

小分子-靶点蛋白结合位点质谱筛选试剂盒
SM-Protein Binding Sites Profile Kit
Catalog Number: MG11

■ **MG11: 产品组件**

SM-Protein Binding Sites Profile Kit Catalog Number: MG11			Part A	
Item	Content	Size	Quantity	Storage
MG11-1	Reaction buffer	5mL	1	-20°C
MG11-2	Resuspension buffer	5mL	1	-80°C
MG11-3	Dilution buffer	15mL	1	-20°C
MG11-4	Reducing reagent	50μL	1	-80°C
MG11-5	Alkylation reagent	100μL	1	-80°C
MG11-6	Trypsin (MS grade)	20μg (0.5μg/μL)	1	-80°C
MG11-7	5×Sample loading buffer	1.0mL	1	-20°C
SM-Protein Binding Sites Profile Kit Catalog Number: MG11			Part B	
Item	Content	Size	Quantity	Storage
MG11-8	C18 desalting column	800μL (loading volume)	12	RT
MG11-9	Waste liquid tube	2.0mL	12	RT
MG11-10	Peptide collection tube	1.5mL	12	RT
MG11-11	Sample loading tips	10~200μL	50	RT

■ **产品简介**

1. 筛选和发现小分子 (Small Molecule, SM。如小分子药物、代谢物等) 的**靶点蛋白**是解析 SM 的分子作用机理及药物开发的核心内容。用户可使用我司的下述试剂盒 ([MG05~MG10](#)) 结合质谱, 筛选、发现和验证 SM 的靶点蛋白。

货号	名称	应用领域	质谱定量方式
MG05	SM-PD 富集试剂盒 (Biotin tag)	小分子-靶点蛋白筛选	LFQ [1]
MG08	SILAC-SM-PD 富集试剂盒 (Biotin tag)	小分子-靶点蛋白筛选	SILAC [2, 3]
MG06	SM-PD 富集试剂盒 (Alkyne tag)	小分子-靶点蛋白筛选	LFQ [1]
MG09	SILAC-SM-PD 富集试剂盒 (Alkyne tag)	小分子-靶点蛋白筛选	SILAC [2, 3]
MG07	SM-PD 富集试剂盒 (Azide tag)	小分子-靶点蛋白筛选	LFQ [1]
MG10	SILAC-SM-PD 富集试剂盒 (Azide tag)	小分子-靶点蛋白筛选	SILAC [2, 3]

2. 当验证并确定了 SM 的结合**靶点蛋白**后, 需更进一步解析 SM 在该靶点蛋白上**具体结合位点** (如半胱氨酸等)。原理上, SM 与其靶点蛋白的互作通常是通过反应, SM 以**全分子量/丢失特定基团**等方式**共价结合**到靶点蛋白的某个/某些特定的氨基酸残基上的。因此, 利用质谱技术可实现对 SM 靶点蛋白**结合位点**的精确检测。
3. SM-靶点蛋白**结合位点**筛选的常见方式:
 - (1) **In vitro** 方式: 在体外, 将 SM 直接与**重组的靶点蛋白** (recombinant target Protein, 要求有活

性, 纯度>85%) 孵育后, 对**重组的靶点蛋白**进行质谱检测, 鉴定 SM 在靶点蛋白上的具体**结合位点**。*In vitro* 方式, 技术上容易实现。鉴定到位点后, 可通过基因定点突变等方式对结合位点进行进一步的验证。

- (2) ***In-cell*** 方式: 即以细胞系为材料, 用 SM 处理细胞后, 通过 Co-IP (免疫共沉淀) 富集**靶点蛋白**复合物。靶点蛋白复合物通过 SDS-PAGE 电泳、考染后, 切割靶点蛋白, 进行质谱检测与分析。***In-cell*** 方式, 可使用我司以下试剂盒 (MG01~MG02) 实现对靶点蛋白的富集。

货号	名称	应用领域	质谱定量方式
MG01	IP-MS 富集试剂盒 (3×FLAG tag)	蛋白质互作/后修饰筛选	LFQ [1]
MG02	SILAC-IP-MS 富集试剂盒 (3×FLAG tag)	蛋白质互作/后修饰筛选	SILAC [2, 3]

- (3) ***In vivo*** 方式: 以模式动物/植物为材料, SM 处理后, 提取蛋白质, 通过 Co-IP (免疫共沉淀) 富集靶点蛋白复合物。靶点蛋白复合物通过 SDS-PAGE 电泳、考染后, 切割靶点蛋白, 进行质谱检测与分析。***In vivo*** 方式原理上可行, 但技术上可能存在诸多难点。
4. **MG11 (SM-Protein Binding Sites Profile Kit)** 是针对 SM-靶点蛋白**结合位点**质谱筛选而设计的体外 (*in vitro*) 反应试剂盒。该试剂盒包含:
- 提供优化的 SM 与重组蛋白体外孵育的缓冲液 (Reaction buffer—MG11-1) 和反应条件参数。
 - 提供反应后的蛋白质溶液酶解 (*in-solution* trypsin digestion) 试剂 (MG11-2~MG11-6) 及优化的实验流程, 将蛋白质酶解成肽段。
 - 提供对酶解后的肽段进行除盐的耗材 (MG11-8~MG11-10) 和优化的实验流程, 实现对 (2) 中的酶解肽段进行除盐, 以匹配质谱检测的要求, 获得高质量的质谱数据, 进而进行 SM-靶点蛋白结合位点的解析。
5. 本产品仅供科研使用!

