



NeoraBio

基因组学取样参考



目 录

- 1. 样本准备通用建议 3
- 2. 通用基因组取样参考 4
 - 基因组学本基础需求量 4
- 3. 详细取样建议 5
 - 血液样本 5
 - 细胞样本 5
 - 组织样本 6
 - 单菌/单病毒样本 6
 - 其他样本 7
- 4. 声明 9



1. 样本准备通用建议

1. 取样代表性与一致性	样本的取材部位、时间、处理过程等方面尽可能保持一致，否则可能会影响实验结果的可信度及组内重复情况。 准确分离病变组织和对照组织，取样部位不一致和不具有代表性同样可能影响结果的准确性。
2. 取样及保存环境	样本质量是影响实验结果的最主要因素，用于研究的样本，在采集、制备、贮存、运输过程中应尽可能地快，最大限度的缩短从样本采集到实验的时间。 样本离体后，立即在 4℃或冰上等低温条件下进行分离，分离好的样品立即置于液氮、干冰或-80℃冰箱中直至寄送，以避免样本降解。
3. 样品名称	最好采用双重标记以防样品名称模糊；建议使用进口离心管。 标记 1：用高质量的油性笔在样品管上写上清晰、简单的样品名称，最好 5 个字符以内（不要写中文），用封口膜封好， 标记 2：将样品名称等信息写在标签纸上，贴在管壁上，最好用胶带粘贴牢固以防低温条件下样品标签脱落。
4. 样品包装	按送样建议准备样品，采用高质量离心管盛装样品。冷冻的组织，用高质量的 2 mL 螺旋冻存管装载；离心管应用封口膜密封管口。 干冰运输，干冰参考量=（运输天数+1）*5kg。 如个别样本需 4° C 或常温保存，请将保存条件纸条附于包裹内。
5. 邮寄样品	邮寄样品请附带完整的样品信息说明。建议自己存好备份样品。如样品有生物危险请提前咨询技术人员。 对于需要同时做多种检测的样本，请提前确认各类下游实验的样本保存方式，并分开收集样本，避免分装过程中的反复冻融。

注：液氮速冻及干冰运输时，过大的样本体积容易造成离心管炸裂，建议将样本量控制在离心管最大容积的 80%内。



2. 通用基因组取样参考

注：需要提前确定样本有无致病性或传染性。

基因组 样本基础需求量							
项目类型	DNA (推荐量)	DNA (最低量)	血液	动物组织	植物组织	细胞	细菌/ 真菌
基因组重测序	≥ 1 µg	≥500 ng	≥ 2 mL	≥ 300 mg	≥ 3 g	≥ 5×10 ⁶	沉淀≥3 g
全外显子测序	≥ 1 µg	≥ 500 ng	≥ 2 mL	≥ 300 mg	≥ 3 g	≥ 5×10 ⁶	/
甲基化测序	≥ 3 µg	≥ 2 µg	≥ 2 mL	≥ 300 mg	≥ 3 g	≥ 5×10 ⁷	/
靶向基因组测 序	≥ 1 µg	≥ 500 ng	≥ 2 mL	≥ 300 mg	≥ 3 g	≥ 5×10 ⁶	/
人 ASA 全基因 组芯片	≥ 500 ng	≥ 200 ng	≥ 0.5 mL	≥ 30 mg	/	≥ 1×10 ⁶	/
DNA 类送样要求细则							
项目类型	浓度要求	送样量	其他要求				
细菌框架图/重测 序	≥ 50 ng/µL	≥ 2 µg	DNA 无降解条带单一，无杂带，无 RNA、蛋白质等杂质污染，OD260/280 ≥1.5，OD260/230 ≥1.0；				
细菌完成图	≥ 100 ng/µL	≥ 5 µg	DNA 无降解条带单一，无杂带，无 RNA、蛋白质等杂质污染,OD260/280: 1.8-2.0，OD260/230≥2.0；				
三代真菌精细图	≥ 100 ng/µL	≥ 5 µg	DNA 无降解条带单一，无杂带，无 RNA、蛋白质等杂质污染,OD260/280: 1.8-2.0，OD260/230≥2.0；				
真菌框架图/重测 序	≥ 50 ng/µL	≥ 2 µg	DNA 无降解条带单一，无杂带，无 RNA、蛋白质等杂质污染，OD260/280 ≥1.5，OD260/230 ≥1.0；				
全基因组甲基化	/	≥ 100 ng	无 RNA、蛋白质等杂质污染，OD260/280:1.8-2.0，OD 260/230:1.8-2.0。需提供 Agilent 2100 Bioanalyzer 质检图				



