

# 想要增加血清蛋白双向电泳的分辨率吗？

## 何不尝试最新武器？

### ProteoExtract™ Removal Kit

---Enhancing Resolution of Low Abundance Proteins

潜在疾病标志物的最好样本来源就是血清或其他体液，此类样本可以提供人蛋白质组中绝大部分组份。然而，用蛋白质组分析方法鉴定疾病标志物最大的挑战来自于血清中大量的高丰度蛋白对检测的干扰，血清中有大约 55% 的蛋白为白蛋白，而 IgG 大约占血清中蛋白总量的 10-25%，这些高丰度蛋白的存在会增加低丰度蛋白检测的难度，去除占血清总蛋白近 75% 的白蛋白和 IgG 将有助于更好地鉴定其他的蛋白。

MERCK 最新推出的 ProteoExtract™ 高丰度蛋白去除试剂盒可以从液体如血浆或血清中高效、特异性地除去白蛋白、或同时除去白蛋白和 IgG，从而显著降低样品的复杂性，利于低丰度蛋白的检测。被除去的血清白蛋白和 IgG 占其总蛋白的 75%，从而使得剩余的样品可以浓缩 3-4 倍上样，用于 SDS-PAGE 凝胶电泳、2D 凝胶电泳或液相色谱分离。

#### 主要特点：

- **快速**，只要 20-30 分钟；
- **简单**，基于纯化柱式的操作方法，可平行处理多个样品。
- **高效** 去除白蛋白和 IgG，利于检测低丰度蛋白；
- **高特异性**、非特异性结合很少或没有；
- 2D 电泳或 LC 使用的上样样品可以更加**浓缩**；

#### 快速操作流程：

##### 一、样本处理：

取 30-60ul 血浆/血清，以结合缓冲液（Binding Buffer）十倍稀释

##### 二、分离柱准备：

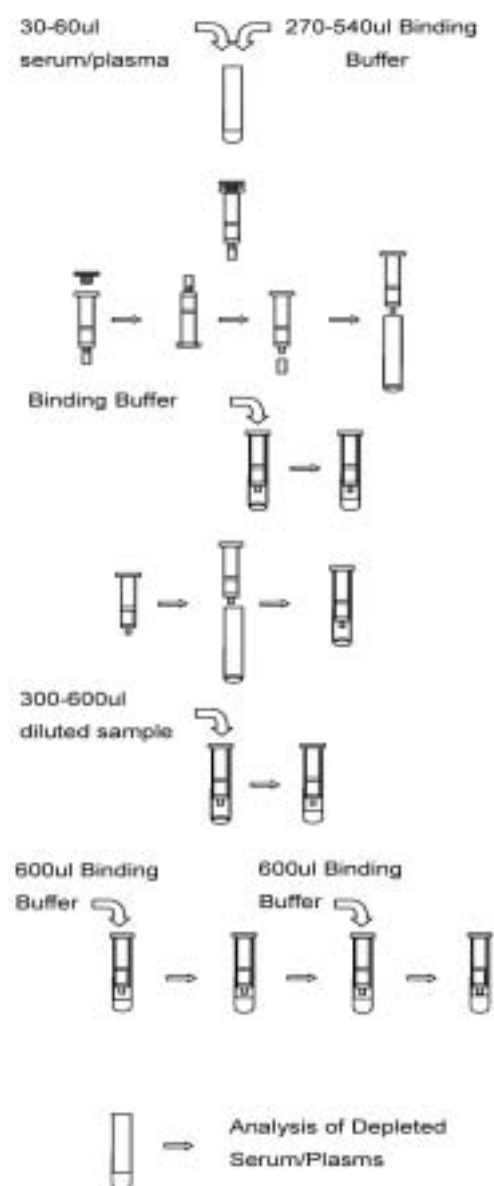
- 除去柱子上的盖子，以纸吸去贮存缓冲液
- 除去柱底部的尖咀，放入大小适合的收集管
- 加入结合缓冲液，让其靠重力流过柱体
- 将柱子放入一个新的大小适合的收集管中

