

文献解读 | 重组人原脯氨酰4-羟化酶在毕赤酵母中表达的新策略

产品名称	文献解读 重组人原脯氨酰4-羟化酶在毕赤酵母中表达的新策略
公司名称	北京百泰派克生物科技有限公司
价格	.00/件
规格参数	品牌名称:百泰派克生物科技 业务范围:技术服务 经营模式:生产厂商
公司地址	北京市经济技术开发区科创六街88号院
联系电话	18244218588

产品详情

2020年2月，暨南大学项琪等发表题为“New Strategy for Expression of Recombinant Human Prolyl-4-Hydroxylase in *Pichia pastoris*”的研究性文章，该研究主要通过毕赤酵母表达系统生产出了rhP4H，并发现rhP4H特异性催化Gly-X-Y结构中的脯氨酸的羟基化，为促进P4H的功能分析和进一步分析P4H如何维持胶原蛋白的稳定性提供了可能。该项研究中，百泰派克生物科技提供了氨基酸分析和多肽质谱鉴定技术支持。

研究背景

胶原蛋白是人体中含量Z_U_I丰富的蛋白质之一，在细胞的维持和组成中起着重要的作用，且广泛应用于医药、化工、保健品、食品、化妆品和饲料等行业中。胶原蛋白具有一个由3种多肽组成的独特的三螺旋结构，因此生产重组胶原蛋白面临着一系列挑战，特别是在维持胶原蛋白三螺旋结构的稳定性方面。

研究概述

胶原蛋白脯氨酸残基的羟基化对胶原蛋白的三螺旋结构的稳定至关重要。脯氨酰4-羟化酶(P4H)是一种具有2₂四聚体排列的酶，对胶原蛋白链中脯氨酸残基的翻译后羟基化起作用。P4H的2₂四聚体中亚基(P4H₁)包含催化位点，亚基(PDI)维持亚基的溶解性和活性。人体组织中有三种亚基，P4H₁、P4H₂和P4H₃。有研究显示P4H₂与I型、III型和IV型胶原蛋白的表达有关。

该研究中，研究者构建了pPICZ_U-P4H₂和PHIL-PDI两个质粒转化入毕赤酵母中来产生一个有活性的人P4H四聚体(rhP4H)。Real-time PCR显示P4H基因在mRNA水平上表达，如图1.a。SDS-PAGE和western blotting分析显示，在毕赤酵母GS115细胞中成功实现了rhP4H的分泌表达，如图1.b,d。在含O₂、Fe²⁺、α-酮戊二酸和抗坏血酸的体系中测试了rhP4H的催化活性，并通过UPLC-MS测定了脯氨酸的羟基化。结果

表明，rhP4H仅在Gly-X-Y结构上特异性羟基化脯氨酸残基，与游离脯氨酸则不发生反应。研究者推测，rhP4H可以被设计来调控重组胶原蛋白的结构特性，通过选择脯氨酸残基一定程度的羟基化，这将有助于创造具有特定Z_U_终用途的工程胶原蛋白。

图1.rhP4H在毕赤酵母GS115中的表达（图片来自原文献）

研究中，采用质谱法对得到的重组P4H₂和PDI单体的氨基酸进行了分析，且结果经MALDI-TOF MS肽图谱验证，该服务由北京百泰派克生物科技完成，质谱鉴定信息见表1。结果表明P4H₂和PDI表达成功，保证了后续实验的顺利进行。

表1.PDI和P4H₂的质谱鉴定信息统计（表格来自原文献）"

参考文献：

Cheng Y, Shi W, Xiao X, et al. New Strategy for Expression of Recombinant Human Prolyl-4-Hydroxylase in *Pichia pastoris*[J]. *Pakistan Journal of Zoology*, 2020, 52(1): 321.

服务推荐——多肽质谱鉴定

百泰派克生物科技拥有近10年的多肽质谱分析经验以及专业的质谱分析团队，已协助客户在《Nature》、《Cell》等高水平杂志发表多篇论文，欢迎感兴趣的老师联系咨询。

百泰派克生物科技-您身边的生物质谱专家北京百泰派克生物科技有限公司（Beijing Bio-Tech Pack Technology Company Ltd. 简称BTP）从事以生物质谱为依托的生物药物表征，大分子物质（包括蛋白质、多肽、代谢物）质谱分析以及小分子物质检测服务。公司采用ISO9001质量控制体系，专业提供以质谱为基础的CRO检测分析服务，业务范围覆盖蛋白质组学、多肽组学、代谢组学、生物药物表征、单细胞分析、单细胞质谱流式、生信云分析以及多组学生物质谱整合分析等。7大质量控制检测平台，服务3000+企业，10000+客户的选择，致力于为您提供y_ _u|z_h_ì的生物质谱分析服务！