



小鼠骨髓中性粒细胞提取试剂盒

产品货号：E257001

包装规格：200ml

产品组成

试剂盒组成	体积/数量
试液 A	120 mL
试液 B	17 mL
试液 C	17 mL
试液 D	16 mL
试液 E	16 mL
说明书	1 份

使用方法：

I. 需自备的仪器耗材

最大离心力可达 1200 g 的水平转子离心机、超净工作台、15 mL 离心管、微量移液器，等。

II. 提取方法

- 1、取一支无菌 15 mL EP 管，贴 EP 管内壁依次小心缓慢加入：2.5 mL 试液 B、试液 C、试液 D，之后将 3 mL 骨髓细胞悬液（骨髓细胞悬液的制备方法见附件一）小心缓慢加入（上述操作尽量轻柔，以达到试液 B、C、D 的液面分层，形成梯度界面，见图 1）。
- 2、将上述 EP 管 850 g 离心 30 min。小心取出离心管后观察各层细胞层，小心吸取图示中的第 1、第 2 和第 3 层溶液，弃去。
- 3、小心吸取第 4 层溶液，转至另一支无菌 15 mL EP 管，加入 5 mL 无菌 PBS，轻柔吹打均匀后于 450 g 离心 5 min。弃去上清，加入 3 mL 试液 E，吹打均匀后室温静置 5 min。之后于 450 g 离心 5 min，弃去上清。
- 4、加 5 mL PBS 混匀后，450 g 离心 5 min，弃去上清，以此方式连续清洗 3 次。
- 5、加入 5 mL PBS 混匀细胞。即得小鼠骨髓中性粒细胞。

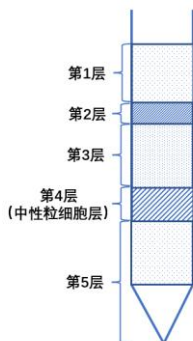


图 1 小鼠骨髓中性粒细胞提取分层图示

**注意事项:**

- 1、本品易感染细菌，建议在无菌条件下操作。
- 2、温度会影响本品的提取效果，请在使用前将本品从 4 °C 取出，放置室温平衡 20 min 后使用。
- 3、本品仅供科研实验使用。

保存条件:

- 1、4 °C 避光密封保存。
- 2、请在生产日期后的 6 个月内使用。

附件：小鼠骨髓细胞悬液的制备方法

按照符合伦理要求的方法处死小鼠，于 75% 酒精中浸泡约 1 min，移入超净台中。从小鼠脚掌上缘剪开皮肤，分离出胫骨、股骨，在 75% 酒精中浸泡约 1 min 后转入盛有试液 A 的小培养皿中，浸泡约 1 min 后用无菌止血钳夹住骨头，剪掉骨头两端露出骨髓，用 10 mL 无菌注射器吸取适量试液 A，将骨髓冲入一支 15 mL 无菌 EP 管。之后将 EP 管中的骨髓悬液轻轻吹打均匀，静置 3 分钟待小块组织沉降。之后将上清转入另一无菌 15 mL EP 管中。将上述方法获得的骨髓细胞于 120 g 离心 5 min，弃去上清后加入 3 mL 试液 A 吹打均匀，即得骨髓细胞悬液。