代谢组样本要求及准备说明

目录

1、样本准备的通用要求 1
2、代谢组样本准备及要求 1
2.1 代谢组样本准备注意事项 1
2.2 代谢组样本量要求 2
2.3 代谢组样本准备指南 2
2.3.1 植物根组织 2
2.3.2 植物叶片、茎、花组织 3
2.3.3 果实、种子 3
2.3.4 动物组织（包括脑、心、肝、脾、肺、肾、肌肉和皮肤等；软体动物如血吸虫） 4
2.3.5 贴壁细胞 4
2.3.6 悬浮细胞 5
2.3.7 血清 5
2.3.8 血浆 6
2.3.9 体液样本（如关节液、唾液、胆汁、脑脊液、瘤胃液等） 7
2.3.10 人粪便 7
2.3.11 小鼠/大鼠粪便或肠道内容物 7
2.3.12 尿液 8
2.3.13 微生物（细菌） 8
2.3.14 微生物培养液 9
2.3.15 细胞上清 9
2.3.16 根际土壤 9
2.3.17 根系分泌物 10
2.4 代谢组生物学重复建议 10
2.5 代谢组特殊样本说明 10
3、关于特殊（强传染性，病原体类，病变组织）样本 11
3.1 特殊样本（传染性极强，病原体类，病变组织）注意事项 11
3.2 拒收的传染性/致病性实验样本列表 11

1、样本准备的通用要求

1.1 代表性原则：取样代表性关系到实验结果是否具有科学意义，因此建议老师根据实验目的慎重选择取样方案。

1.2 准确性原则：代表性样本的各种特征数据必须被准确记录，按要求（低温、迅速）采集、制备、贮存、运输。

1.3 迅速性原则：样本质量是影响实验结果的最关键因素，因此在采集、制备、贮存、运输过程中应尽可能地做到迅速，最大限度的缩短从样本采集到实验的时间。

1.4 低温原则：所有样本离体后，应立即置于液氮中速冻淬灭，然后保存于-80℃冰箱中，以避免降解。

2、代谢组样本准备及要求

2.1 代谢组样本准备注意事项

（1）原则上不接收带有传染性、致病性的原始实验样本。如果样品为病原性微生物或者具有侵染性的病变组织必须严格灭活后，提取好再送样并在样品登记表和样品标签上注明。销售在接该类项目之前一定要和技术人员确认是否可以接单后方可接项目。

（2）LC-MS 不接收油样样本（此类样本只提供 GC-MS 平台）。

（3）在允许的条件下，建议多准备一份样品作为备用。

（4）收集样品时做好分装标记，并立即放在液氮中速冻，-80℃冰箱长期保存，干冰运输，避免反复冻融。

（5）生物学重复的样品一定要标记清楚，建议采用：-1、-2、-3 的方式来标记。所有样品分组的编号，务必用英文字母+数字（CK-1、Control-1 等），避免使用中文名（如：对照组、处理组、加药组等）。

（6）如果样品成分含有毒性或腐蚀性物质，必须事先声明，并在样品登记表和样品标签上注明。

（7）木头、牛角等硬质样本，需客户自行研磨之后寄样。

（8）土壤等大量样本，请混匀后按照样本准备指南称取适量后寄送样本，请勿过量寄送样本。

（9）部分样品需考虑冷冻后体积增大问题，以避免容器破裂，远距离寄样时请用足量的干冰、顺丰运输。

（10）勿使用锡箔纸、玻璃容器，需要使用带旋盖的离心管进行封装。

（11）提取好的样本（或含有液体的样本），需要注明溶剂、成分，或直接注明前处理方案（或处理过程）。

（12）如客户有特殊前处理需求，需要在项目开始前沟通，在送样登记表中备注说明，并尽量提供方法或者文献，以避免影响实验结果。

（13）靶向代谢组学涉及到方法建立项目，需提供一份预实验样本，送样量为一般送样量的 3-5 倍，以用于方法优化，为避免反复冻融，样本需提前分装。

（14）靶向检测时，有些代谢物浓度很低，因此为获得更准确的定量结果，靶向检测的样本量尽可能多送，以便我们在具体操作时方便调整实验方案。如植物激素靶向实验时送样量最好大于 2g。

