



Migrasome Therapeutics

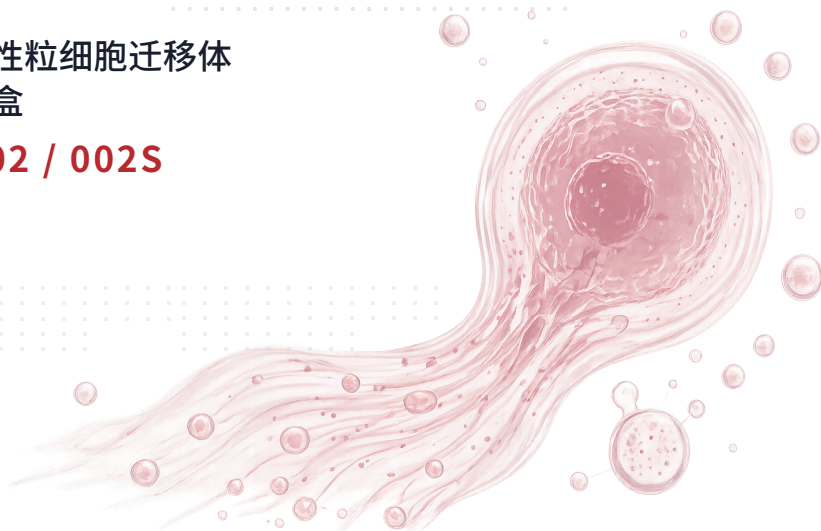
北京迈格松生物科技有限公司



MigralsoTM

人血液中性粒细胞迁移体
提取试剂盒

PRHB002 / 002S



使用说明书

Migralso™

人血液中性粒细胞迁移体提取试剂盒

货号	规格
PRHB002	20T (20× 100 总OD280粗提)
PRHB002S	5T (5× 100 总OD280粗提)



重要提示：本试剂盒专为科学研究设计，不适用于临床诊断目的。请参阅下页的详细风险及责任声明，并确保在使用本产品前仔细阅读。

产品简介

本试剂盒是专门用于从人外周血或血浆样品提取迁移体的纯化试剂盒。虽然本试剂盒也可用于处理存放在-80℃的冻存血浆样本，但需注意，由于不同离心转速收集血浆造成的迁移体损失程度的不同及冻融导致的血小板碎片增加等因素，可能会影响本试剂盒的产率和得率。

此外，本试剂盒不适用于通过滤血膜处理得到的血浆样本。本试剂盒的优势包括快速、高效、操作简单和对实验设备要求低等，所提取的迁移体产物质量稳定可靠，并具有较低的蛋白污染。提取的样品可应用于进行迁移体计数、蛋白质提取分析、RNA提取分析及细胞功能测试等多种生物学实验。

产品内容

产品组成	PRHB002 (20 tests)	PRHB002S (5 tests)
优化剂 A	20 μL	5 μL
增强剂 B	112 μL	28 μL
促进剂 C	32 μL	8 μL
缓冲液 D	25 mL	5 mL
稀释液 E	80 mL	20 mL
精提液 F	120 μL	30 μL
精提液 G	20 μL	5 μL
精提液 H	80 μL	20 μL
磁珠液 I	600 μL	150 μL
磁珠液 J	100 μL	25 μL
15 mL离心管	20支	5支
说明书	一份	一份

操作流程 (1/3)

