

Ella-Simple ELISA 系统

简明操作手册



普诺森生物科技（上海）有限公司

Revision 1.1, Mar 2020



目录

一、检查安装条件.....	3
二、开机及自检.....	4
三、实验准备.....	5
四、样品的收集和存储.....	6
五、配制质控品.....	7
六、配制样品及加样.....	8
七、上机.....	9
八、结果分析.....	11
九、如何定制试剂盒.....	15
十、日常维护.....	16

一、检查安装条件

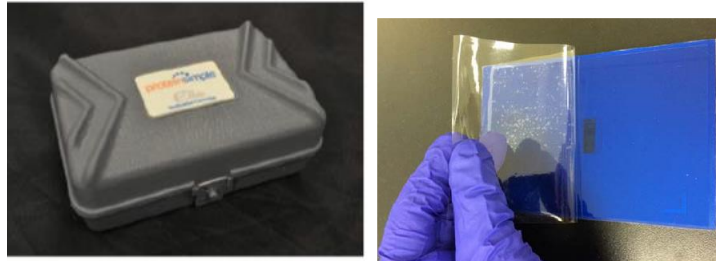
1. 实验室的温度确保在 15 – 30 °C 之间，湿度在 15 – 80 % 之间。如果温度、湿度未达到要求，请打开空调、除湿机或其他相关设备，直到达到要求再开始实验。
2. Ella 宽 37cm，长 54cm，高 26cm，重 16kg。放置仪器的桌面需平整，坚固，且不能放置离心机或者涡旋仪等振动的仪器。
3. 详细安装环境见下表。


Description	Specification
Environmental Conditions	For Indoor Use Only Altitude up to 2000 m (6600 ft) Temperature Range: 15° to 30° C (59° to 86° F) Humidity: 15 to 80% RH, non-condensing Rated Pollution Degree: Degree 2
Electrical Ratings	100-240 V(AC), 300 VA, 45/65 Hz, Class I Installation Category (Over Voltage) II
Electrical Test Specifications	CB Scheme: IEC 61010-1:2010 Supplemented by IEC 60825-1:2014 TÜV SÜD "CUE" Scheme: CAN/CSA-C22.2 No. 61010-1:2012 UL 61010-1:2012 EN 61010-1:2010 EN 60825-1:2014
Physical Conditions	Overall dimensions: 37 cm (w) x 54 cm (d) x 26 cm (h) 14.6 in (w) x 21.3 in (d) x 10.2 in (h) Weight: 16 kg (35.3 lb)
Laser Test Specifications	Class 1 Laser Product according to IEC 60825-1:2014 and EN 60825-1:2014 Complies with FDA performance standards for laser products 21 CFR 1040.10 and 1040.11 except for deviations pursuant to Laser Notice No. 50, dated June 24, 2007.
External Fusing	Main fuse (appliance inlet): 4 A, 250 V; IEC 60127 rated as T4AL 250 V

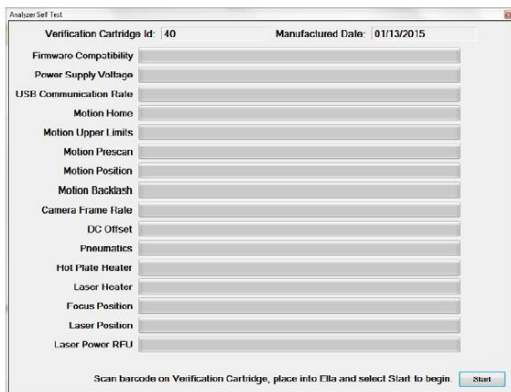
Table 1-1: Specifications

二、开机及自检

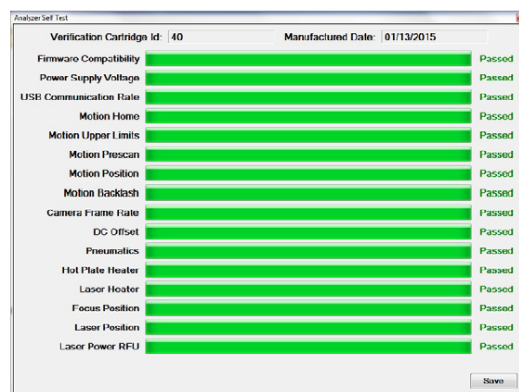
1. 依次打开主机，显示器，Ella 的开关。
2. 待 Ella 前端的指示灯显示为绿色后，依次打开 Ella 蓝色盖子和黑色卡盒夹，戴上手套，拿出校准卡盒，撕下背面的 PVC 保护层并妥善存放以备重复使用。



