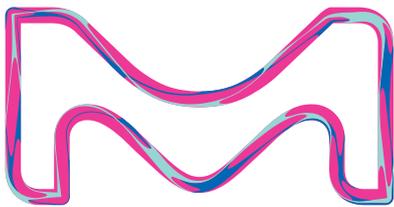


默克MILLIPIXEL[®] 蛋白多因子实验指南

让您的MILLIPIXEL[®] 蛋白
多因子实验更轻松

想您所想 助您见所未见



默克公司的生命科学业务在美国和加拿大地区以MilliporeSigma品牌运营

Millipore[®]

Preparation, Separation,
Filtration & Monitoring Products

蛋白多因子检测 为何选择 MILLIPLLEX®?

十年以来，默克为您提供优质的可同时检测多个细胞因子的蛋白多因子检测产品。蛋白多因子检测的优势在现在的研究中愈发凸显，在现在多种蛋白检测技术手段比较中具有极大的优势，但是我们在实验操作过程中经常遇到一些挑战，我们对MILLIPLLEX®试剂盒可以带来的优势非常有信心，因此默克生命科学研发专家团队特地编写了这本关于MILLIPLLEX®实验操作的提示和技巧的技术指南，在本指南的帮助下，您即可具有与拥有多年MILLIPLLEX®实验经验的专家相同的技术能力。

每年，数千名蛋白免疫检测相关研究的科研工作者都会体验到MILLIPLLEX®试剂盒为他们的研究带来的好处，并且帮助他们在世界各地的科学期刊上发表论文。我们希望本指南为您增强蛋白多因子检测产品在您研究中的力量。



注意:本指南中提供的其他方法可能会偏离部分试剂盒说明。这些方法已经被我们的科学家或最终用户试用过。但是我们不能保证提出的方法在所有情况下都有效。这些程序尚未得到所有实验情况的核实。

目录

MILLIPLEX®技术简介.....	4
如何选择最适合您研究的MILLIPLEX®检测产品.....	9
MILLIPLEX®实验所需辅助设备器材.....	10
MILLIPLEX®样本收集与准备	12
细胞信号通路分析.....	15
试剂准备.....	17
免疫分析检测流程.....	19
如何使用手持磁力架清洗反应板.....	21
Luminex® 仪器设置.....	22
Belysa™ 免疫检测数据分析软件.....	24
数据分析.....	26
附录 1: 物种间交叉反应性.....	28
附录 2: 样本准备.....	45
附录 3: 其他样本类型.....	46
术语对照表	49

MILLIPLEX®技术简介

Luminex® xMAP® 技术:

› MILLIPLEX®试剂盒是基于Luminex® xPONENT®的微球检测分析平台，该平台是多种的蛋白检测技术中发展最快、最受尊敬的多因子检测技术，支持在整个生命科学领域的应用。该平台能够在荧光编码磁珠(MagPlex®)表面进行多种生物学检测，包括免疫测定。

› Luminex®公司使用专利技术对含有多种荧光染料的微球进行内部颜色编码。通过这些染料的精确浓度控制，可以产生500个5.6µm非磁性或80个6.45µm磁性聚苯乙烯微球，每个微球表面都标记有特定的捕获抗体。目前有超过120个用于各种平台的MagPlex®微球。

› 在目标蛋白被珠捕获后，基于双抗夹心技术，抗原在结合生物素化检测抗体。

› 然后将反应混合物与链霉亲和素-PE孵育结合（链霉亲和素-PE即报告分子），在每个微球表面完成反应。

› 最后的微球获取与检测，我们可以为您提供三款Luminex®检测设备，分别基于两种不同的检测原理（见图1）:

- Luminex® 200™和FLEXMAP 3D®系统是基于流式细胞检测技术原理的仪器，集成了关键的xMAP检测组件，如激光器、光学组件、先进的流体动力学组件和高速数字信号处理器。

- MAGPIX®分析仪是一种基于LED/CCD原理的检测设备，它集成了关键的xMAP捕获和检测组件，具有优化的磁珠处理的速度和效率。

› 每个单独的微球通过其特殊微球信号(或微球区域)进行识别，其生物测定结果根据PE荧光报告强度信号进行定量。我们将Luminex®xPONENT®采集软件的强大功能与Belysa™免疫分析标准曲线拟合软件复杂的分析能力相结合，在所有Luminex®仪器上完成无缝地集成数据采集以及定量分析。

› Belysa™免疫分析标准曲线拟合软件的使用为用户提供了在大多数数据采集软件中没有的高级功能，例如:自动曲线拟合功能、数据刷选规则、简单的数据可视化和标准曲线比较工具，所有数据可使用多种文件格式输出。

在每个样品可使用多个偶联微球的进行检测的能力，是我们可以从每个样品中同时得到多个检测数据结果。开放的xMAP®技术支持多种类型的生物学测定，与传统方法相比，大大减少了时间、劳动力和成本的消耗。

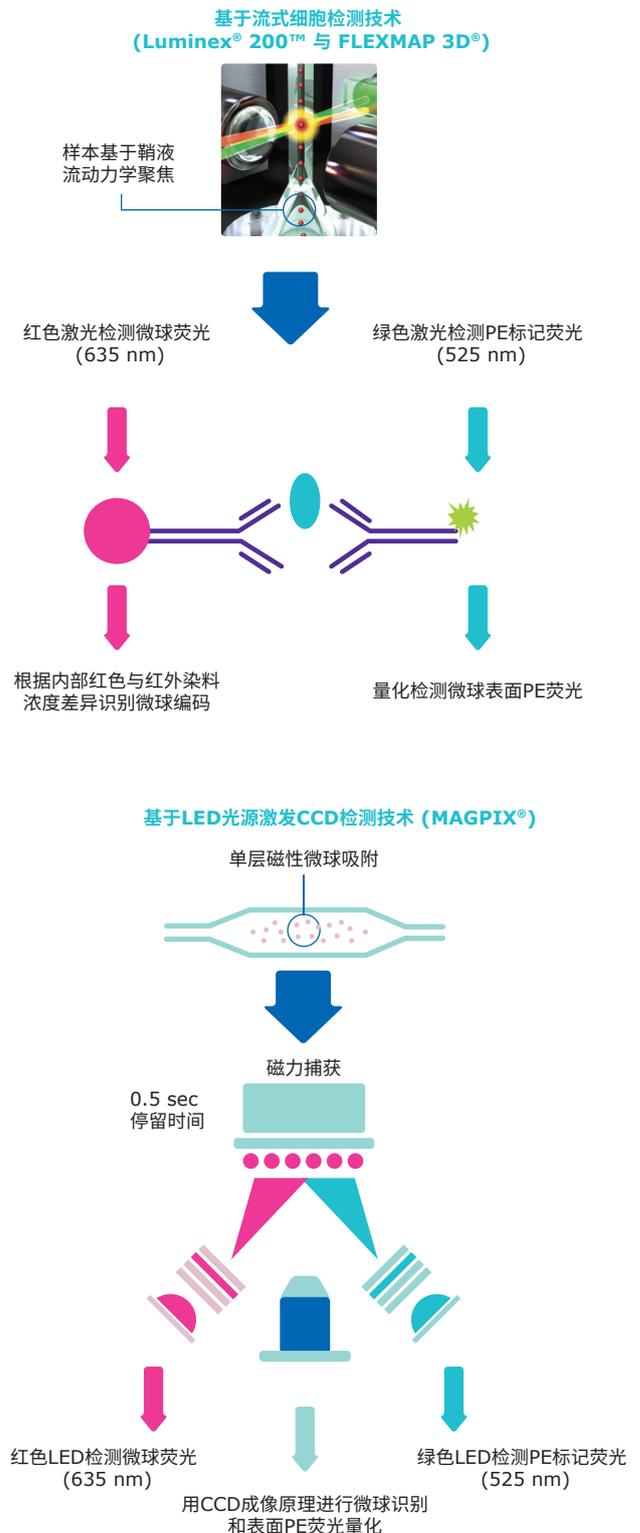
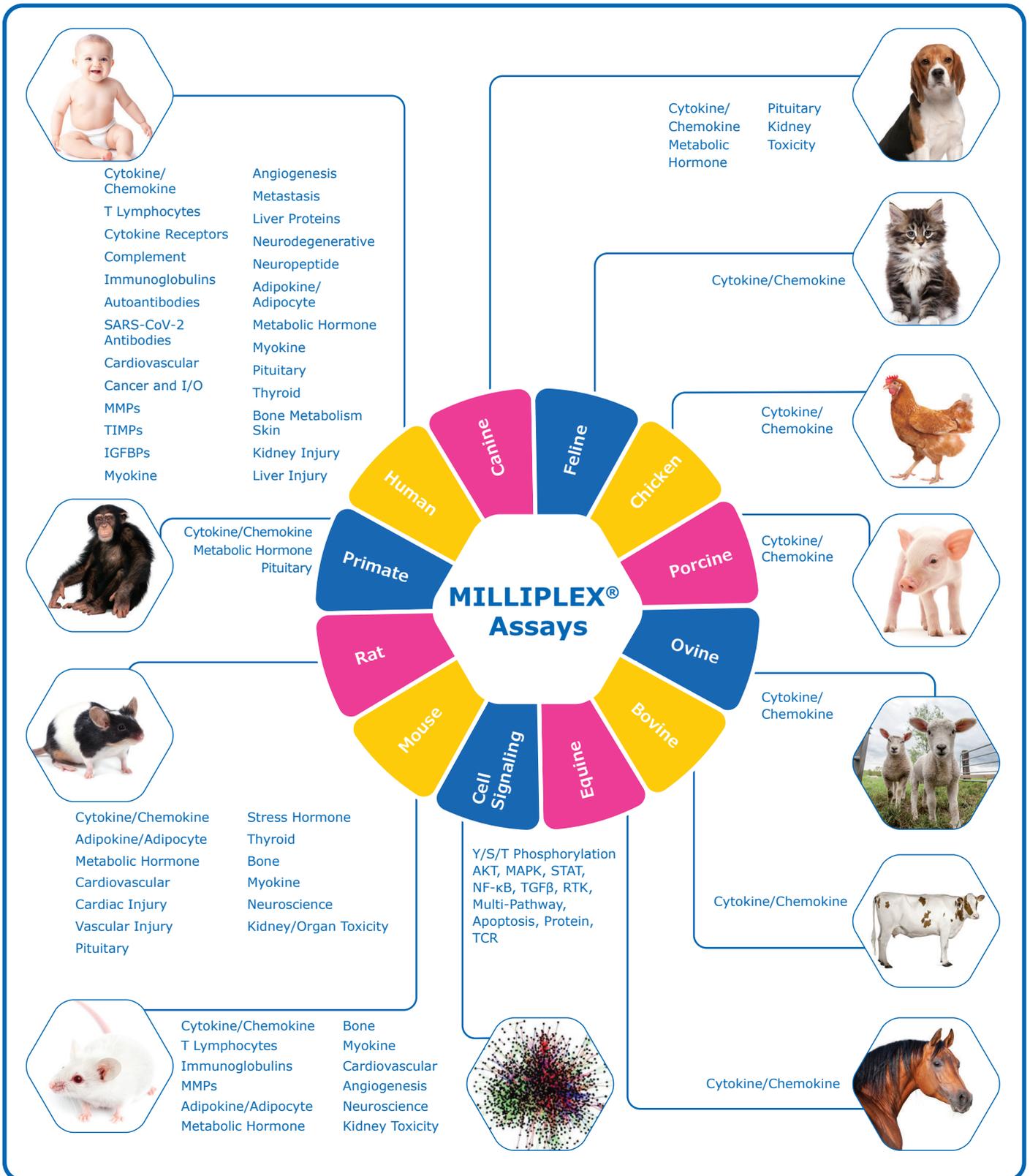


图 1. 两种不同的荧光检测方法均可用于微球获取和多重检测数据分析。上面标示了每种方法对应的Luminex® 检测仪器型号。



默克生命科学的蛋白多因子检测产品，涵盖多个研究领域，九个物种，数千种蛋白因子，致力于提供因子全面且可靠的检测试剂盒：

- › >100个检测试剂盒用于研究的蛋白因子
- › >500 个蛋白因子（分布在不同的物种中）
- › >30个预混合的多重和单重蛋白因子信号通路试剂盒用于研究细胞信号蛋白
- › >100细胞信号转导因子
- › 兼容多个物种
- › 兼容96孔或384孔板检测

默克为您提供一个强大的多因子试剂盒产品，因此您可以：

- › 可以轻松找到您的研究所需要的蛋白因子
- › 使用同一个技术同一个品牌的试剂盒检测细胞因子，可以获得更好的数据检测一致性。
- › 我们的研发部门会一直在试剂盒的性能以及可检测更多因子方面努力，以满足您现在和将来的需要。
- › 使用同一种技术来量化检测临床前研究中的生物标志物，包括动物模型和利用人类样本的转化医学研究两方面，会让研究结果更加稳定。
- › 一个检测技术可以涵盖多个研究领域

MILLIPLEX®符合分析开发和验证行业指南

从科研用户到生物制药领域等行业用户的使用体验中
我们可以满足客户日益增长的对于高质量以及可重复结果的需求

- 检出率和灵敏度
- 样本基质的引入带来更好的试剂盒检测性能
- 特异性
- 蛋白因子可选性
- 精确性与准确度
- 稀释线性
- 数据稳定性
- 交叉相互作用
- 试剂盒批次间一致性
- 产品供应链稳定性

我们在每个试剂盒说明文件中提供检测性能数据。

需要了解更多信息，请访问官方网站：

<https://www.sigmaaldrich.com/milliplex-cn>

或者拨打默克中国大陆地区技术热线400-620-3333咨询，或电子邮件至：Tscn@merckgroup.com
想了解更多关于分析开发和验证的行业指南吗？我们向您推荐以下参考资料：

1. Lee *et al.*, *Pharmaceutical Research*, Vol. 23, No. 2, February 2006 pp 317-328; Fit-for-Purpose Method Development and Validation for Successful Biomarker Measurement.
2. Jani *et al.*, *The AAPS Journal*, Vol. 18, No. 1, January 2016, pp 2-14; Recommendations for Use and Fit-for-Purpose Validation of Biomarker Multiplex Ligand Binding Assays in Drug Development.
3. Andreasson *et al.*, *Frontiers in Neurology*, Vol. 6, Article 179, August 2015, pp 1-8; A practical guide to immunoassay method validation.

为什么选择MILLIPLEX®多因子检测产品?

我们卓越的质量保证,使MILLIPLEX®多因子产品与众不同。从试剂盒的开发和验证到生产和质量控制,我们给您对于实验结果的绝对信心!

您信任的检测结果依靠的是,我们在每个试剂盒中构建的质量保证体系。除了试剂盒说明文件中列出的实验操作规范外,我们在试剂盒开发和验证过程中还评估了其他性能标准:交叉反应性、稀释线性、试剂盒稳定性以及多种样品自身因素(例如,可检测性和稳定性)。

质量控制

- 我们的试剂盒包括质量控制组分(QCs,以下简称质控品)以保证分析结果的质量。
 - 质控值是基于每批产品由至少三个不同的操作员进行的最少六次化验得出的数据。
 - 当客户与技术支持部门联系时,技术支持通常首先询问客户的质控数据是否在范围内。这将告诉技术支持专家试剂盒是否正常工作。
 - 使用高和低的质控数据作为一个试剂盒质量的检查标准,以防出现与冻干粉形式的组分复水时或标准品等稀释标准相关的实验操作错误。
- 我们同时也建议您,根据您的实验的独特性,通过使用包含最适合其独特实验样本的内部质控,来检验其自身实验数据稳定与准确性。
- 质控品对于需要更多验证的转化医学研究非常重要,可以确保在试剂盒上的数据是可重复的。
- 在比较多个不同条件的数据或实验由多个技术人员的操作及分析数据时,质控品也很重要。

标准品

- 每批新MILLIPLEX®标准品和质量控制品(QCs)与以前最后一个批次和参考批次进行比较,以确保产品批与批之间的一致性。
 - 所有数据都在一个数据库中编译,并实时维护趋势图。
 - 因子的全标准曲线特性和相对效力保持在“参考”批次的规格范围内。
 - 由于MILLIPLEX®试剂盒可以保证批次间稳定性,新的批次标准品被定期指定为新的“参考”批次,随后的批次在分析中会与之进行比较。
- 其他供应商会比较新的标准(校准过的)批次与以前的批次差异,没有“参考”批次的比较。
 - 这样可能使比较来自多个批次的的数据变得困难,因为标准曲线点值可能随着每个新批次的不同而变化,并且可能出现数据分析漂移。

我们可以确认因子标准的检测性能在从一个批次到新的批次中保持不变

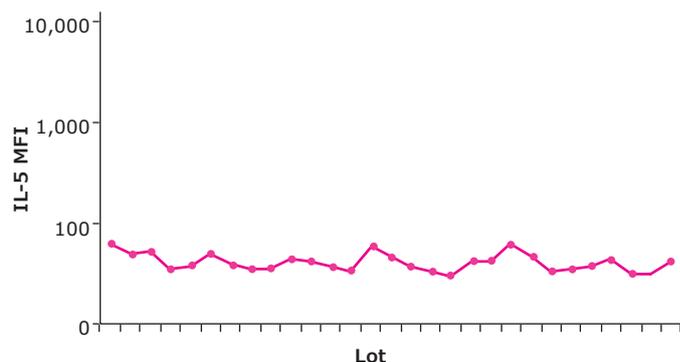


图 2. 趋势图显示了一个单一的IL-5标准曲线点在29个批次MILLIPLEX®试剂盒panel上的一致MFI值(Cat. No. HCYTOMAG-60K);相对于参考批次维持在±10%的变化。

需要更多默克免疫检测解决方案的相关信息:

请访问官方网站:

<https://www.sigmaldrich.com/immunoassay-cn>

或者拨打默克中国大陆地区技术热线400-620-3333咨询

血清基质的作用

- 如果在用缓冲液标准曲线的分析中，因子在样品孔检测的回收率超出了我们的接受标准(70-130%)，这表明样品中存在非特异性基质效应。
 - 为了弥补这一影响，我们在标准曲线孔中加入一种具有类似作用的天然血清基质来优化曲线，平衡标准曲线与样品的差异，保证样品的回收率。
 - 血清基质通常是一个样本类似物，相比正常血清样本，去除了其中所有内源性和交叉反应的因子。
- 因为血液是一个复杂的基质，其中含有大量的蛋白质，可能会干扰所需因子的准确测量，所以在检测血清/血浆中分泌的因子时，将优化的血清基质组分加入标准品中：
 - 显著提高检测精度。
 - 更准确地模拟存在于血清或血浆中的天然细胞因子的条件。
 - 模拟血清或血浆中天然细胞因子的环境。
- 其他商品化蛋白多因子检测试剂盒在样品孔中加入血清稀释缓冲液。除了一些特殊的情况，我们不这样做的原因如下：
 - 虽然这种方法确实可以实现良好的回收率，但在大多数情况下，在样品孔中添加血清基质会掩盖基质效应，可能会影响因子检测的灵敏度。
 - 血清基质与未知的样本的混合效果很难预测。

血清基质的优化

- 模拟天然细胞因子所处环境
- 每个因子检测结果实现更高的回收率
- 提高检测的精准度

	平均血清样本回收率			
	样本稀释率	IFN γ	IL-1	TNF α
使用分析缓冲液稀释标准品	未稀释	34%	40%	29%
	1:4	49%	63%	52%
	1:20	69%	81%	75%
使用血清基质稀释标准品	未稀释	83%	117%	77%

表格1. 三种细胞因子的标准曲线分别使用两种不同稀释试验缓冲液稀释检测结果的比较，分析缓冲液 VS. 血清基质。

微球稀释液

- 大约10%的正常组的样本，特别是人血清或血浆，都具有嗜异性抗体，可以同时非特异性结合捕获和检测抗体，从而产生假阳性信号。
 - 微球稀释液包含专利的蛋白酶抑制剂，可以显著减少这种假信号，而不会影响到真正的因子检测。
 - 微球稀释液也可能含有待测因子的检测抗体。例如，我们将胰岛素检测抗体添加到某些小鼠试剂盒的微球稀释液中。这确保了从初始孵育开始就处于最佳检测状态。

检测抗体蛋白酶抑制剂

- 所有的MILLIPLEX®试剂盒中的我们专利的缓冲液都包含检测抗体蛋白酶抑制剂。我们同一个试剂盒组合内不论是包含几个待测因子以及从一个批次到另一个批次间，试剂盒内都是保持因子检测抗体组合一致。

