

# 2025 年国际定向进化大赛实验记录

实验时间：2025 年 4 月 16 日 18:00 — 2025 年 4 月 19 日 17:00

## 全基因组测序样本制备与送检

### 一、实验目的

对 T24 野生型细胞株及低、中、高耐药 T24-RC48 细胞株进行全基因组测序样本制备，通过干冰运输至测序公司，用于后续基因组变异分析，探究耐药性相关基因组改变。

### 二、实验内容

#### 2.1 实验设计

样本类型：T24 野生型细胞株、低/中/高度耐药 T24-RC48 细胞株。

重复次数：每组 3 个样本。

#### 2.2 测定原理

全基因组测序（Whole Genome Sequencing, WGS）将基因组 DNA 随机片段化后构建文库，利用下一代测序技术（NGS）对片段进行大规模并行测序，并通过生物信息学方法将短序列拼接还原为完整基因组。具体流程包括：提取高质量 DNA 后，通过物理或化学方法将长链 DNA 随机打断成 200-500bp 的小片段，经末端修复、加接头、PCR 扩增等步骤构建测序文库；随后采用边合成边测序或单分子实时测序技术，对文库中每个 DNA 片段的两端进行碱基延伸并捕捉荧光信号，转化为数字化序列数据；最终通过序列比对、变异检测（SNP、CNV 等）和功能注释，揭示个体基因组的结构差异及功能特征。该技术具有单碱基分辨率、高覆盖度及全基因组无偏检测能力，广泛应用于癌症基因组分析和物种进化分析等领域。

### 三、材料与试剂

#### 3.1 材料

枪头、15ml 离心管均购自 Axygen 公司

吸管购自国产公司

移液器：Eppendorf

T25 培养瓶购自 Corning 公司

10cm 细胞培养皿（Corning 公司）

液氮、干冰

人膀胱移行细胞癌细胞株（T24）

低，中，高耐药细胞株 T24-RC48

# 2025 年国际定向进化大赛实验记录

实验时间： 2025 年 4 月 16 日 18:00 — 2025 年 4 月 19 日 17:00

## 3.2 试剂

PBS、胰酶均购自美国 Gibco 公司

McCoy's5A 培养基来自上海源培生物科技股份有限公司

胎牛血清（FBS，Gibco 公司）

## 四、实验仪器

超净台：苏州净化设备厂

台式常温低速离心机：Eppendorf 公司

## 五、实验步骤

5.1 将低，中，高耐药及野生型 T24 细胞株铺在 10cm 培养皿中，待细胞长至 80%以上。

5.2 弃培养液，加入 4℃预冷的 PBS，平放轻轻摇动 1 分钟后弃去 PBS。重复以上操作 3 次以充分洗去培养液。

5.3 将培养皿置于冰上，向培养皿内加入 1ml 4℃预冷的 PBS。用干净的细胞刮棒将细胞快速刮于培养皿的一侧，冰上斜置培养皿，使得缓冲液流向一侧。

5.4 使用移液管吸取细胞悬液至预冷的 1.5ml 离心管内，离心去上清。

5.5 标记样本编号，液氮速冻后转移至 -80℃ 保存。

5.6 干冰包装，填写测序公司交接单（附样本信息表），寄送至测序公司。

## 六、实验操作照片

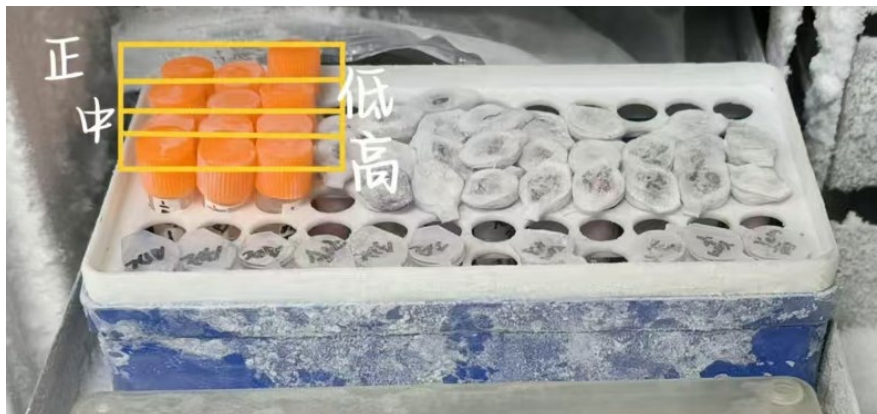


图 1 全基因组测序制备的样本

## 七、实验结果

# 2025 年国际定向进化大赛实验记录

实验时间： 2025 年 4 月 16 日 18:00 — 2025 年 4 月 19 日 17:00

## 3.1 检测结果总表

序号	样本名称	样本编号	文库类型	核酸编号	浓度(ng/ul)	体积(ul)	总量(ug)	检测结论	检测结果备注	剩余量	电泳原液上样量(ul)
1	正1-M-GSGC0447672	SKDO250000415-1A	DNA小片段文库	SZTD250000415-1A	414.516	60	24.87096	Pass	None	0	2
2	正2-M-GSGC0447672	SKDO250000416-1A	DNA小片段文库	SZTD250000416-1A	263.162	60	15.78972	Pass	None	0	2
3	正3-M-GSGC0447672	SKDO250000417-1A	DNA小片段文库	SZTD250000417-1A	399.944	60	23.99664	Pass	None	0	2
4	低1-M-GSGC0447672	SKDO250000418-1A	DNA小片段文库	SZTD250000418-1A	387.704	60	23.26224	Pass	None	0	2
5	低2-M-GSGC0447672	SKDO250000419-1A	DNA小片段文库	SZTD250000419-1A	386.781	60	23.20686	Pass	None	0	2
6	低3-M-GSGC0447672	SKDO250000420-1A	DNA小片段文库	SZTD250000420-1A	21.76	60	1.3056	Pass	None	0	2
7	中1-M-GSGC0447672	SKDO250000421-1A	DNA小片段文库	SZTD250000421-1A	585.067	60	35.10402	Pass	None	0	2
8	中2-M-GSGC0447672	SKDO250000422-1A	DNA小片段文库	SZTD250000422-1A	355.123	60	21.30738	Pass	None	0	2
9	中3-M-GSGC0447672	SKDO250000423-1A	DNA小片段文库	SZTD250000423-1A	155.131	60	9.30786	Pass	None	0	2
10	高1-M-GSGC0447672	SKDO250000424-1A	DNA小片段文库	SZTD250000424-1A	137.64	60	8.2584	Pass	None	0	2
11	高2-M-GSGC0447672	SKDO250000425-1A	DNA小片段文库	SZTD250000425-1A	73.875	60	4.4325	Pass	None	0	2
12	高3-M-GSGC0447672	SKDO250000426-1A	DNA小片段文库	SZTD250000426-1A	49.492	60	2.96952	Pass	None	0	2

## 八、结果分析

本实验完成了 12 个样本的全基因组测序文库构建与质控，所有样本（包括野生型及低、中、高耐药梯度组）的 DNA 小片段文库均通过标准化质检流程，检测结论均为“Pass”，未发现异常（检测结果备注均为“None”）。文库浓度（263.166–414.516 agu/ $\mu$ L）与总量（23.20–24.87  $\mu$ g）高度一致，且电泳原液上样量统一为 2  $\mu$ L，表明样本制备与文库构建操作规范，批次间波动可控。各样本核酸编号与体积数据完整对齐（体积均为 60  $\mu$ L），满足全基因组 50X 测序深度要求，为后续变异分析（SNP/CNV/SV）提供了高可靠性数据基础。