

分析非标样品

指尖血(微量取样装置)制备指南

Olink 已经评估并优化了 Mitra 微型取样设备的样品制备 Protocol:

(<https://www.neoteryx.com/neoteryx-blood-collection-devices-microsampling-bio-fluids>)

样品采集

根据制造商的说明，收集受试者的血样

样品制备

所需材料与试剂:

- 带独立盖子的LoBind PCR条管
- 96-孔 PCR板 (兼容最大体积 200 μ L)
- 2 mL圆底LoBind微离心管 (用于蛋白实验): 确保VAMS尖端在管内有足够移动空间
- 1X PBS
- TWEEN20
- 离心管振荡器 Tube shaker
- Roche (罗氏) 蛋白酶抑制剂 (cat. number 11 836153001)
- 20 μ L Mitra试剂盒

制备流程:

1. 收集所有的Mitra 血盒样品。
2. 小心地从血盒中取出每一个VAMS吸头，将它们放在一个单独的LoBind微离心管中。
3. 确保不要向样品引入任何污染。
 - **注意:** 如果使用镊子，请确保在每个样品之间清洁镊子，以避免交叉污染
4. 根据以下配方，准备10 mL洗脱缓冲液:
 - 1X PBS + 0.05% TWEEN20 + 蛋白酶抑制剂
 - **注意:** 准备好溶液并**在使用前新鲜加入蛋白酶抑制剂**。蛋白酶抑制剂的工作溶液是1片/10mL缓冲液，因此建议准备10mL的库存溶液。加入蛋白酶抑制剂的洗脱缓冲液不能储藏后再次使用。
5. 每一个20 μ L的血盒，在微离心管中加入180 μ L的洗脱缓冲液 (这个体积足以完全覆盖尖端)。
6. 确保体积能覆盖整个VAMS针头，并且针头能在管内轻松移动。
7. 盖上盖子，将管子放在振荡器上，以 528 rpm 在室温下震荡1小时 (或 600 rcf; 可以看到缓冲液的移动)。

8. 一旦完成，从振荡器中取出样品，在有明确标签的Lobind PCR条形管中准备四份40-45 μL 的等分样品，并关闭每个单独的盖子。

- **注意：**确保每个管子都是完全关紧的。

立即将分装好的样品转移到 -80°C 的冰箱中，直到将样品运送至Olink公司分析。



Olink 样品分析

1. 收到样品后，立即将样品储存在 -80°C 的冰柜中。
2. 当准备进行分析时，按照下面的稀释方法对不同的 Panel 进行稀释。

Panel	Olink Dilution **	Final Target Dilution
CAM	Dilute 110x (i.e. 1 μL of sample + 109 μL of sample diluent)	1:2025
CVDIII, DEV	Dilute 5.5x (i.e. 1 μL of sample + 4.5 μL of sample diluent)	1:100
All others	Run without any dilution	

** 请注意上述稀释方法是针对 20 μL Mitra 试剂盒优化的。对于其他类型的 Mitra 试剂盒（10 μL 或 30 μL ），使用下面的计算方法来更新稀释系数。

稀释系数计算：一个 20 μL 的 VAMS 针头应包含大约 20 μL 的干血，其中大约一半是血浆（另一半是细胞） \rightarrow 10 μL 的血浆 \rightarrow Olink 洗脱步骤将样品的血浆含量稀释了 18 倍，所以要相应调整 CVDIII、DEV 和 CAM Panel 的稀释系数。

联系方式

云生物电话：+86 21 60523158

云生物邮箱：yunbios@163.com

如有任何技术问题请联系：yunbios@163.com

云生物公众号

