

三代RNA产品		送样建议
二代基因组测序	>	<b>1. 植物</b> <a href="#">1.1 植物样本说明</a> <a href="#">1.2 植物测序样品</a> <b>3. 节肢动物</b> <a href="#">3.1 节肢动物组织样本说明</a> <a href="#">3.2 节肢动物组织样本</a> <b>5. 血液样本</b> <a href="#">5.1 血液样本说明</a> <a href="#">5.2 三代RNA测序</a>
三代测序	>	<b>2. 脊椎动物</b> <a href="#">2.1 脊椎动物组织样本说明</a> <a href="#">2.2 脊椎动物组织样品</a> <b>4. 水产类</b> <a href="#">4.1 水产类组织样本说明</a> <a href="#">4.2 水产类组织样本</a> <b>6. 人和细胞</b> <a href="#">6.1人组织样本说明</a> <a href="#">6.2 人组织样本</a> <a href="#">6.3 细胞样本</a> <b>8. 核酸样本（RNA）</b> <a href="#">8.1 核酸样本说明</a> <a href="#">8.2 三代建库</a> <a href="#">8.3 样本检测方法</a> <a href="#">8.4 RNA样本质控说明</a>
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	>	

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

### 1.1 植物样本说明

- （1）植物主要包括禾本科植物、十字花科、常见作物、林木、常见蔬菜和花卉、中药、蕨类或苔藓。
- （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。由于组培苗的愈伤组织DNA不稳定，组培苗个别分析中不建议使用。
- （3）新鲜幼嫩组织样、冻存幼嫩组织样或幼苗活体样，要求取新鲜幼嫩叶片或嫩芽，避免根茎组织。含多糖多酚的植物需要提前沟通送样时间，并备注样本为多糖或多酚，当天进行提取；长时间冻存样本提取得率差，尽量避免该类样本。
- （4）活体运输：选取幼嫩活体植株进行包裹，减少运输途中对植物造成的伤害，送样前联系销售或运营，确保运送到公司后可至少成活3-5天。
- （5）冷冻运输：新鲜组织摘取后，立即进行表面消毒。可依次使用75%酒精冲洗-无菌水冲洗，用吸水纸吸干多余水份。使用剪刀去除木质化严重的部位（如叶脉）。液氮冻存前，进行分装。将组织放入预冷的冻存管、15ml或50ml离心管或者自封袋中，然后-80℃保存。如用锡箔纸包装组织样品，折叠时需有纹理可循，并将锡箔纸放入自封袋中，避免打开锡箔纸时样品洒落，干冰运输。
- （6）建议在采集样本之前，将样本置于黑暗环境24-48小时后再取材。

### 1.2 植物测序样品

- (1)样本量：新鲜植物组织干重：Direct RNA文库≥3g，Nanopore 文库≥0.5g，Pacbio 文库≥1g，成熟部位，例如植物茎、根、种子等部位建议 2 倍以上送样。
- (2)样本类型：采集于新鲜植物组织。
- (3)样本运输：一般不建议采用 RNA later 或者 locker 等 RNA 保护液进行送样，植物样品不建议使用 TRIzol 送样。若野外采集不便使用液氮情况下，可以考虑采用此方法，注意完全按照 RNA 保护液相关说明进行操作。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细胞，最后将离心管口用封口膜包好，-80℃冷冻送样。

## 2. 脊椎动物

### 2.1 脊椎动物组织样本说明

- (1) 脊椎动物组织样本主要包括：哺乳动物（人类样本单独列出）、禽类、爬行动物以及两栖动物。
- (2) 送样需要选择新鲜采集的样本，样本的取材优先选择核酸含量相对较高的组织。
- (3) 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。
- (4) 应在冰上对RNA样品制备实验的组织样品处理及切割，尽可能快速进行，时间过长会导致样品降解。
- (5) 反复冻融和长期保存的组织有更多的降解风险。客户应确保寄送之前组织没有被反复冻融，特别是动物肝脏，脾脏，肾脏，心脏，脂肪，脑，肿瘤等有较高RNA酶或DNA酶活性的组织。
- (6) 对肿瘤组织的取材，应尽可能准确地判定肿瘤组织和正常组织，如果有可能请根据冰冻切片报告的结果来判定要进行研究的取材部位。
- (7) 液氮冷冻方式是多数组织样品选取的处理方法，详解如下：