（15）如果样品成分含有毒性或腐蚀性物质，必须事先声明，并在样品登记表和样品标签上注明。

（16）1 份细胞样本可同时用于 GCMS 与 LCMS 项目，建议单份细胞样本中细胞个数大于 10^7 个

（17）除以上所列样品之外的其它特殊样品，需与技术人员沟通后确认样本准备方案。

2.2 代谢组样本量要求

实验类型	非靶向代谢组学		GC+LC 双平台送样量		靶向代谢组学		脂质组学		GC-MS 顶空		
样品类型	建议量	最少量	建议量	最少量	建议量	最少量	建议量	最少量	样本	建议量	最少量
植物组织（鲜重）	200mg	30mg	300mg	45mg	1-2g	500mg	200mg	30mg	固体	10g	2g
动物组织	100mg	20mg	150mg	30mg	100mg	20mg	100mg	30mg	液体	10mL	2mL
血清	300μL	100μL	300μL	150μL	300μL	100μL	300μL	100μL			
血浆	300μL	100μL	300μL	150μL	300μL	100μL	300μL	100μL			
体液	300μL	100μL	300μL	150μL	300μL	100μL	300μL	100μL			
细胞	10^7 个	5*10^6 个	≥10^7 个	≥10^7 个	10^7 个	5*10^6 个	10^7 个	5*10^6 个			
微生物	10^8 个或 200mg	5*10^7 个或 100mg	1.5*10^8 个或 450mg	1.5*10^7 个或 150mg	10^8 个或 200mg	5*10^7 个或 100mg	10^8 个或 200mg	5*10^7 个或 100mg			
粪便	200mg	50mg	300mg	75mg	200mg	50mg	200mg	50mg			
培养液	2mL	0.5mL	3mL	0.75mL	2mL	1mL	2mL	0.5mL			
植物分泌物	10mL	3mL	10mL	5mL	10mL	3mL	10mL	3mL			
土壤	10g	3g	15g	g	10g	3g	10g	3g			

2.3 代谢组样本准备指南

2.3.1 植物根组织

1.取整株植物的根部，迅速用 PBS 缓冲液或者超纯水漂洗干净根上的泥土及杂物等；

2.根据具体实验设计取植株根特定的部位，500 mg/管装入离心管中；

3.标号后迅速放入液氮中冷冻处理 15 min 以上；

4.-80℃冰箱冻存。足量干冰寄送。

注意事项：

（1）PBS 缓冲液漂洗要尽快；

（2）大部分根组织比较脆弱，被挤压后会变成浆糊状，因此推荐保存至离心管中。

2.3.2 植物叶片、茎、花组织

1.取整片叶片/一段茎/一朵花，迅速用 PBS 溶液或者超纯水漂洗，放入离心管或自封袋并标记，迅速放入液氮中冷冻处理 15 min 以上。

2.取出后迅速放入自封袋中（每组一袋），在自封袋中放入标签纸注明样本信息。

3.迅速放入-80℃冰箱冻存。足量干冰寄送。

注意：

（1）采集叶片样本时，最好在中午光照好的时间收集。

（2）采集样本时保持样本一致性，尤其是同一组样本（颜色、衰老程度、叶脉占比、光照、位置等）

（3）PBS 漂洗要尽快。

2.3.3 果实、种子

1.对于含水量高、体积较大的果实（番茄、西瓜、苹果等）需要先用锋利的刀分割成“均匀”合适的小块（≈200 mg/管）分装至 2 mL 离心管中，标号后迅速放入液氮中冷冻处理 15 min 以上。

2.对整个果实进行提取的（整粒葡萄等），需要把果实装在 50 mL 离心管中，做好标记后（同时放入自封袋中标签纸，注明样本信息）迅速放入液氮中冷冻处理 15 min 以上。

