时空组学
STOmics

时空实验 FFPE（适配转片）样本准备操作指南



文档编号：STOG02017
说明书版本号：A

版本历史

说明书版本：	A
修订日期：	2026 年 10 月
描述：	首次发布

提示：请下载最新版说明书，与相应版本的试剂盒使用。

©法律声明。
2026 深圳华大三箭齐发科技有限责任公司保留所有权利。

1. 本产品仅用于研究，不用于诊断。
2. 本手册上的内容可能全部或部分受到适用的知识产权法的保护。深圳华大三箭齐发科技有限责任公司和 /或相应权利主体依法拥有其知识产权，包括但不限于商标权、版权等。
3. 深圳华大三箭齐发科技有限责任公司不授予或暗示使用我们或任何第三方的任何版权 内容或商标（注册或未注册）的权利或许可。未经本单位书面同意，任何人不得擅自使用、修改、复制、公开传播、更改、分发或发布本手册的程序或内容，不得使用或利用设计技巧使用或占有本单位或本单位关联方的商标、标识或其他专有信息（包括图像、文本、网页设计或形式）。
4. 此处的任何内容都无意于或应被理解为对此处列出或描述的任何产品的性能的任何保证、表达或暗示。适用于本文所列任何产品的任何和所有保证均载于购买该产品所附的适用销售条款和条件。深圳华大三箭齐发科技有限责任公司不做任何保证，并在此声明对本文所述任何第三方产品或协议的使用不做任何保证。

目录

第一章 产品介绍

1.1. 产品描述 1
1.2. StereoLink （转片工装）套装介绍 1
1.3. StereoLink 芯片 N 载体 -Dual 介绍 2
1.4. StereoLink FFPE 转片试剂盒 2
1.5. StereoLink 配件套装 -FFPE 转片 3
1.6. Stereo-seq 转录组试剂盒 N 4