3. 将校准卡盒放入检测窗，先检测 Ella 是否水平，如果气泡在栅栏线外侧，用垫片垫在仪器下部，以确保 Ella 水平。
4. 双击打开桌面上的“Runner”  软件，点击 Tools>Self-Test，弹出自检对话框后，用 Scanner 扫描校准卡盒右下方的二维码，获得卡盒的 ID。
5. 点击 Start 运行自检，大约耗时 45 分钟。如果仪器处于待机状态，不用重复进行自检，一般只在初次开机时运行自检或者每周例行自检一次即可。
6. 自检临近结束时按照提示，把校准卡盒取出，贴上 PVC 膜，放回包装盒中妥善保管(注意避光)，并继续自检，等所有项目均显示 Passed 方可进行后续实验。
7. 如自检失败，请先关闭软件，仪器和电脑，拔掉电源。断电 3-5 分钟后再开机，重做 1-2 次，如连续 3 次均未通过，请尽快联系 ProteinSimple。



自检前的对话框



自检后的对话框

三、实验准备

1. 所需设备

- a) 涡旋振荡仪和桌面离心机（可选，用于稀释样品）



- b) 三维摇床（可选，用于配制质控品）



- c) 水平平板离心机（可选）



2. 所需耗材

- a) Ella 试剂盒（包含卡盒，洗液，样品稀释液）
- b) 去离子水
- c) 移液器及配套无菌枪头
- d) 用于收集样品或者稀释样品的离心管及试管架

四、样品的收集和存储

下面列出的样本收集和存储条件是作为一般指导原则的。样本稳定性还没有被评估。

1. 细胞上清Cell supernatant: 离心去沉淀，立即实验或者分装存储在 $\leq -20^{\circ}\text{C}$ ，避免反复冻融。
2. 血清Serum: 使用血清分离管（SST），并室温放置30分钟使样品凝固，然后 $1000 \times g$ 离心15分钟，分离血清并立即实验或者分装存储在 $\leq -20^{\circ}\text{C}$ ，避免反复冻融。
3. 血浆Plasma: 使用肝素或EDTA作为抗凝血剂收集血浆。在收集30分钟内， $1000 \times g$ 离心15分钟。立即实验或者分装存储在 $\leq -20^{\circ}\text{C}$ ，避免反复冻融。

注意：严重的溶血或黄疸的样品不适合用于此实验。

五、配制质控品

1. 质控品和对应的样品稀释液需要单独订购，不包含在卡盒中。
2. 质控品为冻干粉，开封前应先离心，以将粉末收集至瓶底。溶解后分装成单次所需体积并于-80°C冰箱保存24小时以上，每次取一支来进行以下制备，以保证批次间一致性。
3. 根据质控品说明书上推荐的重悬体积加入对应的样品稀释液进行稀释。注意尽量不要接触质控品玻璃小瓶的胶塞内壁，放在三维摇床上轻柔混匀15-30分钟，注意不要超过30分钟。如下图所示，对于IL-6，加入570 μL 的SD13进行重悬，配成总浓度为66300pg/mL的母液。

Analyte	Part Number	Lot Number	Reconstitution Volume (μL)	Nominal Concentration
IL-6	894968	1452813	570	66300 (pg/mL)

4. 用样品稀释液把质控品母液稀释33倍即为高质控品工作液，用HQC表示。用样品稀释液把HQC继续稀释50倍即为低质控品工作液，用LQC表示。如下图所示。



图 1: 制备高低浓度质控品工作液的过程

5. 对于HQC的配置：

单因子：970 μL 样品稀释液+30 μL 质控品母液

4因子：880 μL 样品稀释液+30 \times 4=880+120=1000 μL

8因子：760 μL 样品稀释液+30 \times 8=760+240=1000 μL

六、配制样品及加样

1. 复温：先从4° C 冰箱取出白色的Ella试剂盒，将样品稀释液置于室温孵育，使其恢复至常温备用。
2. 将待测样品取出，于室温复溶，涡旋混匀，16000g离心4分钟，以除去可见颗粒/絮状沉淀，避免堵塞微流控。
3. 样品稀释：根据试剂盒的说明书(Specification Sheet)，利用试剂盒内附的样品稀释液按照推荐的稀释比进行样品的稀释。稀释可以采用96孔稀释板或者离心管。高于定量上限的样品需要进一步稀释。

