

货号	名称	规格	应用
SP00859-0200	人外周血淋巴细胞分离液	200 mL	细胞组织处理

人外周血淋巴细胞分离液

产品说明书

产品规格：200 mL

产品货号：SP00859-0200

1. 产品描述：

本产品是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（红细胞和粒细胞密度为1.090 g/mL左右；淋巴细胞和单核细胞密度为1.075~1.090 g/mL；血小板为1.030~1.035 g/mL），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。



2. 产品参数:

外观	乳光或微乳光的注射水溶液
密度值 (20 ± 2 °C)	1.077±0.001 g/mL
渗透压	280-340 mOsm/kg
内毒素	合格
无菌	0.1µm滤膜过滤
储存条件	常温, 24个月

3. 使用方法:

1. 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。
2. 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, 保持量液面界面清晰。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。
3. 室温条件下, 以1000×g离心 (水平转子) 离心30~40 min。
4. 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。
5. 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300×g离心10 min, 弃上清。重复洗涤1~2 次。
6. 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:

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， $1000\times g$ ，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. $300\times g$ ，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. $300\times g$ ，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， $1000\times g$ ，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 $1200\times g$ ）。
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. $300\times g$ ，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. 300×g, 离心10 min。
9. 重复 6、7、8, 弃上清后以1mL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, 1000×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. 300×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. 300×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. 300×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. 300×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。

4. 注意事项：

1. 本产品仅限科研使用。
2. 严禁使用过期产品。
3. 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。
4. 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。
5. 产品使用后产生的医疗废物应按国家相关规定处理。
6. 稀释血液或洗涤细胞时，不可使用含Ca²⁺、Mg²⁺的缓冲液或培养基，否则会降低细胞得率或纯度。
7. 本产品最佳使用环境为正常大气压，温度为20 °C±2 °C，否则会影响质量。

免责声明：仅供科研使用， 本公司将不为任何不正常使用此产品时所发生的意外负责。

