



博淼生物  
BIO MIAO BIOLOGICAL  
— SINCE 2009 —

Your Own Laboratory  
您的专属实验室

## 表观基因组送样标准和样本准备注意事项

---



全国统一服务热线: 4006-506-908

官方网站: [www.biomio.com](http://www.biomio.com)

邮箱: [marketing@biomio.com](mailto:marketing@biomio.com)



# 目录

一、	送样标准 .....	3
二、	全血 .....	3
	(一) 采集步骤 .....	3
	(二) 全血的保存及运输 .....	3
三、	PBMC .....	4
	(一) 采集步骤 .....	4
	(二) PBMC 的保存及运输 .....	6
四、	悬浮细胞 .....	6
	(一) 采集步骤 .....	6
	(二) 悬浮细胞的保存及运输 .....	7
五、	贴壁细胞 .....	7
	(一) 采集步骤 .....	7
	(二) 贴壁细胞的保存及运输 .....	8
六、	常规组织 .....	9
	(一) 采集步骤 .....	9
	(二) 常规动物组织的保存及运输 .....	9
七、	附录 .....	10
	(一) 样本采集保存容器 .....	10
	(二) 常见不同规格培养瓶培养细胞量参考值 .....	12
	(三) 常见不同规格培养皿培养细胞量参考值 .....	13



## 一、送样标准

样品类型	实验项目			
	全基因组甲基化芯片	Massarray 靶向 DNA 甲基化	全基因组甲基化测序	Multi-PCR 区域甲基化测序
全血	≥1mL	≥1mL	≥1mL	≥1mL
PBMC	10 <sup>6</sup>	10 <sup>6</sup>	10 <sup>6</sup>	10 <sup>6</sup>
悬浮/ 贴壁细胞	10 <sup>6</sup> -10 <sup>7</sup>	10 <sup>6</sup> -10 <sup>7</sup>	10 <sup>6</sup> -10 <sup>7</sup>	10 <sup>6</sup> -10 <sup>7</sup>
组织	30mg	30mg	30mg	30mg

## 二、全血

### (一) 采集步骤

1. 准备好对应数量 EDTA 抗凝管，核对被采集者信息后，进行静脉采血。（避免使用肝素抗凝管。）
2. 采血后立即轻轻将采血管颠倒混匀 5 次~8 次。
3. 血液样品可直接存放于采血管中，或分装到 1.5ml 的离心管里（管上做好标记，能与明细一一对应）。
4. 存于 4℃、-20℃或-80℃。

