

## 达优® 人淋巴细胞分离液说明书

Cat# 7111011/711101X

### 【产品介绍】

人淋巴细胞分离液为即用型，含有聚蔗糖，它能加速红细胞皱缩沉淀，有助于提高淋巴细胞的分离效果。该产品无菌包装，通过内毒素检测。分离获得的细胞经洗涤后能用于体外培养，不影响后续实验操作。

本品主要用于分离人外周血淋巴细胞，也适用于大多数哺乳动物单个核细胞的分离。

### 【产品信息】

商品名	Human Lymphocyte Separation Medium 人淋巴细胞分离液
适用范围	用于分离人外周血淋巴细胞，也适用于大多数哺乳动物单个核细胞的分离。
规格	100mL/瓶
内毒素含量	< 0.5EU/mL
分离液密度	(1.077±0.001) g/mL (20°C)
渗透压	(290±15) mOsmol/kg
保存条件	4°C-30°C 避光保存，保质期2年。

### 【原理介绍】

密度梯度沉降法是根据细胞密度差异，借助细胞分离液和离心，进行细胞分离纯化的常用方法之一。细胞分离液产生一定密度的密度梯度，将稀释后的全血平铺于分离液之上，离心后，红细胞、粒细胞比重大，沉于管底；淋巴细胞和单核细胞的比重小于或等于分离液比重，漂浮于分离液的液面上，也可有少部分细胞悬浮在分离液中。吸取分离液液面的细胞，就可从外周血中分离到单个核细胞。

### 【使用方法】

1. 取新鲜抗凝全血（EDTA、枸橼酸钠或肝素抗凝剂均可）。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，将稀释后的血样平铺到分离液液面上方，保持两液面界面清晰。分离液、抗凝未经稀释全血、等渗溶液（PBS 或生理盐水）体积为 1:1:1。
3. 室温，水平转子 700g-800g 离心 20min-30min。设置较慢的加速度和减速度，如果有十档，设为第三档。
4. 离心结束后，管底是红细胞，中间层是分离液，最上层是血浆/组织匀浆层，血浆层与分离液层之

间是一层薄较致密的白膜，即：单个核细胞（包括淋巴细胞和单核细胞）层。小心吸取白膜层到另一离心管中。

5. 用等渗溶液（PBS、生理盐水或培养基）稀释到一定体积，颠倒混匀。室温，水平转子 250g，离心 10min 弃上清。重复洗涤 1-2 次。
6. 用等渗溶液（PBS、生理盐水或培养基）将细胞重悬备用。

## 【注意事项】

1. 淋巴细胞分离液请于实验前放置至恢复室温，打开瓶盖前请颠倒混匀。
2. 稀释抗凝全血所用等渗溶液（PBS 或生理盐水）均为无菌液体，也可用 RPMI 1640 培养基稀释。
3. 1:1 稀释血液可降低红细胞的凝聚，提高淋巴细胞收获量。
4. 为保持淋巴细胞的活性，应该采血后尽快进行分离。分离细胞层实际上是单个核细胞层，包括淋巴细胞和单核细胞。
5. 健康人新鲜外周血，推荐分离条件是 800g，20 分钟；如果外周血采集后放置时间过长，可能会造成分离效果变差红细胞残留增多，可以适当延长离心时间改善分离效果。
6. 若操作无误但离心后的界面之间不能形成单个核细胞层，可能是血液量不足，或未使用新鲜血液，或者不适于分离该种动物血液。
7. 分离液开封后，请尽量保存在 2℃-8℃ 环境，避免因液体挥发造成分离液密度变化，影响分离效果。

## 【参考文献】

1. Boyum A.. Scand J. Clin. Lab. Invest. 1968; 21, Suppl. 97.
2. Harris R. & Ukayiofo EV. Lancet. 1969; 327: 7615.

版本号：C/1