

上海优宁维生物科技股份有限公司

LabEx 服务事业部实验报告



| | |
|-------|-------------------------------|
| 协议编号 | MSD-UNIV2022112423300 |
| 委托单位 | 北京焕一医学检验实验室有限公司 |
| 委托人 | 方凯 |
| 联系电话 | 16628575761 |
| 联系地址 | 上海上海市徐汇区中山南二路 107 号美奐大厦 5B01 |
| 被委托单位 | 上海优宁维生物科技股份有限公司 |
| 项目负责人 | LabEx Luminex 实验组 |
| 联系方式 | 021-38939000 转 9249 |
| 联系地址 | 上海市浦东新区古丹路 15 弄财富新场 18 号楼 4 楼 |

目录

| | |
|---------------|-----------|
| 一、 实验目的 | 3 |
| 二、 实验原理 | 错误！未定义书签。 |
| 三、 实验材料 | 4 |
| 四、 实验方法 | 5 |
| 五、 结果说明 | 7 |
| 六、 质量标准 | 8 |
| 七、 结果判读 | 8 |
| 免责声明 | 8 |

一、实验目的

利用 MSD 检测技术，检测样本中各因子表达情况。

二、实验原理

MSD 电化学发光(electrochemiluminescence) 检测技术使用 SULFO - TAG™ 标记物。在 MULTI - ARRAY 和 MULTI - SPOT®微孔板的电极表面通电后，电化学作用激发 SULFO - TAG™ 标记物发出强光。

电化学发光 Electrochemiluminescence (ECL) 是一种在电极表面由电化学引发的特异性化学发光反应，是电化学和化学发光两个过程的完美结合。在免疫分析的历史上，第一代放射免疫，第二代酶联免疫/化学发光/荧光免疫，第三代电化学发光。由于电化学发光能取代第一代放射免疫的灵敏度，又继承了第二代酶联免疫的通量方便，因而广泛被全球大量用户所认可和使用，从被载入了免疫分析技术发展的史册。

三、实验材料

| 样品信息 | | | |
|-------|-------------------------------|---------------|--------|
| 种属 | 类型 | 数量 | 保存条件 |
| 人 | 血清 | 54 | -80°C |
| 试剂盒信息 | | | |
| 品牌 | 货号 | | 批次 |
| MSD | K15067L-2 | | 385257 |
| 实验仪器 | | | |
| 名称 | 品牌 | 型号 | |
| MSD | MSD | SQ120 | |
| 离心机 | Eppendorf | 5424R | |
| 移液枪 | Eppendorf | Research plus | |
| 摇床 | IKA | MTS 2/4 | |
| 磁力板 | Luminex | 磁力板 | |
| 分析软件 | MSD DISCOVERY WORKBENCH | Version 4.0 | |

四、实验方法

1. 样本处理

| 样本类型 | 处理方式 |
|------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 全血 | 分离血清/血浆：4°C、3000g 离心 20min，收集上清 |
| 细胞 | 每 1×10^7 个细胞加入 200-300uL 预冷的裂解液，于冰上（4°C）裂解 20-30min，然后于 4°C、13000rpm 离心 10min，收集上清，取 20uL 用于 BCA 定量 |
| 组织 | 每 10mg 组织加入 200-300uL，组织破碎器处理组织至匀浆，4°C 放置 20min，于 4°C、13000rpm 离心 10min，收集上清，取 20uL 用于 BCA 定量 |
| 备注 | 1. 每孔单次上样 25/50uL，样本不足做稀释处理 2. 裂解液：150mM NaCl, 20mM Tris-Cl, 1mM EDTA, 1mM EGTA, 1% Triton-X-100, pH 7.5, 根据实验需要添加酶抑制剂 |

