Gereal
Biotechnology Of Life Sciences

MULTI-OMICS CENTER

样本采集与处理指南

代谢组学 · 代谢流同位素示踪 · 蛋白组学 · 基因转录测序 · 单细胞 · 分子细胞与病理

> 本指南按服务类型列出各类样本的建议用量、采集与处理步骤、关键参数与常见错误，用于送样前的自查。若与本项目确认的《样本收集指南》不一致，以项目方案为准。

1. 代谢组学（非靶向 / 靶向 / 脂质组学） LC-MS

样本类型	建议量	采集与处理要点
血清 / 血浆	≥ 100 µL	空腹采血，EDTA 或肝素抗凝；4 ℃ 3000 g 离心 10 min 取上清，2 h 内分装冻存
组织	≥ 50 mg	离体后快速冲洗（去血污），液氮速冻；避免反复冻融
细胞	≥ 1×10^6	PBS 洗 2 次去培养基，弃上清后直接液氮速冻
尿液	≥ 200 µL	中段尿，离心去沉淀，分装冻存
粪便	≥ 100 mg	无菌管采集，2 h 内 −80 ℃，避免反复温度波动
植物 / 微生物	≥ 100 mg	液氮研磨后冻存；微生物需标注培养条件与培养基

采集建议

- 同一项目统一样本类型与抗凝剂，血清与血浆不可混用
- 代谢物易受饮食影响，临床样本建议统一空腹时间并记录
- 避免使用含表面活性剂或高浓度盐的缓冲液，会干扰色谱
- 分装为单次用量，一次性使用，杜绝二次冻融

注意：靶向定量项目按目标物质清单核算样本量，部分低丰度物质需要更大体积，请在方案阶段确认。

采血与处理步骤（血清 / 血浆）

1. 空腹 8–12 h 采血；抗凝管按项目统一（EDTA 或肝素），血清用促凝管
2. 采血后室温静置 30 min（血清）或立即轻柔混匀 5–8 次（血浆）
3. 4 ℃、3000 g 离心 10 min，取上清；避免吸到白膜层与溶血样本
4. 按 100–200 µL/管分装，标好编号与时间，2 h 内转入 −80 ℃
5. 运输：干冰，保持 −70 ℃ 以下；到样前干冰不得耗尽

组织与细胞处理步骤

1. 组织离体后 5 min 内用预冷 PBS 冲洗去血污，剔除脂肪与结缔组织
2. 切成 ≤ 50 mg 小块，液氮速冻 30 s 以上，转入 −80 ℃

3. 细胞用预冷 PBS 洗 2 次去培养基（残留血清会干扰色谱）
4. 弃上清后直接液氮速冻细胞沉淀，不要加 PBS 冻存

常见错误

- × 血清与血浆混用、抗凝剂不统一 → 组间不可比
- × 样本只冻一次后反复解冻取样 → 代谢物降解、重复性差
- × 用含高浓度盐或表面活性剂的缓冲液 → 抑制离子化、污染色谱柱
- × 溶血样本仍用于靶向定量 → 胞内物质外泄导致假性升高

2. 代谢流同位素示踪 13C / 15N

样本类型	建议量	采集与处理要点
细胞（示踪培养）	≥ 2×10^6 / 时间点	标记到时后快速淬灭（液氮或冷甲醇），全程冰上操作
组织	≥ 100 mg	标记结束即刻液氮冻存，记录取样时间点
培养基上清	≥ 200 µL	与细胞同时间点收集，过滤后冻存，用于底物消耗计算

采集建议

- 时间点必须成组设计（如 0 / 15 min / 1 h / 4 h），并在方案中固定采样顺序
- 淬灭速度决定能否捕捉到真实通量，取样后应立即低温处理
- 同批实验需同步留取未标记对照，用于天然丰度校正
- 记录示踪剂批号、浓度与加入时刻，便于复现

注意：示踪剂、标记时长与淬灭方式需在预实验中确认，直接决定可解析的通路范围。

标记实验步骤

1. 预实验确定示踪剂浓度、标记时长与淬灭方式（不同通路差异很大）
2. 细胞达到目标汇合度后换用含示踪剂的新鲜培养基，记录加入时刻 T0
3. 按设计的时间点依次取样，每个时间点独立淬灭（勿先收集再统一处理）
4. 淬灭后离心收集细胞沉淀，与培养基上清分别冻存并标号
5. 始终保留一组未标记对照，用于天然丰度（natural abundance）校正

关键参数建议

- 时间点：至少 3–4 个（如 0 / 15 min / 1 h / 4 h），覆盖上升段而非仅稳态
- 重复：每个时间点 ≥ 3 个生物学重复，且各时间点单独培养起始
- 淬灭：液氮速冻或 −20 ℃ 冷甲醇（≥ 4 倍体积），全程冰上操作
- 记录：示踪剂批号、加入体积、培养温度与取样精确时刻

