

从全血中直接分离单个核细胞

EasySep™ Direct



使用传统方法（例如密度梯度离心）从血液样本中获取外周血单个核细胞（PBMCs）可能非常耗时并且难以实现自动化。此外，从储存时间较长的血液样本中分离细胞可能会导致红细胞（RBC）和粒细胞污染，从而需要额外的RBC裂解和离心步骤。

使用EasySep™ Direct人PBMC分选试剂盒（产品号 #19654），只需20分钟即可通过免疫磁珠分选获得PBMCs，且无需裂解或离心。分选所得的细胞纯度高，且即使使用储存时间较长的样本也不会有红细胞污染（图1和2）。

为了满足您所有的实验室需求，EasySep™ Direct人PBMC分选试剂盒可用于：

- 全血
- 脐带血
- 骨髓
- 白膜层
- 白细胞单采术样本
- 单采血小板滤器（LRSC）

使用RoboSep™仪器自动分离PBMCs，提高样本处理通量。自动化流程可以最大限度地减少样本处理以及手动操作时间（表1，第3页）。

为什么使用EasySep™ Direct人PBMC分选试剂盒？

快速。 仅需20分钟即可分离出人PBMCs，无需裂解或离心。

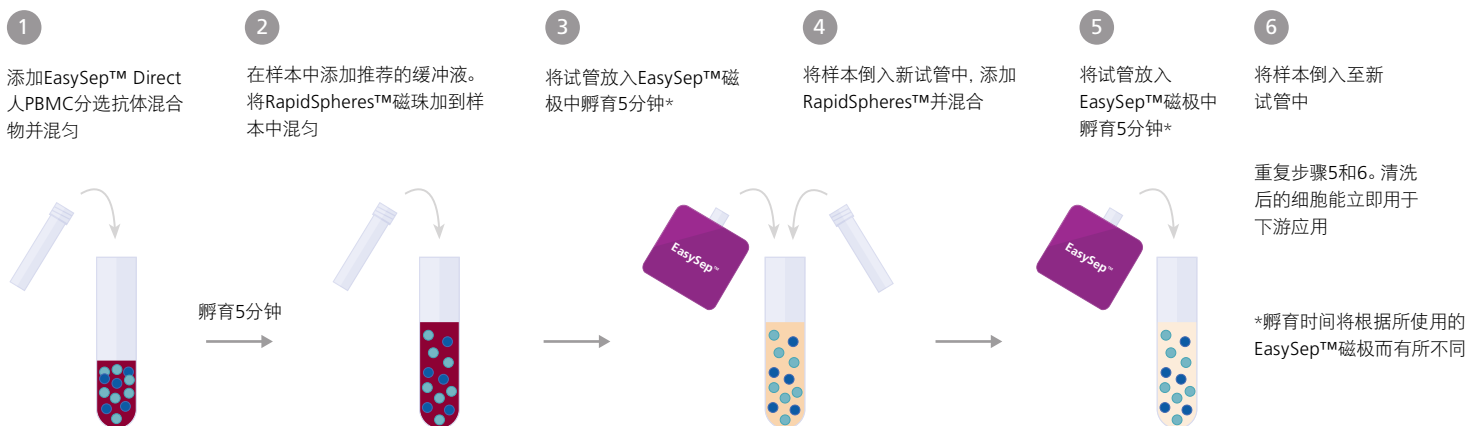
简便。 无需使用密度梯度离心和红细胞裂解等费时费力的方法。

高纯度。 即使是储存时间较长的血液样本也可以从中获得高纯度的单个核细胞。

方便。 使用RoboSep™仪器自动处理血液样本，提高实验通量。

灵活。 从全血、脐带血、骨髓、白膜层、白细胞单采术样本和单采血小板滤器（LRSC）中获取细胞。

工作原理



观看操作流程: www.stemcell.com/easysepdirectvideo

使用EasySep™ Direct分离PBMC

使用EasySep™ Direct人PBMC分选试剂盒，无需离心，直接从全血中通过免疫磁珠分离出PBMCs。通过免疫磁珠细胞分选技术，PBMCs根据细胞表面标志物而非细胞密度进行分离，即使是处理储存时间较长的血液样本，也可得到高纯度的PBMCs和更少的污染细胞（图2C）。

