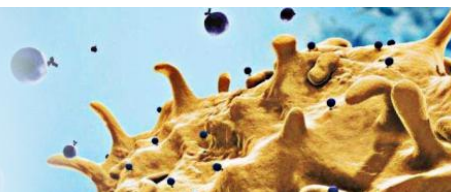




Precision BioMedicals Co., Ltd.

金准生物医药科技(天津)有限公司



ImunoSep™密度梯度细胞分离液 Density Gradient Cell Separation Medium

货号: LSB1077

规格: 200 mL

【产品介绍】

ImunoSep™密度梯度细胞分离液是一种密度为 $1.077 \pm 0.001 \text{ g/mL}$ 的密度梯度细胞分离液, 主要成份为葡聚糖、泛影酸钠等, 其利用细胞密度差异 (粒细胞和红细胞的密度大约 1.090 g/mL , 淋巴细胞和单核细胞密度为 $1.075\text{-}1.090 \text{ g/mL}$, 血小板密度为 $1.030\text{-}1.035 \text{ g/mL}$), 通过离心方式, 从人外周血、脐带血和骨髓中分离单个核细胞 (Mononuclear Cells, MNCs)。

【质量保证】

- 密度精准: 细胞得率高
- 质量保障: 注射级原辅料
- 安全保障: 低内毒素、低细胞毒性
- 洁净保障: GMP 生产条件生产, 不溶性颗粒含量极低
- 重金属含量: 重金属杂质极低, 符合医用级 ICH 标准

【产品参数】

- pH: 7.2 ± 0.2
- 渗透压: $290 \pm 15 \text{ mOsm/kg}$
- 内毒素: 医用级标准, $<0.125 \text{ EU/mL}$
- 无菌: 无菌 $0.22\text{-}0.1 \mu\text{m}$ 滤芯双重过滤除菌

【保存条件】

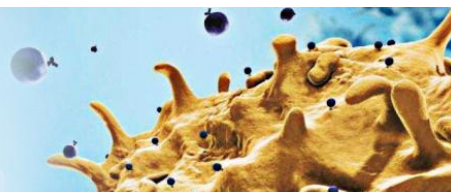
仅供研究使用, 不可用于治疗或诊断。

-1-



Precision BioMedicals Co., Ltd.

金准生物医药科技(天津)有限公司



室温 (15-25℃)

【实验操作步骤】

方法一：使用 SepTube™ 密度梯度离心管分离 MNCs

推荐：利用 ImunoSep™ 密度梯度细胞分离液（#LSB1077）和 SepTube™ 密度梯度离心管可在 15-20 分钟内快速分离单个核细胞（Mononuclear Cells, MNCs）。

为取得较好的 MNCs 分离效果，请确保 ImunoSep™ 细胞分选液（#604050）、ImunoSep™ 密度梯度细胞分离液（#LSB1077）和离心机在室温（15-25℃）状态下。

