Promega

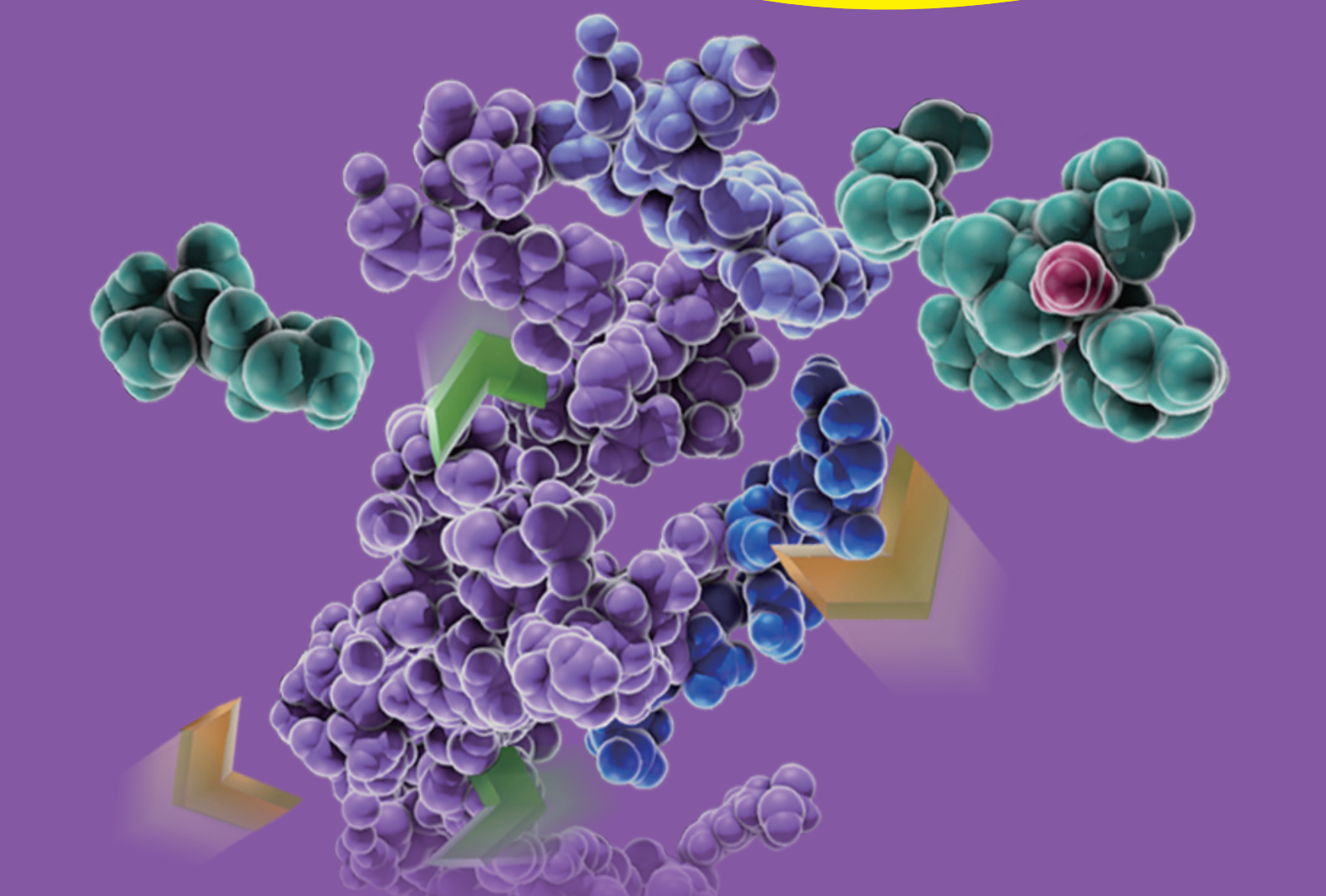
肽谱分析用蛋白酶类产品

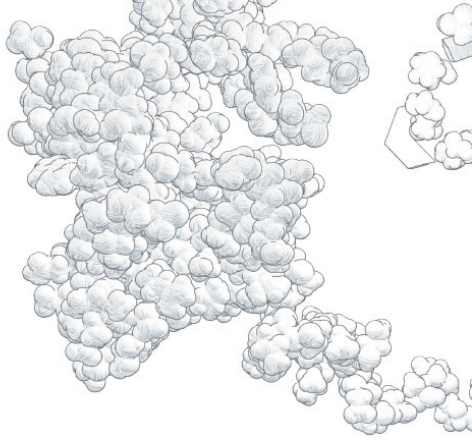
Trypsin and Alternative Proteases for Peptide Mapping

胰蛋白酶
Trypsin

可替代蛋白酶
Alternative Proteases

表面活性剂
Surfactant





胰蛋白酶 Trypsin.....P3

是质谱样品制备中应用最广泛的蛋白酶。是一种高度特异的丝氨酸蛋白酶，在赖氨酸和精氨酸残基的羧基端切割。用胰蛋白酶消化蛋白质产生最佳大小的肽段，用于质谱分析。胰蛋白酶消化产生的肽具有很强的羧基端电荷，因此可以有效地电离。胰蛋白酶可用于蛋白质的胶内或溶液消化。消化后，所得肽段可以通过肽质谱指纹图谱或串联质谱（MS/MS）进行鉴定。这种方法被称为“自下而上”蛋白质组学，利用肽水平的鉴定来检测和表征蛋白质。胰蛋白酶的严格特异性是质谱鉴定蛋白质的关键。Promega 的高质量胰蛋白酶包括来源于猪胰蛋白酶和重组型胰蛋白酶，后者特异性水解活性更好，自水解更低，且不含动物源性蛋白污染。更多内容见 P3 页。

可替代蛋白酶 Alternative Proteases.....P6

在某些蛋白质和蛋白质混合物中，胰蛋白酶单独消化不够有效。实例包括膜蛋白的消化和组蛋白翻译后修饰 (PTMs) 的分析。某些蛋白经胰蛋白酶消化产生的肽段对于质谱分析来说太小或太大。在这些情况下，替代蛋白酶单独或与胰蛋白酶组合提供了可行的解决方案。更多内容见 P6 页。

表面活性剂 Surfactant.....P10