3.对于细小的颗粒种子（拟南芥种子、谷物种子等），可以先将同一组的植株种子混匀后再分装（≈200 mg/

管）至 1.5 mL 离心管中。标号后迅速放入液氮中冷冻处理 15 min 以上。

注意事项：

（1）对含水量高的果实进行取样很难保持均一性（如番茄、皮、果肉、果瓤、籽等），强烈建议客户将整个果实进行研磨、冻干，对粉末进行称重分装。

（2）不推荐用锡箔纸包裹，更推荐使用旋盖离心管。

2.3.4 动物组织（包括脑、心、肝、脾、肺、肾、肌肉和皮肤等；软体动物如血吸虫）

1.如果组织上有血或者其他杂物，先用预冷的 PBS 缓冲液或生理盐水漂洗掉；

2.根据具体实验设计取特定的部位，用干净的无尘吸水纸吸干水分，分装约 100 mg/管装入标记好的离心管中；

3.迅速放入液氮中冷冻处理至少 15 min；

4.-80℃冰箱冻存。足量干冰寄送。

注意：对于组织重量远低于 100 mg 的样本，如斑马鱼大脑组织、小鼠海马组织等，可考虑混样。

2.3.5 贴壁细胞

1.快速倒掉培养基，并将培养皿倒置于吸水纸上吸干培养液。

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）倒掉 PBS；

3.用移液器吸尽残余的 PBS，将培养皿底部（外壁）接触液氮，淬灭细胞（$1*10^7$ 个细胞为宜），淬灭时间为 1min 左右即可；

4.加入 500 微升预冷的甲醇-水（4：1，V/V），用细胞刮刀将细胞刮下，用移液枪转移至 1.5 mL 的离心管中；

5.再向培养皿中加入 500 微升预冷的甲醇-水（4：1，V/V），将剩余的细胞尽量全部转移至 1.5 mL 的离心管中，使用封口膜将离心管密封-80℃冻存。

注意事项：

（1）若加入提取液一定要用封口膜封严

（2）**若做脂质、脂质拟靶向、靶向代谢等，不可按甲醇水（4:1）方法操作，可用胰酶消化后按悬浮细胞的收**

样方法收集细胞。

（3）液氮淬灭细胞时，请使用高质量离心管，防止离心管破碎导致样本受损。

（4）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。

（5）贴壁细胞收集时如遇培养皿较大，1mL 试剂无法完全转移，建议加入试剂体积不超过 1.5 mL。

（6）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，弃掉 PBS 上清溶液，将收集好的细胞沉淀液氮淬灭后进行后续实验（备注：在胰酶消化过程中可能会影响细胞的代谢状态，尤其是能量代谢，因此对能量代谢非常关注的实验，建议淬灭细胞后用预冷的甲醇-水（4:1）方法操作）。

