

人脐带血干细胞分离液 KIT 说明书

【产品简介】

脐带血收集采用自然放血且从产房采集到细胞分离时长一般大于 2 小时,与外周血静脉采血且及时分离相比会影响分离效果,为此,灏洋优化配方以提高脐带血干细胞分离得率,请广大医疗及科研用户使用并提出宝贵意见。

【包装规格】

	名称	产品编号	规格
A	人脐带血干细胞分离液	LGS1068CB-200	200ml
B	红细胞沉降液(赠品)	HES-TBD550	200ml
C	清洗液(赠品)	2010X1118-100	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

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. PBMC 高效离心管(详见 PBMC 高效离心管使用说明)

序号	产品名称	产品货号	规格
1	PBMC 高效离心管(随试剂盒附赠 5 支)	601001	50ml

【检验方法】

全过程样本、试剂及实验环境均需在 $20\pm 2^{\circ}\text{C}$ 的条件下进行。

方法一:

1. 新鲜抗凝脐血与生理盐水及红细胞沉降液（6%羟乙基淀粉）按 1: 1: 1 的比例混合，自然沉降 30min（具体沉降时间应根据不同样本对应调整以保证沉降效果）。
2. 沉降后取上层液体，300g 离心 15min，弃去 50%上清，以剩余 50%上清重悬沉淀，制成细胞悬液。
3. 取 50mLPBMC 高效离心管，加入 15ml 分离液，200g 离心 1min 将分离液全部离心至隔片以下，倾去隔片上残留的分离液。
4. 将细胞悬液加至隔片上，400-500g，离心 20-30min。
5. 离心后取白色环状目的细胞层，清洗后重悬备用。

方法二：

1. 新鲜抗凝脐血与红细胞沉降液（6%羟乙基淀粉）按 1: 1 的比例混合。
2. 取 50mLPBMC 高效离心管，加入 15ml 分离液，200g 离心 1min 将分离液全部离心至隔片以下，倾去隔片上残留的分离液。
3. 将与沉降液混匀的样本加至隔片上，400-500g，离心 25min。
4. 离心后取白色环状目的细胞层，清洗后重悬备用。

【注意事项】

1. 全过程样本、试剂及实验环境均需在 $20 \pm 2^{\circ}\text{C}$ 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。
3. 如实验后细胞得率或活性过低，请联系技术支持以寻求帮助。

【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°C 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）】

本实验干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%	

【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. 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。