



DNA 项目样品准备、储存及运输指南 目录

1. 样本准备前注意事项.....	2
1.1 取样的代表性.....	2
1.2 取样的准确性.....	2
1.3 取样的重复性.....	2
1.4 取样的及时性.....	2
1.5 取样的低温性.....	3
2. 样本准备与保存方法.....	4
2.1 常规样品准备、保存及运送方式.....	4
2.1.1 植物组织.....	4
2.1.2 动物组织.....	4
2.1.3 细胞.....	5
2.1.4 全血样本.....	5
2.1.5 酵母菌.....	6
2.1.6 细菌.....	6
2.1.7 真菌.....	6
2.1.8 核酸样本.....	7
2.2 固定剂保存法与运输.....	7
2.2.1 乙醇保存.....	7
2.3 环境样品准备与低温冷冻保存及运输.....	8
2.3.1 土壤样本.....	8
2.3.2 淤泥样品.....	8
2.3.3 水体样品.....	8
2.3.4 物体表面微生物样品.....	9
2.3.5 粪便样品.....	10
2.3.6 肠道内容物样品.....	10
2.3.7 组织内微生物样品.....	10
3. 包装、运输等注意事项.....	11
3.1 样品命名、包装、标识.....	11
3.1.1 样品命名.....	11
3.1.2 样品包装.....	11
3.1.3 样品标识.....	11



3.2 送样量.....	12
3.2.1 组织送样量.....	12
3.2.2 DNA 送样量.....	12
4. 样品不足、浓度过低、降解、存在杂质等可能存在的风险及建议.....	13
4.1 总量不足或浓度过低存在风险.....	13
4.2 降解样品（尤其基因组样品）.....	13
4.3 杂质污染样品.....	14
4.4 PCR 产物.....	14
5. 采样指导补充.....	13

1. 样本准备前注意事项

1.1 取样的代表性

所采集的样本应该通过严格的细胞学、组织学、病理学等相关鉴定，因为这关系到实验最终结果是否具有科学意义所以客户须根据实验目的设计相关科学 取样方案和取样步骤。

1.2 取样的准确性

正常组织样本中不能含有病变组织，而病理组织样本中也不可以夹带有正常 组织。在条件允许的前提下，争取做到实验组与对照组的样本在取材时间、部位、 处理条件等方面尽可能保持一致，否则可能会影响实验结果的重复性和可信度。 代表性样本的各种特征数据必须被准确记录，并按要求（低温、迅速）采集、制备、贮存、运输进行实验处理。

1.3 取样的重复性

生物学重复的取样应尽量减少重复间样品的差异。在条件允许的前提下，做到重复样本在取材时间、部位、 处理条件等方面尽可能保持一致，可以使用同一个体的作为重复的尽量选用同一个体，不能使用同一个体的应保证父母本、雌雄（性别）、年龄相同，否则可能会影响实验结果的重复性和可信度。

1.4 取样的及时性

样本质量是影响实验结果的最关键因素，因此用于研究的实验样本，在采集、 贮存、运输



和制备的过程中尽可能地做到迅速，最大限度的缩短从样本采集到实验的时间。

1.5 取样的低温性

所取样本离体后，经快速清洗和标记等处理后，应立即投入液氮中速冻至少 3 h，之后保存于-80 °C 冰箱或者干冰中，确保在实验操作前样品始终处于-80 °C，以避免 DNA 的降解

2. 样本准备与保存方法

2.1 常规样品准备、保存及运送方式

2.1.1 植物组织

由于老叶或其它组织 DNA 含量可能较低，而次生代谢物含量一般相对较高，因此，为降低 DNA 提取难度并减少污染物干扰，请尽量选择健康、幼嫩的叶片组织；不建议选择易带有寄生或共生生物的组织，以及不易清洗和研磨的根、茎等组织致密的器官，新鲜组织样采样流程如下：

1) 用 70%酒精将材料表面的灰尘及泥土冲洗干净，吸干，再从植物体上取下新鲜组织

*注：如果是需要进行处理，请在活体上进行处理后再取样。

2) 如果组织体积较大，应尽量将组织剪切成小块；

3) 将处理好的组织样本混合均匀后保存于 2 mL 或更大体积的**旋盖冻存管**中；并标注编号。

4) 迅速置于液氮中冷冻 3~4 h，然后按照顺序依次放入样品盒或者按照一定的规律（例如 1-10,11-20 等）装于自封袋中，转移至-80 °C 长期保存（禁止乱放，尤其是项目中样品个数较多时）；

