

人外周血淋巴细胞分离液

说明书

| | |
|----|---|
| 名称 | 人外周血淋巴细胞分离液 |
| 英文 | Human peripheral blood lymphoid isolation fluid |
| 货号 | CSP187 |
| 规格 | 200mL |
| 保存 | 常温避光保存 24 个月 |
| 用途 | 仅供科研使用 |

【产品描述】

人外周血淋巴细胞分离液是一种用于分离人外周血淋巴细胞的无菌、低内毒素水平的密度梯度分离液。其分离原理是根据血细胞的密度差异（淋巴细胞和单核细胞的密度介于 1.075~1.090 g/mL 之间，红细胞和粒细胞的密度为 1.092 g/mL 左右，血小板为 1.030~1.035 /mL 之间），通过离心使一定密度的细胞按相应密度梯度分布，从而将淋巴细胞从人外周血或脐带血中分离出来。本产品分离正常人外周血，每毫升全血可获得的单个核细胞数应 $\geq 0.5 \times 10^6$ 个。

本产品的分离效果受储存条件、环境温度、操作者的经验、样本质量、离心条件等因素影响。本分离液最佳环境为正常大气压、环境温度为 $20 \pm 2^\circ\text{C}$ 。本分离液在低温时呈较高密度，在高温时呈较低密度。不同的地区可根据当地情况对离心条件进行适当调整。建议对离心条件进行调整时，恒定离心时间，对离心转速进行调整。

【操作说明】-仅供参考

本产品建议最佳使用环境为正常大气压，温度为 $20^\circ\text{C} \pm 2^\circ\text{C}$ ，否则会影响质量。

一、通用实验方法

1. 取 2mL 新鲜抗凝（EDTA、枸橼酸钠或肝素等抗凝剂均可）全血，用等体积等渗溶液（PBS 或生理盐水）稀释全血。
2. 在离心管中加入一定体积的分离液，将稀释后的血液小心加入，使其平铺到分离液液面上方，保持液面界面清晰。分离液、抗凝未稀释全血、等渗溶液（PBS 或生理盐水）的体积比为 2:1:1。

3. 室温条件下，以 400~500g 离心（水平转子）离心 30~40min。
4. 离心结束后，离心管中由上至下细胞分四层。第一层为血浆层（含血小板），第二层为环状乳白色白膜层，即单个核细胞层（包含单核细胞和淋巴细胞），第三层为透明分离液层，第四层为红细胞层（含大量中性粒细胞），小心吸取白膜层至新的离心管中。
5. 用 3 倍体积的等渗溶液（PBS、生理盐水或培养基等）轻柔混匀细胞后，以 250g 离心 10min，弃上清。重复洗涤 1~2 次。
6. 用等渗溶液（PBS、生理盐水、培养基等）将细胞重悬，用以细胞计数。

二、当使用 15mL 离心管时

情况 I：血液样本量小于 3mL 时，实验方法如下：

1. 取一支 15mL 离心管，加入 3mL 分离液。
2. 用吸管小心吸取血液样本加于分离液之液面上，400~650g，离心 20~30min（注：根据血液样本量确定离心条件，血液样本量越多，离心力越大，离心时间越长，具体离心条件需客户自行摸索，以达到最佳分离效果）。
3. 离心后，此时离心管中由上至下分为四层。第一层为血浆层。第二层为环状乳白色淋巴细胞层。第三层为透明分离液层。第四层为红细胞层。
4. 用吸管小心吸取第二层环状乳白色淋巴细胞层到另一个 15mL 离心管中，向所得离心管中加入 10mL 等渗溶液），混匀细胞。
5. 250g，离心 10min。
6. 弃上清。
7. 用吸管以 5mL 等渗溶液重悬所得细胞。
8. 250g，离心 10min。
9. 重复 6、7、8，弃上清后以 0.5~1mL 后续实验所需相应液体重悬细胞。

