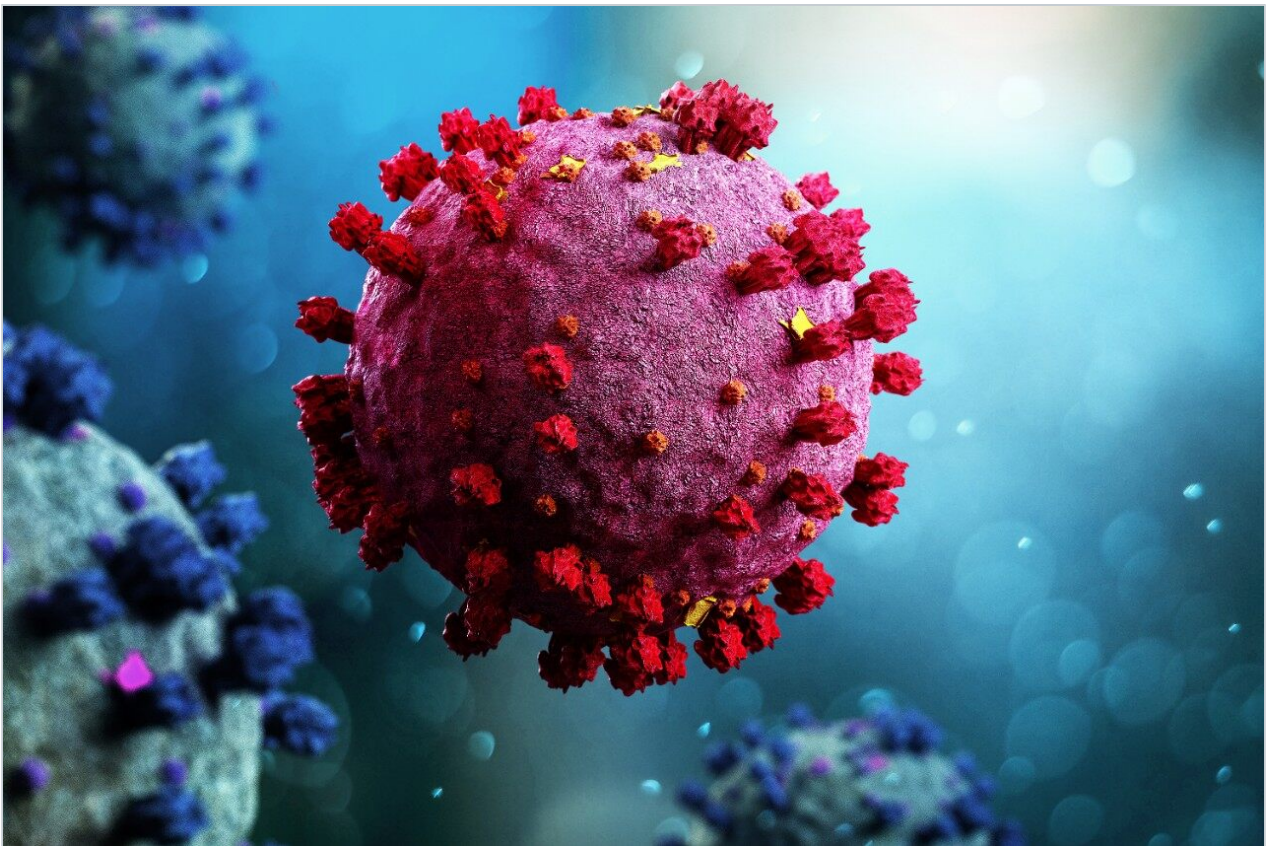


应用纪要

剖析新型冠状病毒肺炎(COVID-19): 快速并且灵敏地表征SARS-CoV-2刺突蛋白的N-糖

Xiaoxiao Liu, Matthew A. Lauber

Waters Corporation



需要帮助? 如需详细了解沃特世如何为您抗击新型冠状病毒肺炎(COVID-19)提供助

力，请联系 [新型冠状病毒肺炎\(COVID-19\)疫情创新响应团队](#)

