

# RPPA 样品制备指南



非因生物的 RPPA 技术平台设计严谨精密，流程高度自动化，质量控制极其严格，每次进行样品蛋白抗原微阵列打印，都会将多种阳性标准细胞系样品与待分析样品一起进行点阵，确保实验结果的高度可追溯、高度可信度与可重复性。RPPA 可在 15 毫克组织中（米粒大小）一次性分析多达 300-500 种不同丰度蛋白，且抗体反应过程及靶点信号采集彼此独立，避免了不同靶标抗体反应之间的串扰及不同靶标丰度差异较大带来的信号采集无法兼容的问题，具有其它高通量蛋白组学所无可比拟的超高特异性和灵敏度，可以对大量细胞表面受体蛋白、细胞信号关键蛋白及蛋白修饰（磷酸化、乙酰化、甲基化等）、蛋白酶类、转录因子等各类代表性靶标进行分门别类的系统性定量分析，也可根据需求定制所需研究的靶点蛋白进行分析，包括直接和间接的上下游蛋白网络分析。RPPA 可应用于蛋白功能与调控机理分析、细胞信号转导全景扫描、肿瘤标志物及蛋白分子分型、药物靶标发现与药物机理分析等不同领域。

## 细胞裂解液样本

### 一、样本要求

1. 蛋白总浓度大于 1.5mg/ml，无需稀释至此浓度，提供原液即可；
2. 样本总体积需大于 120 $\mu$ L；
3. 用非因生物提供的 RPPA 专用裂解液提取蛋白。
4. 样本制备完毕可放置 -80 $^{\circ}$ C 保存。

### 二、运输要求

1. 已保存的样品不要反复冻融；
2. 根据干冰量准备大小适当的泡沫盒，在其中放入干冰和样本（用塑料袋或塑胶手套装好）并用封箱带密封，气温高或者路途远的，要保证运输过程中干冰足量；
3. 泡沫盒须选择较厚的，以免在运输过程中破碎导致样品损失。

## 细胞培养物及鲜冻组织样本

### 一、样本要求

类型	样本量	处理方式
悬浮细胞	不低于 $2 \times 10^6$ 个细胞	低速离心收集，弃上清；轻柔加入 2-5ml PBS 将细胞重悬浮，转入小离心管中，低速离心收集，弃上清；重复 1-2 次，放入 -80 $^{\circ}$ C 冰箱保存直至样本寄送。
贴壁细胞	不低于 $2 \times 10^6$ 个细胞	胰酶消化后加入 PBS 将细胞重悬浮，低速离心收集，弃上清；轻柔加入 2-5ml PBS 将细胞重悬浮，转入小离心管中，低速离心收集，弃上清；重复 1-2 次，放入 -80 $^{\circ}$ C 冰箱保存直至样本寄送。
冷冻切片	切片厚度 10-15 $\mu$ m，取 3-5 张连续切片，每张面积大于 1cm $^2$	
鲜冻组织	15mg	采集新鲜组织用 PBS 或者生理盐水清洗干净，切为米粒大小的组织块，放入 -80 $^{\circ}$ C 冰箱或者液氮内保存直至样本寄送。

最终解释权归非因生物科技（山东）有限公司所有





## 二、运输要求

已保存的样品不要反复冻融。根据干冰量准备大小适当的泡沫盒，在其中放入干冰和样本（用塑料袋或塑胶手套装好）并用封箱带密封，气温高或者路途远的，要保证运输过程中干冰足量。泡沫盒须选择较厚的，以免在运输过程中破碎导致样品丢失。

## 体液样本

### 一、样本要求

类型	最少量
血清 / 血浆	200 $\mu$ l
血细胞	2mL
外泌体	血清 / 血浆 : 4mL
尿液	1mL

### 二、血液样本采集要求

#### （一）血浆样本

1. 请用 EDTA 抗凝管采集患者血液，若不能第一时间处理，请于 4 $^{\circ}$ C 临时保存（不得超过 4h）；
2. 将采集到的血液在 4 $^{\circ}$ C 下 1500g，离心 20min，去除血液中的细胞；
3. 取上清，4 $^{\circ}$ C 下 3000g，离心 15min，收集上清（血浆），-80 $^{\circ}$ C 保存。

#### （二）血清样本

1. 使用含凝血激活剂的采血管或普通真空采血管采集血液样品，室温静置 10-60min 使血液凝集；
2. 将采集到的血液在 4 $^{\circ}$ C 下，离心 20min，去除血液中的细胞，小心转移上清（黄色）至新的 1.5ml 离心管中，枪头不要触碰中间层（白细胞和血小板层）；
3. 取上清，4 $^{\circ}$ C 下 3000g，离心 15min，收集上清（血浆），-80 $^{\circ}$ C 保存。