##### 三、白蛋白/IgG 去除

- 加入稀释后的样本，让其靠重力流过柱体
- 以 600ul 结合缓冲液清洗柱体
- 再次以 600ul 结合缓冲液清洗柱体

收集 a、b、c 三步的洗脱组份，即为去除白蛋白/IgG 后的样本

#### 操作流程图：



## 相关产品:

### 1、ProteoExtract™ Albumin Removal Kit

Cat.No.: 122640 Size: 12 columns/Kit

#### 试剂盒中提供:

- 1、ProteoExtract™ Albumin Removal
- 2、ProteoExtract™ Albumin Binding Buffer
- 3、说明书
- 4、简明操作流程



#### 样本类型:

血清、血浆、脑脊液

#### 试剂盒贮存条件:

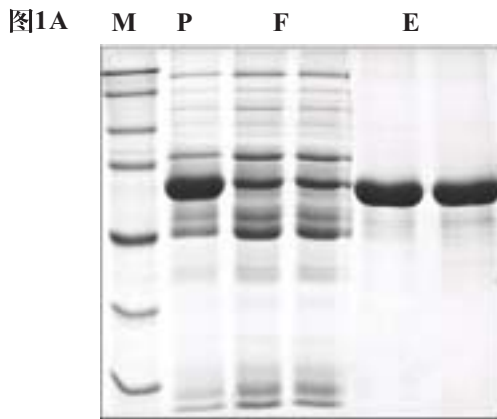
4°C, 不可冷冻

#### 试剂盒说明:

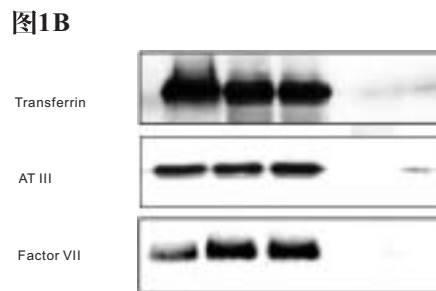
本试剂盒基于一种新型的亲和树脂,可高度特异性地与白蛋白结合,从而快速、高度特异性地除去体液(血浆、血清或脑脊液)中的白蛋白,重复性好。可显著降低样品复杂性,利于检测样品中的低丰度蛋白。

每个试剂盒提供 12 支一次性使用的预装柱,每个柱子吸附量高达 2mg 白蛋白,可除去人血浆中 80% 以上的白蛋白(图 1A),而处理后的样品中保留了 90% 以上的其他标志蛋白如 Transferrin、Factor VII 和 Antithrombin III,图 1B 显示标志蛋白的免疫印迹结果,并经 LC-MS 分析捕获的蛋白(结果未显示)验证,非特异性结合很低。试剂盒提供了一种简便的方法以检测低丰度蛋白(图二),并成为分析体液中的疾病标志蛋白的有效工具

本试剂盒已经针对人血清样本作了特别优化,但使用同样的操作步骤,也适用于兔、大鼠或小鼠血清/血浆样品中白蛋白的去除



M: 蛋白Marker, P: 人血浆,  
F: 穿过组分, E: 洗脱组分



图中各组分电转至PVDF膜上,以三种标志蛋白(transferrin,antithrombinIII,factorVII)的抗体进行检测。除去了白蛋白的穿过组分中包含超过95%的标志蛋白,表明ProteoExtract Albumin Removal Kit的非特异性结合很少。

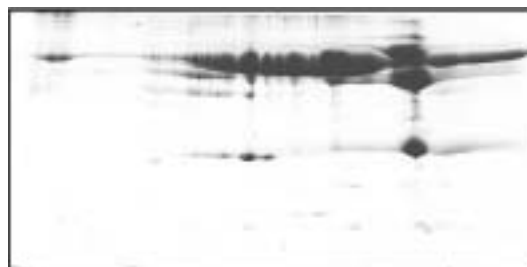
使用 ProteoExtract Albumin Removal Kit 试剂盒除去 35ul 人血浆中的白蛋白(按建议操作步骤)。取每个组分各 15ug 蛋白进行 SDS-PAGE 电泳,考马斯亮蓝染色。对各条带的密度分析表明试剂盒可除去典型血浆、血清样品中超过 80% 的白蛋白。

