

质谱送样类型及注意事项

1. 请仔细阅读以下说明，如有特殊情况需要说明请到生命科学实验中心 353-3 咨询或者拨打 0551-63600425。

2. 提供主要技术服务包括：

应用范畴：蛋白鉴定、翻译后修饰（磷酸化、泛素化、乙酰化等常见修饰位点鉴定）、定性/定量蛋白组学、磷酸化修饰定量组学……

技术服务：中心提供**样本前处理**（蛋白质还原烷基化、酶解、脱盐）、**肽段纯化浓缩**、**样品复溶上机**和**数据库检索**等服务。

3. 质谱送样类型及注意事项

(1) 胶条

送样须知：

- 考染或银染的 SDS-PAGE 胶条原则上需要**条带肉眼清晰可见**；
- 胶条体积不宜过大**，单一蛋白鉴定时，仅切取“目的蛋白条带”；蛋白组鉴定时，样品跑至分离胶 1-2 cm 处即可停止，切取“全泳道蛋白条带”（全泳道指 1-2 cm 的胶条）；
- 在洁净的切胶板上将目的胶条切成 **1×1×1 mm 的小块（切勿捣碎）**；切完收集回 1.5 mL 进口 EP 管，并加入 1 mL 脱色液（中心提供：切胶板、手术刀、脱色液）；

(2) 溶液

送样须知：

- 样品中不能含有 SDS、TritonX-100、NP-40、PEG、Tween-20、RIPA、甘油和 CHAPS 等去垢剂（**会污染仪器**、抑制目的蛋白的信号）；
- 需提前测定蛋白浓度，送样时告知蛋白浓度及送样体积；
- 若蛋白溶液含有表面活性剂，请提前咨询讨论采取丙酮沉淀法去除表面活性剂后进行溶液内酶解或推荐采取 FASP 酶解膜进行清洗和溶剂置换，彻底去除去垢剂后，方可送样分析（FASP 酶解膜需自行提供）；

(3) 磁珠（beads）

送样须知：

- 须告知 buffer**，若含有去垢剂，**必须使用其他试剂**（推荐使用 1 mL 的 50 mM NH_4HCO_3 溶液清洗 5 遍以上，旨在彻底置换质谱不兼容物质，中心可提供相关试剂）；
- 磁珠或 beads 吸附完蛋白即可送样，**切忌“煮”磁珠或将 beads 蛋白分离**至溶液中

（否则无法置换质谱不兼容 buffer）

注：溶液和磁珠（beads）样品请尽量置于冰上，保持低温环境减少蛋白降解。

4. 其他注意事项

翻译后修饰鉴定：请注明修饰类型及被修饰的氨基酸；

酶解：中心默认使用胰蛋白酶（Trypsin）酶解样品，如需使用其它蛋白酶进行酶解，请先来询问是否可以使用该酶，所用的特殊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，或者自己提供正确格式（.fasta）的蛋白库文件。