不完全溶解和消化以及肽回收率差是质谱（MS）分析蛋白质样品制备中的常见问题。SDS 或尿素等洗涤剂可以改善蛋白质的增溶和变性，然而，它们与 MS 仪器不兼容！如果在最终消化物中以大于 1% 的浓度存在，则会抑制蛋白酶如胰蛋白酶的活性。在质谱分析之前，需要稀释或去除这些成分，更好的解决方案是可以使用质谱兼容的表面活性剂。Promega 的热不稳定性表面活性剂 ProteaseMax™，可与胰蛋白酶、糜蛋白酶和 Lys-C 等合用，能显著改善凝胶内和溶液中的蛋白质酶解和肽回收，同时避免常见增溶剂的负面影响。更多内容见 P10 页。

常规肽谱样本处理产品选择指导

实验需求 Needs	常规蛋白样本分析长度为 7–20 个氨基酸的肽段分析	胰蛋白酶酶解的肽对于质谱分析来说太小或太大	快速酶切 60-120 分钟完成	低 pH 条件下酶解生物治疗用蛋白质以减少人为 PTM 使分析更准确可重复	解决蛋白酶消化后的溶解不完全以及肽回收率差
推荐产品 Products	**常规胰酶** • Trypsin Platinum • Trypsin Gold • Sequencing Grade Trypsin	**可替代蛋白酶或混合酶** • ProAlanase • Lys-C • Arg-C • Asp-N • rChymoSelect™ • Chymotrypsin • Elastase • Pepsin • Trypsin/Lys-C	**快速酶切试剂盒** • Rapid Trypsin • Rapid Trypsin/Lys-C	**低 pH 蛋白酶** • AccuMAP™ Low pH Protein Digestion Kit	**表面活性剂** • ProteaseMAX™ Surfactant
使用注意事项 Notes	• 按照说明书自行配制反应缓冲液	• 按照说明书自行配制反应缓冲液	• 使用试剂盒中的反应 buffer 即可，无需另行配置反应缓冲液	• 为多组分的试剂盒 • Trypsin 和 Lys-C 独立提供 • 提供反应缓冲液	• 与蛋白酶一起使用 • 有部分可替代蛋白酶不适用

