

目录

01 血液样本采集

02 组织样本采集

03 细胞样本采集

04 细胞培养液采集

05 可开展的实验



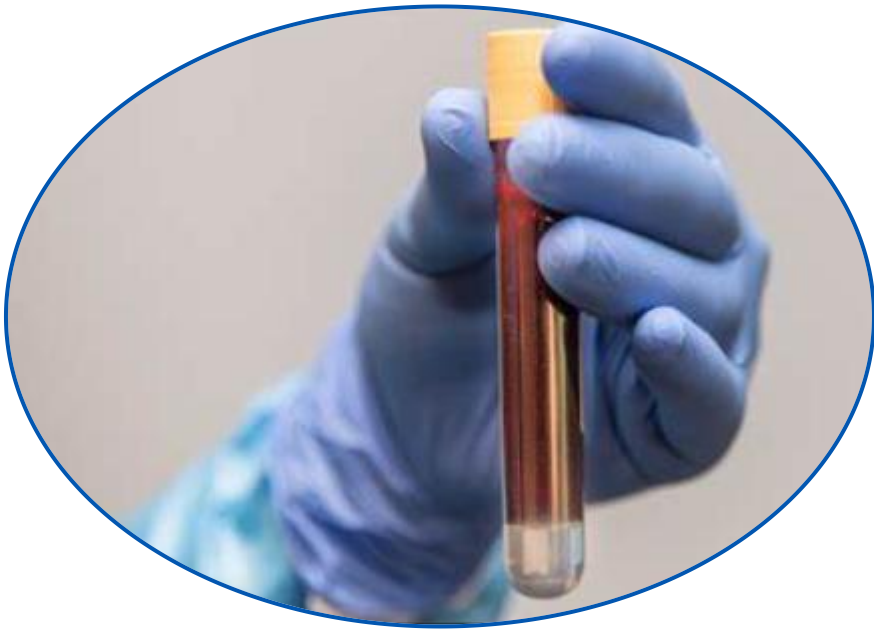
01

血液样本采集

血浆采集

材料准备

材料	型号或级别
实验服、手套、口罩等防护用品	医用级
采血管	建议使用EDTA管或肝素管
冻存管	建议使用无菌级或1.5mL离心管
移液器、枪头、离心管	无菌
离心机	4℃
液氮	
冰箱	-80℃



血浆采集步骤

再离心以分离血浆和
剩余微小血细胞



16000g, 4°C
离心10min

用移液器小心吸取上
部清液至洁净的离心
管中，做好标记



杂质沉淀

用移液器小心吸取血
浆分装至冻存管中，
做好标记；



上清转出

立即竖直置于液氮中速冻，速
冻时间约 30s，血浆最小送样
量 100 μ L；速冻后应立即储存
于-80°C冰箱中避免反复冻融，
转运时应冷链运输。

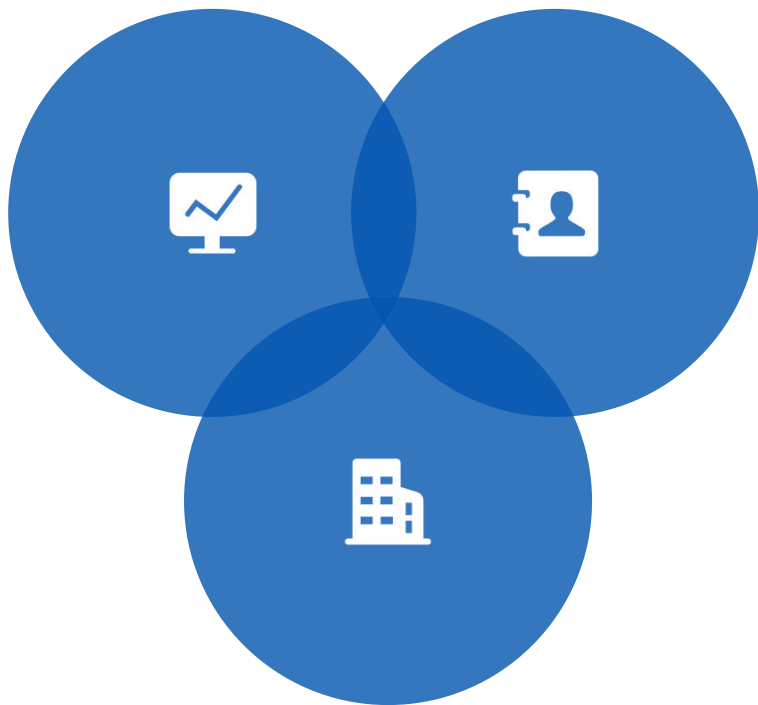


-80°C保存

注意事项

抗凝管选择

- 1、EDTA抗凝管适用于大多数血浆检测，能有效防止血液凝固，保持细胞形态完整。
- 2、肝素抗凝管常用于生化检测，不影响酶活性，但可能干扰凝血功能检测。
- 3、枸橼酸钠抗凝管主要用于凝血功能检测，能稳定凝血因子活性。



血浆分离移液

- 1、移液时需避免扰动白细胞层，防止白细胞混入血浆，影响检测结果。
- 2、使用无菌移液管，轻柔吸取上层血浆，避免产生气泡，减少溶血风险。
- 3、移液后需检查血浆是否清澈透明，若发现异常，需重新离心分离。

离心参数关键控制

- 1、离心温度需控制在4℃，可防止血浆蛋白变性，保护生物活性。
- 2、离心力设置为1900g，离心时间为15min，能有效分离血浆与血细胞。
- 3、离心后需尽快移液，避免血浆在离心管中停留过久，影响成分稳定性。

血清采集

材料准备

材料	型号或级别
实验服、手套、口罩等防护用品	医用级
采血管	建议使用无添加剂血清管
冻存管	建议使用无菌级1.5mL管或1.5mL离心管
移液器、枪头、离心管	无菌
离心机	4℃
液氮	
冰箱	-80℃

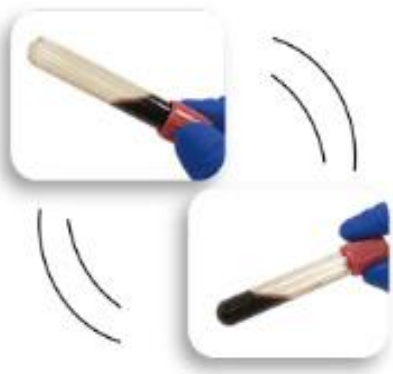


血清采集步骤



1

取下注射针，沿着管壁将血液放入血清分离管（干净管）中，以免引起泡沫



2

上下摇晃 10 次
（如果使用促凝管）



3

室温静置约 60 分钟直到分层

或



4

离心 10 分钟
（3000rpm）



5

分离完成的血清，请立即移至干净小管中并以冷冻保存



注意事项

01

- 1、血液采集后需在室温下静置30-60min，确保血液充分凝固，释放血清。
- 2、凝血时间过短会导致血清中纤维蛋白残留，影响检测结果；过长则可能导致血清成分降解。
- 3、静置过程中需避免剧烈震荡，防止血液重新混合，影响凝血过程。