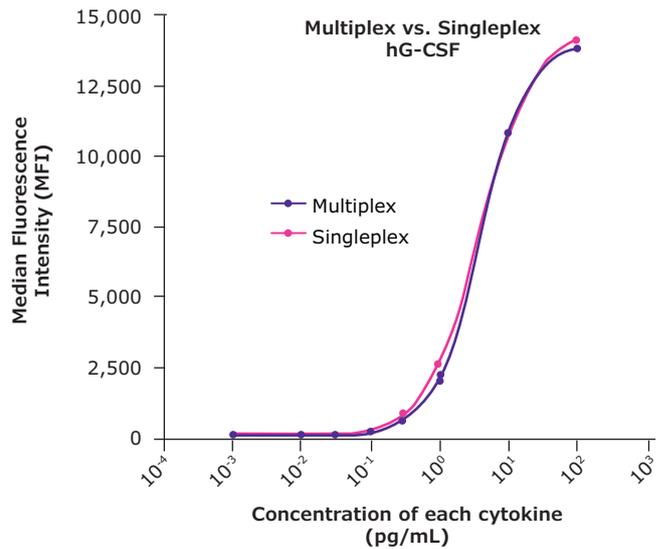


图 3. 当比较来自同一个MILLIPLEX®试剂盒的多重因子和单重因子分析时，可以看到一致的因子检测结果，如本例中的因子hG-CSF。

如何选择最适合您研究的 MILLIPLEX® 检测产品

› MILLIPLEX®同一个试剂盒中同一因子，在单独检测或者与其他因子一起检测，都使用相同的抗体对和检测条件。

- 在方法比较测试中，虽然绝对值可能不完全相同，但是结果相关性不会改变。因此，当从一个检测技术更换到另一个检测技术时，在与其他检测技术进行数据比较时，通常会使用相关的因素比较因子相关性。
- 如果您需要了解更多蛋白因子的相关性因素信息，请联系我们的技术支持专家：Tscn@merckgroup.com

› 如何查找MILLIPLEX®试剂盒产品相关的说明书与技术文档：

- 使用产品货号在默克官方网站进行搜索：
<http://www.merckmillipore.com/CN/zh>
- 点击搜索到的产品链接进入试剂盒产品页面，然后单击“文档”。
-您将会看到对应试剂盒产品文档下载界面。

› 有三个简单的方法来搜索您感兴趣的蛋白因子：

- 在默克官方网站，进入MILLIPLEX®产品主页使用MILLIPLEX® 因子搜索工具进行查找。

点击直达：[MILLIPLEX® Analyte Kit Finder](#)

- 联系我们工作人员索取或者在默克官方网站下载最新的MILLIPLEX®产品季刊。
- 如需咨询更加详细的因子选择等信息，也可以联系我们的技术专家寻求帮助：Tscn@merckgroup.com

› 需要查找引用过特定MILLIPLEX®试剂盒产品或特定蛋白因子发表的文章，请联系技术支持或您的销售专员。

› 确定试剂盒或其中某个因子针对其他物种的交叉反应性：

- 参见本指南附录1，因子物种交叉反应性表。
- 联系我们的技术专家：Tscn@merckgroup.com
- 对于细胞信号转导检测试剂盒，我们均使用人类细胞/组织培养样品进行过分析验证。同时我们在官方网站的产品细节页面上的表格中为每一个因子提供了物种同源性信息。
- 联系我们工作人员索取或者在默克官方网站下载最新的MILLIPLEX®产品季刊。

› 如何“定制”一个您“专属”的细胞因子检测试剂盒：

- 首先选择您感兴趣的试剂盒组合，例如：小鼠细胞因子/趋化因子试剂盒1 (Mouse Cytokine/Chemokine Panel 1) (Cat. No. MCYTOMAG-70K).

- 从试剂盒所包含的因子组合中选择您想要检测的因子：例如，您可能只需要其中5个因子：IL-2, IL-6, IL-10, GM-CSF, VEGF-A.

- 将您选择的因子的数量添加到这个试剂盒的货号末端，例如：MCYTOMAG-70K-05，同时列出您在这个试剂盒中选择的因子：IL-2, IL-6, IL-10, GM-CSF, VEGF-A。将这些信息提供给我们的销售专员即可。

› 不同试剂盒包含的因子放在一起检测，可行性考虑基于以下几点：

- 这些panel是否建议相同或者相近的样本稀释度？如人细胞因子的检测建议血清/血浆上样，但是人CVD检测建议1:100稀释，那么，这两个Panel中分析物是不能同时检测的；
- 这些分析物之间是否可能出现结合反应？如EGF与EGFR是不可能同时分析的，因为他们之间有结合作用；
- 不同panel因子的微珠号码是否相同；
- 如果以上可行性分析都通过，则可以和我们技术支持进一步的沟通联系相关事宜。

有关Luminex®仪器平台的相关问题，请联系Luminex®公司技术服务：

服务网站：merckmillipore.com/lmx_contact
技术支持电话：400-996-2655
电子邮箱：support@luminexcorp.com

有关BioTek®洗板设备的相关问题，请联系BioTek®公司技术服务：

服务网站：merckmillipore.com/biotek_contact
技术支持电话：(010) 85865569
电子邮箱：TAC@biotek.com

有关MILLIPLEX®试剂盒的相关问题请访问
<https://www.sigmaaldrich.com/milliplex-cn>

或者拨打默克中国大陆地区技术热线400-620-3333,或发邮件至 Tscn@merckgroup.com咨询。

MILLIPLIX®实验所需辅助设备及器材

› 单道移液器，量程范围：25 μ L至1000 μ L



› 超声波清洗仪

- 不可使用超声波探头或者超声波破碎



› 8/12 通道移液器。
量程范围：5 μ L至 50 μ L 以及 25 μ L至200 μ L



› 96孔平板水平振荡器/摇床



› 涡旋混匀振荡器



› Luminex® 200™, MAGPIX®, 或 FLEXMAP 3D® 仪器, 配套默克Belysa™数据分析软件。

› 鞘液(Sheath fluid) (配套Luminex® 200™ 或 FLEXMAP 3D® 系统) 或 驱动液(drive fluid) (配套MAGPIX®系统)。

• 鞘液(Sheath fluid)或者驱动液(drive fluid)可以联系默克销售代表进行订购:

- 鞘液(Sheath fluid), 20L (货号: 40-50015)

- MAGPIX® 驱动液(drive fluid) 4PK/750mL (货号: MPXDF-4PK)

› 在您开始使用您的全新MILLIPLEX®试剂盒之前, 请检查您的仪器, 确保其已通过校准和维护, 可以正常使用。

所有使用xMAP®技术、基于xPONENT®软件上运行的Luminex®仪器都需要使用校准校验试剂盒, 定期为仪器进行校准和性能验证测试, 以确保系统正确运行并保持数据准确性。

› Luminex®系统维护试剂盒可以联系默克销售人员进行订购:

• Luminex® 200™ (xPONENT®)

- 校准试剂盒/Calibration Kit (货号: LX2R-CAL-K25)

- 校验试剂盒/Performance Verification Kit (货号: LX2R-PVER-K25)

• MAGPIX®

- 校准试剂盒/ Calibration Kit (货号: MPX-CAL-K25)

- 校验试剂盒/Performance Verification Kit (货号: MPX-PVER-K25)

• FLEXMAP 3D®

- 校准试剂盒/ Calibration Kit (货号: F3D-CAL-K25)

- 校验试剂盒/ Performance Verification Kit (货号: F3D-PVER-K25)

› 微球清洗系统(可选全自动或手动清洗设备):

• 全自动磁力清洗系统 (以下型号为建议):

- BioTek® 405 LS Magnetic 96-well Washer (货号: 40-094)

- BioTek® 405 LS Magnetic/Vacuum Filtration 96-well Washer (货号: 40-095)

- BioTek® 405 TS Magnetic 96-well Washer Complete with Touch Screen and Ultrasonic Cleaning (货号: 40-096)

- BioTek® 405 TS Magnetic/Vacuum Filtration 96-well Washer Complete with Touch Screen and Ultrasonic Cleaning (货号: 40-097)

- BioTek® MultiFlo™ FX Automated Reagent Dispenser, optimized for both 384- and 96-well plates (货号: 40-099)

• 手动磁力清洗板

- Handheld Magnetic Separator Block for 96-well Flat Bottom or Conical Well Plates (货号: 40-285).

更多信息请访问默克官方网站, 或者最新MILLIPLEX®产品季刊

BioTek® 405™ 洗板机:



BioTek® 405™ TS 触摸屏超声波清洗系统

MILLIPLEX®样本收集与准备

MILLIPLEX®试剂盒基本信息

- › 所有试剂盒产品仅限科研使用
- › 在开始实验之前一定要阅读完整的操做说明，试剂盒操做的每一个步骤都是为了获得最佳数据结果而进行过优化的，不同试剂盒的操做流程也会针对相应的试剂盒特点进行设计优化。如果您有任何疑问，请在收集样品前联系技术支持专家或您的销售专员。
- › 为了保证实验结果的准确性，试剂盒一定要在有效期内使用。
- › 一个试剂盒的过期日期的定义，是按照试剂盒中最短过期日期的组份的过期日期进行设定。这个日期我们会印在外包装的标签上。
- › 由于MILLIPLEX试剂盒均在美国生产，从美国发货时，我们一般确认试剂盒具有三个月以上的有效期。
- › 如果您对试剂盒的有效期有特殊要求，例如需要长效期或特定有效期的试剂盒，您需要在下订单之前联系您的销售专员进行确认，按照您的要求我们是否可以提供。
- › 适当的和准确的移液操做技术是保证数据准确性的关键，特别是如果由多个实验员合作共同进行实验操做的时候。不稳定及不一致的实验操作会影响实验的一致稳定性，并影响数据的可靠性。通过培训与练习，实现操作人员具备最佳实践的移液操作技术，以及适当维护及校准移液器，均可以大大提高移液操做流程的精度。
- › 如果试剂盒说明文件规定该试剂盒可用于血清或血浆，一般建议您可以选择血清样本，因为血清更加干净易于检测。但是，也需要考虑生物标志物的生物学特性，以确定更加适合您研究的样本类型，例如检测心血管指标，血浆样本将更加适用。
- › 如果您的实验处于需要决定检测使用血清样本还是血浆样本，建议您跟据实验前期得到的数据、其他与您研究相关发表的文献或您研究的合作伙伴的类似实验中进行判断。
- › 在同一项研究中使用的样本要保持一致。
 - 依然难以能确定？您可以联系我们的技术专家寻求建议。
- › 样本冷冻/解冻要求：
 - 多次反复冻融可能会降低蛋白质的稳定性，但这也可能决定于不同因子自身性质。当样本在准备分装冻存时，每份样本分装的体积一定要跟据后期设计的实验设定好，在不确认时，尽量将准备冻存每管分装的体积按照实验所需样本体积设定。
- › 样本涡旋混匀：
 - 对于均匀的样品制备，特别是样品离心和上清液分离后，建议采用涡旋混匀法。
- › 使用组织培养基作为实验分析缓冲液的注意事项

- 如果使用细胞培养基作为检测的基质时，应确保培养基内不存在可能干扰检测或产生不准确结果的活性蛋白酶、磷酸酶或其他物质(如细胞因子、人血清、胎牛血清等)。
- › 一些用于代谢生物标志物的试剂盒，样本准备阶段需要在样品中添加蛋白酶和/或磷酸酶抑制剂。还有一部分可能需要样品提取或酸化处理。
 - 请仔细阅读每个试剂盒的说明文件
 - 请查看试剂盒中样本准备概括介绍，例如是否需要血清基质，稀释相关，可使用样本类型，以上信息请见本指南附录2

血清/血浆样本准备

- › 对于需要稀释的血清或血浆样本，可以使用试剂盒中提供的血清基质作为稀释液。
- › 溶血样本可导致蛋白分解活性被促进，蛋白酶从溶解的细胞中释放出来，导致样本中的蛋白因子被降解。
- › 样品在收集过程中微量溶血，可以在样本中加入蛋白酶抑制剂，但溶血严重的情况下可能还是会干扰检测结果。
- › 溶血样本中的血红蛋白(浓度>10mg/mL)是会干扰抗原与抗体的相互作用。

细胞/组织培养上清样本的准备

- › 细胞培养上清样本，可以在空白对照、标准曲线和质控对照品中使用新鲜培养基作为基质溶液。

如果我有其他样本类型呢？

如果您需要使用MILLIPLEX®试剂盒检测我们未验证过(每个试剂盒验证过的样本类型列表，请参考该试剂盒的说明文件)的样本类型，目前可以针对以下类型样本可以为您提供样本处理建议：组织溶解液、尿液、血液斑点、牙龈液体、鼻灌洗液、流泪、脑脊液(CSF)、支气管肺泡液体、唾液、宫颈/阴道分泌物，或者其他更多样本类型。我们也有针对小体积的样本优化过程的操做说明。

以上信息请参阅附录3或联系技术支持专家。

技术支持热线：400-620-3333

技术支持电子邮箱：Tscn@merckgroup.com

- 如果样品使用试剂盒中的分析缓冲液(Assay Buffer)进行的稀释, 您则需要使用分析缓冲液(Assay Buffer)作为基质。

外周血单个核细胞(PBMC) 样本准备

注意:PBMC样品的制备, 是实验获得可重复结果的最关键步骤。

- › 裂解缓冲液中一般会加入强去垢剂。因为裂解缓冲液中需要足够的去垢剂才能使蛋白质充分溶解。一般总蛋白浓度不要超过5-6mg/mL。在总蛋白浓度>6mg/mL的PBMC样品中, 我们观察到几个蛋白因子的检测信号发生下降 (因为裂解缓冲液不足, 造成蛋白溶解不充分)。
- › 由于裂解缓冲液中加入了强去垢剂, 所以裂解液后的样品需要使用分析缓冲液进行充分的稀释, 这样做的主要目的是稀释裂解缓冲液中的强去垢剂。但要注意裂解液总蛋白浓度不能低于2mg/mL。如果裂解液的总蛋白浓度低于2mg/mL, 则检测结果会受到具有强去垢剂的裂解缓冲液影响, 导致检测信号的下降。如果蛋白浓度不可避免地低于2mg/mL, 我们建议减少样品使用量, 从而尽量降低分析中存在的裂解缓冲液的影响。
- › MILLIPLEX®实验最优总蛋白浓度为2-6 mg/mL。使用PBMCs样本检测, 我们通过检测确定每100万个PBMC细胞使用10 μ L的裂解液裂解, 大约可以得到浓度为2mg/mL总蛋白。在10 μ L浓度为2mg/mL样本加入15 μ L的分析缓冲液可以得到较好的检测效果。良好的样本处理是实验的起点, 我们建议在每200万PBMC细胞加入10 μ L的裂解缓冲液。不要使用裂解液稀释样品, 而要使用不含有强去垢剂的分析缓冲液进行稀释。

PBMCs样本处理流程简介:

- › 如果PBMCs细胞是冷冻保存, 建议样本处理前细胞在培养基中进行24小时解冻。(不到24小时的解冻会导致检测信号的下降。)
- › 24小时解冻后, 使用适当的细胞计数器计数细胞。
- › 将PBMCs细胞在室温条件下, 用台式离心机1000xg离心5分钟。
- › 小心用移液器除去上清液, 在使用PBS清洗细胞。
- › 将PBMCs细胞在室温条件下, 用台式离心机1000xg离心5分钟。
- › 用移液器小心除去洗涤缓冲液, 平均每200万个细胞加入10 μ L裂解缓冲液(使用前加入2X蛋白酶抑制剂)。
- › 轻轻涡旋30秒, 然后将细胞裂解液转移到离心管中。
- › 在4°C条件下, 轻轻摇动细胞裂解10分钟。

- › 在4°C条件下, 以12,000xg的转速将未破碎的细胞和细胞器离心10分钟。

- › 离心后将上清液转移到新的离心管中。

- › 我们建议样本至少在第一批裂解处理后, 需要测定总蛋白浓度。如果没有, 则建议从10 μ L样品+15 μ L试验缓冲液1开始进行溶出滴定, 并在试验缓冲液1中进行1:1的连续稀释。

- › 最后需要在裂解后的样本中加入蛋白酶抑制剂(如Protease Inhibitor Cocktail I, Cat. No. 20-201; AEBSF Cat. No. 101500), 如有需要还要将磷酸酶抑制剂加入裂解缓冲液中。

裂解缓冲液(Lysis Buffers)

- › 裂解液的选择:

- MILLIPLEX®细胞信号转导试剂盒中都配有裂解缓冲液组分, 我们为您提供的是包含裂解缓冲液组分的以及其他实验必须的缓冲液试剂盒(Cell Signaling Buffer & Detection Kit, Cat. No. 48-602MAG), 或者您可以单独购买提供MILLIPLEX®裂解液组分(Cat. No. 43-040)。

- 非离子型去垢剂(NP40, Tergitol, IPEGAL)推荐用于细胞质蛋白裂解的缓冲液。

- 部分离子去垢剂(Triton®X-100)推荐用于细胞质或膜结合蛋白的裂解的缓冲液。

- 建议使用离子去垢剂(十二烷基硫酸钠, SDS)作为膜结合蛋白、核蛋白或线粒体蛋白的裂解缓冲液。如果在裂解液中含有SDS(如: 放射免疫沉淀分析法(RIPA)缓冲液), 需要将细胞裂解液稀释至SDS含量小于0.05%, 用于检测细胞内蛋白, 如细胞信号蛋白。

- 注意:要裂解核/线粒体蛋白, 必须使用SDS或其他方法(如超声)穿透坚硬的核/线粒体膜

- 需要减少某些, 如 β -巯基乙醇或二硫苏糖醇的使用。

- › 有关缓冲液与MILLIPLEX®细胞信号转导检测试剂盒兼容性的更多信息, 请联系技术支持专家。

- › 裂解缓冲液和蛋白酶/磷酸酶抑制剂的选择信息可在SigmaAldrich.com上找到。

- › 用裂解缓冲液(不是分析缓冲液或磷酸盐缓冲液(PBS))进行所有样本相关的稀释。

- › 关于细胞裂解液样品的制备和蛋白浓度MILLIPLEX®实验要求的更多信息, 请参阅本指南的“细胞信号”测定部分。

总蛋白浓度

总蛋白浓度要求:

› 总蛋白质的裂解液浓度不要超过5mg/ml。

- 当准备进行裂解的蛋白浓度高于5mg/mL时, 造成不是所有的蛋白都能被裂解缓冲液裂解。某些蛋白质可以在一定的去垢剂浓度下被溶解, 而其他蛋白质则也有可能不受影响。

- 例如, β -tubulin的信号随总蛋白浓度增加而降低。(信号减少发生在总蛋白浓度在5到6mg/mL的Jurkat细胞(白血病细胞)和外周血单核细胞(PBMC)裂解产物中)。

› 每个试剂盒所需要的总蛋白浓度应在一个特定的范围内。在下面的示例中的试剂盒操做中, 每个样本需要最终的蛋白质浓度为0.4 μ g/ μ L。

- 建议起始蛋白量为每孔至少10 μ g (最后每一个样本孔中加入25 μ L样本, 其中含有至少10 μ g蛋白)。

- 10 μ g/25 μ L = 0.4 μ g/ μ L (mg/mL)。

- 因此, 所有样品必须首先满足在裂解液中总蛋白浓度达到0.8 μ g/ μ L。

- 然后按照试剂盒说明中推荐的方法, 将处理好的细胞/组织裂解液使用细胞信号试剂盒中提供的分析缓冲液(assay buffer)进行1:1稀释。

- 例如, 将30 μ L浓度为0.8 μ g/ μ L的裂解液样品加入30 μ L的试验缓冲液中, 将总蛋白稀释到最终浓度为0.4 μ g/ μ L。

- 然后25 μ L这个稀释样品加载到每个样本孔中(建议样本都做复孔)。

去垢剂类型	适用蛋白类型	使用允许最高蛋白浓度	是否适用MILLIPLEX® 实验
非离子去垢剂	细胞质蛋白	5 mg/mL	是
部分离子去垢剂	细胞质蛋白, 膜蛋白	5 mg/mL	是
离子去垢剂	膜蛋白, 核蛋白, 线粒体蛋白	5 mg/mL	需要稀释