第二章 FFPE 样本的准备

2.1. 实验前准备 6
2.2. FFPE 样本要求 9
- 样本类型 9
- 样本准备 9
- 样本组织 RNA 完整值 DV200 9

2.3. 玻片准备 10
- 玻片选择 10
- 玻片准备 10

2.4. FFPE 组织切片与捞片 11

附录 1 样本的保存和运输

1.1. 组织贴玻片样本的保存与运输 15

提示：额外的操作提示和指导。

关键步骤：特别注意这些步骤，以避免实验失败或不好的结果。

质量检查点

注意：特别注意；操作不当或疏忽可能导致实验失败。

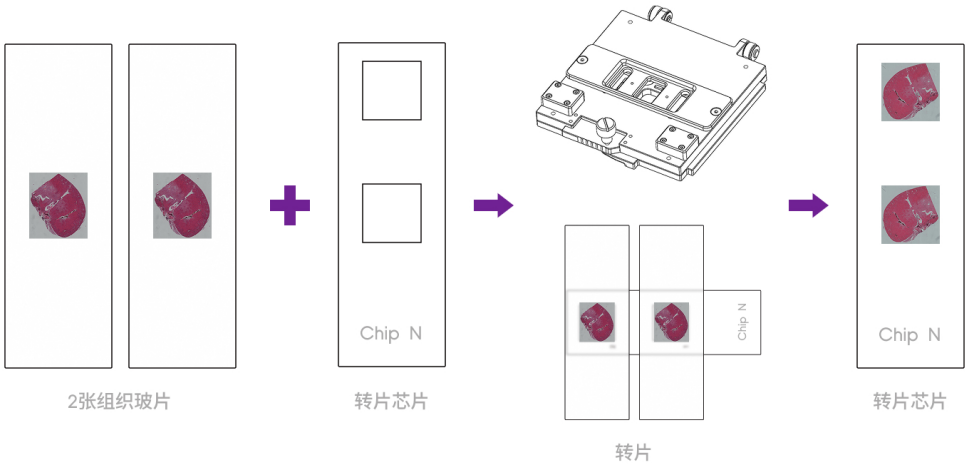
停止点：您可以在此暂停实验并存储样品。

第一章
产品介绍

1.1. 产品描述

本操作说明书适配于 **StereoLink FFPE 转片试剂套装 V1.0**。

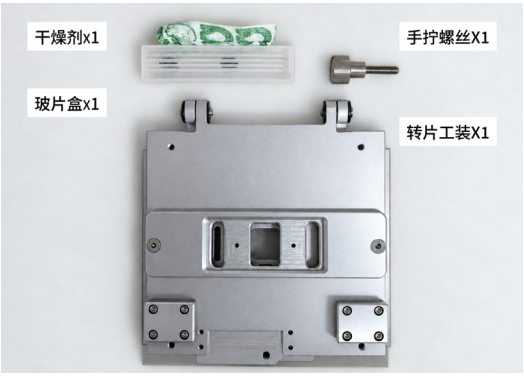
StereoLink FFPE 转片试剂套装是用于将贴在普通病理玻片的 FFPE（福尔马林固定石蜡包埋）样本组织切片转移至 StereoLink chip N Slide（1cm*1cm）-Dual 载体的试剂套装。本试剂套装采用的组织切片转移技术，可将 H&E 染色后的目标组织区域完整转移至芯片 N 载体，结合 Stereo-seq FFPE 转录组试剂盒 V1.1 获得同切片的 H&E 染色、DAPI 染色和单细胞分辨率全转录组空间表达图谱的构建。

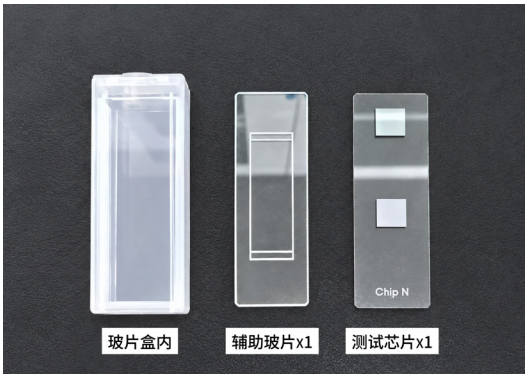


本试剂套装（货号：940-005156-00）中提供的所有试剂都经过严格的质量控制和功能验证，最大程度上保证了文库制备的稳定性和重复性。

1.2. StereoLink（转片工装）套装介绍

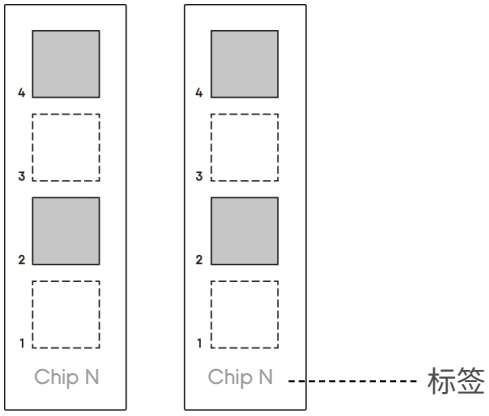
StereoLink 套装中包含 1 个工装，1 个手拧螺丝，1 个辅助玻片和 1 个测试芯片。详见《转片工装用户指引》





1.3. StereoLink 芯片 N 载体 -Dual 介绍

StereoLink 芯片 N 载体（1 cm*1 cm）-Dual 芯片盒中包含 2 个载体，每个芯片载体上均贴有 2 张 Stereo-seq 芯片 N。



StereoLink 芯片 N 载体（1 cm*1 cm）-Dual 保存方法

StereoLink 芯片 N 载体（1 cm*1 cm）-Dual 装于真空密封的铝袋中，冷链运输。收到产品后须立即将未开封的 StereoLink 芯片 N 载体（1 cm*1 cm）-Dual 储存在 -25°C ~-15°C。若拆袋后未使用，需重新干燥密封并储存在 -25°C ~-15°C。

需在铝制密封袋中放入干燥剂以保持干燥条件。重新密封的芯片不可放置超过两周。

1.4. StereoLink FFPE 转片试剂盒

表格 1-1 StereoLink FFPE 转片试剂盒试剂组分信息

StereoLink FFPE 转片试剂盒	货号：940-005158-00			
组分信息	货号	管盖颜色	规格及数量	
Enhance Reagent I	1000069669	黄色	18 μL	× 1
Enhance Reagent II	1000069880	黄色	1743 μL	× 1
Transfer Reagent	1000069881	白色	198 μL	× 1
Separate Reagent	1000067381	白色	880 μL	× 1
Coating Buffer I Pro	1000070001	绿色	220 μL	× 1
Coating Buffer II Pro	1000069882	绿色	27 μL	× 1
储存温度：－25°C ~－15°C	运输温度：－25°C ~－15°C		有效期：见标签	

