

整合的蛋白质组解决方案 I

—从蛋白质分离到鉴定



Sample & Assay Technologies

Qproteome Kit — 蛋白分类抽提试剂盒

蛋白质组学指的是以基因组所表达的全部蛋白质。目前蛋白质组学分析面临的重大问题是蛋白样本的高度复杂性。低丰度蛋白，细胞器蛋白，翻译后修饰蛋白的纯化与定量尤其困难。

QIAGEN在蛋白质制备方面为客户考虑得面面俱到，基本上囊括了目前客户所关注的各种问题。根据蛋白的细胞定位性质，翻译后修饰性质，物理化学性质以及样本来源的特殊性等原则开发出了不同的蛋白质抽提试剂盒。其优点在于：

- 通过特定的分离技术，降低蛋白样本的复杂性 – 有效分离目标亚群蛋白
- 制备保持天然构象的活性蛋白 – 可用于酶活分析和其他蛋白活性检测
- 特异性高，纯度高 – 最大程度避免其他细胞组分蛋白的污染
- 试剂盒的标准化操作 – 结果可靠，重现性好

Albumin/IgG Depletion Facilitates Analysis of Low-Abundance Proteins

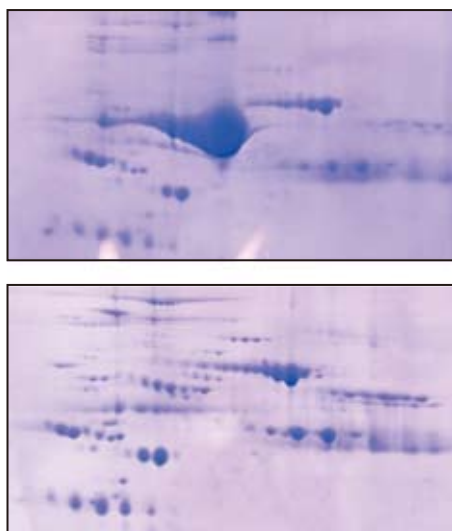


Figure 1 Coomassie® stained 2-D PAGE gels showing non-depleted (upper panel) and depleted (lower panel) plasma samples.

人血清/血浆中高丰度蛋白去除试剂

Albumin/IgG Depletion Resins

Albumin/IgG Depletion Resins目前提供离心柱，96孔板，以及FPLC兼容的预装柱三种规格，适用于人的血清或血浆样本。

- 高效去除人血清和血浆样本中的白蛋白和IgG，方便后续低丰度蛋白分析(Figure 1)
- 使用固定的单克隆抗体高特异性的去除Albumin/IgG
- Qproteome Albumin/IgG Depletion Kit: 一次处理样本量达到25 μ l, 可得到0.5–0.8 g不含白蛋白与IgG的血清或血浆蛋白
- Albumin/IgG Depletion Cartridge: ^{NEW} 预装1 ml单克隆抗体，一次可处理150 μ l血清/血浆，可得到3.0 – 4.8 g不含白蛋白与IgG的血清或血浆蛋白。预装柱可以重复使用5次，降低成本。
- Qproteome Albumin/IgG Depletion Plate: ^{NEW} 每次可以处理96 \times 5 μ l样本，每孔可以得到70 μ g低丰度蛋白，适合高通量应用

鼠血清/血浆中白蛋白去除试剂

Albumin Depletion Resins

Albumin Depletion Resins目前提供离心柱以及FPLC兼容的预装柱两种规格，适用于鼠的血清/血浆样本。

- 高效去除鼠血清和血浆中白蛋白，方便后续低丰度蛋白分析(Figure 2)
- 使用固定的单克隆抗体高特异性的去除高丰度蛋白
- Qproteome Murine Albumin Depletion Kit: 采用离心柱方式，一次处理样本量达到25 μ l，可得到0.2 – 0.3 g(小鼠)，0.5 – 0.7 g(大鼠)不含白蛋白的血清或血浆蛋白
- Albumin Affinity Cartridge: 预装1 ml单克隆抗体，一次可处理150 μ l样本，可得到1.2 – 1.8 g(小鼠)，3.0 – 4.2 g(大鼠)不含白蛋白的血清或血浆蛋白