表2. MILLIPLEX®检测兼容的裂解液去垢剂类型和所要求的蛋白浓度。



细胞信号通路分析

多因子检测中可溶性蛋白检测与细胞信号通路检测比较

蛋白因子检测	细胞信号通路蛋白检测
绝对定量检测	相对定量检测，仅比较不同组别间选定因子的趋势变化
血清, 血浆, 组织培养, 尿液, 脑脊液, 等	组织样本/细胞 (样本需要经过裂解)
因子在相应试剂盒内均经过分析测试和验证	固定因子组合的试剂盒和可选组合的MAPmates™均进行了分析测试和验证
试剂盒内包含标准品与质控品	固定因子组合的试剂盒和可选组合的MAPmates™都包含阳性与阴性对照的细胞裂解物
大部分试剂盒中的因子可以根据您的需要进行灵活选择与组合	大多数试剂盒的因子是固定不可更改的; 如果您需要根据您的情况, “定制”一个试剂盒, 现在有三种方式: 1. 使用人类RTK (Phosphoprotein) 因子可配置试剂盒 (Cat. No. HPRTKMAG-01K) 2. 使用两因子试剂盒 (大多数两因子试剂盒可以与其他试剂盒相互组合, 在同一个样本孔中检测多种总蛋白和磷蛋白) 3. 使用MAPmate™系列单细胞信号通路因子组合进行检测

表 4. 分析特性比较

使用细胞信号MAPmate™(单因子)检测

- 所有的MAPmate™ 试剂盒都需要另外购买分析检测所需要的检测缓冲液试剂盒 (Cat. No. 48-602MAG)。
 - 本试剂盒包含除MAPmate™检测信号通路因子外的所有必要试剂。为了使用方便, 滤膜96孔板和平底96孔板都包括在内。

MAPmate™细胞信号通路因子检测“混合”

- 在一个细胞信号通路缓冲液和检测试剂盒 (Cat. No. 48-602MAG) 中最多可以将8个单独的MAPmate™细胞信号通路因子组合成一个定制多因子试剂盒。
 - 具体信息请参考MAPmate™说明文件中。
- MAPmate™单个细胞信号通路因子也可以添加到现有的其他细胞信号分析试剂盒中, 以增试剂盒可检测因子或作为内参对照。
 - 具体信息请参考试剂盒说明文件。
- 下列MAPmate™因子不可以组合一起:
 - 特定MAPmate™包含的一对的磷酸化蛋白与总蛋白因子。
 - 针对单个靶点的多于1个磷酸特异性位点的MAPmate™因子不能组合在一起。
- GAPDH和β-Tubulin MAPmates™可以作为内参对照与任意MAPmates™因子组合。

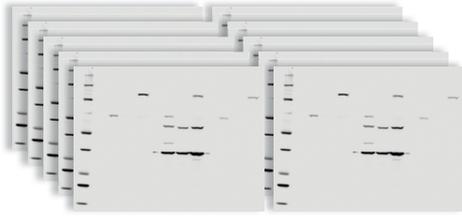
在96孔板中细胞信号转导的细胞裂解液样本制备

- 贴壁细胞系: 加入细胞约~ 40000个/孔, 可生长48小时。
- 悬浮细胞系: 加入细胞约~ 250000个/孔, 可在需要时收集。
- 细胞裂解: 每孔加入30μL的裂解缓冲液, 然后使用移液器上下完全吹打, 期间要避免产品过多的气泡。有关更详细的操做说明, 请向技术支持专家索取信息。
 - 其中未破碎的细胞/部分可通过进行过滤或离心来清除。
- 裂解缓冲液在每个细胞信号通路检测试剂盒中或者MAPmate™缓冲液试剂盒中提供 (Cat. No. 48-602MAG) 或者也可单独购买 (Cat. No. 43-040)。
- 加入蛋白酶抑制剂 (例如: Protease Inhibitor Cocktail I, Cat. No. 20-201; AEBSF, Cat. No. A8456) 以及磷酸酶抑制剂 (根据需要) 到配置的裂解缓冲液中。
- 其他裂解缓冲液选择:
 - 非离子去垢剂 (NP40, Tergitol, IPEGAL) 推荐用于溶解细胞质蛋白的裂解缓冲液。

- 部分离子去垢剂(Triton® X-100)推荐用于细胞质或膜蛋白的裂解缓冲液。
 - 建议使用离子去垢剂(十二烷基硫酸钠, SDS)作为膜结合蛋白、核蛋白或线粒体蛋白的裂解缓冲液。如果在裂解液中含有SDS(如: 放射免疫沉淀分析法(RIPA)缓冲液), 需要将细胞裂解液稀释至SDS小于0.05%, 用于检测细胞内蛋白, 如细胞信号蛋白。
- › 需要减少某些,如β-巯基乙醇或二硫苏糖醇的使用。
- › 用裂解缓冲液(不是分析缓冲液或磷酸盐缓冲液(PBS))进行所有样本有关的稀释。

注意:要裂解核/线粒体蛋白, 必须使用SDS裂解或其他方法(如超声)穿透坚硬的核/线粒体膜

默克多因子信号通路试剂盒帮助您节省时间与样本, 例如:

	MILLIPLEX® 检测	Western Blots
10 个因子 12 个样本		
96孔板或丙烯酸酯凝胶的数量		
每个板或凝胶可检测的样品数	12 (>40 样本检测, 可做复孔)	12
每个板或凝胶可以得到的总数据点	120 (>每块板可测量400个数据点)	12
实验所花费总时间	2.5 小时 + 过夜孵育 (~18 hr)	天/周
总蛋白质需要使用量(μg)	1 - 25μg总蛋白每孔 (所有10种蛋白质都是在同一份样本中检测的)	10-50 μg 每条泳道总蛋白质 (10 块胶需要100-500 μg 总蛋白)

试剂准备

注意事项:

- 所有的MILLIPLEX®产品均仅限科研使用。
- 为了获得最佳数据结果，我们针对每个试剂盒操作都进行了优化；因此，操作说明可能因不同试剂盒而略有差异。
- 在开始实验之前阅读整个操作说明是很重要的。
- 重新溶解冻干组分的时候，尤其是标准品，溶剂体积需要非常精确。因为即使是几微升的变化也会极大的影响定量结果。不要与其他批次或来源的试剂混合或替代。
- 如果剩余的试剂批次与正在操作的试剂盒一致，且试剂一直保存在适当的储存条件下，也未过保质期，则可以与现有试剂盒组合在一起使用。
- 如果血清基质、微球稀释液和试剂盒中其它的如洗液和分析缓冲液对应的货号与正在操作的试剂盒对应的组分相符，则可以使用或合并这些成分到现有试剂盒相对应组分中。

清洗缓冲液

- 使用前需要将10X清洗缓冲液回复至室温，以保证将所有的盐充分混合到溶液中。
- 使用60ml的10X清洗缓冲液与540ml的去离子水进行混合，将10X的清洗缓冲液稀释为1X。

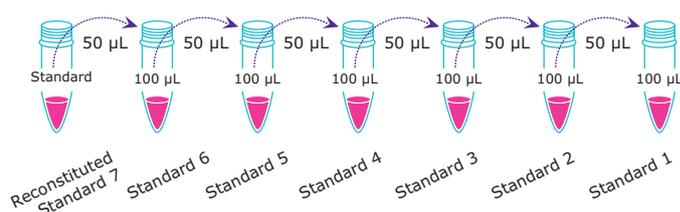
稀释后1X的稀释缓冲液可放置于2-8°进行保存，最多可以储存一个月。

如果需要更多的清洗缓冲液，请参阅操作说明文件中“提供的试剂”或“替换试剂”部分中，以获得相应清洗缓冲液的货号。

质控品

- 检测中包含质控品(QCs)用于以保证分析结果的质量。
 - 使用前，需要在QC1于QC2冻干粉中分别加入250μL去离子水进行溶解。
 - 将装有QC1/2的小瓶上下颠倒几次在进行涡旋振荡以便更好的溶解混合。
 - 将小瓶静置5-10分钟，然后将QC1/2转移到贴有适当标签或标识的EP管中。
 - 未使用完的QC1/2，可在≤-20°C温度条件下存放最多一个月。

标准品准备示例



MILLIPLEX®试剂盒包含什么? *



*Cell Signaling和MAPmate™试剂盒包含的组分将有所不同

标准品/质控品

- › 所有标准和质控品在复水/重新溶解后，必须转移到EP管中
- › 在标准曲线的准备过程中，在进行下一梯度稀释之前，要充分混合每个之前更高的浓度。
- › 每一步稀释之后都必须更换新的移液器吸头。
- › 通过连续稀释法配制的标准品必须在配制后一小时内使用。
 - 除库存标准品之外的任何已拆封不能使用的标准品都要及时丢弃。
 - 标准品可在 $\leq -20^{\circ}\text{C}$ 条件下储存1个月或 $\leq -80^{\circ}\text{C}$ 储存1个月以上。
- › 标准曲线的质量可以通过标准品的回收率和质控的值来确定。

为什么检测中要使用血清基质？

血液是一个复杂的基质，其中含有的蛋白质可能会干扰对特定因子的准确测量，因此在测量血清/血浆样本中的因子时，在标准曲线中使用优化的血清基质可以更准确地模拟天然因子的条件，从而显著提高检测的准确性。

血清基质

- › 这一步骤仅在使用血清或者血浆样本时进行。
- › 加入1.0 mL去离子水至装有血清基质冻干粉的瓶子中。
- › 充分混合溶解，至少静止10分钟的时间来达到完全溶解。
- › 剩余的重组血清基可以在 $\leq -20^{\circ}\text{C}$ 保存1个月。
- › 用于非血清/血浆样本(如尿液、脑脊液)或需要大比例稀释(至少1:20)的样本的试剂盒不需要血清基质。
- › 对于非血清/血浆样品，也应使用适当的基质(如细胞培养上清样本，使用细胞培养基作为基质)代替血清基质。
- › 在缺乏适当的基质时，可以使用分析缓冲液替代基质加入。
 - 对于细胞/组织匀浆，最终的细胞或组织匀浆裂解液应在pH值为中性、含有少量去垢剂或强变性剂、离子强度接近生理浓度的缓冲液中制备。



- › 根据操作说明使用裂解缓冲液对样品蛋白浓度进行均一化。例如，用裂解液将样品稀释至 $0.8\mu\text{g}/\mu\text{L}$ 。然后用分析缓冲液将 $0.8\mu\text{g}/\mu\text{L}$ 样品1:1稀释。然后用试剂盒缓冲液将裂解液1:1稀释，此时蛋白浓度应为 $0.4\mu\text{g}/\mu\text{L}$ 。

抗体偶联微球

- › 使用前需要将每个抗体-微球的小瓶在超声水浴中超声30秒处理;在漩涡持续1分钟。
- › 准备好每个抗体微球小瓶，在每一个小瓶中按照操作说明取相应体积的抗体微球加入试剂盒所带的微球混合瓶中，最后使用微球稀释液(有的试剂盒使用分析缓冲液)将终体积定量至3.0 mL。
- › 通过涡旋振荡将微球充分混合。
- › 偶联有抗体固的微球因为包含荧光，所以是光敏的，必须在任何时候都要注意避光操作。
 - 在所有检测操作步骤中，均要用不透明的平板盖子或铝箔盖住含有微球的检测板。
- › 所有未使用过的混合抗体偶联微球珠可在混合瓶中 $2-8^{\circ}\text{C}$ 的条件下保存一个月。

不想自己进行微球混合？

联系您的技术专家或者销售代表咨询关于您选择的试剂盒是否具有可选微球预混的试剂盒制式。每个预混的微球试剂盒都进行了背景测试，并对适当的微球编号进行了严格的评估。

免疫分析检测流程

注意事项

- 所有的MILLIPLEX® 产品均仅限科研使用。
- 为了获得最佳数据结果，我们针对每个试剂盒操做都进行了优化；因此，操作说明可能因不同试剂盒而异。
- 在开始实验之前阅读整个操做说明是很重要的。

减少实验数据变异性的技巧

- 严格确保样品收集符合检测要求。
- 为了避免微球数量损失，血清血浆样本解冻后，需要涡旋和最低10000xg转速离心所有样本5-10分钟。避免或去除任何形成的脂肪层。
- 样品解冻后或出现混浊需要离心处理。特别推荐用于血浆样本、细胞/组织裂解物或其他粘稠或含有脂质/碎片的样本。并且对于某些类型的样品，可能需要重复2至3次离心才能获得完全澄清的上清液。

- 确保样品和对照品的完全混合。
- 需要注意移液器的使用技巧：
 - 每次用同样的角度握住移液器进行移液操做。
 - 使用中间量程值校准的移液器（非高/低极值）。
- 所有试剂组分在混合前将试剂恢复至室温(20-25°C)。对于需要在冷室中孵育过夜的检测，也要在第二天将试剂恢复至室温再继续进行下一步。
- 在使用振荡器孵育振荡之前，一定要使用封板模密封住实验平板。并且需要使用不透光的盖子或者铝箔将板子密封避光。
- 振荡器的转速应该设置较大转速，以较高的速度孵育振荡，板内液体不会溅到封板模上，一般建议600-1000转即可。

你知道吗？

我们可以帮助您的实现更高通量分析需求。联系您的销售代表了解产品更多信息。

帮您定制384孔板试剂盒，更多信息请访问：

<https://www.sigmaldrich.com/milliplex-cn>

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	Standard 0	Standard 4	QC-2 Control									
B	Standard 0	Standard 4	QC-2 Control									
C	Standard 1	Standard 5	Sample 1									
D	Standard 1	Standard 5	Sample 1									
E	Standard 2	Standard 6	Sample 2									
F	Standard 2	Standard 6	Sample 2									
G	Standard 3	QC-1 Control	Etc.									
H	Standard 3	QC-1 Control										

96-孔板排板示例图. 样本排布分别显示了标准品，QCs，空白对照和38个做复孔的样本的位置。

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24
A	Standard 0	QC1																						
B	Standard 0	QC1																						
C	Standard 1	QC2																						
D	Standard 1	QC2																						
E	Standard 2	Sample 1																						
F	Standard 2	Sample 1																						
G	Standard 3	Sample 2																						
H	Standard 3	Sample 2																						
I	Standard 4	Etc.																						
J	Standard 4																							
K	Standard 5																							
L	Standard 5																							
M	Standard 6																							
N	Standard 6																							
O	Standard 7																							
P	Standard 7																							

384-孔板排板示例图. 样本排布分别显示了标准品，QCs，空白对照和182个做复孔的样本的位置。

免疫分析检测流程

› 在开始实验的前一天，需要检查Luminex® 仪器状态。

- 仪器是否经过系统校准以及校验测试？
- 是否经过维护清洗保养？
- 是否准备好新鲜去离子水，校准和校验试剂盒，精准的移液器以及多通道移液器，一个高转速96孔板平板振荡器或替代品。
- 确认有一间有电源的2-8°C冷室或冰箱可供振荡器过夜孵育使用。

› 一般情况下，检测样品需要复孔加样，每个96孔试剂盒最多可以检测38个样品。如果使用MILLIPLEX 384孔试剂盒，最多可检测182个样品。

› 实验开始前，使用150µL的清洗缓冲液或者分析缓冲液预湿检测平板。

› 如果在第一步混合样本与微球的时候，您不小心使用了清洗缓冲液而不是分析缓冲液进行实验，并且如果样品还没有加好，请将清洗缓冲液吸出，并用分析缓冲液替换。

- 如果样品被添加到清洗缓冲液中，检测结果可能会出现较低的回收率，因为清洗缓冲液不能保证所需的蛋白质浓度以及含有蛋白酶抑制剂。

› 在把所有试剂加到样本孔里之前，先把它们漩涡混匀一下。

› 当使用冷冻样品时，建议样品完全溶解后，使用涡旋振荡器高速混合样本，在使用前至少10,000xg转速离心，以去除颗粒。

› 在加入样品、标准品和质量控制品时要精确无误。

- 移液器加样时吸头需要贴住样本孔的内壁加样。
- 确保所有液体都从移液器吸头尖端排出。每次加液体时都要使用新的移液器吸头。

› 如果需要进行孵育过夜操作，在冷室中或者冰箱中必须为振荡器提供电源。

- 环形轨道振荡器应该是设计具有96孔板的固定装置，并且转速至少达到500转/分钟。
- 如果振荡器在过夜孵育时意外关闭，我们第二天可以在室温下再额外孵育1小时，然后继续之后的实验步骤。

› 在过夜孵育之后，第二天实验开始之前，请记住将所有用到的试剂恢复至室温(20-25°C)。

› 检测抗体和SAPE孵育的时间是关键步骤。不要超过规定的孵育时间，因为这将导致背景信号增高。当然，也不要低于规定的孵育时间，因为可能会发生最终检测结果的信号动态范围的降低。

› 如果检测抗体在加入SAPE之前被意外的吸掉或从样本孔重被倒掉，跟据以下步骤则可以帮助恢复检测：

- 加入20µL至50µL(按照操作说明规定的推荐加入量)检测抗体，之后按照操作说明继续实验。
- 用分析缓冲液代替检测抗体补充反应体系液体体积，再加入SAPE并继续进行实验。如果没有检测抗体可用的情况下，可以加入SAPE并继续进行实验检测，但是这样检测结果信号可能较低。

› 在最后上机读板之前，使用鞘液，驱动液（如果您的设备是MAGPIX®）重悬微球时，如果您的样本过于“粘稠”，则建议您使用1X的清洗缓冲液进行重悬。

› 在实验反应结束后，应立即(在4小时内)使用Luminex设备读板。如果不能立即读板，需要将反应板使用封板模密封，用铝箔包裹或不透明的盖子盖上，将反应板以2-8摄氏度的温度储存在振荡器上，样本保存在鞘/驱动液中，最多保存72小时。但是24小时后检测灵敏度可能会有所降低。

› 读板前，在室温下用振荡器使用1000rpm转速振荡反应板10分钟。

› 不要将反应完成的样品储存在清洗缓冲液中。

› 可以先使用反应板的一部分，然后将反应板剩余部分之后检测其他样品使用。

- 平板未使用的样本孔使用封板模密封住。
- 为了保证试剂盒后续的检测有足够的试剂，前面实验对于试剂的使用量要非常准确。
- 第一次试剂盒使用后，应尽快将剩余的试剂储存在适当的条件下(如溶解的标准品需要在-20°C或更低的温度下储存)。另外，为了保持一致性，对于需要冷冻保存条件的组分，例如标准品，质控品，需要在第一次使用之前进行分装，并将分装好的试剂冷冻保存，包括准备为当天使用的部分。
- 后续在使用剩余试剂盒做标准曲线时，需要确保使用的使用同一个批次的标准品。
- 当使用剩余试剂盒进行实验室时，之前使用过的板孔不可重复使用。
- 已经预混好的微球储存在2-8°C条件下储存一个月，已经溶解的标准品在≤-20°C条件下可以储存1个月，在-80°C储存1个月以上。
- 后续实验如果使用同一块反应板，需要保持反应板非常干净。或者，用另一个新的反应板进行剩余样品的检测（您可以向我们购买额外反应板，96孔反应板货号：MAG-PLATE；384孔反应板货号：MAG384-PLATE）。

如果我的样本很“粘稠”怎么办？

如果您的样品特别粘稠，在最终上机读板之前使用1X清洗缓冲液替代鞘液或驱动液，进行微球重悬可能会缓解这一情况。清洗缓冲液内含的清洗剂成分可以缓解可能会出现微球聚集的现象，特别注意：使用清洗缓冲液重悬微球后，需要在4小时内完成读板。

如何使用手持磁力架清洗反应板

增加检测稳定性技巧

- › 反应板振荡孵育推荐使用微孔板振荡器（如：IKA MTS 2/4 digital microtiter shaker，货号：0003208025，订购请联系相关厂家）。
 - 如果需要进行孵育过夜操作，在冷室中或者冰箱中必须为振荡器提供电源。
 - 微孔板振荡器应设置在较高的转速，以保证在较大的振荡混合速度下反应孔的液体不会向外溅出。
 - 对于我们推荐的微孔板振荡器，这是一个在5-7级的设置，大约是500-800转/每分钟。
 - 然而，微孔板振荡器性能各不相同。为了测试您使用的微孔板振荡器最佳转速，您可以进行测试校准：使用一块反应板预先加入与试剂盒反应体积相同的缓冲液，开始振荡并慢慢增加转速，直到看到液体从反应孔内发生向外飞溅，然后稍微降低速度。微孔板振荡器最佳转速应设置在孔内液体不会发生飞溅下的最高转速。

› 手持磁力洗板器 (Cat. No. 40-285)

