

# EasySep™ 人总粒细胞分选试剂盒

可处理  $1 \times 10^9$  个细胞

产品号 #19259

负选

文档号 #1000029451 | 版本00



Scientists Helping Scientists™ | WWW.STEMCELL.COM

电话: 400 885 9050

E-MAIL: INFO.CN@STEMCELL.COM

## 产品介绍

通过免疫磁珠负选，从新鲜的人外周血白细胞中分离出高纯度的总粒细胞（中性粒细胞、嗜酸性粒细胞和嗜碱性粒细胞）。

- 操作简单、快捷，且无需分离柱
- 纯度高达99%
- 获得不带标记的活细胞

该试剂盒通过使用识别细胞的特异性表面标志物的抗体来去除非粒细胞。非目的细胞用抗体和磁珠标记，并通过EasySep™磁极进行无柱分选。目的细胞被简单地倾出。分选后的细胞可立即用于下游应用，例如流式细胞术、培养或DNA/RNA提取。

## 包含组分

组分名称	组分号#	规格	储存方式	效期	成分
EasySep™人总粒细胞分选抗体混合物	19259C	1 x 1 mL	2 - 8°C储存，勿冷冻。	具体效期请见标签。	保存在PBS中的单克隆抗体混合物。
EasySep™ D2 Magnetic Particles磁珠	19650	2 x 1 mL	2 - 8°C储存，勿冷冻。	具体效期请见标签。	保存在TBS中的磁珠悬浮液。

PBS - 磷酸盐缓冲液；TBS - TRIS缓冲盐溶液

试剂盒组分可在室温 (15 - 25°C) 下运输，但应按照上述说明进行储存。

## 样本制备

重要：请勿使用葡聚糖沉降法制备细胞。

对全血进行红细胞（RBC）裂解（可获得更高回收率）

1. 使用装有抗凝剂的采血管采集全血。
2. 将4份氯化铵溶液（产品号 #07800）添加到1份全血中并混匀。
3. 在冰上孵育15分钟，然后以300 x g离心10分钟。
4. 用推荐的缓冲液清洗细胞沉淀，然后关闭离心机刹车，以120 x g离心10分钟。
5. 弃去上清液，将细胞以  $5 \times 10^7$  细胞/mL的浓度重悬于推荐的缓冲液中。

使用HetaSep™ 对全血进行 红细胞沉降（样本处理更快且无需裂解）。

1. 使用装有抗凝剂的采血管采集全血。
2. 将1份HetaSep™（产品号 #07906）和5份全血按比例混匀。根据HetaSep™和全血混合后的总体积，使用能装下样本的最小试管。为了尽可能多地回收白细胞，建议使用14 mL或更小的试管。
3. 在室温（15 - 25°C）下，关闭刹车，以90 x g离心样本2分钟（如果总体积≤ 5 mL）或5分钟（如果总体积> 5 mL）。
4. 将试管从离心机中取出，静置10分钟。
5. 将富含白细胞的血浆（红细胞层上面的一切）收集到50 mL管中，然后将4份推荐缓冲液和1份收集的细胞/血浆按比例混合。
6. 在室温（15 - 25°C）下，300 x g，离心10分钟。
7. 弃去上清液，清洗细胞沉淀以去除多余的血小板，在室温下关闭刹车以120 x g离心10分钟。
8. 弃去上清液，将细胞以  $5 \times 10^7$  细胞/mL的浓度重悬于推荐的缓冲液中。

## 推荐缓冲液

EasySep™缓冲液（产品号 #20144），RoboSep™缓冲液（产品号 #20104）；或者含2%胎牛血清（FBS）和1 mM EDTA的PBS。缓冲液应该不含Ca<sup>++</sup>和Mg<sup>++</sup>。