\*注：

- 1) 建议采集全血的同时收集好被采集者的基线数据信息。
- 2) 建议 1-1.5ml/管。

### (二) 全血的保存及运输

#### 1. 短期保存：

采血管或离心管应及时放进 4℃冰箱，4℃冰箱可保存一周，-20℃冰箱可保存一个月。

- 1) 用封口膜将采血管或离心管的管口管盖进行封缠，防止低温导致管盖崩开，样本污染。
- 2) 随样品附带一份对应明细，单独包装。

3) 尽可能将采血管或离心管水平放置于冰箱内，防止血液溢出造成污染。

## 2. 长期保存:

若后续实验暂不开启，建议将血液转入**离心管**后，放入-80℃冰箱进行长期保存。

1) 用封口膜将离心管的管口进行封缠，防止低温导致管盖崩开，样本污染。

2) 随样品附带一份对应明细，单独包装。

3) 尽可能将离心管水平放置于-80℃冰箱内，防止血液溢出造成污染。

## 3. 样品的运输:

1) 样品需用干冰进行运输。干冰数量不低于 8 公斤/天，夏季运输需要适当增加用量。

2) 运输前需确认采血管或离心管盖密封度非常佳，且以封口膜将盖口包装，避免杂质混入或者液体溢出。

3) 选用密闭性较佳或厚度较厚的泡沫盒进行寄送。附带的文件说明，请以夹链袋再装一次以免湿气毁损文件。宽版胶带缠绕密封泡沫盒即可寄出。

# 三、 PBMC

## (一) 采集步骤

实际操作时可参考 PBMC 分离液的使用说明，不同厂家的分离液操作步骤可能略有不同。以下流程仅供参考。

1. 取新鲜抗凝全血 (**EDTA、枸橼酸钠或肝素抗凝管均可**) 或者去纤维蛋白血液，用等体积的全血及组织稀释液或者 PBS 稀释全血。

2. 在离心管中加入适量分离液 (当稀释后血液体积小于 3ml 时，加入 3ml 分离液; 大于等于 3ml，加入等体积分离液。但二者的总体积不能超过离心管的三分之二，否则会影响分离效果)，将稀释后的血液平铺到分离液液面上方，注意保持两液面界面清晰。(可以使用巴氏德吸管吸取血液，然后将血液小心的平铺于分离液上，因为两者的密度差异，将形成明显的分层界面。如果样品较多加样时间较长，在离



心之前出现红细胞成团下沉属于正常现象。)

3. 室温，水平转子 500-1000g，离心 20-30min（血液的体积越大所需的离心力越大，离心时间越长，最佳的离心条件需摸索，离心转速最大不超过 1200g）。
4. 离心后将出现明显的分层：最上层是稀释的血浆层，中间是透明的分离液层，血浆与分离液之间的白膜层即为淋巴细胞层，离心管底部是红细胞与粒细胞。
5. 小心的吸取白膜层细胞到 15ml 洁净的离心管中，10mlPBS 或细胞洗涤液洗涤白膜层细胞。250g，离心 12min。
6. 弃上清，5ml 的 PBS 或细胞清洗液重悬细胞，250g，离心 10min。
7. 重复步骤 6。
8. 弃上清，细胞重悬备用。
9. 存于-80℃长期储存。

\*注：

- 1) 血液样本最好为新鲜抗凝血（采血 2h 以内），为保持淋巴细胞的活性，应避免冷冻和冷藏。
- 2) 稀释血液或洗涤细胞，不可使用含 Ca、Mg 离子的缓冲液及培养液，其成分会导致血细胞凝集，大大降低细胞得率及纯度。
- 3) 部分塑料制品（如聚苯乙烯）因其带有的静电作用，可能会导致细胞挂壁，影响分离效果。
- 4) 吸取过多的淋巴细胞层及分离液层会导致分离液交界处的粒细胞被吸出从而使混杂的粒细胞数量增加；吸取过多的血浆层可能会导致淋巴细胞中血浆蛋白及血小板污染。

试剂	可选厂家	货号
人外周血淋巴细胞分离液	Solarbio	P8610



## (二) PBMC 的保存及运输

### 1. 保存:

- 1) 离心管应及时放进-80°C冰箱。
- 2) 用封口膜将离心管的管口进行封缠，防止低温导致管盖崩开，样本污染。
- 3) 随样品附带一份对应明细，单独包装。

### 2. 样品的运输:

- 1) 样品需用干冰进行运输。干冰数量不低于 8 公斤/天，夏季运输需要适当增加用量。
- 2) 运输前需确认离心管盖密合度非常佳，且以封口膜将盖口包装，避免杂质混入或者液体溢出。
- 3) 选用密闭性较佳或厚度较厚的泡沫盒进行寄送。附带的文件说明，请以夹链袋再装一次以免湿气毁损文件。宽版胶带缠绕密封泡沫盒即可寄出。

## 四、 悬浮细胞

### (一) 采集步骤

1. 连同培养基转移到 15 mL 的进口离心管中。
2. (4°C) 400-1000g, 离心 5-10min, 使细胞沉淀于离心管的底部。
3. 倒掉培养基 (尽量倒干净), 用预冷的 PBS 反复冲洗 2 ~ 3 次。
4. 1 ml PBS 重悬细胞后转移到新的 1.5 ml 离心管。
5. 再次用上述条件离心, 尽可能将上清去除干净。
6. 用适量 PBS 重悬, 标记离心管。
7. 存于-80°C长期储存。



