

thermo scientific



超高分辨质谱的组学解决方案 让精准医学更精准

禹重科技® ÜZONGLAB

ThermoFisher
SCIENTIFIC

赛默飞用创新引领精准医学革命



作为科学服务领域世界领导者的赛默飞世尔科技（以下简称“赛默飞”），创新是赛默飞的DNA，也是赛默飞始终站在时代前沿，引导技术发展潮流的最重要根基。凭借创新的产品和服务，我们帮助客户加速生命科学领域的研究、解决在分析领域所遇到的复杂问题与挑战，促进医疗诊断发展、提高实验室生产力，用创新引领精准医学革命。







业务模式创新：赛默飞是您首选合作伙伴

赛默飞通过多维度的多组学发展战略，为中国市场量身定制解决方案。以创新的技术、知识、软件及云端系统推进精准医学的研发，开发出针对中国的临床检验、测试的产品和服务。同时我们拥有经验丰富的专家团队从事产品注册，加速科技的引入。赛默飞致力于成为政府、科研院所、医学检验所和分子诊断公司的首选精准医学合作伙伴。



目 录

精准医学与生命组学	2
 精准诊断 —— 疾病标志物：破解健康悬梁之剑	4
 精准分型 —— 蛋白基因组：让癌症分型更精准	8
 精准治疗 —— 治疗新靶标：突破新药研发瓶颈	10
 生命大数据 —— 样本数字化：多组学层次的大数据	13
精准医学相关组学平台与解决方案	15

精准医学与生命组学



2014年，人类全蛋白质组草图绘制完成（图1），这是继人类基因组计划后的第二个生命科学里程碑。时至今日，1个小时即可完成酵母全蛋白质组分析、1天时间即可完成人全蛋白质组的深度覆盖（>50%基因产物）分析（图2）。这些成果均得益于静电场轨道阱Orbitrap超高分辨质谱技术，基于Orbitrap的蛋白质组已经能够像基因组一样，作为常规分析手段，大规模应用于临床研究与检测。

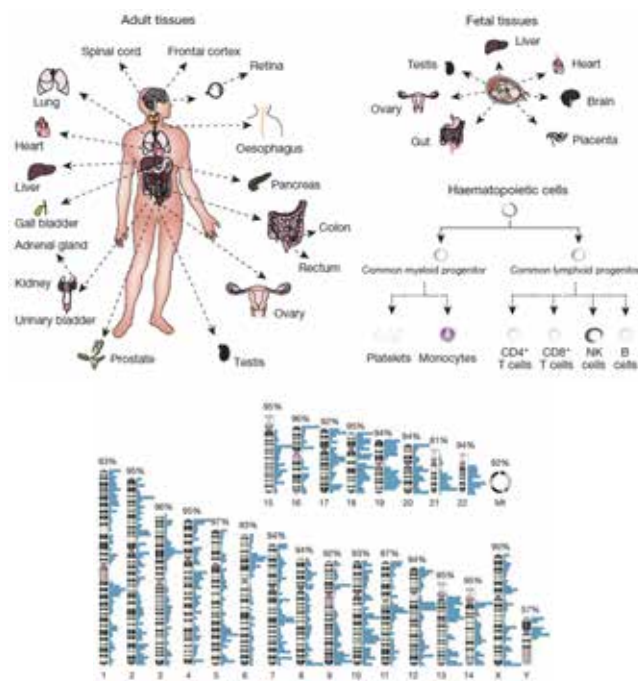


图1. 人类蛋白质组草图

(Nature, 2014, 509: 575; Nature, 2014, 509: 582)

2015年初，奥巴马提出精准医学计划，意在大规模测定癌症病人的全基因组，获得大数据，挖掘癌症驱动基因，实现个性化精准用药，解决癌症对人类的威胁。2016年初，拜登的癌症登月计划（Cancer Moonshot 2020）使精准医学计划正式落地。随后，科学家呼吁：生命活动的实际承担者、大部分的疾病标志物、绝大多数的药物治疗靶标都是蛋白质，因此，精准医学离不开蛋白质组学。

CPTAC（Clinical Proteomic Tumor Analysis Consortium，临床肿瘤蛋白质组分析联盟）针对完成TCGA（The Cancer Genome Atlas，癌症基因组图谱集）基因组分析的肿瘤活检样本，使用前沿的、标准化的技术手段，在蛋白质组学层面进行分析和表征。随着CPTAC第一、第二期肿瘤蛋白质组分析的完成，越来越多的科学家意识到蛋白质组对理解癌症的重要性。

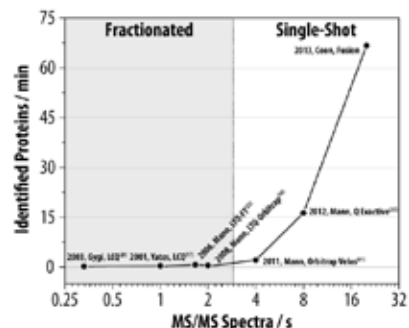


图2. Orbitrap解析速度已达每分钟65种蛋白 (Mol Cell Proteomics, 2014, 13: 339)

Orbitrap 让精准医学更精准



2016年7月，美国退伍军人事务部（VA）、国防部（DoD）、国立癌症研究所（NCI）三部门联合宣布建立第一个同时进行基因和蛋白信息表征的医学系统，将基因组和蛋白质组作为常规检测手段，对癌症病人进行个性化蛋白基因组（Proteogenomics）表征，为更快速、更精准地用药提供指导。该计划第一步将进行8000个癌症病人的蛋白基因组队列研究（Applied Proteogenomics Organizational Learning and Outcomes (APOLLO)）（图3）。

同时，CPTAC宣布进行TCGA肿瘤活检样本蛋白基因组的第三期研究，针对第二期的研究成果开展大规模临床试验，验证蛋白质组和修饰组层面的癌症表征对更快速、更精准地制定治疗方案的指导作用。此外，7个国家和地区（澳大利亚、韩国、中国大陆、中国台湾、瑞士、加拿大、德国）联合宣布加入癌症登月计划，合作开展大规模癌症样本的蛋白质组学研究。

以多组学整合为基础的生命组学，为基因组提供了更接近表型的验证和解释，为癌症早期发现、良恶性诊断、分型和个性化用药、疗效监测和预后判断等提供了更精确、更可靠的信息，使精准医学更加精准（图4）。



图3. 蛋白质组加入癌症登月计划及乳腺癌、卵巢癌蛋白基因组分析成果
(<https://proteomics.cancer.gov/>)

