



碧云天生物技术/Beyotime Biotechnology  
订购热线: 400-168-3301 或 800-8283301  
技术咨询: info@beyotime.com  
高通量测序服务: ngs@beyotime.com  
网址: http://www.beyotime.com

# 上海碧云天生物技术有限公司

## 高通量测序生物送样要求

### High-throughput Sequencing Sample Requirements

样品类型	应用类型	样品要求 (DNA、RNA 样品)
二代测序 · Illumina 平台 ·		
gDNA	HiSeq X 全基因组测序	<ul style="list-style-type: none"><li>基因组 DNA 用 TE 溶解; 总量<math>\geq 0.5\mu\text{g}^1</math>; <math>\text{OD}_{260/280}=1.8-2.0</math>; 浓度<math>\geq 50\text{ng}/\mu\text{L}</math>。</li><li>DNA 完整纯净, 无降解, 无细胞凋亡, 无 RNA、蛋白质、多糖、试剂成分等残留或污染。</li></ul>
gDNA 和 FFPE gDNA	Agilent SureSelect 全 外显子组测序	<ul style="list-style-type: none"><li>基因组 DNA 用 TE 溶解; 总量(Qubit 测定)<math>\geq 2\mu\text{g}^1</math>; <math>\text{OD}_{260/280}=1.8-2.0</math>; 浓度<math>\geq 50\text{ng}/\mu\text{L}</math>。</li><li><b>注意:</b> SureSelect 试剂盒的外显子捕获区域有 50Mb 和 75Mb 两种, 请指明所需大小。</li><li><b>注意:</b> 若样品来源为非人物种, 请特别指明。</li></ul>
gDNA 和 FFPE gDNA	Roche NimbleGen 全 外显子组测序	<ul style="list-style-type: none"><li>基因组 DNA 用 TE 溶解; 总量<math>\geq 2\mu\text{g}^1</math>; <math>\text{OD}_{260/280}=1.8-2.0</math>; 浓度<math>\geq 50\text{ng}/\mu\text{L}</math>。</li><li><b>注意:</b> NimbleGen 试剂盒的外显子捕获区域有不同大小, 请指明所需大小。</li><li><b>注意:</b> 若样品来源为非人物种, 请特别指明。</li></ul>
Total RNA	TruSeq 法 • 转录组测序 • small RNA 测序	<ul style="list-style-type: none"><li>总 RNA 溶解于 DEPC-水或者 RNase-free 的缓冲液中。</li><li>总量<math>\geq 2\mu\text{g}^1</math>; <math>\text{OD}_{260/280}\geq 2.0</math>; 完整性 <math>\text{RIN}\geq 8.0</math>; 浓度<math>\geq 100\text{ng}/\mu\text{L}</math>。</li><li><b>注意:</b> Small RNA 测序使用总 RNA 为起始材料, 分离纯化的 Small RNA 也可以接受, 但非必要。</li><li><b>注意:</b> 如果客户提供分离纯化的 Small RNA 作为 Small RNA 测序的起始材料, 请特别指明。</li></ul>
Total RNA	Ribo-Zero 法 • lncRNA 测序 • FFPE RNA 测序 • 降解 RNA 测序	<ul style="list-style-type: none"><li>总 RNA 溶解于 DEPC-水或者 RNase-free 的缓冲液中; <math>\text{OD}_{260/280}\geq 2.0</math>; 浓度<math>\geq 100\text{ng}/\mu\text{L}</math>。</li><li>所需样品量<sup>1</sup>与降解程度有关: <math>\text{RIN}\geq 8.0</math>, <math>\geq 3\mu\text{g}</math>; <math>\text{RIN}=6.0-8.0</math>, <math>\geq 4\mu\text{g}</math>; <math>\text{RIN}&lt;6.0</math>, <math>\geq 6\mu\text{g}</math>。</li><li>lncRNA 测序采用 Ribo-zero 方法。</li><li><math>\text{RIN}&lt;6.0</math> 的降解严重的 RNA 样品, 以及 FFPE RNA 样品, 建议 Ribo-Zero 法, 不建议 TruSeq 法。</li><li><b>注意:</b> Ribo-Zero 法适用于降解样品(低 RIN 值) RNA 测序、FFPE RNA 测序、lncRNA 测序等。</li></ul>
客户自制文库 (Customer library)	• 包 flow cell 测序 • 包 lane 测序 • 包数据量测序	<ul style="list-style-type: none"><li>DNA 文库溶解于 Illumina Resuspension Buffer (RSB)或其他品牌建库试剂盒的对应缓冲液中; 总量<math>\geq 100\text{ng}^1</math>; <math>\text{OD}_{260/280}=1.8-2.0</math>; 浓度<math>\geq 5\text{ng}/\mu\text{L}</math>。</li><li>请客户提供以下信息, 以利于针对性地采取措施, 确保获得最高数据质量:<ul style="list-style-type: none"><li>文库类型: 如 PCR 产物、简化基因组、甲基化、Amplicon、16S rRNA 扩增子、FFPE 等等;</li><li>文库的混合比例(pooling ratio);</li><li>文库中所使用的 barcode 序列及 barcode 长度;</li><li>插入片段长度或者文库的整体长度, 文库浓度, Agilent 2100 Bioanalyzer 质检图 (可以选择性提供, 用于检查文库的片段长度分布);</li><li>建库所用试剂盒名称及版本 (用于判断与 Illumina 平台的兼容性)。如果是特殊的自行设计的方法请适当说明。</li></ul></li><li>请指定 cluster generation 的上样浓度。</li><li>请指定是否掺入 PhiX, 以及掺入比例。</li></ul>