Albumin Depletion Facilitates Analysis of Low-Abundance Proteins

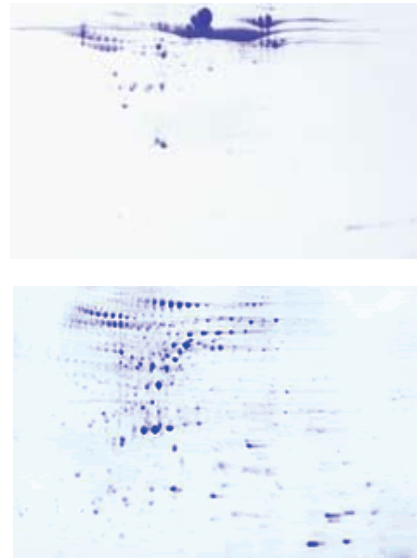
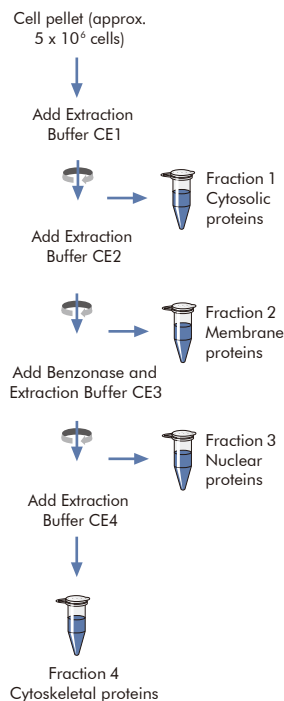


Figure 2 Coomassie stained 2D PAGE gels showing non-depleted(upper panel) and depleted (lower panel) plasma samples

Cell Compartment Kit Fractionation Procedure



根据蛋白亚细胞定位进行分离

Qproteome Cell Compartment Kit

- 根据蛋白的亚细胞定位来高效分离蛋白
- 在进一步纯化和分析之前对特定的细胞器蛋白亚群进行富集
- 得到四个蛋白组分：胞质蛋白，膜蛋白，核蛋白，细胞骨架蛋白
- 可用于在不同的细胞生长状况下对蛋白的细胞内定位进行监测

Reproducible, Efficient Separation of Marker Proteins

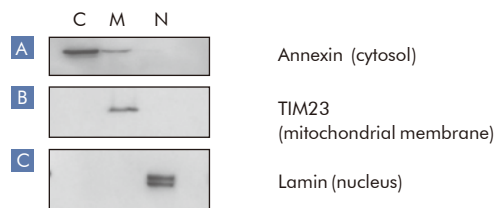


Figure 3 Western blots of fractionated NIH 3T3 cells. Protein (20 μ g) from the cytosolic (C), membrane (M), and nuclear (N) fractions was separated by SDS-PAGE. After Western blotting, proteins specific to each fraction were detected using **A** annexin, **B** TIM23, and **C** lamin antibodies, and an HRP-conjugated secondary antibody with chemiluminescent detection.

Mitochondrial Fractions Virtually Free of Cross-Contamination

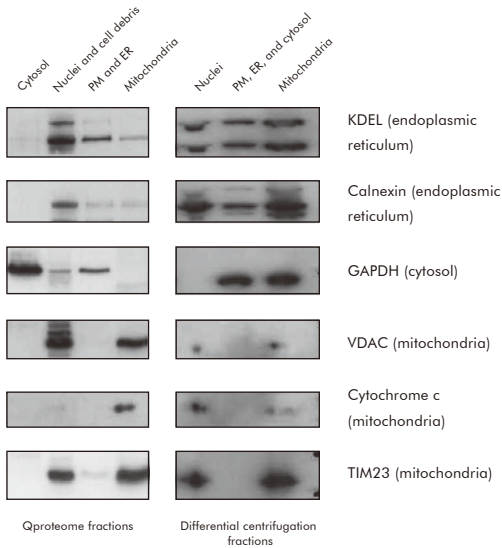


Figure 4 Western blots of mitochondrial preparations probed with antibodies specific for organelle-/cell-compartment specific marker proteins. PM: plasma membrane; ER: endoplasmic reticulum.

