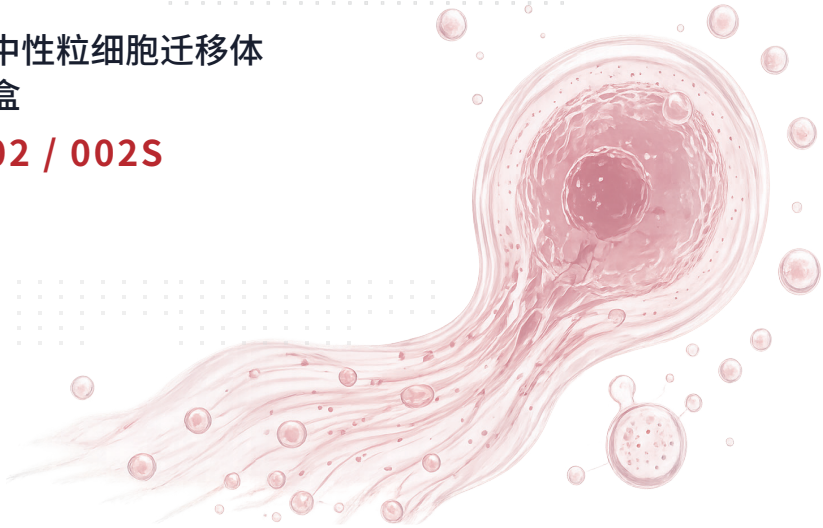
Migrasome Therapeutics

北京迈格松生物科技有限公司

Migralso™

小鼠血液中性粒细胞迁移体提取试剂盒

PRMB002 / 002S



使用说明书

MigraIso™
小鼠血液中性粒细胞迁移体提取试剂盒

货号	规格
PRMB002	20T（20 mL小鼠血浆）
PRMB002S	5T（5 mL小鼠血浆）

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小鼠血液或血浆样品提取中性粒细胞来源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℃的冻存血浆或血清样本，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	PRMB002 (20 tests)	PRMB002S (5 tests)
缓冲液 A	25 mL	5 mL
稀释液 B	80 mL	20 mL
精提液 C	160 μL	40 μL
精提液 D	80 μL	20 μL
精提液 E	160 μL	40 μL
磁珠液 F	400 μL	100 μL
磁珠液 G	320 μL	80 μL
15 mL离心管	20支	5支
说明书	一份	一份

用户自备试剂及必需仪器

1. 1×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×g用15 mL管）

3. 低吸附移液枪枪头

4. 磁力架

保存和运输

4℃运输，收到试剂盒后请保存于4℃冰箱，切记不可冷冻及结冰，有效期12个月。

操作步骤

每次提取的血浆样品量建议4~5mL，如下步骤将以10 mL外周血样品为例；操作全程建议使用低吸附材料，如低吸附枪头、低吸附离心管等。

1 富集血液迁移体组分

注：血浆/血清样品可跳过1-2步骤，进入1-3。

1. 按缓冲液A：稀释液B=1：9的比例配制血浆稀释液，所需体积为处理血浆样品体积的2倍；

2. 将10 mL外周血样品在室温800×g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；

3. 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1,000×g离心5 min，建议尽量使用水平转子以获得最佳效果；

4. 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，用1-1中配制的稀释液，将血浆和稀释液按照1:2稀释血浆；

5 4℃ 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。

6 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；

2 精提中性粒细胞迁移体

1. 配制精提缓冲液：取900 μL PBS加入100 μL缓冲液A；

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

3. 用20 μL小枪头在1-6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；

4. 加入20 μL精提缓冲液重悬第1-6步骤的沉淀（确保充分重悬沉淀，其充分程度将直接影响分离效果），将混合液转移到封闭的1.5 mL低吸附离心管中；

5. 向管中加入8 μL精提液C/mL血浆和4 μL精提液D/mL血浆，使用2-4用过的20 μL移液器小枪头充分混匀后，将管子置于4 ℃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；

6. 加入100 μL精提缓冲液，无需混匀，4℃ 20,000×g离心30 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°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。

7 使用20 μL精提缓冲液重悬第2-6步的沉淀；

注：该步骤需充分重悬沉淀，其充分将程度直接影响分离效果；

8 向管中加入8 μL精提液E/mL血浆，使用2-4用过的20 μL移液器小枪头充分混匀后，将管子置于4 ℃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；

9 使用涡旋仪涡旋至少10 s以充分混匀磁珠液F和磁珠液G后，加20 μL磁珠液F/mL血浆和16 μL磁珠液G/mL血浆至样品中，使用移液枪充分吹打混匀后（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℃冰箱~10 rpm旋转孵育60 min；

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 使用封闭过的1 mL大枪头充分吹打15次，置于4℃冰箱中用磁力架吸附15 min；

11 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℃下20,000×g离心45 min（为确保磁珠清除干净，建议重复一次2-10~2-11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。

12 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EDTA抗凝剂的采集管进行小鼠血液采集。本试剂盒对枸橼酸钠抗凝血进行过测试，其得率低于前者，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：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。执行步骤1-4之前的低速离心时，应保持在室温条件下进行；执行步骤1-4之后的操作时，应保持在4℃。若血小板污染严重，可重复步骤2-1~2-12，精提液C和磁珠液F的用量可以酌情减少。

4. 离心机转子角度选择：
   a. 第1-2~1-3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1-5步骤20,000×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。

Migrasome Therapeutics

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