1.5. StereoLink 配件套装 -FFPE 转片

StereoLink 配件套装 -FFPE 转片中包含 2 套 V3 夹具、6 个 V3 载具垫圈、12 张压敏膜、10 张修片贴纸和 6 个转片回字形软垫。



StereoLink 配件套装 -FFPE 转片 保存方法

StereoLink 配件套装 -FFPE 转片装于纸盒中，常温运输。收到产品后须室温保存。

1.6. Stereo-seq 转录组试剂盒 N

表格 1-2 Stereo-seq 转录组试剂盒 N 试剂组分信息

Stereo-seq 转录组试剂盒 N	货号：201KN11114			
组分信息	货号	管盖颜色	规格及数量	
Coating Buffer I	1000064221	绿色	220 μL	× 1
Coating Buffer II	1000064222	绿色	10 μL	× 1
Mounting Medium	1000064223	紫色	50 μL	× 1
Decrosslinking Reagent	1000064224	绿色	1700 μL	× 1
PR Enzyme	1000028500	红色	10 mg	× 1
RI	1000069883	橙色	70 μL	× 1
RT Buffer Mix	1000047911	透明	731 μL	× 1
RT Oligo	1000047913	透明	44 μL	× 1
RT Enzyme Mix	1000047914	透明	88 μL	× 1
RT Plus	1000047912	黄色	18 μL	× 1
Elute Buffer	1000064226	黑色	1725 μL	× 2
Elute Additive	1000064227	黑色	88 μL	× 1
4X cDNA PCR Mix	1000069884	蓝色	110 μL	× 1
cDNA Primer	1000047917	蓝色	53 μL	× 1
储存温度：－25°C ~ －15°C	运输温度：－25°C ~ －15°C	有效期：见标签		

收到产品后

a. 请尽快将产品按照指定条件保存。若转移时间较长，建议使用控温容器运输；

b. 若发现冷链箱温度异常，可要求物流方现场打印温度实时监控记录表；签收后也可联系当地科研合作代表，以查询相关记录；

c. 当运输条件、储存条件及使用方式都正确时，所有组分在有效期内均能保持完整活性。

第二章
FFPE 样本的准备

2.1. 实验前准备



⚠ 本实验用于稀释试剂的液体，除特殊说明外，均使用 Nuclease - Free Water（NF-H_2O）。

第一天

准备试剂	用途	准备流程	暂存条件
400 mL 30% 乙醇	组织切片与贴片	无水乙醇稀释到 30%（使用 ddH_2O）	室温 1 天

第二天

准备试剂	用途	准备流程	暂存条件
100 mL 96% 乙醇	脱蜡	无水乙醇稀释到 96%（使用 ddH_2O）	室温 1 天
50 mL 90% 乙醇	脱蜡	无水乙醇稀释到 90%（使用 ddH_2O）	室温 1 天
50 mL 80% 乙醇	脱蜡	无水乙醇稀释到 80%（使用 ddH_2O）	室温 1 天
50 mL 70% 乙醇	脱蜡	无水乙醇稀释到 70%（使用 ddH_2O）	室温 1 天
50 mL 50% 乙醇	脱蜡	无水乙醇稀释到 50%（使用 ddH_2O）	室温 1 天
50 mL 30% 乙醇	脱蜡	无水乙醇稀释到 30%（使用 ddH_2O）	室温 1 天
苏木素染色液	H&E 染色	上下颠倒混匀后过滤	室温 1 周
Mounting Medium	H&E 染色	提前从 -20°C取出待其融化后建议保存于室温	室温

