

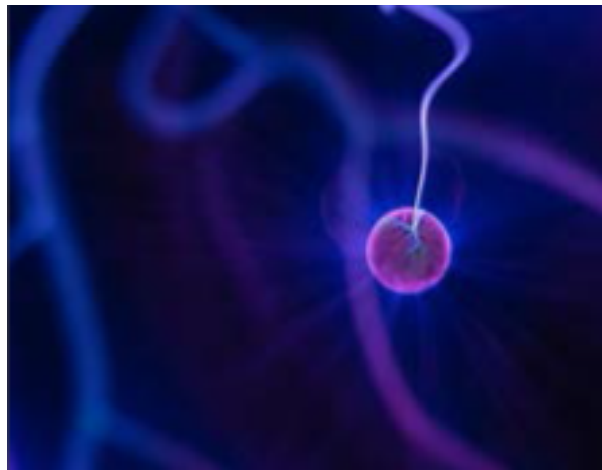
样品前处理

eFASP 新技术

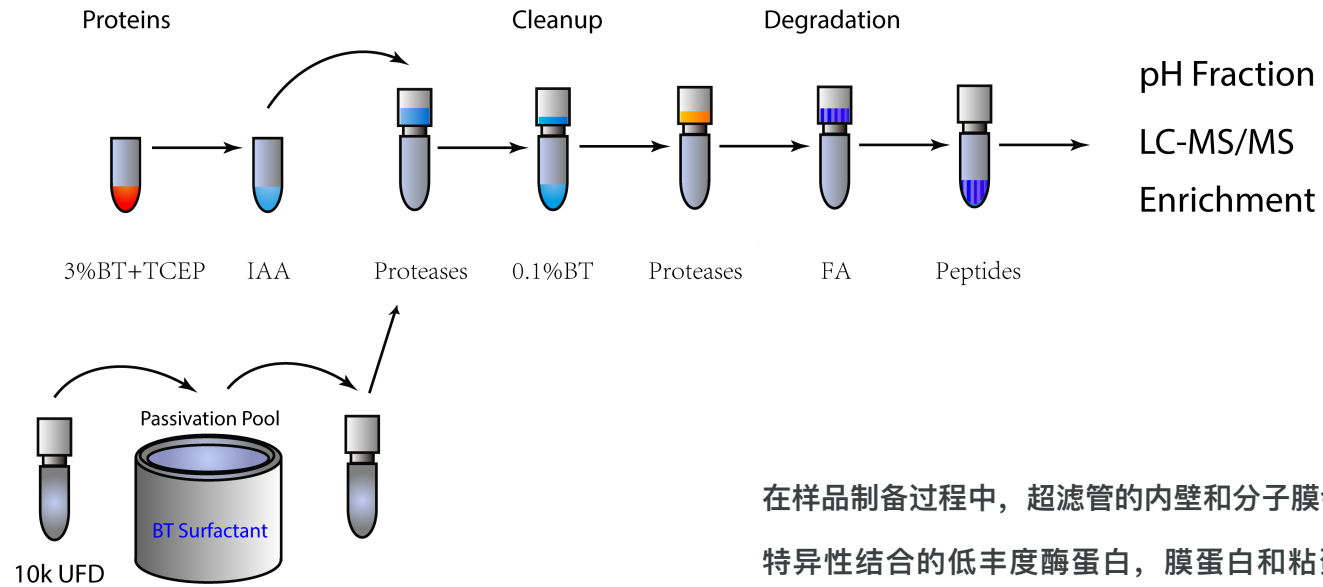
核心试剂：BT 表面活性剂

Trypsin; Lys C蛋白酶； PNGase F糖苷酶

蛋白组学 | 生物制药 | 精准医学



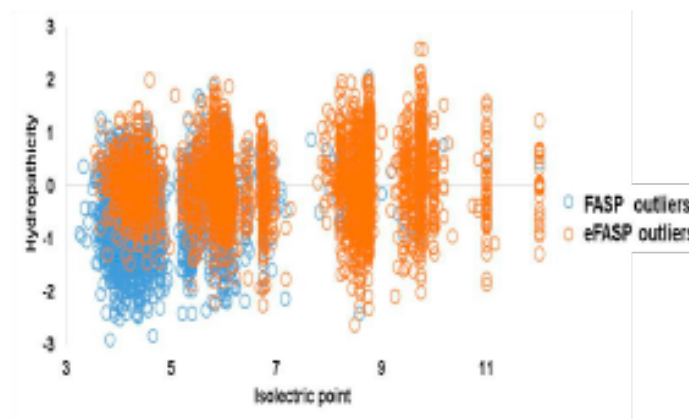
定量蛋白质组学和生物制药抗体抗体表征以及HCP研究的完整性取决于所使用的蛋白质提取、变性、酶解和多肽脱盐方法的重复性和回收率。常规变性剂，还原烷基化试剂及缓冲液的使用可以成功使蛋白大分子转变为多肽小分子用于LC-MS定性定量分析；然而，样品中含有的盐、核酸和脂类。



随后去除这些污染物和人为添加的变性剂（SDS、尿素，盐酸胍和还原试剂）的常规方法会导致大量PTM修饰肽损失，回收率低和重复性差。这里介绍一种eFASP方法，该方法是基于质谱级表面活性剂和无盐蛋白酶而开发验证的。提高了灵敏度、回收率，多肽的覆盖率。速度快，方法标准化。

在样品制备过程中，超滤管的内壁和分子膜会非特异性结合的低丰度酶蛋白，膜蛋白和粘蛋白质，这对使用少量样品的分析特别不利，非特异性结合是 FASP 估计50% 样品损失的主要因素。采用BT 表面活性剂和0.1%DCA处理后的超滤管表面可以在不影响 LC-MS/MS分析的情况下提高微克样品蛋白的回收率。

超滤管 钝化和膜处理



蛋白变性和酶消化

质谱兼容BT表面活性剂用于溶液中蛋白质的提取、溶解和消化。3%BT Surfactant在高温条件下可快速使紧密折叠的蛋白质变性，特别是含有疏水性跨膜的蛋白质以及与细胞质或细胞质和外膜相关的蛋白质。这种表面活性剂在蛋白质变性能力溶解效率方面的性能与十二烷基硫酸钠 (SDS) 相当。

在PH8.0 ABC或HEPES 缓冲液中，加0.1% BT Surfactant在低温条件下可快速进行酶切反应，并最大限度地提高蛋白质回收率和消化效率。酶切后的BT Surfactant 可以在酸性条件下加热快速降解，对LC-MS/MS分析和后期PTM修饰肽富集没有任何影响。

eFASP 方法结合BT Surfactant表面活性剂，可定量提高处理样品的灵敏度、回收率和蛋白质组学覆盖率。提高了蛋白质和肽的鉴定以及蛋白质序列覆盖率。适用于生物制药抗体的表征，HCP杂质的分析，蛋白质组学研究和临床精准医学诊断。