

denator

Stabilizer T1

生物样品稳定性仪

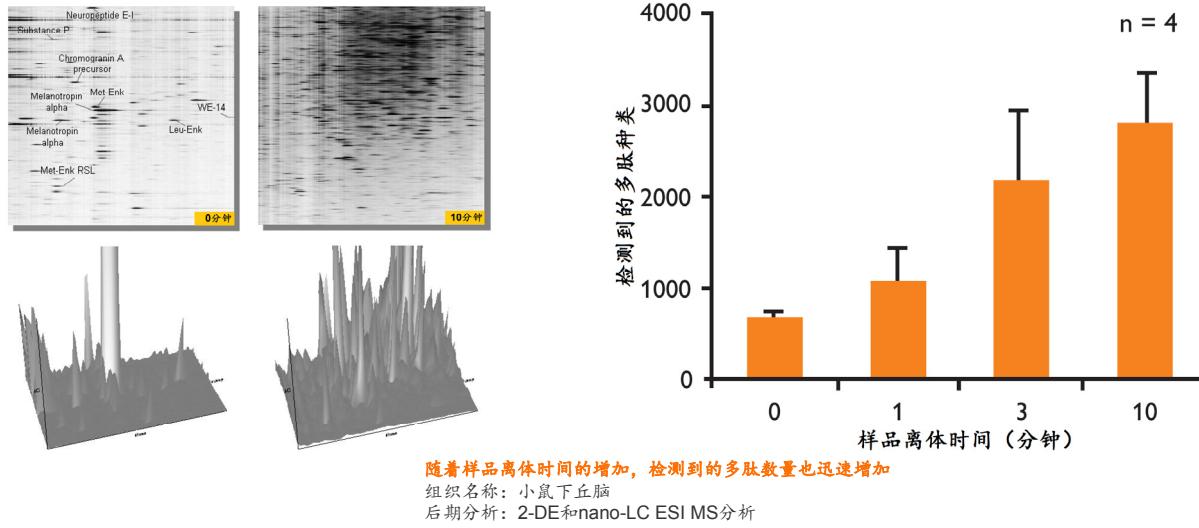
阻止蛋白质降解从采样开始



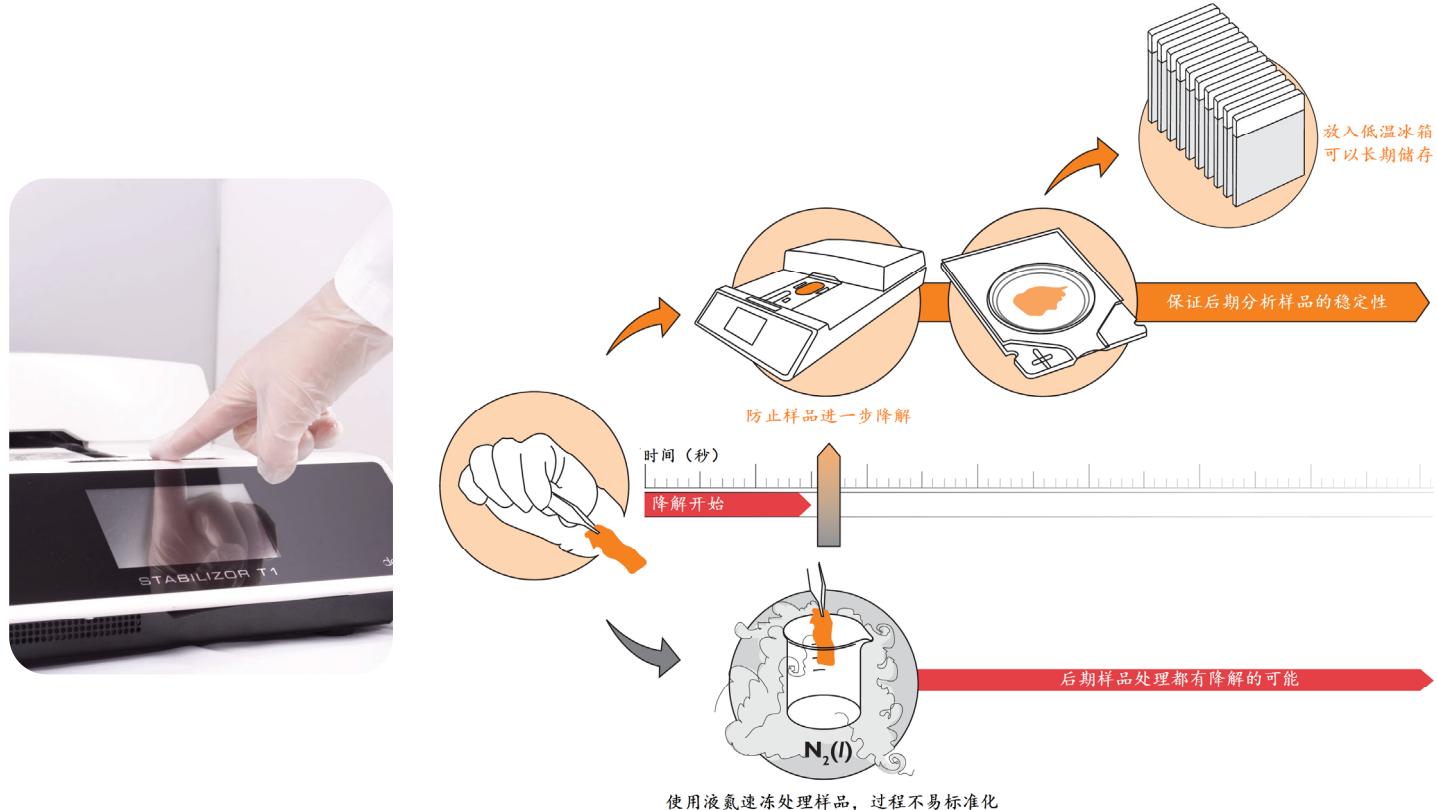
在蛋白质组研究中，要得到准确可靠的结果，很大程度上取决于样品的前处理方法。保持样品的稳定性，即样品是否反映目标蛋白质在活体内的原始状态则尤为重要。一旦样品从机体分离，调控平衡被打破，对于某些蛋白质或多肽，离体降解是一个很快速的过程。降解导致蛋白质的种类、含量和修饰快速变化，使得检测到的部分蛋白质或肽段实际上是高丰度蛋白质的降解产生的片段，而不是样品的原始蛋白质（如下图）。

在细胞和组织表达的蛋白质组中，发挥重要生理功能、最具研究意义和价值的蛋白质通常是一些含量很小、稳定性差的低丰度蛋白质或多肽。随着蛋白质检测技术的发展，检测方法的灵敏度越来越高，也对样品前处理方法提出了更高的要求，如何在处理样品过程中保留这些蛋白质或多肽就变得越来越重要。

因此采用一种快速、有效的样品稳定方法，尽量缩短样品采集与稳定之间的间隔时间并将样品前处理过程标准化，对于蛋白质研究具有重要意义。高质量的样品前处理有利于获得高质量的数据，进而增强分析结果的可靠性和可比性。



Stabilizer系统是瑞典Denator公司的专利生物样品稳定技术。该系统包含Stabilizer T1主机和Maintainor样品卡，用于解决蛋白质离体降解的难题。Stabilizer系统能快速、均匀、准确的将热量传递给样品，破坏蛋白质中的氢键，保留氨基酸链的共价肽键，即破坏蛋白质的二级及以上结构，保留一级结构的完整性。这种不可逆的失活效应将样品中的各种酶类失活，从而将蛋白质离体降解的程度降到最低。处理过程中无需添加辅助抑制试剂，也将后期分析的干扰因素降到了最低。

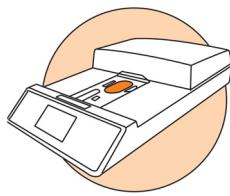


"Degradation begins seconds after sampling, thereby distorting the composition of the in vivo proteome. Denator's rapid heat inactivation technology ensures complete elimination of enzymatic activity, thereby preserving the intact proteome. This will be an important tool that will help to further our understanding of the molecular basis of biological processes in health and disease."

