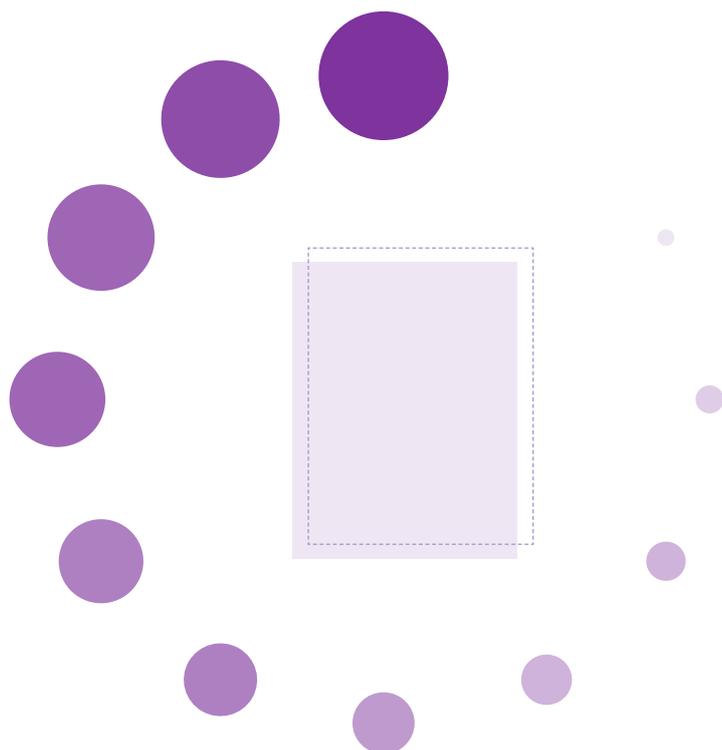


# 时空实验 FF 大尺寸组织 ( $\geq 2\text{ cm} \times 3\text{ cm}$ ) 样本准备 操作指南

本文档仅作为通用性指导参考资料，旨在为相关工作提供操作指引与方法借鉴。鉴于不同样本特性存在显著差异，实际应用场景复杂多变，本文档内容不构成对特定样本处理结果的任何明示或暗示性保证。使用者需结合具体样本特点、实际业务需求及专业判断，灵活调整并合理运用文档内容。



# 版本历史

说明书版本：A  
修订日期：2025 年 6 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。

2025 深圳华大三箭齐发科技有限责任公司保留所有权利。

- 本产品仅用于研究，不用于诊断。
- 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。
- 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）。
- 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

## 一. 样本要求

- 1.1. 样本类型 1
- 1.2. OCT 包埋块尺寸要求 1
- 1.3. 包埋块内组织尺寸要求 1

## 二. 动物组织包埋操作流程

- 2.1. 组织样本处理原则 2
- 2.2. 大尺寸组织样本包埋试剂与耗材 2
- 2.3. 大尺寸组织样品包埋方案 4
- 2.4. 包埋样本的信息标记规则和邮寄 6

## 三. 组织样本 QC 标准

6

## 四. 样本的保存和运输

6



**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。

# 一. 样本要求

该操作说明书适用于尺寸 ≥ 2 cm × 3 cm × 0.7 cm 且 ≤ 4.5 cm × 4.5 cm × 1.8 cm 的新鲜样本组织。

## 1.1. 样本类型

新鲜离体组织块样本。

实验室条件下严格保证新鲜样本在离体 **30 min** 内进行直接包埋处理，以最大程度避免组织内部 RNA 降解。



本流程亦支持冻存组织进行包埋处理后开展实验。但冻存组织可能存在碎裂、挤压变形等情况。实验前，除了需确认 RNA 完整性，还应特别注意组织形态，确认组织形态符合要求，可以顺利完成贴片后，再开展实验。

## 1.2. OCT 包埋块尺寸要求

为提升大尺寸组织冷冻切片的成功率，建议使用推荐的包埋模具，包埋块形状为规则的圆柱体（近圆形切面）或长方体，OCT 包埋块厚度需控制在 2 cm（包埋块厚度）以内，以避免造成切片时震颤跳刀等情况，如图 1-1 所示。

