

二代基因组测序	>
三代测序	>
转录组测序	>
表观组测序	>
单细胞测序	>
空间转录组	>
基因分型	>
质谱分析	>
自建库	>

## 1. 植物样本

- [1.1 植物组织样本说明](#)
- [1.2 样本制备运输注意事项](#)
- [1.3 样本制备方法](#)
- [1.4 植物组织送样量建议](#)

### 3. 血液样本

- 3.1 血液样本说明
- 3.2 血液样本要求
- 3.3 样本保存要求
- 3.4 样本运输要求

## 5. DNA样本

- 5.1 核酸样本说明
- 5.2 核酸送样浓度建议
- 5.3 核酸质量建议
- 5.4 样品运输
- 5.5 样本检测
- 5.6 DNA样本文库构建风险

## 7. 打包及寄送建议

## 2. 动物样本

- 2.1 动物样本说明
- 2.2 样本制备运输注意事项
- 2.3 样本制备方法
- 2.4 特殊样本注意事项
- 2.5 动物样本送样量

#### 4. 细胞样本

- #### 4.1 细胞样本要求

## 6. PCR产物

- 6.1 组织样本
- 6.2 核酸样本

声明：

实验室不接收《人间传染的病原微生物名录》 ([点击查看](#)) 的所有样品。对于高毒性动植物等样品，必须事先通过销售、客服或运营经理与诺禾致源技术人员联系，确定无高致病性和传染性后才能寄送样品。

提取风险提示和注意事项：核酸提取质量与物种及组织部位、采集方法及保存状态、提取方法及操作、实验器材及环境等因素均有密不可分的联系，尤其是三代超长提取对样本的要求更高。组织提取时可能受到上下游处理操作的影响，因此较难保证单次提取满足质量要求，客户应在寄送组织样品前进行备份。为了保障获得高质量的核酸，请务必按照送样手册所规定的准备样本。对珍贵样本或者微量样本，建议自行提取。取样过程中，需要全程佩戴手套，并且使用预冷乙醇对取样器材进行擦拭消毒，以免样本污染。

## 1. 植物样本

### 1.1 植物组织样本说明

- (2) 样本的取材优先选择核酸含量相对较高的组织。幼嫩的组织最佳，如幼叶，幼芽。可送组培苗但不推荐冷冻保存的组织。建议优先采集新鲜组织样品送样，尽量避免送保存过久的组织样本和反复冻融的组织样本。

## 1.2 样本制备运输注意事项

- (1)建议在采集样本之前，将样本置于黑暗环境24 ~ 48 h后再取材。如果需要立即取材，请尽快采集好样本后，迅速置于低温保存或运输，减少植物中化合物的氧化对核酸的影响。
- (2)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离处理，尽量避免寄送活体植物。
- (3)建议采用带有螺口的冻存管送样，管壁上标明样品名称；自封袋可以留剪刀口后折叠封存；一般不建议离心管送样，不得已用离心管时，离心管口需用封口膜封死。



- (4)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。

### 1.3 样本制备方法

1.3.1 新鲜组织样：

(1)组织取样前准备好足够的冰袋，写好样品名称编号的合适大小的自封袋和锡纸。

(2)取样时尽量保留叶柄，使用无菌水或75%乙醇擦拭或冲洗干净，用潮湿的吸水性较好的纸或纱布包裹，不要让材料干枯，但不能太湿，以免泡坏样品。材料珍贵的样品，请一片片叶片分开包裹，不要重叠，以防叶片烂毁浪费。

