

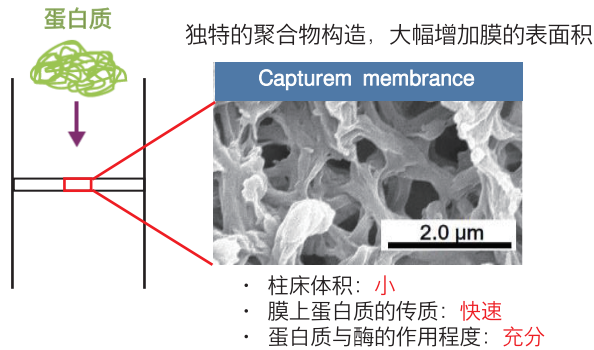
Capturem™ Trypsin应用案例分享

that's
GOOD
science!

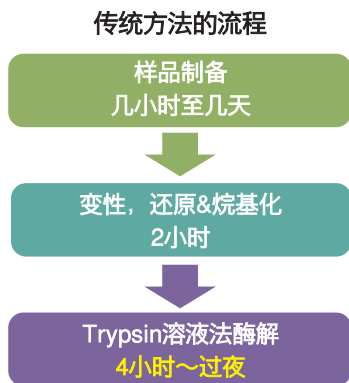
前言：质谱分析(MS)是一项在制药，医药开发，临床研究，法医学，食品环境检验等多个研究领域中被广泛应用的检测技术。Takara公司推出的应用新型膜技术的Capturem™ Trypsin，仅需2分钟即可完成酶解蛋白质的操作，非常适合酶解蛋白质样品用于MS检测分析，文后有客户真实的实验案例分享。

Capturem™ Trypsin的特点

- ✓ 操作快速，2 min-3 min内即可酶解蛋白质样品，无需过夜处理
- ✓ 比溶液法效率更高，酶解更彻底
样品中自溶片段更少，蛋白质非特异性修饰几率更低
- ✓ 可以使整个蛋白质组学分析流程更加连贯，实现更有效的肽和蛋白质的质谱鉴定



使用Capturem™ Trypsin的实验时间



使用Capturem™ Trypsin时，酶解只需要2分钟！

- 活化
 - 加入200 μl活化buffer
 - 离心1 min
 - 弃去流出液
- 酶解
 - 加入最多80 μg样品
 - 离心1 min
- 完成
 - 流出液中得到蛋白质酶解产物

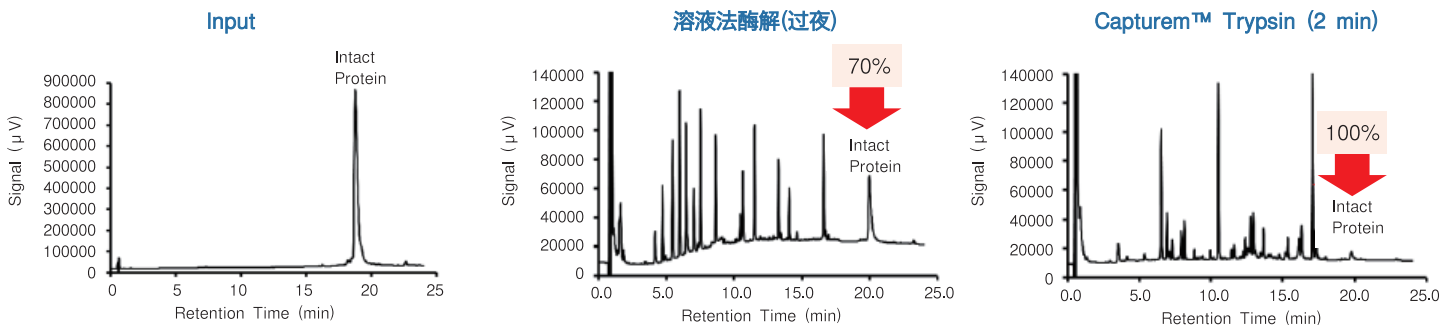


使用Capturem™ Trypsin消化时间只需2分钟，不需要过夜！

与溶液法酶解对比

Capturem™ Trypsin (柱上进行) 酶解与溶液法酶解 (溶液中进行)

酶解对象：Apomyoglobin (非变性条件)



相比于溶液法酶解，使用Capturem™ Trypsin能够实现更效率的酶解 (100%) !

下一页：客户真实的实验案例分享

用户实验例

[使用Capturem™ Trypsin快速酶解目的蛋白质并对目标肽段进行分析]

名古屋大学大学院 生命农学研究科 分化信息控制研究室

森 仁志 教授



本实验例由名古屋大学大学院 生命农学研究科 分化信息控制研究室 森 仁志 教授提供。另外，森教授同时提供了自己的研究内容及植物蛋白质相关的信息，请参考。

<森教授的研究内容>

森教授的实验室主要研究植物激素生物合成相关的酶、激素诱导蛋白质表达的调控机制等内容。由于市面上目前没有适用于植物来源蛋白质分析的特异性抗体，只能自己制备，然后通过LC/MS检测，进行定量分析。为了进行这些分析，需要将包括目的蛋白质在内的多种组织提取的蛋白质复合物用Trypsin等蛋白酶酶解消化。由于植物来源的样品含有大量核酸，多糖类物质，所以在进行Trypsin酶解前使用SDS或尿素，苯酚等变性剂处理样品，对于蛋白质的高效率酶解是非常重要的。

