

组学样本采集方案

5R 16S 微生物多样性

第一版

2023-10-30

目录

一、各类样本送样量汇总表.....	4
二、样本准备的通用要求.....	5
2.1 样品容器.....	5
2.2 样品标识.....	5
2.3 样品装箱和邮寄.....	5
2.4 安全性.....	5
2.5 样本准备的基本原则.....	5
2.6 其他.....	6
三、其它注意事项.....	6
四、微生物组学样本采集方案（详细版）.....	7
4.1 组织样本.....	7
4.1.1 临床样本（人）取样方法.....	7
4.1.2 动物组织样本取样方法.....	7
4.2 血液样本.....	8
4.2.1 血液样本实验器材与试剂.....	8
4.2.2 取样前准备工作.....	9
4.2.3 实验操作.....	9
4.3 尿液样本.....	11
4.3.1 实验器材.....	11
4.3.2 尿液采集（人）.....	11

4.4 FFPE 样本	12
4.4.1 样本采集	12
4.4.2 样本储存	13
4.4.2 样品寄送	13
4.4.4 注意事项	13
五、阴性对照样本的设置	14
5.1 对照组的重要性 ^[1]	14
5.2 如何设置阴性对照 ^[2]	14
5.3 数据处理	15
附录1 各种采血管帽的颜色及其对应添加剂、适用场景	16
附录2 常见大小鼠品系	17

一、各类样本送样量汇总表

5R 16S 微生物多样性产品各类样本送样量参考下方表格：

样品类型	组织类型	推荐送样量	备注
5R 微 生 物 多 样 性	组织样本	肿瘤组织	0.25-0.35g
		其他组织	≥0.25g
	体液样本	血液	≥1.5ml
		胃液	≥1ml
		脑脊液	≥1ml
		尿液液体	20-50ml
		尿液沉淀	0.3-1g
	FFPE包埋样本	蜡卷	5μm石蜡切片, 10片/ 25μm石蜡切片, 2片
	穿刺/活检样本	组织穿刺	≥50mg, 2-3条
活检样本		≥50mg	
			<p>建议送推荐送样量的2~3份。</p> <p>临床样本：多样性重复建议至少30例组，参考文献平均67例/组。</p> <p>鼠模型样本：多样性重复建议至少6-8只组，参考文献平均10只/组。</p>

备注：① 组织、体液类样本微生物含量较少，建议每个样本进行2-3个备份。

② 低微生物量样本取样时建议设置采样阴性对照，详见[五、阴性对照样本的设置](#)。

5R 16S 微生物多样性产品核酸送样要求：

保存建议	
DNA	<ol style="list-style-type: none"> 1.确保DNA无降解、无污染； 2.DNA一般长期保存于-80℃冰箱，干冰寄送； 3.避免反复冻融，应对DNA样品小份分装； 4.送样管务必标清样品编号，管口使用 Parafilm 膜密封。
样本类型	DNA送样要求
5R 16S 多样性	DNA：总量150ng，浓度2ng/μl，体积≥50μl， $1.8 \leq \text{DNA}_{260/280} \leq 2.0$

二、样本准备的通用要求

2.1 样品容器

做微生物组研究，所用实验器械、容器需做无菌处理。

2.2 样品标识

样品名称使用字母、数字和下划线，不超过 8 个字符，不要使用特殊符号，建议双重标记：

标记 1：使用优质油性笔在每个样品管顶部和侧壁上清晰、简明地标记样品名称，并用 parafilm 封口；

标记2：将样品名称等信息写在标签纸上，贴在管壁，再用透明胶带缠绕一圈，防止浸湿脱落。

2.3 样品装箱和邮寄

邮寄样品时请详细填写样品信息单，所列名称与样品管标识完全一致。除部分单细胞空间组学样本外，常规样本建议采用顺丰快递，样品置于泡沫盒，并用干冰覆盖，通常15kg干冰可满足要求，一般情况，干冰数量= $(\text{快递天数}+1) \times 5\text{kg}$ ，所有样品请做好备份，防止寄送过程出现异常导致样品损坏。

