

半胱氨酸氧化修饰比例 送样检测指导手册

目录

1. 半胱氨酸氧化修饰比例送样建议	1
具体送样需求如下:	1
2. 样本准备基本原则	3
3. 样本名称、包装、运送	3

为保证后续实验结果, 我们针对样本的采集有一些建议, 希望能为您理想的实验结果锦上添花。

1. 半胱氨酸氧化修饰比例送样建议

样本数量建议至少 2 组比较 (实验组 vs 对照组), 每组送至少 3 个生物学重复。提完蛋白后, 我们将每个样本一式两份, 一份进行总半胱氨酸检测 (背景组流程), 另一份进行半胱氨酸氧化修饰检测 (正式组流程), 共 12 例上机数据。

具体送样需求如下:

每个样品要求至少可提取 2 mg 蛋白量 (包含背景组流程和正式组流程)。我们可以接受各种样品, 包括但不限于:

样本类型	常规送样量	最低送样量
细胞	6×10^7 收集细胞用PBS缓冲液至少清洗2次	3×10^7 收集细胞用PBS缓冲液至少清洗2次
蛋白	4 mg	2 mg
菌体	2 g	1 g
血清/血浆	500 μ l	250 μ l
常规动物组织 (脑、肝、脾、肺、肾、肌肉等)	300 mg	150 mg
植物组织 (叶、花、)	2 g	1 g
运输条件: 干冰低温送样		

样品类型	推荐送样量	预处理及保存
常规动物组织 (脑、肝、脾、肺、肾、肌肉等)	300mg	1) 最好使用进口品牌离心管或冻存管。 2) 样品选取的部位要一致, 去除非目标组织。 3) 取材新鲜组织, 用 PBS 清洗组织表面, 去除血渍; 迅速除去组织表面的筋皮及脂肪组织, 剪切成 100mg 左右小块, 2-3 块, 将组织块在盛有液氮的锡纸槽中速冻后, 再装入液氮预冷的螺口冻存管中, 将螺口盖子旋紧。 4) 样品采集完成后, 迅速进行液氮速冻 5min 以上, 之后可转移至 -80°C 冰箱冻存, 避免反复冻融。
植物组织 (嫩叶、花等)	2g	1) 建议使用进口品牌离心管或冻存管或者采用干净的锡箔纸。 2) 选取的部位要一致, 去除非目标组织。

		3) 取材新鲜组织, 尽可能的去掉状态不好的部分, 保持样品的一致性。(样品离体前用 PBS 或生理盐水洗掉杂质吹干后, 再采集样品。根等地下部分在样品离体后, 预冷的 PBS 清洗污染物。) 将样品剪切成小块, 装入液氮预冷的离心管或冻存管中, 盖紧盖子, 液氮速冻 5min 以上。如用锡箔纸保存, 锡箔纸的内、外壁均要明确标示样品名称, 在液氮速冻 5min 以上。-80℃冰箱保存。
菌类	2g 纯菌体	1) 采用离心等方法分离菌和培养基, 避免培养基蛋白对菌的污染。 2) 收集菌体并用 PBS (或其他符合要求的缓冲液) 溶液洗三遍。 3) PBS 重悬菌体并转移至 1.5ml 离心管中, 离心去上清, 如果样品量比较多, 最好分装, 每管 1g 左右, 液氮速冻后, -80℃保存。
细胞	6×10^7	1) 悬浮细胞培养至细胞浓度为 $2-5 \times 10^5/\text{ml}$; 贴壁细胞在合适的培养基中培养至覆盖培养皿 70-90% 面积, 去掉培养基并用 PBS 溶液清洗后用胰蛋白酶消化细胞收集。 2) 400-1000g 离心 5-10min 收集细胞并用 PBS 溶液洗三遍。 3) 用 PBS 重悬细胞, 转移至 1.5ml 离心管中, 400-1000g 离心弃上清, 不要残留过多的液体, 每管细胞体积保持在 2×10^7 左右, 送样 2-3 管。细胞液氮速冻后, -80℃保存。
血浆	500 μl	1) 采集血液样本, 建议使用 BD EDTA 血常规管 (含抗凝剂), 有条件的话首选 BD Vacutainer® 蛋白质组学产品 BDTM P100 组件或 BDTM P800 采血管 (含抗凝剂和蛋白酶抑制剂)。 2) 轻轻地 180 度上下颠倒混匀, 持续 8-10 次, 以混匀血液和添加剂。 3) 4℃, 3000rpm (根据物种稍微进行调整) 离心 10min。 4) 将血浆转移至离心管中, 立即添加蛋白酶抑制剂 (如有条件), 混匀, 瞬时离心。分装样品, 每管 200μl, 2-3 管。-80℃保存。如没有潜在性危险, 可以寄送样品; 如有潜在性危险, 请联系技术人员, 根据实验目的, 选择合适的灭活方法, 自行灭活。

血清	500μl	1) 收集全血至真空采血管（如 BD vacutainer 公司的红头真空采血管）。轻轻地 180 度上下颠倒混匀，持续 5-6 次。 2) 室温放置 30- 45min，4 度，3000rpm（根据物种稍微进行调整）离心 10min。 3) 将血清转移至离心管中，立即添加蛋白酶抑制剂（如有条件），混匀，瞬时离心。分装样品，每管 200μl，2-3 管。 -80℃保存。如没有潜在性危险，可以寄送样品；如有潜在性危险，请联系技术人员，根据实验目的，选择合适的灭活方法，自行灭活。
蛋白溶液/ 蛋白干粉	蛋白总量 4mg	蛋白干粉低温冻干。提供蛋白提取方法及溶解缓冲液信息，如有定量请提供定量信息。可以用 8M 尿素含 0.1-1%SDS 裂解；其他溶解缓冲液可以使用纯水或 PBS，如有其他 buffer 请提前咨询是否兼容，并填写到送样单上。如有需要可以直接联系我们，我们可以提供裂解液。

2. 样本准备基本原则

代表性和一致性原则	样本的取材部位、时间、处理过程等方面尽可能保持一致，否则可能会影响实验结果的可信度。 准确的分离病变组织和对照组织。取样部位不一致和不具有代表性会影响结果。
迅速性原则	样本质量是影响实验结果的最主要因素，用于研究的样本在采集、制备、贮存、运输过程中应尽可能地快，最大限度的缩短从样本采集到实验的时间。
低温原则	样本离体后，立即在 4℃或冰上等低温条件下进行分离，分离好的样本立即置于液氮、干冰或 -80℃冰箱中直至实验，以避免蛋白的降解。

3. 样本名称、包装、运送

样品名称	最好采用双重标记以防样品名称模糊，建议使用进口离心管。 标记 1：用高质量的油性笔在样品管上写上清晰、简单的样品名称，最好 5 个字符以内（不要写中文），用封口膜封好。 标记 2：将样品名称等信息写在标签纸上，贴在管壁上，最好用胶带粘贴牢固以防低温条件下样品标签脱落（最好采用能经受低温的粘性标签纸）。
------	--

样品包装	按送样指导的要求准备样品，采用高质量离心管盛装样品。冷冻的组织，用高质量的 2ml 的螺旋冻存管装载；离心管用封口膜密封管口。干冰运输，72 小时内到达，15kg 干冰即可。
邮寄样品	邮寄样品请附带完整的样品信息说明。建议自己存好备份样品。如样品有生物危险请提前咨询技术人员。