Promega 可提供多种形式的高质量胰蛋白酶，包括来源于猪胰腺的天然胰蛋白酶和重组型胰蛋白酶。天然胰蛋白酶经过修饰后具有更高的蛋白水解活性和切割特异性，而最新发布的重组型胰蛋白酶 Trypsin Platinum，特异性水解活性更好，自水解更低，且不含动物源性蛋白污染。您可根据实验需求，在 Promega 提供的胰酶工具中找到符合自己实验需要的试剂和方法。

胰蛋白酶相关产品性能比较表

性能突出 ●　　具有功能 √

	胰酶产品				胰酶与其他蛋白酶混合产品		
产品名称	Sequencing Grade Trypsin	Trypsin Gold	Trypsin Platinum	Rapid Digeston Kit–Trypsin	Trypsin/Lys-C Mix,Mass Spec Grade	Rapid Digeston Kit-Trypsin/ Lys-C	AccuMAP™Low pH Protein Digestion Kit
目录号及规格	V5111 (5×20µg) V5117 (1×100µg) V5113 (5×20µg)	V5280(100µg)	VA9000 (100µg)	VA1060 (100µg)	V5071 (20µg) V5072 (100µg) V5073 (5×20µg)	VA1061 (100µg)	VA1040 (10 rxns) VA1050 (100 rxns)
亮点	常规蛋白消化 提供冻干粉和冻溶液两种产品模式性价高	高纯度 高活性	更高的蛋白水解效率，不含动物源性污染蛋白 抗体表征推荐	快速酶切 60-120 分钟完成 高通量 / 自动化	增强的切割效率 对抑制剂耐受	快速酶切 60-120 分钟完成 高通量 / 自动化	低 pH 反应 抗体表征推荐
切割特异性	√	√	●	√	√	√	√
消化效率	√	√	√	√	●	●	√
自水解抵抗	√	√	●	√	√	√	√
纯度	√	●	●	√	√	√	√
消化速度				●		●	
对抑制剂的耐受性					●	●	
应用	胶内或溶液内消化蛋白质组学	蛋白质组学	生物治疗蛋白的肽谱分析 抗体表征	蛋白组学和可定量的研究	蛋白组学和可定量的研究 难分析的目的蛋白	蛋白组学和可定量的研究	生物治疗蛋白的肽谱分析 抗体表征
产品性质	V5111 和 V5117 为冻干粉 V5113 为冻溶液	冻干粉	冻干粉	冻干粉	冻干粉	冻干粉	冻溶液