2.3.6 悬浮细胞

1.连同培养基转移到进口的 15 毫升的离心管中，低速离心 5 min（低于 3000 rpm），使细胞沉淀于离心管的底部（$1*10^7$ 个细胞为宜）。

2.倒掉培养基（尽量倒干净），用 PBS 缓冲液反复冲洗 2~3 次。

3.标记离心管，将离心管的尖底插入液氮中，淬灭细胞沉淀 1 min，然后-80℃冻存。

注意事项：

（1）操作尽量迅速，培养基尽量倒干净，建议用滤纸将残留的培养基吸尽。

（2）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。

2.3.7 血清

1.采血管收集血液（若含促凝剂，需轻轻颠倒 5-10 次），直立、静置，避免振荡、摔落

2.避免阳光直射，**室温**静置 30-60 min；

3.检查凝血完全后，2500~3000 rpm，4℃离心 15 min，吸取上清液至 1.5 mL 离心管中，100-300 μL/管分装，-80℃冻存；；

4.-80℃冰箱冻存，避免反复冻融，发生溶血的样本不合格，干冰运输。

注意事项：

（1）如果不能及时离心，可以在室温放置 30-60min 之后转移至 4℃，放置不超过 4 h 要分离血清；

（2）取血时如用酒精消毒，请擦干擦拭部位，待酒精完全挥发后再取样。

（3）取血时如用麻醉剂，建议用异氟醚（巴比妥类麻醉剂亦可），防止在谱图中出现干扰峰。

（4）血清参考产率：30%~50%（例如：1 mL 全血大约能得 0.3~0.5mL 血清）

（5）采全血时如使用真空采血管，建议使用促凝管。

（6）强烈推荐尽量多的收集样本并**分装冻存**（这样可以用于多个实验，且避免反复 冻融）

2.3.8 血浆

1. 使用抗凝管采血后，立刻上下颠倒 8 次，使抗凝剂与血液均匀混合（动作轻柔，避免产生溶血）；

2. 尽快离心（原则上抗凝剂与血液均匀混合之后可立即离心取上清，建议等待离心时间不超过 12 h，因常温放置的血清血浆代谢物容易降解，需尽快离心完成后置于-80℃冰箱保存），2500~3000 rpm，4℃离心 15 min，吸取上清液 100-300 μL/管分装至 1.5 mL 离心管中，-80℃冻存；

3.血液样本采集后应尽可能早地并自然地使血浆从与血细胞接触的全血中分离出来，一般应于采血后 1 h 内分离出血浆，-80℃冰箱冻存。足量干冰寄送。

注意事项：

（1）对于抗凝管的选择：多组学实验请勿使用肝素钠抗凝管（对 RNA 相关实验有负面作用，主要是因为会抑制反转录酶活性）；核磁实验（NMR）请勿使用 EDTA 抗凝管（影响图谱采谱）；不建议使用柠檬酸钠抗凝管（柠檬酸是 TCA 循环中的重要物质，使用柠檬酸钠抗凝剂会引入外源污染），请根据自身具体情况选用合适的抗凝管，代谢组学实验送样推荐使用 EDTA 抗凝管。

（2）取血时如用酒精消毒，请擦干擦拭部位，待酒精完全挥发后再取样。

（3）取血时如用麻醉剂，建议用异氟醚（巴比妥类麻醉剂亦可），防止在谱图中出现干扰峰。

（4）强烈推荐尽量多的收集样本并分装冻存（这样可以用于多个实验，且避免反复 冻融）

（5）最后分装保存推荐使用 1.5mL 离心管，因为螺口冻存管管帽内有一个橡胶垫圈，目的是为了密封。但是长期在-80℃/干冰低温下，橡胶圈会变硬脆，易脱落，导致密封不严，样本泄露。