线粒体分离

Qproteome Mitochondria Isolation Kit

- 适用于组织/细胞样本
- 制备高纯度线粒体组分，最大程度的减少来自于其他细胞组分(如胞浆)的蛋白质污染
- 制备得到的线粒体结构完整，具有活性
- 标准化的操作带来高度重复的分离结果
- 试剂盒操作方便快捷，无需超速离心机和额外试剂

对细胞器标志性蛋白的分析显示，与差速离心法的结果相比，Qproteome Mitochondria Isolation Kit分离得到的线粒体具有更高的纯度 (Figure 4)。最大程度的减少了来自于其他细胞结构，特别是胞浆蛋白质的污染，对于后续低丰度蛋白的分析带来极大的便利。温和的操作步骤可以得到完整的线粒体结构，其完整性可以通过对于荧光染料的吸收性来验证。

质膜蛋白分离

Qproteome Plasma Membrane Protein Kit

- 分离高纯度质膜蛋白组分，最大程度的减少来自于其他细胞组分的蛋白质污染
- 得到有活性的质膜蛋白
- 标准化的操作带来高度重复的分离结果
- 试剂盒操作方便快捷，无需超速离心机和额外试剂

首先通过低渗缓冲液使质膜，高尔基体和内质网等形成微囊体，然后通过特异性结合质膜的配基和相应的磁珠可以分离得到高纯度的质膜组分。最大程度的减少了来自于其他细胞结构蛋白质的污染，对于后续低丰度蛋白的分析带来极大便利 (Figure 5)。和其他方式不同的是，Qproteome Plasma Membrane Protein Kit不需要对表面蛋白进行生物素标记，因此可以保持蛋白质的天然构象和生物学活性。起始样本量为 1×10^7 个细胞，可得到约 30 – 100 μg 的质膜蛋白。

Plasma Membrane Fractions free from Cross-Contamination

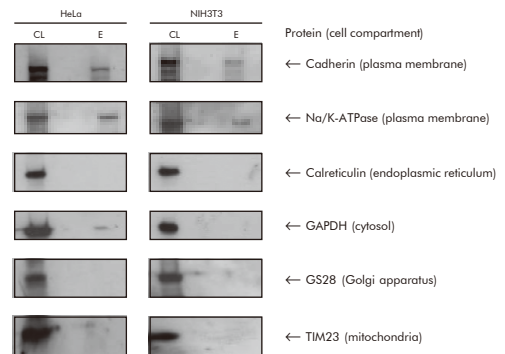
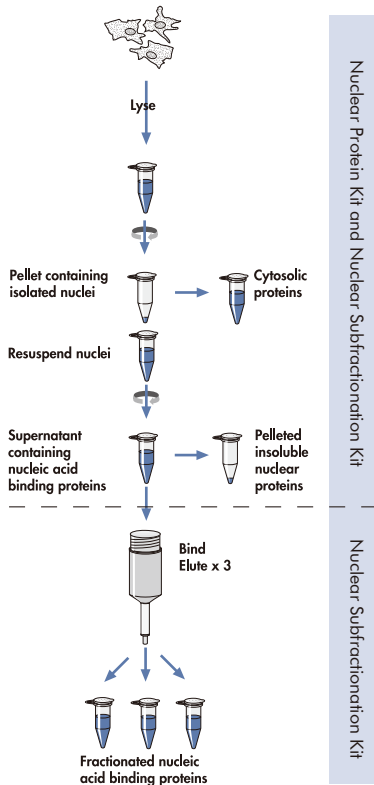


Figure 5 Plasma membrane proteins were purified from either HeLa or NIH3T3 cell cultures using the Qproteome Plasma Membrane Protein Kit. Cell lysates (CL) and elution fractions (E) were separated by SDS-PAGE and transferred to a nitrocellulose membrane by western blotting. Proteins regarded as markers for different cell compartments were detected using protein-specific antibodies and an HRP-conjugated secondary antibody with chemiluminescent detection.

