

# 樣本採集、保存及運輸指南

## SAMPLE PREPARATION, STORAGE AND SHIPPING GUIDELINES

### 1) 樣本的採集：

- **樣本採集過程中的一致性非常重要!** 盡可能最大限度地減少取樣操作中可能涉及到的過程變量，同時在樣本取材部位、時間、處理過程等 方面盡可能保持一致 (例如收集方法、操作流程、取樣時間及在非-80 °C 環境中樣本的停留時間等)。
- 樣本在採集、製備、分離、凍存等過程中應盡可能做到迅速，儘量減少操作過程過長對樣品產生的影響。
- 請告知我們樣本採集過程中使用過的添加物信息(例如防腐劑等)。
- 樣品請使用品質好的帶外旋螺紋蓋子的聚丙烯 (polypropylene) 凍存管或 Eppendorf 管 (2.0 mL 或 1.5 mL)進行分裝保存。

### 2) 樣本的保存：

- 將代謝體樣品長期儲存於液氮中是最佳的存儲方式，但是由於需要不斷補充液氮且有一定的危險性，操作成本較高。因此在完成取樣操作後，推薦所有類型的樣本均先在液氮中快速冷凍，然後轉移至-80 °C 冰箱長期保存；如果無法實現，則在完成取樣操作後儘快將樣品放入-80 °C 冰箱中。液體樣本在冷凍之前保持豎立，確保全部樣本留存在管底再凍存。
- 代謝體樣品應儘量避免反覆凍融，如果有多次試驗需求，建議在儲存前有計劃地對樣品進行提前分裝。

### 3) 樣本的標記：

- 所有樣品管必須有清楚的唯一性標記。請用永久性記號筆或耐低溫標籤紙在常溫時直接標記管子，冷凍後無論是記號筆或標籤紙都會很難操作。請注意，低溫冷凍可能會對標籤紙的黏性有很大影響，如果使用非耐低溫標籤紙標記要注意小心-80 °C 保存過程中標籤脫落。
- 對於有條碼標記的樣品管，請確保條碼之外還有其它可以肉眼識別的區分不同管子的標記。

### 4) 樣本的運輸：

- 在運送樣品之前，請填寫並發送《實驗設計及送樣登記表》，並列印一份隨樣本一起寄送。
- 樣品請按登記表順序整齊擺放於凍存盒中運輸。

## 5) 送樣要求：

樣本類型	最少樣本量
血液（血清、血漿）	300 $\mu$ L
培養基	3 mL
細胞	1 x 10 <sup>7</sup>
組織	60-100 mg

## 6) 推薦實驗樣本重複數：

樣本來源	最佳	較嚴謹	可接受
人類	> 50	40-50	25-40
大型動物	> 15	13-15	8-12
小型動物	> 10	8-10	6-7

### 1 血液樣本採集：

#### 1.1 血漿樣本：

- 使用含 EDTA 抗凝劑的採血管（紫色蓋管）收集受試者血液樣本，輕柔地上下顛倒混勻，持續 8-10 次，以混勻血液和抗凝劑。
- 將抗凝採血管放置於離心機中，室溫下離心轉速調至 3000 rpm，離心 10 min。
- 離心機停止後，取出採血管（不可顛倒），血樣分為三層：上層為淺黃色澄清的血漿層，中層為灰白色的白細胞層，下層為暗紅色的紅細胞層。
- 使用合適的移液器或一次性巴氏吸管小心吸取血漿層，避免吸取白細胞層。
- 將血漿分裝至凍存管中，每管至少 300 $\mu$ L 進行保存，所有樣品管必須有清楚的唯一性標記。

#### 1.2 血清樣本：

- 使用血清真空採血管（紅蓋或者黃蓋）收集受試者血液樣本。將普通血清管（紅蓋，無添加劑）室溫靜置 1 hr 或惰性分離膠促凝管（黃蓋，含惰性分離膠和促凝劑）室溫靜置 30 min
- 然後將採血管放置於離心機中，室溫下離心轉速調至 3000 rpm，離心 10 min；
- 離心機停止後，取出採血管。血樣分為兩層（普通或快速血清管），上層為淺黃色澄清血清層，下層為暗紅色的血凝塊層；或三層（惰性分離膠促凝管），上層為淺黃色澄清血清層，中層為透明的分離膠層，下層為暗紅色的血凝塊層；
- 使用合適的移液器或一次性巴氏吸管小心吸取血清層，避免吸取血凝塊層或分離膠層；
- 將血漿分裝至凍存管中，每管至少 300 $\mu$ L 進行保存，所有樣品管必須有清楚的唯一性標記。