Sample Preparation

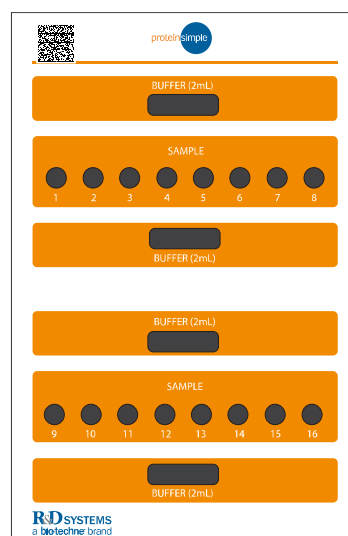
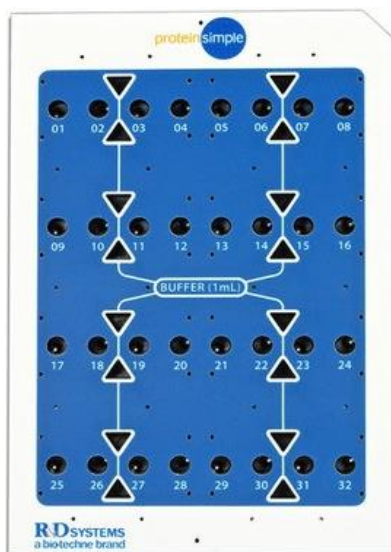
Serum and plasma samples require a minimum 2-fold dilution with sample diluent. Samples above the ULOQ require further dilution.

Sample Preparation

Serum and plasma samples require a minimum 10-fold dilution with sample diluent. Samples above the ULOQ require further dilution.

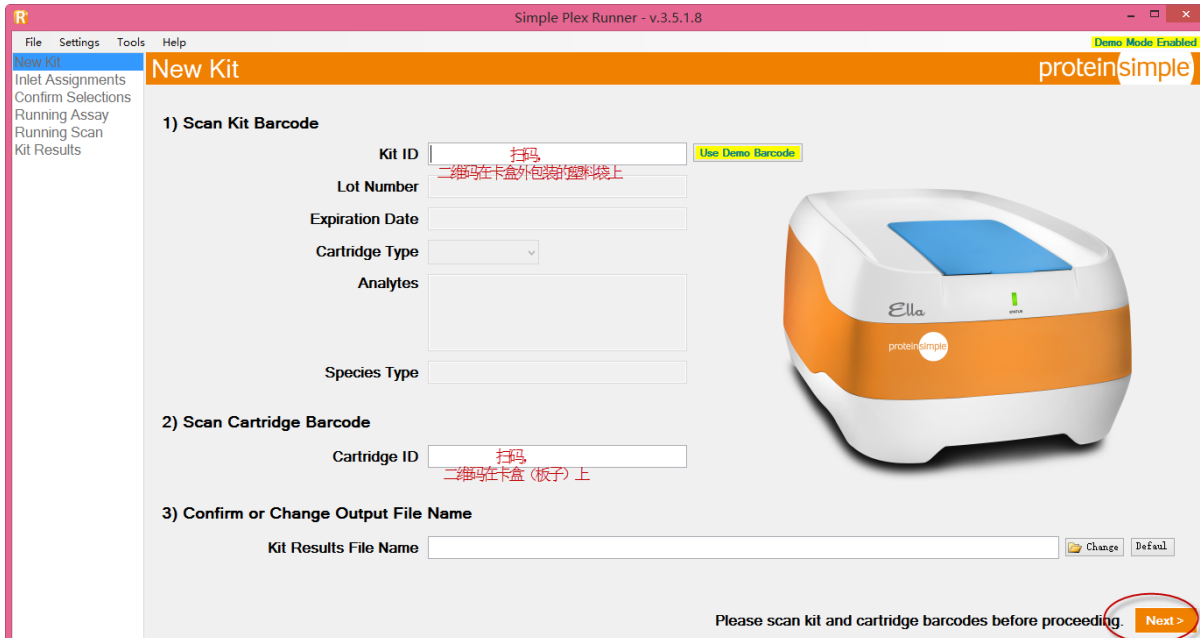
如推荐2倍稀释，建议通过将35μL的样品加入到35μL的样品稀释液中；如推荐10倍，建议通过将7μL的样品加入到63μL的样品稀释液中。

4. 加样品和质控品：从试剂盒中取出卡盒，**塑料外包装袋不要扔**（有二维码要扫），**背部的PVC保护膜也先不撕**（撕了会粘灰），将稀释后的样品取 50μL加入圆形样品孔（注意加样时可采用二档吸，一档打，并靠近孔底部侧壁加入可防止产生气泡。孔底部正中有微孔，加样时不要戳到底部）。如有配制好的高低质控品，同样加50 μL到单独样品孔中用作高低质控。
5. 加洗液：取1mL或者2mL Wash buffer加入三角形或者长方形的洗液孔（具体所用体积见卡盒上面的标注），同样注意避免产生气泡。
6. 离心（可选）：加样结束后，用水平平板离心机室温50g（rcf）离心15s，以确保试剂收集至孔底，并去除气泡。**注意**：离心机需配平。