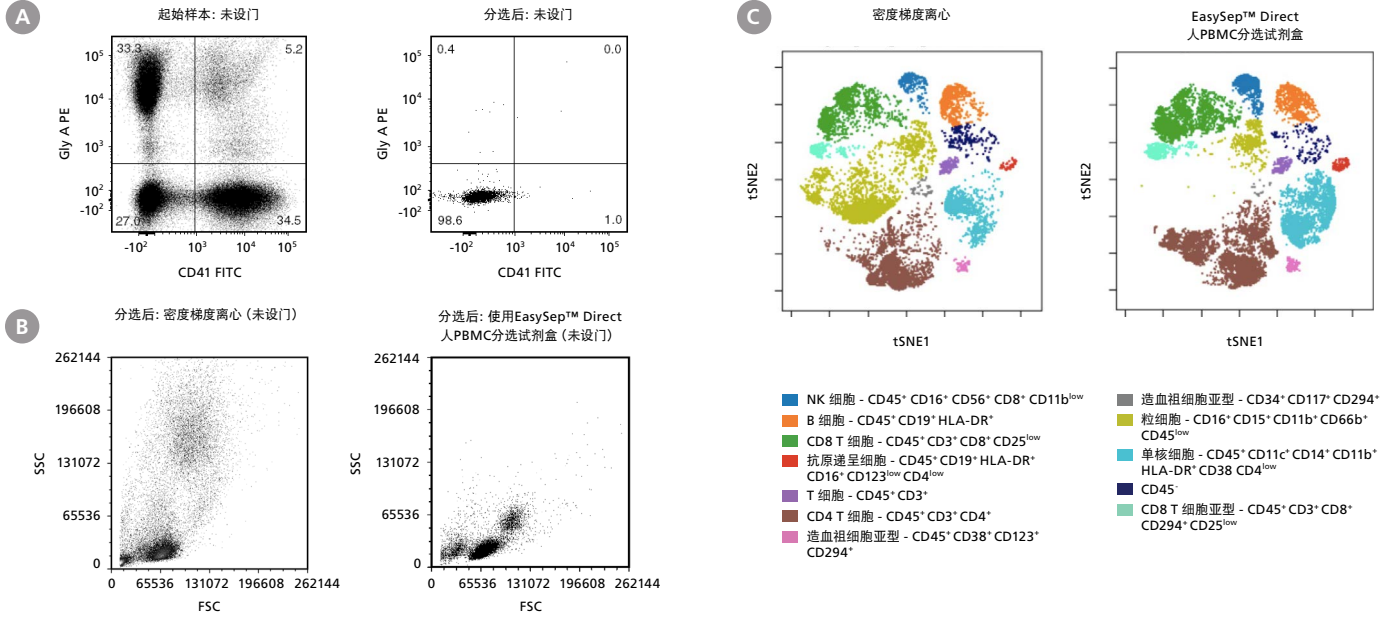


图1. EasySep™ Direct人PBMC分选典型图例

(A) 起始样本为正常健康供者的全血，未裂红的分选所得细胞中单个核细胞的含量（以CD45设门）通常可达 $98.3 \pm 2.8\%$ 。在上述示例中，用氯化铵裂红的全血起始样本和未裂红的分选后的单个核细胞含量分别为27.0%和98.6%（未以CD45设门）。（B和C）使用密度梯度离心法或EasySep™ Direct人PBMC分选试剂盒从全血样本中分离单个核细胞。（B）FSC vs. SSC的代表性流式细胞散点图。（C）使用19种标志物染色并用质谱流式细胞术（CyTOF）分析的PBMCs代表性t-SNE图。细胞根据其表达的标志物组合进行聚类 and 染色。除了污染的粒细胞群（CD16⁺ CD15⁺ CD11b⁺ CD66b⁺ CD45^{low}），使用密度梯度离心和EasySep™ Direct人PBMC分选试剂盒均得到了相似的细胞群。

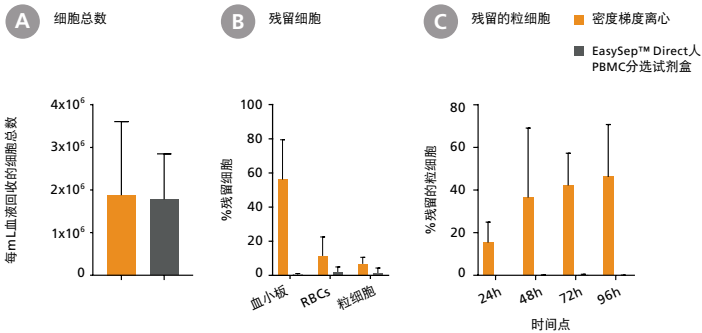


图2. 与密度梯度离心相比，EasySep™ Direct人PBMC分选试剂盒可减少细胞污染

使用密度梯度离心法或EasySep™ Direct人PBMC分选试剂盒从全血样本中分离单个核细胞。通过流式细胞术对细胞进行计数和分析。（A）密度梯度离心和EasySep™ Direct人PBMC分选试剂盒均能从储存24小时的血液样本中回收数量相当的有核细胞（平均值 ± 标准差；n = 14）。（B）使用EasySep™ Direct人PBMC分选试剂盒从储存24小时的血液样本中获取单个核细胞，与密度梯度离心相比，残留的血小板（CD41⁺）、红细胞（Glycophorin A⁺/CD45⁺）和粒细胞（CD66b⁺）的数量较少（平均值 ± 标准差；n = 15）。（C）使用EasySep™ Direct人PBMC分选试剂盒从储存24、48、72和96小时的血液样本中分离细胞，与使用密度梯度离心法相比，残留的粒细胞数量更少（平均值 ± 标准差；n = 3）。

