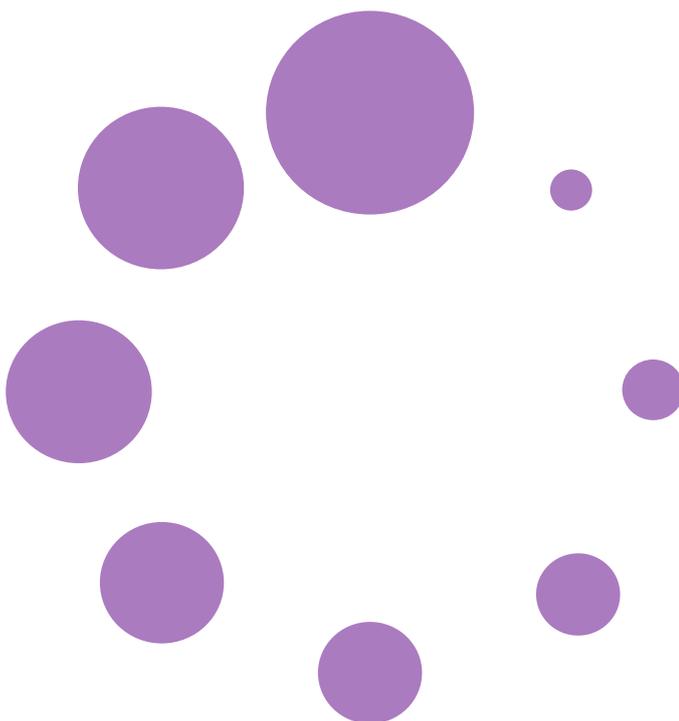


# 时空实验样本准备 使用说明书



# 版本历史

说明书版本： A  
修订日期： 2024 年 3 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。

2024 深圳华大生命科学研究院保留所有权利。

- 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。深圳华大生命科学研究院和 / 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。
- 深圳华大生命科学研究院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。深圳华大生命科学研究院不做任何保证，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 时空转录组、时空转录组兼容 H&E、时空转录组与多重免疫样本准备流程

1.1. 样本要求	1
1.2. 样本包埋	2
1.3. 样本的保存和运输	5

## 第二章 时空转录组 (0.5cm\*0.5cm) 样本准备流程

2.1. 样本要求	7
2.2. 样本包埋	8
2.3. 样本的保存和运输	11

## 第三章 时空转录组定制化芯片 (1cm\*2cm, 2cm\*2cm, 2cm\*3cm) 样本准备流程

3.1. 样本要求	13
3.2. 样本包埋	14
3.3. 样本的保存和运输	17

## 第四章 时空蛋白转录组样本准备流程

4.1. 样本要求	19
4.2. 样本包埋	20
4.3. 样本的保存和运输	23



**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：**您可以在这里暂停实验并存储样品。

# 第一章

时空转录组、时空转录组兼容  
H&E、时空转录组与多重免疫  
样本准备流程

## 1.1. 样本要求

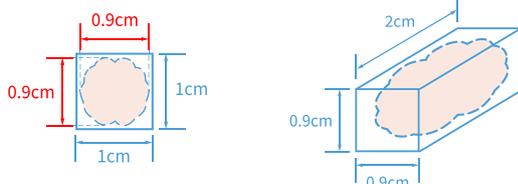


实验室条件下严格保证新鲜样本在离体 **30 min** 内进行直接包埋处理，以最大程度避免组织内部 RNA 降解。

组织尺寸不应超过 0.9 cm × 0.9 cm × 2 cm，组织切片 / 芯片面积不应超过 80%。



也支持对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，所以接收样本后除了确认 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进行下游实验。



