

伯优®人外周血PMN细胞分离试剂盒使用说明书

产品货号:52404-50

Ver 25.04

【产品介绍】

本产品适用于从人外周血样本中快速高效地分离中性粒细胞 (PMN) 和单个核细胞 (PBMC)。本产品包含细胞分离液A、细胞分离液B、红细胞裂解液及细胞清洗液, 无需自备试剂。本产品中包含的试剂均为无菌试剂, 两种分离液的内毒素均低于1.0 IU/mL。

使用本产品分离的PMN细胞可用于免疫学研究, 亦可用于目前主流的单细胞测序平台, 包括10x Genomics和BD Rhapsody。

【产品组分】

52404-50 (50 rxns)	产品组分	组分货号	规格	数量
52404-50	细胞分离液A	SF-24-02	50 mL	1
	细胞分离液B	SF-24-03	50 mL	1
	红细胞裂解液	72309-100	100 mL	2
	细胞清洗液	CWB-24-01	500 mL	2

【储存条件】

室温避光保存

【有效期】

24个月

【注意事项】

1. 本产品中所有试剂均为无菌试剂, 请在无菌条件下启封, 以防试剂污染导致试剂盒失效。
2. 整个实验过程需在室温 (18~25°C) 进行, 若温度较低, 可将分离液预热。分离液的温度过高或过低都可能出现密度改变的情况, 可能导致分离失败。
3. 本产品分离的人外周血样本应为新鲜的抗凝血, 推荐使用EDTA抗凝管采血, 采血后需在2小时内进行PMN分离, 如达不到2小时内分离, 请务必于4小时内进行分离, 超过4小时可能会出现分离失败。
4. 为保持PMN和PBMC活性, 血液样本不可冷冻、不可冷藏, 应常温运输。
5. 不同体积的血液样本所需的离心力及离心时间不同。血液的体积越大所需的离心力越大、离心时间越长; 血液质量越差所需的离心力越小、离心时间越短; 最佳的分离条件需摸索。因PMN细胞特性, 建议离心力不超过 $800 \times g$ 。

【实验所需试剂、仪器及耗材(未包含)】

试剂: 无需额外试剂

仪器: 水平离心机、计数仪

耗材: 15 mL离心管、无菌吸管、1.5 mL离心管、计数板



【实验前准备】

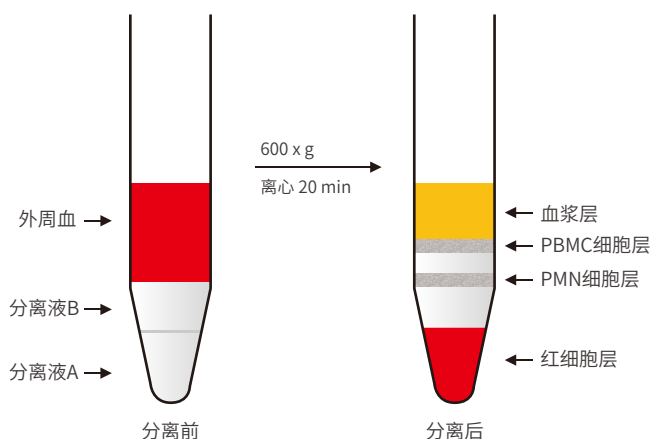
1. 将所有试剂平衡至室温。
2. 将血液样本平衡至室温。
3. 针对不同的外周血样本起始量，请按照表格中的体积添加个组分：

外周血	1 mL	2 mL	3 mL	4 mL	5 mL
离心管	15 mL	15 mL	15 mL	15 mL	15 mL
细胞分离液A	1 mL	1 mL	1.5 mL	2 mL	2.5 mL
细胞分离液B	1 mL	1 mL	1.5 mL	2 mL	2.5 mL

【使用方法】

以下实验流程以2 mL外周血为例，其它起始量的样本参照上述表格中的体积添加各组分。

1. 提前将外周血样本及本产品（细胞分离液A、细胞分离液B、红细胞裂解液及细胞清洗液）平衡至室温（18~25℃）。若室温较低，可将分离液预热。
2. 取1 mL细胞分离液A至15 mL离心管底部。
3. 吸取1 mL细胞分离液B，沿管壁缓慢加至细胞分离液A的液面之上，注意保持界面分明，不要混匀。
4. 吸取2 mL外周血样本，沿管壁缓慢加至细胞分离液B的液面之上，注意保持界面分明，不要混匀。
5. 缓慢地将15 mL离心管放入水平离心机，600 × g离心20 min。



6. 离心完毕后，小心取出15 mL离心管。如图所示，离心后管内分为6层，使用无菌吸管分别吸取PMN细胞层和PBMC细胞层至两个新的15 mL离心管中。
7. 两管细胞中分别加入3 mL细胞清洗液，吹打混匀。将15 mL离心管放入水平离心机，500 × g离心5 min。
8. 弃上清，在细胞沉淀中加入2 mL红细胞裂解液，吹打混匀，室温静置裂解3 min。
9. 将15 mL离心管放入水平离心机，300 × g离心5 min。
10. 若离心后细胞沉淀中依然有红细胞残留，重复步骤7和步骤8。
11. 弃上清，在细胞沉淀中加入3 mL细胞清洗液，吹打混匀后将15 mL离心管放入水平离心机，300 × g离心5 min。
12. 弃上清，加入1 mL细胞清洗液重悬细胞，进行细胞计数和活力测定，记录下细胞总数和活性。
13. 将15 mL离心管放入水平离心机，300 × g离心5 min，弃上清。
14. 根据后续实验要求加入缓冲液/裂解液。

