

# 华大 stereo-seq FFPE

## 石蜡样本空转检测样本准备指南

### 目录

1 适用范围	2
2 石蜡包埋组织块或石蜡蜡膜	2
2.1 石蜡包埋组织块	2
2.2 石蜡蜡膜	2
2.2.1. 蜡膜制备及寄送指南	2
2.2.2 石蜡蜡膜：质检要求	3
2.2.3 石蜡蜡膜：拼片正式实验要求	3
3 石蜡样本质检标准	4
3.1 RNA 质检	4
3.2 组织形态质检	4

## 1 适用范围

华大 stereo-seq FFPE 空间转录组技术采用随机引物法进行基因的杂交和表达检测，适用不限物种的 FFPE 样本。芯片大小为 **5\*5mm 或 10\*10mm**，组织样本要求常规手术组织样本，对于穿刺样本需要拼片或其他特殊样本需另行沟通评估。

## 2 石蜡包埋组织块或石蜡蜡膜

石蜡包埋组织块或石蜡蜡膜两种方式任意一种均可，**优先建议石蜡包埋组织送样。**

### 2.1 石蜡包埋组织块

石蜡块具有一定的厚度，建议厚度 2-5mm。石蜡块封装好常温或 4℃ 寄送至联川生物实验室。

以下罗列实际实验过程需要消耗的切片数量：

(1) RNA 质检：

- ① 组织较小：≤6.5 x 6.5mm：5-10 片切片/卷片；
- ② 组织较大：≥6.5 x 6.5 mm：2-5 片切片/卷片

(2) H&E 染色选片：1-2 片 5μm 厚度切片并染色；

(3) 正式试验表达：1 片 5μm 厚度表达切片。

### 2.2 石蜡蜡膜

#### 2.2.1. 蜡膜制备及寄送指南

(1) 蜡膜切片厚度为 5μm。注意：不需要在水中展片！

(2) 切片须保持平整无皱褶、无裂痕（各实验室切片方法有别，可以借鉴：低温冰冻蜡块表面，切片不易卷曲打褶；快速，匀速摇切不易打褶；勤换刀片）。



合格



不合格

(3) 切片放置在较宽松器具里，以 6 孔培养板为最佳选择，每孔放置 1 张组织蜡膜，培养板应置于冰板上保障低温，避免蜡膜粘附。如选用试管，最小应不小于 50ml 试管，管径越宽越好，不可委屈样本蜡膜。其他器皿也可。优先建议细胞孔板。

(4) 切片轻轻从镊子或毛刷脱离，放置在孔板中，置于孔板中后不要再对蜡膜做频繁的移动、铺设动作，尤其不要尝试重新将组织展开贴于底部，容易导致组织粘附在塑料表面。



(5) 参考视频另行发送。

(6) 切片后尽快放置于低温干燥环境中，在实验室里可以放-20℃低温保存；高温环境更容易使切片蜡膜软化粘附于周围器具壁，造成组织蜡膜不可用。

(7) 以胶带完整缠绕 6 孔板，其他管、瓶等器具拧紧瓶盖，使之不能因低温、干冰融化和空间增大而自动开盖，其他封口膜等材料会因低温失效；在泡沫箱内加干冰，争取 2000 公里的邮递路途干冰没有完全融化，尤其南方地域，通常需要 10-15 公斤干冰，或者冷链运输；固定存放蜡膜器具，避免运输过程中过度撞击导致蜡膜破裂。

### 2.2.2 石蜡蜡膜：质检要求

以石蜡蜡膜方式提供质检用样本，如 2.2.1 要求制备蜡膜并储存、寄送。

组织类型	组织截面尺寸	切片厚度	数量要求	明细
手术组织	黄豆大小	5 μm	3 张	染色 1 张，其余提取；无复检机会
手术组织	绿豆大小	5 μm	4 张	染色 1 张，其余提取；无复检机会
穿刺组织*	2 条粗针（1cm 长度左右）	5 μm	6 张	染色 1 张，其余提取；无复检机会
穿刺组织	1 条粗针（1cm 长度左右）	5 μm	8 张	染色 1 张，其余提取；无复检机会

\*无复检机会：首次质检不合格，如果希望重新质检确认，则上述组织切片数量不足以开展第二次提取质检。

### 2.2.3 石蜡蜡膜：拼片正式实验要求

组织类型	组织截面尺寸	切片厚度	数量要求	明细
手术组织	黄豆大小	5 μm	4 张	拼片寻找位置可能存在损耗，正式拼片 1 张，其余备份
手术组织	绿豆大小	5 μm	4 张	拼片寻找位置可能存在损耗，正式拼片 1 张，其余备份
穿刺组织*	2 条粗针（1cm 长度左右）	5 μm	4 张	拼片寻找位置可能存在损耗，正式拼片 1 张，其余备份
穿刺组织	1 条粗针（1cm 长度左右）	5 μm	4 张	拼片寻找位置可能存在损耗，正式拼片 1 张，其余备份

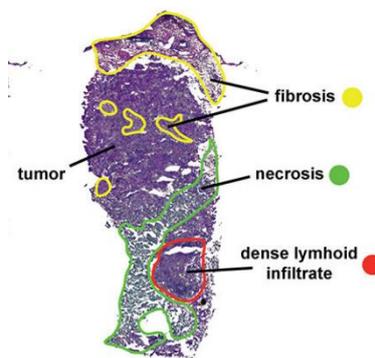
### 3 石蜡样本质检标准

#### 3.1 RNA 质检

- **DV200>=30%**: 质检合格
- **DV200>26-29%**: 处于质控临界值，可尝试但存在较大风险，可能影响 UMI counts 及基因中位值，考虑临床样本珍贵性，可讨论后确定下游实验正常进行。
- **DV200<26%**: 不合格，不建议进行下游实验

#### 3.2 组织形态质检

组织切面完整，厚薄平均，切片无明显刀痕、裂隙，切片平坦无皱褶、折叠，无污染物（血液残留等）；无气泡；细胞核与细胞质染色清晰明显，切片无松散，表达区域满足客户要求。



通过 HE 染色判断组织是否存在坏死有助于后续实验风险进行评估