常见错误

- × 所有时间点从同一批细胞连续取样 → 细胞状态已被改变
- × 标记时间过长达 24 h → 接近稳态，通量信息丢失
- × 淬灭不彻底 → 酶促反应继续，MID 分布偏移

3. 蛋白组学（DIA / 修饰 / PRM） LC-MS/MS

样本类型	建议量	采集与处理要点
细胞	≥ 1×10^6	PBS 洗去血清，直接加裂解液或液氮速冻
组织	≥ 50 mg	去血污、去结缔组织，液氮速冻后 −80 ℃
血清 / 血浆	≥ 50 μL	避免溶血，分装冻存；高丰度蛋白去除与否按项目确认
FFPE 切片	≥ 4 张（5 μm）	标注蜡块年份与染色情况，常温干燥保存

采集建议

- 全程使用低吸附耗材，避免角蛋白污染（戴口罩手套）
- 裂解后尽快变性处理，减少蛋白酶降解
- 修饰组学（磷酸化等）建议同步留取对照样本，且避免使用磷酸盐缓冲液
- PRM 验证项目需提供目标蛋白列表，便于方法开发

注意：蛋白样本对冻融极其敏感，建议一次分装后仅解冻一次。

样本处理步骤

1. 细胞：PBS 洗 2 次，直接加裂解液（含蛋白酶抑制剂）或液氮速冻沉淀
2. 组织：去血污与结缔组织后称重，按 1:5–1:10 (w/v) 加裂解液，冰上匀浆
3. 血清/血浆：避免溶血，按项目要求决定是否去除高丰度蛋白
4. 裂解液 4 ℃、12000–15000 g 离心 10–15 min，取上清测浓度
5. 按 100–200 μg/管分装，−80 ℃ 保存；运输干冰

修饰类项目特别注意

- 磷酸化：全程避免磷酸盐缓冲液；建议同步留取对照，便于区分本底
- 乙酰化/泛素化：加去乙酰化酶/去泛素化酶抑制剂，裂解后尽快变性
- FFPE：标注蜡块年份、固定时间与染色史，切片厚度 5 μm、≥ 4 张
- PRM：提供目标蛋白与肽段列表，便于方法开发与保留时间确认

常见错误

- × 未戴口罩手套 → 角蛋白污染掩盖低丰度蛋白
- × 裂解后室温放置过久 → 蛋白降解、修饰丢失
- × 样本量按"湿重"估算但含大量水分/脂肪 → 实际蛋白量不足

4. 基因转录测序（转录组 / 扩增子 / 宏基因组 / WGS） NGS

样本类型	建议量	采集与处理要点
总 RNA（转录组）	≥ 1 μg，RIN ≥ 7	液氮速冻，干冰运输；避免 RNase 污染
组织（RNA later）	≥ 50 mg	切成 ≤ 5 mm 薄片后浸入 RNA later，4 ℃ 过夜后 −20 ℃
粪便 / 土壤（扩增子、宏基因组）	≥ 200 mg	无菌采集，−80 ℃ 保存，避免反复冻融
全血（WGS）	≥ 500 μL	EDTA 抗凝，禁止肝素；4 ℃ 短期保存，长期 −80 ℃

采集建议

- RNA 样本完整性优先于浓度，降解样本不建议上机
- 微生物样本需记录采样部位、时间与环境信息，便于后续分组
- 同一批测序建议统一建库方式，降低批次效应
- 干冰运输时保证到样前干冰未耗尽

注意：扩增子与宏基因组对采样污染非常敏感，请使用无菌耗材并留取空白对照。

RNA 样本处理步骤

1. 组织离体后立即切成 ≤ 5 mm 薄片，液氮速冻或浸入 RNA later（4 ℃ 过夜后 −20 ℃）
2. 提取后测浓度与 RIN 值，RIN ≥ 7 方可用于建库
3. RNA 样本 −80 ℃ 保存，避免反复冻融；运输干冰
4. 同时保留一份备份，防止运输损耗

微生物与 DNA 样本步骤

1. 粪便/土壤：无菌管采集 200 mg 以上，标号后 2 h 内 −80 ℃
2. 采样时同步留取空白对照（同批次耗材开管操作），用于污染评估
3. 全血：EDTA 抗凝，禁用肝素（抑制后续酶反应）
4. DNA 样本要求 A260/280 在 1.8–2.0，避免反复冻融与强光照射

常见错误

- × RNA 降解仍送样 → 建库失败或 3′ 偏好
- × 粪便样本常温放置过久 → 菌群结构漂移
- × 同一比较组分批建库 → 批次效应掩盖生物学差异

5. 单细胞转录组测序 scRNA-seq

样本类型	建议量	采集与处理要点
细胞悬液	细胞浓度 700–1200 个/μL，活率 ≥ 80%	现制现送，冰上运输，4 h 内上机
组织（需解离）	≥ 100 mg	离体后立即低温保存，注明酶解耐受性与目标细胞类型
外周血 / PBMC	≥ 3 mL 全血 或 ≥ 1×10^6 PBMC	EDTA 抗凝，避免溶血，优先新鲜样本