胰蛋白酶产品特性和反应条件指南（Part1）

产品名称	• **Trypsin Gold, Mass Spectrometry Grade** • **Sequencing Grade Modified Trypsin** • **Sequencing Grade Modified Trypsin, Frozen**	**Trypsin Platinum, Mass Spectrometry Grade**	**Rapid Digestion Kit-Trypsin**
目录号与规格	V5280（100µg） V5111（5×20µg） V5117（100µg） V5113（5×20µg）	VA9000（100µg）	VA1060（100µg）
来源	猪胰腺	重组型胰酶	猪胰腺
酶切位点	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		
蛋白酶：蛋白比 (w/w)	1:20 到 1:100	1:10	1:10
消化的 pH 范围	pH 7-9	pH 7-9	使用试剂盒缓冲液，根据说明书操作
反应条件	50-100mM Tris-HCl (pH 8) 或 50-100mM NH_4HCO_3 (pH 7.8)，37℃过夜消化。	500mM Tris-HCl，37℃过夜消化。	使用试剂盒缓冲液，根据说明书操作
胶内消化兼容性	可以	可以	不推荐
ProteaseMAX™ 去污剂兼容性	兼容	兼容	不兼容
说明	所有天然来源的 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（1-2M 尿素或 0.1% SDS）。在 2M 盐酸胍中保留 48% 的活性。	用于质谱和反相高效液相色谱紫外检测（RPHPLC-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。具有较高的蛋白水解效率，不含动物源性蛋白污染。	可快速消化的胰酶，试剂盒中提供专为快速消化优化的 Buffer，可耐受在 70℃下反应，消化时间可缩短至 60 分钟。
产品组分	**V5280** • Trypsin Gold, Mass Spectrometry Grade **V5111/V5117** • Sequencing Grade Modified Trypsin • Trypsin Resuspension Dilution Buffer **V5113** • Sequencing Grade Modified Trypsin, Frozen • Trypsin Resuspension Dilution Buffer	Trypsin Platinum, Mass Spec Grade	• Rapid Trypsin Gold, MS Grade • Resuspension Buffer • Rapid Digest Buffer

胰蛋白酶产品特性和反应条件指南（Part2）

产品名称	Trypsin/Lys-C Mix Mass Spec Grade	Rapid Digeston Kit-Trypsin/ Lys-C	AccuMAP™ Low pH Protein Digestion Kit
目录号与规格	V5071 (20µg) V5072 (100µg) V5073 (5×20µg)	VA1061 (100µg)	VA1040 (10 reactions) VA1050 (100 reactions)
来源	Trypsin 和重组 Lys-C 预混合物		为包含 Trypsin 和重组 rLys-C 的多组分试剂盒
酶切位点	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。		Trypsin 和 LysC 的对应酶切位点
蛋白酶：蛋白比 (w/w)	1:25 到 1:50	1:5	根据样品情况，遵循说明书对应的建议条件
消化的 pH 范围	pH 8	使用试剂盒缓冲液，根据说明书流程操作	使用试剂盒缓冲液，根据说明书流程操作
反应条件	50-100mM Tris-HCl (pH 8) 或 50-100mM NH_4HCO_3 (pH 7.8)，37℃过夜消化。	使用试剂盒缓冲液，根据说明书流程操作	使用试剂盒缓冲液，根据说明书流程操作
胶内消化兼容性	可以	不推荐	未测试
ProteaseMAX™ 去污剂兼容性	未测试	不兼容	不兼容
说明	Trypsin 与 rLys-C 的预混合物；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。	快速酶切，60-120 分钟完成。Trypsin 和 Lys-C 以专有的优化比例混合制成，为预混合物。具有增强的胰蛋白酶消化，更高效的 Lys 位点切割，可减少标准胰酶水解反应中的漏切情况。	可用于 LC/MS 或 UV-HPLC 肽谱分析时更准确可重复地对生物治疗用的蛋白质进行表征分析的试剂盒。整个样品制备过程在低（温和酸性）pH 条件下进行，以抑制人工脱酰胺和二硫键紊乱。试剂盒提供独立的 Trypsin 和 rLys-C 溶液，可根据需求混合使用或单独使用。还包含用于在样品制备过程中抑制蛋白质氧化的可选试剂。
产品组分	• Trypsin/Lys-C Mix, Mass Spec Grade • Resuspension Buffer	• Rapid Trypsin/Lys-C Mix, MS Grade • Resuspension Buffer • Rapid Digest Buffer	• AccuMAP™ Modified Trypsin Solution • AccuMAP™ Low pH Resistant rLys-C Solution • AccuMAP™ Denaturing Solution • AccuMAP™ 10X Low pH Reaction Buffer • AccuMAP™ 100X Oxidation Suppressant • TCEP (Tris(2-carboxyethyl)phosphine), solid • NEM (N-Ethylmaleimide), solid • IAM(Iodoacetamide), solid

