ICS 65.020.30
CCS B 44

T/YALAS

云南省实验动物学会团体标准

T/YALAS 001.2—2025

非人灵长类生物样本
第2部分：处理与保存

Non-human primate biological Sample Part 2：Preparation and preservation

2025 - 08 - 13 发布　　2025 - 08 - 18 实施

云南省实验动物学会　　发布

目　　次

前　　言 III
引　　言 IV
1 范围 1
2 规范性引用文件 1
3 术语和定义 1
4 总则 2
5 处理与保存工作准备 2
5.1 人员要求 2
5.2 仪器和试剂耗材准备 2
5.3 设施准备 2
5.3.1 场地要求 2
5.3.2 供电保障 2
5.3.3 温湿度要求 2
5.4 处理与保存要求 2
6 样本处理 3
6.1 组织处理 3
6.1.1 快速冷冻 3
6.1.2 组织 RNA 保存液（RNA later）处理 3
6.1.3 组织 OCT 包埋 3
6.1.4 石蜡包埋 3
6.2 血液处理 3
6.2.1 全血 3
6.2.2 血清 3
6.2.3 血浆 4
6.2.4 白膜层 4
6.2.5 血凝块 4
6.2.6 外周血单个核细胞 4
6.3 尿液处理 4
6.3.1 全尿 4
6.3.2 尿上清 4
6.3.3 尿沉渣 4
6.4 核酸处理 4
6.4.1 DNA 4
6.4.2 RNA 4
6.5 细胞处理 5
6.6 蛋白质处理 5

7 样本保存 5
7.1 组织保存 5
7.2 血液保存 5
7.3 尿液保存 5
7.4 核酸保存 5
7.5 细胞保存 5
7.6 蛋白质保存 6
8 档案管理 6

云南省实验动物学会
Yunnan Association for Laboratory Animal Sciences

前　言

T/YALAS 001《非人灵长类生物样本》分为三个部分：

——第 1 部分：采集与保存；

——第 2 部分：处理与保存；

——第 3 部分：质量控制。

本部分为 T/YALAS 001 的第 2 部分。

本文件按照 GB/T 1.1-2020《标准化工作导则 第 1 部分：标准化文件的结构和起草规则》的规定起草。

请注意本文件的某些内容可能涉及专利。本文件的发布机构不承担识别专利的责任。

本文件由中国科学院昆明动物研究所提出。

本文件由云南省实验动物学会（YALAS）归口。

本文件主要起草单位：中国科学院昆明动物研究所、云南省实验动物学会、中国食品药品检定研究院。

本文件主要起草人：吕龙宝、李倩、张飞燕、马宝旭、肖文娴、李乙江、胡英周、贺争鸣、孙玉林、王文超、张玉华、段何仙、李瑞、周梦、肖柃伶、陈俊杰。

引　言

以标准化的方式进行非人灵长类生物样本的采集、处理、保存及质量控制是正确使用和共享非人灵长类生物样本的根本保证。通过建立一套非人灵长类生物样本标准体系，提升非人灵长类样本质量与其利用率，为非人灵长类样本资源的共享使用奠定基础。

T/YALAS 001《非人灵长类生物样本》由以下部分组成：

——第 1 部分：采集与保存。本部分规定了非人灵长类样本的采集与保存总则、采集与保存工作准备、样本采集、样本运输、样本保存和档案管理。

——第 2 部分：处理与保存。本部分规定了非人灵长类生物样本的处理与保存总则、处理与保存工作准备、样本处理、样本保存和档案管理。

——第 3 部分：质量控制。本部分规定了非人灵长类生物样本入库后的质量控制要求、质量检测方法及检测规则。

云南省实验动物学会 Yunnan Association for Laboratory Animal Sciences

非人灵长类生物样本
第 2 部分：处理与保存

1 范围

本文规定了非人灵长类生物样本的处理与保存总则、处理与保存工作准备、样本处理、样本保存和档案管理。

本文件适用于非人灵长类组织、血液、尿液生物样本的处理与保存，也适用于从生物样本中获取核酸、细胞、蛋白质生物分子的处理与保存。

2 规范性引用文件

下列文件中的内容通过文中的规范性引用而构成本文件必不可少的条款。其中，注日期的引用文件，仅该日期对应的版本适用于本文件；不注日期的引用文件，其最新版本（包括所有的修改单）适用于本文件。

