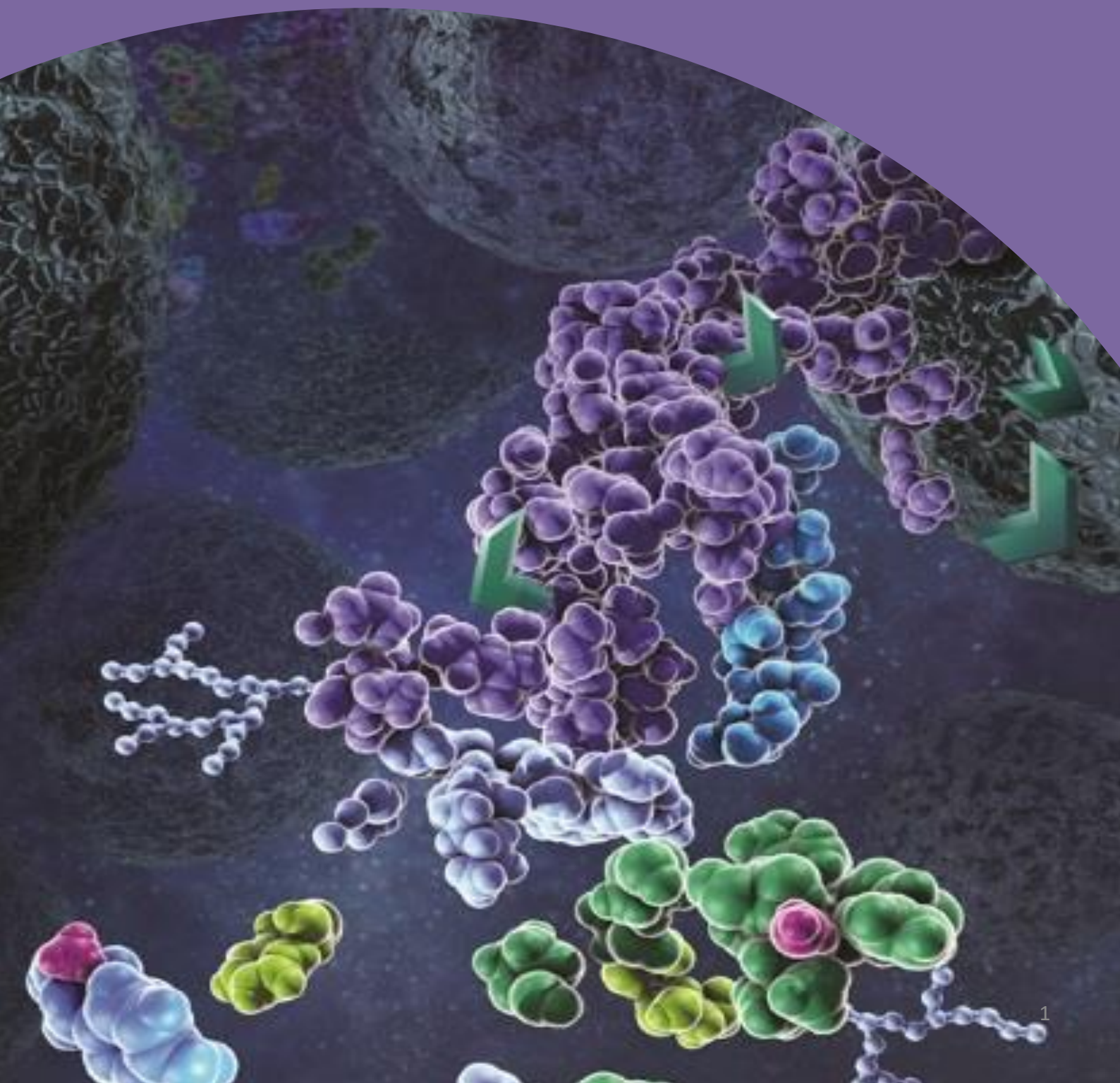


蛋白质谱分析解决方案 Solutions for Mass Spec



质谱分析

MASS SPECTROMETRY

质谱（MS）是一种强大的分析工具，用于蛋白质组分析和各种生物和细胞类型的蛋白质的表征分析。质谱是一种基于分子质荷比的灵敏的检测方法。质谱技术的最新应用进展为蛋白质鉴定、蛋白质表征分析、相对和绝对定量，翻译后修饰，以及蛋白:蛋白相互作用的研究提供了工具。

Promega提供的质谱分析产品用于许多蛋白质组学研究和药物开发应用，包括鉴定和表征分析生物治疗用抗体以及评估可能影响抗体疗效或稳定性的翻译后修饰。

通常通过蛋白酶消化蛋白质来产生用于质谱分析的肽段（例如，自下而上蛋白质组学）。Promega为您提供高质量的蛋白酶，包括胰蛋白酶和专门为质谱应用开发的其他种类蛋白酶产品。针对抗体的中下游蛋白质组学分析，Promega可提供IdeS/IdeZ蛋白酶。除此以外，我们还提供用于翻译后修饰分析的糖苷酶，以及用于监测质谱仪器性能的肽参考混合物和其他试剂。

内容目录

CONTENT

蛋白酶和表面活性剂..... P4

Promega提供适用于质谱和其他应用的多种蛋白酶，包括如 Trypsin、ProAlanaase, rLys-C、Lys-C、Asp-N、Glu-C 等等。质谱用表面活性剂用于改进凝胶内和溶液中的蛋白质消化。

糖苷酶..... P12

Promega的PNGase F 和Endo H 可检测蛋白质糖基化。常规的应用包括通过质谱监测蛋白转运以及确定聚糖的位置和结构。

质谱分析标准参照试剂..... P14

Promega的质谱兼容型酵母和人类蛋白质提取物是为质谱分析而特殊设计。提取物被预消化并经固相萃取净化，可直接用于液相色谱 / 质谱 (LC / MS) 分析。

相关产品—其他应用蛋白酶及蛋白脱氨基检测..... P17

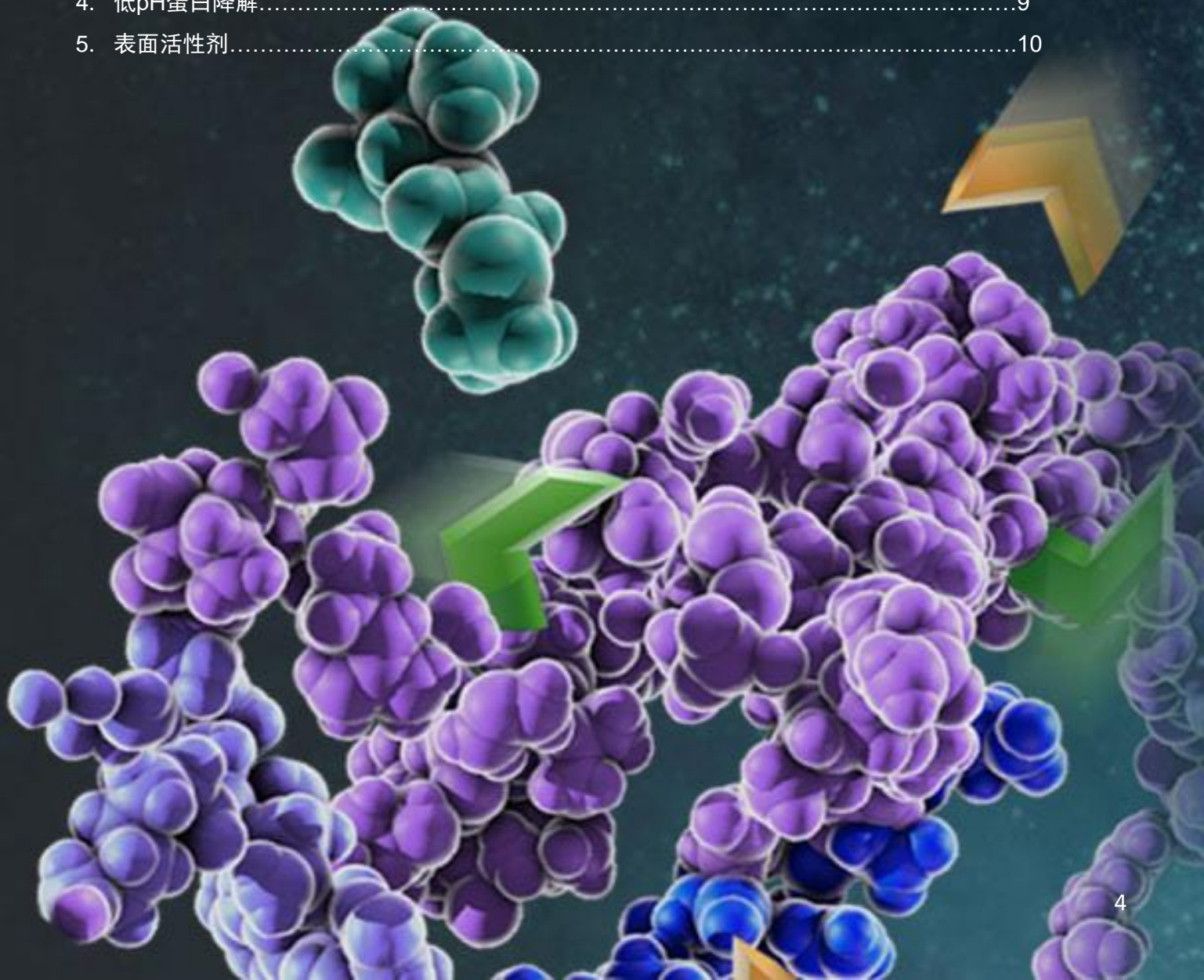
Promega的ISOQUANT®异天冬氨酸检测试剂盒提供一种比放射性方法更安全的蛋白脱氨基检测方法。

