



**TBD**

[www.tbdsience.com](http://www.tbdsience.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

## “XXXX”动物外周血红细胞分离液实验方法

技术文档编号：TBD0047SOP

### 【产品规格】

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    |
|----------|------------------|-----------|-------|
| <b>A</b> | XXXX 动物外周血红细胞分离液 |           | 200ml |
| <b>B</b> | 样本稀释液（赠品）        | 2010C1119 | 200ml |
| <b>C</b> | 清洗液（赠品）          | 2010X1118 | 200ml |
| <b>D</b> | 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

#### 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。

为此，天津灏洋特别开发出专利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. 无菌硅化离心管

| 序号 | 产品名称                     | 产品货号    | 规格      |
|----|--------------------------|---------|---------|
| 1  | 无菌硅化离心管/10ml(随试剂盒附赠 5 支) | TUB2015 | 100 支/包 |

### 【检验方法】

全过程样本、试剂及实验环境均需在 20±2℃ 的条件下进行。

首先取抗凝血按体积比 1:1 的比例加样本稀释液（产品编号：2010C1119）混匀，根据

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

灏洋生物 TBDsciences

稀释后的样本量大小，分以下两种情况：

**情况 A：稀释后的血液样本量小于 5ml 时，实验方法如下：**

1. 取一支无菌硅化离心管，先加入与稀释后样本等量的分离液（注：分离液最少不得少于 3ml）。
2. 用吸管小心吸取稀释后的血液样本加于分离液液面上，600-900g，离心 25-30min（注：根据血液样本量确定离心条件，血液样本量越多，离心力越大，离心时间越长，具体离心条件需客户自行摸索，以达到最佳分离效果）。
3. 离心后，此时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淋巴细胞层。第三层为透明分离液层。第四层为红细胞层。
4. 用吸管小心吸取第一、二、三层，弃去，在剩余红细胞层中加入 10ml 清洗液（产品编号：2010X1118），混匀细胞。
5. 250g，离心 10min。
6. 弃上清。
7. 用吸管以 5ml 清洗液（产品编号：2010X1118）重悬所得细胞。
8. 250g，离心 10min。
9. 重复 6、7、8，弃上清后以 0.5ml 后续实验所需相应液体重悬细胞。

**情况 B：稀释后的血液样本量大于等于 5ml 时，实验方法如下：**

1. 取一支适当的离心管，先加入与稀释后样本等量的分离液。
2. 将经稀释后的血液样本小心加于分离液之液面上，650-950g（最大离心力可至 1000g），离心 25-30min。（注：根据血液样本量确定离心条件，血液量越多，离心力越大，离心时间越长，具体离心条件需客户自行摸索，以达到最佳分离效果。加入血液样本后，样本及分离液总体积不得超过离心管总体积的三分之二）。
3. 剩余步骤同“情况 A”中步骤 3 至步骤 10。

**【注意事项】**

1. 全过程样本、试剂及实验环境均需在 20±2℃ 的条件下进行。为获得最佳的实验结果，最好在取血 2h 内进行实验，血液存放时间越长，细胞分离效果越差。血液放置超过 6h 后分离效果更差甚至不能达到分离目的。
2. 本实验最好不要使用高聚合材质（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。



TBD

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

3. 如第一二三层吸不干净，会导致粒细胞等混杂。
4. 如所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及纯度均大于 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% |                            |

#### 【相关实验技术方案】

1. 流式细胞技术。
2. 免疫组化技术。

注：上述技术方案详情请登陆本公司官网：[www.tbdscience.com](http://www.tbdscience.com)，搜索“天津灏洋细胞分离、纯化、扩增、鉴定及生物治疗技术手册”，并在说明书项目栏下下载使用。

#### 【可能存在的问题及解决方法】

1. 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。
2. 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。