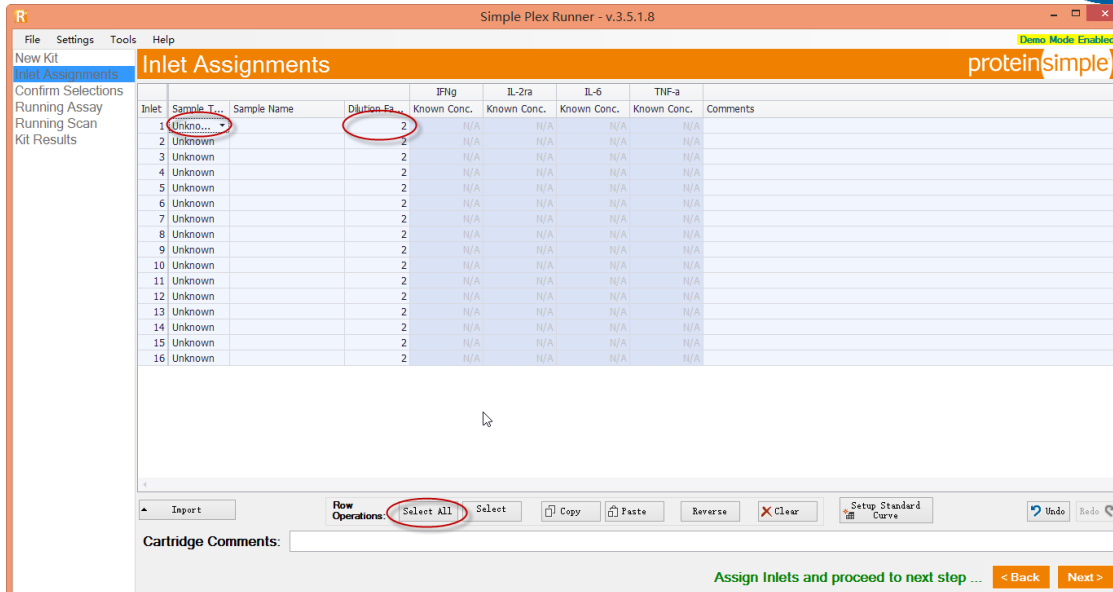



七、上机

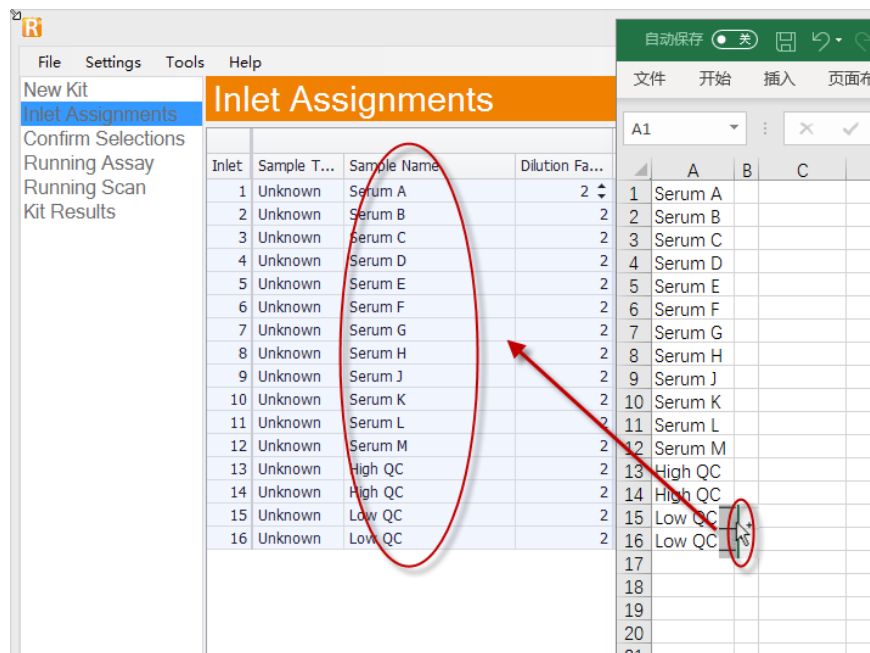
1. 扫描卡盒塑料外包装袋上的二维码。
2. 撕掉卡盒底部的保护膜，将卡盒放入Ella。扫描卡盒上的二维码，再次确认是否与外包装信息一致。



3. 编辑好文件名和保存路径，点击Next>，进入Inlet Assignments界面(如下图)，您可以通过Shift或者Ctrl或者Select All对多条进行编辑
 - a) Sample Type: 待测样品选择Unknown，标准曲线则选择Standard，质控品则选择Control
 - b) Dilution Factor: 如果待测样品是1:1稀释，则为2，如果是1:9稀释，则为10；标准曲线和质控品为1



4. 您也可以提前先建一个Excel，把Sample Name按顺序填写完整，然后选中（如下图，选中A1-A16），按住ctrl键不放，等鼠标出现符号时，再将其拖入Runner软件（注意软件里也要选中相同数量的inlet，否则会提示数量不匹配），便可快速命名。您也可以选择在运行结束后再编辑样品信息，以节约时间。

