



测序类样品处理存储及运输指南

上海三黍生物科技有限公司 编制



测序样品准备储存及运输指南

1. 样本准备基本原则

1.1 代表性原则

取样的代表性关系到实验结果是否准确以及具有生物学意义, 因此应根据实验目的和样本情况慎重选择取样方案。疾病组织样本中应不带有正常组织, 正常组织样本不能含有病变组织。保证实验组与对照组样本在取材时间、部位、处理条件等方面尽可能保持一致, 否则可能会影响实验结果的可信度。

1.2 迅速性原则

样本质量对实验结果影响很大, 因此用于测序研究的样本在采集、制备、贮存以及运输过程中应尽可能地做到迅速, 最大限度的缩短从样本采集到实验的时间, 避免核苷酸尤其是RNA的降解。

1.3 分装备份原则

为避免反复冻融影响样本质量, 建议样本采集后立即进行分装保存。在采样允许的情况下, 每例样本尽量准备多份分装好的样本作为备份。对于联合分析或者多个检测项目时, 最好预先分装好。

1.4 污染控制原则

取样工具, 如切割用的手术刀, 盛放容器, 应尽量选用干净的**一次性工具 (转录组需要 RNase-free)**, 若是重复利用的工具, 建议进行RNase灭活处理。

1.5 低温原则

样本收集过程尽量在冰上操作。样本收集之后, 液氮速冻, -80°C 保存。寄送过程保证足量干冰。



2. 样本送样量要求

样品类型	建议量/最低量	样品寄送要求	备注
人组织	>150/50mg	组织放于 2.0ml 无菌无核酶的带旋盖的冻存管中进行寄送。	
动物组织	>150/50mg	组织放于 2.0ml 无菌无核酶的带旋盖的冻存管中进行寄送。	
植物组织	>300/100mg	组织先用锡箔纸包好或装入 15.0ml 无菌无核酶的带旋盖的冻存管中，然后将样品做好标记，装入密封袋后进行寄送。	锡箔纸包的样品单独密封，防止运输过程中样品混杂。
细胞	>10 ⁷ /10 ⁶	培养皿中的细胞用 PBS 清洗 2~3 次，去除 PBS 后，直接加入裂解液反复吹打几次使细胞裂解，然后将裂解好的细胞裂解液进行寄送。	裂解液如果没有，可事先联系本公司提供。
微生物 (细菌、真菌)	>150/50mg	培养的菌体用 1.5ml 无菌无核酶的离心管进行离心，去除培养基及水分，只留菌体沉淀在离心管中进行寄送。	寄送时用封口膜将离心管密封，防止运输过程中管口弹开。
土壤、粪便	>2g/250mg	样品分别装入密封袋或者 15.0ml 无菌无核酶的带旋盖的冻存管中进行寄送。	
体液类包括但不限于血液，尿液，脑脊液，灌洗液，关节液等	>2.5mL	1 此类样本做测序与运营沟通。 2.抗凝采血管 4°C寄送，运送时间不超过 24 小时。 3.其它液体应液氮速冻，干冰寄送	如果是提取 RNA，为了保证核酸质量，建议使用 PAXgene 公司的血液 RNA 采血管。

备注：

(1) 不同类型样本的 RNA 产量差别较大。含肌纤维、脂肪类物质的动物组织以及含多糖多酚、淀粉较高的复杂植物样本，RNA 提取率一般较低，送样量需加大。

(2) 长期保存的样本有更高的降解风险，因此样品应尽量选取新鲜采集样本。

3. 样本制备方法

3.1 植物组织

(1) 选取所需的新鲜组织，冲洗干净（转录组用 RNase-free 无菌水），再使用 75%乙醇冲洗，用吸水纸吸干样品表面，保存于 RNase-free EP 管/冻存管，或者用锡箔纸包裹。

(2) 采用 RNAlater 等保护剂保存，或直接液氮速冻，-80°C保存。

备注：

No. 188, Jimei Road, Gangzha, Nantong, Jiangsu Province

Tel:4000-390-590/ (0513) 8907-0987

Email:sanshuanalysis@126.com www.sanshubio.com



- 选材时应选取核酸含量较多部位，如植物的幼嫩部位。
- 建议植物混合取样，应尽量选择长势及外部环境等条件一致的样品进行混样。
- 大部分的植物样品可直接浸泡在 RNAlater 等保护剂中，但对于有石蜡层等天然屏障植物组织样本，需要将植物样品尽量剪成小块或进行匀浆，确保保护剂能渗透到组织内部。
- 如果不使用保护剂处理，清洗干净后液氮速冻后干冰寄送即可。

3.2 动物/临床组织

(1) 选取所需的新鲜组织，在冰上迅速用预冷的 PBS 缓冲液（转录组用 RNase free）或的 0.9%生理盐水（转录组用 RNase free）冲洗，并剔除结缔组织、脂肪组织和毛发等非研究所需的组织类型。操作时间过长会导致 RNA 降解，建议不超过 2min。

