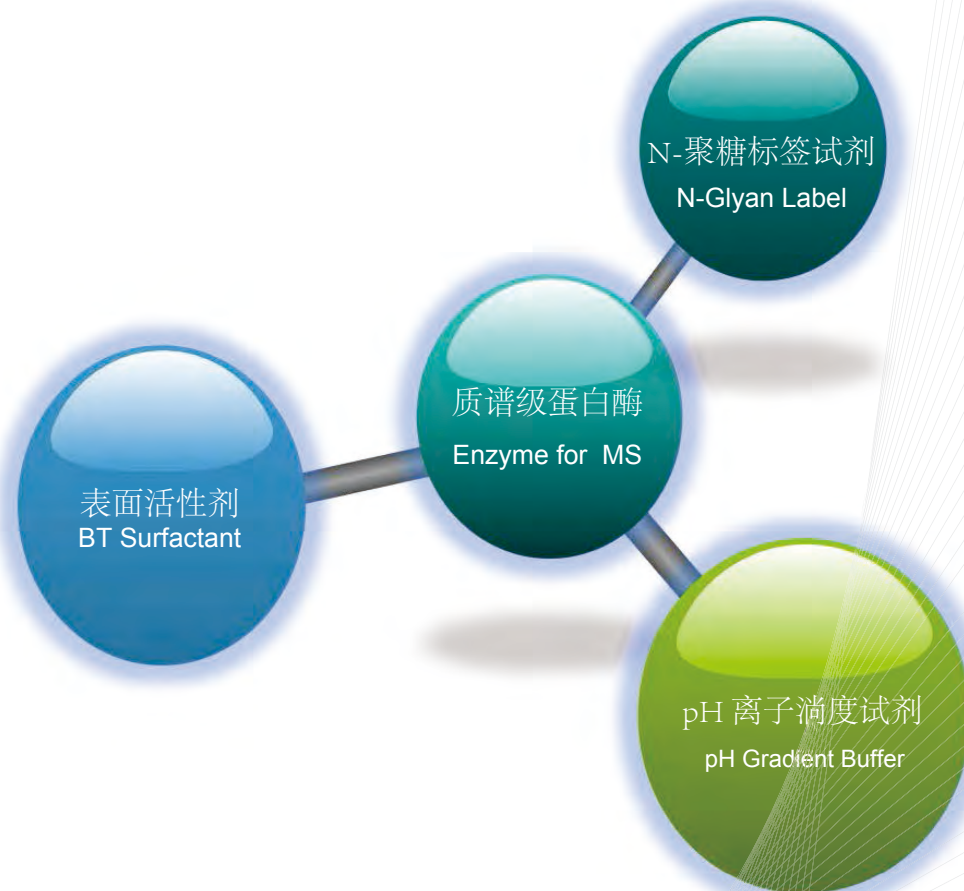


 **Endoproteinase provider** for Proteomics

生命科学 蛋白组学 试剂手册



技术产品质量：

符合GMP规范
活度量化报告
批次质谱数据
技术包装品质
干冰冷链运输



产品信息 | Certification of Analysis

产品信息 | Certificate of Analysis

CAS: 9002-07-7

Trypsin 蛋白酶, 质谱级

| 订货号 | 产品名称 | 包装 |
|-------------|-------------|-------|
| HLS TRY001C | Trypsin 蛋白酶 | 100µg |
| HLS HCL001 | 1mM盐酸溶液 | 400ul |

说明:胰蛋白酶特异性水解在赖氨酸和精氨酸残留物的碳端的肽键。未修饰的胰蛋白酶受制于蛋白酶自水解所产生的残余物,影响HPLC肽段分析,另外,自水解可以导致假性胰蛋白酶的产物,显示出胰凝乳蛋白酶的特性。华利世质谱级胰蛋白酶是修饰猪的胰蛋白酶,通过还原甲基化补偿它阻止蛋白水解消化。质谱级修饰胰蛋白酶通过TPCK处理,亲和纯化进一步改进,生成高活性和稳定的分子。

物理形态: 质谱级Trypsin蛋白酶是冻干粉

分子量: 23kDa.

溶解液 (HLS HCL001C) : Trypsin蛋白酶复溶解缓冲液建议1mM盐酸

储存条件: 冻干粉未存储在-20°C冰箱,再溶解的酶储存在-20°C。有效期见产品标签

保质期: 24月在-20°C

pH 值范围: pH7-9范围有最大的活性,在pH4翻转无活性

适用范围: Trypsin蛋白酶特异性水解变性后蛋白质K和R位,推荐和rLys-C混合使用。

推荐SOP: 通用溶液酶解法

Trypsin蛋白酶按照 25至100:1 蛋白和蛋白酶的量(w/w)使用,37°C恒温过夜13-16小时。

温馨提示:

- 1.为了保证最大活性,使用提供的胰蛋白酶溶解液溶解质谱级胰蛋白酶,使用前在30°C保温15分钟
- 2.尿素的浓度最好小于1M

质量控制 | Quality Control

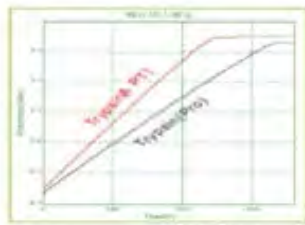
纯度: 液相色谱280nm检测杂质蛋白质峰强度, Trypsin峰强度大于99.9%

专一性: HSA人血清白蛋白样品, ESI-MS/MS质谱分析K和R端的专一性大于99.8%

活性: 13397u/mg; 单位定义: 胰蛋白酶同酶底物BAEE反应,在25°C需要产生每分钟在波长253nm 每0.001吸收值的差的数量

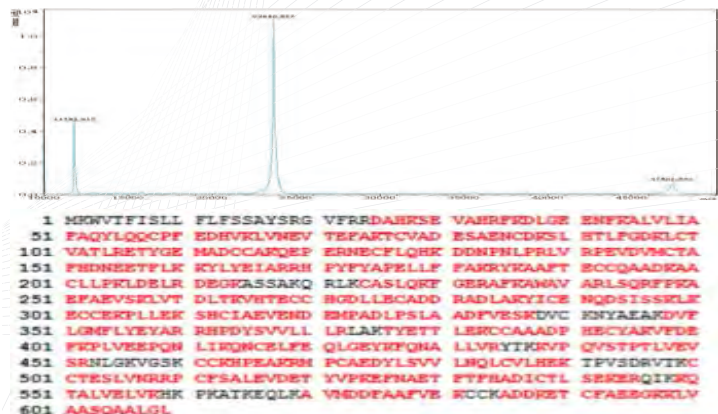
Maldi TOF 质谱检测: 纯化后的蛋白酶使用HCCA基质激光解析质谱分析未见杂质蛋白质峰

LC-MS/MS 质谱分析: 使用Trypsin酶解HSA(人血清白蛋白,纯度99.9%)实验, DTT还原, IAA保护,PH8.0, 37°C恒温过夜16小时,液质Q-E联用仪分析,覆盖率86%



| 种类 | 纯度 (HPLC%) | TAME (units/mg protein) | BAEE (units/mg protein) |
|-------------------|---------------|----------------------------|----------------------------|
| Trypsin (spec) | 99.9995 | 172 | 13397 |
| Trypsin (spec-01) | 99.9995 | 233 | 13397 |

方法: 分光光度法测定
条件: 底物TAME, 25°C, 6min.



QA经理签字:

产品信息 | Certification of Analysis

产品信息 | Certificate of Analysis

CAS: 78642-25-8

rLys-C蛋白酶, 质谱级

| 订货号 | 产品名称 | 包装 |
|-------------|------------|-------|
| HLS LYS001C | rLys-C 蛋白酶 | 20µg |
| HLS HAc001 | 50mM醋酸溶液 | 400µl |

说明: 质谱级rLys-C蛋白酶特异性水解在赖氨酸片段的C端的肽键。可用于提高对不易水解的蛋白质的消化; 推荐在6-8M尿素溶液中进行

物理形态: 质谱级rLys-C蛋白酶是冻干粉, 含0.5mg海藻糖/瓶

分子量: 27kDa.

