



质谱系统蛋白样本预处理试剂盒 说明书

SISPROT[®] FLEX

深圳市贝普奥生物科技有限公司

质谱系统蛋白样本预处理试剂盒说明书

型号：SISPROT® FLEX

包装规格：6 测试/盒，24 测试/盒

预期用途：SISPROT® FLEX 试剂盒能对细胞及动植物组织样本进行蛋白质提取、酶解和多肽脱盐，特别适用于常规组织样本的微量化。可兼容高浓度（例如 2%）的十二烷基硫酸钠（Sodium dodecyl sulfate, SDS）提取的动植物组织蛋白，无须进行冗长的蛋白沉淀和重新溶解，处理后的样本可用于基于质谱的蛋白质组学检测。

原理：本试剂盒基于 SISPROT® FLEX 蛋白质组学样本前处理技术。SISPROT® FLEX 引入专利 SDS 清洗试剂，SDS 去除率>99.99%。本技术将不同性质的填料串联填充至色谱小柱中，蛋白质在上层离子交换填料中实现预富集，去除污染物及快速酶解；多肽经高浓度盐溶液转移至下层反相色谱填料中进行除盐及洗脱。集成化设计可有效减少样本损失，多种溶剂清洗可保证获得干净的多肽。

本产品可实现动植物组织样本中 1-10 µg（4000-10000 个哺乳动物细胞约含 1 µg 蛋白）蛋白质的预处理，处理后的样本可用于基于质谱的蛋白质组学检测。

主要组分与成分：

组分	组分代码	组分名称	成分	24 测试	6 测试	储存
Reagent	①	Activate	有机溶剂	1.8 mL×6	1.8 mL×1	2-8℃可储存 12 个月
	②	Wash A	酸性溶液	1.8 mL×2	1.8 mL×1	
	WB	Wash B	酸性溶液	1.8 mL×3	1.8 mL×1	
	③	Reduce	酸性溶液 含还原剂	0.9 mL×1	0.9 mL×1	
	④	Dissolve A	弱碱性溶液 含烷基化试剂	1.2 mL×1	1.2 mL×1	
	⑤	Transfer	碱性溶液	1.6 mL×1	1.6 mL×1	
	⑥	Desalt	酸性溶液	1.6 mL×2	1.6 mL×1	
	⑦	Elute	酸性溶液	1.6 mL×1	1.6 mL×1	
	⑧	Dissolve B	酸性溶液	0.6 mL×1	0.6 mL×1	
	Dil-F	Dilute-F	弱碱性溶液 含表面活性剂	1.8 mL×1	1.8 mL×1	
	Aci	Acidize	酸性溶液	1.8 mL×1	1.8 mL×1	
	Ext-X	Extract-X	弱碱性溶液 含表面活性剂	1.5 mL×2	1.5 mL×1	
Tips & Consumables	Dig	Digest	酶干粉	6 T×4	6 T×1	-20℃可储存 12 个月
	/	SISPROT Tip	固相萃取小柱	8 支×3	8 支×1	室温干燥环境下 可储存 36 个月
	/	Adaptor	适配器	12 个/袋×2	6 个/袋×1	
	/	Waste tube	废液收集管	24 个/袋×2	12 个/袋×1	
	/	Collection tube	样本收集管	24 个/袋	6 个/袋	

效期、运输与存储说明：有效期为 12 个月，可常温运输；**Digest** 请于-20 °C 及以下存储，除 **Digest** 外的 **Reagent** 请于 2-8 °C 存储，**Tips & Consumables** 常温存储。

自备设备与耗材：

设备	台式离心机	接触式超声粉碎机（组织裂解）	非接触式超声水槽（切片裂解）
	真空浓缩仪（多肽干燥）	微孔板分光光度计（蛋白定量）	恒温电烘箱（酶解）
	各种规格移液器		
耗材	移液吸头	离心管架	0.2 mL 离心管
	锡/铝箔纸（酶解避光）	酶标板（蛋白定量）	

样本要求：含有 1-10 µg 及以上蛋白质的动植物组织、细胞、外泌体等样本。

操作流程：

Prep. 准备样本

用 **Extract-X** 提取样本中的蛋白，取 1-10 µg 提取后的蛋白至 0.2 mL 离心管中，加 **Dilute-F** 稀释至 30 µL，至少吹打 5 次混匀，短暂离心 3-5 s，置于冰上备用；提取组织详细方法请见附件 1。