凝血时间监控

02

- 1、促凝剂管适用于急诊检测，可加速血液凝固，缩短血清分离时间。
- 2、使用促凝剂管时需注意其对某些检测指标的潜在干扰，如生化检测中的酶活性。
- 3、对于常规检测，建议优先使用普通采血管，以保证检测结果的准确性。



促凝剂管使用条件

03

- 1、若血清中存在纤维蛋白残留，可采用低速离心（1000g，5min）去除纤维蛋白。
- 2、对于难以去除的纤维蛋白，可使用纤维蛋白溶解酶处理，但需注意其对检测指标的影响。
- 3、处理后的血清需再次离心，确保上清液清澈透明，方可用于检测。



纤维蛋白残留处理方案



02

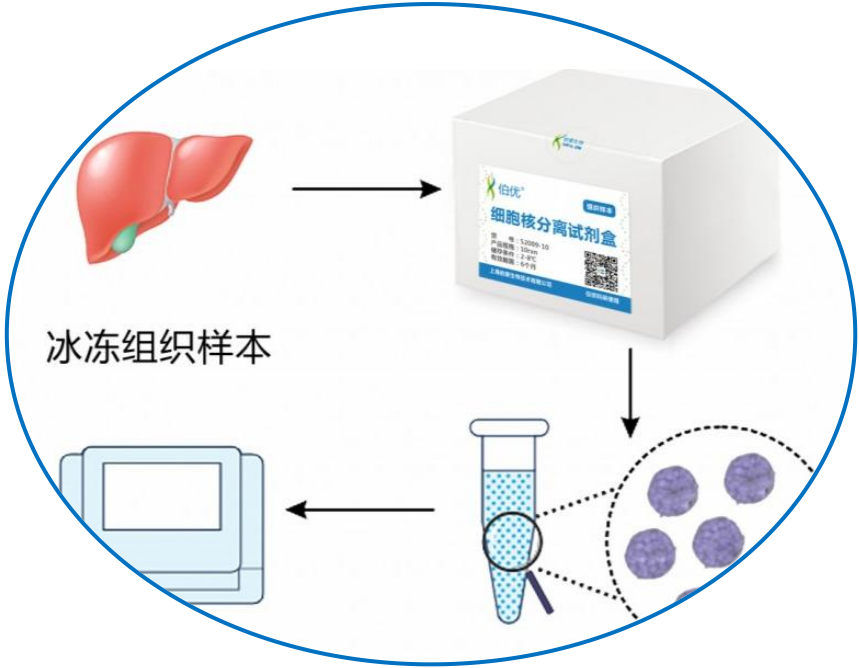
组织样本采集



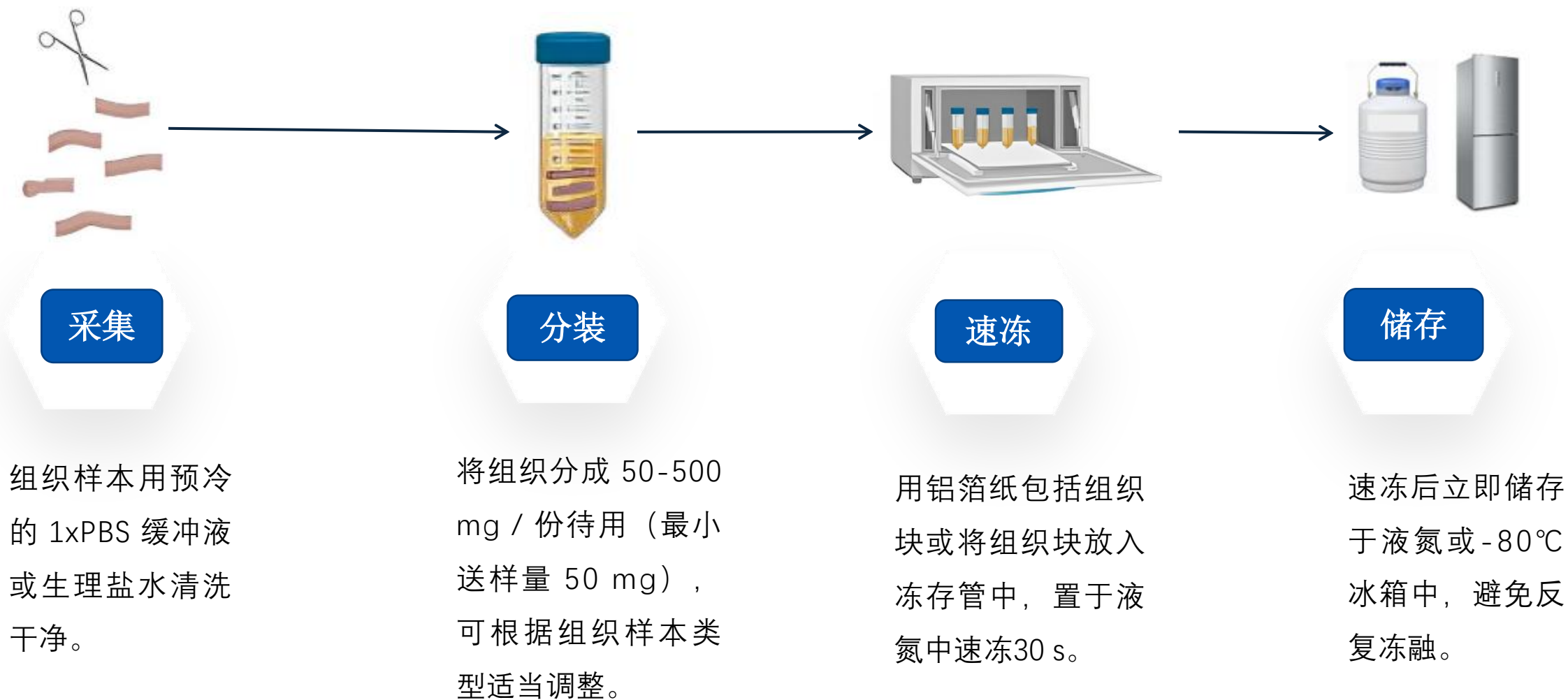
组织样本采集

材料准备

材料	型号或级别
实验服、手套、口罩等防护用品	医用级
无菌手术刀片、剪刀、尺	医用级
冻存管	建议使用无菌级或1.5mL离心管
移液器、枪头、离心管、锡箔纸	无菌
1×PBS缓冲液或生理盐水	无菌
液氮	
冰箱	-80℃