（6）血浆参考产率：≈50%（例如：1mL 全血大约能得 0.5mL 血浆）。

2.3.9 体液样本（如关节液、唾液、胆汁、脑脊液、瘤胃液等）

1.收集体液样本；

2.10000 rpm 4℃ 离心 15min，取上层，0.5mL/管分装至 1.5mL 离心管中；

3.-80℃冰箱冻存，足量干冰寄送。

2.3.10 人粪便

1.将粪便排泄到干净的容器中，尽量避免尿液、马桶壁等对粪便样本的污染，取同段样本或者将所有样本混匀后再取样；

2.用无菌勺对粪便样本进行挖取，将适量粪便样本放入无菌保存管中，分装样本 300-500mg/管，迅速放入液氮中淬灭处理至少 15 min；

3.采集好的样本立刻放入-80℃冰箱进行保存。

2.3.11 小鼠/大鼠粪便或肠道内容物

1. 将待取的小鼠/大鼠放进干净的铺有消毒滤纸的笼子里，排便后立即用无菌镊子转入冻存；

2. 小鼠粪便通常 6-8 粒，大鼠粪便 2-3 粒，若样本需要重复检测，可用无菌棒**混匀**分装，避免反复冻融，迅速放入液氮中冷冻处理至少 15min；

3.分装样本 200mg/管；进行液氮淬灭；

4.-80℃冰箱冻存。足量干冰寄送。

注意事项：

（1）由于粪便/肠道内容物中有非常多的微生物，微生物代谢速度非常快，所以反复冻融会对代谢水平有非常大影响，强烈建议样本收集后，分装冻存；

（2）粪便样本中不要有尿液残留；

（3）建议统一粪便的形态（如固态，液态，干粪便等）。

2.3.12 尿液

1.晨起中段尿（临床）或晨间 1 h 尿（动物）直接分装到离心管中，每管 1mL；

2. 4℃ 10000 rpm 离心取上清，于 1.5 mL 离心管分装，保存于-80℃；

3.-80℃冰箱冻存，足量干冰寄送。

注意事项：

（1）动物 1 h 尿量不够，可分多次收集，如果需要收取 24 h 尿液，请使用代谢笼收集（尿液收集管下端置于冰面或冰袋中），并且及时冻存；

2.3.13 微生物（细菌）

适用样本：大肠杆菌、枯草杆菌、酿酒酵母菌、恶臭假单胞菌、酵母、棒杆菌属、单胞藻、运动发酵单胞菌、氧化葡萄糖酸杆菌等。

1.连同培养基转移到进口的 15 毫升的离心管中，**低速**离心，使细菌沉淀于离心管的底部（$1*10^8$ 个细菌为宜）。

2.倒掉培养基（尽量倒干净）后（可以用 PBS 缓冲液快速清洗一次，再次离心，倒掉 PBS（尽量倒干净））。

3.将离心管的尖底插入液氮中，淬灭细菌，然后-80℃冻存，干冰邮寄，每个样品最好准备两管。

注意：操作尽量迅速，培养基尽量倒干净，用滤纸条将底部残留的培养基吸尽最好。

注意事项：

（1）微生物代谢速度非常快，所以所有的步骤需要尽快完成；

（2）菌体数量不同样本间需要保持一致；

（3）一般 OD600≈0.6 时，细菌处于对数期，其浓度为 10^8 cells/mL。此标准为经验值，需根据客户实验室具体情况进行调整。

（4）请先拿空离心管的尖端插入液氮中试试离心管的质量，如果不破则可进行样本取材。

（5）操作尽量迅速，培养基尽量倒干净，用滤纸条将底部残留的培养基吸尽最好。

2.3.14 微生物培养液

方法一：培养好的菌液混匀后，取 10mL 菌液，用 0.2 μm 孔径的过滤膜进行快速抽滤，去除菌体。将滤液按 1mL/well 进行分装，冻存到-80℃冰 箱内，足量干冰寄送。

方法二：培养好的菌液混匀后，取 2mL 菌液，3000 rpm，4℃离心 10 min，取上清，冻存到-80℃冰箱内，足量干冰寄送。

注意：因培养基中可能含有高糖、高盐、高渗等成分，可能影响后续质谱上机检测，因此含有培养基的样本需售前咨询。

2.3.15 细胞上清

1.使用合适的容器收集细胞培养液或其他生物液体；

2.3000 g，4℃，离心 15 min，小心转移上清液至新的无菌离心管中；

3.将分离出的细胞上清液 16000 g，4℃，离心 10 min（枪头不要触碰到管底一侧的杂质）小心转移上清到新的无菌离心管中，-80℃保存。足量干冰寄送。

2.3.16 根际土壤

1.去除（抖落）根周松散的土：应尽量保证完整的根组织，并去除多余的土；

2.缓冲液震荡洗下根际土（紧密粘附）：为防止在震荡过程中对微生物和根组织细胞的破坏，此处建议直接使用无菌水处理，震荡时有手动的，也有用摇床等震荡的，时间和强度根据洗涤的难易程度和根组织而异；

3.高速离心收集沉淀：用无菌水冲处理后之后，可高速离心后收集土壤沉淀，若沉淀较少，也可用提取水体 DNA 的方法，经 0.22 μm 滤膜过滤收集土壤和微生物或者或者直接真空冻干处理（无冻干条件，可直接浊液冻存寄送，由实验室进行冻干，再取样做实验）；

