



细胞分选/富集试剂盒说明书合集

www.tbdscience.com

天津市灏洋生物制品科技有限责任公司

天津灏洋华科生物科技有限公司

人&各种动物外周血红细胞分离液说明书

技术文档编号: TBD0047SOP

【包装规格】

200ml/Kit

【产品组成】

为方便广大用户使用, 试剂内容如下:

	名称	产品编号	规格
A	人&各种动物外周血红细胞分离液		200ml
B	样本稀释液 (赠品)	2010C1119	200ml
C	清洗液 (赠品)	2010X1118	200ml
D	说明书		1 份

【实验前准备】

1. 适用仪器

最大离心力可达 1200g 的水平转子离心机。

(离心机使用时调整为慢升慢降(具体参数请咨询离心机厂家)建议升速(指开始启动→达到设定离心力)的时间、降速(指设定离心时间完成→机器完全停止)时间均控制在 3 分钟左右。)

2. 抗凝剂的选择

在动物实验采血时, 很多实验者选择医用真空采血管获得抗凝血, 医用采血管中的抗凝剂只考虑血浆质量, 但不利于高纯度细胞分离实验(或必须使用枸橼酸钠的医用真空抗凝采血管)

为此, 天津灏洋特别开发出专用实验动物抗凝剂及抗凝管专用于细胞分离, 改变使用普通采血管获得抗凝血分离效果不佳, 提取率及纯度低下的不良结果。

序号	产品名称	产品货号	规格
1	TBD™ 细胞分离专用抗凝剂	TBDTM-0050	100ml
2		TBDTM-0200	200ml
3		TBDTM-0500	500ml

天津市灏洋生物制品科技有限责任公司 天津灏洋华科生物科技有限公司 - 1 -

天津滨海高新区华苑产业区(环外)海泰华科一路 15 号润丰科技 3 幢 5 层

技术服务 Tel: 15822121119 15822691119 13920701119 ◆ Fax:022-58921250 ◆ QQ:2768676807

www.tbdscience.com ◆ E-mail:gx15822121119@163.com

灏洋生物 TBDsciences



细胞分选/富集试剂盒说明书合集

www.tbdscience.com

天津市灏洋生物制品科技有限责任公司

天津灏洋华科生物科技有限公司

4	TBD™ 实验动物一次性使用负压采血管 (随试剂盒附赠 5 支)	TBDTM-0001	5ml/支
---	-------------------------------------	------------	-------

3. 细胞最佳分离时间

血液离体后 2 小时内。如达不到 2 小时内分血条件，请务必于 4 小时内进行分血步骤，超过 4 小时很难顺利进行分离。

血液离体时间	分离效果
2 小时内	最佳
2-4 小时	可接受
4-6 小时	细胞活性下降，分离效果不佳
6 小时以上	分离效果极差，直至分离不出细胞

4. 分离液的使用环境

- 分离液需常温 (37°C-15°C) 避光保存，严禁冷藏冷冻保存；
- 使用时严格遵守无菌操作规范，并在 18°C-22°C 环境温度下进行操作，20°C 条件下分离效果最佳。超出此温度范围，有可能使分离液密度发生改变，造成分离效果不佳。

5. 无菌硅化离心管

序号	产品名称	产品货号	规格
1	无菌玻璃离心管/5mL (随试剂盒附赠 5 支)	TUB2016	100 支/包
2	无菌硅化离心管/10mL (随试剂盒附赠 5 支)	TUB2015	100 支/包

6. 参考值 (目的细胞参考范围)

