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

动物组织淋巴细胞分离试剂盒（人、猴、羊、猪、鱼）
Lymphocyte Separation Medium Kit (Animal tissue)

产品编号： CS121

保存条件： 室温避光保存，2年有效.

产品介绍： **试剂盒组成：**

各种动物脏器组织淋巴细胞分离液： 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脏器组织淋巴细胞的无菌、低内毒素水平的密度梯度分离液。适用于从各种动物脏器组织中分离单个核细胞（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。其分离原理是根据细胞的密度差异将葡聚糖（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脏器组织中分离出来。

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

适用动物种属：人、猴、羊、猪、鱼的组织（脾脏、骨髓、脏器组织、肿瘤浸润组织）淋巴细胞分离及单个核细胞分离。

组织单细胞悬液制备方法（仅供参考）：

组织研磨法：

1. 无菌条件下摘取脏器组织，撕去被膜，用眼科剪将脏器组织剪成小块。
2. 将尼龙筛网或者是细胞过滤筛放置于平皿上，加入少量全血及组织稀释液（保证脏器组织及获得的细胞处于液体环境中）。
3. 将脏器组织放置于筛网上，使用注射器活塞或者是无菌镊子来研磨脏器组织（尽量控制研磨力度，保持筛网悬空，避免在皿底上直接研磨而造成大批细胞死亡）。
4. 研磨完全后使用全血及组织稀释液冲洗筛网，收集细胞悬液，再经滤网过滤。

注：

1. 可用酶消化法，使用胶原酶对脏器组织组织进行消化，得到单细胞悬液。
2. 如果最终得到的细胞需要培养，那全过程所需试剂与器材均要求无菌。
3. 根据脏器组织的体积控制单细胞悬液的浓度在$10^{8\sim9}$个/mL。

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

淋巴细胞分离方法：

1. 制备脏器组织单细胞悬液。

2. 取一支适当的离心管，加入与组织单细胞悬液等量的分离液（分离液最少不得少于3 mL，总体积不能超过离心管的三分之二，否则会影响分离效果）。

3. 小心吸取单细胞悬液加于分离液液面上，注意保持两液面界面清晰。（可以使用巴氏德吸管吸 取单细胞悬液，然后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。）

4. 室温，水平转子500~900 g，离心20~30 min。（根据脏器组织单细胞悬液的量确定离心条件，单细胞悬液量越大，离心力越大，离心时间越长，具体离心条件可以自行摸索，以达到最佳分离效果）。

5. 离心后，此时离心管中由上至下细胞分四层。第一层为稀释液层；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。

6. 用吸管小心吸取第二层环状乳白色淋巴细胞层至另一洁净的 15 mL离心管中，向离心管中加入10ml细胞洗涤液洗涤白膜层细胞，250 g，离心10 min。

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

8. 重复步骤7

9. 弃上清，细胞重悬备用。

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. 待分离的组织要求新鲜，避免冷冻和冷藏。

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. 细胞重悬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。

8. 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。

9. 不同动物的组织细胞重悬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

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

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.