



细胞分选/富集试剂盒说明书合集

[www.tbdscience.com](http://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。

实验动物选择：绵羊不适用于本试剂盒。

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](http://www.tbdscience.com) ◆ E-mail: [gx15822121119@163.com](mailto: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](http://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](http://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  $20^{\circ}\text{C}$ , 冬季  $25^{\circ}\text{C}$ 。) 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

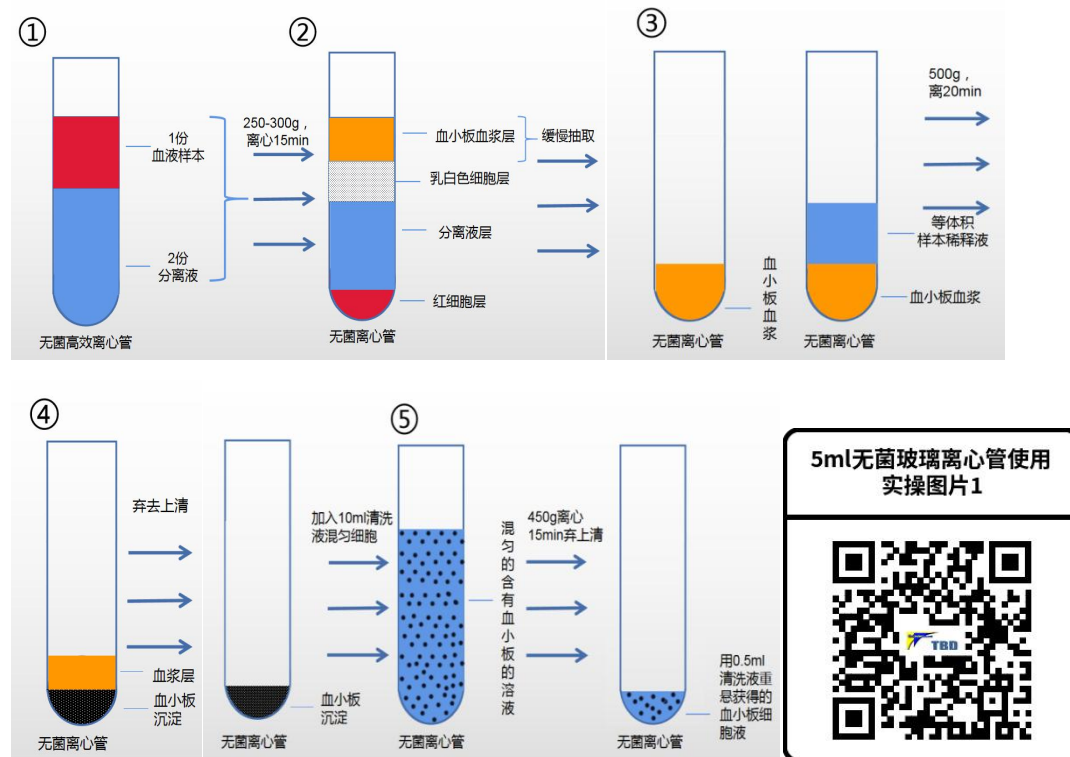
[www.tbdscience.com](http://www.tbdscience.com) ◆ E-mail: [gx15822121119@163.com](mailto:gx15822121119@163.com)

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

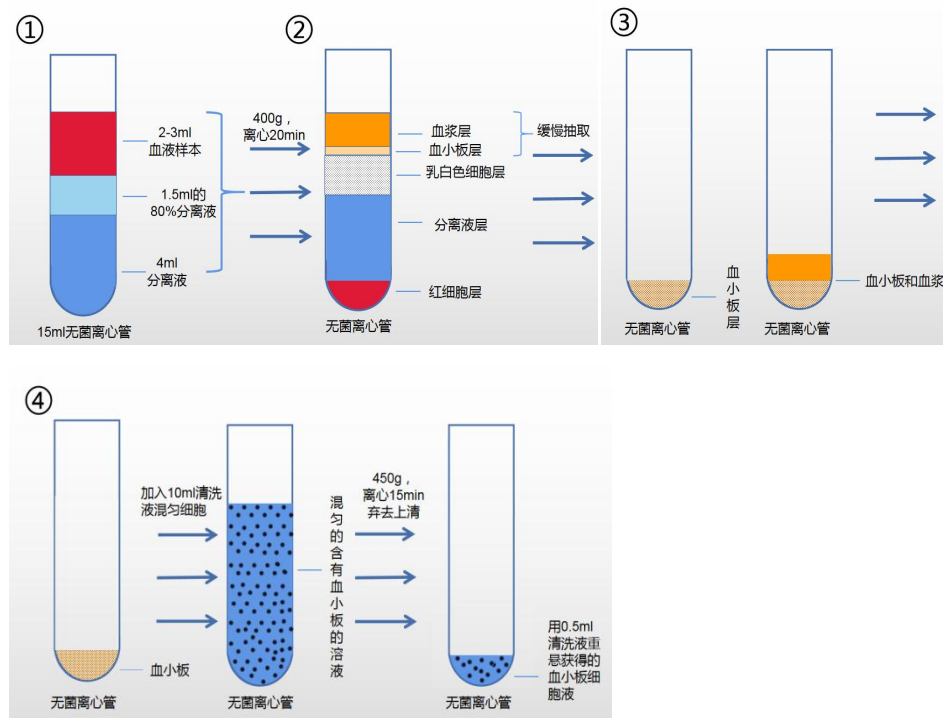


**方法二**(需获得血小板富集血浆的客户请勿选择此方法):

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

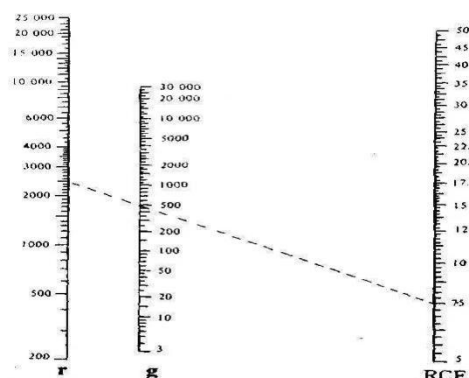
单位 rpm 与 g 的换算:

**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



**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, 该线所通过的 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。