绿圈保留部分；橙色虚线圈另存上清作封闭液。

0-1



血浆层



离心分离血浆

800 × g, 室温

时间依体积和分层效果调整，见注 1。

保留血浆层

0-2



血浆层



转移血浆，再次离心

新 15 mL 管（自备）

2,000 × g, 室温

勿吸入沉淀；离心时间见注 1。

保留血浆层

0-3; 1-1-1-2



样品



转移血浆；加入 A、B 孵育，再加 C 混匀

试剂盒提供的新 15 mL 管

A:B:血浆 = 1:4:1000

37°C, 10 min + 10 min

C:血浆 = 1:1000

转移时勿吸入沉淀；两段孵育间需混匀，见注 2。

保留反应液

1-3



样品



配制稀释液，稀释血浆

D:E = 1:9

血浆:配好稀释液 = 1:3

按起始样品体积配制总量，余液留作 1-7 重悬；见注 3。

保留稀释后样品

1-4-1-5



沉淀

上清另存封闭

离心，保留沉淀

20,000 × g, 60 min, 4°C

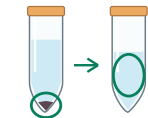
上清用于 1-6 和 2-2 封闭，勿全部丢弃。

沉淀进入下一步；上清另留封闭

操作流程 (2/3)

绿圈保留部分；橙色虚线圈另存上清作封闭液。

1-6-1-7; 2-1-2-3



沉淀 → 重悬液

用预留液重悬；转至封闭管离心，再重悬沉淀

1 mL 1-3 预留稀释液

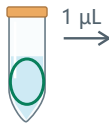
20,000 × g, 60 min, 4°C

50 μL 精提缓冲液重悬沉淀

封闭方法与精提缓冲液配方见注 4、5。充分重悬至无明显颗粒。

离心后留沉淀；重悬后留样品

2-4



样品

测定粗提样品 A280

取 1 μL 样品；NanoDrop

建议测定 2-3 个重复。

保留其余样品

2-5-2-6



样品

按总 A280 计算用量，加入 B 混匀

总 A280 = 100 为 1 test

每 test 加 1.6 μL B

建议每次处理 100-300 总 A280；计算方法见注 6。使用 2-2 封闭过的枪头。

保留反应液

2-7



样品

加入 F、G、H，混匀后孵育

每 test: F 6 μL + G 1 μL + H 4 μL

4°C, 15 min

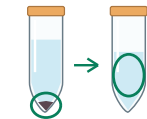
第 8 min 用 2-2 封闭过的枪头轻柔吸吹 10 次。

保留反应液

操作流程 (3/3)

绿圈保留部分；橙色虚线圈另存上清作封闭液。

2-8-2-9



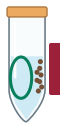
沉淀 → 重悬液

加精提缓冲液，离心后重悬沉淀

加入 500 μL 精提缓冲液
20,000 $\times$ g, 20 min, 4°C
20 μL 精提缓冲液重悬沉淀
加入 500 μL 后无需混匀。充分重悬至无明显颗粒。

离心后留沉淀；重悬后留样品

2-10-2-11



上清

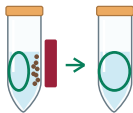
勿带入磁珠

加入 I、J 孵育，再用磁力架分离

每 test: I 30 μL + J 5 μL
加入 400 μL 精提缓冲液
4°C, 5–10 rpm, 60 min
磁吸: 4°C, 15 min
涡旋及吸吹要求见注 7。

保留上清，磁珠留在管壁

2-12 (转移上清)



