



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

人血液样本选择

每个人都是一个单独个体，血液样本也有差异。例如：疾病、药物、性别、身体状况、经期等等。

有些病人血液样本可能出现分离效果较差（部分女性分离不好），目前原因不明确。

预实验标准选择成年健康男性样本。

实验动物选择：绵羊不适用于本试剂盒。

实验小鼠品系选择：部分 C57 小鼠不适用于本试剂盒。

（注：C57 小鼠易出现红细胞沉降不完全，甚至完全不沉降的现象，请慎重选择。）

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）



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

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
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℃-15℃）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℃-22℃ 环境温度下进行操作，20℃ 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】

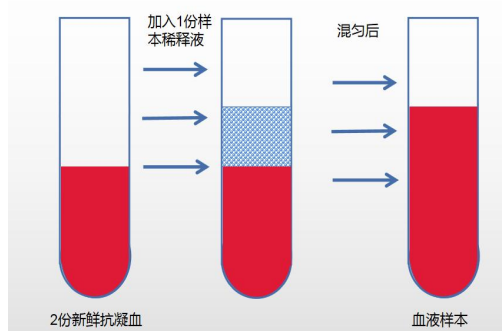
全过程样本、试剂及实验环境均需在 20±2℃（试剂需要复温。夏季 20℃，冬季 25℃。）的条件下进行。



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。



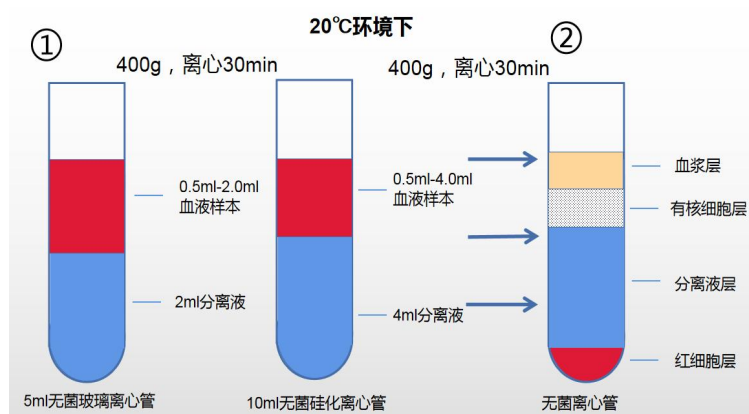
各种规格离心管的使用方法（推荐最佳方法）

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；

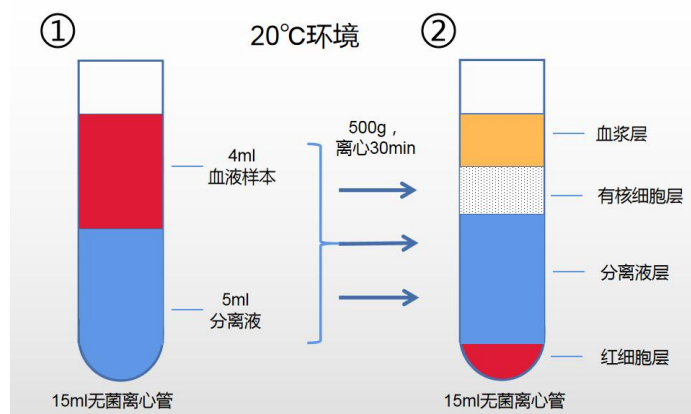
注：如使用 5ml 无菌玻璃离心管，可能需要使用 50ml 的 PBMC 高效离心管；





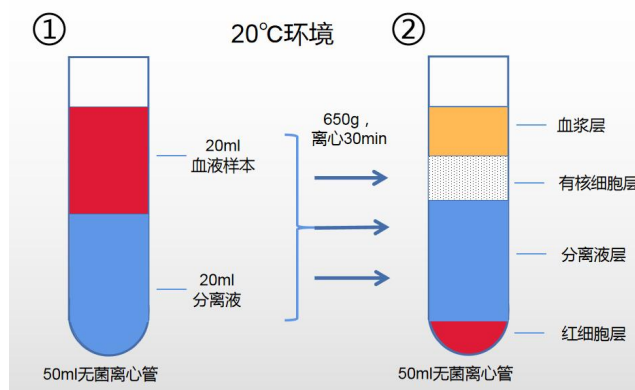
2. 15ml 无菌离心管:

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



3. 50ml 无菌离心管:

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



实验后续方案

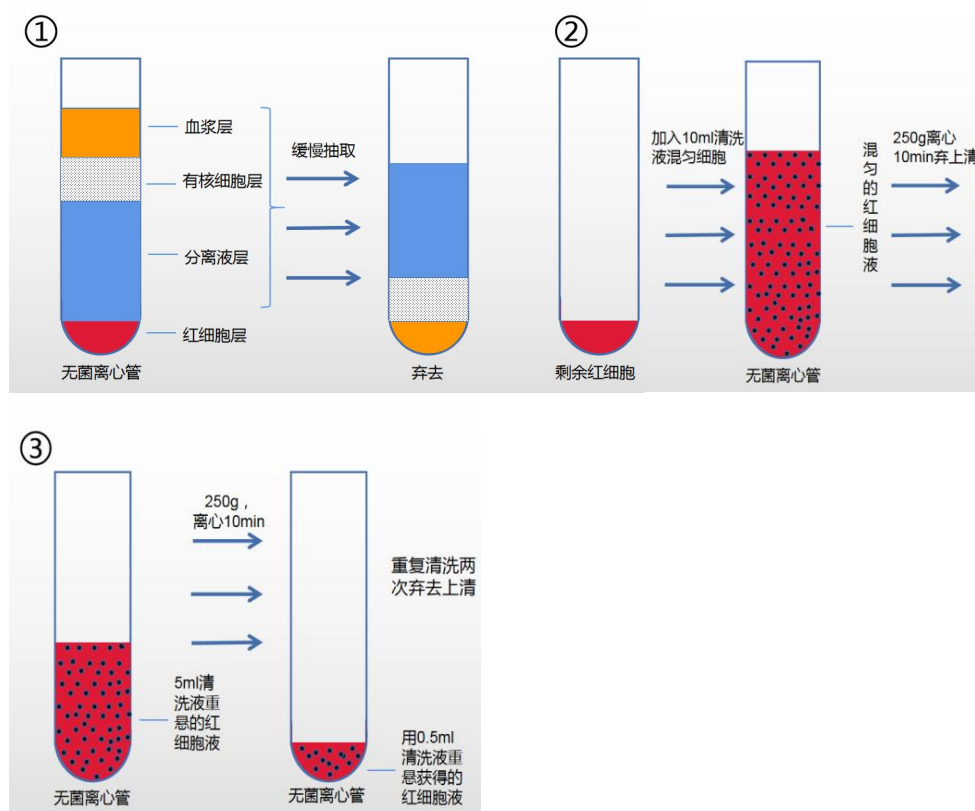
- 离心后, 离心管中由上至下分为四层。第一层为血浆层。第二层为环状乳白色有核细胞层。第三层为透明分离液层。第四层为红细胞层。
- 小心吸取血浆层、有核细胞层和分离液层, 弃去。
- 在剩余红细胞的离心管中, 加入 10ml 清洗液 (产品编号: 2010X1118), 混匀细胞。
- 250g, 离心 10min。弃去上清。
- 用吸管吸取 5ml 清洗液 (产品编号: 2010X1118) 重悬所得细胞。



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后的玻璃制品, 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%。

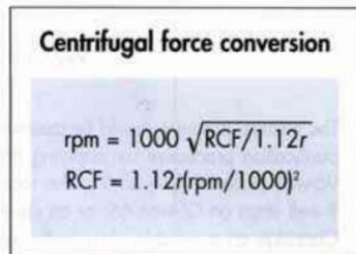
下表为成年人外周血中各种细胞的数量及比例，用户可适当进行参考。

	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%	

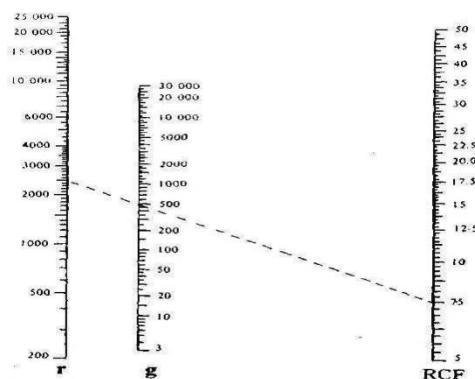
【可能存在的问题及解决方法】

1. 离心力公式及单位换算

单位 rpm 与 g 的换算：



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



离心速度和离心力的换算

换算法：在 r 标尺(单位 rpm)上取已知转速，在 RCF 标尺上取已知的离心半径(单位 cm)，将这两点作一直线相连，直线所通过的 g 标尺上的交叉点即为相应的离心力。

2. 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。
3. 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。