

## 大鼠外周血淋巴细胞分离液试剂盒

产品编号：MA0633 规格：200 ml

### 产品内容

产品组成	产品体积/数量
大鼠外周血淋巴细胞分离液	200 ml
样本稀释液	200 ml
细胞清洗液	200 ml
台盼蓝染色液（0.4%）	1ml
说明书	2 份

### 产品简介

本产品是一种用于分离大鼠外周血中单个核细胞（主要为淋巴细胞）的无菌的密度梯度细胞分离液。其原理是根据大鼠外周血中各种细胞的密度不同，使用特定密度的细胞分离液（为1.084），经过梯度离心，可以使细胞在较短的时间内按照相应的密度梯度分布，从而将血液中的淋巴细胞分离出来。无菌条件下分离的淋巴细胞可用于后续培养。

为了产品使用起来的方便与高效，本试剂盒配置了分离淋巴细胞过程中专用的样本稀释液、细胞清洗液和台盼蓝染色液。使用本试剂盒中的细胞清洗液清洗细胞可以极大的提高细胞回收率，减少在后续清洗过程中造成的细胞损失。

### 产品适用范围

本产品适用于从大鼠的抗凝血中分离单个核细胞（主要为淋巴细胞）。

### 保存条件

18-25℃避光保存，有效期2年。本品易感染细菌，需在无菌条件下操作，启封后4℃避光保存。

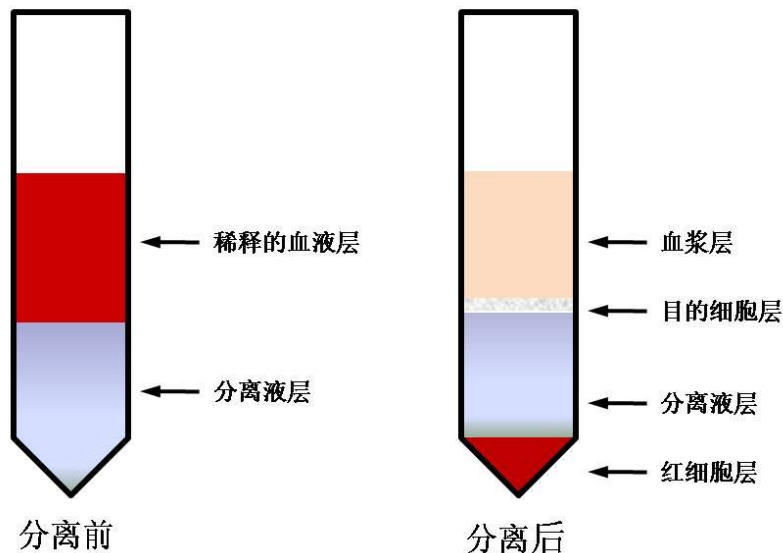
### 操作步骤

1. 取新鲜的大鼠的抗凝血全血（EDTA、枸橼酸钠或肝素抗凝即可）或者去纤维蛋白血液，用等体积的本试剂盒中的样本稀释液稀释全血。
2. 在离心管中加入适量分离液（当稀释后血液体积小于3ml时，加入3ml分离液；大于等于3ml加入等体积分离液。但二者的总体积不能超过离心管的三分之二，否则会影响分离效果），将稀释后的血液平铺到分离液液面上方，注意保持两液面界面清晰。（可以用巴氏德吸管吸取血液，

然后将血液小心的平铺于分离液上。如果样品较多加样时间较长，在离心之前出现红细胞成团下沉属正常现象)

3. 室温，水平转子 400~1000g，离心 20~30min。(血液体积越大所需的离心力越大，离心时间越长，可根据具体情况摸索最佳分离条件)
4. 离心之后将出现明显的分层：最上层是稀释的血浆层，中间是透明的分离液层，血浆与分离液之间的白膜层即为目的细胞层，离心管底部是红细胞与粒细胞层。
5. 小心的吸取白膜层细胞到 15mL 洁净的离心管中，加入 5~10ml 左右本试剂盒中的细胞清洗液洗涤细胞。250-500g 离心 5-10min。
6. 洗涤 2-3 次，弃上清，用 PBS 重悬细胞备用。

### 分离过程示意图



### 注意事项

1. 开封前请将本产品颠倒混匀，本分离液为无菌产品，为延长分离液保存时间，请在无菌条件下启封，启封后置于 4℃ 保存，防止微生物污染。
2. 室温下分离效果最好 (20±2℃)，低温可能会导致白膜层中红细胞污染严重，高温可能会导致分离出的细胞数变少。
3. 血液样本最好为新鲜的抗凝血 (2h 以内)，为保持细胞的活性，避免冷冻和冷藏。血液放置超过 6h 会导致分离效果变差甚至不能达到分离目的。
4. 为保证本产品能够达到最佳的分离效果，请使用本试剂盒内配置的专用的细胞清洗液和样本稀释液进行操作。
5. 部分塑料制品 (如聚苯乙烯) 因其带有静电作用，可能会导致细胞挂壁，影响分离效果。

6. 吸取过多的分离液层可能会导致混杂的粒细胞数量增加；吸取过多的血浆层可能会导致细胞中血浆蛋白及血小板污染。

7. 如果要进一步对分离的细胞进行培养，需要在收集血液和分离的过程中，注意无菌操作。

## 台盼蓝染色液(0.4%)

产品编号	产品名称	包装
MA0130	台盼蓝染色液(0.4%)	1ml

### 产品简介:

台盼蓝 (Trypan Blue), 分子式为  $C_{34}H_{24}N_6O_{14}S_4Na_4$ , 分子量为 960.81。常用的生化试剂, 是细胞活性染料, 常用于检测细胞膜的完整性与细胞的存活率, 是组织和细胞培养中最常用的死细胞鉴定染色方法之一。

### 保存条件:

室温保存, 一年有效。

### 使用方法:

#### 1. 收集细胞:

用胰酶和/或 EDTA 消化贴壁细胞, 悬浮细胞可直接收集。收集细胞时用 1000-2000 rpm 离心 1 分钟, 弃上清, 制备单细胞悬液, 并做适当稀释。

#### 2. 台盼蓝染色:

细胞悬液与 0.4% 台盼蓝溶液以 9:1 比例混匀 (台盼蓝终浓度为 0.04%), 染色 3 分钟 (染色 3 分钟时间已经足够, 染色时间可更长一些, 但不宜超过 10 分钟)。

#### 3. 细胞计数:

吸取少量经过染色的细胞, 用血细胞计数板计数。死细胞着蓝色并膨大, 无光泽; 活细胞不着色并保持正常形态, 有光泽。通常要比较精确地进行定量, 每个细胞样品至少数 500 个细胞。

$$\text{细胞存活率 (\%)} = \frac{\text{活细胞总数}}{\text{活细胞总数} + \text{死细胞总数}} \times 100\%$$

### 注意事项:

- 1、染色时间不能太长, 否则活细胞也会逐渐积累染料而染成颜色, 使检测结果偏低。
- 2、本产品低温放置或室温放置久后可能会出现少量染料析出, 属于正常现象, 水浴温热后可重新溶解。若有少量析出仍无法溶解, 可以用滤纸过滤后再正常使用。
- 3、本产品为无菌包装, 使用时最好在超净台内进行, 避免细菌污染。

- 4、 另可结合细胞计数方法，同时进行细胞计数和活力检测。
- 5、 有潜在致癌危险，为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。