5) 运送方式：干冰运输。

*注：

①一定不要使用自封袋常温寄送非干燥组织样，天气炎热，高温下组织样易腐烂变质，易产生霉菌，导致提取的核酸中混有污染物种的核酸或提取失败，影响公司成本的同时给客户造成不好的影响。干燥样品使用纸质袋装样，在外包装自封袋中可以统一装硅胶干燥颗粒。

2.1.2 动物组织

1) 活体取下新鲜组织（肌肉、肝脏或其他组织，避免用易于寄生微生物的表皮和肠道、可能有变异细胞的病变组织），立即剔除结缔组织和脂肪组织等非研究所需的组织类

型。对肿瘤组织的取材，应尽可能准确地判定肿瘤和正常组织，肿瘤组织应将周围的正常组织切除干净（正常组织也应将周围的肿瘤组织切除干净）；

如果是昆虫样本，建议进行表面微生物的清洗，较大个体的尽量选取不带肠道部分的组织，对于较小个体只能用整个个体的，建议进行适当的饥饿处理（但需注意保证昆虫的活性）。

- 2) 迅速用预冷的 PBS 溶液（RNase free）或 0.9%生理盐水将组织表面的残留血液冲洗干净
- 3) 如果组织体积较大，应尽量将组织切成长宽高均 ≤ 0.5 cm 的小块（即黄豆大小）
- 4) 将冻处理好的组织样本混合均匀后保存于旋盖的存管中
- 5) 迅速置于液氮中冷冻 3~4 h，然后转移至 -80°C 长期保存
- 6) 运送方式：干冰运输。

注：整个样品收集过程保证样品断血后半小时内完成样品制备

2.1.3 细胞

一次提取反应所需细胞数 $\leq 1 \times 10^7$ 个，以 3×10^6 - 1×10^7 个为宜，可以将细胞经裂解液裂解后冻存运输。

- 1) 从培养箱中取出贴壁培养的细胞或悬浮培养的细胞，显微镜下观察细胞，确定生长状态良好（正常细胞 confluence 在 80 %左右）
- 2) 弃去培养基，用 PBS 缓冲液快速洗一次，除去 PBS 缓冲液，贴壁细胞可用细胞刮将其刮下
- 3) 收集的细胞转入 1.5 mL 的 EP 管中用液氮速冻后置于 -80°C 保存，一管装一次提取的量，可以将备份样品单独装，禁止将一个样品多次提取的细胞装到一个管中
- 4) 干冰运输

注：由于细胞量少，干冰运输务必保证细胞处于冷冻环境，防止环境温度增加细胞降解；同时因样本少易降解，务必备注信息单微量样本液氮交接

2.1.4 全血样本

- 1) 用医用抗凝管或已装有抗凝剂（选用柠檬酸钠或 EDTA 抗凝剂，不可用肝素）的旋盖管收集全血样本

2) 上下轻轻颠倒混匀十次后，转移至-20 或-80 °C 长期保存（实际根据采血管的说明要求操作）

3) 干冰运输

注：①血液采集管请尽量不要用需专门对应提取试剂盒的采血管，以防送样后我们因无对应试剂盒影响提取时间（尽量送样前沟通）

②采集完血液之后需将血液转移至 EP 管中，玻璃材质采血管冷冻之后易碎

2.1.5 酵母菌

一次反应所需酵母菌的量需 $\leq 1 \times 10^7$ 个，以 5×10^6 - 1×10^7 个为宜。单次送样量满足 3 次以上提取，建议分装送样，每管满足一次提取量。

