

改良 TCA/丙酮沉淀法去除肥胖人群 血浆中的高丰度蛋白质



王俊 冯里茹 于微 徐健 杨慧 刘小立¹

深圳市慢性病防治中心 深圳 518020

摘要:目的 对传统的三氯乙酸(TCA)/丙酮沉淀法进行改良,探索一种较好的高脂血浆的高丰度蛋白去除方法。方法 分别用不同体积(1、3、4、5、6、8、10和20倍样品体积)、不同TCA浓度(10%、30%、40%、50%、60%、70%)的TCA/丙酮溶液处理高脂血浆处理所得上清和沉淀蛋白样品分别进行一维十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳(SDS-PAGE)验证比较,确定去除效果最佳的TCA/丙酮溶液,用该浓度TCA/丙酮溶液与含有10%三氯乙酸的TCA/丙酮溶液同时处理血浆,对所得沉淀蛋白进行二维SDS-PAGE验证,并对所得上清和沉淀蛋白质进行Nano HPLC-Chip-MS/MS鉴定比较。结果 4倍样品体积的TCA/丙酮溶液去除高丰度蛋白的效果较好,增加或减少TCA/丙酮溶液的体积都会影响去除效率;60%TCA/丙酮溶液去除血浆中高丰度蛋白质的效率比10%、20%、30%、50%TCA/丙酮好,而70%TCA/丙酮溶液处理血浆的重复性较差。质谱鉴定结果显示4倍样品体积的60%TCA/丙酮溶液与10%TCA/丙酮溶液处理后的血浆样品相比,可鉴定更多的低丰度蛋白质。结论 用4倍样品体积的60%TCA/丙酮溶液去除血浆中高丰度蛋白质的效果最为理想,尤其适用于较高脂含量的样品的处理。

关键词: 肥胖人群 血浆 高丰度蛋白质 TCA/丙酮沉淀法

中图分类号: R446.119

文献标志码: A

Removal of high-abundance proteins in plasma of the obese by improved TCA/acetone precipitation method

WANG Jun, FENG Liru, YU Wei, XU Jian, YANG Hui, LIU Xiaoli

Shenzhen Center for Chronic Disease Control, Shenzhen 518020, China

Abstract: Objective To develop an improved trichloroacetic acid(TCA)/acetone precipitation method for removal of high-abundance proteins in plasma of the obese. **Methods** Volumes of TCA/acetone solution(1, 3, 4, 5, 6, 8, 10 and 20 times of the sample) and concentrations of TCA(10%, 30%, 50%, 60%, 70% TCA/acetone solution) have been investigated to optimize the conditions of sample preparation. SDS-PAGE were used to separate and tested proteins in the supernatant and sediment. The best concentration of the TCA/acetone solution was first determined by SDS-PAGE. The protein in precipitation from 10% TCA/acetone solution processing and the new determined concentration TCA/acetone solution processing were verified by 2-D-SDS-PAGE. And

基金项目: 国家自然科学基金(No. 81172668, 81202207)

作者简介: 王俊,男,博士,讲师,研究方向: 分子营养学, E-mail: junwangwh96@gmail.com

¹通信作者: 刘小立,男,硕士,研究员,研究方向: 营养与食品卫生, E-mail: liuxl36@126.com

then the digested products of the protein in precipitation and supernatant by trypsin were analyzed by nano HPLC-Chip-MS/MS to verify which is the best concentration to process the plasma. **Results** The best volume of TCA/acetone is four times to sample, which less or more TCA/acetone would reduce the removal efficiency of high-abundance proteins. The concentration of TCA in acetone solution should be 60%, which may remove more high-abundance proteins in plasma than 10% 30% 50% TCA in acetone solution. If the TCA concentration is more than 60%, the reproducibility will be much poorer due to fast precipitation of proteins. The results of mass identification showed that human plasma prepared with 60% TCA/acetone (4 times sample volume) could be verified more low-abundance proteins than 10%. **Conclusion** The most desirable conditions for removal of high-abundance proteins in plasma is 60% TCA/acetone (4 times sample volume), especially for the plasma of obesity.