**\*注:**

- 1) 转移前, 可先将培养基反复吹打, 吹打部分贴壁的悬浮细胞。
- 2) 操作尽量迅速, 培养基尽量倒干净, 如有滤纸, 建议用滤纸将残留的培养基吸尽。
- 3) 取对数生长期, 培养至同一时期的细胞, 建议多准备样本, 以备后续使用。

## (二) 悬浮细胞的保存及运输

1. 保存:

- 1) 用封口膜将离心管的管口进行封缠, 防止低温导致管盖崩开, 样本污染。
- 2) 随样品附带一份对应明细, 单独包装。

2. 样品的运输:

- 1) 样品需用干冰进行运输。干冰数量不低于 8 公斤/天, 夏季运输需要适当增加用量。
- 2) 运输前需确认离心管盖密合度非常佳, 且以封口膜将盖口包装, 避免杂质混入或者液体溢出。
- 3) 选用密闭性较佳或厚度较厚的泡沫盒进行寄送。附带的文件说明, 请以夹链袋再装一次以免湿气毁损文件。宽版胶带缠绕密封泡沫盒即可寄出。

## 五、 贴壁细胞

### (一) 采集步骤

1. 小心弃掉培养液, 并将培养皿倒置于吸水纸上尽量吸干培养液。
2. 加入 4℃预冷的 PBS 反复冲洗 2~3 次 (若用移液枪加, 则靠着培养皿壁加入, 以免将细胞冲起), 然后弃 PBS (建议用微量移液器少量多次吸尽残余 PBS)。
3. 将培养皿置于冰上, 加入 PBS 重悬。



4. 收集到 15ml 离心管中，4°C，400-1000g 离心 5-10min，去 PBS。
5. 1mlPBS 重悬细胞后转移到 1.5ml 离心管。
6. 存于-80°C进行长期储存。

**\*注：**

- 1) 取对数生长期，培养至同一时期的细胞，建议多准备样本，以备后续使用。
- 2) 贴壁细胞收集时如遇培养皿较大，1mL 试剂无法完全转移，建议加入最大试剂体积不超过 3mL。
- 3) 贴壁细胞的收集也可使用胰酶消化后，低速离心，去掉培养液上清，再使用 PBS 溶液清洗 1-2 次，进行后续实验。

## (二) 贴壁细胞的保存及运输

1. 保存：

- 1) 用封口膜将离心管的管口进行封缠，防止低温导致管盖崩开，样本污染。
- 2) 随样品附带一份对应明细，单独包装。

1. 样品的运输：

- 1) 样品需用干冰进行运输。干冰数量不低于 8 公斤/天，夏季运输需要适当增加用量。
- 2) 运输前需确认离心管盖密合度非常佳，且以封口膜将盖口包装，避免杂质混入或者液体溢出。
- 3) 选用密闭性较佳或厚度较厚的泡沫盒进行寄送。附带的文件说明，请以夹链袋再装一次以免湿气毁损文件。宽版胶带缠绕密封泡沫盒即可寄出。





## 六、 常规组织

### (一) 采集步骤

1. 每个样本的取材部位要尽量一致，准确切除所需组织后，剔除无关的干扰组织（血管、脂肪、结缔组织等）。
2. 用预冷的生理盐水或 PBS 迅速漂洗样本，以去除血渍和污物。
3. 用无尘吸水纸快速吸干表面的液体。
4. 用灭菌的组织剪或手术刀将组织切成 100mg 左右小块，分装保存。
5. 用镊子夹住样本，放入预冷的冻存管或离心管中。
6. 存于-80°C。

