www.bioss.com.cn
sales@bioss.com.cn
techsupport@bioss.com.cn
400-901-9800

鸡外周血淋巴细胞分离液试剂盒
Lymphocyte Separation Medium Kit (Chicken)

产品编号： CS106

保存条件： 室温避光保存，2年有效.

产品介绍： **试剂盒组成：**

各种动物外周血淋巴细胞分离液： 200mL

全血及组织稀释液： 200mL

细胞洗涤液： 200mL

产品简介：

本产品是一种用于分离各种动物外周血淋巴细胞的无菌、低内毒素水平的密度梯度分离液。适用于从各种动物抗凝血液中分离单个核细胞（主要为淋巴细胞），无菌条件下所分离的细胞可用于免疫学检测。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1.030~1.035g/mL），依此，将葡聚糖（右旋糖酐）和泛影酸钠按一定比例混合，调整比重、pH 值和渗透压，经过澄清及过滤除菌后制成一种密度梯度分离液，经过密度梯度离心使一定密度的细胞按相应密度梯度分布，从而将各种血细胞加以分离。通过离心使一定密度的细胞按相应密度梯度分布，从而将淋巴细胞从各种动物外周血或脐带血中分离出来。

产品参数：

密度：1.077±0.001g/ml

渗透压：290~350 mOsm/kg H2O

无菌：0. 1μm 滤膜过滤

操作步骤：

1. 取新鲜抗凝全血（EDTA、枸橼酸钠或肝素抗凝均可）或者去纤维蛋白血液，用等体积（1:1）的全血及组织稀释液或者PBS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。（可以使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，因为两者的密度差异，将形成明显的分层界面。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500~1000g，离心20~30min（血液的体积越大所需的离心力越大，离心时间越长，最佳的分离条件需摸索，离心转速最大不超过1200g）。

Important Note: This product as supplied is intended for research use only, not for use in human, therapeutic or diagnostic applications.

4. 离心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淋巴细胞层，离心管底部是红细胞与粒细胞。

5. 小心的吸取白膜层细胞到15mL洁净的离心管中，10mL PBS或细胞洗涤液洗涤白膜层细胞。250g，离心10min。

6. 弃上清，5mL的PBS或细胞清洗液重悬细胞，250g，离心10min。

7. 重复步骤 6

8. 弃上清，细胞重悬备用。

分离纯度：

使用该分离液分离的细胞纯度大于90%。

注意事项：

1. 开封前颠倒混匀，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，避免污染。

2. 本分离液要求血液为新鲜抗凝血（采血2 h以内），避免冷冻和冷藏；如果要进一步对分离的细胞进行培养，在收集血液和分离过程中，注意无菌操作，避免污染。

3. 本实验要求，在正常大气压下，分离液、分离样本以及分离环境温度为（18℃~25℃）。分离液在低温时呈较高密度，在高温时呈较低密度。细胞分离液从冰箱取出后，不可立即使用，操作前可将样本和分离液置于20℃水浴中复温20分钟以保证分离温度。4℃或者是温度较低的条件下离心，可能会导致白膜层中红细胞污染加重。

4. 稀释血液或洗涤细胞，不可使用含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。

5. 由于各品牌离心机的性能不同，实验室环境温度差异，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）。

6. 部分塑料制品（如聚苯乙烯）因其带有的静电作用，可能会导致细胞挂壁，影响分离效果。最好使用无静电反应的离心管，推荐使用未经过碱处理的玻璃离心管。

7. 最优抗凝剂选择：EDTA、枸橼酸、肝素。应注意在血液稀释过程中应去除抗凝剂体积。

8. 血液样本的粘稠度或者是温度差异，可能会影响分离效果，可以调节离心转数和离心时间，请摸索最佳的分离条件。

9. 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；吸取过多的血浆层可能会导致淋巴细胞中血浆蛋白及血小板污染。

10. 不同动物血液在不同比重分离液中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。

可能存在的问题及解决方法：

1. 离心后目的细胞存在于血浆层或稀释液层，可能原因是转速过小或离心时间过短，解决办法可以适当增加转速。

2. 离心后目的细胞存在于分离液中，可能原因是转速过大或离心时间过长，解决办法可以适当减低转速。

3. 离心后白膜层弥散，可能原因是细胞密度过大，解决办法适当调整细胞密度。

4. 离心后白膜层太浅或看不见，可能原因是细胞密度过小，解决办法适当调整细胞密度。

Important Note: This product as supplied is intended for research use only, not for use in human, therapeutic or diagnostic applications.

Important Note: This product as supplied is intended for research use only, not for use in human, therapeutic or diagnostic applications.