

## 各种动物癌组织淋巴细胞分离液试剂盒

规格: 200 mL/kit

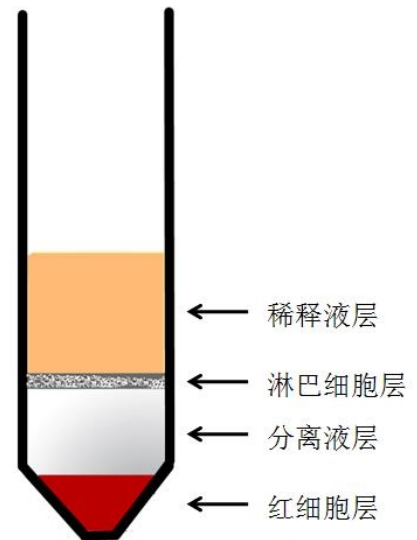
保存: 本产品对光敏感, 应该室温避光储存, 保质期 2 年。无菌开封后, 保存于室温。

### 试剂盒组成:

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

### 淋巴细胞分离方法

1. 制备癌组织的单细胞悬液。
2. 取一支适当的离心管, 加入与癌组织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)。
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 500~900g, 离心 20~30min。(根据癌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至另一洁净的 15mL 离心管中, 向离心管中加入 10ml 细胞洗涤液洗涤白膜层细胞, 250g, 离心 10min。
7. 弃上清, 5mL 的 PBS 或细胞清洗液重悬细胞, 250g, 离心 10min。
8. 重复步骤 7
9. 弃上清, 细胞重悬备用。



分层示意图

### 各种动物癌组织单细胞悬液的制备方法

癌组织研磨的方法:

1. 无菌条件下摘取癌组织, 用眼科剪将癌组织剪成小块。
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 (保证癌组织及获得的细胞处于液体环境中)。
3. 将癌组织放置于筛网上, 使用注射器活塞或者是无菌镊子来研磨癌组织 (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, 使用胶原酶对癌组织组织进行消化, 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. 根据癌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。 $4^{\circ}\text{C}$ 或者是温度较低条件下离心，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.
5. Recalde HR. A simple method of obtaining monocytes in suspension. J Immunol Methods. 1984 Apr 13;69(1):71-7.
6. Bøyum A, Løvhaug D, Tresland L. Separation of leucocytes: improved cell purity by fine adjustments of gradient medium density and osmolality. Scand J Immunol. 1991 Dec; 34(6):697-712.
7. Harris R, Ukaejiofo EO. Tissue typing using a routine one-step lymphocyte separation procedure. Br J Haematol. 1970 Feb; 18(2):229-35.

#### 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