

## 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:

| 试剂盒组分  | 规格    | 保存条件 |
|--------|-------|------|
| 试剂 A   | 200mL | 室温避光 |
| 试剂 C   | 100mL | 室温避光 |
| 红细胞沉降液 | 100mL | 室温   |
| 红细胞裂解液 | 100mL | 室温   |
| 细胞洗涤液  | 200mL | 室温   |

### 使用方法 (仅供参考):

注: 依据样本量大小, 可选择以下适宜的分离方式:

**A: 血液样本量 0.5-2ml ; B: 血液样本量 >2ml (建议使用分离方案二进行操作)**

#### 分离方案一

1. 样本分离: 在 15mL 离心管中先加入 4mL 试剂 A, 后将 2mL 试剂 C 沿管壁缓慢叠加 (45° 倾斜试管) 于试剂 A 之上, 形成梯度界面, 将悬液小心平铺于分离液液面上方。由于密度差异, 可见明显的分层界面 (注意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)。

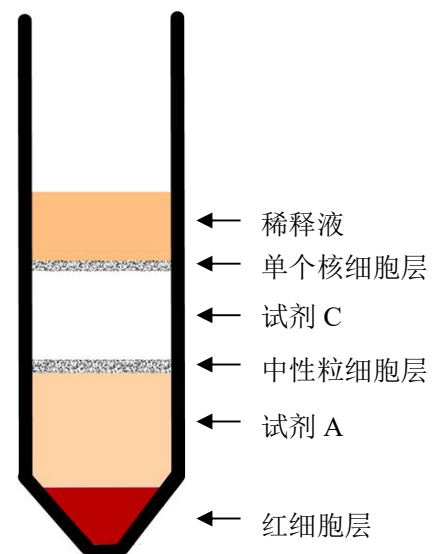
2. 室温条件下水平转子 600-1000g, 25-30min (血液体积越大所需离心力越大, 离心时间越长, 最佳分离条件需摸索, 离心最大转速不超过 1000g)。

3. 离心后, 上层白膜层为单个核细胞层, 下层白膜层为粒细胞层 (受个体差异及分离条件影响, 粒细胞层可能会存在不同程度的红细胞污染)。

4. 吸取粒细胞层及其上方 1ml 左右分离液至新的离心管中, 如存在红细胞污染可依据红细胞含量添加 5-8 倍红细胞裂解液, 混匀裂解 5min 左右, 然后放入离心机, 250g, 离心 10min。此步骤可重复直至离心后红细胞完全清除。

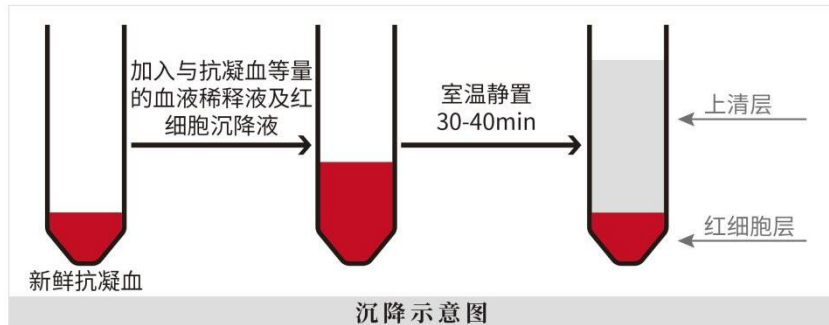
5. 弃上清, 加入 10mL 细胞清洗液重悬细胞, 250g, 离心 10min。

6. 弃上清, 重悬细胞备用。



## 分离方案二

1. 沉降去除红细胞：取新鲜抗凝血与血液稀释液(注射用生理盐水或 1XPBS)及红细胞沉降液按照 1:1:1 比例混匀，室温下静置 30-40min 后，可见红细胞沉于试管底部，小心吸尽上清层(富含白细胞及血小板)用于后续细胞分离。



2. 样本分离：在 15mL 离心管中先加入 4mL 试剂 A，后将 2mL 试剂 C 沿管壁缓慢叠加（45° 倾斜试管）于试剂 A 之上，形成梯度界面，将悬液小心平铺于分离液液面上方。由于密度差异，可见明

显的分层界面(注意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)。

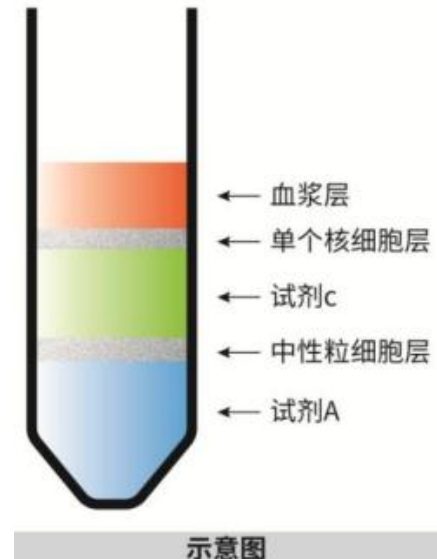
3. 室温条件下水平转子 600-1000g，25-30min(血液体积越大所需离心力越大，离心时间越长，最佳分离条件需摸索，离心最大转速不超过 1000g)。

4. 离心后，上层白膜层为单个核细胞层，下层白膜层为粒细胞层，(受个体差异及分离条件影响，粒细胞白膜层可能会出现颜色较浅的情况)。

5. 用吸管吸取粒细胞白膜层及其上方 1ml 左右分离液至新的离心管中，加入 10mL 细胞清洗液洗涤细胞，250g，离心 10min。

6. 弃上清，加入 10mL 细胞清洗液重悬细胞，250g，离心 10min。

7. 弃上清，重悬细胞备用。



### 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℃~25℃），如室内温度较低，可将分离液预热。4℃或者是温度较低条件下离心，可能会导致白膜层不清晰。

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

D. 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。

- E. 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。
- F. 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。
- G. 如果要进一步对分离的细胞进行培养，注意全程保持无菌操作，避免微生物污染。
- H. 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：**

*YA0902 一次性巴氏德吸管*

*R1018 细胞洗涤液*

*R1017 全血及组织稀释液*

*S9020 优级胎牛血清*

*31800 RPMI Medium 1640*

*T1300 胰蛋白酶-EDTA 消化液(0.25%) 不含酚红*

*各种其他动物及其他细胞的分离液及试剂盒*

**注：**有关使用本产品的文献请参考索莱宝官网。另附相关操作视频二维码如下。