第三天

准备试剂	用途	准备流程	暂存条件
1M 醋酸	脱色	将冰醋酸稀释到 1M，按照至少 20 mL/玻片盒	室温 1 天，封口保存
Enhance Reagent I	组织预处理	使用前从 -20°C取出，室温化冻，立即使用	/
Enhance Reagent II	组织预处理	提前从 -20°C取出，室温化冻，室温放置	室温 1 天
Transfer Reagent	转片	提前从 -20°C取出，42°C化冻，放置备用	42°C 1 天
Separate Reagent	转片	提前从 -20°C取出，室温化冻，室温放置	室温 1 天
Coating Buffer I Pro	芯片预处理	提前从 -20°C取出置于冰上融化，冰上备用，若有结晶，涡旋振荡至结晶消失	4°C 1 天
Coating Buffer II Pro	芯片预处理	提前从 -20°C取出，放于冰上	冰上 2 hr
DAPI 染色液	DAPI 染色	将 1 μL DAPI 染液 加入 499 μL 5X SSC 并混匀	现配现用，室温放置不超 1 hr
5X SSC	DAPI 染色	将 250 μL 20×SSC 加入到 750 μL NF-H_2O 中并混匀	室温 1 周
1X SSC	DAPI 染色	将 100 μL 20X SSC 加入到 1900 μL NF-H_2O 中并混匀	室温 1 周
10X 透化试剂储存液	透化	用 1 mL 新鲜配制的 0.01N HCl 将 PR Enzyme（红盖，粉末状）溶解，并通过移液器吹打混匀。溶液可分装成若干份，于 -20°C长期保存	冰上 2 hr
不要涡旋透化酶，可通过移液器吹打混匀。建议对配制好的 10X 透化试剂储存液进行分装，避免反复冻融。			
1X 透化试剂工作液	透化	用 0.01N HCl 将 10X 透化试剂储存液 30 μL 稀释到 300 μL。按照至少 300 μL/ 芯片	冰上备用，不超过 6 hr
0.1X SSC	透化	将 10 μL 20X SSC 加入到 1990 μL NF-H_2O 中并混匀	室温 1 周
5×SSC（5% RI）	透化后清洗	将 82.5μL 20×SSC、16.5μL RI、加入到 231μL NF H_2O 中，混匀，置于冰上	冰上 2 hr
Decrosslinking Reagent	解交联	提前取出，室温备用	室温
RT Buffer Mix	RT	提前从 -20°C取出，在冰上融化，置于冰上，若发现有絮状沉淀，室温放置 5 min，振荡混匀，离心备用	使用期间置于冰上
RT plus	RT	提前从 -20°C取出，在冰上融化，并暂存于冰上	使用期间置于冰上
RT Oligo	RT	提前从 -20°C取出，在冰上融化，并暂存于冰上	使用期间置于冰上
Elute Buffer	cDNA 释放	提前取出放于 55°C溶解，摇匀至无沉淀，再恢复至室温，后可保存于室温	室温

第四天

准备试剂	用途	准备流程	暂存条件
磁珠	cDNA 纯化	提前取出，42°C 预热 30 min	4°C
30 mL 80% 乙醇	cDNA 纯化	无水乙醇稀释到 80%（使用 NF-H_2O）	室温 1 天
4X cDNA PCR Mix	cDNA 扩增	提前从 -20°C取出，在冰上融化，并暂存于冰上	使用期间置于冰上
cDNA Primer	cDNA 扩增	提前从 -20°C取出，在冰上融化，并暂存于冰上	使用期间置于冰上
TE Buffer，pH8.0	cDNA 纯化	提前准备，室温备用	室温

准备仪器	准备流程	备注
PCR 仪	1. 90°C用于解交联（热盖 85°C） 2. 37°C用于烤片和透化步骤（热盖 42°C） 3. 60°C用于烤片（热盖 65°C） 4. 42°C用于烤片和 FFPE MIX 反应步骤（热盖 45°C） 5. 55°C用于 cDNA 释放（热盖 60°C） 6. 95°C、98°C、58°C、72°C反应温度用于 PCR 扩增程序（105°C热盖）	检查 PCR 仪是否有异常，必要时更换
恒温干燥箱	1. 42°C用于预热 Transfer Reagent 2. 55°C用于脱色 3. 70°C用于转片	检查仪器是否有异常，必要时更换
荧光显微镜	透射明场（H&E 染色）、DAPI 通道（荧光染色）	检查显微镜是否有异常，必要时更换

2.2. FFPE 样本要求

样本类型

StereoLink FFPE 转片适用于常见动物物种的 FFPE 蜡块样本、FFPE 蜡片（组织切片）样本及 FFPE 组织贴普通病理玻片（非粘附玻片）样本的时空转录组研究，主要适用于人类病理样本，另外包括但不限于鼠、猴、猪等样本。

样本准备

- 组织取样后应尽快使用 10% 福尔马林或 4% 多聚甲醛（PFA）固定 12-48 hr（参考各医院病理科样本固定的方法），其他固定条件建议先咨询或自行承担风险，优先推荐使用 10% 福尔马林固定；
- 蜡块制作后需封蜡，避免出现组织风干、被腐蚀、发霉等情况；
- 样本处理需保持组织原有结构；
- 蜡块制作可参考各医院病理科制作蜡块的流程，要求脱水充分、浸蜡充分，切片可连续成片、无裂痕和空腔（组织本身自带除外），样本切片过程中不会与外部包埋的蜡分离。