蛋白酶和表面活性剂

Protease & Surfactant

蛋白质通常用蛋白酶消化产生多肽，用于质谱分析，然后进行测序（串联质谱）。Promega提供一系列适合质谱样品制备的蛋白酶。在质谱中用于蛋白质最佳消化的可用蛋白酶包括胰蛋白酶(Trypsin)、Trypsin/Lys-C、rLys-C、Lys-C、rAsp-N等。我们还提供ProteaseMAX™表面活性剂用于改善胶内消化蛋白质和蛋白质溶解。

1. 蛋白酶新产品.....	5
2. 质谱分析蛋白酶产品选择指南.....	6
3. 特殊应用蛋白酶-抗体降解.....	8
4. 低pH蛋白降解.....	9
5. 表面活性剂.....	10



蛋白酶新产品 NEW PRODUCTS



ProAlanase

蛋白质组学研究中最新可选蛋白酶

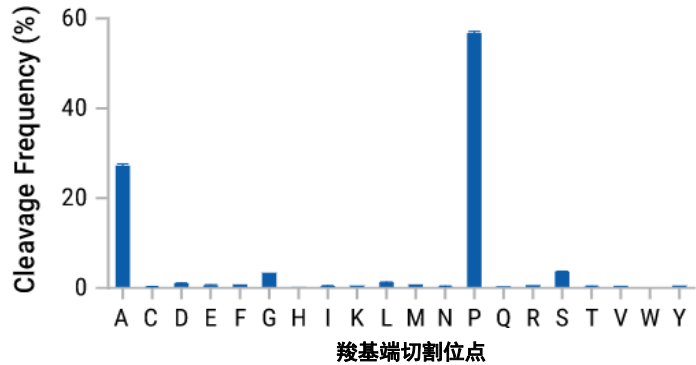
ProAlanase是一种内切蛋白酶，优先切割蛋白质中脯氨酸羧基端，在较小程度上切割丙氨酸。从黑曲霉(*Aspergillus niger*)中分离纯化的ProAlanase也被称为An-PEP或EndoPro。用ProAlanase消化蛋白质得到的多肽适合于质谱鉴定和表征分析。用胰蛋白酶消化通常会产生不完整的序列覆盖或翻译后修饰的缺失鉴定。与胰蛋白酶一样，其他蛋白酶如Lys-C、Asp-N、Glu-C和Arg-C也会在带电荷的残基上裂解，从而使蛋白质中被消化的区域产生偏向。最新的解决方案是ProAlanase，它在蛋白质组中独特的、非带电的位点上裂解。

产品列表

产品	规格	目录号
ProAlanase (Mass Spec Grade)	5µg	VA2161
	15µg	VA2171

特点:

- 新的位点特异性内切蛋白酶，酶切靶点为脯氨酸和丙氨酸。
- 在酸性pH (1-5.5) 下具有活性，最适pH约为1.5。
- 消化时间短，只需消化 1-2小时。



ProAlanase 羧基端切割特异性。人K562提取物在pH值1.5, 37°C下用ProAlanase消化2小时°C，使用1:100 酶:底物比。进行LC-MS /MS进行分析后，以Byonic™ 软件进行数据分析。切割主要发生在脯氨酸和丙氨酸的羧基端。

新产品预告-Coming Soon

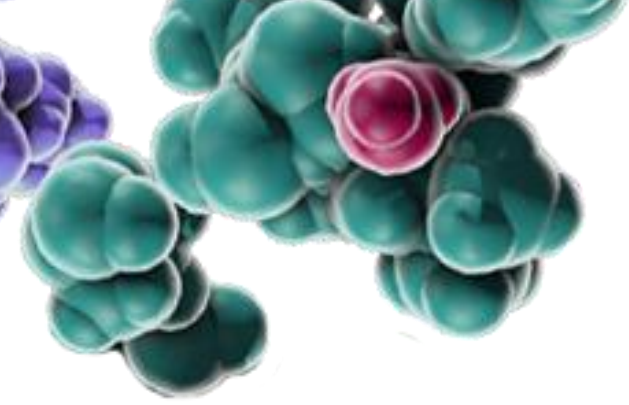
Trypsin Platinum, Mass Spectrometry Grade

Trypsin Platinum 是一种重组蛋白酶，旨在通过质谱和反相高效液相色谱紫外检测 (RP-HPLC-UV) 对蛋白质进行准确表征鉴定。它没有任何可检测到的非特异性蛋白水解活性。新的化学修饰方法确保其具有最大程度的自水解抵抗。Trypsin Platinum具有较高的蛋白水解效率，不含动物源性污染蛋白。

[联系Promega获得更多信息](#)

特点:

- 重组胰蛋白酶，具有最高的消化灵敏度。
- 最大程度抵抗自水解。
- 每批通过质谱鉴定，以确保与您的应用/仪器兼容。
- 无非特异性裂解活性的重组蛋白酶。



Promega常用质谱分析用蛋白酶的质量

Promega的质谱级蛋白酶和表面活性剂产品主要用于蛋白的肽图分析和蛋白鉴定的蛋白样品制备。

酶分类	蛋白酶	目录号与规格	来源与大小	酶切位点	蛋白酶:蛋白比 (w/w)	消化的 pH范围
胰酶类 (Trypsin Protease)	Trypsin Gold, Mass Spectrometry Grade	V5280 100µg	猪胰腺 (23.8kDa)	赖氨酸和精氨酸的羧基端。如果赖氨酸或精氨酸后跟脯氨酸，则不切割。	1:20 到1:100	pH 7-9
	Sequencing Grade Modified Trypsin	V5111 (5×20µg) V5117 (1×100µg)		赖氨酸和精氨酸的羧基端。如果Lys或Arg后跟脯氨酸，则不切割。	1:20 到1:100	pH 7-9
	Sequencing Grade Modified Trypsin, Frozen	V5113(5×20µg)		赖氨酸和精氨酸的羧基端。如果赖氨酸或精氨酸后跟脯氨酸，则不切割。	1:20 到1:100	pH 7-9
	Immobilized Trypsin	V9012 (2ml) V9013 (2×2ml)		赖氨酸和精氨酸的羧基端。如果赖氨酸或精氨酸后跟脯氨酸，则不切割。	详见说明书	pH 5-9
	Trypsin/Lys-C Mix, Mass Spec Grade	V5071 (20µg) V5072 (100µg) V5073 (5×20µg)	Trypsin Gold 和 rLys-C混合物	赖氨酸和精氨酸的羧基端。如果赖氨酸或精氨酸后跟脯氨酸，则不切割。与Trypsin相比，Trypsin/Lys-C能耐受赖氨酸和精氨酸羧基端的谷氨酸和天冬氨酸。	1:25 到 1:50	pH 8
特异性替代蛋白酶 (Specific Alternative Protease)	ProAlanaase (Mass Spec Grade)	VA2161 (5µg) VA2171 (15µg)	黑曲霉(约58kDa,糖基化的约65kDa)	主要切割脯氨酸和丙氨酸残基的羧基端	1:10 到 1:500	pH 1.0 到 5.5
	rLys-C, Mass Spec Grade	V1671 (15µg)	铜绿假单胞菌。在大肠杆菌中表达 (27.7kDa)	特异地切割赖氨酸残基的羧基端,如果赖氨酸后面跟脯氨酸,天冬氨酸或谷氨酸,则不切割。	1:20 到 1:50	pH 8-9
	Lys-C, Sequencing Grade	VA1170 (5µg)	产酶溶杆菌 (30kDa)	特异地切割赖氨酸残基的羧基端,如果赖氨酸后面跟脯氨酸,天冬氨酸或谷氨酸,则不切割。	1:20 到 1:100	pH 7-9
	Arg-C, Sequencing Grade	V1881 (10µg)	溶组织梭菌 (亚基: 45kDa和12kDa)	精氨酸的羧基端。也可在赖氨酸残基位点切割,但效率较低。	1:20 到 1:350	pH 7.6-7.9
	Asp-N, Sequencing Grade	V1621 (2µg)	弗雷吉假单胞菌 (24.5kDa)	天冬氨酸残基(Asp) 和谷氨酸残基(Glu) N末端的肽键。	1:20 到 1:200	pH 4-9
	rAsp-N	VA1160 (10µg)	从嗜麦芽窄食单胞菌中克隆。在大肠杆菌中表达并纯化 (25kDa)	天冬氨酸残基(Asp) 和谷氨酸残基(Glu) N末端的肽键。	1:10 到 1:100	pH 6-9
	Glu-C, Sequencing Grade	V1651 (5 × 10µg)	金黄色葡萄球菌V8 (27kDa)	天冬氨酸及谷氨酸残基的羧基端肽键。	1:20 到 1:200	pH 4-9
低特异性替代蛋白酶 Low Specific Alternative Proteases	Chymotrypsin, Sequencing Grade	V1061 (25µg) V1062 (4×25µg)	牛胰腺 (25kDa)	优先水解芳香族氨基酸(酪氨酸、苯丙氨酸和色氨酸)的羧基端。	1:20 到 1:200	pH 7-9
非特异性蛋白酶 Non-Specific Proteases	Elastase	V1891 (5mg)	猪胰腺 (25.9kDa)	优先在丙氨酸、缬氨酸、丝氨酸、甘氨酸、亮氨酸或异亮氨酸的羧基端进行剪切	1:20 到 1:100	pH 9
	Pepsin	V1959 (250mg)	猪胃 (34.6kDa)	优先在苯丙氨酸、亮氨酸、酪氨酸和色氨酸的羧基端进行水解	1:20 到 1:100	pH 1-3
	Thermolysin	V4001 (25mg)	热蛋白水解杆菌 (36.2kDa)	在疏水性的氨基酸残基的 N 末端进行剪切,包括亮氨酸、苯丙氨酸、缬氨酸、异亮氨酸、丙氨酸和甲硫氨酸。	1:20 to 1:50	pH 5.0-8.5