Prof. Michael J. Dunn, UCD Conway Institute, Dublin, Ireland

使用Stabilizor系统的优势:

- 是一种纯物理的样品稳定方法，不需使用干扰后期分析的酶抑制剂
- 处理时间短，一般在一分钟以内即可将样品中的各种酶类失活
- 有利于保留样品在活体内蛋白质的磷酸化和其它翻译后修饰的真实状态，保留不稳定、易降解的低丰度蛋白质
- 避免了样品中低丰度蛋白质或多肽受高丰度蛋白质降解片段的干扰，有助于发现新的蛋白质、多肽以及它们的修饰形式
- 永久性的去除蛋白酶和磷酸酶的活性，样品经稳定后，即可在常温下进行制备操作，无需担心酶对蛋白质、多肽的降解或改变它们的修饰形式
- 降低蛋白质组的复杂程度，缩小动态范围，增加分析和发现具有重要价值的蛋白质或多肽生物标记物的可能性
- 使用方便，在采样的同时即可稳定样品，缩短样品离体降解的时间
- 样品采集和储存的过程高度标准化，使分析结果更加可靠，数据更具可比性，便于进行比较蛋白质组研究
- 使用MALDI-MSI检测目标蛋白质或多肽，Stabilizor是目前最为有效的样品稳定方法



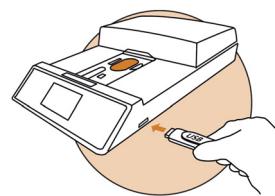
稳定样品

- 激光自动精确测量样品尺寸，并将测量值转化成最佳加热时间，确保样品获得全面、均一的处理，使样品中各种酶类全面失活
- 保证实验过程的高度重现性而不受样品形状和尺寸的影响
- 在真空状态下短时加热，永久性的阻止酶引起的降解
- 保留蛋白质一级结构，无需添加辅助试剂



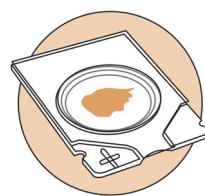
标准化

- 运行记录文件自动记录优化的加热时间、加热温度、样品卡真密度、样品厚度以及采样和稳定样品之间的间隔时间（ex vivo时间），便于后期进行准确的样品间比较和数据解释



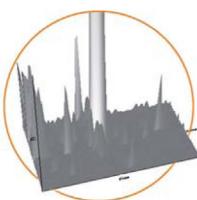
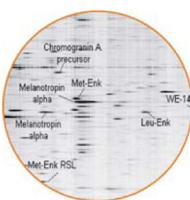
结果追溯

- 将前期样品处理和后期分析结果联系起来
- 单一的样品编号记录处理样品相关的重要信息
- 各个样品的历史数据都可以储存到U盘等储存介质上



储存

- 样品卡有利于样品的快速处理和低温冷冻保存，而无需添加辅助试剂
- 样品保存在真空、密封的状态下，将样品氧化降到最低
- 样品卡为惰性PC材料，无污染，避免干扰后期质谱分析
- 便于长期保持样品稳定性和原始蛋白质组成



无需添加辅助抑制试剂即可永久性的去除蛋白酶和磷酸酶的活性，防止蛋白质降解发生。降低蛋白质组的复杂性，减少高丰度蛋白质降解片段的干扰，增加分析和发现具有重要价值的蛋白质/多肽生物标记物的可能性。Stabilizor处理样品具有的稳定性、标准化和可追溯性，更易得到高质量的分析数据。

液氮速冻结合酶抑制剂是目前广泛使用的阻止样品降解的标准方法。但这种方法会破坏细胞膜和细胞结构，使得样品融化后，降解和修饰蛋白质的酶分布得更广泛，导致更多蛋白质或其修饰形式发生改变。而且这种方法具有可逆性和选择性，无法全面的阻止样品中酶类的活性，添加的试剂还会干扰后期样品分析，部分试剂具有一定毒性。

"We are always concerned about post-mortem sample degradation, which has the potential to significantly affect analytical results. Denator's rapid heat inactivation technology allows us to stabilize tissues instantly and maintain that stability throughout our proteomic and genomic workflows."