a) 组织取样前需准备好冷冻组织的足量液氮，预装样品的15 mL或50 mL冻存管，管盖须钻孔（防止管子内液氮体积膨胀爆炸），并在离心管内加满液氮；

b) 组织离体后需快速清洗，立即浸入装有液氮的冻存管中彻底冷冻（避免将样品先放入离心管，再将离心管放到液氮中）；样品彻底冷冻后，再将样品转至-80℃保存；

c) 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，最后将样品转至-80 ℃保存。

注：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，提取组不便进行样品的解剖工作（如取昆虫的头部、动物的内脏等）。组织样品如需同时提取RNA和DNA，建议将样品分两份送样。
- Two cryovials (冻存管) are shown against a black background. The vial on the left is taller and has a red cap, while the one on the right is shorter and has an orange cap. Both are made of clear plastic and have some markings on them.
- 冻存管示意图
- Three tissue samples are shown against a black background. The top row shows a large yellowish sphere, a small greenish sphere, and a small whiteish sphere. The bottom row shows a large reddish sphere, a medium reddish sphere, and a small reddish sphere. Below each sphere in the bottom row is a weight label: '50mg', '20mg', and '10mg' respectively.
- 组织样本与重量示意图
- ### 2.2 脊椎动物组织样品

- (1) 样本量：新鲜动物组织干重：Direct RNA文库≥2g，Nanopore文库≥0.3g，Pacbio 文库≥0.8g，核酸含量较少的部位，例如脂肪、成熟皮肤、骨头等部位建议酌情增加送样量。
- (2) 样本类型：采集于动物鲜活组织。
- (3) 样本运输：动物组织建议将样品分割成 5mm 左右大小的小块，分装于冻存管中冷冻送样，便于后续取样、研磨等操作，减少长时间取样造成降解。

