

人外周血淋巴细胞分离液

H1197504

储存温度 室温储存

产品介绍

本产品是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（红细胞和粒细胞密度为 1.090 g/mL 左右；淋巴细胞和单核细胞密度为 1.075~1.090 g/mL；血小板为 1.030~1.035 g/mL），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。

使用说明

- 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，保持量液面界面清晰。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 $1000\times g$ 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 $300\times g$ 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。

为满足客户实际使用需求，根据不同血液样本量推荐具体实验操作方法如下：

一、使用 15mL 离心管时：

情况 A：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， $1000\times g$ ，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 15mL 离心管中，向所得离心管中

加入 10mL 等渗溶液，混匀细胞。

5、300×g，离心 10min。

6、弃上清。

7、用吸管以 5mL 等渗溶液重悬所得细胞。

8、300×g，离心 10min。

9、重复 6、7、8，弃上清后以 1mL 后续实验所需相应液体重悬细胞。

情况 B：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，1000×g，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 1200×g）。

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、300×g，离心 10min。

6、弃上清。

7、用吸管以 5mL 等渗溶液重悬所得细胞。

8、300×g，离心 10min。

9、重复 6、7、8，弃上清后以 1mL 后续实验所需相应液体重悬细胞。

二、使用 50mL 离心管时：

情况 A：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，1000×g，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 1200×g）。

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、300×g，离心 10min。

6、弃上清。

7、用吸管以 5mL 等渗溶液重悬所得细胞。

8、300×g，离心 10min。

9、重复 6、7、8，弃上清后以 1mL 后续实验所需相应液体重悬细胞。

情况 B: 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, $500-1100\times g$, 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 $1200\times g$)。
- 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、 $300\times g$, 离心 10min。
- 6、弃上清。
- 7、用吸管以 5mL 等渗溶液重悬所得细胞。
- 8、 $300\times g$, 离心 10min。
- 9、重复 6、7、8, 弃上清后以 1mL 后续实验所需相应液体重悬细胞。

注意事项

- 1、本产品仅限科研使用。
- 2、严禁使用过期产品。
- 3、本产品由专业人员使用, 使用前应仔细阅读说明书, 并做好个人防护。
- 4、若本产品不慎与皮肤接触或进入人眼, 需用大量清水冲洗, 如果仍有不适请及时就医。
- 5、产品使用后产生的医疗废物应按国家相关规定处理。
- 6、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。
- 7、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。