组织样本采集流程



注意事项

01

缺血性损伤预防

- 1、冰上操作时间需控制在2min以内，减少组织缺血时间。
- 2、缺血性损伤会影响组织结构和功能，需尽量避免。
- 3、操作过程中需轻柔，减少对组织的机械损伤。

02

RNase污染防控

- 1、使用专用灭活耗材，如RNase-free的剪刀、镊子等，防止RNase污染。
- 2、RNase污染会导致RNA降解，影响分子实验结果。
- 3、操作前需对器械和操作台进行消毒处理，确保无RNase残留。

03

冻融循环控制

- 1、组织冻存需采用液氮速冻梯度控制，防止冰晶形成损伤组织。
- 2、冻融循环次数需严格控制，避免反复冻融导致组织变性。
- 3、冻存组织需定期检查，确保保存条件符合要求。



03

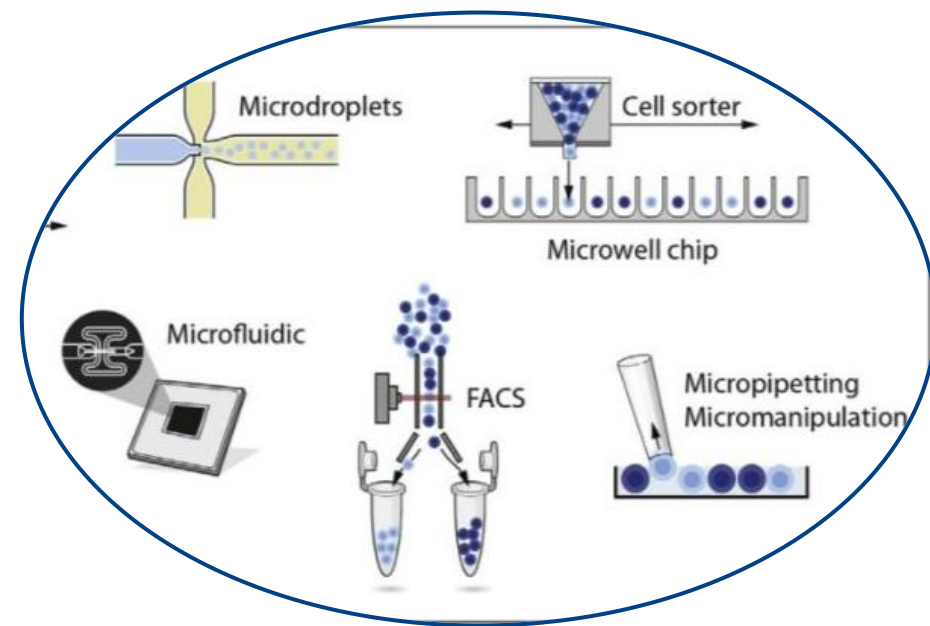
细胞样本采集



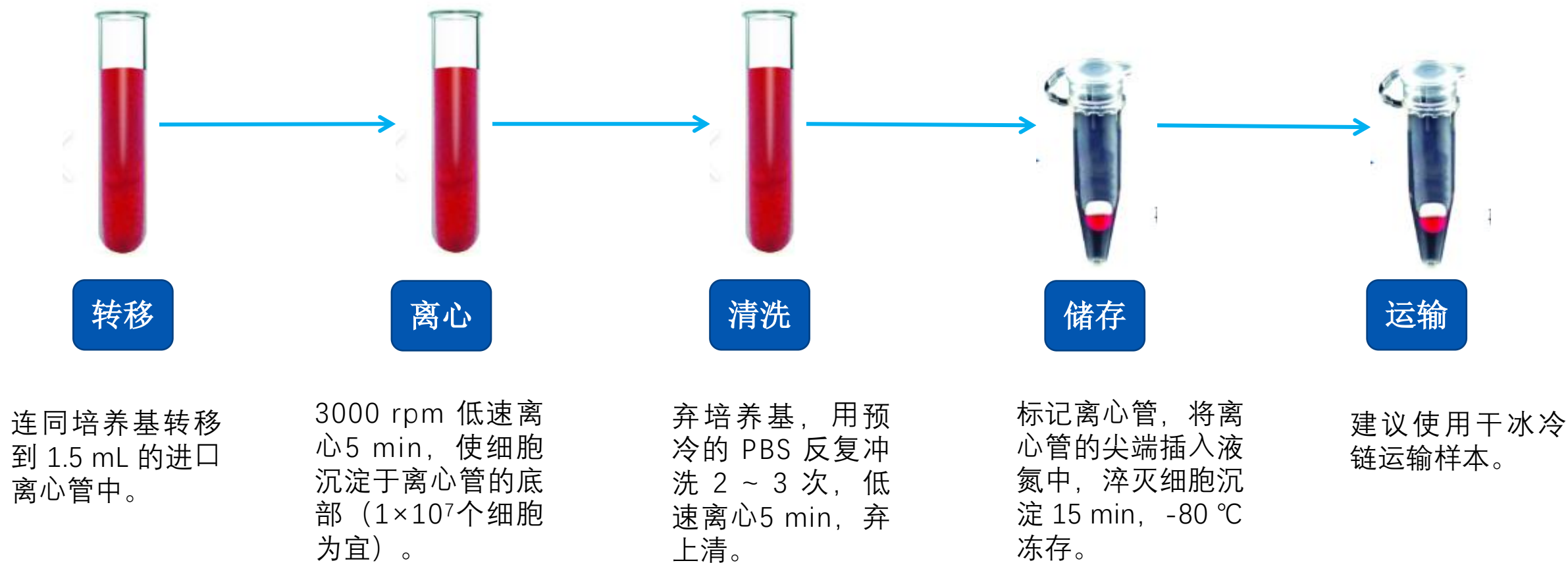
细胞样本采集（悬浮细胞）

材料准备

材料	型号或级别
实验服、手套、口罩等防护用品	医用级
