



空间代谢组样本准备指南

2026年1月

目录

1. 所需耗材及试剂	1
2. 样本采集及总体要求	1
3. 组织包埋寄送（首选）	2
3.1 样本包埋	2
3.2 速冻	2
4. 自行切片寄送（不建议）	3
5. 特殊样本准备（植物叶片、花瓣类）	5
5.1 样本采集步骤	5
5.2 叶片、花瓣样本运输	5
1) 包装	5
2) 寄送	6
6. 其他注意事项（非常重要）	6
7. 干冰运输说明	7
8. 收样地址	7
9. FAQ（非常重要）	7

1. 所需耗材及试剂

1.1 包埋剂

适合空间代谢的包埋剂为 **CMC (优先推荐)、OCT和明胶等**。不接受石蜡包埋 (FFPE) 样本，其空间代谢物质检出数量极低。**使用不推荐的包埋剂需提前咨询。**

常温状态下CMC、OCT呈浓稠的透明色流动状态，明胶呈微黄色果冻状固态，使用前需在热水中复温融化呈微黄色流动状态（明胶对温度比较敏感，常温易成果冻状）。

① **羧甲基纤维素钠 (CMC) ; C299502 ; 粘度 : 50-200 mPa.s**

购买链接: https://www.aladdin-e.com/zh_cn/c104984.html

包埋剂配制方法: 使用纯水 (pH 7 左右) 溶解 CMC 粉末, 配置成 10% CMC 包埋剂 (例如1g粉末+10ml水), 搅拌均匀后置于 4℃ 过夜后使用 (排净气泡)。

包埋时需先将 **CMC** 配置好之后再取样, 因包埋剂配置时间较长, 样本裁剪后无法长时间放置。

② **OCT; 品牌: 樱花或徕卡** (无需配制, 购买得到的即可使用)

1.2 导电玻片

购买链接: MALDI IntelliSlides 玻片; Part No:1868957;

<https://store.bruker.com/products/intellislices>

1.3 **包埋模具**: 根据样本大小及需求选择即可。

1.4 **样本存放容器**: 根据样本大小选择合适的容器作为运输容器, 如冻存盒。

1.5 **其他**: 无尘纸、培养皿、镊子、手术刀、干冰、泡沫箱等。

2. 样本采集及总体要求

样本取材前, 应先确认好最佳取材位置以及合理组织大小, 剔除结缔组织、脂肪组织等非研究所需的组织类型, 新鲜组织样本取下后需迅速用干净的无尘纸吸干组织表面液体 (**此步骤一定要吸干水分, 如有液体残留, 包埋后组织表面易形成冰晶, 影响切片效果**)。整个样本取样过程需要在**冰上操作保持低温环境**。

空间代谢组能接受的样本大小为:

以目标切片平面定义长宽组成的平面, 最大尺寸: **长 (30mm) 宽 (15mm), 高 (即厚度, 12mm)**。如过大, 需新鲜样本时分割取关注区域, 冷冻状态易碎裂。

以目标切片平面定义长宽组成的平面, 最小尺寸: **长 (1.5mm) 宽 (1.5mm), 高 (即厚度, 2mm)**。如过小, 供切片使用的量太少, 包埋很难平整。

过大或过小均会影响切片, 若组织块大小超过最大值, 请在新鲜样本时用刀片切除组织到规定大小以内, 再进行下一步包埋或速冻。包埋或速冻后再对样本进行切割, 切割时样本有不规则碎裂的风险。(如特殊情况大小无法符合要求, 需单独进行售前评估或自行切片)。

3. 组织包埋寄送 (首选)

3.1 样本包埋

1) 将包埋剂、包埋模具等放在冰上**预冷**，包埋模具四边用**油性记号笔**标记方向及样本名称（如图1和图2）。主要目的是后期包埋完成后，可以记录样本切面的方向，方便后期切片选片。

