

# 罗宁生物 科技服务送样指南

罗宁生物科技有限公司





联系电话: 地址:四川省成都市高新区天府大道北 ▶ 028-85405756 段1480号孵化园1号楼A座3-1

# **CONTENTS**

# 目录

# ■ 01/二代基因组测序送样建议(MGI、Illumina平台) ① 1

动物组织样本

植物组织样本

细菌样本

真菌样本

血液样本/细胞样本

DNA、RNA样本

其它特殊类型组织样本

# 

动物组织样本

植物组织样本

细菌样本

真菌样本

血液样本/细胞样本

DNA、RNA样本

其它特殊类型组织样本

# \_\_\_\_03/Ultra Long/Pore-C送样建议(ONT平台)

植物样本

动物样本

临床组织/细胞系/细菌等其它类型样本送样要求

细菌

真菌

藻类

其他注意事项

# 04/单细胞样本

07

10

新鲜组织样品

血液样本

冻存细胞

# 05/转录组测序送样建议(MGI、ONT平台)

植物组织

动物组织

细胞样本

血液样本

微生物单菌菌体

核酸样本

其它特殊类型组织样本

# ■ 06/微生物测序送样建议(MGI、ONT平台)

土壤样本

水体/发酵液样本

粪便/肠道内容物/食糜样本

动物组织样本

植物组织样本(内生菌)

血液样本(包括外周血、骨髓血、脐带血)

唾液样本

拭子样本

空气样本

核酸样本

# 07/代谢送样建议

18

11

14

细胞代谢组学样本处理方法

代谢流送样建议

细胞培养基 (研究细胞外代谢) 处理步骤

血浆、血清代谢组学样本处理方法

唾液代谢组学样本处理方法

尿液代谢组学样本处理方法

眼泪代谢组学样本处理方法

粪便、肠道内容物代谢组学样本处理方法

拭子代谢组学样本处理方法

微生物代谢组学样本处理方法

植物类代谢组学样本处理方法

根样本处理步骤

果实、种子样本处理步骤

土壤代谢组学样本处理方法

# 08/样品打包与寄送

24

送样地址

注意事项



# ○ 1 二代基因组测序送样建议 MGI、IIIumina平台

# 动物组织样本

 $\mathbf{V}$ 

送样量: 送样量0.3-0.5g 起送, 一般送1-2g 左右, 建议取样时分装。

#### 采样标记要求:

- 1.新鲜,去掉有污染的部分,洗净杂质(1× PBS/灭菌水冲洗),组织避免太大块,切成各0.1g左右的小块;
- 2.用2ml, 15ml或50ml 离心管分装, 并做好标记;
- 3.液氮速冻5min 以上,并使用自封袋装好样品和信息单,干冰送样。

### 注意事项:

- ①新鲜样本;
- ②去掉有污染的部分;
- ③不要送整个大块的组织, 切成小块分装送样。

# 植物组织样本

送样量: 送样量0.5g 起送,一般送2-3g 左右。

# 采样标记要求:

- 1.新鲜采取的植物叶片,尽量选取幼嫩组织,如果同一样本还要测三代,优先参考三代送样要求;
- 2.去掉枯叶和病害的部分,洗净浮土及杂质(灭菌水洗),用无菌滤纸将水擦干,锡箔纸包好并标记;
- 3.投入液氮速冻5min 以上,速冻以后建议放在冻存管(或50ml 离心管)中,标记好后,自封袋装好样品和信息单,干冰送样。

#### 注意事项:

- ①尽量采取新鲜叶片,分装后使用液氮速冻(短期内不送样请保存在-80℃超低温冰箱);
- ②不要直接将叶片组织放在自封袋,建议使用锡箔纸将样本包好,放入50ml 离心管中,样品量较大时可以直接放在50ml 离心管中,避免运输过程中样品包装损坏导致样本损坏或混淆;
- ③做好预处理:包括样本清洗、去除非样本以外的多余部分。组培样品请勿直接直接寄送,需将培养基清洗干净后取样;
- ④若样本有特殊性, 请送样前详细告知。

# 细菌样本

7

送样量: 菌液1ml (对数生长期)或0.1g菌体起送, 一般送3-5ml菌液或0.5g菌体。

#### 采样标记要求:

- 1.挑取单克隆富集培养, 在对数生长期离心收集菌体, 用1× PBS 重悬清洗1-2次, 去除培养基;
- 2.用2ml离心管或冻存管分装,并做好标记;
- 3.液氮速冻5min 以上, 自封袋装好样品和信息单, 干冰送样。

- ①请勿寄送平板;
- ②采集对数生长期的样本;

- ③细菌DNA得率受物种及培养条件限制,送样前请尽量提供物种信息;
- ④请勿寄送含有致病性的病原体的样本。

# 真菌样本

7

送样量: 送样量5ml 菌液或 1g子实体/营养体样本起送。建议取样时分装至相应的 2ml离心管中。避免取样时反复冻融。

#### 采样标记要求:

- 1.真菌的种类很多,有菌菇类,送样建议参考植物;有培养的酵母类,送样建议参考细菌,如果不清楚生长对数期,尽可能在菌体生长初盛期取样;
- 2.液氮速冻5min 以上, 自封袋装好样品和信息单, 干冰送样。

#### 注意事项:

- ①如果是平板培养,请勿刮取培养基;
- ②送样前请确认细胞核数量;
- ③真菌的得率普遍不高,尽量多送菌体或菌丝。

# 血液样本/细胞样本

## 送样量:

- 1.血液样本包括外周血、骨髓血、脐带血;
- 2.哺乳动物:最低送样量为1ml起送,建议送样量为3-5ml左右,满足2-3次提取;取样时收集新鲜的血液注入EDTA抗凝采血管(紫头),颠倒混匀,冰袋运输;或获取样后套装在50ml的离心管中(内含缓冲材料)液氮速冻,干冰送样(建议全血冷冻不要超过一年);
- 3.鸟类、鱼类:最低送样量为0.5ml起送,请根据实验动物实际情况尽可能多的采样;
- 4.细胞类:细胞送样量参照哺乳动物血液中白细胞数量(4-10×10<sup>6</sup>/L)。收集生长状态良好处于对数生长期的贴壁细胞(用酶消化好)或悬浮细胞,离心移去培养液;再用 1× PBS 快速洗 1-2次,低速离心除去 1× PBS;将细胞移入无酶的1.5ml离心管中,离心去除剩余上清后置于液氮或-80°C 冰箱中速冻,干冰运输。

#### 注意事项:

- ①收集新鲜的血液注入抗凝采血管,应立即上下颠倒 5-10 次,充分混匀,防止凝血;
- ②通过离心收集培养液中的细胞,使用1×PBS缓冲液重悬细胞沉淀2-3次,尽量去除残留的培养液;
- ③采血管需套装在50ml的离心管中(内含缓冲材料),干冰运输;不要将采血管直接液氮速冻,容易造成玻璃管破裂(必要时建议使用塑料材质的采血管)。

# DNA、RNA样本

#### DNA 样品送样要求:

- 1.样品必须是双链 DNA;
- 2.提取好的基因组 DNA 应溶解于不含有 EDTA 的PH 8.0 缓冲液中,可溶解于Tris-HCl 缓冲液或 ddH2O 中;
- 3.样品切忌反复冻融,运输过程务必全程保持低温;
- 4.样品不要暴露在高温 (>65℃) 或极性环境中 (pH < 6 或 pH > 9) 如果样本来源生物的生存环境属于极端环境,提取样品前请与我方沟通提取方案;
- 5.样品溶液澄清无色,不粘稠,无不可溶解物质,无RNA 污染;