2. 试剂准备

- 1) 实验前将试剂移至室温平衡 30min
- 2) 标准品：根据说明书稀释标准品配置不同浓度梯度，7 个标准品+1 个 Blank；
- 3) 检测抗体：预检测抗体稀释成 1x 工作液；
- 4) 清洗液：将清洗液稀释成 1x 工作液；
- 5) 读板液液：将 4X 读板液稀释成 2X 读板液使用
- 6) 上样量(uL)

| 试剂 | 上样量 (uL) |
|------|-----------------------------------------------------------------------------------------------|
| 标准品 | 25 |
| 检测抗体 | 50 |
| 质控品 | 无 |
| 样本 | BOX1 至 BOX4 原液 上样 25 uL (阴性对照和 IG01013 稀释 2 倍)、BOX5 稀释 50 倍 上样 25 uL (阴性对照和 IG01013 稀释 100 倍) |

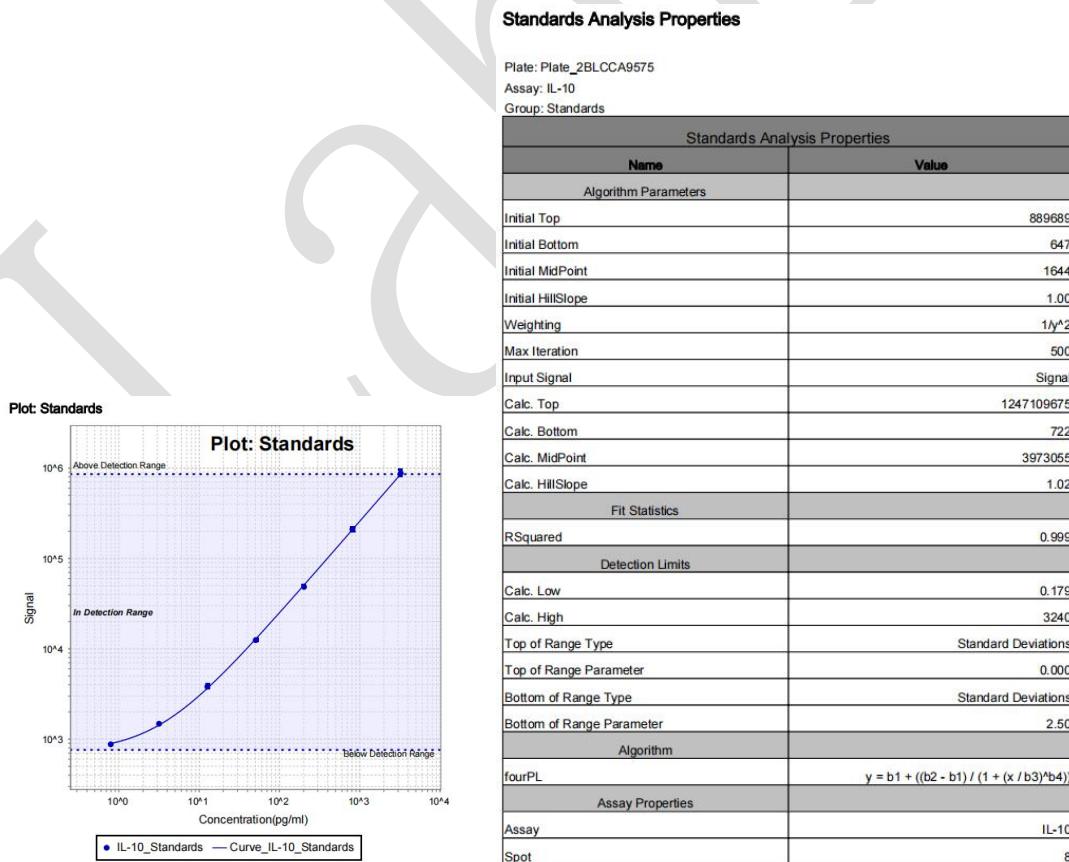
3. 检测过程（每孔）大致流程如下：

- 1) 根据试剂盒说明书依次序加入标准品、质控品、样品各 25-50uL 于室温 700rpm、孵育 2h
- 2) 加入 150uL 清洗液洗涤 3 次，再加入 25-50uL 检测抗体于室温 700rpm、孵育 2h;
- 3) 加入 150uL 清洗液洗涤 3 次, 再加入 150uL 的读板液，上机检测。