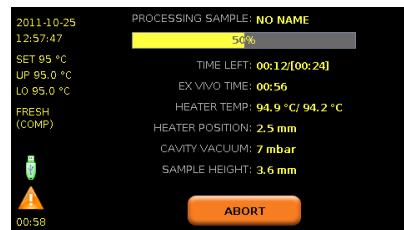
Prof. Willard Freeman, Penn State Univ., Hershey Center for Applied Research, USA



控制面板上可输入样品的名称、编号和类型，样品卡上下两侧的温度探头实时监测样品温度。



可根据样品所处状态（新鲜或冷冻）选择处理方式，也可以自定义处理方式，甚至可以选择保持样品初始结构。



自动显示和记录样品处理进度、剩余时间、离体时间（ex vivo time）、加热温度、加热器位置、样品卡真空度和样品厚度等信息。



技术参数:

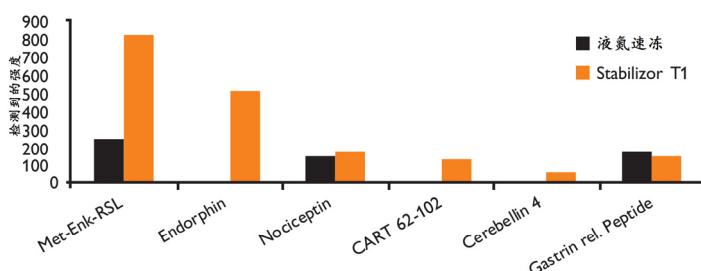
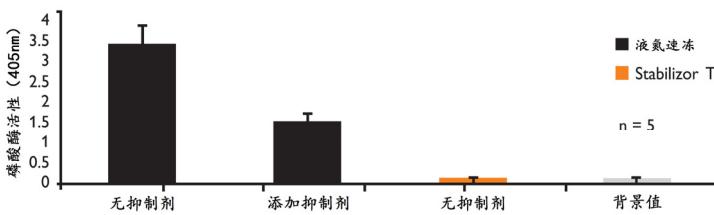
Stabilizer T1主机

- 4.3英寸彩色触摸显示屏
- 对样品卡施加真空压力范围：10—100mbar
- 噪音：低于45分贝
- 样品尺寸测量激光分级：CLASS 1M蓝色激光
- 内置处理器：1 GHz×86，内存为1GB
- 操作系统：Linux开源软件
- 三个USB接口
- 外部尺寸（L×W×H）：465×306×143mm
- 净重：6.7kg
- 功率：最高为350瓦，正常使用为70瓦，待机为20瓦
- 电源：100-240V/50-60Hz
- 使用环境温度：10—40°C
- 使用环境最大相对湿度：80%（无凝结）

Maintainor样品卡

- 外部尺寸（L×W×H）：85×54×2mm
- 样品腔尺寸：高7mm，直径33mm
- 使用环境最大相对湿度：85%（无凝结）
- 材质：PC，带特氟龙涂层
- 适用温度：-80—100 °C

Stabilizer系统有助于揭示真正的蛋白质组、多肽组和磷酸化图谱



两种样品稳定方法处理后对酶失活效果的比较

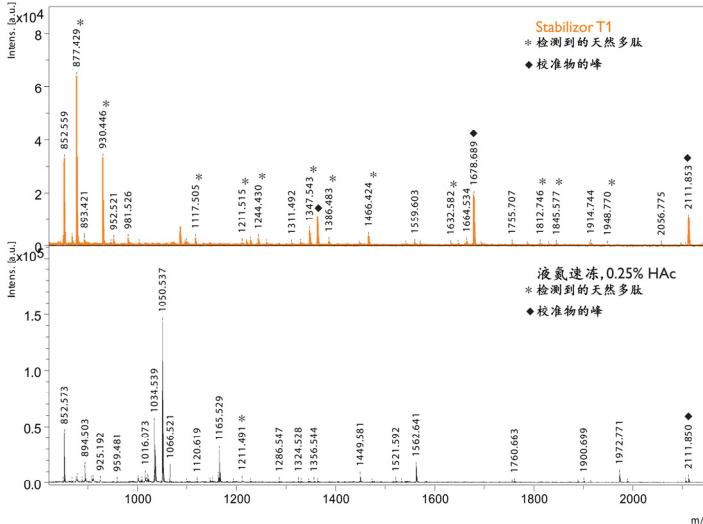
组织名称：小鼠大脑皮层
后期分析：不同方法处理后（是否添加酶抑制剂），测定样品中磷酸酶活性
结论：Stabilizer能最大程度的阻止磷酸酶活性，所测得的值和空白样品背景值几乎一致；液氮速冻结合酶抑制剂不能完全阻止磷酸酶活性；