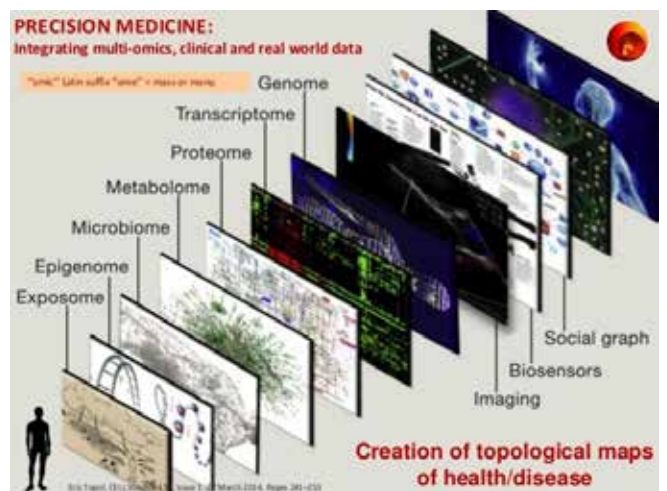


图4. 多组学大数据是实现精准医学的基石

精准诊断 —— 疾病标志物

破解生命健康的达摩克利斯之剑

* 发现、验证疾病标志物，用于更精准的疾病早期诊断、肿瘤良恶性判断、疾病疗效与预后监测



中心法则告诉我们，基因水平信息反映的是疾病发生的概率（即可能性），而蛋白质作为生命活动的最终执行者，其状态的改变更为直接地反映了疾病的发生、发展状况。事实上，大部分的疾病标志物都是蛋白质，相比于基因来说，蛋白质更适合作为一种动态指标，精准地发现与诊断疾病(图1)。但是目前，疾病标志物，尤其是肿瘤标志物单一、特异性差、灵敏度低的现实，让疾病，尤其是癌症，成为悬在每个人头顶上的达摩克利斯之剑，时刻威胁着人们的生命健康。

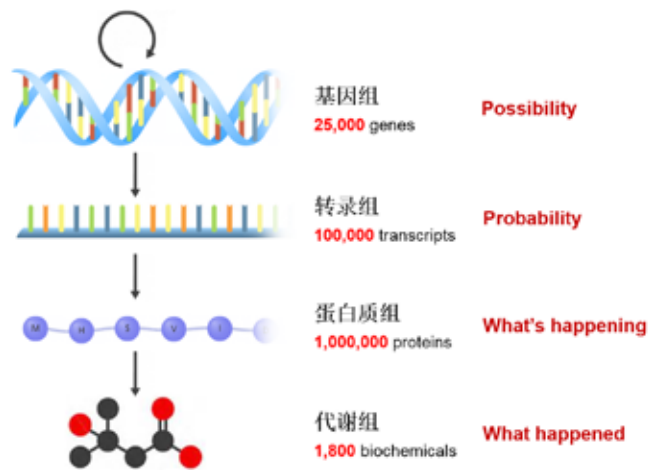


图 1. 中心法则与疾病标志物

疾病标志物从发现到应用分为三个阶段：高通量发现（小规模样本中发现大量潜在标志物）、到初步验证（中等规模样本验证出较为可靠的标志物）、再到大规模确证（大规模样本确证获得最可靠的标志物）并临床应用。Orbitrap 超高分辨质谱是疾病标志物从发现到应用全流程的有效工具和必由之路（图2）。



图 2. 基于 Orbitrap 的疾病标志物从发现到确证全流程

1

发现

通过血液、尿液、活检组织等样本，发现特定疾病状态下，健康人群和疾病患者的蛋白质组的定量变化，筛选与该疾病关联的潜在标志物或标志物集 (Panel)。Orbitrap 能够在 1 天内实现 50% 以上的基因覆盖，配合 10 通道的 TMT 标记定量技术，是深度挖掘与疾病相关联的蛋白质变化、准确发现疾病标志物的利器 (图 3)。

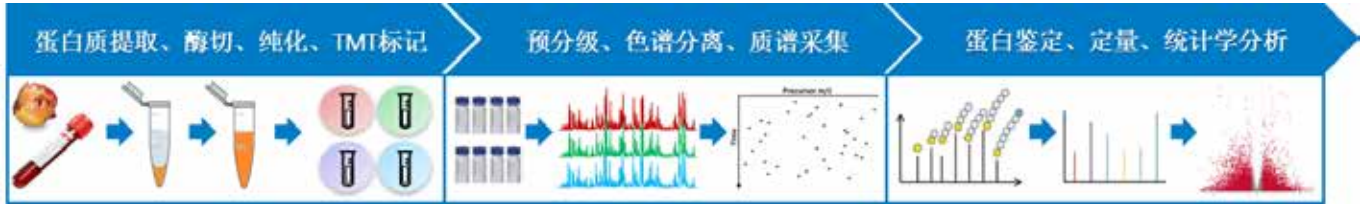


图 3. 基于 Orbitrap 的疾病标志物高通量发现流程 (DDA)

实例 (图 4)：尿液中发现的能够实现胰腺癌早期精准诊断的标志物集 (LYVE1、REG1A、TFF1)。

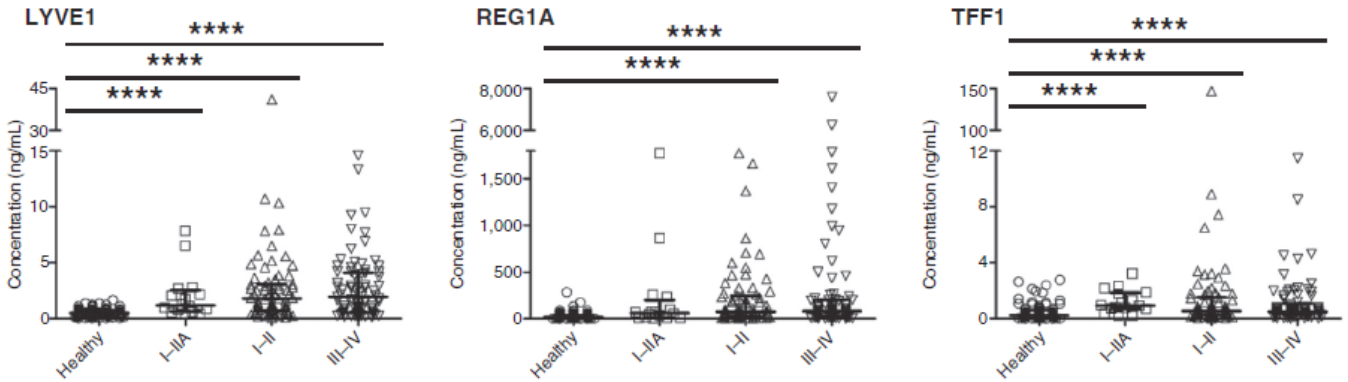


图 4. 三种蛋白组成的胰腺癌早期诊断标志物集的发现 (Clin Cancer Res, 2015, 21: 3512)

2

验证与确证

通过大样本检测与分析，排除个体差异和实验差异，筛选出高特异性的标志物，中等规模验证、大规模确证其能够准确区分健康人群和疾病患者。验证和确证的关键在于标准化、统一化的分析流程。基于 Orbitrap 的 DIA 流程使用统一的采集模式、标准化的处理方法，是中等规模验证的最佳方案 (图 5)。

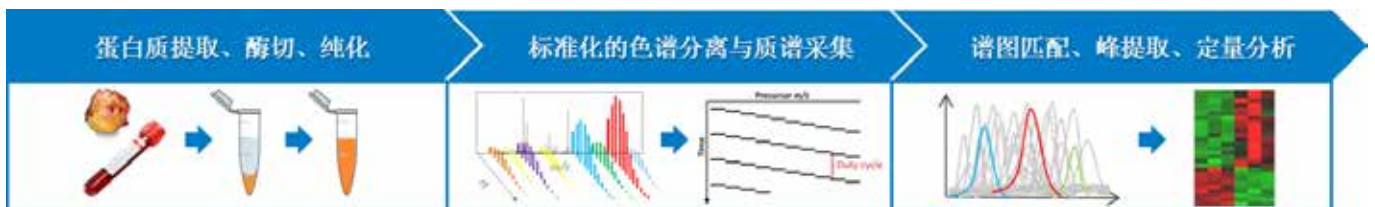


图 5. 基于 Orbitrap 的疾病标志物中等规模验证流程 (DIA)

