

蛋白质组学和多肽组学送样检测指导手册

support@yinahe.com



前言

蛋白质组学是以蛋白质组为研究对象，研究细胞、组织或生物体蛋白质组成及其变化规律的科学。所有的样本都需要先进行蛋白质的提取然后才能继续进行后续蛋白质组的实验，实验成功的关键在蛋白质的前处理，但前处理的结果与原始样本的取材及预处理有很大的关系，样本的收集及预处理稍有不慎都可能影响实验结果，为了能得到更好的实验结果，我们从蛋白质的提取方面与 RNA 进行比较，蛋白质提取和 RNA 有较大不同，希望在比较中能给您提供一些指导建议：

- (1) RNA 控制蛋白表达但并不代表真正的表达成功，检测蛋白表达谱才能说明其真实情况；
- (2) RNA 对温度敏感，较不稳定，易降解且无法快速判断，而蛋白降解速度较慢，较容易通过 SDS-PAGE 电泳结果观察条带判断；
- (3) 不同组织体系的 RNA 组成相对一致，而蛋白质由于是构造生物体主体的成分，需要具体行使功能，因此不同物种、组织部位、体液体系的蛋白组成和提取方式千差万别；
- (4) 如果样品受到污染，则可能影响结果数量及准确性，蛋白污染可以通过 SDS-PAGE 电泳粗判断（污染程度不严重或者所有样品都被同类蛋白污染则无法判断），而非蛋白类型的分子污染无法通过前期质控发现，只有质谱采集后方能知晓；
- (5) 蛋白质受到取样技巧影响较大，如器官取样时黏连结缔组织、血液清洗不彻底、细胞上清洗不彻底、无血清培养体系血清去除不彻底、取样分离不同器官、器官的不同区域不精确甚至于采用生物样品整个躯体进行检测均会导致结果与理想情况差异极大，须非常注意！

多肽组学是生物体组织或者体液中的全部内源性多肽，是研究多肽组的结构、功能、变化规律及其相关关系的学科。多肽和蛋白质没有明显的界限，通常认为分子量小于 10kDa 的蛋白质称为多肽。研究样本体内本身的内源性多肽要防止样本的降解，所以在开始收集样本的时候就要严格把控操作流程，避免样本降解引入非实验目标的干扰，同时需要明确自己的实验目标分子量，以期能根据实验目的分离富集目标多肽，提供更满意的实验结果。

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。

目录

前 言.....	1
1. 样本准备基本原则.....	3
2. 样本名称、包装、运送.....	3
3. 蛋白质组学不同类型样品的要求及准备.....	3
3.1 动物组织样本.....	4
3.2 植物组织样本.....	4
3.3 微生物样本.....	4
3.4 细胞.....	5
3.5 液体.....	6
3.6 环境样本.....	8
3.7 单细胞.....	8
3.8 空间蛋白组.....	9
3.9 蛋白鉴定不同类型样品.....	10
3.10 FFPE.....	11
3.11 LIP-MS 和 TPP 送样指导.....	12
3.12 宏蛋白组.....	13
3.13 交联质谱送样需求.....	14
3.14 二硫键检测送样需求.....	15

1. 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，分离好的样品立即置于液氮、干冰或 -80℃冰箱中直至实验，以避免蛋白的降解。

2. 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。
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；离心管应用封口膜密封管口。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。

3. 蛋白质组学不同类型样品的要求及准备

以下的送样量是常规蛋白质谱项目要求，做翻译后修饰的项目需要富集，起始量较大，糖基化和磷酸化建议蛋白总量达到 1mg 以上，可以参照送样指导的上限。其他类型的修饰建议蛋白量达到 10-20mg，此类项目请提前联系技术支持，根据实际情况设计实验并准备样品的量。

