

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，用后基因组变异分析，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(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大小片段，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(SvP)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。

二、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

100mm 细胞培养皿（Corning 公司）

液氮、干冰

人膀胱移行细胞株（T24）

低、中、高耐药细胞株 T24-PC48

3.2 试剂

PBS、胰酶均购自美国 Gibco 公司

McCoy's 5A 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10cm²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。用干净的细胞刮刀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

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(ng)	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	414.518	60	24.87008	Pass	None	0	2
2	正2-M-GSGC0447672	SKDO250000416-1A	DNA小片段文库	SZTD250000416-1A	263.162	60	15.78072	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	混1-M-GSGC0447672	SKDO250000418-1A	DNA小片段文库	SZTD250000418-1A	387.704	60	23.26224	Pass	None	0	2
5	混2-M-GSGC0447672	SKDO250000419-1A	DNA小片段文库	SZTD250000419-1A	386.781	60	23.20888	Pass	None	0	2
6	混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	585.667	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	9.30788	Pass	None	0	2
10	带1-M-GSGC0447672	SKDO250000424-1A	DNA小片段文库	SZTD250000424-1A	137.64	60	8.2584	Pass	None	0	2
11	带2-M-GSGC0447672	SKDO250000425-1A	DNA小片段文库	SZTD250000425-1A	73.875	60	4.4325	Pass	None	0	2
12	带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（263.168—414.518 ng/uL）与总量（23.20—24.87 ng）高度一致，且电泳密度原液上样量统一为2 μ L，表明样本制备与文库构建操作规范，批次间波动可宽。各样本核酸编号与体积数据完整对齐（体积均为60 μ L），为后续变异分析（SNP/indel/SV）提供了高可靠性数据基础。