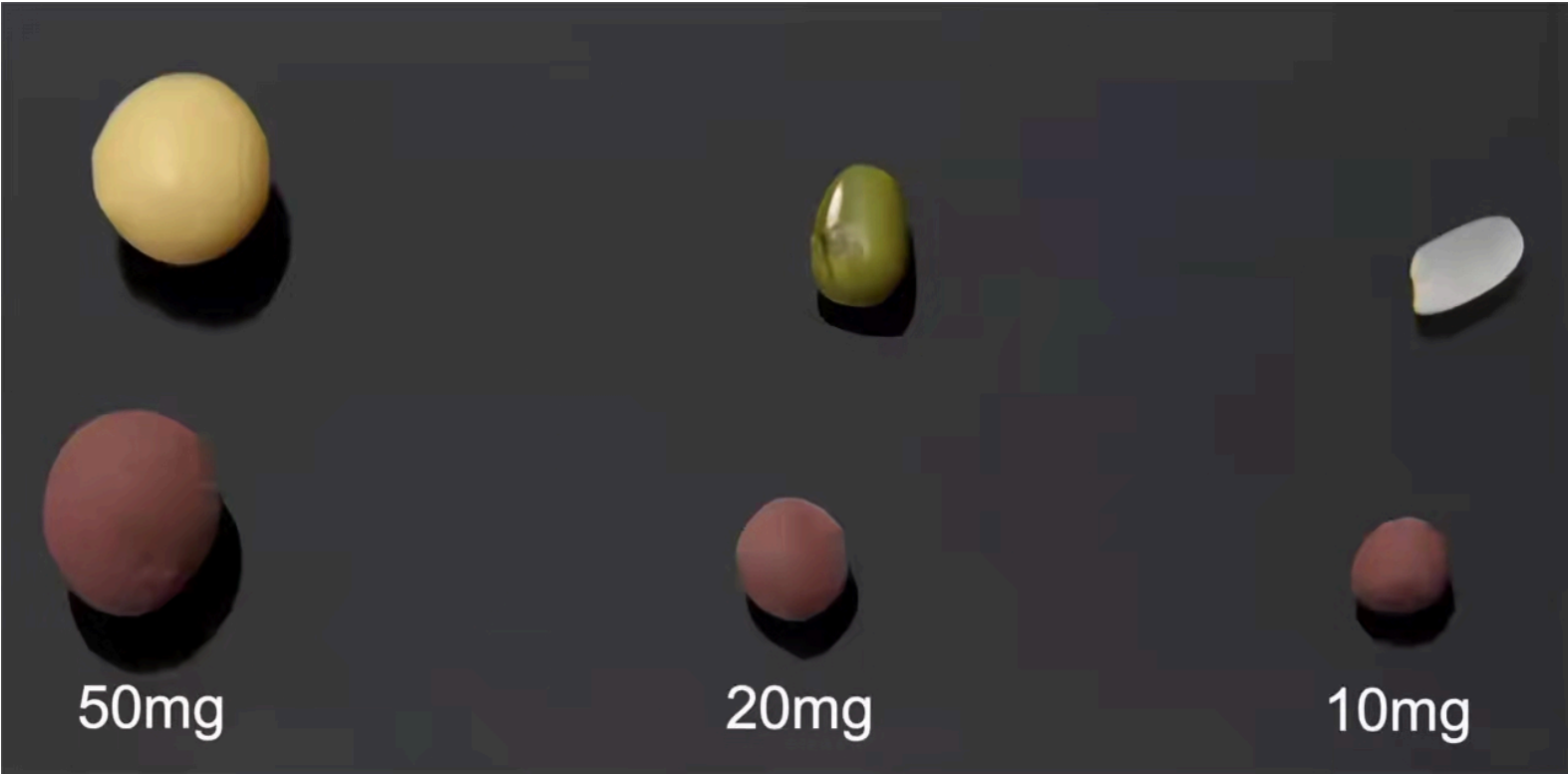
### 3. 节肢动物

#### 3.1 节肢动物组织样本说明

- (1) 节肢动物主要包括昆虫以及虾蟹类动物。
- (2) 送样需要选择新鲜采集的样本。某些吸血性昆虫，例如蚊子，血吸虫，该类型样本存在外源污染需要进行切腹处理。
- (3) 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。
- (4) 取样操作需在冰上进行，避免样本的冻融，详细说明可参考可参考（6）液氮冷冻方式详解。
- (5) 反复冻融和长期保存的组织有更多的降解风险。客户应确保寄送之前组织没有被反复冻融。
- (6) 液氮冷冻方式是多数组织样品选取的处理方法，详解如下：
- a) 组织取样前需准备好冷冻组织的足量液氮，预装样品的15 mL或50 mL冻存管，管盖需钻孔（防止管子内液氮体积膨胀爆炸），并在离心管内加满液氮；
- b) 组织离体后需快速清洗，立即浸入装有液氮的冻存管中彻底冷冻（避免将样品先放入离心管，再将离心管放到液氮中）；样品彻底冷冻后，再将样品转至-80℃保存；
- c) 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，最后将样品转至-80 °℃保存。
- 注：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，提取组不便进行样品的解剖工作（如取昆虫的头部、动物的内脏等）。组织样品如需同时提取RNA和DNA，建议将样品分两份送样。



冻存管示意图



组织样本与重量示意图

3.2 节肢动物组织样本

- (1)样本量：新鲜动物组织干重：Direct RNA文库≥2g，Nanopore 文库≥0.3g，Pacbio 文库≥0.8g，核酸含量较少的部位，例如脂肪、成熟皮肤、骨头等部位建议酌情增加送样量。
- (2)样本类型：采集于动物鲜活组织。
- (3)样本运输：动物组织建议将样品分割成 5mm 左右大小的小块，分装于冻存管中冷冻送样，便于后续取样、研磨等操作，减少长时间取样造成降解。
- 注：寄送组织时需要用足够的干冰，以保证组织在途中不融化。

4. 水产类

4.1 水产类组织样本说明

- (1) 水产类包括淡水鱼类、海水鱼类、贝类、藻类。
- (2) 送样需要选择新鲜采集的样本，海水类物种需要进行淡化处理。
- (3) 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。
- (4) 取样操作需在冰上进行，避免样本的冻融。

4.2 水产类组织样本

- (1) 样本量：新鲜组织干重：Direct RNA文库≥2g，Nanopore 文库≥0.3g，Pacbio 文库≥0.8g，核酸含量较少的部位建议酌情增加送样量。
- (2) 样本类型：建议将样品分割成 5mm 左右大小的小块，分装于冻存管中冷冻送样，便于后续取样、研磨等操作，减少长时间取样造成降解。
- (3) 藻类样本：大型藻类送样量（干重）不少于3g，单细胞藻类（干重）不少于1g。
- 注：寄送组织时需要用足够的干冰，以保证组织在途中不融化。

