

# 碧云天蛋白质组学服务

## Proteomics Services by Beyotime



碧云天  
Beyotime



碧云天网站



微信公众号

碧云天生物技术/Beyotime Biotechnology

订购热线: 400-168-3301或800-8283301

技术咨询: info@beyotime.com

技术服务: service@beyotime.com

网址: <http://www.beyotime.com>

# 碧云天蛋白质组学技术服务

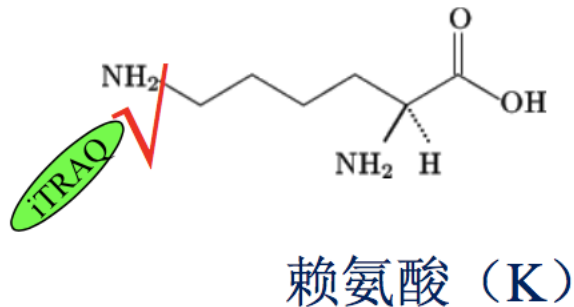
## iTRAQ标记定量原理

- iTRAQ(isobaric tags for relative and absolute quantitation, 同位素标记相对与绝对定量)技术是由ABI公司开发, 其标签试剂可与氨基 (包括氨基酸N端及赖氨酸侧链氨基)反应实现连接, 标记通量分为4标和8标。
- 在一级质谱中, 不同来源的相同肽段被连接上总质量相同的完整 iTRAQ标签试剂, 具有相同质荷比, 表现为一个峰。
- 在二级质谱中, iTRAQ标签试剂在不同基团连接处发生断裂, 试剂中报告基团表现信号(平衡基团发生中性丢失), 根据不同报告基团信号峰强弱进行肽段定量并根据肽段二级质谱信息实现肽段定性, 并最终回溯到蛋白水平。

