

# ELISA 样本制备 SOP

## 一、 目的

为 ELISA 实验做前期样本准备工作，将从客户提供的组织，细胞等样本制备成裂解液。

## 二、 应用范围

ELISA 实验

## 三、 相关指导文件

无

## 四、 职责

(一) 对客户提供的组织或细胞等样本进行裂解液制备。

## 五、 操作流程

### (一) 制备前准备工作

1. 仪器：

超声破碎仪；分析天平（AL204 型）；离心机

2. 试剂：

1×PBS 缓冲液 pH7.2 (PS0061); PMSF(WB018);

3. 其它：

1 L 烧杯、超纯水

### (二) 常规样本

1. 细胞培养上清：300 × g 离心 10 分钟去除沉淀物，即刻检测，或者分装，-20℃以下贮存。

2. 血清样本：离心管收集血清。血样凝集 30 分钟后，1,000 × g 离心 10 分钟。吸取血清样本之后即刻检测，或者分装，-20℃以下贮存。

3. 血浆样本：EDTA、枸橼酸钠或肝素抗凝收集血浆样本。1,000 × g 离心 30 分钟收集样本。即刻检测，或者分装，-20°C 以下贮存。

本试剂盒可能适用于其它生物学样本。细胞培养上清、血清和血浆已经过验证。

注意：检测前，样本中可见的沉淀必须去除。不要使用严重溶血或高血脂的样本。样本应分装并贮存于-20°C，以避免活性丢失。如果在 24 小时内检测。样本可以存放在 2 - 8°C。避免样本的反复冻融。在检测前，冷冻样本应缓慢地恢复至室温，轻柔地混匀。

## （二）组织样本制备过程

1. 在分析天平（AL204 型）上，称量 50 ~ 100m g 组织样本。
2. 在样本中加入 5 倍质量体积的含 1% PMSF(WB018) 的 1X PBS 缓冲液 (PS0061)；并用小剪刀等工具将组织样本剪碎（尽可能小块）。

注：1X PBS 缓冲液使用前，需加入 PMSF，现用现加，PMSF 终浓度为 1 mM。

3. 打开超声破碎仪，将超声破碎仪的功率调至 25%，超声时间 2 s，间隔时间 5 s，总时间 2 min。放入样本，**冰上**超声 3 min。视样本匀浆情况调整总时长。
4. 超声完成后，将样本放于 4°C 或冰上裂解 30 min。
5. 打开离心机，将转速调至 12000×g；将样本放入离心机，离心 10 min，取上清，按需要分装，于-20°C 贮存。

注：留取 20  $\mu$ l 样本，用于后续 BCA 测定。

### (三) 细胞样本制备过程

1.对于贴壁细胞：去除培养液，用 PBS、生理盐水或无血清培养液洗一遍。以 2 百万细胞为例，在样本中加入 100  $\mu$ l 的含 1% PMSF(WB018)的 1X PBS 缓冲液 (PS0061)，震荡混匀细胞，4℃或冰上裂解 30 min。用枪吹打数下，使裂解液和细胞充分接触。必要时可以进行超声处理，超声步骤与组织样本相同。

2.对于悬浮细胞：离心收集细胞，以 2 百万细胞为例，在样本中加入 100  $\mu$ l 的含 1% PMSF(WB018)的 1X PBS 缓冲液 (PS0061)，震荡混匀细胞，4℃或冰上裂解 30 min。用手指轻弹悬浮细胞以充分裂解。充分裂解后应没有明显的细胞沉淀。如果细胞量较多，必需分装成  $(5-10) \times 10^5$  细胞/管，然后再裂解。必要时可以进行超声处理，超声步骤与组织样本相同。

注：1X PBS 缓冲液使用前，需加入 PMSF，现用现加，PMSF 终浓度为 1 mM。

3. 打开离心机，将转速调至 12000  $\times g$ ；将样本放入离心机，离心 10 min，取上清，按需要分装，于-20℃贮存。

注：留取 20  $\mu$ l 样本，用于后续 BCA 测定。