Key words: obesity, plasma, high-abundance proteins, TCA/acetone precipitation method

肥胖是一种由遗传和环境因素相互作用引起的慢性代谢性疾病,与心血管病、糖尿病、高血压、癌症被世界卫生组织并列为影响健康的五大危险因素。我国目前超重者已达 22.8%,肥胖者为 7.1%^[1],预防和肥胖症已成为刻不容缓的任务,而针对肥胖引起慢性非传染性疾病的分子的机制探讨也逐渐成为研究的热点。血液蛋白组学通过比较正常和病理情况下血液中蛋白质在表达数量和修饰状态上的差异,可全面、动态地评估外界和内在因素对疾病的影响,是最为理想的分子生物学研究手段之一。

然而,人体血液中蛋白浓度的动态范围极广(高、低丰度蛋白浓度相差可达 12 个数量级^[2]),上万种血液低丰度蛋白含量不足总蛋白的 1%,诊断各种疾病的标识物通常只有 ng/ml 甚至更少^[3],因此必须去除高丰度蛋白的干扰,才有可能高灵敏地检测到各种更有意义的低丰度蛋白。

但是,肥胖人群血浆中脂类化合物含量偏高,甚至会有脂血现象,采用免疫亲和法去除高丰度蛋白时,过高的血脂会粘附于蛋白或填料中抗体的表面,覆盖抗原抗体相互作用位点,阻止了部分抗原抗体的结合,显著降低免疫亲和层析去除高丰度蛋白的特异性,且缩短高成本免疫亲和柱的使用寿命;若通过简单的离心,先去除脂肪和不溶性物质,势必会引起脂质蛋白的损失。

CHEN 等^[4]分别利用 0~20% 的 TCA/丙酮溶液优化血浆中白蛋白的去除方法,发现 10% 的 TCA/丙酮溶液效果最佳。本文将 TCA/丙酮溶液中三氯乙酸的浓度优化范围扩大至 10%~70%,并将其运用于肥胖人群血浆的预处理,在避免血浆中脂类化合物影响的同时,有效提高高丰度蛋

白质的去除效率,以期肥胖人群血液蛋白组学的研究奠定基础。

1 材料与方法

1.1 仪器与试剂

高速冷冻离心机 (Centrifuge 5415R, Eppendorf, 德国);超纯水系统 (Milli-Q Element A10, Millipore, 美国);等电聚焦仪 (PROTEAN@i12TM IEF cell, Bio-rad, 美国),垂直电泳系统 (PROTEAN@II cell, Bio-rad, 美国);光密度扫描仪 (GS-800 Calibrated Densitometer, Bio-rad, 美国);二维纳流液相色谱-芯片-四级杆飞行时间质谱系统 (Nano HPLC-Chip-MS/MS, Agilent, 美国)。

Tris、SDS、30% 丙烯酰胺、尿素、3-[[3-胆固醇氨丙基]二甲基氨基]-1-丙磺酸 (Chaps)、二硫苏糖醇 (DTT)、碘代乙酰胺 (IAA)、矿物油、pH4~7 线性 IPG 胶条、pH4~6 两性电解质、pH5~7 两性电解质、甘氨酸、考马斯亮蓝 G250 均采购自 Bio-Rad 公司,三氯乙酸 (TCA)、甘油、低熔点琼脂糖采购自 Sigma 公司,丙酮、乙醇、甲醇、乙酸采购自 Merk 公司。质谱级胰蛋白酶购自 progeMa。

