

Lymphocyte Separation Medium

人外周血淋巴细胞分离液

产品编号	产品名称	规格
MF3010	人外周血淋巴细胞分离液	200ml

产品简介:

本产品是一种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（淋巴细胞和单核细胞的密度介于 1.075~1.090g/mL 之间，红细胞和粒细胞的密度为 1.092 g/mL 左右，血小板为 1.030~1.035 g/mL 之间），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。

使用方法:

本产品最佳使用环境为正常大气压，温度为 20℃±2℃，否则会影响质量。

一、通用实验方法

- 1.取 2mL 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，保持最液面界面清晰。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 400~500g 离心（水平转子）离心 30~40min。
- 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），小心吸取自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 250g 离心 10min，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：

二、使用 15mL 离心管时:

情况 A: 血液样本量小于 3mL 时，实验方法如下:

- 1.取一支 15mL 离心管，加入 3mL 分离液。
- 2.用吸管小心吸取血液样本加于分离液之液面上，400~650g，离心 20-30min（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，离心时间超长，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个 15mL 离心管中, 向所得离心管中加入 10mL 等渗溶液), 混匀细胞。

5. 250g, 离心 10min。

6. 弃上清。

7. 用吸管以 5mL 等渗溶液重悬所得细胞。

8. 250g, 离心 10min。

9. 重复 6、7、8. 弃上清后以 0.5~1mL 后续实验所需相应液体重悬细胞。

情况 B: 血液样本量为 3-6mL 时, 实验方法如下:

1. 取一支 15mL 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, 450~650g, 离心 20-30min (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 1200g)。

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 15mL 离心管中, 向所得离心管中加入 10mL 等渗溶液), 混匀细胞。

5. 250g, 离心 10min。

6. 弃上清。

7. 用吸管以 5mL 等渗溶液重悬所得细胞。

8. 250g, 离心 10min。

9. 重复 6、7、8, 弃上清后以 0.5~1mL 后续实验所需相应液体重悬细胞。

三、使用 50ml 离心管时:

情况 A: 血液样本量为 7-10mL 时, 实验方法如下:

1. 取一支 50mL 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, 500~950g, 离心 20-30min (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 1200g)。

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 15mL 离心管中, 向所得离心管中加入 10mL 等渗溶液), 混匀细胞。

5. 250g, 离心 10min。

6. 弃上清。

7. 用吸管以 5mL 等渗溶液重悬所得细胞。

8. 250g, 离心 10min。

9. 重复 6、7、8, 弃上清后以 0.5~1mL 后续实验所需相应液体重悬细胞。

情况 B: 血液样本量为 11-20mL 时, 实验方法如下:

- 1.取一支 50mL 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，500~1100g，离心 20-25min（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 1200g）。
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 15mL 离心管中，向所得离心管中加入 10mL 等渗溶液），混匀细胞。
5. 250g，离心 10min。
6. 弃上清。
7. 用吸管以 5mL 等渗溶液重悬所得细胞。
8. 250g，离心 10min。
9. 重复 6、7、8，弃上清后以 0.5~1mL 后续实验所需相应液体重悬细胞。

【检验结果的解释】

分离正常人外周血，每毫升全血可获得的单个核细胞数应 $\geq 0.5 \times 10^6$ 个。

【检验方法的局限性】

本产品的分离效果受储存条件、环境温度、操作者的经验、样本质量、离心条件等因素影响。本分离液最佳环境为正常大气压、环境温度为 $20 \pm 2^\circ\text{C}$ 。本分离液在低温时呈较高密度，在高温时呈较低密度。不同的地区可根据当地情况对离心条件进行适当调整。建议对离心条件进行调整时，恒定离心时间，对离心转速进行调整。

【产品性能指标】

外观：本产品为乳光或微乳光的注射水溶液

密度： $1.077 \pm 0.001 \text{ g/mL}$

渗透压：280~340 mosmol/kg

无菌：0.1 μm 滤膜过滤

注意事项：

- 1.当血液样本粘度过高需要稀释时，最优稀释方法为血液样本与稀释液按 1:1 比例进行稀释。不当的稀释方法会降低细胞得率及活性；
2. 因血液样本的个体差异及血液粘度不同，需调整离心力及离心时间，最大离心力不超过 1000g；
- 3.稀释血液或洗涤细胞时，不可使用含 Ca^{2+} 、 Mg^{2+} 的缓冲液或培养基，否则会降低细胞得率或纯度；
- 4.本产品最佳使用环境为正常大气压，温度力 $20^\circ\text{C} \pm 2^\circ\text{C}$ ，否则会影响质量；
- 5.本产品仅限于专业人员的科学研究用，不得用于临床诊断或治疗，不得用于食品或药品；
- 6.为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。

有效期：

常温（ $18^\circ\text{C} \sim 25^\circ\text{C}$ ）避光保存，有效期 2 年。无菌条件下启封后置于 4°C 保存，有效期 6 个月。