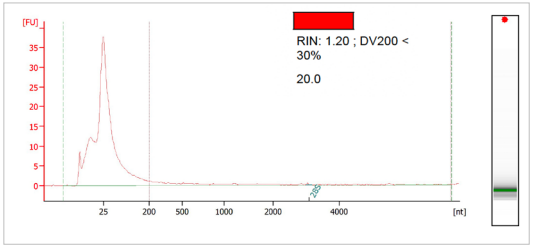
样本组织 RNA 完整值 DV200

为保证样本质量，降低实验风险，建议切取 3-5 片 5 μm 厚的组织片，放入 1.5 mL EP 管中 (可存放于 -80° C 1 个月)，然后进行 Total RNA 的提取 (Deparaffinization Solution，Qiagen 19093 和 RNeasy FFPE Kit(50)Qiagen 73504) 和质量检测 (安捷伦高灵敏度 RNA 分析试剂盒，Agilent 5067-1513)。

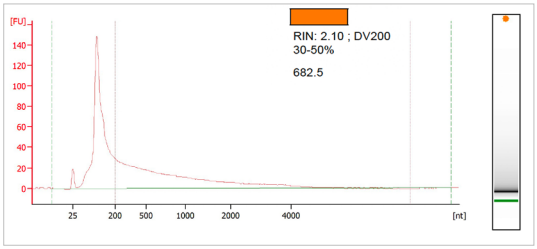
参考图一 : 不同 RNA 质检后的 DV200 分布区间示例

建议对 DV200 ≥ 30% 的组织样本进行后续实验操作。

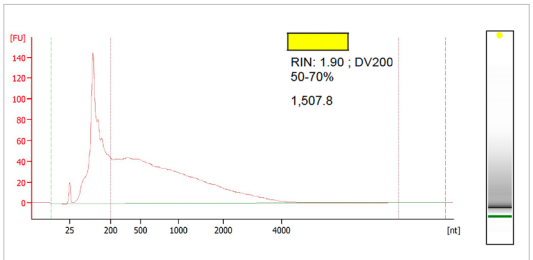
例 1：DV200 < 30%



例 2：DV200 在 30%~50% 之间



例 3：DV200 在 50%~70% 之间



例 4：DV200 > 70%

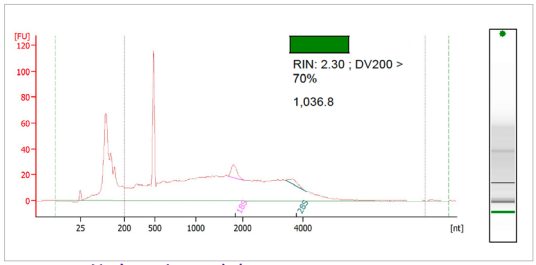


图 1 不同 RNA 质检后的 DV200 分布区间示例

2.3. 玻片准备

玻片选择

StereoLink FFPE 转片需选用普通病理玻片（非粘附玻片），贴片玻片的选择可能影响组织切片粘附效果和转片效果，推荐使用的普通病理玻片详见**《时空转录组 FFPE V1.1 （适配转片）生化流程第三方物料需求表》**，未推荐的玻片品牌及型号建议在使用前进行脱片和转片测试，替代玻片可能会对检测结果产生负面影响。

