

# iTRAQ/TMT标签结构以及相对定量原理详解

产品名称	iTRAQ/TMT标签结构以及相对定量原理详解
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

导读

iTRAQ/TMT定量蛋白组学技术

iTRAQ/TMT标签分子组成

iTRAQ/TMT技术原理

iTRAQ和TMT标签介绍

说到iTRAQ和TMT很多人可能会以为这是两中不同的定量组学技术，但其实呢，iTRAQ和TMT技术只是生产商不同，除了标记规格和标签分子结构有些许差异，标记肽段的原理基本上是一样的。其中iTRAQ由AB SCIEX所开发，紧接着Thermo Fisher研发了TMT，二者只是专利不同，但是使用原理基本一致。

iTRAQ：Isobaric Tag for Relative and Absolute Quantitation

TMT：Tandem Mass Tag

iTRAQ-TMT标签结构以及相对定量原理详解 - 百泰派克生物

iTRAQ和TMT标记实质上就是一种化学体外标记试剂，能够特异性标记蛋白质酶解产生的多肽。iTRAQ和TMT标记的蛋白样品规格不同，相比之下TMT能够标记更广泛的样品数，能够同时定量分析多组蛋白样品，少至2个蛋白样品，多至10个蛋白样品，TMT蛋白定量都能够做到。通过标记多组不同样品，TMT和iTRAQ能够同时比对正常组织样品和肿瘤组织样品的蛋白水平差异，以及精准检测肿瘤在发展的不同阶段的蛋白水平变化。

虽然iTRAQ和TMT的标记原理一样，但是两种标签的结构却有一些差异，接下来我们来看看iTRAQ和TMT的标签结构一个各自的细微差异吧

## iTRAQ与TMT的分子结构比较

### iTRAQ与TMT的分子结构比较

从上图来说，我们可以看到iTRAQ和TMT标签在结构上有着明显的差异，但是也有着一些共同点，首先两个标签都由报告基团，平衡基团以及肽反应基团组成，两个标签的各自报告基团和平衡基团的总重都是一定的。另外，两个标签的肽反应基结构也是一样的。iTRAQ和TMT标签的差异在于平衡基团的结构，从下图可以看到TMT的平衡基团结构比iTRAQ标签的更为复杂。iTRAQ标签的平衡基团只有几十Da，而TMT的平衡基团接近200Da，这也是造成iTRAQ和TMT标签质量差异的原因。

简单介绍完两个标签的结构后，我们再以iTRAQ 4-plex标签为例，详细认识一下iTRAQ分子标签的结构组成

## iTRAQ分子结构组成

### iTRAQ 4-plex标签结构

iTRAQ标签分子骨架由三部分核心组件构成：报告基团，平衡基团和肽反应基团。其中，报告基团和平衡基团构成等基团。不同的iTRAQ标签的报告基团的重量不同，4-plex标签的报告基团重量分别是：114，115，116，117Da；平衡基团的质量分别是：31，30，29，28Da，使得4个iTRAQ标签的报告基团总重都是145Da。另外一个核心组件就是肽反应基团，其主要的功能就是与多肽游离的N端氨基发生置换反应，使同位素标签共价交连到肽段N端。

前面说到标签报告基团和平衡基团的质量，很多人可能会好奇，标签的报告基团仅仅相差几个Da，这是如何做到的呢？其实这就是利用了同位素标记的原理。下面我们以iTRAQ标签为例进行解释。

如下图，质量为114的报告基团包含1个C<sup>13</sup>，报告基团质量增加1Da。同时平衡基团包含1个C<sup>13</sup>和1个O<sup>18</sup>，质量总共增加3Da，因此，114标签的总质量增加4Da。以此类推，115的报告基团增加2Da，平衡基团增加2Da；116的报告基团增加3Da，平衡基团增加1Da；117的报告基团增加4Da，平衡基团增加0Da。以上四个标签通过对报告基团和平衡基团进行不同的同位素标记后，各自的报告基团和平衡基团的增加质量不同，但是增加的总的质量是一样的，因此，标签的总重相等。

### iTRAQ标签的同位素标记

## 标签与肽段反应的过程

### 肽段标记反应过程

## iTRAQ相对定量研究原理

蛋白质首先被裂解为肽段，然后用iTRAQ试剂进行差异标记。由于iTRAQ试剂是等量的，即不同同位素在标记同一多肽后在第一级质谱检测，分子量完全相同，用串联质谱方法对在第一级质谱检测到前体离子进行碰撞诱导解离，产物离子通过第二级质谱进行分析。在二级质谱分析过程中，报告基团、质量平衡基团和多肽反应基团之间的键断裂，质量平衡基团丢失，产生低质荷比(m/z)的报告离子。由于二级质

谱可分析相对分子质量相差1的报告基团，不同报告基团离子强度的差异就代表了它所标记的多肽的相对丰度。同时，多肽内的酰胺键断裂，形成一系列 b 离子和 y 离子，得到离子片段的质量数，通过数据库查询和比较，可以鉴定出相应的蛋白质前体。

## iTRAQ定量分析原理

### iTRAQ相对定量研究流程

## iTRAQ定量分析流程

1. 对不同的蛋白质样品进行酶切消化成多肽片段
2. 使用不同的iTRAQ标签对不同蛋白样品消化产生的多肽片段分别进行标记，但是不同的iTRAQ标签的总质量是一样的。
3. 比例混合各个标记后的样品
4. 带上标记的多肽片段经过一级质谱分离，在一级质谱中，iTRAQ标签由于总质量数一样，来自不同蛋白样品的相同肽段不能被区分，因此会一起进入二级质谱分析
5. 在二级质谱中，在高能碰撞下iTRAQ的平衡基团会被打碎，因此报告基团得到释放，同时肽段也被释放，碰撞碎裂成二级碎片。这时通过分析肽段的氨基酸序列，可以推测对应的蛋白质的序列；同时各个报告基团的在质谱中的信号强度代表多肽在4组样品中的相对丰度，即反应相应的蛋白质在4组样品中的相对表达水平。

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!