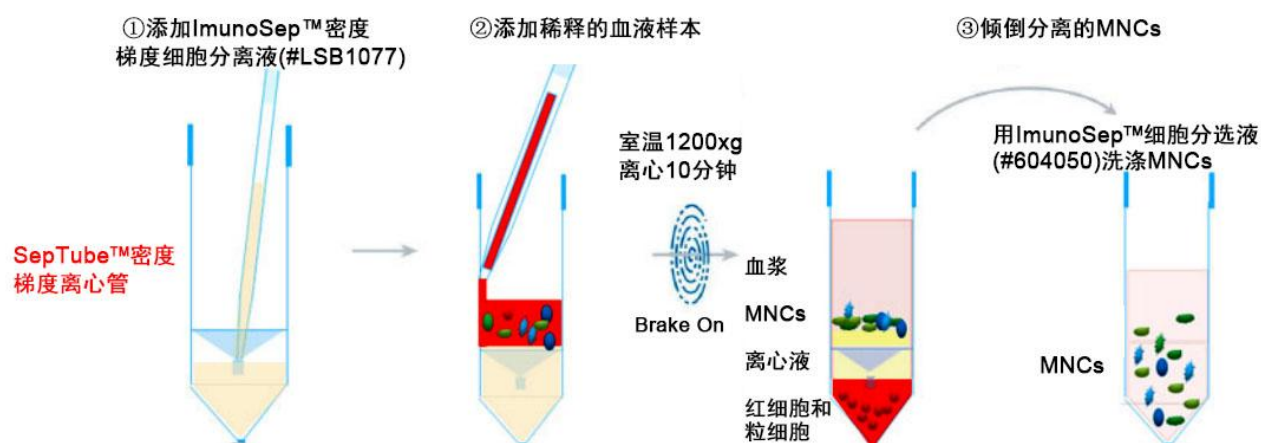


图 1 使用 ImunoSep™ 密度梯度细胞分离液和 SepTube™ 密度梯度离心管分离 MNCs 流程图

- 1) 用等体积 ImunoSep™ 细胞分选液（#604050）稀释抗凝血，混合均匀。如：5 mL 抗凝血用 5 mL ImunoSep™ 细胞分选液（#604050）稀释。
- 2) 将 ImunoSep™ 密度梯度细胞分离液（#LSB1077）通过隔板中心的孔注入 SepTube™ 密度梯度离心管（如上图①）。注入分离液的体积请参考下表。

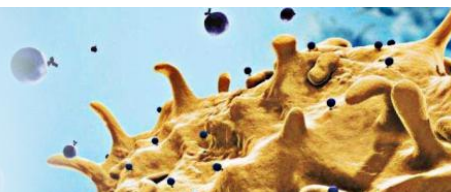
仅供研究使用，不可用于治疗或诊断。

-2-



Precision BioMedicals Co., Ltd.

金准生物医药科技(天津)有限公司



SepTube™密度梯度离心管	ImunoSep™密度梯度细胞分离液 (mL)	稀释的抗凝血样本体积 (mL)
SepTube™-15	4.5	1-10
SepTube™-50	15	8-34

3) 保持 SepTube™密度梯度离心管垂直, 通过血清移液管将稀释的样品沿管壁加入管中 (如上图②)。

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 SepTube™密度梯度离心管中, 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分离液中。

4) 水平转子离心机, 在开启离心机制动器的情况下, 室温 (15-25℃), 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 MNCs 和血浆的混合液直接倒入新的离心管中。

注: 请勿倒置 SepTube™密度梯度离心管超过 2 秒, 以免倒出底层红细胞与粒细胞。

注: 离心后, SepTube™密度梯度离心管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 SepTube™密度梯度离心管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。

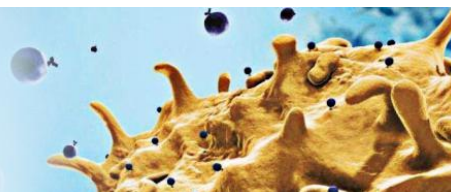
6) 在 MNCs 离心管中添加 0.5-1 倍体积 ImunoSep™细胞分选液 (#604050), 室温 300×g 离心 8 分钟洗涤细胞。

7) 弃上清。

8) 重复步骤 6) 和 7)。

仅供研究使用, 不可用于治疗或诊断。

-3-



9) 重悬细胞备用。

方法二：使用离心管分离 MNCs

- 1) 用等体积 ImunoSep™ 细胞分选液 (#604050) 稀释抗凝血，混合均匀。如：5 mL 抗凝血用 5 mL ImunoSep™ 细胞分选液 (#604050) 稀释。
- 2) 室温 (15-25℃) 条件下，离心管中加入 ImunoSep™ 密度梯度细胞分离液 (见下表)。

离心管 (mL)	ImunoSep™ 密度梯度细胞分离液 (mL)	稀释后的血液样本 (mL)
5	1.5	2
15	3	4
15	3	6
15	4	8
50	10	10
50	15	20
50	15	30

