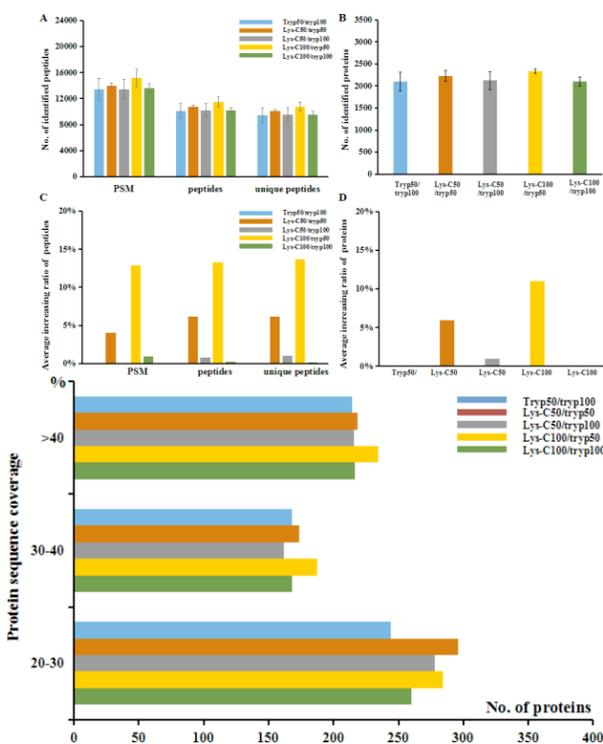
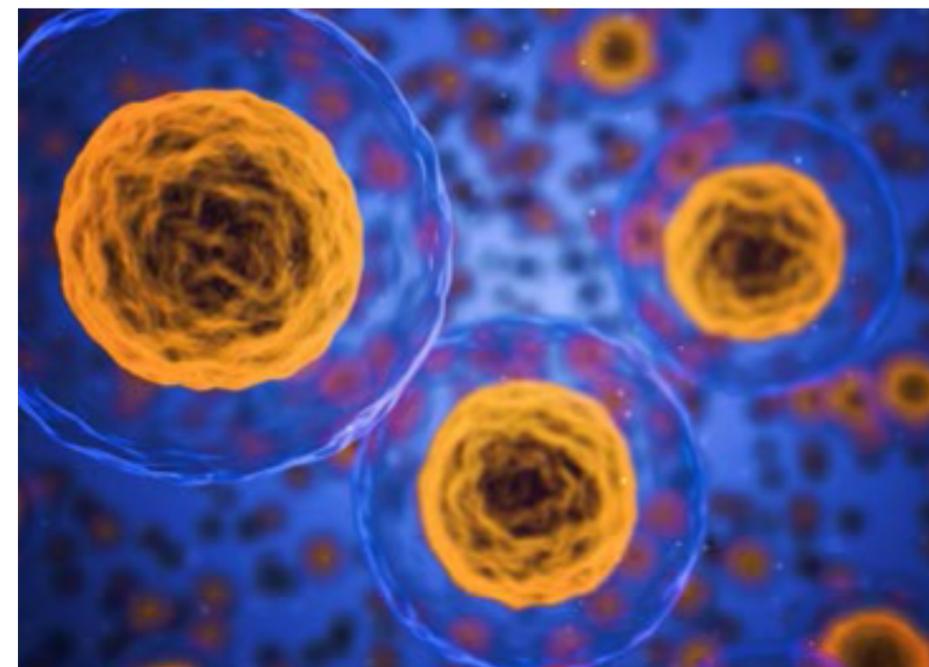


Lys C/Trypsin蛋白酶联合酶切

蛋白酶Trypsin 和 Lys C是蛋白质组学研究中最常用的酶，具有特异性强、酶切效率高等优点。在蛋白质组学研究中，一种较为常用的方法是将Lys-C与胰蛋白酶联用进行蛋白质酶切，以提高蛋白质被酶切的程度和效率。Lys-C/Trypsin 顺序酶切不仅能显著提高肽段和蛋白质的鉴定数目，同时降低遗漏 K 酶切位点的数目及比例，而且得到的肽段长度有利于质谱鉴定，蛋白质覆盖率有明显提升。对提升蛋白质组学样本的制备质量以及蛋白质的序列鉴定覆盖度具有重要指导意义。



01 Lys C蛋白酶过量影响蛋白组学序列鉴定覆盖率

进行顺序酶切时，使用的蛋白酶量对实验结果有显著影响。Trypsin蛋白酶添加量1:30-50(w/w)能够使蛋白质酶切完全；第一步使用过量的 Lys-C 反而会影响到后下一步 Trypsin 的酶切，使蛋白质被酶切不彻底。在蛋白质组学样本制备时，Lys-C/Trypsin 顺序酶切切能够有效提升蛋白质组学样本的制备质量，提高样本检测结果，建议 Lys-C 蛋白酶的使用量1:100。

02 联合顺序酶切降低漏切位点及比例

实验结果中遗漏酶切的位点数目及比例显示（图3），使用Trypsin单独酶切时，漏切位点的比例约27%，其中80%为K位点漏切。进行Lys-C/Trypsin 联合顺序酶切，结果显示 K 位点漏切的比例显著降低。因此，综合使用 Lys-C 和 Trypsin 酶进行顺序酶切能够显著降低漏切，从而提高了质谱鉴定的重现性和定量的准确性。