### 样本类型

适用于常见动物物种的时空转录组研究，包括但不限于人、猴、鼠等样本，详情可详情可参考《Stereo-seq 试剂套装推荐样本》及《时空测试目录》。

<https://www.stomics.tech/resources/sop/>

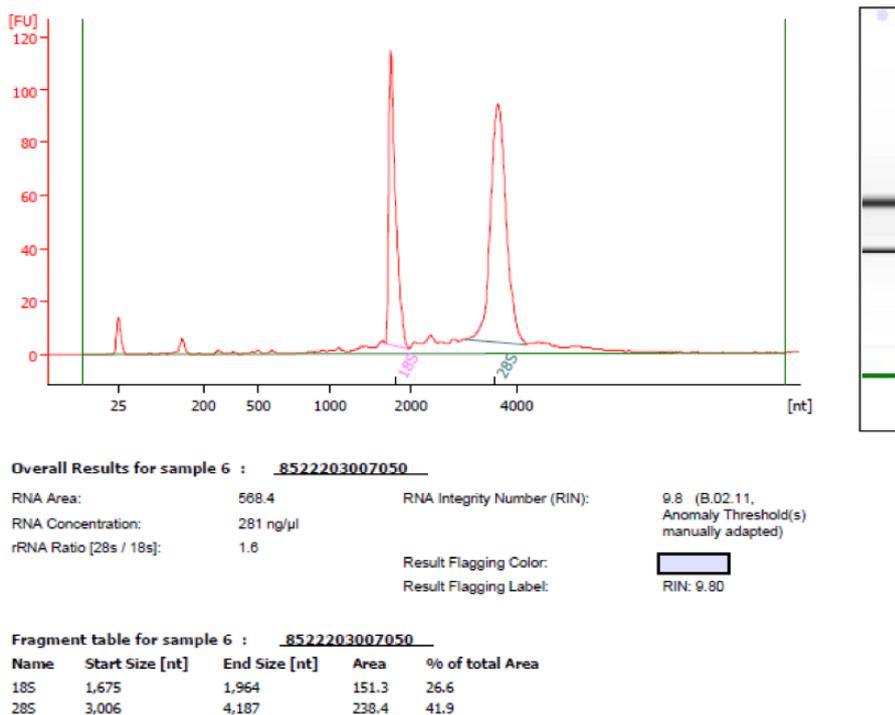
### 样本包埋组织 RNA 完整值 RIN

为保证样本质量，降低实验风险，建议切取 10-20 片 10 μm 厚的组织片，存放至 -20°C 下预冷的 1.5 mL EP 管中，然后进行 Total RNA 的提取和质量检测。

参考图一 . 小鼠大脑组织切片 RNA RIN 值峰图。



强烈建议只对 RIN ≥ 7 的组织样本进行后续实验操作。



图一 . 小鼠大脑组织切片 RNA RIN 值峰图

## 1.2. 样本包埋



样本处理视频参考网址：

[https://www.bilibili.com/video/BV1pG411j7Qi/?spm\\_id\\_from=333.999.list.card\\_archive.click&vd\\_source=bd22715407a1c1cff7e8401f5d973218](https://www.bilibili.com/video/BV1pG411j7Qi/?spm_id_from=333.999.list.card_archive.click&vd_source=bd22715407a1c1cff7e8401f5d973218)

<https://www.stomics.tech/col113/606>

a. 样本包埋所需耗材或试剂列表：

\* 以下为一个样本包埋所需耗材或试剂，如需包埋多个样本，需适量增加。



### 准备材料

名称	推荐品牌 / 名称 / 货号	规格	数量
碎冰	-	泡沫箱	1
干冰	-	泡沫箱	1
铝箔纸	-	卷	1
自封袋	-	个	1
金属块	BIOSHARP/Metal Coolbox/BC032	块	1
无菌无纺布	-	张	2
平皿	-	个	1
O.C.T	Sakura/ O.C.T Compound/ 4583	瓶	1
金属包埋盒 A	Sakura/Base Molds/4162	个 (按组织大小决定)	1
金属包埋盒 B	Sakura/Base Molds/7055	个 (凹槽尺寸更大, 比金属包埋盒 A 略大)	1
钝头镊子	-	支	1
注射器	-	支	1
药匙或抹刀	-	个	1
剪刀	-	把	1

- a1. 提前准备一泡沫箱碎冰并将 OCT 放在冰上预冷 **10 min**;
- a2. 根据组织大小提前准备两个合适大小的**金属包埋盒 A** 和 **B** (**B** 的尺寸需略大于 **A**) ;
- a3. 提前将预冷好的 OCT 填充**金属包埋盒 A** 的 2/3 左右, 并放置在冰上预冷 **10 min** 以上 (可使用注射器吸弃产生的气泡) ;
- a4. 在平皿中加满 OCT, 提前预冷 **10 min** (可使用注射器吸弃产生的气泡) ;



- a5. 准备一泡沫箱干冰;
- a6. 准备具有平整面的金属块, 金属块面积需大于**金属包埋盒 A**, 用于平放金属包埋盒;
- a7. 将金属块平整面向上放置到干冰中, 预冷 **5 min** 以上;
- a8. 将**金属包埋盒 B** 放置于干冰中预冷 **5 min** 以上。



- b. 新鲜组织离体 **30 min** 内, 用无菌无纺布或无尘纸擦干组织表面液体, 以避免在组织表面形成冰块, 影响后续包埋切片;



