

DATA SHEET

本品只能用于科学研究，不能用于临床检测

各种动物或人脏器组织**淋巴细胞**分离液操作说明和使用及保存中的注意事项：

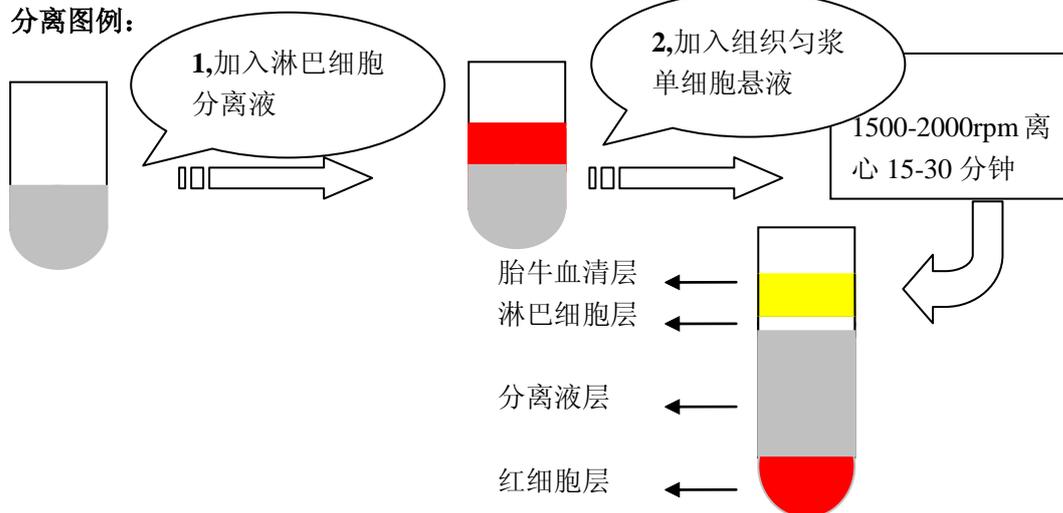
本品为带有乳光或微乳光的灭菌水溶液。主要成分是 Ficoll 400 与泛影酸葡甲胺。适用于从组织匀浆中（胎牛血清或人血清悬起匀浆的细胞 $1 \times 10^7/\text{ml}$ ）分离所需细胞，在医疗和医学生物学研究中广泛应用。

其他人及动物多种比重细胞分离液。注：因不同种属不同比重分离液的细胞离散系数及细胞带电不同，所以用户在定制分离液时应提供所需分离液的比重、动物的种属及被分离细胞的名称。

使用方法

例：取组织匀浆液 1ml，小心加于 2ml 的细胞分离液之液面上，以 1500-2000 转/分离心(半径 15cm 水平转子)15 分钟，此时离心管中由上至下细胞分四层。第一层；为胎牛血清液层。**第二层；为环状乳白色淋巴细胞。**第三层；为透明分离液层。第四层；为红细胞层，收集第二层细胞放入含细胞洗涤液（Cat#：2010X1118）4-5 毫升的试管中，充分混匀后，以 1500-2000 转/分离心 10-30 分钟。沉淀经反复洗 2 次即得所需细胞。(此方法效果较好，推荐使用)

分离图例：



注意事项

1. 启封后应置 4℃ 保存避免微生物的污染。 2. 细胞分离液从冰箱取出后，不可立即使用，需待溶液温度升至室温时，摇匀后使用。 3. 整个分离过程中，温度应控制在 18-28℃ 且在无菌环境下，避免微生物的污染，否则会影响分离质量。

应用

-从动物组织中分离所需细胞

特点

-密度变化率依照 Ficoll 400，泛影酸和氢氧化钠。 -最佳分离溶液的密度为参照具体产品的标签
-生理学参数 -在低粘度时高密度 -无菌-即用型-溶液

产品质控

溶液 注射用水
pH 7.0-7.5
渗透压 280-340mOsmol/kg

DATA SHEET

本品只能用于科学研究，不能用于临床检测

内毒素	<5EU/ml
无菌	已检测
保存期限	2年
贮藏	+18℃-+25℃

注意

TBD 实验室的细胞分离培养基是敏光型的。这种培养基在运输和贮藏过程中应避光保温。由于各品牌离心机的性能不同，国内南北地区温度环境和四季的差异，可能影响分离效果，用户可以调节离心转数，调节离心的时间，摸索最佳的分离条件（具体分离条件各实验室自定）。组织，血液，细胞要求新鲜，避免冷冻和冷藏。