2) 在包埋模具中轻轻加入一层包埋剂，然后用预冷的镊子迅速将组织放入。

3) 添加包埋剂使其覆盖组织，并调整组织在包埋剂中的位置，保证**目标平面与切面水平一致**（包埋时组织的摆放角度十分重要，请将**组织横切面平行于包埋盒底部进行包埋**，建议切面朝上，如有特殊情况，请提前说明并在包埋盒上标注样本切面方向）。

4) 保持样本在中部位置，**并对包埋固定前的组织拍照记录，并将照片上传至《联川生物空间代谢组送样单》切片方向说明图Sheet中，【无照片说明的样本我司不会进行任何实验】**。

注：在包埋过程中，不要引入气泡，气泡的产生会在包埋剂冷却后在组织周围形成空洞，影响切片效果（如有气泡产生，用针尖轻缓挑出或用空的移液枪头吸出）。

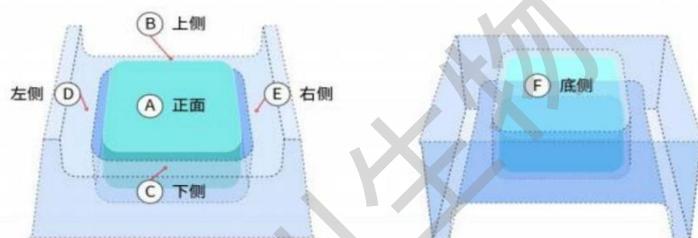


图1：包埋方位标记（左图，正面与上下左右侧；右图，底部）

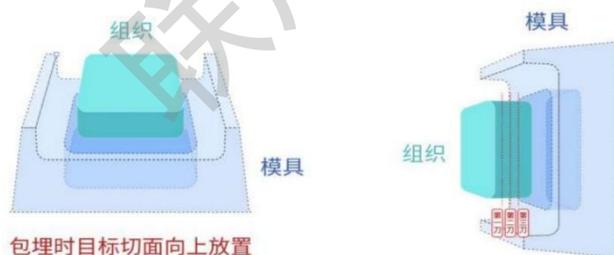


图2：组织包埋时目标组织在包埋盒中的形态及切片方向示意

3.2 速冻

包埋好后，立即将其放在干冰上（或用镊子夹紧包埋盒放入装有液氮的容器中，使液氮没过其底部但不淹没整个包埋盒，不要使液氮浸入包埋盒内），当包埋剂由透明转变为完全不透明的白色结晶块状时，组织基本完全冻结，待包埋剂完全冻结，取出包埋盒，置于干冰或-80℃冰箱保存。

注：干冰建议敲碎成为碎干冰后再进行包埋，这样可以最大程度地实现包埋过程中组织受冷均匀。

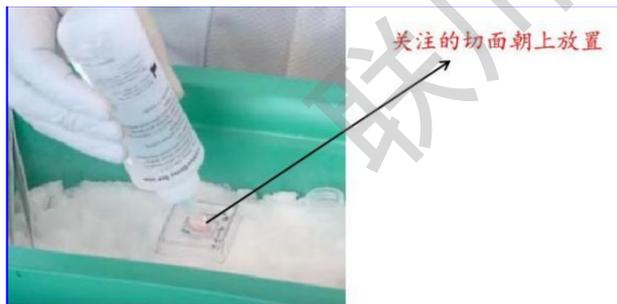


图3: 包埋剂中的组织



图 4: 包埋时的组织界面图 (以肾组织为例, 建议将关注切面朝上放置并提供类似照片以便选片)

● **注意事项:**

1) 样本从采集到包埋速冻, 时间越短越好, 尽量不要超过10min, 包埋好的样本立刻放入-80℃冰箱冻存。

2) 对于一般动物组织样本建议**能包尽包**, 包埋可对样本起到固定、保护作用, 尤其是含水量较高、体积较小、外形难保持、不规整的组织必须包埋固定。

3) 样本准备过程中**未经过福尔马林浸泡、多聚甲醛固定、HE染色、荧光标记等处理**, 建议使用OCT和CMC包埋, **不建议使用石蜡包埋, 非常影响代谢物检出。**