3.1 动物组织样本

样品类型	推荐送样量	预处理及保存
动物组织	10mg-100mg	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，剪切成边长 0.5cm 小块或 100mg 左右小块，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℃冰箱冻存，避免反复冻融。
动物坚韧组织-毛发	50mg-200mg	依次用适量 PBS 或生理盐水，去除污染物，干燥，保存在-80℃。

3.2 植物组织样本

样品类型	推荐送样量	预处理及保存
嫩叶	300mg-1g	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。
树根、树皮、树枝等	500mg-1g	
果实、种子	500mg-1g	
花粉	200mg-400mg	收集开花期花粉，显微镜用解剖针去除杂质，转入 EP 管内，-80°保存。
藻类组织	300mg-1g	采取合适的离心力分离藻类并保证细胞完整，如 1000g 离心 15min，收集沉淀，并用 PBS 洗涤沉淀三次，分装样品，立即液氮速冻，-80℃保存。

3.3 微生物样本

样品类型	推荐送样量	预处理及保存
------	-------	--------

菌类	50-300μl 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 50μl 左右，液氮速冻后，-80℃保存。
----	--------------	--

3.4 细胞

样品类型	推荐送样量	预处理及保存
细胞	1×10 ⁶ 个细胞/管 1 管（磷酸化/N-完整糖肽蛋白组建议 5×10 ⁶ 个细胞以上）	1) 悬浮细胞培养至细胞浓度为 2-5×10⁵/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 5-10 分钟收集细胞并用 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。细胞液氮速冻后，-80℃保存。

3.5 体液

样品类型	推荐送样量	预处理及保存
血浆	100 μ l *1-2 管	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 度，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 100μl。 -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	100 μ l *1-2 管	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) 4 度放置 30- 45min，4 度，$\leq 1300g$（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 100μl。 -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。
乳汁	0.5-1ml*1 管	收集乳汁，用进口离心管分装， -80℃保存。酸沉法去除酪蛋白，用稀盐酸将溶液 pH 调至 4.6，搅拌均匀，沉淀酪蛋白。
唾液	0.5ml-2ml	禁食两小时以上，9-12am 取样，1000g-2000g 离心或使用 0.22 μ m 滤膜过滤收集唾液，分装 0.2~1ml*3 管， -80℃保存。
泪液	30 μ l-200 μ l	收集样品（可利用 capillary micropipette 或 Schirmer strip），4℃，8000-14000g 离心取上清， -80℃保存。
尿液	1mL*1 管	1) 收集不添加稳定剂的尿液样本，立即 4℃，1500r/min 离心，去掉细胞和碎片，收集上清。 2) 4℃，14000 rpm 离心 10 分钟，去掉沉淀颗粒。取上清并进行浓缩后分装到 2 个进口离心管中，每管的体积在 1ml 左右。液氮或干冰速冻， -80℃保存。（浓缩常用的方法是超滤，一般用 3KDa 的超滤管进行超滤浓缩）。