5. 血液样本

5.1 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。

5.2 三代RNA测序

样本类型	Nanopore 文库	Pacbio 文库	Direct RNA 文库
新采集的全血（加入 Trizol）	≥5ml	≥10ml	≥10ml

6. 人和细胞

6.1人组织样本说明

- (1)送样需要选择新鲜组织或冰冻组织，尽量选择新鲜组织。
- (2)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。
- (3)用于RNA样品制备实验的组织样品处理及切割过程应在冰上尽可能快速进行，时间过长会导致样品降解。
- (4)反复冻融和长期保存的组织有更多的降解风险。客户应确保寄送之前组织没有被反复冻融，特别是肝脏，脾脏，肾脏，心脏，脂肪，脑，肿瘤等有较高RNA酶或DNA酶活性的组织。
- (5)癌症研究需同时取肿瘤样本和正常对照。肿瘤样本尽量保证组织中恶性肿瘤细胞所占比例较大，至少超过50%。正常对照首选血液样本，次选癌旁对照。
- (6)对肿瘤组织的取材，应尽可能准确地判定肿瘤组织和正常组织，如果有可能请根据冰冻切片报告的结果来判定要进行

研究的取材部位。

(7)液氮冷冻方式是多数组织样品选取的处理方法，详解如下：

- a）组织取样前需准备好冷冻组织的足量液氮，预装样品的15 mL或50 mL冻存管，管盖须钻孔（防止管子内液氮体积膨胀爆炸），并在离心管内加满液氮；
- b）组织离体后需快速清洗，立即浸入装有液氮的冻存管中彻底冷冻（避免将样品先放入离心管，再将离心管放到液氮中）；样品彻底冷冻后，再将样品转至-80℃保存；
- c）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，最后将样品转至-80℃保存。

注：客户在送样之前需做好样品分离、解剖等处理。组织样品如需同时提取RNA和DNA，建议将样品分两份送样。

6.2 人组织样本

- (1)样本量：新鲜组织干重：Direct RNA文库≥2g，Nanopore文库≥0.3g，Pacbio 文库≥0.8g，核酸含量较少的部位，例如脂肪、成熟皮肤、骨头等部位建议酌情增加送样量。
- (2)样本类型：采集于新鲜组织。
- (3)样本运输：动物组织建议将样品分割成 5mm 左右大小的小块，分装于冻存管中冷冻送样，便于后续取样、研磨等操作，减少长时间取样造成降解。

注：寄送组织时需要用足够的干冰，以保证组织在途中不融化。

6.3 细胞样本

样本类型	Nanopore 文库	Pacbio 文库	Direct RNA 文库
新鲜培养细胞	≥5×10 <sup>6</sup> 个	≥5×10 <sup>7</sup> 个	≥5×10 <sup>8</sup> 个

7. 单菌样本

- (1)样本量：菌体≥3g，-80℃保存，干冰寄送。
- (2)样本准备：对数期细菌（50ml）菌液，4000×g 离心 10min（4℃），弃上清，沉淀（离心后至少3g）用无菌水洗 2 次后干冰送样，建议送 2-3个平行，避免一次提取不成功。  
  
真菌（100mL） 菌液，4000×g 离心 10min（4℃），弃上清，沉淀用无菌水 清洗 2 次后干冰送样，若是新鲜真菌建议 3g 以上，建议送 2-3个平行，避免一次提取不成功。
- (3)提取成功的样品类型：鲍曼不动杆菌，沃氏葡萄球菌，肠炎沙门氏菌，埃希氏菌，粪肠球菌，葡萄球菌，不动杆菌，放线菌，链霉菌等。
- (4)注意事项：  
  
a）甘油保存，需要重新液体培养基（例如 LB）活化到对数期，不可直接送甘油保存的菌株；  
  
b）不建议送固体培养皿的菌，如是只有固体培养基才能活，可以刮到有 PB 缓冲液的离心管里面，离心，送沉淀 2g 以上；  
  
c）真菌（5g）大型菇类等，建议送菌丝，孢子或是子实体杂合率高，不利于组装；  
  
d）样本一定为非灭活样本，灭活会导致核酸严重降解。

7.1 三代RNA测序（菌体组织）

- (1)样本量：

样本类型	Nanopore 文库	Pacbio 文库
菌体	≥5×10 <sup>6</sup> 个	≥5×10 <sup>7</sup> 个
	≥0.3g	≥0.8g