4) 单个样本包埋, **一个包埋块一个样本, 不建议多个组织包在一起。**

5) 包埋前要根据样本情况、关注的切面区域等因素, 想好样本如何摆放及如何切片。

包埋盒上要标记好样本名称、编号、样本放置方向、切片方向, 在包埋过程中务必拍照记录, 标记关注部位、病灶位置等信息。切片时需要提供并将照片上传至《联川生物空间代谢组送样单》切片方向说明图Sheet中。

6) 如暂不送样, 则需**将包埋盒用锡箔纸包裹后, 密封好 (如用自封袋密封)** 放在-80℃冰箱中冻存。必须密封储存样本, 否则可能会导致组织脱水和损伤, **样本保存时间建议不超过6个月。**

7) 为保证实验的顺利, 建议在取样同时做样本备份。

4. 自行切片寄送 (不建议)

样本切片及贴片优先建议由我司进行 (空间代谢组学对于切片平整度要求高), 也可客户自行切片, 如果需要自己切片, 需要提前准备 **MALDI IntelliSlides 玻片**, 并在《联川生物空间代谢组送样单》准确备注切片的**【厚度】**。

我司推荐空间代谢组样本即切即测，保存超3天的切片样本均存在代谢物检出不稳定的风险！

切片流程如下（供参考）

1) 【切片厚度一般在 10-20 μm ，最好为10-12 μm 】，样本最大不可超过检测面积的80%，最小不低于1.5 \times 1.5mm。

2) 经 -80 $^{\circ}\text{C}$ 冰箱取出的组织放于-20 $^{\circ}\text{C}$ 冰箱或切片机里-20 $^{\circ}\text{C}$ 平衡 30 min。将样品固定到样品托头上，用移液器吸取 CMC /OCT 溶液于圆形样品托头上，并将组织放在 CMC 溶液上，由于-20 $^{\circ}\text{C}$ 环境，待溶液结冰后组织即可固定。

注意事项：放组织时应尽可能将要切的平面保持向上并水平。

3) 把样品托头固定在切片机可定位样品头上，调整好样品的角度和方位。设置好切片厚度。然后调整好防卷板位置，转动手轮一圈，切出切片置于玻片上（若切片破裂，则样品头温度过低，应设置一个较高的温度。若切片软化，则样品头温度过高，应设置一个较低的温度）。

4) 将切好的切片用预冷的毛刷转移到预冷的 MALDI IntelliSlides 玻片上，将玻片背面贴紧手背，用手背的温度将组织切片融化至透明，透明后通过手指摩擦玻片背面，通过背面的温度将玻片正面组织上的水分蒸干，组织会由透明变白。在切不同组织样本之前应用纯乙醇擦拭平台和防卷板，以避免样品之间的交叉污染。

5) 切完后将含有组织的 MALDI IntelliSlides 玻片放入玻片盒中，在真空干燥器中干燥组织水分后，再放到真空包装袋中进行抽真空处理后于-80 $^{\circ}\text{C}$ 保存。需要运输时用干冰，将玻片盒放入干冰中寄送。【真空有利于样本保存，尤其对于含水量较高的样本】

注：若客户自己切片时，需要切 3 张切片样本（1张 MALDI IntelliSlides 玻片正式样本，1张 MALDI IntelliSlides 玻片备份样本，1张世泰玻片用于HE染色，建议用 A、B、C、D做好标记用于区分）寄送到公司进行空间代谢检测。若玻片在检测过程中仪器故障，会用备用进行检测，如需留片额外进行染色等其他实验，请自行保留普通玻片贴片的样本。

● 注意事项：

1) 贴MALDI IntelliSlides玻片时，务必将样本切片贴在玻片正面（带有二维码和定位孔的一面）。

2) 组织切片的摆放位置尽可能放置在切片中央，如图中黑色区域。定位孔用做靶板的空间位置校正，需要留出。**切片上样本遮挡定位孔导致的检测失败，后果由客户自行承担。**样品占太满、交叠，或者太靠近边缘，均会影响质谱成像的数据质量。