1.2 样本

样本来源于 2009-2011 年中国居民营养与健康状况监测项目 (深圳地区) 样本库,根据调查问卷、体检及生化指标,选取男性样本 20 例。样本纳入标准:男性,18~44 岁, BMI ≥ 28 , 无其他器质性疾病, 血压、血糖、血红蛋白正常。实验前,向所有受试者介绍了实验目的,并与其签署知情同意书。

1.3 方法

分别采用 shotgun、SDS-PAGE-MS/MS、二维凝胶电泳-MS/MS 法,对人血浆样品中的蛋白进

行分离和鉴定(见图1),比较不同TCA/丙酮条件下去除高丰度蛋白质的特异性和去除效率。

1.3.1 样品制备(三氯乙酸/丙酮法) 取血浆20 μl 置于EP管中,加入80 μl 三氯乙酸/丙酮($-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ 冷冻),震荡混匀静置90 min,离心去除上清,沉淀用90%丙酮洗涤3次后,溶解于5倍体积蛋白裂解液中。

1.3.2 样品分离 采用一维或二维凝胶电泳法,分离上述方法制备的蛋白样品,凝胶经考马斯亮蓝染色后,光密度扫描仪扫描凝胶,利用PD Quest软件进行分析。

1.3.3 胶内酶切 超纯水清洗电泳胶粒3次,25 mmol/L NH_4HCO_3 乙腈溶液脱色胶粒,然后加入100 mmol/L DTT,56 $^{\circ}\text{C}$ 振荡60 min还原蛋白,冷却至室温,加入55 mmol/L IAA,室温避光振荡30 min,使其烷基化;纯乙腈干燥胶粒,加入20 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 质谱用测序级胰蛋白酶5 μl ,4 $^{\circ}\text{C}$ 放置30 min,再加入5 μl 的40 mmol/L NH_4HCO_3 ,37 $^{\circ}\text{C}$ 水浴10 h;离心取上清酶解母液至PCR管待测。

1.3.4 溶液酶切 将TCA/丙酮处理后的蛋白样品充分溶解于6 mol/L 盐酸胍溶液中,加入1 mol/L DTT,37 $^{\circ}\text{C}$ 反应2.5 h;加入5 μl 1 mol/L IAA,常温下遮光反应40 min;加入600 μl 沉淀剂(50%丙酮,50%乙醇,0.1%冰乙酸)沉淀蛋白12 h;离心去除上清,用70%乙醇洗涤蛋白沉淀;再加入100 mmol/L NH_4HCO_3 溶解蛋白;向蛋白溶液中按胰酶(1:50, W/W)混匀后置于37 $^{\circ}\text{C}$ 水浴上反应4 h,再加入等量的胰酶,37 $^{\circ}\text{C}$ 水浴12 h,终止酶切反应。溶液酶切的多肽样品经Zip-Tip除盐后质谱鉴定分析。

1.3.5 HPLC-Chip-MS/MS分析^[5] 采用HPLC-Chip-MS/MS系统对电泳分离后胶内酶切产物以及溶液酶切多肽混合溶液进行质谱检测。待测多肽混合样品由微量自动进样器上样至芯片处进行捕集和梯度洗脱,并在纳流级电喷雾离子源中离子化,进入Q-TOF进行检测。质谱检测参数如下:干燥气流速:8 L/min;干燥气温度:350 $^{\circ}\text{C}$;毛细管电压:1800 V;MS扫描范围:400-1700 Da;MS/MS扫描范围:50~1700 Da;采集频率:2 spectra/s;碰撞能:3.6 V/100 Da。

1.3.6 质谱数据检索^[5] 利用Spectrum Mill MS Proteomics Workbench (Rev. A. 03.03.084 SR4, Agilent)对各样品的一级和二级质谱图进行检索。参数设置:数据库:SwissPort, Homo sapiens;母离子质量范围:300~4000 Da;蛋白质修饰:固定修饰 Carbamidomethylation、可变修饰 Oxidized

methionine;消化酶:胰蛋白酶;母离子质量精度: ± 50 ppm;子离子质量精度: ± 100 ppm;蛋白质有效性验证:得分 > 11.0 分;肽段有效性验证:得分 > 6 分,覆盖率(%SPI) > 60.0 。