实例（图6）：急诊科小儿急性腹痛病因快速诊断标志物的 DIA 验证。

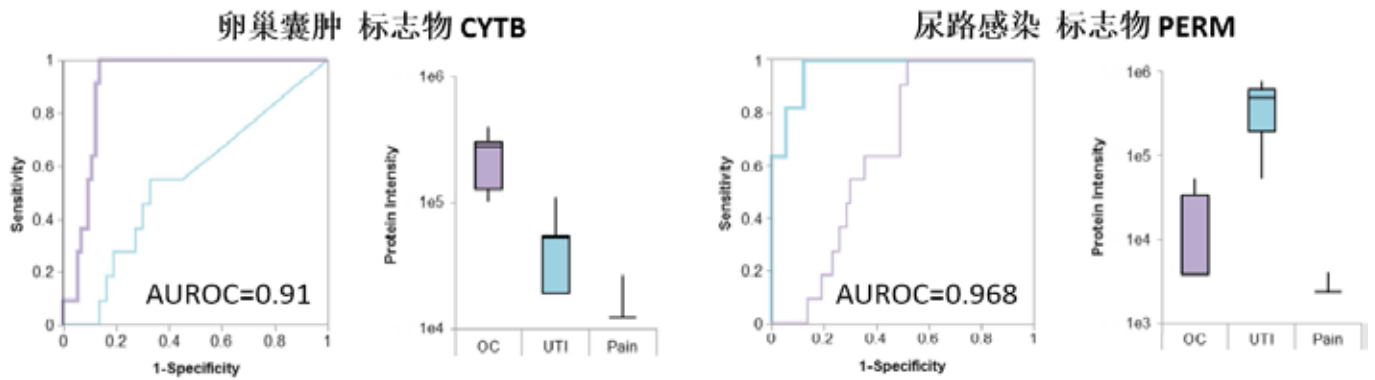


图 6. 两种小儿急性腹痛诱因的快速诊断标志物的验证
(J Proteome Res, 2015, 14: 475)

3 应用

使用质谱对目标标志物进行监测与绝对定量，真正将发现并确证的标志物应用于临床检测，用于疾病早期诊断、肿瘤良恶性判断、疗效监测等。基于 Orbitrap 的 PRM 流程无需方法优化、灵敏度高、分辨率高，并能同时定性定量，是目标标志物大规模确证和临床应用的最佳方案（图7）。

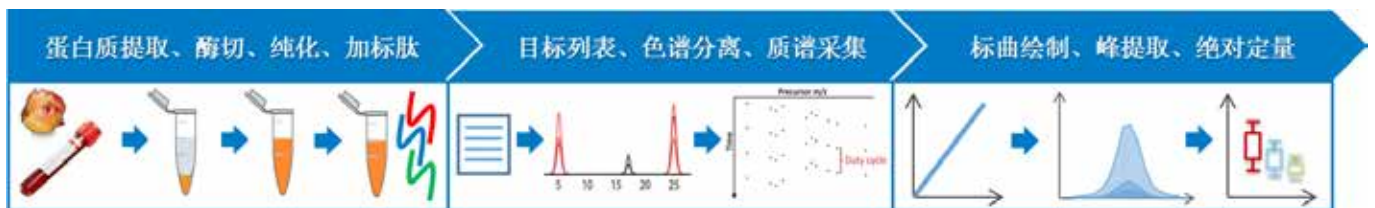


图 7. 基于 Orbitrap 的疾病标志物大规模确证与应用流程（PRM）

相比于现在的临床检测金标准——免疫学方法，质谱检测：

a) 一次检测上百个标志物的高通量，适用于标志物集 (Panel) 的检测，如 11 种标志物组成的肺结节良恶性判断标志物集 XpresysLung™

b) 不受体内自抗体的干扰，适用于含自抗体的标志物的检测，如甲状腺癌标志物甲状腺球蛋白 (Thyroglobulin)

c) 准确区分蛋白序列与翻译后修饰差异，适用于检测由 SNP、亚型、翻译后修饰等造成的蛋白异构体，如遗传性血红蛋白病中不同的血红蛋白变体 (Hemoglobin Variants)

实例（图8）：SNP 突变造成的血清淀粉样蛋白 A 突变体的精准区分与定量。

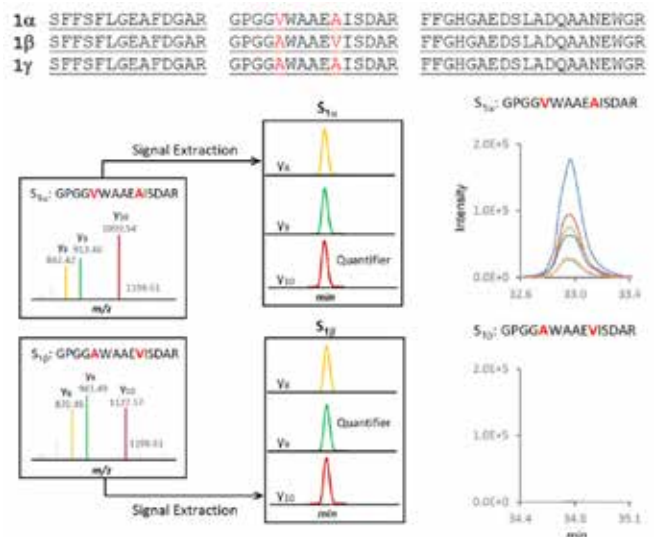


图 8. 血清淀粉样蛋白 A 的 SNP 突变体的区分
(Proteomics, 2015, 15: 3116)

a

3 个小时从采血到出报告

蛋白质组真正用于临床检测需要从样本前处理到获得结果的一整套简单、快速的分析流程。基于 Orbitrap 开发出的临床蛋白质组检测流程，从指尖采血、到大规模自动化的样品前处理、到 30 分钟的快速质谱分析、再到高通量数据处理并最终获得报告，全程只需要 3 个小时，能获得 300 多种蛋白的定量结果，其中包含近 50 种 FDA 批准的疾病标志物（图 9）。