使用注意事项：

- 当准备将液体从反应板中甩出时，为了防止微球丢失，反应板必须牢牢地附着在磁铁上。这一步操作之前一定要确定反应板与手持磁力架是牢固地锁定在一起的，手持磁力架上具有固定反应板的卡扣，正确的将反应板与扣环固定时会有咔哒声。
 - 甩出液体时握紧手持磁力架。
 - 在清洗步骤中，使用手持磁力架倒出液体后，需要使用无尘纸轻轻吸干反应板外部残余的液体。
 - 当您使用新的手持磁力架时，请检查反应板和磁铁之间是否有空隙。如需调整需要使用US Allen(六角)扳手来调整螺丝(手持磁力架内没有提供)。
- › 注意清洗不完全会对检查结果产生不利影响。
- › 实验中所有清洗步骤，必须用试剂盒内提供的清洗缓冲液进行。



Luminex® 仪器设置



FLEXMAP 3D® 系统



Luminex® 200™ 系统



MAGPIX® 系统

- 对于MAGPIX®系统，一般选择“增强启动”进行开机步骤，而不是普通启动。
 - 这将确保在进行反应板检测前，仪器会通过正确的校准和清洗。
 - 使用血清可能比其他生物体液“更粘”，一定在实验前后确保对仪器的清洗，否则可能影响仪器使用的性能。
 - Luminex® 可以提供推荐的维护方案。获取更多信息请联系 Luminex® 技术热线：400-996-2655
- 读板之前确保仪器的吸样探针是清洁的。探针清洗可以通过超声清洗以及酒精冲洗来完成。
- 探针高度：
 - 在使用Luminex® 200™ 仪器上读取检测结果之前，根据 Luminex® 推荐的操作规程，需要使用3片仪器配件中自带的圆形校准垫片加入反应板，调整探针高度以匹配试剂盒内的反应板。
- 当在FLEXMAP 3D® 系统上读取检测结果时，使用探针高度调节工具(白色的校准板)，它对384孔和96孔板分别都有对应的校准区域。
 - MILLIPLEX®试剂盒内96孔板孔对应的尺寸(3.5mm)要求使用白色探针高度校准工具板上F12对应的位置。
- 当使用MAGPIX®系统读取反应板的检测结果时，根据 Luminex® 推荐的操作规程，需要使用2片仪器配件中自带的圆形校准垫片加入反应板，调整探针高度以匹配试剂盒内的反应板。
- 所有Luminex® 系统在进行读板前程序设置的过程中，涉及到质控品的大量信息的输入，这个部分在仪器的控制软件的输入非常繁琐
 - 建议将质控品的孔设置为未知样本，而不是质控品，这样可以减少在编辑读板程时大量信息的输入，最后质控品的检测结果，我们可以直接与对应试剂盒中所带有的质控品信息卡进行数据比对。
- 仪器设置的过程中，对于微球“get”的设置要参考试剂盒说明文件中的参数要求，MILLIPLEX®一般要求设置在8000-15000，这个参数设置非常重要。

- › Luminex® 200™系统的xPONENT® 数据采集软件可以兼容两种规格的微球:一种用于磁性微球(MagPlex®), 另一种用于非磁性微球(MicroPlex®)。
 - 请按照说明文件, 设置正确的微球类型, MILLIPLEX®试剂盒目前均为磁性微球(MagPlex®)
 - 如果您在设置程序(Protocol)选择了错误的微球类型, 不用担心, 您不需要重复进行一次实验或重新进行读板, 可以在批处理选项中, 重新使用正确的程序(Protocol)将本次实验结果数据重置为正确的数据。
- › 有关xPONENT®软件的信息和所需软件模板, 请联系技术支持专家或您的销售专员。
- › 如果一个已经完成的反应板不能立即(在4小时内)读板(例如, 它需要被带到另一个地点进行检测), 需要将您的样本使用鞘液/驱动液或分析缓冲液重悬, 这个条件下不能使用清洗缓冲液重悬样本。
- › MAGPIX®系统的一桶驱动液可以完成大约10-12块反应板的读板。
- › 如果您需要改变标准曲线, 例如从一个7点的曲线到8点的曲线, 可以简单地设置一个新的程序(Protocol), 在批处理的界面中将本次实验结果数据重置。

在其他Luminex®仪器上检测MILLIPLEX®试剂盒

- › 如果您使用Luminex® 100™系统的IS 2.3或更新的软件控制Luminex® 200™、FLEXMAP 3D®或MAGPIX®仪器, 针对MILLIPLEX®进行检测。
 - 如果您想在购买仪器之前使用MILLIPLEX®试剂盒, 可以联系您的销售专家, 帮您安排默克认证的可以为您提供Luminex®仪器和MILLIPLEX®试剂盒实验技术服务的实验室。
 - **注意:** 任何Luminex®仪器如果是使用的Luminex® IS 2.3或1.7版本的软件, 将不能够进行磁珠类型试剂盒检测。
- › 由于所有的Luminex®设备(包括Luminex® 200™、FLEXMAP 3D®和MAGPIX®系统)都是由Luminex®公司制造的, 因此无论Luminex®其他业务合作伙伴给设备起什么名字, MILLIPLEX®试剂盒都可以在任何一台仪器上检测。
- › 如果您使用xPONENT®以外的控制软件(Bio-Plex® Manager™、MasterPlex®、STarStation、LiquiChip、LABScan™100)操做Luminex®设备, 请遵循对应软件供应商提供的关于Luminex®磁珠检测有关“门(gate)”的设置要求, 以及其他仪器附加的使用规范。
- › 要在Bio-Plex®仪器上检测MILLIPLEX®试剂盒, 请根据Bio-Plex® Manager™软件对磁珠“门(gate)”的范围要求设置为5000-25000。

MILLIPLEX®分析检测过程中仪器使用注意事项概述

日常正确地开启和关闭您的Luminex®系统将确保仪器的使用寿命。MAGPIX®和Luminex®200™系统的说明位于系统用户手册中。*短期清洗程序可以有效防止仪器内部样品堵塞, 而长期清洁程序对于确保鞘液或驱动液不蒸发和防止其在仪器内结晶很重要。

检测前准备

- › 检查探针并正确安装到设备中; 根据反应板设置探针高度。
- › 根据仪器提示在校准模块中加入对应液体(Milli-Q®去离子水, 70% 乙醇, 0.1M NaOH)。
- › 设备启动: 设备从休眠或关闭状态启动, 需要进行“daily start-up”, 在设备的维护选项中。
- › 设备的校准与校验: 在设备维护的选择系统初始化选项。
- › 仔细阅读试剂盒说明文件后, 在仪器软件内进行读板设置。
- › 获取“需要但未提供的材料”。
- › 确认所使用移液器的精确性。

检测

- › 完全遵循试剂盒说明文件操做。
- › 在仪器获取软件中进行实验程序设置。
- › 运行检测。
- › 运行“批处理(Post Batch Routine)”。

系统关机

- › 日常关机程序(过夜):
 - 运行“Clean Routine.”
 - 运行“Daily Shutdown Routine.”
 - 取出探针, 在超声水浴中清洗。
- › 长期关机程序(仪器超过一周不使用):
 - 运行“Clean Routine”, 需要运行多次。
 - 运行“Prepare for Storage”第一部分。
 - 使用Milli-Q®去离子水对仪器进行多次冲洗(Prime)(使用一个空鞘液桶)
 - 运行“Prepare for Storage”第二部分。
 - 取出探针, 在超声水浴中清洗。

* Luminex® 200™ 用户手册, 第三部分, 第17页. MAGPIX® 快速操做手册 4.2.

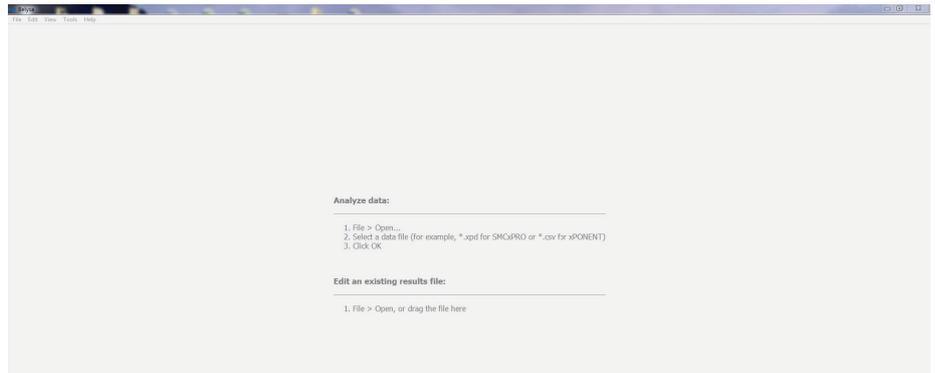
Belysa™ 免疫检测数据分析软件

默克为您提供最强大的多因子免疫检测软件包，包括强大的用于多因子数据分析的Belysa™免疫检测数据分析软件，以及Luminex® xPONENT®数据采集软件。Belysa™使您能够快速有效地管理、跟踪和分析您的多因子检测数据，使您有更多的时间专注于推进您的研究。数据采集和分析与所有Luminex®仪器无缝集成，包括FLEXMAP 3D®、Luminex® 200™和MAGPIX®系统。

第一步：

拖放您从xPONENT®数据采集软件中获得的.csv后缀的文件至Belysa™软件窗口

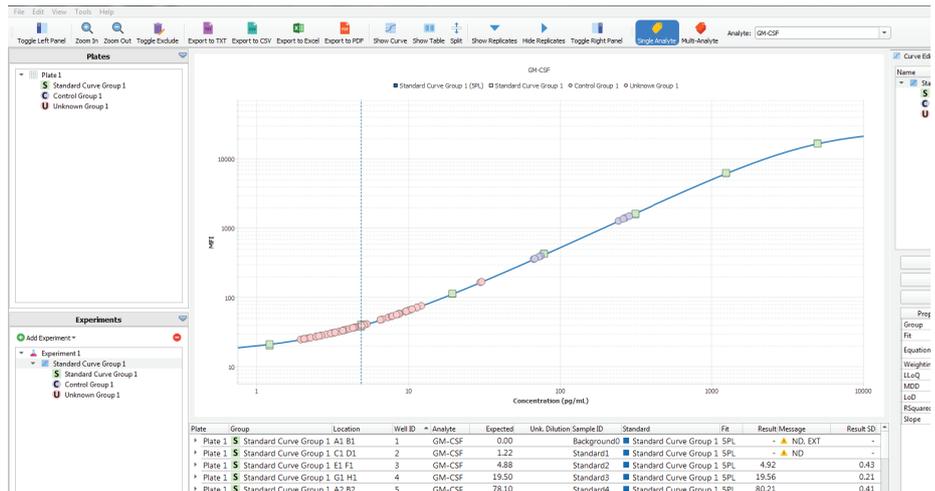
Belysa™可以兼容一系列来自Luminex®仪器、SMCxPRO™或ELISA检测设备中的数据文件。前者可以拖放到开放的Belysa™软件窗口中，而ELISAs需要将文件添加到Belysa™中现有的分析板块中。



第二步：

自动以及精确的为您优化数据的标准曲线

Belysa™将对原始数据进行分析并将其呈现给用户，针对曲线使用标准品、质控品和样本点进行注释。通过简单的向导式操作，软件将根据原始文件提供最优化的数据。另外也具有手动曲线拟合的功能。



第三步：

扫描数据以确保数据质量

Belysa™ 会在两个方面警告用户：

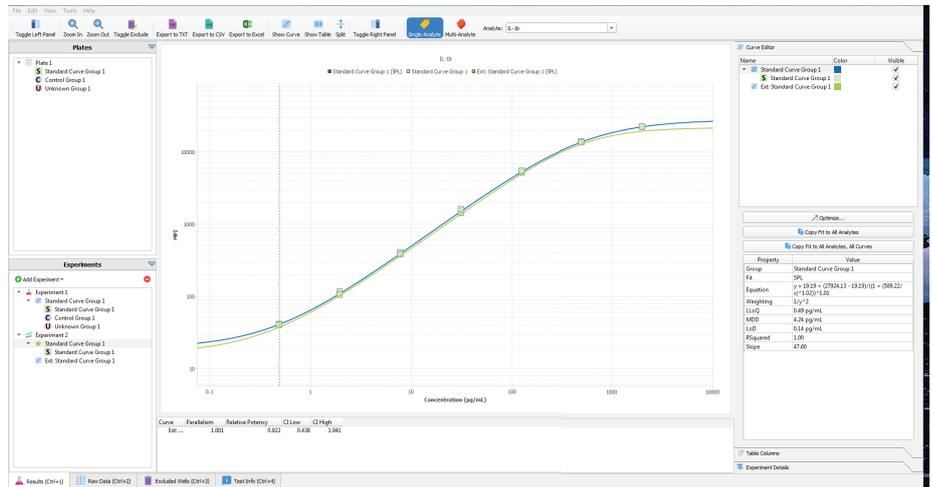
- Belysa™会对处于检测的末端(低于定量限制)或无法检测到的数据发出警报。
- Belysa™对分析中的数据相关偏差发出警报，无论是在原始数据级别(如微珠数量)，还是在计算发生偏差(如回收率或%CV)。这些都是可以由用户自行定义。这些警报可以确保软件会更清楚地标注任何超出用户定义范围而发生的偏差。

Plate	Group	Location	Well ID	Analyte	Expected	Unk. Dilution	Sample ID	Standard	Fit	Result Message	Result ID	LRI	MFI CV	LRI ID	Recovery	n	Exclude	Exclude Reason
Plate 1	Standard Curve Group 1	A1 B1	1	GM-CSF	0.00		Background0	SPL		ND, EXT	-	-	16.00	17.7%	2.83	2	-	-
Plate 1	Standard Curve Group 1	C1 D1	2	GM-CSF	1.22		Standard01	SPL		ND	-	-	20.50	3.4%	0.71	2	-	-
Plate 1	Standard Curve Group 1	E1 F1	3	GM-CSF	4.88		Standard02	SPL		0.43	0.43	8.78	39.60	5.4%	2.12	100.8%	2	-
Plate 1	Standard Curve Group 1	G1 H1	4	GM-CSF	19.50		Standard03	SPL		0.21	0.21	11.1%	112.2%	0.9%	1.06	100.3%	2	-
Plate 1	Standard Curve Group 1	A2 B2	5	GM-CSF	78.10		Standard04	SPL		0.41	0.41	0.5%	423.50	0.5%	2.12	102.7%	2	-
Plate 1	Standard Curve Group 1	C2 D2	6	GM-CSF	312.50		Standard05	SPL		4.71	4.71	1.5%	1588.7%	1.5%	24.40	97.4%	2	-
Plate 1	Standard Curve Group 1	E2 F2	7	GM-CSF	1250.00		Standard06	SPL		10.29	10.29	0.8%	6189.7%	0.7%	44.60	100.8%	2	-
Plate 1	Standard Curve Group 1	G2 H2	8	GM-CSF	5000.00		Standard07	SPL		49.48	49.48	0.7%	16530.2%	1.0%	158.7%	99.0%	2	-
Plate 1	Control Group 1	A3 B3 E12 F12	9	GM-CSF	0.00		Control 1	SPL		70.42	3.67	6.2%	372.8%	5.1%	18.8%	4	-	-
Plate 1	Control Group 1	C3 D3 E12 F12	10	GM-CSF	0.00		Control 2	SPL		263.45	1.74	6.6%	1376.3%	6.6%	90.3%	4	-	-
Plate 1	Unknown Group 1	E3 F3	11	GM-CSF	2.00	A1	SPL		1.64	1.28	7.7%	55.7%	5.7%	3.18	2	-	-	
Plate 1	Unknown Group 1	G3 H3	12	GM-CSF	2.00	A2	SPL		16.20	4.41	21.2%	54.7%	20.0%	10.9%	2	-	-	
Plate 1	Unknown Group 1	A4 B4	13	GM-CSF	2.00	A3	SPL		17.11	0.00	0.0%	57.0%	0.0%	0.00	2	-	-	
Plate 1	Unknown Group 1	E4 F4	14	GM-CSF	2.00	A4	SPL		5.35	1.16	2.8%	28.00	10.1%	2.83	2	-	-	
Plate 1	Unknown Group 1	G4 H4	15	GM-CSF	2.00	A5	SPL		8.72	0.14	1.7%	36.2%	1.0%	0.35	2	-	-	
Plate 1	Unknown Group 1	A5 B5	16	GM-CSF	2.00	A6	SPL		8.91	0.14	1.6%	36.7%	1.0%	0.35	2	-	-	
Plate 1	Unknown Group 1	C5 D5	17	GM-CSF	2.00	A7	SPL		9.23	0.86	9.3%	37.50	5.7%	2.12	2	-	-	
Plate 1	Unknown Group 1	E5 F5	18	GM-CSF	2.00	A8	SPL		4.81	0.44	9.3%	26.2%	4.0%	1.46	2	-	-	
Plate 1	Unknown Group 1	G5 H5	19	GM-CSF	2.00	A9	SPL		4.80	0.44	9.3%	26.2%	4.0%	1.46	2	-	-	
Plate 1	Unknown Group 1	A6 B6	20	GM-CSF	2.00	A10	SPL		6.78	0.87	12.8%	31.50	6.7%	2.12	2	-	-	
Plate 1	Unknown Group 1	C6 D6	21	GM-CSF	2.00	A11	SPL		13.28	0.87	12.1%	32.50	6.5%	2.12	2	-	-	
Plate 1	Unknown Group 1	E6 F6	22	GM-CSF	2.00	A12	SPL		9.23	0.86	9.3%	37.50	5.7%	2.12	2	-	-	
Plate 1	Unknown Group 1	G6 H6	23	GM-CSF	2.00	A13	SPL		4.52	0.58	12.9%	28.00	5.4%	1.41	2	-	-	
Plate 1	Unknown Group 1	A7 B7	24	GM-CSF	2.00	A14	SPL		21.32	1.98	9.3%	67.50	7.3%	4.95	2	-	-	
Plate 1	Unknown Group 1	C7 D7	25	GM-CSF	2.00	A15	SPL		60.10	0.83	14%	165.50	1.3%	2.12	2	-	-	
Plate 1	Unknown Group 1	E7 F7	26	GM-CSF	2.00	A16	SPL		20.42	0.42	2.1%	65.2%	1.6%	1.06	2	-	-	
Plate 1	Unknown Group 1	G7 H7	27	GM-CSF	2.00	A17	SPL		4.01	0.15	3.6%	24.7%	1.4%	0.35	2	-	-	
Plate 1	Unknown Group 1	A8 B8	28	GM-CSF	2.00	A18	SPL		5.86	0.73	12.4%	29.2%	6.0%	2.12	2	-	-	
Plate 1	Unknown Group 1	C8 D8	29	GM-CSF	2.00	A19	SPL		13.28	0.29	2.2%	47.50	1.5%	0.71	2	-	-	
Plate 1	Unknown Group 1	E8 F8	30	GM-CSF	2.00	A20	SPL		4.11	0.00	0.0%	25.00	0.0%	0.00	2	-	-	
Plate 1	Unknown Group 1	G8 H8	31	GM-CSF	2.00	A21	SPL		6.99	0.58	8.3%	32.00	4.4%	1.41	2	-	-	
Plate 1	Unknown Group 1	A9 B9	32	GM-CSF	2.00	A22	SPL		4.52	ND	-	22.2%	1.6%	0.35	2	-	-	
Plate 1	Unknown Group 1	C9 D9	33	GM-CSF	2.00	A23	SPL		15.10	0.57	3.8%	52.00	2.7%	1.41	2	-	-	
Plate 1	Unknown Group 1	E9 F9	34	GM-CSF	2.00	A24	SPL		4.77	0.67	16.5%	26.50	8.0%	2.12	2	-	-	
Plate 1	Unknown Group 1	G9 H9	35	GM-CSF	2.00	A25	SPL		17.01	0.43	2.5%	56.7%	1.9%	1.06	2	-	-	
Plate 1	Unknown Group 1	A10 B10	36	GM-CSF	2.00	A26	SPL		7.70	0.14	1.9%	33.7%	1.0%	0.35	2	-	-	
Plate 1	Unknown Group 1	C10 D10	37	GM-CSF	2.00	A27	SPL		9.13	0.16	2.6%	37.2%	14.2%	5.30	2	-	-	
Plate 1	Unknown Group 1	E10 F10	38	GM-CSF	2.00	A28	SPL		7.80	0.58	7.4%	34.00	4.2%	1.41	2	-	-	
Plate 1	Unknown Group 1	G10 H10	39	GM-CSF	2.00	A29	SPL		4.11	ND	-	25.2%	12.6%	3.18	2	-	-	
Plate 1	Unknown Group 1	A11 B11	40	GM-CSF	2.00	A30	SPL		5.35	0.58	10.9%	28.00	5.1%	1.41	2	-	-	
Plate 1	Unknown Group 1	C11 D11	41	GM-CSF	2.00	A31	SPL		8.62	0.20	26.7%	36.00	15.7%	5.66	2	-	-	
Plate 1	Unknown Group 1	E11 F11	42	GM-CSF	2.00	A32	SPL		4.11	ND	-	35.0%	15.0%	5.54	2	-	-	