(3)新鲜材料的运输，从-20℃取出的冰袋不要直接接触样品，以免造成保湿用纸结冰，导致样品局部冻伤。

1.3.2 冻存组织样：

(1)组织取样前准备好足够的液氮，写好样品名称编号的合适大小的自封袋、锡纸或者冻存管。

(2)迅速取下合适大小的新鲜的植物组织部位，使用无菌水或75%乙醇擦拭或冲洗干净，再用吸水纸吸干样品表面后,迅速浸没于液氮中。

(3)将组织样品从液氮取出放入准备好的自封袋、锡纸或者是预冷的冻存管中。再次将样品进行液氮冷冻后放入足量干冰箱寄送或置于-80℃保存。

1.4 植物组织送样量建议

由于不建议客户取样后常温称重,所以重量可参照该对照关系：0.5 g对应植物为9cm²叶片，略大于一元硬币大小。

具体送样量建议 WGS 文库至少 0.2 g，GBS文库至少 0.5 g，RAD文库 至少1 g，总体建议送样 2 g 以上。

2. 动物样本

2.1 动物样本说明

(1)动物主要包括脊椎动物、节肢动物和水产类，涵盖常规的哺乳动物、鸟类、爬行动物以及两栖动物，昆虫和虾蟹类动物等。

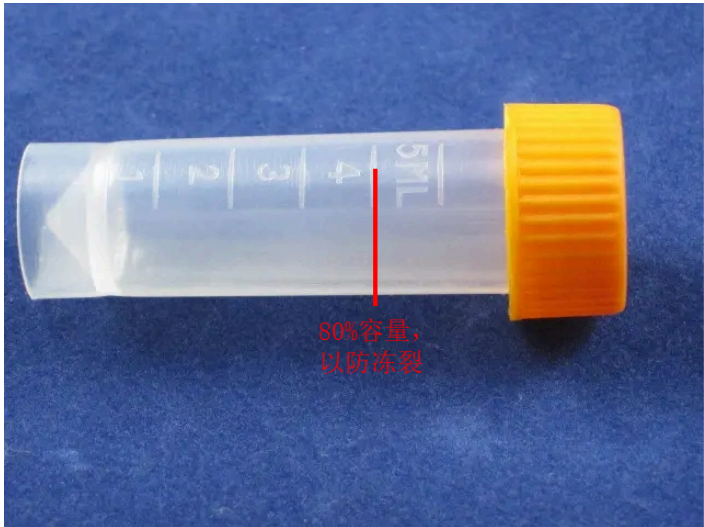
(2)送样需要选择新鲜采集的样本，建议优先采集核酸含量相对较高的组织， 尽量避免送保存过久的组织样本和反复冻融的组织样本，特别是动物肝脏，脾脏，肾脏，心脏，脂肪，脑，肿瘤等有较高DNA酶活性的组织。

2.2 样本制备运输注意事项

(1)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离、解剖等处理，严禁寄送活体动物。

(2)样品分割和处理时应在冰上进行，防止样品降解。

(3)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，达到容量的80%即可。如果为多次提取提供样品，建议根据提取次数分装。



2.3 样本制备方法

(1)组织取样前准备好足够的液氮、冰袋等，写好样品名称编号的合适大小的自封袋、锡纸或者冻存管，管盖须钻孔（防止管内液氮体积膨胀爆炸），并在冻存管内加满液氮。

(2)迅速取下适量的新鲜的动物组织，用预冷的生理盐水进行漂洗，以去除血渍和污物，并剔除结缔组织和毛发等非研究组织，将样品分割成50 mg左右的小块（约黄豆大小），立即浸入装有液氮的冻存管中彻底冷冻，再将样品放入足量干冰箱寄送或置于-80℃保存。

(3)无法使用冻存管采集保存的样品，离体后仍需将样品立即浸入液氮彻底冷冻，再选用合适的容器包装，包装后需再浸入液氮中彻底冷冻一次，最后将样品放入足量干冰箱寄送或置于-80℃保存。

2.4 特殊样本注意事项

2.4.1 昆虫样本

昆虫污染较为严重，需额外进行以下处理：

- (1)饥饿处理：根据物种饥饿耐受情况，饥饿6 ~ 48 h。
- (2)喂食抗生素：昆虫尽量使用广谱抗生素或者近缘物种报道过的无菌品系构建所使用的抗生素种类、浓度，处理天数2 ~ 5 d，可视物种情况而定。
- (3)去除肠道或整个腹部，保留胸部、头部提取。
- (4)表面消毒：75%乙醇浸泡1 ~ 2 min，无菌水漂洗1 ~ 2次，滤纸吸干后速冻。

2.4.2 甲壳动物、软体动物和刺胞动物样本

- (1)甲壳动物（虾类和蟹类等）&软体动物（海绵和海参等）&刺胞动物（珊瑚等）送样前需额外使用75%的乙醇进行漂洗。
- (2)针对刺胞动物，可去除头部和肠道等部位，保留肌肉外壁用于提取。