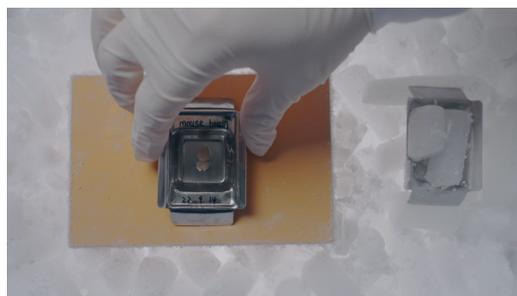
- c. 将组织放入在冰上预冷的 OCT 中，在不产生气泡的前提下用药匙使组织被 OCT 包裹（可使用注射器吸弃产生的气泡）；



- d. 将组织的拟切面朝下，放入冰上预冷的金属包埋盒 A 中，使组织接触到金属包埋盒 A 的底部。在不产生气泡的前提下用预冷的 OCT 填满金属包埋盒 A，直至将组织完全覆盖（可使用注射器吸弃产生的气泡）；



- e. 将装有组织的金属包埋盒 A，水平放置在干冰预冷的金属块上；



- f. 预冷的金属包埋盒 B（作为盖子）开口向上，轻轻加盖于装有组织块的金属包埋盒 A 上方，并在其开口中放置碎干冰，使干冰尽可能充分覆盖金属包埋盒表面，形成较为封闭的速冻空间；



g. 冷冻 5 min 后，移去**金属包埋盒 B**，检查 OCT 是否完全凝固且变成白色不透明状，若未完全冷冻好，则重复 f；



h. 如果组织块完全凝固并变成白色不透明状，用手轻掰**金属包埋盒 A** 两侧，即可使 OCT 包埋组织块从**金属包埋盒 A** 中脱模；



i. 检查包埋块底部是否被完全覆盖，如未完全覆盖，则将组织块放置在金属块上，底部向上，在表面涂上少量 OCT，待 OCT 完全凝固且不透明，在包埋块切面位置做好标记。



### 1.3. 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  $-80^{\circ}\text{C}$  冰箱长期保存。如需邮寄，可选干冰邮寄。

# 第二章

时空转录组 (0.5cm\*0.5cm)  
样本准备流程

## 2.1. 样本要求

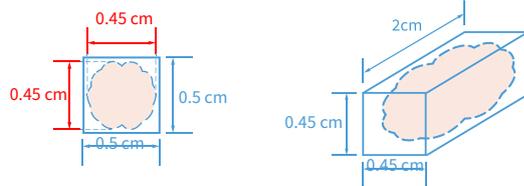


 实验室条件下严格保证新鲜样本在离体 **30 min** 内进行直接包埋处理，以最大程度避免组织内部 RNA 降解。

组织尺寸不应超过  $0.45\text{ cm} \times 0.45\text{ cm} \times 2\text{ cm}$ ，组织切片 / 芯片面积不应超过 80%。



 也支持对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，所以接收样本后除了确认 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进行下游实验。



### 样本类型

适用于常见动物物种的时空转录组研究，包括但不限于人、猴、鼠等样本，详情可参考《Stereo-seq 试剂套装推荐样本》及《时空测试目录》。

<https://www.stomics.tech/resources/sop/>

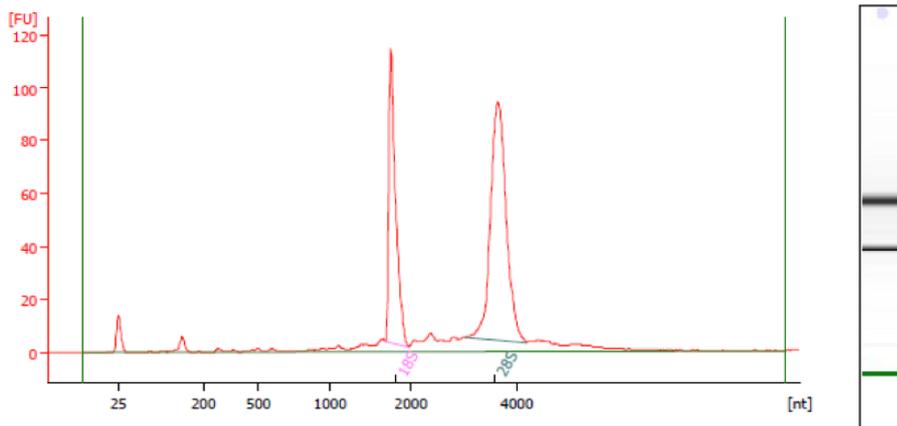
### 样本包埋组织 RNA 完整值 RIN

为保证样本质量，降低实验风险，建议切取 10-20 片  $10\ \mu\text{m}$  厚的组织片，存放至  $-20^\circ\text{C}$  下预冷的 1.5 mL EP 管中，然后进行 Total RNA 的提取和质量检测。

