

## 二氧化钛(TiO<sub>2</sub>)磁珠说明书

【产品名称】 二氧化钛磁珠

【英文名称】 Titanium dioxide Beads

【订货信息】

货号	产品名称	规格	尺寸	溶剂	浓度
MBTi-B-5	二氧化钛磁珠（薄壳层）	5 mL	1.2 ± 0.2 μm	纯水	25 mg/mL
MBTi-B-10	二氧化钛磁珠（薄壳层）	10 mL	1.2 ± 0.2 μm	纯水	25 mg/mL
MBTi-B-50	二氧化钛磁珠（薄壳层）	50 mL	1.2 ± 0.2 μm	纯水	25 mg/mL
MBTi-H-5	二氧化钛磁珠（厚壳层）	5 mL	1.45 ± 0.2 μm	纯水	25 mg/mL
MBTi-H-10	二氧化钛磁珠（厚壳层）	10 mL	1.45 ± 0.2 μm	纯水	25 mg/mL
MBTi-H-50	二氧化钛磁珠（厚壳层）	50 mL	1.45 ± 0.2 μm	纯水	25 mg/mL

### 【简介】

磷酸化是一种常见的可逆的翻译后修饰，在细胞信号传导等众多的生物过程中发挥调节作用，因此在肿瘤等许多疾病的研究中具有重要的意义。对磷酸化的认识有助于我们了解疾病的发生过程。磷酸蛋白和磷酸肽通常浓度极低，且电离程度差，因此很难通过质谱（MS）进行检测。因此，当前迫切需要能特异富集磷酸化肽、且与质谱分析兼容的富集技术。

二氧化钛具有富集磷酸丝氨酸（pSer）、磷酸苏氨酸（pThr）和磷酸酪氨酸（pTyr）残基的选择性亲和力。TiO<sub>2</sub>磁珠是一种专有的磁性材料微粒载体，能在复杂生物样品的蛋白消化物中简单、方便、高效、高特异、高重复性富集磷酸化肽。磁珠表面的二氧化钛纳米粒子对于单磷酸化肽和多磷酸化肽没有明显的偏好，因而非常适合单步富集磷酸化肽用于基于质谱的蛋白质组学分析。

南京东纳生物科技有限公司生产了两款二氧化钛磁珠：二氧化钛磁珠（薄壳层）二氧化钛磁珠（厚壳层）。二氧化钛磁珠（薄壳层）为尺寸均一的单分散微米级磁珠，表面呈现纳米级粗糙度岛状结构，具有较高的比表面积，较强的饱和磁化强度，快速的磁响应时间等优点。二氧化钛磁珠（厚壳层）表面包覆较厚二氧化钛壳层，这种结构更加稳定，能够用于更加剧烈的化学环境。二氧化钛磁珠集合了磁性材料快速外磁场响应和金属氧化物稳定性的优点，具有很高的比表面积，简化了磷酸化多肽富集过程，提高了富集通量。

