	國立成功大學 生物科技中心 質譜多體學核心 設施平台	非標的式代謝 體分析方法	文件編號	MSOP
			版次	PP.01 版
		血漿送樣前操 作指引	制定日期	115/02/06
			制定者	張晏綺


# 非標的式代謝體分析方法

## 血漿(Plasma)送樣前操作指引

文件編號：MSOP-PP.01

實驗室負責人：\_\_\_\_\_ 審核日期：\_\_\_\_\_

品保負責人：\_\_\_\_\_ 審核日期：\_\_\_\_\_

	國立成功大學 生物科技中心 質譜多體學核心 設施平台	非標的式代謝	文件編號	MSOP
		體分析方法	版次	PP.01 版
		血漿送樣前操 作指引	制定日期	115/02/06
			制定者	張晏綺

## 1. 目的

本指引旨在規範委託者於血漿樣本收集、分離與保存之標準流程。透過標準化操作，減少因溶血、抗凝劑干擾、溫度變化或保存不當導致的代謝物降解與基質效應，確保送至本平台的樣本品質符合代謝體學分析需求。

## 2. 耗材與試劑準備

在實驗設計階段，必須先決定採血管種類。不同抗凝劑會影響代謝圖譜，同一批次研究務必統一使用相同規格與品牌的採血管。

### ● 抗凝血劑選擇 (Anticoagulant Selection):

#### ➤ 推薦首選: 肝素(Heparin)

文獻指出其對質譜背景干擾較小，且代謝圖譜覆蓋率佳。

#### ➤ 替代選項: EDTA

TMIC 與 EMBL 建議使用 EDTA，因其對酵素活性的抑制效果較好（螯合金屬離子），有助於穩定特定代謝物。

#### ➤ 不建議使用：檸檬酸 (Citrate)

檸檬酸本身即為三羧酸循環 (TCA cycle) 的中間產物，會嚴重干擾該路徑代謝物的定量分析。

### ● 其他必備耗材:

#### ➤ 碎冰 (Ice): 用於樣本暫存與運送。

#### ➤ 1.5 mL 離心管: 建議使用 Low-binding 材質，避免疏水性代謝物吸附。

## 3. 標準操作程序 (Standard Operating Procedures)

### 3.1 樣本收集 (Sample Collection)


(1) **採血:** 依據實驗設計進行採血。

(2) **混勻 (Mixing):** 血液注入採血管後，立即輕柔顛倒 (Invert) 8-10 次，確保血液與抗凝劑充分混合以防止微凝塊產生。警告: 切勿劇烈震盪 (Vortex)，以免造成紅血球破裂 (溶血)。

(3) **冷卻 (Cooling):** 混勻後立即將試管插入濕冰 (Wet Ice) 中暫存，嚴禁置於室溫下。

### 3.2 離心分離 (Centrifugation & Separation)

(1) **時效:** 務必在採血後 30-60 分鐘內完成離心，越快越好。長時間放置會導致血球消耗葡萄糖並釋放乳酸。

	國立成功大學 生物科技中心 質譜多體學核心 設施平台	非標的式代謝	文件編號	MSOP
		體分析方法	版次	PP.01 版
		血漿送樣前操 作指引	制定日期	115/02/06
			制定者	張晏綺

## (2) 離心:

條件: 1,500 × g (約 3,000 rpm) 轉速、4°C、10 分鐘。

注意: 轉速過高 (> 2,000 × g) 可能導致血球破裂溶血; 轉速過低則無法完全去除血小板。

## (3) 分裝 (Aliquot):

操作: 小心吸取上層黃色血漿, 分裝至新的 1.5 mL 離心管。吸取時請保留介面層 (Buffy coat) 上方約 0.5 cm 的血漿不吸。

目的: 避免吸入白血球與血小板層, 這些細胞含有高濃度的酵素與 DNA, 會干擾後續分析。

\*\*\*樣品量: 如需不同種類的分析請至少送樣每管分裝 500µL 的樣品體積。

## 3.3 品質檢查 (QC - Hemolysis Check)

在凍存前, 請對著白色背景目視檢查血漿顏色

- 正常: 呈現清澈的淡黃色或稻草色 (Straw-colored)。
- 異常 (溶血): 呈現粉紅色或紅色。
- 處置建議: 嚴重溶血樣本建議剔除或標記, 因紅血球破裂釋出的 ATP、Glutathione 等物質會嚴重干擾數據解讀。

## 3.4 保存與運送 (Storage & Shipping)

保存: 分裝後立即置入 -80°C 冰箱保存。

期限: 建議於 2 年內進行分析。

運送: 送樣至本平台時, 請務必使用足量乾冰進行低溫運送, 確保運送過程中樣品保持凍結狀態, 避免反覆凍融 (Freeze-thaw cycles)。

## 參考來源

1. TMIC Protocol: PLASMA From Sample Collection to LC-MS Analysis of Moderately Polar Metabolites. *The Metabolomics Innovation Centre (TMIC)*.
2. EMBL Protocol: Protocol/MCF/SamplePrep/02: Metabolite extraction protocol from biological fluids. *EMBL Metabolomics Core Facility (Heidelberg, Germany)*.
3. Dunn et al. (2011): Procedures for large-scale metabolic profiling of serum and plasma... *Nature Protocols* 6, 1060-1083.