- 6.不含螯合剂(如 EDTA),二价金属阳离子(如 $Mg^{2+}$ ),变性剂(如Mg, 苯酚)、去污剂(如 SDS,Triton-X100),不含生物组织中的污染物(如血红蛋白、腐殖酸、多酚等);
- 7.样本避免接触紫外线、荧光染料等任何可能损伤DNA的环境或试剂;
- 8.DNA 总量≥2μg,样品浓度≥20ng/μl。对于DNA 总量介于1-2μg 的样本,属风险建库上机。

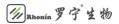
## RNA样本送样要求:

- 1.样品必须是无DNA 污染的完整总 RNA,若RNA 中DNA 污染较多,需先用DNase I 去除DNA 并进行纯化;
- 2.样品切忌反复冻融,运输过程务必全程保持低温;
- 3.样本不要暴露在高温或极性环境中(pH < 5或 pH > 9);
- 4.样品溶液澄清无色,不粘稠,无不可溶解物质,无 DNA 污染;
- 5.不含螯合剂(如EDTA),二价金属阳离子(如 Mg<sup>2+</sup>),变性剂(如胍盐,苯酚)、去污剂(如SDS, Triton-X100),不含生物组织中的污染物(如血红素、腐殖酸、多酚);
- 6.样本避免接触紫外线、荧光染料等任何可能损伤 RNA 的环境或试剂;
- 7.RNA 总量,要求≥2μg,;对于RNA 总量介于1-2μg 的样本,属风险建库上机;
- 8.样品浓度≥20ng/μl;
- 9.样品完整性良好, Agilent2100 检测 RIN 值≥ 6.5。

# 其它特殊类型组织样本

**\** 

- 1.病毒样本:不接收;
- 2.骨髓样本: 4℃冰袋寄送;
- 3.硅胶保存的植物样本如叶片,请提前联系,确认是否需要进行核酸修复;
- 4.酒精或者Trizol 等特殊保存液保存的样本,请弃净酒精后干冰送样,Trizol保存的样本请直接使用干冰寄送。



# O2 三代基因组测序送样建议 ONT平台

# 动物组织样本

 $\mathbf{V}$ 

送样量: 送样量1g 起送, 一般送2-5g 左右, 分装成约0.5-1g/管。

## 采样标记要求:

- 1.新鲜,去掉有污染的部分,洗净杂质(1× PBS洗),组织避免太大块,切成各0.5g左右的小块;
- 2.用2ml, 15ml, 50ml 离心管, 做好标记;
- 3.液氮速冻10min 以上, 自封袋装好样品和信息单, 干冰送样。

## 注意事项:

- ①新鲜;
- ②去掉有污染的部分;
- ③不要送整个大块的组织, 切成小块;
- ④组织送样优先以肌肉, 血液, 其次内脏组织; 尽量避免含有皮肤毛发, 骨骼, 脂肪组织。

# 植物组织样本

**送样量:** 送样量1g 起送,一般送3-5g 左右,分装成约0.5-1g/管。

#### 采样标记要求:

- 1.新鲜, 幼嫩, 叶芽; 特别是林木类的叶片一定要幼嫩, 不然非常粘稠, 导致提取困难, 测序效果差;
- 2.去掉枯叶和病害的部分,洗净浮土及杂质(灭菌水洗),用无菌滤纸将水擦干,锡箔纸包好并标记;
- 3.液氮速冻5min 以上,速冻以后建议放在冻存管(或50ml 离心管)中,标记好后,自封袋装好样品和信息单,干冰送样。

#### 注意事项:

- ①尽量采取新鲜叶片,分装后使用液氮速冻(短期内不送样请保存在-80℃超低温冰箱);
- ②不要直接将叶片组织放在自封袋,建议使用锡箔纸将样本包好,放入50ml 离心管中,样品量较大时可以直接放在50ml 离心管中,避免运输过程中样品包装损坏导致样本损坏或混淆;
- ③做好预处理:包括样本清洗、去除非样本以外的多余部分。组培样品请勿直接直接寄送,需将培养基清洗干净后取样;
- ④若样本有特殊性, 请送样前详细告知。

# 细菌样本

7

送样量: 菌液1ml (对数生长期)或0.1g菌体起送, 一般送3-5ml菌液或0.5g菌体。

# 采样标记要求:

- 1.挑取单克隆富集培养, 在对数生长期离心收集菌体, 用1× PBS 重悬清洗1-2次, 去除培养基;
- 2.用2ml离心管或冻存管分装,并做好标记;
- 3.液氮速冻5min 以上, 自封袋装好样品和信息单, 干冰送样。

- ①请勿寄送平板;
- ②采集对数生长期的样本;



- ③细菌DNA得率受物种及培养条件限制,送样前请尽量提供物种信息;
- ④请勿寄送含有致病性的病原体的样本。

# 真菌样本

 $\mathbf{Z}$ 

送样量: 送样量5ml 菌液或 1g子实体/营养体样本起送。建议取样时分装至相应的 2ml离心管中。避免取样时反复冻融。

#### 采样标记要求:

- 1.真菌的种类很多,有菌菇类,送样建议参考植物;有培养的酵母类,送样建议参考细菌,如果不清楚生长对数期,尽可能在菌体生长初盛期取样;
- 2.液氮速冻5min 以上, 自封袋装好样品和信息单, 干冰送样。

#### 注意事项:

- ①如果是平板培养,请勿刮取培养基;
- ②送样前请确认细胞核数量;
- ③真菌的得率普遍不高,尽量多送菌体或菌丝。

# 血液样本/细胞样本

用于提取
DNA 的样本
(包括外周血和骨髓血)

1.哺乳动物: 最低送样量为5ml 起送, 建议送样量为5-10ml 左右, 取样时收集新鲜的血液注入 EDTA 抗凝采血管;

2.颠倒混匀,冰袋运输(3 天内);或获取样后套装在50ml 的离心管中 (内含缓冲材料) 液氮速冻,干冰送样 (建议全血冷冻不要超过一年);

3.鸟类、鱼类:最低送样量为1ml 起送,建议送样量为2-5ml 左右,取样要求参考哺乳动物。

#### 细胞类

细胞送样量参照哺乳动物血液中白细胞数量4~10×10<sup>7</sup>/ml。收集生长 状态良好处于对数生长期的贴壁细胞(用酶消化好)或悬浮细胞,离心 移去培养液;再用 1× PBS 快速洗 1-2 次,低速离心除去 1× PBS;将细 胞移入无酶的 EP 管中,离心去除剩余上清后置于液氮或-80°C 冰箱中 速冻,干冰运输。

#### 1.使用前请确定血液RNA 稳定剂储存于室温;

2.采集血液于EDTA 抗凝管中,轻柔颠倒,充分混匀,避免出现凝血。将新鲜抗凝血轻柔上下颠倒混匀60次;

# 新鲜血液/骨髓血样品 使用RNA稳定剂保存 操作流程及寄送要求

3.取1ml 新鲜抗凝血加入15ml 锥底离心管按1:3 的比例再加入3ml 血液 RNA 稳定剂;准备至少2 管血液RNA 稳定剂保存的新鲜血液样品;

4.立即盖上管盖,上下颠倒混匀8-10次,室温放置2h以上,使血液样品充分裂解;

5.液氮速冻, 放入-80 度冰箱保存, 可保存六个月;

6.样品寄送时,封口膜将离心管管盖封紧,防震泡沫包裹离心管后干冰邮寄。

#### 注意事项:

- ①收集新鲜的血液注入采血管, 应立即上下颠倒, 充分混匀, 防止凝血;
- ②通过离心收集培养液中的细胞,使用1×PBS 缓冲液重悬细胞沉淀2-3 次,尽量去除残留的培养液;
- ③采血管需套装在50ml 的离心管中(内含缓冲材料),液氮速冻后干冰运输;不要将采血管直接液氮速冻,容易造成玻璃管破裂;
- ④用于提取RNA的血液样本4°冰袋寄送;
- ⑤医学样本RNA 提取优先使用RNA 稳定剂保存的血液样本,新鲜抗凝血和RNA 稳定剂 (DNA/RNA Shield)比例 1:3,处理时需要在室温下裂解 2 h 以上后再液氮速冻,-80 度保存。

