

## 蛋白组学样本准备、储存及运输指南

## 特别声明

本文档属于部门内部资料，仅提供给北京百迈客科技服务部正式员工使用。严禁将该资料上传网络或交给非部门内部人员使用，禁止任何形式公开传阅。

版权声明：本文档版权归北京百迈客生物技术有限公司所有，未经北京百迈客生物技术有限公司书面许可，不得以任何形式复制、使用、传播本文档任何内容，对于违法使用本文内容者，将追究法律责任。

## 目录

1.前言	3
1.1 适用范围	3
1.2 声明	3
1.3 提取风险提示	3
2.取样原则	3
2.1 取样的代表性	3
2.2 取样的准确性	3
2.3 取样的重复性	3
2.4 取样的及时性	3
2.5 取样的低温性	4
2.6 样本的特殊处理	4
3.送样量需求	5
3.1 定性产品	5
3.2 定量蛋白质组	5
3.3 修饰蛋白质组	6
3.4 微量样本定量蛋白质组	6
3.5 外泌体专题	7
3.6 宏蛋白组	7
3.7 细胞器空间蛋白质组	7
4.常规蛋白组学样本准备、保存及运送方式	8
4.1 动物组织	8
4.1.1 常规动物组织（心，肝，脾，肾，肺等）	8
4.1.2 动物毛发	8
4.1.3 动物软骨等坚硬组织	8
4.1.4 线虫	8
4.1.5 软体动物(血吸虫、旋毛虫等)	8
4.2 植物组织	8
4.2.1 植物的叶、花、果实、种子、树根、树皮等及蕨类等	9
4.2.2 花粉	9
4.2.3 藻类	9
4.3 液体样本	9
4.3.1 血清	9
4.3.2 血浆	9
4.3.3 乳汁、腹水	10
4.3.4 唾液	10
4.3.5 泪液	10
4.3.6 痰液	10
4.3.7 脑脊液、淋巴液、关节液、穿刺液	10
4.3.8 尿液	10
4.4 细胞	10
4.4.1 悬浮细胞	10
4.4.2 贴壁细胞	11

---

4.5 微生物 .....	11
4.6 土壤 .....	11
5.特色蛋白组学——外泌体样本准备、保存及运送方式 .....	11
5.1 液体样本 .....	11
5.1.1 血浆样本（使用抗凝管采集，不能用肝素抗凝） .....	11
5.1.2 血清样本（收集血清样本一定不要加入抗凝剂） .....	12
5.1.2 尿液 .....	12
5.2 细胞培养上清 .....	12
5.2.1 贴壁细胞 .....	12
5.2.2 悬浮培养的细胞 .....	13
6.特色蛋白组学——宏蛋白组样本准备、保存及运送方式 .....	13
6.1 粪便、肠道内容物 .....	13
6.1.1 粪便 .....	13
6.1.2 肠道内容物 .....	13
6.2 环境样本 .....	14
6.2.1 土壤样本 .....	14
6.2.2 水体样本 .....	14
6.3 发酵物残渣 .....	14

## 1.前言

### 1.1 适用范围

本指南介绍百迈客蛋白组学样本送样要求及制备方法。采集送样前请仔细阅读。

### 1.2 声明

对于危害程度为第一、二类的高致病性样品，不接收样本。对于危害程度为三、四类的致病性或传染性的组织样，必须先通过销售或运营与医学实验平台负责人沟通，确认无高致病和传染性且能进行后续实验后再安排样品寄送。危害程度的判定标准具体参见《人间传染的病原微生物名录》。

### 1.3 提取风险提示

蛋白提取质量与物种及组织部位、样本制备、样本交接、提取方法与操作、以及环境等因素息息相关，故无法完全保证提取质量，望老师知悉理解，并做好组织备份。为保障获得相对较高质量的蛋白，请老师务必按照以下指导原则准备样本。