半固体细菌	≥0.5ml	-
-------	--------	---

(2)样本类型：菌体样本。

(3)样本运输：去培养基，收集菌体后，立即液氮速冻，-80℃保存，干冰寄送。建议用 RNAlater 保存，因为 RNAlater 密度较大，提取时不易分离菌体，不建议用 TRIzol 裂解液送样，因为有的菌体用 TRIzol 法提取不成功。

## 8. 核酸样本（RNA）

### 8.1 核酸样本说明

#### 8.1.1 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中一种或多种形式的样品分析结果。

#### 8.1.2 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或RNA总量。

c：浓度（Concentration），DNA或RNA浓度。

RIN值：即RNA integrity number(RNA完整值),是安捷伦公司开发的以数字化形式表示 RNA 完整性的参数。

28S/18S：28S/18S比值，真核生物rRNA中28S与18S比值，反映真核RNA完整性。

28S/16S：28S/16S比值，原核生物rRNA中28S与16S比值，反映原核RNA完整性。

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

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

样品分类

Pass：合格。

Fail：不建议使用该样本。

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，则请自行承担责任与风险。

降解样品：影响文库随机性，可造成duplication偏高等。

### 8.2 三代建库

由于三代测序对样本质量要求较高，请务必按照以下送样标准，并仔细纯化样本，尽量避免多糖、蛋白质等残留。核酸样本不许含有以下物质：颗粒物质、螯合剂、二价金属阳离子、变性剂和洗涤剂、荧光染料，不得是EB凝胶回收产物。

核酸样本不可反复冻融，不可存放于高温、极端PH环境中，建议干冰运输。

文库类型	Pacbio RNA 文库	Nanopore RNA 文库
总量	≥ 0.6μg	≥ 0.2μg
送样浓度（ng/μl）	Qubit≥40ng/μL	Qubit≥10ng/μL
RIN值	RIN≥6.5	
纯度	A260/280 需在 1.8-2.0 之间，A260/230 在 1.3-2.5 之间	
NC/QC	≤2.5	

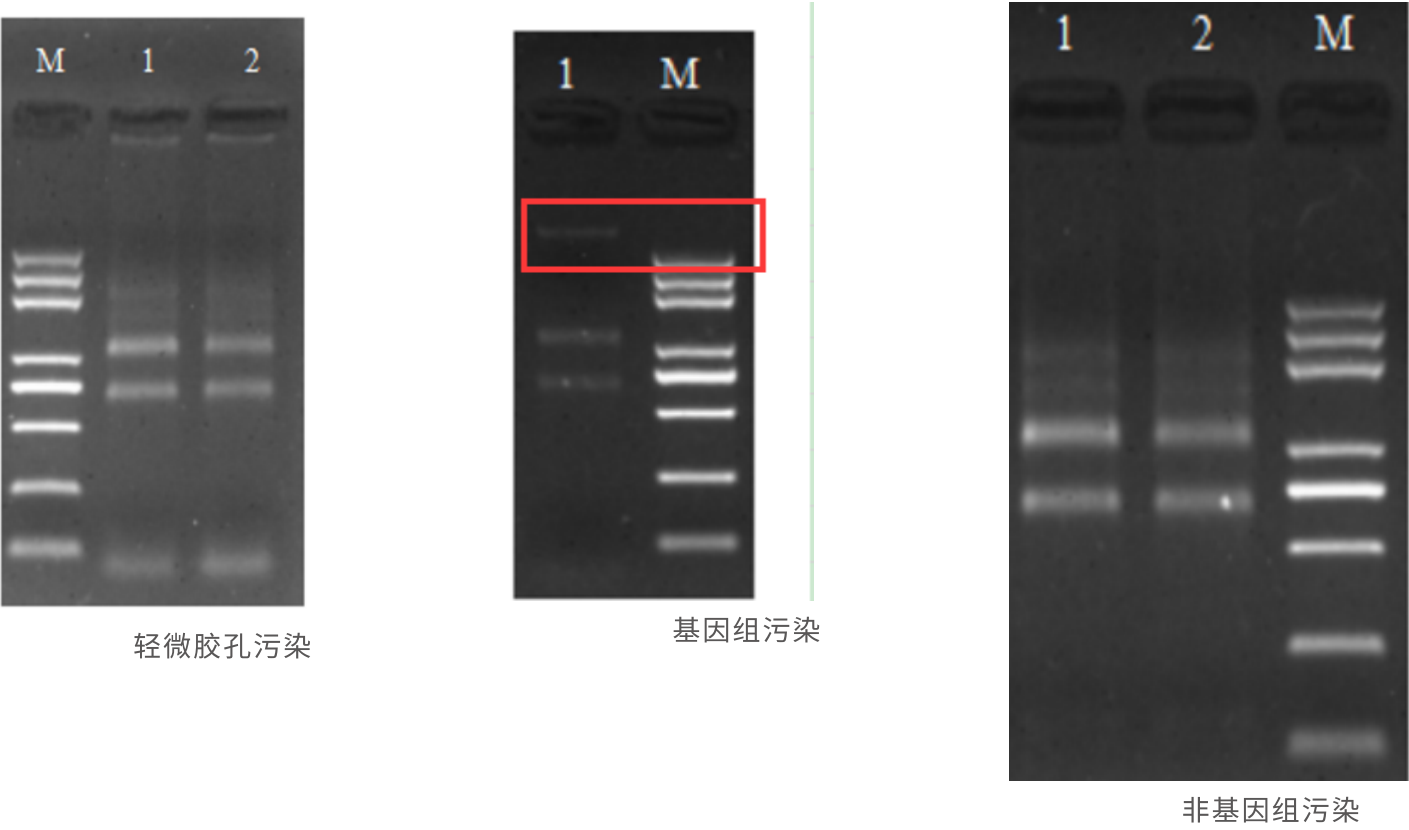
（1）样本运输：核酸样品建议使用 1.5ml或2ml EP 管装载样品，其他保存管容易破裂且不利于保存样品和后续实验的开展，为了防止样品污染和混淆，禁止使用 96 孔板和深孔板装载样品。用乙醇沉淀的样品由于运输中会有少量乙醇挥发，建议将样品管盖用封口膜缠绕 4-5 圈。

