

## 人乳汁淋巴细胞分离液试剂盒说明书

货号: P5710

规格: 200mL/kit

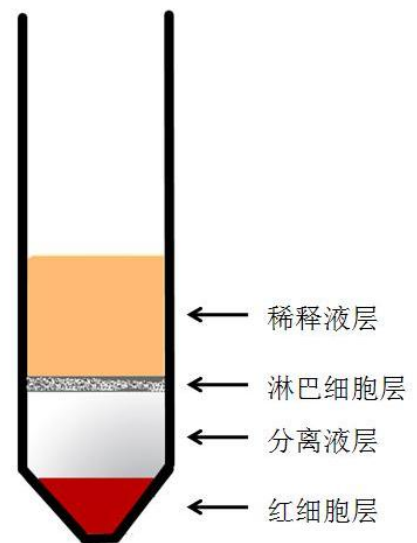
保存: 本产品对光敏感, 应该室温避光储存, 保质期 2 年。无菌开封后, 保存于室温。

### 试剂盒组成:

人乳汁淋巴细胞分离液	200mL
全血及组织稀释液	200mL
细胞洗涤液	200mL

### 淋巴细胞分离方法 (仅供参考)

1. 取适当的人乳汁原液, 离心 (500g, 10min) 收集沉淀。
2. 用样本稀释液重悬细胞, 将细胞悬液细胞浓度调整为  $2 \times 10^8 \sim 1 \times 10^9/\text{ml}$  制备乳汁单细胞悬液。
3. 取一支适当的离心管, 加入与乳汁单细胞悬液等量的分离液 (分离液最少不得少于 3mL, 总体积不能超过离心管的三分之二, 否则会影响分离效果)。
4. 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。)
5. 室温, 水平转子 500~900 g, 离心 20~30 min。(根据乳汁单细胞悬液量确定离心条件, 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)。
6. 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。
7. 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。
8. 弃上清, 5mL 的 PBS 或细胞清洗液重悬细胞, 250 g, 离心 10 min。
9. 重复步骤 7
10. 弃上清, 细胞重悬备用。



### 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 ( $18^{\circ}\text{C} \sim 25^{\circ}\text{C}$ ), 如室内温度较低, 可将分离液预热。4 $^{\circ}\text{C}$  或者是温度较低的条件离心, 可能会导致白膜层中红细胞污染加重。
- C. 待分离的组织要求新鲜, 避免冷冻和冷藏。

- D. 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。
- E. 如果要进一步对分离的细胞进行培养，那在制备单细胞悬液和分离过程中，注意无菌操作，避免微生物污染。

#### **参考文献：**

1. Boyum A. Separation of leucocytes from blood and bone marrow. Scand J Clin Lab Invest Suppl. 1968; 97: 7.
2. Ting A, Morris PJ. A technique for lymphocyte preparation from stored heparinized blood. Vox Sang. 1971 Jun; 20(6): 561-3.
3. Boyum A. Separation of Blood Leucocytes, Granulocytes and Lymphocytes Tissue Antigens. 1974; 4(4): 269-74.
4. Weisbart RH, Webb WF, Bluestone R, Goldberg LS. A simplified method for lymphocyte separation. Vox Sang. 1972; 23(5): 478-80.

#### **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