第四步：

将标准曲线与以前的实验进行比较，以确定统计相似性

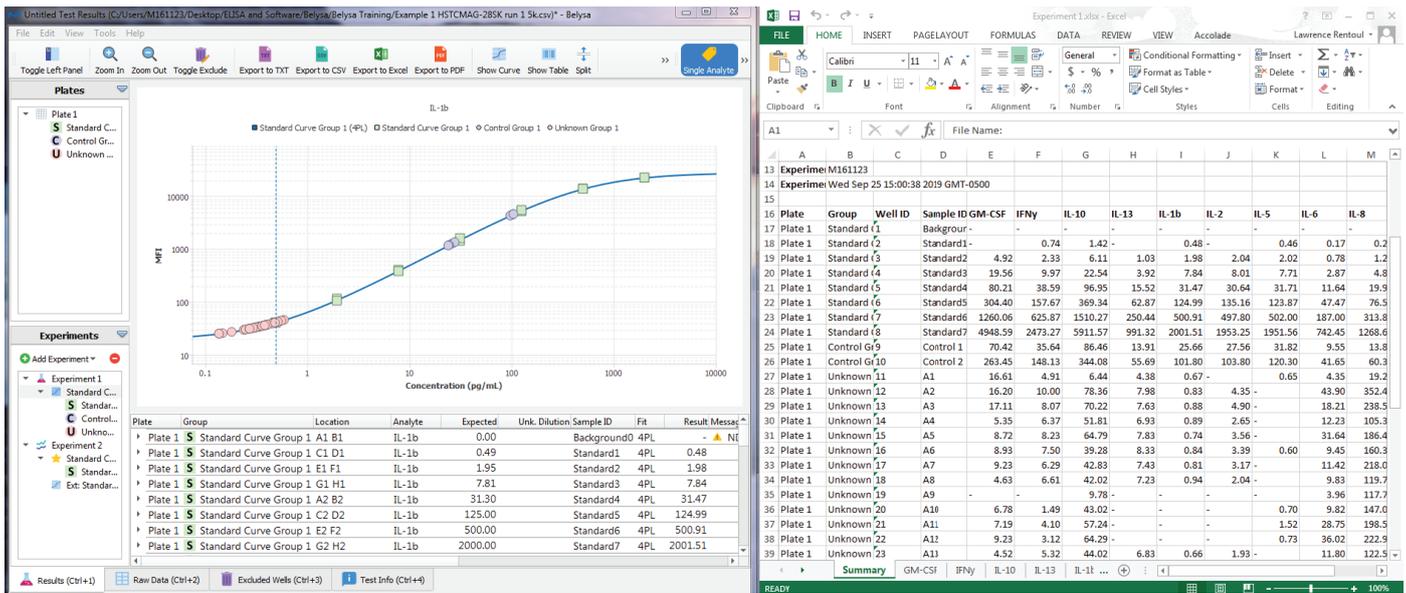
- 在不同的批次或检测之间比较标准曲线，为精确数据统计前后的一致性，无论是在不同时间实验或在通过纵向研究的过程确保不同的试剂盒表现平行性。第一条曲线被作为参考曲线，并与随后检测的标准曲线进行比较。如果计算值为1，则曲线在统计上最为一致。



第五步：

数据导出

- 跟据不同实验类型，分析软件所提供的报告格式都略有不同，即单因子分析和多因子分析。为了方便这些数据将来进行分析以及为了保存记录，软件可以导出.csv、.txt、Excel和PDF格式。



PDF export

Excel report

数据分析

微球数量

- › 我们要求实验每个因子检测50个微球。
 - 根据Luminex®仪器的要求，每个编码的微球至少需要统计到35个。
 - 因为少于35个微球会引起微球总体的MFI(中值荧光强度)值发生偏移。
 - 当然，如果每个编码的微球检测数量 ≥ 35 ，就不会影响MFI值。
 - 因此，如果一个编码的微球，检测到35个，而其他编码微球检测400个，请不要担心，这两个微球的MFI值都不受影响。

如何纠正以及防止微球数量不足

- › 首先确保在xPONENT®软件的试剂盒检测程序设置中选择MagPlex®，或在Bio-Plex®软件中使用正确的“门”的设置。
- › 样品准备:解冻，涡旋和至少在 10000 x g 转速下离心样品。避免以及去除所有样本中形成的脂肪层。
- › 对于已知检测具有挑战性的样本类型(如滑膜液、唾液)，可以在样本与预包装抗体微球孵育后增加洗涤步骤来缓解这一情况。
- › 还可以使用清洗缓冲液代替鞘液/驱动液重悬微球。然而，这种情况下反应板必须在4小时内完成检测。
- › 加入1X清洗缓冲液，因为其中含有Tween® 20，可以防止微球聚集或粘着。
- › 如微球需要保存仅可以使用鞘液或驱动液保存。
- › 在清洗步骤中，如使用手持磁力清洗板，需要倾斜液体后，然后使用无尘纸轻轻吸干反应板板表面液体。
- › 使用洗板机清洗时，请检查一下仪器设置，确保程序的设置时在洗板前有60秒浸泡的步骤，并且吸液的时候探针没有完全接触到板底。
- › 微球与样本再4°C孵育过夜之后，为了让反应板恢复到室温，再继续下面的步骤，需要再室温再振荡一个小时。
- › 对于MAGPIX®用户，仪器清洗至关重要。
 - 应特别注意需要使用增强的启动程序以及清洗程序。
 - 有一种更加深度的清洗方法，包括需要使用到氢氧化钠(NaOH)和次氯酸钠。
 - 当运行读板程序的同时也可以选择孔间清洗。
 - 仪器需要定期清洗，即使目前不会使用期间，这对可以保证仪器正常运行非常重要。

变异系数(%CV)

- › 标准品与样本出现高的CV值，可能是由于检测到的微球数量太少。
- › 对于有标准曲线的检测实验，我们检测的反应板的板内的变异系数小于15%，板间的变异系数要 $< 20\%$ 。
- › 对于没有标准曲线的检测，我们的因子板内变异系数百分比CV $< 15\%$ ，板间变异系数CV百分比 $< 20\%$ 。

定量检测下限(LLOQ)和检测上限(ULOQ)

- › 定义LLOQ和ULOQ需要一个严格的标准曲线(例如，1:2或1:3的连续稀释，使两端达到饱和)。
- › 要选择回收率在 $\pm 20\%$ 的最低和最高标准曲线点。
- › 通过以LLOQ和ULOQ为样本，对一条曲线进行5次化验，在最低标准低于LLOQ，最高标准高于ULOQ的情况下，使用分析系列稀释因子对曲线进行检验，以验证LLOQ和ULOQ。
- › LLOQ和ULOQ样品的板间精确度应在20%以内。

标准曲线的性能

- › 标准点的%CVs应该 $< 15\%$ 。
 - 这里出现的高CVs表明在做标准曲线稀释时有规范的操作。不规范操作包括：
 - 标准品稀释时，高浓度管没有充分振荡混匀。
 - 样本与标准点再加入反应板之前没有振荡混匀。
 - 向反应板加样的时候样本/标准点体积不均匀。
 - 待测因子在样本中浓度越低，相对的检测的变异系数就会越高。对于新用户，这将随着时间和操作的熟练程度的加强而不断改进。
 - 对于任何具有高CVs百分比的标准点，应该谨慎地判断该曲线范围内的样本定量的准确性。
 - 或者，可以标记/去除一个不合格的标准点或其中一个复孔，但如果标准品只做了单孔检测，则很难决定去除哪个孔。

回收率

- › 回收率一般为100%+/-30%(行业标准), 但是一些研究人员也有自己的判断标准。
- › 一般在曲线的两端, 回收率百分比通常较差, 但是随着时间的推移和操做技术的熟练, 回收率百分比也会提高。
- 对于曲线统计, 一般关注R²值, 它接近于但不等于单位。(注意R²值为0.9999时软件舍入为“1”。

最低/最高可检测浓度(minDC/maxDC)

- › 在许多检测种, 由于良好的曲线性能和拟合公式, minDC/-maxDC范围可能会超出标准点(由软件推算得出)。
- › 为了避免软件推算的数据, 可在MILLIPLEX[®]Analyst 5.1软件中设置所需的检测范围

- 决定是否使用最佳曲线选择与5P-Log选项取决于您的选择, 您可以手动确定如何适当地曲线拟合公式, 以便找到最好的一个。
- 如果样品落在测定的动态范围之外, 需要用适当的基质/培养基进一步稀释样品, 再次测定。

我们如何确认以及避免试剂盒批次间的差异

- › MILLIPLEX[®]标准品会从一个批次到另一个批次保持一致的数值, 不像其他品牌试剂盒不同批次可能具有不同批次的范围值。
- › 通过全部标准曲线点的比较和每个因子相对于参考批次的相对效力比较, 来控制 and 降低批次间的差异。
- › 我们所有批次的标准品数据都汇集在一个数据库中, 我们监控批次变化的趋势图, 并进行记录, 用于监控批次间差异。



附录 1: 物种间交叉反应性

犬/Canine

- 每个试剂盒通常检测4个血清或血浆样本。例外情况会进行标注。
- 下面的数据中因子上面的数字显示的高于背景的信号值。
- 更多信息请联系默克技术支持专家：400-620-3333。

Cytokine kits

试剂盒名称	EGF	Eotaxin	FGF-2	Fractalkine	G-CSF	GM-CSF	GRO	IFN α 2
Human Cytokine/ Chemokine Panel 1	4	2	1	1	1	1	1	1
	IL-8	IL-9	IL-10	IL-12(p40)	IL-13	IL-15	IL-17A	IP-10
	2	3	3	2	2	2	3	1
试剂盒名称	SDF-1	EOTAXIN-3	CTACK	IL-23	TPO	TSLP	IL-33	
Human Cytokine/ Chemokine Panel 2	1	1	1	2	1	1	1	
Panel Name	BRAK	CXCL16	HCC-4	IL-34	IL-35	IL-37/IL-1F7	CCL28	HMGB1/HMG1
Human Cytokine/ Chemokine Panel 4	4	4	2	3	4	4	2	4
试剂盒名称	IL-17F	GM-CSF	IL-10	MIP3 α	IL-15	IL-17A	IL-22	IL-9
Human Th17 Panel	1	4	3	1	3	1	3	3
试剂盒名称	GM-CSF	sCD137	IL-10	IL-13	Granzyme B	IL-2	IL-4	MIP-1 α
Human CD8+ Panel	1	2	1	1	1	4	1	1
试剂盒名称	GM-CSF	IFN γ	IL-10	IL-13	IL-17A	IL-1 β	IL-2	IL-4
Human High Sensitivity T Cell	2	1	3	1	2	1	1	3
试剂盒名称	Complement C2	Complement C4b	Complement C9	Adipsin / Factor D	Mannose- Binding Lectin	Complement Factor 1		
Human Complement Panel 1	4	4	2	2	1	2		
试剂盒名称	Complement C1q	Complement C3	Complement Factor b	Complement Factor H				
Human Complement Panel 2	4	3	2	1				
试剂盒名称	Eotaxin	G-CSF	GM-CSF	IFN γ	IL-1 α	M-CSF	IL-1 β	IL-2
Mouse Cytokine/ Chemokine Panel 1	4	1	4	3	2	4	4	2
	IP-10	MIP-2	KC	LIF	LIX	MCP-1	MIP-1 α	MIP-1 β
	4	2	4	2	4	4	4	1
试剂盒名称	EPO	Exodus 2	MCP-5	IFN γ	MIP-3 β	MIP-3 α	IFN β -1	TARC
Mouse Cytokine/ Chemokine Panel 2	2	4	3	3	1	4	2	4
试剂盒名称	GM-CSF	MIP-3 α	IL-1 β	IL-2	IL-4	IL-5	IL-6	IL-21
Mouse Th17 Panel	4	1	2	3	1	1	1	4
	IL-17F	IL-33	IL-31	TNFB β	TNFB α	CD40L		
	4	4	1	4	3	4		

IL-1α	IL-1β	IL-1ra	IL-2	IL-3	IL-4	IL-5	IL-6	IL-7	
3	4	2	1	1	1	2	2	2	
MCP-1	MCP-3	MDC	MIP-1α	MIP-1β	sCD40L	TGF-α	TNF-β	VEGF-A	PDGF-AB/BB
1	2	4	4	5	4	4	4	4	4

IFNβ	IL-38	IL-28B/IFN-λ3	BAFF/BLyS	IL-14/α-Taxilin	IL-36β				
4	2	4	4	4	4				

IL-1β	IL-33	IL-2	IL-4	IL-23	IL-17E	IL-27	IL-31	TNFβ	
3	1	3	3	3	1	2	1	3	

MIP-1β									
1									

IL-23	IL-7	IL-8	MIP1α	MIP1β					
3	1	3	2	1					

IL-3	IL-4	IL-5	IL-7	IL-10	IL-12(P40)	IL-13	IL-15	IL-17A	
2	1	3	3	1	1	3	2	2	

MIG	RANTES	TNFα	IL-12(P70)	VEGF	IL-9				
3	3	4	2	4	3				

IL-16	Fractalkine	MDC	TIMP-1	IL-20	IL-11	IL-17A/F			
4	3	3	4	3	3	3			

IL-22	IL-28B	IL-10	IL-23	IL-12(p70)	IL-27	IL-13	IL-15	ü	
4	3	2	1	1	0	2	4	ü	

试剂盒名称	GM-CSF	TGF α	G-CSF	IFN γ	IL-2	IL-10	IL-15	CD40L
Non-Human Primate Cytokine/Chemokine Panel 1	1	4	3	2	4	0	2	1
	TNF α	IL-12	VEGF	IL-18				
	3	1	4	2				
试剂盒名称	G-CSF	Eotaxin	GM-CSF	IL-1 α	Leptin	MIP-1 α	IL-1 β	IL-2
Rat Cytokine/Chemokine Panel	1	1	3	2	4	4	4	4
	IP-10	GRO/KC	VEGF	Fractalkine	LIX	MIP-2	TNF α	RANTES
	4	3	4	4	4	3	2	1
试剂盒名称	IL1 α	IL1 β	IL1ra	IL2	IL4	IL6	IL10	IL12
Porcine Cytokine/Chemokine Panel	1	4	4	4	4	2	4	4

Metabolism/ Endocrinology kits

试剂盒名称	Apelin	Fractalkine	BDNF	EPO	Osteonectin	LIF	IL-15	Myostatin (MSTN)/GDF8
Human Myokine	1	1	1	2	1	1	1	3

Cardiovascular Disease (CVD) kits

试剂盒名称	NT proBNP	CK-MB	CXCL6	Endocan-1	FABP4	LIGHT	Oncostatin	Troponin-I
Human CVD1	4	4	1	1	1	1	1	1
试剂盒名称	ADAMTS13	D-Dimer	GDF-15	Myoglobin	sP-Selectin	sVCAM-1	SAA	SAA
Human CVD2	4	3	4	3	4	3	1	1
试剂盒名称	α -2-Macroglobulin	AGP	Fibrinogen	sL-Selectin	Haptoglobin	Platelet Factor 4	von Willebrand Factor	
Human CVD3	4	3	1	4	4	2	4	
试剂盒名称	Follistatin	dPAPP-A	sPECAM-1	Pentraxin-3	Tissue Factor	Thrombomodulin	Troponin T	
Human CVD4	3	4	2	4	1	1	3	
试剂盒名称	proMMP-9							
Mouse CVD1	1							

Angiogenesis kits: 8 samples run

试剂盒名称	EGF	ANGPT-2	Leptin	FGF-1	IL-8	HGF	HB-EGF	VEGF-C
Human Angiogenesis/Growth Factor Panel 1	3	8	1	8	1	2	8	2

IL-17A	IL1ra	IL-13	IL-1β	IL-4	IL-5	IL-6	IL-8	MIP-1α
4	3	0	2	2	4	2	1	1

IL-6	EGF	IL-13	IL-10	IL-12(p70)	IFNγ	IL-17	IL-18	MCP-1
2	4	3	4	2	2	1	4	3

IL18
4

FABP3	Irisin	Oncostatin M	FGF21
4	2	1	4

VEGF-D	FGF-2	VEGF-A
6	2	2

猫科/Feline

- 每个试剂盒通常检测4个血清或血浆样本。例外情况会进行标注。
- 下面的数据中因子上面的数字显示的是高于背景的信号值。未检测的试剂盒因子没有列出。
- 更多信息请联系默克技术支持专家：400-620-3333

Cytokine kits

试剂盒名称	EGF	Eotaxin	FGF-2	FIt-3L	Fractalkine	G-CSF	GRO	IFNa2
Human Cytokine/ Chemokine Panel 1	1	1	1	1	2	2	2	2
	IL-3	IL-5	IL-6	IL-7	IL-8	IL-9	IL-10	IL-12(p40)
	2	1	1	1	1	1	2	1
	MCP-3	MDC	MIP-1 α	MIP-1 β	sCD40L	TGF α	TNF α	TNF β
2	2	2	1	2	2	0	2	
试剂盒名称	SDF-1	I-309	IL-23	TPO	IL-33			
Human Cytokine/ Chemokine Panel 2	3	1	3	2	3			
试剂盒名称	MPIF/CCL23	BRAK	CXCL16	IL-34	IL-24	IL-35	IL-37/IL-1F7	IL-19
Human Cytokine/ Chemokine Panel 4	4	4	2	4	4	4	4	4
试剂盒名称	GM-CSF	IL-2	MIP-1 α	Perforin				
Human CD8+ Panel	1	2	1	1				
试剂盒名称	IL-17E	GM-CSF	MIP-3 α	IL-1 β	IL-2	IL-4	IL-5	IL-21
Human Th17 Panel	3	3	1	1	1	2	2	3
	IL-27	IL-13	IL-15	IL-17A	IL-17F	IL-33		
	2	1	4	1	3	2		
试剂盒名称	Complement C2	Complement C4b						
Human Complement Panel 1	4	4						
试剂盒名称	Exodus 2	MCP-5	MIP-3 β	MIP-3 α	IFN β -1	TARC	IL-16	Fractalkine
Mouse Cytokine/ Chemokine Panel 2	4	3	1	3	2	4	4	3
试剂盒名称	GM-CSF	TGF α	G-CSF	IFN γ	IL-2	IL-15	IL-17A	IL1 α
Non-Human Primate Cytokine/Chemokine tPanel 1	1	3	3	2	3	1	2	3
	IL-8	MIP-1 α	TNF α	MIP-1 β	IL-12	VEGF-A	TNF α	
	3	1	2	0	1	3	2	
试剂盒名称	G-CSF	Eotaxin	GM-CSF	IL-1 α	Leptin	MIP-1 α	IL-4	IL-1 β
Rat Cytokine/ Chemokine	2	3	4	3	4	4	3	4
	IL-12(p70)	IFN γ	IL-5	IL-17A	IL-18	MCP-1	IP-10	GRO/KC
	3	2	2	2	3	3	4	4
试剂盒名称	GM-CSF	IFN γ	IL-2	IL-6	IL-7	IL-8	IL-15	IP-10
Canine Cytokine/ Chemokine	4	2	4	4	3	1	3	3
试剂盒名称	GM-CSF	IL1 α						
Porcine Cytokine/ Chemokine	1	1						

Cardiovascular Disease (CVD) kits

试剂盒名称	FABP3	FABP4	Troponin-I					
Human CVD1	3	1	4					
试剂盒名称	ADAMTS13	GDF-15	Myoglobin	sP-Selectin	sP-Selectin			
Human CVD2	4	4	4	1	1			
试剂盒名称	α -2-Macroglobulin	AGP	sL-Selectin	SAP	Haptoglobin	Platelet Factor 4	von Willebrand Factor	
Human CVD3	4	1	4	1	3	1	4	

Angiogenesis kits: 6 samples run

试剂盒名称	EGF	G-CSF	Endothelin-1	FGF-1	Follistatin	HB-EGF	VEGF-A
Human Angiogenesis/Growth Factor Panel 1	5	2	1	5	3	5	2

IFNγ	IL-1α	IL-1β	IL-1ra	IL-2
1	2	3	2	2
IL-13	IL-15	IL-17A	IP-10	MCP-1
2	2	1	1	1
VEGF	PDGF-AB/BB	ü		
1	3	ü		

CCL28	HMGB1/ HMG1	IFNβ	IL-38	IL-28B/ IFN-λ3	BAFF/BLyS	IL-14/α- Taxilin	IL-36β	IL-32α	IL-32α
4	4	4	4	4	4	4	4	4	4