2.4 安全性

若样品有潜在危险，如有毒、易感染、易挥发等，请提前联系技术人员，根据具体情况，制定相应方案；如擅自寄送有危险性样品且未告知，需承担相应法律责任。

2.5 样本准备的基本原则

样本质量是影响实验结果的关键因素，建议遵循以下原则：

① **取样代表性原则**：为保证生物体在某种生存状态下的分子组成具有代表性，应从表型、生理指标、环境指标等多方面对样本进行相关鉴定及筛选。临床样本取样前3天，注意饮食清淡，取样前一天8点以后禁食禁水；动物样本取样前需禁食12h；

② **一致性与严谨性原则**：各组样本在取材部位、时间、处理过程等方面尽可能保持一致；取样部位要具有代表性，准确地分离病变组织和对照组织；针对高异质性组织，更需要做到精确取材；

③ **迅速性原则**：样本在采集、制备、分离、冻存等过程中应尽可能做到迅速，尽量减少操作过程过长对样品产生的影响；

④ **全程低温原则**：**除部分单细胞空间组学外**，所取样本离体后，如有分离步骤应在低温下进行，分离好的样品立即置于液氮、干冰或-80°C冰箱中，并在实验前始终处于-70°C以下，**切忌反复冻融**，以避免降解。

注：液体样本在冷冻之前保持竖立，确保全部样本留存在管底再冻存。

2.6 其他

客户对原始样品进行过预处理，应将处理方法及试剂提前告知，否则公司可视情况终止实验。

建议送样量仅为参考数值，样本是否满足后续实验要求，以实际样品制备的最终情况为准；在条件允许的情况下，实际样品准备量应尽量大于该参考标准；液体样本量较大的时候建议分装。

样本提取时，一般只取用实验所需的样本量，但**不排除样本全部取用的可能性**，若样本不可用完，请在送样单中进行备注，否则默认样品可以全部取用。

实验过程中会存在低概率不可控风险，**建议客户采集备份样本**。“×2份”意为额外准备一份备份样本，客户可以选择自己将备份保存在低温冰箱或者与实验样本一起寄送（不包括生物学重复）。除以下所列样品之外的其它样品，其样本送样量可视具体情况进行沟通后确认。

三、其它注意事项

- 1) 如有特殊情况，如总量不能达到我们的要求或特殊的样本形式，关于取样和保存问题请与我们**提前沟通**，以便双方共同协商解决。
- 2) 请**备注清晰**样品的物种来源、部位，订单样品名称尽量与实际样品名称保持一致（样品名称尽量简单）。
- 3) **样本安全性声明**：对于**转录组学、单细胞空间组学以及微生物组学**，对人体有致病性的病原菌请出具此菌株在一级生物安全实验室中正常操作不具有任何危险性的承诺书，否则不接受该类样本。对于**蛋白质代谢组学**，危害程度为第一、二类的高致病性样品，只接收提取后的蛋白溶液样品，不接收组织、血液、菌体等样品。对于危害程度为三、四类的致病性或传染性的样品（组织、血液、菌体等），必须先通过销售或项目管理与技术人员沟通，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中华人民共和国卫生部印发的《人间传染的病原微生物名录》。
- 4) 临床样本不建议用电刀取样。
- 5) 其他样本注意事项请在取样之前联系对应技术同事。

四、微生物组学样本采集方案（详细版）

4.1 组织样本

4.1.1 临床样本（人）取样方法

4.1.1.1 取样前准备工作

- ① 患者或家属（捐赠人）签署知情同意书；
- ② 个人防护：实验服、医用手套、口罩、护目镜等；
- ③ 组织切割：医用无菌手术刀、剪、镊子、止血钳等；
- ④ 组织收集：可立冻存管、无菌烧杯、平皿等组织收集容器（提前标注患者、样本信息）；
- ⑤ 辅助试剂：医用酒精棉（擦拭皮肤、患处），1杯DEPC水或生理盐水（清洗组织），无菌纱布/滤纸（吸干残液），液氮或冰盒（低温保护样品）；
- ⑥ 以上器材、试剂均置于灭菌医用托盘（或病理专用器材操作台）上；整个组织采集、样本转移过程须在0.5h内完成，样本运回实验室，液氮速冻、-80℃保存、干冰快递。