Qproteome Nuclear Protein Procedure



核蛋白分离

核蛋白特别是核酸结合蛋白（e.g., 转录因子）的研究对于基因组调控机理和功能的研究有着非常重要的意义，这些核酸结合蛋白种类繁多 (>1000)，但是丰度很低，这就需要在分析之前对它们进行进一步细分以降低样本复杂程度，提高低丰度蛋白的检出率。

Qproteome Nuclear Protein Kit

- 适用于组织/细胞样本
- 从胞质蛋白中富集高纯度的核蛋白，可用于活性检测
- 获得三个组分，胞质蛋白，可溶的核蛋白，不可溶的核蛋白

Qproteome Nuclear Subfractionation Kit

- 富集不含胞质蛋白的高纯度的核蛋白组分
- 获得三个组分，胞质蛋白，核酸结合蛋白，不可溶的核蛋白
- 对核酸结合蛋白进一步进行细分，获得三个洗脱组分，进一步降低样本的复杂程度

磷酸化蛋白纯化

PhosphoProtein Purification Kit PhosphoProtein Purification Cartridge

专为细胞/组织裂解液中磷酸化蛋白的纯化而设计的系统，利用亲和层析技术来高特异性的分离磷酸化与非磷酸化蛋白，可得到保持有生物活性的蛋白。高效率高特异性的分离能有效简化细胞磷酸化状态和特殊蛋白磷酸化状态的研究。

- 适用于组织/细胞样本
- 完全分离磷酸化与未磷酸化蛋白—提供最好的分离特异性(Figure 6)
- PhosphoProtein Purification Kit: 包括纯化柱、试剂、缓冲液和超滤柱（用于蛋白的浓缩和脱盐处理）
- PhosphoProtein Purification Cartridge: 提供5 ml预装柱，方便大规模纯化磷酸化蛋白
- 简化磷酸化研究，研究细胞信号传导无需同位素标记

Highly Specific Separation of Phosphorylated Proteins

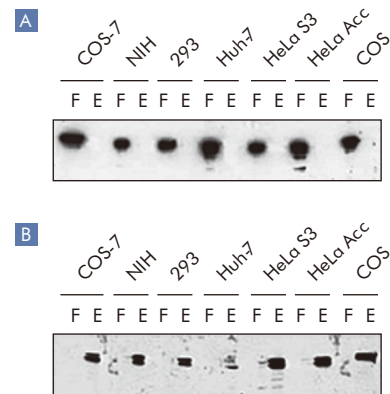


Figure 6 Protein-specific immunodetection of **A** unphosphorylated HSP-60 protein, and **B** phosphorylated p44 and p42 mitogen-activated protein kinase (MAPK) proteins. F: flow-through; E: eluate fractions. The antibody used to detect MAPK recognizes an epitope containing phosphorylated residues at Thr202 and Tyr204 in the p44 (upper band) and p42 (lower band) MAPK amino acid sequences. The absence of unphosphorylated HSP-60 in the eluate fraction and the absence of phosphorylated MAPK in the flow-through fraction demonstrate the complete separation of phosphorylated proteins using the PhosphoProtein Purification Kit.

Highly Specific Glycoprotein Fractionation Using Lectin Spin Columns

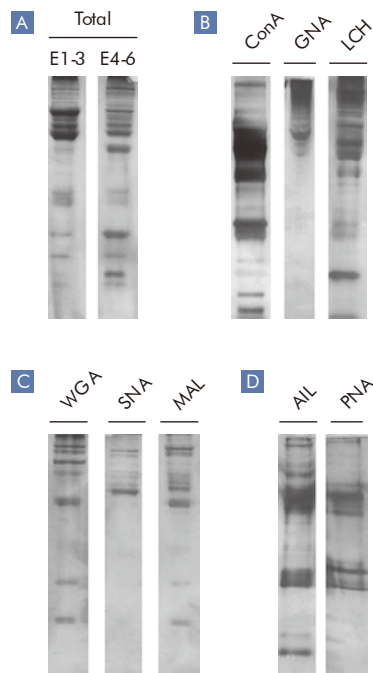


Figure 7 Glycoproteins were fractionated from serum using the different lectin spin columns in glycoprotein fractionation kits and analyzed by SDS-PAGE followed by silver staining. **A** Elution steps 1–3 and 4–6 from Total Lectin Spin Columns in the Total Glycoprotein Kit. **B** Eluted glycoproteins from ConA, GNA, and LCH Spin Columns in the Mannose Glycoprotein Kit. **C** Eluted glycoproteins from WGA, SNA, and MAL Spin Columns in the Sialic Glycoprotein Kit. **D** Eluted glycoproteins from AIL and PNA Spin Columns in the O-Glycan Glycoprotein Kit.