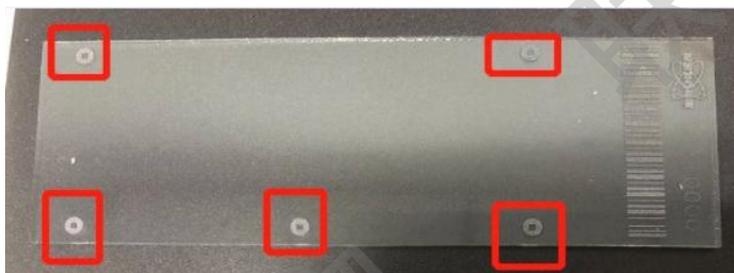


图 5 MALDI IntelliSlides 玻片定位孔示意图

3) 同一张 MALDI IntelliSlides 玻片上可放置多个样本, 相互比较的样本建议放置于同一张玻片上, 样本数量随检测分辨率和单个样本切片的面积大小而定, **切片间排放间隙至少3mm**。尽量贴于导电玻片中央, 不靠近边缘, 样本切片与玻片紧密贴合, 样本切片平整不凸起。



图 6 样本拼片示意图 (2×6cm)

4) 样本名称标记在边缘位置, 请勿标记在样本周围影响检测。

5. 特殊样本准备 (植物叶片、花瓣类)

5.1 样本采集步骤

选择样本前, 应先确认好最佳取材位置以及合理组织大小 (要求大小不超过约 20*60 mm), 若组织块较大, 请用刀片切除非必要部位。使用卷起来的实验室擦拭布从组织表面吸收多余的汁液或水分, 以避免冰晶的形成。

对于植物叶片类组织 (如叶、花瓣), 叶片组织一共可以分为两个面:

1) 可切片的叶片截面 (即切出来为细长条的截面), 若成像区域为叶片截面, 则要求**截面厚度需要大于 1.5mm**。平面的大小需要小于 20mm x 60mm, 按常规样本要求用 CMC 包埋后进行送样 (参考 1.2 组织包埋寄送步骤), 进行操作。**若叶片大于这个面积或厚度小于等于 1.5mm, 需自行切片 (或剪裁至要求面积)。**

2) 中间为主叶脉左右对称的叶片平面 (不可切片, 需要压印, **暂不接收此类样本, 特殊情况请提前沟通咨询**) (通常要求样本厚度 $\leq 300 \mu\text{m}$ 的植物新鲜叶片, 蜡质层较厚的叶片, 蜡质面检出效果不好)。

注: 每个样本建议送 3 份 (2份HE染色, 1份正式样本, 1份备份样本, 建议做好标记用于区分)。若在压片或检测过程中仪器故障时, 会用备用样本进行检测。

5.2 叶片、花瓣样本运输

1) 包装

方式 1: 将铺平的叶片或花瓣置于标记好编号的硬质塑料板上, 并用保鲜膜包裹住塑料板及叶片, 以防止叶片在运输途中移动导致破碎, 然后再覆盖一层锡箔纸, 盒中上下铺置棉花进行缓冲。样本较多一块板放不下时, 建议将同组样本放在一起块硬质塑料板上, 不同组样本放在不同硬质塑料板上。

方式 2: 当无实验条件时, 也可选择方式 2。将叶片或花瓣置于标记好编号的锡箔纸中, 将包有样本的锡箔纸置于较大的容器内 (例如冻存盒), 且盒中上下铺置棉花, 将包有样本的锡箔纸存放于棉花中间, 防止邮寄过程中叶片碰撞碎裂。

2) 寄送

冷冻盒于-80°C 冰箱保存, 运输时干冰寄送。干冰寄送时, 将容器 (例如冻存盒) 埋没于干冰中, 保证上下都有干冰覆盖, 干冰的量根据每天 4 公斤来计算, 使用厚实的泡沫箱寄送。