4.1.1.2 样本采集步骤（液氮速冻法）

- ① 酒精棉清洁皮肤表面，然后用手术刀解剖、止血钳撑开外层组织，剪下少量目标部位组织，清理周边血管、淋巴及非病变组织，切成**0.5cm见方小块**（黄豆粒大小），快速漂洗或冲洗表面血污，无菌滤纸吸干残余水分（动作迅速，尽快完成此项操作）；
- ② 放入提前预冷的**无菌冻存管**中（油性笔预先做好标记，勿用标签纸粘贴，容易掉）、拧紧盖子，放入液氮中**速冻0.5h**，取出后放入自封袋，转移至**-80℃冰箱保存**；
- ③ 寄样前，将样本整理后包埋在干冰中(可先倒出一半，放好样品后再将剩余干冰填回)，用胶带将泡沫箱严密封口，尽快寄出；根据距离远近、预估快递时间，建议**干冰量5-10kg/天**。

备注：

- ① 请尽量采集**鲜活(活体)组织**，尸检样本难以保证核酸得率和质量；
- ② 全程**冰上操作**，动作迅速连贯(尽量不要中断)，**0.5h内**将样本运回实验室保存。

4.1.1.3 样本保存方法

首选**液氮速冻法**，条件允许的情况下可以取样时直接带上液氮。

4.1.2 动物组织样本取样方法

4.1.2.1 样本采集步骤（液氮速冻法）

① 烧杯倒入50mLDEPC水(或PBS、生理盐水等，每只动物换一杯)，解剖活体、选取特定组织，切成**0.5cm见方小块**(黄豆粒大小)，快速漂洗/冲洗表面血污，滤纸吸干残余水分（动作迅速，尽快完成此项操作）；

② 放入提前预冷的**无菌冻存管**中(油性笔预先标记，勿用标签纸粘贴，容易掉)、拧紧盖子(或1.5mL离心管，用锡箔纸包好)，放入液氮中速冻0.5h，取出后放入自封袋，转移至-80℃冰箱保存(保存时间<3个月)；

③ 寄样前，将样本整理后包埋在干冰中(可先倒出一半，放好样品后将剩余干冰填回)，用胶带将泡沫箱严密封口，并尽快寄出；根据距离远近、预估快递时间，建议干冰量5-10kg/天。

备注：

① 实验过程中，烧杯内壁、解剖剪、镊子、刀片等应保持洁净无菌，**勤加用无菌水冲洗擦拭或酒精灯灼烧、轮换使用**，冻存管和自封袋提前做好标记，所有操作**动作一定要快**；

② 动物及临床组织请**勿直接使用纱布、锡箔纸、自封袋等包裹**，容易粘连、分离不便，并容易引入外源污染，提高核酸降解的风险；

③ 建议**少量多份**分装保存，管内样本应**易于取出**。

4.2 血液样本

4.2.1 血液样本实验器材与试剂

- 1) 无水乙醇（AR 级或 GR 级均可），500mL；
- 2) 解剖剪、镊子、刀片、烧杯、玻璃培养皿等（酒精棉擦净后锡纸包好，烘箱 180℃灭菌 4h）；
- 3) 无菌枪头、离心管或冻存管，一次性注射器，建议购买商用成品，如 Eppendorf、Corning 等；
- 4) 液氮，灭菌水，酒精喷壶，酒精灯，一次性口罩、手套，锡箔纸，无菌滤纸，酒精棉，无纺布，封口膜，自封袋等；
- 5) 冷冻离心机等（选用）。
- 6) 根据实验需要选择购买对应的真空采血管，如收集血清样本可选择使用无预加抗凝剂的凝血管（**帽盖**



为红色)，具体各采血管外形和特点参见附录 1。

◇ 采血管适用场景各有不同，请根据实验需要选择合适的采血管。

4.2.2 取样前准备工作

- 1) 实验前用酒精棉擦拭工作台面、解剖台；
- 2) 锡箔纸铺台面，用酒精棉擦拭锡箔纸，后续操作在锡箔纸铺的台面上进行；
- 3) 烧杯、锡箔纸、镊子、解剖剪、刀片等用无水乙醇擦洗；
- 4) 实验全程佩戴一次性口罩、手套，并勤换手套。（现场采血可能无需以上步骤）。