## 2.取样原则

### 2.1 取样的代表性

所采集的样本应该通过严格的细胞学、组织学、病理学等相关鉴定，因为这关系到实验最终结果是否具有科学意义，所以客户须根据实验目的设计相关科学取样方案和取样步骤。

### 2.2 取样的准确性

正常组织样本中不能含有病变组织，而病理组织样本中也不可以夹带有正常组织。在条件允许的前提下，争取做到实验组与对照组的样本在取材时间、部位、处理条件等方面尽可能保持一致，否则可能会影响实验结果的重复性和可信度。代表性样本的各种特征数据必须被准确记录，并按要求采集、制备、储存、运输进行实验处理。

### 2.3 取样的重复性

生物学重复的取样应尽量减少重复间样品的差异。在条件允许的前提下，做到重复样本在取材时间、部位、处理条件等方面尽可能保持一致，否则可能会影响实验结果的重复性和可信度。

### 2.4 取样的及时性

样本质量是影响实验结果的最关键因素，因此用于研究的实验样本，在采集、贮存、运输和制备的过程中尽可能地做到迅速，最大限度的缩短从样本采集到实验的时间。

## 2.5 取样的低温性

所取样本离体后，经快速清洗和标记等处理后，应立即投入液氮中速冻至少 3h，之后保存于-80℃冰箱或者干冰中，确保在实验操作前样品始终处于-80℃，以避免代谢改变。

## 2.6 样本的特殊处理

样本的特殊处理包括：盐处理、温度处理、药物处理、病毒侵染、伤害处理、干旱处理等胁迫处理方式，不同程度的处理对样本质量会造成不同程度的影响，常见的会导致代谢物的降解或者含量降低。因此，经过特殊处理的样本，在送样时，务必请在样本信息单中进行详细的备注，以便尽量提高提取的成功率和避免样本的浪费。

### 3.送样量需求

#### 3.1 定性产品

实验类型	送样建议
胶点胶条	送考马斯亮蓝染色或银染后的胶点/胶条，要求条带清晰，无降解。 注：考马斯亮蓝染色的条带鉴定到目标蛋白的概率高于银染。 4℃保存，放入 EP 管中，加入去离子水浸泡，冰袋寄送。
互相作用谱 (IP/Co-IP/Pulldown)	方案一：IP/Co-IP/Pull-down 的蛋白洗脱液，跑 SDS-PAGE 胶。不要跑完整个泳道，在样本跑出分离胶 1-1.5cm 后停止电泳，切胶送样。方案二：送蛋白溶液，必须提供溶液成分或详细样本处理过程及试剂。
FFPE	每片厚度 10μm，面积 1.5×2cm，10 片。
微量蛋白质组	50 个细胞

#### 3.2 定量蛋白质组

样本类型	Labelfree/ DIA/PRM	TMT	内源性多肽	
动物组织	常规组织（脑、心、肝、脾、肺、肾、肌肉等）	20mg	30mg	200mg
	坚硬组织（软骨、毛发）	200mg	300mg	/
植物组织	柔软组织（木本植物的叶、花等，草本植物，藻类，蕨类植物）	200mg	300mg	3000mg
	坚硬组织（根、树皮、树枝，果实种子等）	2g	3g	/
微生物	常见细菌、真菌菌体（菌体沉淀）	50μL	100μL	500μL
细胞	悬浮/贴壁培养细胞（细胞计数/沉淀）	5×10 <sup>6</sup> 或 20μL	1×10 <sup>7</sup> 或 30μL	500μL
液体类	血浆/血清/脑脊液（不去除高丰度）	10μL	20μL	500μL
	血浆/血清/脑脊液（去除高丰度）	200μL	500μL	500μL
	卵泡液（不去高丰度）	100μL	200μL	/
	卵泡液（去除高丰度）、尿液	1mL	2mL	/
	淋巴液、关节液、穿刺液、腹水	3mL	5mL	/
	唾液/泪液/乳汁	500μL	2mL	/
	培养基上清（不能使用含血清的培养基）	10mL	20mL	/
其他	纯蛋白,最佳 buffer 是 8MUrea)	20μg	200μg	/
FFPE	每片厚度 10μm，面积 1.5×2cm	10 片	15-20 片	/

