Aptplex™Human Myocardium 5-Plex Panel

货号：MPA008

规格：96 T

产品组分

产品编号	产品名称	96T	保存条件
MPA008A	捕获微球悬液	2.4mL×2	2-8°C shading light
MPA008B	生物素化抗体	4.8mL×2	2-8°C
MPA008C	SA-PE	4.8mL×2	2-8°C shading light
MPA008D	定量标准品	2 瓶	2-8°C
MPA008E	缓冲液	5mL×1	2-8°C
MPA008F	磁珠稀释液	30mL×2	2-8°C shading light
	封板膜	五张	
	说明书	一份	

产品简介

Aptplex™ 人心肌相关 5 指标多因子试剂盒基于微球的多指标检测技术、能够实现从一份标本中同时检测多种指标。本试剂盒适用于体外定量检测人血清、血浆和细胞上清或其它生物体液样本中 ST2、IL-18、TGF-β1、MMP-9、G-CSF 细胞因子的浓度。

检测原理

Aptplex™试剂盒利用染料平均荧光强度不同的抗体偶联磁珠捕获样品中的抗原。当选定的捕获珠与含有捕获抗体特异性目标的样品混合和孵育时，每个样本与其特异性捕获珠结合，随后加入生物素化检测抗体，每个检测抗体将与特定性样本结合从而形成微球捕获珠-样本-检测抗体“三明治”复合物。随后加入链霉亲和素-植氣菊酯（SA-PE）与生物素化检测抗体结合，通过流式细胞仪上机检测从而可以得到每种样本特异性的荧光信号强度。结合抗原标准品的标准曲线，可实现对样本蛋白的定量检测。

