

猪肠粘膜组织单个核细胞分离液

规格: 200mL/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。

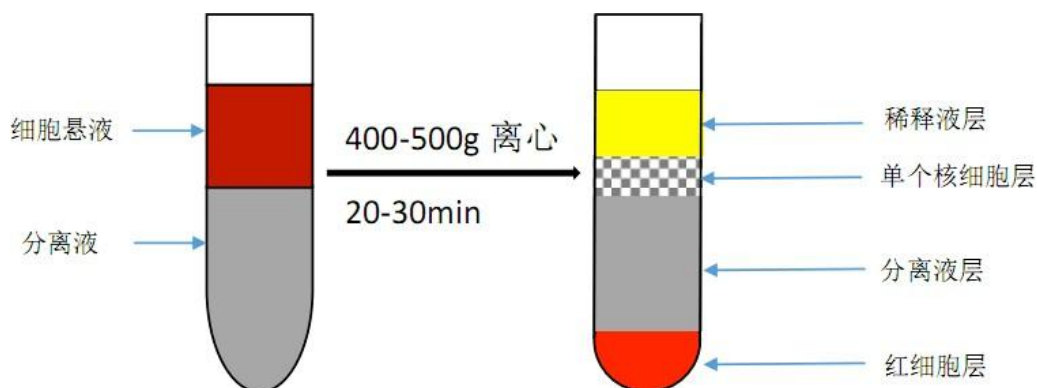
试剂盒组成:

猪肠粘膜组织单个核细胞分离液	200mL
样本稀释液	200mL
清洗液	200mL
洗涤液	200mL
匀浆冲洗液	200mL

单个核细胞分离方法

制备单个核细胞悬液:

1. 取一支适当离心管, 加入与组织单细胞悬液等量的分离液 (注: 分离液最少不得少于3ml)。
2. 用吸管小心吸取组织单细胞悬液加于分离液液面上, 400-500g, 离心20-30min。(注: 根据组织单细胞悬液量确定离心条件, 组织单细胞悬液量越大, 离心力越大, 离心时间 越长, 具体离心条件需客户自行摸索, 以达到最佳分离效果)。
3. 离心后, 此时离心管中由上至下分为四层。第一层为稀释液层。第二层为环状乳白色单个核细胞层。第三层为透明分离液层。第四层为红细胞层。
4. 用吸管小心吸取第二层环状乳白色单个核细胞层到另一15ml离心管中, 向离心管中加入5-10ml洗涤液, 混匀细胞。
5. 400g, 离心10min。
6. 弃上清。
7. 用吸管以5ml清洗液重悬所得细胞。
8. 250g, 离心10min。
9. 重复 7、8、9, 弃上清后以 0.5ml 后续实验所需相应液体重悬细胞。



猪肠粘膜组织悬液的制备方法：

组织样本的制备

- 1.取组织块称重后，用眼科剪刀无菌操作，将组织剪成小块。
- 2.将组织块放在70 μ m细胞筛网上，用研磨器反复研磨，边研磨边加入匀浆冲洗液（以0.1g组织为例，约加5-8ml），使细胞全部通过筛网滴到离心管中。
- 3.弃去筛网，组织研磨液经450g，离心10min，弃上清。
- 4.用样本稀释液重悬组织细胞，将细胞悬液细胞浓度调整为 2×10^8 - 1×10^9 /ml（以0.1g组织为例，约使用1ml样本稀释液重悬细胞），备用。

注意事项：

1. 全过程样本、试剂及实验环境均需在 $20\pm 2^\circ\text{C}$ 的条件下进行。为获得最佳的实验结果，最好在取样 2h 内进行实验，样品存放时间越长，细胞分离效果越差。样品放置超过 6h 后分离效果更差甚至不能达到分离目的。
2. 本实验最好不要使用高聚合材质（如聚苯乙烯）的塑料制品，应使用无静电、低静电离心管及未经碱处理后的玻璃制品，因为静电作用将导致细胞贴壁、碱处理的玻璃表面会变成毛面，影响细胞分离效果。
3. 吸取过多的单个核细胞层及分离液层会导致分离液交界处的粒细胞被吸出从而使混杂的粒细胞数量增加。
4. 分离液用量大于组织单细胞悬液样本时，分离效果更佳。

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.

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