参考图二 . 小鼠大脑组织切片 RNA RIN 值峰图。



 强烈建议只对  $\text{RIN} \geq 7$  的组织样本进行后续实验操作。



Overall Results for sample 6 : 8522203007050

RNA Area:	568.4	RNA Integrity Number (RIN):	9.8 (B.02.11, Anomaly Threshold(s) manually adapted)
RNA Concentration:	281 ng/ $\mu\text{l}$	Result Flagging Color:	
rRNA Ratio [28s / 18s]:	1.6	Result Flagging Label:	RIN: 9.80

Fragment table for sample 6 : 8522203007050

Name	Start Size [nt]	End Size [nt]	Area	% of total Area
18S	1,675	1,964	151.3	26.6
28S	3,006	4,187	238.4	41.9

图二 . 小鼠大脑组织切片 RNA RIN 值峰图

## 2.2. 样本包埋



样本处理视频参考网址：

[https://www.bilibili.com/video/BV1pG411j7Qi/?spm\\_id\\_from=333.999.list.card\\_archive.click&vd\\_source=bd22715407a1c1cff7e8401f5d973218](https://www.bilibili.com/video/BV1pG411j7Qi/?spm_id_from=333.999.list.card_archive.click&vd_source=bd22715407a1c1cff7e8401f5d973218)

<https://www.stomics.tech/col113/606>

a. 样本包埋所需耗材或试剂列表：

\* 以下为一个样本包埋所需耗材或试剂，如需包埋多个样本，需适量增加。



### 准备材料

名称	推荐品牌 / 名称 / 货号	规格	数量
碎冰	-	泡沫箱	1
干冰	-	泡沫箱	1
铝箔纸	-	卷	1
自封袋	-	个	1
金属块	BIOSHARP/Metal Coolbox/BC032	块	1
无菌无纺布	-	张	2
平皿	-	个	1
O.C.T	Sakura/ O.C.T Compound/ 4583	瓶	1
金属包埋盒 A	Sakura/Base Molds/4162	个（按组织大小决定）	1
金属包埋盒 B	Sakura/Base Molds/7055	个（凹槽尺寸更大，比金属包埋盒 A 略大）	1
钝头镊子	-	支	1
注射器	-	支	1
药匙或抹刀	-	个	1
剪刀	-	把	1

- a1. 提前准备一泡沫箱碎冰并将 OCT 放在冰上预冷 **10 min**;
- a2. 根据组织大小提前准备两个合适大小的**金属包埋盒 A** 和 **B** (**B** 的尺寸需略大于 **A**) ;
- a3. 提前将预冷好的 OCT 填充**金属包埋盒 A** 的 2/3 左右, 并放置在冰上预冷 **10 min** 以上 (可使用注射器吸弃产生的气泡) ;
- a4. 在平皿中加满 OCT, 提前预冷 **10 min** (可使用注射器吸弃产生的气泡) ;



- a5. 准备一泡沫箱干冰;
- a6. 准备具有平整面的金属块, 金属块面积需大于**金属包埋盒 A**, 用于平放金属包埋盒;
- a7. 将金属块平整面向上放置到干冰中, 预冷 **5 min** 以上;
- a8. 将**金属包埋盒 B** 放置于干冰中预冷 **5 min** 以上。



- b. 新鲜组织离体 **30 min** 内, 用无菌无纺布或无尘纸擦干组织表面液体, 以避免在组织表面形成冰块, 影响后续包埋切片;



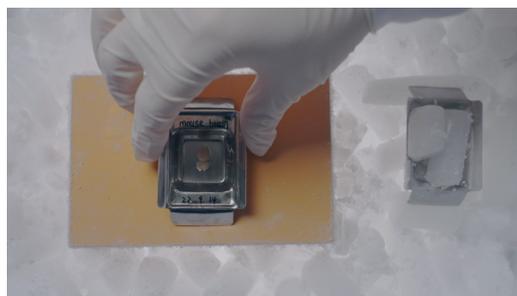
- c. 将组织放入在冰上预冷的 OCT 中，在不产生气泡的前提下用药匙使组织被 OCT 包裹（可使用注射器吸弃产生的气泡）；



- d. 将组织的拟切面朝下，放入冰上预冷的**金属包埋盒 A** 中，使组织接触到**金属包埋盒 A** 的底部。在不产生气泡的前提下用预冷的 OCT 填满**金属包埋盒 A**，直至将组织完全覆盖（可使用注射器吸弃产生的气泡）；



