

大鼠外周血淋巴细胞分离液

说明书修订日期：2015.10.21

Cat number: KGA832

Store at 4℃ for 12 months

For Research Use Only (科研专用)

一、试剂盒组份

	名称	规格
A	各种动物外周血淋巴细胞分离液	200ml
B	全血及组织稀释液（赠品）	200ml
C	细胞洗涤液（赠品）	200ml

注：本试剂内容中各单品可根据货号单独购买，客户可根据试剂使用情况自行选择购买。
适用于从动物抗凝血中分离淋巴细胞，无菌条件下所分离的淋巴细胞可用于细胞培养等。
本品仅供科研使用。

二、试剂盒原理

本分离液为 FICOLL、羟乙基淀粉 550 与泛影酸葡甲胺的混合液。抗凝外周血可在分离液中分层。离心时，在 FICOLL、羟乙基淀粉的作用下红细胞与粒细胞聚集并迅速沉降；此时，淋巴细胞及其他单个核细胞仍处于分离液上层，红细胞污染可忽略不计。大部分血小板可在细胞清洗低速离心过程中去除。

其他人及动物多重比重细胞分离液，因不同种属不同比重分离液的细胞离散系数及细胞带电不同，用户在制定分离液时应提供所需分离液的比重、动物种属及被分离细胞的名称。

三、试剂盒以外自备仪器和试剂

可提供 400g 离心力的水平转子离心机、15ml 玻璃离心管、吸管等。

四、试剂盒使用注意事项

1. 使用前，本分离液需复温至 18-22℃。为获得最佳的实验结果，最好在取血后 2 小时内进行试验，血液提取后存放时间越长细胞活性越低。
2. 实验过程中，如需稀释血液或洗涤细胞，不可使用 Ca、Mg 离子的缓冲液及培养液，其

成分会导致血细胞凝集大大降低细胞得率及纯度。本公司生产的全血及组织稀释液和细胞洗涤液不含 Ca、Mg 离子、低内毒素水平且含细胞和保护成分，推荐使用。

3. 最优抗凝剂选择：EDTA、枸橼酸、肝素，其他抗凝剂也可使用，但会影响细胞活性。应注意在血液稀释过程中去除抗凝剂体积。

4. 当血液样本粘度过高或血样样本大于等于 3ml 时，最优稀释方法：将血液于 18-22℃ 以 250g 离心 10 分钟，弃去血浆，补充添加全血及组织稀释液，添加量为所弃去血浆体积的 1.5-2 倍，混匀备用。注：不当的稀释方法会降低细胞得率及活性。

5. 实验操作时，不可使用含粉手套、不可使用内毒素含量过高的液体，手套中的粉末颗粒及高内毒素会激活淋巴细胞从而降低细胞得率及活性。

6. 本实验不可使用高聚合材料（如聚苯乙烯）的塑料制品，其带有的静电作用将导致细胞贴壁影响分离效果。

7. 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。

8. 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。

9. 如需进行 B、T 细胞计数，则需血液贮藏时间不得多于 10 小时，否则将导致细胞被激活，得率降低。

10. 为去除所混杂的血小板，可在分离液上层加上 4-20%蔗糖梯度等渗溶液进行二次离心。

11. 细胞纯度可在步骤 10 后使用瑞氏染色方法确定，细胞活性可用台盼蓝处理后观察。

五、试剂盒操作方法

情况 A：血液样本小于 3ml 时，实验方法如下：

1. 取一支 15ml 离心管，加入 3ml 分离液置于 18-22℃。

2. 将血液样本小心加于分离液之液面上。18-22℃,400g 离心 20 分钟。低温（如 4 度）离心会降低细胞得率。

3. 离心后，用吸管小心吸出分离液上层（包含淋巴细胞的细胞层）0.5cm 以上的上清液部分，弃去。

4. 用吸管小心吸取分离液层及淋巴细胞层置于另一新离心管内。

5. 在步骤 4 中所得离心管加入 10ml 细胞洗涤液混匀。

6. 250g 离心 10 分钟。

7. 弃上清。
8. 用吸管以 5ml 细胞洗涤液重悬所的细胞。
9. 250g 离心 10 分钟。
10. 弃上清。重复 7、8、9，后以 0.5ml 后续实验所需相应液体重悬细胞。

情况 B：血液样本大于 3ml 时，实验方法如下：

1. 首先按“【注意事项】第四条”所述方法稀释血液样本。
2. 取一支适当离心管，加入分离液（加入量与稀释后的血液样本体积相等），置于 18-22℃。
3. 将经稀释处理的血液样本小心加于分离液之液面上。18-22℃,400g 离心 20 分钟。低温（如 4 度）离心会降低细胞得率。注：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。
4. 剩余步骤“情况 A”中步骤 3 至步骤 10。

六、试剂盒说明

储存条件：

18-25℃避光保存，有效期 2 年。启封后置 4℃保存，溶液变浑浊或感染细菌时，产品失效。

本品为真空包装，未启封前置于 10℃以下易出现白色结晶，影响分离效果。

适用仪器：

半径 15cm 水平转子离心机。

样本要求：

本分离液要求血液为新鲜的抗凝血，血液收集时应无菌操作且在储存、处理和运输过程中避免冷冻和冷藏。

参考值（参考范围）：

本实验淋巴细胞的提取率及纯度均大于 80%。

检验结果的解释：

由于各品牌离心机的性能不同，国内南北地区温度环境和四季的差异，可能影响分离效果，用户可以调节离心转数和离心时间，摸索最佳的分离条件（具体分离条件各实验室自定）。

检验方法的局限性：

本实验要求，在正常大气压下，样本、分离液及分离环境温度均为 18-22℃。本分离液在低温

时呈较高密度，在高温时呈较低密度。

产品性能指标：

pH	7.0-7.5
渗透压	280-340mOsmol/kg
无菌	直接接种培养 14 天后培养基澄清
澄明度及不溶性颗粒物	每 50mL 溶液中含 10um 以上的不溶性微粒 20 粒以下， 含 25um 以上的不溶性微粒 5 粒以下。