

基于Edman降解的蛋白N端序列分析

产品名称	基于Edman降解的蛋白N端序列分析
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

表达纯化后的蛋白产物，特别是蛋白品的分析过程中，需要对蛋白的末端进行验证，以保证表达纯化产物的N端和C端序列准确。Edman降解法是蛋白的N端序列分析中非常成熟的方法之一，有着广泛的应用。百泰派克公司采用岛津公司Edman测序系统，为广大科研工作者和科研客户提供纯化后蛋白产物、抗体以及蛋白疫苗的N端测序服务。采用我们的测序系统，可以测定N端30个氨基酸的序列信息。采用特定的蛋白上样系统，可以测定N端的60-70个氨基酸。百泰派克公司也建立了以先进的LC-MS/MS技术进行N-端测序的平台，可以测出封闭和修饰的蛋白质末端，与Edman降解法形成互补，保证N端测序服务的顺利进行。

在蛋白质测序前，蛋白样品首先经过SDS-PAGE的分离，保证样品的纯度满足测序的要求；随后将SDS-PAGE上的蛋白样品转移到PVDF膜上；经过染色确定把蛋白条带并切出；使用Edman测序仪对得到的PVDF膜上的蛋白样品进行分析。Edman降解测序是通过循环反应从蛋白质的N端开始逐个鉴定氨基酸的种类，从而对蛋白质的N端序列进行测定。每一个Edman测序反应包括3步：第一步是在碱性条件下，PITC与蛋白N端的游离氨基结合；第二步是在酸性溶液中，N端残基被切除；第三步是PITC结合的残基转化成为更为稳定的PTH残基，经过在线的HPLC分析，根据洗脱时间确定氨基酸种类。

Edman测序反应过程

基于Edman降解的蛋白质N端测序服务流程

Edman测序实验流程图

应用领域

蛋白表达产物的验证：重组蛋白插入位点和表达顺序是否正确；

细胞株建立和发酵过程中蛋白产物的验证：验证细胞株建立和发酵过程中蛋白产物N端甲硫氨酸和信号肽是否正确处理；

蛋白降解/酶切分析：对降解/酶切形成的新蛋白片段N端进行分析，确定断裂/酶切位点；

De-novo测序：对于蛋白数据库中不存在的全新蛋白序列进行分析。

关于样品

PVDF膜类样品的准备过程

1-样品电泳和电转

- a. 对蛋白样品进行1D或者2D跑胶
- b. 将蛋白胶上的样品转移至PVDF膜上；注意：千万不要使用硝酸纤维素膜（Nitrocellulose membranes）
- c. 在此过程中请佩戴手套和头套，避免自身角蛋白对测序结果的影响

2.PVDF膜的染色

- a. 染色过程中可以使用考马斯亮蓝或者立春红对PVDF膜进行染色；注意：千万不要使用银染的方法进行染色
- b. 染色完成之后，可以使用双蒸水对PVDF膜进行清洗
- c. 如果转膜的缓冲液中含有甘氨酸，需要对PVDF膜进行多次冲洗，以避免甘氨酸对后续分析的影响
- d. 更详细的样品准备步骤，见Edman测序样品准备Protocol

3.靶蛋白条带获取

- a. PVDF膜染色后，靶条带清晰可见，用洁净的解剖刀将靶蛋白条带切下
- b. 在蛋白量允许的情况下，可以准备2-3条靶条带以增加靶蛋白的量

4.样品运输

对切下的蛋白条带进行密闭包装，使用冰袋运输即可

溶液样品的准备过程

1-蛋白的纯度和用量

- a. 样品需要量在1-10 ug
- b. 样品纯度要 > 90%
- c. Buffer中不要使用表面活性剂，并尽可能降低溶液的盐浓度

d. Tris, glycine, guanidine, glycerol, sucrose, ethanolamine, SDS, Triton, X-100, Tween和其他的去垢剂, ammonium sulfate和其他的铵盐均会对后续的氨基酸鉴定产生影响, 在样品准备过程中要避免使用

e. 样品准备过程全程佩戴口罩和头套, 避免角蛋白的影响

2. 蛋白样品的运输

a. 液体样品推荐干冰运输

b. 液体样品也可以在冷冻抽干或者真空抽干后, 使用冰袋运输

研究案例

如下图所示, 通过Edman测序, 可提供鉴定的氨基酸的详细信息。

Edman测序研究案例

中/英文项目报告

在技术报告中, 百泰派克会为您提供详细的中英文双语版技术报告, 报告包括:

1. 实验步骤 (中英文)
2. 相关的质谱参数 (中英文)
3. 蛋白质N端测序的详细信息
4. 质谱图片
5. 原始数据

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_ i的生物质谱分析服务!