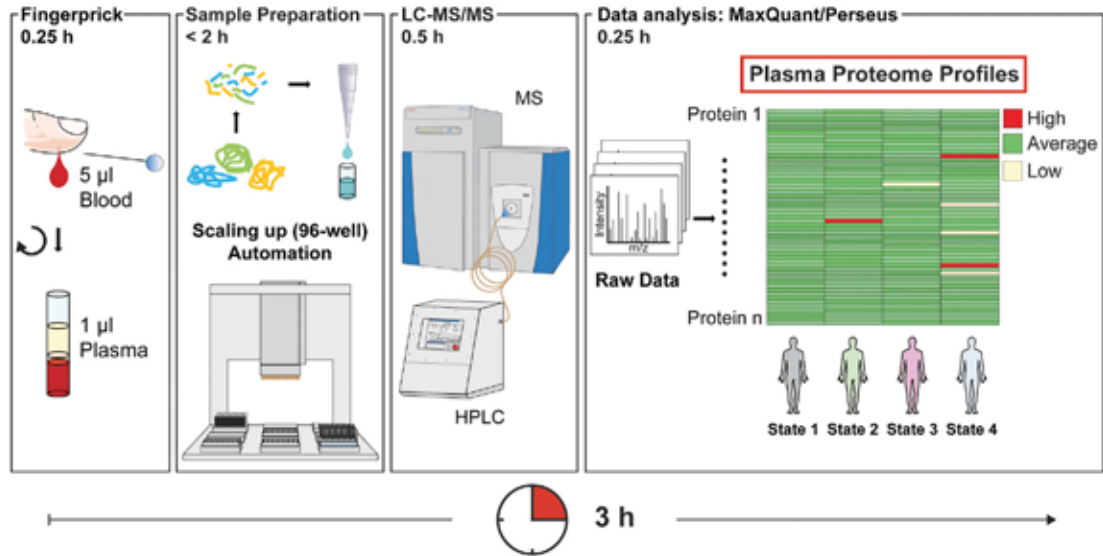


图 9. 大样本临床蛋白质组检测流程的开发
(Cell Systems, 2016, 2: 185)

b

蛋白标志物临床质谱检测的发展

蛋白质组应用于临床不再是未来，除已经被 FDA 批准作为 IVD 的卵巢癌标志物集 OVA1 外，美国已有大量关于蛋白标志物质谱检测的实验室自建方法 (LDT) 已用于临床检测服务（图 10）。

Protein	Year	Method	Developer / Lab	CPT Code
Carbohydrate Deficient Transferrin	2001	Affinity QQQ MS	Mayo Medical Laboratories	82373
Cystatin C	2011	Affinity - MALDI-TOF MS	Intrinsic Bioprobes / RUTGERS	82610
Beta-2-microglobulin	2011	Affinity - MALDI-TOF MS	Intrinsic Bioprobes / RUTGERS	82232
Retinol Binding protein	2011	Affinity - MALDI-TOF MS	Intrinsic Bioprobes / RUTGERS	83883
IGF-1	2012	LC/MS	Quest Diagnostics	84305
IGF-2	2012	LC/MS	Quest Diagnostics	83789
Angiotensin	2013	LC/MS/MS	Quest Diagnostics	84244
Insulin	2013	SRM LC-MS/MS	Quest Diagnostics, Nuclea Bio	83525
C-peptide	2015	LC-MS/MS	Nuclea Biotechnologies	84681
Proinsulin	2015	LC-MS/MS	Nuclea Biotechnologies	84206
Apo A-I & Apo B	2015	LC-MS/MS	Nuclea Biotechnologies	82172
Thyroglobulin	2015	Affinity- LC-MS/MS	Mayo, Quest, Arup Labs	84432
"Veristrat"	2009	MALDI-TOF MS	Biodesix	83789
"Expresys Lung"	2013	MRM LC-MS/MS	Integrated Diagnostics	84999

图 10. 已上市的蛋白标志物临床质谱 LDT 方法（来源：FDA 网站）

精准分型 —— 蛋白基因组

不只是测序 —— 让癌症分型更精准

* 整合基因组、转录组、蛋白质组，在蛋白质及后修饰层面对癌症分型，为个性化治疗提供新思路

基因检测是目前癌症精准分型与精准用药的主要方法，但是基因与生命活动的最终执行者——蛋白质之间仍然存在较大差异，难以直接反映生命变化。蛋白质组学直接检测基因产物、呈现翻译后修饰与可变剪切，为基因组数据提供验证与解读。

TCGA 与 CPTAC 合作即分别在基因组和蛋白质组层面对肿瘤样本进行大规模分析，获得大数据，挖掘癌症机理，实现精准医学 (Cell, 2015, 163: 202; Nature, 2016, 534: 55; Cell, 2016, 166: 755.)。随之而来的新名词——蛋白基因组学 (Proteogenomics)，即通过基因组学、转录组学和蛋白质组学的整合，在蛋白质水平上发现与验证肿瘤相关基因突变、表达量变化、所调控的下游分子等 (图 1)。

蛋白基因组学从蛋白质层面验证肿瘤相关的基因突变、可变剪切，检测表达量变化、翻译后修饰，发现上下游调控分子。更重要的是，能够在蛋白质组与修饰组的层面对肿瘤分型，为预后判断、个性化精准医疗提供新的指导。

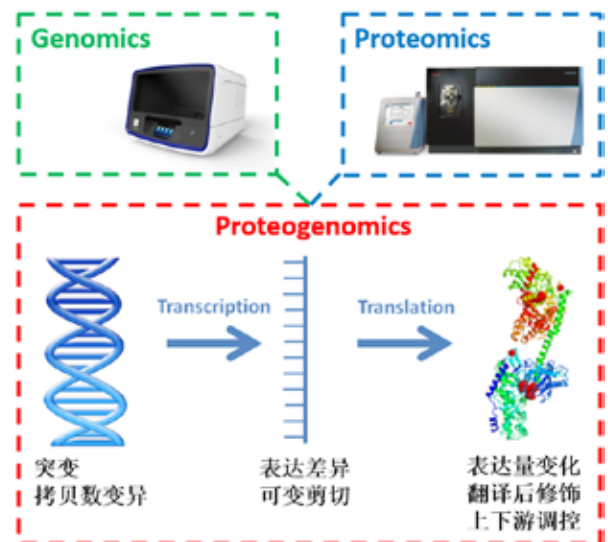


图 1. 整合基因组、转录组与蛋白质组的蛋白基因组学 (Proteogenomics)

1 基因突变与可变剪切的验证

通过乳腺癌蛋白基因组学分析发现，在肿瘤样本中发现的近十万种 SNP 突变和数十万种可变剪切，分别只有 4.1% 和 0.28% 表达成蛋白质，与生命活动和疾病直接相关（图 2）。

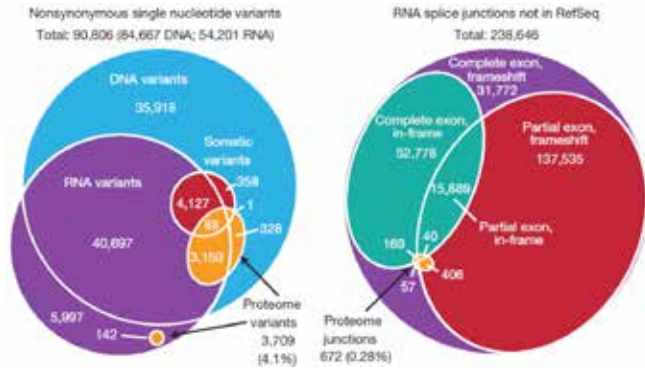


图 2. 蛋白质组层面验证乳腺癌样本中 SNP 突变和可变剪切的表达 (Nature, 2016, 534: 55)

2 蛋白质组分型

蛋白质表达与否、表达量，与基因组、转录组层面的信息并不一致，存在一定的差异。因此，蛋白基因组分析对差异表达蛋白质聚类，在蛋白质组层面实现对癌症重新分型，为个性化用药与治疗提供新的指导（图 3）。

