

# 大鼠小鼠外周血淋巴细胞分离液

Lymphocyte Separation Medium(Rat and Mouse)

## 使用说明书

货号及规格:

目录编号	包装规格
M337-01	100mL

**储存条件:** 冰袋运输; 2-8°C避光保存, 有效期 12 个月。

**产品概述:**

本产品是适用于大鼠和小鼠外周血淋巴细胞分离的梯度密度分离液, 其原理主要是根据外周血不同细胞之间的密度差异(红细胞和粒细胞密度大约为 1.090 g/mL; 血小板密度 1.030-1.035 g/mL; 淋巴细胞和单核细胞密度 1.075-1.090 g/mL), 通过梯度密度离心, 将淋巴细胞从外周血中分离出来。

本产品为无菌、低内毒素水平的即用型分离液, 液密度为  $1.083 \pm 0.001$  g/mL(20°C)。啮齿动物的淋巴细胞密度稍高于人淋巴细胞, 且小鼠外周血分离易溶血。根据这些特性, 本产品在传统 Ficoll-泛影葡胺基础上进行了优化, 能够在血液加入后较长的时间内维持分离液的稳定性, 且使用操作简单且分离的淋巴细胞纯度高、状态好。

**操作步骤:**

以分离 1 mL 鼠类外周血淋巴细胞分离为例, 血液和淋巴细胞分离液体积比为 1:1-1:2, 在此范围内适当调整; 选择离心管时需注意, 血液和淋巴细胞分离液总体积不超过离心管容积的三分之二。

1. 取新鲜抗凝全血(肝素、EDTA、枸橼酸钠等抗凝剂皆可)1 mL, 加入等体积 PBS(**推荐 C511**)或者无钙镁 Hanks 缓冲液(**推荐 C509**)稀释, 即得到 2 mL 稀释的全血。

2. 吸取大小鼠外周血淋巴细胞分离液 3 mL 加入到 15 mL 无菌离心管中。
3. 将离心管倾斜 45°，将 2 mL 稀释后的血液沿管壁缓慢加入到离心管中，使血液平铺在大小鼠外周血淋巴细胞分离液上层。
4. 建议使用水平转头离心机离心，将离心管置于水平转头适配器中，降低离心机加减速(3-5 档为宜)，室温条件下 800 xg 离心 25 min。
5. 离心后，轻拿离心管置于管架上，可观察到明显的分层现象：最上层是血浆层；中上白膜层是淋巴细胞层；中下层为淋巴细胞分离液层；最下层为红细胞和粒细胞层(参考附图)。
6. 吸除最上层血浆层，小心吸取白膜层(淋巴细胞层)到另外一个洁净的无菌离心管。
7. 用 8 mL PBS(推荐 C511)或其他缓冲液洗涤后，100 xg 离心 10 min，弃上清。
8. 重复步骤 7(可选)。
9. 根据实验目的用所需培养基或缓冲液重悬淋巴细胞。

#### 注意事项：

1. 本产品在使用前需室温充分平衡并颠倒混匀，分离时温度以 18-25°C 为宜。
2. 为保持淋巴细胞的活性，血液最好选取采血 2 小时以内的新鲜抗凝血液；如需对分离的淋巴细胞进行进一步的培养和检测，请在采血和分离的过程中注意无菌操作。
3. 稀释或洗涤缓冲液，不可使用含钙、镁离子的缓冲液，以免导致血细胞凝聚。
4. 过多的吸取白膜层以外的成分，会导致交界处的一些粒细胞或血小板等被混入。
5. 由于不同血液样本间的差异，可能对分离效果产生影响。客户可根据实际情况适当调整离心力和时间，参考离心力和时间范围为：500-1000 xg、20-30 min。
6. 将血液和淋巴细胞分离液混合一定时间后，出现红细胞沉降属于正常现象。
7. 为了您的健康和安，操作时请穿好实验服并佩戴一次性手套。
8. 本产品仅供科研使用，严禁用于临床诊断和药物等用途。

附图：分离前后，各层示意图

