合宜生物科技/Deep PTM Biotechnology
订货咨询 e-mail：order@deep-ptm.com
技术咨询 e-mail：tech@deep-ptm.com
企业微信二维码

维生素 C 化（VitCylation）修饰蛋白组学富集鉴定服务介绍

一、技术背景

维生素 C（Vitamin C）除参与氧化还原调控外，近年来研究发现其可通过共价方式修饰蛋白质，形成维生素 C 化修饰（VitCylation），进而调控蛋白稳定性、酶活性、信号转导及细胞代谢等生物过程。

本服务基于维 C 化特异性化学探针富集结合高分辨质谱技术，实现细胞内或体外体系中维 C 化修饰蛋白的系统鉴定。

前期技术验证显示：

1. 细胞内维 C 化修饰蛋白富集后，可鉴定约 2500–3000 种维 C 化相关蛋白；
2. 体外维 C 化反应体系富集后，可鉴定约 2000 种左右维 C 化相关蛋白。

二、检测方案

方案 A：细胞内维 C 化修饰蛋白富集检测

-细胞量：至少 500 万

- 实验流程：

细胞处理 → 酯化维 C 化探针（Vitcyl-001）处理（需自行购买） → 蛋白提取 → 探针标记维 C 化蛋白富集 → LC-MS/MS 鉴定。

- 处理条件：

使用 500 μM 酯化维 C 化探针处理细胞 2 小时，37 ℃。

- 对照设计：

实验组：探针处理；对照组：DMSO 处理。每组 3 个生物学重复，共 6 个样品。

- 样品要求：

处理后的细胞需收集并干冰运输至公司。

方案 B：体外维 C 化修饰蛋白富集检测

-细胞量：至少 500 万

- 实验流程：

细胞收集并干冰运输至公司→裂解 → 加入非酯化维 C 化探针（Vitcyl-002）（公司提供）→ 37 ℃孵育 3 小时 → 修饰蛋白富集 → LC-MS/MS 检测。

- 反应条件：

非酯化维 C 化探针浓度 2 mM。

- 样本设计：

实验组：加入探针；对照组：DMSO 处理。每组 3 个重复，共 6 个样品。

三、数据分析内容

输出包括：

1. 维 C 化修饰相关蛋白鉴定列表；
2. 蛋白定量及差异富集分析；
3. GO 功能富集分析；
4. KEGG 通路分析；
5. 蛋白互作网络分析。

四、关于修饰位点鉴定的说明

本技术采用炔基化维生素 C 探针代谢标记结合亲和富集策略。探针本身为带有炔基标签的维生素 C 衍生物，可作为维生素 C 修饰基团参与蛋白维 C 化修饰，使目标蛋白携带炔基标签维 C 化修饰。修饰完成后，通过 click chemistry 将炔基连接 biotin，再利用 streptavidin beads 富集 biotin 标记的维 C 化修饰蛋白，并进行 LC-MS/MS 鉴定。

需要说明的是，探针富集得到的蛋白通常定义为修饰蛋白，而不是要求每个蛋白均必须通过二级质谱谱图直接鉴定具体修饰位点。原因包括：

1. 探针富集后会引入较大的化学基团（如 biotin 标签）；

2. 大修饰基团可能影响肽段质谱检测；

3. 胰酶消化后不一定获得包含修饰位点的理想肽段。

参考下列探针富集修饰蛋白文献：

- 棕榈酰化探针富集策略（PMID:33029007）
- 单胺化探针富集策略（PMID:39779849）
- 血清素化探针富集策略（PMID:30867594）

五、服务价格

请咨询销售企业微信

Deep PTM Biotechnology Limited