2 结果

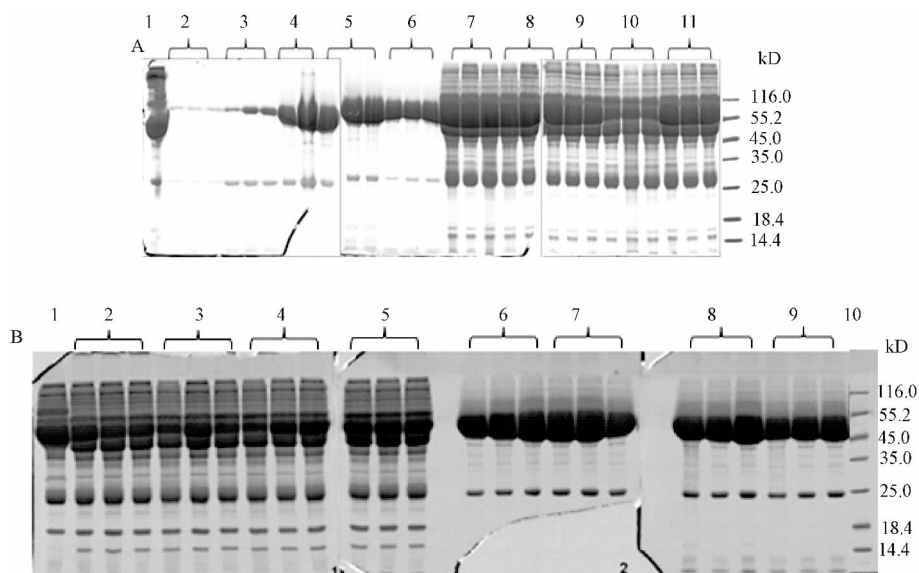
2.1 不同体积倍数TCA/丙酮溶液对去除血浆中高丰度蛋白质的影响

分别采用20、10、8、4、1倍样品体积的TCA/丙酮溶液处理血浆样品,分别对上清和沉淀蛋白质进行一维SDS-PAGE电泳,结果表明(图1A)4倍样品体积的TCA/丙酮溶液去除血浆中高丰度蛋白质的效率较1倍样品体积的好,而继续增加TCA/丙酮溶液的量反而降低了血浆中高丰度蛋白质的去除效率,这可能是由于更多丙酮的加入,沉淀作用加强,减弱了高丰度蛋白质-三氯乙酸的可溶性,这一结果与CHEN等^[4]的报道一致。

进一步采用3、4、5、6倍样品体积的TCA/丙酮溶液处理血浆样品,其SDS-PAGE结果如图1B所示,4倍样品体积的TCA/丙酮溶液处理血浆样品的高丰度蛋白质去除效率最好,增加TCA/丙酮溶液的体积使上清溶液中损失的低丰度蛋白显著增加。所以4倍样品体积的TCA/丙酮溶液可以最大程度地去除血浆中高丰度蛋白质并保证较好的特异性。

2.2 不同浓度TCA/丙酮溶液对去除血浆中高丰度蛋白质的影响

分别采用4倍样品体积的10%、30%、50%、60%和70%(W/V)的TCA/丙酮溶液处理血浆样品,分别对处理后的上清和沉淀进行一维SDS-PAGE电泳(见图2A、2B),结果显示,随着丙酮中TCA浓度的增大,高丰度蛋白质的去除效率增强,但当溶液中TCA浓度达到70%时,其特异性下降,其他蛋白的损失率显著增加。并且在实验中发现,当70%的TCA/丙酮溶液加入样品时,血浆中的蛋白质迅速结块,沉淀呈透明状,使TCA/丙酮溶液不能与血浆中的蛋白质均匀作用,导致样品预处理重现性下降。采用Bradford法对蛋白浓度进行定量,比较10%~60%的TCA/丙酮溶液的去除效率。10%TCA/丙酮溶液处理血浆时蛋白质去除效率为48%,而60%TCA/丙酮溶液的蛋白去除效率约为56%,即用60%TCA/丙酮溶液处理血浆样品的可达到最好的蛋白质去除效率。综上所述,针对肥胖人群的血液样本,使用4倍样品体积的60%TCA/丙酮溶液去除血浆中高丰度蛋白质的效果最为理想。