## 1.3. 包埋块内组织尺寸要求

尚未进行包埋的组织需量取三个维度的尺寸信息，即切面 X×Y 尺寸、Z 轴尺寸，如图 1-1。

组织尺寸在满足研究需求时，同时需考虑与 STOmics 定制化大芯片的适配性。以适配 2 cm \* 3 cm 大芯片为例，为确保组织四周均被 OCT 包裹以支撑切片，且为保证时空转录组染色图片满足分析要求，组织切面尺寸不应超过 1.8 cm × 2.7 cm（即为芯片尺寸 × 0.9），而 Z 轴（即组织厚度）尺寸不应超过 2 cm，如图 1-1 所示：

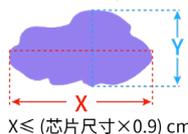
### 组织块

\*记录组织块的X、Y、Z轴信息

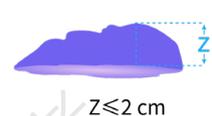


切面视角

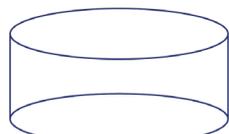
Y ≤ (芯片尺寸 × 0.9) cm



切面向下量取Z轴尺寸

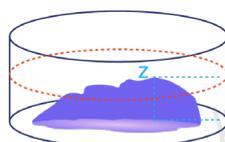


### 包埋模具



包埋模具直径5 cm

包埋模具高4 cm



OCT包埋块厚度 ≤ 2 cm

底面为切面

\*在包埋模具中：

1. 组织需尽量放置在中心位置，默认组织切面朝下放置；
2. 组织与周围包埋模具存在一定空间，需有OCT支撑。

图 1-1 包埋块 - 组织样本尺寸要求

- 组织切片 / 芯片面积不应超过 80%；
- 同一样本进行多个实验（质检、透化、转录组）时，每步重新封存后再进行下次实验时总量会有大约 10 张切片的损耗（切片厚度一般为 10 μm）；
- 在样本制备及送样时，除考虑自身项目需求外，需要考虑寄送样本 Z 轴是否可满足消耗量需要。

## 二. 动物组织包埋操作流程

### 2.1. 组织样本处理原则

STOmics 实验要求的组织制备操作处理过程需遵守的原则：

- ※ 尽量避免组织内部 RNA 降解；
- ※ 样本处理需保持组织原有结构；
- ※ 样本处理不影响后续实验操作。

### 2.2. 大尺寸组织样本包埋试剂与耗材

以下表格中提供推荐的包埋模具信息，该包埋模具组织适配性较强。

表格 2-1 大尺寸组织样品包埋模具选择

包埋模具		
品牌	描述	产品编号
-	2 英寸圆柱型模具（尺寸更大无法保证包埋效果） 圆底直径约 5 cm，高 4 cm 适配组织尺寸：≥ 2 cm × 3 cm × 0.7 cm 且 ≤ 4.5 cm × 4.5 cm × 1.8 cm	-

模具采购可参考链接：<https://e.tb.cn/h.6DRDZSjzutNBprD?tk=L0KWVN8zUkx>

或搜索关键词：蛋糕烘焙模具，然后选择合适的尺寸。

表格 2-2 其他包埋试剂 & 耗材清单

包埋试剂 & 耗材		
品牌	描述	产品编号
Sakura	SAKURA Tissue-Tek® O.C.T. Compound	4583
Gibco	1X PBS	10010023
Sigma Aldrich	无水乙醇	E7023
-	干冰 (使用时需打碎)	-
-	碎冰	-
Kimtech	Kimwipes™无尘纸	34155
-	35 mm × 10 mm 培养皿	-
-	冷冻锤 (冰切机配件, 可用尺寸合适的金属块代替)	-
-	不锈钢抹刀	-
-	直头无齿镊子	-
-	自封袋 (合适尺寸)	-
-	记号笔 (油性) (不选择水溶性)	-
-	铅笔 (用于在模具上做标记)	-
-	金属盒子	-

