

## 各种动物外周血中性粒细胞分离液试剂盒

规格: 200 mL/kit

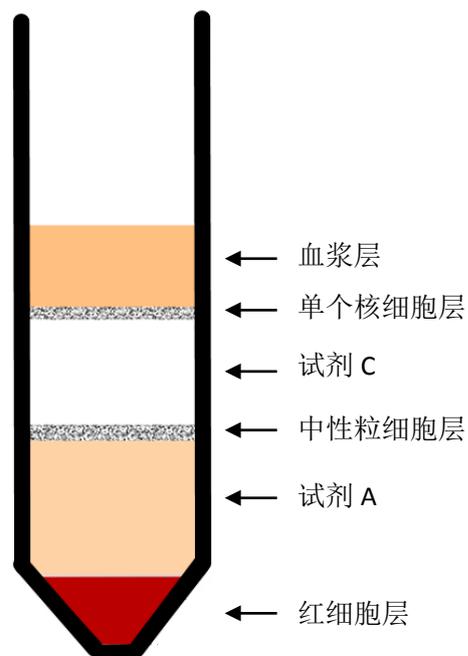
保存: 本产品对光敏感, 应该室温避光储存, 保质期 2 年。无菌开封后, 保存于室温。

### 试剂盒组成:

试剂A	200mL
试剂C	100mL
细胞洗涤液	200mL
红细胞裂解液	100mL

### 操作步骤 (仅供参考):

1. 取新鲜抗凝全血, 血液体积小于5mL时, 在离心管中先加入4mL试剂A, 后将2mL试剂C小心叠加于试剂A之上, 形成梯度界面 (血液体积大于等于5mL, 试剂A与试剂C比例2: 1, 试剂总量与稀释后的样本量相等。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, 加样的时间较长, 在离心之前出现红细胞成团下沉属正常现象。)
2. 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)。
3. 离心后, 离心管中将出现两层环状乳白色细胞层, 上层细胞为单个核细胞层, 下层细胞为中性粒细胞层, 如图所示 (个体差异或者是分离条件不同, 粒细胞层可分离不明显)。
4. 用吸管小心吸取试剂C与试剂A之间以及试剂A中的中性粒细胞到15mL洁净的离心管中, 10mL PBS或细胞洗涤液洗涤细胞。250g, 离心10min (如有红细胞混杂则加入适量红细胞裂解液)。
5. 弃上清, 5mL的PBS或细胞清洗液重悬细胞, 250g, 离心10min。
6. 重复步骤5
7. 弃上清, 细胞重悬备用。



分离示意图

### 注意事项:

- A. 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, 避免微生物污染。
- B. 分离液使用时应始终保持室温 (18°C~25°C), 如室内温度较低, 可将分离液预热。4°C或者是

温度较低的情况下离心，可能会导致白膜层中红细胞污染加重。

C. 血液样本最好为新鲜抗凝血（采血2 h以内），为保持淋巴细胞的活性，应避免冷冻和冷藏。

D. 血液样本不需稀释，直接进行分离即可。

E. 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。

F. 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。

G. 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，摸索最佳的分离条件。

H. 如果要进一步对分离的细胞进行培养，那在收集血液和分离过程中，注意无菌操作，避免微生物污染。

I. 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。

#### **相关产品：**

*R1018 细胞洗涤液*

*S9020 优级胎牛血清*

*R1017 全血及组织稀释液*

*31800 RPMI Medium 1640*

*T1300 胰蛋白酶-EDTA消化液(0.25%) 不含酚红*

*YA0902 一次性巴氏德吸管*

*各种其他动物及其他细胞的分离液及试剂盒*

#### **相关文献：**

[1] Suoyu Zhu, Qunying Wu, Chenxia Zhang, et al. miR-20a inhibits the killing effect of natural killer cells to cervical cancer cells by downregulating RUNX1. *Biochemical and Biophysical Research Communications*. October 2018. (IF 2.559)

**注：更多使用本产品的文献请参考索莱宝官网。**