3. 详细取样建议

血液样本	
(适用于基因组 de novo 测序、基因组重测序、甲基化测序、全外显子测序、靶向基因组测序)	
全血	EDTA 抗凝管抽取 2 mL 全血，充分混匀 EDTA 和全血，保证抗凝效果，-80 °C 保存，不能使用肝素抗凝。加入抗凝剂后的新鲜血液一般可以在 4 °C 放置 12-24 小时，但经过速冻后的样本一定要低温保存，切记血液样本一定避免反复冻融。冷冻后，干冰运输。
白细胞	使用 EDTA 抗凝管进行血液采集，充分混匀 EDTA 和全血，在 1 h（室温）或 2 h（4 °C）内加入 3 倍体 积红细胞裂解液，颠倒混匀，室温放置 5 min，期间再颠倒混匀几次，10000 rpm 离心 1 min 或 3000 rpm 离心 5 min，保留白细胞沉淀，1 mL PBS 重悬白细胞沉淀，后转入冻存管迅速投入液氮速冻，然后于液氮中存放或转入 -80 °C 超低温冰箱保存。严禁使用肝素抗凝管采血，冷冻后，干冰运输。
血清	使用不含有抗凝剂的采血管采集 2 mL 血液，室温 25 °C 放置 30-60 min。凝血块周围析出的淡黄色液体即血清（约 1ml），小心吸取到冻存管中，液氮速冻后，-80 °C 保存或干冰寄送
血浆	使用 EDTA 抗凝管采集 2 mL 血液，反复颠倒混匀后置于碎冰中。在 1 h（4 °C）内，800 g 离心 10 min，吸取上清转至离心管中，16000 g，4 °C 离心 10 min，小心吸取上清至冻存管中(约 1ml)，液氮速冻后，-80 °C 保存或干冰寄送
PBMC 血样	使用 EDTA 抗凝管采集 5 mL 全血，颠倒混匀后抗凝外周血（全血）与无菌 PBS 按照 1:1 充分混匀，在 15 mL 无酶离心管中加入等体积的 Ficoll 淋巴细胞分离液，用移液管将稀释的血液沿 15 ml 离心管管壁缓慢叠加于分层液面上，动作要轻，注意保持清楚的界面。 外周血，PBS，淋巴细胞分离液最终体积比为 1:1:1。室温 400 g 离心 20 min（水平转子）。管中液体将分成血浆/PBMC/分离液/红细胞等四层（PBMC 较少，呈一层白膜状），移液器吸取白膜层细胞转入新的 15mL 无酶离心管，加入 5 倍体积的 PBS，室温 400 g 离心 5 min，如果离心后的细胞中红细胞比较多，用 2 mL 红细胞裂解液，室温裂解 8 min，室温 400 g 离心 5 min，弃去上清。液氮速冻、-80 °C 保存、干冰运输。
注意事项	血液样本保存：新鲜血液样本采用 EDTA 抗凝剂收集。建议采用涂有 EDTA 的血液采集管采集新鲜血液，样本采集后迅速颠倒混匀 8-10 次以确保抗凝剂混匀。如采样后立即送样，请保持送样环境 4 °C（冰袋运输）。如需储存送样，血液样本应立即液氮速冻，并 -80 °C 保存。 运输：新鲜血液样本应在 -4 °C 恒温环境运输（冰袋运输），冷冻组织及血液 样本应干冰运输，建议每 24h 需加干冰 2-3 公斤以上。