## 2.3. 大尺寸组织样品包埋方案

新鲜组织请严格保证离体 **30 min** 内进行 OCT 包埋，以最大程度避免组织内部 RNA 降解；



**实验室条件下严格保证新鲜样本在离体 30 min 内进行直接包埋处理，以最大程度避免组织内部 RNA 降解。**

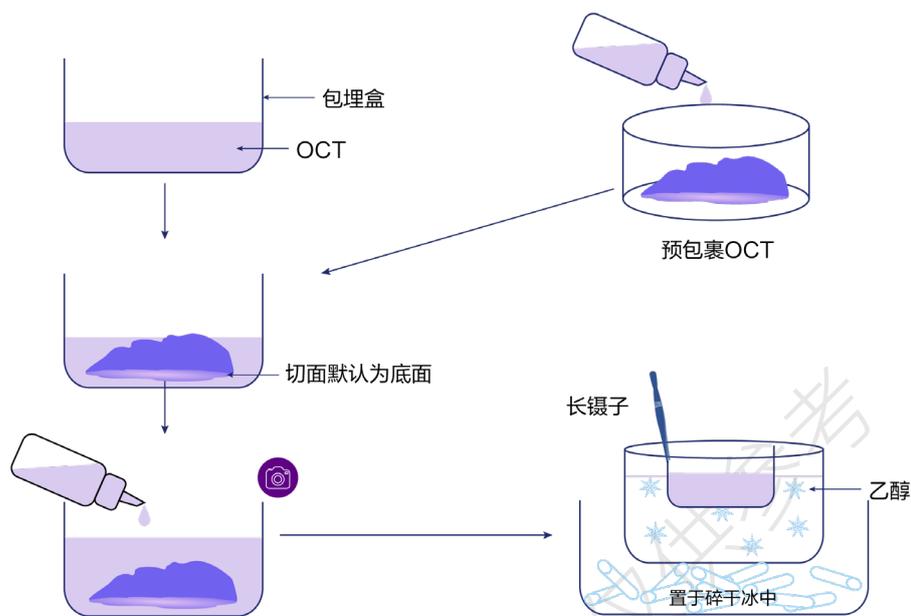


图 2-1 大尺寸组织处理简要流程示意图

- 准备工作 1: 需提前 **30 min** 准备 1 个装有碎冰的冰盒, 1 个装有碎干冰的干冰盒;
- 准备工作 2: 无水乙醇盛装于金属容器中, 置于  $-80^{\circ}\text{C}$  冰箱中预冷 **20 min** 以上; (预冷的乙醇从  $-80^{\circ}\text{C}$  冰箱取出后应立即敞开瓶盖放置, 如果有未使用完的乙醇应先敞开瓶盖放置到恢复室温, 然后再进行处理, 因为预冷的乙醇从  $-80^{\circ}\text{C}$  冰箱取出后不能密封放置, 温度变化会导致气体膨胀爆炸。)
- 准备工作 3: 推荐使用的包埋模具上无任何标记, 包埋前用铅笔标记相应信息, 如组织名称、日期等。为避免 OCT 加入过多, 导致 OCT 包埋块厚度  $>2\text{ cm}$ , 需提前在包埋模具内使用铅笔进行尺度标记, 如图 2-2 左;