# 碧云天蛋白质组学技术服务

## iTRAQ标记定量原理

- iTRAQ标记肽段质量数的改变
- 只要有氨基端，肽段至少都会加上一个iTRAQ标签
- 另外赖氨酸等侧链氨基也会被iTRAQ标签标记



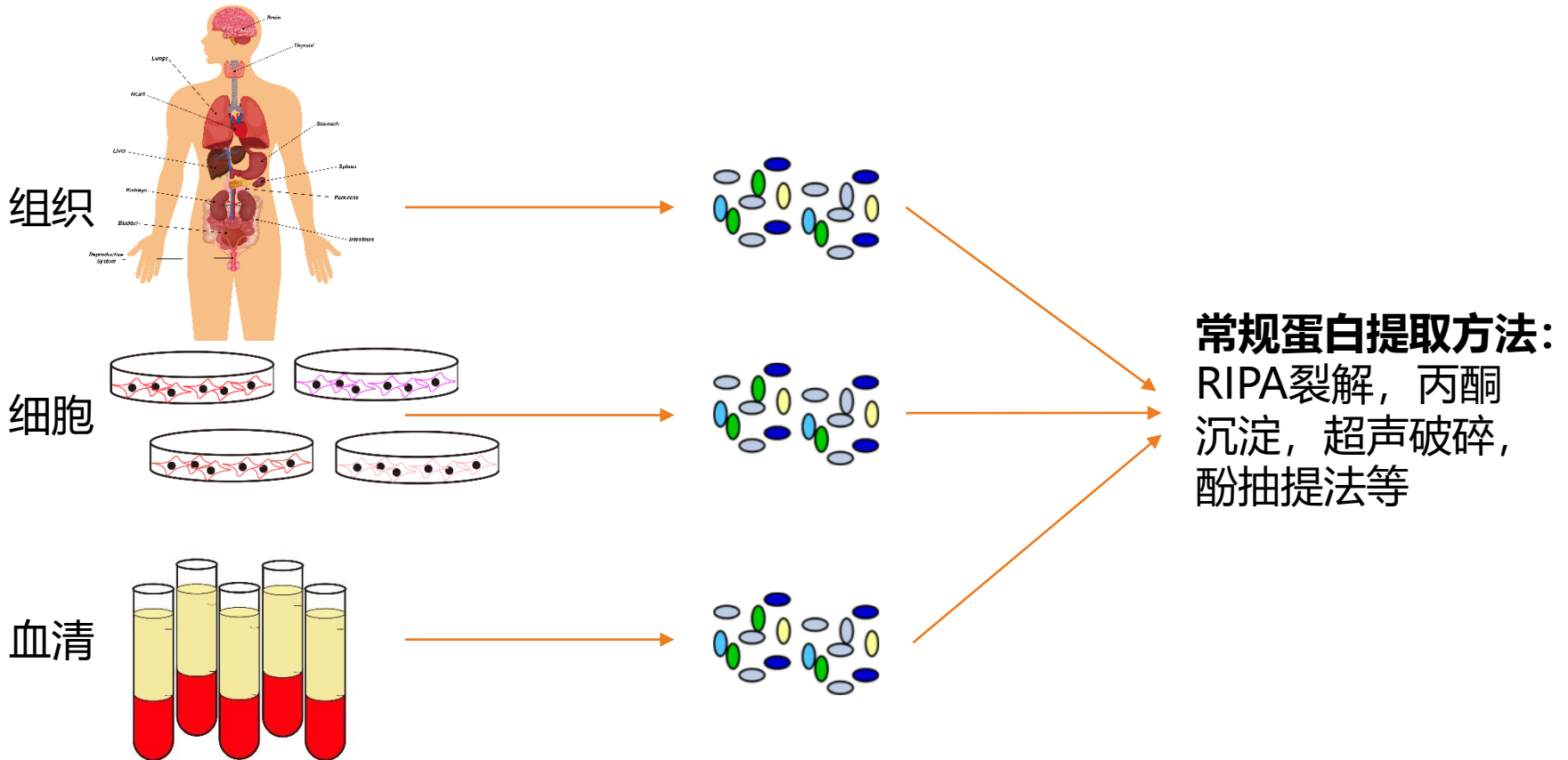
# 碧云天蛋白质组学技术服务

## iTRAQ实验流程



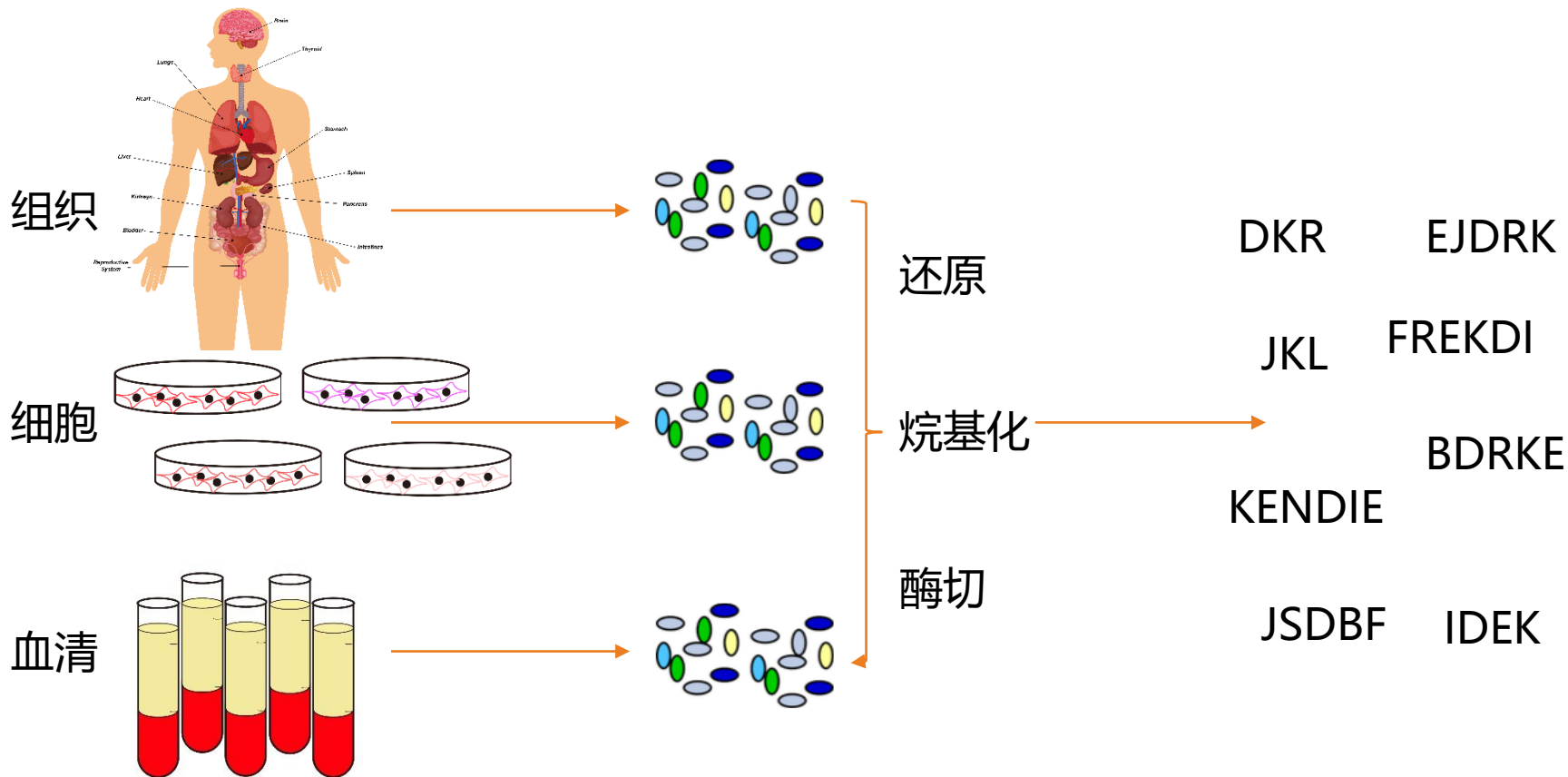
# 碧云天蛋白质组学技术服务

## 样品处理与蛋白提取



# 碧云天蛋白质组学技术服务

## 蛋白还原、烷基化和酶切



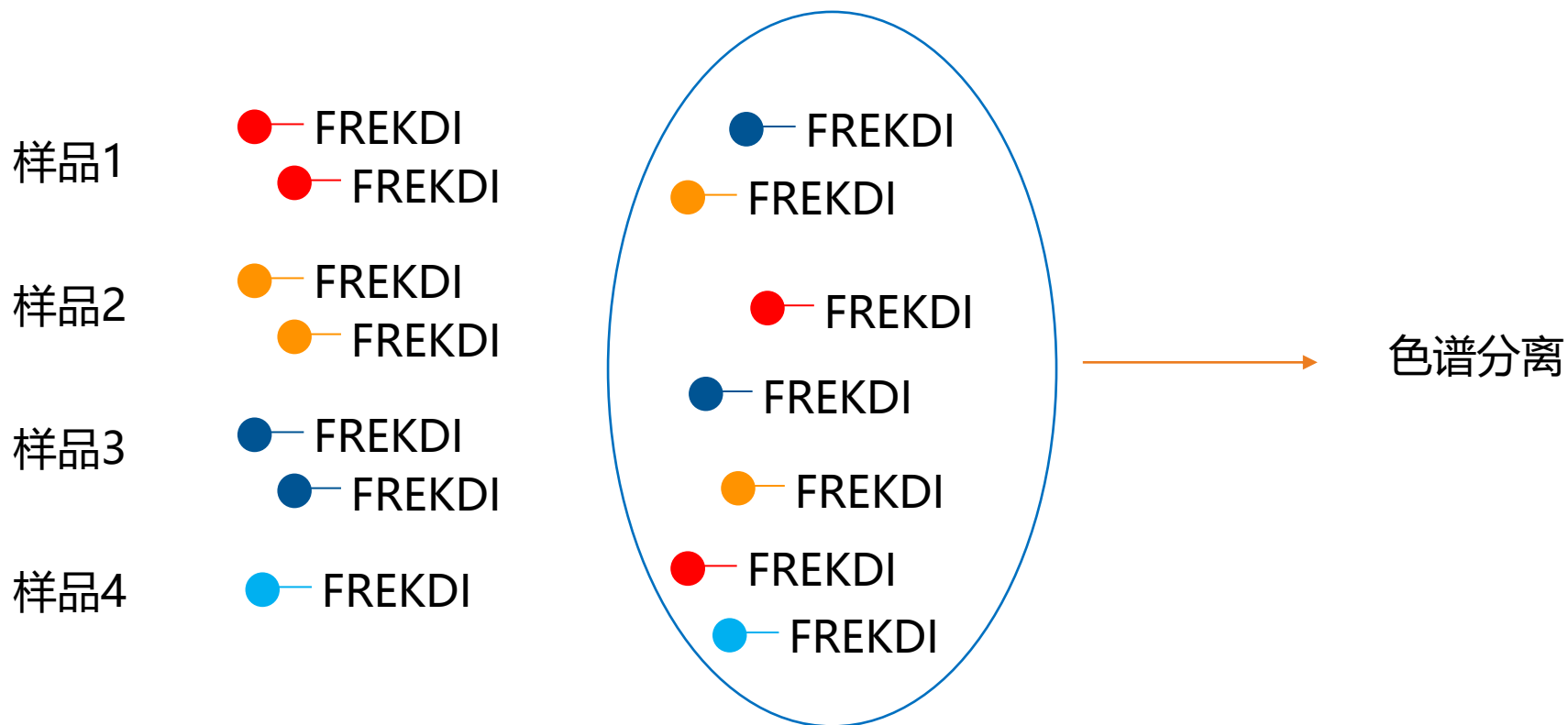
# 碧云天蛋白质组学技术服务

## 标记肽段



# 碧云天蛋白质组学技术服务

## 样品混合与分离





# 碧云天蛋白质组学技术服务

## iTRAQ技术优势

- 通量高:可一次实现最多8-10次样品的分离分析