本试剂盒可保证目的细胞的提取率大于 80%，不是纯度。如需获得高纯度目的细胞，请配合免疫磁珠分选。本试剂盒可减少磁珠的使用量，减少成本。

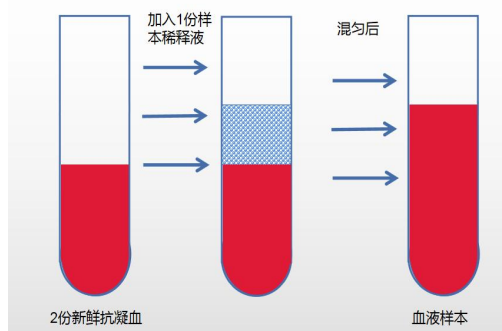
【检验方法】

全过程样本、试剂及实验环境均需在 20±2°C (试剂需要复温。夏季 20°C，冬季 25°C。) 的条件下进行。

血液样本需要稀释时，实验方法如下：

稀释方法：1 份的 PBS 或样本稀释液(产品编号：2010C1119)加 2 份的血液进行稀释 (PBS:抗凝血=1:2)；

注：稀释液要求：用不含钙镁离子的缓冲液或培养基进行血液稀释。



各种规格离心管的使用方法（推荐最佳方法）

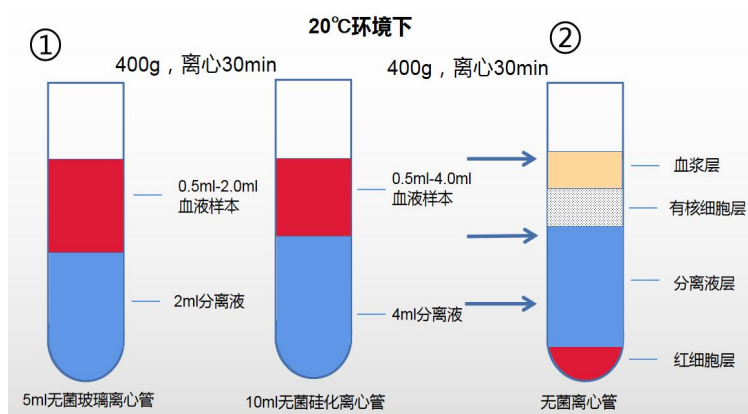
取一支无菌离心管，加入分离液，后缓慢加入血液样本或新鲜抗凝血。血液样本或新鲜抗凝血小心加于分离液液界面之上。（若采血量较少，需小量分离，分离液的量不得少于 2ml，抗凝血量在 0.2-2ml 之间）

1. 使用 5ml 无菌玻璃离心管（货号：TUB2016）

（或 10ml 无菌硅化离心管（货号：TUB2015））

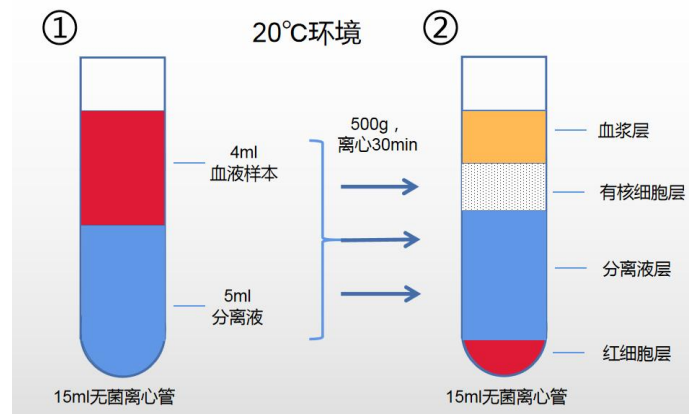
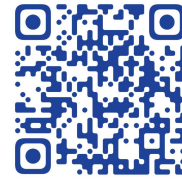
- A. 5ml 无菌玻璃离心管最佳比例：2ml 分离液+ 0.5-2.0ml 细胞悬液；
- B. 10ml 无菌硅化离心管最佳比例：4ml 分离液+ 0.5-4.0ml 细胞悬液；
- C. 最佳离心条件：20℃环境下，400g 离心 30min；

