

研究引文集

安捷伦定制 SurePrint 寡核苷酸文库



高性能寡核苷酸文库触手可及！

Agilent SurePrint 寡核苷酸文库合成平台提供先进可靠的基于阵列的 DNA 合成。通过利用 SurePrint 平台来改进 DNA 打印过程，能够为您的重要研究创建更长的寡核苷酸文库。高复杂度寡核苷酸库的高一致度合成可确保文库具有出色的保真度和完整呈现性，从而可改善功能性实验结果并缩短筛选时间。全面定制的超高质量寡核苷酸文库可与任何应用或实验方法兼容。

在本文集中，我们选择了十篇同行评审出版物，以说明 SurePrint 寡核苷酸文库在各种应用中的实用性和通用性。了解研究人员如何轻松地将寡核苷酸文库整合到工作流程中，并成功推进研究。

目录

传染病研究	皮摩尔级 SARS-CoV-2 微蛋白抑制剂的从头设计	4
	无偏倚筛查显示, COVID-19 患者的 CD8 ⁺ T 细胞可识别 SARS-CoV-2 中主要位于刺突蛋白之外的共有表位	5
	SARS-CoV-2 和泛冠状病毒宿主因素网络的基因组规模识别	6
	对 SARS-CoV-2 宿主蛋白相互作用组的功能研究可识别独特和共有的冠状病毒宿主因素	7
大规模并行报告基因检测	使用基因组和附加体大规模并行报告基因检测解析 c-AMP 响应元件结构	8
	人类和小鼠基因组的候选沉默子元件	9
	用于预测和改造替代性的多聚腺苷酸化的深度神经网络	10
增强子研究	突变偏倚和蛋白质编码影响剪接增强子的进化	11
CRISPR 研究	利用 CRISPRi 对快速复制的纳特里根弧菌进行功能基因组研究	12
基因组装 (DropSynth)	DropSynth 2.0: 在乳液中高保真的多重基因合成	13

皮摩尔级 SARS-CoV-2 微蛋白抑制剂的从头设计

Science, 2020.

doi: <http://doi.org/10.1126/science.abd9909>

作者

Longxing Cao, Inna Goreshnik, Brian Coventry, James Brett Case, Lauren Miller, Lisa Kozodoy, Rita E. Chen, Lauren Carter, Alexandra C. Walls, Young-Jun Park, Eva-Maria Strauch, Lance Stewart, Michael S. Diamond, David Veessler, David Baker

摘要

靶向严重急性呼吸综合征冠状病毒 2 (SARS-CoV-2) 刺突蛋白与人血管紧张素转化酶 2 (ACE2) 受体之间的相互作用是一种有前景的治疗策略。研究人员使用两种从头设计方法设计抑制剂。计算机生成的骨架或是围绕 ACE2 螺旋构建 (ACE2 螺旋与刺突受体结合域 (RBD) 相互作用)，或是与 RBD 对接以识别新的结合模式，其氨基酸序列的设计旨在优化靶标结合、折叠和稳定性。十种设计结合 RBD，亲和力范围为 100 皮摩尔到 10 纳摩尔，并阻断了 Vero E6 细胞的 SARS-CoV-2 感染，中位抑制浓度 (IC_{50}) 值在 24 皮摩尔和 35 纳摩尔之间。最有效的且具有新结合模式的，是含 56 和 64 个残基的蛋白 (IC_{50} 约为 0.16 ng/mL)。SARS-CoV-2 刺突外域三聚体与所有三个 RBD 结合后的微结合体的冷冻电镜结构均与计算模型几乎完全相同。这些十分稳定的微结合体为 SARS-CoV-2 治疗提供了起点。

无偏倚筛查显示，COVID-19 患者的 CD8⁺ T 细胞可识别 SARS-CoV-2 中主要位于刺突蛋白之外的共有表位

Immunity, 2020

doi: <https://doi.org/10.1016/j.immuni.2020.10.006>

作者

Andrew P. Ferretti, Tomasz Kula, Yifan Wang, Dalena M.V. Nguyen, Adam Weinheimer, Garrett S. Dunlap, Qikai Xu, Nancy Nabils, Candace R. Perullo, Alexander W. Cristofaro, Holly J. Whitton, Amy Virbasius, Kenneth J. Olivier, Jr., Lyndsey R. Buckner, Angela T. Alistar, Eric D. Whitman, Sarah A. Bertino, Shrikanta Chattopadhyay, Gavin MacBeath