■ 用户自备材料

- 目的 SM, 建议储备液浓度要求: **≥10mM**。
- 目的 SM 的质谱检测数据:
 - 请使用 **ESI 离子源** (Electrospray ionization) 的小分子检测质谱仪 (如 Agilent、SCIEX、Waters 等公司)、**液相 (LC) 方式**、**阳离子 (Positive ion)** 模式, 采集目的 SM 的一级 (MS1) 和二级 (MS/MS, MS2) 质谱数据。
 - 用户亦可委托我司对目的 SM 进行质谱检测分析。请将目的 SM 的 CAS 号、结构式等详细信息发送至 market@imultiomics.com, 以便我司进行评估和报价。
- 重组靶点蛋白总量要求: **≥30µg**。浓度要求: **≥1µg/µl**, 纯度要求: **≥85%**。如重组蛋白为**干粉**形式, 则直接使用 **MG11-1 (Reaction buffer)** 重悬, 制备成浓度 **≥1µg/µl** 的重悬蛋白质溶液, -80°C 保存
- 蛋白质 Bradford 定量试剂 (推荐 **Imultiomics, #MGR02**) 及酶标仪。建议使用 Bradford 法对重组蛋白进行定量, 以获得较为准确的蛋白质浓度。
- SDS-PAGE 凝胶、SDS-PAGE 电泳系统和考马斯亮蓝染色液 (推荐 **Imultiomics, #MGR01**)
- 旋转混合仪 (如海门市其林贝尔仪器制造有限公司, #BE-1200)
- 超纯水 (18.2MΩ·cm@25°C) 或超纯水系统 (如厦门锐思捷水纯化技术有限公司, #RODI-220B1)
- 丙酮, -20°C 保存, 预冷备用
- pH 试纸
- 乙腈 (Acetonitrile, 如 Sigma-Aldrich, #34851)
- 甲酸 (Formic acid, 如 Sigma-Aldrich, #F0507)
- 三氟乙酸 (Trifluoroacetic acid, 如 Sigma-Aldrich, #T6508)
- 真空离心冻干机 (如 Labconco, #7811037 & #7310038)
- 恒温混匀仪 (如 Miulab, #MTC-100)

15. 桌面式小型高速离心机 (>16000g, 如 BeckmanCoulter: Microfuge 20R)
16. 肽段浓度定量试剂盒 (如 ThermoFisher Scientific, #23290)、荧光检测酶标仪 (ex390/em475, 如 BioTek Synergy H1)、荧光 96 孔酶标板 (如 ThermoFisher Scientific, #237108)

■ 委托服务

用户通过 **MGII 试剂盒** 制备的除盐肽段为溶液形式, 溶液组分为 0.1%TFA/50% Acetonitrile。用户如无真空离心冻干机和肽段浓度定量试剂/仪器, 可以**干冰**方式将除盐肽段溶液发送至我司。**我司可完成对肽段浓度定量、冻干、质谱检测和数据解析等服务 (相应服务费用另计)。**

SM 与重组蛋白体外反应样本制备流程

S1: 重组蛋白原始样品留样	
S2: SM 与重组蛋白体外孵育	
S3: SM-孵育蛋白质样品处理	
S4: 溶液酶解 (in-solution digestion)	
S5: 酶解肽段除盐	
S6: 肽段定量与冻干	
S7: 肽段质谱检测建议	
质谱类型	
检测方式	
分析软件	
S8: 委托服务	
<ol style="list-style-type: none"> 1. 小分子-靶点蛋白结合位点的数据解析复杂, 对技术、学术和经验的要求高。用户可将除盐后的肽段溶液和 SDS-PAGE 切割的胶条一同发送至我司。我司可完成肽段定量、冻干、质谱检测和质谱数据解析等全套服务 (费用另计)。 	

■ 参考文献:

1. Cox J, Hein MY, Lubner CA, Paron I, Nagaraj N, Mann M: **Accurate proteome-wide label-free quantification by delayed normalization and maximal peptide ratio extraction, termed MaxLFQ.** *Mol Cell Proteomics* 2014, **13**(9):2513-2526.
2. Ong SE, Blagoev B, Kratchmarova I, Kristensen DB, Steen H, Pandey A, Mann M: **Stable isotope labeling by amino acids in cell culture, SILAC, as a simple and accurate approach to expression proteomics.** *Mol Cell Proteomics* 2002, **1**(5):376-386.
3. Hoedt E, Zhang G, Neubert TA: **Stable isotope labeling by amino acids in cell culture (SILAC) for quantitative proteomics.** *Advancements of mass spectrometry in biomedical research* 2019:531-539.