脑脊液	0.5mL*1 管	1) 收集到的脑脊液样本, 4°C 400g-2000g 离心 10min, 去掉细胞和碎片, 收集上清; 2) 将上清分装到进口离心管中, 每管 0.5ml 左右, 液氮或干冰速冻, - 80°C 保存; 3) 脑脊液中蛋白浓度动态范围大, 可选择低丰度富集以提高低丰度蛋白的检测效率。 ➤ 脑脊液样本采集后应尽快处理, 建议在 1-2 小时内完成初步处理。如果无法在 1 小时内处理, 应尽量在 2 小时内完成, 以避免样本降解或生物标志物的变化; ➤ 避免样本长时间暴露在室温下或反复冻融, 以确保样本质量和检测结果的可靠性; ➤ 如果脑脊液最初的样本呈血性, 则应丢弃, 收集后面的。
胸水	0.5mL*1 管	1) 将采集的胸水样本以 4°C 2000×g 离心 10 分钟, 取上清, 装到进口离心管中, 每管 0.5ml 左右, 液氮或干冰速冻, - 80°C 保存; 2) 胸水中存在高丰度蛋白, 这些蛋白在胸水蛋白质组中占有较大比例, 一些常见的高丰度蛋白包括触珠蛋白 (Haptoglobin)、维生素 D 结合蛋白 (Vitamin D-binding protein)、纤维连接蛋白 (Fibulin-3) 等。这些蛋白在胸水中的丰度较高, 可能会掩盖低丰度蛋白的检测, 可选择低丰度富集以提高低丰度蛋白的检测效率; 3) 样本应尽量避免反复冻融, 以免影响蛋白的完整性和检测结果。
肺水	0.5mL*1 管	1) 将采集的胸水样本以 4°C 500×g 离心 10 分钟, 取上清, 装到进口离心管中, 每管 0.5ml 左右, 液氮或干冰速冻, - 80°C 保存; 1) 胸水中存在高丰度蛋白, 这些蛋白在胸水蛋白质组中占有较大比例, 一些常见的高丰度蛋白包括触珠蛋白 (Haptoglobin)、维生素 D 结合蛋白 (Vitamin D-binding protein)、纤维连接蛋白 (Fibulin-3) 等。这些蛋白在胸水中的丰度较高, 可能会掩盖低丰度蛋白的检测, 可选择低丰度富集以提高低丰度蛋白的检测效率; 2) 肺水中存在高丰度蛋白, 主要包括白蛋白、转铁蛋白、α1-抗胰蛋白酶、免疫球蛋白等, 这些高丰度蛋白可能会掩盖低丰度蛋白的检测, 如果想提高检测的深度, 可选择低丰度富集以提高低丰度蛋白的检测效率。

细胞培养上清液	1ml*2 管	1) 细胞在合适的培养基中培养至覆盖培养皿 70-90%面积。 2) 去掉培养基后，用无血清培养基清洗三遍。加入无血清培养基，生长一定时间后，收集无血清培养上清于进口离心管中。 3) 1000rpm 离心 10 分钟去掉细胞，取上清，上清 12000rpm 左右高速离心去掉细胞碎片和沉淀，取上清并进行浓缩后分装到 2 个进口离心管中，每管的体积在 1ml 左右。 -80℃冻存。（浓缩常用的方法是超滤，一般用 3KDa 的超滤管进行超滤浓缩）。
蛋白溶液/蛋白干粉	蛋白总量 50 μg 以上	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。

3.6 环境样本

样品类型	推荐送样量	预处理及保存
海底泥/污泥	5g*3 份	样品分装成三管以上， -80℃冻存。

3.7 单细胞

送样类型	送样建议（提前沟通，保证细胞活性状态）	样本量	运输
分选好的单细胞（推荐）	分选好的单个细胞加入裂解液冻存，送样数量为目标检测数量的 150%（以免空管造成的数据缺少）。	1 个细胞/例样本	干冰运输
细胞悬液	细胞活率 > 80%，防止污染，灌满培养基，用不透气培养瓶，细胞量在 60-80%为宜；培养瓶外用自封袋包装，标记好信息。	1*10 ⁶ 个细胞（满足流式分选要求）	4℃，48 小时内到达
哺乳动物组织	新鲜组织可做基于流式分选的单细胞蛋白组；冷冻组织只能做切片，基于激光显微切割的空间蛋白组。 新鲜组织：取样避免热/化学损伤、坏死、钙化、硬化、纤维化的部位（尤其是病变组织），减少杂质引入；尽快切掉四周的脂肪组织，用 PBS 清洗三次以洗掉多余血水。	200mg	4℃，48 小时内到达

