

10x单细胞实验样本采集及运输指南

一、新鲜组织样本

1.1 准备工作

提前准备 4℃ 预冷的组织保存液，组织保存液推荐使用美天旎（Miltenyi，货号：**130-100-008**），该保存液需在 2~8℃ 避光保存，可在 48h 内维持组织样本一定的细胞活率。组织保存液可由客户自己准备，也可由公司提供。如需要我们提供泡沫盒、冰袋及塑料泡沫等打包材料，请与销售联系。

1.2 样本采集

1. 新鲜组织从活体取下后，去除周围的脂肪、结缔组织或者坏死组织，用预冷的 PBS 或者生理盐水冲洗 1-2 次后放入装有组织保存液的保存管中。
2. 建议组织量为**200mg（黄豆粒大小）**，每个样品最好准备一个备份。如果需要我司进行流式分选，建议不少于500mg（大约3个黄豆粒大小）。若获得目标组织体积较大，可以将样本切割成 **0.5cm-1cm** 左右的组织块，保证组织块能够**充分接触组织保存液**，放入加满组织保存液的离心管中，样本必须完全被组织保存液浸没。
3. 避免用电刀等对样本造成局部热损伤，组织灼伤会造成细胞死亡；避免新鲜组织长时间放置后取样，建议**不超过 30min**，否则容易导致细胞死亡。
4. 将离心管用封口膜封好，避免气泡，防止与空气长间接触。
5. 样品管上标注样品名称，取样时间精确到 X 时，在组织保存液储存最佳时间内保证最原始组织样本状态。

1.3 样本打包

我司提供冷链运输和顺丰运输，**如采用冷链运输无需打包**；如使用顺丰寄送建议按照如下方式进行打包：

客户在收到组织保存液后，应放在 **4℃ 保存**，切勿冻存。用组织保存液寄送样本步骤如下：

1. 准备一个泡沫箱和适量冰袋，**请勿使用-80℃ 冰箱中冰袋**邮寄样本。
2. 将冰袋放置在泡沫箱底部。
3. 用塑料泡沫对装有组织的保存液管进行包裹，**避免其与冰袋直接接触**。
4. 用保鲜膜或者胶带缠绕塑料泡沫，确保管子包裹完好。
5. 将多余的塑料泡沫放置在冰袋上。
6. 然后将用泡沫包好的管子放入箱中。
7. 一些填充物进行填充，避免样本过多震荡。
8. 泡沫箱盖住盖子，封口。泡沫箱外面最好再套一个纸盒，避免运输损坏。

以下图片是样本包装操作步骤，供参考：



二、新鲜血液样本

1. 将外周血收集至适当规格的抗凝血管（如：EDTA 抗凝/枸橼酸盐/肝素），轻轻颠倒混匀，室温静置 1h，转至 4℃ 保存。
2. 碎冰或 4℃ 运输，48h 内到达实验室。
选择抗凝的注意点：

每一份样本所加抗凝剂的量要一致，同时所取全血的量也要尽量一致；收集抗凝全血后一定要轻轻颠倒，充分抗凝，防止部分血液未接触到抗凝剂而导致凝固。

三、新鲜细胞样本

1. 细胞量：建议不少于 3×10^5 ；细胞状态良好，杂质含量低，细胞活率建议90%以上，无污染；
2. 培养的细胞：细胞培养于培养瓶中，在运输前灌满培养基，室温运输。
3. 解离后细胞或者流式分选细胞：细胞用DPBS或培养基清洗离心成细胞沉淀后，用保护液（10%FBS+90%1640 or DMEM）重悬，插在碎冰上尽快送到实验室，建议不超过2h。

四、组织样本冻存（抽核）

1. 将离体组织用 PBS 清洗 3 遍，剪去坏死和多余的筋膜组织，用纱布以点蘸的方式轻轻吸去组织表面水分，称重约 200mg（黄豆大小）分装至 1.5mL 预冷的冻存管中（冻存管提前标注组织类型，样品名称和冻存时间）。每个样品建议分开准备两个备份，一个备份进行组织质检，一个备份进行细胞核分离。备份可以较小约 60mg（绿豆大小）。
2. 迅速转至液氮中冻存组织，或迅速将管子插入粉末状的干冰中放置10min，后转至 -80°C 冰箱保存。
3. 干冰寄送。

五、细胞样本冻存

1. 在开始冷冻保存之前，先将细胞冷冻容器（如：程序降温盒）放在冰上或 4°C 预冷。
2. 将细胞放置冰上。
3. 用移液器混合细胞，检测细胞活性和细胞量，每 2×10^6 个细胞分装一个 1.5ml EP 管。
4. 300g , 4°C , 5min 离心。
5. 去上清，加入 1ml 细胞冻存液重悬细胞。
6. 将重悬后的细胞悬液转入冻存管，做好标记，放入冷冻容器转入 -80°C 冰箱过夜， -80°C 长期保存。
7. 干冰寄送。

推荐冻存液配比： PBMC: 65%基础培养基 + 20%胎牛血清 + 15%DMSO; 一般细胞: 80%基础培养基 + 10%胎牛血清 + 10%DMSO, 难养细胞: 90%胎牛血清 + 10%DMSO 冻存。