

血细胞的离心分离

在现代临床医学研究中，常常需要将全血中单核白细胞（淋巴细胞、大单核细胞）与红细胞和多形核白细胞分离。在临床治疗应用中常常需要将全血作成分分离（全血分离成血浆，血小板，白细胞，红细胞等等）。

（一）血细胞的实验室纯化：

血液中存在着各种不同类型的血细胞，每种类型细胞有不同的特点和功能。医学研究常常需要较纯的单一品种的血细胞。用离心法分离和纯化是非常有效的手段，但如何使血细胞的密度梯度分离简单而且实用，很多科学家和试剂生产厂作了大量的研究和筛选。在这方面 Bøyum（文献 1）做了开拓性的研究，他使用挪威 Nycomed pharma, A/S 公司生产的梯度材料 Lymphoprep 和由瑞典 Pharmacia-Biosystems AB 公司提供的 Ficoll Paque，用简单的低速阶梯梯度离心纯化了单核白细胞获得成功。此后（文献 2），用非电离性梯度材料 Na-metrigloate 和 Nycodenz（可消除多糖成分）纯化血细胞效果更好。

典型的离心分离实验：

1. 人血单核细胞的纯化：

- I 加有抗凝剂的全血样品，通常加 0.32% 柠檬酸钠较为普遍；
- II 用等量的等渗盐液稀释全血
- III 在 10 - 15ml 离心管下部注入 3ml Na-metrigloate-Ficoll 分离液
- IV 在分离液上部小心地铺盖 6ml 已经稀释的全血
- V 低速离心机，水平转头，单管容量 10 - 15ml，600xg，20 分钟，20℃，慢加速，

慢减速。（不要用 4 - 5℃，否则效果很差）

VI 离心后，单核细胞和少量血小板悬浮在血液样品和分离液的中向夹层，小心地用吸管吸出

VII 在单核细胞中加几毫升生理盐水以降低其密度

VIII 用同样的离心机 250xg，5 分钟，20℃ “洗” 数次，可以得到更纯的单核细胞沉淀

IX 制备的细胞可重悬浮在生理盐水或同源血浆中待用

2. 单核血细胞和多形核血细胞的单次离心分离法：

I 刚抽出的新鲜人血，加抗凝剂后，取 3-5ml 铺在 10ml 离心管底部

II 血样上部铺等量的 Polymorphoprep (Nycomed Pharma A/S 公司产品)

(注意 :选择较细长透明塑料(PC 或 PET)离心管或玻璃离心管 ,液柱总高在 6 - 10mm 左右)

III 离心：低速或高速冷冻离心机水平转头 450g×35 分钟，20℃

IV 离心后细胞分布：以 10cm 液柱为例，底部 1.2 - 1.4cm 为红细胞，往上 3cm 为分离液，再往上 0.4cm 为中性白细胞带（多形核白细胞），再往上 0.6 - 0.8cm 为分离液，在这层分离液和最上层血浆之间夹有一层约 0.4cm 液柱高的单核细胞