### 【产品参数】

#### 产品形貌尺寸

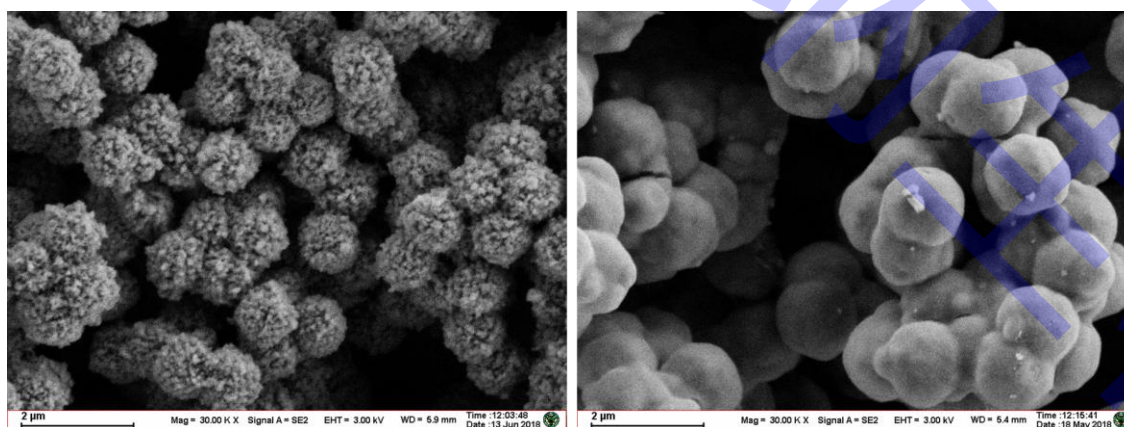


图 1. 二氧化钛磁珠扫描电镜照片

产品为两种二氧化钛磁珠，二氧化钛磁珠（薄壳层），平均尺寸为 1.20 μm（左图），二氧化钛磁珠（厚壳层），平均尺寸为 1.45 μm（右图）。

动态光散射 (DLS) 水动力尺寸

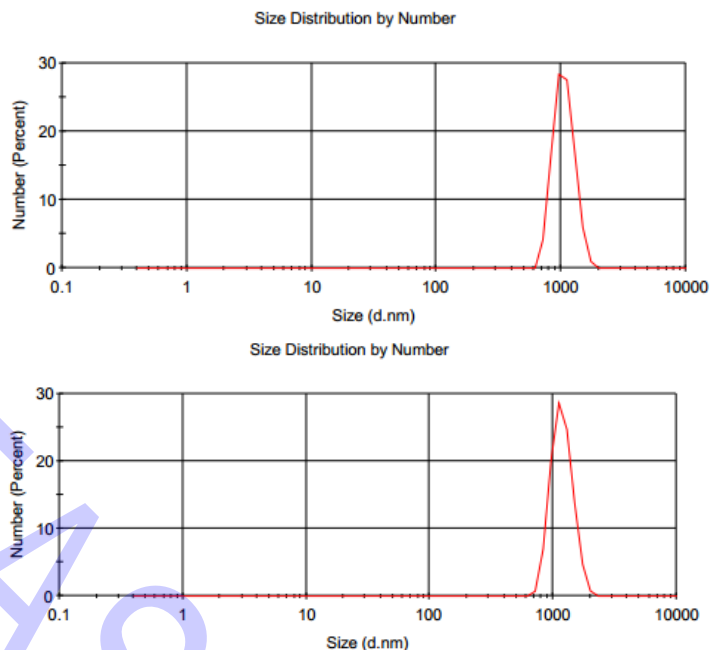


图 2. 二氧化钛磁珠产品 DLS 水动力尺寸分布图

二氧化钛磁珠（薄壳层）的 DLS 水动力尺寸为 1058 nm，多分散系数 PDI 为 0.348（上图）；二氧化钛磁珠（厚壳层）的 DLS 水动力尺寸为 1185 nm，多分散系数 PDI 为 0.373（下图）。

表面电荷 Zeta 电位表征

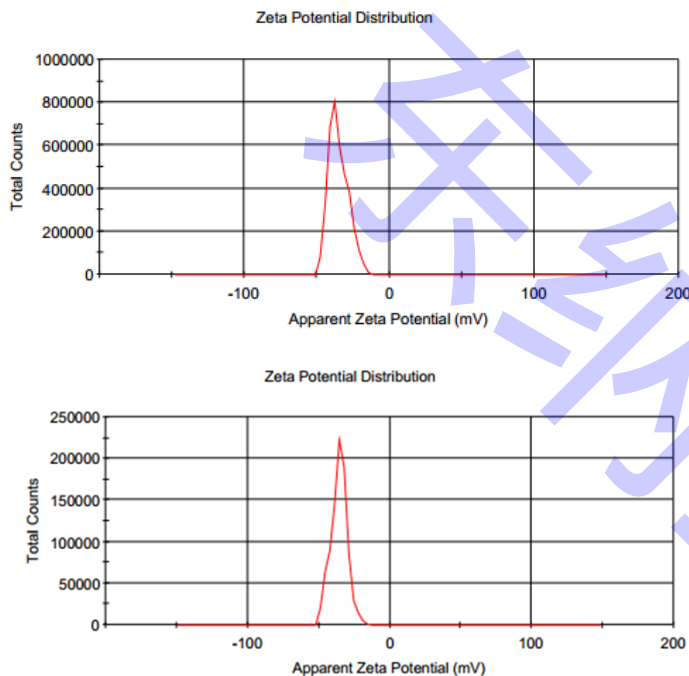


图 3. 二氧化钛磁珠表面 Zeta 电位图

二氧化钛磁珠（薄壳层）的 Zeta 电位为 -35.0 mV（上图）。二氧化钛磁珠（厚壳层）的 Zeta 电位为 -35.7 mV（下图）。

【产品特点】

1. 对磷酸化肽高特异性；

2. 对单磷酸化肽和多磷酸化肽无明显的偏好；
3. 小于 30 s 的快速磁响应性，减少样品损失，更适合自动化操作；
4. 抗氧化特性，降低样品被污染风险。

### 【结合与洗脱程序】

上样缓冲液：1 M 羟基乙酸，80% 乙腈，5% 三氟乙酸，pH 调至 2.5-3.0；

洗涤缓冲液：80% 乙腈，1% 三氟乙酸；

洗脱缓冲液：1% 氢氧化铵；

影响磷酸肽结合的因素包括：缓冲液的组成、pH 值以及是否存在污染物/干扰化合物。磁珠用量应根据应用进行优化，建议使用过量的含磷酸肽样品使磁珠饱和。

注意：为确保最佳性能，所有的试剂应为分析级新鲜配制。后续的操作流程所使用的缓冲液仅作为示例，并非限制。TiO<sub>2</sub> 磁珠在磷酸肽富集过程中与一系列不同的缓冲液兼容。为达到最好的纯度和产量，应优化的具体富集过程的实验条件。

