

HaoKe®  
Biotechnology Co., Ltd.

杭州浩克生物技术有限公司

## WB 及 Co-IP 实验送样单

注：红\* 为必填部分，请认真填写。

*姓名		单位				
*日期		电话			*实验交接单号	
样品内容及 特殊要求（请 选填）	*样本 数量		*种属		*样本 类型	*样本是否需要 返还
	*蛋白 类型	常规：总蛋白 特殊：如膜蛋白，线粒体蛋白，核蛋白，特殊蛋白需要客户提供相应试剂盒				
	*请勾选：	<input type="checkbox"/> 1、做裁剪膜 <input type="checkbox"/> 2、整张膜(内参、目的分别做两张整膜) <input type="checkbox"/> 3、目的内参一张整膜，通过膜再生液或裁膜后再拼接等方式实现 <b>发文章推荐!</b>				
	*样本编号	如果样本编号较多，客户可另附 Excel 表进行说明				
实验方案	*上样顺序（默认只有单边 Marker， 需要双边请备注）		*指标名称（大 分子、膜蛋白 等请备注）		*抗体厂家	*抗体货号
其他要求	如内参是否有倾向，或之前是否做过相同样本需要统一内参等情况说明，否则实验室随机选择合适内参；以上所有曝光后的条带均不会保留返还，如需请提前备注。					

\*需要**返还剩余组织**的，请在实验结束后一周内联系销售，否则实验室将自行处理；若需暂存，实验室仅支持存放 2-3 月（从开单日算起），2-3 月之后自动废弃。

地址：浙江省杭州市凤起路 43 号 308  
电话：13968143408

网址：www.haokebio.com  
邮箱：2235184086@qq.com



下附 WB 样本准备方法及要求，如因前期样本准备出现问题或未详细填写送样单中样品内容及要求，导致结果不符合要求的，我司一概不接受退单。



## WB 样本准备方法及要求

以下所有样本必须在送样管上标记清楚样本编号，-80℃冰箱冻存（-80℃冻存时间不超过一个月，避免反复冻融导致蛋白降解），全程干冰运输送样。

### 一、动物组织样本

- 1、动物处死后 5min 内取样，全程冰上操作，先取易降解的组织，如胰腺、肠、胃等，再取其它组织，组织块至少取 50mg 以上（黄豆大小）。组织取好后用预冷的 PBS 轻轻漂洗掉样本表面的血污，例如心、肝、脾、肾等血污较多的组织，可用预冷 PBS 清洗多次，直至血污清洗干净，用滤纸吸干组织表面液体，立即放入 EP 管或冻存管中-80℃保存。
- 2、肠，胃，血管，食管，子宫等标本，取材后立即把组织切开用预冷 PBS 清洗多次，去除内容物，用滤纸吸干组织表面液体，立即放入 EP 管或冻存管中-80℃保存。
- 3、脊髓，主动脉，气管，神经等标本长度不得少于 1cm。
- 4、视网膜需单独剥离，小鼠至少需要 4 个视网膜合并，大鼠至少需要 2 个视网膜合并。
- 5、卵巢需单独剥离，去除周围脂肪，小鼠至少需要 2 个卵巢合并。
- 6、皮肤样本需去净毛发。

如有特殊特定部位请提供详细取材要求或参考图。

### 二、细胞样本（细胞量至少 $10^6$ ，细胞沉淀绿豆大小）

#### 1、悬浮细胞：

- ①将细胞及培养基一起吸入离心管中，4℃低速离心（不超过 3000rpm）5min，去上清，收集细胞沉淀。
- ②加入 1mL PBS 溶液重悬细胞，将细胞转移到 1.5mL 离心管中，4℃低速离心（不超过 3000rpm）5min，去上清，收集细胞沉淀，细胞沉淀要有绿豆大小。

#### 2、贴壁细胞：

##### 方法一：消化法

- ①培养好的细胞弃培养基，加入胰酶消化。
- ②胰酶消化后（时间不宜过长），加培养基终止消化，轻轻吹打至细胞悬浮。吸入离心管，4℃低速离心（不超过 3000rpm），5min。

