

## 各种动物骨髓单个核细胞分离液试剂盒

规格: 200 mL/kit

保存: 本产品对光敏感, 应该室温避光储存, 保质期 2 年。无菌开封后, 保存于室温。

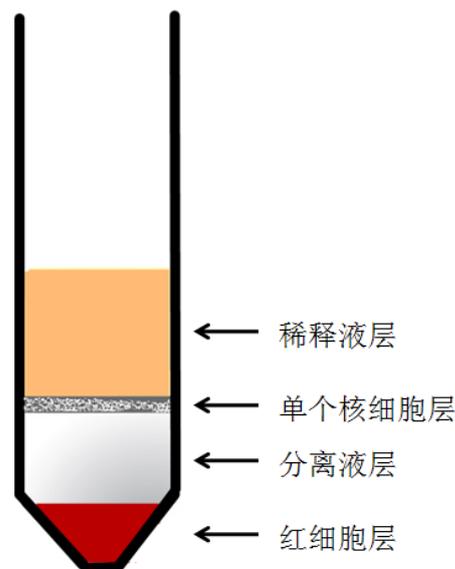
### 试剂盒组成:

各种动物骨髓单个核细胞分离液	200mL
全血及组织稀释液	200mL
细胞洗涤液	200mL

### 单个核细胞分离方法 (仅供参考)

制备骨髓的单细胞悬液:

1. 取一支适当的离心管, 加入与骨髓单细胞悬液等量的分离液 (分离液最少不得少于 3 mL, 总体积不能超过离心管的三分之二, 否则会影响分离效果)。
2. 小心吸取单细胞悬液加于分离液液面上, 注意保持两液界面清晰。(可以使用巴氏德吸管吸取单细胞悬液, 然后小心的平铺于分离液上, 因为两者的密度差异, 将形成明显的分层界面。)
3. 室温, 水平转子 500~900g, 离心 20~30min。(根据骨髓单细胞悬液的量确定离心条件, 单细胞悬液量越大, 离心力越大, 离心时间越长, 具体离心条件可以自行摸索, 以达到最佳分离效果)。
4. 离心后, 此时离心管中由上至下细胞分四层。第一层为稀释液层; 第二层为环状乳白色单个核细胞层; 第三层为透明分离液层; 第四层为红细胞层。
5. 用吸管小心吸取第二层环状乳白色单个核细胞层至另一洁净的 15mL 离心管中, 向离心管中加入 10ml 细胞洗涤液洗涤白膜层细胞, 250g, 离心 10min。
6. 弃上清, 5mL 的 PBS 或细胞清洗液重悬细胞, 250g, 离心 10min。
7. 重复步骤 7
8. 弃上清, 细胞重悬备用。



分层示意图

### 骨髓单细胞悬液的制备方法 (仅供参考)

小动物骨髓的采集:

1. 处死动物, 无菌提取股骨和胫骨, 剪去两端软骨, 露出红色的骨髓腔 (注意尽可能少的剪走骨髓腔)。
2. 取 1ml 的无菌注射器, 吸取少量的含有 10% 标准胎牛血清的稀释液或者是含有血清的培养基, 冲洗骨髓腔以获得骨髓。
3. 最终制备成  $2 \times 10^8 - 1 \times 10^9 / \text{ml}$  的单细胞悬液备用。

## 大动物骨髓的采集:

大动物骨髓的采集可采取活体穿刺方法: 先将动物麻醉、固定、局部除毛、消毒皮肤, 然后估计好皮肤到骨髓的距离, 把骨髓穿刺针的长度固定好。操作人员用左手把穿刺点周围的皮肤绷紧, 右手将穿刺针在穿刺点垂直刺入, 轻轻左右旋转将穿刺针钻入, 当穿刺针进入骨髓腔时常有落空感。连接注射器缓慢抽吸骨髓组织, 当注射器内抽到少许骨髓时即停止抽吸。用含10%标准胎牛血清的稀释液调整细胞浓度为 $2 \times 10^8$ – $1 \times 10^9$ /ml 的单细胞悬液备用。

## 常用的骨髓穿刺点:

股骨: 穿刺部位在股骨内侧面,靠下端的凹面处;

胸骨: 穿刺部位是胸骨体与胸骨柄连接处;

肋骨: 穿刺部位是第5~7肋骨各点的中点;

胫骨: 穿刺部位是股骨内侧、靠下端的凹面处。如果穿刺采用的是肋骨, 穿刺结束后要用胶布封贴穿刺孔, 防止发生气胸。

## 注意事项:

A. 开封前颠倒混匀, 本分离液为无菌产品, 为延长分离液保存时间, 请在无菌条件下启封, 避免微生物污染。

B. 分离液使用时应始终保持室温(18℃~25℃), 如室内温度较低, 可将分离液预热。4℃或者是温度较低条件下离心, 可能会导致白膜层中红细胞污染加重。

C. 待分离的组织要求新鲜, 避免冷冻和冷藏。

D. 部分塑料制品(如聚苯乙烯)因其带有的静电作用, 可能会导致细胞挂壁影响分离效果。

E. 如果要进一步对分离的细胞进行培养, 那在制备单细胞悬液和分离过程中, 注意无菌操作, 避免微生物污染。

## 参考文献:

1. Boyum A. Separation of leucocytes from blood and bone marrow. Scand J Clin Lab Invest Suppl. 1968; 97: 7.
2. Ting A, Morris PJ. A technique for lymphocyte preparation from stored heparinized blood. Vox Sang. 1971 Jun; 20(6): 561-3.
3. Boyum A. Separation of Blood Leucocytes, Granulocytes and Lymphocytes Tissue Antigens. 1974; 4(4): 269-74.
4. Weisbart RH, Webb WF, Bluestone R, Goldberg LS. A simplified method for lymphocyte separation. Vox Sang. 1972; 23(5): 478-80.

## 相关产品:

R1018 细胞洗涤液

S9020 优级胎牛血清

R1017 全血及组织稀释液

31800 RPMI Medium 1640

T1300 胰蛋白酶-EDTA消化液(0.25%)不含酚红

YA0902 一次性巴氏德吸管

各种其他动物及其他细胞的分离液及试剂盒