- 适用范围广:体外标记, 可标记各种动物、植物、微生物、细胞、体液等样品
- 重复性好且定量准确:所有样品的分离鉴定条件完全一致, 保证了实验重复性, 同时增强定量的准确性
- 分辨率高:可与最高分辨率的LC-MS/MS技术结合, 实现对低丰度蛋白的定量定性
- 自动化程度高:以高分辨率液质联用为基础, 自动化操作, 分析速度快

# 碧云天蛋白质组学技术服务

## iTRAQ应用领域



# 碧云天蛋白质组学技术服务

## iTRAQ服务流程

### ➤ 客户提供:

- 蛋白提取液（组织，细胞，血液，尿液等，需符合《碧云天蛋白质组学生物送样要求》）
- 《碧云天蛋白质组学服务询价单》。
- 《碧云天蛋白质组学生物样本信息表》

### ➤ 碧云天提供:

- 完整的蛋白质组学实验报告。
- 生物信息学分析结果。
- 蛋白质谱检测原始数据。

# 碧云天蛋白质组学技术服务

## 非标记蛋白组 (Label Free) 定量原理

- 随着非凝胶技术的发展，“鸟枪法”蛋白质组学(“Shotgun” proteomics)技术，已成为研究复杂生物样本中大规模蛋白质表达和定性、定量分析的强有力工具。
- 在非标记策略的定量模型中，主要涉及两种不同的算法：
  - ✓ 以肽段的色谱峰积分面积为基础，通过比较一对生物样品中相对应到蛋白质酶解多肽的色谱积分面积而得到两者的相对丰度。
  - ✓ 以肽段被质谱检测的计数为基础，通过归一化来表征被检测蛋白质的相对丰度。非标记技术认为肽段在质谱中被捕获检测的频率 (Counts) 与其在混合物中的丰度成正相关，因此蛋白质被质谱检测的计数反映了蛋白质的丰度，通过适当的数学公式可以将质谱检测计数与蛋白质的量联系起来，从而对蛋白质进行定量。