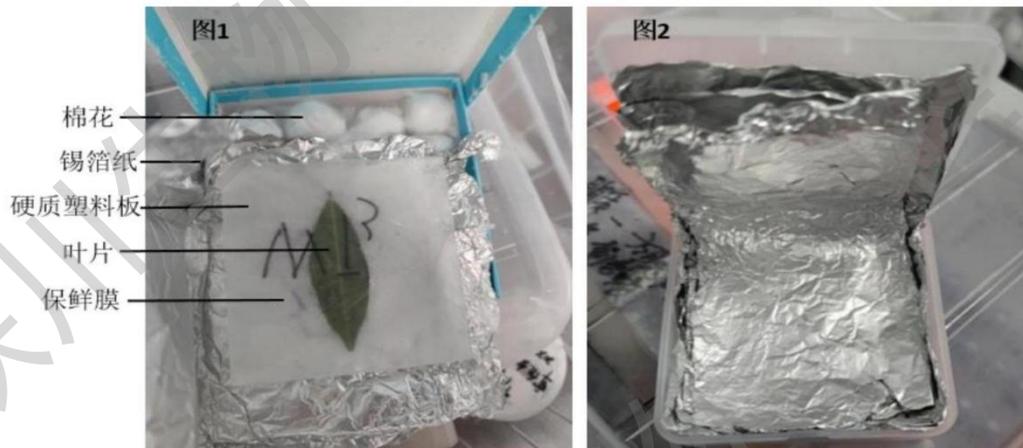


图 7 植物样本包埋示意图

6. 其他注意事项 (非常重要)

- 1) 除不需要切片的样本外, 植物和动物样本均建议新鲜包埋或自行切片寄送, 为保证样本形态, 一般不建议直接冻存寄送。
- 2) 切片: 2份MALDI IntelliSlides玻片+1份黏附玻片。
- 3) 不好切片容易脱片的样本不建议开展实验, 如骨组织等。
- 4) 植物样本含水量要求>60%, 如含水量较少时, 样本太脆, 可能发生破碎。
- 5) 样本如为切片样本, 请在准备前提前联系。
- 6) 如为其他特殊样品, 请在寄样前沟通评估。
- 7) 组织切片质检要求形态完整, 无断裂。

- 8) 如果样本充足，最好准备两份以上样本，多一份作为备用，防止样本可能出现不合格等特殊情况。
- 9) 未包埋样本要防范寄送过程中挤压变形或碎裂风险。
- 10) **个性化操作可能会影响代谢物检测的稳定性。**

7. 干冰运输说明

干冰运输：将样品从冻存环境中取出，放入壁厚且质量完好的泡沫盒中，样品的上下和四周都用干冰填满，样本没于干冰中，将泡沫盒子封好后邮寄。24 小时内能够到达的，干冰重量不得低于 5kg。

48 小时内能够到达的，干冰重量不得低于 10kg；

72 小时内能够到达的，干冰重量不得低于 15kg。

注意：运输过程中包埋样本切勿冻融！如暂不送样，则需要将包埋盒密封（如用自封袋密封）好后放在-80℃冰箱中冻存。必须密封储存样本，否则可能会导致组织脱水和损伤。

8. 收样地址

- 空间代谢组项目收样地址：

收样人：联川生物样本中心

电话：13958161054

收件地址：浙江省杭州市钱塘区下沙街道围垦街 758 号 杭州联川生物医药科技有限公司 1号楼7层样本中心（邮编 310018）

注：寄样前请提前联系销售经理预约

9. FAQ（非常重要）

- 1) Q: 包埋剂对样本空间代谢检测是否有影响？

A: 建议默认使用 CMC 包埋，实验结果表明，此包埋剂对样本信号影响很小，与样本贴合程度较高，能挣保证切片的形态完整；

明胶可用，但与样本表面贴合程度较低，切片结果显示明胶不利于贴片（将样本切片贴在载玻片上）；

OCT检测效果与CMC差别不大，但是OCT包埋不当会导致包埋剂浸润入样本边缘，影响代谢物检出；

石蜡不可进行空间代谢组学检测。

- 2) Q: 只做空间代谢检测，是否可以直寄送鲜样？

A: **不可以，不接受仅做空间代谢组的新鲜未处理样本，仅做空间代谢组的项目【只接受包埋块和白片】。**因切片人员无法了解所有样本的结构，加之样本送来之后是已冷冻的状态，

