

人外周血淋巴细胞分离液（内毒素 ≤ 0.03 EU/ML）

产品编号：PWL100 规格：200 ml

产品内容

产品组成	PWL100
人外周血淋巴细胞分离液（内毒素 ≤ 0.03 EU/ML）	200 ml
说明书	1 份

产品简介

本产品是一种用于分离人外周血中单个核细胞（主要为淋巴细胞）的无菌、低内毒素水平的密度梯度细胞分离液。

外周血中单个核细胞包括淋巴细胞和单核细胞等，其体积、形态和密度均与其他细胞不同，红细胞和粒细胞等细胞密度较大，为1.090g/ml左右，而淋巴细胞和单核细胞的密度为1.075~1.077g/ml，血小板的密度为1.030~1.035g/ml。本产品将泛影酸钠和羟乙基淀粉按照一定比例配制成一种密度为1.077g/ml的等渗的细胞分离液，通过密度梯度离心，可以使细胞在较短的时间内按照相应的密度梯度分布，从而将血细胞中的淋巴细胞和单核细胞分离出来。

本产品经过0.1 μ m滤膜过滤除菌，内毒素含量 ≤ 0.03 EU/ML，并通过无菌检测。

产品适用范围

本产品适用于从人的抗凝血液中分离单个核细胞（主要为淋巴细胞）。

保存条件

常温避光保存，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 $^{\circ}$ C避光保存。启封后建议尽快使用，本分离液在4 $^{\circ}$ C下长期存放易出现结晶，影响分离效果。

操作步骤

1. 取新鲜的抗凝血全血（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PBS或者0.9%的NaCl溶液（生理盐水）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 $400-1000\times g$ ，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 PBS 洗涤。250-300×g 离心 10min。
6. 弃上清，用 2-10ml PBS 重悬细胞，250-300×g，离心 10min。
7. 弃上清，重悬细胞备用。

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，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（ $20\pm 2^{\circ}\text{C}$ ），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. 稀释血液或洗涤细胞，不可使用含钙、镁离子的缓冲液或培养液。
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。