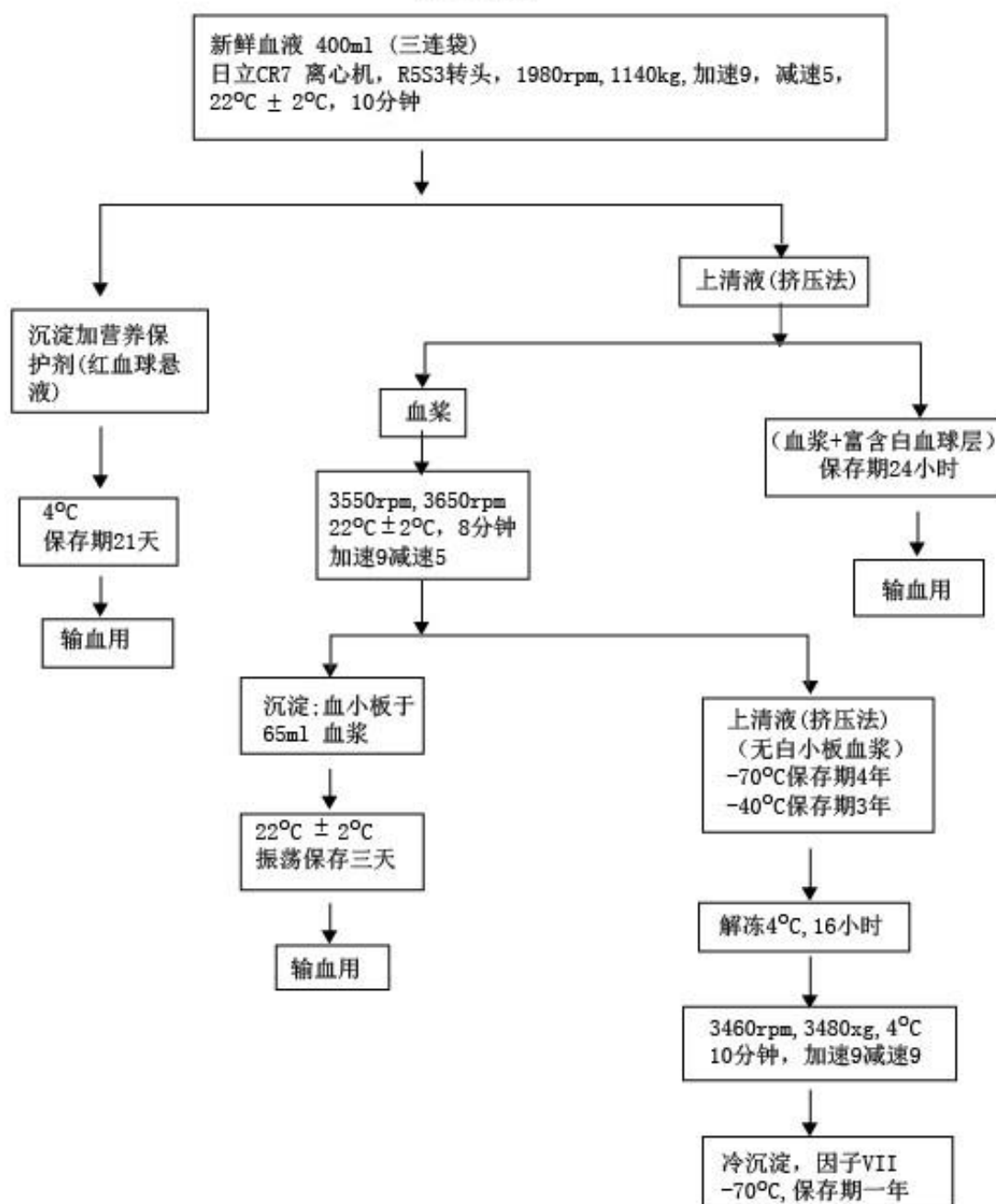
V 如果离心时间过长，或温度过高，多形核白细胞（主要是中性白细胞）也会变成沉淀

（二）人全血的成分分离：

在血站或血液中心用大容量冷冻离心机和多联血袋进行大量的血液成分分离

以下介绍在多个血站使用的日立 CR-7 大容量离心机作血液成分分离的二种主要方法
(富含法和白膜法) 的离心工艺, 仅供参考。

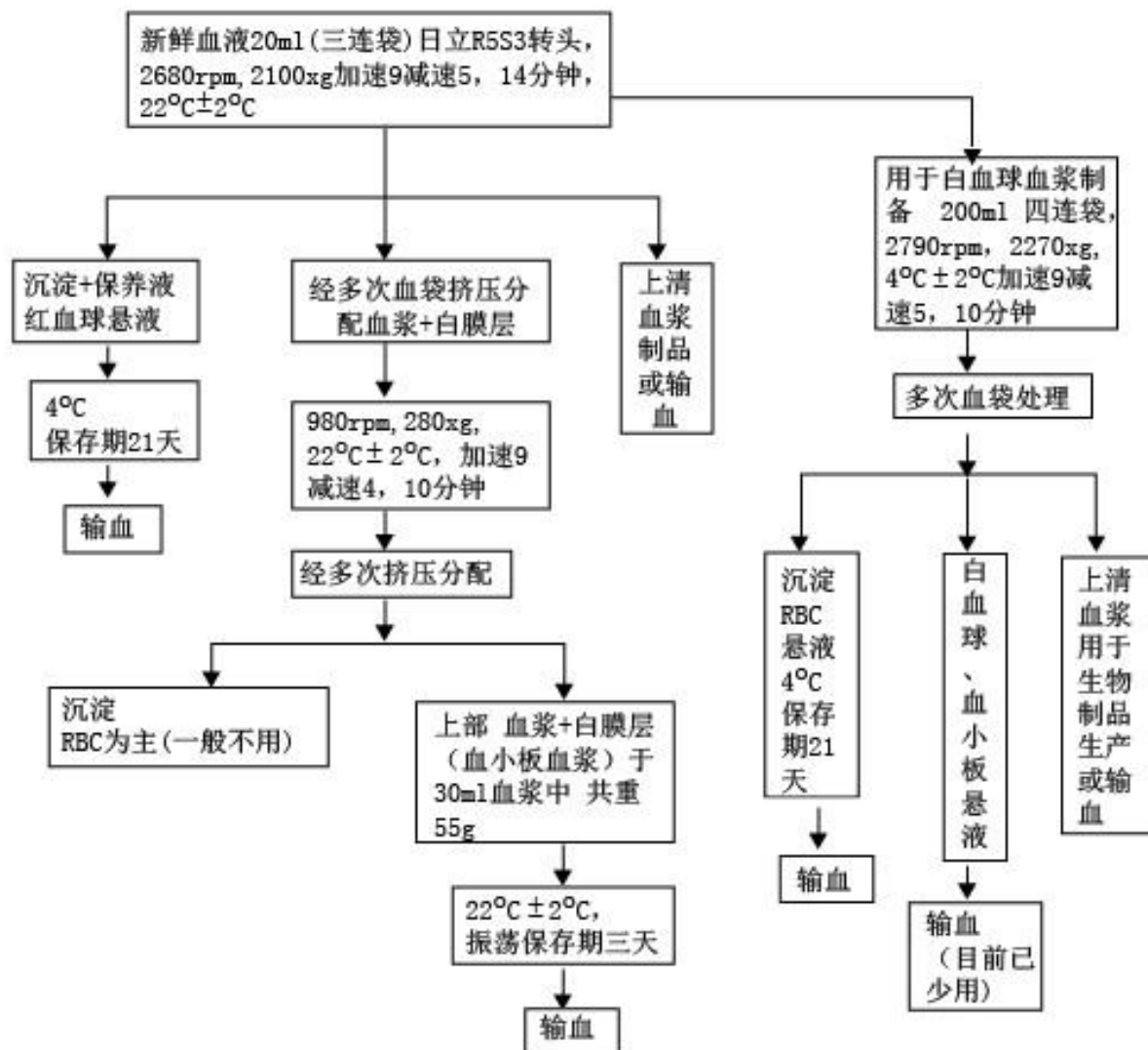
日立CR-7大容量冷冻离心机
血液成份分离方法之一
(富含法)



天美（中国）科学仪器有限公司
TECHCOMP (CHINA) LTD.

中国北京朝阳区天畅园 7 号楼 1、3 层
TEL:010-64010651
FAX:010-64060202
E-MAIL:techcomp@techcomp.cn

日立CR-7大容量冷冻离心机 血液成份分离方法之二 (白膜法)





天美

Marketing

天美（中国）科学仪器有限公司
TECHCOMP (CHINA) LTD.

中国北京朝阳区天畅园 7 号楼 1、3 层
TEL:010-64010651
FAX:010-64060202
E-MAIL:techcomp@techcomp.cn

参考文献：

1. Bøyum, A. Scand, J. Clin Invest, vol:21(suppl:97)PP.77
2. Bøyum, A. Berg, T. Blomhaff, R. "Iodinated density gradient media: a practical approach" IRL Press. Oxford 1984
3. Adriaan Brouwer 等 "Centrifugal separations of mammalian cells" in "Preparative Centrifugation" IRL press. Oxford Univ. 1992
4. 余兴明 "细胞的离心分离基础和分离实例" , 天美科技 "实验离心技术讲座：第 19 篇" 2006. www.techcomp.cn