注：如使用 5ml 无菌玻璃离心管，可能需要使用 50ml 的 PBMC 高效离心管；



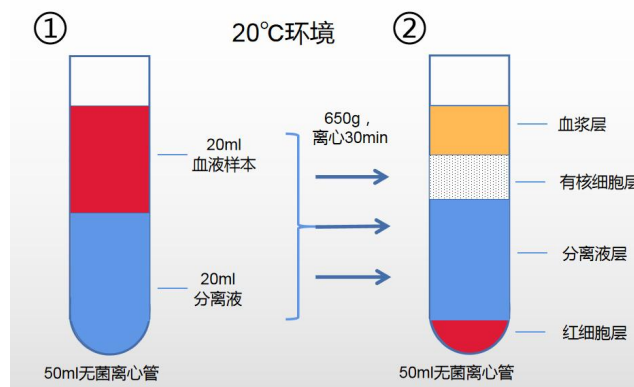
2. 15ml 无菌离心管：

- A. 最佳比例：5ml 分离液+ 4ml 血液样本；
- B. 最佳离心条件：20℃环境下，500g 离心 30min。



3. 50ml 无菌离心管:

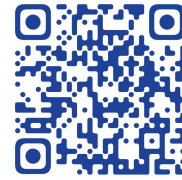
- A. 最佳比例: 20ml 分离液+ 20ml 血液样本;
- B. 最佳离心条件: 20°C环境下, 650g 离心 30min。



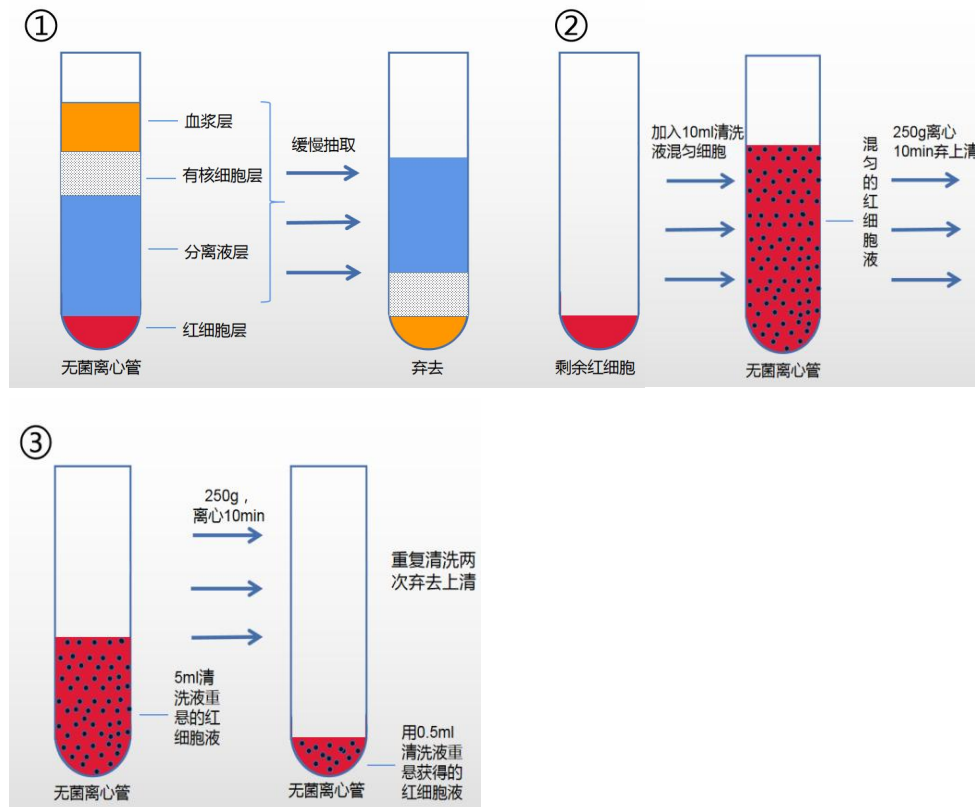
实验后续方案

1. 离心后, 离心管中由上至下分为四层。第一层为血浆层。第二层为环状乳白色有核细胞层。第三层为透明分离液层。第四层为红细胞层。
2. 小心吸取血浆层、有核细胞层和分离液层, 弃去。
3. 在剩余红细胞的离心管中, 加入 10ml 清洗液 (产品编号: 2010X1118), 混匀细胞。
4. 250g, 离心 10min。弃去上清。
5. 用吸管吸取 5ml 清洗液 (产品编号: 2010X1118) 重悬所得细胞。
6. 250g, 离心 10min, 弃去上清。