细胞样本



贴壁细胞 $3 \times 10^6 \sim 1 \times 10^7$	细胞培养结束后，去除培养液，加入 PBS（RNase-free 水配制）清洗两次，胰酶消化并收集细胞，转移至尖底离心管，1000 rpm 离心 5 min，去除胰酶，PBS（RNase-free 水配制）清洗两次，1000 rpm 离心 5 min 去上清后迅速置于液氮罐速冻，后转移至 -80 °C 长期保存，干冰寄送
悬浮细胞 $3 \times 10^6 \sim 1 \times 10^7$	细胞培养结束后，1000 rpm，离心 5 min，去除培养液，加入 PBS（RNase-free 水配制）重悬，1000 rpm，离心 5 min，清洗两次，去上清转移至尖底离心管中，并迅速置于液氮罐速冻，后转移至 -80 °C 长期保存，干冰寄送
注意事项	准备：新鲜细胞样本或在 1xPBS 中加 20%的甘油和 20%的 DMSO，-80°C 冻存。 请在样本采集表中注明每个样本的总细胞数。建议每个样本多送 2-3 份，以备重复抽提。

组织样本

动物组织	使用无菌手术刀快速将组织分割成 200-500 mg 小块（去除非研究的组织），分装入无菌且无 RNA/DNA 酶的螺纹冻存管中，迅速投入液氮速冻，后转入 -80 °C 冰箱中保存，干冰寄送 如样本为胰腺、胃等含有消化液的组织，需低温迅速处理好组织，以防组织被消化液降解
植物组织	优先选取干净新鲜的幼叶，多灰的老叶及根茎组织在采集前用无菌水冲洗样本表面并擦拭干净，采集 2-3 g 植物组织后，快速分装入无菌螺纹冻存管中，迅速投入液氮冷却，后转入 -80 °C 冰箱中保存，干冰寄送

单菌/单病毒样本

固体/液体培养 细菌/真菌	使用无菌器具（例如无菌刀片）在固体培养基上刮取单一的菌种，转移至对应液体培养基中培养至对数期。用无菌离心管收集 5-10ml 菌液离心富集，4 °C，8000-10000rpm/min，离心 5min，弃上清，可转移至标记好的无菌螺纹冻存管中，有肉眼可见的沉淀（绿豆大小，约 1g）。菌体迅速置于液氮速冻，-80 °C 保存，干冰寄送。 注：一般单菌需要至少分离纯化 3-5 代后液体培养基培养至对数期。 致病菌需要灭活后提取 DNA 送样（参考细菌灭活法）
真菌	将真菌沉淀称重，建议共 2-3g，可分装多管；将称重后的真菌置于预冷的耐超低温螺纹冻存管中，迅速投入液氮，速冻时间 >1 h，转入 -80 °C 保存，干冰寄送。
细菌灭活法	① 菌液体培养物混匀，取 3 mL 入 15 mL 离心管，加入 7 mL 无水乙醇



(适用于 DNA 测序)	混匀（至乙醇终浓度为 70%）室温处理 2 小时
	② 4500 g 离心 10 min，沉淀菌体，弃上清
	③ 加入 1-1.5 mL 无菌 PBS 或生理盐水重悬，转移至 1.5 mL 离心管 8000 g 离心 10 min，弃上清
	④ 再加入 1 mL 无菌 PBS 或生理盐水重悬，再次 8000 g 离心 10 min，弃上清
	⑤ 沉淀可进行 DNA 提取实验或冷冻保存。
	注： 上述体积可根据实际情况调整，需要注意的是不论体积如何，加入乙醇使终浓度是 70%-75%，加入 PBS 或生理盐水的作用是去除残余的乙醇，可增大体积或增加洗涤次数。