1) 显微镜下观察酵母菌生长状态，收集对数期的酵母菌

2) 将适量体积的酵母菌液转移至将 2 mL 旋盖尖底离心管（无菌，无核酸酶）中，于室温下 $14000 \times g$ 离心 1 min

3) 弃尽培养基，将酵母细胞沉淀迅速置于液氮中冷冻 3~4 h，然后转移至-80 °C 或液氮中长期保存，一管装一次提取的量，多次提取分开装

4) 干冰运输

2.1.6 细菌

1) 显微镜下观察细菌生长状态，收集对数期的细菌

2) 将适量体积的菌液转移至 2 mL 旋盖尖底离心管（无菌，无核酸酶）中，于室温下 $14000 \times g$ 离心 1 min

3) 弃尽培养基，将细菌沉淀迅速置于液氮中冷冻 3~4h，然后转移至-80 °C 或液氮中长期保存，一管装一次提取的量，多次提取分开装

4) 干冰运输

注：如果培养基去除不干净可再用 PBS 做一次清洗后再液氮速冻。

2.1.7 真菌

真菌样本在进行 DNA 提取前，需要进行称重，一次反应所需的真菌量为 50 mg（由于不同真菌得率差异较大，所以建议送样量尽量多或根据客户经验得率送满足 3 次的量）

- 1) 真菌取样方式以客户实验室经验操作即可，要求取样后到速冻前时间短，菌处于快速生长的活跃期
- 2) 将真菌称重
- 3) 将称重后的真菌置于预冷的离心管或冻存管中，迅速置于液氮中冷冻 3~4 h，-80 °C 长久保存
- 4) 干冰运输

2.1.8 核酸样本

- 1) 第一种方案是提取完成后的 DNA 溶液直接放入-20 °C 冰箱中进行保存；第二种方案是采用醋酸钠乙醇沉淀法沉淀 DNA，并且将样品直接放入-20 °C 冰箱中进行保存；第三种方案是向沉淀后的 DNA 固体中直接加入 1 mL75 %的无水乙醇，并且将样品直接放入-30 °C 冰箱中进行保存；第四种方案是提取完成后的 DNA 样品使用低温冷冻仪冷冻成干粉（可常温运输）

注：推荐用第一种方案

- 2) 样品运送前保存在-20 °C 冰箱
- 3) 干冰运输

2.2 固定剂保存法与运输

2.2.1 乙醇保存

将肌肉或肝脏组织切成小块，然后浸泡在无水乙醇中（组织块一定要切小，方便无水乙醇浸入组织块内部），或将小型昆虫直接浸泡在纯乙醇中。浸泡 1-2 小时后，换用新的纯乙醇浸泡。浸泡数天后，换用大体积的纯乙醇浸泡并贮藏于阴凉地方（最好是在冰箱-20 °C 或 4-8 °C 冷室中保存）。

昆虫类样本最好是使用液氮速冻干冰运输，无水乙醇送样时间较久之昆虫内部的如果条件不允许可以使用无水乙醇送样，送样要求同其它动物组织无水乙醇送样一样。有些提取时老师想剔除的部位，要求老师采集完组织样后直接剔除掉不用的组织后再送样！

*注：蜜蜂送样时尽量要求老师取胸部肌肉送样，整个蜜蜂送样提取的核酸状态大多数异常，影响后续实验。不建议送实验室剔除，因为组织速冻过之后再剔除会化冻，提取降解的可能性较大！

2.3 环境样品准备与低温冷冻保存及运输

2.3.1 土壤样本

- 1) 根据研究目的选择有代表性的取样地点及采样点
- 2) 除去土壤表层未分解的凋落物层，用已灭菌的刀或铲去除表层 5cm 的土壤，再用烧灼过的勺、铲或土壤取样器取样 10-25g，装于无菌离心管内，多点样本均匀混合（注意保留适当空间），标明采样地点，深度、日期等信息
- 3) 两天内常温或冰袋运送到实验室，除去动植物残体、石砾等杂质，将大块的样品捣碎，过 2mm 筛后，分装至 2mL 或更大体积的 EP 管或冻存管中；**每管土壤含量大概 0.25~0.5g，需保证送样量在 1~2g**，若土壤含微生物较少，需增加送样量
- 4) 未分装样本 4 °C 保存时间不要超过一个月，分装后样本-80°C 或液氮中长期保存
- 5) 运送方式：4 °C 保存样品冰袋运输，-80°C 或液氮干冰运输

*注：实验室没有过筛工具，老师需过筛后送样，如果送的组织样本中有植物残渣等，取样时会反馈并尽量避免但不能完全保证不取到植物残渣。

2.3.2 淤泥样品

- 1) 根据研究目的选择有代表性的取样地点及采样点
- 2) 采集污泥样品，放于无菌离心管或其它无菌容器中
- 3) 4 小时内常温带回实验室中分装至 2mL EP 管或冻存管中；或用 PBS 进行清洗，离心收集沉淀，分装于 2 mL 离心管中
- 4) 分装后样本-80°C 或液氮中长期保存
- 5) 干冰运输

