



## 上海中医药大学科技实验中心送检样品要求与制备 SOP

### 悬液芯片系统样品要求与制备

【样品名称】血液，血浆，细胞培养上清液，细胞和组织匀浆

【检测技术】悬液芯片系统检测

【科    室】分子生物与药理实验室

【联系人】李志杰 咨询电话：51322379 电子邮件：13636508912@163.com

#### 【检测样品要求与制备方法】

##### (一) 血清样本制备方法

- 1、允许新采的血液在室温下凝固 30-45 分钟，然后进行离心处理。
- 2、离心条件：4℃，1000g，15 分钟，然后转移到干净的试管中。
- 3、1000g 重复离心 10 分钟以完全去除血小板和其他沉淀物。
- 4、1: 4 稀释样品，如 30ul 样品 + 90ul 稀释液。
- 5、如果不马上使用血清，则放置于-80℃冰箱保存，强烈建议分装，每管 15-30ul，否则反复冻融将严重影响检测的重复性和数据的可比性。
- 6、建议用血清分离管 (Serum Separating Tubes, SST) 以获得最好的 分离质量。

##### (二) 血浆样本制备方法

- 1、4℃，1000g，15 分钟离心后转移到干净的试管中。
- 2、1000g 重复离心 10 分钟以完全去除血小板和其他沉淀物。
- 3、建议使用预包被有抗凝剂 (如枸橼酸钠或 EDTA) 的采血管以获得最佳效果。
- 4、1: 4 稀释样品，如 30ul 样品 + 90ul 稀释液。
- 5、如果不马上使用，则放置于-80℃冰箱保存，强烈建议分装，每管 15-30ul，否则反复冻融将严重影响检测的重复性和数据的可比性。
- 6、如果用于糖尿病/代谢的标志物表达谱分析，则必须加入蛋白酶抑制剂。

##### (三) 细胞培养上清液样本制备方法

- 1、4℃，1000g，15 分钟离心后转移到干净的试管中。
- 2、如果是无血清培养，则需要额外添加 5-10%的血清或 0.5-1%的 BSA 以 重建标准。
- 3、一般细胞培养上清无需稀释即可直接进行分析。如果一定要稀释样品以使最多的靶标检测值落在检测工作范围之内，必须保证稀释后的样品包含同标准品 相同的血清或 BSA。
- 4、如果不马上使用样品，则放置于-80℃冰箱保存，强烈建议分装，每管 100-300ul，否则反复冻融将严重影响检测的重复性和数据的可比性

##### (四) 细胞和组织匀浆样本制备方法

- 1、用细胞清洗缓冲液 (Cell Wash Buffer\*) 漂洗组织和细胞样品。
- 2、如果有必要，将组织切成小块，如 3×3mm，然后转移到冰上的组织研磨器内。
- 3、用添加 0.5% BSA 的样品稀释液 (Sample Diluent\*\*)至少 2 倍稀释裂解样品，最后定蛋白质浓度到 200-900ug/ml。对于那些高表达的分析物的检测，裂解物总蛋白浓度低至 50ug/ml 也是足够的。
- 4、标准品必须溶解在于样品处理相同的溶液中尽可能稀释裂解物以降低去污剂浓度，这可最优化样品孵育期间与抗体的结合。



## 上海中医药大学科技实验中心送检样品要求与制备 SOP

### 【注意事项】

- 1、采用低蛋白结合的等分管以保证检测性能的一致性
- 2、用多通道移液枪（排枪）进行移液操作
- 3、使用 timer 提高孵育步骤的一致性
- 4、使用稀释管准备标准品系列稀释
- 5、采用反向吸取技术（reverse-pipetting technology）提高移液准确度
- 6、标准品溶解后务必静置于冰上 30 分钟以上
- 7、在吸取所需溶液之前彻底重选微球
- 8、如果可能，准备多 25%的样品量
- 9、标准品、空白和样品每次都做复孔或更多重复
- 10、SA-PE 对光敏感，每次振板步骤需要用锡箔纸盖上，试剂避光保存
- 11、用 200-300ul 的移液器吸取原包装的微球，并洗管 2 次，洗出挂在管壁上的微球，避免微球损失。
- 12、如果不马上做实验，样品务必-80℃保存，等量分装，避免反复冻融
- 13、血浆样本在保存中有任何凝固，务必对血浆样品进行 3000g 离心 5 分钟。抗凝剂选择：肝素 < EDTA < 枸橼酸钠，肝素影响 Bio-Plex 的检测，不推荐使用。