

唾液制备指南

唾液采样

在收集唾液样品时，在样品采集前和采集过程中应考虑许多因素，以确保一致性和正确的样品处理。在收集唾液样本之前，必须检查和评估以下内容：

- 在提供唾液样本之前，是否使用/饮用了任何食物、药物、酒精或咖啡因/尼古丁
- 是否有口腔损伤、牙科手术和口腔疾病
- 是否存在任何血块或出血（目视检查，或用转铁蛋白法检测 transferrin assay）
- 采集样本前的生理活动水平（如过度运动会导致脱水，可能会改变唾液流速和唾液中的生物标志物浓度，影响蛋白组学特征）

唾液样本采集的一般建议

- 在统一标准时间（如上午）收集唾液样本，以避免唾液蛋白组学特征的昼夜变化
- 唾液样本的处理应保持一致，转移和储存的温度应严格控制（例如，在转移过程中冷藏或保持低温，冻存直至样品处理）
- 不要使用任何吸收性工具（如棉签）来收集唾液样本，除非已经充分评估了它们对唾液蛋白组的影响
- 从口腔内一个标准化的位置收集唾液样本（全唾液 whole saliva 或腮腺唾液 parotid saliva）
- 采集样品时测量的唾液流速（mL/min）或总蛋白浓度可用于样品的（浓度）归一化

样品制备

以下方案已经过测试，在 Olink 分析中效果良好

需要的材料和设备

- 蛋白酶抑制剂鸡尾酒 Roche (cat number 11 836153001) 或抑肽酶混合液 Aprotinin mix (见下文)
- 收集管 (Falcon tube, 15 ml 及 50 ml)
- 2 ml 冷冻管 tubes/cryovials
- 离心机 (能以 2600 xg and 3000 rpm 离心样品; varies with tubes/rotor diameter)
- 冰袋、冰盒 Ice packs, ice box

制备流程

- 在上午 9 点到 11 点之间收集样本，并要求当事人在收集样本前 1 小时不要饮酒、进食、吸烟或使用任何类型的口腔卫生产品。
- 用自来水漱口，然后将水吐出。
- 口腔漱口后5分钟，请受试者将唾液吐入放在冰上或冷袋中的50毫升塑料收集管中。提醒受试者不要咳出粘液。在最多30分钟内收集5毫升的唾液。

注意： 如果可能，并负担得起，在这个阶段添加蛋白酶抑制剂至收集的样品。如果不添加，则在后面的阶段补充，如下面几点中所述：

- 在4°C下以2600 xg 离心样品15分钟。如果出现分离不完全，在4°C下再离心20分钟。
- 将尽可能多的上清液收集到15 mL Falcon管中，并进行简单的混合。
- 测量唾液的体积，并转移到2 mL 的冷冻管 (cryovial) 中。
- 在每毫升唾液中加入蛋白酶抑制剂鸡尾酒，或在抑肽酶混合液中加入以下蛋白酶抑制剂：
 - 1 μ l aprotinin (储液浓度 stock 10 mg/ml)
 - 3 μ l Na_3VO_4 (储液浓度 stock 400 mM)
 - 10 μ l PMSF (储液浓度 stock 10 mg/ml)
- 仔细混合，如果可能的话，测量蛋白浓度并将其归一化为 0.5-1 mg/ml.
- 分装并在-80°C下冷冻样品。样品应在采集结束后30分钟内处理并冷冻。

注意：任何测量蛋白浓度的方法都可用于唾液样品。检查该方法与样品基质、缓冲剂、蛋白酶抑制剂或任何使用的试剂的兼容性。(这些方法包括：BCA、Lowy、Bradford、Nanodrop或Qubit)

注意：T96 炎症 panel (Inflammation)中的少数蛋白需要额外稀释 (1:10 或 1:50) ，其他 Panel 尚未评估。在分析唾液时，可考虑进行稀释预实验，或将几个样品进行数个梯度稀释的分析。

注意，如果样品要在核心实验室core lab 进行分析（在分析样品时）：

- 在孵育步骤（即开始PEA protocol）之前，将所有样品以3000rpm 离心10分钟。

唾液样品的归一化

唾液样品可按总蛋白浓度或唾液流速进行归一化，以下是讨论唾液样本收集和归一化的论文链接。

Article 1: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6036086/>

Bhattarai KR, et al. **Compliance with Saliva Collection Protocol in Healthy Volunteers: Strategies for Managing Risk and Errors.** Int J Med Sci. 2018. 15:823-831.

Article 2: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28660183/>

Miočević O, et al. **Quantitative Lateral Flow Assays for Salivary Biomarker Assessment: A Review.** Front Public Health. 2017. 5:133.

Article 3: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31514287/>

González-Hernández JM, et al. **Influence of Sampling Conditions, Salivary Flow, and Total Protein Content in Uric Acid Measurements in Saliva.** Antioxidants (Basel). 2019. 8:389.

联系方式

互眉由眼赖 > +86 21 60523158

互眉由锥绍 > yunbios@163.com

妙构份余拥染震龟超艾编 > yunbios@163.com

互眉由六优司

