

Percoll 细胞分离液

货号: BN31708

规格: 100ml/1L

保存: 未开封时可于室温保存, 有效期 2 年。开封后保存于 2-8°C。

产品说明:

Percoll 是用于细胞、病毒和亚细胞颗粒密度梯度离心的可参考介质。

Percoll 是由胶体二氧化硅组成, 表面涂有聚乙烯吡咯烷酮 (PVP)。由于培养基中颗粒大小的不均匀性, Percoll 会自发形成密度梯度。

Percoll 可通过使用方便的梯度混合器或高速离心来形成梯度。在后一种情况下, 可将样品与培养基预先混合, 然后在原位形成的梯度上进行分离。这样, 梯度形成和样品分离可在一次操作中完成。

物理性质:

1. 渗透压低, 可精确调节生理条件, 而不受培养基的显著干扰。
2. 与活细胞和病毒的兼容性, 可分离和恢复完整、完全活跃的系统。
3. 不渗透生物膜, 离心过程中颗粒的浮力密度没有变化。
4. 离心过程中自发形成梯度, 允许在离心管中混合大量样品。
5. 低粘度导致梯度快速形成和颗粒分离。

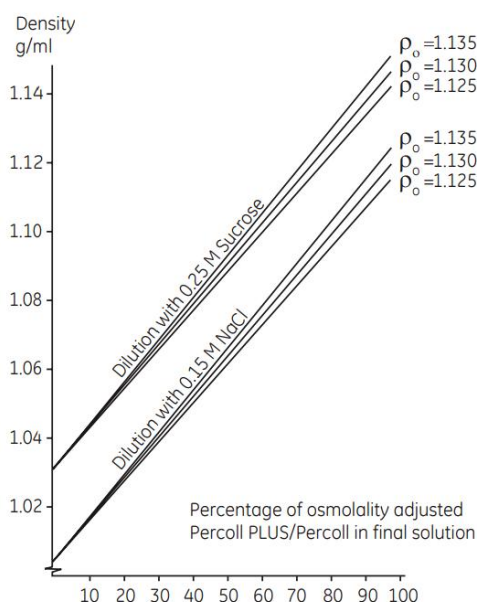


图 1. 用生理盐水或蔗糖溶液稀释原液渗透压调整后的 Percoll (340 mOsm/kg H₂O)。ρ₀ 是 Percoll 的密度。

属性	Percoll
组成	具有不可透析 PVP 涂层的二氧化硅溶胶
密度 (g/ml)	1.130 ± 0.005
渗透压 (mOsm/kg H ₂ O)	max. 25
电导率 (mS/m)	max. 100
黏度 (cP)	max. 15
pH	9.0 ± 0.5
内毒素 (EU/ml)	-

产品使用方法（仅供参考）：

● 梯度的制备

1. Percoll 最好用平衡盐溶液、生理盐水或 0.25 M 蔗糖进行配制。细胞可以在平衡盐溶液中按梯度分离。然而，亚细胞颗粒往往在盐存在的情况下聚集，建议用 0.25M 的蔗糖稀释的 Percoll 中进行分离。
2. 将 9 份 (v/v) Percoll 添加到 1 份 (v/v) 1.5 M NaCl、10×浓缩细胞培养基或 2.5 M 蔗糖中，得到渗透压约 340 mOsm/kg H₂O 的溶液。通过调节 Percoll 和盐或蔗糖溶液的相对体积，可以制备不同渗透压的溶液。
3. 可通过添加盐或蒸馏水对所需渗透压进行调整。当需要精确的渗透压时，建议使用渗透压计测量溶液的渗透压。也可以使用 10×生理盐水以外浓度的溶液进行配制。

● Percoll 离心

Percoll 在 0.15 M 盐溶液最低使用大约 10000×g，或在 0.25 M 蔗糖中最低使用大约 25000×g，以便在角度转头中自动生成梯度。细胞或亚细胞颗粒可在离心前与 Percoll 混合，并在原位形成等梯度区带。虽然 Percoll 最好用角转子进行离心，但在水平转子中，在 400g 下进行 20 至 30 分钟的离心，细胞可在连续或不连续密度梯度上形成等梯度区带。

● Percoll 梯度的密度测定

1. 梯度分馏后的 Percoll 溶液的密度可使用折射计进行测定。折射率与 Percoll 溶液的密度呈线性关系。
2. Percoll 在蔗糖和 NaCl 溶液中（20℃）经系列稀释的密度和折射率信息见表和图 2。