4.2.3 实验操作

4.2.3.1 全血采集

(1) 临床样本（人）

- 1) 戴一次性手套，喷洒酒精（或消毒液）、搓揉均匀；
- 2) 选身体易于接触的裸露部位（如人的肘窝），提前清理毛发（如需），酒精棉擦拭令静脉血管鼓起（可绑止血带），晾干；
- 3) 取一套真空负压采血器（针头+采血管），左手固定、拇指按住穿刺部位下端，右手持采血针，针头斜面向上，以约 30°角刺入静脉腔（注意勿刺穿静脉），观察有血流出；
- 4) 采血针另一端插入真空负压管内（提前做好标记），待真空耗尽自动停止（采集 2mL 以上血液），然后放松止血带，用无菌棉签按住伤口，拔出针头；
- 5) 拔掉采血针，采血管颠倒混匀 5-6 次。

注：血样采集后，若不能马上处理，可 4°C 短暂保存 (<2h)

(2) 小动物（如大小鼠）

1. 非致死性取血方法

- 1) 心脏取血：1mL 注射器、5mm 针头，刺入心室，缓慢拉动活塞；可按摩心脏增加血量。

- 2) **隐静脉采血**：隐静脉在小鼠后腿内侧，用注射器抽取，方法类同心脏取血。
- 3) **断尾取血**：小鼠保定、剪断尾尖，用枪头或冻存管承接流出的血液。
- 4) **眼眶静脉丛采血**：左手保定小鼠，食指拇指轻轻按压颈部两侧，使眼眶后静脉充血，用枪头或细玻管以45°角从内眼角刺入，旋转吸取流出的血液，转入冻存管。
- 5) **颌下静脉采血**：用采血针刺破小鼠面颊下方静脉，枪头吸取流出的血液，转入冻存管。

备注：① 以上方法采血量较少，**小鼠约0.2-0.3mL、大鼠0.4-0.6mL**；

② 为防止小鼠挣扎，推荐采血前先进行麻醉（正常1/3量）；

③ 断尾取血是较为常见的取血方法。

2. 致死性取血方法

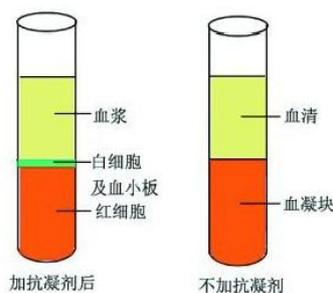
- 1) **摘眼球取血**：小鼠倒置5s、保定，用灭菌镊子摘掉眼球，冻存管承接流出的血液。
- 2) **断头取血**：小鼠保定，用灭菌手术剪快速剪断头颅，倒置控血；可先用灭菌烧杯或平皿承接，再转入冻存管。
- 3) **下腔静脉采血**：小鼠绑在解剖台上，用无菌手术刀剖开腹部，镊子移开内脏，腹腔底部有一条粗大的静脉，用注射器抽取血液，转入冻存管。

备注：① **以上方法采血量较大(>1mL)**，尤以断头取血为多；摘眼球取血也是常见的一种方式；

② 取血前请先清理手术部位附近毛发，并用酒精棉反复擦拭，以免血液受到污染；

③ 若能保定、可不麻醉（取血量更多），但要防止抓咬。

4.2.3.2 血清和血浆样本收集



1. 血清样本的收集方法

- (1) 收集全血至真空采血管（如BD vacutainer公司的红色真空采血管）
- (2) 4°C静置30~120min，避免剧烈晃动以免发生溶血。
- (3) 4°C，3000 rpm（根据物种稍微进行调整）离心10min，移液器将血清转移到离心管中。

(4) 放入液氮 30s, 转移到-80 度冻存。足量干冰寄送。

2. 血浆样本的收集方法

采集血液样本, 建议使用 BD EDTA 血常规管 (含抗凝剂) 紫色盖帽。

(1) 采血后轻轻地 180 度上下颠倒混匀, 持续 8~10 次, 以混匀血液和添加剂;

(2) 然后立即 4°C, 3000 rpm (根据物种稍微进行调整) 离心 10min。

(3) 移液器将上层淡黄色液体即血浆转移到离心管中。

(4) 放入液氮 30s, 转移到-80 度冻存。足量干冰寄送。

注意事项:

- 1) -80°C 冷冻样品储存, 足量干冰运输;
- 2) 样品制备过程中不能溶血;
- 3) 血清参考产率: 30%~50% (例如: 1mL 全血大约能得 0.3~0.5mL 血清);
- 4) 血浆参考产率: ≈50% (例如: 1mL 全血大约能得 0.5mL 血浆);
- 5) 其它动物血液可参考上述方法, 结合实际情况进行采集。

参考文献

Bo Shen, Xiao Yi, Yaoting Sun, et al. Proteomic and Metabolomic Characterization of COVID-19 Patient Sera [J]. Cell, 2020 07 09;182(1). [2] Vanessa M. Beutgen, Natarajan Perumal, Norbert Pfeiffer, et al. Autoantibody biomarker discovery in primary open angle glaucoma using serological proteome analysis [J]. Front Immunol, 2019;10.

4.3 尿液样本

4.3.1 实验器材

- 1) 尿杯、无菌 EP 管;
- 2) 标签纸、记号笔、胶带、液氮、冰盒、干冰;
- 3) 移液枪、离心机等。

4.3.2 尿液采集 (人)

- 1) 用一次性尿杯采集受试者晨起或晨间 1h 的中/后段“新鲜”尿液, 分装到离心管中, 如送液体样品, 建议 20-50ml, 分管保存;
- 2) 建议送尿液沉淀 0.2-0.3g (满足常规一次抽提量): 收集尿液后, 分装到 2ml 离心管中, 高速 10000xg~14000xg 离心 5min (注意配平), 倒掉上清, 收集沉淀 (一管不够, 可将同一尿液样本的多管沉淀混合); 如没有高速离心机, 可将收集的尿液, 以离心力 3000xg~4000xg 离心 15min (注意配

平), 再收集沉淀 (一管不够, 可将同一尿液样本的多管沉淀混合);

3) 液氮速冻 5min, -80°C 保存, 干冰运输。

注意事项:

1、液体样本进行冷冻保存, 切记不要装满, 以免冷冻后体积增大而开裂。

2、离心机转速与相对离心力的换算公式: $RCF=11.18 \times (\text{rpm}/1000)^2 \times R \times g$ [RCE 为相对离心力, rpm 为转速, R 为离心机半径]。

参考文献

[1] Brown S E, Robinson C K, Shardell M D et al. Assessing the concordance between urogenital and vaginal microbiota: Can urine specimens be used as a proxy for vaginal samples? [J] *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, 2021, 11: 671413.

[2] Liu F, Ling Z, Xiao Y, et al. Alterations of urinary microbiota in type 2 diabetes mellitus with hypertension and/or hyperlipidemia [J]. *Frontiers in physiology*, 2017, 8: 126.

4.4 FFPE 样本

4.4.1 样本采集

1) **取样**: 临床组织样本快速取样, 动物组织取材建议灌流后取材, 冲去过量血液。尽量取活的组织块, 一般厚度不超过 2mm, 长宽不超过 6.5mm。

2) **固定**: 组织的样本取样后立即放入福尔马林溶液中进行样本固定, 10%缓冲中性福尔马林(甲醛)液固定 24—48h。随后用流水冲洗, 大块组织一般冲洗 24 小时, 小块组织一般冲洗 2—10 小时。

3) 石蜡包埋:

① **脱水**, 在有盖瓶中, 从 30%乙醇开始, 经过 50%、70%、80%、95%、100%至完全脱水。一般各级乙醇中放置 45min 到 1h;

② **透明**, 组织块先经纯乙醇与二甲苯的等体积混合液, 再进入纯二甲苯。透明时间应由组织大小而定, 一般各级停留时间在 30min 至 2h, 在纯二甲苯中应更换 2 次, 总时间则以不超过 3h 为宜;

③ **浸蜡**, 恒温箱中进行, 温度调节至高于石蜡熔点 3 度, 使经过透明的组织块依次用石蜡与二甲苯的等量混合液、纯石蜡处理。纯石蜡应处理 2~3 次, 透蜡的时间依材料性质而定, 一般每次需 15~30min。

