

NGS 服务送样标准

Sample Standard Of NGS
Service

一、样品要求

1.1 DNA 样品

项目名称	文库类型	样品类型	体积(μL)	总量* (ng)	浓度* (ng/μL)	OD 260/280
Whole Genome ReSequencing	DNA (150~500bp)	Genomic DNA	25 - 100	m≥3000	c≥25	1.8~2.0
		Meta-genomics	25 - 100	m≥3000	c≥25	1.8~2.0
Target Region Sequencing /Whole Exome Sequencing (Human)	Target Region sequencing library	Genomic DNA	25 - 100	m≥500	c≥5	1.8~2.0
		FFPE Genomic DNA	25 - 100	m≥500	c≥5	1.8~2.0
		cfDNA	25 - 100	m≥20	c≥0.5	1.8~2.0
Multiplex PCR Target Enrichment	Amplicon library	Genomic DNA	25 - 100	m≥300	c≥5	1.8~2.0
		FFPE Genomic DNA	25 - 100	m≥300	c≥5	1.8~2.0
Sanger	DNA (150~500bp)	Genomic DNA	25 - 100	m≥300	c≥10	1.8~2.0
Whole Genome Bisulfite Sequencing	MethyIC-seq library	Genomic DNA	25 - 100	m≥5000	c≥50	1.8~2.0
RRBS	DNA	Genomic DNA	25 - 100	m≥3000	c≥25	1.8~2.0
BisCap	DNA	Genomic DNA	25 - 100	m≥500	c≥5	1.8~2.0
MethCap	DNA	Genomic DNA	25 - 100	m≥3000	c≥25	1.8~2.0
Y-STR	Amplicon library	Genomic DNA	5-100	m≥5	c≥1	1.8~2.0

注：本公司采用高通量平台测序，*内容为样品必备条件；如该项指标不符合要求，还需启动实验的，需签署风险协议。

1.2 其他类型样品

项目类型 样品类型		Whole Genome ReSequencing/Whole Exome Sequencing/ Target Region Sequencing	Sanger	Whole Genome Bisulfite Sequencing/RRBS	MethCap	Biscap	Y-STR
新鲜组织		≥20mg	≥20mg	≥20mg	≥20mg (绿豆粒大小)	≥20mg (绿豆粒大小)	≥1mg
植物叶片		≥1g	≥1g	≥1g	≥1g	≥1g	—
新鲜培养细胞数(个)		≥5×10 ⁶ 个	≥5×10 ⁶ 个	≥8×10 ⁶ 个	> 5×10 ⁶ 个	> 5×10 ⁶ 个	2×10 ⁶ 个
全血(提取基因组 DNA)		≥1 mL	≥1 mL	≥2 mL	≥1 mL	≥1 mL	≥0.2 mL
全血(提取 cfDNA)		≥10 mL	≥10 mL	—	—	≥10 mL	—
全血(非哺乳动物)		≥0.5mL	≥0.5mL	≥1mL	≥1 mL	≥1 mL	—
血浆或血清 (cfDNA)		>5ml	>5ml	—	—	>5ml	—
干血片		>3 片 (10×10mm 面积)	>3 片 (10×10mm 面积)	> 10 片 (10×10mm 面积)	> 10 片 (10×10mm 面积)	> 3 片 (10×10mm 面积)	> 1 片 (10×10mm 面积)
粪便		>2g	—	—	—	—	—
尿液		≥1 mL	—	—	—	—	—
唾液		≥1mL	≥1mL	≥2mL	≥1 mL	≥1 mL	≥0.2 mL
口腔拭子		≥1 根	≥1 根	≥1 根	≥1 根	≥1 根	1 根
FFPE	石蜡包埋块	>1 块 (不小于 4×4×4mm 体积)	—	—	>1 块 (不小于 4×4×4mm 体积)	>1 块 (不小于 4×4×4mm 体 积)	>1 块 (不小于 4×4×4mm 体 积)
	石蜡切片	>10 个玻片 (10×10mm 面积)	—	—	>10 个玻片 (10×10mm 面积)	>10 个玻片 (10×10mm 面积)	>3 个玻片 (10×10mm 面积)
		>10 个切片 (10×10mm 面积, 厚度 5mm, 5-10μm)	—	—	>10 个切片 (10×10mm 面积, 厚度 5mm, 5-10μm)	>10 个切片 (10×10mm 面 积, 厚度 5mm, 5-10μm)	>3 个切片 (10×10mm 面 积, 厚度 5mm, 5-10μm)