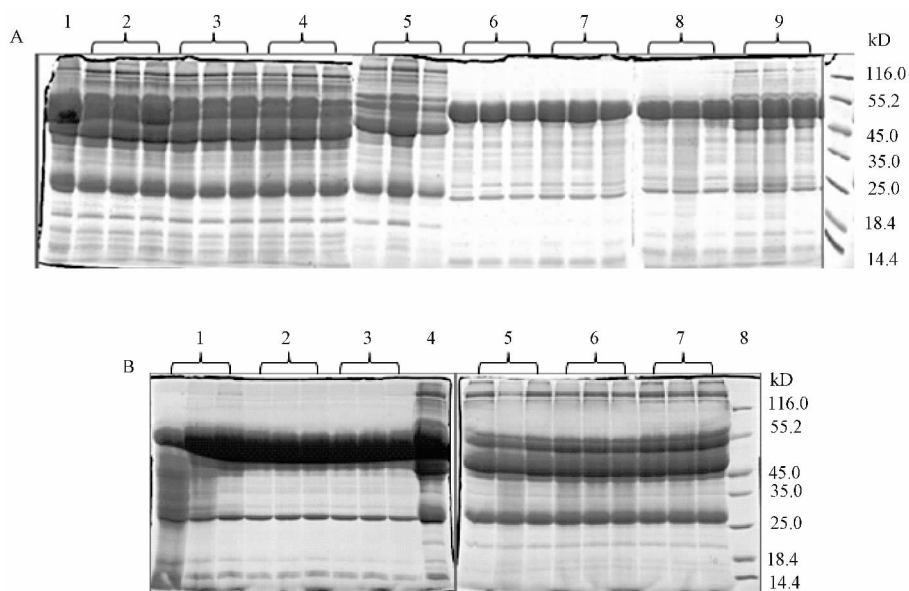


A 1: 未处理血浆样品; 2、3、4、5、6: 20、10、8、4、1 倍样品体积 TCA/丙酮处理上清中蛋白; 7、8、9、10、11: 20、10、8、4、1 倍样品体积 TCA/丙酮处理沉淀中蛋白

B 1: 未处理血浆样品; 2、3、4、5: 3、4、5、6 倍样品体积 TCA/丙酮处理沉淀中蛋白; 6、7、8、9: 3、4、5、6 倍样品体积 TCA/丙酮处理上清中蛋白; 10: 蛋白质分子量标准

图 1 不同样品体积倍数的 TCA/丙酮处理血浆 SDS-PAGE(12%分离胶)

Figure 1 SDS-PAGE(12%) of human plasma proteins dealt with different times volume of acetone with 10% TCA



A 1: 未处理对照样品; 2、3、4、5: 4 倍样品体积 10%、30%、50%、70% TCA/丙酮处理沉淀蛋白; 6、7、8、9: 4 倍样品体积 10%、30%、50%、70% TCA/丙酮处理上清蛋白

B 1、2、3: 4 倍样品体积 70%、60%、50% TCA/丙酮处理上清蛋白; 4: 未处理血浆样品; 5、6、7: 4 倍样品体积 70%、60%、50% TCA/丙酮处理沉淀蛋白; 8: 蛋白质分子量标准

图 2 不同浓度 TCA/丙酮处理血浆样品 SDS-PAGE(12%分离胶)