- e. 将装有组织的**金属包埋盒 A**，水平放置在干冰预冷的金属块上；



- f. 预冷的**金属包埋盒 B**（作为盖子）开口向上，轻轻加盖于装有组织块的**金属包埋盒 A** 上方，并在其开口中放置碎干冰，使干冰尽可能充分覆盖金属包埋盒表面，形成较为封闭的速冻空间；



g. 冷冻 5 min 后，移去**金属包埋盒 B**，检查 OCT 是否完全凝固且变成白色不透明状，若未完全冷冻好，则重复 f；



h. 如果组织块完全凝固并变成白色不透明状，用手轻掰**金属包埋盒 A** 两侧，即可使 OCT 包埋组织块从**金属包埋盒 A** 中脱模；



i. 检查包埋块底部是否被完全覆盖，如未完全覆盖，则将组织块放置在金属块上，底部向上，在表面涂上少量 OCT，待 OCT 完全凝固且不透明，在包埋块切面位置做好标记。



## 2.3. 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  $-80^{\circ}\text{C}$  冰箱长期保存。如需邮寄，可选干冰邮寄。

# 第三章

时空转录组定制化芯片

(1cm\*2cm, 2cm\*2cm, 2cm\*3cm)

样本准备流程

### 3.1 样本要求



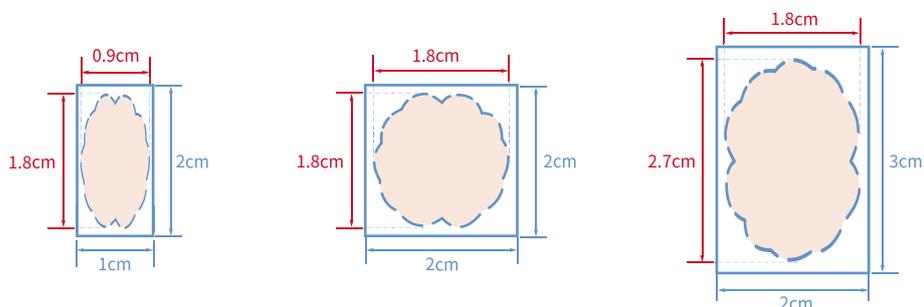
此包埋方式适用于尺寸  $< 2\text{ cm} \times 3\text{ cm} \times 0.7\text{ cm}$  的组织。

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。

组织尺寸不应超过  $0.9\text{ cm} \times 1.8\text{ cm} \times 0.7\text{ cm}$  (Stereo-seq 芯片  $1\text{ cm} \times 2\text{ cm}$ )， $1.8\text{ cm} \times 1.8\text{ cm} \times 0.7\text{ cm}$  (Stereo-seq 芯片  $2\text{ cm} \times 2\text{ cm}$ )， $1.8\text{ cm} \times 2.7\text{ cm} \times 0.7\text{ cm}$  (Stereo-seq 芯片  $2\text{ cm} \times 3\text{ cm}$ )，组织切片占芯片面积不应超过 80%。



也支持对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，所以接收样本后除了确认 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进行下游实验。



- 同一样本进行多个实验（质检、透化、建库），每步重新封存后进行下次实验时总量会有大约 10 张切片的损耗；
- 在样本制备时，除考虑自身项目需求外，需要考虑样本 Z 轴是否可满足消耗量需要。

#### 样本类型

适用于常见动物物种的时空转录组研究，包括但不限于人、猴、鼠等样本，详情可参考《Stereo-seq 试剂套装推荐样本》及《时空测试目录》。

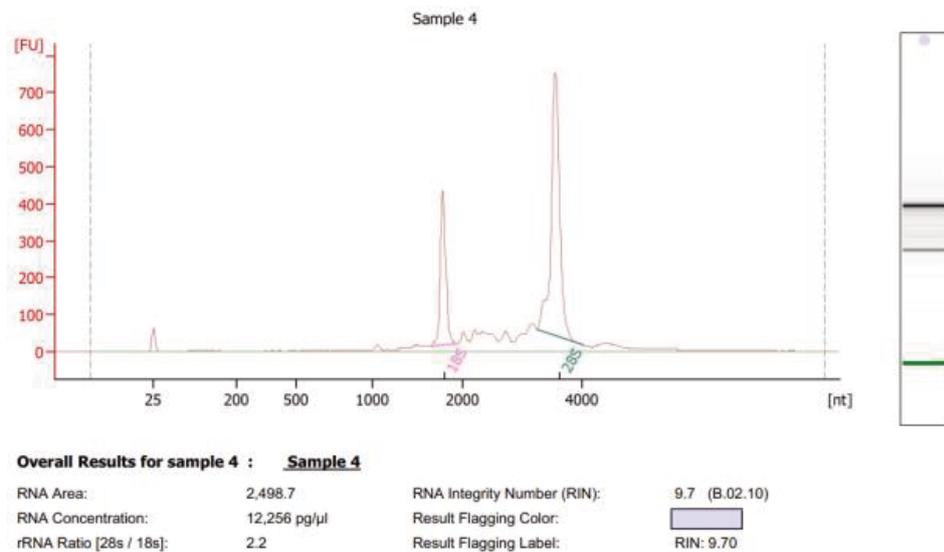
<https://www.stomics.tech/resources/Documents/list.html>