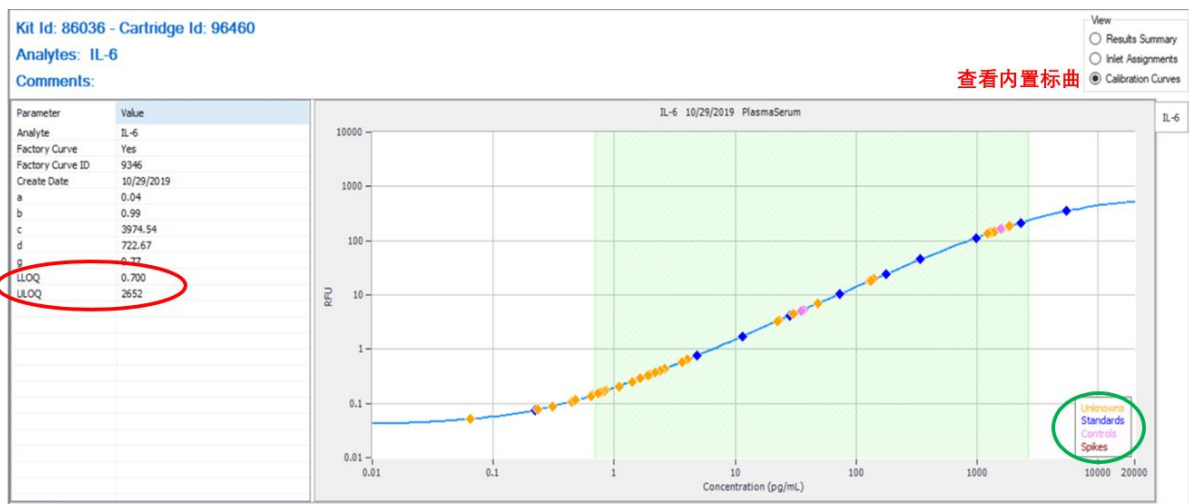


5. 所有信息确定无误后，点击 Start 运行实验，一般运行 78 分钟。

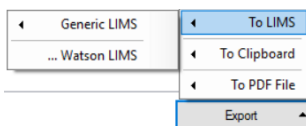
Kit Id: 86035 - Cartridge Id: 96456
 Analytes: IL-6
 Comments:

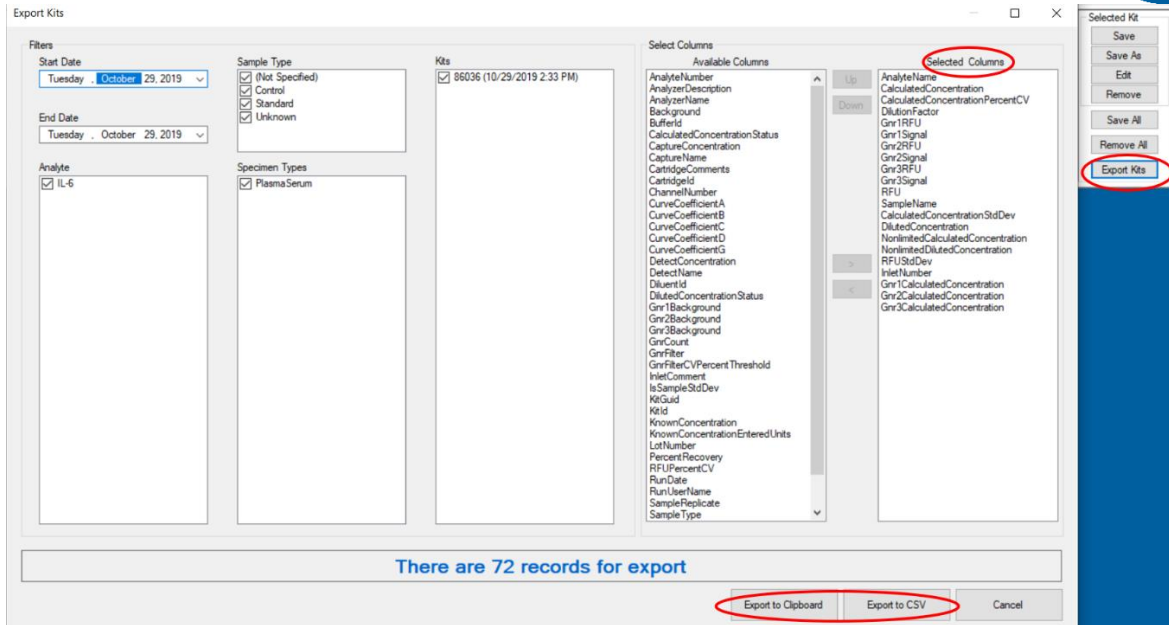
IL-6						
Inlet	Sample	GNRs	Mean RFU	RFU %CV	Mean Conc. (pg/mL)	Conc. %CV
21	HMN45617	3	0.13	1.06	*1.11	1.60
4	STD4	3	45.83	1.96	345	2.13
10	STD10	3	0.28	2.38	1.61	2.81
15	HQC1	3	183.29	2.04	1826	2.89
20	HMN45616	3	0.13	2.49	*1.23	3.62
5	STD5	3	21.05	3.72	151	3.88
9	STD9	3	0.62	3.65	3.88	3.95
23	HMN45619	3	0.43	3.75	5.22	4.18
22	HMN45618	3	0.19	3.32	1.98	4.28
2	STD2	3	204.60	3.02	2141	4.42
40	HMN45720	3	0.22	3.54	2.32	4.42
1	STD1	3	330.09	2.32	4824*	4.64
42	HMN45722	3	0.14	3.35	*1.27	4.84
34	HMN45714	3	0.13	4.35	*1.23	6.34
16	LQC1	3	5.44	6.41	37.4	6.57
24	HMN45620	3	0.12	4.53	*1.05	6.96
8	STD8	3	1.57	7.19	10.4	7.46