从 FFPE 组织中制备蛋白

Qproteome FFPE Tissue Kit Qproteome FFPE Tissue 2D PAGE Kit ^{NEW}

- 有效从福尔马林，石蜡包埋组织中抽提蛋白，抽提效率与冻存组织相当(Figure 8)
- 确保得到全长蛋白,翻译后修饰蛋白，膜蛋白等 – 适合2D PAGE，Western Blotting, LC – MSMS, ELISA 及Protein Arrays 分析
- 起始样本量少 – 一次制备样本量范围为 25 mm²到2 – 3X100 mm² FFPE 组织

糖蛋白分类抽提试剂

Qproteome Glycoprotein Kit and Lectin Cartridges

Qproteome Total Glycoprotein Kit: 富集总糖基化蛋白，试剂盒中提供一种凝集素树脂柱，柱上同时固定有ConA和WGA两种凝集素。

Qproteome Mannose Glycoprotein Kit: 富集富含甘露糖的糖基化蛋白，试剂盒中提供三种凝集素树脂柱，分别固定有ConA，GNA，LCH。

Qproteome Sialic Glycoprotein Kit: 富集富含唾液酸的糖基化蛋白，试剂盒中提供三种凝集素树脂柱，分别固定有WGA，SNA，MAL。

Qproteome O-Glycan Glycoprotein Kit: 富集T-抗原型糖基化蛋白，试剂盒中提供两种凝集素树脂柱，分别固定有AIL和PNA。

Lectin Cartridges: 预装各种凝集素树脂，分别固定ConA，LCH，GNA，WGA，SNA，MAL，AIL，PNA，适用于利用FPLC进行大规模纯化，目前提供提供1 ml，5 ml两种规格。

原理：

糖蛋白分类抽提试剂起始样本可以为细胞，组织，血清。利用凝集素可以特异的和糖基进行可逆结合的特性，来对不同的糖蛋白进行分类抽提。

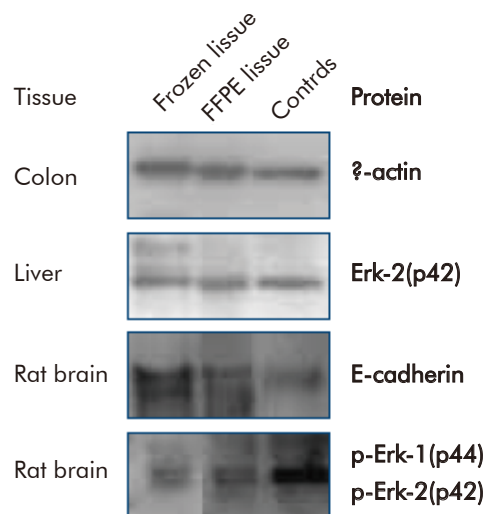


Figure 8 Protein yields from FFPE tissues using the Qproteome kit are comparable to these from frozen material. Protein yields from frozen and FFPE tissues were compared by processing material in parallel, separation by SDS-PAGE, and western blotting. Controls were lysates from SW480 colorectal adenocarcinoma cells (colon), Huh7 human hepatoma cells (liver), or SH-SY5Y neuroblastoma cells (rat brain).