可替代蛋白酶和对应切割位点

蛋白酶	切割位点	pH 范围	应用
Lys-C 和 rLys-C 特异性蛋白酶	NNNNK ⌄ NNN (K 是 lysine)	7.0-9.0	消化膜蛋白和其他蛋白水解抗性蛋白；产生比胰蛋白酶更大的肽，这在某些质谱方法（例如 ETD）中属于优势。
Arg-C 特异性蛋白酶	NNNNR ⌄ NNN (R 是 arginine) Arg-C 也可以在较小程度上切割赖氨酸。	7.6-7.9	促进组蛋白翻译后修饰的分析；用于蛋白质组分析。
Glu-C 特异性蛋白酶	NNNNE ⌄ NNN (E 是 glutamate) Glu-C 也可以在较小程度上切割天冬氨酸残基。	4.0-9.0	如果胰蛋白酶产生的肽太短或太长，或者胰蛋白酶切割位点不可接近，则用作胰蛋白酶的替代品。
Asp-N 和 rAsp-N 特异性蛋白酶	NNNN ⌄ DNNN (D 是 aspartate)	4.0-9.0	与 Glu-C 类似。
ProAlanase 特异性蛋白酶	NNNP ⌄ NNN (P 是 proline) NNNA ⌄ NNN (A 是 alanine)	1.5-5.5	可在蛋白质组中独特的，非带电的位点上裂解，可进行古蛋白质组学，磷酸化谱，二硫键图谱、从头测序、HDX-MS 等应用。
rChymoSelect™ MS Grade Protease 特异性蛋白酶	NNNN(F/Y/L) ⌄ NNN (F、Y、L 分别为苯丙氨酸、酪氨酸和亮氨酸) 也可较低程度地切割甲硫氨酸（M）残基的羧基端；	7.5	用于生物治疗蛋白的肽谱分析和色氨酸氧化分析；与胰蛋白酶消化互补，提高序列覆盖率。
Chymotrypsin 低特异性蛋白酶	NNNN(F/Y/W) ⌄ NNN (F, Y 和 W 是芳香残基苯丙氨酸、酪氨酸和色氨酸）	7.0-9.0	消化疏水蛋白（例如膜蛋白）。
Pepsin 非特异性蛋白酶	非特异性蛋白酶 (优势：在低 pH 下最活跃)	1.0-3.0	用于结构蛋白研究和抗体分析；消化抗蛋白水解、紧密折叠的蛋白质
Elastase 非特异性蛋白酶	非特异性蛋白酶	9.0	用于增加蛋白质覆盖率。

特异性替代蛋白酶的特性和反应条件

Characteristics and Reaction Conditions for Specific Alternative Proteases

酶分类	特异性替代蛋白酶 Specific Alternative Protease			
蛋白酶	**ProAlanase (Mass Spec Grade)**	**rLys-C, Mass Spec Grade**	**Lys-C, Mass Spec Grade**	**Arg-C, Sequencing Grade**
目录号与规格	VA2161 (5µg) VA2171 (15µg)	V1671 (15µg)	VA1170 (20µg)	V1881 (10µg)
来源	*Aspergillus niger*	*Pseudomonas aeruginosa* , 重组酶在 E.coli 中表达	*Lysobacter enzymogenes*	*Clostridium histolyticum*
酶切位点	主要切割脯氨酸和丙氨酸残基的羧基端	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，则不切割，天冬氨酸或谷氨酸在赖氨酸羧基端切割会受到抑制。VA1170 相同。	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。	精氨酸的羧基端。也可在赖氨酸残基位点切割，但效率较低。
蛋白酶：蛋白比 (w/w)	1:10 到 1:500	1:20 到 1:50	1:20 到 1:100	1:20 到 1:350
消化的 pH 范围	pH 1.0 到 5.5	pH 8-9	pH 7-9	pH 7.6-7.9
反应条件	建议的起始条件：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), pH 1.5, 37℃消化不超过 2 小时	50-100mM Tris-HCl (pH 8) 或 50mM NH_4HCO_3 (pH 7.8)。37℃消化 2-18 小时。	50-100mM Tris-HCl (pH 8) 或 50mM NH_4HCO_3 (pH 7.8). 37℃消化 2-18 小时。	50mM Tris-HCl (pH 7.6-7.9), 5mM $CaCl_2$, 2mM EDTA, >2mM DTT。37℃消化 2-18 小时。
胶内消化	可以	可以	未测试	可以
ProteaseMAX™ 去污剂兼容性	不兼容	兼容	未测试	兼容
其他信息	甲酸和 TFA 不会抑制 ProAlanase。可使用以下方法之一来终止反应：1) 在 90–95℃ 加热 10 分钟使酶失活。2) 使用 C18 枪头去除酶。以推荐的反应条件为出发点，如需条件优化，可集中于下面这些方面：消化时间，酶与底物的比例以及 pH 值。ProAlanase 可在 2–10℃保存 2 个月，长期保存需在 -10℃或更低温度保存，不要冻融超过 5 次以上。	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。	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。	用于组蛋白修饰的分析。需要 DTT，半胱氨酸或其他还原剂和 $CaCl_2$。
产品组分	ProAlanase, Mass Spec Grade	• rLys-C, Mass Spec Grade • Resuspension Buffer	Lys-C, Mass Spec Grade	Arg-C, Sequencing Grade