**\*注：**

- 1) 可加入组织保存液。（后续提取效果更佳。）

### (二) 常规动物组织的保存及运输

1. 保存：
  - 1) 用封口膜将冻存管或离心管的管口进行封缠，防止低温导致管盖崩开，样本污染。
  - 2) 随样品附带一份对应明细，单独包装。
2. 样品的运输：
  - 1) 样品需用干冰进行运输。干冰数量不低于 8 公斤/天，夏季运输需要适当增加用量。
  - 2) 运输前需确认冻存管或离心管盖密合度非常佳，且以封口膜将盖口包装，避免杂质混入或者液体溢出。
  - 3) 选用密闭性较佳或厚度较厚的泡沫盒进行寄送。附带的文件说明，请以夹链袋再装一次以免湿气毁损

文件。宽版胶带缠绕密封泡沫盒即可寄出。

## 七、附录

### (一) 样本采集保存容器

#### 1. 采血管

耗材	可选厂家	货号
真空采血管	美国 BD	依据类型不同货号不同
真空采血管	威高洁瑞	依据类型不同货号不同



管盖颜色	可制备的标本类型	添加剂	要求
●	血清/血凝块	无	抽血后不需要摇动
●	全血/PBMC	EDTA、 $NA_2EDTA$ 或 $K_2EDTA$	抽血后立即轻轻颠倒混匀 5 次~8 次
●	全血/血细胞	109mmol/L 枸橼酸钠	抗凝剂与血液为 1: 4 混合, 抽血后立即轻轻颠倒混匀 5 次~8 次

	全血/血浆	109mmol/L 枸橼酸钠	抗凝剂与血液为 1: 9 混合, 抽血后立即轻轻颠倒混匀 5 次~8 次
	血清/血细胞	含促凝剂和分离胶	可将血球与血清快速很好的分开, 减少影响实验的因素
	血浆/全血	肝素锂、肝素钠	抽血后立即颠倒混匀 5 次~8 次
	血浆/全血	血糖降解抑制剂	抽血后立即轻轻颠倒混匀 5 次~8 次

各种真空采血管头盖的颜色均为国际通用标准, 试管上的标签有刻度线、取血量、有效期、内含添加剂物等说明。

## 2. 离心管 (1.5ml、2ml)

耗材	可选厂家	货号
1.5ml EP 管	Axygen	MCT-150-C
2ml EP 管	Axygen	MCT-200-C



## 3. 离心管 (15ml、50ml)

耗材	可选厂家	货号
15ml 离心管	Solarbio	YA0476
50ml 离心管	Solarbio	YA0471



#### 4. 冻存管

耗材	可选厂家	货号
0.5ml 冻存管	Biologix	88-0050
1.5ml 冻存管	Biologix	88-9150



#### (二) 常见不同规格培养瓶培养细胞量参考值

培养器皿	底面积 (cm <sup>2</sup> )	加培养液量 (ml)	可获细胞量 (参考值)
250ml 玻璃培养瓶	78	15.0	2×10 <sup>7</sup>
100ml 玻璃培养瓶	37.5	10.0	6×10 <sup>6</sup>
25ml 玻璃培养瓶	19	4.0	3×10 <sup>6</sup>
75cm 塑料培养瓶	75	15-30	2×10 <sup>7</sup>
25cm 塑料培养瓶	25	5.0	5×10 <sup>6</sup>



### (三) 常见不同规格培养皿培养细胞量参考值

培养器皿规格	底面积 (cm <sup>2</sup> )	加培养液量 (ml)	可获细胞量 (参考值)
96 孔板	0.32	0.1	$1 \times 10^5$
24 孔板	2	1.0	$5 \times 10^5$
12 孔板	4.5	2.0	$1 \times 10^6$
6 孔板	9.6	2.5	$2.5 \times 10^6$
4 孔板	28	5.0	$7 \times 10^6$
3.5cm 培养皿	8	3.0	$2.0 \times 10^6$
6cm 培养皿	21	5.0	$5.2 \times 10^6$
9cm 培养皿	49	10.0	$12.2 \times 10^6$
10cm 培养皿	55	10.0	$13.7 \times 10^6$