④ **组织包埋**, 准备好纸盒, 将熔蜡倒入盒内, 迅速用预温的镊子夹取组织块平放在纸盒底部, 切面朝下, 再轻轻提起纸盒, 平放在冷水中, 待表面石蜡凝固后立即将纸盒按入水中, 使其迅速冷却凝固, 30min 后取出。

4.4.2 样本储存

组织样本固定和包埋之后，FFPE 样品应在 4°C 或者常温下保存。

4.4.2 样品寄送

样品保存相同条件，安排寄送。

4.4.4 注意事项

- ① 样本取材建议取活组织块；
- ② 最佳组织大小：长宽小于 6.5mm，厚度不超过 2mm，石蜡包埋完全，切片 5 μ m；
- ③ 组织固定时间 24-48 小时；
- ④ 福尔马林与组织的比例至少应为 10:1，较大组织切片应当切割后固定；
- ⑤ 确保浸蜡之前，样本完全脱水；

五、阴性对照样本的设置

5.1 对照组的重要性^[1]

微生物组研究的结果可能会受到多种因素的影响，例如 DNA 提取试剂盒、采样方法、污染和测序方法等^[2]，不过可以通过使用阴性和阳性对照来减少这些影响。尤其在医学研究中，**当样本的微生物含量较低时，使用对照对于准确认识微生物组非常重要。**比如以前的研究发现，过去被认为是无菌的标本（例如胎盘和关节液）可能会被微生物定植^[3]。但是，这些阳性的结果可能是由其他因素导致的，例如污染。在后续研究中采用阴性和/或阳性对照后又被证明是无菌的^[4]。因此，我们建议**当样本为低生物含量样本**（例如血液、羊水、脑脊液、关节液和胎盘等）时，应考虑使用阴性和阳性对照。**基于 5R 16S 微生物多样性技术搭载配套的分析 and 严谨的背景污染微生物过滤流程，可实现对取样、提取、扩增过程中引入的污染物 DNA 序列信息进行有效过滤^[6-8]。**

5.2 如何设置阴性对照^[2]

在取样、DNA 抽提和 PCR 扩增这三个环节分别设置阴性对照：

1、取样环节

1.1 常规样本

① 排除取样环境的污染：设置 5 个空管对照，在空气中暴露与取样时相同的时间；

② 排除取样仪器和操作的污染：设置 5 个空管对照，用少量无菌水冲洗取样的无菌仪器，或用无菌拭子擦拭取样时样本会接触到的台面等。

注：①② 都属于取样环节的阴性对照，若不具体关注在取样的哪个环节有污染，则 ①② 可合并。

1.2 FFPE 样本

如果样本是 FFPE 样本，在采样时，需要同时取包埋组织样本的纯石蜡部分作为阴性对照，以消除在样本制备、保存和运输过程中引入的污染。

FFPE 样本：设置 5 个阴性对照，从包埋组织的石蜡块边缘切取石蜡，注意只切取石蜡，不包含包埋的组织样本，取样后放入无菌离心管中，与样本一同保存寄送。

2、DNA 抽提过程：设置 5 个空管对照（后续基于无菌水作为模板进行抽提）。

3、PCR 扩增过程：设置 5 个空管对照（后续基于无菌水作为模板进行扩增）。

注：2 和 3 步骤的阴性对照，联系销售人员在信息单中添加备注，由我公司在实验过程中设置；若样本已提前取好，无法再次设置取样环节阴性对照，只能设置 2 和 3 步骤的阴性对照。

5.3 数据处理

为减少极低丰度水平下的噪声变化对后续分析的影响, 先对数据进行标准化处理, 剔除序列数1000以下和相对丰度低于 10^{-4} 的样本。之后对阴性对照样本中出现的污染物进行鉴定, 设定超过7.5%的DNA/PCR阴性对照或超过7.5%的采样空白对照中普遍存在的物种被认定为污染微生物^[6], 再进一步分别对DNA提取批次和PCR扩增批次过程中的污染物进行分步过滤, 流程参考: TMB: TMB for Science publication, version science_pub, Zenodo (2020); <http://doi.org/10.5281/zenodo.3740536>.^[8]。