#### 样本包埋组织 RNA 完整值 RIN

为保证样本质量，降低实验风险，建议切取 10-20 片  $10\text{ }\mu\text{m}$  厚的组织片，存放至  $-20^{\circ}\text{C}$  下预冷的 1.5 mL EP 管中，然后进行 Total RNA 的提取和质量检测。参考图三 . 小鼠大脑组织切片 RNA RIN 值峰图。



**QC** 强烈建议只对 RIN ≥ 7 的组织样本进行后续实验操作。



图三 . 小鼠大脑组织切片 RNA RIN 值峰图

### 3.2 样本包埋

样本处理视频参考网址:

· <https://b23.tv/VQ7Qb4T>

· <https://www.stomics.tech/col113/701>



a. 样本包埋所需耗材或试剂列表格

\*以下为一个样本包埋所需耗材或试剂，如需包埋多个样本，需适量增加。

名称	推荐品牌/名称/货号	规格	数量
碎冰	/	泡沫箱	1
干冰	/	泡沫箱	1
锡箔纸	/	卷	1
自封袋	/	个	1
金属块	BIOSHARP/BC032	块	1
无菌无纺布	/	张	2
平皿	/	个	1
OCT	Sakura/Base Molds/ 4588	瓶	1
金属包埋盒 A	4132/4133 或其他品牌合适尺寸的包埋盒	个 (按组织大小决定)	1
金属包埋盒 B	Sakura/Base Molds/4133/41565/4124 或其他品牌合适尺寸的包埋盒	个(尺寸略大于金属包埋盒A)	1
钝头镊子	/	支	1
注射器	/	支	1
药匙或抹刀	/	个	1
剪刀	/	把	1
钢尺	/	把	1





- a1. 提前准备一泡沫箱碎冰并将 OCT 放在冰上预冷 **10 min**;
- a2. 根据组织大小提前准备适量合适大小的**金属包埋盒 A** 和 **B**;
- a3. 提前将预冷好的 OCT 填充**金属包埋盒 A** 的 2/3 左右, 并放置在冰上预冷 **10 min** 以上 (可使用注射器吸弃产生的气泡);
- a4. 在平皿中加满 OCT, 提前预冷 **10 min** (可使用注射器吸弃产生的气泡);



- a5. 准备一泡沫箱干冰;
- a6. 准备具有平整面的金属块, 金属块面积需大于**金属包埋盒 A**, 用于平放金属包埋盒;
- a7. 将金属块平整面向上放置到干冰中, 预冷 **5 min** 以上;
- a8. 将钢尺和**金属包埋盒 B** 放置于干冰中预冷 **5 min** 以上。



b. 新鲜组织离体 **30 min** 内，用无菌无纺布或无尘纸擦干组织表面液体，以避免在组织表面形成冰块，影响后续包埋切片；



c. 将组织放入在冰上预冷的 OCT 中，在不产生气泡的前提下用药匙使组织被 OCT 包裹（可使用注射器吸弃产生的气泡）；



d. 将组织的拟切面朝下，放入冰上预冷的金属包埋盒 A 中（根据组织大小选择包埋盒 A 的尺寸），使组织接触到金属包埋盒 A 的底部。在不产生气泡的前提下用预冷的 OCT 填满金属包埋盒 A，直至将组织完全覆盖（可使用注射器吸弃产生的气泡）；



e. 将装有组织的金属包埋盒 A，水平放置在干冰预冷的金属块上；



f. 先将预冷的钢尺放在金属包埋盒 A 的长高边上（防止组织被压变形），然后将金属包埋盒 B 开口向上，轻轻加盖于装有组织块的金属包埋盒 A 的上方，并在其开口中放置碎干冰，使干冰尽可能充分覆盖金属包埋盒表面；



g. 冷冻 5 min 后，移去**金属包埋盒 B** 和钢尺，检查 OCT 是否完全凝固且变成白色不透明状，若未完全冷冻好，则重复 f；



h. 如果组织块完全凝固并变成白色不透明状，用手轻掰**金属包埋盒 A** 两侧，即可使 OCT 包埋组织块从**金属包埋盒 A** 中脱模；



i. 检查包埋块底部是否被完全覆盖，如未完全覆盖，则将组织块放置在金属块上，底部向上，在表面涂上少量 OCT，待 OCT 完全凝固且不透明，在包埋块切面位置做好标记。



