

血浆分离和 PBMC 分离流程

准备工作：

准备冰盒待用；Ficoll提前放置在室温；水浴锅设置为56°C预热
激活/扩增基础培养基37°C水浴锅预热待用

抽取供者外周血/脐血 50 -100mL，转至多个50mL离心管，
离心（20°C / 720×g / 10min / 降速率调低一半）

新的50 mL离心管中添加适量ficoll

吸取上层淡黄色血浆于新的离心管，封口膜封口后放入56°C水浴锅中热灭活30min

热灭活血浆稍加摇晃混匀。

从水浴锅中取出灭活后的血浆，冰上放置15~30min

血浆稍加摇晃混匀。

高速离心去除杂质（4°C / 2000×g以上 / 10min）

吸取上清至新的离心管中，4°C放置待用



将下层血细胞与生理盐水1:1混匀，按2:1将血细胞悬液缓慢加入装有Ficoll的离心管

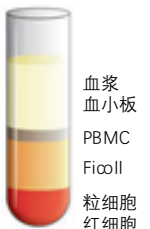
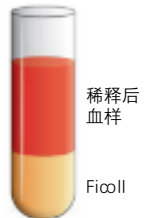
离心（20°C / 400×g / 30min / 升降速率调至最低）

处理前一天抗体包被的培养瓶。配制激活完全培养基。

吸取中间白膜层到新的离心管，加入40mLPBS重悬，离心（350×g / 10min）洗涤1次

去除上清，扩增无血清基础培养基重悬多管PBMC沉淀合并为一管，补充扩增无血清基础培养基至40mL后重悬离心（350×g / 10min）洗涤1次

去除上清，用激活完全培养基重悬PBMC，调整细胞密度为 1.5×10^6 cells/mL



添加激活因子及10%的热灭活自体血浆，转移细胞至包被好的培养瓶中，放入CO₂培养箱中培养

更多实验细节请见说明书。