2.3.3 水体样品

- 1) 根据研究目的选择有代表性的取样地点及采样点
- 2) 采用多点取样法取样，采样时不可搅动水底的沉积物；避免手指和其他物品对瓶口的沾污
- 3) 取样后 4 小时内（期间 4 °C 避光保存）真空抽滤、富集菌体（平行重复 样本可用同一滤膜过滤），或将水体采集后直接 4°C 12000rpm 离心 10min，弃上清，液氮速

冻后-80℃保存干冰运输。离心前可先观察水体中的生物是否丰富，水体中生物少的话取≥50ml 水体进行离心富集，水体中生物量较大的话可适量取 2-10ml 离心富集。

- 4) 带有富集菌体的干燥滤膜剪碎或折叠后保存在 2mL 或 5mL 无菌 EP 管中，-20℃或-80℃保存
- 5) 干冰运输

注意事项:

- A. 过滤大量低微生物含量的清亮水样用 0.22 μm 的聚苯醚砜滤膜 (Polyethersulfone)，每个样本至少 1L 水样。
- B. 浑浊水样使用 0.22 μm 滤膜过滤缓慢容易堵塞时，建议使用 0.45 μm 的混合纤维素酯滤膜 (膜醋酸纤维素、硝酸纤维素)；如水体中含有杀虫剂和除草剂，则避免使用这类滤膜；每个样本 0.5L-1L 水样，如有堵塞则将同一样本滤膜保存于一管。
- C. 如果水样中不可溶解的颗粒较多，需要使用 2-5 μm 孔径的滤膜将不可溶解的颗粒杂质滤去，再使用 0.22 μm 或 0.45 μm 的滤膜富集菌体；每个样本 0.5L-1L 水样，如有堵塞需则同一样本滤膜保存于一管。
- D. 如果研究的是病毒，则需先用 0.22 μm 滤膜把水中的细菌和其它大个头细胞过滤掉，再用带正电荷滤膜 (Virozorb 的 1MDS 或 NanoCeram 的 Virus Sampler cartridges) 富集病毒；每个样本 20L 水样。

2.3.4 物体表面微生物样品

- 1) 根据研究目的选择有代表性的取样地点及采样点
- 2) 采集样品: 1) 水果、植物根茎等表面微生物的可使用灭菌水反复冲洗后离心富集 (注意水果不要破坏掉水果表面，不然易将果汁等收集到样本中)；2) 皮肤等使用棉签反复刮擦大约 20-30 次后；放于无菌离心管或其它无菌容器中速冻后 80℃保存
- 3) 其它的一些表面微生物，采集样本后 4 小时内常温带回实验室中用 PBS 进行清洗，离心收集沉淀，分装于 2 mL 离心管中
- 4) 分装后样本-80℃或液氮中长期保存
- 5) 干冰运输

2.3.5 粪便样品

- 1) 戴上手套收集新鲜的粪便样品
- 2) 无菌牙签或粪便取样器截取样品中段内部（避免表层中的肠道膜脱落细胞），外部容易污染且细菌 DNA 由于接触空气可能有降解
- 3) 将已取的粪便样品分装至 2mL EP 管（无菌）或冻存管（无菌）中，每管粪便量为 0.5~2g，每个样品分装 2~3 管备份
- 4) 分装好后样本迅速放入液氮中速冻，之后放于-80℃或液氮中长期保存
- 5) 干冰运输

2.3.6 肠道内容物样品

- 1) 在实验对象死亡后，无菌条件下，取出整个肠道，用无菌解剖刀切取所需肠段的内容物。
- 2) 用无菌手术刀挖取内容物，并立即放在冰上进行分装及标记
- 3) 将已取的样品分装至 2mL EP 管（无菌）或冻存管（无菌）中，每管组织量为 0.5~2g，每个样品分装 2~3 管备份
- 4) 分装好后样本迅速放入液氮中速冻，之后放于-80℃或液氮中长期保存
- 5) 干冰运输