溶解液 (HLS HAc001C): rLys-C蛋白酶复溶解缓冲液建议1mM盐酸或50mM醋酸

储存条件: 冻干粉未存储在-20°C冰箱, 再溶解的酶储存在-20°C。有效期见产品标签

保质期: G4月在-20°C

pH 值范围: 在 8-9 时, rLys-C 具有最佳活性

适用范围: rLys-C蛋白酶特异性水解变性后比较不易酶切的蛋白质K位, 推荐和Trypsin混合使用。

混合酶推荐SOP:

A. 通用溶液酶解法

100ug Trypsin/20ug rLys-C 混合酶按照 25:1 蛋白和蛋白酶的量(w/w)使用, 37°C恒温过夜13-16小时。

温馨提示: 尿素的浓度最好小于1M, 50mM Tris-HCl 缓冲溶液(pH 8)

B. 1+1步溶液酶解法

1. 100ug Trypsin/20ug rLys-C 混合酶按照 25:1 蛋白和蛋白酶的量(w/w)使用, 37°C.恒温酶解2-4小时。

温馨提示: 尿素的浓度为6-8M, 50mM Tris-HCl 缓冲溶液(pH 8)

2. 稀释上一步的溶液6倍, 37°C恒温过夜13-16小时

温馨提示: 尿素的浓度最好小于1M, 50mM Tris-HCl 缓冲溶液(pH 8)

质量控制 | Quality Control

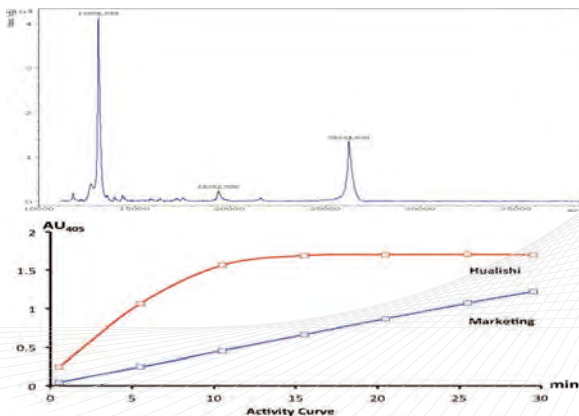
纯度: 液相色谱280nm检测杂质蛋白质峰强度, rLys-C峰强度大于99.9%

专一性: E.coli大肠杆菌样品, ESI-MS/MS质谱分析K端的专一性大于99.5%

活性: 25unit/min/mg; 单位定义: rLys-C蛋白酶每分钟酶切1.0 umole T-G-P Lys Nitroanilide的量, 反应条件: 25°C, 波长405nm

Maldi TOF质谱检测: 纯化后的蛋白酶使用HCCA基质激光解析质谱分析未见杂质蛋白质峰

LC-MS/MS 质谱分析: 使用rLys-c酶解HSA(人血清白蛋白, 纯度99.9%)实验, DTT还原, IAA保护, PH8.0, 37°C恒温过夜16小时, 液质Q-E联用仪分析, 覆盖率87%



| Sample: E.coli | rLys-C-1 | rLys-C 2 |
|------------------------------------|----------|----------|
| Total of MS spectra | 19128 | 18663 |
| Peptide spectra match | 3918 | 3902 |
| MS2 identified (%) | 20.48 | 20.91 |
| Searched peptide | 2650 | 2589 |
| specific cleavage peptide(K) ratio | 2531 | 2474 |
| | 95.51 | 95.56 |

| | | | | | |
|-----|-------------|------------|------------|------------|------------|
| 1 | MKQVTFISLL | FLSSAYSRS | VFRDAKES | VARRFDLSE | ENFKALVLA |
| 51 | FAQYLGQCFF | EDIVKLVSEV | TEFARTQVAD | ESAEKCDLSL | ETLFGSRLCT |
| 101 | NATLRETYGE | MADCCAKRF | ESRECFLOEK | DDWNLPRALV | RREVFUNCTA |
| 151 | FIDNRETFLEK | KVLYEIAKSE | PVYFAPELLF | PASAFKRAFT | ECCQADSDAA |
| 201 | CLLPKLDLELR | DEGKASSARQ | RLEKASLQRF | GSAFQMAV | ARLSQGFPPA |
| 251 | EPAEVSRIVT | DLTRVITECC | HGDLLECAD | RADLARYICE | NQDSISSLEK |
| 301 | ECCERFLLEK | SHCIAEVEND | ENFADLPSLA | ADPVESKDVV | SNYAEAKDVF |
| 351 | LGMFLYEYAR | RHPDYSVLL | LRLAKTYETT | LERCCAAADP | SECYARVDFE |
| 401 | FRPLVVEEPQN | LIRQNCLEFE | QLGEYKQSA | LLVRYTRQVF | QVSTPTLVEV |
| 451 | SRHLGRVGSK | CCRFRASRM | PCAEYLSVV | LNQLCVLEK | TFVSDRYTRC |
| 501 | CTESLYMRKF | CPSALEVDST | VYRFPNART | FTFMADICTL | SEKSDQIERQ |
| 551 | TALVELVSKH | FRATKSQLA | VMDQFAAPVE | RCCADQKST | CFAEKGGSLV |
| 601 | AASQAALGL | | | | |

QA经理签字:

产品信息 | Certification of Analysis

产品信息 | Certificate of Analysis

CAS: 66676-43-5

rGlu-C蛋白酶, 质谱级

| 订货号 | 产品名称 | 包装 |
|-------------|------------|------|
| HLS GLU001C | rGlu-C 蛋白酶 | 50µg |

说明: 质谱级rGlu-C蛋白酶特异性水解在谷氨酸或天冬氨酸片段的C端的肽键。该酶适合在溶液中进行消化反应, 不推荐用于胶内消化。在碳酸氢铵和醋酸铵缓冲液中, 对谷氨酸残基的切割特异性更高; 在磷酸盐缓冲液中, 谷氨酸和天冬氨酸残基均可被切割。

物理形态: 质谱级rGlu-C蛋白酶是冻干粉

分子量: 24kDa.

溶解液: rGlu-C蛋白酶用超纯水溶解

储存条件: 冻干粉未存储在-20°C冰箱, 再溶解的酶储存在-20°C。有效期见产品标签

保质期: 24月在-20°C

pH 范围: 在 4.0-9.0 时, Glu-C 具有最佳活性

适用范围: rGlu-c蛋白酶特异性水解变性后蛋白质D和E位。

溶液酶解SOP:

50ug rGlu-C蛋白酶按照 25:1 蛋白和蛋白酶的量(w/w)使用, 在pH8.5下, 37°C恒温过夜13-16小时。

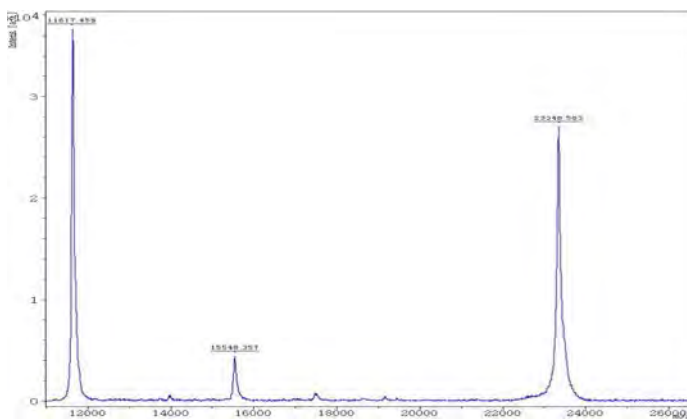
质量控制 | Quality Control

纯度: 液相色谱280nm检测杂质蛋白质峰强度, rGlu-C峰强度大于99.9%

活性: 800unit/min/mg; 单位定义: rGlu-c蛋白酶每分钟酶切1.0 umole BOC-L-Glutamic Acid a phenyl Ester的量, 反应条件: 37°C, 波长270nm

Maldi TOF质谱检测: 纯化后的蛋白酶使用HCCA基质激光解析质谱分析未见杂质蛋白质峰

LC-MS/MS 质谱分析: 使用rGlu-c酶解HSA(人血清白蛋白, 纯度99.9%)实验, DTT还原, IAA保护, PH8.0, 37°C恒温过夜16小时,液质Q-E联用仪分析, 覆盖率80%



MASCOT Search Results

Protein View

Match to: D6RHD5 Score: 11617
Serum albumin OS-Homo sapiens GN-ALB PE-1 SV=1
Found in search of HSA-TEST-GLU-C_20151119-mgf.mgf

Nominal mass (M_n): 53565; Calculated pI value: 6.45
NCBI BLAST search of D6RHD5 against nr
Unformatted [sequence string](#) for pasting into other applications

Fixed modifications: Carbamidomethyl (C)
Variable modifications: Acetyl (N-term), Oxidation (M)
Cleavage by V8-DE: cuts C-term side of BDE2 unless next residue is P
Sequence Coverage: 82%

Matched peptides shown in Bold Red

1 MSQKIVTTH LYLVEIARRH FYFYAFELLF FAIRYKAATF ECCQAADGAA
51 CLLPRLDELK DEQKASSARQ RLICASLQKF GERAFKAMAV ARLSQRPFKA
101 EFAEVSRLVT DLTEVHTCC BDLLEGADQ RADLARYICR HQDSISSRLK
151 ECKKPLLEK SHCIREVND EMPADLFLA ADVPSKDVV KYVAEADVF
201 LGMFLYVAR RHDDYVLL LRLACTYETT LEKCCAAADP HECYARVPE
251 FKPLVEEQN LIHQNCELFE QLGRYKQNA LLVRYTKVF QVSTPLVEV
301 SRNLGRVSK CKKHFAEGRM PCARDYLSVV LKQLCVLREK TFSDRVTEC
351 CTESLVHRRP CFSALEVDET VVGEFNAET FTFHADICTL SESEKQIQSQ
401 TALLVELVREK HGATIKQLGA VMDDFAAVVE KCKKADDEK CFEEGKGLV
451 AASQAALDL

QA经理签字:

产品信息 | Certification of Analysis

产品信息 | Certificate of Analysis

CAS: 83534-39-8

rPNGase F糖苷酶, 质谱级

| 订货号 | 产品名称 | 包装 |
|-------------|---------------|------|
| HLS PNG001C | rPNGase F 蛋白酶 | 50ul |

说明: 质谱级PNGase F糖苷酶特异性水解复杂的糖蛋白的寡糖和高甘露糖链接的天冬酰胺, 酶切掉天冬氨酸脱氨基的天冬酰胺, 保留低聚糖蛋白完好无损。但是不会去除低聚糖含有 α (1 \rightarrow 3)核心岩藻糖。

物理形态: 20mM Tris-HCl (pH 7.5 at 25 $^{\circ}$ C), 50mM NaCl and 5mM EDTA 溶液
分子量: 35kDa.