	若有水，应用吸水纸将组织块的水分充分吸干，加入组织保存液。		
其他细胞分选	具体咨询		

3.8 空间蛋白组

样本类型	前处理方式	送样标准	运输条件	备注
冷冻样本 (新鲜组织)	新鲜取样的组织样本 尽量切掉四周的脂肪组织，用 PBS 清洗三次以洗掉多余血水。 若有水，应用吸水纸将组织块的水分充分吸干，液氮速冻后直接液氮冻存或者-80℃冻存	1.样本大小为 2.5 cm x 1.5 cm x 0.3 cm 左右；2.样本管上编号清晰、简洁；3.选择合适的容器存放组织，容器不宜过小，否则会导致组织挤压变形。不能用玻璃瓶，易碎。不能漏液，否则会导致编号模糊等情况；3.一些特殊结构或部位，送样时应附图或说明，以保能快速准确地切到该区域	干冰运输	切忌将标本浸入甲醛乙醇、生理盐水
PFA 固定样本	按实验需求选择合适的固定液	同上	固定组织用固定液保存，常温运输	请勿低温冻存或者运输
石蜡块	石蜡切面组织大小最好不小于 1cm*1cm	一些特殊结构或部位，送样时应附图或说明，以保能快速准确地切到该区域。	常温运输	
石蜡切片	建议从同一组织区域连续取 3 至 5 张切片	一些特殊结构或部位，送样时应附图或说明，以保能快速准确地切到该区域。	常温运输	1.使用激光捕获显微切割 (LCM) 技术的样本需贴附于专用膜片上。我们不能接受贴于传统载玻片上的 OCT/FFPE 切片；2.若您已使用 LCM 技术准备了样
HE 染色切片			干冰运输	
冰冻切片			干冰运输	

			本, 请与我们沟通以确保仪器、系统和材料的兼容性
已微切割的样本		干冰运输	送样时备注切割的规格

3.9 蛋白鉴定不同类型样品

3.9.1 送样建议和注意事项

送样类型	beads 沉淀	蛋白溶液	胶条
送样类型	· 蛋白 A/G 磁珠-抗原抗体复合物 · 琼脂糖珠-抗原抗体复合物	· 非变性洗脱蛋白 · 变性洗脱蛋白	· SDS-PAGE 胶条 · Native-PAGE 胶条
推荐送样量	1 管/样(有备份最好)	1 管/样(有备份最好)	至少 1 份/样(有备份最好), 每个胶条的面积大小不超过 20mm ² , 如 2mm*10mm 或 4mm*5mm。
酶解方式	直接 beads 上酶解(推荐方式)	溶液内酶解(自动化, 可兼容复杂体系)	胶内酶解(自动化)
保存及运输	-80°C 保存, 干冰运输		长期保存建议 -80°C, 1 周内 4°C 保存, 冰袋/干冰运输

3.9.2 不同类型样本预处理方法

A. Beads 沉淀 (蛋白 A/G 磁珠或琼脂糖珠)

优点: 操作简单, 省去了洗脱、浓缩等步骤, 降低蛋白损失, 后续直接 on beads 酶解、质谱检测。缺点: 需要根据具体的 IP 实验过程确定样本是否符合直接进行 on beads 酶解, 如直接 on beads 酶解不能很好的将结合的蛋白酶解并洗脱下来则需要考虑用特殊的溶液将结合的蛋白先洗脱下来。

送样注意事项: 1) **洗涤 beads:** 孵育完成后, 使用 wash buffer (不含甘油、Triton、NP-40 和 CHAPS) 清洗样品 2-3 次, 以去除非特异性结合和干扰物质, 离心尽可能去除上清。2) **寄送样品:** 将与 beads 结合的蛋白样品送样检测即可。注意直接送 beads 沉淀, 不需要再添加载解液或者 loading buffer。3) **备注信息:** 送样时请备注 beads 类型。