样品类型	样品要求 (组织、细胞、血液样品)
组织、细胞、血液样品 · 所有平台 ·	
细胞	<p><b>提取 DNA:</b> 收获培养的细胞后, 离心去除培养液, PBS 洗 2 次, 立即置液氮中快速冷冻。液氮冷冻半小时后, 保存于<math>-80^\circ\text{C}</math>冰箱, 干冰运输。</p> <p><b>提取 RNA:</b> 收获培养的细胞后, 离心去除培养液, PBS 洗 2 次, 立即用 TRIzol 处理获得细胞裂解液<sup>2</sup>。细胞裂解液保存于<math>-80^\circ\text{C}</math>冰箱, 干冰运输。详细操作流程请参阅 TRIzol 说明书。</p>
新鲜冷冻	<p><b>提取 DNA:</b> 获得新鲜的组织样品后, 切割成适当大小, 立即置液氮中快速冷冻。液氮冷冻半小时后, 保存于<math>-80^\circ\text{C}</math>冰箱, 干冰运输。</p>

组织	<p><b>提取 RNA:</b> 获得新鲜的组织样品后, 立即切成所有方向都&lt;0.5cm 的小块, 整个浸没在 5 倍体积的 RNAlater 中, 4°C 浸泡过夜, 然后保存于-80°C 冰箱, 干冰运输。详细操作流程请参阅 RNAlater 说明书。</p>
石蜡包埋组织 (FFPE)	<ul style="list-style-type: none"> <li>• 每个样品 8~10 片石蜡片, 每片厚度 4~5μm。</li> <li>• 请提供一片 H&amp;E 染片, 用于定位肿瘤细胞。</li> <li>• 无论用于提取 DNA 还是 RNA, 石蜡片均常温保存, 常温运输。</li> </ul>
外周血	<p><b>提取 gDNA:</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• 抗凝剂: 可用枸橼酸钠或 EDTA, 不建议用肝素。</li> <li>• 外周血总量: ≥ 2ml。</li> <li>• 样品直接保存于-80°C 冰箱, 干冰运输。</li> </ul>
	<p><b>提取 cell-free 游离 DNA:</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• 抗凝剂: 可用枸橼酸钠或 EDTA, 不建议用肝素。</li> <li>• 外周血总量: ≥ 6ml。</li> <li>• 样品直接保存于-80°C 冰箱, 干冰运输。</li> </ul>
	<p><b>提取总 RNA (含 small RNA):</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• 抗凝剂: 可用枸橼酸钠或 EDTA, 不建议用肝素。</li> <li>• 外周血总量: ≥ 4ml。</li> <li>• 推荐 3 种保存、运输方法, 任选其一: <ul style="list-style-type: none"> <li>▪ 用 PAXgene RNA 采血管, 混匀之后保存于-80°C 冰箱, 干冰运输。详细流程请参阅 PAXgene 说明书;</li> <li>▪ 外周血样品用 TRIzol LS 处理获得裂解液<sup>2</sup>, 保存于-80°C 冰箱, 干冰运输。请参阅 TRIzol LS 说明书;</li> <li>▪ 从外周血分离白细胞, 用 TRIzol LS 处理成裂解液<sup>2</sup>, 裂解液保存于-80°C 冰箱, 干冰运输。请参阅 TRIzol LS 说明书。</li> </ul> </li> </ul>
	<p><b>提取 cell-free 游离 RNA:</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• 抗凝剂: 可用枸橼酸钠或 EDTA, 不建议用肝素。</li> <li>• 外周血总量: ≥ 6ml。</li> <li>• 推荐 3 种保存运输方法, 任选其一: <ul style="list-style-type: none"> <li>▪ 用 PAXgene RNA 采血管, 混匀之后保存于-80°C 冰箱, 干冰运输。详细流程参阅 PAXgene 说明书;</li> <li>▪ 外周血样品用 TRIzol LS 处理获得裂解液<sup>2</sup>, 保存于-80°C 冰箱, 干冰运输。请参阅 TRIzol LS 说明书;</li> <li>▪ 从外周血分离白细胞, 用 TRIzol LS 处理成裂解液<sup>2</sup>, 裂解液保存于-80°C 冰箱, 干冰运输。请参阅 TRIzol LS 说明书。</li> </ul> </li> </ul>
血浆 血清	<p><b>提取 DNA:</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• 抗凝剂: 可用枸橼酸钠或 EDTA, 不建议用肝素。</li> <li>• 血浆或血清总量: ≥ 2ml。</li> <li>• 样品直接保存于-80°C 冰箱, 干冰运输。</li> </ul>
	<p><b>提取总 RNA 或 small RNA:</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• 抗凝剂: 可用枸橼酸钠或 EDTA, 不建议用肝素。</li> <li>• 血浆或血清总量: ≥ 2ml。</li> <li>• 血浆和血清样品可以用 TRIzol LS 处理获得裂解液<sup>2</sup>, 裂解液保存于-80°C 冰箱, 干冰运输。详细流程请参阅 TRIzol LS 说明书。</li> </ul> <p><b>注 意:</b> 液体样品不建议使用 RNAlater 或 TRIzol<sup>2</sup>。</p>

