

小鼠淋巴细胞分离液说明书

Cat#: 7211011 / 7211012

【产品名称】

小鼠淋巴细胞分离液

【产品描述】

本品为深圳市达科为生物工程有限公司研发的新一代密度梯度分离液。主要成份为 Iodixanol，分子量为 1550。它是完全化学惰性、无生物毒性的碘化物，不会结合任何已知的生物功能蛋白，不会干扰任何细胞表面膜蛋白，不会抑制酶活性，不会干扰抗原抗体反应。

本产品分离的淋巴细胞纯度高、状态好、得率高；分离方法简单易学，对操作者的经验要求不高。

本公司的研究表明，小鼠脾脏淋巴细胞在该分离液中暴露 1 小时，离心分离后，淋巴细胞的数量和质量没有明显变化，随后的 ELISPOT 检测结果同对照组完全一致。

【包装规格】

成品货号	成品名称	规格	数量
7211011	小鼠淋巴细胞分离液	100 mL	1 瓶
7211012	小鼠淋巴细胞分离液	250 mL	1 瓶

【产品参数】

分离液密度	渗透压	内毒素
(1.0805±0.001) g/mL (20°C)	(280±15) mOsmol/kg	< 0.5 EU/mL

【适用范围】

分离小鼠/大鼠脾脏淋巴细胞，分离大鼠/兔外周血淋巴细胞。

【储存条件及有效期】

未开封 2°C~30°C 避光保存，有效期为 2 年。

【所需仪器及耗材】

35 mm 培养皿、10 mL 玻璃注射器内活塞、70 μm 细胞筛网或 200 目尼龙网裁成 90 mm×90 mm 正方形(以上材料均为无菌要求)、离心管、移液管、加样枪、水平转子离心机等。

【使用方法】

● 小鼠脾脏淋巴细胞分离操作：

1. 断颈处死小鼠，浸泡于 75% 的乙醇中。
2. 在超净台中取出小鼠脾脏。注意无菌操作。
3. 在 35 mm 培养皿中放入 4 mL~5 mL 小鼠淋巴细胞分离液(取用前恢复至室温并摇匀)。将装有脾脏的尼龙网或细胞筛网浸入分离液，在分离液中研磨脾脏。研磨操作参考图 1。

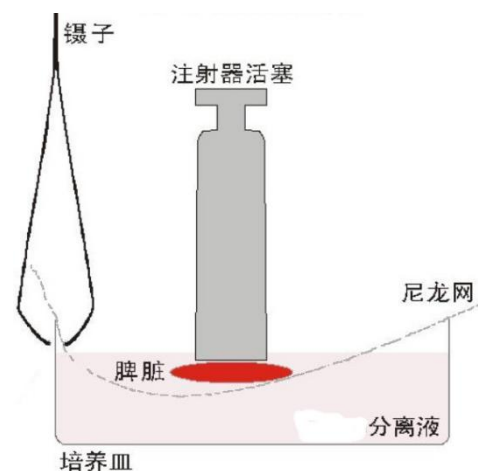


图 1 脾脏研磨方法

特别说明——关于小鼠脾脏研磨的达科为方法：

- ☆ 推荐使用尼龙网，因为尼龙网更柔韧。
 - ☆ 推荐使用注射器活塞来研磨脾脏。
 - ☆ 关键所在，利用尼龙网向上的反弹力来控制研磨的力度，将细胞可能受到的机械损伤降低到最小。
 - ☆ 控制研磨力度，使尼龙网保持悬空，避免在皿底上直接研磨而造成大批细胞死亡。
 - ☆ 平皿的口径不能太大，否则尼龙网不能产生有效的弹力。
 - ☆ 镊子在一边夹住尼龙网，防止尼龙网在研磨过程中滑动。
4. 把悬有脾脏细胞的分离液立即转移到 15 mL 离心管中，如图 2 (A)，覆盖 500 μL~1000 μL 的 RPMI 1640 培养基(保持液面分界明显)，如图 2 (B)。
 5. 室温，水平转子 800 g 离心 30 min。设置较慢的升降速(如果共有十档且第十档为最高档，升降速应该调整到第三档)。离心结束后细胞分层如图 2 (C) 所示。
 6. 吸出淋巴细胞层，再加入 10 mL RPMI 1640 培养基，颠倒洗涤。室温，250 g 离心 10 min 收集细胞。
 7. 倾倒入上清液，用培养基重悬细胞，计数。

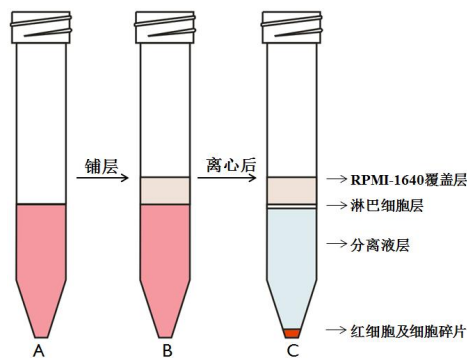


图2 小鼠分离液分离脾脏淋巴细胞示意图

【注意事项】

1. 若小鼠饲养时间较长，或者小鼠脾脏异常肿大，可只研磨一部分脾脏，如 1/2 或 1/4；若研磨整个脾脏后细胞悬液呈现暗红色，须将细胞悬液用小鼠分离液等体积稀释并混匀后，再进行第 4 步操作。
2. 分离液易挥发，每个脾脏的研磨时间应控制在 5 min 以内。
3. 分离液开封后，请尽量保存在 2°C~8°C 环境，避免因液体挥发造成分离液密度变化，影响分离效果。

● 大鼠脾脏淋巴细胞分离操作：

因大鼠脾脏较大，只须剪取一小部分进行实验即可，研磨与分离的方法与小鼠脾脏淋巴细胞的分离操作完全相同。

● 大鼠/兔外周血淋巴细胞分离操作：

1. 新鲜采集的大鼠/兔子抗凝血液 0.5 mL~3 mL 用等体积等渗溶液（PBS 或生理盐水）稀释一倍，血液稀释后分离效果更佳，等渗溶液应不含钙镁离子，注意无菌操作。
2. 在 15 mL 离心管中加入 3 mL 淋巴细胞分离液。小心地将经过稀释的血液平铺在淋巴细胞分离液液面上层，避免两种液体界面混合。
3. 室温，水平转子 800 g 离心 15 min~20 min。设置较慢的升降速（如果共有十档且第十档为最高档，升降速应该调整到第三档）。
4. 后续步骤与脾脏淋巴细胞分离操作相同。

【参考文献】

1. Lili Liu, et al. American Journal of Nephrology. 2012; 36(2): 386-396
2. Li Zhang, et al. Iranian Journal of Allergy, Asthma and Immunology. 2012; 11(2): 133-145
3. JianHui Xiao, et al. Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine. 2012; ArticleID 273435, 15 pages

【产品标签符号说明】

产品标签符号	说明	产品标签符号	说明
REF	产品编号	LOT	批次代码
	生产日期		制造商
	有效期		温度极限
	避光保存		查阅使用说明

【相关产品】

表 1 产品列表

成品名称	成品货号	规格
RPMI-1640 培养基	6016011	500 mL/瓶
DPBS	6062011	500 mL/瓶

【产品说明书批准日期】

2025 年 03 月 03 日

【公司信息】

生产企业：深圳市达科为生物工程有限公司

网址：www.dakewe.com

电话：0755-86235300

邮箱：RD@dakewe.com

地址：深圳市坪山区坑梓街道金辉路 14 号深圳市生物医药创新产业园区 1 号楼 702、703