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	>

真核转录组 <u>送样建议</u>

### 1. 真核转录组

- 1.1 组织样本
- 1.2 核酸样本

#### 2. 样本打包及寄送建议

- <u>2.1 样本的打包</u>
- 2.2 样本的名称标识

#### 声明:

实验室不接收<u>《人间传染的病原微生物名录》(点击查看)</u>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.真核转录组

#### 1.1 组织样本

#### a. 植物组织:

- 成熟部位,例如植物茎、根、种子等部位建议2倍以上送样
- 需要清洗的样本,可以无菌水或75%乙醇冲洗表面,吸水纸吸干
- 样本离体后,在冰上立即分割50-100mg小块,2-3管备份,放置冻存管并立即液氮速冻,放置-80℃保存,避免未经速冻直接放-80℃保存
- 不建议使用RNAlater等RNA 保护试剂保存植物组织样品;因为植物细胞含有细胞壁,RNA保护试剂很难渗透
- 不建议使用TRIzol保存;TRIzol法并不适用于萃取大多数植物样本,植物组织中的RNA提取多采用专门的提取试剂 盒,而TRIzol保存会影响试剂盒提取液的提取效果

### b. 动物组织:

- •对于动物组织,建议选用新鲜样本,采集样品时应选取核酸含量较多的部位;核酸不丰富部位,例如脂肪、成熟皮肤、骨头等部位建议酌情增加送样量
- 生理盐水漂洗; 剔除结缔组织等非研究组织
- 样本离体后,在冰上立即分割50-100mg小块,2-3管备份,放置冻存管并立即液氮速冻,放置-80℃保存,避免未经速冻直接放-80℃保存
- •无法及时用液氮速冻保存的样本,可采用RNAlater等RNA保护液进行送样,注意完全按照RNA保护液操作,尽量使组织块尺寸保持在5mm左右,过小不利于样本收集,过大则保护液不能均匀的渗透到组织。切记不可先-80℃冻存后取出放入RNAlater浸润
- 动物样本可加裂解液(TRIzol,或其他同TRIzol使用方法一致的裂解液);如果使用TRIzol裂解液保存送样,请务必 先进行液氮研磨破碎,然后溶于TRIzol中液氮速冻;-80℃保存

### c. 细胞样本

- 生长状态良好的悬浮细胞或贴壁细胞
- 悬浮细胞:每5×10<sup>6</sup>个细胞(非送样量)加入1ml TRIzol试剂,用枪头反复抽打细胞,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;转移到的离心管中,液氮速冻,放置-80℃保存
- 贴壁细胞按每10cm<sup>2</sup>培养面积(相当于六孔板一个孔或35mm直径培养皿)加1ml TRIzol试剂;用枪头反复吹打,使TRIzol接触所有长有细胞的培养瓶表面,并进行充分消化,反复抽打细胞直至看不见成团的细胞块;转移到离心管中,液氮速冻,放置-80℃保存
- •此外,也可将细胞用PBS缓冲液快速洗一次,离心之后收集得到细胞沉淀,液氮速冻,放置-80℃保存

### d. 血液样本:

- 血液相关的产品只接全血或分离的细胞样本,不接血清/血浆
- 常见血液样本处理方法:
- (1) TRIzol法;
- (2) PAXgene RNA tube法(全血样本更推荐此保存方法,需自备BD管保存送样);

(3) 离心分离得到白细胞或者PBMC。

除上述三种外,全血样本也可不做处理,直接液氮速冻,但由于血液中RNA含量低,同时血细胞容易破裂、释放RNA酶,造成RNA降解,所以提取成功率低

- TRIzol法: 先把血液放到抗凝管里,震荡混匀,使血液和抗凝剂充分混合,再抽出一部分和TRIzol混匀,TRIzol和血的比例=3: 1,震荡混匀,不要有血块,液氮速冻,-80℃冻存,干冰寄送
- 因转录组测序分析对RNA质量要求较高,建议30天内送样进行RNA提取

### e. 菌体:

- 建议收集液体培养基中对数生长期的菌体
- 通过低速离心收集菌体并尽可能将培养基去除干净,然后用无菌水或PBS缓冲液冲洗样品1~3遍,送菌液沉淀
- 不建议用RNAlater保存,因为RNAlater密度较大,取时不易分离菌体
- 不建议加入裂解液,细菌的提取一般使用试剂盒
- 不建议加TRIzol,影响菌体裂解
- 直接送滤膜时,建议送样≥5张,不要将多张滤膜叠在一起后速冻寄送,将滤膜一张一张放入50ml离心管,液氮速 15min,-80℃冻存,干冰寄送

#### f. FFPE样本:

- 福尔马林固定后石蜡包埋的组织简称为FFPE样品
- 送样要求:
- 1) 厚度在5-10μm,组织面积大于25mm<sup>2</sup>的切片12张;
- 2)FFPE样本常温或者冰袋寄送即可
- 样本准备建议:
- 1) 获得样本后,尽快开始固定;
- 2)将样本切薄再浸泡(5-10um或更薄最好);
- 3) 避免过度固定,浸泡时间过长;
- 4)纯化的样品最好是固定或者包埋时间在半年内的样本,放置时间越长,对RNA纯化越不利
- 提示: 为保证实验的顺利,建议样本备份1-2份,以防备部分样本降解重新取材、制备或送样,耽误时间

样本类型	核链特转录组	
11.124=	IN METOTY SCALE	
新鲜植物组织干重	叶片、花≥0.3g; 根、茎、种子等其他组织≥0.5g	
新鲜动物组织干重	内脏组织、脑组织 ≥ 0.08g; 脂肪、皮肤、骨头、血管等其他组织 ≥ 0.3	
新鲜培养细胞	>≥5*10 <sup>6</sup> 个	
新采集的全血(加入 TRIzol)	>≥5mL	
新采集的全血 (液氮速冻)	>≥2mL	
PAXgene 采血管	≥1 管	
石蜡切片	厚度在5-10μm,含组织面积大于25mm <sup>2</sup> 的切片12张。	
菌体/菌丝	>3*10 <sup>6</sup> 个 >0.3g	
半固体细菌	≥ 0.5mL	

### 1.2 核酸样本

- 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
- 核酸样品建议使用1.5ml、2ml EP管装载样品,其他保存管容易破裂且不利于保存样品和后续实验的开展
- 为了防止样品污染和混淆,禁止使用96孔板和深孔板装载样品
- 用乙醇沉淀的样品由于运输中会有少量乙醇挥发,建议将样品管盖用封口膜缠绕4-5圈

样本类型	普通转录组文库	真核链特文库
total RNA	浓度:≥ 50ng/μL 体积:20μL ≤ V ≤ 120μL 总量:≥ 800ng	浓度:≥ 50ng/µL 体积:20µL ≤ V ≤ 120µL 总量:≥ 800ng

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。

# 2 样本打包及寄送建议

#### 2.1 样本的打包

- (1) 核酸样品建议使用质量好的1.5ml或2ml 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、0.5ml 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)组织样本建议根据送样量使用合适规格带螺纹帽的EP管、冻存管或者离心管装载组织样品,并用封口膜封口。
- (3)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50ml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。如使用锡箔纸、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,在样品包装外再用气泡垫包好并固定。
- (4)对于血液样品,建议采用5-10ml 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均用气泡垫包好,然后放置到塑料或纸质包装盒中。
- (5) 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。
- (6) 为便于处理和保存,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)。

### 2.2 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记号笔的标记模糊,建议用油性记号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。