



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&各种动物外周血血小板分离液实验方法

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。

技术文档编号： TBD0049SOP

【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&各种动物外周血血小板分离液		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。

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

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. 目的细胞最佳分离时间

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（超净工作台或生物安全柜内），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. 无菌离心管(少量血液样本专用离心管)

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。

7. 血小板分离后，洗涤沉淀血小板的一般性指导原则

沉淀血浆中的血小板时，离心力的选择同样会受到多种因素的影响，并且可能需要根据具体的实验条件和需求进行调整。

- 离心速度：**通常，较高的离心速度可以使血小板沉淀得更彻底。一般来说，离心速度在 1000-3000×g 之间可能是常见的范围，但具体的速度可能需要根据实验设备和



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

样本特性进行优化。

- b. **离心时间**：离心时间也会影响血小板的沉淀效果。较长的离心时间可能有助于更好地沉淀血小板，但过长的时间可能会对血小板的完整性和功能产生影响。一般离心时间在 5-15 分钟左右。
- c. **血浆样本处理**：在离心前，血浆样本可能需要进行适当的处理，例如稀释或添加抗凝剂，以避免血小板凝结或聚集。
- d. **温度控制**：某些情况下，控制离心过程中的温度可以改善血小板的沉淀效果。一些实验可能需要在特定的温度下进行离心。
- e. **预实验优化**：由于不同的实验条件和设备可能会有所不同，进行预实验来优化离心力和其他参数是很重要的。可以通过尝试不同的离心速度和时间，观察血小板的沉淀效果，以确定最佳的条件。

【检验方法】

全过程样本、试剂及实验环境均需在 $20 \pm 2^{\circ}\text{C}$ （试剂需要复温。夏季 20°C ，冬季 25°C 。）的条件下进行。

方法一：

根据血液样本的体积，选择合适离心管进行分离：

1. 取一支 5ml 无菌玻璃离心管（货号：TUB2016），加入 2ml 分离液，再缓慢加入 0.5-2.0ml 血液样本。血液样本小心加于分离液液界面之上。（分离液不得少于 1ml，血液样本不得少于 0.5ml）
或（取一支无菌离心管，首先加入分离液，取抗凝血加于分离液之液面上（抗凝血与分离液最佳比例为 1：2。分离液试剂不得少于 4ml，总液体量不得超过 2/3）。
2. 以 250-300g，离心 15min。（注：如改变血液样本及分离液用量，需相应调整离心力及离心时间；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。）
3. 离心后，离心管中由上至下分为四层。第一层为血小板血浆层。第二层为环状乳白色细胞层。第三层为透明分离液层。第四层为红细胞层。
4. 小心吸取第一层血小板血浆层到新离心管中。
5. 向新离心管中，加入同体积样本稀释液（产品编号：2010C1119），混匀血小板。

注：如需获得的富集血小板血浆则不需加入样本稀释液，直接取血浆层即得。

6. 以 500g，离心 20min，离心后弃去上清。
7. 向含有血小板沉淀的离心管中加入 10ml 清洗液（产品编号：2010X1118）混匀，以 450g，离心 15min，弃上清。

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 - 3 -

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

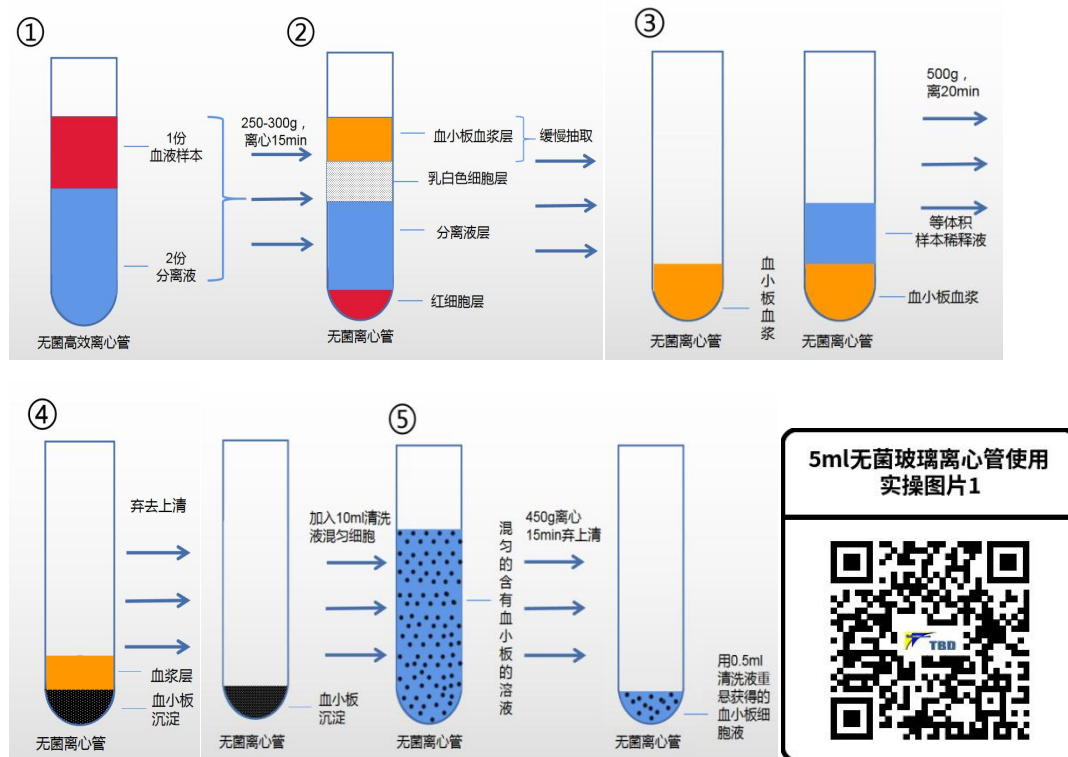
www.tbdscience.com ◆ E-mail: gx15822121119@163.com