2.3.7 组织内微生物样品

- 1) 取新鲜组织样品，PBS 清洗表面微生物（植物根茎需清理掉表面土壤等杂物），使用无水乙醇擦拭
- 2) 组织切块、液氮速冻
- 3) -80℃或液氮中长期保存
- 4) 干冰运输

注：因组织内微生物含量很低，且很难进行富集，我们是按常规方法提取组织和菌全部核酸进行扩增。该类样本成功率较低。

3. 包装、运输等注意事项

3.1 样品命名、包装、标识

3.1.1 样品命名

样品名称请避免出现汉字，请采用字母和数字表示，长度控制在 8 个字符以内。

对于备用样品即同一个样品送的备份组织请务必在信息单中备注清楚

3.1.2 样品包装

从液氮或-80 °C 冰箱取出组织样品（建议用冻存管存放组织样品；若选用弹开式离心管放置样品，请确认已用 Parafilm 密封管口），请选用保温性好的泡沫盒（建议壁厚 2 公分以上）进行样品存放，准备大约 8~10 公斤块状干冰（干冰易挥发，具体用量可以向样品中心咨询），以提供低温的样品保存环境。

不同提取样本请务必分开包装，例 1 一株植物根、茎、叶均提取，在送样前务必将此 3 类组织分开包装；例 2，果肉和种子提取，请务必在样品液氮速冻前将种子和果肉分开包装速冻。

对于样品数量较多的项目为了尽快完成样品的交接入库工作请按名称或信息单中样品顺序按每 5-10 个样品的小包进行一个中包，最后将中包汇总成一个大包。

在选择与委托快递公司时，请事先确认预计送达的时间，并且应在运输过程中应随时跟踪货物的情况，您在记录运单号的同时请务必在《技术服务样品提交单》填写您的运单号，以便我们与您一起追踪样品的运输状态。

3.1.3 样品标识

请在每个样品管上清晰、简明地标记样品名称（采用质量较好的油性笔标记，并避免与乙醇等有机溶剂接触），请勿在锡纸包上直接标记或粘贴易脱落标签，避免后期低温保存时出现编号脱落或者编号不清，导致无法提取情况发生。样品管请用 Parafilm 封口。管上样品名称应与递交的信息单中的样品名称保持完全一致。

3.2 送样量

3.2.1 组织送样量

不同类型的样品 DNA 的产量差别较大，像人或哺乳动物的全血中红细胞没有细胞核，每毫升血液中实用细胞数少，DNA 得率比较低，送样量需相应增加，而鸟类或鱼类血液中红细胞含有细胞核，DNA 得率会增高，送样量可适当减少。含肌纤维细胞丰富的肌肉组织以及含糖多酚较高的复杂植物，DNA 得率会受到影响。

下表是我们根据提取经验汇总的不同类型组织需要的组织量，请根据此表送不低于对应类型的组织量，由于新鲜程度以及处理差异等导致的得率差异，该表可做为参考，实际需要量需根据试提取结果确定。

表 1 提取 DNA 的组织送样量

分析类型	SLAF	重测序	Exon	Met	三代测序
新鲜动物组织干重	0.5g	0.5~1g	1~2g	1~2g	以实际测序数据量和试提得率为准
新鲜植物组织干重	0.5-1g	1~2g	1~2g	1~2g	
全血	1.5ml	1.5ml	2ml	2ml	
菌体（干重）	1~2g	1~2g	1~2g	1~2g	

3.2.2 DNA 送样量

不同项目类型对 DNA 的浓度、纯度以及完整性的要求不同，详细请参考表 2

表 2 不同产品类型 DNA 样品送样要求

项目类型	样品状态	浓度 (ng/ul)	总量 (ug)	OD260/280	OD260/230	电泳	其他
SLAF	无色透明、体积不低于 15ul	50	2	1.6-2.5	-	主带可见，无严重蛋白或多糖污染	-
重测序		30	2	1.6-2.5	≥0.5	主带清晰，轻度降解，无蛋白、多糖及小片段污染，无	浓度为 Qubit 检测浓度
Exon		30	3	1.7-2.5	≥0.5		

Met		20	2	1.8-2.2	1.0-2.5	RNA 污染	
精细图		50	50	1.6-2.5	≥0.5		
三代 DNA		20	以测序量为准	1.6-2.3	1.5-2.5		浓度为 Qubit 检测浓度, 且 Qubit/Nanodrop 比值在 0.8~2.0 之间.