特异性替代蛋白酶的特性和反应条件
Characteristics and Reaction Conditions for Specific Alternative Proteases

酶分类	特异性替代蛋白酶 Specific Alternative Protease			
蛋白酶	**Asp-N**	**rAsp-N**	**Glu-C**	**rChymoSelect™**
目录号与规格	V1621 (2µg)	VA1160 (10µg)	V1651 (5 × 10µg)	VB8100（25µg） VB8200（100µg）
来源	*Pseudomonas fragi*	*Stenotrophomonas maltophilia*	*Staphylococcus aureus V8*	*重组蛋白酶，在毕赤酵母 (Pichia pastoris) 中表达*
酶切位点	天冬氨酸残基 (Asp) 和谷氨酸残基 (Glu) N 末端的肽键。	天冬氨酸残基 (Asp) 和谷氨酸残基 (Glu) N 末端的肽键。	天冬氨酸及谷氨酸残基的羧基端肽键。	选择性切割酪氨酸 (Tyr)、苯丙氨酸 (Phe) 和亮氨酸 (Leu) 残基的羧基端，也可较低程度地切割甲硫氨酸 (Met) 残基的羧基端
蛋白酶：蛋白比 (w/w)	1:20 到 1:200	1:10 到 1:100	1:20 到 1:200	1:20 到 1:40
消化的 pH 范围	pH 4-9	pH 6-9	pH 4-9	推荐 pH 7.5
反应条件	50mM Tris-HCl (pH 8)，37℃消化 2-18 小时。	50mM Tris (pH 8.0)，37℃ 消化 60 分钟。	100mM NH_4HCO_3 (pH 7.8), 50-100 mM Tris-HCl (pH 8)。37℃消化 2-18 小时。	50mM HEPES 或 Tris-HCl (pH 7.5)，0.8M GuHCl，25℃消化 2 小时。
胶内消化	可以	未测试	可以	未测试
ProteaseMAX™ 去污剂兼容性	兼容	未测试	兼容	未测试
其他信息	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%）、乙二胺四乙酸（高达 2mM）,DTT 或 ß- 巯基乙醇存在下保留 100% 的活性	天然 Asp-N 蛋白酶的高性价比替代品。提供更容易更方便地重悬的分装包装。可作为胰蛋白酶的替代品，以实现更好的切割位点分布。	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。在碳酸氢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。	具有较高的切割特异性和抗自水解能力，无胰蛋白酶污染，维持稳定性无需添加钙离子。可与胰蛋白酶消化互补，用于生物治疗蛋白的肽谱分析及色氨酸氧化分析。
产品组分	Asp-N, Sequencing Grade	rAsp-N, Mass Spec Grade	Glu-C, Sequencing Grade	rChymoSelect™ MS Grade Protease (lyophilized)