1. 加载样本及酶解（约 60 min，不含酶解）

1.1 装配样本处理器：参考图 1 进行装配，放置于离心机内；

1.2 活化 **SISPROT Tip**：加入 60 µL ① **Activate**，150 g，室温离心 1.5 min；

1.3 平衡 **SISPROT Tip**：加入 60 µL ② **WashA**，300 g，室温离心 2 min；

1.4 加载样本：向 **SISPROT Tip** 中加入 15 µL **Acidize**，100 g，室温离心 5 s；加入 30 µL 样本（**Prep.**），再加入 15 µL **Acidize**，100 g，室温离心 5 min；

1.5 清洗样本：加入 80 µL ② **WashA**，300 g，室温离心 2 min；

加入 80 µL ① **Activate**，200 g，室温离心 10 s；静置 10 min；200 g，室温离心 2 min；

加入 60 µL **WashB**，200 g，室温离心 10 s；静置 10 min；200 g，室温离心 4 min；

加入 60 µL ① **Activate**，200 g，室温离心 2 min；

加入 60 µL ① **Activate**，200 g，室温离心 2 min；更换废液管；

1.6 还原样本：加入 30 µL ③ **Reduce**，100 g，室温离心 30 s，室温避光孵育 15 min，300 g，室温离心 1 min；

1.7 清洗 **SISPROT Tip**：加入 30 µL ④ **Dissolve A**，300 g，室温离心 1 min；

1.8 准备 **Digest 溶液**：向 **Digest**（1 管 **Digest** 可用于 6 个测试）中加入 55 µL ④ **Dissolve A**，反复吹打，充分溶解；

1.9 酶解样本：加入 4 µL **Digest 溶液**，100 g，室温离心 30 s，再加入 4 µL **Digest 溶液**，100 g，室温离心 5 s，使用锡箔纸整体包裹样本处理器，置于 37 °C 烘箱孵育 1 hr；

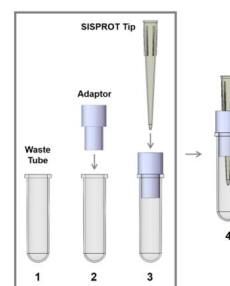


图 1. 样本处理器装配图

2.多肽转移及除盐（约 10 min）

2.1 转移酶解后的样本：孵育结束后取出样本处理器，放置于离心机内，向 **SISPROT Tip** 中加入 60 μL

⑤ **Transfer**, 100 g, 室温离心 5 min;

2.2 清洗样本：加入 60 μL ⑥ **Desalt**, 200 g, 室温离心 2 min;

加入 60 μL ⑥ **Desalt**, 200 g, 室温离心 2 min;

3.收集多肽及质谱上机准备（约 10 min，不含质谱分析）

3.1 收集多肽：将样本处理器中的 **Waste Tube** 替换为 **Collection Tube**，向 **SISPROT Tip** 中加入

60 μL ⑦ **Elute**, 100 g, 室温离心 5 min;

3.2 质谱上机准备：将 **Collection Tube** 置于真空离心浓缩仪中干燥（耗时约 2 hrs），结束后加入


5~20 μL ⑧ **Dissolve B**，进行质谱分析。（干燥后多肽需存储于 $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ ）

备注： $1\text{ rcf} = 1 \times g = (\text{rpm})^2 \times 1.118 \times 10^{-5} \times r$ ，其中 g 和 rcf 为离心力， rpm 为转速， r 为离心机转轴中心到离心管中心的距离。