冻存管	1.5 mL 离心管
移液器、枪头、离心管	无菌
离心机	4°C
液氮	
冰箱	-80°C



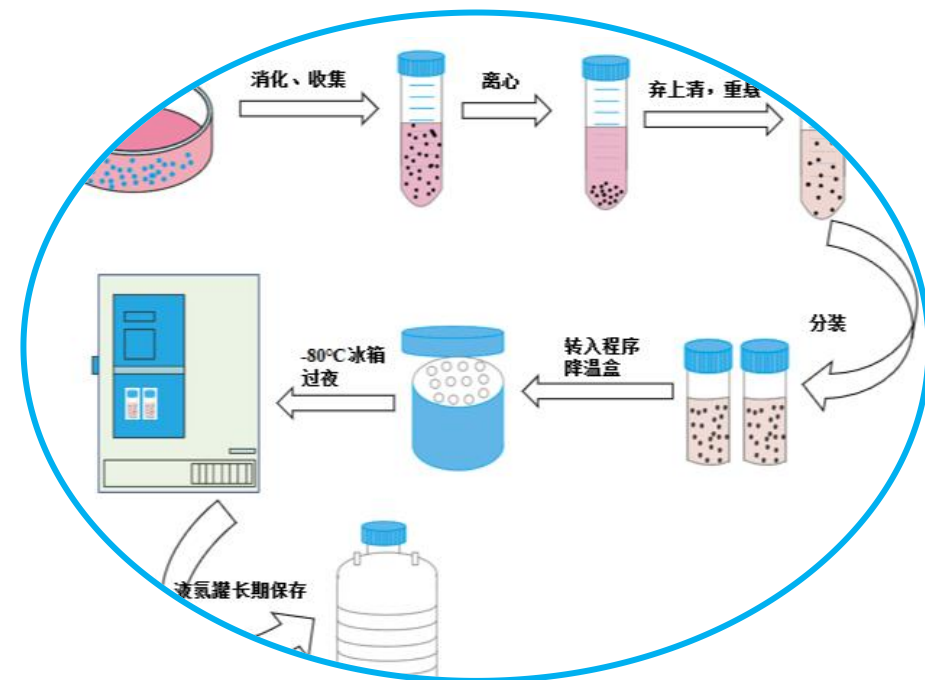
细胞样本采集流程（悬浮细胞）



细胞样本采集（贴壁细胞）

材料准备

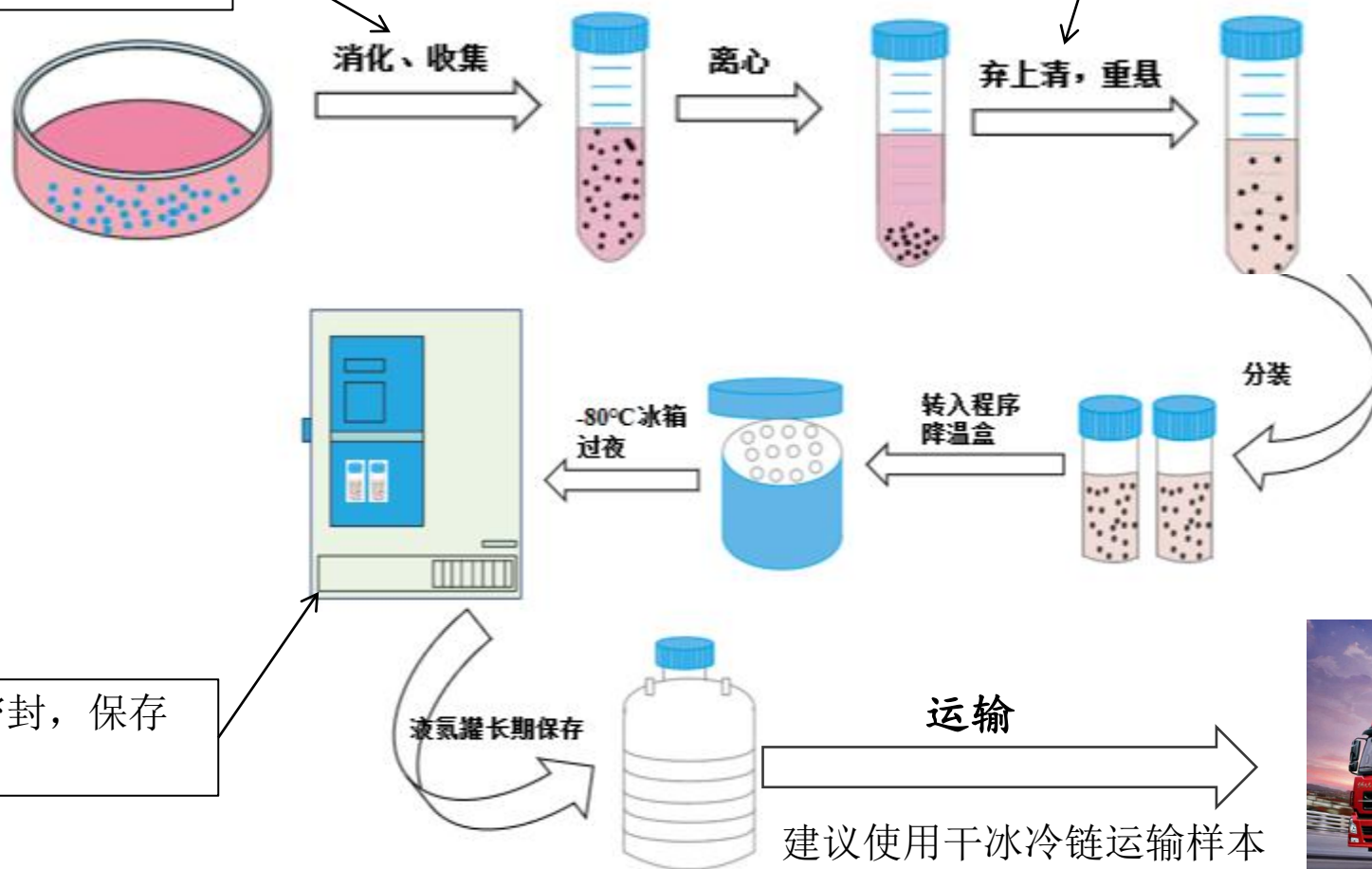
材料	型号或级别
实验服、手套、口罩等防护用品	医用级
冻存管	1.5 mL 离心管
移液器、枪头、离心管	无菌
细胞刮棒	无菌
离心机	4°C
液氮	
冰箱	-80°C



细胞样本采集流程（贴壁细胞）

使用胰酶消化后，低速离心，
转移至1.5mL离心管

去掉培养液上清，再使用PBS溶液清
洗 1-2次，弃掉 PBS上清溶液



使用封口膜将离心管密封，保存
于-80℃



悬浮细胞采集注意事项



密度梯度离心介质选择

- 1、根据细胞类型选择合适的密度梯度离心介质，如Ficoll或Percoll。
- 2、密度梯度离心可有效分离不同密度的细胞，提高细胞纯度。
- 3、离心参数需根据介质和细胞类型进行优化，确保分离效果。