IL-22	IL-28A	IL-10	IL-23	IL-(12p70)
4	4	3	2	4

MDC	TIMP-1	IL-20	IL-11	IL-17A/F
1	3	3	3	3

IL-13	IL-1β	IL-4	IL-5	IL-6
2	3	3	3	2

IL-2	IL-6	EGF	IL-13	IL-10
3	2	4	2	4

KC-like	IL-10	IL-18	MCP-1	TNFα
3	1	4	4	1

豚鼠/Guinea Pig

- 每个试剂盒通常检测4个血清或血浆样本。例外情况会进行标注。
- 下面的数据中因子上面的数字显示的是高于背景的信号值。
- 更多信息请联系默克技术支持专家：400-620-3333

Cytokine kits

试剂盒名称	EGF	IL-3	MDC		
Human Cytokine/Chemokine Panel 1	1	2	4		
试剂盒名称	SDF-1α+β	BCA-1	IL-16		
Human Cytokine/Chemokine Panel 2	SDF-1	BCA-1	IL-16		
试剂盒名称	GM-CSF	MIP3α	1		
Human Th17 Panel	4	3			
试剂盒名称	IL-2				
Human CD8+ Panel	1				
试剂盒名称	Eotaxin	IFNγ	IL-1β	IL-12(P40)	IL-13
Mouse Cytokine/Chemokine Panel 1	2	2	2	4	4
试剂盒名称	IL-17E	GM-CSF	IFNγ	IL-2	IL-4
Mouse Th17 Panel	4	3	4	2	1
	IL-15	IL-17A	IL-17F	IL-33	TNFBβ
	2	4	1	4	2
试剂盒名称	GM-CSF	G-CSF	IL-2	VEGF-A	
Non-Human Primate Cytokine/Chemokine Panel 1	1	4	4	2	
试剂盒名称	Eotaxin	GM-CSF	IL-1α	Leptin	IL-4
Rat Cytokine/Chemokine	1	2	2	4	3
	IL-18	MCP-1	IP-10	GRO/KC	VEGF
	1	3	2	2	2
试剂盒名称	GM-CSF	IL-15	IP-10	IL-18	
Canine Cytokine/Chemokine	4	1	4	2	
试剂盒名称	GM-CSF	IL-1β	IL-1ra	IL-2	IL-4
Porcine Cytokine/Chemokine	3	4	1	2	3

Cardiovascular Disease (CVD) kits

试剂盒名称	ADAMTS13	D-Dimer	GDF-15	Myoglobin	sP-Selectin
Human CVD2	4	3	4	3	1
试剂盒名称	AGP	Haptoglobin			
Human CVD3	2	4			
试剂盒名称	ProMMP-9	PAI-1 (total)	sP-Selectin		
Mouse CVD1	2	3	3		

Angiogenesis kits: 6 samples run

试剂盒名称	ANGPT-2	BMP-9	FGF-1	Follistatin	HB-EGF
Human Angiogenesis/Growth Factor Panel 1	5	4	1	5	5

IL-15	IL-17A	IP-10	MIP-2	LIX	RANTES	VEGF-A
1	1	4	4	4	2	4
IL-5	IL-22	IL-28B	IL-10	IL-23	IL-12(p70)	IL-13
4	4	4	1	4	4	4
CD40L						
3						

IL-1β	IL-2	IL-6	IL-13	IL-10	IL-12(p70)	IFNγ
4	2	1	2	4	1	2
LIX	MIP-2	TNFα	RANTES			
4	4	2	2			

IL-6	IL-10	IL-12	IL-18
1	1	2	2

sP-Selectin
1

仓鼠/Hamster

- 每个试剂盒通常检测4个血清或血浆样本。例外情况会进行标注。
- 下面的数据中因子上面的数字显示的是高于背景的信号值。
- 更多信息请联系默克技术支持专家：400-620-3333

Cytokine kits

试剂盒名称	EGF	FGF-2	Fractalkine	IL-1 α	IL-3	MIP-1 β
Human Cytokine/Chemokine Panel 1	2	1	3	1	4	1
试剂盒名称	SDF-1	CTACK	IL-21			
Human Cytokine/Chemokine Panel 2	4	1	1			
试剂盒名称	GM-CSF	MIP3a	IL-13	TNF-a		
Human Th17 Panel	4	1	4	4		
试剂盒名称	G-CSF	GM-CSF	IFN γ	IL-1 α	M-CSF	IL-7
Mouse Cytokine/Chemokine Panel 1	1	1	2	1	1	1
	MIG	RANTES	IL-12(p70)	VEGF-A	IL-9	
	2	3	1	4	3	
试剂盒名称	IL-17E	GM-CSF	IFN γ	IL-2	IL-4	IL-5
Mouse Th17 Panel	2	3	1	2	2	2
	IL-15	IL-17A	IL-33	TNF β	CD40L	
	2	1	2	4	1	
试剂盒名称	Leptin	IL-1 β	IL-2	IL-13	IL-10	IL-4
Rat Cytokine/Chemokine	4	4	1	1	3	2
试剂盒名称	GM-CSF	IL-1 β	IL1ra	IL12	IL18	
Porcine Cytokine/Chemokine	3	3	1	4	1	
试剂盒名称	TGF α	G-CSF	IFN γ	IL-2	IL-13	IL-5
Non-Human Primate Cytokine/Chemokine tPanel 1	1	2	3	4	2	4
试剂盒名称	IL-18					
Canine Cytokine/Chemokine	2					

Cardiovascular Disease (CVD) kits

试剂盒名称	FABP3	Troponin-I			
Human CVD1	4	4			
试剂盒名称	ADAMTS13	D-Dimer	GDF-15	MPO	sP-Selectin
Human CVD2	4	4	4	4	1
试剂盒名称	dPAPP-A	Tissue Factor	Troponin T		
Human CVD4	3	1	3		
试剂盒名称	ProMMP-9	PAI-1 (total)	sP-Selectin		
Mouse CVD1	1	1	4		

Angiogenesis kits: 6 samples run

试剂盒名称	BMP-9	FGF-1	Follistatin
Human Angiogenesis/Growth Factor Panel 1	3	3	2

PDGF-AA
1

IL-12(p40)	IL-13	IL-15	IL-17A	IP-10	LIX	MIP-1α	MIP-1β
1	4	2	1	1	1	1	2

IL-6	IL-21	IL-22	IL-28B	IL-10	IL-23	IL-27	IL-13
2	1	4	4	4	2	1	3

MCP-1	IP-10	GRO/KC	VEGF	Fractalkine	LIX	MIP-2	RANTES
1	4	4	3	2	1	3	2

IL-6	IL-8	MIP-1α	MCP-1	TNFα	IL-12	VEGF-A
2	1	1	3	1	1	3

马/Horse

- 每个试剂盒通常检测4个血清或血浆样本。例外情况会进行标注。
- 下面的数据中因子上面的数字显示的是高于背景的信号值。
- 更多信息请联系默克技术支持专家：400-620-3333

Cytokine kits

试剂盒名称	EGF	Eotaxin	Fractalkine	G-CSF	GM-CSF	GRO
Human Cytokine/Chemokine Panel 1	4	4	1	4	4	4
	IL-4	IL-5	IL-6	IL-7	IL-8	IL-9
	4	4	4	4	4	4
	IP-10	MCP-1	MCP-3	MDC	MIP-1 α	MIP-1 β
	1	1	4	3	4	1
试剂盒名称	MCP-4	SDF-1	IL-16	MIP-1 δ	6Ckine	CTACK
Human Cytokine/Chemokine Panel 2	1	2	3	2	2	3
试剂盒名称	MPIF	BRAK	CXCL16	HCC-4	MIP-4/PARC	IL-34
Human Cytokine/Chemokine Panel 4	1	4	2	1	1	3
	HMGB1/HMG1	IFN β	IL-38	IL-28B/IFN- λ 3	BAFF/BLyS	IL-14/ α -Taxilin
	3	4	4	4	4	4
试剂盒名称	IL-17F	GM-CSF	IFN γ	IL-10	MIP-3 α	IL-13
Human Th17 Panel	2	2	4	4	1	1
	IL-2	IL-21	IL-4	IL-23	IL-5	IL-6
	4	1	1	2	1	1
试剂盒名称	GM-CSF	sCD137	IFN γ	IL-10	Granzyme A	IL-13
Human CD8+ Panel	2	1	4	1	2	3
试剂盒名称	Eotaxin	G-CSF	GM-CSF	IFN γ	IL-1 α	M-CSF
Mouse Cytokine/Chemokine Panel 1	4	4	4	4	4	4
	IL-7	IL-10	IL-12(p40)	IL-13	IL-15	IL-17A
	4	4	4	4	4	4
	MIP-1 α	MIP-1 β	MIG	RANTES	TNF α	IL-12(p70)
	4	4	4	4	4	4
试剂盒名称	Exodus-2	MCP-5	IFN β -1	TARC	IL-16	Fractalkine
Mouse Cytokine/Chemokine Panel 2	1	1	2	2	2	1
试剂盒名称	GM-CSF	TGF α	G-CSF	IFN γ	IL-2	IL-15
Non-Human Primate Cytokine/Chemokine Panel 1	1	4	3	2	4	4
	IL-5	IL-6	IL-8	MIP-1 α	TNF α	MIP-1 β
	1	4	4	4	2	1
试剂盒名称	G-CSF	Eotaxin	GM-CSF	IL-1 α	Leptin	MIP-1 α
Rat Cytokine/Chemokine	1	1	1	2	2	2
	IL-10	IL-12(p70)	IFN γ	IL-5	IL-17A	IL-18
	2	2	2	1	1	2
试剂盒名称	GM-CSF	IFN γ	IL-2	IL-6	IL-7	IL-8
Canine Cytokine/Chemokine	3	4	4	4	4	2

Cardiovascular Disease (CVD) kits

试剂盒名称	CK-MB	FABP3	Troponin-I			
Human CVD1	4	1	1			
试剂盒名称	α -2-Macroglobulin	Fetuin A	AGP	Fibrinogen	sL-Selectin	SAP
Human CVD3	4	1	4	3	4	2
试剂盒名称	sE-Selectin	dPAPP-A	sPECAM-1	Pentraxin-3	Tissue Factor	Troponin T
Human CVD4	1	4	1	4	4	4

Angiogenesis kits: 6 samples run

试剂盒名称	EGF	ANGPT-2	Endothelin-1	FGF-1	Follistatin	IL-8
Human Angiogenesis/Growth Factor Panel 1	1	3	3	3	3	3

IFNa2	IFNg	IL-1a	IL-1β	IL-1ra	IL-3				
4	2	4	4	4	4				
IL-10	IL-12(p40)	IL-12(p70)	IL-13	IL-15	IL-17A				
4	4	1	4	4	1				
sCD40L	TGFa	TNFa	VEGF-A	PDGF-AB/BB					
4	4	0	1	4					
IL-23	LIF	TPO	TSLP	IL-28A	IL-33				
3	1	3	2	2	2				
IL-24	IL-35	IL-37/IL-1F7	IL-19	CCL28					
1	4	4	2	3					
IL-36β	IL-32a	YKL40/CHI3L1							
4	1	1							
IL-15	IL-17A	IL-22	IL-9	IL-18	IL-33				
2	4	1	3	4	3				
IL-17E	IL-27	IL-31	TNFa	TNFB	IL-28A				
1	2	1	1	4	1				
Granzyme B	IL-2	IL-4	IL-5	IL-6	MIP-1a	MIP-1β	TNFa	Perforin	
1	4	1	1	2	3	1	1	1	
IL-1β	IL-2	IL-3	IL-4	IL-5	IL-6				
4	4	4	4	4	4				
IP-10	MIP-2	KC	LIF	LIX	MCP-1				
4	4	4	4	4	4				
VEGF-A	IL-9								
4	4								
MDC	TIMP-1	IL-20	IL-11	IL-17A/F					
1	1	2	2	2					
CD40L	IL-17A	IL1ra	IL-13	IL-18	IL-4				
1	4	4	1	4	4				
IL-12	VEGF-A	IL-18							
1	3	4							
IL-4	IL-18	IL-2	IL-6	EGF	IL-13				
2	2	2	2	2	2				
MCP-1	IP-10	GRO/KC	VEGF	Fractalkine	LIX	MIP-2	TNFa	RANTES	
2	2	2	2	2	2	2	2	2	
IL-15	IP-10	KC-like	IL-10	IL-18	MCP-1	TNFa			
4	4	3	2	4	4	2			

Haptoglobin	Platelet Factor 4								
3	4								

HB-EGF	VEGF-D	VEGF-A							
3	2	3							

猪/Porcine

- 每个试剂盒通常检测4个血清或血浆样本。例外情况会进行标注。
- 下面的数据中因子上面的数字显示的是高于背景的信号值。
- 更多信息请联系默克技术支持专家：400-620-3333

Cytokine kits

试剂盒名称	EGF	Eotaxin	FGF-2	Fractalkine	GM-CSF	GRO	IFNa2	IFNg
Human Cytokine/ Chemokine Panel 1	1 IL-9	2 IL-10	4 IL-12(p40)	3 IL-12(p70)	3 IL-13	3 IL-15	3 IL-17A	2 MCP-3
试剂盒名称	SDF-1	IL-16	IL-23	TPO	IL-20	IL-28A	IL-33	
Human Cytokine/ Chemokine Panel 2	4	1	2	1	1	1	1	
试剂盒名称	BRAK	HCC-4	IL-34	IL-35	IL-37/IL-1F7	IL-19	CCL28	HMGB1/HMG1
Human Cytokine/ Chemokine Panel 4	3	3	3	4	4	1	4	4
试剂盒名称	IL-17F	GM-CSF	IL-10	IL-15	IL-22	IL-9	IL-18	IL-33
Human Th17 Panel	3	3	1	3	4	3	3	3
试剂盒名称	GM-CSF	sCD137	IFN γ	IL-10	Granzyme A	IL-13	Granzyme B	IL-2
Human CD8+ Panel	2	2	2	1	2	3	2	2
试剂盒名称	GM-CSF	IFN γ	IL-10	MIP3 α	IL-13	IL-17A	IL-1 β	IL-2
Human High Sensitivity T Cell	1	1	2	1	2	3	2	2
试剂盒名称	Exodus 2	MCP-5	MIP-3 α	IFN β -1	TARC	IL-16	Fractalkine	MDC
Mouse Cytokine/ Chemokine Panel 2	4	1	2	2	3	4	3	4
试剂盒名称	IL-17E	GM-CSF	IFN γ	MIP-3 α	IL-1 β	IL-2	IL-4	IL-5
Mouse Th17 Panel	2	3	2	2	2	3	2	3
试剂盒名称	IL-13	IL-15	IL-17A	IL-17F	IL-33	IL-31	TNF β	TNF α
Human Cytokine/ Chemokine Panel 1	2	4	2	4	4	2	4	2
试剂盒名称	GM-CSF	TGF α	G-CSF	IFN γ	IL-2	IL-10	IL-15	CD40L
Non-Human Primate Cytokine/Chemokine Panel 1	0	4	2	3	4	0	4	1
试剂盒名称	MCP-1	TNF α	MIP-1 β	IL-12	VEGF-A	IL-18		
Human Cytokine/ Chemokine Panel 1	1	1	2	1	2	3		
试剂盒名称	Eotaxin	GM-CSF	IL-1 α	Leptin	MIP-1 α	IL-4	IL-1 β	IL-2
Rat Cytokine/ Chemokine	2	2	2	4	4	3	3	3
Human Cytokine/ Chemokine Panel 1	GRO/KC	VEGF	Fractalkine	LIX	MIP-2	TNF α	RANTES	ü
试剂盒名称	IFN γ	IL-1 α	IL-1 β	IL-4	IL-6	IL-8	IL-10	IL-17A
Bovine Cytokine/ Chemokine	4	4	4	4	4	4	4	4
Human Cytokine/ Chemokine Panel 1	MIP-1 α	MIP-1 β	TNF α	VEGF-A				
Human Cytokine/ Chemokine Panel 1	4	4	4	4				

Metabolism/ Endocrinology kits

试剂盒名称	Apelin	Fractalkine	BDNF	EPO	Osteonectin	LIF	IL-15	Myostatin (MSTN)/GDF8
Human Myokine	2	2	1	2	1	1	3	4

Cardiovascular Disease (CVD) kits: 8 samples run

试剂盒名称	NT proBNP	CK-MB	CXCL6	Endocan-1	Oncostatin-M	Troponin-I		
Human CVD1	1	8	2	2	2	5		
试剂盒名称	ADAMTS13	D-Dimer	GDF-15	Myoglobin	sP-Selectin	Lipocalin-2	SAA	SAA
Human CVD2	8	3	8	7	8	1	1	1
试剂盒名称	α -2-Macroglobulin	CRP	Fetuin A	AGP	Fibrinogen	sL-Selectin	Haptoglobin	Platelet Factor 4
Human CVD3	4	1	1	4	2	4	4	1
试剂盒名称	Tissue Factor	Troponin T						
Human CVD4	5	7						
试剂盒名称	sP-Selectin							
Mouse CVD1	1							

Angiogenesis kits: 6 samples run

试剂盒名称	EGF	ANGPT-2	Endothelin-1	FGF-1	IL-8	HB-EGF	PLGF	VEGF-C
Human Angiogenesis/ Growth Factor Panel 1	1	5	5	5	1	5	1	1

IL-1α	IL-1β	IL-1ra	IL-4	IL-5	IL-6	IL-7	IL-8		
3	4	4	3	2	2	3	3		
MDC	MIP-1α	MIP-1β	sCD40L	TGFα	TNFβ	VEGF-A	RANTES	PDGF-AB/BB	
3	4	3	4	4	4	1	1	4	

IFNβ	IL-38	IL-28B/IFN-λ3	BAFF/BLyS	IL-14/α-Taxilin	IL-36β				
4	4	4	4	4	1				

IL-2	IL-4	IL-23	IL-17E	IL-27	IL-31	TNFβ	IL-28A		
4	1	3	2	3	3	2	1		

IL-4	IL-5	IL-6	sFasL	MIP-1α	MIP-1β	TNFα	Perforin		
2	2	2	2	2	2	2	2		

IL-4	IL-23	IL-5	IL-6	IL-8	MIP1α	MIP1β			
2	3	1	1	4	1	1			

TIMP-1	IL-20	IL-11	IL-17A/F						
2	1	3	3						

IL-6	IL-21	IL-22	IL-28B	IL-10	IL-23	IL-12(p70)	IL-27		
2	4	4	3	3	3	3	2		

CD40L									
4									

IL-17A	IL-1ra	IL-13	IL-18	IL-4	IL-5	IL-6	IL-8		
4	4	0	4	3	2	3	4		

IL-6	EGF	IL-13	IL-10	IL-12(p70)	IL-18	MCP-1	IP-10	ü	
1	2	2	3	3	3	2	4	ü	

IL-36RA	IP-10	MCP-1							
4	4	4							

FABP3	Irisin	FSTL1	Oncostatin M	IL-6	FGF-21	Osteocrin/Musclin			
4	3	3	3	3	3	1			

VEGF-D	FGF-2	VEGF-A							
4	5	1							

兔子/Rabbit

- 每个试剂盒通常检测4个血清或血浆样本。例外情况会进行标注。
- 下面的数据中因子上面的数字显示的是高于背景的信号值。
- 更多信息请联系默克技术支持专家：400-620-3333