其他样本	
尿液	行采集空腹、新鲜晨尿，有无血尿均可以收集；女性留取尿样本时应避开经期，并防止阴道分泌物混入尿液；随机留取中断尿为宜，50-100 mL/样 尿液用 cf DNA 采集管（streck: 230216）保存，保存于 4℃，及时寄送， 保证 7 天内提取
唾液	清水漱口 1~2 次，然后吐掉，漱口后等候至少 5 分钟方可采集唾液，在 30 分钟内采集 4mL 唾液（不含泡沫），等体积保存液倒在采集管中，充分颠倒混匀，常温保存，要求唾液≥4mL。
FFPE 类样本	①手术/活检组织石蜡块 从医院病理科切取手术组织总量≥25 mg（绿豆大小），活检组织长度>1 cm，需 2-3 条，蜡块完整，无磕碰损伤的石蜡包埋组织。将蜡块放入蜡块托中，写好样本编码。然后将该样本提交单装入自封袋，与样本一起常温运输。 ②手术/活检组织石蜡卷片 从医院病理科切取组织厚度≥8~10 μm 的石蜡卷片，手术组织 5-10 张（组织>1×1 cm²），或 10-20 张（组织<1×1 cm²）， 穿刺组织 20-25 张。将切好的卷片放置于 1.5 mL 无菌离心管中，每管最多放置 5 张，用封口膜将管盖封好，并在管壁上写好样本编码。然后将该样本的提交单装入自封袋，与样本一起常温运输。 ③手术/活检组织石蜡切片 从医院病理科切取组织厚度≥8~10 μm 的石蜡卷片，手术组织 5-10 张（组织>1×1 cm²），或 10-20 张（组织<1×1 cm²）， 穿刺组织 20-25 张。将切片平整放置在经过防脱处理的粘附载玻片中心位置，以样本区域无褶皱、气泡或明显刀痕为准。将贴片放置于专用的病理切片盒中，在贴片盒盖与盒身各写上样本编码。然后将该样本提交单，装入自封袋，与样本一起常温运输。 注： a. 送样优先顺序：石蜡块>石蜡卷>石蜡切片



	b. 所有石蜡组织样本需尽量送检一年以内的样本，不得超过 18 个月，建议提供一张免疫组化或组化染色切片 c. 新制切片常温放置应在 1 周以内，2-8 °C放置应在 1 个月以内，-20 °C贮存应在 6 个月以内 d. 强烈建议每个贴片盒中只存放一个患者的样本；若需与其他患者样本放在一起，必须做间隔区分，防止样本接触造成污染 e. 强烈不建议使用添加瓦楞纸或自折 Z 形纸摆放石蜡切片，因运输过程中的碰撞会导致石蜡切片挤到一起，造成切片破损或样本污染。
毛发样本	收集带有毛囊的毛发，至少 20 根 ，置于干燥无菌离心管中；干冰或 -20 °C 冰箱中冷冻，干冰寄送
cf/ctDNA	血浆：≥4mL；血清：≥5mL；脑脊液样本：≥4mL；分装于 1.5mL 无核酸酶离心管，-80 °C保存，干冰运输。 客户自提 cfDNA：总量>30ng，体积>10μL。 注：公司不接收全血样本提取 cfDNA，溶血样品不能纳入试验选样，存放周期超过 1 年的血浆（清）样本不建议送样提取；脑部肿瘤由于血脑屏障的存在，血浆不适合进行 cfDNA 研究，一般推荐取脑脊液样本提取 cfDNA



4. 声明

我司拒绝接收《人间传染的病原生物名录》中危害程度为第一、第二类的高致病组织、血液、细菌等样品，只接收提取得到的核酸样品。危害程度为第三、第四类的致病性或传染性的组织、血液、细菌等样品，可通过致病细菌灭活和收集（用于 DNA 项目）后联系销售、技术确认后寄送。

所有潜在致病性或传染性样本必须事先联系销售、技术支持确认，确定无高致病性和传染性后才能寄送样品。

感谢您选择我们！

期待与您携手并进，共创科研新高度。

我们将以严谨、专业的态度对待每一个样本，为您的科研探索保驾护航。