

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 号美奂大厦 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℃
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℃、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℃）裂解 20-30min，然后于 4℃、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℃放置 20min，于 4℃、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 <u>原液</u> 上样 <u>25</u> uL (阴性对照和 IG01013 稀释 2 倍)、BOX5 稀释 <u>50 倍</u> 上样 <u>25</u> uL (阴性对照和 IG01013 稀释 100 倍)

3. 检测过程（每孔）大致流程如下：

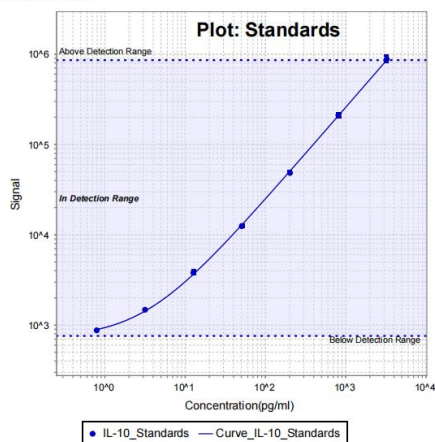
- 1) 根据试剂盒说明书依次序加入标准品、质控品、样品各 25-50uL 于室温 700rpm、孵育 2h
- 2) 加入 150uL 清洗液洗涤 3 次，再加入 25-50uL 检测抗体于室温 700rpm、孵育 2h；
- 3) 加入 150uL 清洗液洗涤 3 次，再加入 150uL 的读板液，上机检测。

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. 回收率一行, 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:

Plot: Standards



Standards Analysis Properties

Plate: Plate_2BLCCA9575
Assay: IL-10
Group: Standards

Standards Analysis Properties	
Name	Value
Algorithm Parameters	
Initial Top	889689
Initial Bottom	647
Initial MidPoint	1644
Initial HillSlope	1.00
Weighting	1/y^2
Max Iteration	500
Input Signal	Signal
Calc. Top	1247109675
Calc. Bottom	722
Calc. MidPoint	3973055
Calc. HillSlope	1.02
Fit Statistics	
RSquared	0.999
Detection Limits	
Calc. Low	0.179
Calc. High	3240
Top of Range Type	Standard Deviations
Top of Range Parameter	0.000
Bottom of Range Type	Standard Deviations
Bottom of Range Parameter	2.50
Algorithm	
fourPL	$y = b1 + ((b2 - b1) / (1 + (x / b3)^{b4}))$
Assay Properties	
Assay	IL-10
Spot	8

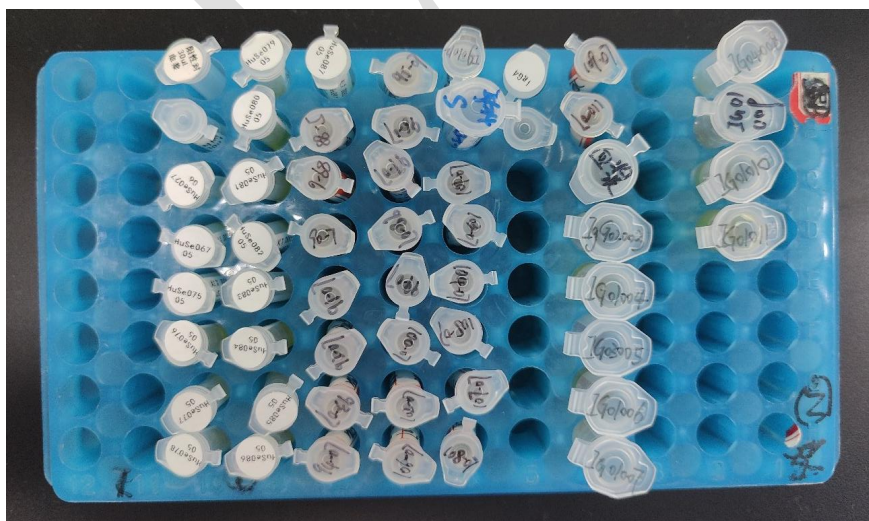
六、质量标准

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±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。