③弃上清，加 PBS 重悬细胞，4℃低速离心（不超过 3000rpm）5min，去上清，收集细胞沉淀，细胞沉淀要有绿豆大小。

#### 方法二：刮取法

①培养好的细胞弃培养基，加入 PBS，用细胞刮沿一个方向轻轻刮下细胞，切记不要反复刮，避免细胞刮破。

②细胞液收集至离心管内，4℃低速离心（不超过 3000rpm）5min，去上清，收集细胞沉淀，细胞沉淀要有绿豆大小。

**备注：除闪送外，不要寄送培养板或培养瓶，运输过程中细胞容易脱落且造成细胞活力下降，培养板有漏液风险，造成样本污染。**

三、菌液，外泌体，血清，细胞上清等，一个指标至少 20μL，浓度 1μg/μL 以上，-80℃保存。

四、全血样本至少 1mL，抗凝管 4℃保存运输，保存时间不要超过 5 天，凝血的样本不能用于 WB 检测。

五、提取好的蛋白变性后干冰运输。建议按以上方法提供样本在我司提取蛋白。

**注：提取特殊蛋白，如膜蛋白，线粒体蛋白，核蛋白所需样本量要翻倍，即组织 100mg 以上，细胞沉淀量黄豆大小。**

## 蛋白互作实验送样要求

**一、IP/COIP 送样要求：（2800/样，包括提取，每增加一个样本 800 元，单向验证，双向验证则费用加倍，且样本量和抗体量均要加倍）**

- 1、新鲜组织 100mg 以上；细胞数  $10^7$  以上，细胞沉淀黄豆大小。
- 2、蛋白提取时需要使用 IP 裂解液，蛋白不要变性，提供蛋白原液，最好是提供新鲜组织。
- 3、需提供 IP/COIP 级别抗体包括对应 IgG。
- 4、写清楚样本编号及上样顺序。
- 5、双向验证实验，样本量需要加倍。

附图：



图 1 . 50mg 组织量参考图

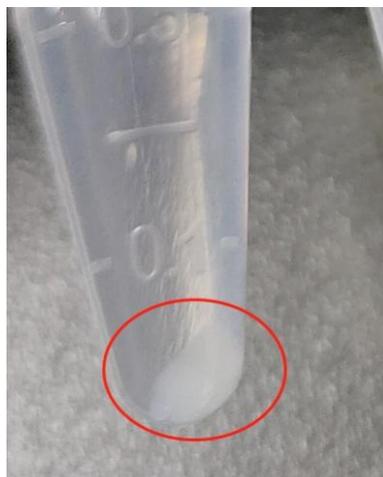


图 2 绿豆大小细胞沉淀量参考图

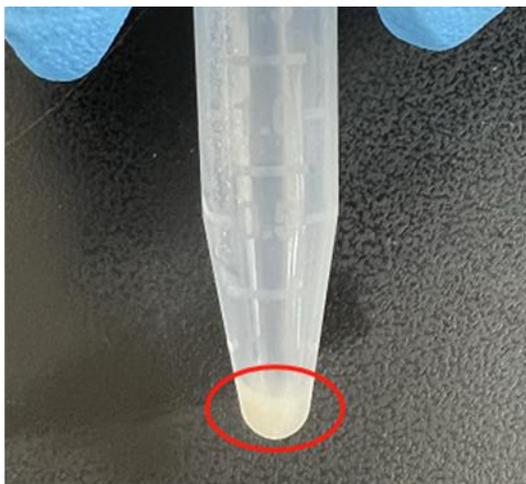


图 3 黄豆大小细胞沉淀量参考图



图 4 裁膜参考图

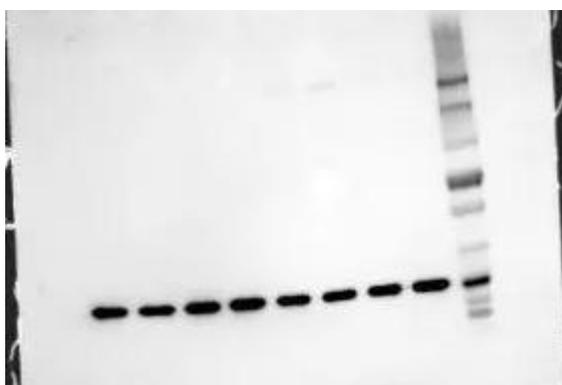


图 5 整膜参考图

整膜定义：纵向拥有完整的 10-180marker

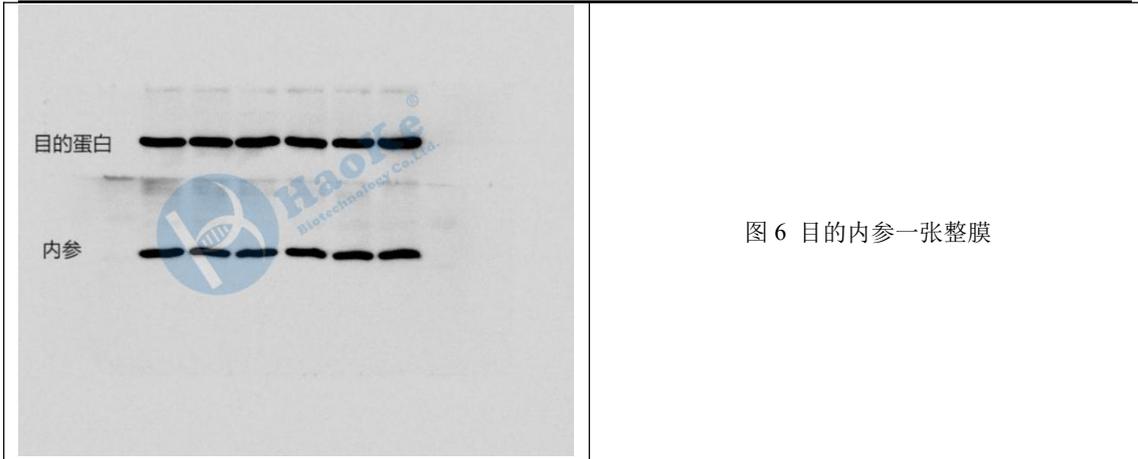


图 6 目的内参一张整膜