B. 蛋白溶液（非变性或变性蛋白溶液）

优点：基于实验目的将样本洗脱后一部分样本用于质谱检测，另一部分样本可以用于其它实验。可以选择酸洗脱等条件温和洗脱或变性洗脱。缺点：溶液 buffer 成分可能会影响样品的检测结果并对仪器有损害，如去污剂、盐等，因此在酶解前需去除干扰物质。比如：如果裂解液中含有 Triton 或者 SDS，此方法得到的蛋白溶液后期需要经过处理后才能酶解，处理的过程中会有一定的损失；如果是含有 loading buffer 或高浓度去垢剂的复杂溶液，需要用 SP3 磁珠进行处理后才可以溶液酶解。

送样注意事项：1) **告知 buffer 成分：**如果在 IP 过程中使用了 NP-40、Triton、CHAPS 等去污剂，请提前告知。寄送蛋白溶液样品时，必须注明 buffer 成分，否则无法安排后续实验。2) **洗脱建议：**如果 wash buffer 中含有去垢剂，在 elution 之前最好用不含去垢剂的 wash buffer 洗两遍，然后再 elution。洗脱体积不要太大，以免影响后续的实验操作从而影响后续的实验结果。

C. 胶条（SDS-PAGE 变性胶条或 Native 非变性胶条）

优点：通过电泳可根据分子量分离蛋白质，并直观切取目标胶条进行蛋白质谱鉴定，去除非特异性蛋白和杂质，提高鉴定准确性。缺点：胶条蛋白前处理过程繁琐，需要多次脱色、清洗、干燥，过程中还会造成角蛋白污染，影响结果。

送样注意事项：1) SDS-PAGE：洗干净的 protein A/G-beads 中加入适量 2×SDS loading buffer，沸水/100℃煮 10 分钟。电泳时两个样品之间请加一个空白泳道，避免样品交叉污染。如果需切取目标条带，建议正常跑电泳，切取目标条带到进口离心管中。如果需要切取整个泳道做鉴定，建议跑胶 1-2CM，方便后续实验操作，同时节约样品前处理费用，切取所有条带到进口离心管。2) Native-PAGE：如果研究蛋白质复合物、多聚体形式，也可以寄送 Native 胶条。3) 寄送样品：寄送胶条样品时，样本中可以加入适量超纯水或者不加任何溶液，冰袋送样。

3.10 FFPE

样品类型	推荐送样量	预处理及保存
石蜡包埋组织/切片	切片 1 片以上；石蜡包埋组织 1 个/每管	1) 石蜡包埋组织，用仪器将样品切成 6-8 μ m 的厚度，组织面积最好为 0.5-1cm*0.5-1cm，，尽量去除多余的石蜡，每个样品收集至少 1 个石蜡卷，常温运送。 2) 石蜡切片：至少提供 1 张切片，如果可以建议寄送 1-3 张，其他留作备份，常温运送。

3.11 Lip-MS 和 TPP 送样指导

3.11.1 细胞及组织量需求量

样本类型	送样标准	运输条件	备注
新鲜培养细胞	≥107 个细胞, LiP-MS 和 TPP 各一管	干冰运输	细胞用 PBS 至少清洗 2 次
菌体	≥107 个菌体, LiP-MS 和 TPP 各一管	干冰运输	
常见模型动物组织	黄豆大小, 准备 3 份, LiP-MS 和 TPP 各 3 份	干冰运输	选择适当的动物模型, 样品选取的部位要一致, 去除非目标组织。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。
lysate/蛋白	LiP-MS: 1μg/μL, 100μg*6 例 (孵育和不孵育 3vs3) TPP: 1μg/μL, 50μg*6 例 (孵育和不孵育 3vs3)	干冰运输	在非变性条件下提取蛋白, EDTA-free cocktail, buffer 成分中不能含有 NP40、Triton x-100 等影响质谱的试剂; 如有甘油, 甘油含量低于 5%。 提供药物孵育条件(浓度、温度、时间)。