上清 → 新管

转移上清至新的封闭低吸附管

1.5 mL 管；封闭的 200 μL 枪头
避免扰动磁珠。建议在离心前，再重复一次磁吸和上清转移。

保留上清

2-12 (离心) -2-13



沉淀

离心，去上清，保留沉淀

20,000 $\times$ g, 45 min, 4°C
去除上清的方法见注 8。

保留精提中性粒细胞迁移体沉淀

流程图注与试剂字母表

1. 若需从外周血制备血浆，推荐使用步骤 0-1-0-3。离心时间按样品体积和分层效果调整；以 10 mL 外周血为例，0-1 可离心 15 min，0-2 可离心 5 min。
2. 加入 A、B 后轻柔颠倒 10 次，37°C 孵育 10 min；再次轻柔颠倒 10 次，再孵育 10 min。加入 C 前先涡旋 C 至少 10 s，加入后轻柔颠倒 10 次。
3. 按起始样品计算稀释液总量： $2 \times \text{外周血体积} + 1.5 \text{ mL}$ ，或 $3 \times \text{血浆体积} + 1.5 \text{ mL}$ 。以 D:E = 1:9 配液，按血浆:配好稀释液 = 1:3 稀释，余液用于 1-7 重悬。
4. 封闭使用 1-5 预留上清。低吸附管加上清静置至少 1 min，去上清、瞬离后尽量吸净。用 100 μL 枪头在该上清中吸吹 10 次；后续直接接触样品的枪头均按此方法封闭。
5. 精提缓冲液：先涡旋 C 至少 10 s，再按 C:D:PBS = 1:100:900 配制；每次提取约需 1000 μL 。精提缓冲液与精提液 F/G/H 不同。
6. 总 A280 = A280 测定值 $\times$ 样品体积 (μL)；总 A280 为 100 定义为 1 test。建议每次处理 100–300 总 A280。
7. I、J 加入前各涡旋至少 10 s；加入样品后轻柔充分吸吹，不产生气泡，再加 400 μL 精提缓冲液旋转孵育。磁吸前，用封闭的 1 mL 枪头吸吹 15 次。
8. 1-5、1-7 和 2-13：先去除大部分上清，瞬离后尽量吸除余液，保留沉淀；1-5 的上清需另留用于封闭。2-8：尽量吸除上清，保留沉淀。
9. 低速离心 0-1/0-2 建议尽量使用水平转子。1-4、2-8 和 2-12 的高速离心建议使用倾角至少 45° 的转子。

A 优化剂；B 增强剂；C 促进剂；D 缓冲液；E 稀释液；F/G/H 精提液；I/J 磁珠液。

本图为流程概览；请结合对应编号的详细步骤及注意事项操作。

示意图不代表实际体积比例。

用户自备试剂及必需仪器

1. $1\times$ PBS 溶液：必须无菌
2. 收集管（低吸附或封闭处理过的1.5 mL EP管和15 mL离心管；本试剂盒配有20,000 $\times$ g用15 mL管）
3. 低吸附移液枪枪头
4. 磁力架

保存和运输

4°C 运输，收到试剂盒后请将试剂D~J保存于**4°C**冰箱，切记不可冷冻及结冰；试剂A~C保存于**-20°C**。有效期**12个月**。促进液C为悬浊液，有明显沉淀为正常现象，使用前应充分混匀。

操作步骤

每次提取的血浆样品量建议1~3 test(s);操作全程建议使用低吸附耗材,如低吸附枪头、低吸附离心管等。

0 血浆准备

如需从外周血制备血浆样品,推荐使用以下操作:

- 1 将外周血样品在室温下离心 $800\times g$,时间根据样品体积决定,若为10 mL外周血可离心15 min,建议尽量使用水平转子以获得最佳效果;

注:可根据样品体积和实际离心效果适度调整离心时间,样品体积小可适度缩短离心时间,样品体积大可适度增加离心时间,目标是最终需呈现血浆(淡黄色)、白细胞(白色)、红细胞(红色)的明确分层。如果使用定角转子时,需注意离心后沉淀呈倾斜状,吸取上清时容易被扰动混入上清中,需谨慎操作。

- 2 尽可能多地取血浆层(但注意不能吸到沉淀),转移至一个新的15 mL离心管(自备),室温离心 $2,000\times g$,离心时间根据样品体积决定,若为10 mL外周血可离心5 min,建议尽量使用水平转子以获得最佳效果;
- 3 尽可能多地取血浆层(但注意不能吸到沉淀)到新的试剂盒提供的15 mL管。



1 富集血液迁移体组分

- 1 按优化剂A:增强剂B:血浆=1:4:1000的比例分别加入优化剂A和增强剂B,轻柔颠倒混匀10次后,在37°C 孵育10 min,再次轻柔颠倒混匀10次后,再在37°C 孵育10 min;