# DNA、RNA样本

7

#### DNA 样品送样要求:

- 1.样品必须是双链 DNA, 单链 DNA 会影响测序;
- 2.提取好的基因组 DNA 应溶解于不含有 EDTA 的PH 8.0 缓冲液中, 可溶解于Tris-HCl 或ddH2O 中;
- 3.样品切忌反复冻融,运输过程务必全程保持低温,如果基因组天然降解情况严重,请事先联系 我方技术人员;
- 4.样品不要暴露在高温(>65℃ 1 h 以上)或极性环境中(pH < 6 或 pH > 9)如果样本来源生物的生存环境属于极端环境,提取样品前请与我方沟通提取方案;
- 5.样品溶液澄清无色,不粘稠,无不可溶解物质,无RNA污染;
- 6.不含螯合剂(如 EDTA),二价金属阳离子(如 $Mg^{2+}$ ),变性剂(如Md XDS,Triton-X100),不含生物组织中的;
- 7.污染物(如血红蛋白、腐殖酸、多酚);
- 8.样本避免接触紫外线、荧光染料等任何可能损伤DNA 的环境或试剂;
- 9.DNA 总量≥2μg,样品浓度≥20ng/μl。对于DNA 总量介于1-2μg 的样本,属风险建库上机。

#### RNA样本送样要求:

- 1.样品必须是无DNA污染的完整总RNA,若RNA中DNA污染较多,需先用DNasel去除DNA并进行纯化;
- 2.样品切忌反复冻融,运输过程务必全程保持低温;
- 3.样本不要暴露在高温或极性环境中(pH < 5或 pH > 9);
- 4.样品溶液澄清无色,不粘稠,无不可溶解物质,无 DNA 污染;
- 5.不含螯合剂(如EDTA),二价金属阳离子(如 Mg²+),变性剂(如胍盐,苯酚)、去污剂(如SDS,Triton-X100),不含生物组织中的污染物(如血红蛋白、腐殖酸、多酚);
- 6.样本避免接触紫外线、荧光染料等任何可能损伤 RNA 的环境或试剂;
- 7.RNA 总量,要求≥2μg,;对于RNA 总量介于1-2μg 的样本,属风险建库上机;
- 8.样品浓度≥20ng/μl;
- 9.样品完整性良好, Agilent2100 检测 RIN 值≥ 6.5。

# 其它特殊类型组织样本

V

- 1.病毒样本:不接收;
- 2.骨髓样本: 4℃冰袋寄送;
- 3.硅胶保存的植物样本如叶片,请提前联系,确认是否需要进行核酸修复;
- 4.酒精或者Trizol 等特殊保存液保存的样本,请弃净酒精后干冰送样,Trizol保存的样本请直接使用干冰寄送。



# 03 Ultra Long/Pore-C送样建议 ONT平台

# 植物样本

**送样量:** 2-5g新鲜嫩叶,请包装为0.3-0.5g/管(单子叶植物分装量为0.5-1g),标注好样品名称、采集信息等,确认与样品信息表一致。

#### 采样标记要求:

1.实生苗(由种子萌发)选取刚长出的幼嫩叶片;非实生苗选取顶芽或侧芽附近完全展开的幼嫩叶片。

#### 注意事项:

- ①采样前请提前24-48小时将植株或采样部位进行避光处理;
- ②植物类样本支持细胞核提取分离,如需增加该项目,请寄送活体植株;对于抽核类样本,如样本涉及真菌侵染、细菌处理、病毒、虫害等处理,需要确认样本详细情况,是否存在寄生/残留,如有寄生/残留,将会影响后期测序分析;
- ③为获取高质量核酸,降低植物次生代谢物对样品的影响,请取样分装后立即投入液氮快速冷冻 10min,转入-80℃冰箱保存,使用足量干冰运输;
- ④对于有特殊组织部位要求的样品,客户在送样之前需做好样品分样分管处理,并详细标记;
- ⑤叶片剪下后的称量等操作,请在短时间内(5-10分钟)完成,时间过长会导致叶片失水不可用,部分地区气温较高失水更快,操作时间需更短。如没有保湿条件,可将采集的叶片置于两层无菌水浸湿的洁净无纺布或纸巾中短暂保湿,分装前用无菌滤纸擦去叶片表面的水分;
- ⑥样品质量可有10%的浮动。比如每管样品包装需求0.5g,那么实际分装时可以在0.45-0.55g区间内浮动,以达到快速分装称重,减少样品称重处理时间;
- ⑦组织样品大小在满足提取总量所需基本要求外,尽量使样品易于取出,具体体现为锡纸折叠整齐有条理,不要团成团;自封袋分类合理有效,不要多余分装;冻存管中样品不宜塞满,如果为多次提取提供样品,建议分装。

# 动物样本

# 新鲜血液 采样标记要求

液样本

# |样量 采

1.哺乳动物等采集血液(5-12mL),然后加入含 EDTA 抗凝管中(不可使用肝素、柠檬酸钠等抗凝管),建议使用Cell-Free 采血管。

1.做好标记(样本名称,日期,体积)轻轻颠倒混匀十次,室温正立放置冰袋 (4℃)运输需避开节假日(注意冰袋尽可能多放,样本置于中间,保证箱体温 度维持在4℃);

2.从血液离体算起,运输至实验人员手中不可超5天,运输时间请考虑节假日。

东 字 血 流

送样量

1.哺乳动物血液用抗凝管采集后轻轻颠倒混匀十次,哺乳动物血液分装到2ml 离心管里, 1.6ml/管(至少5管, 若血量不足,可根据实际情况送样); 2 鱼类、禽类、两柄爬行类动物全血分装至1.5ml离心管中 100ul/ 管(至少5

2.鱼类、禽类、两栖爬行类动物全血分装至1.5ml离心管中,100ul/管(至少5管,若血量不足,可根据实际情况送样)。

- ①做好标记(样本名称,日期,体积),液氮速冻,干冰寄送;
- ②采血管建议使用塑料采血管,使用紫头EDTA抗凝管,请勿使用肝素抗凝管或枸橼酸钠抗凝管。

# 组织样士

送样量 总量2-3g, 每管分装0.2-0.5g。

**软组织(心,肝,脾,肾等)** → 动物解剖后,取出内脏软组织,用1×PBS 冲洗掉其他多余残留组织,用吸水纸去除多余的液体,然后用剪刀将组织分割为500mg/块,装入1.5或2ml 离心管中,做好标记(样本名称,日期,重量) 放液氮里速冻,干冰寄送。

# **纤维组织(肺,肠,肌肉)**→ 动物解剖后,取下相应组织,用1×PBS 冲洗掉其他多余残留组织(根据情况选做),用吸水纸去除多余的液体,然后用剪刀将组织分割为500mg/块,装入1.5 或2ml 离心管中,做好标记(样本名称,日期,重量)放液氮里速冻,干冰寄送。

注意事项

标记

①如动物个体较小无法达到送样量, 请提前联系;

②优先选择心脏、肾脏和脾等组织,其次可选择肝脏组织,最后选择肌肉组织。

# 送样量

组织0.5g,幼虫10-20000头;

因某些物种的标本较小,如准备果蝇等个体较小的样品,请送样前详细咨询。

由于部分截肢动物和昆虫个体较小,单一个体基因组DNA可能无法满足实验所需量,此时需采取多个个体混合提取DNA的方式,取样时需遵循以下原则:

1.根据物种繁殖特点,尽量选取纯合度较高的个体集合,例如colony、inbred line 等;

2.培养过程中尽量根据物种的生活习性设计适当的生活环境,避免外源污染(环境 胁迫、食物残渣、寄生物等);

