

Anwendung für Protein-Digestion:

Die Druck-induzierte Denaturierung von Substratproteinen führt zu einem besseren Zugang von Enzymen an vormals schlecht oder gänzlich unzugängliche target-sites. Dies hat eine bessere und beschleunigte Enzymaktivität zur Folge solange der Druck dabei unterhalb des Levels bleibt, bei dem das Enzym selbst denaturiert oder inaktiviert würde. Zusätzlich kann hydrostatischer Druck einen positiven Effekt auf die Enzymaktivität selbst haben unabhängig von der Substrat-Konformation.

Enzymatischer Verdau, der durch PCT* beschleunigt wird:

Trypsin, Lys-C, Chymotrypsin, Glu-C, PNGase F, Lysozym, Elastase, Thermolysin.

Die Vorteile des PCT* für die Probenvorbereitung vor der Massenspektrometrie-Analyse sind:

- Die Zeit für den Trypsin-Verdau verkürzt sich von 12 Stunden auf 60 Minuten
- Optimierte und standardisierte, schnelle physikochemische Digestionsbedingungen
- Lipophile und Membran-ständige Proteine können besser nachweisbar werden
- Verbesserte Sequenz-Abdeckung aufgrund vollständigerer Digestion
- Bessere Digestion und Detektion von Proteinen, die schwierig zu verdauen sind
- Keine Änderung in der Enzymspezifität und kein Anstieg von nicht-spezifischen Spaltungen
- Weniger von unerwünschten Protein-Modifikationen wie Carbamylierungen und kein Anstieg an Modifikationen wie durch Desaminierungen
- Wiederholungsversuche am gleichen Tag sind möglich
- Massenspektroskopische Ergebnisse von tausenden Proteinen sind wesentlich schneller erreichbar, als mit herkömmlichen Methoden der Probenvorbereitung
- Ergebnisse sind reproduzierbarer als bei konventionellen Methoden

*:Die Pressure-Cycling-Technologie (PCT) ist ein von PBI patentiertes Verfahren, das hohen hydrostatischen Druck verwendet, um Protein-Interaktionen, die Löslichkeit von Probenkomponenten und andere biologische Interaktionen zu kontrollieren.