备注：详情参考试剂盒说明书

五、结果说明

- 1) 每列表格数据代表含义请参见最高一行
- 2) 数据中出现的 NaN (Not a Number) 有三种情况:
 1. 信号值 cv 和计算值 cv 底下的 NaN 一般为没有做复孔，没有数据所以只有标准品有，样本区域显示 NaN；
 2. 回收率一列，背景孔为预设浓度为 0，所以没有数据，显示 NaN；
 3. 计算浓度和计算平均浓度值底下的 NaN 指低于检测下限，即样本该因子信号值低于或接近背景孔，无法得到浓度值，所以显示出 NaN。
- 3) 纯字母文件为机器运行数据，仅 MSD 机器能够打开；原始数据 PDF 中后部分存在因子的标准曲线信息如下图：



六、质量标准

1. 标准曲线 $r^2 > 0.98$;
2. 标准曲线线性区域的回收率 (recovery=实测标准品浓度/设定标准品浓度*100%) 处于 $100 \pm 30\%$ 之间;
3. 标准曲线线性区域内的复孔变异系数 (CV=SD/平均值) 不超过 20%。

七、结果判读

1. 所有检测结果均为样本原始浓度, 结果见附件 (名称: 20230628-方凯老师-MSD 实验结果-BOX1/2/3/4/5)
2. 样本排布

| | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | 11 |
|---|-------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|---------|--------------------------|----------|---------|----------|
| A | S1 | 阳性对照 | ALX-D004-1 HuSe079-05 | ALX-D004-1 HuSe087-05 | ALX-D004-1 HuSe095-07 | IG01012 | IG01015 | ALX-D004-1 HuSe109-07 | | IgG4008 | |
| B | S2 | 阴性对照 | ALX-D004-1 HuSe080-05 | ALX-D004-1 HuSe088-5 | ALX-D004-1 HuSe096-07 | IG01014 | IG01013 | ALX-D004-1 HuSe110-07 | | IG01009 | |
| C | S3 | ALX-D004-1 HuSe027-06 | ALX-D004-1 HuSe081-05 | ALX-D004-1 HuSe089-6 | ALX-D004-1 HuSe097-07 | ALX-D004-1 HuSe101-07 | | | IG01002 | | IgG01010 |
| D | S4 | ALX-D004-1 HuSe067-05 | ALX-D004-1 HuSe082-05 | ALX-D004-1 HuSe090-7 | ALX-D004-1 HuSe098-07 | ALX-D004-1 HuSe103-07 | | | IgG02003 | | IG01011 |
| E | S5 | ALX-D004-1 HuSe075-05 | ALX-D004-1 HuSe083-05 | ALX-D004-1 HuSe091-07 | ALX-D004-1 HuSe099-07 | ALX-D004-1 HuSe104-07 | | | IG01004 | | |
| F | S6 | ALX-D004-1 HuSe076-05 | ALX-D004-1 HuSe084-05 | ALX-D004-1 HuSe092-07 | ALX-D004-1 HuSe100-07 | ALX-D004-1 HuSe105-07 | | | IG03005 | | |
| G | S7 | ALX-D004-1 HuSe077-05 | ALX-D004-1 HuSe085-05 | ALX-D004-1 HuSe093-07 | ALX-D004-1 HuSe102-07 | ALX-D004-1 HuSe107-07 | | | IG01006 | | |
| H | Blank | ALX-D004-1 HuSe078-05 | ALX-D004-1 HuSe086-05 | ALX-D004-1 HuSe094-07 | ALX-D004-1 HuSe106-07 | ALX-D004-1 HuSe108-07 | | | IG01007 | | |



免责声明

本实验是由专业技术达标的实验人员，遵循科学实验方法和标准操作流程，依照服务合同完成，本次实验结果客观公正，但单次实验不足以阐明科学问题。

若您对实验结果有疑问，请在一个月内及时联系我们。在以上规定期限内，本公司将积极配合您对实验结果的复核。

对于您的实验样本及试剂，在实验完成后，我们会依照合同进行返还或代为保管，保管期限为一个月。一个月后，客户试剂和样本会按规定销毁。

若超过以上期限，本公司将不再承担责任和义务。