注意事品

3.尽量选取最少的个体进行实验;

4.提前进行饥饿处理,降低肠道内容物污染;

5.不收取活体标本、仅可寄送处死后的冻存样本;

6.冻存样本:无法寄送活体的样本,需切除弃掉腹部,取头胸部送样,分装于2ml或50ml离心管中,标记好样本名称、重量等信息,液氮速冻,装至样品袋后寄送;

7.昆虫因其种类多,且杂质特殊,需安排试提取,根据提取后的DNA 判断后再决定该项目是否可进行后续实验。

# 临床组织/细胞系/细菌等其它类型样本送样要求

V

# 细胞系

#### 新鲜细胞培养液

**送样量:** 10<sup>6</sup> ~ 10<sup>8</sup> 个细胞,请提供3 份,最好是处于指数期生长的细胞。

**注意事项:** 将盛有细胞培养液的细胞瓶瓶盖拧紧, 瓶口包裹封口膜防止渗漏用滤纸包裹细胞培养瓶, 装入密封袋, 用气泡膜包裹, 室温运输, 需确保运输过程中细胞生长状态良好。

#### 细胞冻干粉

送样量:将细胞进行计数,计数后取1.5×10<sup>6</sup>个细胞作为一份,需3份。

- ① 2200×g 室温离心2 分钟, 去上清;
- ②每管加入40ul 1×PBS,使用200ul 宽口枪尖吹吸沉淀,使沉淀重悬,吹吸10次;
- ③用普通200ul 枪尖将40ul 细胞重悬液转移到另一个标记好的1.5ml EP 管,再次2200×g 室温离心 2 分钟:
- ④使用200ul 普通枪尖小心吸掉上清,尽量去除干净,不要破坏沉淀;
- ⑤液氮速冻后,干冰运输。

## 提取起始量: 100mg, 如有较多备份样本, 请多送一份备份样本, 避免寄送 临床 样 含有脂肪组织、结缔组织等样本。 注 样本 临床样本(实体瘤组织,骨髓等),需用1×PBS清洗掉淤血,吸干表面水分 意 事 后, 放入预冷的离心管, 液氮速冻, 干冰运输。 项 菌体量0.1-0.2g(干绿豆大小)起送,一般送0.5g左右,请收集对数生长期 样 的样本。 量 细菌 注 先富集培养, 在对数生长期离心收集菌体, 用无菌新鲜培养基清洗一次, 随 |意事 后用1×PBS清洗一次; 收集好的菌体液氮速冻后, 干冰保存送样。 项 送 样 液体培养的菌丝或菌体, 0.5g/管分装, 送样量为1-2g。 量 真菌 注 ①液体培养的样本,建议在对数生长期离心收集菌体,用1×PBS洗一次; 意事 ②蕈菌建议送菌褶, 0.5g 起送, 一般送1-2g 左右; ③样品均以液氮速冻,干冰运输。 项 样 建议送10<sup>6</sup>个细胞起送,一般送3×10<sup>6</sup>个细胞、离心去上清、1×PBS洗一次。 量 藻类 ①不同藻类得率、杂质含量不同、需要根据试提取结果、确定准确送样量; 意 事 ②样品均以液氮速冻,干冰运输。 项 ①样本速冻后如果不马上寄出注意快速放入-80℃,如果马上寄出放干冰保存即可; ②所有的样本离心管装好后使用自封袋封装, 防止样本在运输过程中渗漏;

其他 注意 事项 ③样本放入运输容器后注意加缓冲装置(泡沫或者气泡膜),防止运送过程中破损;

④所有样本均不可冻融(即低温冷冻后更高温度融化,再进行二次冷冻),若有冻融情况需提前告知;

⑤细菌类和真菌类样本不要送平板和带液体培养基的,样品一定是生长对数期的菌体;细菌和真菌核酸提取得率不稳定,细菌请尽量选取对数生长期的样本,如细菌胞外分泌物太多,请在送样前尽可能多的去除,如果是革兰氏阳性菌,请提前告知。



# 04 单细胞样本

# 新鲜组织样品

**送样量:** 200mg。

# 注意事项:

①取好的新鲜样本4℃保存, 30h 内送达实验室;

②若选择-20℃冰袋运输,请使用气泡膜等多层包裹样本管,务必确认液体在运输过程中不会冷冻结冰,运输过程中组织冻结会损伤细胞活性,确保样本全程处于2-8℃。

# 血液样本

送样量: 5-10ml全血。

# 注意事项:

①全血样本转移 至EDTA 抗凝管,上下颠倒10次后,保证样本2-8℃环境运输, 24h 内到达实验室。

# 冻存细胞

送样量: 3-6×10<sup>6</sup>cells/mL, 样本分装每管1ml, 如细胞足量建议首次寄送2-3管。

#### 注意事项:

①分离的细胞梯度冻存(程序降温仪或者异丙醇-80 $^{\circ}$ 0过夜后液氮保存);建议冻存密度3-6 $^{\circ}$ 10 $^{\circ}$ cells/mL;

②液氮保存的细胞, 干冰寄送, 干冰量需充足;

③细胞冻存请使用专用的细胞冻存管;建议首次寄送预实验时同一处理(每一个重复)送2-3份样本,以做备选。



# 05 转录组测序送样建议 MGI、ONT平台

植物组织

#### 送样量:

1.叶片、根: 送样量0.5g起送, 一般送1-2g左右;

2.茎、果实、花: 最低送样量为1g, 建议送样量为2-4g左右。

## 采样标记要求:

- 1.选取新鲜、幼嫩、生长旺盛的组织部位样本,在活体状态下擦净组织表面灰尘和杂质;
- 2.去掉枯叶和病害的部分,洗净浮土及杂质(灭菌水洗),用无菌滤纸将水擦干,锡箔纸包好并标记;
- 3.液氮速冻5min 以上, 迅速放入预冷好的有标记的冻存管中, (禁止使用自封袋、一次性PE手套包装样本), 转移到-80℃保存, 连同信息单干冰送样。

#### 注意事项:

- ①新鲜, 幼嫩、特别时林木类的物种更加要新鲜幼嫩;
- ②不要直接将叶片放入保存管,做好清洗和分装;
- ③不要使用RNA later保存【因植物组织含有细胞壁及次生壁,RNA不易渗透入组织内部】;
- ④不建议使用TRIzol保存;
- ⑤若样本有特殊性, 请详细告知。

# 动物组织

**送样量:** 送样量0.5g起送, 建议送1-3g左右, 分装成约1-2g/管。

#### 采样标记要求:

- 1.新鲜, 去掉有污染的部分, 洗净杂质(1× PBS清洗), 切成各1g左右的小块;
- 2.剔除结缔组织等非研究组织;
- 3.用2ml. 15ml. 50ml离心管或者锡箔纸装(锡箔纸包装的需要放到离心管中并做好标记)做好标记;
- 4.液氮速冻5min以上,放置-80℃保存,连同信息单干冰邮寄。

#### 注意事项:

- 1.尽量选取新鲜样本,优先以肌肉、血液、其次内脏组织,核酸不丰富部位,例如脂肪、成熟皮肤、骨头等部位建议增加送样量;
- 2.不要送整个大块的组织, 切成小块;
- 3.无法及时用液氮速冻保存的样本,可采用RNAlater保护液进行送样,不可先-80℃冻存后取出放入RNAlater浸润;
- 4.动物样本可加裂解液(Trizol),如使用Trizol裂解液保存送样,请先进行液氮淹没破碎,然后溶于TRIzol中液氮速冻,-80℃保存;
- 5.若样本有特殊性,请详细告知。

# 细胞样本

**送样量:** 培养的贴壁细胞和悬浮细胞最低送样量为1×10<sup>7</sup>个。

采样标记要求:

- 1.收集生长状态良好处于对数生长期的贴壁细胞(用酶消化好)或悬浮细胞、离心去除培养液;
- 2.用1×PBS快速洗1-2次,低速离心去除1×PBS,将细胞转入无酶的EP管中,离新去除剩余上清后 收集沉淀的细胞。-80℃冰箱中速冻,连同信息单干冰运输。

#### 注意事项:

- ①细胞样品必须裂解充分后再寄送,勿将冻存的细胞直接寄送,因为细胞冷冻的过程中冰晶容易 刺破细胞, 破碎的细胞会释放内源性RNase, 从而降解RNA;
- ②通过离心收集培养液中的细胞,使用1× PBS缓冲液重悬细胞沉淀2-3次,尽量去除残留的培养基。

# 血液样本

送样量:哺乳动物血液:最低1 ml起送,建议送样量为2-5 ml左右;鸟类、鱼类血液:最低送样 量0.5ml起送,建议送样量为1-3ml左右(4℃寄送新鲜血液)。

## 采样标记要求:

- 1.使用前请确定血液RNA稳定剂储存于室温;
- 2.采集血液于EDTA抗凝管中,轻柔颠倒,充分混匀,避免出现凝血将新鲜抗凝血轻柔上下颠倒混 匀60次;
- 3.取1ml新鲜抗凝血加入15ml锥底离心管,按1:3的比例再加入3ml血液的RNA稳定剂 (DNA/RNA Shield), 准备至少2管血液RNA稳定剂保存的新鲜血液样品;
- 4.立即盖上管盖,上下颠倒混匀8-10次,室温放置2h以上,使血液样本充分裂解;
- 5.液氮速冻,放入-80℃保存,可保存六个月;
- 6.封口膜将离心管管盖封紧,防震泡沫包裹离心管后连同信息单干冰邮寄。

#### 注意事项:

- ①收集新鲜的血液注入采血管,应立即上下颠倒5-10次、充分混匀,防止凝血;
- ②采血管需套装在50ml的离心管中(内含缓冲材料),液氮速冻后干冰运输;不要将采血管直接 液氮速冻,容易造成玻璃管破裂;
- ③医学样本RNA提取优先使用RNA稳定剂保存的血液样本、新鲜抗凝血和RNA稳定剂比例 1: 3(DNA/RNA Shield), 处理时需要在室温下裂解2h以上后再液氮速冻, -80℃保存;
- ④新鲜血液样本4℃冰袋寄送。

# 微生物单菌菌体

# 送样

量

采样

标记

求

项

菌液1ml (对数生长期)或0.1g菌体起送,一般送3-5ml菌液或0.5g菌体。

先富集培养, 在对数生长期离心收集菌体, 用1× PBS洗1-2次, 去除培养基;

用2ml, 15ml, 50ml离心管, 做好标记;

液氮速冻5min 以上, 自封袋装好样品和信息单, 干冰送样。

请勿寄送平板;

菌样本要 注 意 事

# 采集对数生长期的样本;

细菌DNA得率受物种及培养条件限制, 送样前请尽量提供物种信息;

请勿寄送含有致病性的病原体的样本。

# 真菌样本要求

RNA样本送样要求

# 送样 量

送样量5ml 菌液或 1g子实体/营养体样本起送。建议取样时分装至相应的 2ml离心管中。避免取样时反复冻融。

# 采样标记要求

真菌的种类很多,有菌菇类,送样建议参考植物;有培养的酵母类,送样建议参考细菌,如果不清楚生长对数期,尽可能在菌体生长初盛期取样;

液氮速冻5min 以上,自封袋装好样品和信息单,干冰送样。

注意事

项

如果是平板培养,请勿刮取培养基;

送样前请确认细胞核数量;

真菌的得率普遍不高,尽量多送菌体或菌丝。

# 核酸样本

V

- 1.样品必须是无DNA 污染的完整总 RNA,若RNA 中DNA 污染较多,需先用DNase I 去除 DNA 并进行纯化;
- 2.样品保存时间不超过15天,且再保存期间无反复冻融,运输过程务必全程保持低温;
- 3.样本不要暴露在高温或极性环境中(pH < 5或 pH > 9);
- 4.样品溶液澄清无色,不粘稠,无不可溶解物质,无 DNA 污染;
- 5.不含螯合剂(如EDTA),二价金属阳离子(如  $Mg^{2+}$ ),变性剂(如胍盐,苯酚)、去污剂(如SDS,Triton-X100),不含生物组织中的污染物(如血红蛋白、腐殖酸、多酚);
- 6.样本避免接触紫外线、荧光染料等任何可能损伤 RNA 的环境或试剂;
- 7.样本完整性良好,无降解,凝胶电泳成像中28s和18s条带清晰,完整;
- 8.样本A260/A280在1.5-2.4之间, A260/A230大于1.0;
- 9.二代RNA送样量≥400ng,浓度≥20ng/μl;ONT Direct RNA送样量≥50μg,浓度≥180ng/μl;ONT PCR-cDNA 送样量≥0.5μg,浓度≥50ng/μl;
- 10.样品完整性良好, Agilent2100 检测 RIN 值≥7。

# 其它特殊类型组织样本

- 1.病毒样本:不接收;
- 2.硅胶保存的植物样本如叶片请提前联系,确认是否需要进行核酸修复;
- 3.酒精或者Trizol 等特殊保存液保存的样本,请弃净酒精后干冰送样,Trizol保存的样本请直接使用干冰寄送。

# 06 微生物测序送样建议 MGI、ONT平台

# 土壤样本

V

送样量: 送样量1g 起送, 一般送2-3g 左右。

## 采样标记要求:

- 1.选择具有代表性的土壤采样, 多点采样取重量相当的土壤进行混匀;
- 2.采用多点采样法进行采样,每个样品至少从三个点取样混合,去除杂质后再取一定量土壤装袋/无菌管;
- 3.-80℃冷冻, 做好标记, 连同样品信息单干冰运输寄送。

#### 注意事项:

- ①取样深度和范围可根据研究目的确定;
- ②需注意植物根、昆虫等对微生物组成产生影响;
- ③若样本为根际样本,去除根部大块土壤,轻轻抖动植株去除附着不紧密的土壤,使用无菌毛刷等收集根部紧密附着土壤于无菌离心管中,存于无菌离心管中。

# 水体/发酵液样本

 $\bigvee$ 

#### 送样量:

- 1.水体样本取至少20L水样,用0.22μm或0.45μm滤膜过滤,直至滤膜上有肉眼可见的沉淀物,1张滤膜起送,一般送2-3张滤膜;
- 2.发酵液样本送液体或者沉淀物,液体建议5-10ml送样量,沉淀1g起送,一般送2-3g左右。

#### 采样标记要求:

- 1.滤膜和发酵液样本均用离心管保存;
- 2.-80℃冷冻, 做好标记, 连同样品信息单干冰运输寄送。

#### 注意事项:

- ①每张滤膜可过滤3L到5L水样,需及时更换滤膜;
- ②取样深度和范围可根据研究目的确定;
- ③具体取样体积可根据水体中微生物量做一定调整。

# 粪便/肠道内容物/食糜样本

7

#### 送样量:

- 1.人粪便1g起送,建议1-5g;小鼠粪便取3-5粒(不成形粪便0.1g-0.2g,大鼠粪便取2-3粒(不成形粪便0.3g-0.5g);
- 2.肠道样本大中型动物,如牛、羊、大鼠、家兔建议送样量1g~3g;小型动物如小鼠 0.8~1.5g;鱼、虾≥0.5g。在采样允许的情况下,尽量多采集样品;
- 3.食糜样品建议送样量1~3q。液体食糜可先离心取沉淀。

#### 采样标记要求:

1.-80℃冷冻、做好标记、连同样品信息单干冰运输寄送。



- ①取人粪便时最好先排尽尿液,避免尿液污染,用无菌勺子取粪便内部样本;
- ②取小鼠等动物时,放进干净的铺有消毒滤纸的笼子里,排便后立即收集起来保存在无菌离心管中;
- ③取肠道内容物时,用无菌解剖刀在无菌条件下取出整个肠道,切取所需肠道的内容物。