2.5 动物样本送样量

动物组织 WGS 文库样品量应大于 0.1g；RAD-seq文库送样量大于0.5 g；GBS-seq文库送样量大于0.5 g。

3 血液样本

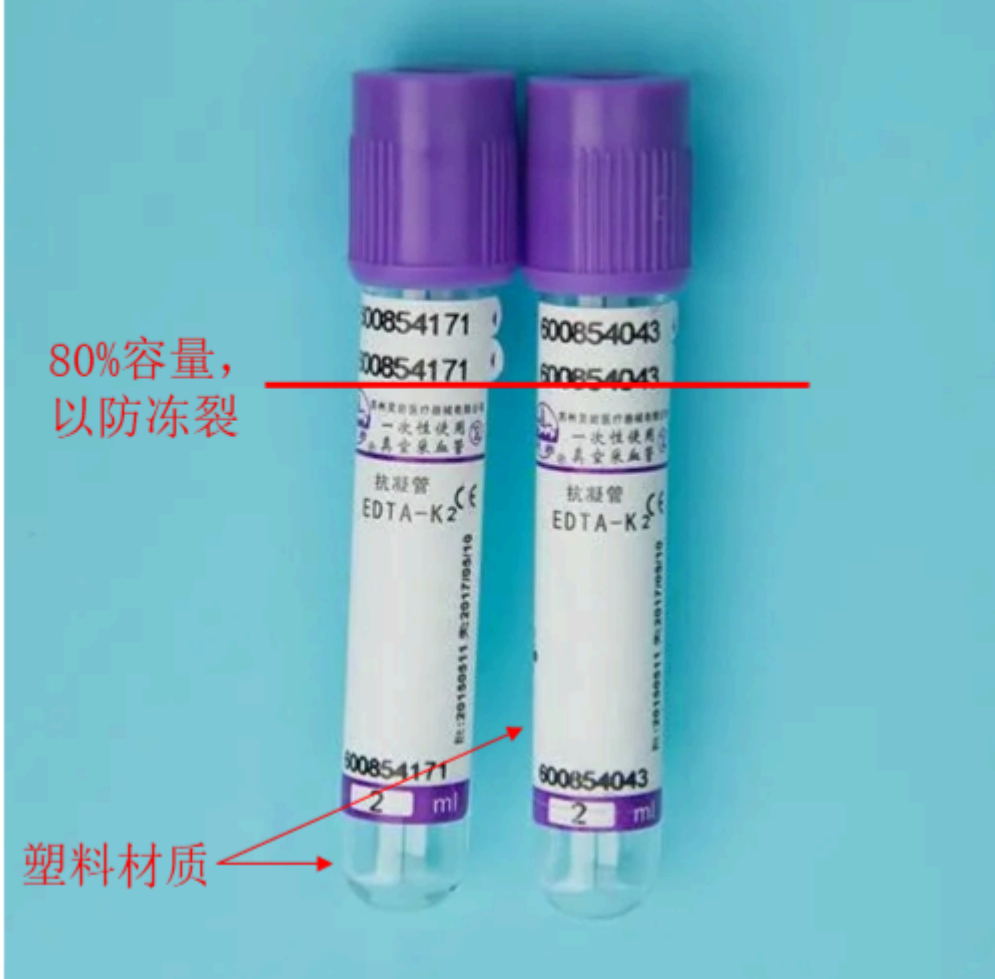
3.1 血液样本说明

新鲜血样或是冻存血样均需要使用EDTA抗凝管进行采集并与抗凝剂充分混合，血液样本不建议保存时间过长，新鲜血液不超过24 h，冻存血液不超过1年。

3.2 血液样本要求

样本类型	WGS	RAD-seq	GBS-seq
动物血液（哺乳类）	≥ 1 mL	≥ 1 mL	≥ 1 mL
动物血液（红细胞有核类）	≥ 0.5 mL	≥ 0.5 mL	≥ 0.5 mL