## 使用指南 – EasySep™手动实验流程

请参阅第1页了解样本制备和推荐缓冲液。有关每种磁极的详细使用方法，请参阅表1和表2。

表1. EasySep™人总粒细胞分选试剂盒操作流程

		EASYSEP™ 磁极	
步骤	说明	 EasySep™ (产品号 #18000)	 “The Big Easy” (产品号 #18001)
1#	按指定细胞浓度制备样本，样本体积在范围内。	5 x 10 <sup>7</sup> 细胞/mL 0.25 - 2 mL	5 x 10 <sup>7</sup> 细胞/mL 0.5 - 8 mL
	将样本添加到所需的试管中。	5 mL (12 x 75 mm) 聚苯乙烯流式管 (如: 产品号 #38007)	14 mL (17 x 95 mm) 聚苯乙烯流式管 (如: 产品号 #38008)
2	在样本中加入分选抗体混合物。	50 µL/mL 样本	50 µL/mL 样本
	混匀并孵育。	室温孵育10分钟	室温孵育10分钟
3	涡旋磁珠。 注意：磁珠应呈均匀分散状态。	30秒	30秒
4	将磁珠加入到样本中。	50 µL/mL 样本	50 µL/mL 样本
	混匀并孵育。	室温孵育5分钟	室温孵育5分钟
5	添加推荐的缓冲液，将样本定容至指定体积。通过轻轻上下吹吸2 - 3次来混匀。	定容至2.5 mL	<ul style="list-style-type: none"> <li>若样本 ≤ 4 mL，定容至5 mL</li> <li>若样本 &gt; 4 mL，定容至10 mL</li> </ul>
	将试管（不加盖）放入磁极中并孵育。	室温孵育5分钟	室温孵育5分钟
6	拿起磁极，以一个连续的动作翻转磁极和试管*，倾倒入清液至一个新的试管中。	分选后的细胞可立即用于下游应用	分选后的细胞可立即用于下游应用

RT - 室温 (15 - 25°C)

\* 保持磁极和流式管倒置 2 - 3秒，然后恢复直立。不要摇晃或擦拭掉仍可能挂在管口的任何液滴。

表2.EasySep™人总粒细胞分选试剂盒操作流程


		EASYSEPTM 磁极
步骤	说明	Easy 50 (产品号 #18002) 
1	按指定细胞浓度制备样本，样本体积在范围内。	5 x 10 <sup>7</sup> 细胞/mL 1 - 40 mL
	将样本添加到所需的试管中。	50 mL (30 x 115 mm) 锥形管 (如: 产品号 #38010)
2	在样本中加入分选抗体混合物。	50 µL/mL 样本
	混匀并孵育。	室温孵育10分钟
3	涡旋磁珠。 注意: 磁珠应呈均匀分散状态。	30秒
4	将磁珠加入到样本中。	75 µL/mL 样本
	混匀并孵育。	室温孵育10分钟
5	添加推荐的缓冲液，将样本定容至指定体积。通过轻轻上下吹吸2 - 3次来混匀。	<ul style="list-style-type: none"> <li>· 若样本 &lt; 5 mL，定容至10 mL</li> <li>· 若样品 ≥ 5 - 15 mL，定容至25 mL</li> <li>· 若样品 &gt; 15 - 40 mL，定容至50 mL</li> </ul>
	将试管（不加盖）放入磁极中并孵育。	室温孵育10分钟
6	小心地吸出**（切勿倾倒）富集的细胞悬液至一个新的试管。	使用新的50 mL锥形管
7	从磁极中取出试管，然后将新试管（不加盖）放入磁极中孵育以进行第二次分选。	室温孵育5分钟
8	小心地吸出**（切勿倾倒）富集的细胞悬液至一个新的试管。	分选后的细胞可立即用于下游应用

\*\* 使用移液管一次性收集所有上清液（例如，若体积为5 - 10 mL，使用10 mL的血清移液管 [产品号 38004]；若体积> 10 - 25 mL，使用25 mL的血清移液管 [产品号 38005]；若体积> 25 mL，使用50 mL的血清移液管 [产品号 38006]）。

## 使用指南 – RoboSep™全自动实验流程

请参阅第1页了解样本制备和推荐缓冲液。有关RoboSep™的详细使用说明，请参阅表3。

表 3. RoboSep™人总粒细胞分选试剂盒操作流程

步骤	说明	RoboSep™ (产品号 #21000)	
1	按指定细胞浓度制备样本，样本体积在范围内。	5 x 10 <sup>7</sup> 细胞/mL 0.5 - 8 mL	
	将样本添加到所需的试管中。	14 mL (17 x 95 mm) 聚苯乙烯流式管 (如: 产品号 #38008)	
2	选择实验程序。	人总粒细胞分选 19259	
3	涡旋磁珠。 注意：磁珠应呈均匀分散状态。	30秒	
4	加载转盘。	根据屏幕上的提示操作	
	启动实验程序。	按下绿色的“Run (运行)”按钮	
5	运行完成后，卸载转盘。	分选后的细胞可立即用于下游应用	