### 3.3 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  $-80^{\circ}\text{C}$  冰箱长期保存。如需邮寄，可选干冰邮寄。

# 第四章

## 时空蛋白转录组样本准备流程

## 4.1. 样本要求

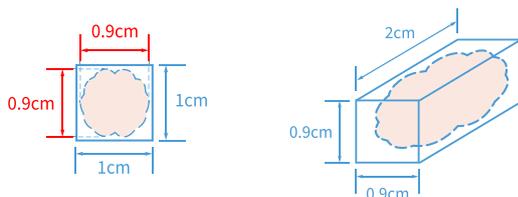


实验室条件下严格保证新鲜样本在离体 **30 min** 内进行直接包埋处理，以最大程度避免组织内部 RNA 降解。

组织尺寸不应超过 0.9 cm × 0.9 cm × 2 cm (Stereo-seq 芯片 1 cm \* 1 cm)，组织切片 / 芯片面积不应超过 80%。



也支持对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，所以接收样本后除了确认 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进行下游实验。



### 样本类型

适用于人和小鼠样本的多重蛋白和全转录组共同检测。

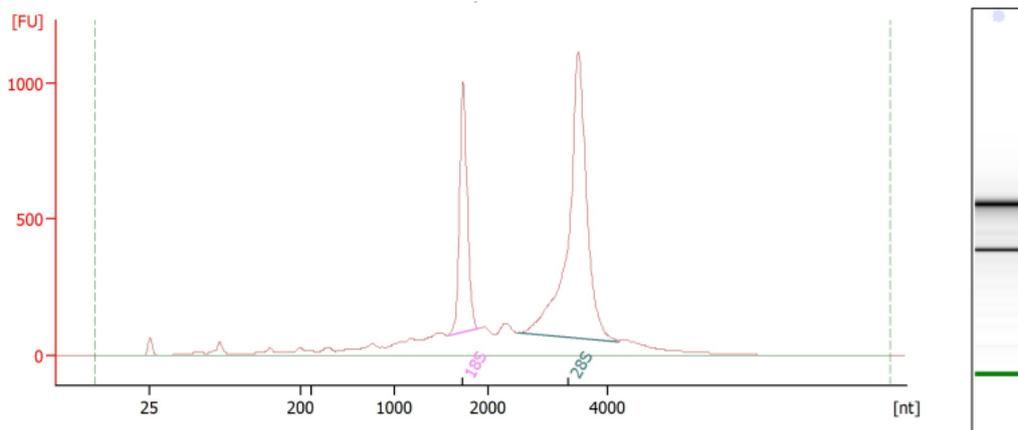
### 样本包埋组织 RNA 完整值 RIN

为保证样本质量，降低实验风险，建议切取 10-20 片 10 μm 厚的组织片，存放至 -20°C 下预冷的 1.5 mL EP 管中，然后进行 Total RNA 的提取和质量检测。

参考图四 . 小鼠胸腺组织切片 RNA RIN 值峰图。



**QC** 强烈建议只对 RIN ≥ 7 的组织样本进行后续实验操作。



#### Overall Results for sample 9 : Sample 9

RNA Area:	7,389.7	RNA Integrity Number (RIN):	9.1 (B.02.10)
RNA Concentration:	29,283 pg/μl	Result Flagging Color:	<span style="background-color: #ccccff; border: 1px solid black; padding: 2px;"> </span>
rRNA Ratio [28s / 18s]:	2.3	Result Flagging Label:	RIN: 9.10

#### Fragment table for sample 9 : Sample 9

Name	Start Size [nt]	End Size [nt]	Area	% of total Area
18S	1,570	1,907	1,216.1	16.5
28S	2,526	4,191	2,809.4	38.0