#### （三）注意事项

1. 请务必注意无菌操作
2. 请勿使用含肝素抗凝剂的采样管收集盛放；
3. 请排除乙肝 / 丙肝 / HIV 等病毒感染样本。

## 三、运输要求

1. 已保存的样品不要反复冻融；
2. 根据干冰量准备大小适当的泡沫盒，在其中放入干冰和样本（用塑料袋或塑胶手套装好）并用封箱带密封，气温高或者路途远的，要保证运输过程中干冰足量；
3. 泡沫盒须选择较厚的，以免在运输过程中破碎导致样品损失。





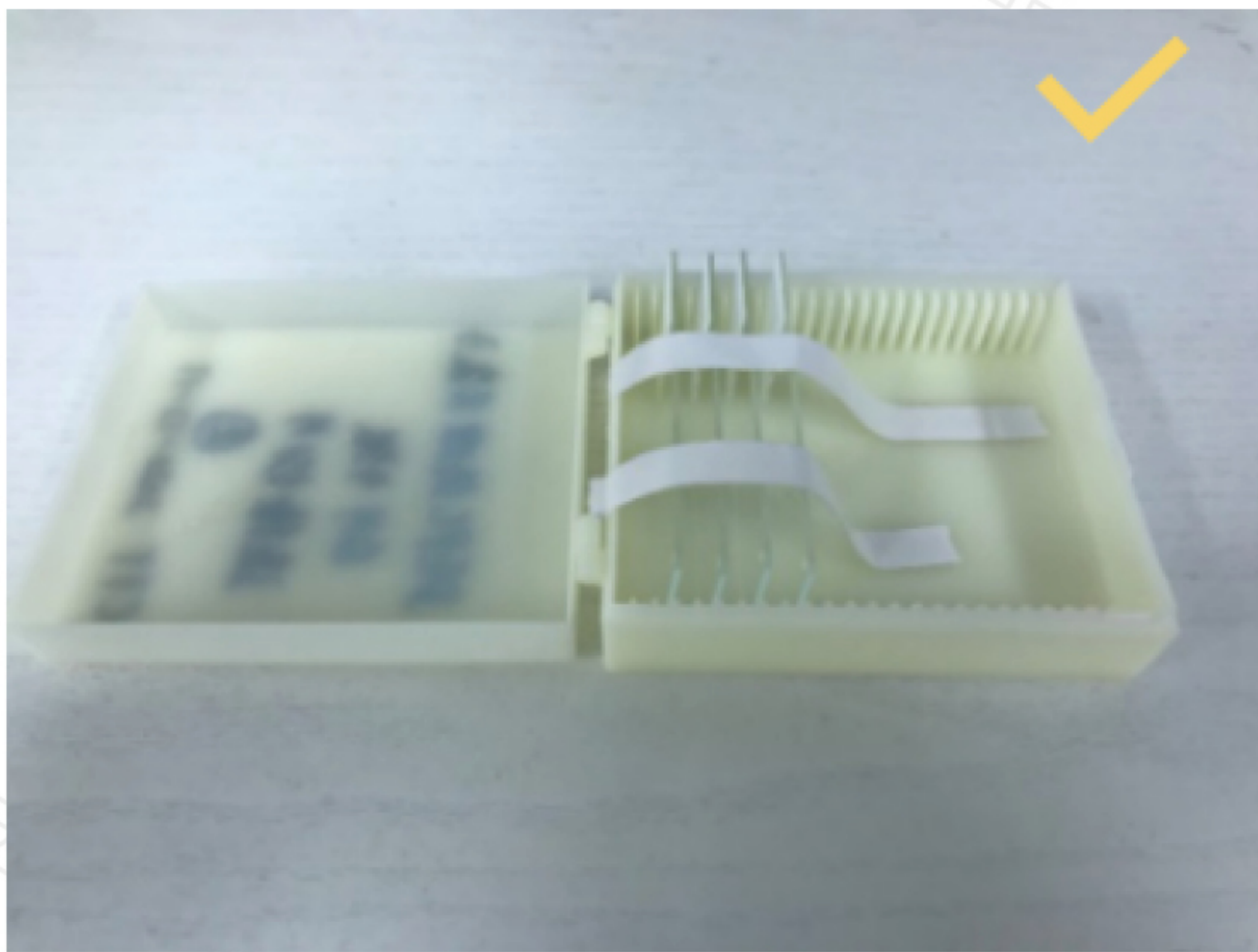