7. 点击软件右侧中部的Calibration Curves，查看内置标准曲线（Barcode Curves），如下图所示，样品点由橙色表示，标准曲线点用蓝色表示，质控品用粉色表示。另外，本次卡盒的基本信息会展示在左侧，如Analytes为IL-6，LLOQ=0.7pg/mL，ULOQ=2652pg/mL。

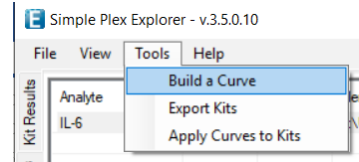


8. 如需导出报告，您可以通过点击Export Kits，在弹出的对话框内选择报告所包含的内容，如每个GNR的RFU值（Relative Fluorescence Unit 相对荧光单位）或每个GNR的浓度检测值。您也可以通过软件右下角的Export将其另存为PDF或者通过LIMS进行分析

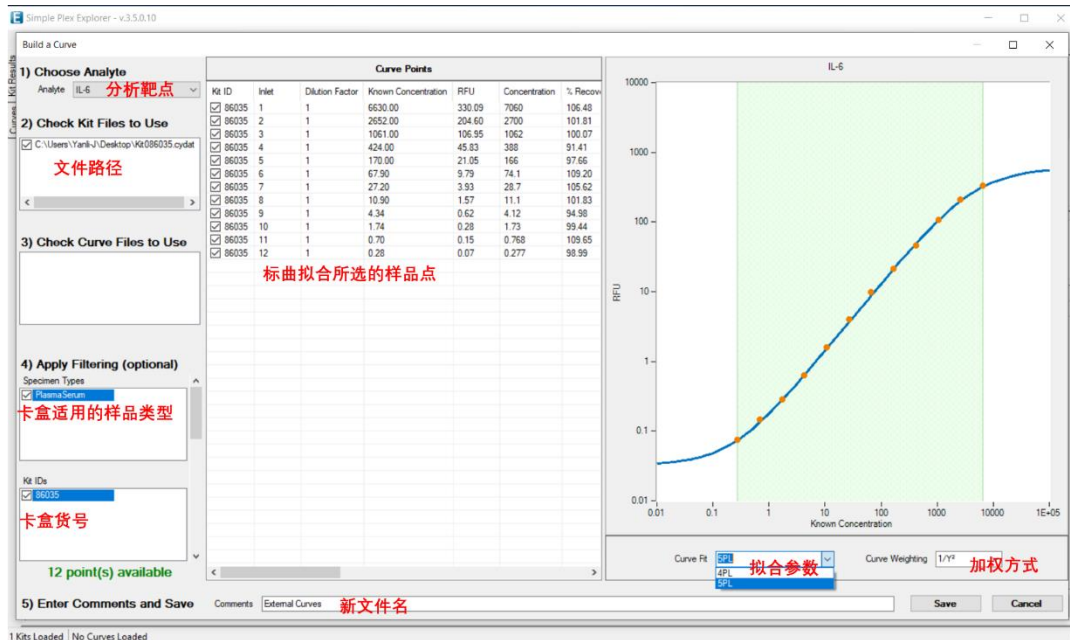




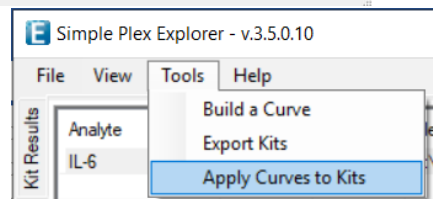
9. 如您利用我司提供的质控品自行绘制了标准曲线，可以通过Tools>Build a Curve生成新的External Curve