注:增强剂B为淡黄色悬浊液。解冻后或出现明显沉淀,可涡旋充分混匀后使用,不影响使用效果,请放心使用。

- 2 孵育结束后,使用涡旋仪涡旋至少10 s以充分混匀促进剂C后(促进液C为悬浊液,有明显沉淀为正常现象),再按促进剂C:血浆=1:1000的比例加入促进剂C,上下轻柔颠倒混匀10次;

- 3 按缓冲液D:稀释液E=1:9配液。总量按起始样品计:外周血体积的2倍+1.5 mL,或血浆体积的3倍+1.5 mL;按血浆:稀释液=1:3稀释,余液用于后续重悬;

- 4 4°C 20,000×g离心60 min;

注:离心机的倾角对分离效果至关重要,建议使用45°或以上倾角的转子,倾角太小将导致沉淀物吸附在试管壁上无法汇聚到试管底部。

- 5 先去除绝大部分上清后,瞬离后尽可能吸除上清,并保留沉淀;所得沉淀即为富集血液迁移体组分,可根据后续检测方法制备样品;留取上清用作后续的封闭液;

- 6 将1-5的上清加入低吸附Ep管中,静置1min以上,去除上清,瞬离后尽可能吸除上清(封闭Ep管);

- 7 用1 mL步骤1-3预留的血浆稀释液重悬沉淀,转移到封闭好的Ep管中,再4°C 20,000×g离心60 min;先去除绝大部分上清后,瞬离后尽可能吸除上清,并保留沉淀;

2 精提中性粒细胞迁移体

- 1 使用涡旋仪涡旋至少 **10 s** 以充分混匀促进剂 C (促进液 C 为悬浊液, 有明显沉淀为正常现象), 再按促进剂 C: 缓冲液 D: PBS = **1:100:900** 的比例配制精提缓冲液, 一次提取约需 **1000 μ L** 精提缓冲液;
- 2 用 **100 μ L** 枪头在 **1-5** 的上清中吸吹 **10** 次; 后续直接吹打样品的枪头均需如此封闭;
- 3 加入 **50 μ L** 精提缓冲液至第 **1-7** 步骤的沉淀 (确保使用移液器充分重悬沉淀, 直至无明显颗粒物, 其充分程度将直接影响分离效果);
- 4 取 **1 μ L** 粗提样品用 Nanodrop 进行 A280 (OD280) 测定, 建议有 2~3 个重复;
- 5 根据测定的 A280 计算加入精提液和磁珠液的量: 建议一次处理 100-300 总 A280 的样品 (A280 值 $\times$ 体积 μ L, 本试剂盒以 A280=100 为一个 test);

注: 用过多总 A280 的样品进行阴选, 可能会导致最终血小板碎片污染较多。

- 6 向粗提样品加入 **1.6 μ L** 增强剂 B 每 test, 使用 **2-2** 封闭过的枪头充分混匀;



7 每test样品加入6 μL 精提液F、1 μL 精提液G和4 μL 精提液H,使用2-2用过的枪头充分混匀后,将管子置于4 $^{\circ}\text{C}$ 冰箱中孵育15 min,8 min时使用移液枪混匀一次,轻轻吹打10次;

8 加入500 μL 精提缓冲液,无需混匀,4 $^{\circ}\text{C}$ 20,000 $\times g$ 离心20 min,尽可能吸除上清,并保留沉淀进入下一步;

注:离心机的倾角对分离效果至关重要,建议使用45 $^{\circ}$ 或以上倾角的转子,倾角太小将导致沉淀物吸附在试管壁上无法汇聚到试管底部。

9 使用20 μL 精提缓冲液重悬第2-8步的沉淀;

注:该步骤需使用移液器充分重悬沉淀,直至无明显颗粒物,其充分将程度直接影响分离效果;

10 使用涡旋仪涡旋至少10 s以充分混匀磁珠液I和磁珠液J后,加30 μL 磁珠液I和5 μL 磁珠液J每test至样品中,使用移液枪轻柔充分吹打混匀后(吹打过程中不产生气泡),向管中加入400 μL 精提缓冲液后,置于4 $^{\circ}\text{C}$ 冰箱5~10 rpm旋转孵育60 min;