更详细信息请见 [www.merckbio.com](http://www.merckbio.com)  
或与我们联系, 免费电话: 800-820-8872  
Email: [bioteam@merck-china.com](mailto:bioteam@merck-china.com)

**ProteoExtract Albumin Removal Kit 可帮助检测到此前无法显示的多种蛋白**

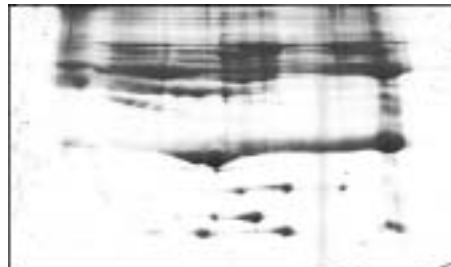
**图 2A**

未经试剂盒处理的人血清



**图 2B**

除去白蛋白的人血清



比较未经本试剂盒处理的人血清(图 2A)和使用试剂盒除去白蛋白的人血清的电泳结果图。二者分别直接采用 35ul 人血清或经 ProteoExtract Albumin Removal Kit 处理, 取 0.5mg 样品经沉淀、重溶于IEF 缓冲液, 进行 2DGE 电泳, 考马斯亮蓝染色。可见未处理样品中高丰度的白蛋白会影响掩盖其他蛋白(图 2A), 除去白蛋白则使得先前未能检测到的一些蛋白得到显示(图 2B)

**2、ProteoExtract™ Albumin/IgG Removal Kit**

Cat.No.:122642    Size:12columns/Kit

**试剂盒中提供:**

- 1、ProteoExtract™ Albumin/IgG Removal
- 2、ProteoExtract™ Albumin/IgG Binding Buffer
- 3、说明书
- 4、简明操作流程

**样本类型:**

血清、血浆、脑脊液

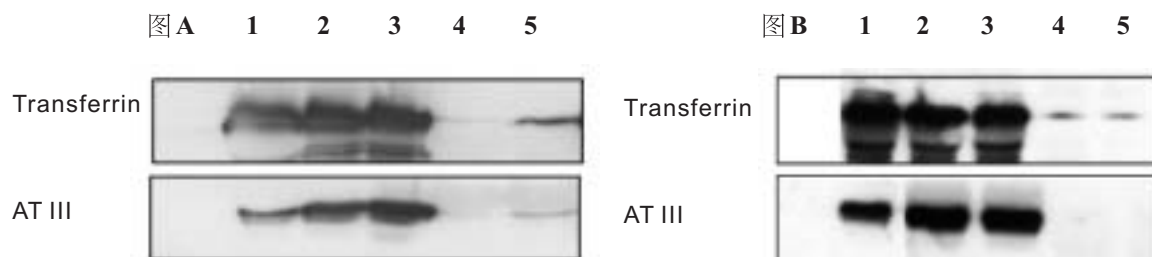
**试剂盒贮存条件:**

4°C, 不可冷冻

**试剂盒说明:**

ProteoExtract Albumin/IgG Removal试剂盒可以用于快速、简便和高度特异地去除体液(血浆、血清或脑脊液)中的血清白蛋白和 IgG。试剂盒提供的重力自流式纯化柱含亲和树脂混合物, 从而可以同时除去样品中80%的白蛋白和 IgG。

