

## 蛋白质 N 端测序介绍及样品要求

检测仪器:岛津 PPSQ-31A 蛋白多肽自动测序仪

### 一、蛋白质 N 端测序的主要应用:

1. 样品: 蛋白质, 多肽样品的氨基酸序列测定
2. 优势: 能连续测定 60 个以上的氨基酸序列
3. 来源: 天然提取 (动物/植物/微生物); 合成多肽; 重组蛋白等

### 二、样品要求:

1. 纯度: >95 (基于摩尔数)
2. 含量: 50-100pmol (液体体积控制在 20ul)
3. 修饰封闭: N 端未被封闭
4. 样品形式: 液体; 干粉; PVDF 膜
5. 无干扰物: 蛋白酶; 氨基酸; 胺; 盐分; 乙醛; 去污剂等

### 三、客户提供信息:

1. 纯度: 纯度检测结果及图谱信息
2. 修饰: 样品可能修饰情况
3. 制备方法: 如 SDS, HPLC 及其它方式
4. 验证目的: 提供理论序列
5. 表观分子量

### 其它注意事项:

1. 邮寄要求: 使用干冰冷冻保护
2. 液体样品:

可用溶剂: 蒸馏水、TFA 水溶液、醋酸水溶液、乙腈水溶液以及三甲基胺水溶液。

不可用的溶剂: 氨盐、Tris 等, 含有 1 级、2 级胺的盐溶液, 含有 SDS 的溶液

3. 固体样品:

干燥处理的样品, 请先确认干燥处理前的溶剂中不含有上述不兼容的溶剂。如果含有不兼容的溶剂时, 请告知我方检测人员。

4. PVDF 膜: 注意以下方面

- 1) 样品量：5-8 条泳道，每条泳道的样品尽量用最高浓度样品，上最大体积（尽量使条带长胖为正常的 2-3 倍宽度）
- 2) 硝酸纤维素膜：具有耐药性，不能使用。
- 3) 在电转印中使用的缓冲液尽可能不含甘氨酸。**在使用了含甘氨酸的缓冲液时，请告知我方检测人员。**
- 4) 染色剂推荐使用考马斯亮蓝（CBB-R250）。
- 5) 推荐使用下列的 PVDF 膜：

厂家	产品名称	规格	产品代码
日本 Genetex		8.5x9cm,10pcs	PVM020C8590
		13x14cm,10pcs	PVM020C1314
		20x20cm,20pcs	PVM020C2020
		20cmx3m,1roll	VM020C3R
PEBiosystems	ProBlott	20x20cm,10pcs	400994
	MiniProBlott	10x10cm,10pcs	401194
BIORAD		7x8.4cm,10pcs	162-0186
		10x15cm,10pcs	162-0180
		20x20cm,10pcs	162-0181
		26cmx330cm,1roll	162-0184

#### 四、 转膜效果及测序结果示例：

图 1： 转膜效果图：**请尽量按照下面图片准备样品（最大上样量）**

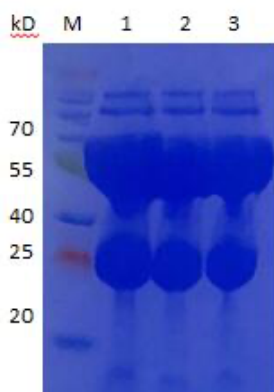
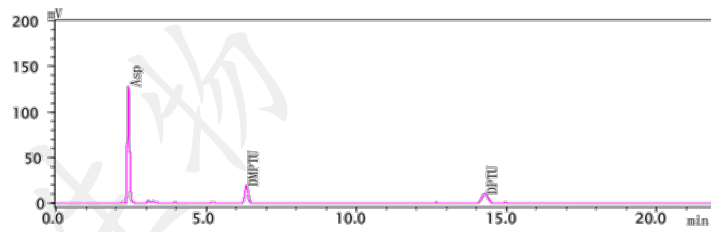
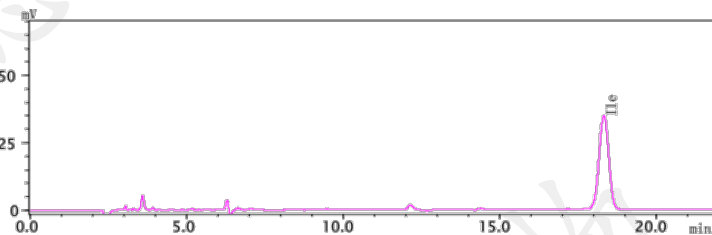


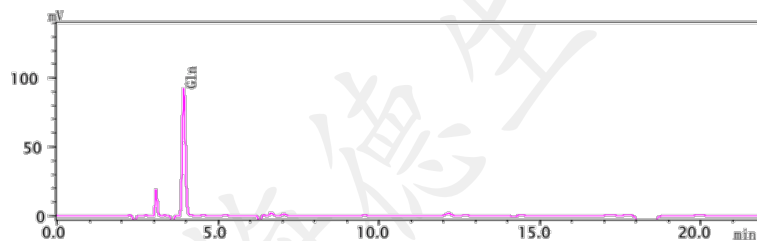
图 2: 图 1 对应的部分蛋白质 N 端测序结果图:



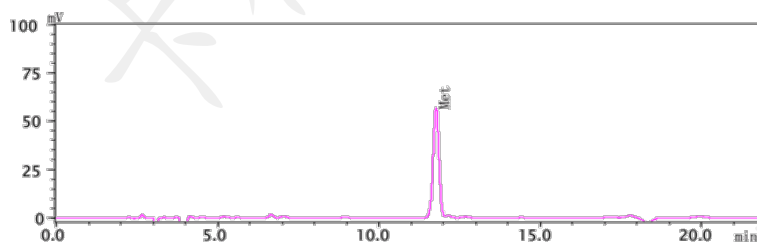
2.1 N 端第一号位测序结果



2.2 N 端第二号位测序结果



2.3 N 端第三号位测序结果



2.4 N 端第四号位测序结果

如果您对以上内容有任何疑问，请随时联系我们的技术人员：022-82164980

卡梅德生物为您的科研助力!