标准样品制备特性和反应条件指南

出众的产品性能可改善您的样品制备，帮助您获得更准确的分析数据。

反应条件	缓冲液兼容性	胶内消化	ProteaseMAX™ 去污剂兼容性	其他信息
50-100mM Tris-HCl (pH 8) 或50-100mM NH ₄ HCO ₃ (pH 7.8), 37° C过夜消化。	Tris-HCl, NH ₄ HCO ₃	可以	兼容	所有Promega胰蛋白酶均经TPCK处理以使胰凝乳蛋白酶失活，并经化学修饰（甲基化）以最小化自身蛋白水解。所有Promega胰蛋白酶都能抵抗温和的变性条件（1M尿素和0.1% SDS）。在2M盐酸胍中保留48%的活性。
50-100mM Tris-HCl (pH 8) 或50-100mM NH ₄ HCO ₃ (pH 7.8), 37° C过夜消化。	Tris-HCl, NH ₄ HCO ₃	可以	兼容	
50-100mM Tris-HCl (pH 8) 或50-100mM NH ₄ HCO ₃ (pH 7.8), 37° C过夜消化。	Tris-HCl, NH ₄ HCO ₃	可以	兼容	
50mM NH ₄ HCO ₃ (pH 7.8) 室温消化30分钟。	Tris-HCl, NH ₄ HCO ₃	不可用	兼容	
50-100mM Tris-HCl (pH 8) 或50-100mM NH ₄ HCO ₃ (pH 7.8)。37° C过夜消化。	Tris-HCl, NH ₄ HCO ₃	可以	未测试	Trypsin与Lys-C的混合物；蛋白消化的性能更强：增加了可识别的肽段和蛋白的数量。在强变性环境下也有活性：能够消化抗Trypsin的蛋白质。耐受Trypsin抑制性污染物：能够从低质量样本中获得质谱级数据。
建议的起始条件：pH 1.5, 37° C消化不超过2小时	HCl (pH 1–2.5), 盐酸甘氨酸(pH 1–2.5), 柠檬酸钠(pH 3–4), 乙酸钠(pH 4.5–5.5)	可以	不兼容	甲酸和TFA不会抑制ProAlainase。可使用以下方法之一来终止反应： 1) 在90–95°C加热10分钟使酶失活持续。2) 使用C18枪头去除酶。以推荐的反应条件为出发点。如有必要，使用这些参数来指导优化：pH 1.0 至pH5.5。时间为30分钟到20小时，蛋白酶:蛋白比为1:10到1:500
50-100mM Tris-HCl (pH 8) 或 50mM NH ₄ HCO ₃ (pH 7.8)。37° C消化2-18小时。	Tris-HCl, NH ₄ HCO ₃	可以	兼容	性价比更好的天然Lys-C蛋白酶替代品。与天然蛋白酶类似，rLys-C能耐受尿素等高变性条件。用于消化紧密折叠的蛋白水解抗性蛋白质。如分析需要较大的肽段，可用作胰蛋白酶的替代品进行样品处理。如果在蛋白质样品制备中使用尿素，应避免高温。在尿素存在下，高温诱导蛋白质氨甲酰化。酶以冻干的形态提供，同时配有重组缓冲液，可提高rLys-C溶液的稳定性。
50-100mM Tris-HCl (pH 8)或50mM NH ₄ HCO ₃ (pH 7.8)。37° C消化2-18小时。	50mM Tris (pH 8)	可以	兼容	能耐受尿素等高变性条件。用于消化紧密折叠的蛋白水解抗性蛋白质。如分析需要较大的肽段，可用作胰蛋白酶的替代品进行样品处理。如果在蛋白质样品制备中使用尿素，应避免高温。在尿素存在下，高温诱导蛋白质氨甲酰化。
50mM Tris-HCl (pH 7.6-7.9), 5mM CaCl ₂ , 2mM EDTA, >2mM DTT。37° C消化2-18小时	Tris-HCl, NH ₄ HCO ₃	可以	兼容	用于组蛋白修饰的分析。需要DTT, 半胱氨酸或其他还原剂和CaCl ₂ 。
50mM Tris-HCl (pH 8), 37° C消化2-18小时。	Tris-HCl, NH ₄ HCO ₃	可以	兼容	可作为胰蛋白酶的替代品，以实现更好的切割位点分布。在尿素（高达3.5M）、盐酸胍（1M）、十二烷基硫酸钠（高达0.028%）、ProteaseMax™表面活性剂（高达0.026%）、乙腈（高达60%）、乙二醇四乙酸（高达2mM）、DTT或β-巯基乙醇存在下保留100%的活性
50mM Tris (pH 8.0), 37° C消化60分钟。	Tris-HCl, NH ₄ HCO ₃	未测试	不兼容	天然Asp-N蛋白酶的高性价比替代品。提供更多更方便地重新的分装包装。可作为胰蛋白酶的替代品，以实现更好的切割位点分布。
100mM NH ₄ HCO ₃ (pH 7.8), 50-100 mM HCL (pH 8)。37° C消化2-18小时。	NH ₄ HCO ₃ , 乙酸铵	可以	兼容	可作为胰蛋白酶的替代品，以实现更好的切割位点分布。Glu-C活性和切割特异性受缓冲条件的影响。在生物碳酸铵和其他非磷酸盐缓冲液中，Glu-C在Glu的羧基端侧断裂。磷酸缓冲液中Glu-C在Glu和Asp的羧基端断裂。
100mM Tris-HCl (pH 8.0) 2mM CaCl ₂ , 25° C消化2-18小时。	Tris-HCl, CaCl ₂	可以	兼容	通常用于消化疏水蛋白，包括膜蛋白。在尿素（高达1M）或1M盐酸胍（高达1M）存在下保留80%的活性。在ProteaseMAX™表面活性剂存在下，活性没有降低（高达0.025%）。
50mM Tris-HCl (pH 8.5-9.5)。37° C消化2-18小时。	Tris-HCl	不可用	不兼容	用作胰蛋白酶的替代品，以增加蛋白质的覆盖率。
0.04N HCl, 37° C消化1-18小时。	HCl	不可用	不兼容	用于结构蛋白研究（HDX交换）和抗体分析；用于消化蛋白质组学上耐药的紧密折叠蛋白质。
50mM Tris-HCl (pH 8.0) 0.5mM CaCl ₂ 。70-95° C消化30分钟到6小时。	Tris-HCl, CaCl ₂	不可用	不兼容	用于消化水解抵抗和紧密折叠的蛋白质和结构研究。

特殊应用蛋白酶

免疫球蛋白降解酶 -IdeS与IdeZ

IdeS来源于化脓性链球菌 (*Streptococcus pyogenes*)。Promega提供的IdeS蛋白酶是一种重组高度特异性蛋白酶，特异性酶切免疫球蛋白G(IgG)，酶切位点是位于铰链区下方的单一位点，从而产生F(ab')₂和Fc片段可用于LC/MS分析以展示待测治疗性抗体的特性。

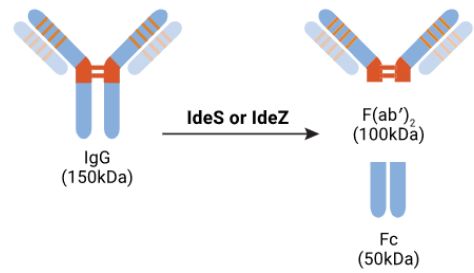
免疫球蛋白降解酶Z(IdeZ)来源于马链球菌兽瘟亚种 (*Streptococcus equi*)。IdeZ是一种人工重组在E.coli中表达的高度特异性免疫球蛋白酶，特异性酶切免疫球蛋白G(IgG)，酶切位点是位于铰链区下方的单一位点，从而产生F(ab')₂和Fc片段，但是与IdeS相比，IdeZ蛋白酶针对小鼠IgG2a和IgG3的活性明显增强。

