

各种动物外周血血小板分离液试剂盒

规格：3×200 mL/kit

保存：本产品对光敏感，应该室温避光储存，保质期2年。无菌开封后，保存于室温。

组成：

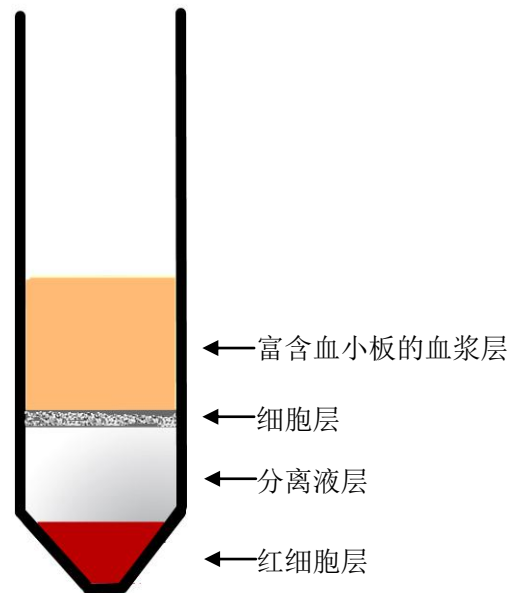
| | |
|---------------|-------|
| 各种动物外周血血小板分离液 | 200mL |
| 全血及组织稀释液 | 200mL |
| 细胞洗涤液 | 200mL |

操作步骤：

1. 取新鲜抗凝全血（EDTA、枸橼酸钠或肝素抗凝均可）或者去纤维蛋白血液，用等体积的全血及组织稀释液或者PBS稀释全血。
2. 在离心管中加入至少5mL的分离液（当血液的体积大于等于3mL，加入2倍体积分离液，但二者的总体积不能超过离心管的三分之二，否则会影响分离效果）。
3. 将稀释后的血液平铺到分离液液面上方，注意保持两液面界面清晰（可以使用巴氏德吸管吸取血液，然后将血液小心的平铺于分离液上，因为两者的密度差异，将形成明显的分层界面。如果样品较多，加样的时间较长，在离心之前出现红细胞成团下沉属正常现象）。
4. 室温，水平转子200-250g，离心15min（血液的体积越大所需的离心力越大，离心时间越长，最佳的分离条件需摸索）。
5. 离心后，此时离心管中由上至下分为四层：最上层为富含血小板的血浆层；第三层为分离液层；分离液与血浆层之间是白色细胞层；第四层为红细胞层。
6. 小心的吸取富含血小板的血浆层到15mL洁净的离心管中，加入10mLPBS或细胞洗涤液（如果需要得到富含血小板的血浆，可直接吸取，不再清洗）。500g，离心20min。
7. 弃上清，5mL的PBS或细胞洗涤液重悬血小板，500g，离心20min。
8. 弃上清，重悬备用。

注意事项：

- A. 开封前颠倒混匀，本分离液为无菌产品，为延长分离液保存时间，请在无菌条件下启封，避免微生物污染。
- B. 分离液使用时应始终保持室温（18℃~25℃），如室内温度较低，可将分离液预热。4℃或者是温度较低的条件离心，分离效果差。
- C. 吸取过多的血小板血浆层下层溶液会导致交界处白细胞混杂。
- D. 血液样本最好为新鲜抗凝血（采血2 h以内），避免冷冻和冷藏。



分离示意图

- E. 稀释血液或洗涤细胞，不可使用含Ca、Mg离子的缓冲液及培养液，降低细胞得率及纯度。
- F. 部分塑料制品（如聚苯乙烯）因其带有的静电作用，可能会导致细胞挂壁，影响分离效果。
- G. 血液样本的粘稠度或者是温度差异，可能会影响分离效果，可以对血液稀释或者是调节离心转数和离心时间，摸索最佳的分离条件。
- H. 不同动物血液在不同比重分离液中的细胞离散系数及细胞带电不同，用户在制定分离液时应提供所需分离液的比重、动物种属及被分离细胞的名称。

参考文献：

1. Boyum A. Separation of leucocytes from blood and bone marrow. Scand J Clin Lab Invest Suppl. 1968; 97: 7.
2. Ting A, Morris PJ. A technique for lymphocyte preparation from stored heparinized blood. Vox Sang. 1971 Jun; 20(6): 561-3.
3. Boyum A. Separation of Blood Leucocytes, Granulocytes and Lymphocytes Tissue Antigens. 1974; 4(4): 269-74.
4. Weisbart RH, Webb WF, Bluestone R, Goldberg LS. A simplified method for lymphocyte separation. Vox Sang. 1972; 23(5): 478-80.
5. Recalde HR. A simple method of obtaining monocytes in suspension. J Immunol Methods. 1984 Apr 13;69(1):71-7.
6. Bøyum A, Løvhaug D, Tresland L. Separation of leucocytes: improved cell purity by fine adjustments of gradient medium density and osmolality. Scand J Immunol. 1991 Dec; 34(6):697-712.
7. Harris R, Ukaejiofo EO. Tissue typing using a routine one-step lymphocyte separation procedure. Br J Haematol. 1970 Feb; 18(2):229-35.