注意事项：

1. 使用前应详细阅读本产品说明书，并在有效期内使用本产品；
2. **Extract-X** 和 **Dilute-F** 冷藏存储有沉淀属正常现象，恢复至室温（ $15\text{--}25\text{ }^{\circ}\text{C}$ ），混匀溶解后才可正常使用；
3. **SISPROT Tip** 必须存储于干燥环境，以防止水汽进入影响使用；环境中的颗粒物可能导致 **SISPROT Tip** 堵塞，在进行活化步骤时需观察液体在离心后是否完全通过，若有大量液体残余，则需要更换 **SISPROT Tip**；
4. 加载样本步骤（1.4）**SISPROT Tip** 中有少量盐沉淀产生为正常现象；
5. 清洗样本步骤（1.5）**SISPROT Tip** 的离心阻力可能会增大，可适当增加离心力（不高于 800 g）；
6. **Elute** 步骤（3.1）结束后请观察 **SISPROT Tip** 中是否有液体残留，若有则适当增加离心时间至所有 **SISPROT Tip** 中无液体残留；
7. 试剂存储时，**Digest** 试剂需存储于 $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ 及以下环境中，其余试剂存储条件为 $2\text{--}8\text{ }^{\circ}\text{C}$ ，需严格防止高温对产品的影响；
8. 本产品含有化学试剂，操作时需佩戴口罩、手套及实验服，避免触及手、眼睛、脸及皮肤暴露部位，如不慎触及，请及时用大量清水冲洗；
9. 实验操作前建议使用 75%酒精将离心机擦拭干净，尤其顶盖，避免引入污染物；
10. **Digest** 溶解后需立即使用，不可存储；
11. 样本酶解后操作步骤所使用的溶液与质谱上机直接相关，需要特别注意保持洁净；
12. 本产品处理样本适用于纳升或微升液相质谱联用仪器进行检测；
13. 本产品仅供专业人士使用。

附件 1：不同类型样本的蛋白提取与上样方式建议

注意 ：溶液中不可含除 SDS 之外的表面活性剂，如 Triton, Tween, NP40 等。
还原剂的存在可能会影响蛋白质浓度测定。

样本类型	操作建议	蛋白提取条件建议
动物或植物组织 湿重不小于 1 mg 体积不小于 1 mm ³	<p>液氮研磨组织后，称取 1-50 mg 的组织；加入含 2%SDS 的溶液（自配裂解液） 提取蛋白。蛋白定量后取 1-10 µg 蛋白样本，参照本说明书进行操作。</p> <p>① 动物组织重量与 自配裂解液 体积对应如下，预期蛋白浓度为 0.5-5 µg/µL：</p> <ul style="list-style-type: none"> ✓ 1-10 mg 组织：200 µL； ✓ 10-20 mg 组织：400 µL； ✓ 20-30 mg 组织：800 µL； ✓ 30-50 mg 组织：1000 µL； ✓ >50 mg 组织可按上述比例增加裂解液体积。 <p>② 植物组织重量与 自配裂解液 体积对应如下：</p> <ul style="list-style-type: none"> ✓ 10 mg 组织：100 µL； ✓ 10-50 mg 组织：200 µL； ✓ >50 mg 组织：400 µL； <p>③ 裂解液体积与组织类型有关，可视情况添加或减少裂解液体积，提取蛋白终浓度在 1-2 µg/µL 为宜，1 mg（湿重）动物组织约含 40-100 µg 蛋白。</p> <p>④ 上样时请使用 Dilute-F 溶液将 SDS 浓度稀释至  0.35% 以下；例如取 1 µL 2%SDS 的溶液 裂解的组织样本加入 11 µL Dilute-F 溶液，SDS 稀释至 0.33%）。</p> <p>⑤ 动物组织裂解后的蛋白可使用 BCA 定量蛋白浓度。</p>	<p>接触式（变幅杆）超声条件： 置于冰盒上，功率 84.5 W，超声 1 s，停止 1 s，总时长 2 min；放入掌上离心机离心 5 s。重复以上步骤两次，总超声时长为 6 min。若按上述的步骤裂解后存在肉眼可见的组织颗粒，可适当增加 自配裂解液 的体积及超声轮次。需调整样本位置至适当高度，防止产生大量泡沫。</p> <p>样本裂解完成后，常温离心 12,000-18,000 g，10-20 min，取上清进行后续处理。</p>
石蜡组织切片 尺寸不小于 1mm ² × 4 µm	<p>将石蜡组织切片（已脱蜡）收集至 0.2 mL 或 0.5 mL 离心管中，加入适量 2%SDS 的溶液（自配裂解液） 提取蛋白。取 < 5 µL（含）裂解后的溶液，加 Dilute-F 稀释至 30 µL，至少吹打 5 次混匀，短暂离心 3-5 s，置于冰上备用，参照本说明书进行操作。剩余样本可存储于 -80 °C，一个月内使用完毕。</p> <p>切片尺寸与 自配裂解液 体积及样本管规格对应如下（以 4 µm 厚度切片为例）：</p>	<p>① 使用含控温系统的非接触式超声设备，条件：超声温度 16-20 °C，功率 450-540 W，超声 15 s，停止 30 s，共 30 次循环，超声时间 7 min，总时间 20 min。放入掌上离心机短暂离心 3-5 s。使用带热盖金属浴在 90 °C 下加热 90 min，设置热盖温度高于加热温度 1-3 °C，掌上离心机短暂离心 3-5 s，重复超声 1</p>