非特异性替代蛋白酶的特性和反应条件

Characteristics and Reaction Conditions for Non-Specific Alternative Proteases

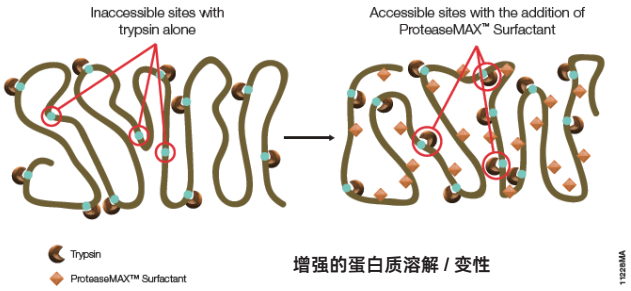
酶分类	低特异性替代蛋白酶 Low Specific Alternative Proteases	非特异性蛋白酶 Non-Specific Proteases	
蛋白酶	**Chymotrypsin**	**Elastase**	**Pepsin**
目录号与规格	V1061 (25µg) V1062 (4×25µg)	V1891（5mg）	V1959（250mg）
来源与大小	牛胰腺	猪胰腺	猪胃
酶切位点	优先水解芳香族氨基酸（酪氨酸、苯丙氨酸和色氨酸）的羧基端。	优先在丙氨酸、缬氨酸、丝氨酸、甘氨酸、亮氨酸或异亮氨酸的羧基端进行剪切	优先在苯丙氨酸、亮氨酸、酪氨酸和色氨酸的羧基端进行水解
蛋白酶：蛋白比 (w/w)	1:20 到 1:200	1:20 到 1:100	1:20 到 1:100
消化的 pH 范围	pH 7-9	pH 9	pH 1-3
反应条件	100mM Tris-HCl (pH 8.0) 10 mM $CaCl_2$，25℃消化 2-18 小时。	50mM Tris-HCl (pH 8.5-9.5)。37℃消化 2-18 小时。	0.04N HCl，37℃消化 1-18 小时。
胶内消化	可以	不可用	不可用
ProteaseMAX™ 去污剂兼容性	兼容	不兼容	不兼容
其他信息	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（高达 0.025%）存在下，活性没有降低。	用作胰蛋白酶的替代品，以增加蛋白质的覆盖率。	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。
产品组分	Chymotrypsin, Sequencing Grade	Elastase	Pepsin

Trypsin 消化增强剂

ProteaseMAX™ Surfactant，Trypsin Enhancer

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

ProteaseMAX™ 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)。



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

应用

胶内蛋白消化
- 改善蛋白鉴定
- 改善流程

从细胞和组织中进行蛋白提取
- 更高的蛋白得率
- 改善的膜蛋白复性

蛋白可溶性
- 沉淀蛋白的有效再溶解
- 疏水蛋白的溶解

紧密折叠蛋白质的高效消化
- 变性蛋白质以改善蛋白酶的可及性

细胞裂解 / 提取方法效果比较

ProteaseMAX™ 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。ProteaseMAX™ 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。

细胞裂解 / 提取缓冲液	肽数量	蛋白数量
尿素	17,024±148	3,326±20
脱氧胆酸钠 (SDC)	22,171±403	3,698±18
ProteaseMAX™ 表面活性剂	29,884±228	4,465±100
ProteaseMAX™ 表面活性剂和细胞碎片 *	33,098±283	4,655±51

