

微生物 FISH 检测样本取样建议

一、人/动物组织/肿瘤新鲜样本

1. 新鲜组织/肿瘤样本，推荐分割后，OCT 包埋干冰寄送（推荐）

取样要求：优先选取感染灶、肿瘤组织等目标区域，用无菌器械分割为 $\leq 15\text{mm} \times 15\text{mm} \times 3\text{mm}$ （最大不超 4mm）的组织块，避免过度挤压变形。

寄送前处理方式：离体组织立即用 4℃ 预冷生理盐水或 PBS 缓冲液冲洗，去除表面血液杂质。使用无菌吸水纸吸干表面水分。然后用无菌手术刀或组织切片刀将组织切割成符合取样要求的组织块，确保切割面平整。使用少量 OCT 进行包埋处理，将 OCT 均匀涂抹在模具内，将组织块放入模具中，使组织块完全被 OCT 包裹，并注意组织块的朝向，确保后续切片时能获得理想的切面。在 30min 内将包埋好的组织块用液氮或异戊烷速冻，防止冰晶形成。速冻后的组织块放入预冷冻存管中，于-80℃冰箱或液氮中冻存。

微基生物提供样本预处理 OCT 包埋试剂试剂盒，提供冰冻切片制片服务。

运输条件：新鲜组织/肿瘤样本（未固定，已包埋），采用干冰运输。

2. 客户也可自行切片后寄送

（1）冰冻包埋切片

样本要求：4-6 张（预实验 2-3 张，正式实验 2-3 张），厚度 4-10 μm ，切片要平整且完整贴附在载玻片上，OCT 包埋组织无气泡。-80℃冰箱冻存，存放 ≤ 3 个月，以防止切片中的核酸降解或组织结构发生变化。

运输条件：寄送冰冻包埋切片（OCT 包埋），采用干冰运输。

（2）石蜡包埋切片

样本要求：4-6 张白片，厚度 4-5 μm ，切片要平整、无皱褶、撕裂或气泡，目标区域完整。存放 ≤ 6 个月，避免因长时间存放导致脱蜡困难，影响后续检测。

运输条件：寄送石蜡包埋切片样本，采用常温运输，将切片放入专用切片盒内，盒内填充纸团防震，确保运输过程中切片不受挤压和损坏。

二、植物根系样本

1. 固定后根系样本（推荐）

样本要求：选取根茎直径 $>1\text{mm}$ 根系，用无菌剪刀剪至 5-10mm 的小段。

寄送前处理方式：无菌水轻洗去除土壤，剪至符合要求的长度后，立即放入 4%多聚甲醛固定液（pH7.2-7.4，4℃，12h），固定过程中确保根系完全浸没在固定液中。固定后用 1×PBS 冲洗根系 3 次，每次冲洗时间 5-10 分钟，以去除残留的固定液。然后将根系转入 2ml 离心管，放入-80℃冰箱中冻存。存放时间 ≤ 3 个月。

微基生物提供冰冻切片制片服务。

运输条件：寄送固定液处理后的植物根系样本，采用干冰运输。

2. 客户也可自行切片后寄送

（1）冰冻包埋切片

样本要求：4-6 张切片，厚度为 4-10 μm ，切片要平整无皱褶，完整保留根系区域。

运输与储存：切好的冰冻包埋切片在-80℃下冻存，存放时长 $\leq$ 3 个月，采用干冰运输。

（2）石蜡包埋切片

样本要求：4-6 张切片，厚度为 4-5 μm ，切片要平整无皱褶，完整保留根系区域。

运输与储存：存放 $\leq$ 6 个月，常温运输，切片放入专用切片盒内，盒内填充纸团防震。

三、细菌样本（菌体、菌液）

样本要求：提供一定体积的菌液或菌体悬浊液，离心后肉眼可见沉淀，建议菌湿重 5mg 以上。混合菌液或不确定是否含有目标菌的样本，建议同时寄送目标菌作阳性对照。

寄送前处理方式：菌体样本用无菌生理盐水洗涤 2-3 次，每次加无菌生理盐水后，以 4000rpm 离心 5min，然后弃去上清液收集菌体；取菌液样本适量，5000rpm 离心 10min，弃上清，沉淀用 1×PBS 洗涤 3 次去除培养基残留。洗涤后的菌体或菌液沉淀，采用终浓度 15%-25%甘油重悬，用无菌冻存管装后-80℃冰箱中冻存。

运输与储存：寄送细菌样本（菌体、菌液，含适当保护剂），采用干冰运输。

四、微生物 FISH 与免疫荧光（IF）联合检测

FISH+IF 联合检测服务需提供相关抗体（尤其是一抗）。样本**优先推荐冰冻切片**，因其能更好地保留组织抗原性，IF 荧光信号更清晰且背景更低；石蜡切片因固定、脱水等处理易导致 IF 荧光背景较高，可能影响检测结果，如需使用请谨慎评估。

五、注意事项

1. 所有样本的采集和处理过程均应在无菌条件下进行，避免外界微生物污染。
2. 所有样本需保证新鲜度，采集后应立即处理；固定液、悬浮液及样本储存环境严禁冷冻结冰，避免因冰晶形成导致细胞结构破坏或核酸降解。
3. 样本容器应标记清晰，注明样本名称、采集时间、处理方式等信息。
4. 不同类型的样本应分开处理和运输，避免交叉污染。
5. 在运输过程中，应确保样本容器密封良好，防止样本泄漏。

FISH 检测优选类型为冰冻切片，组织不经高温石蜡包埋处理，避免了核酸（尤其是 RNA）的化学交联、片段化和降解，且组织背景较为干净，FISH 荧光信号更清晰。