GB 19489 实验室生物安全通用要求

GB/T 7408 数据元和交换格式 信息交换 日期和时间表示法

GB/T 32843 科技资源标识

GB/T 37864 生物样本库质量和能力通用要求

GB/Z 44314 生物技术 生物样本保藏 动物生物样本保藏要求

DB11/T 1291 卫生应急一次性防护用品使用规范

3 术语和定义

下列术语和定义适用于本文件。

3.1

非人灵长类生物样本 Non-human primate biological sample

从非人灵长类个体获得或衍生的任意物质。主要包括组织（器官）、血液、尿液、粪便、脑脊液、骨髓等。

3.2

资源标识 resource identifier

用一组字符对资源进行唯一性标识的过程，用于识别、定位或提供其它信息。

3.3

细胞重悬 cell resuspension

用培养液将离心得到的细胞重新悬浮起来。

3.4

OCT 包埋 OCT embedding

将组织浸透在 OCT 包埋剂中，从而较完好地保存多种抗原的免疫活性。

3.5

石蜡包埋 paraffin embedding

将固定的组织块经脱水和透明后，浸入熔化的石蜡中进行包埋的过程。

4 总则

生物样本处理与保存遵循科学、专业、规范的原则：

a) 应通过动物福利伦理审查；
b) 制定处理与保存方案，并明确工作流程及人员职责；
c) 工作人员应做好安全防护，处理和保存感染性样本按 GB 19489 执行；
d) 生物样本需有资源标识标记；
e) 记录生物样本处理、保存日期和时间等相关信息。日期和时间的记录格式按照 GB/T7408 执行。

5 处理与保存工作准备

5.1 人员要求

5.1.1 应接受样本规范处理、保存的技术培训，掌握生物样本处理、保存方法。

5.1.2 工作人员处理、保存样本应规范使用防护用品，防护用品使用参照 DB11/ T 1291 执行。

5.2 仪器和试剂耗材准备

仪器、试剂和耗材准备，包括但不限于：

a) 个人防护用品；
b) 信息记录工具；
c) 设备、器具；
d) 耗材；
e) 试剂。

5.3 设施准备

5.3.1 场地要求

生物样本宜设置生物样本库专用场所处理和保存。

5.3.2 供电保障

生物样本储存库应配备双电路供电系统和/或不间断供电电源。

5.3.3 温湿度要求

生物样本存储库环境温度宜控制在 16℃～22℃、湿度 30%～60%。

5.4 处理与保存要求

生物样本处理与保存的要求，包括但不限于：

a) 处理与保存的目的、意义；
b) 生物样本的名称及数量；
c) 处理与保存的类型，包括组织、血液、尿液、核酸、细胞、蛋白质等；
d) 处理和分装的方法、样本体积、分装量等；
e) 具备适宜生物样本处理与保存的环境、容器等条件；
f) 应有处理与保存应急措施，包括人员安全、样本保护、设备及环境控制等。

6 样本处理

6.1 组织处理

6.1.1 快速冷冻

6.1.1.1 组织宜在离开动物体 30 min 内完成处理。
6.1.1.2 切割组织大小宜小于 0.5 cm×0.5 cm×0.5 cm，也可依据样本类型进行适当调整大小。
6.1.1.3 切割处理分装至冻存管，每管不少于 3 份，经液氮速冻 15 min，再转移至 -80℃冰箱或液氮罐冷冻保存。

6.1.2 组织 RNA 保存液（RNA later）处理

6.1.2.1 切割组织大小宜小于 0.5 cm×0.5 cm×0.5 cm。
6.1.2.2 组织排出水分后，及时分装放置于 5 倍~10 倍样本体积 RNA 保存液的冻存管中，组织应完全浸泡于保存液中。

6.1.3 组织 OCT 包埋

6.1.3.1 切割组织大小宜小于 0.5 cm×0.5 cm×0.5 cm。
6.1.3.2 使用 OCT 包埋模具处理。

6.1.4 石蜡包埋

6.1.4.1 切割组织大小宜小于 1.5 cm×1.5 cm×0.3 cm。
6.1.4.2 宜使用 10%中性缓冲福尔马林或 4%多聚甲醛固定液固定 12 h～48 h。
6.1.4.3 组织经脱水机进行脱水、透明、浸蜡处理后转移至包埋机处理。
6.1.4.4 组织宜切面朝下放入相应尺寸的包埋模具后注入液蜡至凝固后，将蜡块脱模并修整多余石蜡至形状规则。

6.2 血液处理

6.2.1 全血

6.2.1.1 采集的全血直接分装，每管应不少于单次检测量。
6.2.1.2 用于免疫细胞检验和研究的全血，室温暂存，应在 24 h 内完成处理。

6.2.2 血清

6.2.2.1 将全血或含促凝剂、分离胶的血液，在室温静置 30 min~ 60 min，离心力 2000 g~3000 g、室温离心 10 min，取上清。

6.2.2.2　分装至 EP 管或冻存管，每管应不少于单次检测量。

6.2.3　血浆

6.2.3.1　抗凝血液经离心力 2000 g~3000 g，室温离心 10 min，获取上层血浆。
6.2.3.2　分装至 EP 管或冻存管，每管应不少于单次检测量。