### 3.3 修饰蛋白质组

样本类型		磷酸化 Labelfree/DIA	糖基化	标记磷酸化	乙酰化/琥珀酰化/ 泛素化/巯基修饰
动物组织	常规组织（脑、心、肝、脾、肺、肾、肌肉等）	500mg	50mg	50mg	2g
	坚硬组织（软骨、毛发）	3g	/	300mg	10g
植物组织	柔软组织（叶、花、草本植物，藻类、蕨类）	2g	400mg	400mg	10g
	坚硬组织（根、皮、树枝、果实、种子等）	10g	/	2g	20g
微生物	常见细菌、真菌菌体（沉淀）	200 $\mu$ L	50 $\mu$ L	50 $\mu$ L	1mL
细胞	悬浮/贴壁培养细胞（因为细胞大小不一，重点是必须达到要求的体积）	5 $\times$ 10 <sup>7</sup> 或 500 $\mu$ L	5 $\times$ 10 <sup>6</sup> 或 30 $\mu$ L	5 $\times$ 10 <sup>6</sup> 或 30 $\mu$ L	10 <sup>8</sup> 或 500 $\mu$ L
液体类	血浆/血清（不去高丰度）	/	20 $\mu$ L	/	1.5mL
	血浆/血清（去高丰度）	/	500 $\mu$ L	/	/
	腹水、泪液、穿刺液	30mL	/	3mL	300mL
	淋巴液、关节液、唾液、乳汁、	10mL	1mL	1mL	50mL
其他	纯蛋白（溶解缓冲液最佳 buffer 是 8MUrea）	2mg	500 $\mu$ g	500 $\mu$ g	10mg

### 3.4 微量样本定量蛋白质组

样本类型		labelfree/DIA	糖基化
动物组织	常规组织（脑、心、肝、脾、肺、肾、肌肉等）	1mg	5mg
细胞	悬浮/贴壁培养细胞（细胞计数/沉淀）	200-5000	200-5000
液体类	血浆/血清/脑脊液（不去除高丰度）	5 $\mu$ L	5 $\mu$ L
	血浆/血清/脑脊液（去除高丰度）	10 $\mu$ L	10 $\mu$ L
	卵泡液（不去高丰度）	10 $\mu$ L	10 $\mu$ L
	卵泡液（去除高丰度）、尿液	100 $\mu$ L	100 $\mu$ L
	淋巴液、关节液、穿刺液、腹水	1mL	1mL
	唾液/泪液	100 $\mu$ L	100 $\mu$
	培养基上清（不能使用含血清的培养基）	5mL	5mL



FFPE	每片厚度 10 $\mu$ m, 面积 1.5 $\times$ 2cm	1 片	2 片
------	--------------------------------------	-----	-----

### 3.5 外泌体专题

超速离心									
样本来源	外泌体	血清/血浆	细胞上清	尿液	唾液	鼻涕	脑脊液	羊水	精液
蛋白组学	50 $\mu$ L	1mL	5mL	10mL	8mL	8mL	6mL	8mL	0.5mL
建议标准送样量	350 $\mu$ L	12mL	120mL	160mL	60mL	60mL	38mL	60mL	15mL

### 3.6 宏蛋白组

样本类型	送样量
粪便	5g
肠道内容物	5g
土壤	10g
污水/海水	500ml 离心后
发酵残渣	10g

### 3.7 细胞器空间蛋白质组

细胞器	细胞	动物组织（冷冻）	植入组织（柔软）
膜蛋白	5 $\times$ 10 <sup>7</sup>	40mg	300mg
溶酶体	5 $\times$ 10 <sup>7</sup>	40mg	/
内质网	5 $\times$ 10 <sup>7</sup>	40mg	300mg 新鲜
高尔基体	5 $\times$ 10 <sup>7</sup>	40mg	300mg 新鲜
线粒体	5 $\times$ 10 <sup>7</sup>	40mg	/
质膜脂筏	5 $\times$ 10 <sup>7</sup>	40mg	300mg 新鲜
叶绿体	/	/	300mg 新鲜
植物微粒体	/	/	200mg 新鲜
细胞核	3 $\times$ 10 <sup>7</sup>	30mg	200mg