细胞活性保障措施

- 1、操作全程需在4℃环境下进行，防止细胞活性下降。
- 2、使用无菌生理盐水或培养液进行细胞洗涤，避免细胞损伤。
- 3、操作过程中需轻柔，减少对细胞的机械刺激。



计数质控标准

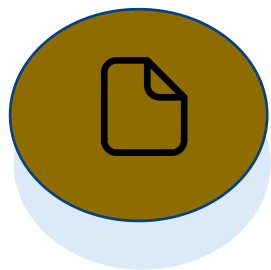
- 1、使用台盼蓝染色法进行细胞计数，确保细胞活性 $\geq 95\%$ 。
- 2、计数时需使用血细胞计数板，严格按照操作规程进行。
- 3、若细胞活性低于标准，需重新采集或处理细胞。

贴壁细胞采集注意事项



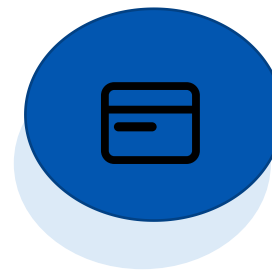
消化酶终止时机

- 1、消化酶终止时机需根据细胞边缘卷曲度判定，避免过度消化。
- 2、过度消化会导致细胞损伤，影响细胞活性和后续实验结果。
- 3、终止消化后需用培养液冲洗细胞，去除残留的消化酶。



机械刮除法适用场景

- 1、机械刮除法适用于难以消化的贴壁细胞，如某些肿瘤细胞。
- 2、操作时需使用无菌刮刀，轻柔刮取细胞，避免损伤细胞。
- 3、刮取后的细胞需用培养液重悬，进行后续处理。



冻存注意事项

- 1、冻存培养基配方需经过验证，确保细胞在冻存过程中保持活性。
- 2、冻存培养基中需添加适量的保护剂，如DMSO或甘油。
- 3、冻存后的细胞需定期复苏，检查细胞活性和生长状态。



04

细胞培养液采集



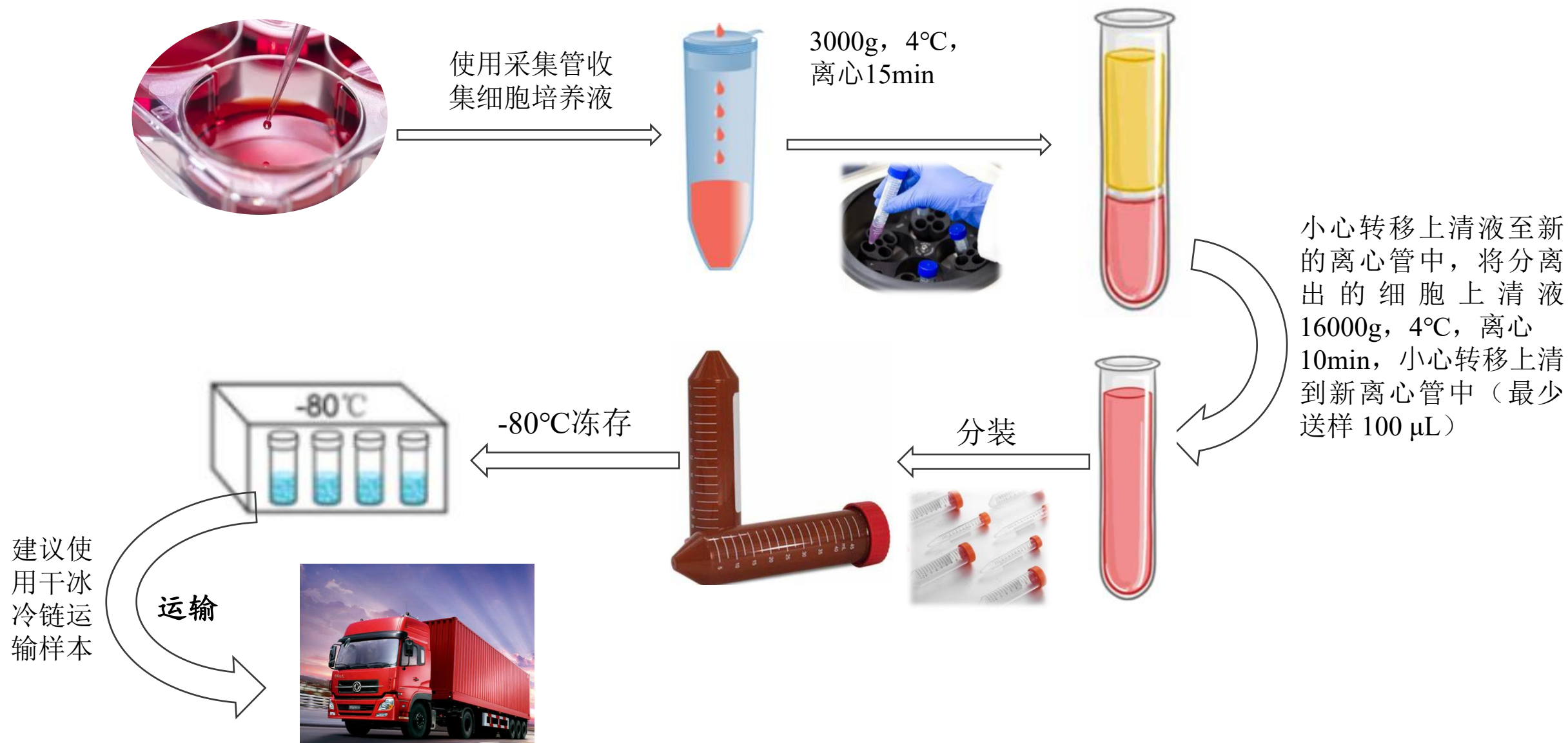
细胞培养液采集

材料准备

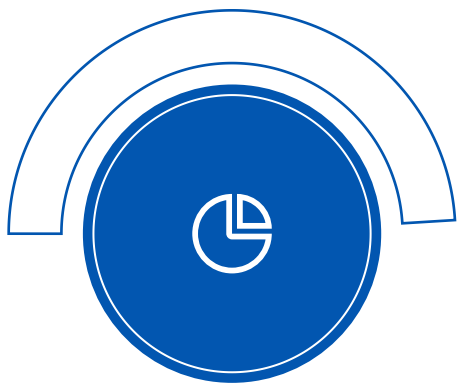
材料	型号或级别
实验服、手套、口罩等防护用品	医用级
采集管	15 mL 或 50 mL 离心管
冻存管	1.5 mL 离心管
移液器、枪头、离心管	无菌
离心机	4℃
液氮	