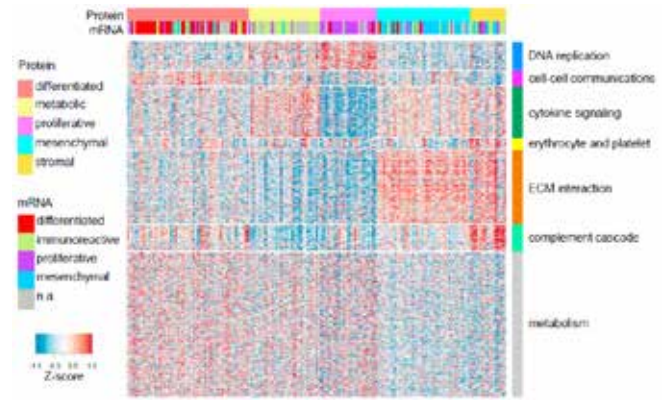


图 3. 蛋白质组层面将卵巢癌分为 5 种亚型 (Cell, 2016, 166: 755)

3 磷酸化组分型

翻译后修饰，特别是磷酸化修饰与肿瘤密切相关。磷酸化发生与否、量的变化，与蛋白质的变化并不一致。因此，通过对磷酸化修饰的差异进行聚类，进一步在磷酸化组层面实现对癌症重新分型。乳腺癌磷酸化组分型结果与基因组、转录组层面的分型完全不一致，与蛋白质组层面的分型也有差异，为个性化用药与治疗提供新的指导（图 4）。

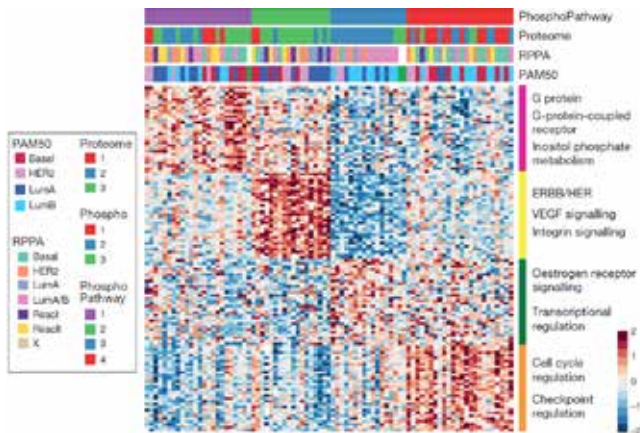


图 4. 磷酸化组层面将乳腺癌分为 4 种亚型 (与 PAM50 基因分型、RPPA 转录分型差异较大) (Nature, 2016, 534: 55)

4 预后判断

蛋白基因组分析还可用于判断癌症病人的预后。结果表明，某些信号通路中的蛋白质磷酸化变化与卵巢癌病人的生存期密切相关（高 p 值），而蛋白、转录和基因层面的变化与生存期的相关性逐级降低（图 5）。

随着蛋白基因组加入癌症登月计划，更多肿瘤的蛋白质组分析和大规模临床试验即将开展，蛋白基因组将在肿瘤的精准确分型和在治疗中发挥越来越重要的作用。

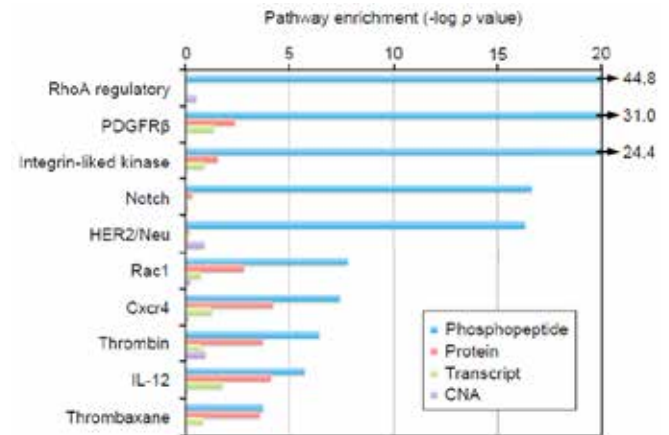


图 5. 信号通路中的磷酸化变化与卵巢癌生存期相关性高 (Cell, 2016, 166: 755)

精准治疗 —— 治疗新靶标

加速突破新药研发创制之瓶颈

* 一个平台研究蛋白质、后修饰、代谢物，筛选免疫反应、信号通路中的关键分子，发现药物治疗新靶标



绝大多数的药物治疗靶标都是蛋白质，例如肿瘤靶向药物多为激酶抑制剂，作用靶标为肿瘤信号通路中的激酶；抗体药物和细胞治疗多针对肿瘤细胞表面受体/抗原，介导免疫反应和细胞毒性（图1）。研究表明，人体中全部的药物靶点蛋白超过1万种，而目前发现的靶点仅有500种左右。疾病的精准治疗亟待大量全新治疗靶标的发现与使用。

基于 Orbitrap 超高分辨质谱的蛋白质组分析是高通量发现潜在治疗靶标的利器。2015年启动的人类免疫肽组学计划 (HIPP, <https://www.hupo.org/Human-Immuno-Peptidome-Project>), 即致力于使用蛋白质组学手段, 收集并测定人细胞表面 MHC-I 与 MHC-II (或称 HLA) 呈现的所有肽段序列, 更透彻地理解免疫系统, 指导并加快下一代疫苗的开发和自身免疫病、传染性疾病、癌症免疫治疗方案的开发 (图2)。

基于 Orbitrap 超高分辨质谱的蛋白质组分析可以用于疫苗开发、治疗靶标发现、药物作用靶点研究等, 突破新药研发创制瓶颈, 让精准治疗更精准。

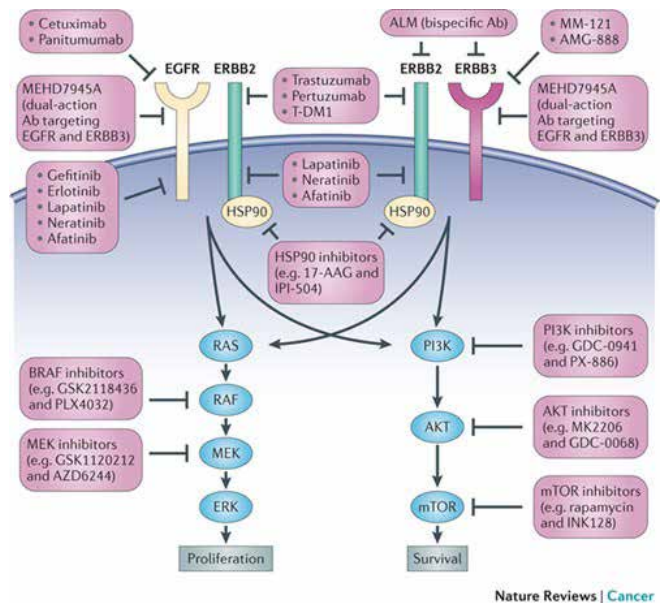


图1. 激酶和细胞表面蛋白是重要的肿瘤治疗靶标 (Nature Reviews Cancer, 2012, 12: 553)