注意：注意样本冷冻和新鲜的区别，动物组织建议用冷冻样本即可；植物样本建议用新鲜样本。

## 4. 常规蛋白组学样本准备、保存及运送方式

### 4.1 动物组织

#### 4.1.1 常规动物组织（心，肝，脾，肾，肺等）

1. 准确切取所需组织后，立即剔除非研究所需的组织类型，将组织分割成小块。
2. 在生理盐水或 PBS 中迅速漂洗样本，以去除血渍和污物；
3. 用镊子夹住样本，放入液氮中速冻样本 5-10min；
4. 将样本装入冻存管或者离心管，转入-80℃冰箱保存；
5. 填写样本登记单，写明样本名称、物种、组织类型、编号、取样日期、样本处理过程等情况。
6. 干冰低温寄送，避免反复冻融。

#### 4.1.2 动物毛发

1. 用适量 2%SDS，50mM 磷酸钠（pH7.8）缓冲液漂洗样品，去除污染物。
2. 干燥，保存在-80℃，干冰寄送。

#### 4.1.3 动物软骨等坚硬组织

1. PBS 洗涤，用手术刀将软骨切成 0.5cm<sup>3</sup> 左右的小块。
2. 液氮速冻，保存在-80℃，干冰寄送。

#### 4.1.4 线虫

1. 收集得到的线虫用 M9buffer 冲洗，震荡 20min 以使其排空其肠道内容物。
2. 室温下约 1100g 离心 4min。
3. 弃上清液，将得到的沉淀物用 M9buffer 重悬。
4. 将悬浮液分装 1.5mL 离心管中室温下以 1100g,离心 4 分钟，将上清液吸出，将沉淀物在液氮中冷冻，-80℃ 冰箱保存，干冰寄送。

**M9buffer 成分：**每升缓冲液中含 15.12gNa<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>·12H<sub>2</sub>O(或 6gNa<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>)，3gKH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>，5gNaCl，0.25gMgSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O，宜现用现配。

#### 4.1.5 软体动物(血吸虫、旋毛虫等)

1. 收集样本，用预冷的 PBS 去除污染物。
2. 做好标记，液氮速冻 5min 以上，-80℃ 保存，避免反复冻融。

### 4.2 植物组织

#### 4.2.1 植物的叶、花、果实、种子、树根、树皮等及蕨类等

1. 根据研究目的取特定部位组织，去除非目标组织，去除杂质，无尘纸擦干，锡纸包裹或者放入离心管。
2. 注明组织具体部位，做好标记后液氮速冻 5min 以上，-80℃ 保存，干冰寄送，避免反复冻融。

#### 4.2.2 花粉

1. 开花期收集花粉，在显微镜下检查花粉并去除杂质，转入离心管内，液氮速冻，-80℃ 保存，干冰寄送。

#### 4.2.3 藻类

1. 根据不同的藻类采取合适的离心力，分离藻类同时保证细胞完整，PBS 洗涤 2-3 次，液氮速冻，-80℃ 保存，干冰寄送。

### 4.3 液体样本

#### 4.3.1 血清

1. 使用真空采血管收集血液（不含抗凝剂，红盖）；
2. 轻轻地上下颠倒混匀 5-6 次；
3. 4℃，静置 15-30min，1600g 离心 10min；
4. 用移液器将上层淡黄色血清转移到离心管中，加入蛋白酶抑制剂（一般按照 1 : 50 添加；具体视实际说明方法使用），混匀，瞬时离心。
5. 液氮速冻，-80℃ 短期保存，干冰寄送。