10. 在弹出的新的对话框中按照提示勾选对应的参数，并给生成的标曲进行命名，保存在需要的目录路径下



11. 然后点击Tools>Apply Curves to Kits，把新生成的外置标准曲线应用于您的结果，这样就可以更新所测结果



12. 如下图所示，选择需要更新的结果文件>勾选数据点>Apply to Checked Samples>Update Kits即可

Simple Plex Explorer - v.3.5.0.10

Apply Curves to Kits

1) Select Analyte

Analyte: IL-6

2) Select Curve

Curve File: C:\Users\Yanli\Desktop\IL-6_20200220_112657.cycurv

3) Check Kits to Update All None

86033
 86035

4) Apply Filtering (optional)

Specimen Types
 Plasma Serum

Capture Names

Concentrations
72 point(s) available

5) Apply Selected Curve

Apply to Checked Samples >>

Selected Curve Details
Specimen Type(s): Plasma Serum Units: pg/mL Comments: External Curves

		Sample Points										Reset Checked
Kit ID	Inlet	Sample Type	Sample Name	Dilution Factor	RFU	Concentration	Known Concentration	Specimen Type(s)	Species Type	Capture		
<input type="checkbox"/>	86033	1	Standard	STD01	1	318.98	6484	6630.00	Plasma Serum	Human		
<input type="checkbox"/>	86033	2	Standard	STD02	1	191.06	2416	2652.00	Plasma Serum	Human		
<input type="checkbox"/>	86033	3	Standard	STD03	1	103.32	1016	1061.00	Plasma Serum	Human		
<input type="checkbox"/>	86033	4	Standard	STD04	1	45.47	384	424.00	Plasma Serum	Human		
<input type="checkbox"/>	86033	5	Standard	STD05	1	19.07	149	170.00	Plasma Serum	Human		
<input type="checkbox"/>	86033	6	Standard	STD06	1	8.36	62.8	67.90	Plasma Serum	Human		
<input type="checkbox"/>	86033	7	Standard	STD07	1	3.13	22.7	27.20	Plasma Serum	Human		
<input type="checkbox"/>	86033	8	Standard	STD08	1	1.31	9.18	10.90	Plasma Serum	Human		
<input type="checkbox"/>	86033	9	Standard	STD09	1	0.50	3.28	4.34	Plasma Serum	Human		
<input type="checkbox"/>	86033	10	Standard	STD10	1	0.23	1.32	1.74	Plasma Serum	Human		
<input type="checkbox"/>	86033	11	Standard	STD11	1	0.11	0.536	0.70	Plasma Serum	Human		
<input type="checkbox"/>	86033	12	Standard	STD12	1	0.08	0.296	0.28	Plasma Serum	Human		
<input type="checkbox"/>	86033	13	Control	HQC1	1	168.65	1991		Plasma Serum	Human		
<input type="checkbox"/>	86033	14	Control	LQC1	1	4.81	35.4		Plasma Serum	Human		
<input type="checkbox"/>	86033	15	Unknown	NSB		0.05			Plasma Serum	Human		
<input type="checkbox"/>	86033	16	Unknown	NSB		0.08			Plasma Serum	Human		
<input type="checkbox"/>	86033	17	Unknown	HMN45613	2	0.10	0.891		Plasma Serum	Human		
<input type="checkbox"/>	86033	18	Unknown	HMN45613-H...	2	136.66	2943		Plasma Serum	Human		
<input type="checkbox"/>	86033	19	Unknown	HMN45613-2...	2	0.17	1.81		Plasma Serum	Human		
<input type="checkbox"/>	86033	20	Unknown	HMN45614	2	0.08	0.602		Plasma Serum	Human		
<input type="checkbox"/>	86033	21	Unknown	HMN45614-H...	2	140.12	3047		Plasma Serum	Human		
<input type="checkbox"/>	86033	22	Unknown	HMN45614-2...	2	0.18	2.04		Plasma Serum	Human		
<input type="checkbox"/>	86033	23	Unknown	HMN45615	2	0.09	0.783		Plasma Serum	Human		
<input type="checkbox"/>	86033	24	Unknown	HMN45615-H...	2	146.07	3230		Plasma Serum	Human		
<input type="checkbox"/>	86033	25	Unknown	HMN45615-2...	2	0.14	1.51		Plasma Serum	Human		
<input type="checkbox"/>	86033	26	Unknown	HMN45621	2	0.09	0.788		Plasma Serum	Human		
<input type="checkbox"/>	86033	27	Unknown	HMN45621-H...	2	129.52	2734		Plasma Serum	Human		
<input type="checkbox"/>	86033	28	Unknown	HMN45621-2...	2	0.17	1.81		Plasma Serum	Human		
<input type="checkbox"/>	86033	29	Unknown	HMN45622	2	0.12	1.12		Plasma Serum	Human		
<input type="checkbox"/>	86033	30	Unknown	HMN45622-H...	2	143.82	3160		Plasma Serum	Human		
<input type="checkbox"/>	86033	31	Unknown	HMN45622-2...	2	0.20	2.29		Plasma Serum	Human		
<input type="checkbox"/>	86033	32	Unknown	HMN45623	2	0.09	0.825		Plasma Serum	Human		
<input type="checkbox"/>	86033	33	Unknown	HMN45623-H...	2	118.75	2434		Plasma Serum	Human		
<input type="checkbox"/>	86033	34	Unknown	HMN45623-2...	2	0.19	2.10		Plasma Serum	Human		
<input type="checkbox"/>	86033	35	Unknown	HMN45713	2	0.06	0.322		Plasma Serum	Human		
<input type="checkbox"/>	86033	36	Unknown	HMN45713-H...	2	75.36	1377		Plasma Serum	Human		