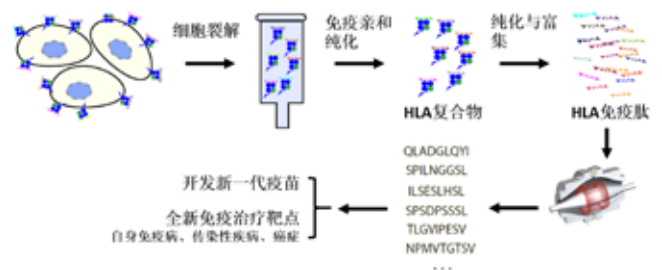


图2. 基于免疫肽组学开发新一代疫苗与免疫治疗靶标 (Mol Cell Proteomics, 2015, 14: 658)

1

疫苗

通过蛋白质组学鉴定细胞表面呈现的外源性多肽序列或肿瘤特异性多肽序列，作为潜在的传染性疾病疫苗或肿瘤疫苗。（Nature Reviews Cancer, 2002, 2: 514）

2

治疗靶标

通过蛋白质组学发现并确定疾病特异的信号通路蛋白、细胞表面受体 / 抗原，作为潜在的治疗靶标，开发新药或新的治疗方法。如，对比多发性骨髓瘤患者与健康人细胞表面的 HLA 蛋白 / 多肽，发现了多种肿瘤特异性 HLA 蛋白 / 多肽，并成功验证了 6 个多肽会使 T 细胞响应，是潜在的 T 细胞免疫治疗的候选抗原（图 3）。

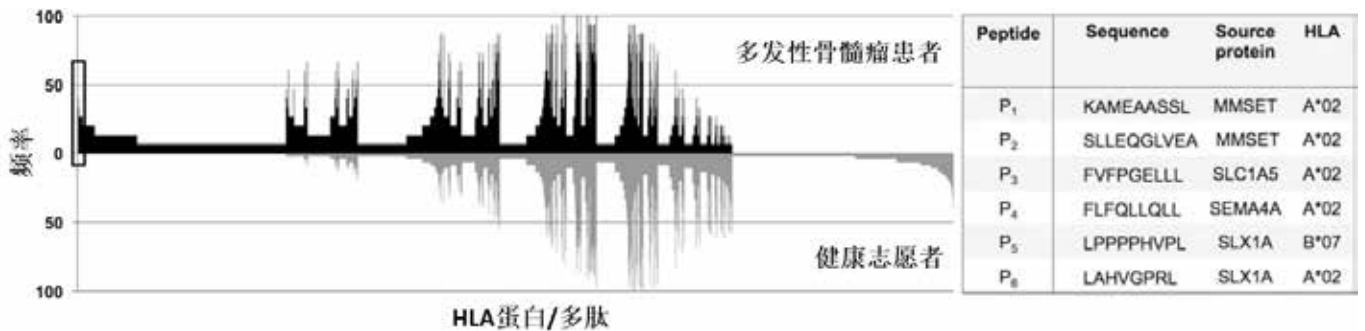


图 3. 多发性骨髓瘤全新治疗靶标的发现（Blood, 2015, 126: 1203）

3

药物靶点

通过蛋白质组学发现并确定药物作用的靶点蛋白，研究药物机理，为进一步新药研发创制奠定基础。如，腺花香茶菜中提取的腺花素（Adenanthin）能够诱导白血病细胞分化，通过高分辨质谱发现其作用靶点是过氧化还原酶（peroxiredoxin）I/II，阐释了白血病细胞分化的新机理（图 4）。

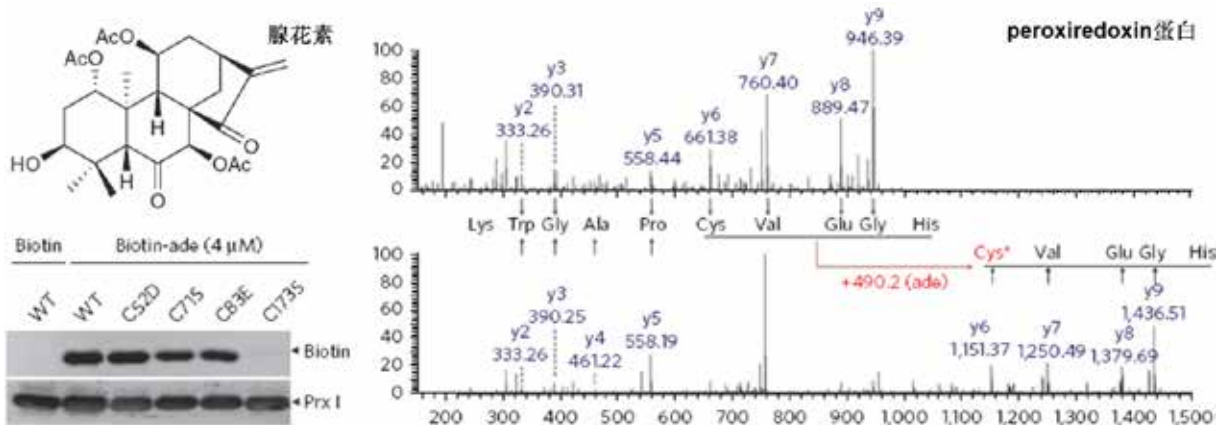


图 4. 腺花素作用靶点的发现（Nat Chem Biol, 2012, 8: 486）

4

治疗方案

未来，蛋白质组检测将越来越多地应用于肿瘤免疫治疗方案的选择。通过蛋白质组学方法直接检测活检样本的肿瘤微环境，鉴定肿瘤细胞表面蛋白，根据表面抗原/免疫检查点的表达与呈现情况，个性化地制定治疗方案（图5）。

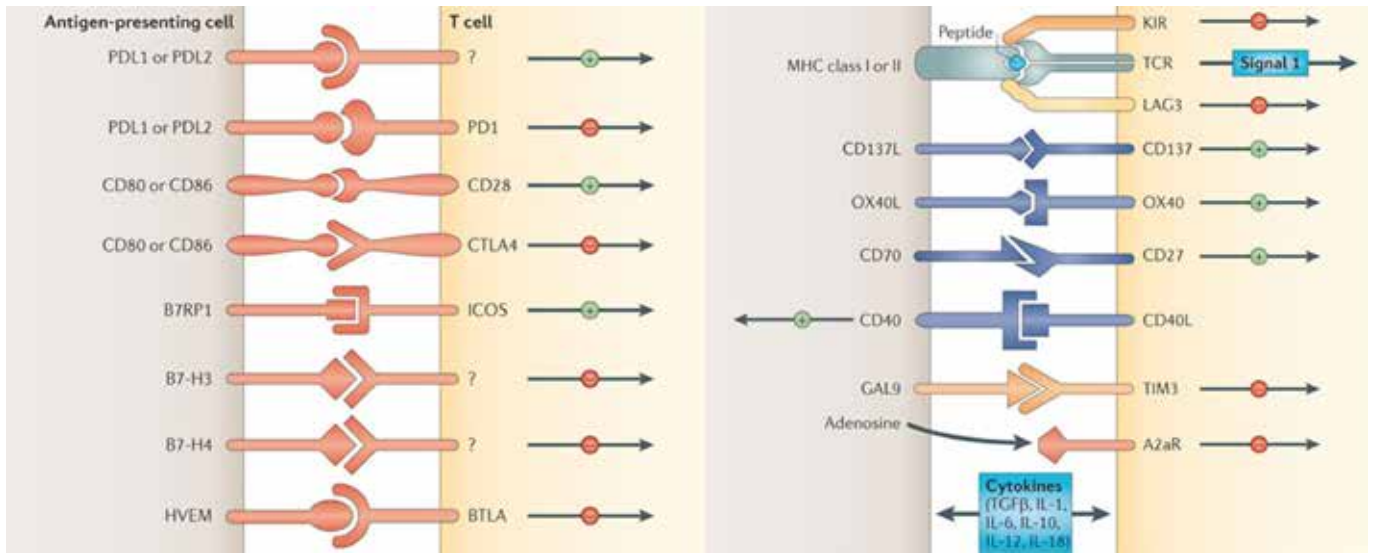


图 5. 通过检测肿瘤细胞表面抗原/免疫检查点，个性化地制定治疗方案
(Nature Reviews Cancer, 2012, 12: 252)