# 动物组织样本

V

送样量: 送样量0.5g 起送, 一般送1-2g 左右。

## 采样标记要求:

- 1.新鲜,去掉有污染的部分,洗净杂质(1×PBS/灭菌水洗)组织避免太大块,切成各0.5g左右的小块;
- 2.用2ml, 15ml, 50ml离心管, 做好标记;
- 3.液氮速冻10min以上,自封袋装好样品和信息单,干冰送样。

#### 注意事项:

- ①新鲜;
- ②去掉有污染的部分;
- ③不要送整个大块的组织,切成小块。

# 植物组织样本(内生菌)

 $\bigvee$ 

送样量: 送样量1g 起送, 一般送2-3g 左右。

#### 采样标记要求:

- 1.尽量选取幼嫩组织;
- 2.去掉枯叶和病害的部分,洗净浮土及杂质(灭菌水洗),用无菌滤纸将水擦干,锡箔纸包好并标记;
- 3.液氮速冻5min以上,速冻以后建议放在冻存管(或50ml离心管中),做好标记,连同样品信息单干冰运输寄送。

## 注意事项:

- ①尽量采取新鲜叶片;
- ②不要直接将叶片组织放在自封袋,建议锡箔纸包好,放入50ml离心管中,样品量较大时可以直接放在50ml离心管中,避免运输过程中样品包装损坏导致样本损坏或混淆;
- ③做好预处理:包括样本清晰、去除非样本以外的多余部分,组培样品请勿直接直接寄送,需将培养基清洗干净后取样;
- ④若样本有特殊性, 请详细告知。

# 血液样本(包括外周血、骨髓血、脐带血)

#### 详样量:

- 1.哺乳动物: 1ml起送, 建议送样量3~5ml左右;
- 2.鸟类、鱼类: 最低送样量为0.5ml起送, 请根据实验动物实际情况尽可能多的采样。

#### 采样标记要求:

1.取样时搜集新鲜的血液注入EDTA抗凝采血管,颠倒混匀,冰袋运输(3天内);或获取样后套装在50ml的离心管中(内含缓冲材料)液氮速冻,干冰送样(建议全血冷冻不要超过一年);

2.做好标记,连同样品信息单低温运输寄送(新鲜血液冰袋运输,冷冻样品干冰运输)。

- 1.收集新鲜的血液注入采血管,应立即上下颠倒5~10次,充分混匀,防止凝血;
- 2.采血管需套装在50ml的离心管中(内含缓冲材料),液氮速冻后干冰运输,不要将采血管直接液氮速冻,容易造成玻璃管破裂。



# 唾液样本 3

送样量:建议送样量1-2ml。

#### 采样标记要求:

- 1.低头,将唾液自然吐入无菌采集管中;
- 2.若唾液量少,可轻咬无菌棉签促进唾液分泌,再将唾液吐入采集管中;
- 3.-80℃冷冻,做好标记,连同样品信息单干冰运输寄送。

#### 注意事项:

- ①采集前30min内禁食、禁水、禁烟,避免漱口或使用口腔清洁剂,减少外界因素对口腔菌群的干扰;
- ②若采集对象为无法自主吐唾液者,可采用拭子采样。

#### 

送样量: 拭子样品建议送2-4根拭子头。

#### 采样标记要求:

- 1.使用无菌植绒拭子擦拭目标部位(如口腔、鼻腔、伤口等),往返擦拭5-10次,确保拭子上有肉眼可见的沉淀物;
- 2.-80℃冷冻, 做好标记, 连同样品信息单干冰运输寄送。

# 注意事项:

- ①避免接触手或其他非采样区域, 防止外源微生物污染;
- ②若需采集多个部位,需要更换拭子,避免交叉污染。

# 空气样本

送样量:1张滤膜起送,建议送样量滤膜3~5张(滤膜上有肉眼可见的空气颗粒物)。

#### 采样标记要求:

- 1.用不同孔径大小的无菌滤膜筛选目的空气微颗粒,将含颗粒的滤膜装入无菌离心管内,密封在-80℃储存;
- 2.-80℃或液氮中长期保存,连同信息单干冰邮寄。

#### 注意事项:

- ①滤膜上要有肉眼可见的空气颗粒物;
- ②过滤时间越长, 收集的空气中的灰尘越多, 菌数量越多。

# 核酸样本

#### 送样量:

- 1.二代测序平台、ONT扩增子: DNA送样浓度≥10ng/μl, 总量≥400ng;
- 2.ONT宏基因组: DNA送样浓度≥20ng/μl, 总量≥2μg。

#### 采样标记要求:

- 1.样品必须是双链DNA, 单链DNA会影响测序;
- 2.提取好的基因组DNA应溶解于不含有EDTA的PH8.0缓冲液中,可溶解于Tris-HCL或ddH,O中;
- 3.样品切忌反复冻融,运输过程务必全程保持低温,如果基因组天然降解情况严重,请事先联系 我方技术人员;
- 4.样品不要暴露在高温(>65℃1h以上)或极性环境中(pH<6或pH>9),如果样本来源生物的生



存环境属于极端环境, 提取样品前请与我方沟通提取方案;

- 5.样品溶液澄清无色,不粘稠,无不可溶解物质,无RNA污染;
- 6.不含螯合剂(如EDTA),二价金属阳离子( $Mg^{2+}$ ),变性剂(如胍盐,苯酚)、去污剂(如 SDS,Triton-X100),不含生物组织中的污染物(如血红素、腐殖酸、多酚);
- 7.样本避免接触紫外线、荧光染料等任何可能损伤的DNA环境或试剂;
- 8.-80℃冷冻,做好标记,连同样品信息单干冰运输寄送。

- ①需要提供NanoDrop,Qubit,电泳胶图,Agilent2100其中一种或多种形式的样品分析结果;
- ②为减少因为样品不合格而反复送样造成的时间延误,请您务必对样品进行严格检测。

# 07/代谢送样建议

# 细胞代谢组学样本处理方法

 $\searrow$ 

# 细胞样本处理步骤

**悬浮细胞样本:**离心收集悬浮细胞,用预冷的 $1\times PBS$ 快速清洗  $2\sim 3$ 次, $4^{\circ}C$ , $1000\times g$ 低速离心 1min,弃去上清,收集细胞(细胞沉淀 $50\mu$ L)于1.5mL离心管中,液氮速冻15min, $-80^{\circ}C$ 保存,足量干冰运输。

贴壁细胞样本(非靶&类靶): 将培养的细胞去除旧培养基,用预冷的1×PBS清洗2~3次,弃去上清后加入0.5ml 胰酶消化,最后用预冷的1×PBS溶液清洗细胞2-3遍终止胰酶的作用,转入进口离心管中,4°C,1000×g低速离心1min,弃去上清,收集细胞于1.5mL离心管中,液氮速冻15min,-80℃保存,足量干冰运输。(设置复孔采用胰酶消化法进行细胞计数)。

**靶向代谢贴壁细胞样本:** 将培养的细胞去除旧培养基,用预冷的1×PBS清洗2~3次,再加入少量1×PBS,用细胞铲刮下细胞,置于1.5mL离心管中,4℃,1000×g低速离心1min,弃去上清,收集细胞于1.5mL进口离心管中,液氮速冻15min,-80°C保存,足量干冰运输。(设置复孔采用胰酶消化法进行细胞计数)。

# 代谢流送样建议

1.用细胞计数板或可比较的系统计数细胞,再用吸管从培养皿把含有细胞的培养基转移到 离心管中(在干冰中或干冰/乙醇浴中);

2.离心 (0℃, 1000×g离心2分钟), 再用吸管或者移液器弃去培养基;