产品列表

产品名	规格	目录号
IdeS Protease	5000u	V7511
	25000u	V7515
IdeZ Protease	5000u	V8341
	25000u	V8345

特点

- 高度特异性的IgG切割，快速生成高纯度的片段。
- 基本上可以达到100%完全消化。
- 可有效切割人、猴、绵羊、兔、人源以及嵌合IgG，也可切割Fc融合蛋白。
- 含有His标签，可轻易去除。



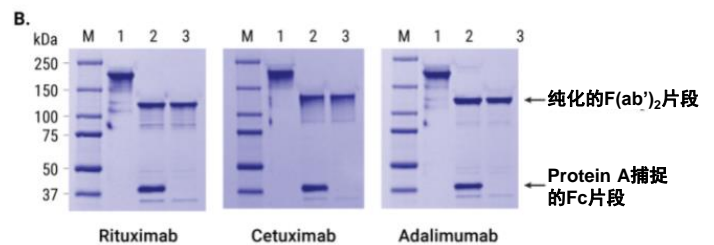
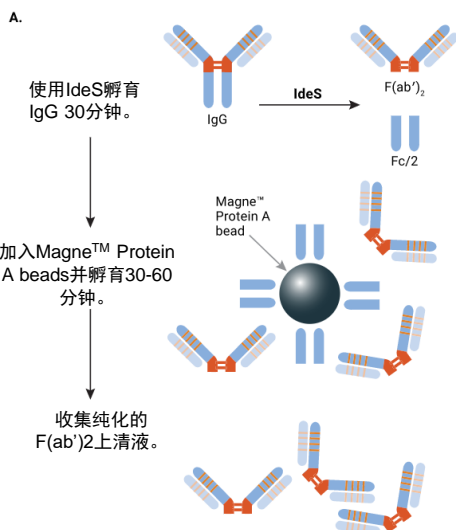
IgG1 Hinge sequence: S-C-D-K-T-H-T-C-P-P-C-P-A-P-E-L-L-**G**-G-P-S-V

↑
IdeS or IdeZ cleavage site

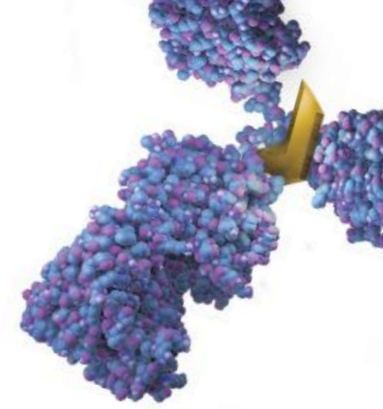
IdeS和IdeZ蛋白酶活性对每个亚类表示。切割位置用粗体字母表示。

Subclass	Hinge/CH2 Sequence	IdeS Activity	IdeZ Activity	Subclass	Hinge/CH2 Sequence	IdeS Activity	IdeZ Activity
Human	-			Mouse			
IgG1	CPPCPAPELL GG PSVF	+++	+++	IgG1	PCICTVPEV_SSVF	-	-
IgG2	CPPCPAPP_VA G PSVF	+++	+++	IgG2a	CPPCAAPNLL GG PSVF	+	+++
IgG3	CPRCPAPELL GG PSVF	+++	+++	IgG2b	CHKCPAPNLE GG PSVF	-	-
IgG4	AHHAQAPEFL GG PSVF	+++	+++	IgG3	GSSCPAGNILL GG PSVF	+	+++

使用IdeS蛋白酶和Magne™ Protein A Beads制备F(ab')₂片段



图B. 通过凝胶电泳确定从三个抗体中分离出的F(ab')₂和Fc片段。Fc片段使用Magne™ Protein A beads捕捉。



低pH蛋白降解

AccuMAP™ Low pH Protein Digestion Kit

非酶翻译后修饰 (PTMs) 是生物治疗用蛋白在生产和储存过程中会自发发生的情况。主要的非酶PTM包括脱酰胺、二硫键干扰和氧化。这些修饰会影响生物治疗用蛋白的疗效和稳定性，是需要监测的情况。非酶PTMs也可以在制备肽图谱的蛋白质样品制备过程中产生并影响分析。样品制备过程中引起非酶PTMs的主要原因包括碱性pH和具有蛋白质氧化活性的杂质。

产品列表

产品名	规格	目录号
AccuMAP™ Low pH Protein Digestion on Mini Kit	1 each	VA1040
AccuMAP™ Low pH Protein Digestion on Maxi Kit	1 each	VA1050

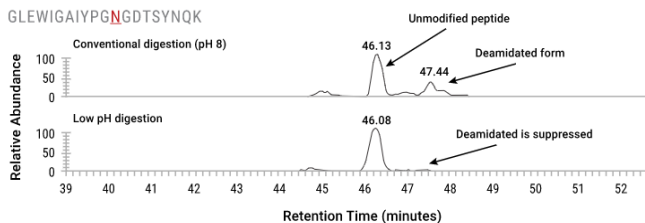
特点:

- 可在4.5-5小时内完成蛋白样本制备。
- 高度可重复的蛋白消化结果。
- 可用于还原性蛋白和非还原性蛋白消化。

低pH条件下的蛋白降解

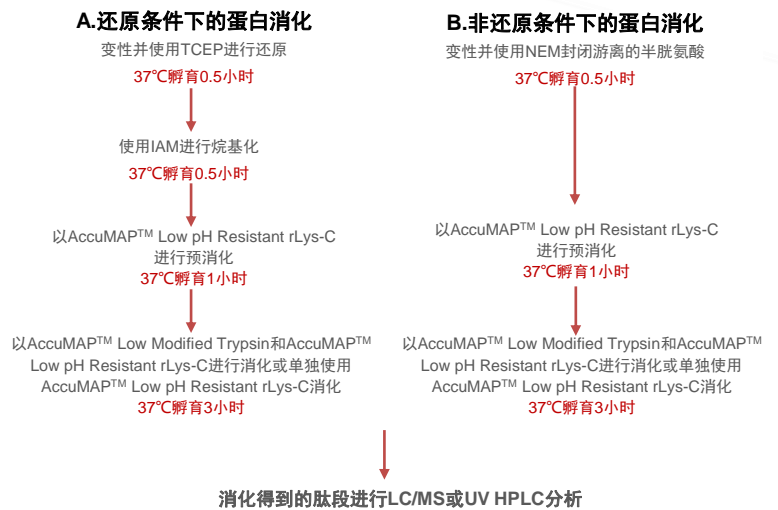
通常用于肽谱分析样品制备时，胰蛋白酶和其他蛋白酶在碱性pH值条件下更有效地消化蛋白质。为了避免在这些条件下诱发人工非酶性PTMs，我们研发了在低pH条件下进行胰蛋白酶消化的方法。为了恢复赖氨酸位点的胰蛋白酶切割效率，我们用一种特殊的、低pH抗性的重组Lys-C (rLys-C) 蛋白酶来辅助胰蛋白酶。通过在胰蛋白酶中添加耐低pH的rLys-C，我们在低pH下获得了高效的胰蛋白酶消化。

抑制脱酰胺和二硫键干扰

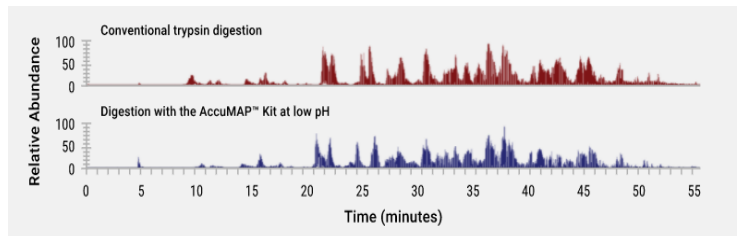


上图：显示以传统条件(pH 8)和低pH条件使用 AccuMAP™ Low pH Protein Digestion Kit) 从利妥昔单抗中获得的 GLEWIGAIYPGNGDTSYNQK 肽段的萃取离子层析色谱。左图显示了脱酰胺的抑制，右图显示了二硫键干扰的抑制。

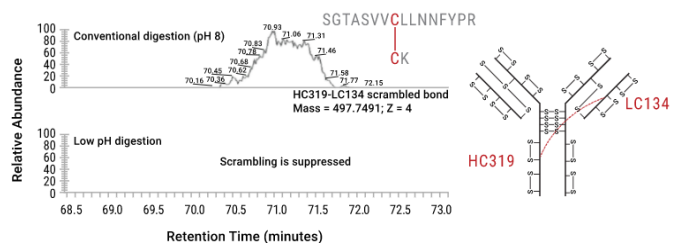
使用AccuMAP™ Low pH Protein Digestion Kit 进行样本制备的流程示意图