摘要

要制定预防或治疗 2019 新型冠状病毒肺炎 (COVID-19) 的有效策略，需要了解对严重急性呼吸综合征冠状病毒 2 (SARS-CoV-2) 的天然免疫反应。研究人员使用了无偏倚的全基因组筛选技术来确定 SARS-CoV-2 中精确的肽序列，该序列可被 COVID-19 患者的记忆 CD8⁺ T 细胞识别。总体而言，研究人员为六种最普遍的人白细胞抗原 (HLA) 类型中的每种识别了 3–8 个表位。这些表位在患者之间广泛共享，并且位于病毒中不受突变变异影响的区域。值得注意的是，在 29 个共有表位中只有 3 个位于刺突蛋白中，而大多数表位位于 ORF1ab 或核衣壳蛋白中。研究人员还发现，CD8⁺ T 细胞通常不会与引起普通感冒的四种季节性冠状病毒中的表位发生交叉反应。综上，这些发现可以为下一代疫苗的开发提供信息，从而可以更好地概括天然 CD8⁺ T 细胞对 SARS-CoV-2 的免疫力。

Andrew P. Ferretti, Tomasz Kula, Yifan Wang, Dalena M.V. Nguyen, Adam Weinheimer, Garrett S. Dunlap, Qikai Xu, Nancy Nabils, Candace R. Perullo, Alexander W. Cristofaro, Holly J. Whitton, Amy Virbasius, Kenneth J. Olivier, Jr., Lyndsey R. Buckner, Angela T. Alistar, Eric D. Whitman, Sarah A. Bertino, Shrikanta Chattopadhyay, Gavin MacBeath. Unbiased Screens Show CD8⁺ T Cells of COVID-19 Patients Recognize Shared Epitopes in SARS-CoV-2 that Largely Reside outside the Spike Protein. *Immunity* (2020), 53, 1095–1107. doi: <https://doi.org/10.1016/j.immuni.2020.10.006>

SARS-CoV-2 和泛冠状病毒宿主因素网络的基因组规模识别

Cell, 2021

doi: <https://doi.org/10.1016/j.cell.2020.12.006>

作者

William M. Schneider, Joseph M. Luna, H.-Heinrich Hoffmann, Francisco J. Sánchez-Rivera, Andrew A. Leal, Alison W. Ashbrook, Jérémie Le Pen, Inna Ricardo-Lax, Eleftherios Michailidis, Avery Peace, Ansgar F. Stenzel, Scott W. Lowe, Margaret R. MacDonald, Charles M. Rice, John T. Poirier

摘要

2019 新型冠状病毒肺炎 (COVID-19) 大流行已夺走全球 100 多万人的生命。其病原体为严重急性呼吸综合征冠状病毒 2 (SARS-CoV-2), 属于冠状病毒家族, 可引起不同严重程度的呼吸道感染。在 SARS-CoV-2 和相关冠状病毒生命周期中的细胞宿主因素和途径仍然不明确。为了解决这一问题, 研究人员在 SARS-CoV-2 和三种季节性冠状病毒 (HCoV-OC43、HCoV-NL63 和 HCoV-229E) 感染期间开展了基因组规模的 CRISPR 敲除筛选。筛选结果揭示了具有泛冠状病毒和病毒特异性功能作用的宿主因素和通路, 包括对糖胺聚糖生物合成、固醇调控元件结合蛋白 (SREBP) 信号传导、骨形态发生蛋白 (BMP) 信号传导和糖基磷脂酰肌醇生物合成的主要依赖性, 以及对几种表征不详的蛋白质的需求。研究人员确定了 SARS-CoV-2 和三种季节性冠状病毒的感染, 对 VMP1、TMEM41 和 TMEM64 (VTT) 含结构域蛋白跨膜蛋白 41B (TMEM41B) 的绝对需求。这份人类冠状病毒宿主因子简编为急性 2019 冠状病毒疾病和潜在未来冠状病毒大流行新治疗策略的开发提供了丰富的资源。

William M. Schneider, Joseph M. Luna, H.-Heinrich Hoffmann, Francisco J. Sánchez-Rivera, Andrew A. Leal, Alison W. Ashbrook, Jérémie Le Pen, Inna Ricardo-Lax, Eleftherios Michailidis, Avery Peace, Ansgar F. Stenzel, Scott W. Lowe, Margaret R. MacDonald, Charles M. Rice, John T. Poirier. Genome-scale identification of SARS-CoV-2 and pan-coronavirus host factor networks. *Cell* 2021, 184, 120-132. doi: <https://doi.org/10.1016/j.cell.2020.12.006>

对 SARS-CoV-2 宿主蛋白相互作用组的功能研究可识别独特和共有的冠状病毒宿主因素

Cell Host & Microbe, 2021

doi: <https://doi.org/10.1016/j.chom.2020.12.009>

作者

H. Heinrich Hoffmann, Francisco J. Sánchez-Rivera, William M. Schneider, Joseph M. Luna, Yadira M. Soto-Feliciano, Alison W. Ashbrook, Jérémie Le Pen, Andrew A. Leal, Inna Ricardo-Lax, Eleftherios Michailidis, Yuan Hao, Ansgar F. Stenzel, Avery Peace, Johannes Zuber, C. David Allis, Scott W. Lowe, Margaret R. MacDonald, John T. Poirier, Charles M. Rice