联川生物空间代谢组项目样本准备指南
操作时需要将其冻融再凝固，形态结构会改变，无法保证后续实验结果。

3) Q: 只做空间代谢检测，样本寄送前完整流程如何？

A: 鲜样处理，裁剪至合适大小→鲜样包埋→样本包装→填写提交单→干冰寄送

客户包埋时需先将 CMC 配置好之后再取样，因包埋剂配置时间较长，样本裁剪后无法长时间放置。

4) Q: 只做空间代谢检测，样本较大没有合适尺寸的包埋盒如何处理？

A: 最大包埋盒为 30×20×12mm，样本最大尺寸不超过长（30mm）宽（15mm）高（即厚度，12mm）如果所关注区域的尺寸大于包埋盒的尺寸，需要在包埋前对样本进行剪裁。

5) Q: 样本包埋时有气泡如何解决？

A: 可使用空的移液枪吸头将气泡吸出，或使用针尖将气泡挑出。

6) Q: 只做空间代谢检测，切片碎裂是什么原因造成的，为什么切片结果与书上的图片相差较大？

A: 切片碎裂常见于植物样本，因其细胞内含有大液泡，冷冻状态下为凝固状态，在刀片压力的作用下会碎裂，原理类似于刀切冰块，书上所提供的图片一般为石蜡切片，其经过固定脱水的前处理，故形态结构保持相对完整，且冰冻切片无法达到石蜡切片的效果，我司会将样本切片的碎裂程度尽可能降低。

7) Q: 只做空间代谢检测，切片碎裂是否影响检测？

A: 在样本完整的前提下不影响检测，但是空间数据的连续性被破坏，不建议继续进行实验。

8) Q: 只做空间代谢检测，切片反馈单给的 3 份切片如何选择？

A: 若为一张，以整张玻片为单位依次选出最优、次优、较好等，将其依次排序，例如 A>B>C 若为两张及以上，以一张玻片为单位 ABC 组别可任意组合，例如 A2、B3>A3、B2，尽量保证有多余切片。

9) Q: 切片厚度为多少？

A: 我司默认切片厚度为 8-20μm，最好为10-12μm，会在保证样本完整的前提下选择较薄的厚度。若空间代谢组-空间转录组联合，常规为10μm。每份样本切3组，以 ABC 分类，客户根据扫描图选择完玻片的优先级后进行空间代谢组上机检测。

10) Q: 切片不完整，或者有冰晶可以如何解决？

A: 冰晶形成的原因是组织冷冻速度太慢。冰冻开始时，冰晶成核率较慢，以后逐渐增加，其临界温度为-3.3℃，从-3℃降至-4.3℃之间，成核率急剧增加，然后再减慢。冰晶的大小与其生长速率成正比，而与成核率（形成速率）成反比，即冰晶形成的数量愈多则愈小，对组织结构影响愈严重。可采取速冻措施减少冰晶的形成，目前已知的方法有：第一，标本要尽量不含水，特别是一些含有黏液、体液这些东西，还有像含水丰富的组织如脑组织、乳腺等，我们可以用吸水纸将表面的水吸干一些，这样可以很大范围地减少冰晶。第二使用液氮，可快速冷冻组织，有效减少冰晶形成。第三，取样时将样本中的水分用蔗糖梯度替换。

12) Q: 使用 CMC 包埋剂进行包埋时, 包埋块在冷冻过程中冻裂怎么办?

A: 建议老师先做预实验, 10% 的 CMC 溶液进行测试。然后在速冻过程尽量保证包埋盒只有底部与冷冻液接触, 长时间大面积接触会导致包埋剂溶液温度迅速下降, 体积快速增大导致包埋块冻裂。