Qproteome Kits 系列产品选择指南

Qproteome 试剂盒	制备蛋白类型	起始样本量/次	制备组分/次	货号
Bacterial Protein Prep Kit (4.5L菌液)	可溶性细菌蛋白	25 ml 培养液/ml裂解液	可溶性细菌蛋白	37900
Mammalian Protein Prep Kit (100)	哺乳动物细胞总蛋白	5 - 10 × 10 ⁶ 个细胞或40 mg组织/ml裂解液	哺乳动物细胞总蛋白	37901
Soluble Protein Separation Kit (10)	全部蛋白	10 ⁶ - 10 ⁷ 个细胞或500 μl蛋白样本 (蛋白总量0.5 - 4 mg)	蛋白总量0.5 - 4 mg, 按照蛋白溶解性不同, 将总蛋白分为6个组分	37512
Cell Compartment Kit (10)	细胞器/亚细胞器定位特异性蛋白	5 - 10 × 10 ⁶ 个细胞或20 mg组织	蛋白总量0.5 - 1 mg, 按照蛋白亚细胞定位的不同, 分为胞浆, 细胞膜, 细胞核与细胞骨架4个组分	37502
Nuclear Subfractionation (6)	核蛋白	5 × 10 ⁶ - 1 × 10 ⁷ 个细胞或20 mg组织	蛋白总量1.5 - 2.5 mg, 分为胞质蛋白, 不溶的核蛋白 (如组蛋白) 和核酸结合蛋白, 核酸结合蛋白又可以细分为三个组分 (50 - 100 μg)	37531
Nuclear Protein Kit (12)	核蛋白	5 × 10 ⁶ - 1 × 10 ⁷ 个细胞	蛋白总量1.5 - 2.5 mg, 分为胞质蛋白, 不溶的核蛋白 (如组蛋白) 和核酸结合蛋白	37582
Mitochondria Isolation Kit (12)	完整, 活性线粒体	5 × 10 ⁶ 个细胞 60 mg (liver and heart) 20 mg (brain)	约20 - 80 μg蛋白	37612
Plasma Membrane Protein Kit (6)	质膜蛋白	1 × 10 ⁷ 个细胞	约30 - 100 μg质膜蛋白	37601
FFPE Tissue Kit (20)	从福尔马林固定, 石蜡包埋组织中高效抽提全长蛋白	2 - 3份, 10 - 15 μm厚度, 每份100 mm ² , 最少为25 mm ²	25 - 80 μg蛋白	37623
FFPE Tissue Kit (100)		25 - 80 μg蛋白	37625	
FFPE Tissue 2D PAGE Kit	从福尔马林固定, 石蜡包埋组织中高效抽提蛋白,用于2D PAGE	2 - 3份, 10 - 15 μm厚度, 每份100 mm ² , 最少为25 mm ²	80 - 150 μg蛋白	37633
Total Glycoprotein Kit (6)	全部糖基化蛋白	10 ⁷ 个细胞	依据不同的凝集素柱,	37541
Mannose Glycoprotein (6)	糖基化蛋白 (富含甘露糖)	50 μl血清	得到20 - 150 μg糖基	37551
Sialic Glycoprotein Kit (6)	糖基化蛋白 (富含唾液酸)	10 mg组织	化蛋白	37561
O-Glycan Glycoprotein Kit (6)	糖基化蛋白 (富含T-抗原)	100 μl血清 10 ml细胞悬浮液	依据不同的凝集素柱, 得到150 - 1000 μg糖基化蛋白	Varies
Lectin Cartridges	依据凝集素种类, 分离不同糖基结构蛋白	100 μl血清 10 ml细胞悬浮液	依据不同的凝集素柱, 得到150 - 1000 μg糖基化蛋白	Varies
Albumin/IgG Depletion Kit (6)	人血清和血浆蛋白	25 μl人血清或血浆	0.5 - 0.8 mg不含白蛋白与IgG的血清或血浆蛋白	37521
Albumin/IgG Depletion Cartridge (3)	人血清和血浆蛋白	150 μl人血清或血浆	3.0 - 4.8 mg不含白蛋白与IgG的血清或血浆蛋白	37003
Qproteome Albumin/IgG Depletion Plate	人血清和血浆蛋白	5 μl人血清或血浆	70 μg不含白蛋白与IgG的血清或血浆蛋白	37009
Murine Albumin Depletion Kit (6)	鼠血清和血浆蛋白	25 μl鼠血清或血浆	0.2 - 0.3 mg (小鼠), 0.5 - 0.7 mg (大鼠) 不含白蛋白的血清或血浆蛋白	37591
Albumin Affinity Cartridge	鼠血清和血浆蛋白	150 μl鼠血清或血浆	可结合6 mg白蛋白, 得到1.2 - 1.8 mg (小鼠), 3.0 - 4.2 mg (大鼠) 不含白蛋白的血清或血浆蛋白	37013
Phosphoprotein Purification Kit (6)	磷酸化蛋白	1 × 10 ⁷ 个细胞或30 mg组织	可获得175 - 375 μg磷酸化蛋白 (最多500 μg)	37101
Phosphoprotein Purification Cartridge	磷酸化蛋白	5 × 10 ⁷ 个细胞或150 mg组织	可获得1.5 mg磷酸化蛋白	37145

整合的蛋白质组解决方案 I

凯杰生物技术（上海）有限公司

电话：+86-21-3865 3865

技术支持热线：800-988-0325

china@qiagen.com

www.qiagen.com