两种样品稳定方法处理后对原始状态内源多肽检测的比较

组织名称：小鼠下丘脑
后期分析：LTQ Orbitrap MS分析
结论：Stabilizer处理过的样品中检测到的内源多肽水平更高，并检测到新的多肽；而液氮速冻稳定的样品中能检测到的内源多肽水平普遍偏低，部分多肽检测不到

"The results we got enabled us to find more endogenous peptides from less starting material compared to the standard protocol of methanol extraction"

Dr. Joel Capdeville, Sanofi-Aventis, France



两种样品稳定方法处理后对内源多肽检测的比较

组织名称：小鼠纹状体

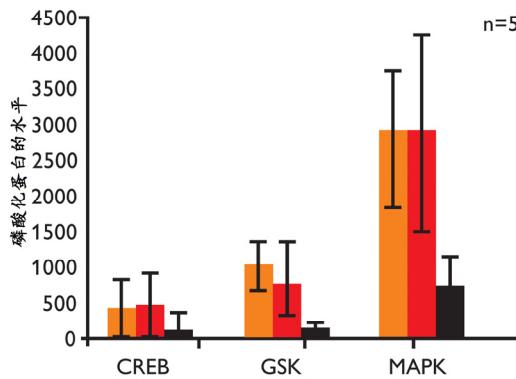
后期分析：MALDI TOF MS分析

结论：Stabilizor处理过的样品中保留并检测到了更多的内源神经肽；而液氮速冻稳定的样品中发生了降解，部分神经肽丢失（右图）

■ Stabilizer T1

■ Stabilizer T1 + 2 小时室温延迟处理

■ Snap frozen + 10 分钟延迟处理

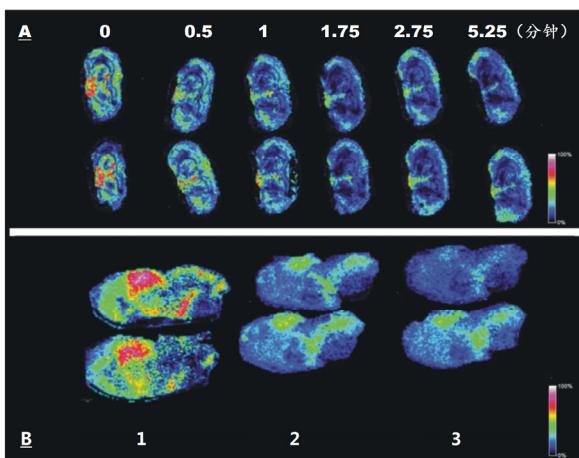


不同样品稳定方法处理后对蛋白质磷酸化/去磷酸化原始状态检测的比较

组织名称：小鼠大脑皮层

后期分析：Western Blot分析

结论：Stabilizor处理过的样品能在常温下能使磷酸化蛋白质CREB、GSK和MAPK保持原始状态达两小时以上；而使用液氮速冻处理过的样品在常温下10分钟后磷酸化蛋白质的水平就明显下降