这是一份应用简报，不包含详细的实验部分。

摘要

为应对全球新型冠状病毒肺炎(COVID-19)大流行疫情，人们进行了大量的新型冠状病毒疫苗开发工作。疫苗靶点的确定需要借助稳定耐用的分析方法来掌握SARS-CoV-2的结构生物学特征。本研究的重点是针对已成为疫苗开发潜在靶点的SARS-CoV-2刺突蛋白掌握其N-糖基化谱图。由于糖基通常是糖蛋白结构和功能的决定因素，因此掌握SARS-CoV-2刺突蛋白的糖基信息对后续治疗药物的开发来说至关重要¹。本研究利用GlycoWorks RapiFluor-MS N-糖分析试剂盒轻松、快速地检测SARS-CoV-2刺突蛋白的N-糖。最终鉴定出42个主要糖基峰，其中2个暂时归属为双岩藻糖基化。本研究促使后续通过MS/MS分析确认SARS-CoV-2刺突蛋白的糖基化谱图。

优势

快速、灵敏、简便的N-糖检测

简介

COVID-19大流行疫情期间，全球的科学家都致力于探索SARS-CoV-2的结构生物学特征。结果发现SARS-CoV-2刺突蛋白与病毒致病机制有关，因此已将其作为疫苗开发靶点。研究表明病毒中和抗体会与新型冠状病毒刺突蛋白上的肽和糖基抗原表位发生相互作用^{1,2,3}。由于糖基化是结构、功能、构象动力学和药物结合位点可用性的重要决定因素，因此掌握刺突蛋白糖基信息是开发相应治疗药物的关键¹。所以糖基化的表征对新疫苗的开发至关重要。

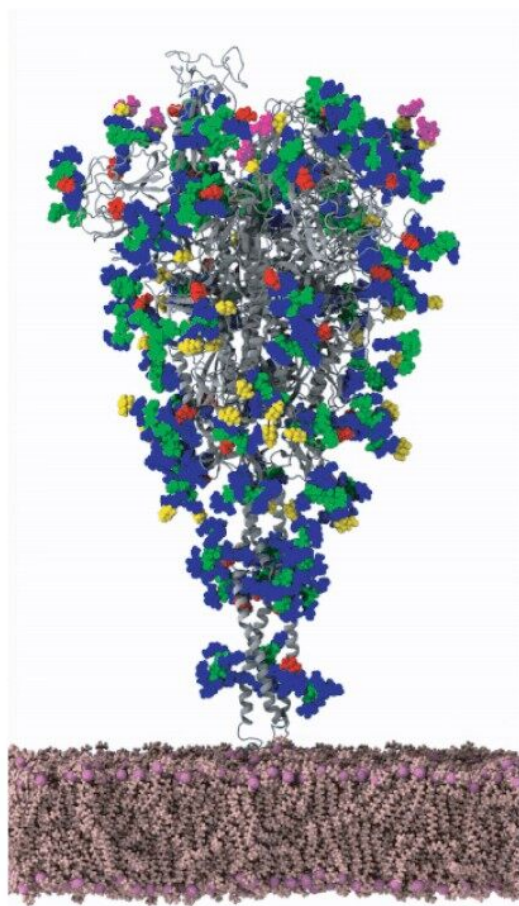


图1.SARS-CoV-2刺突蛋白（灰色）及其表面的糖基模型。Lorenzo Casalino、Zied Gaieb和Rommie Amaro，加州大学圣地亚哥分校。

实验

使用GlycoWorks RapiFluor-MS N-糖分析试剂盒释放N-糖并对其进行标记和纯化以进行亲水作用色谱(HILIC)分析，而变性则采用经过优化的DTT还原条件。使用ACQUITY UPLC H-Class LC和Xevo G2-XS QToF质谱仪进行HILIC-FLR-MS分析。

LC-MS条件

LC系统: ACQUITY UPLC H-Class Bio

检测条件: ACQUITY FLR和Xevo G2-XS
QTof

样品瓶: QuanRecovery 300 µL

色谱柱: ACQUITY UPLC Glycan BEH
Amide糖基分析专用柱, 1.7 µm, 2.1 x 150 mm

柱温: 60 °C

样品温度: 8 °C

进样体积: 1 µL

流速: 0.4 mL/min

流动相A: 50 mM甲酸铵, pH 4.4

流动相B: 乙腈 (LC-MS级)