注：

- 1) 样品制备过程中不能溶血。
- 2) 血清参考得率：30%~50%（例如：1mL 全血大约能得 0.3~0.5mL 血清）。

#### 4.3.2 血浆

1. 使用 EDTA 抗凝剂（空采血管帽盖为紫色）的血常规管采集血液（不能使用含有肝素抗凝剂的采血管）。
2. 轻轻地上下颠倒混匀 8-10 次；立即 4℃，1600g 离心 10min；
3. 用移液器将血浆转移到离心管中，加入蛋白酶抑制剂，混匀，瞬时离心。液氮速冻，-80℃ 短期保存，干冰寄送。

注：

1) 如果血浆样本需要去除高丰度蛋白，在收集样本时不能使用肝素抗凝剂，只能使用EDTA等其他抗凝剂。

2) 血浆参考得率：约 50%（例如：1mL 全血大约能得 0.5mL 血浆）。

#### 4.3.3 乳汁、腹水

采集乳汁、腹水样本于离心管中，液氮速冻，-80℃冻存，干冰寄送。

#### 4.3.4 唾液

1.禁食两小时以上，9-12am 取样，1000g~2000g 离心 5min

2.取上清，液氮速冻，-80℃保存，干冰寄送。

#### 4.3.5 泪液

1.使用毛细管微量移液管收集样品，8000-14000g4℃离心 5min;

2.取上清，液氮速冻，-80℃保存，干冰寄送。

#### 4.3.6 痰液

1.清晨痰量多，含菌量亦大，可先用洁口液，再用凉开水或生理盐水漱口，以除去口腔中细菌，深吸气后用力咳出 1-2 口痰于广口无菌瓶中，痰量极少可用 45℃10%氯化钠溶液雾化吸入导痰。

2. 液化方法：用注射器将痰液来回抽提并打出，使得痰液混匀。液氮速冻，-80℃短期保存，干冰寄送。

注：采样前 12h 禁食。

#### 4.3.7 脑脊液、淋巴液、关节液、穿刺液

1.1000g-2000g 离心 5min。

2.取上清，液氮速冻，-80℃保存，干冰寄送。

#### 4.3.8 尿液

1.采集受试者晨起或晨间 1h 的中/后段“新鲜”尿液，于 4℃临时保存（不得超过 8h），注意避免细菌污染，收集前注意对饮食的控制。

2.收集尿液，4℃，3000g 离心 15min，去除细胞或细胞碎片，液氮速冻 15min，-80℃冰箱保存，足量干冰寄送。

注：建议在收集尿液 1 个月内启动项目，长期保存可能影响外泌体形态。

### 4.4 细胞

#### 4.4.1 悬浮细胞

- 1.400-1000g，离心 5-10min 收集悬浮细胞，弃上清。
- 2.用预冷的 PBS 溶液洗 2-3 遍，离心弃上清，收集细胞于 1.5mL 离心管中。
- 3.建议每个样品至少 2-3 管，每管细胞体积大于 50 $\mu$ L，记录细胞体积，液氮速冻后，-80 $^{\circ}$ C 冰箱保存。

#### 4.4.2 贴壁细胞

- 1.去培养基，培养皿用 10mLPBS 洗 3 次，培养皿倒扣，将液体控干。
- 2.培养皿置于冰上，胰蛋白酶消化后，加入 PBS 悬浮细胞。
- 3.收集到 15mL 离心管中，4 $^{\circ}$ C，1000g 离心 5-10min，去 PBS。
- 4.1mLPBS 重悬细胞后转移到新的 1.5mL 离心管；离心去除 PBS，干冰寄送。

#### 4.5 微生物

1. 采用离心法收集菌体，用预冷的 PBS 快速冲洗 2-3 次，避免培养基蛋白对菌的污染。  
+（冻存管）中，记录菌体积，液氮速冻后，-80 $^{\circ}$ C 冰箱保存。

