

蛋白质水解-胶内水解or溶液内水解

产品名称	蛋白质水解-胶内水解or溶液内水解
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

用于蛋白质水解的内切蛋白酶中，丝氨酸蛋白酶胰蛋白酶是Z_U_I常见的一种，因为它能产生高度适用于MS（MS/MS）分析的肽。根据蛋白组学分析流程，蛋白质的酶解可以在凝胶内或在溶液中进行。胶内水解是二维电泳分离蛋白质的常规方法，而LC-MS/MS分析中通常使用溶液内水解法。在水解过程中，将蛋白质酶切成一定数量的较短的片段或肽段，以根据其特有的质量和模式来鉴定蛋白质。

蛋白质胶内水解/溶液内水解

胶内水解

1D或2D凝胶电泳分离的样品+超链接：编号1，使用MS兼容的染色剂，通常为考马斯亮蓝，或不含戊二醛的银染蛋白质。从凝胶上切下对应的蛋白条带后，对胶样进行脱色、脱水后，再使用胰蛋白酶对胶带或胶点进行水解。

凝胶经乙腈处理脱水后，在含有蛋白酶的消化缓冲液中溶胀，有助于酶渗透到凝胶中。对酶渗透凝胶的各项研究表明，这个过程几乎完全是由扩散驱动的，通过将凝胶切成尽可能小的碎片，可以提高凝胶内消化的效率。

表面活性剂(去污剂)有助于蛋白质在凝胶中的溶解和变性，从而缩短消化时间，增加蛋白质裂解以及提取肽的数量，特别是对亲脂性蛋白质，如膜蛋白，在酸性条件下将可裂解的洗涤剂裂解，从而使添加的去污剂与质谱兼容。

为了保证凝胶基质中蛋白质的高效水解，一般使用较高的酶浓度。如将浓度为50%乙腈（ACN）/5%甲酸（FA）用作提取缓冲液，结合超声处理，从凝胶基质中释放生成的蛋白水解肽。为了满足具有不同物理和化学性质的肽的要求，可使用碱性或酸性溶液进行迭代萃取。

胶内水解和肽提取效率取决于多种因素，包括：1.蛋白质和所得肽的物理化学性质，如疏水度、分子量

大小和氨基酸序列；2.凝胶块的组成、大小和厚度；3.提取缓冲液的组成，如乙腈（ACN）的浓度；4.酶的类型及其比活性；5.一般反应条件(如温度、时间、酶底物比)；6.蛋白染色的种类(例如，Coomassie或silver)。

胶内蛋白质水解的一个显着优点是所有污染物在电泳过程中就已经被出去，包括去污剂、盐等，因此可以很容易地对产生的多肽样品进行后续质谱分析。但是，由于：1.蛋白酶对蛋白质的可及性差；2.肽从凝胶基质中释放的效率低；3.凝胶的储存不充分等原因，该方法的有效性可能受到限制。蛋白质直接在溶液中进行消化，是作为凝胶电泳+凝胶内消化的一种很好的替代方法，通常在此基础上进行一维或二维的色谱分离，从而在质谱分析前有效地分离得到的肽混合物。

溶液内水解

溶液内水解时，必须折中处理蛋白质溶解度和酶活性之间的关系。在蛋白质潜在的胱氨酸或半胱氨酸的还原和烷基化（r&a）过程中，二硫键发生不可逆地断裂，从而获得Z_U_I佳的三级结构展开。这种化学修饰使具有大量二硫键的蛋白质被成功鉴定，并获得Z_U_I高的肽产量和序列覆盖率。对于变性电泳，强烈建议在电泳之前进行反应，因为凝胶中存在能够修饰半胱氨酸的游离丙烯酰胺单体。

一般应避免使用洗涤剂，但根据蛋白酶解物的物理化学特性，可以使用有机溶剂和/或复合溶剂。对于难以溶解或变性的蛋白质，如膜蛋白质，可以将8M尿素与富有弹性的蛋白酶Lys-C结合使用；随后，以较低浓度的离液剂（2M尿素）进行胰蛋白酶水解。在使用FA进行酸化后，可以直接进行质谱分析（通常建议进行额外的脱盐步骤后上机）。有机溶剂作为尿素中双重蛋白水解的可能性替代方法，可用于溶液中疏水蛋白的溶解和有效消化。为了增强蛋白水解程度，可以使用化学固定或物理吸附到固定相的酶。

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!