- (1)要求为全血样本，并加入抗凝剂，推荐使用EDTA抗凝的采血管收集样品（由于会影响实验，不能使用肝素抗凝），冷冻后，干冰运输。
- (2)血液样本一定要避免反复冻融，如果血液放置时间过长，或经历过反复冻融，请务必提前沟通，以尽量保证血液样本核酸提取质量。因放置过久或经历过反复冻融的样本经常会发生细胞核破裂，核酸游离于血浆中。加入抗凝剂后的新鲜血液一般可以在4℃放置12 ~ 24 h，但经过速冻后的样本一定要低温保存。
- (3)血液样品应使用塑料材质的采血管送样，不宜装满、达到80%容量即可。应避免使用玻璃材质采血管送样或装液太满，以至冻裂。



(4)干冰寄送：寄送样本时需要足够的干冰，以保证全程低温运输。

### 3.3 样本保存要求

#### 3.3.1 动物或人新鲜血液样本

当新鲜血液采集后运输并可在5 d内运达时，请参照如下指导：

(1)用EDTA管采集血液。采集后的血液可放置到采血管混匀仪室温混匀15 min，或手动轻柔缓慢颠倒混匀15次，确保无凝血现象。

(2)采血用封口膜封口后保存在4℃，使用4℃冰袋运输（请勿使用-20℃冰袋）。

#### 3.3.2 鱼血（或水生动物血液）样本

新鲜采取的血液，要加抗凝剂，抗凝剂可以根据客户自己平常的研究来确定。采样后，请妥善-80℃保存好，运输到实验室前不能有过冻融。取好的样品一周内送到实验室，超过一周请重新准备样本。

#### 3.3.3 冷冻血液采集及预处理指南

推荐将采集后充分抗凝的血液进行分装，以便进行后续储存和运输。分装650 μL ~ 1 mL全血（针对不含有带核红细胞的血液）。一次提取仅需要一管分装血液，推荐额外送样一管作为备份。将血液抽取到EDTA管中，采集后的血液，可放置到采血管混匀仪室温混匀15 min。或手动缓慢混匀15次，保证与抗凝剂的充分混匀，确保无凝血现象。

将血液进行分装，每个冻存管分装650 μL ~ 1 mL血液。将每份血液迅速放到-80℃冰箱冷冻。如条件不具备的话，最晚在采血后4 d内完成冷冻。

注：如果血液已经冷冻，切勿为了分装而解冻。可将整管血液送样，如有需要可安排返样。冷冻全血样本需要保证从冷冻之日起，恒定保存在-80℃，没有经历过样本化冻。

### 3.4 样本运输要求

#### 3.4.1 新鲜血液打包运输指南：

(1)将采血管放入密封袋中，塑料袋内放置吸水纸（吸附意外的泄露）。切勿用纸巾包裹采血管。

(2)使用泡泡纸松松地包裹密封袋。不要用胶带直接包裹或钉密封袋。

(3)将打包好的采血管放入体积足够的聚苯乙烯泡沫箱中，放入足够的冰袋（4℃），保证运输过程低温。如有需要，加入缓冲材料。使用最快速的运输服务进行运输。

注：新鲜血液必须在采血5 d内运达。如果不能够在5 d内运达，则需冷冻新鲜血液（参考如下冷冻血液运输指南），EDTA抗凝，5 ~ 10 mL。

#### 3.4.2 冷冻血液打包运输指南

(1)分装后的冷冻管口需用封口膜包裹，将所有样品管放到密封袋中。

(2)用泡泡纸松松地包裹密封袋，不要用胶带直接包裹或钉密封袋。

(3)使用可放下合适体积的干冰和样品的聚苯乙烯泡沫箱，确保运输过程干冰量足够。使用最快速的运输服务进行运输。

## 4. 细胞样本

### 4.1 细胞样本要求



- a. 细胞送样量>5\*10<sup>6</sup> ，优先选择生长对数期细胞，若细胞贴壁培养，需要去除培养基，使用胰酶消化；
- b. PBS悬浮消化后的细胞，转入冻存管，离心去除上清；
- c. 立刻液氮速冻15min，-80保存，干冰保存运输；
- d. 不建议寄送冻存未复苏的细胞

## 5 DNA样本

### 5.1 核酸样本说明

#### 5.1.1 核酸样本检测方法

(客户在核酸样本寄送前，需提供样本基本质控结果，常见样本质控包括Qubit®、NanoDrop™、AGE（琼脂糖凝胶电泳）或者Agilent 2100中一种或多形式的样品分析结果。