浓度: 10unit/ul

储存条件: 存储在4-10 $^{\circ}$ C冰箱, **禁止-20 $^{\circ}$ C以下低温冷冻**

保质期: 12月在4 $^{\circ}$ C

pH范围: PH6.0 - 10.0 有活性, PH=8.6具有最佳活性

适用范围: 特异性酶切糖蛋白的 N端寡糖

溶液内酶解SOP:

1. 在 50mM 碳酸氢铵 (pH 7.8) 溶液中加入20ug变性的糖蛋白, 调整体积至 18 μ l.
2. 加 2 μ l rPNGase F溶液
3. 37 $^{\circ}$ C条件下, 保温 1 - 2 小时酶切糖蛋白样品

活性: 40000unit/min/mg;

单位定义: PNGase F糖苷酶每分钟酶切1.0 umole Ribonuclease B的量, 反应条件: 37 $^{\circ}$ C, PH=7.5

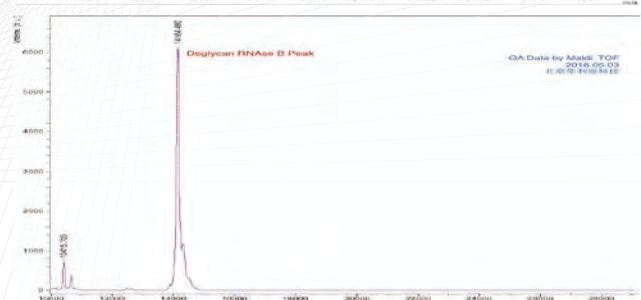
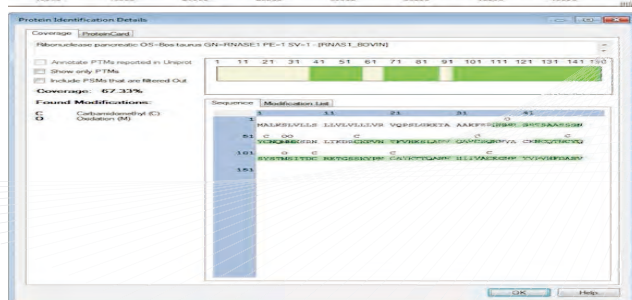
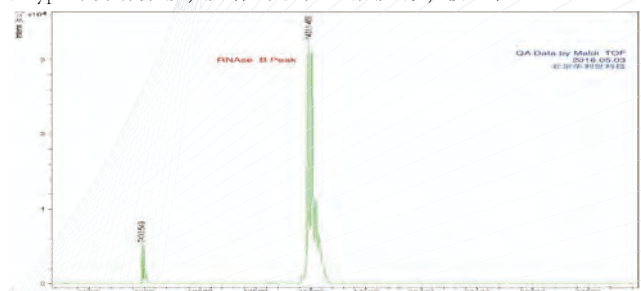
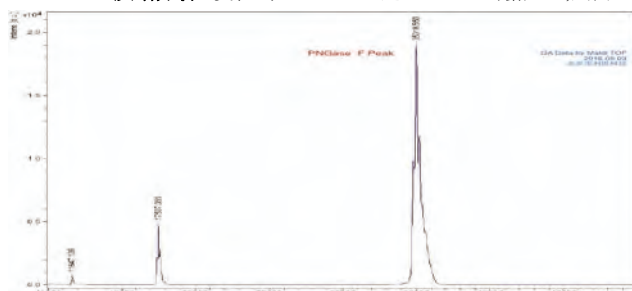
质量控制 | Quality Control

纯度: 使用Maldi TOF检测杂质蛋白质峰强度, rPNGase F峰峰高比大于99.5%

活性: 40000unit/min/mg; 单位定义: rPNGase F糖苷酶每分钟酶切1.0 umole 变性的Ribonuclease B的量, SDS-PAGE分析定量。

Maldi TOF 质谱检测: 变性的RNase B使用rPNGase F糖苷酶在37 $^{\circ}$ C酶切60min后, 使用FA基质激光解析质谱分析, 可见切糖后的重链蛋白14.9kDa和轻链蛋白14.1kDa质谱峰, 未见杂质蛋白信号, 糖蛋白的糖切除完全。

LC-MS/MS 质谱分析: 变性的RNase B经过PNGase F去糖处理, 蛋白又使用Trypsin酶切成肽段, 质谱鉴定到理论肽段9条, 覆盖率67%。



QA经理签字:

产品信息 | Certification of Analysis

产品信息 | Certificate of Analysis

CAS: EC 3.4.24.20

Lys-N蛋白酶, 质谱级

| 订货号 | 产品名称 | 包装 |
|--------------|-----------|-------|
| HLS LYS001N | Lys-N 蛋白酶 | 20µg |
| HLS HAc001Zn | 50mM醋酸锌溶液 | 400µl |

说明: 质谱级Lys-N蛋白酶特异性水解在赖氨酸片段的N端的肽键。新的酶切N端的系列蛋白酶

物理形态: 质谱级Lys-N蛋白酶是冻干粉

分子量: 18.4kDa.

溶解液 (HLS HAc001Zn): 建议使用Lys-N蛋白酶复在50mM醋酸锌缓冲液中

储存条件: 冻干粉未存储在-20°C冰箱, 再溶解的酶储存在-20°C或-80°C。有效期见产品标签

保质期: 24月在-80°C

pH 值范围: 在PH7-9 时, Lys-N 具有最佳活性

适用范围: Lys-N蛋白酶特异性水解变性后蛋白质K位。

通用溶液酶解法:

Lys-N蛋白酶按照 1:50 蛋白酶和蛋白的量(w/w)使用, 37°C水浴酶切4小时。

缓冲溶液: 50mM碳酸氢铵缓冲溶液或50mM Tris-HCl 缓冲溶液(pH 8)

质量控制 | Quality Control

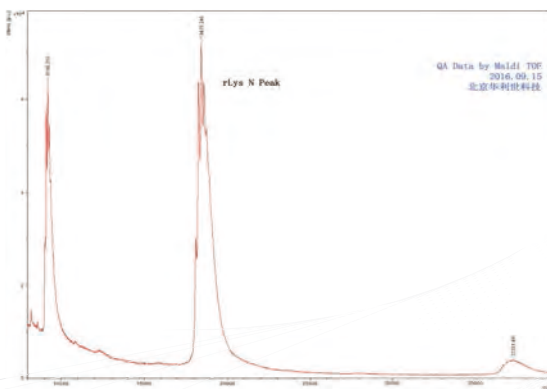
纯度: 液相色谱280nm检测杂质蛋白质峰强度, Lys-N峰强度大于99.5%

专一性: E.coli大肠杆菌样品, ESI-MS/MS质谱分析K端的专一性大于95.0%

活性: 500unit/mg; 单位定义: Lys-N蛋白酶在366nm最大光密度值半数时, 酶切叠氮酪蛋白的单位量, 反应条件: 37°C保温30min, PH=10

Maldi TOF 质谱检测: 纯化后的蛋白酶使用FA基质激光解析质谱分析未见杂质蛋白质峰

LC-MS/MS 质谱分析: 使用Lys-N酶解HSA(人血清白蛋白, 纯度99.9%)实验, DTT还原, IAA保护, PH8.0, 37°C恒温酶切4小时, 液质Q-E联用仪分析, 覆盖率80%



| Sample | E. coli | rLys-N Hualishi | rLys-N Marketing |
|------------------------------|---------|-----------------|------------------|
| Total of Proteins | | 878 | 904 |
| peptide | | 3535 | 3557 |
| specific cleavage peptide(K) | | 3041 | 3020 |
| Ratio(%) | | 86.00 | 85.00 |

QA经理签字:

产品信息 | Certification of Analysis

产品信息 | Certificate of Analysis

rTrypsin-N蛋白酶, 质谱级

| | | |
|-------------|----------------|------|
| 订货号 | 产品名称 | 包装 |
| HLS TRY001N | rTrypsin-N 蛋白酶 | 20µg |

说明: 质谱级rTrypsin-N蛋白酶特异性水解在赖氨酸K和精氨酸R片段的N端的肽键。新的酶切N端的系列蛋白
酶物理形态: 质谱级rTrypsin-N蛋白酶是冻干粉, 每瓶含有 0.47 mg HEPES; 0.05mg CaCl₂

分子量: 29kDa.

