# 收样本计划

1. 目前余下3例SLE-PAH、3例SLE不是PAH、3例治疗后、1例对照待测定（应该是总体的实验设计是10例，包含已经测序的患者）
2. 已经和门诊大夫打招呼，能提前抽血就去抽血；另外放宽了入组标准，这一次送测序的病人用了2片10mg激素小量，3个月没有使用免疫抑制剂（详情见PPT），也放进来了

这是排除入组的标准

* Overlap witb other autoimmune disease;
* Combined with infectious disease;
* Use of steroids (prednisone >15 mg/d oral) or immunosuppressants;
* Any changes in immunosuppressant therapy in the last 30 d;
* Use of biologics within the last 30 d;
* Pregnancy

1. 争取3个月收完（除了治疗后的患者一定要等半年，其他的样本3个月之内预计能完成收集）

# 样本寄送、建库、上机流程制定

**最终决策：**

1. **尽量第二天早上抽，十一点之前送到公司，马上开始解离建库；否则周三下午抽，送到公司放一夜4度，第二天早上9点开始解离建库**
2. **上机等有空位再上，但考虑到每个lane要凑满800GB开测、且目前想测240GB /样本，这样只要凑够3个建库就可以包lane，这样3-5天就出结果，比较快**
3. **余下样本暂时-80度冻在贝瑞，2个月后等协和这边免疫科血样样本库建好后再一起弄回来（目前已经送测的3例样本的原始血样已经都被贝瑞扔掉了，所以这3例样本的其他功能实验，如测定细胞因子可能暂时做不了）**
4. 建议查病人血常规（已经查了），从而对建库流程进行小幅指导

# 其他细节

1. 液氮速冻冻存的话，复苏活力大概回复50-60%，另外可能还是有应激反应，这些都可能影响转录组。故总的来说不建议冻存后重新测定转录组
2. 不会常规测定干扰素等指标。但如需要的话可以测定。

辰睿：目前单细胞没有看到干扰素相关基因，但是能看到干扰素受体表达。

钱博：这个病人有测细胞因子可以参考下

（目前只有第一例患者测定了细胞因子，血常规每个病人都有，目前辰睿建议钱博每个病人都测定一下细胞因子，因为在单细胞层面对细胞因子确实看的不是很清楚，一般只能看细胞因子受体的表达）

1. 目前贝瑞考虑的是7um-30um细胞区间，太大或太小的都会过筛掉（这是10x微流控系统推荐的标准）

补充：

昨天听钱博和高总梳理了一下整个单细胞取样到样本保存、样本解离、样本质量控制、10x文库制备、上机测序的全流程，解决了我很多疑问。

从目前看，每个环节都是标准的，并且每个环节的指标都基本符合协和医院/贝瑞/我们的质量控制标准，所以增加了对数据质量的信心

所以，细胞碎片在测序/实验操作层面产生的可能性比较小，很可能是SLE特有的一种现象。但目前也不能下定论，还是要看本批次送测的健康人和SLE的对比结果