贮藏

18-25℃避光保存。启封后置 4℃保存。本品为真空包装，未启封前置于 10℃ 以下易出现白色结晶，影响分离效果。

相关试剂

货号	名称	规格
TBD2012SCP	细胞冻存液	100ml
TBD2012UCP	脐带保存液	100ml
TBD2012CP	淋巴细胞保存液	100ml
2010C1119	全血及组织匀浆稀释液	200ml
2010X1118	细胞洗涤液	200ml
TBD2012HSCI	造血干细胞流式检测系统	50T
TBD2012MSCI	间充质干细胞流式检测系统	50T
	各种细胞因子	
	细胞培养耗材	

DATA SHEET

本品只能用于科学研究，不能用于临床检测

组织单细胞悬液的制备（全过程及所需试剂要求无菌环境）

剪碎法：将组织块放入平皿后，加入少量 PBS+10%胎牛血清；用眼科剪将组织剪至匀浆状，加入 10 ml PBS+10%胎牛血清；用吸管吸取组织匀浆，用 100 目不锈钢滤网过滤到试管内；离心沉淀 1500 rpm×3 min，再用 PBS+10%胎牛血清洗 3 次，每次以 500 rpm 短时低速离心除去细胞碎片，以 200 目不锈钢滤网过滤去细胞团块。作细胞计数并调整细胞浓度为 $(2\sim5) \times 10^7$ /ml。常温下放置，待测细胞的活力。分离前用胎牛血清悬起细胞浓度为 1×10^7 /ml 的单细胞悬液备用。

匀浆器法：用眼科剪将组织剪成小块；放入 70 ml 组织研磨器内，加入 2 ml PBS+10%胎牛血清；缓慢转动研棒，研磨至匀浆；用 10 ml PBS+10%胎牛血清冲洗研器；收集细胞悬液，经 200 目不锈钢滤网过滤；离心沉淀 800 rpm×2 min，再用 PBS 洗 3 次，离心沉淀。以下处理同剪碎法。

细胞计数方法

细胞计数法是用来计数细胞悬液中细胞数量的一种方法。一般利用计数板（血球计数板）进行。即可用于分离（散）细胞培养接种前计数所制备的细胞悬液中的细胞数量，也可用于对培养物的细胞数量进行计数。不论计数的对象如何，均须制备分散的细胞悬液。

计数与计算过程

- 1)、在细胞计数板中央放置计数专用的盖玻片。
- 2)、用玻璃虹吸管吸取细胞，让虹吸管在盖玻片上或下侧的计数板凹槽处流出悬液，至盖玻片被液体充满为止。
- 3)、置显微镜下计数四角大方格内的细胞总数。对于压线的细胞只计数在上线和左线者，对于细胞团按单个细胞计数。
- 4)、按下式计数细胞悬液的密度：

细胞密度 = $(4 \text{ 个大格细胞总数} / 4) \times 10^4 \text{ 个/ml} \times \text{稀释倍数}$

公式中乘以 10^4 因为计数板中每一个大格的体积为：

$1.0\text{mm (长)} \times 1.0\text{mm (宽)} \times 0.1\text{mm (高)} = 0.1\text{mm}^3$ 而 $1\text{ml} = 1000\text{mm}^3$

细胞计数要点：

- 1.进行细胞计数时，要求悬液中细胞数目不低于 10^4 个/ml，如果细胞数目很少要进行离心再悬浮于少量培养液中；显微镜下计数时，遇到 2 个以上细胞组成的细胞团，应按单个细胞计算。

DATA SHEET

本品只能用于科学研究，不能用于临床检测

如果细胞团 $>10\%$ ，说明细胞分散不充分；或细胞数 <200 个/ 10mm^2 或 >500 个/ 10mm^2 时，说明稀释不当，需重新制备细胞悬液。

2. 要求细胞悬液中的细胞分散良好，否则影响计数准确性。
3. 取样计数前，应充分混匀细胞悬液，尤其是多次取样计数时更要注意每次取样都要混匀，以求计数准确；
4. 数细胞的原则是只数完整的细胞，若细胞聚集成团时，只按照一个细胞计算。如果细胞压在格线上时，则只计上线，不计下线，只计左线，不计右线。
5. 操作时，注意盖玻片下不能有气泡，也不能让悬液流入旁边槽中，否则要重新计数。

初学者易犯的错误：

1. 计数前未将待测悬液吹打均匀。
2. 滴入细胞悬液时盖玻片下出现气泡。
3. 滴入悬液时的量太多，至使细胞悬液流入旁边的槽中。