灏洋生物 TBDsciences



8. 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

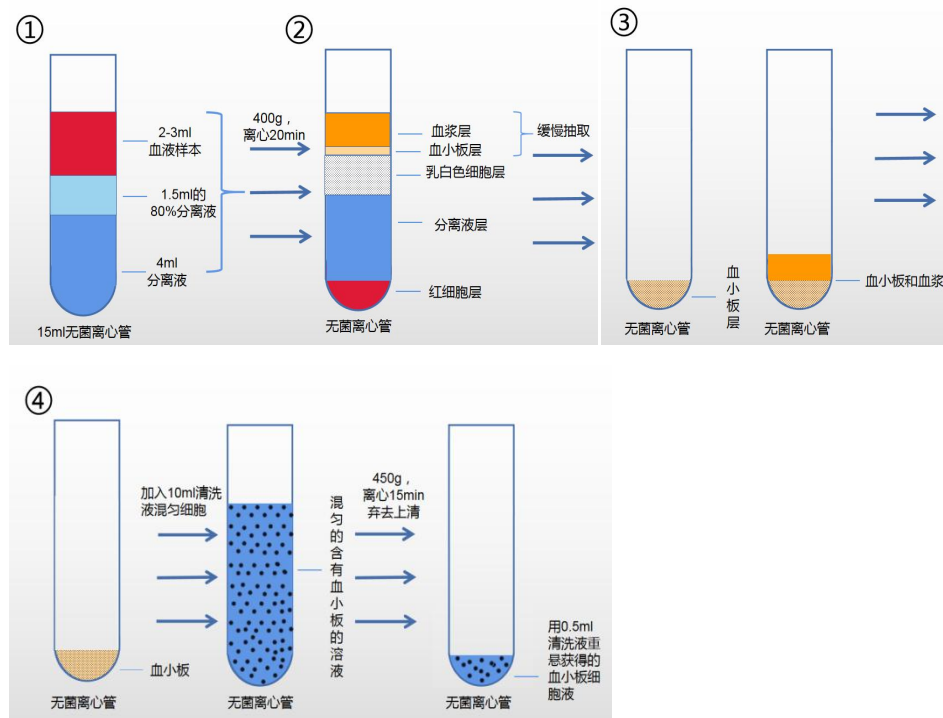


方法二(需获得血小板富集血浆的客户请勿选择此方法):

根据血液样本的体积，选择合适离心管进行分离（以 15ml 离心管举例）：

1. 取 15ml 无菌离心管，先加入 4ml 分离液，再小心加入 1.5ml 的 80% 的分离液溶液（分离液与样本稀释液 8：2 混合），叠加于分离液之液面上形成梯度界面。
2. 将抗凝血液样本 2-3ml 小心加于分离液之液面上，以 400g，离心 20min。
3. 离心后，环状血小板层存在于血浆层中。
4. 取血小板层或血浆层(血小板层不明显时)于另一 15ml 离心管中。
5. 向含有血小板的离心管中加入 10ml 清洗液(产品编号：2010X1118)混匀，以 450g，离心 15min，弃上清。
6. 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. 吸取过多的血小板血浆下层溶液会导致交界处单个核细胞混杂。
3. 分离液用量大于血液样本时，分离效果更佳。
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）】

本实验血小板提取率大于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%	

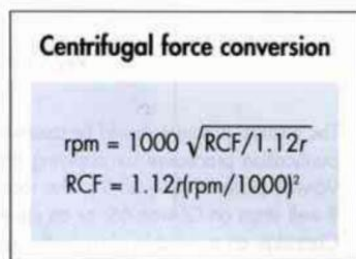
【可能存在的问题及解决方法】

1. 由于血液粘度、细胞密度等差异可能造成的问题及解决方案如下表所示:

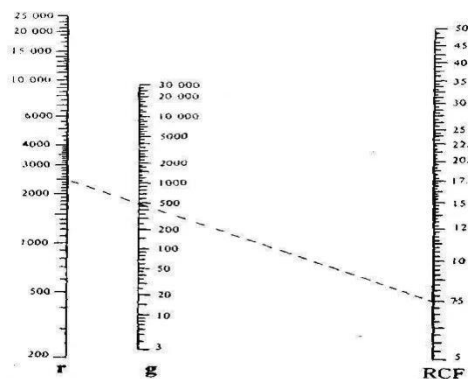
出现情况	出现原因	建议解决方案
离心后目的细胞存在于血浆层或稀释液层	转速过小或离心时间过短	适当增减转速
离心后目的细胞存在于分离液中	转速过大或离心时间过长	
离心后白环层弥散	细胞密度过大	调整细胞密度
离心后白环层太浅或看不见	细胞密度过小	

2. 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), 将这两点作一连线, 直线所通过的 g 标尺上的交叉点即为相应的离心力。

3. 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。

4. 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。