上图：当在还原或非还原条件下的低pH值情况里进行样本制备时，AccuMAP™ Low pH Protein Digestion Kits能抑制人为造成的非酶PTMs。



上图：低pH条件下，改良胰蛋白酶和AccuMAP™ Low pH Resistant rLys-C的高效消化。利妥昔单抗根据常规消化说明书 (pH 8) 或AccuMAP™ Low pH Protein Digestion Kit 进行消化，用LC/MS进行分析。结果表明，低pH条件下的消化与常规条件下的消化相当。





表面活性剂

Promega除了提供高质量的质谱用蛋白酶，还提供蛋白酶增强剂(表面活性剂)，可与胰蛋白酶、糜蛋白酶和赖氨酸-C等合用，改善凝胶内和溶液中的蛋白质酶解。

ProteasMAX™ Surfactant, Trypsin Enhancer

ProteasMAX™ Surfactant, Trypsin Enhancer用于改善凝胶和溶液中蛋白质的消化。可与现有的凝胶内或溶液消化实验方法共同应用，节省凝胶内蛋白消化所需的时间和人工。消化反应可在1小时之内完成。无需在消化反应后另外进行肽提取。有助于按照常规提取方案操作时被滞留在凝胶中的较长肽段的回收。在酶解反应过程中可被降解，降解产物与下游实验具有兼容性，下游实验包括质谱分析法(MS)和液相色谱法(LC)。

产品列表

产品名	规格	目录号
ProteasMAX™ Surfactant, Trypsin Enhancer	1mg	V2071
	5 × 1mg	V2072

特点:

- 简化凝胶消化程序。
- 从凝胶中提高肽回收率。
- 增强的蛋白质可溶性/变性。
- 质谱兼容。

简化凝胶消化程序

传统胶内蛋白消化

凝胶内消化过夜



肽段提取
(1.5-2小时)



质谱分析

使用ProteasMAX™ Surfactant的胶内消化

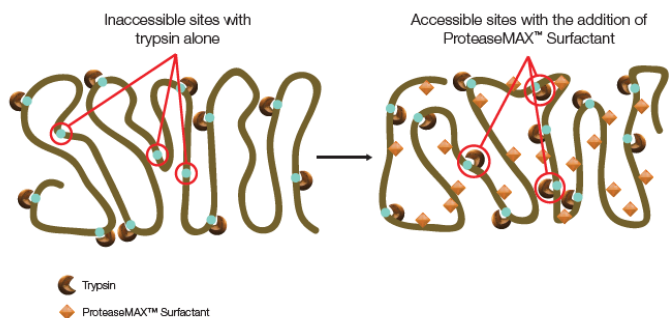
凝胶内消化1小时



质谱分析

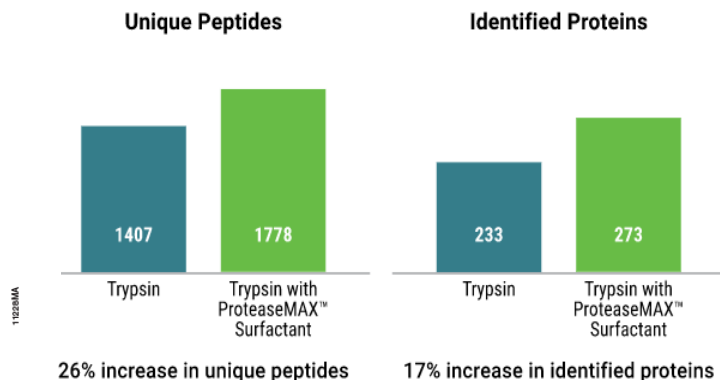
上图: 对于凝胶消化，完整的蛋白质消化和肽提取可在一小时内完成。ProteasMAX™ Surfactant有助于从凝胶中高效提取肽段，去除了乙腈提取步骤，同时使肽回收率提高1.5到2倍。因此，蛋白质序列覆盖率增加了20-30%，鉴定的蛋白质数量也得到了改善。

增强的蛋白质溶解/变性



上图: ProteasMAX™ Surfactant为在溶液中消化蛋白质具有两大优势。首先，表面活性剂能在室温下有效溶解复杂蛋白质，避免高温，防止沉淀。第二个优点是提高了蛋白质水解率。ProteasMAX™ Surfactant能以SDS样方式部分或完全变性蛋白质，使蛋白酶更容易到达切割位点。

ProteasMAX™促进胶内蛋白消化



上图: ProteasMAX™ Surfactant通过增强蛋白质消化、增加肽提取和最小化消化后肽损失来改善蛋白质的鉴定。对于样品中不丰富的蛋白质的凝胶内消化来说，可以使用最少的样品用量。



表面活性剂新产品预告-Coming Soon

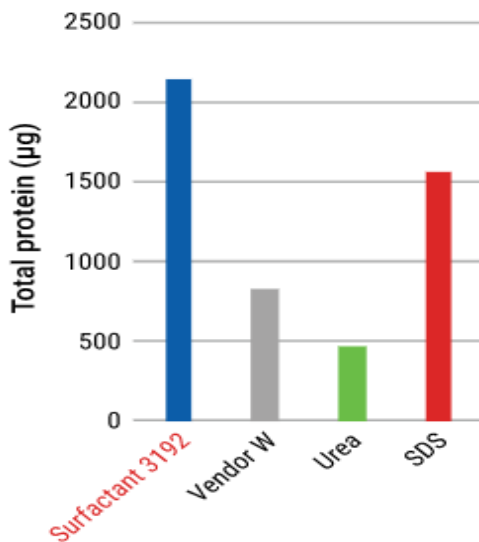
SoluMAX™ Surfactant, Trypsin Enhancer

SoluMAX™ Surfactant是一种新型的质谱兼容性表面活性剂，用于蛋白质的溶液萃取、增溶和消化，能够快速变性紧密折叠的蛋白质，并最大限度地提高蛋白质回收和消化效率。该表面活性剂对蛋白质的增溶和萃取效率均达到或超过十二烷基磺酸钠（SDS）。SoluMAX Surfactant优化的操作方案的所有步骤均在高温（50°C）下执行。这些条件确保了最大限度的蛋白质和肽的增溶，以及变性，同时大大提高蛋白质的消化。表面活性剂和高温的结合大幅提高了蛋白质和肽的鉴定以及蛋白质序列的覆盖率。

特点：

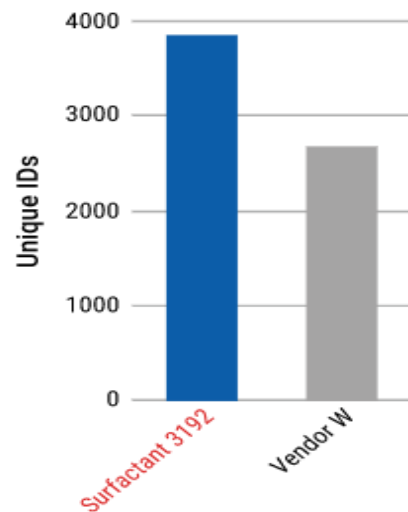
- 改善蛋白质的溶解和提取，特别是对大的疏水性蛋白质。
- 高温下胰蛋白酶促进蛋白质消化。
- 提高肽回收率。

[联系Promega获得更多信息](#)