#### 5.1.2 核酸样本检测项目及说明

v：体积（Volume），样品（溶液）体积。

m：总量（Total Mass），DNA/RNA总量。

c：浓度（Concentration），DNA/RNA浓度。

OD260/280：OD260/280比值，DNA检测中260与280吸光度值比，反映DNA纯度。

OD260/230：OD260/230比值，DNA检测中260与230吸光度值比，反映DNA纯度。

#### 5.1.3 样品分类

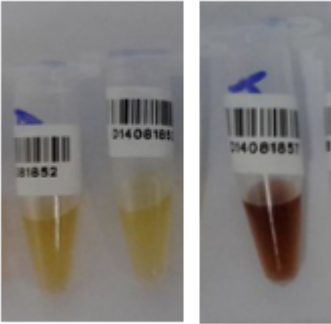
Pass：合格，质量满足二代建库要求。

Fail：样品质量不满足建库测序要求，不建议使用。

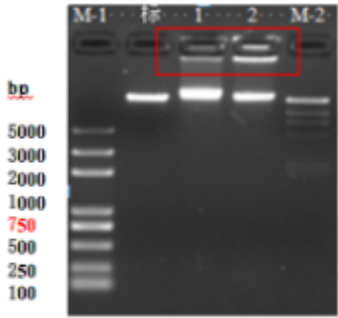
#### 5.1.4 风险与建议

总量不足或浓度过低存在以下风险：1、文库构建可能失败；2、文库产量低不能上机测序或测序数据不足；3、影响文库随机性、数据覆盖度偏低。因此对于核酸总量不足、过低或降解的样本，若仍需要建库，则请自行承担风险。

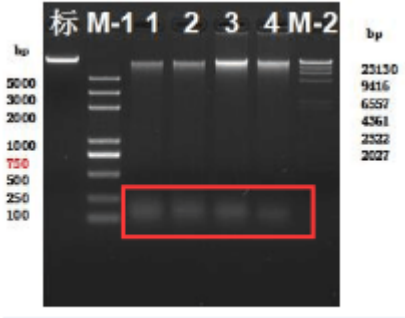
降解样品：影响文库随机性，可造成duplication偏高等。



c1. 有颜色



c2. 蛋白杂质



c3. RNA 污染

### 5.2 核酸送样浓度建议：

(1)WGS 文库送样总量应至少大于 400ng，浓度大于 24ng/μL

(2)GBS文库送样总量大于300ng，浓度大于10ng/μL

因部分客户核酸含有杂质、颜色等物质导致会产生大量损失，为保证您的样本一次检测合格并节约宝贵的重送样时间，送样建议量是高于公司判定标准的，请您在核酸量足够的前提下尽量按照送样建议来送样，感谢您的大力支持与配合。

### 5.3 核酸质量建议：

提取的DNA需要无核酶和RNA的污染，DNA浓度测量建议用Qubit测定，最低浓度不低于40 ng/μL；DNA的主带需要大于40 Kb，越大越好；DNA纯度经过Nanodrop检测，A260/280需在1.8 ~ 2.0之间，A260/230在1.9 ~ 2.4之间，NC:QC（样品 NanoDrop 所测浓度与 Qubit 所测浓度比值）在0.95 ~ 3.0之间。

### 5.4 样品运输：

DNA可溶解在TE buffer或ddH<sub>2</sub>O中，样品送样前需保持在4℃，碎冰邮寄，或根据具体情况用干冰邮寄，切忌反复冻融；

5.5 样本检测：

对于收到的DNA样品，诺禾致源将用1 μL的DNA去检测浓度（Nanodrop和Qubit分别检测），用200 ng的DNA去上样，用脉冲电泳检测条带大小，如样品不符合建库要求会尽快将结果反馈给客户。

注：含乙醇的DNA样本需提前告知。

5.6 DNA样本文库构建风险：

- (1)总量不足可能导致：
- a. 文库构建失败；
  - b. 文库产量低不能上机测序或测序数据量不足；
  - c. 影响文库随机性；
  - d. 导致数据产量和覆盖度偏低；
- (2)样品降解（尤其基因组样品）：影响覆盖均一性和随机性；可造成duplication偏高等。
- (3)含有杂质样本：可能造成文库构建失败，建议纯化后送样。