溶解液: 建议使用超纯水40ul溶解后使用, PH=7.5

储存条件: 冻干粉未存储在-20°C冰箱, 再溶解的酶储存在-20°C或-80°C。有效期见产品标签

保质期: 24月在-80°C

pH 值范围: 在PH7.5 时, rTrypsin-N 具有最佳活性

适用范围: rTrypsin-N蛋白酶特异性水解变性后蛋白质K位和R位肽键。

通用溶液酶解法:

- 1.蛋白酶推荐酶切体系: 20-50mM HEPES或Tris 缓冲液
- 2.使用条件: 按照 20:1 蛋白和蛋白酶的量(w/w)使用, 37°C 恒温反应4小时以上。

温馨提示:

- 1.最大活性: 建议蛋白样本经过变性和烷基化处理后, 同时严格执行酶切反应体系和SOP
- 2.敏感性: 对1mM DTT, 0.1mM盐酸胍, 0.8M尿素, 5%乙腈 敏感, 会降低酶切效率

质量控制 | Quality Control

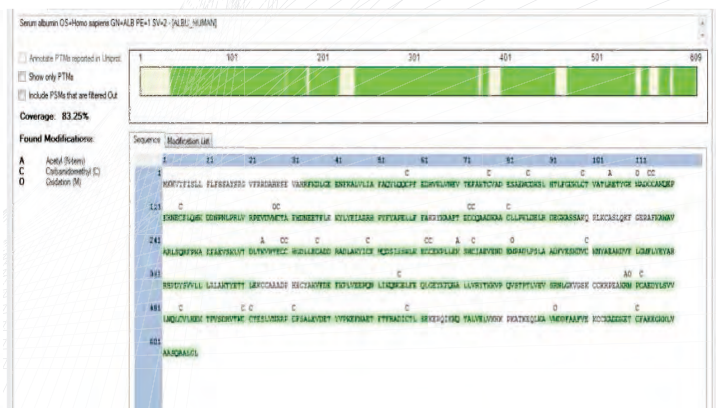
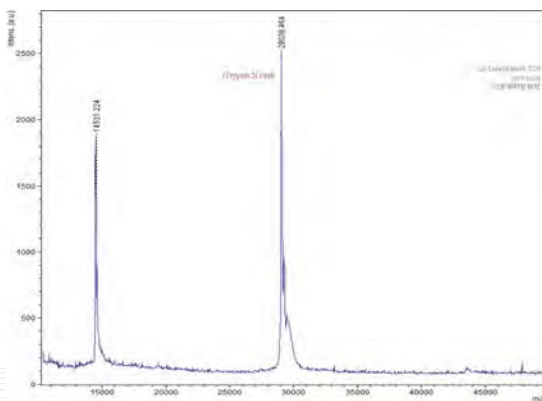
纯度: 液相色谱280nm检测杂质蛋白质峰强度, rTrypsin-N峰强度大于99.0%

专一性: 人血清白蛋白HSA样品, ESI-MS/MS质谱分析R/K端的专一性大于95.0%

活性: 140 unit/mg; 单位定义: r Trypsin N白蛋白酶在366nm最大光密度值半数时, 酶切叠氮酪蛋白的单位量, 反应条件: 37°C 保温30min, PH=10

Maldi TOF质谱检测: 纯化后的蛋白酶使用FA基质激光解质质谱分析未见杂质蛋白质峰

LC-MS/MS 质谱分析: 使用rTrypsin N酶解HSA(人血清白蛋白, 纯度99.9%)实验, DTT还原, IAA保护, PH7.5, 37°C恒温酶切4小时,液质Q-E联用仪 分析, 覆盖率83%



QA经理签字:

产品信息 | Certification of Analysis

产品信息 | Certificate of Analysis

CAS: EC 3.421.1

α -Chymotrypsin蛋白酶, 质谱级

| 订货号 | 产品名称 | 包装 |
|-------------|------------------|------------|
| HLS CHY001C | Chymotrypsin 蛋白酶 | 50 μ g |

说明: 胰凝乳蛋白酶是一种丝氨酸内蛋白酶, 可特异性酶切Tyr, Phe, Trp和Leu的C-末端的肽键。也有少量的Met, Ala, Asp和Glu的C-末端的肽键裂解。其中的残留胰蛋白酶用TLCK灭活后纯化处理。该蛋白酶用Ca²⁺离子激活并稳定。

物理形态: 质谱级 α -Chymotrypsin蛋白酶是冻干粉

分子量: 25kDa.

溶解液: 建议使用1mM盐酸(含2 μ M CaCl₂) 100 μ l复溶

储存条件: 冻干粉存储在-20°C冰箱; 溶解的酶储存在-20°C有效期1周。

保质期: 冻干粉在-20°C稳定期24个月

pH范围: 在PH=7.8时, Chymotrypsin蛋白酶具有最佳活性

适用范围: Chymotrypsin蛋白酶特异性水解变性后蛋白质Y, F, W和L位。

溶液酶解SOP:

胰凝乳蛋白酶按照 1:50 蛋白酶和蛋白的量(w/w)使用, 在30°C下于100 mM含10 mM CaCl₂, pH 7.8的Tris HCl中进行酶切消化2-12小时。

温馨提示:

1. 水浴温度高于37°C时蛋白酶会自我水解
2. 样品消化过程中尿素和盐酸胍的浓度最好小于1M

质量控制 | Quality Control

纯度: 液相色谱280nm检测杂质蛋白质峰强度, 脂肪酶峰强度大于99.0%

专一性: HSA人血清白蛋白样品, ESI-MS/MS质谱分析Y, F, W和L端的专一性大于95.0%

活性: 70u/mg; 单位定义: 在pH 7.8和25°C下, 每分钟胰凝乳蛋白酶水解1.0 μ mol BTEE蛋白的量

MaldiTOP质谱检测: 纯化后的蛋白酶使用基质激光解析质谱分析未见杂质蛋白质峰

LC-MS/MS 质谱分析: N/A

QA经理签字:

产品信息 | Certification of Analysis

产品信息 | Product Information

CAS: N/A

Lot No. 20231120C

0-糖蛋白酶, 质谱级

| 订货号 | 产品名称 | 包装 |
|-------------|--------|-------|
| HLS IMPA001 | 0-糖蛋白酶 | 50 μl |

说明: 0-Glycoprotease 是 *Pseudomonas aeruginosa* 分泌的免疫金属蛋白酶 (IMPa), 特异性切割 0-糖基化修饰的糖蛋白或糖肽中丝氨酸 (S) 或苏氨酸 (T) 肽键 N-端。对于 0-linked 聚糖含唾液酸和不含唾液酸的粘蛋白 S/T 氨基酸没有选择性。用于 0-糖基化修饰蛋白表征和糖蛋白 0-糖苷结构的分析。

物理形态: 20mM Tris-HCl (pH 7.8 at 25° C), 100mM NaCl 溶液

分子量: 97kDa.

浓度: 1ug/ul

存储条件: -20 ° C 冰箱冷冻.

保质期: 24 个月 在 -20° C 冰箱

pH 值范围: 0-糖蛋白酶在 pH7-8 活性最佳

酶切方法:

-适用酶切缓冲溶液: 20mmol Tris or HEPES 缓冲液;, pH 值在 7-8 范围内

-去除表面活性剂的非变性或变性糖蛋白样品, 按照 20: 1 蛋白和蛋白酶的量使用, 酶切反应蛋白浓度控制在 0.2-0.5ug/ul, 37° C 干浴孵育 2 小时以上

-敏感性: 0-糖蛋白酶对 SDS, 表面活性剂敏感; pH 缓冲液严格控制在 7-8 范围内, 否则酶活性降低

质量控制 | Quality Control

纯度: 液相色谱 280nm 检测检测杂质蛋白质峰强度, 0-糖蛋白酶色谱峰强度大于 99.0%

专一性: 牛血清胎球蛋白 Fetuin, 变性酶切, zic-hilic 富集, ESI-MS/MS 质谱分析 0-糖修饰的 S/T 专一性大于 95%

活性: 50000unit/mg;

单位定义: 1ug/ul 0-糖蛋白酶稀释 10 倍, 与 5umol Fetuin 糖蛋白反应的量, 反应条件: 20ul 20mmol Tris, pH=8.0, 37° C 干浴孵育 2 小时, SDS-PAGE 电泳分析

LC-MS/MS 质谱分析: 20ug Fetuin 糖蛋白 BT 试剂变性, 还原烷基化, UFD 超滤脱盐, 加 100ul 20mmolTris, 1ul 0-糖蛋白酶孵育 2 小时, 通过 zic-hilic Tip 柱富集, QE480 液质分析, 完整鉴定 S/T 位点修饰和 0-糖修饰组成.