上图：从猪肺组织种进行蛋白提取。

通过BCA测定显示，与其他提取试剂相比(如SDS)，SoluMAX Surfactant 提高了从肺组织种的蛋白提取。



上图：大肠杆菌 蛋白质组学研究中的多肽鉴定。

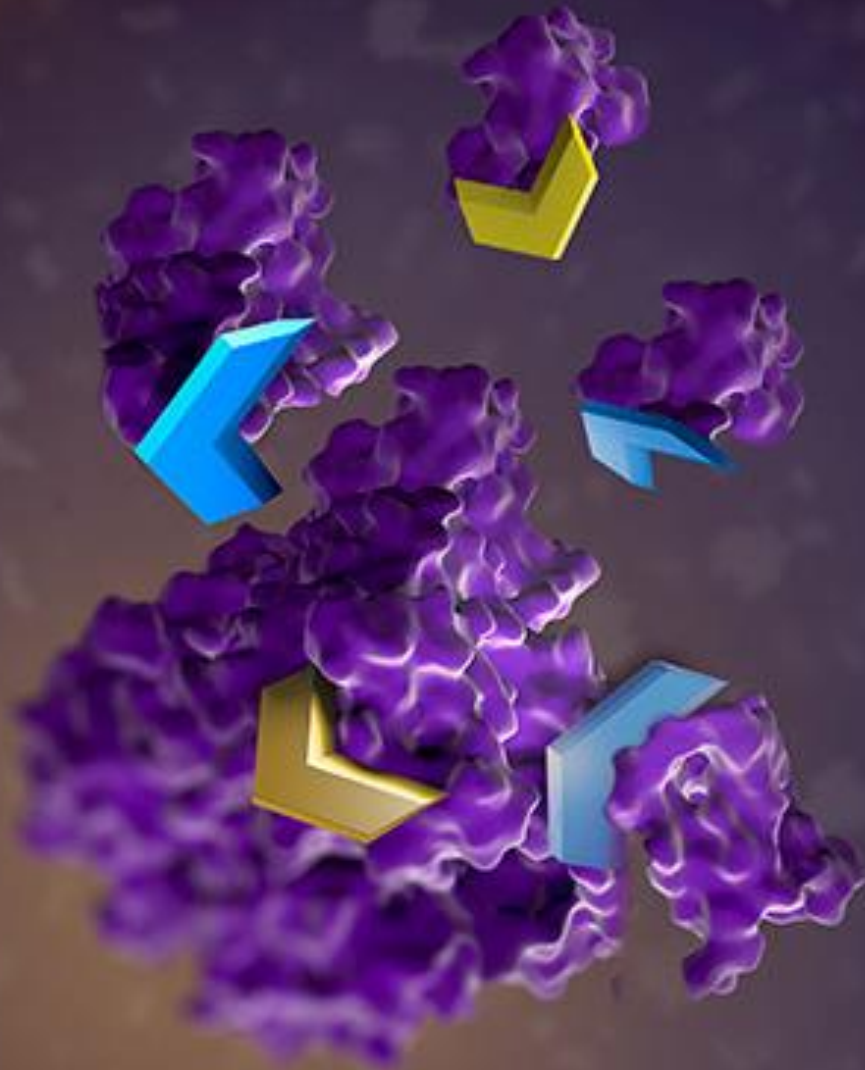
SoluMAX Surfactant和高温的组合显著提升蛋白质组学研究中多肽鉴定。

糖苷酶

Glycosidases

糖苷酶亦称糖苷水解酶（glycoside hydrolase）。是作用于各种糖苷或寡糖使糖苷键水解的酶之总称。用于确定蛋白质的糖基化状态，分析蛋白的糖链结构。例如抗体蛋白。糖苷内切酶如PNGase F和Endo H, 通常被用来去除N-糖基化蛋白中的碳水化合物。

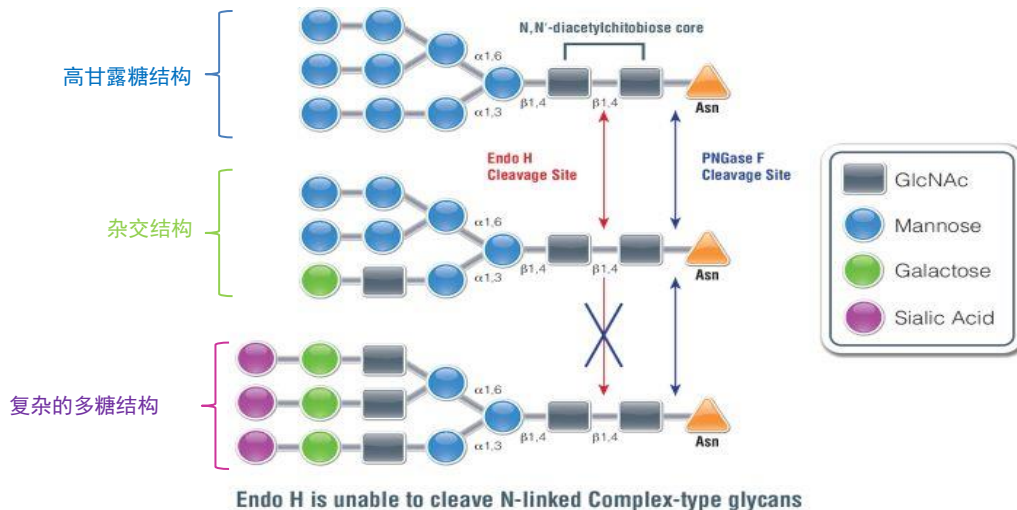
Promega研究蛋白质糖基化的产品包括PNGase F、糖苷内切酶H和胎球蛋白Fetuin。胎球蛋白是一种糖蛋白，可作为糖基化分析的阳性对照。



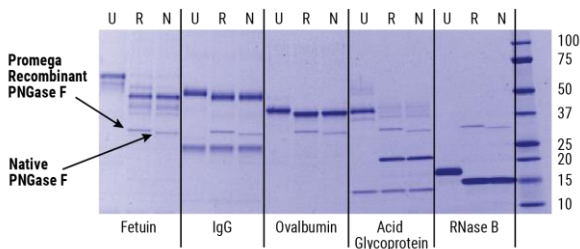
糖苷酶产品列表

中文名	产品名	规格	目录号	产品说明
肽 N- 糖苷酶 F	PNGase F	500u (10u/μl)	V4831	<ul style="list-style-type: none"> PNGase F是一个重组糖苷内切酶，可以在 N-连糖蛋白的高甘露糖、杂合和复合寡糖部分最内侧的 N- 乙酰葡萄糖胺 (GlcNAc) 和天冬酰胺残基之间进行切割 PNGase F 不会去除常见植物糖蛋白上含有核心α-(1,3)-岩藻糖连接的寡糖。 应用于蛋白糖基化的表征分析, 蛋白质糖基化位置的确定, 多糖结构的表征分析, 蛋白质转运。
糖苷内切酶H	Endo H	10,000u	V4871	<ul style="list-style-type: none"> 从Streptomyces plicatus中克隆,在大肠杆菌中过表达得到的重组糖苷酶。 Endo H能够对N-糖蛋白中的高甘露糖和某些杂合型寡聚糖的核心壳二糖核心进行切割, 而不切割复杂多糖。酶切反应切割寡糖二乙酰壳二糖核心的两个N-乙酰葡萄糖胺残基, 切割后保留天冬酰胺的一个N-乙酰葡萄糖胺残基。
		50,000u	V4875	
胎球蛋白	Fetuin	500μg (10mg/ml)	V4691	<ul style="list-style-type: none"> 一种糖蛋白, 可作为去糖基化底物对照物 用于PNGase F, EndoH的活性监测

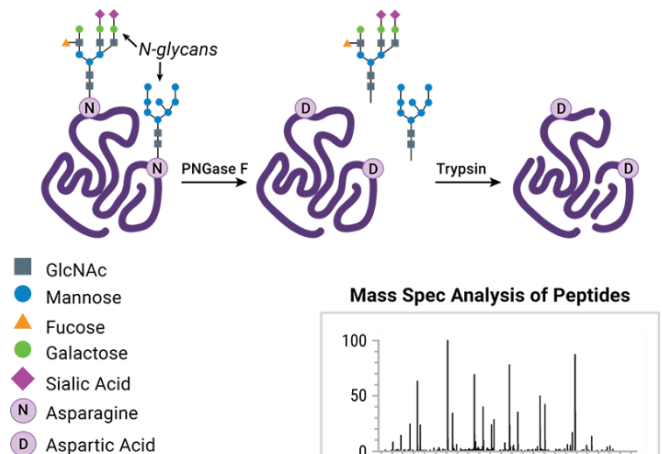
Endo H不能剪切N-连接复杂多糖



U: Untreated
R: Promega Recombinant PNGase F
N: Native PNGase F

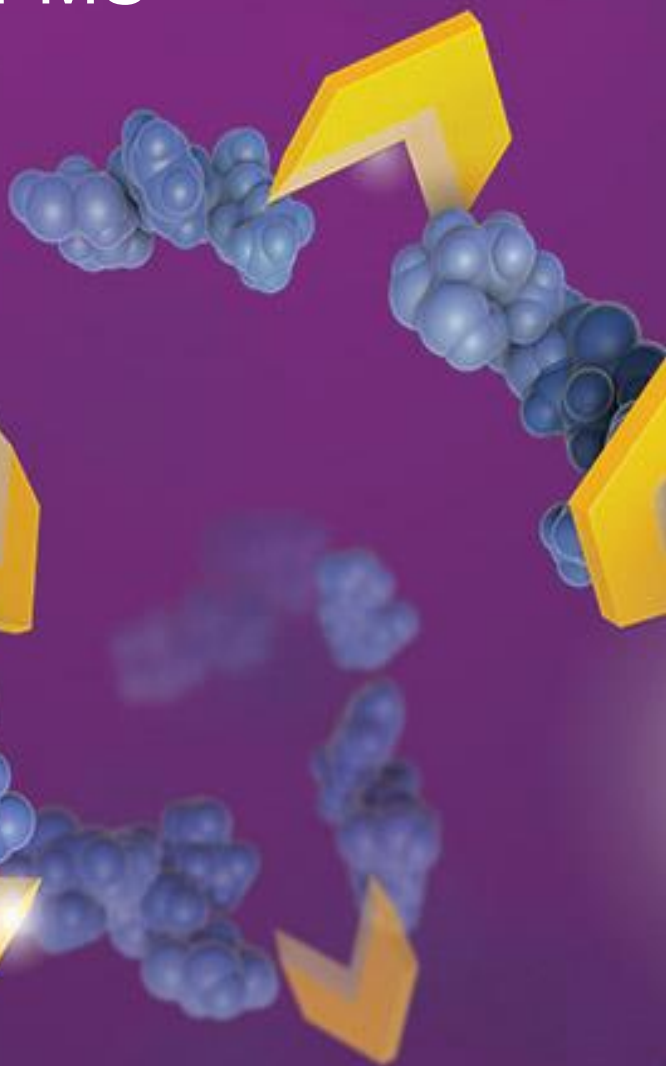


上图: 使用10u的Promega重组PNGase或天然PNGase处理20μg不同种类的变性的糖基化蛋白标准品, 37°C孵育1小时。SDS-PAGE显示去糖基化的凝胶迁移。