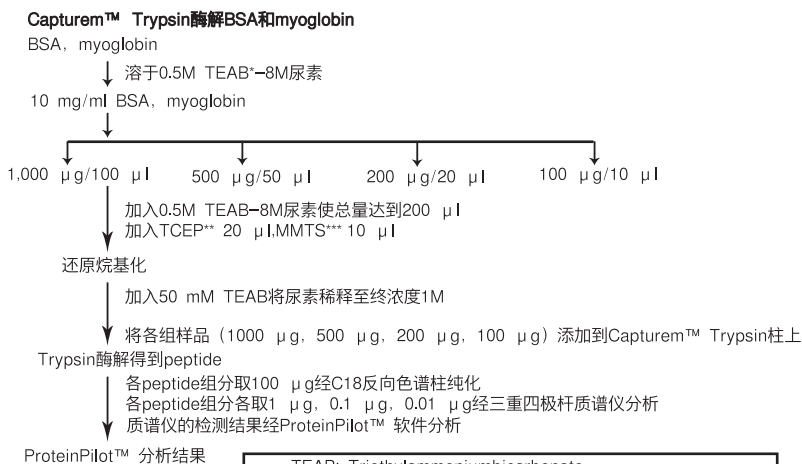
<实验例>

实验背景

森教授提供的是评价使用Capturem™ Trypsin酶解蛋白质效率的实验数据。Capturem™ Trypsin的说明书中蛋白质的推荐使用量上限是80 μg(抗体上限是20 μg)，但是教授的实验室主要用于从组织中提取的多个100 μg左右的混合蛋白质中目的蛋白质的检测，分析表达量的变化、定量等。所以Capturem™ Trypsin的上限80 μg不能满足本实验需求，因而本实验例使用100 μg-1000 μg的蛋白质进行性能评价。

实验protocol

右图是使用市售的BSA和myoglobin进行Trypsin酶解实验的操作流程。使用8M尿素溶解蛋白质。虽然在protocol中没有描述，但除了尿素之外，评估Capturem™ Trypsin时还使用了市售的蛋白质增溶剂(描述为M和R)。



* TEAB: Triethylammoniumbicarbonate
** TCEP: 50 mM Tris-(2-carboxyethyl) phosphine (还原剂)
*** MMTS: 200 mM methyl methanethiosulfonate (SH基阻断剂)

实验结果

由下表可以看出，对使用8M尿素溶解的目的蛋白质(100 μg-1000 μg)进行Capturem™ Trypsin处理，能够高效检出目标peptide。另外，对使用市售增溶剂处理的实验组别，Capturem™ Trypsin酶解后也显示了很高的检出效率。

Capturem™ Trypsin柱子添加蛋白质的量		BSA(mg)				myoglobin(mg)			
		100	200	500	1,000	100	200	500	1,000
8M Urea	Confidence 10%<	100	100	100	100	100	100	100	100
	Confidence 50%<	87.1	83.5	86.6	93.5	100	100	96.1	100
	Confidence 95%<	85.4	81.0	82.7	87.7	100	90.9	96.1	92.2
增溶剂M	Confidence 10%<	99.8				100			
	Confidence 50%<	83.5				90.2			
	Confidence 95%<	82.2				90.2			
增溶剂R	Confidence 10%<	99.5				100			
	Confidence 50%<	90.9				96.1			
	Confidence 95%<	87				96.1			

森教授的评价

在使用Takara Bio的Capturem™ Trypsin之前，都是使用其他公司的Trypsin试剂经50°C，反应1小时酶解目的蛋白质，进行目标peptide的分析。后来是从Takara Bio定期发给会员的邮件中知道的Capturem™ Trypsin。但当时对于【只需离心2分钟即可完成蛋白质Trypsin酶解！】的宣传语是半信半疑的。

在实际尝试后发现真的是只需要2分钟即可完成Trypsin酶解蛋白质，对此感到很震撼！今后也准备继续使用兼具“快速”和“简便”特性的Capturem。另外，使用Capturem™ Trypsin时，使用市售的增溶剂处理蛋白质也是兼容的，但是考虑到处理时间，还是使用8M尿素进行溶解的方法更简便。

此外，本实验例中未详细记录，我们对于酶解蛋白质的另一个产品Capturem™ Pepsin (Code No. 635728)，也使用BSA和myoglobin进行了评价(各100 μg)。靶肽peptide的回收率>95%的可信度分别为69.3%和70.5%，得到了非常满意的结果。

- 本宣传页上登载的产品，都是以科研为目的。请不要用于其它方面，如：不要用于人、动物的临床诊断和治疗。也不能用于食品、化妆品及家庭用品等方面。
- 未经本公司许可，严禁产品的转售·转让、以转售·转让为目的的产品更改、以及用于商品的制造。
- 专利许可及注册商标信息请在本公司网站上确认：<http://www.takarabiomed.com.cn/>。
- 本宣传页上登载的公司名称及产品名称即使没有特殊标注，使用的也是各公司的商标或注册商标。
- 本宣传页上记载的产品信息是2019年3月的信息，最新信息请参考公司官网。

Ver.1 2019年6月制作