注：

1. 全血样本：推荐使用 EDTA 抗凝管保存，如使用其他抗凝剂保存管，如肝素、枸橼酸钠等抗凝管请在《样本信息单》中标注，因其他抗凝剂对后续实验可能会有不利影响，我方将特殊处理（提取 2 次的流程，成本翻倍）。
2. 来源于全血的 DNA 样本：请标注样本保存使用抗凝剂，如肝素等抗凝剂对下游实验会有影响，我方会进行特殊处理（提取 2 次的流程，成本翻倍）。
3. FFPE 样本：制作石蜡切片时，如样本暴露空气中，弃上层 2-3 片；在切片完成后请尽量选取切片中组织含量高的部分，如石蜡过多可切去多余石蜡部分。玻片样本为防止运输途中破碎，请使用专用玻片存放盒或减震包装寄送。
4. 粪便请使用专用的粪便收集管，将粪便收集后立即冷却-20℃保存（有条件的可存放-80℃），运输时请使用足量干冰。如含有较多的食物残渣或水样便，可能会导致总量不足，请适当增加样品量。

二、样品运输

样品类型	装样要求	运输要求
DNA	使用 1.5 mL 低吸附离心管装载样品	72 小时内干冰运输，24 小时内冰袋运输
DNA（乙醇沉淀）	使用 1.5 mL 低吸附离心管装载样品	常温运输
鲜动物组织	使用 1.5 mL 的 Eppendorf 管或 2mL 螺线管装载	干冰运输
全血	5-10 mL 抗凝采血管（常用 EDTA 抗凝管）装载，或使用 Streck 管装载	2-8℃冷藏运输
血浆或血清	真空采集管装载	干冰运输
干血片	分装袋（盒）或者其他隔离减震包装	2-8℃冷藏运输
粪便	粪便收集器	干冰运输
尿液	专用尿液收集器	常温运输
唾液	唾液收集器	有保存液可室温运输，直接收集唾液需冷冻运输
口腔拭子	口腔拭子置于原装管中并携带保护液	常温运输
石蜡切片/石蜡块/玻片	专用玻片存放盒或减震包装寄送	常温运输

三、样品质控

3.1 质控方法

- 1) Invitrogen Qubit® Fluorometer 荧光定量仪
- 2) 琼脂糖凝胶电泳

3.2 质控用量

方法 样品	Qubit®	琼脂糖凝胶电泳	备注
DNA 样品	1-3μL	1-5μL	样品浓度≥500ng/μL, 请用 TE 缓冲液稀释原液稀释至 500ng/μL 以内

3.3 质控标准

分类	条件	结果建议	备注
A 级	满足建库测序要求	可以实验	主条带完整, 总量满足 2 次或 2 次以上实验用量, 浓度满足送样要求。
B 级	满足建库测序要求	可以实验	主条带完整, 满足 1 次但不足 2 次实验用量, 浓度满足送样要求。
C 级	样品质量不完全满足建库测序要求	1. 建议 DNA 质量优化后继续实验, 但不保证实验质量 2. 可以尝试风险实验, 但不保证实验质量	对于 C 级样品存在但不限于以下类别: a) 样品总量满足风险建库要求 (总量不足一次建库量), 无杂质或 RNA 污染, 或者轻微杂质或 RNA 污染。 b) 总量满足一次建库量, 但浓度低于送样要求。 c) 样品中度或严重降解, 但主条带明显。 d) 样品中度或严重 RNA 污染, 但主条带明显。 e) 样品中度或严重杂质, , 但主条带明显。 对于 C 级样品存在但不限于以下风险: a) 总量不足: 可能导致文库构建失败; 可能导致文库产量低无法上机测序或者测序数据量不足。 b) 浓度较低, 增加实验流程, 浓缩导致样本损失 c) 降解样品: 可能影响随机性, 影响覆盖度。 d) RNA 污染: 可能影响 DNA 的准确定量, 影响文库浓度。 e) 杂质污染: 可能影响 DNA 的准确定量, 可能影响建库及数据均一性。
D 级	样品质量完全不满足建库测序要求	不建议用于实验	a) 无主条带。 b) 总量过少 (小于 100ng, 不做质检)。

注:

1. FFPE, cfDNA 样本质检仅对总量进行评估, 建库后对文库进行质检。
2. 该质控评级仅用于评价样品是否适用于进行下游实验, 并不代表满足建库要求的样品一定会产出合格数据。
3. 对于满足建库要求, 但后续实验发生质量问题的样品, 我方将第一时间进行特殊处理, 并告知客户情况, 如仍不能得到合格的数据结果, 我方有权终止实验。