## 注意事项和提示

### 纯度评估

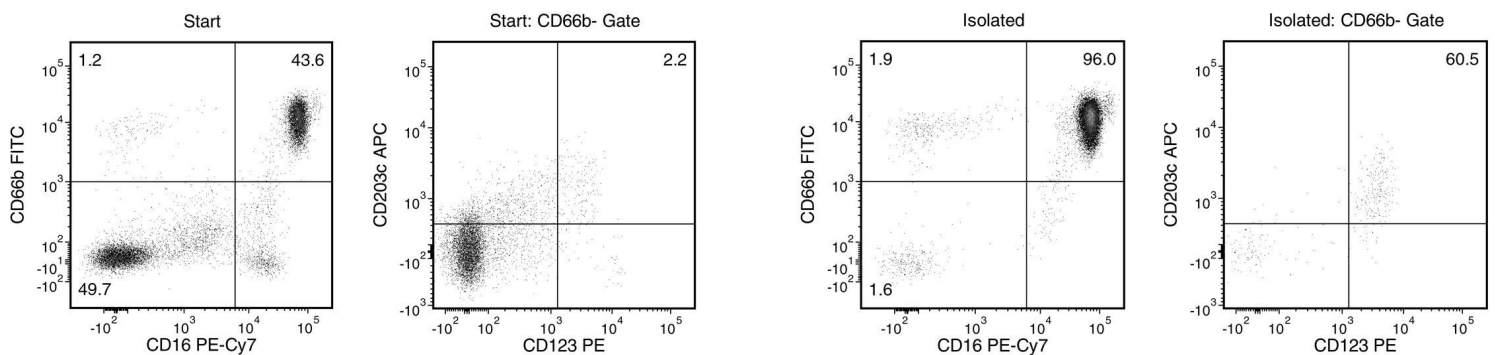
要通过流式细胞术评估总粒细胞（中性粒细胞、嗜酸性粒细胞和嗜碱性粒细胞）的纯度，请使用以下克隆号的流式抗体：

- 抗人CD16抗体，克隆3G8 (产品号 #60041)，以及
- 抗人CD66b抗体，克隆号G10F5 (产品号 #60086)，以及
- 抗人CD123抗体 (IL-3R $\alpha$ )，克隆号6H6 (产品号 #60110；可选，用于检测嗜碱性粒细胞)，以及
- 抗人IgE抗体 (可选，用于检测嗜碱性粒细胞)，以及
- 抗人CD203c抗体 (可选，用于检测嗜碱性粒细胞)

中性粒细胞为CD66b+CD16+，嗜酸性粒细胞为CD66b+CD16-且正向散射 (FSC) 低而侧向散射 (SSC) 高；嗜碱性粒细胞为CD66-CD123+IgE+或CD66-CD123+CD203c<sup>low</sup>。

另外，也可以通过对富集的细胞通过Wright's或May-Grünwald染色（如 Sigma-Aldrich产品号 #W0625或#205435）来评估纯度。

## 实验数据



起始样本为外周全血，分选所得细胞中总粒细胞的含量通常可达97-99%。以上示例中，中性粒细胞通常为CD66b+CD16+，嗜酸性粒细胞通常为CD66b+CD16-，嗜碱性粒细胞为CD66b-或进一步由CD203c+CD123+和IgE+（数据未展示）定义。

产品仅供研究使用。除非另行说明，不可用于人或动物的诊断或治疗。若想了解更多关于产品质量和合规的信息，请访问[WWW.STEMCELL.COM/COMPLIANCE](http://WWW.STEMCELL.COM/COMPLIANCE)。

版权所有© STEMCELL Technologies Inc. 2025。保留一切权利，包括图形和图像。STEMCELL Technologies及其设计及徽标，以及Scientists Helping Scientists、EasySep、HetaSep和RoboSep均是STEMCELL Technologies Canada Inc.的商标。所有商标为各自所有者所有。STEMCELL尽力确保STEMCELL及其供应商提供的信息正确无误，对此类信息的准确性或完整性不作任何保证或声明。