

分析非标样品

# 腹水制备指南

腹水是腹部或腹腔内液体的异常积聚。这种液体含有细胞和球状体，在对样品进行蛋白质组分析之前，通常通过离心法将其从腹水中去除。

注：形成颗粒的细胞和球状体可以进行培养或裂解，以便进一步分析和了解。

## 腹水样本收集

腹水标本通常是在无菌条件下，用针或导管从病人身上穿刺采集。

**注意：**使用 21 号针头或更小的针头(更大的直径)有助于减少细胞裂解\*，这将有助于减少在蛋白质组中引入胞内蛋白。

\*如需进一步了解针头直径和流速对细胞存活率的影响，请点击链接 [link](#)。

参考文献: <https://www.hindawi.com/journals/bmri/2018/5484976/#materials-and-methods>

## 样本制备(基于文献)

1. 将细胞从腹水中去除：将腹水样本放入 15ml 容量的无菌试管中。选择一个足以进行所有分析的样本量。用  $1900 \times g$  (3000 rpm) 在  $4^{\circ}\text{C}$  条件下离心 15 分钟，去除细胞和球状体。

**注意：**以较高的速度离心腹水可能导致细胞破裂，影响蛋白组结果。

2. 离心结束后，将上清转移到新鲜管中，并在 2- ml 或 1.5-ml Eppendorf 管中分装成较小体积 (如 990  $\mu\text{l}$ ) 进一步离心。
3. 在腹水样品中添加蛋白酶抑制剂 (990  $\mu\text{l}$  样品+ 10  $\mu\text{l}$  (100x)蛋白酶抑制剂鸡尾酒+EDTA)。腹水中富含蛋白酶，因此在样本中加入蛋白酶抑制剂鸡尾酒非常重要，以便在采集时实时捕捉蛋白组的情况，防止蛋白降解。
4. 将 Eppendorf 试管在  $4^{\circ}\text{C}$ 、 $16000 \times g$  条件下离心 30 分钟，去除细胞碎片。并将上清转移到一个新的试管中。

5. 测定蛋白浓度。可以使用任何蛋白浓度测量方法来完成，比如 BCA, Bradford, Lowery, Qubit 或 Nanodrop。需确保使用相同的方法测定所有样品中的蛋白质浓度。
6. Olink 建议将样品中的蛋白浓度调整到 0.5-1mg/ml (即蛋白浓度归一化)。
7. 调整样品中的蛋白浓度后，将样品保存在-70°C，直到进行分析。

**Note:** 注意: 腹水样本在进行高速离心前可以储存在-70 °C (protocol 中第 4 步)。然而, Olink 建议在样本储存-70°C 之前, 将蛋白质浓度调整到 0.5-1mg/ml, 并进行样本分装。

## References:

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4256505/>

Shender VO, et al. **Proteome-metabolome profiling of ovarian cancer ascites reveals novel components involved in intercellular communication.** Mol Cell Proteomics. 2014 . 13:3558-71.

<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30345303/>

Zhang J, et al. **Identification of Candidate Biomarkers in Malignant Ascites from Patients with Hepatocellular Carcinoma by iTRAQ-Based Quantitative Proteomic Analysis.** Biomed Res Int. 2018. 2018:5484976.

**注意:** 当对蛋白浓度较高的样品进行分析时, 可能存在蛋白过饱和的风险 (即, 过剩的抗原效应), 而低蛋白浓度的样品可能导致较低的蛋白检出率。

## 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