梯度: 流动相B在35 min内从75%降至54%

有关样品前处理的更多信息, 请参阅《GlycoWorks维护和使用手册》。有关MS条件的更多信息, 请参阅沃特世应用纪要。

《GlycoWorks维护和使用手册》	715004903 < https://www.waters.com/webassets/cms/support/docs/715004903 >
沃特世应用纪要	720005850EN < https://www.waters.com/webassets/cms/library/docs/720005850EN >

结果与讨论

鉴定出42个主要糖基峰（见图2），其中2个暂时归属为双岩藻糖基化（见图3）。其余的归属结果为：11个无岩藻糖基化糖基，29个岩藻糖基化糖基。上述糖基还可以继续分成3类，包括6个高甘露糖糖基、6个混合糖基和30个复合糖基。这些归属结果是基于HILIC的相对保留时间、葡萄糖单位(GU)值以及精确质量数信息得出的。需要进行MS/MS分析和外切糖苷酶阵列检测以确认鉴定结果。

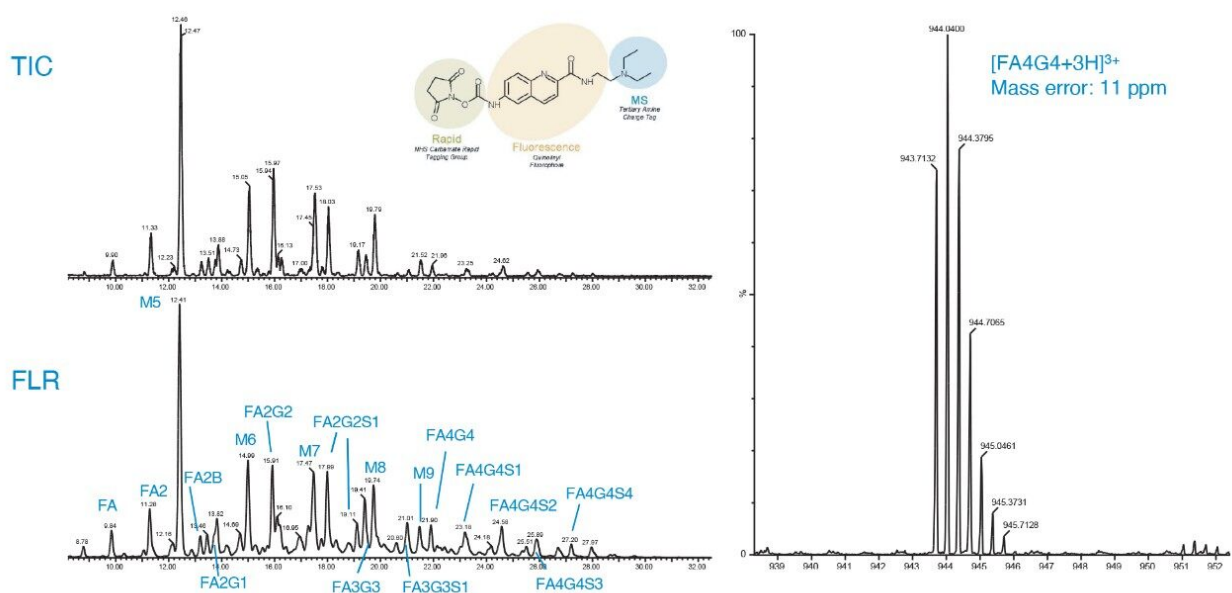


图2.42个主要糖基峰的MS鉴定结果

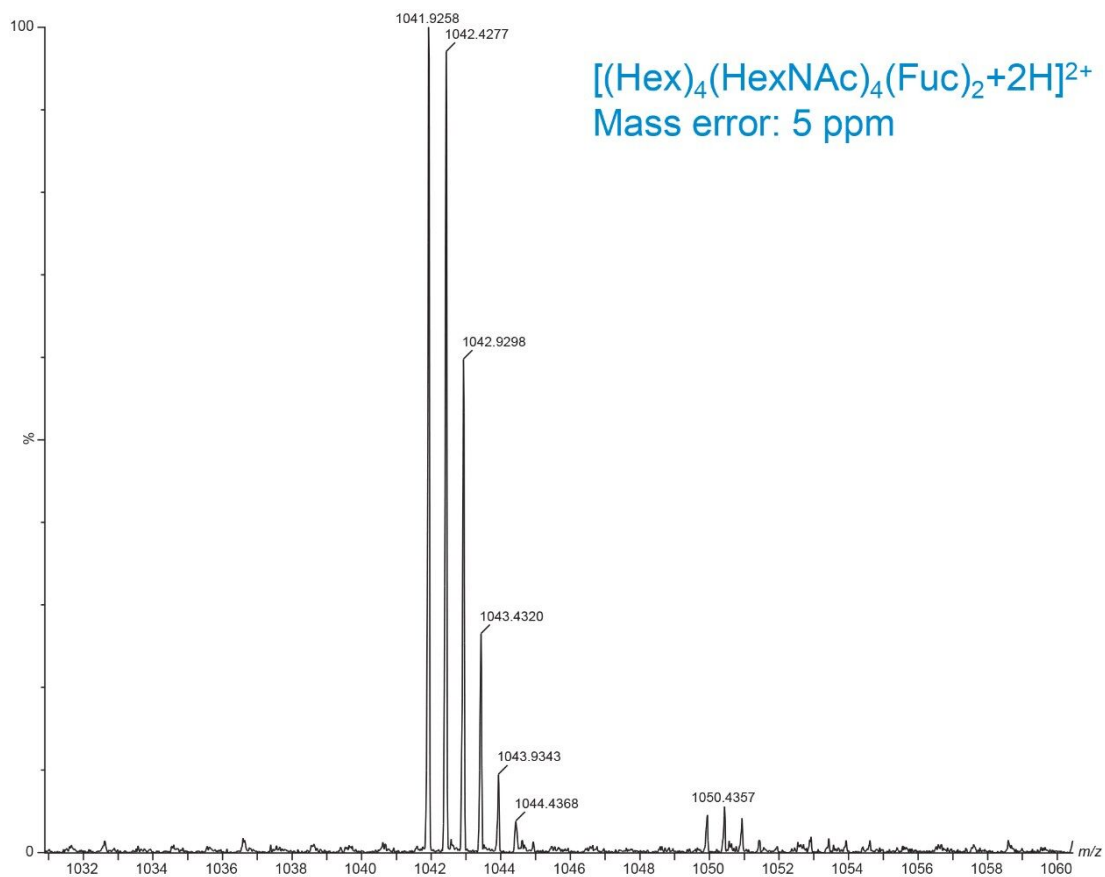


图3.双岩藻糖基化糖基的MS谱图

结论

由于SARS-CoV-2刺突蛋白与病毒致病机制有关，因此将其作为疫苗开发靶点。要开发出有效的治疗药物，需要全面掌握SARS-CoV-2刺突蛋白靶点的结构和功能。全面掌握SARS-CoV-2刺突蛋白结构和功能的关键是了解其糖谱。因此，识别和开发有望治疗COVID-19的新型药物需要使用快速并且准确的糖基分析方法。本研究展示了所用方法快速、简单地检测SARS-CoV-2 N-糖的能力。结果鉴定出42个主要糖基峰，有趣的是，其中2个峰的归属为双岩藻糖基化。这项有趣的发现需要通过MS/MS和外切糖苷酶阵列检测来进一步证实。

参考文献

1. Novokmet, Mislav *et al.* Understanding glycans in COVID-19 drug design.
<https://www.genengnews.com/insights/understanding-glycans-in-covid-19-drug-design/> <
<https://www.genengnews.com/insights/understanding-glycans-in-covid-19-drug-design/>>
2. Pinto, D. *et al.* Structural and functional analysis of a potent sarbecovirus neutralizing antibody.
bioRxiv 2020.04.07.023903 (2020).doi: <https://doi.org/10.1101/2020.04.07.023903>
3. Stawiski, E.W. *et al.* Human ACE2 receptor polymorphisms predict SARS-CoV-2 susceptibility.
bioRxiv 2020.04.07.024752 (2020). doi: <https://doi.org/10.1101/2020.04.07.024752>

720006914ZH, 2020年5月