11 使用封闭过的1 mL大枪头充分吹打15次,置于4 $^{\circ}\text{C}$ 冰箱中用磁力架吸附15 min;

- 12 在尽可能不扰动磁珠的前提下，用封闭过的200 μL 中枪头吸出上清至新的封闭的1.5 mL低吸附离心管中，将上清在4°C下20,000 $\times g$ 离心45 min(为确保磁珠清除干净，建议重复一次2-11~2-12后，再进行后续离心)；

注：离心机的倾角对分离效果至关重要，建议使用45°或以上倾角的转子，倾角太小将导致沉淀物吸附在试管壁上无法汇聚到试管底部。

- 13 先去除绝大部分上清后，瞬离后尽可能吸除上清，并保留沉淀；所得沉淀即为精提中性粒细胞迁移体，可根据后续检测方法制备样品。



注意事项

1. 血液采集：请使用含枸橼酸钠抗凝剂的采集管进行外周血采集。本试剂盒对EDTA抗凝血进行过测试，其血小板污染多于前者，并未对除此之外的其他类型抗凝剂的血液样本进行测试。用户如需使用其他抗凝剂类型采集的血液样品或其他样品来源，建议自行评估其适用性。
2. 样本保存：存放于 -80°C 的血浆及新鲜血浆均可应用于该试剂盒；用于血浆提取的外周血样本在进行迁移体提取前的存放时间不应超过4小时，否则溶血现象可能严重影响迁移体的分离效果。
3. 血小板污染：为降低血小板污染，操作外周血样本时应最大限度减少机械扰动。执行**0 血浆准备**的低速离心时，应保持在室温条件下进行；执行1-5之后的操作时，应保持在 4°C 。若血小板污染严重，可重复步骤2-1~2-13，精提液F和磁珠液I的用量可以酌情减少。
4. 离心机转子角度选择：
 - a. 第0-1~0-2步骤低速离心时，推荐尽量选用水平转子，定角转子沉淀呈倾斜状且不实，容易被扰动混入上清中
 - b. 第1-4步骤 $20,000\times g$ 高速粗提外周血迁移体时，推荐尽可能使用 45° （或更大）倾角的定角转子，以获取最佳效果。

重要风险与责任声明

本试剂盒仅供科研用途，并已按照科研试剂相关标准和法规要求进行设计和生产。客户使用前，请仔细阅读产品说明书，必须保证遵守所有适用的生物安全、法律、伦理和隐私法规等法律与规定，包括但不限于：

1. **合规性：**本产品不得用于任何临床诊断、治疗或其他医疗用途。
2. **生物安全：**用户应采取适当的生物安全措施，避免感染风险，并严格遵循生物危害物料的处理和存储规程。
3. **伦理与隐私：**样本采集须遵守所有相关的伦理审查标准，保护个人隐私，且需获得相应的知情同意。
4. **交叉污染：**用户需按照本说明书操作，以避免样本交叉污染，并确保实验结果的准确性。
5. **存储与稳定性：**正确存储本试剂盒以保持其稳定性和有效性。未按说明存储的产品可能导致性能下降。
6. **废弃物处理：**使用后的试剂及样本需按照当地法规安全处置。
7. **产品性能限制：**本说明书中已详细描述了产品性能及使用限制。任何超出说明书指导的使用方式，本公司概不负责。



本公司不对因不当使用本产品或未遵守适用法规造成的任何直接或间接后果承担法律责任。如有任何疑问或需要进一步信息，请联系客户服务部门。



单位名称: 北京迈格松生物科技有限公司
单位地址: 北京市昌平区医疗园路9号院2号楼4层
邮 编: 102200
电 话: 010-53671078
邮 箱: service@migrasome.com
公司网址: www.migrasome.com