

不同状态样品处理指南

一、细胞样本采集操作建议流程

贴壁细胞的保存

1、贴壁细胞：贴壁细胞培养诱导结束后，去除培养基，按照每10cm²生长表面积加入1 ml Trizol试剂，在旋涡震荡器上混匀直至看不见成团的细胞块，使之充分溶解于TRIzol中形成清亮不粘稠的液体。

2、放入干冰或-80℃冰箱中保存。

悬浮细胞的保存

1、悬浮细胞培养诱导结束后，将细胞悬液以1200r/min离心5min，去除上清培养液。

2、按照每5 × 10⁶细胞加入1 ml TRIzol试剂，在旋涡震荡器上混匀直至看不见成团的细胞块，使之充分溶解于TRIzol中形成清亮不粘稠的液体。

3、放入干冰或-80℃冰箱中保存。

注意事项：我们不接收未经TRIzol 试剂处理的细胞样本。

二、组织样本采集操作建议流程

动物组织

1、首先准备好用于包装样本的铝箔或冷冻保存管，并且用油性记号笔在铝箔或冻存管外表多处写明样本编号。

2、准确切除所需组织后，立即剔除结缔组织和脂肪组织等非研究所需的组织类型。

3、在RNase-free 的生理盐水中迅速漂洗样本，以去除血渍和污物。

4、用准备好的铝箔或冷冻保存管装载包裹组织，迅速投入液氮冷却。

5、填写样本信息登记表，写明样本名称、组织类型、编号、取样日期、样本处理过程等情况

临床标本

1、准确切除所需组织后，立即投入液氮冷冻。

2、用准备好的铝箔或冷冻保存管装载包裹组织。

3、填写样本信息登记表，写明样本名称、组织类型、编号、取样日期、样本处理过程等情况。

植物组织

1、准确取得所需组织后，立即用准备好的铝箔包裹组织。

2、立即投入液氮冷冻。

3、填写样本信息登记表，写明样本名称、组织类型、编号、取样日期、样本处

理过程等情况。

三、血液样本采集操作建议流程

鉴于血液样本的不稳定性，我们建议客户在当地用新鲜样本提取RNA。可以用于血液样本RNA提取的方案有TRIzol 以及QIAEN RNA BloodMini kit 等，以上这些方法都可以提取到高质量的总RNA。

白细胞的分离

对于大量的全血样本，需要首先分离白细胞，而后进行总RNA 提取。

- 1、在已加入抗凝剂的新鲜全血中加入等体积PBS (1×)，充分混匀；
- 2、缓慢转入另一已加入淋巴细胞分离液的离心管中，并使上述混合液处于淋巴细胞分离液液面之上（即两种液体不要混合，保留清晰的界面），3000 g 离心 30 min；
- 3、用移液枪小心分离出白细胞层；用PBS (1×) 清洗白细胞，离心回收白细胞，弃去上清；
- 4、加入白细胞20 倍体积的RNA Happy 或TRIzol 试剂，用一次性注射器进行反复抽打细胞直至看不见成团的细胞块，使之充分溶解并形成清亮不粘稠的液体；
- 5、放入干冰或-80℃冰箱中可以保存半周左右。

注意事项

- 1、血液样本保存是不稳定的，新鲜血液必须立即分离出白细胞或者直接提取RNA 进行保存；
- 2、白细胞样本保存也是不稳定的，未加TRIzol 试剂保存的白细胞是非常不稳定的，白细胞样本务必按照上述过程进行保存；
- 3、请在-80℃冰箱中保存RNA 或者白细胞样本；
- 4、血液样品经冻融即发生溶血，不能用于RNA的抽提。

单个核细胞的分离

对于大量的全血样本，如实验需要，可以首先分离单个核细胞，而后进行总RNA 提取。

- 1、在离心管中加入3-4ml Ficoll，再缓慢沿管壁滴加全血5ml 左右（切忌破坏界面）。
- 2、室温水平离心，2000rpm，15 分钟。
- 3、用Tip 头小心吸取中间一层薄的呈云雾状的单个核细胞。
- 4、用PBS 或HANKS 液或生理盐水或1640 培养液洗涤单个核细胞溶液。
- 5、室温1000rpm 离心洗涤10min。
- 6、弃上清，再重复步骤5 一次，合并各管。
- 7、TRIzol 试剂溶裂解细胞，保存于-80℃冰箱中待抽提 RNA。