Cytokine kits

试剂盒名称	EGF	Eotaxin	FGF-2	G-CSF	GRO	IFNg	IL-1 α	IL-1 β	IL-1ra	IL-3
Human Cytokine/ Chemokine Panel 1	4	4	4	2	4	4	3	4	2	1
	IL-17A	IP-10	MCP-1	MCP-3	MDC	MIP-1 α	MIP-1 β	sCD40L	TGF- α	TNF- β
	3	1	1	2	4	4	2	4	4	4
试剂盒名称	MCP-2	MCP-4	ENA-78	SDF-1 α + β	I-309	TARC	6Ckine	EOTAXIN-3	CTACK	IL-23
Human Cytokine/ Chemokine Panel 2	0	0	0	3	2	1	3	3	1	3
试剂盒名称	MPIF-1	BRAK	CXCL16	HCC-4	IL-34	IL-35	IL-37/ IL-1F7	IL-19	CCL28	HMGB1/ HMG1
Human Cytokine/ Chemokine Panel 4	4	4	4	0	4	4	4	4	4	4
试剂盒名称	GM-CSF	IL-17A								
Human Th17 Panel	4	4								
试剂盒名称	GM-CSF	sCD137	IFN γ	IL-10	IL-6					
Human CD8+ Panel	2	4	4	2	4					
试剂盒名称	IFN γ	IL-1 α	M-CSF	IL-1 β	IL-2	IL-3	IL-4	IL-5	IL-12(p40)	IL-15
Mouse Cytokine/ Chemokine Panel 1	1	2	2	1	1	1	1	1	4	1
	MCP-5	MIP-3 α	IFN β -1	IL-16	Fractalkine	TIMP-1	IL-20	IL-11	IL-17A/F	
Mouse Cytokine/ Chemokine Panel 2	1	1	4	4	4	4	4	4	4	
试剂盒名称	IL-17E	GM-CSF	IFN γ	MIP-3 α	IL-2	IL-4	IL-5	IL-6	IL-22	IL-28B
Mouse Th17 Panel	2	4	3	1	3	1	1	4	4	4
试剂盒名称	GM-CSF	TGF α	G-CSF	IL-2	IL-17	IL-13	IL-5	IL-8	MIP-1 α	VEGF
Non-Human Primate Cytokine/ Chemokine	0	4	2	4	4	1	1	4	3	4
试剂盒名称	G-CSF	GM-CSF	IL-1 α	Leptin	MIP-1 α	IL-4	IL-1 β	IL-2	IL-6	EGF
Rat Cytokine/ Chemokine	1	3	3	4	3	3	3	3	2	2
试剂盒名称	IFN γ	IL-18	TNF α							
Canine Cytokine/ Chemokine	4	3	1							
试剂盒名称	IL-4	IL-18								
Porcine Cytokine/ Chemokine	4	1								

Metabolism/ Endocrinology kits

试剂盒名称	Apelin	BDNF	EPO	Osteonectin	LIF	Myostatin (MSTN)/GDF8	FABP3	FSTL-1
Human Myokine	4	4	1	1	4	1	4	4

IL-4	IL-5	IL-6	IL-7	IL-8	IL-9	IL-10	IL-12(p40)	IL-12(p70)	IL-13	IL-15
1	2	2	2	2	3	3	2	0	2	2

VEGF-A	PDGF-AA
3	4

LIF	TSLP	IL-33
3	3	3

IFN β	IL-38	IL-28B/ IFN- λ 3	BAFF/ BLyS	IL-14/ α - Taxilin	IL- 36 β	IL-36 α
0	4	4	4	4	4	4

IL-17	IP-10	MIP-2	LIF	LIX	MIP- 1 α	MIP-1 β	RANTES	TNF α	VEGF	IL-9
1	2	3	1	3	1	2	4	1	4	2

IL-10	IL-23	IL-12(p70)	IL-27	IL-13	IL-15	IL-17A	IL-17F	IL-33	IL-31	TNF β	CD40L
3	2	2	3	1	1	3	1	2	3	2	4

IL-13	IL-10	IL-12(p70)	IFN γ	IL-17	IL-18	MCP-1	IP-10	GRO/KC	VEGF	Fractalkine	LIX	MIP-2	RANTES
3	4	2	2	1	4	2	4	4	3	3	3	4	1

绵羊/Sheep

- 每个试剂盒通常检测4个血清或血浆样本。例外情况会进行标注。
- 下面的数据中因子上面的数字显示的是高于背景的信号值。
- 更多信息请联系默克技术支持专家：400-620-3333

Cytokine kits

试剂盒名称	IFN γ	IL-1 α	IL-1 β	IL-4	IL-6	IL-8	IL-10	IL-17A	IL-36RA	IP-10	MCP-1
Bovine Cytokine/ Chemokine	4	4	3	4	4	4	4	4	4	4	4
	MIP-1 α	MIP-1 β	TNF α	VEGF-A							
	4	4	4	4							

山羊/Goat

- 每个试剂盒通常检测4个血清或血浆样本。例外情况会进行标注。
- 下面的数据中因子上面的数字显示的是高于背景的信号值。
- 更多信息请联系默克技术支持专家：400-620-3333

Cytokine kits

试剂盒名称	IFN γ	IL-1 α	IL-1 β	IL-4	IL-6	IL-8	IL-10	IL-17A	IL-36RA	IP-10	MCP-1
Bovine Cytokine/ Chemokine	4	4	2	2	4	4	4	4	4	4	4
	MIP-1 α	MIP-1 β	TNF α	VEGF-A							
	4	1	4	4							

附录 2: 样本准备

MILLIPLEX® 试剂盒需要的特殊样品的制备

试剂盒名称	货号	样本类型	Sample Trt Inhibitors	抑制剂来源
Canine Gut Hormone Magnetic Bead Panel	CGTMAG-98K	SER / PLA / CCS	DPP-IV, Aprotinin, AEBSF, Protease Cocktail	See Notes 1, 2, 3, 4
Human IGF Magnetic Bead Panel	HIGFMAG-52K	SER / PLA / CCS	Extraction	NONE
Human IGF Binding Protein Magnetic Bead Panel	HIGFBMAG-53K	SER / PLA / CCS	Protease Inhibitor Cocktail	See Note 4
Human Metabolic Hormone Magnetic Bead Panel	HMHEMAG-34K	SER / PLA / CCS	DPP-IV, Aprotinin, AEBSF, Protease Cocktail	See Notes 1, 2, 3, 4
Human Neuropeptide Magnetic Bead Panel	HNP MAG-35K	SER / PLA / CCS	Extraction	NONE
Mouse Metabolic Hormone Magnetic Bead Panel	MMHMAG-44K	SER / PLA / CCS	DPP-IV, Aprotinin, AEBSF, Protease Cocktail	See Notes 1, 2, 3, 4
Non-Human Primate Metabolic Magnetic Bead Panel	NHPMHMAG-45K	SER / PLA / CCS	DPP-IV, Aprotinin, AEBSF, Protease Cocktail	See Notes 1, 2, 3, 4
Multi-Species Hormone Magnetic Bead Panel	MSHMAG-21K	SER / PLA / CCS	Extraction	NONE
Rat Metabolic Hormone Magnetic Bead Panel	RMHMAG-84K	SER / PLA / CCS	DPP-IV, Aprotinin, AEBSF, Protease Cocktail	See Notes 1, 2, 3, 4
Rat/Mouse Neuropeptide Magnetic Bead Panel	RMNPMAG-83K	SER / PLA / CCS / CSF	Extraction	NONE
Human Skin Magnetic Bead Panel	SKINMAG-50K	SER / PLA / CCS	Tested for skin lysates	NONE
Multi-Species TGFβ1 Singleplex Magnetic Bead Panel	TGFBMAG-64K-03	SER / PLA / CCS	Acidification	NONE
Multi-Species TGFβ1, -2, -3 Panel Magnetic Bead Panel	TGFBMAG-64K-03	SER / PLA / CCS	Acidification	NONE

注意:

1. DPP-IV (货号: No. DPP4-010) 在每毫升血液使用10 μL。
2. Pefabloc or AEBSF (货号: 101500) 在血液样本中使用量为1 mg/mL。
3. 蛋白酶抑制剂 I (货号: No. 20-201)。
4. 蛋白酶抑制剂 (Sigma-Aldrich 货号: P2714)。
5. 磷酸化蛋白和总蛋白不能同时同一实验中检测。

附录 3: 其他样本类型

说明文件中其他样本类型

样本类型	物种/试剂盒检测领域	处理	参考文献
Adipose Tissue Homogenates	Human	Approximately 4 g of adipose tissue from each subject was homogenized in 16 mL of ice-cold deoxygenated homogenization buffer containing 10% glycerol, 150 mM NaCl, 2 mM EDTA, 1 mM PMSF, 25 mM benzamidine, 10 μ M leupeptin, 2.5 μ mol/L pepstatin A, and 50 U/mL aprotinin in 10 mM Tris-HCl (pH 7.0), with four up/down strokes at Setting No. 3 using a Polytron (Brinkmann Instruments, Inc., Westbury NY). The crude homogenate was centrifuged at 3,000 x g for 15 minutes, and the fat cake was discarded. The infranate was made up to 1% (vol/vol). Triton® X-100 was used to solubilize PTPase enzymes from the particulate compartment into the tissue homogenate. The supernatant resulting from centrifugation at 15,000 x g for 20 minutes at 4 °C was stored in aliquots at -80°C.	J Clin Endocrinol Metab. 2001 Dec;86(12):5973-80. PMID:11739472
Adipose Tissue Extract	Human/ Apolipoprotein Panel	Adipose biopsies (50–75 mg) were homogenized on ice in 1 mL of the kit assay buffer. (10 mmol/L PBS, 0.08% (wt./vol.) sodium azide, 1% (wt./vol.) BSA, pH 7.4). The homogenate was further diluted 25-fold in assay buffer to minimize assay interferences. 10 μ L of dilute homogenate was incubated in a 96-well plate with 25 μ L of capture antibody-conjugated beads and 65 μ L assay buffer for 1 hour ambient. Beads were washed (10 mmol/L PBS, 0.05% (vol./vol.) Proclin, 0.05% (vol./vol.) Tween-20, pH 7.4) and 50 μ L biotinylated detection antibody cocktail added for 30 minutes ambient, followed by further washing and incubation with 50 μ L streptavidin-phycoerythrin for 30 minutes at ambient temperature. After final washing, beads were resuspended in 150 μ L Luminex® sheath fluid for analysis.	Diabetologia. 2008 Nov;51(11):2041-8. doi: 10.1007/s00125-008-1126-5. Epub 2008 Aug 19 PMID:18712345
Adipose Tissue Extract	Human/CVD Panel	Approximately 100-200 mg adipose tissue (SAT and VAT) from each subject was homogenized in 250 μ L of ice-cold homogenization buffer. The homogenate was centrifuged at 3,000 x g for 15 minutes at 4 °C, the fat cake was discarded and the homogenate was centrifuged again at 14,000 x g for 20 minutes at 4 °C. The supernatant was stored in aliquots at -70 °C.	Physiol Res. 2010;59(1):79-88. Epub 2009 Feb 27. PMID:19249917
Aorta Tissue Extract	Guinea Pig/ Human Cytokine/ Chemokine Panel 1	The vessel was dissected and all the surrounding tissues removed. The vessel was mixed and homogenized in a rotor-stator with 1 mL of lysis buffer (0.1 g of bovine serum albumin, 5 μ L of Triton® X-100, 100 mg of gentamycin sulfate, 100 μ L of HEPES buffer-1M, 23 μ L of aprotinin, 18.391 mg of sodium orthovanadate and PBS to complete 1 mL). After this, 2 mL of the lysis buffer was added to the content and was homogenized in a Potter-Elvehjem tissue grinder. This was centrifuged at 400 x g for 10 minutes at 4 °C. The supernatant was analyzed.	BMC Cardiovasc Disord. 2009 Feb 17;9:7. doi: 10.1186/1471-2261-9-7. PMID:1922285
Brain Tissue Extract	Rat/Rat Cytokine	Plasma and brain tissue from injured (hyperintense tissue on DW-MRI during occlusion) and anatomically matching tissue from the contralateral hemisphere were collected from control and minocycline- or PBS-treated rat pups following 24 hours of reperfusion. The flash-frozen brain tissue was homogenized in a buffer containing 20 mmol/L Tris-HCl (pH 7.5), 150 mmol/L NaCl, 1 mmol/L PMSF, 0.05% Tween® 20, and a cocktail of protease inhibitors (Roche), and protein concentration was measured in each sample.	J Cereb Blood Flow Metab. 2005 Sep;25(9):1138-49 PMID: 15874975
Bronchoalveolar Lavage (BAL) Samples		For lavage samples, use 50 μ L sample + 25 μ L beads in sample wells. Set up standards using one additional lower point and dropping the highest concentration standard point. Use a buffer matrix or medium used to collect the lavage sample as the matrix, i.e., 25 μ L standard/control/blank + 25 μ L assay buffer /medium + 25 μ L beads. The first incubation with standard/sample should be overnight, 4 °C. Final results should be divided by 2.	
Dried Blood Spot Samples		Two 3.2-mm (1/8-inch) diameter disks were punched from dried blood-spot calibrators or controls and eluted in 100 μ L of 0.075 mol/L sodium barbital buffer (pH 8.6) containing 0.5 g/L anilinothalenesulfonic acid and 0.5 g/L sodium azide by sonication at room temperature for 30 minutes. The volume of blood per 3.2-mm disk was 3 μ L. The eluate was filtered in a 0.45 μ m centrifugal filter unit.	Clin Chem. 2000 Sep;46(9):1422-4. PMID: 10973880
Dried Blood Spot Samples		Whole blood samples were "spotted" onto Whatman 3 mm filter paper, air-dried, and stored at 4 °C prior to extraction and testing. Areas equivalent to a 25- μ L drop were punched from the filter paper and eluted in 25 μ L of 0.01 M phosphate buffer, pH 7.4 prior to analysis. The protein content of each eluate was measured spectrophotometrically at 260/280 nm and the samples normalized to a standard protein content of 1 μ g/mL.	J Chromatogr B Biomed Sci Appl. 1998 Sep 11;715(1):55-63. PMID: 9792497

样本类型	物种/试剂盒检测领域	处理	参考文献
Cervical Secretions, Vaginal Secretions, and Saliva Secretions		Saliva, cervical and vaginal secretions were collected using ophthalmic sponges (Wek-Cel, Xomed Treace, Orlando, FL) after exposure of the cervical os with the speculum. The secretions were collected by placing the ophthalmic sponge directly into the cervical os and allowing it to absorb secretions for approximately 1 minute. Vaginal secretions were collected by placing the ophthalmic sponge against the vaginal wall and allowing the sponge to collect secretions. In a similar fashion, saliva was collected by placing the ophthalmic sponge over the parotid duct and allowing the sponge to absorb saliva. All sponges were immediately placed on ice and then frozen at -20 °C. The secretions were extracted from the sponges just prior to analysis. Each individual sponge was weighed to determine the volume of secretions absorbed into the sponges. The sponges were then equilibrated in 300 µL phosphate-buffered saline (PBS) + 0.25 M NaCl with 10% fetal calf serum for 30 minutes at 4 °C. The secretions were separated using a spin-x centrifuge filter unit (Costar, Cambridge, MA), centrifuged at 12,000 x g rpm for 20 minutes. A dilution factor for the final extract was determined based on the following formula: dilution factor = [(x-0.0625 mL) + 0.3 mL buffer]/(x-0.0625 mL), where x equals the volume of material collected and 0.06 equals the weight of the dry spear (mg=mL). (Note: The weight of the dry sponge is dependent on the lot number. Each lot must be weighed.) This dilution factor was used to calculate the final units of specific antibody and total immunoglobulin measured.	J Clin Immunol. 1997 Sep;17(5):370-9. PMID: 9327336
Colorectal Tissue Extracts	Human/Human Cytokine Panel 1	Normal and cancer tissue specimen weights were determined before protein extraction with Tissue Protein Extraction Reagent (T-PER; Pierce, Rockford, USA) as recommended by the manufacturer. Briefly, 20 mL of P-TER was added to 1 g of tissue and homogenized. Samples were centrifuged at 10,000 x g for 5 minutes and the supernatant (protein extract) was stored at -80 °C until cytokine/chemokine profiling.	Gut. 2009 Apr;58(4):520-9. doi: 10.1136/gut.2008.158824. Epub 2008 Nov 20. PMID: 19022917
Ear Lysates	Mouse/Mouse Cytokine Panel 1	Skin ear biopsies were pooled from four test animals. Biopsies were minced and then repeatedly homogenized with beads in phosphate buffered saline (PBS) plus Complete Protease Inhibitor Cocktail (Roche Applied Science, Indianapolis, IN) at 4 °C. Supernatant was collected and analyzed for the presence of cytokines.	J Invest Dermatol. 2010 Apr;130(4):1023-33. doi: 10.1038/jid.2009.358. Epub 2009 Nov 12. PMID: 19907432
Ear Lysates	Mouse/Mouse Cytokine Panel 1	Ear tissue from mice treated with vehicle or R348 (120 mg/kg) were harvested after 6 weeks of treatment and snap-frozen in liquid nitrogen. Ears were homogenized under liquid nitrogen with radioimmunoprecipitation assay buffer supplemented with protease and phosphatase inhibitors, centrifuged at 13,000 rpm, and the supernatant was collected to generate ear lysates. Ear lysates were normalized for equal protein concentration.	J Immunol. 2009; 183(3):2183-92. PMID: 19596999
Infectious Samples		For infectious samples: If washing with an automatic plate washer, add 30% bleach to the waste bottle before washing/aspirating the plate. If washing with a handheld magnetic bead separator, add 30% bleach to a container capable of catching the wash solution decanted from the plate. Then at the end of the assay, resuspend the beads in 0.1ml of 4% formaldehyde made in 10mM PBS (prepared fresh daily) instead of sheath fluid, before running the plate in the Luminex® machine. Prolonged incubation in this solution may cause bead aggregation. Consequently, after agitating the plate for 5 minutes on an orbital plate shaker, read the plate immediately.	
Jejunal Extracts	Human/Human Cytokines	Jejunal biopsy specimens were fixed with formalin or embedded in optimal-cutting-temperature (OCT) compound and snap frozen in liquid nitrogen. Protein extracts were prepared from jejunal biopsies embedded in OCT compound by washing them twice with a phosphate-buffered saline lysis buffer containing 0.05% sodium azide, 0.5% Triton® X-100, 1 mM phenylmethylsulfonyl fluoride, and protease inhibitors (Complete Mini protease inhibitor cocktail; Roche Diagnostics, Indianapolis, IN). After OCT compound removal, the tissues were minced in 1 mL of lysis buffer with a sterile disposable homogenizer on ice for 5 minutes. The homogenates from the tissues were then sonicated for 1 minute on ice. After centrifugation at 10,000 x g for 15 minutes, the supernatant was collected and stored at -80 °C or immediately assayed to determine the protein concentration with a bicinchoninic acid protein assay kit (Pierce, Rockford, IL).	Infect Immun. 2007 Jan;75(1):481-7. Epub 2006 Oct 16. PMID: 17043107
Lipemic Samples		For lipemic and plasma samples, the blood needs to be collected on ice, centrifuged in a refrigerated centrifuge, aliquoted and frozen at -20 °C for short term (<2 months) and -70 °C for long term. Prior to assay setup, thaw samples and centrifuge at 10,000 rpm for 5 minutes. Spool off the lipid layer from the surface using a cotton swab and use the supernatant below lipid layer for the assay.	

