

EasySep™ 人单核细胞富集试剂盒 (不去除CD16)

可处理 1×10^9 个细胞

产品号 #19058
#19058RF RoboSep™

负选

文档号 #1000029459 | 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, 从新鲜或冻存的人外周血单个核细胞 (PBMCs) 或裂解的白细胞单采术样本中分离出不带标记和高纯度的CD14+CD16+/- 和 CD14-CD16+CD56- 单核细胞。

- 操作简单、快捷, 且无需分离柱
- 纯度高达89%
- 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单核细胞。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倒入。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。

如果需要去除CD16+细胞, 请使用EasySep™ 人单核细胞富集试剂盒 (产品号 #19059) 或EasySep™ 人单核细胞分选试剂盒 (产品号 #19359), 这些试剂盒中含有抗CD16抗体。

包含组分

组分名称	组分号#	规格	储存方式	效期	成分
EasySep™ 人单核细胞富集抗体混合物 (不去除CD16)	19058C.2	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, 包含Fc受体阻断抗体。
用于人单核细胞的EasySep™ D Magnetic Particles	19550	1 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

有关可用的新鲜和冻存样本, 请参见 www.stemcell.com/primarycells。

外周血

通过在密度梯度离心液 (如Lymphoprep™, 产品号 #18060) 上离心, 从全血中制备外周血单个核细胞 (PBMC) 悬液。如需更快地制备PBMC, 可以使用SepMate™ RUO (产品号#86450/86415) 或SepMate™ IVD* (产品号 #85450/85415) 细胞分离管。

如果使用冻存的PBMCs, 在室温 (15 - 25°C) 下用终浓度为 100 µg/mL 的 DNase I 溶液 (产品号 #07900) 孵育细胞至少15分钟, 再进行标记和分选。标记或分选前, 建议使用培养基或缓冲液 (如含10%FBS的DMEM, IMDM, RPMI或PBS) 洗涤两次。使用 37 µM 的细胞滤筛 (产品号 #27250) 过滤细胞悬液去除细胞团块, 以获得最佳结果。

制备完成后, 将细胞以 5×10^7 细胞/mL 的浓度重悬于推荐的缓冲液中。

* SepMate™ (IVD) 在特定地区作为体外诊断设备使用, 其预期用途是通过密度梯度离心法从全血或骨髓中分离单个核细胞 (MNCs)。SepMate™ 在符合21 CFR 820标准的cGMP质量管理体系下生产。在其他所有地区, SepMate™ 仅限于研究用途 (RUO)。

裂解的白细胞单采术样本

1. 将4份氯化铵溶液 (产品号 #07800) 添加到1份白细胞单采术样本中。

注: 如果使用样本体积较大 (> 20 mL), 请首先以300 x g 离心10分钟来浓缩白细胞单采术样本。去除上清液, 并用原样本体积的1/10的推荐缓冲液重悬细胞 (例如, 对于30 mL 细胞样本, 重悬于3 mL 推荐缓冲液中, 并添加12 mL 氯化铵溶液)。对于小体积样本 (≤20 mL), 将氯化铵溶液直接添加到白细胞单采术样本中。

2. 冰上孵育15分钟。

3. 使用推荐的缓冲液加满试管以清洗细胞。在室温 (15 - 25°C) 下以300 x g 离心10分钟。去除上清液。

4. 可选 (去除血小板):

a. 使用推荐的缓冲液加满试管以清洗细胞。在室温下, 关闭刹车, 将细胞以120 x g 离心10分钟。小心地去除上清液。

b. 重复步骤4a一次或多次, 直至去除大部分血小板 (标志是上清液变澄清)。

5. 将细胞以 5×10^7 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⁺⁺和Mg⁺⁺。为了最佳的使用效果, 请在使用前将推荐缓冲液在2 - 8°C 预冷。

