

T/JAASS

江苏省农学会团体标准

T/JAASS XXXX—2026

家禽血细胞高效脱核技术规程

Technical procedure for efficient enucleation of poultry blood cells

(征求意见稿)

2026 - XX - XX 发布

2026 - XX - XX 实施

江苏省农学会 发布

目 次

前言	II
1 范围	1
2 规范性引用文件	1
3 术语和定义	1
4 设备	1
5 试剂	1
6 家禽血细胞脱核操作程序及要求	2
7 家禽血细胞脱核效果检测	2

前 言

本文件按照GB/T 1.1—2020《标准化工作导则 第1部分：标准化文件的结构和起草规则》的规定起草。

请注意本文件的某些内容可能涉及专利。本文件的发布机构不承担识别专利的责任。

本文件由江苏省农学会提出并归口。

本文件起草单位：江苏省农业科学院、天津鑫正牧农蛋白质有限公司、南京师范大学、江苏大学。

本文件主要起草人：邹焯、杨彪、程梅、马晶晶、李亚楠、王道营、宫亚峰、郭宇星、张新笑、欧阳琴、杨静、吴本刚、卞欢、倪艳秀、诸永志、徐为民。

家禽血细胞高效脱核技术规程

1 范围

本文件规定了家禽血细胞脱核高效去除的设备、试剂、家禽血细胞脱核操作程序及要求与家禽血细胞脱核效果检测。

本文件适用于家禽血细胞脱核高效去除。

2 规范性引用文件

本文件没有规范性引用文件。

3 术语和定义

下列术语和定义适用于本文件。

3.1

家禽血 poultry blood

健康家禽（包括鸡、鸭、鹅、火鸡等）经屠宰后采集的血液，通常经抗凝处理。

3.2

血细胞 blood cells

血液中的有形成分，主要包括红细胞、白细胞和血小板。

注：家禽血细胞中红细胞有细胞核，是本标准处理的主要对象。

3.3

细胞核去除 nuclear removal

采用物理、化学或生物方法，破碎家禽血细胞并使其细胞核与细胞质分离的技术过程。

3.4

破核处理 nuclear disruption

专指旨在破坏细胞核膜，释放核内物质（如DNA、RNA）的处理步骤。

注：此步骤常用于降低核内核酸类物质的黏性，便于后续分离。是细胞核去除

4 设备

4.1 离心设备

高速离心机。

4.2 光学显微镜

放大倍数在10倍~100倍。

4.3 天平

感量为0.01 g、量程为3000 g。

5 试剂

5.1 抗凝剂

称取40.0 g柠檬酸钠（分析纯）溶于1000 mL蒸馏水中，配置成4.0%的柠檬酸钠溶液。

5.2 组织染色剂

甲苯胺蓝。

6 家禽血细胞脱核操作程序及要求

6.1 家禽血液收集

工人在自动化屠宰线收集禽血，往收集罐中加入4%的柠檬酸钠抗凝试剂，抗凝剂与血液的比例为1:10 (V/V)，收集罐中配备食品级304/316 L不锈钢桨叶式搅拌器，边收集边轻柔均匀搅拌（转速在10 rpm~50 rpm），避免破坏血细胞，禽血在2℃~7℃下24 h内运输至加工厂。

6.2 禽血血浆与血细胞分离

将抗凝后的禽血，在4℃下3000 r/min离心10 min，分离为血浆和血细胞两部分，对第一次得到的血细胞进行二次离心，再次收集血细胞。在血细胞中加入4倍体积去离子水洗涤3次，在3000 r/min，4℃下离心10 min进一步收集血细胞。

6.3 血细胞脱核溶液的配置

6.3.1 预溶解固体试剂

电子天平归零，用50 mL 烧杯称量3.96 g葡萄糖和0.350 g VC，确保无洒落；向烧杯中加入约40 mL超纯水，用玻璃棒缓慢搅拌至完全溶解（避免剧烈搅拌产生气泡）。

6.3.2 添加液体乳酸

用100 μ L移液枪准确吸取88 μ L乳酸，缓慢滴入上述烧杯中，用洗瓶冲洗移液枪枪头2次~3次，冲洗液倒入烧杯，确保乳酸完全转移。

6.3.3 定容与混合

将烧杯中的溶液沿玻璃棒缓慢转入100 mL容量瓶中，用超纯水冲洗烧杯和玻璃棒3次，冲洗液全部转入容量瓶（避免溶质损失），向容量瓶中补加超纯水至刻度线下方1 cm~2 cm处，静置30 s（让气泡逸出），用胶头滴管滴加超纯水至凹液面与刻度线齐平，盖紧瓶塞，倒置摇匀10次~15次，确保混合均匀。

6.3.4 稀释

使用前，再将上述混合液稀释10倍备用。

6.4 禽血细胞脱核处理

将2倍体积含0.1 mmol乳酸、2.0 mmol葡萄糖和0.2 mmol VC的混合溶液加入到血细胞中，轻柔均匀搅拌后4℃下10000 r/min离心20 min，收集上清液。沉淀中含有家禽细胞核，且通过6.4的离心程序，可使细胞核脱核率大于等于90%。

7 家禽血细胞脱核效果检测

7.1 取6.4节的上清液，滴1~2滴于干净载玻片中央，液滴直径控制在2 mm~3 mm，避免过厚遮挡视野。

7.2 镊子夹起盖玻片，从液滴一侧缓慢放下，避免产生气泡（气泡会干扰观察）。

7.3 使用甲苯胺蓝染色剂对样品进行染色，染色时间为10 min，双手托住显微镜镜臂和镜座，平稳放在实验台边缘5 cm~10 cm处，镜筒朝向自己，物镜镜头朝前。

7.4 转动转换器，将低倍物镜（10 \times ）对准通光孔，调节遮光器和反光镜，使视野明亮均匀（自然光或灯光均可，避免直射）。

7.5 把制好的玻片放在载物台上，用压片夹固定，确保观察目标（液滴区域）对准通光孔中心。

7.6 眼睛注视物镜，缓慢转动粗准焦螺旋，使镜筒下降至物镜接近盖玻片（距离约1 mm，避免压坏玻片和镜头）。

7.7 眼睛注视目镜，反向转动粗准焦螺旋，使镜筒缓慢上升，直至视野中出现清晰物像。

7.8 移动玻片，寻找可能存在的残留细胞核（呈深色圆形/椭圆形结构），若需放大观察，转动转换器换高倍物镜（40×），再用细准焦螺旋微调至清晰。

7.9 记录观察结果，未见到细胞核及其残留形态，同时采用 DNA 含量试剂盒测试，未检测到该上清液含细胞核。