QA 经理签字:

北京生夏蛋白 · 北京市顺义区竺园二街 2 号院 3 号楼 101, 邮编: 101312 · E-mail: yu.feng@coowins.com · 电话: 139 1067 9882 · 微信: FY13910679882

产品信息 | Certification of Analysis

产品信息 | Certificate of Analysis

CAS: 9001-62-1

Lipase脂肪酶, 质谱级

| 订货号 | 产品名称 | 包装 |
|-------------|------------|------|
| HLS LIP001C | Lipase 脂肪酶 | 50µg |

说明: 脂肪酶可催化水溶液中三酰甘油的水解, 生成甘油和游离脂肪酸。该脂肪酶来源于猪胰腺。

在PBS缓冲液或Tris-HCL缓冲液中, $\text{Triglyceride} + \text{H}_2\text{O} \rightarrow \text{Diglyceride} + \text{Fatty Acid}$ 。

物理形态: 质谱级Lipase 脂肪酶是冻干粉

分子量: 48kDa.

溶解液: Lipase 脂肪酶用100ul 5mM氯化钙溶解(使用前冰浴)

储存条件: 冻干粉末存储在-20°C冰箱, 再溶解的酶储存在-20°C。有效期见产品标签

保质期: 24月在-20°C

pH 范围: 在PH=7.7 时, Lipase脂肪酶具有最佳活性

适用范围: Lipase脂肪酶特异性水解血清或动物组织样品中的三酰甘油。

溶液酶解SOP (仅供参考):

20ul 血清样本加20ul 100mM PBS buffer稀释PH=7.7, 37°C 保温30min, 立即加入2-6ul Lipase 脂肪酶保温15min

质量控制 | Quality Control

纯度: 液相色谱280nm检测杂质蛋白质峰强度, 脂肪酶峰强度大于99.0%

活性: 20000unit/mg;

单位定义: 在PH 7.7、温度37°C条件下, 以橄榄油为底物, 在1小时内水解甘油三酸酯而释放1.0微当量的脂肪酸所需的酶量

LC-MS/MS 质谱分析: N/A

QA经理签字:

产品信息 | Certification of Analysis

产品信息 | Certificate of Analysis

CAS: 916777-57-6

rldeS 蛋白酶 | 质谱级

| 订货号 | 产品名称 | 包装 |
|-------------|-----------|------------|
| HLS IDES001 | rldeS 蛋白酶 | 20 μ g |
| HLS PBS001 | 10x酶切缓冲液 | 0.5ml |

说明: rldeS (免疫球蛋白IgG 特异性降解酶) 是一种在大肠杆菌中过表达的工程重组蛋白酶。在铰链区下方的单个识别位点特异性切割, 以产生同质的 F(ab')₂ 和 Fc 片段; IdeS 和 IdeZ 蛋白酶均可有效切割人 IgG1、IgG2、IgG3 和 IgG4、猴、绵羊、兔、人源化和嵌合 IgG 以及 Fc 融合蛋白。然而, 只有 IdeZ 蛋白酶能切割小鼠 IgG2a 和 IgG3。

物理形态: 冻干粉

分子量: 37kDa.

蛋白酶溶解: 建议加40ul超纯水溶解

酶切缓冲液 (HLS PBS001): 10倍 50mM PBS, 150mM NaCl(pH 6.6)溶液

储存条件: 冻干粉存储在-20 C 冰箱, 有效期见产品标签

保质期: 24月在-20 C

PH 值范围: PH 6-8范围有活性

适用范围: rldeS蛋白酶是IgG 特异性降解酶, 产生同质的 F(ab')₂ 和 Fc 片段。

推荐的酶切SOP:

- 取10ul 10ug/ul mAb 样品
- 加 5 μ l 的 10X 酶切缓冲液 (HLS PBS001)和 31ul 超纯水混合, 总反应体积为50 μ l。
- 加 4 μ l 0.5ug/ul rldeS 蛋白酶
- 在 37°C 下孵育 30 分钟

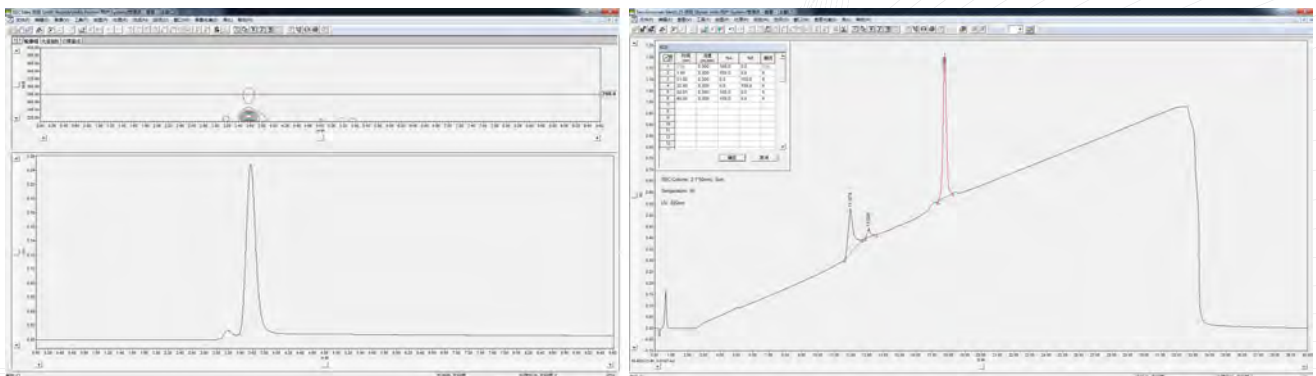
质量控制 | Quality Control

纯度: 液相色谱280nm检测杂质蛋白质峰强度, rldeS峰强度大于99.5%

专一性: m Ab抗体样品用IdeS酶切后, 使用UPLC色谱, SCX 2.1*50mm色谱柱, 用 mAb PH 离子淌度Buffer 洗脱分析专一性大于99.3%

活性: 5E_U / μ g; 单位定义: 5E_U 抗体在 37 C 下在 30 分钟内经过 F₂ * Ab_U 蛋白酶完全切割对应的量。

Maldi TOF质谱检测: 纯化后的蛋白酶使用HCCA基质激光解析质谱分析未见杂质蛋白质峰



QA经理签字:

产品信息 | Certification of Analysis

产品信息 | Certificate of Analysis

CAS: 916777-57-6

rldeZ蛋白酶 | 质谱级

| 订货号 | 产品名称 | 包装 |
|-------------|-----------|------------|
| HLS IDEZ001 | rldeZ 蛋白酶 | 20 μ g |
| HLS PBS001 | 10x酶切缓冲液 | 0.5ml |

产品说明: rldeZ (免疫球蛋白IgG 特异性降解酶) 是一种在大肠杆菌中过表达的工程重组蛋白酶。在铰链区下方的单个识别位点特异性切割, 以产生同质的 F(ab')₂ 和 Fc 片段; IdeS 和 IdeZ 蛋白酶均可有效切割人 IgG1、IgG2、IgG3 和 IgG4、猴、绵羊、兔、人源化和嵌合 IgG 以及 Fc 融合蛋白。IdeZ 蛋白酶能切割小鼠 IgG2a 和 IgG3。

物理形态: 冻干粉

分子量: 36kDa.

蛋白酶溶解: 建议加40ul超纯水溶解

酶切缓冲液 (HLS PBS001): 10倍 50mM PBS, 150mM NaCl(pH 6.6)溶液

储存条件: 冻干粉存储在-20 C 冰箱, 有效期见产品标签

保质期: 24月在-20 C

PH 值范围: PH 6-8范围有活性

适用范围: rldeZ蛋白酶是IgG 特异性降解酶, 产生同质的 F(ab')₂ 和 Fc 片段。

推荐的酶切SOP:

- 取10ul 10ug/ul mAb 样品
- 加 5 μ l 的 10X 酶切缓冲液 (HLS PBS001)和 31ul 超纯水混合, 总反应体积为50 μ l。
- 加 4 μ l 0.5ug/ul rldeZ 蛋白酶
- 在 37 $^{\circ}$ C 下孵育 30 分钟

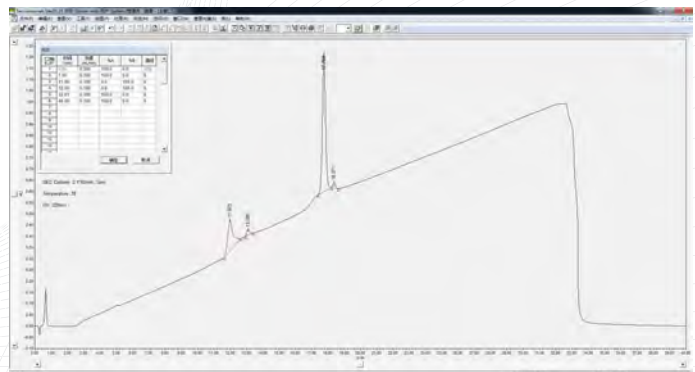
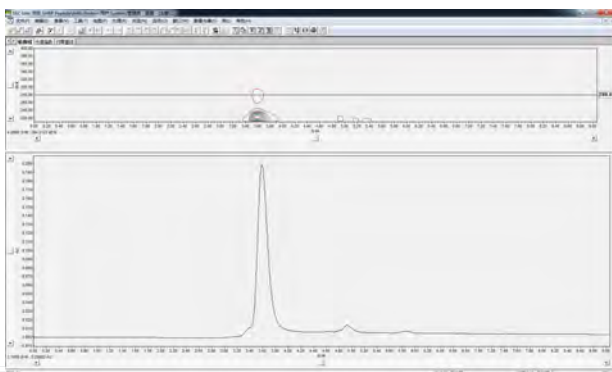
质量控制 | Quality Control