细胞培养液采集流程



注意事项



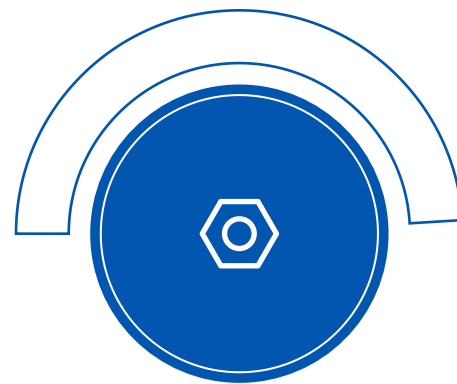
反复冻融防控

- 1、分装体积需优化，避免反复冻融对分泌因子的影响。
- 2、分装时需使用无菌冻存管，每管分装量根据实验需求确定。
- 3、冻存后的培养液需定期检查，确保保存条件符合要求。



蛋白酶降解防控

- 1、蛋白酶抑制剂cocktail需在采集后立即添加，防止分泌因子降解。
- 2、抑制剂添加时需严格按照说明书操作，确保浓度准确。
- 3、添加后的培养液需在4℃保存，尽快进行后续处理。



pH波动防控

- 1、CO₂平衡操作需规范，确保培养液pH稳定。
- 2、操作过程中需佩戴手套，避免手部汗液影响培养液pH。
- 3、定期检查培养液pH，确保其在适宜范围内。

注意事项



样本追溯

- 1、建立二维条码规则，确保样本可追溯。
- 2、每份培养液需标记详细的样本信息，包括采集时间、细胞类型等。
- 3、条码需清晰可读，便于后续管理和追溯。



温度监控

- 1、记录冰箱温度热图，确保培养液保存条件符合要求。
- 2、温度监控需定期进行，记录保存时间、温度等信息。
- 3、若发现温度异常，需及时处理，确保样本质量。