	<ul style="list-style-type: none"> ✓ 1-5 mm² 切片: 30 µL, 0.2 mL 离心管; ✓ 5-50 mm² 切片: 100 µL, 0.5 mL 离心管; ✓ 50-100 mm² 切片: 200 µL, 0.5 mL 离心管; 	<p>次, 掌上离心机短暂离心 3-5 s 即可完成裂解。</p> <p>样本裂解完成后, 常温离心 12,000-18,000 g, 10-20 min, 取上清进行后续处理。</p> <p>②使用超声波清洗机(无控温系统), 条件: 样本管插入浮漂孔内, Power 5 (Max), Degas 5 (Max), 超声 2 min, 放入掌上离心机短暂离心 3-5 s, 使用带热盖金属浴在 90 °C 下加热 90 min, 设置热盖温度高于加热温度 1-3 °C, 短暂离心后重复超声 1 次, 掌上离心机短暂离心 3-5 s 即可完成裂解。</p> <p>样本裂解完成后常温离心 12,000-18,000 g, 10-20 min, 取上清进行后续处理。</p>
冰冻组织切片 尺寸不小于 1mm ² × 10 µm	同石蜡组织切片, 冰冻组织切片须将包埋剂(如 OCT)清洗干净再进行后续操作。	同石蜡组织切片处理步骤, 可省略 90 min 加热。
哺乳动物贴壁细胞 不小于 1×10 ⁴ 个 哺乳动物细胞	<p>用冷藏的 PBS 溶液快速连续洗涤细胞 3 次, 确保每次 PBS 洗涤液倾倒彻底, 最后 1 次洗涤完成后加入试剂盒中的 Extract-X 溶液, 用细胞刮铲混匀细胞后将其转移至 1.5 mL 离心管中。1 mg 细胞(约 1×10⁶ 个哺乳动物细胞)需使用至少 100 µL Extract-X 进行裂解。</p> <p>细胞数量与 Extract-X 体积对应如下:</p> <ul style="list-style-type: none"> ✓ 1×10⁴-1×10⁶ 个细胞: 100 µL; ✓ >10⁶ 个细胞: 200 µL; 	同石蜡组织切片处理步骤, 可省略 90 min 加热。

附件 2：常见问题分析及解决

问题	原因	解决方法
无法检测到多肽信号	样本未正确洗脱	将试剂瓶按照操作说明要求提前按序排列，并于洗脱步骤 (3.1) 注意核对 Elute 标签。
谱图中检测到污染物	样本管破损导致样本污染	实验前检查样本管状态。
	实验过程污染	实验时需保持洁净，并保证手套、桌面及吸头洁净无污染。
蛋白鉴定量低	酶解孵育时间过长，导致 SISPROT tip 内填料干燥	推荐酶解时间为 1 小时，最长不超过 3 小时。
	上样体积不足	避免吹打混匀时产生泡沫。

参考文献：

1. Chen, W. et al. Simple and Integrated Spintip-Based Technology Applied for Deep Proteome Profiling. **Anal. Chem.** 88, 4864–4871 (2016).
2. Ye, X. et al. Combinatory strategy using nanoscale proteomics and machine learning for T cell subtyping in peripheral blood of single m μ L tiple myeloma patients. **Anal. Chim. Acta** 1173, (2021).
3. Xue, L. et al. Mixed-mode ion exchange-based integrated proteomics technology for fast and deep plasma proteome profiling. **J. Chromatogr. A** 1564, 76–84 (2018).



企业信息

企业名称：深圳市贝普奥生物科技有限公司

住所/生产地址：广东省深圳市南山区桃源街道长源社区学苑大道 1001 号南山智园 D3 栋

邮编：518055

联系电话：0755-26907483

售后服务单位名称：深圳市贝普奥生物科技有限公司

更多常见问题，请扫码了解详情



说明书版本：2025 V2.0

说明书生效日期：2025.07.01