样本类型	物种/试剂盒检测领域	处理	参考文献
Lymph Node Homogenates	Mouse/Mouse Cytokines	Footpad popliteal lymph nodes from mouse subjects were harvested, combined and placed in 200 μ L of PBS containing 1 \times protease inhibitors (Roche). The lymph nodes were mechanically homogenized with a pestle, followed by centrifugation at 4 $^{\circ}$ C. Supernatant was transferred to another tube and frozen on dry ice.	Vaccine. 2010 Apr 19;28(18):3238-46. PMID: 20184975
Saliva	Human	Add protease inhibitor cocktail at 1:500 to saliva. Centrifuge at 10,000 rpm 10 minutes and dilute supernatant 1:2 with assay buffer prior to assay setup. This method significantly improves recovery and reduces bead aggregation. Run assay with assay buffer as matrix in standard curve. Use an overnight option if available.	
Skin Extracts	Human/Human Cytokine Panel 1	D-Squame [®] tape strip samples of human scalp skin were extracted with PBS containing 0.2% SDS and 0.5% propylene glycol (PG) for 30 minutes with sonication on ice. The extracts were then centrifuged for 5 minutes at 2,100 \times g to remove skin solids that might interfere in the assay. Subsequently, the extracts of D-Squame [®] tape samples were transferred into 96-well polypropylene deep-well plates and frozen at -80 $^{\circ}$ C.	Int J Dermatol. 2011 Jan;50(1):102-13. doi: 10.1111/j.1365-4632.2010.04629.x. PMID: 21182510
Tears	Human/Human Cytokines	Polyurethane minisponges were obtained commercially (PeleTim; VOCC GmbH, Cuxhaven, Germany). A single polyurethane minisponge was laid on the outer third of the lower eyelid margin. After 5 minutes of tear collection, the sponge was recovered and placed in the narrow end of a truncated Gilson micropipette tip adapted to a 1.5 mL tube (Eppendorf, Fremont, CA) and centrifuged at 6,000 rpm for 5 minutes. Tear samples from both eyes were pooled and immediately stored at -80 $^{\circ}$ C until they were used for the immunoassay.	Invest Ophthalmol Vis Sci. 2012 Aug 13;53(9):5443-50. PMID: 22789923
Tears	Human/Human Cytokines	Tear collection was performed before any other test and with a minimum of 10 minutes after the patient answered the two symptom questionnaires. Unstimulated tear samples were collected non-traumatically from the external canthus of open eyes, avoiding additional tear reflex as much as possible. Glass capillary micropipettes (Drummond, Broomall, PA) were used to collect 1 μ L of tears. Each sample was then diluted 1:10 in a sterile collection tube containing ice-cold Cytokine Assay Buffer. Tubes with tear samples were kept cold (4 $^{\circ}$ C) during collection, and stored at -80 $^{\circ}$ C until assayed.	Mol Vis. 2010 May 19;16:862-73. PMID: 20508732
Cell or Tissue Extraction		<p>Protocol varies depending on tissue types and/or analytes of interest. Generally, most protocols that are used in ELISAs can be used, but here are some guidelines in selecting a method.</p> <ol style="list-style-type: none"> 1) Homogenize cells or tissues mechanically (eg. ultrasonication) in a PBS-based buffer containing protease inhibitors (like aprotinin or an inhibitor cocktail) and low (< 0.2%) non-ionic detergent concentration. 2) Extraction medium should not contain any organic solvents like DMSO, etc. 3) Centrifuge the extract and freeze supernatant at <-20 $^{\circ}$C. 4) Use the extraction medium as matrix in blank, standard curve and QCs. 	
Tumor Homogenates	Mouse/Mouse Cytokines	Tumors were treated with DMXAA. After harvesting at 6, 24, and 48 hours, the tumors were sonicated for 30 seconds in 1 mL of complete buffer (50 mL PBS containing one tablet of antiprotease cocktail, Roche, Indianapolis, IN). Tissues were then spun at 3,000 rpm for 10 minutes and filtered through a 1.2 μ m syringe filter unit. Total protein in each sample was determined.	Cancer Res. 2005 Dec 15;65(24):11752-61. PMID: 16357188
Urine		Typically, measurement of analytes in urine requires either a 24 hours urine collection or second morning void collection. For the second morning void urine, the analyte value is normalized against creatinine, i.e., the analyte is expressed as units/mg of creatinine. Mix urine samples 1:1 with assay buffer and incubate on the plate approximately 20 minutes on a shaker prior to addition of the beads. Use assay buffer as matrix for standard curve, controls and blank. The assumption is that this helps neutralize the sample, thereby improving recovery.	

术语对照表*

精准度(Accuracy)

数据代表了在一定数量的样品中，血清基质中从低、中、高浓度的标准品的平均回收率(见峰值回收率)。

因子(Analyte)

作为化学分析对象的一种化学物质。

可配置/可定制的试剂盒 (Configurable/customizable kit)

一种常用规格的MILLIPLEX®试剂盒，使您能够在特定的试剂盒因子产品组合中选择最适合您的研究需要的待测因子进行试剂盒定制。

驱动液(Drive fluid)

Luminex®驱动液是将样品传输到MAGPIX®系统光学检测组件的传输介质。专用于MAGPIX®系统。

固定规格试剂盒(Fixed kit)

MILLIPLEX®试剂盒规格之一，所包含的因子/因子不可配置以及定制。所有此规格试剂盒中包含的因子微球都与已经预混，并在一起进行出售。

FLEXMAP 3D® 系统

Luminex®仪器系列之一，它结合了可以识别多种不同染色荧光微球与创新的仪器设计，可以在一个样本中实现多达500个因子精确，快速同时的检测。

其他功能还包括自动调整探头高度、更加简化的日常维护操作和直观的软件界面。

板间检测精度 (%CV)

两种不同浓度的因子在一定数量的不同反应板上产生的精确度。

板内检测精度(%CV)

在一个单一的反应板中产生两种不同浓度的因子的精确度。

线性

在一定范围内获得与样品中因子的浓度(量)成正比的测试结果的能力。

Luminex® 200™ 系统

Luminex®系列系统之一，可以为您提供一个完整的由中到高范围的解决方案，可进行快速，准确的生物标志物定量检测。配有Luminex®XY平台™(Luminex®XYP™)通过顺序定位自动化微孔板上每个孔来增加该系统自动化。

磁性微球(MagPlex®)

与MicroPlex®塑料微球类似，MagPlex®微球是羧基化聚苯乙烯微粒子或“微球”，它们被染色成光谱上不同的染料组合或“微球编码”；这样它们被Luminex®仪器分别进行识别。这些独特编码的珠子为用户提供了一个可识别的底物，跟据此底物可以在一个样本一个孔中进行多种生物因子分析反应。

MAGPIX® 系统

一种基于CCD成像技术的Luminex®仪器，该仪器可以实现更紧凑、性价比更高的系统。简化的系统启动和关闭流程，最低的维护需求，使系统易于操作和维护。

中位荧光值/MFI

中位荧光强度。

Belysa™ 免疫检测数据分析软件

我们用于免疫检测数据的分析软件包能够自动从Luminex®仪器导入数据，从标准曲线的低点和高点，为您提供更好的数据分析，全面而详细的报告和优化的报告格式更加易于理解。

MILLIPLEX®

基于Luminex® xMAP® 技术多研究领域应用的蛋白多因子的免疫分析技术，应用范围包括免疫学、代谢、心血管疾病、癌症、神经科学、毒性和多种物种的细胞信号通路。

MinDC

最低检测浓度。能可靠地检测到因子的最低浓度。

精度/Precision

从定义的可报告的结果数量的%CVs的平均值产生的统计变异性的度量。

预混试剂盒/Premixed kit

MILLIPLEX®试剂盒规格的一种，试剂盒中不同因子的抗体微球已经预混合在一起，这个是作为一种可选的规格试剂盒，由两种方式可以获得，选择试剂盒时部分产品具有预混包装选项，或者部分试剂盒可以提供定制预混规格试剂盒。

质量控制品(QCs)

中-低和中-高标准点用于鉴定试剂盒包含全部因子检测性能。

SAPE

链霉素亲和素-藻红蛋白，可以在Luminex®检测中，被仪器中的绿光激发，从而进行定量。

血清基质/Serum matrix

只有在MILLIPLEX®蛋白多因子检测试剂盒中才包含有使检测更加准确的基质组分，该组分实验中被添加到所有标准品孔中，质控品孔中，空白对照孔中，以模拟血清/血浆中存在的天然因子的环境。所选择的基质通常同时包含血清/血浆，但是去除了其中所有内源性和交叉反应蛋白。

鞘液/Sheath fluid

Luminex® 鞘液用于作为样品传输到Luminex® 100/200™系统和FLEXMAP 3D®系统的光学检测组件的传输介质。

掺入回收/Spike recovery

这个数据表示在一定数量的样本中，血清基质中从低、中、高浓度的标准品的平均回收率(见本指南中数据准确性章节)。

稳定性/Stability

抗化学或热变化或分解的程度。

标准曲线/Standard curve/Calibration curve

使用实时检测标准品的中位荧光强度值对照一套标准中已知的测试物质浓度的曲线图，通常通过连续稀释或增量添加的方法制备。

xMAP® (Multi-Analyte Profiling) 技术

灵活、开放的体系结构设计，可配置执行Luminex®公司开发的多种类型的生物测定。

xPONENT® 软件

具有分析功能的Luminex® 检测数据采集软件。

* 信息来源: thefreedictionary.com; merriam-webster.com; luminexcorp.com; scientistsolutions.com; regulatory.com; dictionary.com; and MILLIPLEX® protocols.

MILLIPLEX®部分高分文献列表

Title	Journal	Year
GAPDH Overexpression in the T Cell Lineage Promotes Angioimmunoblastic T Cell Lymphoma through an NF-κB-Dependent Mechanism	Cancer Cell	2019
PRDM16 Maintains Homeostasis of the Intestinal Epithelium by Controlling Region-Specific Metabolism	Cell Stem Cell	2019
Acyl-CoA-Binding Protein Is a Lipogenic Factor that Triggers Food Intake and Obesity	Cell Metabolism	2019
Intestinal IL-17R Signaling Constrains IL-18-Driven Liver Inflammation by the Regulation of Microbiome-Derived Products	Cell Reports	2019
A Quantitative Multivariate Model of Human Dendritic Cell-T Helper Cell Communication	Cell	2019
A nonhuman primate model of early Alzheimer's disease pathologic change: Implications for disease pathogenesis	Alzheimer's & Dementia	2019
The pituitary gland prevents shock-associated death by controlling multiple inflammatory mediators	BBRC	2019
Dengue Virus Immunity Increases Zika Virus-Induced Damage during Pregnancy	Immunity	2019
Mast cell recruitment is modulated by hairless skin microbiome	Journal of Allergy and Clinical Immunology	2019
The Transcription Factors TFEB and TFE3 Link the FLCN-AMPK Signaling Axis to Innate Immune Response and Pathogen Resistance	Cell Reports	2019
Effects of Albumin Treatment on Systemic and Portal Hemodynamics and Systemic Inflammation in Patients with Decompensated Cirrhosis	Gastroenterology	2019
Dengue Virus Immunity Increases Zika Virus-Induced Damage during Pregnancy	Immunity	2019
CD40 Ligand-Modified Chimeric Antigen Receptor T Cells Enhance Antitumor Function by Eliciting an Endogenous Antitumor Response	Cancer Cell	2019
Expansion of circulating extrafollicular helper T-like cells in patients with chronic graft-versus-host disease	Journal of Autoimmunity	2019
Role of IL-35 in sublingual allergen immunotherapy	Journal of Allergy and Clinical Immunology	2019
Neutrophil extracellular traps (NETs) contribute to pathological changes of ocular graft-vs.-host disease (oGVHD) dry eye: Implications for novel biomarkers and therapeutic strategies	The Ocular Surface	2019
3-D physiologic extracellular matrix hydrogels provide a supportive microenvironment for rodent and human islet culture	Biomaterials	2019
Association of TLR4 with Alzheimer's disease risk and presymptomatic biomarkers of inflammation	Alzheimer's & Dementia	2019
The Intestine Harbors Functionally Distinct Homeostatic Tissue-Resident and Inflammatory Th17 Cells	Immunity	2019
Fc Glycan-Mediated Regulation of Placental Antibody Transfer	Cell	2019
Mesenchymal stromal cell therapy during ex vivo lung perfusion ameliorates ischemia-reperfusion injury in lung transplantation	The Journal of Heart and Lung Transplantation	2019
Acyl-CoA-Binding Protein Is a Lipogenic Factor that Triggers Food Intake and Obesity	Cell Metabolism	2019
Fatty Acid Metabolites Combine with Reduced β Oxidation to Activate Th17 Inflammation in Human Type 2 Diabetes	Cell Metabolism	2019
Remodeling of Bone Marrow Hematopoietic Stem Cell Niches Promotes Myeloid Cell Expansion during Premature or Physiological Aging	Cell Stem Cell	2019
Benralizumab attenuates airway eosinophilia in prednisone-dependent asthma	Journal of Allergy and Clinical Immunology	2018
Fibroblast Heterogeneity and Immunosuppressive Environment in Human Breast Cancer Original Research Article	Cancer Cell	2018
A new method for reactivating and expanding T cells specific for Rhizopus oryzae	Molecular Therapy	2018
A Single Administration of CRISPR/Cas9 Lipid Nanoparticles Achieves Robust and Persistent In Vivo Genome Editing	Cell Reports	2018
Development and evaluation of an optimal human single chain variable fragment derived BCMA targeted CAR T cell vector Original Research Article	Molecular Therapy	2018
Improving the efficacy of hepatocyte transplantation using alpha-1 antitrypsin as an immune modulator	Journal of Hepatology	2018
Sa1604 - Cytokine Profile and Ige-Mediated Serological Food Hypersensitivity in Patients with Irritable Bowel Syndrome with Diarrhea	Gastroenterology	2018
Tear inflammatory mediators and protein in eyes of post allogeneic hematopoietic stem cell transplant patients	The Ocular Surface	2018
Severity, therapeutic, and activity tear biomarkers in dry eye disease: A clinical-trial sub-analysis	The Ocular Surface	2018
Integrin α6 and EGFR signaling converge at mechanosensitive calpain 2	Biomaterials	2018
The Adaptor Protein CARD9 Protects against Colon Cancer by Restricting Mycobiota-Mediated Expansion of Myeloid-Derived Suppressor Cells	Immunity	2018
Roiquin Suppresses the PI3K-mTOR Signaling Pathway to Inhibit T Helper Cell Differentiation and Conversion of Treg to Tfr Cells	Immunity	2018
Induction of Autonomous Memory Alveolar Macrophages Requires T Cell Help and Is Critical to Trained Immunity	Cell	2018
RAB11FIP5 Expression and Altered Natural Killer Cell Function Are Associated with Induction of HIV Broadly Neutralizing Antibody Responses	Cell	2018
A nonhuman primate model of early Alzheimer's disease pathologic change: Implications for disease pathogenesis	Alzheimer's & Dementia	2018
IL-10 Signaling Remodels Adipose Chromatin Architecture to Limit Thermogenesis and Energy Expenditure	Cell	2017
Dual Targeting of Oncogenic Activation and Inflammatory Signaling Increases Therapeutic Efficacy in Myeloproliferative Neoplasms	Cancer Cell	2017
Long-Term Cold Adaptation Does Not Require FGF21 or UCP1	Cell Metabolism	2017
Innate Immune Landscape in Early Lung Adenocarcinoma by Paired Single-Cell Analyses	Cell	2017
Zika Virus Persistence in the Central Nervous System and Lymph Nodes of Rhesus Monkeys	Cell	2017
Circulating HIV-Specific Interleukin-21(+)CD4(+) T Cells Represent Peripheral Tfh Cells with Antigen-Dependent Helper Functions.	Immunity	2016
Innate Lymphoid Cells Are Depleted Irreversibly during Acute HIV-1 Infection in the Absence of Viral Suppression	Immunity	2016
Unique human immune signature of Ebola virus disease in Guinea	Nature	2016
DNA polymerase-α regulates the activation of type I interferons through cytosolic RNA:DNA synthesis	Nat Immunol	2016
Germline NLRP1 Mutations Cause Skin Inflammatory and Cancer Susceptibility Syndromes via Inflammasome Activation	Cell	2016
Analysis of self-antigen specificity of islet-infiltrating T cells from human donors with type 1 diabetes	Nat Med	2016
The Deubiquitinase OTULIN Is an Essential Negative Regulator of Inflammation and Autoimmunity	Cell	2016
CD47-blocking antibodies restore phagocytosis and prevent atherosclerosis	Nature	2016
The necrosome promotes pancreatic oncogenesis via CXCL1 and Mincle-induced immune suppression	Nature	2016
Overcoming resistance to checkpoint blockade therapy by targeting PI3Kγ in myeloid cells	Nature	2016
Dietary zinc alters the microbiota and decreases resistance to Clostridium difficile infection	Nat Med	2016
Eradication of large established tumors in mice by combination immunotherapy that engages innate and adaptive immune responses	Nat Med	2016
Overcoming resistance to checkpoint blockade therapy by targeting PI3Kγ in myeloid cells	Nature	2016
Lactobacillus plantarum strain maintains growth of infant mice during chronic undernutrition	Science	2016
Immunological profiling of tuberculosis-associated immune reconstitution inflammatory syndrome and non-immune reconstitution inflammatory syndrome death in HIV-infected adults with pulmonary tuberculosis starting antiretroviral therapy: a prospective observational cohort study	Lancet Infect Dis	2015
IRf5 deficiency in macrophages promotes beneficial adipose tissue expansion and insulin sensitivity during obesity[J]	Nature medicine	2015
Calorie for Calorie, Dietary Fat Restriction Results in More Body Fat Loss than Carbohydrate Restriction in People with Obesity[J]	Cell metabolism	2015
The Intestinal Microbiota Contributes to the Ability of Helminths to Modulate Allergic Inflammation[J]	Immunity	2015
Dysbiosis and Staphylococcus aureus Colonization Drives Inflammation in Atopic Dermatitis[J]	Immunity	2015
Production of IL-10 by CD4+ regulatory T cells during the resolution of infection promotes the maturation of memory CD8+ T cells[J]	Nature immunology	2015
The transcriptional regulators IRF4, BATF and IL-33 orchestrate development and maintenance of adipose tissue-resident regulatory T cells[J]	Nature immunology	2015
G-protein-independent coupling of MC4R to Kir7. 1 in hypothalamic neurons[J]	Nature	2015
The microRNA miR-22 inhibits the histone deacetylase HDAC4 to promote Th17 cell-dependent emphysema[J]	Nature immunology	2015
Heparanase promotes tumor infiltration and antitumor activity of CAR-redirected T lymphocytes[J]	Nature medicine	2015

愈见清晰

默克您的免疫检测专家
想您所想 助您见所未见

我们的免疫检测试剂盒开发生产具有严格的质控标准，
让您对实验数据更有信心。

严格的开发试剂盒过程

特异性

- 抗体特异性检测：检测在样本中被忽略的抗体和其他蛋白或者因子之间的交叉反应。
- 实验特异性检测：保障每一个因子在单独检测和多重检测时候的数据一致性。

方法验证

- 比较同一种因子在不同的试剂盒中(MILLIPLEX®, ELISA或SMC™ assays), 以及与其他供应商试剂盒中同一种因子的表现。确保为您提供最佳表现的试剂盒。

反应缓冲液优化

- 优化分析缓冲液和微球稀释液，进而提高在基质中抗体与因子的结合。

检测灵敏度

- 每一种蛋白的检测范围和最小检测浓度(minDCs)都可以在说明书中找到，这些数据是基于我们真实的样本中检测得到的数据。

在样本基质中的表现

- 试剂盒在特定的样本类型，例如血清或者血浆中都已经过验证，我们也会提供优化的天然血清基质模拟样本中的环境。

可重复的结果值得您信任

稳定性

- 所有的试剂盒都经过严苛的运输稳定性的测。
- 测试样本在一定温度的范围内，即反复冻融后的待测因子的稳定性；如果样本有特殊的处理条件，会在说明书中进行标注。

准确性

- 板内和板间误差在10-15%范围内。
- 准确性评定范围通常是 $\pm 20\%$ 。

线性稀释

- 对每种因子在三种浓度下进行样品中的峰回收率；稀释后的样品结果必须与样品中因子的浓度成正比，差异一般在 $\pm 20\%$ 以内。

批次间稳定性

- 有“金标准”的校准样本被用作所有未来生所有产批次的参考。

专家技术支持

- 我们的销售专家、技术支持科学家、客户支持和免疫分析开发团队将在您需要的时候，为您提供专业的支持服务。

我们会帮助您选择合适的平台和实验满足您的需求，在未来我们也会与您一同合作满足您对实验平台以及数据质量的需求。



Millipore®

Preparation, Separation,
Filtration & Testing Products

上海

上海市浦东新区东育路227弄3号
前滩世贸中心(二期)C栋15-18层
电话: (021)20338288
传真: (021)50803042
邮编: 200126

北京

北京市朝阳区将台路甲2号
诺金中心25层
电话: (010)59072688
传真: (010)59072699
邮编: 100016

广州

广州市天河区冼村路5号
凯华国际中心1201-1204
电话: (020)32255333
传真: (020)32255380
邮编: 510623

成都

成都市锦江区人民南路二段1号
仁恒置地广场1706室
电话: (028)80740222
传真: (028)80740227
邮编: 610016



默克生命科学

致力于解决生命科学中的棘手问题



默克生命科学微客服

一站式产品货期、定单物流、
发票、账款查询平台

默克生命科学技术服务热线: 400 620 3333或400 889 1988转2号线

中国技术服务中心: tscn@merckgroup.com

更多详情, 敬请登录: www.merckmillipore.com www.sigmaaldrich.cn

资料编号: MK_BR5448SM 08/2021

默克生命科学业务部在美国和加拿大以MilliporeSigma名称运营。

Merck KGaA

Frankfurter Strasse 250, 64293 Darmstadt, Germany

merckgroup.com

© 版权归德国达姆施塔特默克集团 (Merck KGaA) 及其附属公司所有。保留一切权利。

默克和活力M是德国达姆施塔特Merck KGaA及其子公司的商标。所有其他商标均为其各自所有者的财产。

商标的详细信息可通过公开访问的资源了解。

普通合伙法人公司

商业注册: AG Darmstadt HRB 6164

注册办公地址: 达姆施塔特

监督委员会主席: Wolfgang Büchele

执行委员会和普通合伙人: Stefan Oschmann (董事长兼首席执行官), Belén Garijo,

Kai Beckmann, Peter Guenter, Matthias Heinzl, Marcus Kuhnert