(2) 如果组织体积较大，应尽量将组织切成黄豆大小的小块，长宽高均 ≤ 0.5 cm 的小块（组织块越小，保存效果越好）。

(3) 样本保存：

方案一：采用 RNAlater 等保护剂保存，注意请严格按照相关产品的说明书进行操作。

方案二：采用 TRIzol 裂解液保存：首先液氮研磨样本，然后按照 10-15 mg 组织加 1ml TRIzol 的比例加入 TRIzol 裂解液。组织样品切勿过量，常温裂解 5 min 后， -80°C 低温保存。

方案三：液氮速冻， -80°C 保存（测序类通用）。

备注：

- 对肿瘤组织的取材，应尽可能准确地判定肿瘤和正常组织，肿瘤组织应将周围的正常组织切除干净，正常组织也应将周围的肿瘤组织切除干净。
- 肿瘤组织本身 RNase 较活跃，离体后请立即分割、速冻保存组织样本，推荐优先选择 RNAlater 保护剂保存。
- RNAlater 适用于肿瘤及容易降解的组织部位，其他正常组织同样适用。

3.3 贴壁细胞

(1) 确定细胞生长状态良好。

(2) 去除培养基，向细胞培养瓶或培养皿中加入 PBS 缓冲液快速清洗，清洗之后彻底去除 PBS 缓冲液。

(3) 按每 10 cm^2 培养面积（相当于六孔板一个孔或 35mm 直径培养皿）加 1 ml TRIzol 的比例加入 TRIzol 试剂。用 1ml 枪头反复吹打，使 TRIzol 接触所有长有细胞的培养瓶表面。充分消化后，将 TRIzol 液体全部转移到 RNase-free 的螺旋口冻存管中。



(4) 液氮速冻, -80°C 保存。

备注: 条件不允许时, 可加入预冷 PBS 缓冲液, 用干净的细胞刮棒将细胞刮于培养皿的一侧 (动作要快), 冰上斜置培养皿, 使得缓冲液流向一侧。移液管吸取溶解产物至预冷的离心管内。离心去上清收集细胞沉淀, 直接液氮速冻, -80°C 保存, 干冰运输。

3.4 悬浮细胞

(1) 确定细胞生长状态良好。

(2) 离心得到细胞沉淀, 去除培养基, 加入 PBS 缓冲液快速清洗, 离心去除 PBS 缓冲液。

(3) 按照每 5×10^6 个细胞加入 1 ml TRIzol 的比例加入 TRIzol 试剂。用 1 ml 枪头反复吹打, 直至看不见成团的细胞块, 整个溶液呈清亮而不粘稠的状态。

(4) 液氮速冻, -80°C 保存。

备注: 条件不允许时, 离心去上清收集细胞沉淀, 直接液氮速冻, -80°C 保存, 干冰运输。

注意事项:

●细胞培养过程中, 可能会遇到支原体污染, 建议在样本收集之前进行支原体检测, 以免支原体污染影响样本数据。检测方法可根据个人需求选择市面上的相应检测试剂盒。

●原代细胞量尽量多一些, 尽量 10^6 。若不能达到, 可采用微量细胞抽提盒, 但抽提试剂盒属于特殊物料需要采购, 周期可能会较长。

3.5 细菌

(1) 显微镜下观察细菌生长状态, 收集对数期的细菌

(2) 离心去除培养基, 收集菌体

(3) 液氮速冻, -80°C 保存。

备注: 不建议用 RNAlater 保存, 因为 RNAlater 密度较大, 提取时不易分离菌体。

3.6 培养真菌

(1) 将待测真菌在直径 6cm 的培养皿中培养 3 天

(2) 用封口膜对培养皿进行封口, 再放置于封口袋中, 里面添加棉花等固定, 常温运输。

3.7 真菌菌菇类

(1) 将真菌类植物样本切成长宽高均 $\leq 0.5\text{cm}$ 的小块

(2) 液氮速冻, -80°C 保存。

4. 样品标识、包装及运输

4.1 样品标识



(1) 样品管标记名称务必与样品信息单上的名称完全一致。样本命名只能是以英文字母开头，数字、 "-"(短横线) 任意组合，不能包含中文，空格或其他特殊字符，正确示例： A-1,A-2,B-1,B-2。

(2) 请在每个样品管上清晰、简明地标记样品名称（采用质量较好的油性笔，并避免与乙醇等有机溶剂接触，以免标记模糊）；

(3) 样品管标记名称务必与样品信息单上的名称完全一致。

4.2 样品包装

(1) 样品尽可能采用 RNase-free 的 1.5 ml 或者 2 ml 离心管（进口离心管）保存，运输时采用封口膜密封离心管，如管内为有机溶剂，务必采用螺旋口的冻存管并密封。

(2) 不方便存储在离心管中的体积较大的组织样品，推荐采用锡箔纸等材料仔细包装。

4.3 样品运输

推荐采用双层泡沫盒密封包装，盒中加入足量的干冰。同时按照要求填写技术需求表并将电子版发送给销售人员。