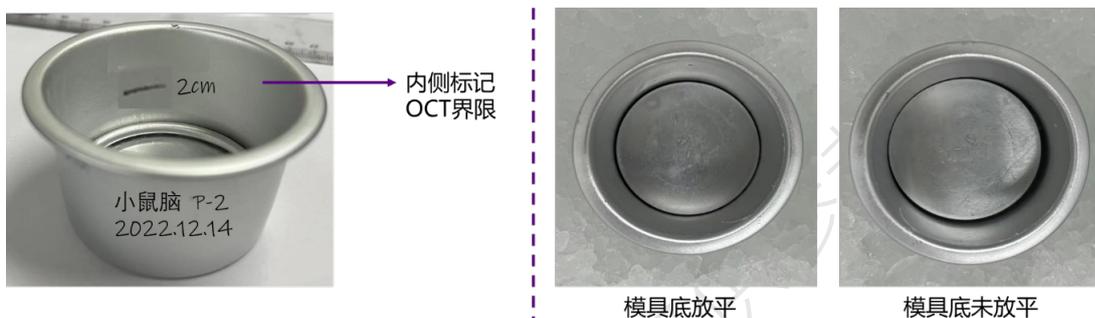


图 2-2 圆底包埋模具示意图

- d. 准备工作 4: 由于模具底身分离, 需提前在冰盒中调整角度放平, 以避免碎冰把模具底部顶起 (如图 2-2 右), 而造成 OCT 流至缝隙中, 在冷冻后造成包埋块难以脱模;
- e. 准备工作 5: 向大尺寸包埋模具及平皿 (用于 OCT 包裹组织) 中加入 2/3 的 OCT, 置于冰盒中预冷备用, 并将整管 OCT 置于冰盒中或 4°C 冰箱中预冷;
- f. 去除组织表面液体: 离体 **30 min** 内, 取尺寸合适的组织块, 使用无菌无纺布 / 无尘纸靠近组织表面, 吸干组织表面血液或组织液 (**严格执行**), 否则易在组织表面形成冰晶, 破坏组织结构;
- g. OCT 包裹组织情况: 将组织放入盛有预冷 OCT 的平皿中, 使用抹刀翻滚组织以使其与 OCT 充分接触;
- h. OCT 包埋: 使用注射器或其他工具排尽组织周围的气泡, 用抹刀将组织转移至冰上预冷的包埋模具中, 并调整好位置及切面方向, **包埋模具底面为切面**;
- i. OCT 浸没组织: 向包埋模具中填入预冷 OCT, **使组织完全被 OCT 覆盖**, 并排除组织周围的气泡;
- j. 组织排布信息获取: **拍照记录未冷冻时组织于包埋模具中的形貌以及分布**;
- k. 乙醇 - 干冰浴: 将 -80°C 预冷的乙醇提前倒到金属盒中, 并置于干冰上待用, 使用镊子夹取包埋模具, 将其放于干冰预冷的无水乙醇中 (图 2-3 左), 至 OCT 完全冷冻, 变为不透明白色;
  - 可在无水乙醇中加少量干冰, 保证乙醇低温, 但无水乙醇中的干冰会产生气泡, 为避免无水乙醇从金属盒外壁涌入包埋模具中, 需控制乙醇液面与模具顶端的距离。
  - 为加快冷冻过程, 可在干冰中预冷金属块 (如冷冻锤), 当最上层的 OCT 形成一圈白色不透明固态即可放置冷冻锤进行快速冷冻, 如图 2-3 右。

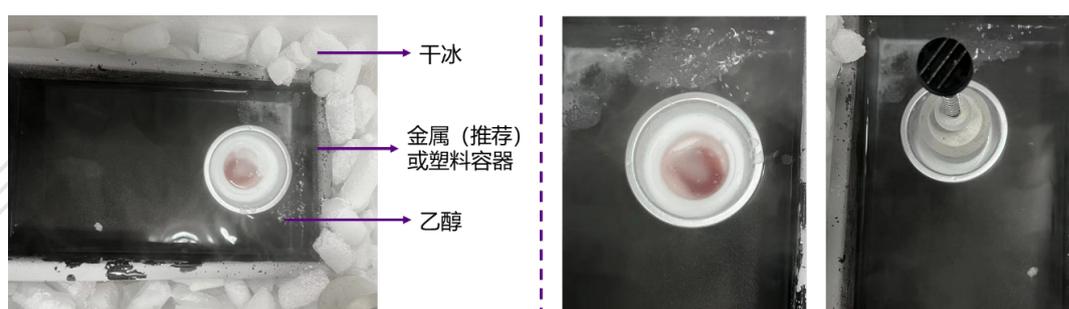


图 2-3 乙醇 - 干冰浴操作示意图

- l. 当组织放热完全后, 无水乙醇中的干冰生成气泡的速度将会趋于平缓, 此时可以将包埋模具取出;
- m. 将冷冻好的组织块放于干冰盒中, 避免复温, 最终转移至 -80°C 冰箱保存。

## 2.4. 包埋样本的信息标记规则和邮寄

- a. OCT 组织包埋块需标记样本名称、切面等信息，并单独装入塑封袋中，并用记号笔于塑封袋上标记样品名称、时间等信息，如图 2-4 所示；



图 2-4 包埋样本标记示意图

- b. 切面需标记“\*”或“切面”，在切片时实验员将从标记面开始切片，在不做任何标记的情况下，默认底面为切面（因包埋模具为圆柱形，侧面无法作为切面，所以组织放置时需考虑切面位置）；
- c. 标记时尽量保持冷冻包埋块处于干冰盒中，避免置于室温中造成组织因复温而融化，影响样本质量。

## 三 . 组织样本 QC 标准

表格 3-1 质控合格标准

质控步骤	合格标准	质检不合格对结果的影响
组织 RNA 完整性检测	28 S、18 S rRNA 条带清晰，无明显降解小片段，RIN (RQN) 值 ≥ 6	RNA 降解，会导致 valid reads 比例及捕获基因数异常低等问题
组织形态检测 [H&E 染色]	形态完整，无冰晶导致的组织开裂	目标组织形态不完整

## 四 . 样本的保存和运输

将组织包埋块使用锡纸包裹，并做好标记放入自封袋，在自封袋上做好记录，放入 - 80° C 冰箱长期保存。如需邮寄，可选干冰邮寄。