6.2.4　白膜层

6.2.4.1　在吸出血浆后，吸取白膜层。
6.2.4.2　分装至 EP 管或冻存管，每管应不少于单次检测量。

6.2.5　血凝块

6.2.5.1　吸出血清和白膜层后，使用移液枪或一次性巴氏吸管将底层血凝块捣碎。
6.2.5.2　分装至 EP 管或冻存管，每管应不少于单次检测量。

6.2.6　外周血单个核细胞

6.2.6.1　宜使用密度梯度离心法或常规分离法获外周血单个核细胞。
6.2.6.2　分装至冻存管中，每管宜 0.5 mL ~1 mL。

6.3　尿液处理

6.3.1　全尿

尿液可直接分装储存，每管宜 1 mL。

6.3.2　尿上清

6.3.2.1　全尿样本在 4℃条件，离心力 300 g~500 g，离心 5 min ~10 min，取尿上清分装后储存。
6.3.2.2　每管分装量宜 1 mL。

6.3.3　尿沉渣

6.3.3.1　尿液经过离心后形成的沉渣，使用一次性吸管或移液器将底部尿沉渣吹打混匀，可选择合适的添加试剂混匀分装冻存。
6.3.3.2　每管分装宜 0.2 mL ~ 0.5 mL。

6.4　核酸处理

6.4.1　DNA

6.4.1.1　血液、组织、细胞、尿液等样本，经适宜的方法裂解后，可手工提取或全自动核酸提取纯化仪分离纯化 DNA。
6.4.1.2　操作宜在 4℃或冰上进行。
6.4.1.3　每管分装宜不少于 20 uL。

6.4.2　RNA

6.4.2.1　血液、组织、细胞、尿液等样本，经适宜的方法裂解后，可手工提取或全自动核酸提取纯化仪分离纯化 RNA。
6.4.2.2　操作宜在 4℃或冰上进行。
6.4.2.3　每管分装宜不少于 20 uL。

6.5　细胞处理

6.5.1　宜选用机械法、酶解法、依次或同时使用机械法和酶解法解离细胞。
6.5.2　细胞密度≥85%时，用胰蛋白酶消化至细胞变圆并出现空隙，轻拍使细胞脱落后用含血清培养基终止消化，经 150 g ~ 300 g 离心 5 min 后弃上清，用完全培养基重悬并分装培养。
6.5.3　用于冻存的细胞宜分装至无菌冻存管，每管分装量宜 0.5 mL ~ 1.5 mL。

6.6　蛋白质处理

6.6.1　血液、组织、细胞、尿液等样本，经适宜的方法裂解后，4℃条件下，离心力 12000 g ~ 15000 g，离心 10 min ~20 min，取上清。
6.6.2　操作宜在 4℃或冰上进行。
6.6.3　每管分装量宜不少于 50 uL。

7　样本保存

7.1　组织保存

7.1.1　冷冻组织经液氮速冻后转移至-80 ℃冰箱或液氮罐中冷冻保存。
7.1.2　RNA later 处理置于 2℃~8℃冰箱暂存 12 h，再转移至 -80℃ 冰箱或液氮罐中冷冻保存。
7.1.3　OCT 包埋组织经液氮速冻至包埋剂与组织冻结成白色冰体后，转移至- 80℃冰箱或液氮罐中冷冻保存。
7.1.4　石蜡包埋组织室温或 2℃~ 8℃冷藏保存。

7.2　血液保存

7.2.1　室温保存血清、血浆不宜超过 8 h。
7.2.2　2℃~ 8℃冷藏保存不宜超过 48 h。
7.2.3　长期保存的全血、血浆、血清、血凝块样本，应放置 -80℃ 冰箱或液氮罐中冷冻保存。

7.3　尿液保存

7.3.1　2℃~ 8℃冷藏保存全尿、尿沉渣不宜超过 24 h、尿上清保存不宜超过 48 h。
7.3.2　需长期保存的全尿、尿上清、尿沉渣样本应放置于 -80℃冰箱或液氮罐中冷冻保存。

7.4　核酸保存

核酸样本放置于-80℃冰箱或液氮罐内冷冻保存。

7.5　细胞保存

细胞冻存管中加入适量的细胞冻存液，放置-80℃冰箱中进行梯度降温 24 h，再移至-80℃冰箱或液氮罐中冷冻保存。

7.6 蛋白质保存

蛋白质样本放置于 -80℃冰箱或液氮罐中冷冻保存。

8 档案管理

生物样本处理和保存过程中应记录包括但不限于动物物种名称，样本名称、类型、份量、体积、份数、日期、保存条件、处理人员、核对人员等信息，建立纸质或电子档案，并分类归档管理。

云南省实验动物学会 Yunnan Association for Laboratory Animal Sciences