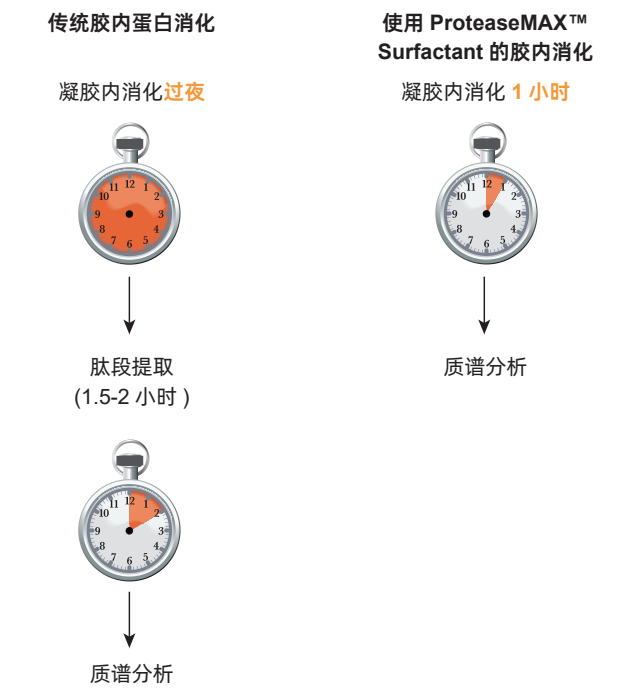
* 胰蛋白酶消化步骤中包含细胞碎片

凝胶内蛋白消化

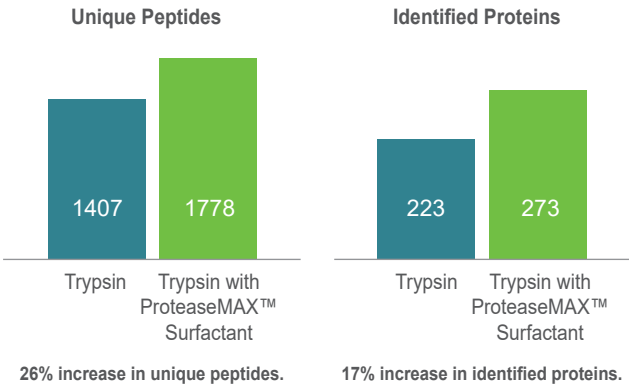
是 ProteaseMAX™ 表面活性剂的主要应用。胰蛋白酶和 ProteaseMAX™ 表面活性剂 (终浓度 0.01 %) 添加到含有目的蛋白带的凝胶切片中。消化液在 50℃下孵育 1 小时。ProteaseMAX™ 还提高了在标准提取方案下保留在凝胶中的较长肽的回收率。ProteaseMAX™ 溶解包括难酶解蛋白 (如膜蛋白) 在内的蛋白，并通过提供变性环境增强溶液中蛋白的消化。对于细胞质蛋白，添加 ProteaseMAX™ 至最终浓度为 0.03%；对于膜蛋白，添加至最终浓度 0.05 %。

右图：对于凝胶内消化，完整的蛋白质消化和肽提取可在一小时内完成。ProteaseMAX™ 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。

简化凝胶消化程序



ProteaseMAX™ 促进胶内蛋白消化



左图：ProteaseMAX™ 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。

应用文献 Citations

- Saveliev, S. (2013) Mass spectrometry compatible surfactant for optimized in-gel protein digestion. Anal. Chem. 85(2) 907-14.
- Pirmoradian, M. et al. (2013) Rapid and deep human proteome analysis by single-dimension shotgun proteomics. Mol. Cell Prot. 12(11), 3330-38.
- Kalashnikova, A. et al. (2013) Linker histone H1.0 interacts with an extensive network of proteins found in the nucleolus. Nucl. Acids. Res. 41(7), 4026-35.
- Silva, C. et al. (2013) Interaction of Mycobacterium leprae with human airway epithelial cells: adherence, entry, survival, and identification of potential adhesins by surface proteome analysis. Infect. Immun. 81(7), 2645-59.
- Pearson, R. et al. (2013) Regulation of H_2O_2 stressresponsive genes through a novel transcription factor in the protozoan pathogen Entamoeba histolytica. J. Biol. Chem. 288(6), 4462-74.

肽谱分析用蛋白酶类产品

关注 Promega 生命科学公众号，您可获得

产品信息　价格查询　中文说明书　讲座视频

技术资料　实验工具　市场活动　经销商信息

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

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
技术支持电话：400 810 8133
技术支持邮箱：chinatechserv@promega.com
更新时间：2026.10