#### 4.6 土壤

##### 1. 采样原则

采样时应沿着一定的线路，按照“随机”、“等量”和“多点混样”的原则进行采样，要避开非研究区域，如杂草、碎石等其他非土壤杂物，同一采样单元内的差异尽可能的小，不同采样单元之间的差异尽可能地大。

##### 2. 采样方法

在确定的采样点上，先用小土铲去掉表层 3mm 左右的土壤，然后倾斜向下切取深度至 30cm 处的土壤，取出土壤后放入无菌袋中。然后迅速放入冰块中储存，将各采样点土样集中一起混合均匀，按需要量装入袋中带回。尽量避免碎石、砂砾、植物残体等。

##### 3. 样本处理

冷冻干燥，然后用直径为 2mm 的筛子过筛，保存至-80 $^{\circ}$ C 冰箱，足量干冰低温运送。

### 5.特色蛋白组学——外泌体样本准备、保存及运送方式

#### 5.1 液体样本

全血样本请先常温运送至实验室制备成血清/血浆，避免溶血，避免反复冻融，干冰寄送样本。（一般应于采血后 1h 内分离血清或血浆）

##### 5.1.1 血浆样本（使用抗凝管采集，不能用肝素抗凝）

1. 用采血针和抗凝管（含 EDTA）抽取全血 10mL 左右，轻柔混匀，4℃条件下静置，最好在 4h 之内进行离心处理。
2. 4℃条件下，以 3000rpm 离心 10min，小心取出上清即为血浆。
3. 得到的血浆可再次离心，条件为 4℃，3000rpm，15min，小心吸出血浆，注意不要碰到底部和侧面的沉淀物。
4. 将血浆短期（3 天以内）保存于 4℃冰箱，长期保存于-80℃冰箱，有条件尽快放入-20℃以下条件保存。

### 5.1.2 血清样本（收集血清样本一定不要加入抗凝剂）

1. 轻轻将 10mL 全血滴入洁净的离心管或用普通采血管采血（不能加抗凝剂）；
2. 室温静置 30min，4℃条件下，静置 3~4h，可见血块析出 4℃条件下，以 3000rpm 离心 10min，可见淡黄色血清；
3. 取出上清后可再 4℃条件下，3000rpm 离心 10 分钟，取上清，最大程度保证血清质量。
4. 将血清短期（3 天以内）保存于 4℃冰箱，长期保存于-80℃冰箱，有条件尽快放入-20℃以下条件保存。

### 5.1.2 尿液

1. 取 50-100ml 的新鲜尿液。
2. 0.22μm 滤膜过滤，装于 50ml 管内；或是 4℃条件下，300g 离心 10min，取上清，然后再在 4℃条件下，16000g 离心 20min，取上清，装于 50ml 管内。
3. 将尿液样本短期内（3 天以内）保存于 4℃冰箱，长期保存于-80℃冰箱，有条件尽快放入-20℃以下条件保存。

## 5.2 细胞培养上清

（因血清中含有外泌体，所以对于需要使用含血清培养基培养的细胞，需要提前预备的实验材料：去除 exosome 的血清（自己制备或购买），既细胞培养基必须使用去除 exosome（de-exosome）的血清或者无血清培养基（例如 ThermoFisher 的 SFM）。

### 5.2.1 贴壁细胞

1. 培养细胞至培养皿的细胞汇合率达到 80%~90%（细胞在正常含有血清的培养基中培养一定时间，贴壁细胞密度在 70%-80%）；
2. 把原有培养基吸掉，轻轻加入适当的 PBS 缓慢清洗细胞 2 次；
3. 吸掉 PBS，加入无 exosome 血清的培养基或无血清培养基，培养 48h-72h，收集细胞培