4.保存：干冰寄送，低温-80℃保存。

2.3.17 根系分泌物

1. 取整株植物的根部，迅速用 PBS 缓冲液漂洗掉根上的泥土；

2. 将整株根部至于装有超纯水的大容器中，培养一段时间；

3. 取一定体积的根系分泌物液体样本，1200 rpm 离心 15 min，去除杂质，用冷冻干燥仪冻成干粉；-80℃保存；足量干冰寄送。

注意事项：

（1）PBS 缓冲液快速冲洗;

（2）根系分泌物所需体积因为培养植物根部分泌物质量不同，所以需要根据最终浓缩成干粉的量来定；

（3）因为粉末在寄送过程中容易分散到管壁，不好称重。建议在冻干前将 EP 管称重，冻干后将 EP 管和冻干粉**一起称重后，记录清楚样本重量。**

2.4 代谢组生物学重复建议

微生物和植物：建议每组生物学重复≥6-8 个；

模式动物：建议每组生物学重复≥8-10 个；

临床样本：建议每组生物学重复≥30 个；

备注：

(1)在允许的条件下，多准备一份样本备用；

(2)样本数在 10 个以内的项目，实验室默认不做 QC，如有必要请在下单时备注。

2.5 代谢组特殊样本说明

2.5.1 绝对不接收的样本

1) 含有重金属盐（Cd、Hg、As 等）的样本

2) 含有放射性同位素、剧毒、腐蚀性的样本

3) 具致病性、可传染疾病性的原始样本

4) 客户进行过代谢组学前处理步骤却未标注提醒的样本

5) 反复冻融且存放不规范的样本

6) 经过别的组学实验处理过的样本（如经过 RNA 提取等）

7) 有大量溶血的血清样本

备注：其他特殊不确定样本务必提前咨询技术人员。

2.5.2 特殊样本

（1）较难取样的样本，可咨询实验室样本量以及样本存储相关事项

（2）非常规样本，需要咨询实验室是否能进行前处理，如（油类样本）

（3）粪便样本在取样时不与尿液混合，防止重复性较差，且影响实验结果

备注：其他特殊及不确定样本务必提前咨询实验室。

3、关于特殊（强传染性，病原体类，病变组织）样本

3.1 特殊样本（传染性极强，病原体类，病变组织）注意事项

(1)新冠、HIV 等传染性极强的样本，实验室不接收。

(2)如有特殊需要，上述样本类型的项目请联系技术支持或实验室进行特殊情况沟通并处理。

3.2 拒收的传染性/致病性实验样本列表

病名	发病率	病名	发病率
病毒性肝炎（HAV、HBV、HCV、HDV、HEV）	(1/10 万)	甲型 H1N1 流感(H1N1)	(1/10 万)
结核（TB)	(1/10 万)	血吸虫	(1/10 万)
梅毒(TP)	(1/10 万)	百日咳(WC)	(1/10 万)
细菌性和阿米巴性痢疾	(1/10 万)	流行性乙型脑炎(JBE)	(1/10 万)
淋病(CLAP)	(1/10 万)	钩端螺旋体病(CIN)	(1/10 万)
猩红热(SF)	(1/10 万)	炭疽	(1/10 万)
布鲁氏菌病	(1/10 万)	流行性脑脊髓膜炎(ECM)	(1/10 万)

艾滋病（HIV）	（1/10 万）	登革热（DHF）	（1/10 万）
伤寒和副伤（TAB）	（1/10 万）	霍乱（CHO）	（1/10 万）
流行性出血热（EHF）	（1/10 万）	脊髓灰质炎	（1/10 万）
麻疹（MMR）	（1/10 万）	鼠疫	（1/10 万）
传染性非典型肺炎（SARS）	（1/10 万）	人感染高致病性禽流感（H5N1）	（1/10 万）
白喉（DIPH）	（1/10 万）		
新型冠状病毒肺炎（COVID-19）			