图一 . 小鼠胸腺组织切片 RNA RIN 值峰图

## 4.2. 样本包埋



样本处理视频参考网址：

[https://www.bilibili.com/video/BV1pG411j7Qi/?spm\\_id\\_from=333.999.list.card\\_archive.click&vd\\_source=bd22715407a1c1cff7e8401f5d973218](https://www.bilibili.com/video/BV1pG411j7Qi/?spm_id_from=333.999.list.card_archive.click&vd_source=bd22715407a1c1cff7e8401f5d973218)

<https://www.stomics.tech/col113/606>

a. 样本包埋所需耗材或试剂列表：

\* 以下为一个样本包埋所需耗材或试剂，如需包埋多个样本，需适量增加。



### 准备材料

名称	推荐品牌 / 名称 / 货号	规格	数量
碎冰	-	泡沫箱	1
干冰	-	泡沫箱	1
铝箔纸	-	卷	1
自封袋	-	个	1
金属块	BIOSHARP/Metal Coolbox/BC032	块	1
无菌无纺布	-	张	2
平皿	-	个	1
O.C.T	Sakura/ O.C.T Compound/ 4583	瓶	1
金属包埋盒 A	Sakura/Base Molds/4162	个（按组织大小决定）	1
金属包埋盒 B	Sakura/Base Molds/7055	个（凹槽尺寸更大，比金属包埋盒 A 略大）	1
钝头镊子	-	支	1
注射器	-	支	1
药匙或抹刀	-	个	1
剪刀	-	把	1

- a1. 提前准备一泡沫箱碎冰并将 OCT 放在冰上预冷 **10 min**;
- a2. 根据组织大小提前准备两个合适大小的**金属包埋盒 A** 和 **B** (**B** 的尺寸需略大于 **A**) ;
- a3. 提前将预冷好的 OCT 填充**金属包埋盒 A** 的 2/3 左右, 并放置在冰上预冷 **10 min** 以上 (可使用注射器吸弃产生的气泡) ;
- a4. 在平皿中加满 OCT, 提前预冷 **10 min** (可使用注射器吸弃产生的气泡) ;



- a5. 准备一泡沫箱干冰;
- a6. 准备具有平整面的金属块, 金属块面积需大于**金属包埋盒 A**, 用于平放金属包埋盒;
- a7. 将金属块平整面向上放置到干冰中, 预冷 **5 min** 以上;
- a8. 将**金属包埋盒 B** 放置于干冰中预冷 **5 min** 以上。



- b. 新鲜组织离体 **30 min** 内, 用无菌无纺布或无尘纸擦干组织表面液体, 以避免在组织表面形成冰块, 影响后续包埋切片;



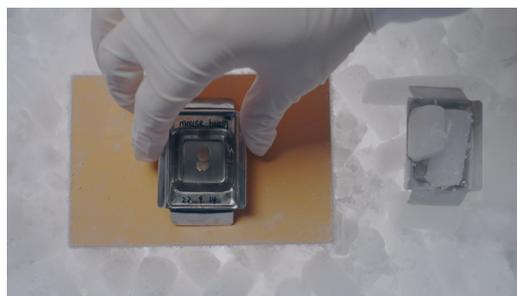
- c. 将组织放入在冰上预冷的 OCT 中，在不产生气泡的前提下用药匙使组织被 OCT 包裹（可使用注射器吸弃产生的气泡）；



- d. 将组织的拟切面朝下，放入冰上预冷的金属包埋盒 A 中，使组织接触到金属包埋盒 A 的底部。在不产生气泡的前提下用预冷的 OCT 填满金属包埋盒 A，直至将组织完全覆盖（可使用注射器吸弃产生的气泡）；



- e. 将装有组织的金属包埋盒 A，水平放置在干冰预冷的金属块上；



- f. 预冷的金属包埋盒 B（作为盖子）开口向上，轻轻加盖于装有组织块的金属包埋盒 A 上方，并在其开口中放置碎干冰，使干冰尽可能充分覆盖金属包埋盒表面，形成较为封闭的速冻空间；



g. 冷冻 5 min 后，移去**金属包埋盒 B**，检查 OCT 是否完全凝固且变成白色不透明状，若未完全冷冻好，则重复 f；



h. 如果组织块完全凝固并变成白色不透明状，用手轻掰**金属包埋盒 A** 两侧，即可使 OCT 包埋组织块从**金属包埋盒 A** 中脱模；



i. 检查包埋块底部是否被完全覆盖，如未完全覆盖，则将组织块放置在金属块上，底部向上，在表面涂上少量 OCT，待 OCT 完全凝固且不透明，在包埋块切面位置做好标记。



### 4.3. 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  $-80^{\circ}\text{C}$  冰箱长期保存。如需邮寄，可选干冰邮寄。