采集建议

- 悬液质量决定数据质量：要求无明显团块、无大量碎片
- 解离时间尽量短，避免应激基因表达升高
- 避免使用含 Ca^{2+}/Mg^{2+} 的缓冲液长时间保存细胞
- 若需保存，可按项目确认使用冻存方案并做复苏活率评估

注意：单细胞项目建议先做小样预实验评估活率与细胞类型比例，再确定正式上样量。

悬液制备与送样步骤

1. 组织解离：低温、短时、温和酶解，目标活率 ≥ 80%、无团块
2. 用 40 μm 滤网过滤，离心后用含 BSA 的缓冲液重悬
3. 调整浓度至 700–1200 个/μL，计数并记录活率
4. 现制现送，2–8 ℃ 运输，4 h 内上机；避免剧烈震荡

关键参数建议

- 目标细胞数：按项目目标捕获数反推，一般上样高于目标 1.5–2 倍
- 解离时间尽量 ≤ 30 min，过长会诱导应激基因（Fos/Jun 等）高表达
- 避免含 Ca^{2+}/Mg^{2+} 缓冲液长时间保存；不使用固定剂处理活细胞标记样本

常见错误

- × 悬液含大量碎片/死细胞 → 空液滴比例升高
- × 样本放置数小时才上机 → 活率骤降、转录本降解
- × 组织块过大未充分解离 → 细胞类型比例失真

6. 分子细胞实验与病理制片（ELISA / WB / 流式 / 切片） Assay

样本类型	建议量	采集与处理要点
血清 / 血浆（ELISA）	≥ 50 μL	避免溶血与反复冻融，建议一次分装
细胞裂解液（WB）	≥ 20 μL，蛋白 ≥ 20 μg	冰上裂解，加蛋白酶抑制剂，尽快变性
全血 / 悬液（流式）	≥ 100 μL	EDTA 抗凝，24 h 内检测；标注目标标记
组织（切片）	≥ 0.5 cm^3	4% 多聚甲醛固定 24–48 h；冰冻样本 OCT 包埋后干冰运输

采集建议

- 固定不足或过度固定都会影响抗原暴露，按推荐时间执行
- 免疫组化如需代购抗体，请提前确认种属与克隆号
- 流式样本避免使用固定剂后再染活细胞标记
- 制片方向要求（横切/纵切）请在送样单注明

注意：病理类样本的取材部位直接决定结果解释，建议同时提供 H&E 参考片或影像定位。

分项处理步骤

1. ELISA：血清/血浆 ≥ 50 µL，避免溶血，分装单次用量
2. WB：冰上裂解（含蛋白酶抑制剂），BCA 定量后按 ≥ 20 µg/管分装并变性
3. 流式：EDTA 抗凝全血或悬液 ≥ 100 µL，24 h 内检测，标注目标标记与同型对照
4. 切片：4% 多聚甲醛固定 24–48 h（≤ 1.5 cm 厚），梯度脱水后石蜡包埋
5. 冰冻切片：OCT 包埋，目标切面朝下，干冰运输，避免反复冻融

关键参数建议

- 固定：时间不足抗原暴露不全，过度固定（> 72 h）导致表位封闭
- 切片厚度：石蜡 4–5 µm、冰冻 8–10 µm，按实验目的确认
- 免疫组化：如需代购抗体，请提供种属、克隆号与预期定位
- 切片方向（横切/纵切）与取材部位请在送样单注明，必要时附 H&E 参考片

常见错误

- × 组织块过大导致固定液渗透不足（中心自溶）
- × 流式样本固定后再染活细胞标记 → 结果假阴性
- × 冰冻样本未 OCT 包埋直接冻存 → 切片碎裂

免责声明：本指南为通用样本采集与处理建议，旨在帮助客户提高样本质量与检测成功率，**不构成任何医疗、诊断、法律或合规意见。**不同样本类型、物种、基质与项目方案可能存在特殊要求，实际操作请以双方确认的项目方案、《样本收集指南》与实验室书面沟通为准；涉及临床样本的研究，请遵循所在机构伦理审查与知情同意要求。因未按要求采集、保存或运输样本造成的检测失败、数据偏差或样本损失，本公司不承担由此产生的间接责任；本指南内容可能随方法学更新而调整，恕不另行通知。

技术支持：400-660-8826 · **商务邮箱**：market@gereallife.com · **官网**：www.gereallife.com
送样咨询、样本评估与方案设计，可扫码添加客服微信。

客服微信