玻片准备

在贴片前，确认所用玻片的尺寸在要求范围内，宽度 25.0-26.0 mm，长度 75.0-76.0 mm，厚度 1.0-1.2 mm。

需要注意，不同厂家的普通病理玻片出厂尺寸公差存在差异，公差的差异可能导致玻片尺寸过大或过小，进而与转片工装无法匹配。

准备普通病理玻片 (非粘附玻片)，贴片前参考《转片工装用户指引》确定贴片区域。

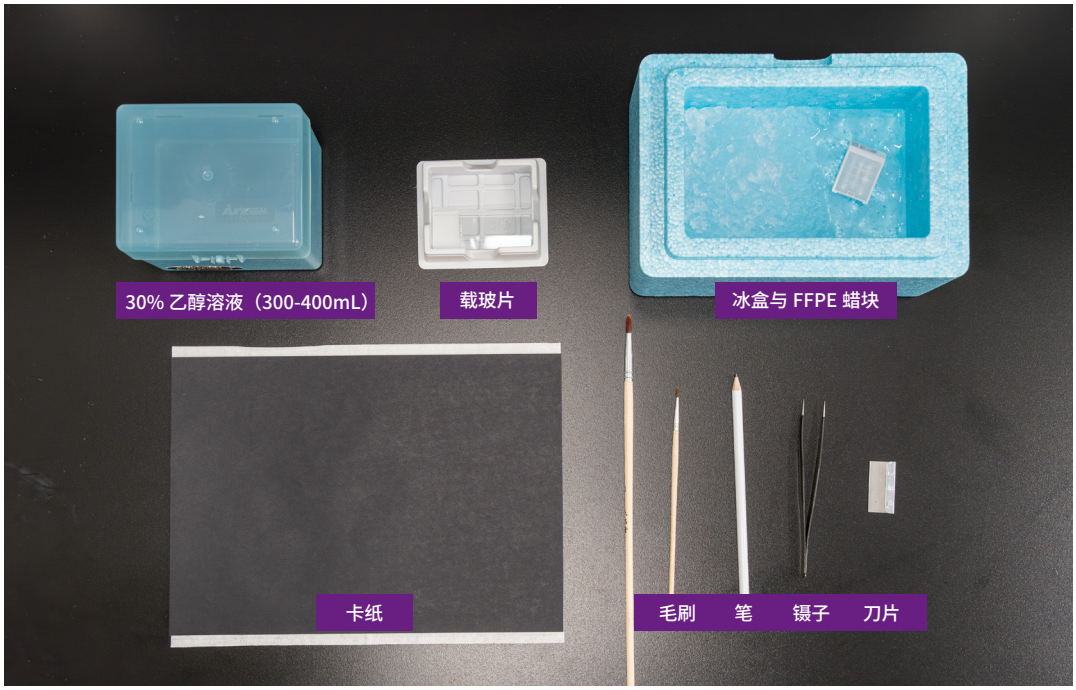




贴片前检查玻片是否存在灰尘或纤维等杂质，若存在杂质请使用无尘实验室擦拭布或气瓶清除；贴片后检查组织是否位于上述《转片工装用户指引》中所述区域，若在载玻片上放置多张切片，请确保石蜡包埋组织不重叠。

2.4. FFPE 组织切片与捞片

试剂	准备方法（1 张芯片用量）	备注
☐ 400 mL 30% 乙醇	120 mL 无水乙醇加入到 280 mL ddH_2O 中，混匀，加入容器中	捞片，现配现用



该流程建议由具有丰富经验的石蜡切片技术人员操作。

a. 提前开启摊烤片一体机，设置水浴温度 40°C ~48°C（医院病理科可按照各自常用的水浴温度设置），烤片温度 42°C；

如无摊烤片一体机，可采用摊片水浴锅配合金属浴等，提前设置金属浴温度为 42°C。

b. 准备好石蜡切片机，准备毛刷、镊子以及新的刀片；准备 30% 乙醇（300~400 mL），装于 1 mL 或 200 µL 枪头盒内（或其他可以承装液体的宽口容器）；

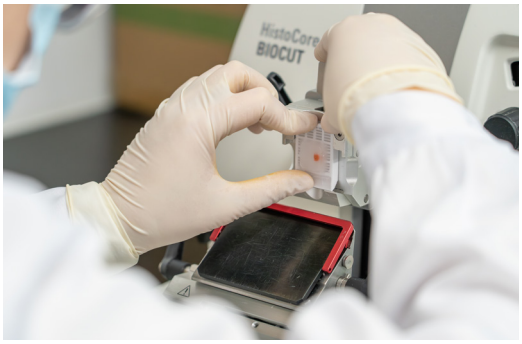
c. 取出 FFPE 蜡块，置于冰水混合物中 **10-30 min**；或将组织面贴在冷却台上冷敷 **5-10 min**；

