

Lymphocyte Separation Medium 1.084

淋巴细胞分离液 1.084

产品简介

淋巴细胞分离液 1.084 (Lymphocyte Separation Medium 1.084, 简称 LSM-1.084) 是一种无菌的即用型分离液, 基于 Böyum 的 Ficoll-甲泛影钠溶液做了改良, 操作更加简单快速且分离效率更高。本品是无菌的聚蔗糖 Ficoll/泛影酸钠混合溶液, 密度为 1.084 g/ml, 内毒素含量极低 (<0.12 EU/mL), 生产条件符合 ISO13485:2003 标准和 GMP 认证。相较于密度为 1.077 g/mL 的人淋巴细胞分离液, 本品适用于分离更高密度的人单个核细胞, 包括外周血, 脐带血以及骨髓瘤来源的组织样本; 同样适用于分离大小鼠血细胞, 因为啮齿动物的淋巴细胞密度稍高于人淋巴细胞。

产品信息

货号	C230132E
规格	100 mL

储存条件

室温运输。4-30°C 密闭避光环境下可稳定保存 3 年, 开瓶后需 4-8°C 保存。

注意事项

1. 稀释去纤维蛋白血液或肝素化血液用的盐溶液为无菌液体。
2. 为保持淋巴细胞的活性, 应该采血后尽快进行分离。分离细胞层实际上是单个核细胞层, 包括淋巴细胞和单核细胞。
3. 为了您的安全和健康, 请穿实验服并佩戴一次性手套操作。
4. 本产品仅用于科研。

使用说明

1. 材料准备

- 1) 样本体积 (4 mL 总体积): 取 2 mL 的去纤维蛋白或抗凝血, 将其与等体积 (2 mL) 的无菌盐溶液以 1: 1 比例混合。

【注】大体积的血样可以得到相同的分离效率, 只需选用更大直径的离心管, 以维持血样高度 (约 3 cm) 和 LSM-1.084 溶液的高度 (约 2.4 cm)。

- 2) LSM-1.084 分离液, 使用前需放到室温环境下温度平衡 10-30 min。
- 3) 平衡盐溶液: 用做稀释和清洗液, 建议直接购买商业化的盐溶液。也可以使用其他溶液, 如不含 $\text{Ca}^{2+}/\text{Mg}^{2+}$ 的磷酸盐溶液 (如 DPBS 溶液), Hank's, 或者细胞培养液 (如 RPMI 1640)。

2. 分离单个核细胞

- 1) 取 2 mL 的去纤维蛋白或抗凝血，将其与等体积 (2 mL) 的无菌盐溶液以 1: 1 比例混合，于 10-15 mL 离心管中颠倒混匀，或用枪上下轻轻吹打数次以至混匀。

【注】 肝素、EDTA、柠檬酸钠、ACD、CPD 抗凝皆可。去纤维蛋白血不需要抗凝剂。

- 2) 使用前轻轻颠倒瓶子使 LSM-1.084 充分混合，用注射器或枪头无菌条件转移 3 mL LSM 到 10-15 mL 离心管中。
- 3) 小心将稀释血液加入 3 mL LSM-1.084 (室温即可) 的上层，使得在血液和 LSM 间形成一个明显的分层。不要将稀释血液混入 LSM-1.084 中。如图 1。

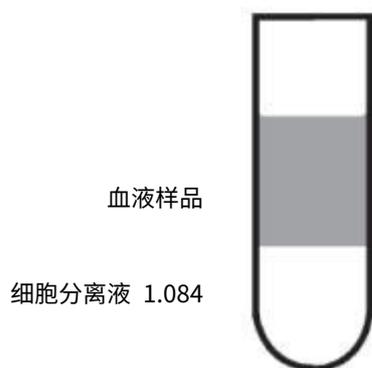


图 1.加样后分层示意图

- 4) 室温下 $400 \times g$ 离心 30-40 min，离心可以沉淀红细胞和多形核白细胞，同时可以在 LSM-1.084 上形成一层单核-淋巴细胞分层，如图 2 所示 (从上到下，依次分为血浆层-单个核细胞层-LSM-1.084 层-粒细胞-红细胞)。
- 5) 用无菌枪头吸掉单个核细胞层 (含淋巴细胞和单核细胞) 上方 2-3 mm 的血小板/血浆，小心操作勿吸入单个核细胞层内破坏其平衡 (如图 2)。

【注】 也可以不用先吸走血浆层，直接用枪吸取单个核细胞层。另外，上层血浆不含细胞，也可以留作他用。



图 2.吸除上层血浆和血小板前后分层示意图

- 6) 用无菌枪头将单核细胞层转移入一个新的无菌离心管。

【注】一定要吸取所有的单个核细胞中间层，以及少量上方的血浆液和下方的 LSM-1.084 分离液。

- 7) 预估转移后的单个核细胞量，加入至少 3 倍体积（约 6 mL）的平衡盐溶液于上述离心管中。
- 8) 使用枪头上下轻轻吹打将单层细胞溶液充分悬浮。
- 9) 室温 400-500×g 离心 10-15 min。

【注】高速离心有助于提高单个核细胞的回收率，但如果需要彻底去除血小板，则推荐低速离心（60-100×g）。

- 10) 去除上清，加入 6-8 mL 平衡盐溶液重悬单核细胞。
- 11) 室温 400-500×g（或者 60-100×g 去除血小板）离心 10 min。
- 12) 去除上清，用适当培养基重悬单个核细胞备用。

3. 分离粒细胞

- 1) 同上方单个核细胞的分离步骤。
- 2) 小心吸除 LSM-1.084 层，注意切勿吸入粒细胞层。
- 3) 转移暴露在表面的白色粒细胞层（位于红细胞层上方）于一个无菌的 50mL 离心管。
- 4) 加入至少 5 倍体积的平衡盐溶液重悬粒细胞，于 400×g 离心 15 min。
- 5) 吸除上清，加入 6-8 mL 平衡盐溶液重悬粒细胞，于室温 400-500×g 离心 10 min。
- 6) 吸除上清，用适当培养液重悬粒细胞备用。