摘要

持续的严重急性呼吸综合征冠状病毒 2 (SARS-CoV-2) 大流行冲击了全球经济，夺走了 170 多万人的生命，引发了一场紧迫的全球健康危机。为确定 SARS-CoV-2 和季节性冠状病毒感染所需的宿主因素，研究人员设计了一个集中的高覆盖度 CRISPR-Cas9 文库，针对最近发表的 SARS-CoV-2 蛋白相互作用组的 332 个组份。研究人员利用该文库的紧凑性，在两种生理相关温度下系统地筛选了 SARS-CoV-2 以及三种相关冠状病毒（人冠状病毒 229E [HCoV-229E]、HCoV-NL63 和 HCoV-OC43），能够以比基因组规模研究高得多的分辨率探测这种相互作用组。通过此方法得出了一些观点，包括 Rab GTP 酶需求和糖基磷脂酰肌醇 (GPI) 锚定生物合成的潜在病毒特异性差异，以及确定涉及胆固醇稳态的多个泛冠状病毒因素。该冠状病毒重要性目录可以为正在进行的旨在阻断和治疗 2019 年冠状病毒病 (COVID-19) 的药物开发工作提供信息，并有助于为未来的冠状病毒爆发做好准备。

H. Heinrich Hoffmann, William M. Schneider, Francisco J. Sánchez-Rivera, Joseph M. Luna, Alison W. Ashbrook, Yadira M. Soto-Feliciano, Andrew A. Leal, Jérémie Le Pen, Inna Ricardo-Lax, Eleftherios Michailidis, Yuan Hao, Ansgar F. Stenzel, Avery Peace, C. David Allis, Scott W. Lowe, Margaret R. MacDonald, John T. Poirier, Charles M. Rice. Functional interrogation of a SARS-CoV-2 host protein interactome identifies unique and shared coronavirus host factors. *Cell Host & Microbe* 2021, 29(2), 267-280. doi: <https://doi.org/10.1101/2020.09.11.291716>

使用基因组和附加体大规模并行报告基因检测解析 c-AMP 响应元件结构

Cell Systems, 2020

doi: <https://doi.org/10.1016/j.cels.2020.05.011>

作者

Jessica E. Davis, Kimberly D. Insigne,
Eric M. Jones, Quinn A. Hastings,
W. Clifford Boldridge, Sriram Kosuri

摘要

在真核生物中，转录因子 (TF) 通过与 TF 结合位点 (TFBS) 结合，并将转录共调控因子和 RNA 聚合酶 II 定位到顺式调控元件，调控基因表达。然而，目前对 TFBS 组成与其定量转录反应之间的关系缺乏基本了解。本研究通过使用大规模并行报告基因检测 (MPRA) 测量了由 17406 种合成顺式调控元件驱动的表达。这些元件带有不同组成的模型 TFBS，即 c-AMP 响应元件 (CRE)。研究人员发现 CRE 数量、亲和力和启动子临近度在很大程度上决定了表达。此外，研究观察到基于不同 CRE 间距和 CRE 到启动子距离的表达调控，其表达遵循螺旋周期。最后研究人员比较了表位 MPRA 和基因组整合 MPRA 的文库表达，其中在定义的位点处在细胞级别测定单个顺式调控元件。这些测定在很大程度上相互重合，而较弱的非典型 CRE 在基因组环境中表现出更高的活性。

人类和小鼠基因组的候选沉默子元件

Nature Communications, 2020

doi: <https://doi.org/10.1038/s41467-020-14853-5>

作者

Naresh Doni Jayavelu, Ajay Jajodia,
Arpit Mishra, R. David Hawkins

摘要

基因调控的研究主要集中在控制基因激活或提高表达水平。基因抑制或沉默的过程也同样关键。通过染色质特征已经确定了增强子，然而，缺乏通过计算或实验方法对沉默子进行全基因组鉴定。本研究使用大规模并行报告基因检测 (MPRA) 首先定义了可能含有沉默子的未表征的顺式调控元件，并发现约 7500 个经测试的元件中有 41.5% 显示出沉默子活性。研究人员训练了一个基于 MPRA 数据的支持向量机分类器，用以预测 100 多种人类和小鼠细胞或组织类型的候选沉默子。预测的候选沉默子表现出预期的沉默子特征。利用启动子捕获 HiC 数据，研究人员发现超过 50% 的沉默子与表达水平非常低或无表达的基因启动子相互作用。研究结果提出了一种沉默子元件全基因组鉴定和表征的一般策略。