6) Update Kit Results Files Update Kits Cancel

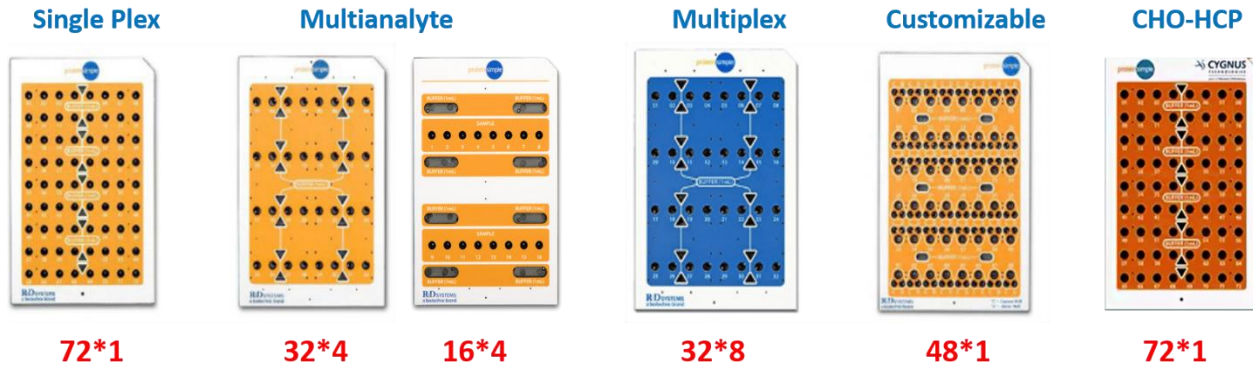
3 Kits Loaded 1 Curves Loaded

九、如何定制试剂盒

1. 可分析的因子见下方网站，你可以登录下载完整版的Assay Menu：

http://www.proteinsimple.com/simple_plex_assays.html

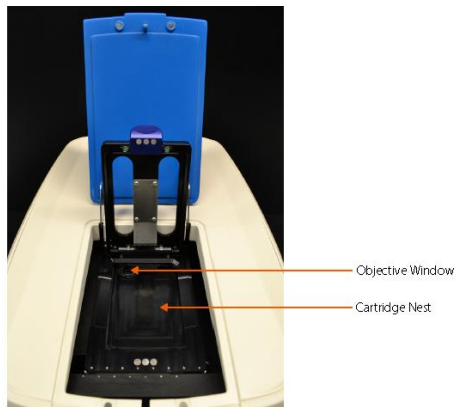
2. 我司可提供如下五种类型的试剂盒：



如需定制，您只需提供样品种属(如Human)，样品类型(如血清，血浆或者细胞上清)，样品数量(如16，32或者72)和待检测的因子(如IL-6)，我们便可快速为您下订单。

十、日常维护

1. 外壳清洁(视情况而定，中性清洁剂或少量水+无尘纸擦拭)
2. 卡盒槽(视情况而定，酒精+无尘纸擦拭)
3. 光学检测窗(视情况而定，酒精+无尘纸擦拭)



4. 风扇过滤器(建议每半年清洗一次)

- 拆卸风扇护罩和风扇过滤器
- 用吸尘器吸干净风扇过滤器
- 如有需要，更换磨损或损坏的风扇过滤器 (PN 541401)

5. 校准卡盒的存放(自检结束后，将背部塑料保护膜贴好，并及时放回灰色盒子内，放置常温干燥处)
6. 自检 (如仪器处于关机状态，则开机后应利用校准卡盒进行自检，自检通过方可实验；如长期待机状态，则每次实验前无需自检，但至少每个季度运行一次自检，每年更换一个新的校准卡盒)