检测样本类型

☑血清 ☑血浆 ☑其他生物体液 ☑细胞上清

保存条件

2-8°C 避光保存，有效期一年。

样本处理及自备耗材仪器

1) 血清

全血样品于室温放置 1 小时或 2-8°C 过夜后于 2-8°C，1000 ×g 离心 20 分钟，取上清即可检测。

2) 血浆

抗凝剂推荐使用 EDTA-Na_2，样品采集后 30 分钟内于 2-8°C，1000 ×g 离心 15 分钟，取上清即可检测。

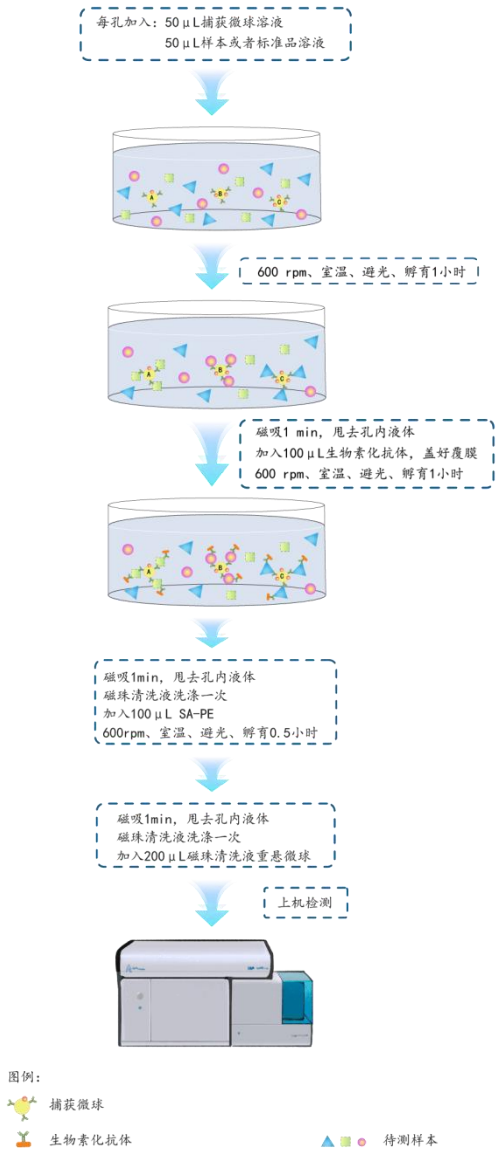
3) 细胞培养上清或其它生物体液

收集液体后于 2-8°C，1000 ×g 离心 20 分钟，除去杂质及细胞碎片。取上清检测。

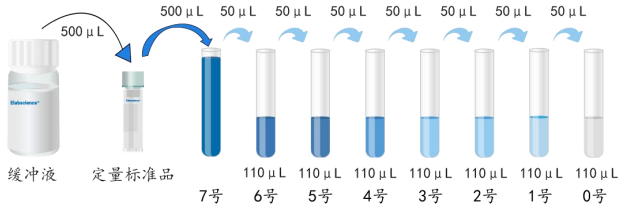
4) 仪器

U 型底 96 孔透明板、涡旋仪、96 孔板恒温振荡孵育仪、96 孔板式离心机、流式细胞仪（配备 PE 和 APC 或 PE-Cy5 或 PE-Cy7 检测通道）

实验流程



1) 准备 8 个 0.6mL 离心管作为标准品梯度管，标记编号 0~7；7 号管留空，0~6 号管中加入 110μL 缓冲液。
2) 标准品为冻干粉，使用前 500g 离心 10 秒使标准品集中于管底，向定量标准品瓶中加入 500μL 缓冲液，静置 5 分钟，再用加样枪轻轻吹打 2-3 次，使标准品充分溶解混匀并转移至 7 号管，为最高浓度标准液；
3) 取 50μL7 号管中的标准品溶液至 6 号管中混匀，即为 1:3.2 稀释标准液；
4) 随后依次从 6-2 号管中取 50μL 标准品溶液至下一标准品梯度管，依次梯度稀释得到 5~1 号管标准液：0 号管中的缓冲液作为 0 浓度标准液。如下图：



备注：最高浓度标准液可能会有不同的浓度(详见标准品信息卡)

孵育步骤

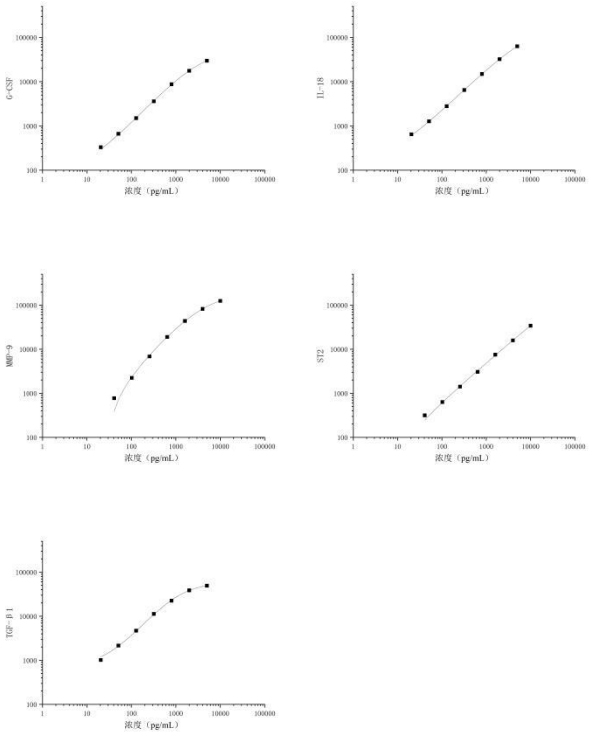
1) 96 孔板中加入 50μL 捕获微球溶液（加入前涡旋混匀至少 15s）、50μL 样本或者标准品溶液，盖好覆膜后放置于孔板恒温振荡仪中室温 600rpm 孵育 1 小时。
2) 反应结束后放置在磁吸板上磁吸 1 min，甩去孔内液体后，加入 100μL 生物素化抗体，盖好覆膜后放置于孔板恒温振荡仪中室温 600rpm 孵育 1 小时。
3) 反应结束后放置在磁吸板或磁吸架上磁吸 1min，甩去孔内液体，各孔加入 200 μL 磁珠清洗液，放置在 96 孔磁吸板上磁吸 1 min，甩去孔内液体，加入 100μL SA-PE，盖好覆膜后放置于孔板恒温振荡仪中室温 600rpm 孵育 0.5 小时
4) 反应结束后放置在磁吸板或磁吸架上磁吸 1min，甩去孔内液体，各孔加入 200μL 磁珠清洗液，放置在 96 孔磁吸板上磁吸 1 min，甩去孔内液体，各孔加入 200 μL 磁珠清洗液重悬微球。
5) 上机检测。