# 碧云天蛋白质组学技术服务

## Label Free蛋白质组学实验流程

样本处理、  
蛋白提取

蛋白酶解

高效液相  
HPLC预分离

MS质谱  
检测

原始数据  
搜库分析

生物信息  
学分析

# 碧云天蛋白质组学技术服务

## Label Free技术优势

- 快速在大量样本中找到差异表达的蛋白集合。
- 在较短时间以较低成本得到具有提示意义的蛋白表达数据。
- 对待测样品蛋白含量要求不高。
- 可以检测含量很少的相互作用蛋白。

# 碧云天蛋白质组学技术服务

## Label Free服务流程

### ➤ 客户提供：

- 蛋白提取液（组织，细胞，血液，尿液等，需符合《碧云天蛋白质组学生物送样要求》）
- 《碧云天蛋白质组学服务询价单》。
- 《碧云天蛋白质组学生物样本信息表》

### ➤ 碧云天提供：

- 完整的蛋白质组学实验报告。
- 生物信息学分析结果。
- 蛋白质谱检测原始数据。

# 碧云天蛋白质组学技术服务

## 磷酸化蛋白质组学技术原理

- 碧云天同位素标记磷酸化蛋白质组学(Phosphoproteomics)技术通过巧妙的将iTRAQ技术与TiO<sub>2</sub>磷酸化肽段富集技术相互结合实现对磷酸化肽段(蛋白质)的定性和定量研究。

### ➤ 技术原理

- ✓ 通过蛋白质提取(Protein Extraction)获得组织细胞中的全蛋白，将全蛋白酶解(Trypsin Digestion)成肽段，iTRAQ试剂对所获得的全部肽段进行标记，标记混合之后的肽段经过TiO<sub>2</sub>富集得到磷酸化肽段。



# 碧云天蛋白质组学技术服务

## 磷酸化蛋白质组学实验流程

样本处理、  
蛋白提取

蛋白酶解

肽段标记

TiO<sub>2</sub>富集磷  
酸化肽段

LC/MS质  
谱分析

生物信息  
学分析

# 碧云天蛋白质组学技术服务

## 磷酸化蛋白质组学技术特点

- 在磷酸化富集前进行iTRAQ标记，避免TiO<sub>2</sub>富集的不平行对定量结果的干扰，提高定量磷酸化蛋白质组分析的精确度。
- TiO<sub>2</sub> 富集方法富集效率高，操作快速，不需要特殊设备，能与多种缓冲盐体系兼容。
- 采用高分辨率、高扫描速度的质谱，对富集的磷酸化肽段进行大规模鉴定。
- 结合iTRAQ标记定量技术可对不同样品间的磷酸化水平的差异进行定量比较。

# 碧云天蛋白质组学技术服务

## 磷酸化蛋白质组学服务流程

### ➤ 客户提供:

- 蛋白提取液（组织，细胞，血液，尿液等，需符合《碧云天蛋白质组学生物送样要求》）
- 《碧云天蛋白质组学服务询价单》。
- 《碧云天蛋白质组学生物样本信息表》

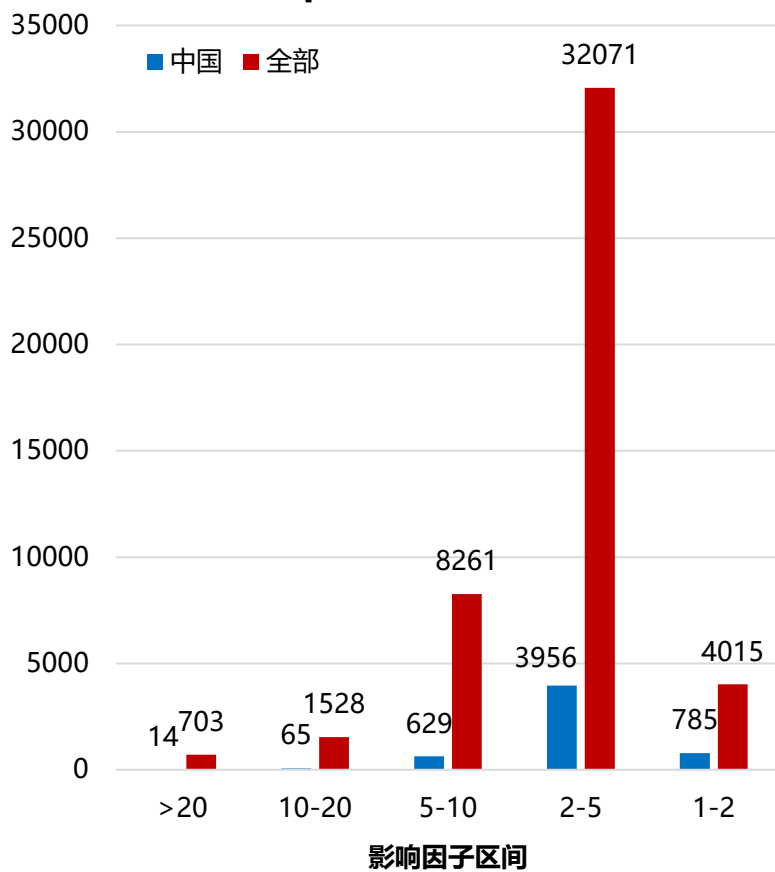
### ➤ 碧云天提供:

- 完整的蛋白质组学实验报告。
- 生物信息学分析结果。
- 蛋白质谱检测原始数据。

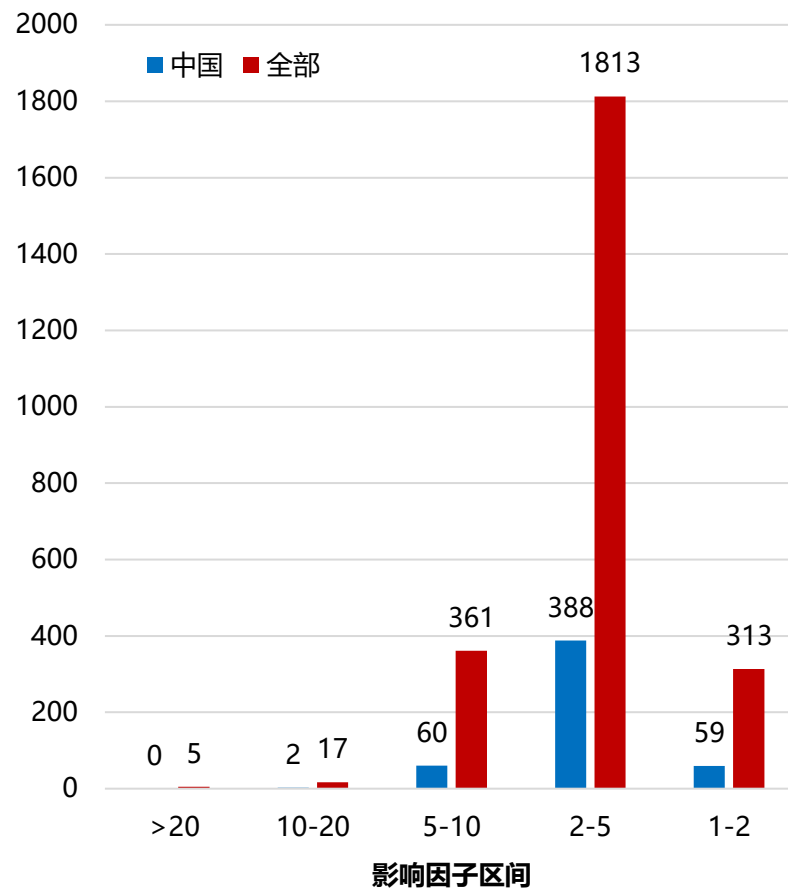
# 碧云天蛋白质组学技术服务

## 蛋白质应用现状

### 全蛋白组: proteome, proteomic, proteomics



### 标记定量蛋白组: iTRAQ、TMT



# Thank You



碧云天  
Beyotime



碧云天网站



微信公众号

碧云天生物技术/Beyotime Biotechnology  
订购热线: 400-168-3301或800-8283301  
技术咨询: info@beyotime.com  
技术服务: service@beyotime.com  
网址: <http://www.beyotime.com>