



TBD

www.tbdsience.com

天津市灏洋生物制品科技有限责任公司

天津灏洋华科生物科技有限公司

“XXXX”动物骨髓白细胞分离液 KIT 说明书

技术文档编号: TBD0037SOP

【产品规格】

200ml/Kit

【产品组成】

为方便广大用户使用, 试剂内容如下:

	名称	产品编号	规格
A	分离液 1		200ml
B	匀浆冲洗液 (赠品)	F2013TBD	200ml
C	样本稀释液 (赠品)	2010C1119	200ml
D	清洗液 (赠品)	2010X1118	200ml
E	红细胞裂解液 (赠品)	NH4CL2009	100ml
F	说明书		1 份

【实验前准备】

1. 适用仪器

最大离心力可达 1200g 的水平转子离心机

2. 无菌硅化离心管

序号	产品名称	产品货号	规格
1	无菌硅化离心管/10ml(随试剂盒附赠 5 支)	TUB2015	100 支/包

【骨髓单细胞悬液的制备】

- 以适当方式处死动物, 剥离出股骨或胫骨, 用剪刀剪断骨头两端, 露出内腔。
- 用注射器吸取适量 (根据动物大小) 的匀浆冲洗液 (产品编号: F2013TBD) 冲洗出内腔中的骨髓。
- 收集悬液到合适离心管中, 反复吹打成单细胞悬液, 以 70 μ m 细胞筛网 (产品编号: TBDTM-SC, 随试剂盒附赠 5 个) 过滤。
- 450g, 离心 10min, 弃上清。
- 用样本稀释液 (产品编号: 2010C1119) 重悬细胞浓度为 $2 \times 10^8 - 1 \times 10^9$ /ml 的单细胞悬液备用 (以小鼠为例, 一般使用 1ml 样本稀释液重悬骨髓细胞)。

【检验方法】

天津市灏洋生物制品科技有限责任公司 天津灏洋华科生物科技有限公司 - 1 -

天津滨海新区华苑产业区 (环外) 海泰华科一路 15 号润丰科技 3 幢 5 层

技术服务 Tel: 15822121119 15822691119 13920701119 ◆ Fax: 022-58921250 ◆ QQ: 2768676807

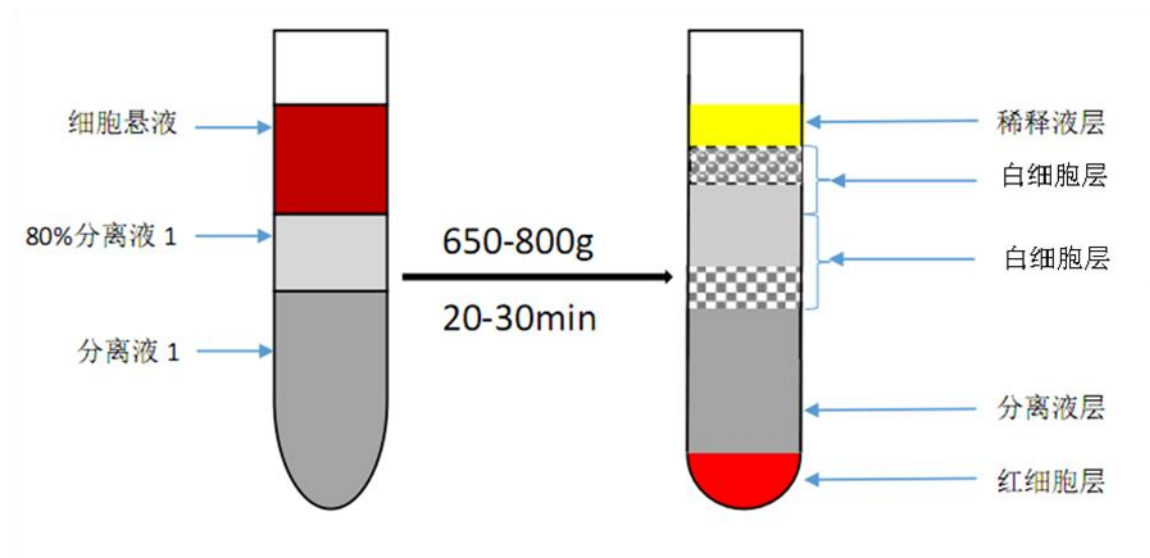
www.tbdsience.com ◆ E-mail: gx15822121119@163.com