注：a. 以上指标均为检测完剩余量，所以实际提供量需高于此标准

b. 对于需要用 Qubit[®] 定量的样品，NanoDrop[™] 定量结果只会作为参考而不会用于总量计算，因为 NanoDrop[™] 是基于紫外吸收峰 OD 值进行定量，包括 DNA、RNA、蛋白质、盐离子或其他有机物质等在 260 nm 均有一定吸收值，容易造成读数偏高，所以 NanoDrop[™] 或分光光度计等浓度定量结果可能比 Qubit[®] 定量高出 2-10 倍；而 Quant-iT[™] dsDNA HS (或 BR) Assay Kit 是通过特异性嵌合到双链 DNA 的荧光染料进行定量，定量结果更为准确

c. 如果样品不是保存于 1.5 mL EP 管中，我们会根据实验情况进行转管后检测

4. 样品不足、浓度过低、降解、存在杂质等可能存在的风险及建议

4.1 总量不足或浓度过低存在风险

- 1) 文库构建失败
- 2) 文库产量低不能上机测序或测序数据量不足
- 3) 影响文库随机性、数据覆盖度偏低
- 4) 数据接头比例偏高

4.2 降解样品（尤其基因组样品）

- 1) 影响随机性，造成 duplication 偏高

- 2) 基因组项目会导致测序读长偏短
- 3) SLAF 项目会影响标签数量

4.3 杂质污染样品

- 1) 影响建库反应效率可能导致文库构建失败
- 2) 影响随机性，数据覆盖度
- 3) 影响文库质量导致数据产出偏低

4.4 PCR 产物

样品片段大小小于 500bp，PE250 测序,不需要打断就可以测通，片段大于 500bp 且需要测通样品，必须进行打断处理，由于片段偏小，可能存在打断随机性不好的风险。若是不打断，则测不通，影响后期数据拼接及分析

5. 采样指导补充

5.1 动物类提取 DNA

1. 活体动物如果取组织样较难，后期动物还要继续养，可尝试抽取血液提取 DNA，家禽类 1ml，其它动物 2ml；毛发类（包括毛囊）组织样本本身 DNA 含量低，再加上难研磨，成功率很低，不建议送样！血液类使用采血管采集，采集完之后需常温摇动孵育 2h，然后分装到 1.5/2.0ml 离心管中，先缓冻后-80℃保存！
2. 昆虫类组织样送样尽量建议送速冻组织，野外采集的话短期类不会死亡，等到实验室再处理（剔除不需要的组织等）速冻干冰运输；不建议使用无水乙醇送样，在酒精浸入组织的过程中，组织已经在降解！且有些昆虫类在浸泡的过程中一些体腔液会渗出，提取时需取出组织样擦拭干净后再提取，对提取结果有影响！

5.1 动物类做微生物多样性

皮肤：使用无菌棉签或者拭子擦拭取样部位 15-20 次，装无菌离心管中，-80℃保存，干冰送样！

血液：血液不建议做微生物多样性，根据以往经验提取成功率很低，和样本本身有关！

乳液：乳汁送样，使用灭菌管收集乳汁，如果能保证从取样到提取时间不超过 3 天，可 4℃保存冰袋送样（一般不建议，除非是取完样品直接能拿到公司）；其它均需要液氮速冻之后-80℃保存干冰运输！

血液：血液中微生物含量极低，成功率低且污染严重，不接收血液样本做微生物多样性

*所有微生物样本（组织做内生菌除外）信息单均没有全部研磨和部分研磨的要求，全部默认部分研磨，需告知客户，以免后期出现沟通问题而影响项目进展和客户体验

特殊说明：微生物项目在提取时是不称重的，都是按照以往提取经验取合适的量做核酸的提取，如果老师要做定量提取的话务必采样时称量好重量，单次土壤提取重量一般在 0.25g-0.5g 之间，不要超过 0.5g

5.3 菌类

菌类样本禁止直接使用平板干冰送样，平板冷冻之后再刮菌难处理且影响提取结果，

①建议老师将菌刮完之后液氮速冻干冰运输②培养的平板常温送样；建议使用第一种方法，老师好掌握刮菌时间，提取成功率高一些，常温送平板到公司的话快递时间较难掌控，到实验室之后录样核对等都会影响刮菌的时间