纯度: 液相色谱280nm检测杂质蛋白质峰强度, rldeZ峰强度大于99.5%

专一性: m Ab抗体样品用IdeZ酶切后, 使用UPLC色谱, SCX 2.1*50mm色谱柱, 用mAB PH 离子淌度Buffer 洗脱分析专一性大于99.3%

活性: 5EU/g; 单位定义: 5EU为1 μ g抗体在37 $^{\circ}$ C下在30分钟内经过F(ab')₂蛋白酶完全切割对应的量。

Maldi TOF质谱检测: 纯化后的蛋白酶使用HCCA基质激光解析质谱分析未见杂质蛋白质峰



QA经理签字:

产品信息 | Certification of Analysis

产品信息 | Certificate of Analysis

mAb 单抗标准品 | 质谱级

| 订货号 | 产品名称 | 包装 |
|-------------|-----------|-------|
| Secukinumab | mAb 单抗标准品 | 100µg |

说明: Secukinumab单克隆抗体是白细胞介素-17A (IL-17A) 抑制剂。可以用于Intact Protein; charge variants(CV);mAb subunit or N-聚糖 LC-MS分析纯化的质控 (QC) 或实验方法系统适应性验证使用。

物理形态: 无盐冻干粉

分子式: C₆₅₈₄H₁₀₁₃₄N₁₇₅₄O₂₀₄₂S₄₄

分子量: 147940.0Da.

蛋白溶解: 根据实验需求加一定量的pH Buffer 缓冲液溶解

储存条件: 冻干粉存储在-20 C 冰箱, 有效期见产品标签

保质期: 24月在-20 C

蛋白氨基酸序列 (Sequence):

> **Secukinumab Heavy Chain (CAS 875356-43-7)**

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSNYWMNWVRQAPGKGLEWVAAINQDQSEKYYVGSVKGRFTISRDNKNSLYLQMNSLRVEDTAVYYCVRDY
YDILTDYYIHYYFDLWGRGLTVTVSSASTKGPSVFLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPTVSWNSGALTSVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSSSL
GTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQ
YNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTSKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPV
LDSDSGFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKLSLSLSPGK

> **Secukinumab Light Chain (CAS 875356-44-8)**

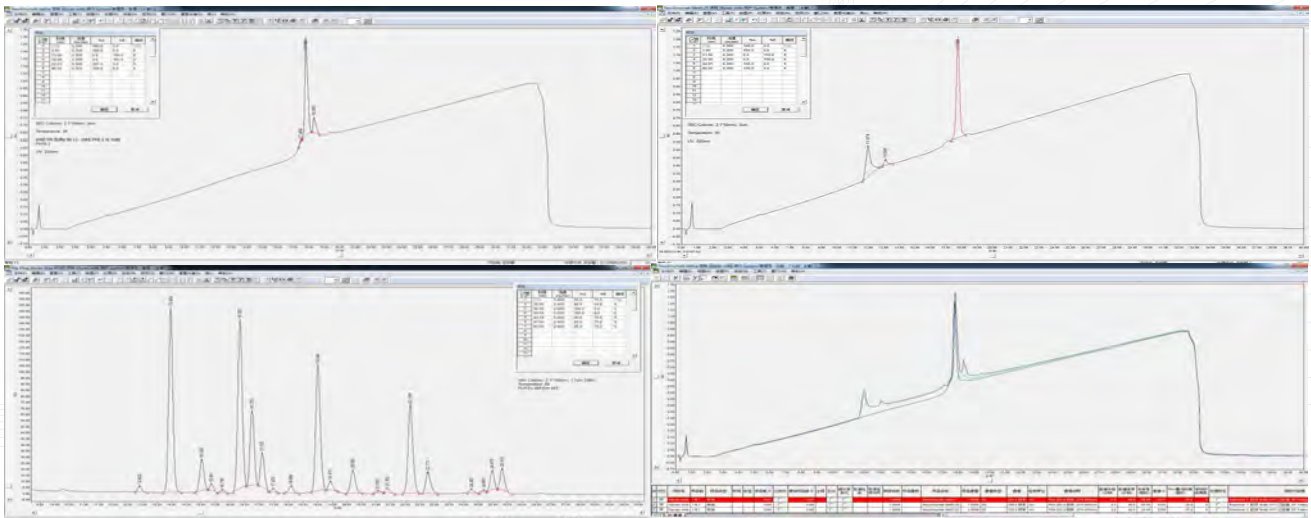
EIVLTQSPGTLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYGASSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQYGGSPCTFGQGT
RLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSSTLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSPV
TKSFNRGEC

质量控制 | Quality Control

纯度: 液相色谱280nm检测杂质蛋白质Secukinumab峰强度大于99.5%

CV and Subunit 色谱图: mAb抗体样品用IdeS/IdeZ酶切后, SCX 2.1*50mm色谱柱, 温度: 30 C, 用 mAB pH 离子淌度Buffer 洗脱分析一致性

N-Glycan 聚糖谱图: 15ug样品95度变性TCEP还原后, 加:PNGase F 糖苷酶酶切, 用N-聚糖标签试剂衍生化N-聚糖为糖胺, 使用HILIC 色谱柱的UPLC色谱系统, 荧光检测FLR: Ex: 265nm; Em: 425nm



QA经理签字:

产品信息 | Certification of Analysis

产品信息 | Certificate of Analysis

CAS: 881640-19-3

BT Surfactant 活性剂, 质谱级

| 订货号 | 产品名称 | 包装 |
|-------------|-------------------|-----|
| HLS BTS001C | BT Surfactant 活性剂 | 5mg |

产品说明:

在生物制药抗体的肽图和聚糖分析以及蛋白质组学研究中, 蛋白质的变性与酶解样品处理是最重要的实验步骤。天然蛋白质是三维结构的形式, 为了将蛋白质高级结构的酶切位点暴露并与蛋白酶有效作用, 必需对蛋白质进行完全变性后还原烷基化, 并进行必要的酶促反应。常规变性剂尿素, 盐酸胍或SDS等对蛋白质变性后, 会对蛋白质进行一定的化学修饰, 如氨基甲酰化。造成多肽鉴定的影响与误差。而使用 **BT Surfactant** 活性剂避免修饰问题。

物理形态: 冻干粉

分子量: 393.28Da.

溶解液: 推荐使用PH 8.0缓冲液或超纯水复溶; 5mg BT Surfactant 加500ul 缓冲液即得1%溶液

储存条件: 冻干粉末存储在-20℃冰箱, 溶液储存在-80℃。有效期见产品标签

保质期: 溶液-80℃保存1年; 冻干粉-20℃长期

实验pH 值范围: PH7-9用于蛋白变性或酶促反应, PH2-4在溶液中会降解并沉淀

推荐使用方法: 样品中添加1-2% BT Surfactant活性剂用于蛋白样品的变性; 变性后样品在0.1% BT溶液中进行蛋白酶切实验

BT Surfactant浓度对蛋白酶活性影响:

BT 浓度<2%对Trypsin蛋白酶活性没有影响; <1%对Lys C蛋白酶活性没有影响; <1%对rPNGase F糖苷酶活性没有影响

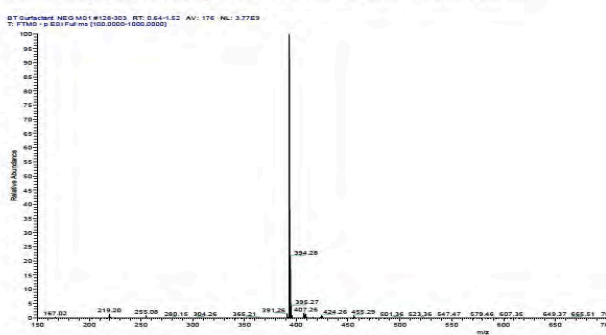
温度对产品的影响: 37℃保温4小时, BT降解质谱峰<1%; 95℃孵育10min, BT降解质谱峰<5%

