
膜蛋白研究的“清道夫”：新方法既去SDS，又保蛋白完整 MDPI Proteomes

作者：writer 来源：科学网

本文原地址：<https://www.iikx.com/news/progress/39082.html>

本文仅供学习交流之用，版权归原作者所有，请勿用于商业用途！

膜蛋白研究的“清道夫”：新方法既去SDS，又保蛋白完整 MDPI Proteomes。期刊名：Proteomes

期刊主页：<https://www.mdpi.com/journal/proteomes>

在蛋白质组学研究中，十二烷基硫酸钠（SDS）是一种常用的表面活性剂，主要用于细胞裂解、蛋白提取，尤其是溶解疏水的膜蛋白成分——这些蛋白在纯水溶液中难以回收。然而，SDS也是一把双刃剑：即使浓度很低，也会严重干扰下游的蛋白处理和质谱分析，包括抑制胰蛋白酶消化、破坏反相色谱分离、抑制电喷雾离子化效率等。

因此，研究者面临一个两难困境：膜蛋白需要SDS来溶解，但SDS又必须在质谱分析前去除。如何在去除SDS的同时，保持膜蛋白的完整性和溶解性？这是膜蛋白质组学样品制备环节长期面临的挑战。

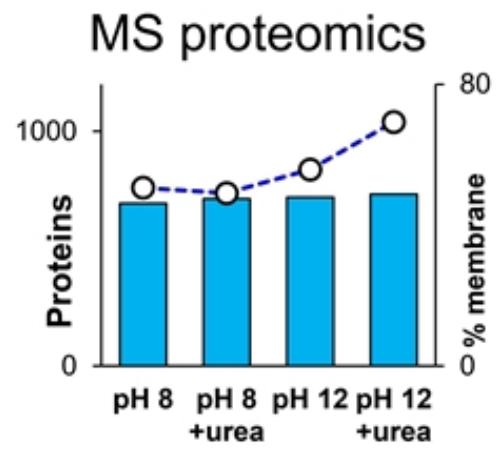
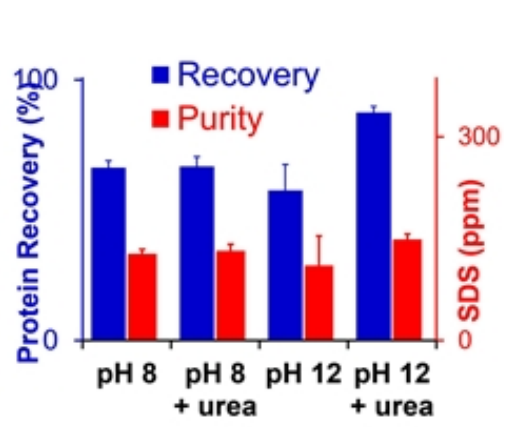
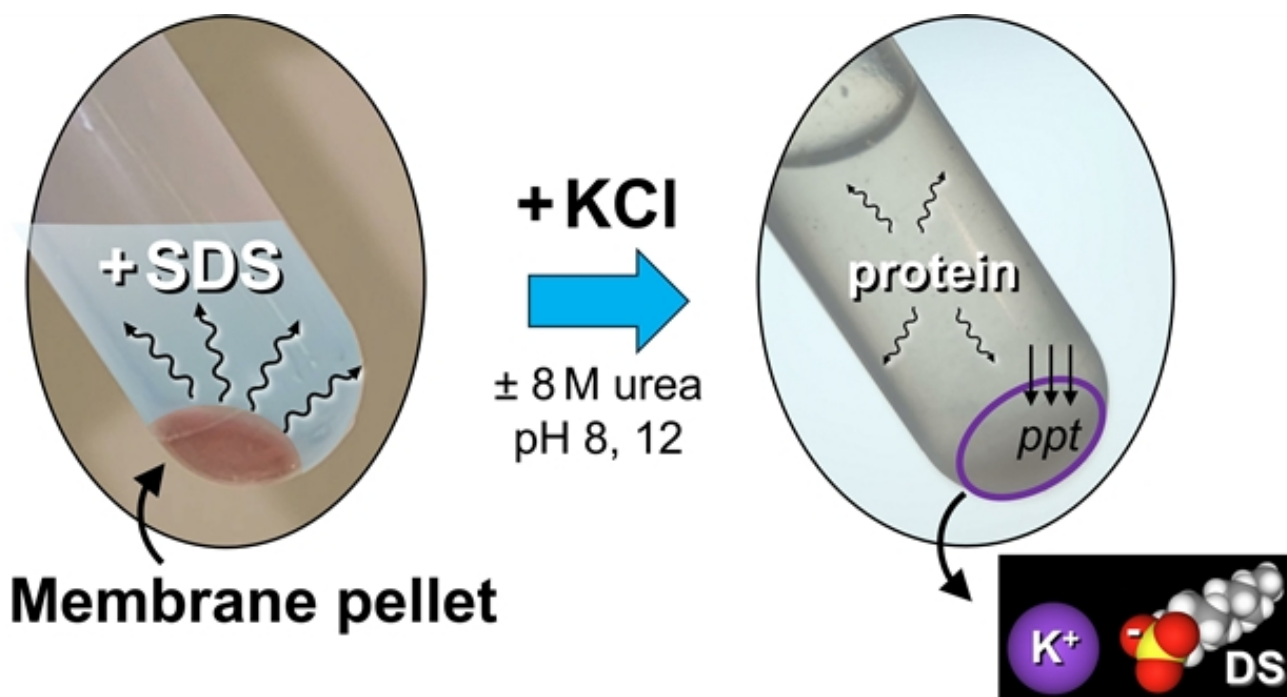
一、KCl沉淀法：一个巧妙的解决方案