重复清洗两次, 弃去上清, 用 0.5ml 清洗液 (产品编号: 2010X1118) 或根据下一步实验要求加入相对应液体, 重悬所得细胞。



分离图例



【注意事项】

1. 本实验最好不使用高聚合材质（如聚苯乙烯）的塑料制品，应使用无静电、低静电离心管及未经碱处理过的玻璃制品，因为静电作用将导致细胞贴壁、碱处理的玻璃表面会变成毛面，影响细胞分离效果。
2. 如第一二三层吸取不干净，会导致粒细胞等混杂。
3. 不当的稀释方法会降低细胞得率及活性。稀释液要求：不含钙镁离子的缓冲液或培养基。血液样本经过稀释则分离过程中需适当降低离心力和离心时间。
4. 如实验后细胞得率或活性过低，请联系天津灏洋技术支持以寻求帮助，具体联系方式详见下方生产企业信息。

【储存条件及有效期】

常温保存，有效期2年。本品易感染细菌，需无菌条件操作。无菌条件下操作，启封后置常温保存。如4℃保存，本分离液易出现白色结晶，影响分离效果。



【参考值（参考范围）】

本实验红细胞提取率大于 80%。

下表为成年人外周血中各种细胞的数量及比例，用户可适当进行参考。

	红细胞	白细胞			血小板
含量 (个/L)	$(4.0-5.5) \times 10^{12}$	$(4.0-10.0) \times 10^9$			$(1.0-3.0) \times 10^{11}$
		中性粒细胞	淋巴细胞	单核细胞	
		50%-70%	20%-40%	3%-8%	

【可能存在的问题及解决方法】

1. 离心力公式及单位换算

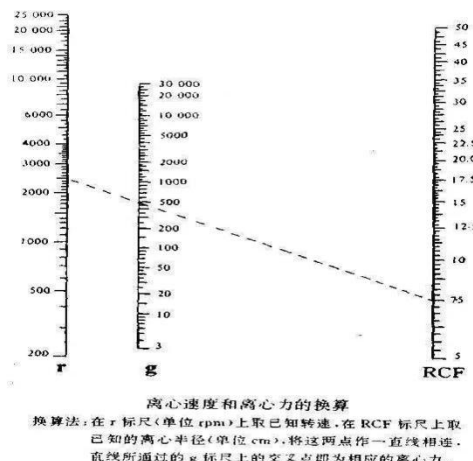
单位 rpm 与 g 的换算:

Centrifugal force conversion

$$rpm = 1000 \sqrt{RCF/1.12r}$$

$$RCF = 1.12r(rpm/1000)^2$$

rpm = revolutions per minute
RCF = relative centrifugal force (x g)
r = radius of rotor in mm



- 本分离液分离细胞的原理为密度梯度离心，其密度与温度、大气压等密切相关。不同地区客户可根据当地情况对离心条件进行适当调整。建议对离心条件进行调整时，恒定离心时间，对离心转速进行调整。
- 本分离液依照国际标准，全部使用药用级原料，性能指标与国产同类产品略有不同，可能出现红细胞沉降不完全的情况，可以适当加大离心转速。

注：在对离心条件进行调整时，离心转速的加减以 50-100g 为基数，直至达到最佳分离效果，离心力最小不得小于 400g，最大不得大于 1200g。离心时间以 20-30min 为准。