Figure 2 SDS-PAGE (12%) of human plasma proteins dealt with 4 times volume of acetone with different content TCA

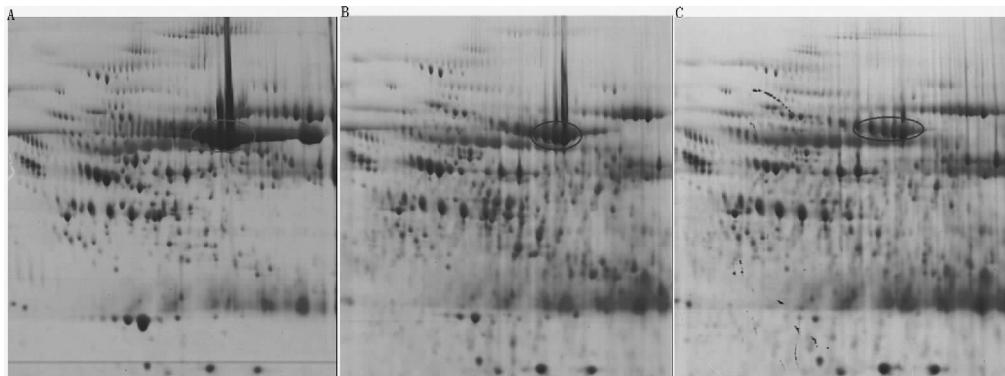
2.3 改良的 TCA/丙酮沉淀法的二维聚丙烯酰胺凝胶电泳结果

将原血浆样品、10%和60% TCA/丙酮溶液处理的血浆样品经过二维聚丙烯酰胺凝胶电泳分离,通过低丰度蛋白的分辨率评估 TCA/丙酮去

除血浆中高丰度蛋白质的效率。结果如图 3 所示,图 3B、3C 与 3A 相比,可分辨出更多的蛋白质斑点,说明 TCA/丙酮溶液可以有效去除血浆中的高丰度蛋白质,提高其他蛋白的相对上样量,使得低丰度蛋白在考马斯亮蓝染色的条件下得以显

色。而图 3C 与图 3B 相比,图中红线所圈区域蛋白点(白蛋白)分辨率明显提高,在低分子量区域也有更多的蛋白点得以显现。经 PD-QUEST 软件分析,图 3A、3B 以及 3C 中分别检测到 343、432

和 495 个蛋白点。以上结果表明,采用浓度为 60% TCA/丙酮溶液处理血浆样品,比 10% TCA/丙酮溶液可进一步提高血浆样品中低丰度蛋白质的分辨率。



A:不经TCA/丙酮处理原血浆样品; B:经浓度为10%TCA/丙酮处理血浆样品; C:经浓度为60%TCA/丙酮处理血浆样品

图 3 人血浆二维 SDS-PAGE 9.5%分离胶

Figure 3 2-D-SDS-PAGE(9.5%) of human plasma

2.4 沉淀富集蛋白的质谱鉴定

肥胖志愿者的血浆样品经过 TCA/丙酮溶液处理后,将沉淀复溶,蛋白质经溶液酶切为多肽混合溶液后采用 Chip-LC-QTOF 进行质谱鉴定。采用 10% TCA/丙酮溶液处理得到的沉淀可鉴定出 84 种蛋白,而采用 60% TCA/丙酮溶液处理得

到的沉淀共鉴定出 91 种蛋白,其中两组中的鉴定的特异性蛋白质分别为 7 和 14 种(详见表 1)。

α 1-酸性糖蛋白 1 是人血浆中前 20 种高丰度蛋白之一,它仅在 10% TCA/丙酮溶液处理所得沉淀中被检出。TCA 在特定条件下,与一些蛋白形成复合物,可溶于有机溶剂中。因此,10% TCA/