SDS Depletion from Intact Membrane Proteins by KCl Precipitation Ahead of Mass Spectrometry Analysis

质谱分析前用KCl沉淀法去除完整膜蛋白的SDS

<https://www.mdpi.com/2227-7382/13/3/30>

近期在Proteomes发表的这篇文章，研究团队来自加拿大达尔豪西大学，他们系统评估了用KCl沉淀去除SDS的最佳条件。研究发现，在强碱性条件（pH 12）下加入尿素，再向含SDS的膜蛋白溶液中加入KCl，SDS会与K⁺形成不溶性沉淀，通过离心即可去除。而膜蛋白由于保持在碱性尿素环境中，仍然保持溶解状态。



研究使用菠菜叶绿体和肝脏膜蛋白作为模型样本。质谱分析结果显示，在优化的条件下（pH 12 + 尿素），鉴定到的蛋白中69.3%为膜蛋白，共732种膜蛋白被成功鉴定。更重要的是，质谱图显示信号清晰，完全没有SDS加合物的干扰。

研究者还比较了不同pH条件下的效果：pH 8不加尿素时，鉴定到的蛋白总数更多，但膜蛋白占比更低；而pH 12加尿素虽然总鉴定数略少，但膜蛋白的回收率和纯度最高。这表明，如果研究目标是膜蛋白，强碱性条件加尿素是最佳选择。

二、两种SDS去除技术的对比

如果您也在为膜蛋白样品的SDS去除寻找方法，除了上述KCl沉淀法，还可以关注另一种技术路线--电泳 depletion 方法，下面文章对此进行了系统性研究。

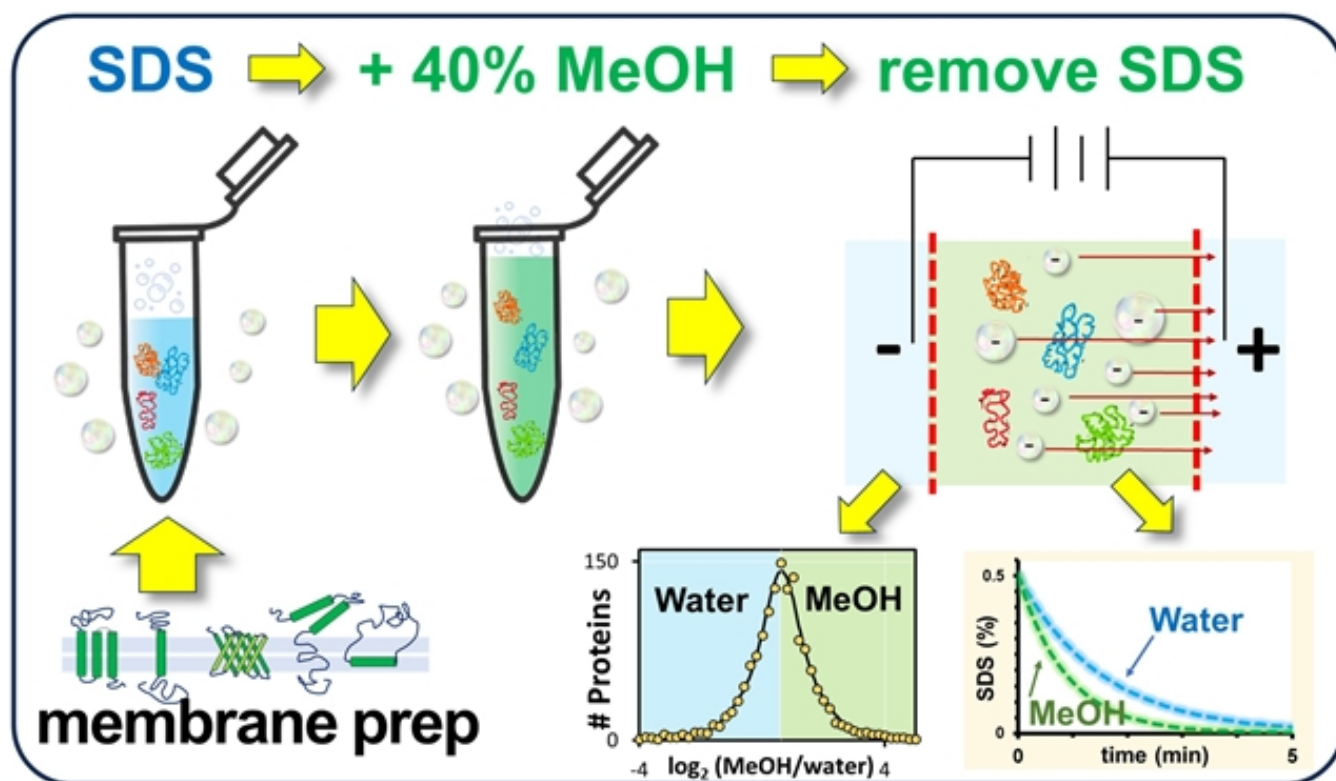
Enhanced Electrophoretic Depletion of Sodium Dodecyl Sulfate with Methanol for Membrane Proteome Analysis by Mass Spectrometry