生物安全

- 1、锐器盒更换记录需详细，确保生物安全。
- 2、锐器盒需定期更换，避免溢出和污染。
- 3、更换记录需包括时间、操作人员等信息，便于后续审计。



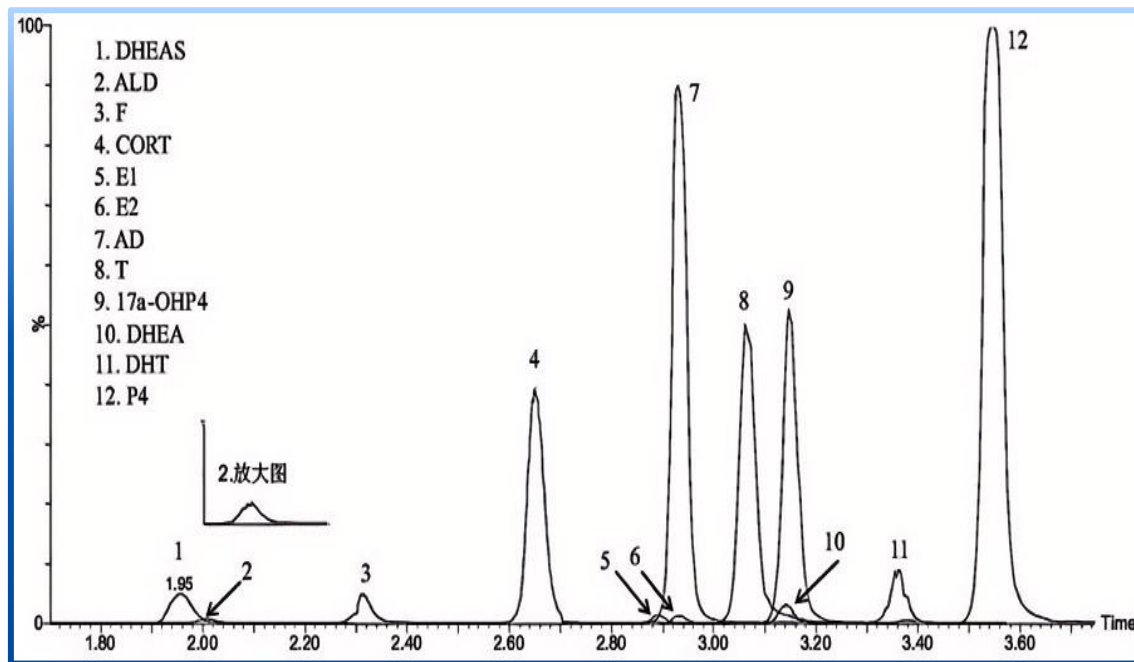
05

可开展的实验

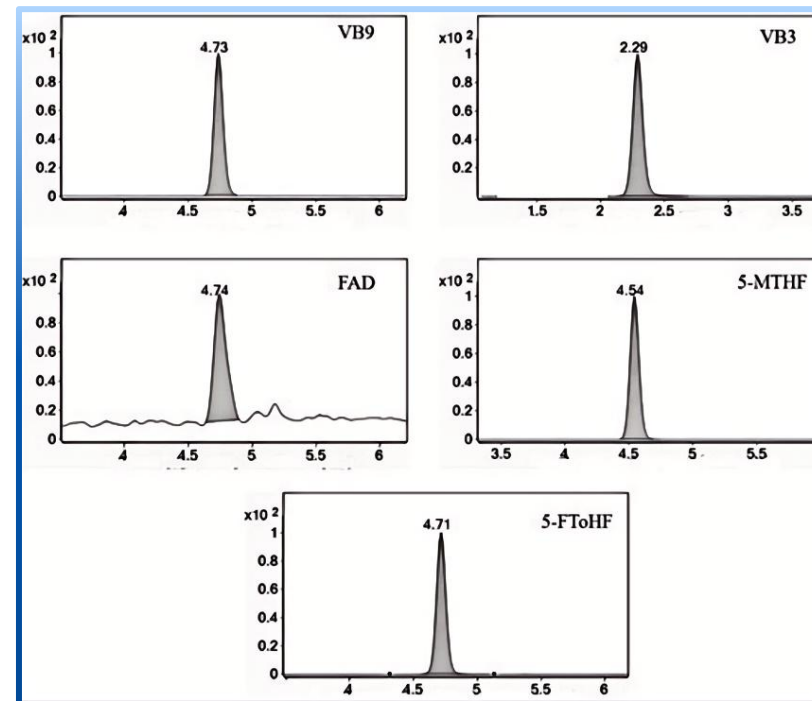


可开展的实验

高效液相色谱检测血清中类固醇激素



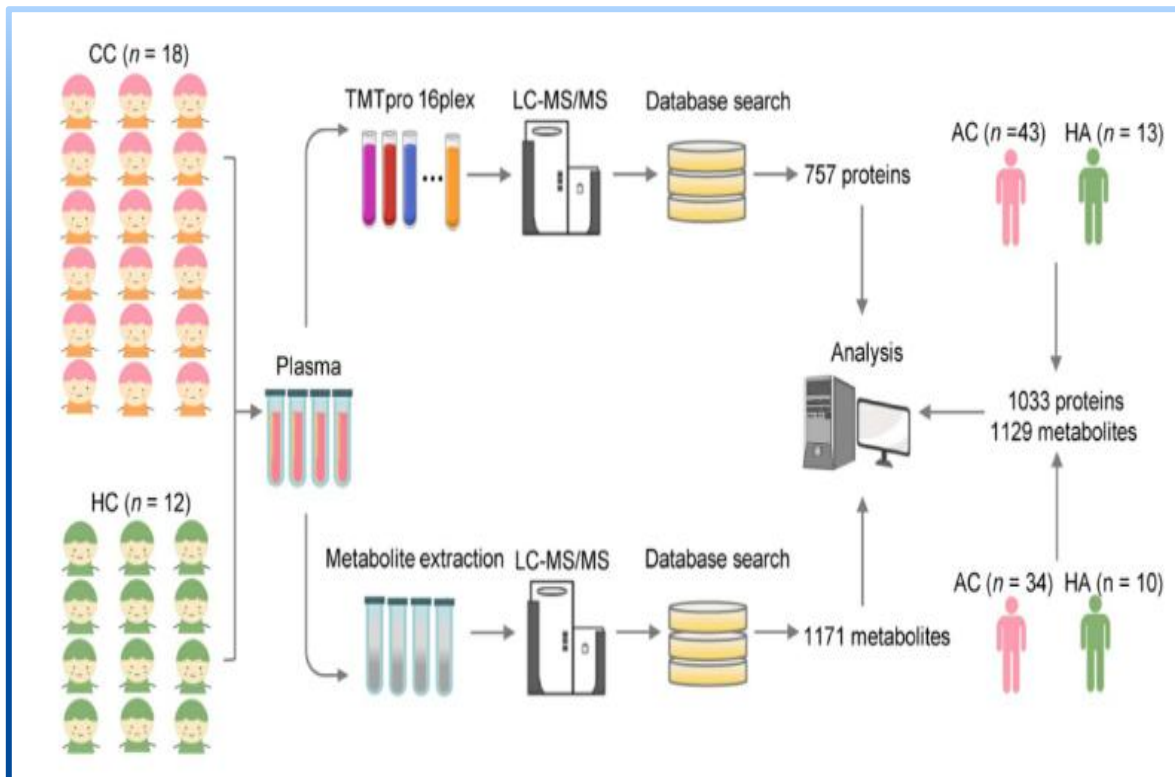
高效液相色谱测定细胞培养液代谢物



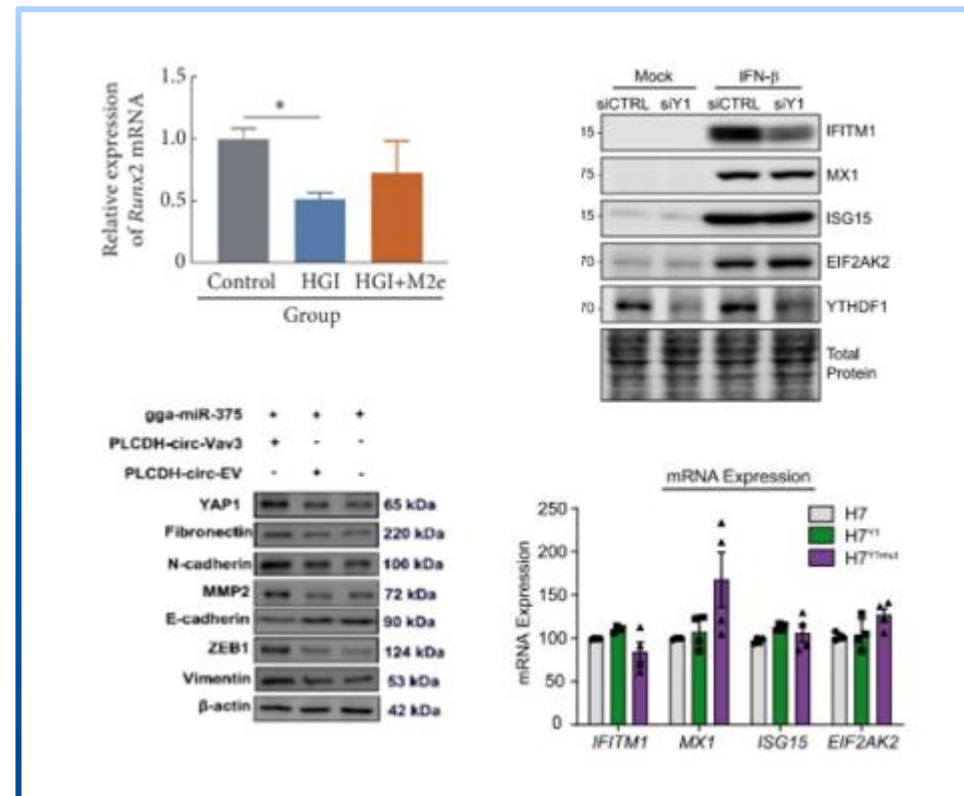
1. Liu Q, Chi Q, Fan RT, et al. Quantitative-Profiling Method of Serum Steroid Hormones by Hydroxylamine-Derivatization HPLC-MS. Nat Prod Bioprospect. 2019;9 (3):201-208. doi:10.1007/s13659-019-0204-3.
2. Zhang H, Li Y, Li Z, et al. MTBSTFA derivatization-LC-MS/MS approach for the quantitative analysis of endogenous nucleotides in human colorectal carcinoma cells. J Pharm Anal. 2022;12 (1):77-86. doi:10.1016/j.jpha.2021.01.001