质量控制 | Control

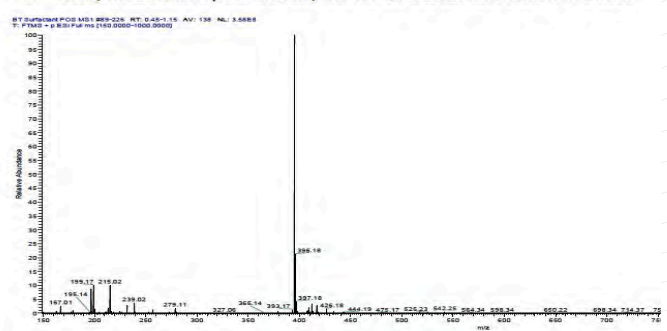
产品纯度: 产品纯度>99.9%。QE HF 超高分辨质谱ESI+ 离子检测杂质峰峰强度低于0.1%; ESI-离子检测杂质峰峰强度低于0.1%

可降解性: 0.1%BT Surfactant 活性剂在含0.2%甲酸PH3.0溶液中45℃温浴30min, QE HF 超高分辨质谱ESI-检测分子离子峰0.1%

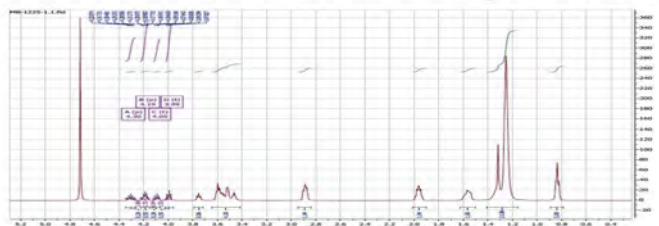
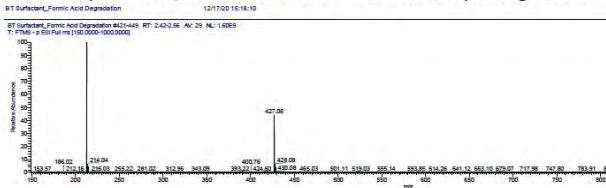
ESI- MS1/MS2 Mass Spec. for BT Surfactant Finish Product



ESI+ MS1/MS2 Mass Spec. and LC/MS for BT Surfactant Finish Product



ESI- Mass Spec. and LC/MS for BT Surfactant Finish Product by FA Degradation



QA经理签字:

产品信息 | Certification of Analysis

产品信息 | Certificate of Analysis

CAS: 61043-41-2

N-Glycan聚糖标签 | 质谱级

| 订货号 | 产品名称 | 包装 |
|-------------|----------|-------|
| HLS GLAB01W | N-聚糖标签-W | 4.5mg |
| HLS DMF001 | 无水DMF | 200ul |

说明: 用于N-linked糖蛋白 (包括抗体)经过PNGase F糖苷酶酶切后溶液中聚糖的超快速标记。标记后的聚糖具有灵敏的荧光和质谱离子化特性。使用LC-FLR or LC-MS的定量分析检测。该试剂独特的化学属性提供了更高的荧光定量和最高的质谱响应。

物理形态: 冻干粉 分子量: 427.1850Da. 分子式: C₂₁H₂₅N₅O₅

标记的糖胺的质量偏移数: +C₁₇H₂₀N₄O₂=312.3663Da

Labeled N-Glycan(Da) = Released N-Glycan + Glycan Label Reagent - Reaction by-product(C₄H₅N₁O₃, MW:115.0268) - H

聚糖标签溶解: 55ul无水DMF溶解4.5mg Glycan Label 即浓度=82ug/ul (现用现配)

无水DMF (HLS DMF001): 只用于聚糖标签干粉试剂的溶解和标记后样品的稀释

储存条件: 冻干粉存储在-20℃冰箱, 有效期见产品标签 **保质期:** 24月在-20℃

适用范围: 每瓶4.5mg标签试剂溶解后可以标记5个酶切后的聚糖样品

推荐的N-聚糖标记SOP:

- 取10ul 1.5 ug/ul mAb脱盐样品加入0.6ml低蛋白吸附离心管
- 加10ul 3% BT Surfactant w/5mM TCEP 变性还原缓冲液 (50mM HEPES, PH=7.9) 混匀;
- 干浴95°C 加热3min; 然后冷却至室温
- 加10ul 1.5 unit/ul rPNGase F糖苷酶 混匀, 干浴50°C 孵育15-30min。然后冷却至室温
- 加10ul 82 ug/ul Glycan Label标签试剂混匀, 室温反应5min。
- 加15ul 无水DMF; 加45ul 乙腈混匀。
- 标记后的N-聚糖样品用于LC-FLR or LC-MS检测分析

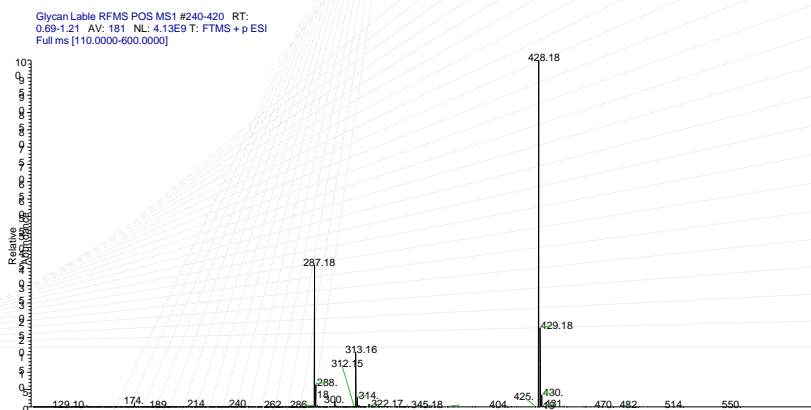
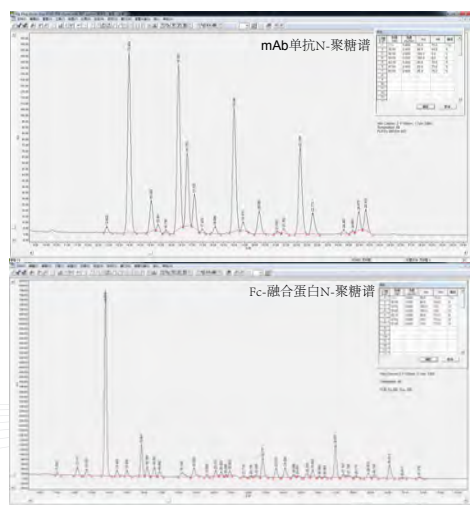
质量控制 | Quality Control

产品组分: 经LC色谱纯化, QE HF 超高分辨质谱分析, 试剂中N-聚糖标签: NHS化合物为3:2

标记效率: mAb抗体糖蛋白浓度为0.37ug/ul, N-聚糖浓度为20ug/ul标记PNGase F酶切15ug糖蛋白释放的N-聚糖, 标记效率99.5%

热稳定性: N-聚糖标签试剂在无水DMF室温下8小时稳定; 标记的糖胺在室温24小时稳定, 质谱电离耐热320℃

化学不稳定性: 亲和试剂SDS, Tris, DTT, 胺, 硫醇等浓度大于0.1mM不稳定。



QA经理签字:

产品信息 | Certification of Analysis

产品信息 | Certificate of Analysis

CAS(LC pH离子淌度试剂A): 1266615-59-1-1132-61-2

CAS(LC pH离子淌度试剂B): 2915-38-6-73463-39-5

mAB pH Gradient Buffer 离子淌度试剂 | 色谱专用

| 订货号 | 产品名称 | 包装 |
|-------------|--------------|-------|
| HLS PH01LCA | LC pH离子淌度试剂A | 6.1g |
| HLS PH01LCB | LC pH离子淌度试剂B | 6.65g |

产品说明: pH离子淌度试剂是一种创新的线性pH梯度离子交换洗脱试剂, 适用于mAb抗体, 糖蛋白, PTM修饰蛋白等通过离子交换色谱分离或纯化的通用流动相。在基于pH离子淌度试剂的离子交换色谱中, 起始缓冲液的pH值保持在恒定水平, 以确保带电荷蛋白质与固定相相反的电荷离子与其结合。通过线性改变缓冲液pH值来洗脱蛋白质, 使蛋白质转变为净零电荷并从柱中洗脱。

物理形态: 冻干粉

试剂成分: 每瓶含2.5mg BT Surfactant; 850mg NaCl; 和6g 磷酸盐

试剂溶解: 加500ml超纯去离子水溶解。

pH值确认: 在室温条件下, 使用pH酸度计确认pH值误差<0.2;必要时使用2M NaOH 或盐酸微调

洗脱液(mAb): PH Buffer A, pH=5.5; **洗脱液B(mAb):** PH Buffer B, pH=10.2

储存条件: 冻干粉存储在4°C冰箱, 有效期见产品标签; 溶液保存在4°C, 有效期1周

保质期: 在4°C条件下干粉保存24个月

pH线性范围: 在离子交换色谱柱 (IEX)中, pH 5.5 to pH 10.2线性相关系数大于0.99

推荐的mAb subunit or Intact Protein离子交换色谱条件:

Column: SCX, 10 μ m, 2.1 *250 mm or 2.1*50mm

Eluent A: 1X mAb PH Buffer A; pH 5.5

Gradient: 0-1min, 0% B; 1-31 min, 0-100%B;

