

注意事项及填写说明（送样前必读）

1. 请仔细阅读以下说明，如果您要做的项目有特殊情况需要说明请到生命科学研究院纳米楼439 咨询刘璐或者发邮件至邮箱 lulu610@zju.edu.cn。

2. Thermo Scientific Q Exactive™ HF-X 组合型四极杆 Orbitrap™ 质谱仪只接受蛋白样品委托做样。

3. 主要提供以下技术服务：

(1). 蛋白胶条鉴定

利用聚丙烯酰胺凝胶电泳 (SDS-PAGE) 分离蛋白质混合物，收集目的蛋白质条带，经胶内酶解后，利用质谱二级质谱的离子峰分布来鉴定样品中的肽段，进而鉴定蛋白种类。

(2). CO-IP 样品中蛋白的鉴定

通过 LC-MS/MS 技术对免疫共沉淀等纯化样本中的蛋白混合物进行鉴定，可同时鉴定目的蛋白及其相互作用蛋白，从而构建与目的蛋白的蛋白质相互作用谱。

(3). 修饰定性蛋白质组

通过 SDS-PAGE 和 LC-MS/MS 对 IP 所得蛋白上的修饰位点进行鉴定，可以对蛋白磷酸化、泛素化、乙酰化等常见修饰位点进行鉴定。

4. 提供蛋白质酶解、肽段抽提及脱盐、样品上机和数据分析服务。以上服务均属于收费项目，学生也可以选择自行样品制备和数据分析，节省费用。

5. 送样要求

样品类型	送样要求
胶条	考马斯亮蓝染色，条带肉眼可见；样品胶体积不超过 20 平方毫米，尽量不切没蛋白条带的多余胶。
溶液	样品不能含有 SDS、TritonX-100、NP-40、PEG、Tween-20、甘油和 CHAPS 等去污剂（会抑制目的蛋白的信号）。
酶解	只收用 Trypsin 酶解的样品，如需用其它蛋白酶进行酶解需先来询问是否可以使用该酶，所用的蛋白酶需要自行准备。
数据库	所送样品所属的蛋白库要在 uniprot.org 或者 NCBI 上面能搜索到，或者自己提供正

浙江大学生命科学研究院平台质谱

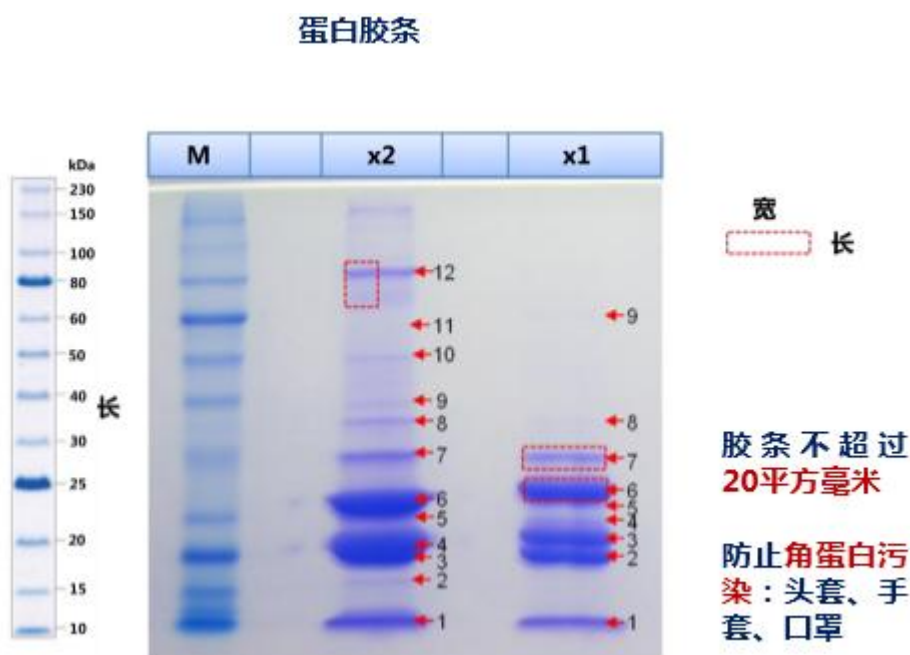
电邮: lulu610@zju.edu.cn

地址: 浙江省杭州市西湖区余杭塘路 866 号纳米楼 439

确格式的蛋白库文件。

6. 胶样品 (SDS-PAGE):

制样注意事项



- ❖ 准备样品过程中要带上头套、手套、口罩，注意减少角蛋白污染。
- ❖ 考染样品控制染色时间（不宜染色太深），然后用脱色液脱色至能看清泳道或者目的条带即可；然后，用超纯水把脱色液清洗干净，把胶置于超纯水中浸泡至胶膨胀到为染色时的大小，即可进行切胶。（切胶的刀片最好选用手术刀片；不宜使用生锈的刀片切胶）。
- ❖ 为减少样品损失，切胶时请务必去掉非目的条带部分，防止引入杂蛋白影响鉴定效果。
- ❖ 切胶时请尽量避免条带间的交叉污染。
- ❖ 把胶切成约 **1mm X 1mm** 尺寸的小块放于进口 1.5 mL 离心管内，随后用脱色液 **【25% 乙腈 (ACN), 50 mM 碳酸氢铵 (ABC) in H₂O】** 脱至无色，样品最后保存在乙腈脱色液中。
- ❖ 请根据 marker 估计每个样品的蛋白量（多少 ug 或 ng），否则影响酶切效果。

7. 翻译后修饰鉴定:

- A. 如果只鉴定某个蛋白上面的修饰，请注明所要鉴定蛋白的基因名字和 accession number。

B. 磷酸化修饰鉴定请注明：A. S+T 磷酸化，Y 磷酸化或者 S+T+Y 磷酸化。

8. 检测申请单填写说明（按照样单填写）

- ❖ Species: 填写所送样品所属物种的拉丁名&中文名。
- ❖ Sample Names: **只能使用英文字母+阿拉伯数字对样品命名**，最好用送样人名字的首字母+编号，总字符数不能超过 6 个，送样单上的样品名称必须与样品管保持一致，如：李明送了四个样品，可以把样品名称写成 LM-1, LM-2, LM-3, LM-4。
- ❖ Lab numbe/PI Signature: 生研院内单位请填写各实验室 lab 房间号及相应的 PI 签名。
- ❖ Tel/ E-mail: 此处请填写送样人的电话号码和邮箱。
- ❖ 同一张检测申请单里的样品检测目的要一致；如果检测目的不一样，请分别用不同的检测申请单填写。
- ❖ 送样前一天发送电子版送样单至邮箱 lulu610@zju.edu.cn；纸质版送样单请和样品一起交至管理员手中，样品现场清点。
- ❖ **以上注意事项请务必严格遵守！**

发文章时，如有用到本中心所给的数据，请务必在文中致谢浙江大学生命科学研究院共享技术服务平台，并通知我们，以便我们统计和评估工作成果，进而不断提高服务水平。