6. PCR产物

6.1 组织样本

样本类型	PCR-free文库 350bp （基因组）	PCR-free文库 非350bp （基因组）
植物组织	>3g	>3g
动物组织	>1.5g	>1.5g
细胞	>8*10 <sup>8</sup> 个	>>8*10 <sup>8</sup> 个
动物血液(哺乳类)	>5mL	>5mL
动物血液(红细胞有核类)	>3mL	>3mL
唾液	>10mL	>10mL
菌液(对数生长期)	>5mL	>5mL
土壤	3mL	3mL
粪便、肠道内容物、食糜	>2mL	>2mL
瘤胃液	>2mL	>2mL
水体(滤膜)	直径4cm滤膜3张	直径4cm滤膜3张
拭子	>10个	>10个

6.2 核酸样本

- a.PCR产物要经过纯化（如胶回收纯化），确保条带单一，无降解，无引物二聚体
- b.送样时使用干冰或冰袋运送
- c.PCR产物构建pcr-free文库时，PCR产物不可以加illumina测序接头（P5、P7序列、搭桥序列）

文库类型	浓度	体积	总量	备注
扩增子（pcr产物单建库）	-	20μl≤V≤120μl	>1500ng	针对核酸有杂质、污染、粘稠、颜色等情况,需要过柱纯化后送样 或者酌情增加送样量
PCR-free文库 350bp	>24ng/μL	20μl≤V≤120μl	>2μg	
PCR-free文库 非350bp	>24ng/μL	20μl≤V≤120μl	>5μg	

## 7. 样本打包及寄送建议

### 样本的打包

#### 核酸样本

- (1)核酸样品建议使用质量好的1.5 mL或2 mL低吸附EP管装载样品，并用封口膜封口。为了防止样品管破裂，或者污染和混乱，请不要使用诸如PCR管、0.5 mL EP管、八联管、96孔板、深孔板等非标准管送样。非标准管不利于样品保存以及后续实验的进行。如有样品使用非标准管制备，还请在送样前自行转管处理。
- (2)为了防止样品运输途中由于干冰挤压而损坏，少于10管的样品建议将EP管放入50 mL离心管，并在50 mL离心管中用棉花或卫生纸固定；大量样品建议将EP管放置在冻存盒中，并在冻存盒外面包裹气泡垫。
- (3)用乙醇沉淀的样品由于运输中会有少量乙醇挥发出，建议将样品管盖用封口膜缠绕4 ~ 5圈。

#### 组织样本

- (1)建议根据送样量使用不同规格带螺纹帽的EP管、冻存管或者离心管装载组织样品，并用封口膜封口。
- (2)为防止样品管在运输过程中受到干冰挤压破裂，最好将样品管放到50 mL离心管或其他支撑物中，并在支撑物里添加棉花或卫生纸缓冲。大量样品建议将EP管放置在冻存盒中，并在冻存盒外面包裹气泡垫。
- (3)使用锡箔纸、自封袋装载的样品，为防止运输中受挤压破损，建议将锡箔纸折叠整齐装在自封袋中，在样品包装外用气泡垫包好并固定。
- (4)对于血液样品，建议采用5 ~ 10 mL塑料抗凝采血管装载，为了防止运输过程中采血管因挤压而损坏，需要将每支采血管管身用气泡垫包好，然后放置到塑料或纸质包装盒中。
- (5)为方便处理和保存，组织样品送样量请不要超过建议送样量的5倍（特殊的得率较低的样品除外）。

### 样本的名称标识

- (1)所有的样品必须具有清晰的标记，并且简洁明了。
- (2)使用锡箔纸包装的组织样品建议在锡箔纸内外均标记样品名称，并将锡箔纸放在自封袋中，自封袋外面再标记上样品名称，防止锡箔纸上样品名称模糊引起样品混乱。
- (3)使用乙醇沉淀的核酸样品，由于挥发出的乙醇会使Mark笔的标记模糊，建议用油性笔将样品名称写在标签纸上，然后用透明胶带将标签纸粘贴在样品管壁上，并缠绕2 ~ 3圈。
- (4)样品名称建议使用“字母+数字”命名方式标注在管盖。其他信息如日期、浓度、物种等可标注在管壁。所有标注内容需与《样品信息单》保持一致。