质谱分析标准参照试剂 Reference Reagent for MS

蛋白质组学研究用仪器性能的全面监测需要复杂的蛋白质参照物。而全细胞蛋白提取物就提供了所需的复杂性。Promega提供来源于酵母和人类细胞的质谱兼容的全细胞参照品蛋白提取物，该产品以预消化冻干形式提供，便于使用。对于MS仪器灵敏度和动态范围以及各种LC参数的常规报告，我们建议使用6x5 LC-MS/MS Peptide Reference Mix。该产品是30个肽的混合物：6组具有5个相同肽序列的同位素标记的肽组成，只是序列中稳定的重标记氨基酸的数量不同。在色谱上，每种同位素都是不可区分的；然而，由于它们在质量上的差异，它们可以被质谱法清晰地分辨出来。





6 × 5 LC-MS/MS Peptide Reference Mix

该产品是30个肽的混合物：6组具有5个相同肽序列的同位素标记的肽组成，只是序列中稳定的重标记氨基酸的数量不同。在色谱上，每种同位素都是不可区分的；然而，由于它们在质量上的差异，它们可以被质谱法清晰地分辨出来。

6 × 5 LC-MS/MS Peptide Reference Mix配合工具软件使用，可便捷地评估液相色谱柱功能和质谱仪器性能,包括灵敏度和线性范围。

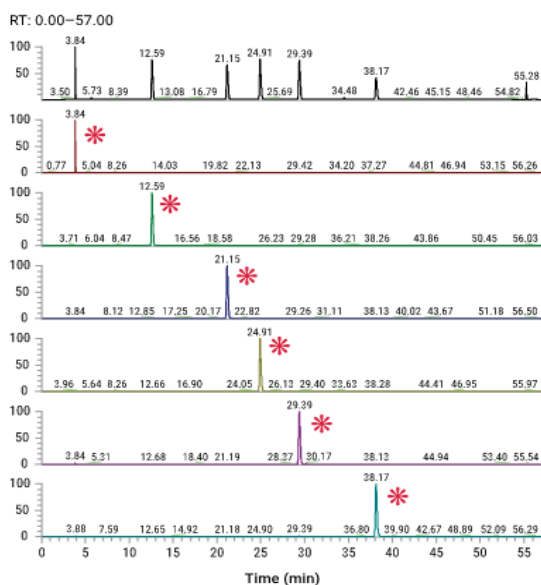
- 同位素标记为 ^{13}C 和 ^{15}N 原子。
- 同位素在色谱上无法区分，但由于其质量不同，在质谱上可区分。
- 每种肽的同位素以10倍梯度稀释形式提供。这个模式使仪器的线性范围和灵敏度评估成为可能。

6 × 5 LC-MS/MS Peptides经过了AAA分析认证，可用于精确监测并与多种应用兼容，单一样本或复杂的混合物。

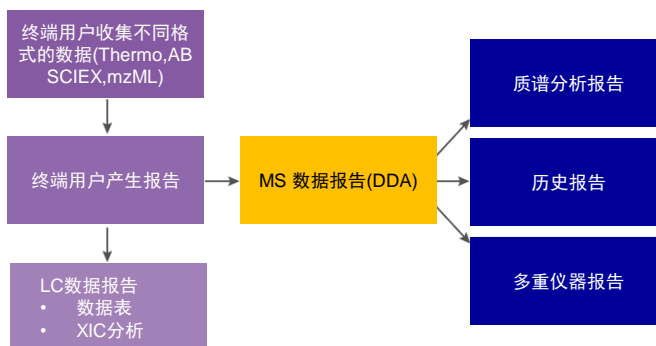
浏览下方一篇ACS *Analytical Chemistry* 杂志的文章，了解更多产品的应用信息: [Reagent for Evaluating Liquid Chromatography-Tandem Mass Spectrometry \(LC-MS/MS\) Performance in Bottom-Up Proteomic Experiments.](#)

产品列表

产品名	规格	目录号
6 × 5 LC-MS/MS Peptide Reference Mix	50 μl	V7491
	200pmol	V7495



PreMiS™ 软件的工作流程

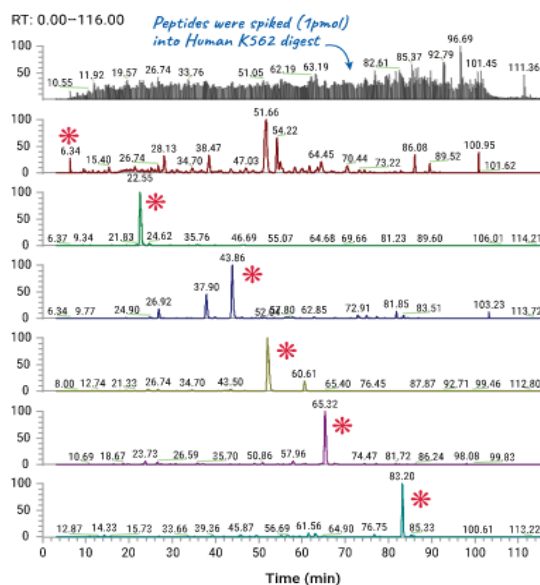


上图显示了使用6 × 5 LC-MS/MS Peptide Reference Mix和PreMiS™ 软件分析产生数据的标准 workflow。

PreMiS™ 软件分析可实现:

- 省去了耗时的手工计算时间。
- 确保仪器性能随着时间的推移保持一致。

[申请 PreMiS™ 软件](#)



上图：兼容纯品和复杂混合物

- 使用纯品模式进行标准仪器监测。
- 将肽混合物加入复杂样品（如人体细胞提取物）中，用相关实验样品监测仪器性能。上图数据显示了在纯样品和复杂混合样品中确定准确保留时间。使用Promega提供的PreMiS软件，在纯样本评估模式下（上样500fmol）和加入人K562细胞提取物（1pmol）时检测保留时间。

质谱兼容型酵母和人类蛋白质提取物

质谱兼容型酵母和人类蛋白质提取物是为质谱分析而特殊设计，酵母蛋白提取物适用于研究相对小规模和研究已经较为深入的蛋白质组，而人类蛋白质提取物适用于动态范围宽泛而且复杂的蛋白质组研究。每种蛋白提取物又分为预消化型和完整型两种形式：

- Digest型-预消化型提取物：被预消化并经固相萃取净化的蛋白提取物，用于液相色谱 / 质谱 (LC / MS) 分析。
- Intact型-完整型蛋白提取物：用于蛋白质谱样品制备的优化。

应用：通过对各种蛋白和肽类的定量和定性检测 (包括 LC/MS 和氨基酸分析法) 可以监控提取物的批次间稳定性。通过监测非特异性蛋白片段，非生物翻译后修饰等生产流程确保产品与反相液相色谱和质谱兼容。

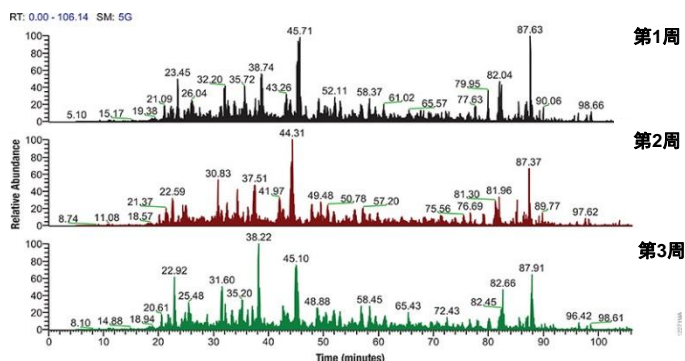
分类	分型	产品名	规格	目录号	应用
酵母蛋白提取物	预消化型	MS Compatible Yeast Protein Extract, Digest	100µg	V7461	适用于研究相对小规模和研究已经较为深入的蛋白质组。
	完整型	MS Compatible Yeast Protein Extract, Intact	1mg	V7341	
人蛋白提取物	预消化型	MS Compatible Human Protein Extract, Digest	100µg	V6951	适用于动态范围宽泛而且复杂的蛋白质组研究。
	完整型	MS Compatible Human Protein Extract, Intact	1mg	V6941	