**注:**

1. 除注明外, DNA 及 RNA 浓度采用 NanoDrop 测定。对于同一个样品, NanoDrop 与 Qubit 测定得到的浓度在数值上有差别。
2. TRIzol 与 TRIzol LS 是两种不同的试剂。TRIzol 适用于固体样品, 推荐使用碧云天的 R0011 Beyozol (总 RNA 抽提试剂)或 R0016 Trizol (总 RNA 抽提试剂); TRIzol LS 适用于液体样品。

**样品包装运输注意事项**     **重要信息, 注意阅读。**

- 样品寄出前, 请给 [ngs@beyotime.com](mailto:ngs@beyotime.com) 或碧云天高通量测序技术服务人员邮箱发送一份填写完整的电子版《碧云天高通量测序生物样品信息表》; 如有特殊情况, 请在快递发出前与碧云天高通量测序技术服务人员电话联系, 比如客户自送样品、提前寄送样品、有其它物品随样品一起快递需要额外点收等, 以便安排人手, 防止丢失。
- 请将填写完整的纸质版《碧云天高通量测序生物样品信息表》以及其它技术资料(如有)密封于塑料袋内, 随样品一起寄出; 合同和硬盘请另单快递给对应接收人员, 不要与样品一起快递, 既避免物流分拣环节导致合同和硬盘遗失, 也避免干冰或蓝冰冷凝水可能损坏文件和硬盘。
- 如果需要进行生物信息学分析, 请在《碧云天高通量测序生物样品信息表》的“项目描述”栏目里注明。
- 样品置于1.5ml或其它型号的低吸附离心管里; 管上清楚标明样品名称, 样品管上的名称要与碧云天高通量测序生物样品信息表一致, 请双人核实无误; 用parafilm膜把样品管缠紧密封好; 将样品管置于保护用的50ml离心管或其它容器里, 用适量纸、纱布或棉花塞紧, 防止样品管晃动, 旋紧盖子。
- 根据样品类型选择室温、蓝冰或者干冰包装, 选择最快的运输方式以免样品降解; 合理安排发货时间, 避免周六、周日或法定节假日到达, 以免样品丢失。低温运输采用安全的干冰, 不要用危险的液氮; 液氮如果渗进样品管, 在温度发生变化时因体积膨胀有可能导致爆炸, 毁坏样品。
- 项目结束后, 剩余样品免费保存 6 个月; 如果需要延长保存期或者返还, 请提前与碧云天高通量测序技术服务人员联系。