（用户也可根据自身的实验情况和实验仪器调整实验方案）

流式细胞仪检测

【数据采集与分析】

1.试剂标准曲线图分别如下图所示：



注：以上标准曲线仅供参考，不同试剂盒标准曲线不同，实验者需根据自己的实验建立标准曲线。

2. 样本测试数据采集

1) 使用本试剂盒对样本进行检测(手动圈门分析示例);
2) 建立 FSCH/SSC-H 散点图，调节 FSC 和 SSC 的增益，将五项细胞因子粒子团用矩形 P1 门圈出，如图 1 所示；

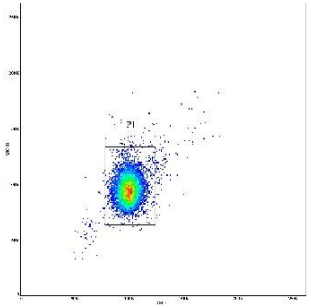


图 1

3) 建立 APCH/AC7-H 散点图，在 P1 门内将五项细胞因子单因子粒子团分别用矩形门圈出，如图 2 所示；

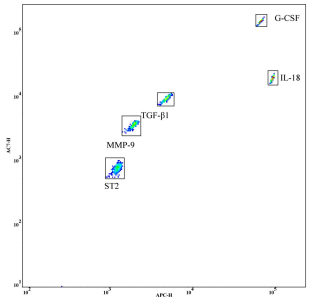


图 2

数据分析

1) 打开模板上机检测，设置每个 P 门下的微球收集数量至少 200 个。例如，P1 要检测 4 种不同荧光强度的微球群，则需要检测 8×200=1600 个微球。采集完成后进行

数据分析。

2) 计算标准品和样本复孔的中位数荧光强度值（MFI）并减去空白孔的 MFI 值作为校正值。以浓度为横坐标，MFI 值为纵坐标，在双对数坐标轴上拟合四参数逻辑函数的标准曲线。

3) 若样品 MFI 值高于标准曲线上限，应适当稀释后重测并在计算样本浓度时乘以相应的稀释倍数。

（注：如需要数据分析软件，请联系技术支持）

性能参数

各指标性能参数（流式门、标准品浓度、灵敏度、LLOQ、ULOQ、回收率、板内精密度变异系数、板间精密度变异系数和交叉反应）详见各批次 COA。

常见问题及解决方案

现象	可能原因	建议
上样收集到的微球量低	吸取微球过少	取用微球前充分振荡混匀
	洗涤过程损失较多微球	洗涤甩板时用力适当且勿进行二次甩板
	微球聚集在板底或管底	检测或者转移到流式管之前于振荡器上 600rpm 振荡 30 秒
标准品检测值跳孔	孔间污染	每孔加样时需更换枪头，去掉封板膜时应小心操作，避免沾到其他孔
检测灵敏度低	标准品未充分复溶	冻干标准品加入标准稀释液后需冰上孵育 5-10 分钟
检测不出样本值	样本本身含量过低	样本加样时无需稀释，直接加入原液进行检测

注意事项

1. 本产品仅限于专业人员的科学研究使用。
2. 请注意安全事项，遵守实验室试剂操作规范。
3. 使用微球液之前需充分涡旋混匀，避免微球聚集导致每孔微球分布不均。
4. 每孔加样需更换枪头，避免孔间污染。
5. 去掉封板膜时小心操作，避免沾到其他孔。
6. 在“标准品”、“样本”孔间操作时，每次都要更换枪头，加样时避免产生气泡。
7. 洗涤 96 孔板时，推荐使用排枪加入洗涤液。
8. 由于操作过程中试剂制备以及流式细胞仪参数设置不正确，可能导致结果异常，实验前请仔细阅读说明书并调整好仪器。
9. 为了达到好的实验结果，请只使用本公司试剂盒内提供的试剂，不要混用其他制造商的产品，严格按照说明书操作。