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至表5。

表1.EasySep™ 人单核细胞富集试剂盒（不去除CD16）的操作流程

		EASYSEPTM 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 ⁷ 细胞/mL 0.25 - 2 mL	5 x 10 ⁷ 细胞/mL 0.5 - 8.5 mL
	将样本添加到所需的试管中。	5 mL (12 x 75 mm) 聚苯乙烯圆底流式管 (如: 产品号 #38007)	14 mL (17 x 95 mm) 聚苯乙烯圆底流式管 (如: 产品号 #38008)
2	在样本中加入富集抗体混合物。 注意：不要涡旋抗体混合物。	50 µL/mL 样本	50 µL/mL 样本
	混匀并孵育。	在2 - 8°C下孵育10分钟	在2 - 8°C下孵育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。	在2 - 8°C下孵育5分钟	在2 - 8°C下孵育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"> ●若样本 < 2 mL，定容至 5 mL ●若样本 ≥ 2 mL，定容至 10 mL
	将试管（不加盖）放入磁极中并孵育。	室温孵育2.5分钟	室温孵育2.5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。	使用新的5 mL 流式管， 分选后的细胞可直接用于下游应用	使用新的14 mL 流式管， 分选后的细胞可直接用于下游应用
下一页列出了用于提高纯度或回收率的额外分选步骤（可选）。			

RT - 室温（15 - 25°C）

* 保持磁极和试管倒置 2 - 3秒，然后翻转回直立位置。不要摇晃或擦拭掉仍可能挂在管口的任何液滴。

表2.EasySep™ 人单核细胞富集试剂盒（不去除CD16）的操作流程

		EASYSEP™ 磁极	
步骤	说明	 EasySep™ (产品号 #18000)	"The Big Easy" (产品号 #18001) 
	可选：提高细胞纯度的额外分选步骤。 注意：可以提高纯度，但可能会降低细胞回收率。	---	---
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2.5分钟	室温孵育2.5分钟
8	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
	可选：提高细胞回收率的额外分选步骤。 注意：可以提高回收率，但可能会降低细胞纯度。	---	---
7	从磁极中取出试管，并加入推荐缓冲液定容至指定体积。通过轻轻上下吹吸5 - 6次来混匀。	定容至2.5 mL	<ul style="list-style-type: none"> ●若样本 < 2 mL，定容至 5 mL ●若样本 ≥ 2 mL，定容至 10 mL
8	将试管（不加盖）放入磁极中并孵育。	室温孵育2.5分钟	室温孵育2.5分钟
9	拿起磁极，以一个连续的动作翻转磁极和试管*，倾倒入富集的细胞悬液。	使用新的14 mL 流式管 与步骤6中倒出的细胞悬液合并 分选后的细胞可立即用于下游应用	<ul style="list-style-type: none"> ●对于 < 2 mL的起始样本，使用新的14 mL 流式管 ●对于 ≥ 2 mL 的起始样本，使用新的50 mL 锥形管 与步骤6中倒出的细胞悬液合并 分选后的细胞可立即用于下游应用

RT - 室温 (15 - 25°C)

* 保持磁极和试管倒置 2 - 3秒，然后翻转回直立位置。不要摇晃或擦拭掉仍可能挂在管口的任何液滴。

表3.EasySep™ 人单核细胞富集试剂盒（不去除CD16）的操作流程

		EASYSEP™ 磁极	
		EasyEight™ (产品号 #18103)	
步骤	说明	5 mL 流式管	14 mL 流式管
1	按指定细胞浓度制备样本，样本体积在范围内。	5 x 10 ⁷ 细胞/mL 0.25 - 2 mL	5 x 10 ⁷ 细胞/mL 0.5 - 8.5 mL
2	将样本添加到所需的试管中。	5 mL (12 x 75 mm) 聚苯乙烯圆底流式管 (如: 产品号 #38007)	14 mL (17 x 95 mm) 聚苯乙烯圆底流式管 (如: 产品号 #38008)
3	在样本中加入分选抗体混合物。 注意：不要涡旋抗体混合物。	50 µL/mL 样本	50 µL/mL 样本
	混匀并孵育。	在2 - 8°C下孵育10分钟	在2 - 8°C下孵育10分钟
4	涡旋震荡磁珠。 注意：磁珠应呈均匀分散状态。	30 秒	30 秒
5	将磁珠加入到样本中。	50 µL/mL 样本	50 µL/mL 样本
	混匀并孵育。	在2 - 8°C下孵育5分钟	在2 - 8°C下孵育5分钟
6	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"> ● 若样本 < 2 mL，定容至 5 mL ● 若样本 ≥ 2 mL，定容至 10 mL
	将试管（不加盖）放入磁极中并孵育。	室温孵育2.5分钟	室温孵育5分钟
7	小心地用移液器*（不要倾倒）将富集的细胞悬液转移到新的试管中。	使用新的5 mL 流式管， 分选后的细胞可直接用于下游应用	使用新的14 mL 流式管， 分选后的细胞可直接用于下游应用