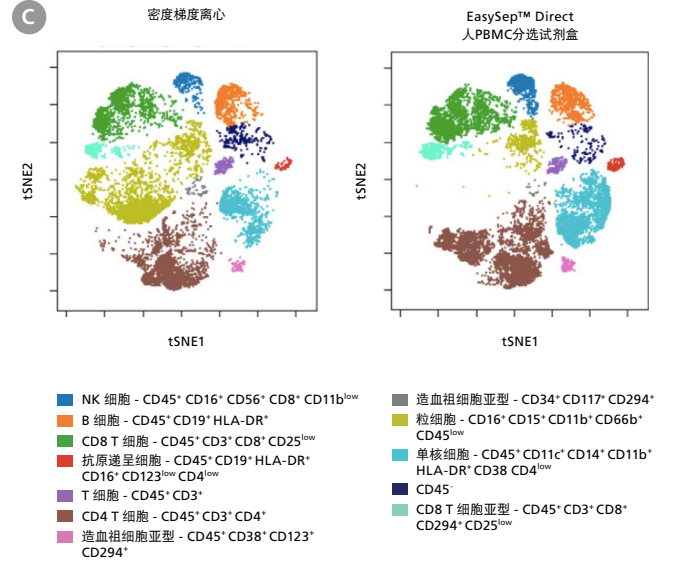


图3. 使用EasySep™ Direct人PBMC分选试剂盒分离的PBMCs可进行扩增并保持较高的RNA完整性

使用密度梯度离心法或EasySep™ Direct人PBMC分选试剂盒从全血样本中分离单个核细胞。（A）分选后的单个核细胞可用于下游RNA分离。使用Agilent RNA Bioanalyzer检测时，RNA完整性没有显著差异（平均值 ± 标准偏差，n = 3）。（B）分离的单个核细胞用增殖染料eFluor 450标记，并用ImmunoCult™人CD3/CD28 T细胞激活剂和0.5 ng/ml IL-2进行刺激。培养4天后，用流式细胞术分析细胞增殖情况。代表性直方图显示为分离的细胞（eFluor 450^{low}）。

使用RoboSep™进行自动PBMC分选

使用EasySep™ Direct人PBMC分选试剂盒和RoboSep™-S仪器进行自动PBMC分选，最大程度地减少样本处理和手动操作时间。通过自动化处理所有样本标记和磁珠分选步骤，您可以同时从最多4个样本中进行细胞分选并提高样本通量。

工作原理



1 选择需要的操作程序。加载样本、EasySep™试剂、缓冲液和枪头。



2 按“运行”键。



3 30分钟后完成，收集分选后的细胞。

表1. 与密度梯度离心相比，使用RoboSep™-S自动分离PBMCs可缩短总体的细胞分选时间

步骤	持续时间 (分钟)		
	手动密度梯度离心	手动 EasySep™ Direct	使用RoboSep™-S 进行自动化 EasySep™ Direct
准备用于放置密度梯度离心液及样本的试管	7	-	-
将样本和试剂放入 RoboSep™-S 仪器	-	-	5
细胞分选	45	20	30
细胞收集	10	1	1
可选: 清洗以去除血小板	15	-	-
可选: 红细胞裂解	15	-	-
最后的离心步骤	15	可选	可选
细胞分选的总时间	≥ 77分钟	~ 21分钟	~ 36分钟
手动操作总时间	≥ 32分钟	~ 21分钟	~ 6分钟

使用密度梯度离心或EasySep™ Direct人PBMC分选试剂盒（手动分选或在RoboSep™-S上自动分选）从全血样本中分离单个核细胞的步骤和大致时间。对于密度梯度离心，可能需要额外的清洗步骤和红细胞裂解。

为什么使用RoboSep™自动进行PBMC分选？

高效。最大程度减少手操时间并提高样本通量。

高纯度。与密度梯度离心相比，可获得高纯度的单个核细胞，且红细胞、粒细胞和血小板去除率更高。

方便。放入样本和试剂，按“运行”，然后即可得到分选后的细胞。

灵活。从脐带血、骨髓、白膜层、白细胞单采术产品和单采血小板滤器 (LRSC) 中获取细胞。