表 1 10%或60%TCA/丙酮沉淀蛋白 MS/MS 鉴定结果差异比较

Table 1 The MS/MS results difference between the precipitation samples from 10% and 60% TCA/acetone

编号	数据库检索号	蛋白名称	蛋白得分	不同肽段数目	氨基酸覆盖率/%	备注 ⁽¹⁾
1	P02763	α 1-酸性糖蛋白 1	76.07	5	25	A
2	P43652	Afamin	43.58	3	6	A
3	P06319	免疫球蛋白 lambda 链可变区 VI EB4	23.00	1	15	A
4	P06318	免疫球蛋白 lambda 链可变区 VI WLT	23.00	1	18	A
5	P01598	免疫球蛋白 K 链可变区 I EU	21.86	1	15	A
6	P01596	免疫球蛋白 K 链可变区 I CAR	21.86	1	15	A
7	P04433	免疫球蛋白 K 链可变区 III VG	20.47	1	26	A
8	P19652	α 1-酸性糖蛋白 2	85.11	5	30	B
9	P02751	纤维连接蛋白	60.65	4	2	B
10	P06396	凝溶胶蛋白	58.02	4	6	B
11	P25311	锌- α 2-糖蛋白	54.98	3	12	B
12	P36955	色素上皮细胞衍生因子	42.06	3	9	B
13	P00747	血纤维蛋白溶酶原	41.74	3	5	B
14	Q08380	半乳糖蛋白 3 结合蛋白	30.26	2	4	B
15	P05543	甲状腺素结合球蛋白	28.58	2	4	B
16	P29622	人源性激肽释放酶结合蛋白	27.94	2	4	B
17	P02750	富含亮氨酸- α 2-糖蛋白	24.22	2	8	B
18	P06727	载脂蛋白 A-IV	22.82	1	3	B
19	P03952	人源性激肽释放酶	22.38	1	2	B
20	P13671	补体成分 C6	22.13	1	1	B
21	P02753	视黄醇结合蛋白 4	21.23	1	4	B

注: (1) A: 仅在 10% TCA/acetone 处理沉淀蛋白样品中成功被鉴定, B: 仅在 60% TCA/acetone 处理沉淀蛋白样品中成功被鉴定

丙酮溶液沉淀蛋白能力较强,将血样中更多的高丰度蛋白沉淀下来。而在 60% TCA/丙酮溶液处理血浆所得沉淀蛋白中,可检测出锌- α 2-糖蛋白、凝溶胶蛋白、色素上皮细胞衍生因子、血纤维蛋白溶酶原、半乳糖蛋白 3 结合蛋白、甲状腺素结合球蛋白、人源性基态释放酶结合蛋白、富含亮氨酸 α 2 糖蛋白、载脂蛋白 A-IV、人源性激肽释放酶、视黄醇结合蛋白 4 等 14 种低丰度蛋白,其中半乳糖蛋白 3 结合蛋白是由肿瘤细胞分泌的刺激骨髓基质中白细胞介素 6 的表达因子,在血浆中蛋白浓度为 $3.6 \mu\text{g}/\text{ml}$ ^[6-7],富含亮氨酸 α 2-糖蛋白在血浆中浓度仅为 $1.55 \sim 4.49 \mu\text{g}/\text{ml}$ ^[8],是溃疡性结肠炎活性生物标志物,锌- α 2-糖蛋白^[9]是前列腺癌可能的血清标志物。所以 60% TCA/丙酮溶液处理后的沉淀样品具有更好的低丰度蛋白质分辨效果。

表 2 仅在 60% TCA/丙酮处理血浆上清 MS/MS 中鉴定成功的蛋白

Table 2 The proteins were only identified in the supernatant of 60% TCA/acetone precipitation of human plasma