生命大数据 —— 样本数字化

多组学层次的生命健康大数据

* 标准化、规模化地记录样本中的所有信息，将临床样本转化为数字样本，构建数字样本库和疾病数据库



生命是数字的，与计算机的 0 和 1 类似，ATCG 是生命的数字，数字化地存储与管理生命是未来的趋势。样本的数字化是实现多组学层次的生命健康大数据，构建数字样本库和疾病数据库的利器(图 1)。与基因组、转录组类似，蛋白质组样本数字化致力于将组织、体液、活检等临床样本转化为数字蛋白质组样本；与基因组、转录组不同，蛋白质组样本数字化的工具为高分辨质谱。



图 1. 生命数字化与大数据

基于 Orbitrap 的 DIA-MS 是最适合蛋白质组样本数字化的技术：重现性好、方法统一、定量准确度高，特别适合规模化、标准化的组织、体液、活检等临床样本的采集。

1 数字化流程

使用 iST、PCT 等方法实现大规模、自动化的临床样本前处理；使用经过优化的统一的 DIA 方法进行快速色谱分离与质谱采集（一般 ≤ 2 小时）；使用 Spectronaut 等适合大数据处理的软件进行数据分析，获得定性、定量和统计分析结果（图 2）。

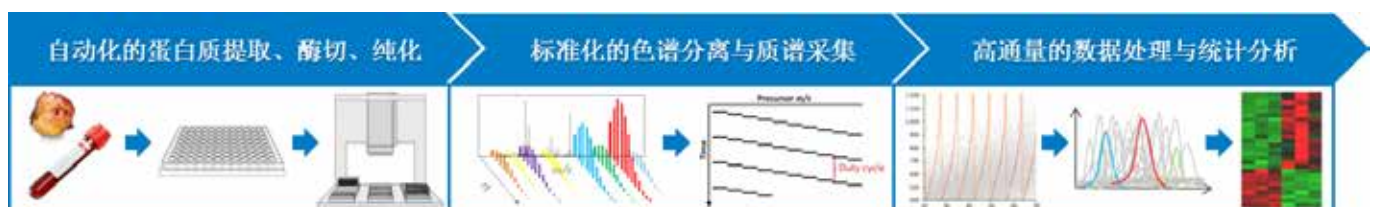


图 2. 基于 Orbitrap 的蛋白质组样本数字化 (DIA) 流程

2 数字样本库

通过数字化流程将临床样本即刻转化为数字样本，记录样本中所有蛋白质信息，积累大数据。数字样本库避免了使用低温冰箱或液氮储存实物样本的高成本，并避免了样本长期储存造成的降解等变化，最大程度地反映了样本的初始状态（图3）。

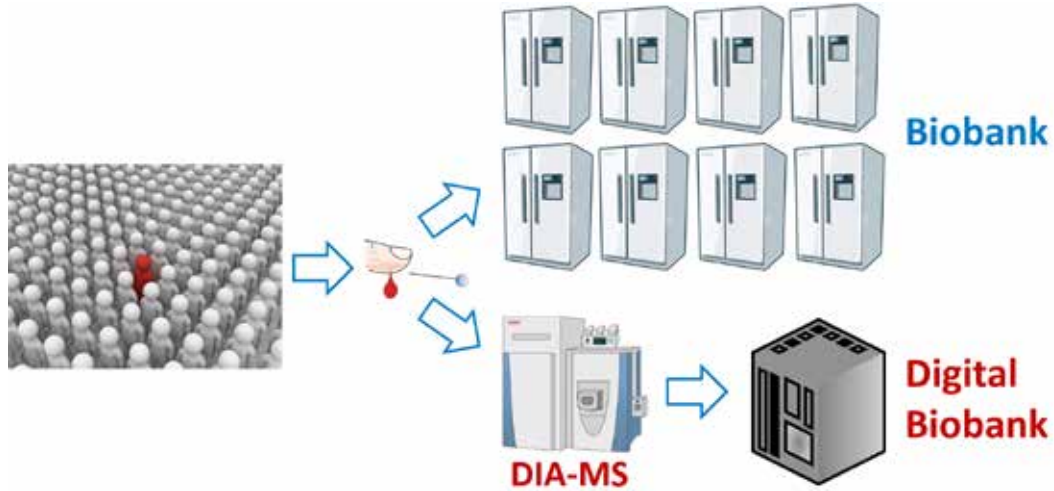


图 3. 传统生物样本库与数字样本库

3 疾病知识库与数据库

对疾病数字样本库进行大数据分析挖掘，实现疾病知识库与数据库的构建（图4）。基于大数据，能够更透彻地理解疾病，更精准地指导疾病诊断与个性化治疗。未来，看病或许就像谷歌和百度那样简单，采集病人的组学谱进行数据库检索，即可精确诊断疾病并个性化地制定治疗方案。

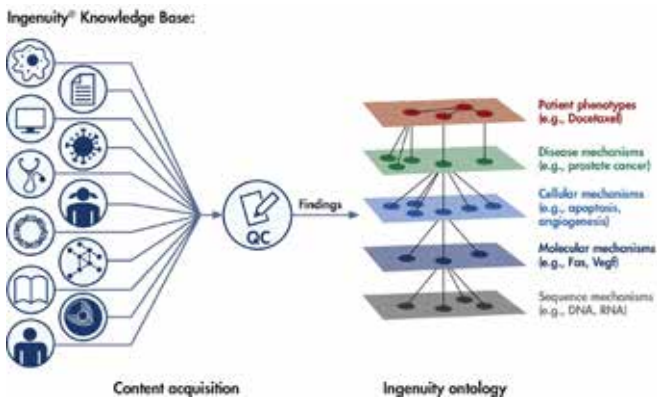


图 4. 疾病知识库示意图

(<http://www.ingenuity.com/products/ipa>)