当蜡块是脂肪含量高的组织（如乳腺组织）时，可以将蜡块置于 -20°C冷冻 10 min 再切片。



d. 切片前擦拭蜡块表面及周围水迹；

e. 固定在切片机上准备切片，若组织包埋较深，可以先用旧刀片修除多余的蜡，切到组织暴露后，锁住刀头，换新的刀片进行切片；



f. 调整切片厚度，普通组织建议 5 μm、脂肪含量高的组织（如乳腺组织）建议 4 μm（为降低后续操作中的脱片风险）进行切片；

g. 正式切片时，首先将第 1 片丢弃（厚度不符合要求）；

h. 在随后的切片过程中选出需要的目标切片，用于修片后贴于准备好的普通病理玻片；



i. 将目标切片修剪至玻片贴片区域的尺寸，将修剪后的蜡片用毛刷或镊子小心转移至 30% 乙醇中预展片；





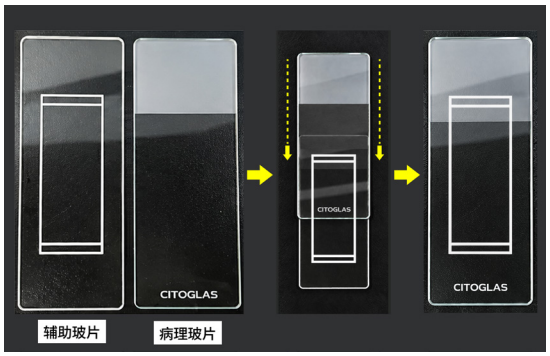
该步骤用于辅助转移切片至水浴锅中，可确保展片顺利，若由经验丰富的实验师操作，可跳过该步骤。

j. 确认水浴锅预热到目标温度（40~48°C），用干净的普通病理玻片将蜡片从 30% 乙醇溶液捞起，转移至预热好的水浴锅中；

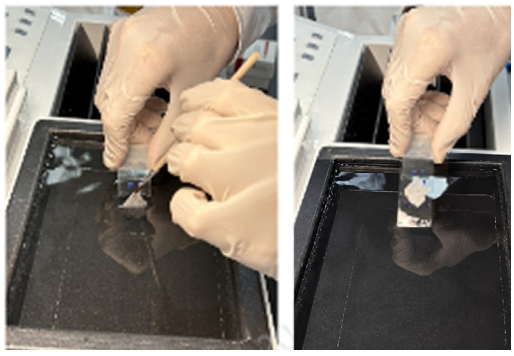
建议切片新手注意观察切片组织在水浴锅中的状态。

组织状态	原因	操作
组织部分完全展平无褶皱	正常	按实验说明开展下一步
组织部分一直有褶皱	温度过低	调高水浴锅温度 0.5°C -1°C，继续观察，直到组织完全展平
组织周围的蜡有融化迹象	温度过高	停止加热并添加少量冷水，并准备立即捞片

k. 用毛刷轻轻抵住已展平的切片一角，将玻片靠近组织，使组织切片能够覆盖到玻片贴片区域，离开水面完成贴片（捞片）；

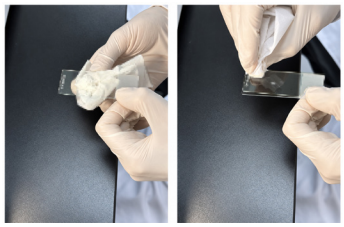


① 准备辅助玻片和病理玻片，将辅助玻片对齐贴于病理玻片背面，按方框定位可贴片区域

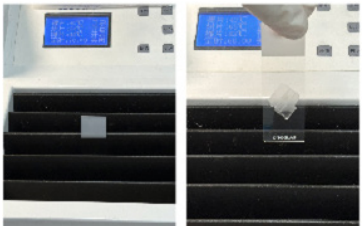


② 用毛刷轻轻抵住切片一角，使组织切片覆盖到可贴片区域，完成捞片

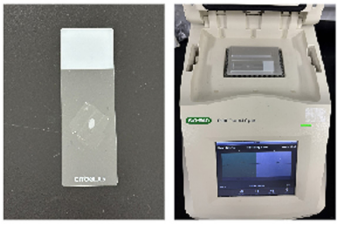
l. 用无尘纸小心擦去玻片背面及正面组织四周的水迹，倾斜放置 5min，擦去组织切片底部聚集的水迹，将组织玻片平放在金属浴上，42°C烤 3 hr 后 37°C烤过夜。



