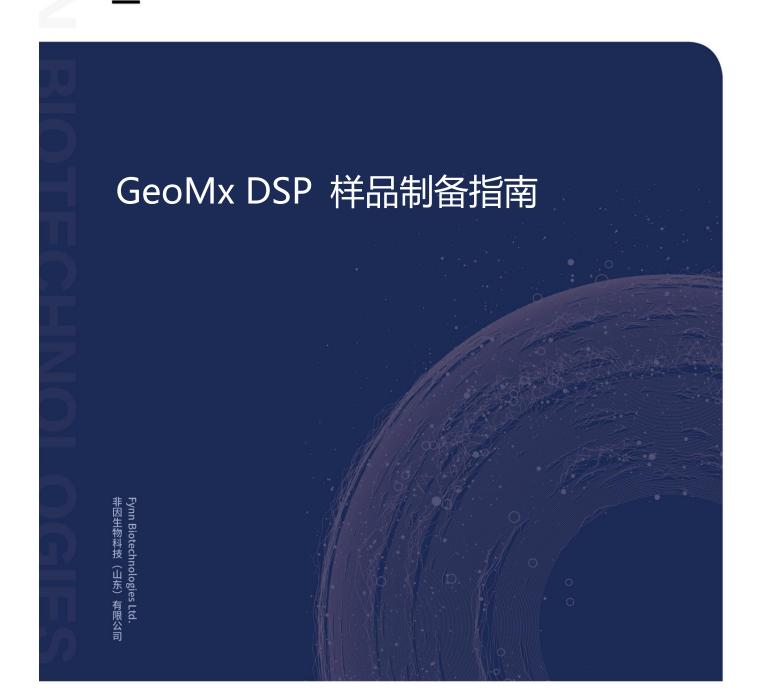


非因生物

Mills 癌症个体化诊疗研究中心 Mills Institute for Personalized Cancer Care



GeoMx DSP 样品制备指南

准备前须知

在使用 GeoMx DSP 仪器进行蛋白质和 RNA 分析时, 蜡块制备、制片和存储等所有过程均需保持样本 的完整性。FFPE 样本的完整性受到多种因素的影响,包括:(1)组织切除后,到固定之前的时间;(2)保 存条件;(3)组织类型;(4)标本储存年限。在选择进行 GeoMx DSP 分析的样本时,考虑这些因素至关 重要。完整性差的样品的检测信号可能较低,特别是在 DSP 的 RNA 分析实验中。因此,请按照以下操作流程 来进行样本处理。

石蜡样本制备

一、FFPE 蜡块选择

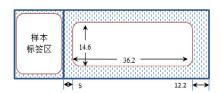
为获得最佳的 GeoMx DSP 分析结果,FFPE 蜡块应满足以下标准:

- 1. 组织在经1×PBS (pH7.0-7.4) 清洗后, 需在10%的中性福尔马林缓冲液中, 室温固定18至24小时(适 用于厚度小于 0.5cm 的组织, 如组织较大, 可适当延长固定时间)。
- 2. 为保证最佳实验效果,组织切取后需立即固定,从切取到进行固定,中间的时间最多在常温放置不超 过一个小时。
 - 3. 组织在乙醇中彻底脱水,进行石蜡包埋。
 - 4. 室温干燥保存蜡块。
 - 5. 为了获得最佳效果, 在选取 DSP 实验样本时, 不建议使用超过 10 年的蜡块。

二、FFPE 切片

对于蛋白质和 RNA 检测,重要的是要避免切片上出现任何划痕和褶皱。这些划痕和褶皱在经过 DSP 实 验流程后会被进一步放大,进而导致组织损失。为保证取得最佳检测结果,用户可按照如下操作进行切片制备, 并建议用户咨询病理科专家以获得不同类型、不同来源组织的最佳操作流程。

- 1. 切片厚度需设置为 5µm。
- 2. 蜡块修片的前几片不建议使用。
- 3. 组织应贴在载玻片的中心,以便为 GeoMx 载玻片架上的垫圈留出空间。
- 1)NanoString 推荐使用 SuperFrost™Plus 防脱载玻片。
- 2)如果每张载玻片贴多个组织,请确保所有组织间至少相距 2-3 mm。
- i. 在 SuperFrostTMPlus 载玻片上,未染色的组织切片应为 5µm 厚。组织必须放置在载玻片中央的扫 描区域 (如下图所示的 36.2 mm X 14.6 mm 区域内), GeoMx DSP 仪器很可能无法检测扫描区域之外的组织, 且可能由于校准区域被遮挡而导致仪器无法正常工作。



※ 最终解释权归非因生物科技(山东)有限公司所有



GeoMx DSP 样品制备指南

ii. 在进行 DSP 上机实验之前,请确保灰色垫圈区或尖端红色校准区域中没有疏水笔痕迹或组织覆盖。

iii. 一般情况下,在脱蜡前,切片将被置于 60℃ 的烘箱中烘烤 30-60 分钟。但某些组织可能需要更长 的烘片时间,用户可提供经验值或进行测试。如果组织较易脱落,延长烘片时间可能会有所帮助。

4. 贴好片的载玻片需垂直放置, 室温过夜干燥, 以便排出剩余水分。使用无尘纸的折角擦拭多余的蜡和水, 无尘纸不可直接接触组织。

三、FFPE 样本储存和寄送

FFPE 样本应在切片后 2 周内使用,因此需用户制片后立即寄出,样本在寄送前应储存在室温干燥器中 或 4℃保存, 如有条件可选择 4℃干燥保存。

新鲜样本制备

一、新鲜冷冻组织块制备

- 1. 切取的组织可在液氮中快速冷冻。固定前用于清洗或临时储存组织的任何缓冲液都应无核酸酶污染【如 1×PBS (pH7.0-7.4)] 。
 - 2. 用 OCT 包埋速冻组织后切片。
 - 3. OCT 包埋的组织块需储存在 -80℃。

二、鲜冻组织切片

- 1. 切片需为 5μm 厚,切下后立即贴在 Superfrost™ Plus 载玻片上。
- 2. 组织需贴在扫描区域,如上图所示。
- 3. 修片的前几片不建议使用。
- 4. 切片后,暴露的组织块应用 OCT 封存,以避免样本干燥。

三、冰冻切片样本储存和寄送

- 1. 玻片在使用前可在 -80℃下保存数周, 建议制备后立即寄出。
- 2. 玻片应置于干净的 50ml 离心管或者玻片盒内, 固定好后, 缠好封口膜, 足量干冰寄送。