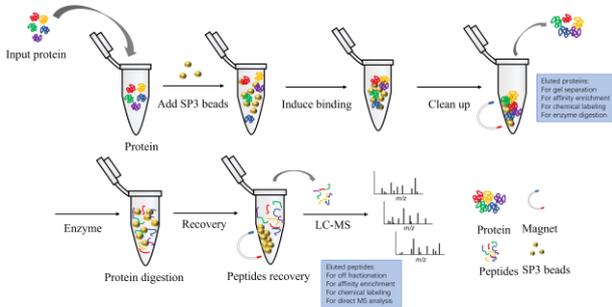


ChomiX®-Magbeads SP3 蛋白质组预处理磁珠

产品原理



SP3 磁珠辅助的蛋白质组预处理 (蛋白沉淀, 除盐, 肽段回收)

产品规格

产品货号	规格/ml	批次
02030010A	0.2	N/A
02030010B	1	N/A
02030010C	5	N/A
02030010D	10	N/A

产品特点

本产品是基于亲水捕获机制, 类似于亲水相互作用色谱 (HILIC), 利用亲水性基团修饰的磁珠, 实现溶液中的蛋白质和多肽的高效回收。SP3 (single-pot, solid-phase-enhanced sample-preparation) 是一种基于顺磁颗粒的蛋白质组预处理工作流程, 通过有机溶剂乙醇或乙腈驱动驱动蛋白在羧基或其它亲水性磁珠表面被捕获^[1]。蛋白质通过亲水相互作用机制与磁珠结合, 结合了蛋白的磁珠被束缚在溶剂化层, 可冲洗去除不需要的污染物, 然后在一定条件下洗脱纯化的蛋白质。利用该机制, SP3 磁珠可实现蛋白质和多肽的无偏回收、与大量化学

物质 (如洗涤剂、离液剂和盐) 兼容, 已被广泛应用于蛋白质组学样品预处理实验中。相比于蛋白质组学中常用的预处理方法, 例如甲醇-氯仿沉淀, 丙酮沉淀, 过滤辅助样品制备 (FASP) 等, SP3 磁珠法具有以下优点。(1) 简单, 成本低, 仅需磁力架和样品管, 所有步骤都在单管中完成; (2) 快速, 整个蛋白质沉淀、洗涤、除盐及洗脱步骤, 仅需 20min; (3) 接近 100% 回收率, 基于亲水互作机制, 在实验条件下, SP3 磁珠能够无偏回收蛋白质; (4) 适用体系广, 能够适合多种缓冲盐体系, 不同物种及不同蛋白量。

目前, 基于 SP3 方法的蛋白质组学应用案例层出不穷, 均使用两种具有不同亲水性的磁珠混合物产品。ChomiX 开发的该产品仅由一款磁珠构成, 通过对磁珠表面进行功能性羧基修饰, 能够定量性的分离纯化蛋白及多肽, 经过多次实验测试, 与已报道产品相比, 结果一致。同时, 该产品的使用与文献方法一致, 兼容 2%SDS, 8M urea 等多种缓冲溶液。

产品信息	规格
载体组成	聚苯乙烯, 纳米氧化铁
粒度范围	~1 μ m
产品浓度	50 mg/ml
储存液	H ₂ O
储存条件	4°C

使用说明

蛋白质沉淀分离, 制备蛋白质组学样品

1. 在 1.5ml 样品管中加入 10 μ g 蛋白质组 (1mg/ml);
2. 还原烷基化后, 补加 4.9 μ L 裂解液, 至溶液终体积 16 μ L;
3. 取 2 μ L SP3 磁珠 (50mg/mL), 每次加入 10 μ L H₂O 洗涤 3 次, 然后加入 4 μ L H₂O, 磁珠浓度为 25mg/mL。将 4 μ L 磁珠溶液加入蛋白溶液中 (磁珠: 蛋白质 = 10:1), 终体积 20 μ L, 然

后加入 20 μ L 无水乙醇（乙醇终浓度 50%），轻轻混匀（此时溶液粘度较大，推荐用手指轻弹管壁，勿用枪头吹打，尽可能减少挂壁），将样品管放置在混匀仪上，1000rpm，室温震荡 10min（磁珠越分散，表明蛋白结合越好）；