甲醇强化电泳损耗用于膜蛋白质组质谱分析

<https://www.mdpi.com/2227-7382/12/1/5>

该方法利用透析管电泳装置，在电场作用下驱动带负电的SDS分子向正极迁移，穿过透析膜进入外部缓冲液。研究者发现，在电泳过程中加入20-30%的甲醇，可以有效维持疏水蛋白的溶解性，避免蛋白沉淀损失。

优化后的方法处理大肠杆菌膜蛋白样品，可鉴定到412种膜蛋白，占鉴定蛋白总数的47%，其中包含多次跨膜蛋白。与传统丙酮沉淀法相比，蛋白回收率从60%提升至85%，膜蛋白占比从25%提升至47%。



两种方法各有优势：

- KCl沉淀法：操作简单、成本低，无需特殊设备，适合常规实验室
- 电泳法：去除更彻底，适合极低丰度样品，但需要专用装置

研究者可根据自己的实验条件和研究目的选择合适的方法。

三、延伸阅读：翻译后修饰检测方法

Uncovering Enzyme-Specific Post-Translational Modifications: An Overview of Current Methods

揭示酶特异性翻译后修饰：当前方法综述

<http://www.mdpi.com/2227-7382/13/3/37>

文章指出，PTM (Post-Translational Modifications) 是蛋白质功能调控的关键，目前已发现超600种修饰类型，其中磷酸化、乙酰化、泛素化占比超90%。这些修饰由写入酶和擦除酶介导，解析酶-底物关系是研究难点，也是功能蛋白质组学的核心任务。

文章将酶特异性PTM底物发现方法分为三类：

- 体外方法：基于蛋白/肽阵列、SPOT合成等技术，可快速筛选酶的识别序列，是底物发现的探索性手段，但难以模拟细胞内真实环境。
- 细胞基方法：依托质谱技术为核心，结合抗体富集、邻近标记等策略，能在生理背景下解析酶-底物网络，是目前的主流研究手段。
- 计算方法：涵盖机器学习、深度学习等技术，可实现PTM位点和酶特异性底物的高通量预测，实验与计算结合的混合方法是领域重要发展趋势。

当前研究面临高质量酶特异性数据缺乏、PTM定位误差等挑战。未来需将精密计算策略与实验技术深度整合，借助人工智能和高通量分析，进一步解析复杂的PTM酶-底物网络。

Proteomes 期刊介绍

主编：Jens R. Coorsen, Brock University, Canada; Matthew P. Padula, The University of Technology Sydney, Australia

期刊专注于蛋白质组分析的各个方面，特别关注蛋白质组在蛋白质形式 (proteoforms)、功能性生物学单元以及标准氨基酸序列水平上的定量和表征。目前已被Scopus、ESCI (Web of Science)、PubMed等数据库收录。

2024 Impact Factor: 3.6

2024 CiteScore: 7.2

Time to First Decision: 28.6 Days

Acceptance to Publication: 5.6 Days

来源 : Proteomes

更多 科学进展 请访问 <https://www.iikx.com/news/progress/>

本文版权归原作者所有，请勿用于商业用途，[爱科学iikx.com](http://www.iikx.com)转发