用于预测和改造替代性的多聚腺苷酸化的深度神经网络

Cell, 2019

doi: <https://doi.org/10.1016/j.cell.2019.04.046>

作者

Nicholas Bogard, Johannes Linder,
Alexander B. Rosenberg, Georg Seelig

摘要

替代性多聚腺苷酸化 (APA) 是人类细胞转录组多样性的主要驱动因素。本研究使用深度学习, 仅通过 DNA 序列预测 APA。研究人员使用来自 300 多万 APA 报告基因的同源异构体表达数据训练了研究模型 (APARENT, APA REgression NeT)。对于合成的和人类 3'UTR, APARENT 的 APA 预测非常准确。对所有网络层所学到的特征进行可视化显示, APARENT 可以识别已知的招募 APA 调控因子的序列基序, 发现了以前未知的 3' 端加工的序列决定因素, 并将这些特征整合为一个全面的、可解析的顺式调控代码中。研究人员使用 APARENT 对具有精确定义的切割位置和同源异构体用途的功能性多聚腺苷酸化信号进行正向编辑, 并通过实验验证预测。最后, 研究人员使用 APARENT 来量化遗传变异对 APA 的影响。我们的方法可在广泛的疾病背景下检测致病性变异, 有助于我们了解疾病的遗传起源。

突变偏倚和蛋白质编码影响剪接增强子的进化

Nature Communications, 2020

doi: <https://doi.org/10.1038/s41467-020-16673-z>

作者

Stephen Rong, Luke Buerer, Christy L. Rhine, Jing Wang, Kamil J. Cygan, William G. Fairbrother

摘要

相对于内含子，外显子剪接增强子 (ESE) 在外显子中富集并结合剪接激活子。本研究探索了共同进化的一个基本问题：在 ESE 识别进化之前，ESE 基序是如何在外显子中富集的？研究人员假设 ESE 功能所需的高外显子与内含子基序比是通过突变偏倚加蛋白质编码的纯化选择而产生。这两种力量使得外显子中保留了某些编码基序，同时被动地清除内含子中的此类基序。通过使用模拟、基因组分析和高通量剪接试验，我们证实了该假设的关键预测，包括 ESE 中蛋白质和剪接信息的重叠。研究讨论了突变偏倚作为其他顺式调控系统中进化驱动因素的影响。

利用 CRISPRi 对快速复制的纳特里根弧菌进行功能基因组研究

Nature Microbiology. 2019

doi: <https://doi.org/10.1038/s41564-019-0423-8>

作者

Henry H. Lee, Nili Ostrov, Brandon G. Wong, Michaela A. Gold, Ahmad S. Khalil, George M. Church

摘要

革兰氏阴性菌纳特里根弧菌生长快速。由于其世代时间非常短且具有良好的代谢能力，对分子生物学和生物技术而言是一种有利的微生物系统。然而其功能基因组数据稀缺，为发现和利用其快速增长背后的机制造成阻碍。本研究开发了一种汇集的全基因组范围成簇而规律间隔的短回文重复序列 (CRISPR) 干扰 (CRISPRi) 筛选，用于确定快速野生型生长所需的最小基因集。针对 4565 (99.7%) 个预测的蛋白质编码基因，研究筛选发现了核心基因，包括推定的必需和生长支持基因，这些基因富集在呼吸通路中。研究人员发现 96% 的核心基因位于较大的 1 号染色体上，核心基因的生长中性重复主要位于 2 号染色体上。我们的筛选还通过区分功能性生物合成酶和基于比较基因组学预测的生物合成酶，完善了代谢途径的注释。总而言之，这项工作为高通量功能基因组学提供了一个广泛适用的平台，加快了纳特里根弧菌的生物学研究和设计。

DropSynth 2.0: 在乳液中高保真的多重基因合成

Nucleic Acids Research, 2020

doi: <https://doi.org/10.1093/nar/gkaa600>

作者

Angus M. Sidore, Calin Plesa,
Joyce A. Samson, Nathan B. Lubock,
Sriram Kosuri

摘要

多重检测可对遗传元件的大型合成文库进行功能测试，但受到输入 DNA 的可设计性、长度、保真度和规模的限制。DropSynth 是一种低成本的多重方法，通过在涡旋乳液中分隔和组装微阵列衍生的寡核苷酸来构建基因库。本研究改进了 DropSynth。通过优化酶的选择，增加酶的纠错和提高规模，研究表明 DropSynth 可以以 >20% 的保真度构建数千个基因长度的片段。

安捷伦产品未获得批准用于新型冠状病毒肺炎 (COVID-19) 检测、
诊断、治疗或缓解。安捷伦产品尚未得到验证可用于新型冠状病毒
检测。

仅供科研使用。不用于临床诊断用途。
PR7000-2675

本文中的信息、说明和指标如有变更，恕不另行通知。

© 安捷伦科技（中国）有限公司，2021
2021 年 8 月 1 日，中国出版
5994-2946ZHCN

