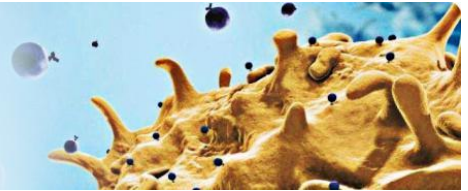




Precision BioMedicals Co.,Ltd.

金准生物医药科技(天津)有限公司



外周血 PBMC 分离及冻存套装

货号 932000 规格 1kit

【产品介绍】

该套装用于分离和冻存从少于 5ml 外周血样本中分离的单个核细胞 (PBMC)。

【组份】

- ImunoSep™ 密度梯度细胞分离液 (试剂 A, 1×4.5 ml)
- ImunoSep™ 细胞分选液 (试剂 B, 1×13 ml)
- 细胞冻存液 (试剂 C, 1×1.0 ml)
- SepTube™-15 密度梯度离心管 (管 1, 1 支)
- 15ml 离心管 (管 2, 2 支)
- 巴氏吸管 5 支

【所需设备和耗材】

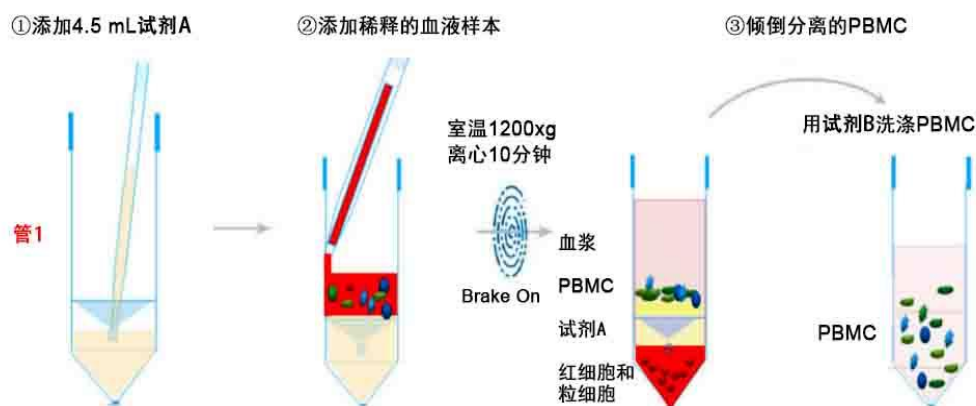
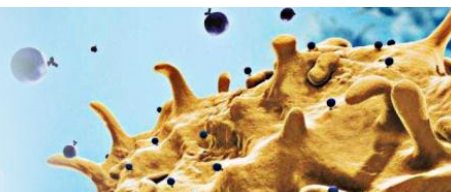
- 血清移液管
- 移液枪
- 水平转子离心机
- 梯度降温盒

【操作步骤】

1.0 PBMC 分离

仅供研究使用，不可用于治疗或诊断。

-1-



为取得较好的 PBMC 分离效果，请确保试剂 A 和试剂 B 和离心机处于室温（15-25℃）状态下。

- 1) 在 1 支管 2 中，用等体积试剂 B 稀释抗凝血，混合均匀。如：2 mL 抗凝血用 2 mL 试剂 B 稀释。
- 2) 使用巴氏吸管将 4.5 ml 试剂 A 通过隔板中心的孔注入管 1（如上图 1①）。
- 3) 保持管 1 垂直，通过巴氏吸管将稀释的样品沿管壁加入管中（如上图 1②）。样品将会和隔板上方的分离液混合，但不会影响分离效果。

注：样品也可以直接倒入管 1 中，但要小心避免样品通过隔板中央的小孔直接进入隔板下方的试剂 A 中。

- 4) 水平转子离心机，在开启离心机制动器的情况下，室温 1200×g 离心 10 分钟。

注：如果样品在体外超过 24h 以上，建议离心 20 分钟以上。

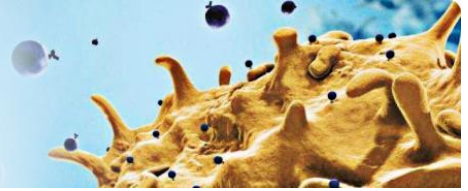
离心力 (g) 和转速 (rpm) 转换公式：

$$\text{rpm} = \sqrt{\frac{RCF}{(1.118 \times 10^{-5} \times (\text{Radius}))}}$$

注：rpm：每分钟转速；RCF：相对离心力；Radius：离心机转子半径 (cm)

- 5) 离心完成后，将隔板上方包含 PBMC 和血浆的混合液直接倒入新的 1 支管 2 中。

仅供研究使用，不可用于治疗或诊断。



注：请勿倒置管1 超过 2 秒，以免倒出底层红细胞与粒细胞。

注：离心后，管1 隔板上表面可能存在少量红细胞，但这些少量的红细胞不会影响下游实验。如果管1 隔板上表面发现有较多的红细胞，可能是由于采血时间较长引起的，此时可以继续 1200×g 离心 10 分钟，以减少红细胞的残留。

- 6) 在 PBMC 离心管中添加 0.5-1 倍体积试剂 B，室温 300×g 离心 8 分钟洗涤细胞。
- 7) 弃上清。
- 8) 重复步骤 6) 和 7) 。
- 9) 重悬细胞备用。

2.0 PBMC 冻存

- 1) 将分离的 PBMC 悬液 300×g 离心 8 分钟。利用血细胞计数器、细胞计数仪和台盼蓝拒染法测定细胞总数。
- 2) 将细胞团块重悬于冷却的试剂 C 中，轻轻混合细胞，维持细胞悬液的均一性。一般密度为 $1-2 \times 10^7$ 细胞/ml。
- 3) 在可控速度冷冻设备中冷冻细胞，降温速度约为 1°C/分钟。或者，将装有细胞的冻存管放在异丙醇冻存盒中，并将其保存于 -80°C 过夜。
- 4) 将冻存细胞转移至液氮，将其放在液氮上方的气相中。