3.11.2 配体的浓度和体积

药物状态	要求	运输条件
粉末状	标注小分子名称、分子量、质量、溶解试剂、饱和度 (是否需要超声)、稳定性 (是否需要避光)、保存条件	干冰运输
液体状	标注小分子名称、摩尔浓度 (≥10mM)、溶解试剂、稳定性、保存条件	干冰运输

3.11.3 Lip-MS 和 TPP 实验样本准备注意事项: 不用裂解!

1) 贴壁细胞:

以下过程在冰上操作:

- 待细胞长到 80%满时, 首先除去细胞的培养基, 先用 3mL 预冷 PBS 满底, 清洗细胞 (晃动培养皿), 弃掉;
- 重复上述清洗过程 (至少 3 次);
- 然后加入 1mL 预冷 PBS, 将培养皿置于冰上操作, 侧拿皿使之一定程度

倾斜，然后使用干净的细胞刮刀将细胞轻轻刮下（刮得时候顺着一个方向刮，集于皿底部）；

d) 1mL 枪吸净置于预冷的 1.5mL 离心管中，在 4°C，1000g 离心 5min 后弃净上清（尽量吸干净多余的 PBS），把含有细胞的离心管放进液氮中快速冷冻 3-5min，保存细胞于-80°C冰箱中待邮寄。

2) 悬浮细胞：

以下过程在冰上操作

a) 将悬浮液吸取至 50mL 离心管，4°C，500g 离心 5min，弃掉培养基；
b) 用预冷 PBS 清洗细胞，4°C，500g 离心 5min，弃掉 PBS；
c) 重复上述清洗过程（至少 3 次）；
d) 加入预冷的 PBS 重悬细胞，吹打均匀后分装到若干个 1.5 mL 离心管中，4°C，1000g 离心 5min 后弃去上清（尽量吸干净多余的 PBS），把含有细胞的离心管放进液氮中快速冷冻 3-5min，存放于-80 冰箱，待邮寄。

3) 组织：

组织需要除去血液，邮寄的样品最好是经过去血的，请在客户靶标筛选样品

信息表中的“细胞组织信息”中的“组织是否已经去血”中注明。用预冷的 PBS 清洗组织（至少 4 次），4°C，1000g 离心 5min，弃掉 PBS（尽量吸干净多余的 PBS），把含有组织样品的离心管放进液氮中快速冷冻 3-5min，存放于-80 冰箱，待邮寄。

3.12 宏蛋白组

样本类型	推荐送样量	预处理及保存	备注
土壤样品/污泥	2g*3	根据实验要求取地表下不同深度的土壤，表土样品需采集地表下 2-3cm 的样品，此层土壤有机物组成相对稳定，建议过 80-100 目筛，精确称量后等量分装。 注：活性污泥样本必须-80°C冻存，不得固液混合，要求干冰寄送。	建议分装多备份，盛放粪便容器尽可能使用冻存管，若使用其余容器请务必保证容器质量，避免盖子在干冰寄送过程中脱落和容器在干冰寄送过程中损坏
粪便	1g*3	根据实验收集消化系统不同位置的粪便，精确称量后等量分装，不得固液混合，液氮速冻后-80°C冻存。（由于粪便中有非常多的微生物，且微生物代谢速度非常快，故避免反复冻融）。	