## FFPE 样本

### 一、样本要求

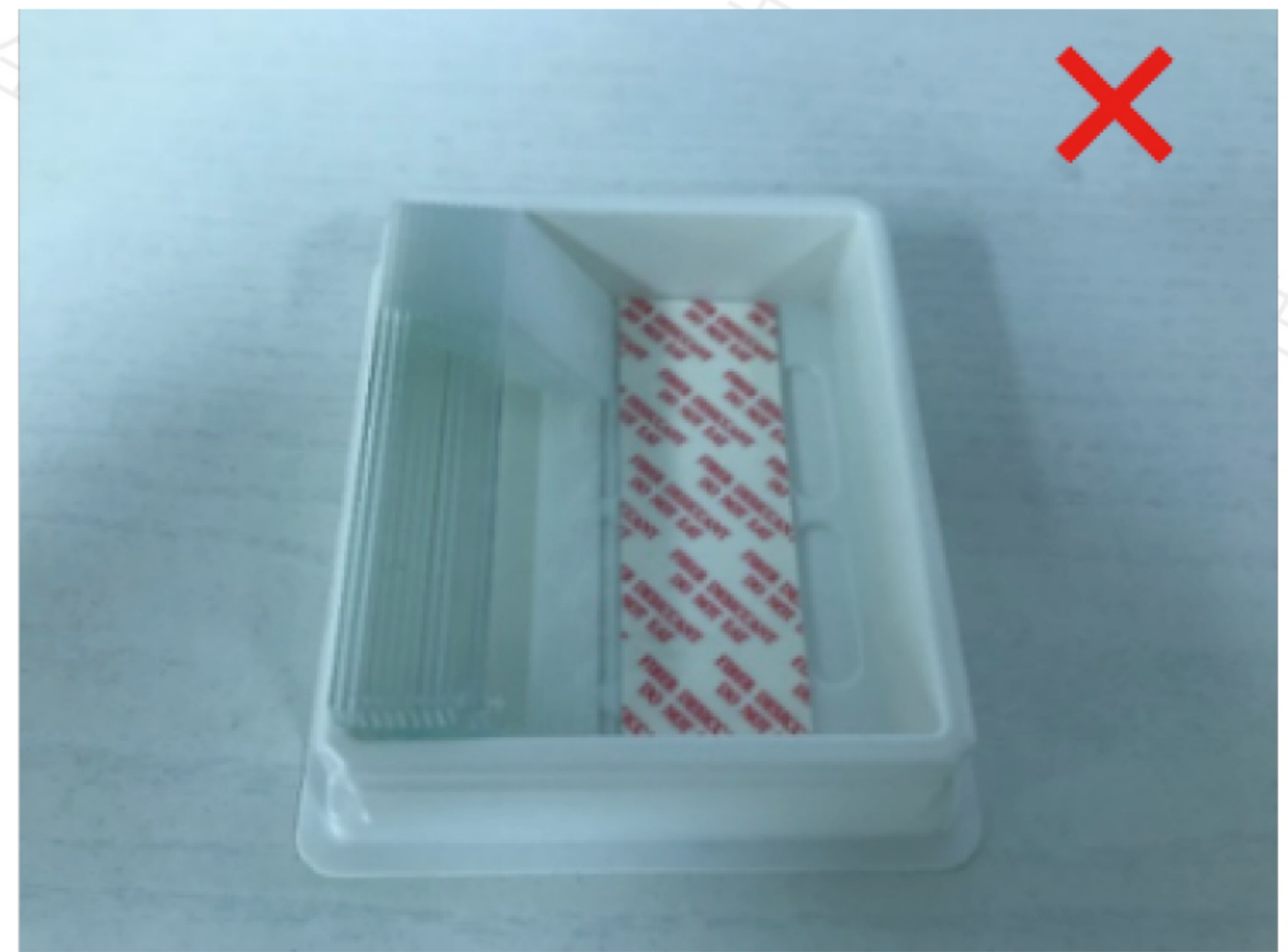
切片厚度为 10–15 $\mu\text{m}$ ，取 3–5 张连续切片，每张面积大于 1 $\text{cm}^2$ 。

### 二、运输要求

使用专用切片盒放置待寄送样本，并使用填充物或固定胶带固定，切片盒外侧需添加填充物，谨防运输过程导致切片盒及样本损坏。一般采用常温运输，如天气炎热，可放入冰袋并与样本隔离放置。



切片固定不易损坏



切片间没有距离容易刮擦