8.3 样本检测方法

- (1) Agilent 2100
- (2) Qubit
- (3) Nanodrop
- (4) 1%AGE,150v 30min

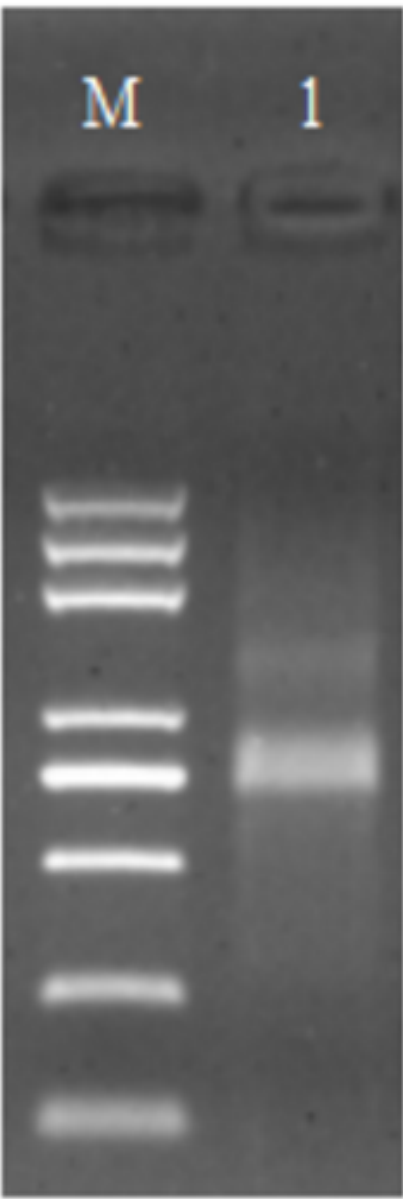
8.4 RNA样本质控说明

- (1) 普通电泳示意图：

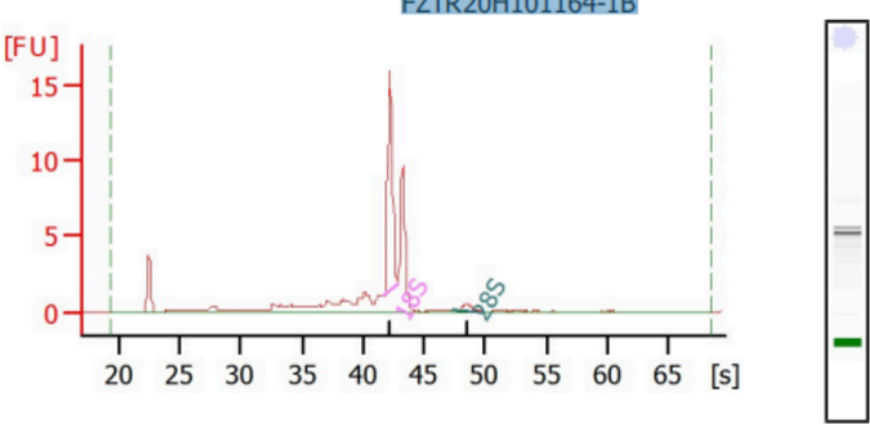


- (2) 2100图实例：

低等动物单带：



轻微胶孔污染



**Overall Results for sample 3 :** **FZTR20H101164-1B**

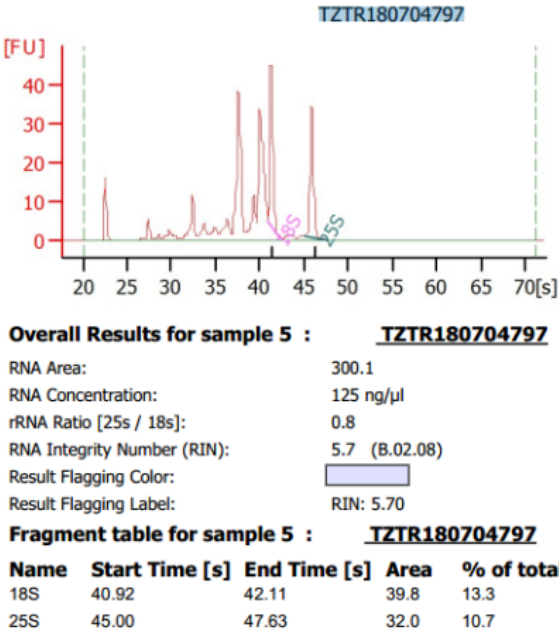
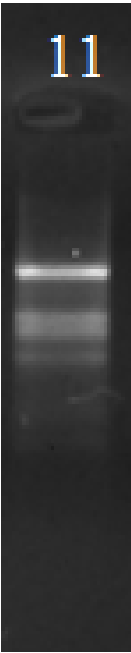
RNA Area:	48.3
RNA Concentration:	123 ng/μl
rRNA Ratio [28s / 18s]:	0.1
RNA Integrity Number (RIN):	7 (B.02.10, Anomaly Threshold(s) manually adapted)
Result Flagging Color:	
Result Flagging Label:	RIN:7