肠道内容物	200mg*3	取肠道内容物样本，置于冻存管中收集好后，每管取 200mg,然后立即用液氮速冻处理 30s 以上，保存至-80℃冰箱，足量干冰低温运送。肠道内容物，务必在取样前将肠道组织和内容物分离开，单独寄送肠道内容物，切勿不分离直接干冰寄送(由于粪便/肠道内容物中有非常多的微生物，且微生物代谢速度非常快，故避免反复冻融)。	等情况的发生
发酵液/冲洗液	5-10ml 液体，或 1-5 克固体	使用密封的塑料瓶或试管，确保无泄漏。如果离心，使用无菌管子或密封容器。	
口腔拭子	3-5 个	1. 在取样前 30 分钟，请勿进食或饮水，以避免影响样本质量。另外，还应确保口腔内没有食物残留，可以用清水漱口多次以清除口腔内的杂物； 2. 将拭子头伸入口腔，使其充分接触左侧脸颊内部的粘膜，然后用刷牙的力度上下擦动，同时旋转拭子，以便拭子头部能够充分接触口腔粘膜。同样地，在右侧脸颊部和上下牙床处粘膜处进行第二次取样； 3.至少擦拭 30 次，以确保获取足够的脱落细胞。然后将拭子放入采集管，密封好送样。4.采集管上标注好完整的样本信息。	
皮肤刮片	3-5 片	1.刮片前要保证采集部位表面无污垢和细菌，实验过程所有的耗材均保持洁净；2.根据需要采集的部位进行刮片，用轻柔的力度将刮片轻轻刮过皮肤表面。避免刮破皮肤或引起出血。	
唾液样本	1-2ml	1.禁食两小时以上，9-12am 取样，1000g-2000g 离心或使用 0.22um 滤膜过滤收集唾液，分装 0.5~1ml*3 管，-80℃保存；2.使用密封的塑料管，确保盖子紧密封闭，避免泄露。	

3.13 交联质谱送样需求

样本类型	蛋白量	蛋白浓度	蛋白纯度	注意
------	-----	------	------	----

纯化蛋白、蛋白复合物、免疫沉淀样本等	$\geq 150\mu\text{g}/\text{样}$; 包括交联浓度和时间摸索, 以及胶内酶解和溶液内酶解两种上机前处理。	$\geq 1\mu\text{g}/\mu\text{L}$	实验对蛋白纯度要求不高, IP/CoIP/pull down 样本均可	蛋白需保持为天然状态 提供 buffer 成分
--------------------	---	---------------------------------	-------------------------------------	----------------------------

3.14 二硫键检测送样需求

样本类型	蛋白量	蛋白浓度	蛋白纯度	注意
纯化蛋白、蛋白复合物等	$\geq 150\mu\text{g}/\text{样}$; 包括两种工作流程, 准确全面分析二硫键定位和配对。	$\geq 1\mu\text{g}/\mu\text{L}$	纯度 90%以上。 样品应尽量保持其纯度, 不要添加任何保护剂或其他物质。	提供 buffer 成分 含盐量: 挥发性无机盐 $< 20\text{ mM}$; 不挥发性无机盐 $< 5\text{ mM}$

注:

1. 环境样品、或者其他上述未提及的样本, 请联系技术人员。

技术服务

- 差异定量蛋白质组服务
ITRAQ/TMT
DDA/DIA、LFQ
- 靶向定量蛋白质组
基于 MRM/PRM 技术的
相对/绝对定量
- 其他蛋白质组实验
多肽组学定量、De Novo
蛋白质（组）定性
翻译后修饰组学
未知蛋白表征
蛋白相互作用
- 靶向代谢组学
基于 MRM 技术的相对/绝对定量
- 非靶向代谢
LC-MS 液质联用技术
GC-MS 气质联用技术
- 数据分析
蛋白质组/代谢组数据质控及挖掘
IPA 生物信息学分析

软件销售

- Denovo 及抗体测序软件
PeaksAB
- 靶向定量蛋白质组软件
SpectroDive
- DIA/SWATH 定量分析软件
Spectronaut

公司成员来自于复旦大学、上海交大、中科院、二军大的蛋白质组、代谢组专业实验室，配备本领域广受好评及最新型号质谱、最权威且版本最新的分析软件，为您提供蛋白质组学、代谢组学的实验、软件销售、数据分析和应用培训等服务。

更多蛋白质组学技术信息请参阅：

<http://www.clinproteomics.com/>

若有任何疑问，欢迎来电或邮件咨询：

Phone: 18201736278

Email: marketing@clinproteomics.com