4. 将样品管置于磁力架上，静置 2min，待磁珠与溶液完全分离后，去除上清；

5. 加入 180 μ L 80%乙醇水溶液，轻晃样品管清洗。将样品管置于磁力架上，静置 2min 待磁珠与溶液完全分离后，去除上清；重复该步骤 2 遍。

6. 清洗完成后，轻轻离心，尽可能去除上清，保持磁珠湿润状态，加入蛋白上样缓冲液，将蛋白洗脱，用于凝胶电泳检测分析；

7. 或者直接在样品管中加入酶切溶液（50 μ L NH₄HCO₃ 和 Trypsin 混合溶液），将样品管放置在混匀仪上，1500rpm，37 $^{\circ}$ C 震荡 14-16h。

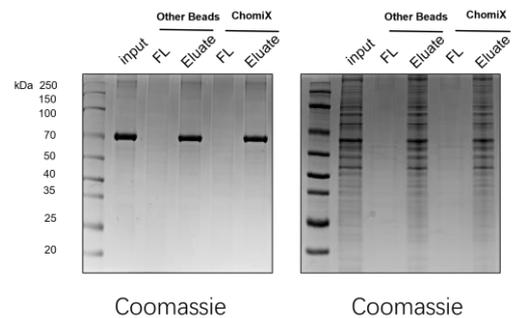
8. 轻轻离心，将样品管置于磁力架上，静置 2min，待磁珠与溶液完全分离后，取出上清；并用 50 μ L H₂O 洗涤两次，合并上清，加入甲酸，终浓度 1%，即获得肽段样品，可以直接进行质谱分析。

应用案例

将该磁珠产品与文献^[1]使用的 SP3 磁珠进行比较，对单一纯化蛋白和蛋白质组分别进行沉淀洗脱，考马斯亮蓝比较蛋白回收效率。

在 1.5ml 样品管中加入 100 μ g BSA 溶液（1mg/ml，50 mM HEPES (pH 8.5)，1% SDS，50 mM NaCl，5 mM DTT，1% (w/v) glycerol）；还原烷基化后，补加 49 μ L 裂解液，至溶液终体积 160 μ L；取出 10 μ g (16 μ L) BSA 溶液，加入 4 μ L 5X 蛋白上样缓冲液，加热后作为 Input。另外取出 10 μ g (16 μ L) BSA 溶液，按

照上面的磁珠使用方法，加入 SP3 磁珠（磁珠：蛋白质 = 10:1），50%乙醇诱导蛋白沉淀，将样品管置于磁力架上，静置 2min，待磁珠与溶液完全分离。取出上清，旋干，将样品重悬于 20 μ L 1X 蛋白上样缓冲液，加热后作为 Flow-through (FL)。将带有蛋白的磁珠重悬于 20 μ L 1X 蛋白上样缓冲液，加热后作为 Eluate。将上述样品进行 SDS-PAGE 分离，并进行考马斯亮蓝染色，比较蛋白质回收效率。



SP3 磁珠辅助的单一蛋白 BSA（左图）和蛋白质组（右图）沉淀分离结果。考马斯亮蓝染色显示溶液中的蛋白质几乎能够被 100%回收。本产品与其它品牌产品比性能一致。

注意事项

- (1) 磁珠取用前应充分上下混匀，防止取用改变磁珠浓度，避免长时间超声对磁珠表面破坏；
- (2) 磁珠使用前请进行磁分离并用纯水或缓冲溶液清洗 2-3 遍，清洗后请尽快使用，避免长时间保存；
- (3) 本产品为常温运输，建议 4 $^{\circ}$ C 长期密封保存，保质期 48 个月，禁止冷冻，使用前请充分混匀，使用过程中避免冻融；
- (4) 本产品仅限于专业人员的科学研究用，不得用于临床诊断或治疗，不得用于食品或药品。

参考文献

- (1) Single-pot, solid-phase-enhanced sample preparation for proteomics experiments. Nat. Protoc. 2019, 14, 68-85.