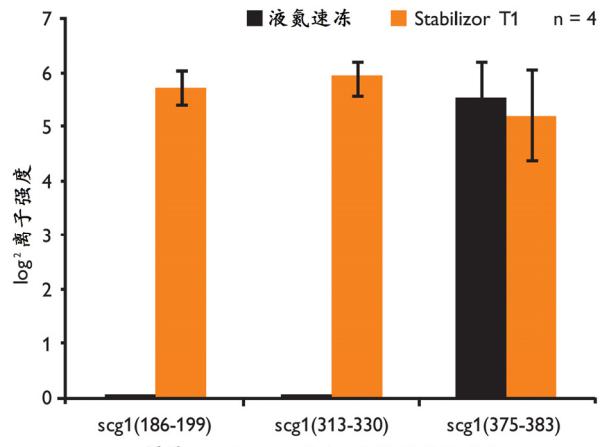
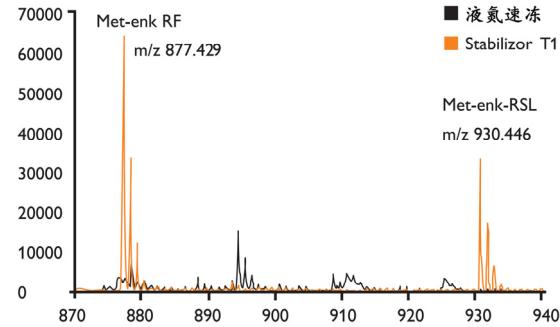


Stabilizer稳定方法处理后对生物标记物的保留

组织名称：小鼠大脑

后期分析：MALDI MSI分析

结论：未使用Stabilizor处理过的样品（冠状切面，A）随时间的推移，目标蛋白质的水平逐渐降低；Stabilizor处理过的样品（旁矢状切面，B1，采样后立即处理）能在长时间内保留目标蛋白质的完整性，B2为未处理样品，B3为切片、融裱后在载玻片上经Stabilizor处理

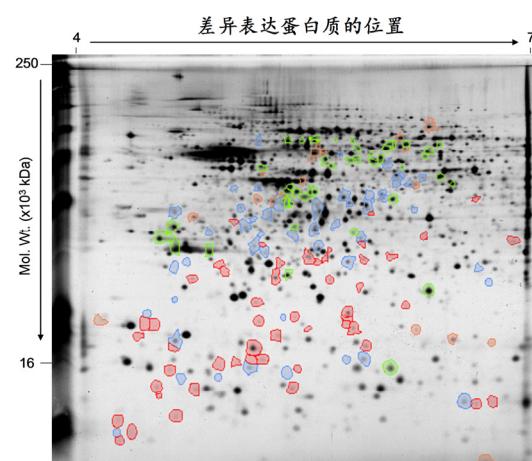


不同样品稳定方法处理后多种磷酸化多肽水平的比较

组织名称：小鼠大脑皮层

后期分析：nano LC ESI MS分析

结论：Stabilizor处理过的样品能保留全部三种目标磷酸化蛋白质；而使用液氮速冻处理过的样品只能有限的保留一种目标磷酸化蛋白质



Stabilizer稳定方法处理后降低蛋白质降解片段的干扰

组织名称：小鼠大脑

后期分析：2-DE和MS分析

结论：未使用Stabilizor处理过的样品，蓝色/红色位点表达较多；Stabilizor处理过的样品，绿色/桃红色位点表达较多，经质谱鉴定，主要是因为样品经Stabilizor处理后，原始完整蛋白质的量增加，其降解片段减少



Stabilizer T1



Maintainor

Stabilizer
Peptide
Extraction kitStabilizer
2D-GE
Extraction kit

产品名称	Stabilizer T1 主机	Maintainor Tissue 样品卡（适用动物组织）	Peptide Extraction Kit 多肽提取试剂盒	2D-GE Extraction Kit 二维电泳提取试剂盒
货 号	DST 0001	DMT 0001	DKT 0001	DKT 0002
配 置	●主机 ●起始套装	●12个/盒	<ul style="list-style-type: none"> ● 12个Maintainor样品卡 ● 12个离心过滤器，截留分子量为10kDa ● 3瓶45ml提取液 ● 12个试管 	<ul style="list-style-type: none"> ● 12个Maintainor样品卡 ● 1瓶配置蛋白质提取缓冲液干粉试剂（26g） ● 1瓶蛋白质提取缓冲液稀释液（25ml） ● 3瓶配置蛋白质提取缓冲液的DTT（23mg） ● 36个研磨棒 ● 36个试管



拜普诺国际有限公司 拜普诺（北京）贸易有限公司

北京市朝阳区北苑路13号领地Office B座506室

电话：010-52086560/52086580

E-mail: info@bio-xplorer.com

www.bio-xplorer.com

BIO XPLORER
Part of the solution!