编号	数据库检索号	蛋白名称	蛋白得分	不同肽段数目	氨基酸覆盖率/%
1	P02787	血清转铁蛋白	198.48	11	21
2	P01011	α 1-抗胰凝乳蛋白酶	55.55	3	11
3	P01024	补体成分 3	53.69	3	3
4	P02766	甲状腺素运载蛋白	51.64	3	30
5	POC0L5	补体成分 4B	48.53	2	3
6	POCG04	免疫球蛋白 lambda 稳定区	43.94	2	33
7	P05155	血浆蛋白酶 C1 抑制剂	40.91	2	3
8	P02763	α 1-酸性糖蛋白 1	38.98	2	11
9	P08697	α 2-抗血纤蛋白酶	38.52	2	11
10	P02753	视黄醇结合蛋白 4	21.66	1	8
11	P02675	纤维蛋白原 β 链	20.66	1	2

3 讨论

目前,免疫亲和法是最常用的、特异性最好的去除血浆中高丰度蛋白的方法。在处理肥胖人群样本时,由于肥胖者常有血脂过高,甚至脂血的现象,用免疫亲和柱处理这类血浆样品时,血浆中的脂类会粘附于蛋白或填料中抗体的表面,覆盖抗原抗体相互作用位点,阻止部分抗原抗体的结合,降低免疫亲和层析去除高丰度蛋白的效率。过高的脂类还会造成免疫亲和柱的堵塞而降低其使用寿命。另外,经免疫亲和柱处理后回收得到的低丰度蛋白还需要进行浓缩、除盐等步骤,操作繁琐。

在高血脂血浆的处理中,TCA/丙酮法有其独特的优势。根据相似相溶原理,利用丙酮溶液处理血浆,可以在沉淀蛋白质的同时有效去除血浆中的脂类,避免脂类对后续实验分析的影响。而在丙酮中加入适量的三氯乙酸则可通过三氯乙酸

2.5 上清溶液的蛋白质鉴定

为进一步验证不同条件下,TCA/丙酮溶液去除血浆中高丰度蛋白的效率,对沉淀后得到的上清溶液进行酶切,然后采用高分辨质谱进行蛋白鉴定。10% TCA/丙酮溶液处理血浆,上清溶液中可鉴定到白蛋白、载脂蛋白 A-I 等 13 种蛋白,其蛋白鉴定所得的种类和数目与文献报道^[4]一致;而在 60% TCA/丙酮溶液处理血浆的上清溶液中,共鉴定得到 24 种蛋白,除了上述的 13 种蛋白外,还包括血清转铁蛋白、补体成分 3 等另外 11 种高丰度蛋白质(见表 2)。这一结果显示将丙酮中 TCA 浓度由 10% 提升至 60% 时,去除白蛋白特异性有所降低,但同时可以去除转铁蛋白、补体成分 3 等高丰度蛋白,而这些高丰度蛋白的去除有助于降低样品的复杂性,更有利于低丰度蛋白的鉴定。

与血浆中高丰度蛋白质的相互作用和其与丙酮互溶的特性而达到去除高丰度蛋白质的效果。虽然 TCA/丙酮法去除血浆中高丰度蛋白质的特异性远不如免疫亲合法,但其在高脂类样品的处理中的优势不容忽视。此外,TCA/丙酮溶液去除血浆中高丰度蛋白质是在变性条件下进行,可以破坏蛋白与蛋白之间的相互作用,因此在去除高丰度蛋白质的同时,减少了与这些高丰度蛋白质特异性结合的多肽与蛋白的损失。经 TCA/丙酮溶液沉淀的蛋白质仅需复溶即可使用,简化了操作步骤。TCA/丙酮法的另外一个较大优势是其价格低廉,尤其在大样本量的处理时可发挥较大作用。

肥胖人群是糖尿病、高血压等的高危人群,肥胖人群的血浆是研究这些高危人群寻找生物标志物的重要标本^[10],本文利用三氯乙酸/丙酮溶液对血浆样品进行预处理,有效清除血浆中脂类的同时,去除血浆中的高丰度蛋白质。本研究对