培养基；

4. 将细胞培养基于 2000rpm，离心 10min，然后于 10000rpm，离心 30min，去除细胞或者细胞碎片（重要），取上清即可；
5. 建议液氮速冻后保存(-80℃保存)后干冰寄送；
6. 4℃短期保存（1-2 天），长期保存需冻存于-80℃。建议细胞上清分离后尽快进行外泌体分离。

### 5.2.2 悬浮培养的细胞

1. 培养的细胞汇合率达到 80%-90%时，（细胞在正常含有血清的培养基中培养一定时间，悬浮细胞密度在 60%-70%。），收集细胞悬浮液 3500rpm，离心 5min；
2. 吸掉上清液，用无 exosome 血清的培养基清洗细胞一次，于 3500rpm，离心 5min；
3. 吸掉上清，加入无 exosome 血清的培养基，轻轻吹打至细胞均匀分布于培养基中，然后培养 48h-72h 后，收集该细胞无外泌体血清的细胞悬浮液；
4. 于 3500rpm，离心 5min；
5. 取上清，于 2000rpm 离心 10min，然后于 12000rpm，离心 15min，去除细胞或者细胞碎片，取上清即可；
6. 建议 4℃低温送样或液氮速冻后保存（-80℃保存）后干冰寄送；
7. 4℃短期保存（1-2 天），长期保存需冻存于-80℃。建议细胞上清分离后尽快进行外泌体分离，保存在 4℃和-80℃都会对产量有一定的影响。

## 6.特色蛋白组学——宏蛋白组样本准备、保存及运送方式

### 6.1 粪便、肠道内容物

#### 6.1.1 粪便

1. 取样时避免尿液的污染，用无菌牙签或粪便取样勺等器具截取样品中段里部（粪便表层含有肠粘膜脱落细胞，外部容易污染）。
2. 用灭菌的 2.0mL 离心管保存，单个样本取样量：5g/管，并做好标记，-80℃冰箱冷冻保存。为保证实验顺利进行，每个样本取 3-5 管备份，干冰运输。

注：如粪便样品量较多或不能马上收集，最迟要在 2 小时之内全部收集完。

#### 6.1.2 肠道内容物

1. 取出整个肠道，切取所需肠段的内容物（条件允许的话，可在无菌操作台进行），用无菌手术刀刮取或镊子挤出内容物，用灭菌的 2.0mL 离心管保存。



2. 单个样本取样量：5g/管，并做好标记，-80℃冰箱冷冻保存。为保证实验顺利进行，每个样本取 3-5 管备份，干冰运输。

## 6.2 环境样本

### 6.2.1 土壤样本

1. 挖取地下 5~20cm 的土层，去除可见杂质后，土壤过 2mm 筛网，用灭菌的 2.0ml 离心管，每份 10g，并做好标记，-80 摄氏度冰箱冷冻保存。

2. 为保证实验顺利进行，每个样本取 3-5 管备份，干冰运输。

注：土壤类样品，应避免送样过多，造成保存空间紧张。

### 6.2.2 水体样本

1. 水样沉淀污泥等大颗粒杂质后，需要通过相应孔径的滤膜进行过滤，过滤后微生物会截留在滤膜上，将滤膜置于离心管中，并做好标记，-80 摄氏度冰箱冷冻保存。

2. 由于材质问题，冷冻后的滤膜较脆易碎，建议冷冻时间不要太久，尽快送样。为保证实验顺利进行，每个样本取 3-5 管备份，干冰运输。

注：

a.微孔滤膜建议使用 0.45 $\mu$ m 和 0.22 $\mu$ m 孔径，0.45 $\mu$ m 富集真菌类或者直径更大的微生物；0.22 $\mu$ m 富集细菌类或者直径更大的生物，可根据科研需要选择合适孔径的滤膜。

b.不接受水体直接送样！

## 6.3 发酵物残渣

1. 总量>20g，用灭菌的 2.0ml 离心管分装，并做好标记，-80 摄氏度冰箱冷冻保存。

2. 为保证实验顺利进行，每个样本取 3-5 管备份，干冰运输。