

# 小鼠外周血淋巴细胞分离液

说明书修订日期：2016.03.31

Cat number: KGA831

Storage RT for 2 years

For Research Use Only (科研专用)

## 一、试剂盒说明

小鼠淋巴细胞分离液将人血液中的淋巴细胞分离出来，是由于各种机体的血细胞比重不同制备出不同比重的分离液，它是一种体外应用的生化试剂，主要成分聚蔗糖（Ficoll）或葡聚糖与泛影酸葡甲胺或泛影酸钠，适用于从血液及组织匀浆中分离所需细胞。

## 二、试剂盒组份

组份	Cat: KGA831	保存条件
小鼠淋巴细胞分离液	200ml	室温，有效期两年。
样本稀释液（赠品）	200ml	
清洗液（赠品）	200ml	

## 三、试剂盒以外自备仪器和试剂

离心机（最大离心力要求达到 1200g）

## 四、操作方法

首先取抗凝血按体积比 1:1 的比例与样本稀释液混匀，根据稀释后的样本量大小，分以下两种情况：

情况 A：稀释后的血液样本量小于 5ml 时，实验方法如下：

1. 取一支 15ml 离心管，先加入与稀释后样本等量的分离液（注：分离液最少不得少于 3ml）。
2. 用吸管小心吸取稀释后的血液样本加于分离液液面上，400-500g，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，往所得离心管中加入 10ml 清洗液，混匀细胞。
5. 250g，离心 10min。
6. 弃上清。
7. 用吸管以 5ml 清洗液重悬所得细胞。
8. 250g，离心 10min。
9. 重复 6、7、8，弃上清后以 0.5ml 后续实验所需相应液体重悬细胞。

情况 B：稀释后的血液样本量大于等于 5ml 时，实验方法如下：

1. 取一支适当的离心管，先加入与稀释后样本等量的分离液。
2. 将经稀释后的血液样本小心加于分离液之液面上，550-650g（最大离心力可至 1000g），离心 20-30min。（注：根据血液样本量确定离心条件，血液量越多，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。加入血液样本后，样本及分离液总体积不得超过离心管总体积的三分之二）。

3. 剩余步骤同“情况 A”中步骤 3 至步骤 9。

## 五、注意事项

1. 全过程样本、试剂及实验环境均需在  $20\pm 2^{\circ}\text{C}$  的条件下进行。为获得最佳的实验结果，最好在取血 2h 内进行实验，血液存放时间越长，细胞分离效果越差。血液放置超过 6h 后分离效果更差甚至不能达到分离目的。

2. 本实验最好不要使用高聚合材质（如聚苯乙烯）的塑料制品，应使用无静电、低静电离心管及未经碱处理过的玻璃制品，因为静电作用将导致细胞贴壁、碱处理的玻璃表面会变成毛面，影响细胞分离效果。

3. 吸取过多的淋巴细胞层及分离液层会导致分离液交界处的粒细胞被吸出从而使混杂的粒细胞数量增加。

4. 吸取过多的淋巴细胞层上层溶液会导致血浆蛋白及血小板混杂。