

人外周血淋巴细胞分离液说明书

产品编号	产品名称	产品包装
YB01	人外周血淋巴细胞分离液 Human Peripheral Blood Lymphocyte Separation Medium	200 mL/瓶

【产品描述】

外周血单个核细胞 (peripheral blood mononuclear cell, PBMC) 是指外周血中具有单个核的细胞, 包含淋巴细胞、单核细胞、树突状细胞和其它少量细胞 (造血干细胞等)。PBMC 是免疫学功能研究中最常用的细胞模型, 如细胞增殖、细胞毒性、细胞因子分泌等。

本产品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 (红细胞和多核白细胞的比重在 1.092 左右, 单个核细胞的比重为 1.075-1.090, 血小板为 1.030-1.035), 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。本品为带有乳光或微乳光的无菌水溶液, 主要成分是聚蔗糖和泛影酸钠, 适用于从人血液及组织匀浆中分离所需细胞。

【产品性质】

外观	乳光或微乳光的注射水溶液
密度	1.077±0.001 g/mL
渗透压	280~340 mOsmol/kg
无菌	0.1 μm 滤膜过滤除菌
内毒素	≤ 0.5 EU/mL

【保存条件】

常温 (18°C-25°C) 避光保存, 有效期 2 年。无菌条件下启封后置于 4°C 保存, 有效期 6 个月。

【使用方法】

通用实验方法

- 取 2 mL 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。
- 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。
- 室温条件下, 以 400 g-500 g 离心 (水平转子) 离心 30-40 min。
- 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。
- 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 250 g 离心 10 min, 弃上清。重复洗涤 1-2 次。
- 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:

本产品仅供科研使用。请勿用于医药、临床治疗、食品及化妆品等用途。

一、使用 15 mL 离心管时：

情况 A：血液样本量小于 3 mL 时，实验方法如下：

1. 取一支 15 mL 离心管，加入 3 mL 分离液。
2. 用吸管小心吸取血液样本加于分离液之液面上，400-650 g，离心 20-30 min（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 15 mL 离心管中，向所得离心管中加入 10 mL 等渗溶液），混匀细胞。
5. 250 g，离心 10 min。
6. 弃上清。
7. 用吸管以 5 mL 等渗溶液重悬所得细胞。
8. 250 g，离心 10 min。
9. 重复 6、7、8，弃上清后以 1 mL 后续实验所需相应液体重悬细胞。

情况 B：血液样本量为 3-6 mL 时，实验方法如下：

1. 取一支 15 mL 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，450-650 g，离心 20-30 min（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 15 mL 离心管中，向所得离心管中加入 10 mL 等渗溶液），混匀细胞。
5. 250 g，离心 10 min。
6. 弃上清。
7. 用吸管以 5 mL 等渗溶液重悬所得细胞。
8. 250 g，离心 10 min。
9. 重复 6、7、8，弃上清后以 1 mL 后续实验所需相应液体重悬细胞。

二、使用 50 ml 离心管时：

情况 A：血液样本量为 7-10 mL 时，实验方法如下：

1. 取一支 50 mL 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，500-950 g，离心 20-30 min（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 15 mL 离心管中，向所得离心管中加入 10 mL 等渗溶液），混匀细胞。
5. 250 g，离心 10 min。
6. 弃上清。
7. 用吸管以 5 mL 等渗溶液重悬所得细胞。
8. 250 g，离心 10 min。

本产品仅供科研使用。请勿用于医药、临床治疗、食品及化妆品等用途。

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

情况 B：血液样本量为 11-20 mL 时，实验方法如下：

1. 取一支 50 mL 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 g，离心 20-25 min（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 15 mL 离心管中，向所得离心管中加入 10 mL 等渗溶液），混匀细胞。
5. 250 g，离心 10 min。
6. 弃上清。
7. 用吸管以 5 mL 等渗溶液重悬所得细胞。
8. 250 g，离心 10 min。
9. 重复 6、7、8，弃上清后以 1 mL 后续实验所需相应液体重悬细胞。

三、使用新型离心管时：

	抗凝血液	等渗溶液	分离液	离心力	离心时间
15mL 离心管	3mL	3mL	约 4mL（与隔片持平）	400-500g（最大不超过 1000g）	20-30min
	4mL	/			
50mL 离心管	10mL	10mL	约 15mL（与隔片持平）		

【方法局限性】

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。

【注意事项】

1. 本产品仅限科研使用。
2. 严禁使用过期产品。
3. 常温（ 18°C - 25°C ）避光保存，有效期 2 年。无菌条件下启封后置于 4°C 保存，有效期 6 个月。
4. 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。
5. 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。
6. 产品使用后产生的医疗废物应按国家相关规定处理。
7. 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。
8. 本产品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。

本产品仅供科研使用。请勿用于医药、临床治疗、食品及化妆品等用途。

BIOCOMMA PTE. LTD.

Add.: 21 WOODLANDS CLOSE #04-12 PRIMZ BIZHUB SINGAPORE (737854)

Tel.: 400-878-7248 Web: www.biopico.cn