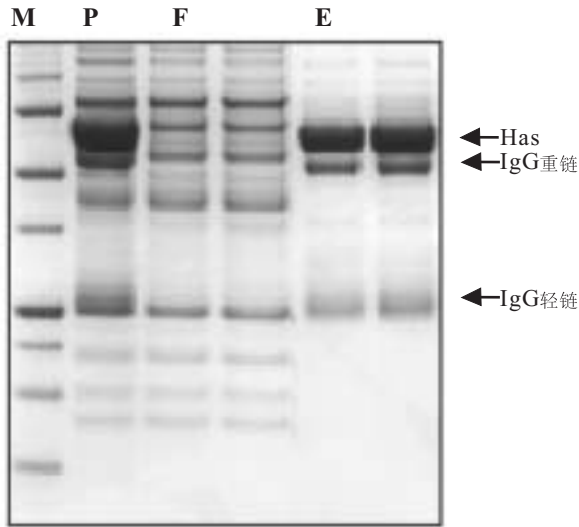
试剂盒提供的亲和树脂专为高效特异地结合血清白蛋白和 IgG 而设计。经免疫印迹和 LC-MS 捕获蛋白分析(结果未显示)验证, 该树脂对其他血清、血浆蛋白的非特异性结合很低(见下面相关图A、B)。为检验树脂结合白蛋白和免疫球蛋白的特异性, 以免疫印迹检测了未结合、结合树脂组分中的标志蛋白。树脂包含白蛋白结合树脂和免疫球蛋白 A 结合树脂, 基于两种目的蛋白的洗脱条件不同, 可以分别洗下 80% 以上的白蛋白和 IgG (经 densitometric analysis 分析 1D 电泳条带, 见下面相关图 C)。



**图.A and B:** Western-Blotting 验证 ProteoExtract Albumin/IgG Removal Kit 试剂盒去除白蛋白和 IgG 的效率。由于试剂盒提供的两种树脂洗脱条件的差异, 样品可以单独去除白蛋白(图A)或单独去除 IgG(图B)。样品按试剂盒说明书操作步骤处理, 1D-SDS-PAGE 电泳, 并以 Transferrin(上面条带)和

Antithrombin III（下面条带）的抗体进行Western检测。Lane1: 15ug人血浆蛋白；Lane2&3: 15ug穿过组份蛋白；Lane 4&5: 15ug 洗脱组份蛋白。

图C



M: 蛋白 MARKERs;  
P: 15ug 人血浆蛋白;  
F: 15ug 穿过组份蛋白;  
E: 15ug 洗脱组份蛋白

取 35ul 人血浆按操作流程处理后  
每组份取 15ug 蛋白，经 SDS-  
PAGE 电泳，考马斯亮蓝染色后  
经光密度分析可知，使用本试剂  
盒可以去除样品中 80% 以上的血  
清白蛋白及 IgG

2D 电泳比较未除去白蛋白和 IgG 样品与除去这两种蛋白的样品电泳效果差异：

图 D

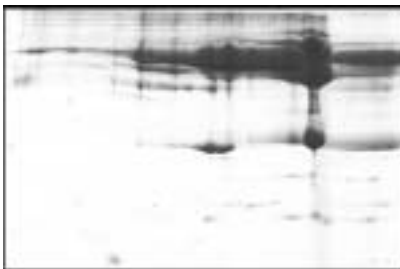


图 E



图D: 采用未经过处理人血浆样品；图E: 使用ProteoExtract Albumin/IgG Removal Kit除去白蛋白和IgG的人血浆样品。当样品中高丰度的白蛋白和IgG被试剂盒除去后，使得多种先前未能显示的蛋白被检测出来

### 其他 ProteoExtract™ Kits

Product	Contents	Cat.No.*
ProteoExtract™ Subcellular Proteo Extraction Kit	可处理20个哺乳动物细胞样品，产生四个亚细胞组分	539790
<b>ProteoExtract™ Complete Kits</b>		
ProteoExtract™ Complete Bacterial Kit	可处理20个细菌样品	539770
ProteoExtract™ Complete Yeast Kit	可处理20个酵母样品	539775
ProteoExtract™ Complete Mammalian Kit	可处理20个哺乳动物细胞样品	539779
<b>ProteoExtract™ Partial Kits</b>		
ProteoExtract™ Partial Bacterial Kit	可处理20个细菌样品，产生4个组分	539780
ProteoExtract™ Partial Yeast Kit	可处理20个酵母样品，产生3个组分	539785
ProteoExtract™ Partial Mammalian Kit	可处理20个哺乳动物细胞样品，产生4个组分	539789