灏洋生物 TBDSciences

全过程样本、试剂及实验环境均需在 $20 \pm 2^{\circ}\text{C}$ 的条件下进行。

1. 取一支无菌硅化离心管，依次小心加入分离液 1。
2. 用吸管小心吸取细胞悬液样本加于分离液之液面上，400-650g，离心 20-30min（注：如改变样本及分离液用量，需相应调整离心力及离心时间，具体离心条件需客户自行摸索，以达到最佳分离效果）。
3. 离心后，离心管中将出现两层环状乳白色细胞层，两层白环层细胞为白细胞层。
4. 用吸管小心吸取分离液中的白细胞层，如有红细胞混杂则加入适量红细胞裂解液（产品编号：NH4CL2009）将红细胞裂解（具体方法见“红细胞裂解液使用说明”）即得目的细胞。
5. 将获得的细胞层移至另一 15ml 离心管中，向所得离心管中加入 10ml 清洗液（产品编号：2010X1118），混匀细胞。
6. 250g，离心 10min。
7. 弃上清。
8. 用吸管以 5ml 清洗液（产品编号：2010X1118）重悬所得细胞。
9. 250g，离心 10min。
10. 重复 8、9、10，弃上清后以 0.5ml 后续实验所需相应液体重悬细胞。

分离图例：



【注意事项】

1. 全过程样本、试剂及实验环境均需在 $20 \pm 2^{\circ}\text{C}$ 的条件下进行。为获得最佳的实验结果，

需在取样 2h 内进行实验。

2. 本实验最好不使用高聚合材质（如聚苯乙烯）的塑料制品，应使用无静电、低静电离心管及未经碱处理过后的玻璃制品，因为静电作用将导致细胞贴壁、碱处理的玻璃表面会变成毛面，影响细胞分离效果。
3. 分离液用量大于骨髓单细胞悬液样本量时，分离效果更佳。
4. 如实验后细胞得率或活性过低，请联系天津灏洋技术支持以寻求帮助，具体联系方式详见下方生产企业信息。

【储存条件及有效期】

常温保存，有效期 2 年。本品易感染细菌，需无菌条件操作。无菌条件下操作，启封后置常温保存。如 4℃ 保存，本分离液易出现白色结晶，影响分离效果。

【参考值（参考范围）】

本实验白细胞提取率大于 80%。

【相关实验技术方案】

1. 骨髓冲洗单细胞悬液制备技术。
2. 所获得白细胞的培养技术。
3. 所获得白细胞的核酸提取技术。
4. 所获得白细胞的鉴定方法

A.流式细胞技术

B.免疫组化技术

C.原位杂交技术

D.PCR 技术

【可能存在的问题及解决方法】

1. 由于血液粘度、细胞密度等差异可能造成的问题及解决方案如下表所示：

出现情况	出现原因	建议解决方案
离心后目的细胞存在于血浆层或稀释液层	转速过小或离心时间过短	适当增减转速
离心后目的细胞存在于分离液中	转速过大或离心时间过长	
离心后白环层弥散	细胞密度过大	调整细胞密度
离心后白环层太浅或看不见	细胞密度过小	

2. 本分离液分离细胞的原理为密度梯度离心，其密度与温度、大气压等密切相关。不同地区客户可根据当地情况对离心条件进行适当调整。建议对离心条件进行调整时，恒定离



www.tbdscience.com

天津市灏洋生物制品科技有限责任公司

天津灏洋华科生物科技有限公司

心时间，对离心转速进行调整。

3. 本分离液依照国际标准，全部使用药用级原料，性能指标与国产同类产品略有不同，可能出现红细胞沉降不完全的情况，可以适当加大离心转速。

注：在对离心条件进行调整时，离心转速的加减以 50-100g 为基数，直至达到最佳分离效果，离心力最小不得小于 400g，最大不得大于 1200g。离心时间以 20-30min 为准。

注：上述技术方案详情请登陆本公司官网：www.tbdscience.com，搜索“天津灏洋细胞分离、纯化、扩增及鉴定指导手册”，并在说明书项目栏下下载使用。