可开展的实验

高效液相用于血浆蛋白质定性
及定量分析



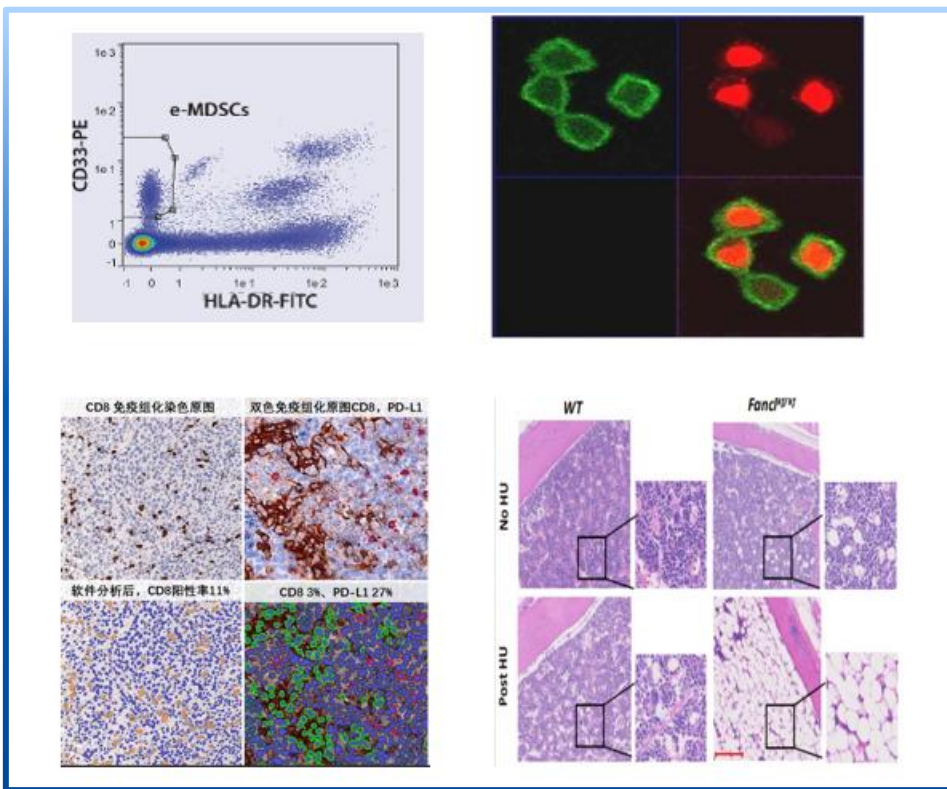
qRT-PCR、WB检测细胞或组织样本
基因和蛋白表达



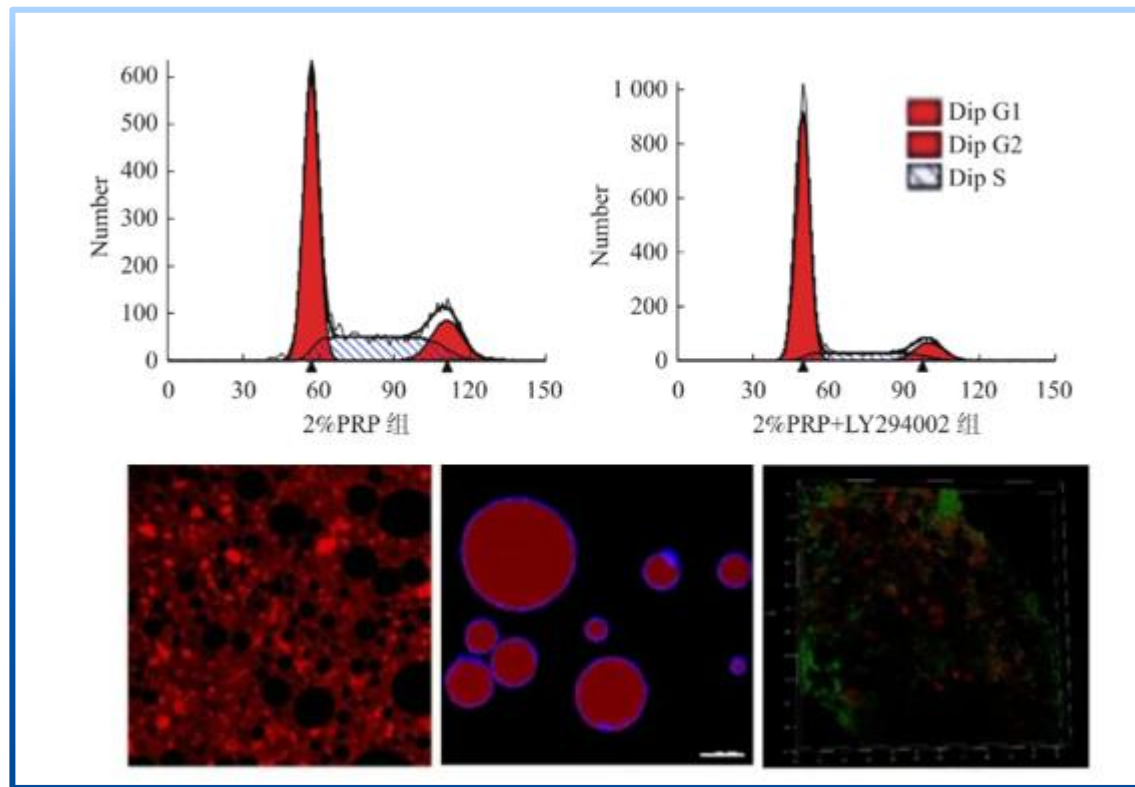
1. Wang C, Li X, Ning W, et al. Multi-omic profiling of plasma reveals molecular alterations in children with COVID-19. *Theranostics*. 2021;11 (16):8008-8026. doi:10.7150/thno.61832.
2. Lan T, Yuan K, Yan X, et al. LncRNA SNHG10 Facilitates Hepatocarcinogenesis and Metastasis by Modulating Its Homolog SCARNA13 via a Positive Feedback Loop. *Cancer Res*. 2019;79 (13):3220-3234. doi:10.1158/0008-5472.CAN-18-4044

可开展的实验

流式细胞术及共聚焦显微技术检测细胞或组织样本蛋白表达



流式细胞术分选细胞及共聚焦显微技术进行蛋白定位



1. Wang M,Zhang J,Chen X, et al. Microfluidic impedance flow cytometer leveraging virtual constriction microchannel and its application in leukocyte differential. *Microsyst Nanoeng.* 2024;10 (1):192. doi:10.1038/s41378-024-00833-y.
2. Dong LF,Chen FF,Fan YF, et al. circ-0000512 inhibits PD-L1 ubiquitination through sponging miR-622/CMTM6 axis to promote triple-negative breast cancer and immune escape. *J Immunother Cancer.* 2023;11 (6):. doi:10.1136/jitc-2022-005461.
3. Sahu A,Cordero J,Wu X, et al. Combined PARP1-targeted nuclear contrast and reflectance contrast enhances confocal microscopic detection of basal cell carcinoma. *J Nucl Med.* 2021;:. doi:10.2967/jnumed.121.262600



欢迎进一步交流 讨论



联系企业微信——研究院办公室人员

