

## 各种动物脏器组织淋巴细胞分离液试剂盒

规格：200 mL/kit

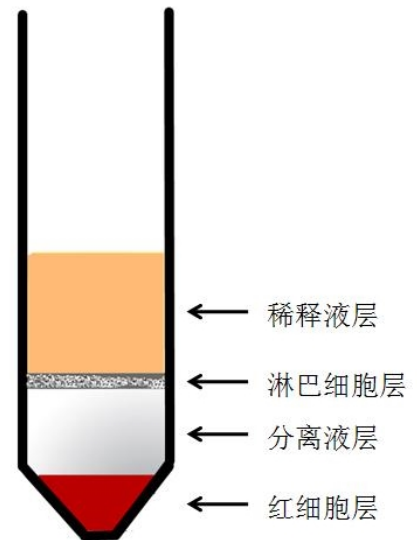
保存：本产品对光敏感，应该室温避光储存，保质期 2 年。无菌开封后，保存于室温。

### 试剂盒组成：

各种动物脏器组织淋巴细胞分离液	200 mL
全血及组织稀释液	200 mL
细胞洗涤液	200 mL

### 淋巴细胞分离方法（仅供参考）

1. 制备脏器组织的单细胞悬液。
2. 取一支适当的离心管，加入与脏器组织单细胞悬液等量的分离液（分离液最少不得少于 3 mL，总体积不能超过离心管的三分之二，否则会影响分离效果）。
3. 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。）
4. 室温，水平转子 500~900 g，离心 20~30 min。（根据脏器组织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）。
5. 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。
6. 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。
7. 弃上清，5 mL 的 PBS 或细胞清洗液重悬细胞，250 g，离心 10 min。
8. 重复步骤 7
9. 弃上清，细胞重悬备用。



分层示意图

### 脏器组织单细胞悬液的制备方法（仅供参考）

脏器组织研磨的方法：

1. 无菌条件下摘取脏器组织，撕去被膜，用眼科剪将脏器组织剪成小块。
2. 将尼龙筛网或者是细胞过滤筛放置于平皿上，加入少量全血及组织稀释液（保证脏器组织及获得的细胞处于液体环境中）。
3. 将脏器组织放置于筛网上，使用注射器活塞或者是无菌镊子来研磨脏器组织（尽量控制研磨力度，保持筛网悬空，避免在皿底上直接研磨而造成大批细胞死亡）
4. 研磨完全后使用全血及组织稀释液冲洗筛网，收集细胞悬液，再经滤网过滤。

注：

- A. 可用酶消化法，使用胶原酶对脏器组织组织进行消化，得到单细胞悬液。
- B. 如果最终得到的细胞需要培养，那全过程所需试剂与器材均要求无菌。
- C. 根据脏器组织的体积控制单细胞悬液的浓度在 $10^8\sim 10^9$ 个/mL。

**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。 $4^{\circ}\text{C}$ 或者是温度较低的环境下离心，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.