① 用无尘纸小心擦去玻片背面及正面组织周围水迹



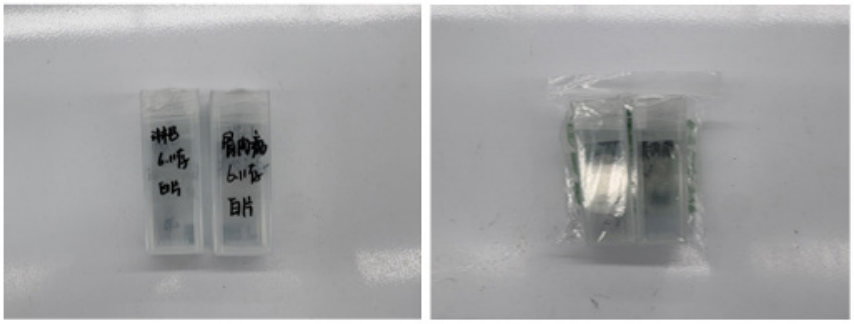
②倾斜放置玻片 5 min，擦去组织切片底部聚集的水迹



③ 组织切片完全贴至玻片后，平放至金属浴进行烤片

将组织切片在 42°C烤 3 hr -37°C烤过夜后，放入玻片盒中，添加干燥剂并置于 4°C，可保存 1 个月。

将组织切片在 42°C烤 3 hr -37°C烤过夜后，也可直接寄送，保存与运输操作详见 **附录 1.1《组织切片样本的保存与运输》**



注意事项：

① 具有丰富切片经验的技师可按照自己的习惯进行切片和贴片操作；

② 注意贴片后，切片表面应避免出现气泡；

③ 烤片也可以使用金属浴，或其他能够准确恒定加热的模块做替代。

⊙ 后续 FFPE 转录组实验操作流程请参照**《时空转录组 FFPE V1.1 （适配转片）转录组实验操作说明书》**。

附录一 样本的保存和运输

1.1. 组织贴玻片样本的保存与运输

a. 将组织贴于玻片指定区域后，在 42°C烤片 3 hr，37°C烤片过夜；

b. 将已贴上组织并完成烤片的组织切片朝一个方向放在玻片盒内，并使用封口膜密封；

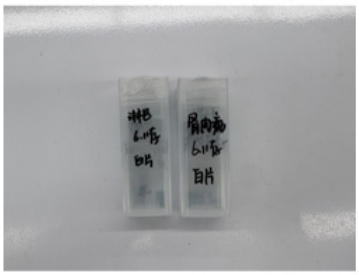
c. 将玻片盒放入自封袋，放入适量干燥剂后密封，再将自封袋装至硬盒中（防止被压变形）；

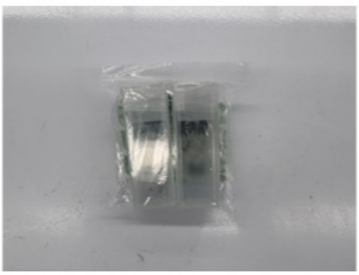
d. 根据寄送距离和时间，选择大小合适的泡沫盒，其厚度不低于 3 cm，且封口严实，保证泡沫盒密闭；

e. 推荐使用冰袋寄送，如寄送时间 > 24 hr，冰袋数量应不少于 6 块（13 cm×23 cm），置于样本周围；

f. 样本注意做好防撞措施，建议使用泡沫、发泡纸等多层包裹以避免运送过程中碰撞损伤样本；

g. 夏季因环境温度较高，可适当增加冰袋数量，确保样本运输过程中温度仍处于 2~8°C；









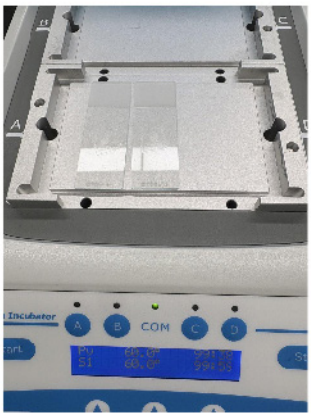
样本运输至目的地后，如不立即开展转录组实验，可在 4°C冰箱密封干燥保存，运输时间 + 保存时间最长不超过 1 个月。

h. 运输完成或存储结束后，在开展转录组实验前，拆开自封袋，从玻片盒中取出组织切片，室温静置 1 min，待玻片表面无水汽；



冰袋运输或低温保存后与室内有温差，芯片表面可能产生水汽，需尽快烤片。





i. 按照《时空转录组 FFPE V1.1 （适配转片）转录组实验操作说明书》中 **3.2 章节**转移至烤片机或金属浴 60℃烤片 1 hr，继续转录组实验即可。