Temperature: 30 °C

UV detection: 280 nm

Inject volume: 4 μ L

Flow rate: 0.3mL/min

Eluent B: 1X mAb PH Buffer B, pH 10.2

31-34 min, 100% B; 34-40 min, 0% B

FLR detection: Ex: 280,nm Em: 360nm

Load: 0.2 to 10 μ g

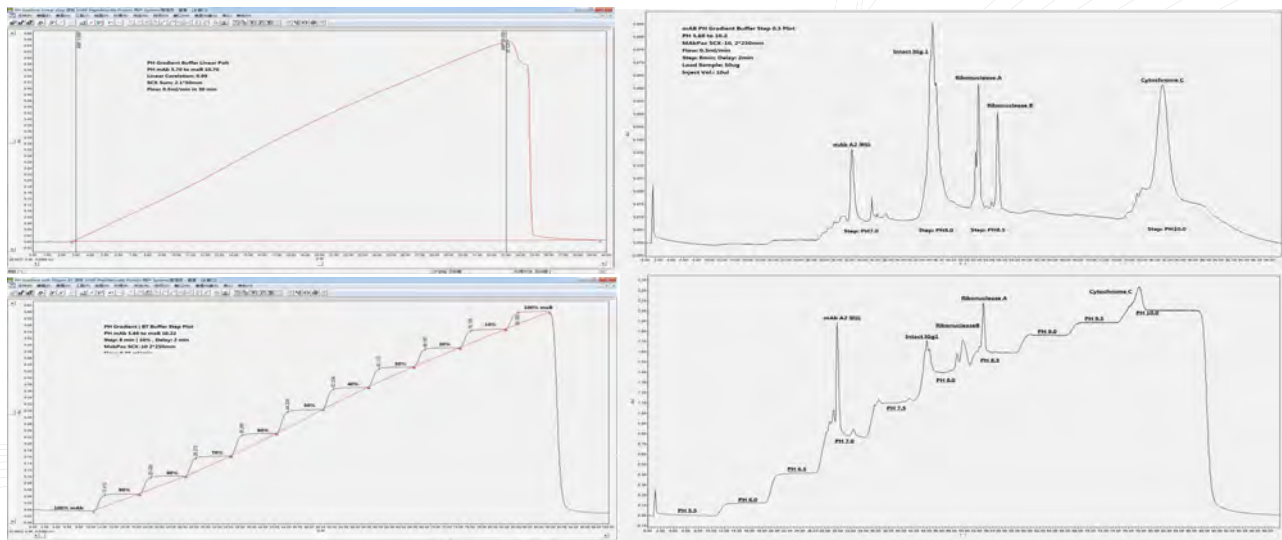
质量控制 | Quality Control

纯度: BT Surfactant为质谱级试剂, 其它为色谱纯试剂。液相色谱280nm检测吸光度<0.01

pH准确度: mAb pH Buffer A =5.5; maB pH Buffer B =10.2, 误差<0.2

pH洗脱线性: 无体积进样, 使用S CX离子交换色谱系统, 30 °C柱温, 在30min线性梯度, 2 25nm检测吸光度线性相关系数>

0.999 pH洗脱分离度: 使用5种pKa蛋白mAb 单抗, IGg a1, Ribonuclease A, Ribonuclease B and Cytochrome C线性洗脱分离度> 1



QA经理签字:

产品信息 | Certification of Analysis

产品信息 | Certificate of Analysis

CAS(MS pH离子淌度试剂A):6915-15-7-631-61-8

CAS(MS pH离子淌度试剂B):6915-15-7-631-61-8

mAB pH Gradient Buffer 离子淌度试剂 | 质谱专用

| 订货号 | 产品名称 | 包装 |
|-------------|--------------|-------|
| HLS PH01MSA | MS pH离子淌度试剂A | 0.60g |
| HLS PH01MSB | MS pH离子淌度试剂B | 1.50g |

产品说明: MS pH离子淌度试剂是一种有机盐线性PH值梯度离子交换洗脱试剂, 适用于mAb抗体, 糖蛋白, PTM修饰蛋白等通过离子交换色谱分离或纯化的通用流动相。在基于pH离子淌度试剂的离子交换色谱中, 起始缓冲液的pH值保持在恒定水平, 以确保带电荷蛋白质与固定相相反的电荷离子与其结合。通过线性改变缓冲液pH值来洗脱蛋白质, 可以实现IEX-MS联用系统分析。该离子对试剂在质谱电离时会自动降解, 不会有离子抑制现象。

物理形态: 干粉

试剂成分: 每瓶含0.3-1g 醋酸铵;0.2g 有机酸

试剂溶解: 加100ml超纯去离子水溶解。

mAB pH离子淌度试剂: 用色谱级浓氨水调节 MS pH试剂A: pH=5.5; MS pH试剂B: pH=8.5

洗脱液A(mAb): pH Buffer A, pH=5.5; 洗脱液B(mAb): pH Buffer B, pH=8.5

储存条件: 干粉存储在4℃冰箱, 有效期见产品标签; 溶液现用现配

保质期: 在4℃条件下, 干粉保存24个月

pH线性范围: 在离子交换色谱柱 (IEX)中, pH 5.5 to pH 8.5线性相关系数大于0.99

推荐的mAb subunit or Intact Protein离子交换色谱条件:

Column: SCX, 10µm, 2.1 *250 mm or 2.1*50mm **Flow rate:** 0.3mL/min

Eluent A: 1X mAb PH Buffer A: pH 5.5

Eluent B:1X maB PH Buffer B, pH 8.5

Gradient:0-1min, 0% B; 1-31 min, 0-100% B;

31-34 min, 100% B;

34-40 min, 0% B

Temperature: 30 °C

UV detection: 280 nm

FLR detection: Ex: 280,nm Em: 360nm

Inject volume: 4 µL

Load: 0.2 to 10ug

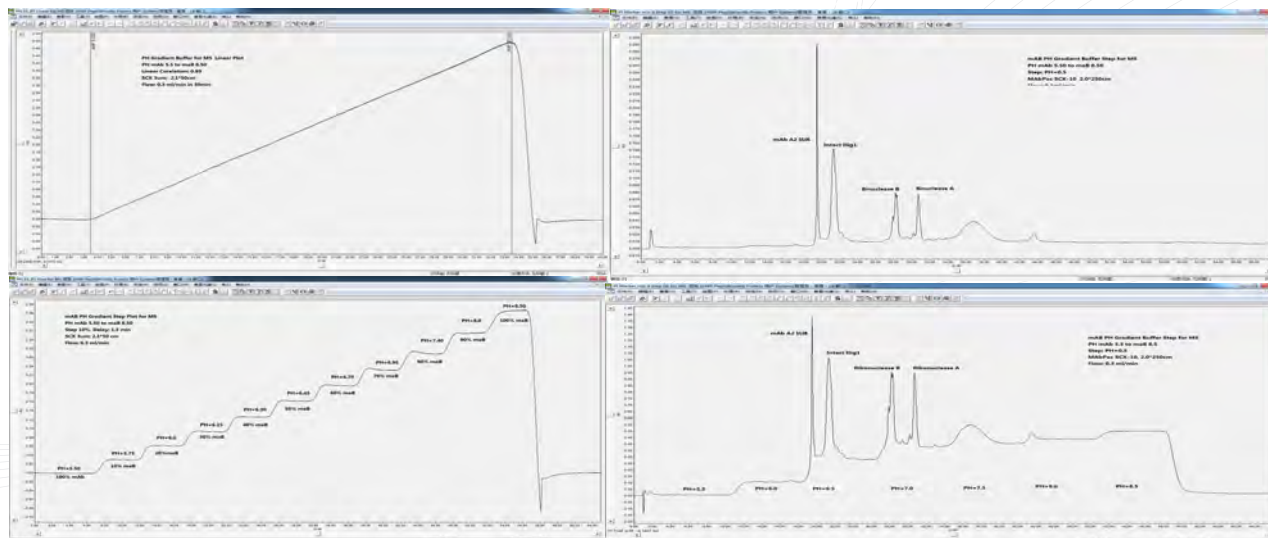
质量控制 | Quality Control

纯度: 色谱纯试剂。液相色谱280nm检测吸光度<0.01

pH准确度: mAb pH Buffer A =5.5; maB pH Buffer B =8.5, 误差<0.2

pH洗脱线性: 无体积进样, 使用SCX离子交换色谱系统, 30 °C柱温, 在30min线性梯度, 225nm检测吸光度线性相关系数>

0.999 pH洗脱分离度: 使用4种pKa蛋白mAb 单抗, IGg a1, Ribonuclease A, Ribonuclease B线性洗脱分离度> 1



QA经理签字:



北京生夏蛋白
BEIJING LIFE PROTEOMIC



实验科学 服务领先

冯 钰

销售总监

生命科学实验室

北京生夏蛋白技术有限公司

北京市顺义区竺园二街2号院3号楼101

邮编：101300

电话：+86 139 1067 9882

传真：+86 10 8042 7532

邮箱：yu.feng@coowins.com