LC-MS性能监测

Promega的蛋白提取物作为蛋白复合物参照物，可提供稳定一致的质谱保留时间、信号强度和其他关键的性能指标。

稳定的蛋白提取物质谱分析结果。

右图所示：每次使用1µg人蛋白提取物(预消化型)注射入仪器。肽段经过2小时的梯度分解。每周监测提取物所确认的仪器性能。



可靠的可重复性的数据

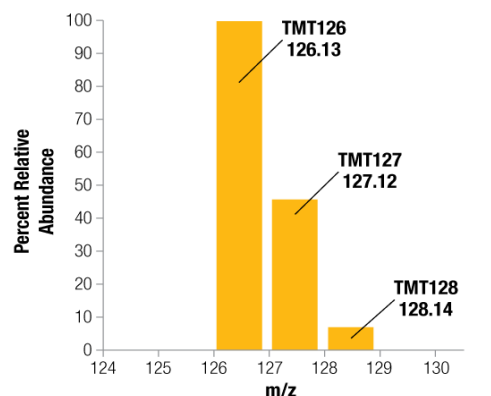
提取物的批次间稳定性是通过各种蛋白和肽的定性定量方法来监测，包括LC-MS和氨基酸分析。我们的生产流程通过监测非特异性蛋白片段，非生物性翻译后修饰和对于消化型提取物的最小化非消化肽段来确保产品与LC-MS的兼容性。

下图：MS Compatible Human Protein Extract, Digest的QC质控指标

	Promega MS Compatible Human Protein Extract, Digest	其他公司产品 HeLa Protein Digest Standard
非生物学翻译后修饰	脱酰胺:<12%	未测试
	氧化:<5%	氧化<10%
	氮甲酰化:<5%	氮甲酰化<10%
漏切(Missed Cleavages)	<10%	<10%
肽段质量	以氨基酸分析来检测，定量样本中每个氨基酸的量	A ₂₈₀
	蛋白片段化:1% or less	未测试
	匹配度:>65%	未测试
批次间一致性	≥12,462 unique peptides	LC-MS色谱图符合参考文献
	总蛋白≥1805	
	蛋白鉴定>85%的1194人类核心肽段	肽谱面积与参照物比=0.75-1.125
	通过10种参考蛋白的相对丰度来监测蛋白量的可重复性	未测试

方法学建立的模型系统

Promega的蛋白提取物产品可以提供用于建立和优化不同样本提取方法的理想模型系统，包括同位素标记和富集。

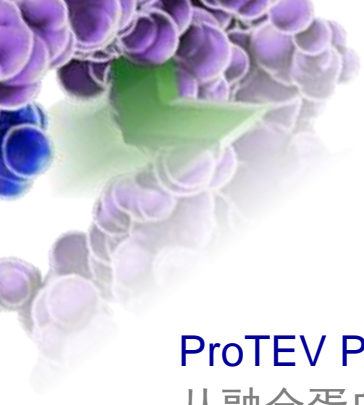


上图：同位素标记方法建立举例。3份人K562细胞预消化蛋白提取物分别以3个不同的TMT同位素标签标记(TMT126, TMT127 和TMT128)并以10:5:1的比例混合。同位素标签之间的相对定量比例以质谱检测。数据显示，预期的与实际的蛋白定量比例之间有良好的相关性。

相关产品

Related Products

- 其他应用蛋白酶
- 异天冬氨酸检测 (HPLC检测)



其他蛋白酶

ProTEV Plus蛋白酶 从融合蛋白中切除亲和标签

ProTEV Plus 是来自烟草蚀纹病毒 (TEV) 的 Nla 蛋白酶进行基因工程改造后的 48kD 蛋白酶，比天然的 TEV 蛋白酶酶活更长从而更稳定。它是一个高度特异的蛋白水解酶，在一个七氨基酸序列内部进行切割 (ENLYFQ(G/S))。ProTEV Plus 在宽广的 pH (5.5-8.5) 和温度 (4-30 °C) 范围内均有活性。可在理想的切割位点对改造后含有上述七氨基酸序列的融合蛋白进行切割。该酶在溶液中和柱上均可使用。ProTEV Plus 蛋白的 N 末端还具有 1 个 HQ 标签 (类似于 His 标签)，使其可固定在 Ni 亲和树脂上，并可从切割反应中去除。

应用:

- 在蛋白纯化后，从融合蛋白中切除亲和标签
- 在感兴趣的融合蛋白进行蛋白纯化/表达时，移除 HaloTag® 蛋白

产品名	规格	目录号
ProTEV Plus	1000u	V6101
	8000u	V6102

特点:

- **在宽广的 pH 和温度范围内都有活性:** 用最适条件切割每个融合蛋白，从而使其保持活力和正确构型。
- **HQ 标签:** 切割反应后，可使用基于镍的亲树脂来方便地去除 ProTEV Plus。
- **在溶液中直接切割融合蛋白或用亲和树脂固定:** ProTEV Plus 在多种实验中都很方便易用。

Factor Xa 蛋白酶

Factor Xa Protease (Xa 因子蛋白酶) 从小牛血浆中纯化得到，经过 Russell 蛇毒来源的酶激活处理。Xa 因子蛋白酶的切割识别位点是 Ile-Glu-Gly-Arg 的羧基末端。

应用: 切割含有 Factor Xa 蛋白酶位点的蛋白和融合蛋白。

产品名	规格	目录号
Factor Xa Protease	50µg	V5581

HPLC应用

异天冬氨酸检测

ISOQUANT® Isoaspartate Detection Kit (ISOQUANT® 异天冬氨酸检测试剂盒) 用于定量检测蛋白及多肽中异天冬氨酸残留，如单克隆抗体。这种残留可来源于天冬酰胺逐步的非酶化的脱酰胺作用，或者天冬氨酸残留物在储存或处理过程中发生重排。由于本试剂盒不是对电荷的改变量进行监测，因此电荷的不均一性不会影响分析。

中文名	产品名	规格	目录号
ISOQUANT® 异天冬氨酸检测试剂盒	ISOQUANT® Isoaspartate Detection Kit	100 assays	MA1010

特点:

- **高效:** 程序简单，反应在1小时内可完成。可使用HPLC进行自动样本处理。

样品准备

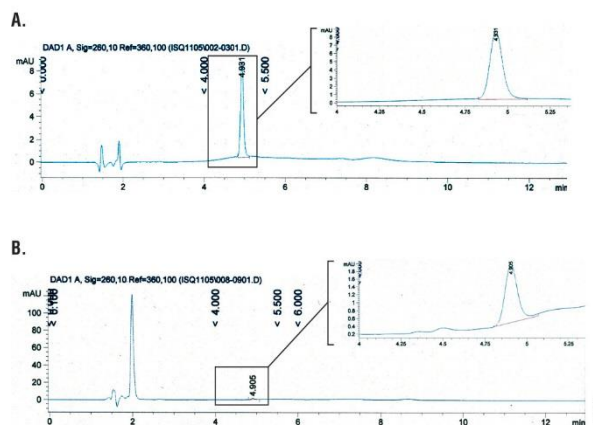
ISOQUANT®
异天冬氨酸检测

RP HPLC分析

- **经济:** HPLC检测，既节省成本，又免除了对放射性原料处理的麻烦。
- **易分析:** 能够提供定量结果。
- **用途广泛:** 既可单样本处理，也可批量处理。小型样本使分析结果适用于分析研究的方法、试剂配方及流程的改进工作。
- **稳定:** 不受缓冲液成分的影响。
- **HPLC检测方法:** 适用于现有的仪器与技术。
- **灵敏:** 检测由于天冬氨酸重排及脱酰胺作用产生的异天冬氨酸。

应用文献

- Isoaspartate-glycine-arginine: A new tumor vasculature-targeting motif. 2008 *Cancer Res.* **68**, 7073–82.
- Accumulation of proteins bearing atypical isoaspartyl residues in livers of alcohol-fed rats is prevented by betaine administration: effects on protein-L-isoaspartyl methyltransferase activity. 2007 *J. Hepatol.* **46**, 1119–25.
- Identification of deamidation and isomerization sites on pharmaceutical recombinant antibody using H₂¹⁸O. 2007 *Anal. Biochem.* **368**, 49–60.
- Proteomic identification of novel substrates of a protein isoaspartyl methyltransferase repair enzyme. 2006 *J. Biol. Chem.* **281**, 32619–29.



上图. SAH 标准品和Isoasp-DSIP 参照物反应的RP-HPLC 色谱图

图 A. 50pmol SAH标准品.

图 B. 10pmol Isoasp-DSIP 参照物。根据标准操作流程制备和RP-HPLC分析样本。样本以1ml/min的速度自动注入仪器。以10% HPLC级流动相B洗脱，再以30% 流动相B洗脱，然后再注射下一个样本前以10%流动相B平衡柱子。色谱图显示260nm处有峰。

www.promega.com.cn/products/mass-spectrometry/



关注Promega微信公众号



价格查询



中文说明书



实验工具



技术资料



市场活动



经销商信息

Promega (Beijing) Biotech Co., Ltd
普洛麦格(北京)生物技术有限公司

地址: 北京市东城区北三环东路36号环球贸易中心B座907-909

电话: 010-58256268

网址: www.promega.com

微网站: wechat.promega.com.cn

技术支持电话: 400 810 8133(手机拨打)

技术支持邮箱: chinatechserv@promega.com