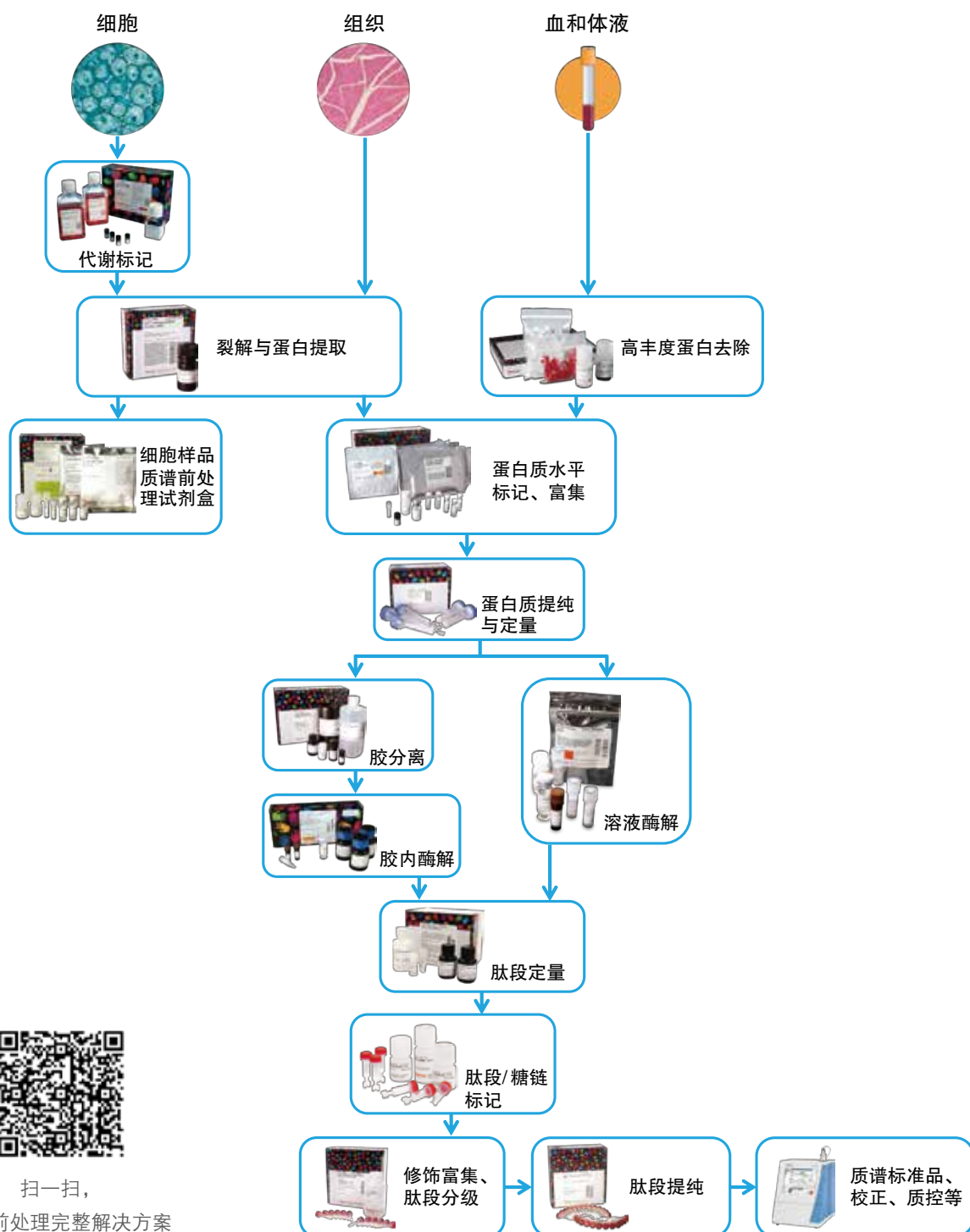
苏黎世大学医院等诸多医学机构已经开始开展肿瘤相关蛋白质组样本数字化工作，通过数千至数万例癌症病人样本的收集和 DIA-MS 采集，构建数字样本库；通过大数据挖掘深层次的疾病特征，构建疾病数据库，为精准地癌症诊断、分型、治疗奠定基础（图5）。



图 5. 正在建设中的苏黎世癌症蛋白质组数字样本库
(Dr. Bernd Wollscheid, ETH Zurich, Switzerland)

精准医学相关组学平台与解决方案

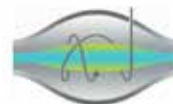
1 前处理：临床样品前处理全流程解决方案



扫一扫，
查看前处理完整解决方案

2

数据产出：Orbitrap 超高分辨质谱平台



Powered by Orbitrap



Easy-nLC™ 1200
超高效纳流液相色谱



Vanquish™ UHPLC
超高效液相色谱



Q Exactive™ 系列
组合型Orbitrap
超高分辨率质谱仪



Orbitrap Fusion™ Tribrid™
Orbitrap Fusion™ Lumos™ Tribrid™
三合一Orbitrap超高分辨率质谱仪

3

数据处理：组学数据库与数据处理系统



Proteome Discoverer
蛋白质组数据处理平台



Compound Discoverer
代谢组数据处理平台



mzCloud
先进的化合物云端谱图库

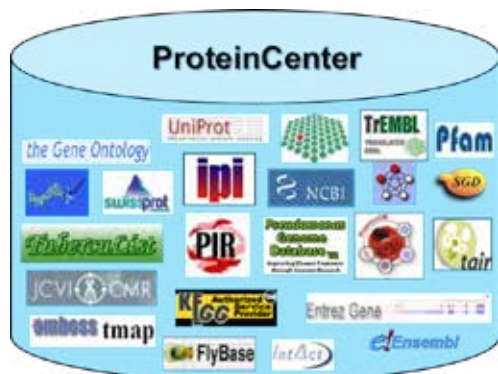


LipidSearch

Lipid Search
脂质组数据处理平台

4

生物信息分析： ProteinCenter™ 与 Thermo Fisher Cloud™ 云平台



Thermo Fisher Scientific 多组学全流程解决方案

基因组



转录组



蛋白质组



代谢组



Realtime qPCR

- Animal Health qPCR
- Design and Analysis Application qPCR
- Genotyping qPCR
- High Resolution Melt Analysis qPCR
- HRSC Scorecard Analysis qPCR

CE Sanger

- Next-generation Confirmation Sanger
- Quality Check Sanger
- Variant Analysis

Gene Editing

- CRISPR Search and Design Tool Synthetic Biology
- GeneArt DA Synthetic Biology
- Invitrogen™ CRISPR Array Designer Synthetic Biology
- Oligo Perfect Synthetic Biology
- Sequence Viewer Synthetic Biology

Mass Spectrometry

- Pathway Over-representation Mass Spectrometry

Utilities

- Cloud Connect Utility Utilities

Virology

- ViroScore®-HIV Virology

Microbiology

- CosmosID Microbiology

Molecular Spectroscopy

- NanoDrop Molecular Spectroscopy

基因组



Ion Torrent™
二代测序系统



Affymetrix™
基因芯片系统



转录组



不只是测序， Orbitrap 超高分辨质谱让精准医学更精准

禹重科技® UZONGLAB

成分分析仪器 | 表面测试仪器 | 样品前处理仪器

上海市闵行区春申路2525号芭洛商务大楼

电话：021-8039 4499 传真：021-5433 0867

上海|北京|沈阳|太原|长沙|广州|成都|青岛|香港

全国销售和售后服务电话：400-808-4598

邮编：201104, China

邮箱：shanghai@uzong.cn

更多资讯请访问：www.uzong.cn

ThermoFisher
SCIENTIFIC



了解我们



微信公众号