3.向离心管中加入1毫升预冷的1×PBS缓冲液,洗涤细胞(1-3次),离心(0℃,1000g离心2分钟),用吸管或者移液器弃去洗涤液;

4.样本冻存于-80℃环境,足量干冰寄送。

贴壁细胞

1.从培养箱中取出细胞(本处默认6孔板,或6cm或10cm培养皿或细胞培养瓶),置冰上,弃去培养液,或收集培养液并冻存于-80℃或液氮以用于培养液成分检测(胞外分泌物);

2.向(置冰上的)细胞培养板的每孔中分别加入1mL冰冷1×PBS缓冲液(默认6孔板),洗涤细胞(1-3次),弃洗涤液,暂存于冰上;

3.加液氮覆盖细胞,以迅速停止细胞活性;

4.加400μL冰冷甲醇(如果使用液氮,需待液氮挥发后加), 轻轻打旋以确保所有细胞被甲醇覆盖, 封盖, 放-80℃冰箱中保存30分钟以上;

5.加100µL预冷的超纯水, 轻轻混匀;

贴壁细胞

6.使用合适的细胞铲刮细胞,使90%以上细胞脱离培养材料而进到甲醇水悬浮液中,将细胞连同溶剂一起收集到合适的密封良好的旋盖离心管或细胞冻存管中;

7.加200µL冰冷80%甲醇水溶液洗涤细胞残渣,收集洗涤液并与此前收集的样本合并。样本冻存于-80℃环境,足量干冰寄送。

## 注意事项:

①若收样方法与上述方法不同,请在送样时将收样方法一并附上,除此之外正常送样时还需将标记底物和标记类型等信息一并附上。

# 细胞培养基(研究细胞外代谢)处理步骤

1.将培养的细胞去除旧培养基,用1×PBS清洗2-3遍,然后加入无血清培养基继续培养一段时间,根据实验设计或细胞状态选择合适时间吸取大于5mL贴壁细胞的培养基,1000×g, 4°C离心1min, 取全部上清, 液氮速冻15min, 冻存到-80°C冰箱内, 足量干冰寄送。

# 细胞培养上清液处理步骤

- 1.培养细胞去除旧培养基,用1×PBS清洗2-3遍,然后加入无血清培养基继续培养一段时间;
- 2.根据实验设计或细胞培养状态选择合适时间收集细胞上清;
- 3.4℃, 1000 ×g, 离心10 min去除细胞, 收集上清;
- 4.4℃, 10000×g, 离心10min去掉细胞碎片, 取上清分装到1.5mL的离心管中, 液氮速冻, -80°C冻存。

#### 注意事项:

- ①每个样本收集细胞数目尽量保证一致,上述整个过程需尽量迅速完成;
- ②培养基类型影响代谢物的种类、需保证细胞培养过程中培养基类型一致;
- ③研究胞外代谢, 在保证细胞存活率的情况下请使用无血清培养基;
- ④将每个样本做好标记;
- ⑤贴壁细胞用1×PBS冲洗后尽可能去除干净上清,保证后续加入1mL甲醇水溶液后各样本的样本量一致。

# 血浆、血清代谢组学样本处理方法

7

样本 处理 步骤

血浆

1.推荐使用肝素钠抗凝管采集全血,并尽快进行血浆分离: 3000 rpm 4°C离心 10min,取上层,0.2mL/管分装至1.5 mL 离心管中;

2.做好标记后,液氮速冻15 min,-80°C冰箱冻存。足量干冰寄送。

血清 样本 处理 步骤

1.血液收集在离心管或真空采血管中 37°C(或室温)静置 1h 进行凝固分层。然后 3000rpm 离心5min,取上清转至干净的离心管中。再 12000rpm 4°C离心 10min(也可只进行一次离心后完成取样),取上清分装到1.5 mL离心管中,每管 0.2mL,做好标记后,液氮速冻15min,-80°C冰箱冻存。足量干冰寄送。



#### 注意事项:

①取样前动物样本禁食不禁水至少10h,临床样本取样前3天,注意饮食清淡,取样前一天8点以后禁食禁水。样本处理过程尽量保持一致,包括样本放置时间、离心时间等;

②取血时如用酒精消毒,请擦干擦拭部位,待酒精完全挥发后再取样;

③采血管选择:血浆:推荐使用肝素钠抗凝管(绿色头盖),柠檬酸钠抗凝剂(蓝色或黑色头盖)与EDTA抗凝剂(紫色头盖)会对代谢物产生干扰及基质效应,但EDTA抗凝管的干扰可以通过对样本进行脱盐操作消除影响,使用EDTA抗凝管请提前进行备注。血清:采血时请使用不加抗凝剂的真空采血管(红色盖头);

④建议尽量多收集样本并使用1.5mL离心管分装冻存,切记避免反复冻融;

⑤血清参考得率:  $30\%\sim50\%$  (例如: 1mL 全血大约能得  $0.3\sim0.5mL$  血清); 血浆参考得率:  $\approx$  50% (例如: 1mL 全血大约能得 0.5mL 血浆);

®若样本出现溶血问题,请参考下图中比色卡,样本颜色为后两种时溶血现象较为严重,不适合继续做代谢组学实验,需重新收集样本。

# 唾液代谢组学样本处理方法

## 样本处理步骤:

1. 上午9:30-11:30取样;

2.用生理盐水漱口后,将唾液外吐于无菌痰杯内(保持冰浴),不要咳痰,短时间内收集足量样本; 3.4 ℃,2000×g离心10min,取上清,再经0.22 $\mu$ m滤膜过滤除菌(可不过滤),分装2-3管,液氮速冻15min,保存于-80℃,足量干冰寄送。

#### 注意事项:

禁食禁烟禁酒1h以上,取样前不要刷牙;

建议尽量多收集样本并使用1.5mL离心管分装冻存,切记避免反复冻融。

# 尿液代谢组学样本处理方法

#### 样本处理步骤:

1.上午9:30-11:30取样;

2.用生理盐水漱口后,将唾液外吐于无菌痰杯内(保持冰浴),不要咳痰,短时间内收集足量样本; 3.4℃,2000×g离心10min,取上清,再经0.22 $\mu$ m滤膜过滤除菌(可不过滤),分装2-3管,液氮速冻15min,保存于-80℃,足量干冰寄送。

## 注意事项:

①禁食禁烟禁酒1h以上,取样前不要刷牙;

②建议尽量多收集样本并使用1.5mL离心管分装冻存,切记避免反复冻融。

# 眼泪代谢组学样本处理方法

#### 样本处理步骤:

1.上午9:00-12:00之间取样;

2.请受试者眼睛向上看,用准备好的Schirmer试纸,将具有圆弧度的一端夹持于眼睑外1/3处结膜囊内,另一端挂于眼外,请受试者轻轻闭眼;

3.收集时间为5min,取下的试纸放入1.5 mL离心管中,液氮速冻15min;

