



上海中医药大学科技实验中心送检样品要求与制备 SOP

骨髓单细胞悬液样品要求与制备

【样品名称】骨髓单细胞悬液制备方法

【检测技术】流式细胞术

【科 室】病毒免疫实验室

【联系人】杨以阜 咨询电话：51322438 电子邮件：celiazx87@126.com

【检测样品要求与制备方法】

1. 颈椎脱臼处死小鼠，用剪刀、镊子直接分离小鼠的股骨和胫骨。
2. 用 1ml 的注射器在股骨或胫骨的两端钻孔，然后用该注射器吸取培养基，反复冲洗股骨和胫骨的骨髓腔，将骨髓腔内的细胞冲洗出来。
3. 离心沉淀骨髓单细胞悬液，红细胞裂解液裂解红细胞。
4. 离心弃上清，去除红细胞碎片。
5. 用 PBS 重悬沉淀，就可以进行后续荧光素偶联抗体标记，然后流式上样分析。

【注意事项】

1. 用枪头或者移液管反复吹打冲洗液中的骨髓细胞，使骨髓细胞尽可能相互分离，成为单细胞悬液。
2. 不同荧光素有其特定的激发光和发射光，流式分析时需选择发射不同波长荧光的荧光素，使他们之间的信号采集和分析不会互相干扰。
3. 样本浓度要求：建议 $10^5\sim10^6/ml$ 。
4. 流式检测要求样品新鲜，液氮冷冻保存或者固定处理后的样品都不能用于流式检测分析。