RT - 室温（15 - 25°C）

* 一次性将所有上清液收集到单个移液管中。例如，对于EasyEight™ 5 mL试管，使用2 mL血清移液管（产品号 #38002）；对于EasyEight™ 14 mL试管，使用10 mL血清移液管（产品号 #38004）。

表4.EasySep™ 人单核细胞富集试剂盒（不去除CD16）的操作流程

步骤	说明	EASYSEP™磁极	
		 EasyPlate™ (产品号 #18102)	 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 ⁷ 细胞/mL 0.05 - 0.2 mL	5 x 10 ⁷ 细胞/mL 1 - 40 mL
	将样本添加到所需的试管中（若使用EasyPlate™ EasySep™ 磁极，将样本加到96孔板中）。	圆底，非TC处理的96孔板 (如:产品号 #38018)	50 mL (30 x 115 mm) 锥形管 (如: 产品号 #38010)
2	在样本中加入富集抗体混合物。 注意：不要涡旋抗体混合物。	50 μL/mL 样本	50 μL/mL 样本
	混匀并孵育。	在2 - 8°C下孵育10分钟	在2 - 8°C下孵育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。	在2 - 8°C下孵育5分钟	在2 - 8°C下孵育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。	定容至0.25 mL	<ul style="list-style-type: none"> ●若样本 ≤ 10 mL，定容至 25 mL ●若样本 > 10 mL，定容至 50 mL
	将试管或孔板（不加盖）放入磁极中并孵育。	室温孵育10分钟	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或96孔板。	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)

** 使用单个移液管一次性收集全部上清液。

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5。

表5. RoboSep™ 人单核细胞富集试剂盒（不去除CD16）的操作流程

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 ⁷ 细胞/mL 0.5 - 8.5 mL	
	将样本添加到所需的试管中。	14 mL (17 x 95 mm) 聚苯乙烯圆底流式管 (如: 产品号 #38008)	
2	选择实验程序。	人单核细胞负选19058 - 高回收率	
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	运行结束后，卸载转盘。	分选后的细胞可立即用于下游应用	

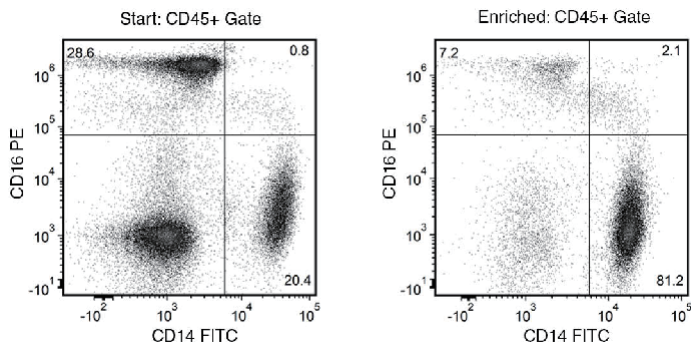
注意事项和提示

纯度评估

要通过流式细胞术评估单核细胞的纯度，请使用以下克隆号的流式抗体：

- 抗人CD14抗体，克隆M5E2 (产品号 #60004)，以及
- 抗人CD16抗体，克隆3G8 (产品号 #60041；可选)

实验数据



起始样本为新鲜的PBMCs，富集后的CD14+ 细胞含量通常为82.7 ± 6.7%（平均值 ± 标准差，使用紫色EasySep™磁极）。如样本含有大量CD16+ 细胞，富集得到的CD14+ 细胞纯度可能会稍低。在以上示例中，起始样本和富集后的细胞纯度分别为21.2%和 83.3%。

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。

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、EasyEight、EasyPlate、EasySep、RoboSep和SepMate是STEMCELL Technologies Inc. 的商标。Lymphoprep是Serumwerk Bernburg AG的商标。以Lymphoprep品牌销售的产品也是由Serumwerk Bernburg AG生产的。所有商标均为各自所有者所有。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。