参考文献

- [1] Qian X B , Chen T , Xu Y P , et al. A guide to human microbiome research: study design, sample collection, and bioinformatics analysis[J]. Chinese Medical Journal, 2020, 133.
- [2] Eisenhofer R , Minich J J , Marotz C , et al. Contamination in Low Microbial Biomass Microbiome Studies: Issues and Recommendations[J]. Trends in Microbiology, 2018.
- [3] Aagaard K , Ma J , Antony K M , et al. The Placenta Harbors a Unique Microbiome[J]. Science Translational Medicine, 2014, 6.
- [4] Goffau M C D , Susanne L , µlla S , et al. Human placenta has no microbiome but can contain potential pathogens[J]. Nature, 2020, 2019 年 572 卷 7769 期:329-334 页.
- [5] Nicole, M, Davis, et al. Simple statistical identification and removal of contaminant sequences in marker-gene and metagenomics data.[J]. Microbiome, 2018.
- [6] Deborah Nejman et al., The human tumor microbiome is composed of tumor type-specific intracellular acteria. Science 368, 973-980 (2020).
- [7] Fuks, G., Elgart, M., Amir, A. et al. Combining 16S rRNA gene variable regions enables high-resolution microbial community profiling. Microbiome 6, 17 (2018).
- [8] I. Livyatan, ilivyatan/TMB: TMB for Science publication, version science_pub, Zenodo (2020); <http://doi.org/10.5281/zenodo.3740536>.

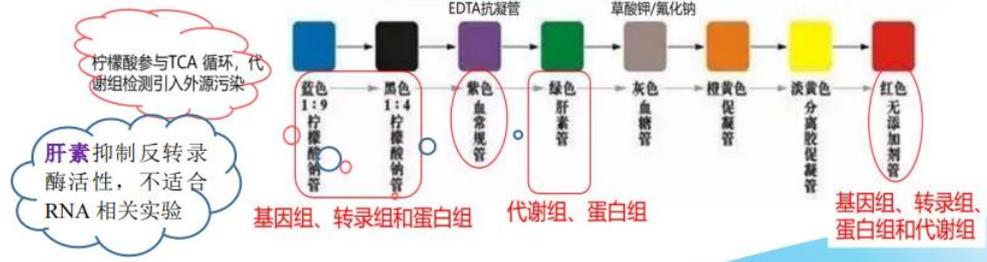
附录1 各种采血管帽的颜色及其对应添加剂、适用场景

序号	安全帽	真空采血管	颠倒混匀次数
1		血液培养试管	8-10 次
2		柠檬酸钠试管	3-4 次
3		无添加剂试管/促凝剂试管	5 次 (塑料) 0 次 (玻璃)
4		肝素试管	8-10 次
5		EDTA试管	8-10 次
6		草酸钾/氟化钠试管	8-10 次

各种采血管外形和特点参见下方图片和表格



基因组、转录组
蛋白组和代谢组



附录2 常见大小鼠品系

品系 参数		体重 (g)	特点	用途
小鼠	C57BL/6	~30	“标准”近交系，品系稳定； 抵抗力强，容易饲养；黑色	肿瘤学、生理学、免疫学、遗传学 研究常用品系
	BALB/c	~25	免疫缺陷，致癌敏感； 性情温顺，易于饲养	肿瘤和免疫学研究常用品系
	BALB/c Nude	~20	无胸腺，T细胞免疫缺陷， 无移植排斥反应；无毛	免疫、肿瘤、疾病机理研究
	ICR	~30	体格强壮，适应性强； 繁殖力强，生长迅速	生理、安全性实验、胚胎学研究等
	KM (昆明鼠)	~30	抗病，适应性强； 高产，价格便宜	生理、安全性实验
大鼠	SD	300-400	Wistar大鼠衍生，发育快速；抵 抗力强，较为凶猛	广泛应用于医药、生物学、营养学 和毒理学等领域研究
	F344	250-350	免疫反应减低； 肿瘤发病率高	多用于毒理学、肿瘤学、生理学等 领域研究
	Nude Rat	250-350	无胸腺，免疫低下； 裸基因，毛色杂	皮肤癌、中枢神经肿瘤、整形外科 研究等