### 血液樣本採集注意事項：

- 常用的血液樣本抗凝劑包括 EDTA、檸檬酸和肝素三種。使用檸檬酸抗凝劑會干擾代謝體對機體本身檸檬酸的檢測，而肝素鈉也可能會對質譜檢測產生干擾，因此**推薦使用 EDTA 抗凝劑 (Na、K2、K3 鹽，請避免使用 Li)**；同時避免在同一項實驗中使用多種類型的抗凝劑。
- 血液樣本取樣時間和方式根據實驗需求確定，在沒有特殊需求的情況下**建議使用清晨空腹血液樣本 (統一禁食和採樣時間)**，這樣能有效減少飲食因素對代謝體的干擾。
- 由於不同公司的血清管使用促凝劑成分不同，而這其中某些成分可能會對代謝體檢測儀器造成不良影響，因此**建議考慮選用不帶促凝劑的真空採血管 (紅蓋)**。
- 不要劇烈震盪或顛倒採血管，以免引發溶血。取血時，如用酒精消毒，請擦乾擦拭部位，待酒精完全揮發後再取樣。

血清參考得率：30%~50% (例如：1 mL 全血大約能得 0.3~0.5 mL 血清)。

血漿參考得率：≈50% (例如：1 mL 全血大約能得 0.5 mL 血漿)。

### 1.3 血液樣本保存：

樣品液氮急劇冷凍後迅速轉入  $-80^{\circ}\text{C}$  冰箱是最理想的保存方法；如果條件不允許，則需儘快將樣品管放入  $-80^{\circ}\text{C}$  冰箱或乾冰中冷凍。在寄送之前樣品 應始終保持在  $-80^{\circ}\text{C}$  條件下。

### 1.4 細胞培養基樣本：

- 根據實驗需求，收集部分或者全部培養基上清於離心管中。
- 收集到的培養基上清於  $4^{\circ}\text{C}$  1000 g 離心 10min 取上清。
- 將初步離心去除細胞的培養基於  $4^{\circ}\text{C}$  10000 g 離心 10 min 取上清，分裝到離心管中，每管 300  $\mu\text{L}$  進行保存。
- 樣品液氮急劇冷凍後迅速轉入  $-80^{\circ}\text{C}$  冰箱是最理想的保存方法；如果條件不允許，則需儘快將樣品管放入  $-80^{\circ}\text{C}$  冰箱或乾冰中冷凍。在寄送之前樣品應始終保持在  $-80^{\circ}\text{C}$  條件下。

### 1.5 外泌體樣本：

- 根據實驗需求，收集樣本並提取外泌體。例如：收集相同體積的血清 (推薦 5 mL 起始量) 用於外泌體提取。
- 測定並記錄外泌體蛋白濃度和顆粒濃度。推薦採用 PBS 進行重懸，盡量避免使用 triton 或 RIPA。
- 每個樣本送檢的外泌體混懸液體積應超過 120  $\mu\text{L}$ 。
- 請將混懸樣本的溶液與樣本一起郵寄，作為空白對照進行分析。
- 樣品液氮急劇冷凍後迅速轉入  $-80^{\circ}\text{C}$  冰箱是最理想的保存方法；如果條件不允許，則需儘快將樣品管放入  $-80^{\circ}\text{C}$  冰箱或乾冰中冷凍。在寄送之前樣品應始終保持在  $-80^{\circ}\text{C}$  條件下。

### 其他樣本類型請進一步諮詢、聯繫我們！

實驗室地址：台北市內湖區行善路 398 號 7 樓  
電話 Tel: +886-02-27905778  
網址 <https://www.mprobe.com.tw/>