4.保存于-80℃直至送样,足量干冰寄送样本。

## 注意事项:

①每天每只眼睛采集的眼泪样品不超过一个。

# 粪便、肠道内容物代谢组学样本处理方法

7

#### 样本处理步骤:

1.收集到新鲜粪便或肠道内容物样本后,分装样本250mg/管,然后立即用液氮速冻处理 15min,做好标记后保存至-80°C冰箱,足量干冰寄送。

## 注意事项:

①由于粪便/肠道内容物中有非常多的微生物,微生物代谢速度非常快,所以反复冻融会对代谢水平有非常大影响。建议样本收集后,按照250mg/sample进行分装冻存。

# 拭子代谢组学样本处理方法

- 1.阴道拭子:尽可能使明亮的光线照进被采样者阴道,将洁净的拭子(已称重)轻轻插入 阴道内部,停留片刻后缓慢转动后退出。将拭子头置入离心管中,尾部弃去,拧紧盖 子,液氮速冻15min。保存于-80℃直至送样,足量干冰寄送样本;
- 2.咽拭子:明亮的光线从检查者肩膀上方照射进张开的口腔,让患者深呼吸,然后发"啊"音,用压舌板轻轻压舌,再用洁净的咽拭子(已称重)来回擦拭双侧咽扁桃体及咽后壁,然后将拭子头置于离心管中,尾部弃去,拧紧盖子;
- 3.尽可能使明亮的光线照进鼻腔,将洁净的鼻咽拭子(已称重)轻轻插入鼻道内鼻腭处,停留片刻后缓慢转动退出。以另一拭子拭另侧鼻孔。将拭子头置于离心管中,尾部弃去、拧紧盖子;
- 4.取样前天晚上不要刷牙,第二天早上在未进食前取样。首先用无菌生理盐水冲洗收集区,棉卷隔湿,之后根据实验目的,用采集拭子分别采集牙齿的舌面、唇面、龋齿损伤区域等部位的牙菌斑。采集时建议由同一操作者进行牙菌斑采集操作,在同一部位来回刮擦3-4次,每个样本均采用一个采集拭子进行采集。采集完成后,将拭子放到离心管里15min。保存于-80℃直至送样,足量干冰寄送样本。

注意事项

- ①取样前后对拭子进行称重,用以确定取样量;
- ②咽喉取样时, 拭子不能接触到口腔和舌粘膜;
- ③取样时间最好在发病72小时内,晨起后。

# 微生物代谢组学样本处理方法

#### 微生物菌体取样步骤:

- 1.采用离心法收集菌体(保证离心后菌体的体积一致);
- 2.用预冷的PBS快速冲洗2-3次,每次清洗后4°C,5000rpm,离心5min;



- 3.将上清完全弃去, 菌体收集在1.5 mL进口离心管(冻存管)中;
- 4.液氮速冻15min, -80°C保存, 足量干冰运输。

#### 微生物培养液 (研究胞外代谢) 取样步骤:

- 1.培养好的菌液混匀后,取大于5mL的菌液,3000rpm,4°C离心10min;
- 2.取全部上清,液氮速冻15min,冻存到-80°C冰箱内,足量干冰寄送。

## 微生物固体培养基取样步骤:

1.用刀片将培养基切成正方形片,液氮速冻15min,冻存-80℃冰箱内,足量干冰寄送。

# 注意事项:

- ①微生物代谢速度非常快, 所以所有的步骤需要尽快完成;
- ②不同样本间菌体数量要保持一致;
- ③一般OD600在0.6~0.8之间表明细菌处于对数生长期,经验浓度为10°/mL,需根据具体情况确认。

# 植物类代谢组学样本处理方法

7

# 叶片、茎、花样本处理步骤:

- 1.取整片叶片/一段茎/一朵花,用锡箔纸包裹并标记后,迅速放入液氮中冷冻处理至少15min;
- 2.取出后迅速放入自封袋中(每组一袋),在自封袋中放入标签纸注明样本信息;
- 3.迅速放入-80°C冰箱冻存。足量干冰寄送。

# 注意事项:

- ①采集叶片样本时,最好在中午光照好的时间收集;
- ②根据实验设计,采集样本时保持样本一致性,尤其是同一组样本(颜色、衰老程度、叶脉占比、光照、位置等);
- ③由于锡箔纸上 marker 笔标记容易模糊,所以建议同时在自封袋中放入标签纸注明。

# 根样本处理步骤

7

- 1.取整株植物的根部,迅速用1×PBS漂洗掉根上的泥土;
- 2.根据具体实验设计取植株根特定的部位,500 mg/sample 装入离心管中;
- 3.做好标记后迅速放入液氮中冷冻处理至少 15min;
- 4.-80°C冰箱冻存。足量干冰寄送。

#### 注意事项:

- ① PBS 漂洗时间要尽快;
- ②由于根部组织特别脆弱,被挤压后会变成浆糊状,所以推荐保存至离心管中,不建议用锡箔纸包裹。

# 果实、种子样本处理步骤

1.对于含多汁、块头较大的果实(番茄、西瓜、苹果等)需要先用锋利的刀分割成"均匀"合适的小块(≈250mg/sample)分装至1.5mL 离心管中,做好标记后迅速放入液氮中冷冻处理至少15min; 2.对于细小的颗粒种子(拟南芥种子、谷物种子等),可以先将同一组的植株种子混匀后再分装(≈250mg/sample)至1.5 mL 离心管中。做好标记后迅速放入液氮中冷冻处理至少15min; 3.对于要求对整个果实进行提取的(整粒葡萄等),需要把果实装在50mL 离心管中/自封袋中,做好标记后(同时放入自封袋中标签纸,注明样本信息)迅速放入液氮中冷冻处理至少15min。**注意事项:** 

①对多汁的果实进行取样很难保持均一性(如番茄、皮、果肉、果瓤、籽的占比),强烈建议将

整个果实进行研磨、冻干,对粉末进行称重分装;②不推荐用锡箔纸包裹。

# 土壤代谢组学样本处理方法

#### 取 样 壊 様 本

1.将收集到的土壤样本用离心管收集,冷冻干燥,去除多余水分;

2.将土壤进行过筛处理: 使用2mm土壤筛以中速振动2分钟, 并用容器收集;

3.将收集到的样本每1g放入进口离心管(冻存管)中,液氮速冻15min, -80°C保存, 足量干冰运输。

# 根系分泌物样本取样步骤

1.实验室培养植物:选择长势良好的幼苗,并使用去离子水根部以去除残留土壤, 将幼苗放置于培养液中培养1-2个月,选择并取出其中生长状况良好的植株,使用 去离子水反复清洗根部2-3次以去除营养液的残留成分;之后将植株用适量去离子 水培养24h(注意根部避光);混合3个及以上单株植株的水培液体,过滤,真空蒸 干,并于-80℃保存;

2.田间作物:取田间长势良好的单作植株,挖出植株完整的根系,给根系套袋后埋回原处处理72h;取出初步处理植株,用去离子水充分清洗根系后用湿润的滤纸包裹根系,使用去离子水保持滤纸的湿润,将包裹的植株置于50ml离心管中,用封口膜封住管口后将离心管埋回原处;处理24h后,截取滤纸覆盖的根系,用冰盒暂时保存至实验室后,加入100ml的去离子水进行震荡提取30分钟,最后将液体进行抽滤后进行蒸发浓缩,最终液体或者干粉保存于-80℃待测。

## 注意事项:

①土壤筛和收集容器均需用70%乙醇进行擦拭,并保证使用时是干燥的。



# 08样品打包与寄送

- 1.核对信息单和样品信息是否完全对应(将纸质版信息单装入自封袋中, 随样本寄送);
- 2.使用5cm厚度的泡沫盒/箱寄送样品,干冰加入量10kg起(如气温较高请按3kg/天的干冰量蒸发量补加),最终请在泡沫盒外套瓦楞纸箱密封后寄送。

# **②**送样地址

四川省成都市高新区天府大道北段1480号孵化园1号楼A座3-1

# !注意事项

- 1.样品名称注意填写规范;
- 2.首字母为英文字符,不含中文字符,空格请以下划线替代;
- 3.如\*、¥、#、!、^、! 等非字符符号不能使用;
- 4.生物学重复建议用后缀编号如CK\_1,CK\_2,CK\_3形式区分,组名则去掉后缀数字编号直接记为CK,如无重复则不用填组名;
- 5.建议不超过8个字符;
- 6.请使用记号笔进行样品名称标记、避免使用标签纸(低温冷冻脱落);
- 7.随样品一起务必附有送样信息单;
- 8.寄样前,务必保证样品标记信息与信息单完全一致,便于核对信息,冷冻后的样本不易核对,长时间多次核对信息易导致样品降解。