情况 II：血液样本量为 3-6mL 时，实验方法如下：

1. 取一支 15mL 离心管，先加入与血液样本等量的分离液。
2. 用吸管小心吸取血液样本加于分离液之液面上，450~650g，离心 20~30min（注：根据血液样本量确定离心条件，血液样本量越多，离心力越大，离心时间越长，具体离心条件需客户自行摸索，以达到最佳分离效果，但最大离心力最好不超过 1200g）。

3. 离心后，此时离心管中由上至下分为四层。第一层为血浆层。第二层为环状乳白色淋巴细胞层。第三层为透明分离液层。第四层为红细胞层。
4. 用吸管小心吸取第二层环状乳白色淋巴细胞层到另一 15mL 离心管中，向所得离心管中加入 10mL 等渗溶液），混匀细胞。
5. 250g，离心 10min。
6. 弃上清。
7. 用吸管以 5mL 等渗溶液重悬所得细胞。
8. 250g，离心 10min。
9. 重复 6、7、8，弃上清后以 0.5~1mL 后续实验所需相应液体重悬细胞。

三、使用 50ml 离心管时：

情况 I: 血液样本量为 7-10mL 时，实验方法如下：

1. 取一支 50mL 离心管，先加入与未稀释的血液样本等量的分离液。
2. 用吸管小心吸取血液样本加于分离液之液面上，500~950g，离心 20-30min（注：根据血液样本量确定离心条件，血液样本量越多，离心力越大，离心时间越长，具体离心条件需客户自行摸索，以达到最佳分离效果，但最大离心力最好不超过 1200g）。
3. 离心后，此时离心管中由上至下分为四层。第一层为血浆层。第二层为环状乳白色淋巴细胞层。第三层为透明分离液层。第四层为红细胞层。
4. 用吸管小心吸取第二层环状乳白色淋巴细胞层到另一 15mL 离心管中，向所得离心管中加入 10mL 等渗溶液），混匀细胞。
5. 250g，离心 10min。
6. 弃上清。
7. 用吸管以 5mL 等渗溶液重悬所得细胞。
8. 250g，离心 10min。
9. 重复 6、7、8，弃上清后以 0.5~1mL 后续实验所需相应液体重悬细胞。

情况 II: 血液样本量为 11-20mL 时，实验方法如下：

1. 取一支 50mL 离心管，先加入与未稀释的血液样本等量的分离液。
2. 用吸管小心吸取血液样本加于分离液之液面上，500~1100g，离心 20-25min（注：根据

血液样本量确定离心条件，血液样本量越多，离心力越大，离心时间越长，具体离心条件需客户自行摸索，以达到最佳分离效果，但最大离心力最好不超过 1200g)。

3. 离心后，此时离心管中由上至下分为四层。第一层为血浆层。第二层为环状乳白色淋巴细胞层。第三层为透明分离液层。第四层为红细胞层。

4. 用吸管小心吸取第二层环状乳白色淋巴细胞层到另一 15mL 离心管中，向所得离心管中加入 10mL 等渗溶液)，混匀细胞。

5. 250g，离心 10min。

6. 弃上清。

7. 用吸管以 5mL 等渗溶液重悬所得细胞。

8. 250g，离心 10min。

9. 重复 6、7、8，弃上清后以 0.5~1mL 后续实验所需相应液体重悬细胞。

【注意事项】

- 1、注意无菌操作，避免污染；
- 2、当血液样本粘度过高需要稀释时，最优稀释方法为血液样本与稀释液按 1:1 比例进行稀释。不当的稀释方法会降低细胞得率及活性；
- 3、因血液样本的个体差异及血液粘度不同，需调整离心力及离心时间，最大离心力不超过 1000g。
- 4、稀释血液或洗涤细胞时，不可使用含 Ca^{2+} 、 Mg^{2+} 的缓冲液或培养基，否则会降低细胞得率或纯度；
- 5、本产品最佳使用环境为正常大气压，温度为 $20^{\circ}C \pm 2^{\circ}C$ ，否则会影响质量；
- 6、为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作；
- 7、仅供科研使用。