

# 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：

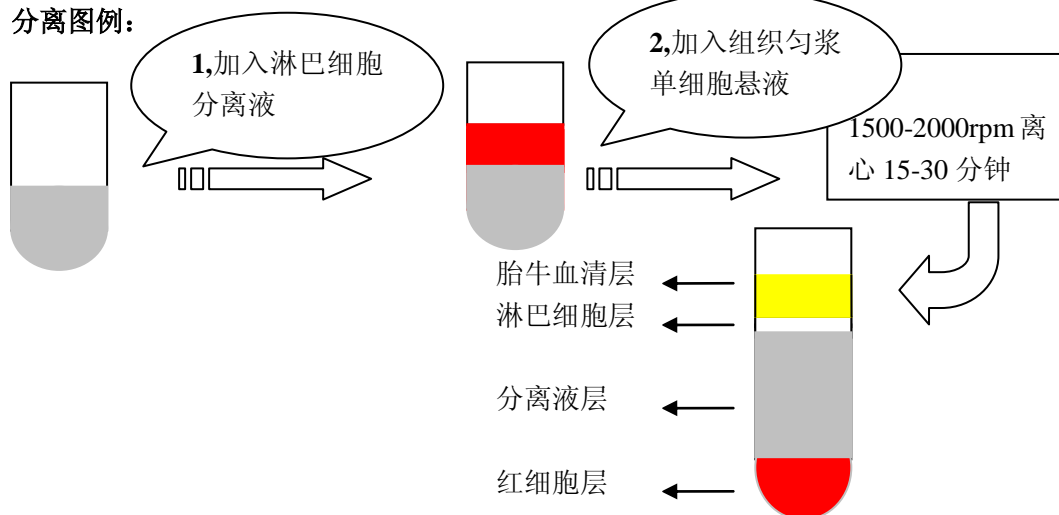
本品为带有乳光或微乳光的灭菌水溶液。主要成分是 Ficoll 400 与泛影酸葡甲胺。适用于从组织匀浆中（胎牛血清或人血清悬起匀浆的细胞  $1 \times 10^7/\text{ml}$ ）分离所需细胞，在医疗和医学生物学研究中广泛应用。

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  $1 \times 10^7$  /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/ $10\text{mm}^2$ 或 $>500$ 个/ $10\text{mm}^2$ 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。