

Рекомендации по получению лейкоцитарной фракции из крови млекопитающих.

Версия 1 от 29 декабря 2025 г.

Количество лейкоцитов в крови зависит от донора и типа биоматериала. Для выделения лейкоцитов следует использовать свежую незамороженную кровь. Для забора крови допускается использовать антикоагулянты: ЭДТА, цитрат натрия или гепарин.

Методы получения лейкоцитарной фракции:

1. Отбор лейкоцитарного кольца.

- 1.1. Центрифугируйте 1 мл крови в течение 10 минут при 2 500 g.
- 1.2. Отберите и слейте верхнюю фракцию (плазму).
- 1.3. Отберите 50 мкл лейкоцитарной фракции в чистую промаркированную пробирку объемом 1.5 мл.

2. Отбор лейкоцитарного осадка.

- 2.1. Центрифугируйте от 100 мкл до 1 мл крови в течение 10 минут при 100 g.
- 2.2. Перенесите верхний слой плазмы с лейкоцитами в новую пробирку.
- 2.3. Центрифугируйте образец в течение 10 минут при 10 000 g.
- 2.4. Отберите и слейте надосадочную жидкость, оставив небольшой объем плазмы (50–200 мкл) над лейкоцитарным осадком.

3. Лизис форменных элементов крови с последующим отбором лейкоцитарного осадка.

3.1. Подготовьте 10X Лизирующий раствор (состав: 1.5M NH₄Cl, 0.1M NaHCO₃, 0.01M EDTA). Перед использованием приготовьте разведение раствора в 10 раз — 1X Лизирующий раствор.

3.2. Разведите от 100 мкл до 1 мл крови в 11 раз 1X Лизирующим раствором.

3.3. Инкубируйте в течение 10–15 минут при комнатной температуре, пока образец не станет прозрачным.

3.4. Центрифугируйте образец в течение 5 минут при 500 g.

3.5. Отберите и слейте надосадочную жидкость.

3.6. Ресуспандируйте осадок в необходимом объеме воды без нуклеаз.

Возможно приобрести дополнительно

Кат. #	Продукт	Количество
PK132S	InBlood ДНК-полимераза для ПЦР с цельной кровью млекопитающих	200 р-ций по 50 мкл
PK132L	без предварительного выделения ДНК	1 000 р-ций по 50 мкл
PB027	5X InBlood Red buffer	7.5 мл (5 x 1.5 мл)

ЗАО Евроген

Москва 117997

ул. Миклухо-Маклая 16/10, к. 15

Тел.: +7 (495) 784-7084

order@evrogen.ru

www.evrogen.ru