- 3) 倾斜添加了 ImunoSep™ 密度梯度细胞分离液的离心管，将稀释后的全血沿着离心管管壁，缓慢小心加入离心管，注意保持分离液与血液样本界面不被打破。
- 4) 水平转子离心机，调整为慢升慢降，在关闭离心机制动情况下，室温 (15-25℃)，800 x g，离心 20 分钟。

注：如果样品在体外超过 24h 以上，建议延长离心时间。

离心力 (g) 和转速 (rpm) 转换公式：

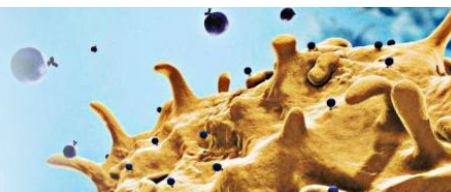
$$\text{rpm} = \sqrt{\frac{RCF}{(1.118 \times 10^{-5} \times (\text{Radius}))}}$$

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



Precision BioMedicals Co.,Ltd.

金准生物医药科技(天津)有限公司



- 5) 离心后将出现明显的分层：最上层是血浆层，中间是分离液层，血浆层与分离液层中间薄薄的白膜层即为单个核细胞 MNCs 层，最下层是红细胞与粒细胞（如下图）。

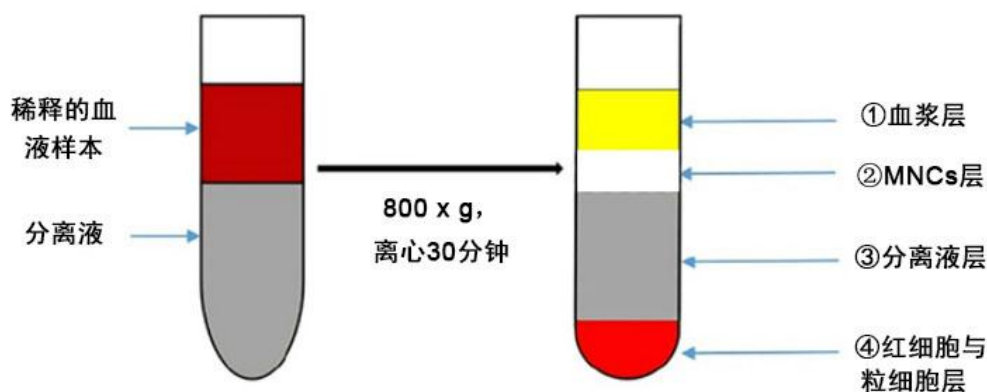


图 2 使用 ImunoSep™ 密度梯度细胞分离液分离 MNCs 示意图

- 6) 弃去少量血浆层（上图①），用枪头缓慢吸取白色 MNCs（上图②）到新的离心管中，避免快速操作将其它细胞（如底层的红细胞和粒细胞）吸出来。
- 7) 在 MNCs 离心管中添加 0.5-1 倍体积 ImunoSep™ 细胞分选液（#604050），室温 $300 \times g$ 离心 8 分钟洗涤细胞。
- 8) 弃上清。
- 9) 重复步骤 7) 和 8)。
- 10) 重悬细胞备用。

【相关产品】

- SepTube™-50 密度梯度离心管（PBM, #601150）
- SepTube™-15 密度梯度离心管（PBM, #601115）
- ImunoSep™ 细胞分选液（500 mL）（PBM, #604050）
- 10 mL 血清学移液管（Thermo Fisher, #170356N）
- 15 mL 离心管（Thermo Fisher, #339650）

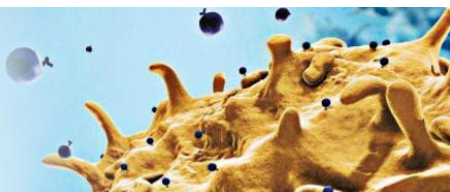
仅供研究使用，不可用于治疗或诊断。

-5-



Precision BioMedicals Co.,Ltd.

金准生物医药科技(天津)有限公司



- 1.5 mL 离心管 (Thermo Fisher, #69715)