**Fragment table for sample 3 :** **FZTR20H101164-1B**

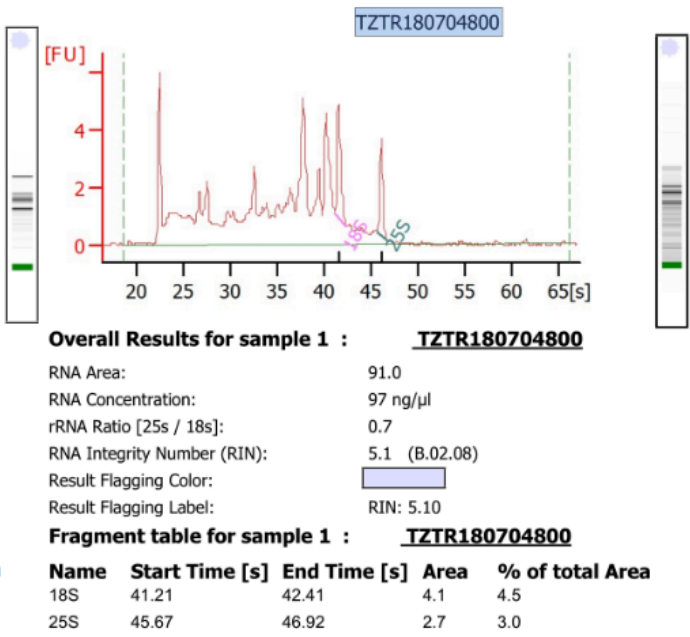
Name	Start Time [s]	End Time [s]	Area	% of total Area
18S	41.77	42.86	15.0	31.0
28S	47.28	49.87	1.0	2.0

基因组污染

植物叶片多条带：



基线平整



基线不平：35S前有明显断裂条带

## 9 样本打包及寄送建议

### 9.1 样本的打包

- 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。
- 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。
- 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。
- 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）。

**9.2 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。