Percoll in sucrose		Percoll in NaCl	
Density (g/ml)	Refractive index	Density (g/ml)	Refractive index
1.0345	1.3457	1.0085	1.3350
1.0484	1.3478	1.0243	1.3372
1.0618	1.3499	1.0403	1.3399
1.0765	1.3518	1.0558	1.3423
1.0903	1.3541	1.0713	1.3449
1.1040	1.3561	1.0869	1.3470
1.1180	1.3582	1.1029	1.3493
1.1319	1.3600	1.1189	1.3519
1.1461	1.3626	1.1305	1.3534
1.1547	1.3638	1.1513	1.3569

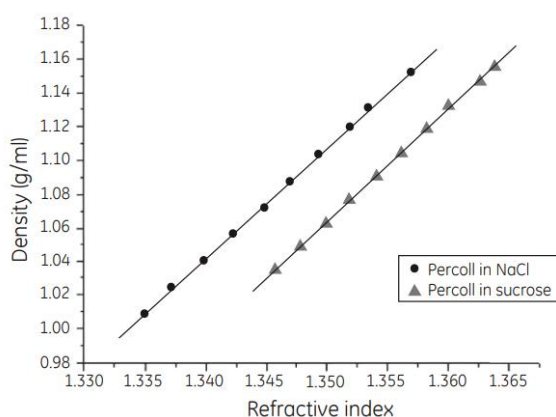


图 2. 20°C下，Percoll 在 NaCl 和蔗糖溶液中的折射率与密度之间的相关性。线性关系由最小二乘线性回归方法获得。Percoll 在 NaCl 和蔗糖溶液中的线性拟合优度 (R^2) 均为 0.9995。

图 2 是通过测量 Percoll 在 NaCl 和蔗糖溶液中的密度和折射率获得的。溶液制备方法如下：在量筒中，加入最终所需体积 1/10 的 1.5 M NaCl 或 2.5 M 蔗糖。所需未稀释 Percoll 的体积可根据公式[1]进行计算：

$$V_0 = V \times \frac{\rho - 0.1\rho_{10} - 0.9}{\rho_0 - 1} \quad [1]$$

注：

V_0 =未稀释 Percoll 的体积[ml]

V =最终溶液的体积[ml]

ρ =最终溶液所需的密度[g/ml]

ρ_0 =Percoll 的密度（未稀释）[g/ml]

ρ_{10} =1.5 M NaCl 或 2.5 M 蔗糖的密度[g/ml]

ρ_{10} =1.5 M NaCl 的密度 = 1.058 g/ml (对于其他盐类有较小的差别)

2.5 M 蔗糖的密度 = 1.316 g/ml (对其他添加物有较小的差别)

注意：公式[1]未考虑 Percoll 中固体二氧化硅所占的体积。因此，溶液中 NaCl 和蔗糖的最终浓度将分别略高于 0.15 M 和 0.25 M。使用密度计（Mettler-Toledo, DE-40）测量密度，使用阿贝折射计（Carl Zeiss）测量折射率。

● 离心后去除 Percoll

1. 通过用生理盐水稀释并离心收集细胞，可以得到不含 Percoll 颗粒的细胞。
2. 亚细胞颗粒可通过上述步骤从 Percoll 中分离出来。颗粒大小决定从 Percoll 分离颗粒所需的离心力。
3. 凝胶过滤或离子交换色谱法也可用于从 Percoll 中分离生物材料。

● 实用注意

1. 设备的护理和清洗：聚碳酸酯管可以和 Percoll 一起使用，因为颗粒不会粘附在这些管的壁上。Percoll 溶液通常在离心后会在管的底部产生一些颗粒状的紧密的硅小球，并沉淀在用于分离等

操作的管路的壁上。这些沉淀变干后很难清除。因此建议所有的设备在使用后马上清洗。溢出的 Percoll 可以用水清洗去除。

2. 硅颗粒聚集：不管是在高压灭菌期间还是在长期的保存期间，所有硅溶胶的固有倾向是形成聚集物。这些聚集物可以在一些批次的 Percoll 中可以被观察到，它们或者是做为一种轻微的沉淀物，或者是密度为 1.04 到 1.05 g/ml 的模糊的白色区带。这个区带可能在离心中或预制梯度的低速离心期间形成梯度时形成。聚集的硅颗粒并没有干扰生物颗粒的分离，因为几乎所有的细胞和细胞器在 Percoll 中的浮力密度都大于 1.05 g/ml。
3. 对于某些特定试验，可能需要去除这些聚集物；这可以通过在离心之前通过深层过滤器过滤 Percoll 来实现。

注意事项：

1. 一旦配成溶液，请分装保存，避免反复冻融造成的产品失效。
2. 本产品仅供科研使用。请勿用于医药、临床诊断或治疗，食品及化妆品等用途。请勿存放于普通住宅区。
3. 为了您的安全和健康，请穿好实验服并佩戴一次性手套和口罩操作。