#### 1. TiO<sub>2</sub> 磁珠的平衡

TiO<sub>2</sub> 磁珠以 25 mg/mL 浓度，保存于纯水中。使用前应对磁珠进行洗涤和平衡，可根据实际需要放大和缩小磁珠用量。最小体积为 10 μL 的微粒悬浮液是确保磁珠能与缓冲液分离。以下方案是从约 500 μg 的总蛋白质消化液中纯化磷酸肽。

- 1) 涡旋混合 TiO<sub>2</sub> 磁珠以确保均匀分散。
- 2) 转移 40 μL (1 mg) TiO<sub>2</sub> 磁珠到 2 mL 离心管。
- 3) 将离心管放在磁分离器上，放置 30 秒，移弃上清。
- 4) 用 200 μL 的纯水温温和洗涤微粒（例如间或涡旋混合）5 分钟。
- 5) 将离心管放在磁分离器上，放置 30 秒，移弃上清。
- 6) 重复步骤 4 和 5。
- 7) 用 100 μL 的 1% NH<sub>4</sub>OH 轻轻洗涤微粒（例如间或涡旋混合）10 分钟。
- 8) 将离心管放在磁分离器上，放置 30 秒，移弃上清。
- 9) 50 μL 上样缓冲液平衡磁珠 60 秒。
- 10) 将离心管放在磁分离器上，放置 30 秒，移弃上清。
- 11) 重复第 9 步和第 10 步两次，共三次平衡。
- 13) 除去上样缓冲液后，TiO<sub>2</sub> 磁珠可用于结合目标磷酸肽。

#### 2. 磷酸肽富集过程

1) 用上样缓冲液调整消化后蛋白至合适浓度（包含~ 500 μg 总蛋白）与平衡好的 TiO<sub>2</sub> 磁珠相匹配。

注意：若磷酸肽为固体，请用不低于 100 μL 的上样缓冲液溶解。

- 2) 涡旋或移液器吸打混匀磁珠。
- 3) 室温孵育 20 分钟，过程中确保样品和磁珠的混合悬浮。
- 4) 将离心管放在磁分离器上，放置 30 秒，移弃上清。
- 5) 100 μL 的上样缓冲液温和洗涤 30 秒，去除未结合的样品。
- 6) 将离心管放在磁分离器上，放置 30 秒，移弃上清。
- 7) 100 μL 洗涤缓冲液温和洗涤 2 分钟，去除非特异性结合的多肽。
- 8) 将离心管放在磁分离器上，放置 30 秒，移弃上清。
- 9) 重复第 7 步和第 8 步 2 次，共洗涤 3 次。
- 10) 使用溶液（10% 乙腈和 0.2% 三氟乙酸）额外洗涤两次。
- 11) 80 μL 洗脱缓冲液洗脱 15 分钟，确保洗脱过程中磁珠的悬浮和混合。
- 12) 重复第 11 步，再用 80 μL 洗脱缓冲液洗脱两次。共获得 240 μL 洗脱样品。为获得浓缩样品，可用 3×40 μL 洗脱缓冲液用于洗脱过程。

- 13) 将离心管放在磁分离器上，放置 30 秒，移取上清到一新离心管。
- 14) 增在 240  $\mu\text{L}$  洗脱液中加入 60  $\mu\text{L}$  10%甲酸酸化样本。
- 15) 用质谱分析样品。质谱分析前，可对样本脱盐（如 C18），浓缩（如真空离心或冻干）。

#### 【常见问题及解决方案】

问题	可能原因	解决方案
磷酸肽不结合磁珠	结合 pH 不合适	确保上样缓冲液 pH 为 2.5-3.0
	使用的磁珠太少	增加磁珠使用量
	反应时间不够	增加孵育时间至 30 分钟
	干扰物质阻碍结合	对样品进行脱盐或透析
非特异性结合	洗涤体积不够	增加洗脱体积
	洗涤时间不够	增加洗脱时间
	缓冲液配制有误	正确配制新鲜的缓冲液
磷酸化多肽回收率低	不正确的洗脱缓冲液浓度	确保洗脱缓冲液 $\text{NH}_4\text{OH}$ 高于 0.5%
	样品浓度过低	冷冻干燥或真空离心浓缩样品
	样品中污染物导致的离子抑制	对制备的磷酸化多肽脱盐(如 C18 柱)

#### 【包装】

塑料瓶

#### 【贮藏及有效期】

密封，4 $^{\circ}\text{C}$ 冰箱储存，12 个月

#### 【注意事项】

1. 二氧化钛磁珠长期静置会发生沉降，请在充分搅拌或震荡分散混匀后使用。
2. 密封，4 $^{\circ}\text{C}$ 冰箱储存，避免干燥成块，避免冻融。

#### 【生产单位】

公司名称 南京东纳生物科技有限公司  
 地 址 南京市江宁区龙眠大道 568 号南京生命科技小镇 5 号楼北楼 6-7 楼  
 邮政编码 210000  
 电话号码 025 8347 5811  
 电子邮箱 [maglab@163.com](mailto:maglab@163.com)  
 公司网站 [www.nanoeast.net](http://www.nanoeast.net)