

EasySep™ 人单核细胞分选试剂盒

可处理 1×10^9 个细胞

产品号 #19359

产品号 #19359RF RoboSep™

负选

文档号 #1000029464 | 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, 在短至12.5分钟内从新鲜或冻存的人外周血单个核细胞 (PBMCs) 或洗涤的白细胞单采术样本中分离出高度纯化的 CD14+CD16- 单核细胞。

- 操作简单、快捷, 且无需分离柱
- 纯度高达94%, 回收率高
- 获得不带标记的活细胞

该试剂盒通过识别细胞表面特异性标志物的抗体来去除非单核细胞、CD16+ 单核细胞和血小板。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、细胞培养或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™ 人单核细胞分选抗体混合物	19359C	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
EasySep™ 人血小板去除抗体混合物	19369C	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
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

EDTA 的存在对本试剂盒的性能非常重要。使用 K2EDTA 或 K3EDTA 作为抗凝剂采集血液。如果使用非 EDTA 的抗凝剂, 则必须在全血样本中加入最终浓度为3 mM 的EDTA。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) 细胞离心管。

如果使用冻存的PBMC (例如: 人外周血单个核细胞, 冻存, 产品号 #70025), 在室温 (15 - 25°C) 下用终浓度为100 µg/mL 的 DNase I 溶液 (1 mg/mL; 产品号 #07900) 孵育细胞至少15分钟, 推荐用以下培养基或缓冲液之一 (DMEM, IMDM, RPMI或含10%胎牛血清 [FBS] 的PBS) 清洗细胞至少2次, 再进行标记和分选。使用37 µm 的细胞滤筛 (产品号 #27250) 过滤细胞悬液去除聚团, 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。

裂解白细胞单采术样本：

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。

清洗白细胞单采术样本：

加入等体积的推荐缓冲液或含2% FBS的PBS，在室温（15 - 25°C）下以 300 x g 离心10分钟，清洗外周血白细胞单采样本。如果需要去除血小板，在关闭刹车的情况下，以 120 x g 离心10分钟。去除上清液，并将细胞以 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）。

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⁺⁺。

使用指南 – EasySep™ 手动实验流程

请参阅第1页和第2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™ 人单核细胞分选试剂盒操作流程

		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 0.5 - 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。注意: 不要涡旋抗体混合物。	50 µL/mL 样本	50 µL/mL 样本
	在样本中加入血小板去除抗体混合物。 注意: 不要涡旋抗体混合物。注: 可选, 参见第 4 页的注意事项和提示。	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
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	· 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	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)

* 如果需要在2 - 8°C孵育，可将抗体混合物孵育时间延长至10分钟。无需增加磁珠孵育时间。

** 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™ 人单核细胞分选试剂盒操作流程

步骤	说明	EASYSEP™ 磁极			
		 EasyPlate™ (产品号 #18102)	 EasyEights™ (产品号 #18103) 5mL 流式管	 14mL 流式管	 EasyPlate™ (产品号 #18102)
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 0.5 - 2 mL	5 x 10 ⁷ 细胞/mL 1 - 8.5 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)	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)	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。注意：不要涡旋抗体混合物。	50 μL/mL 样本	50 μL/mL 样本	50 μL/mL 样本	50 μL/mL 样本
	加入血小板去除抗体混合物。注意：不要涡旋抗体混合物。 注：可选，参见第 4 页的注意事项和提示。	50 μL/mL 样本	50 μL/mL 样本	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	室温孵育5分钟	室温孵育5分钟
3	涡旋磁珠。 注意：磁珠应呈均匀分散状态。	30 秒	30 秒	30 秒	30 秒
4	将磁珠加入到样本中。	50 μL/mL 样本	50 μL/mL 样本	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	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0.25 mL	定容至2.5 mL	· 定容至5 mL，若样本 < 2 mL · 定容至10 mL，若样本 ≥ 2 mL	· 定容至25 mL，若样本 ≤ 10 mL · 定容至50 mL，若样本 > 10 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2.5分钟	室温孵育2.5分钟	室温孵育10分钟
6	小心地吸出***（切勿倾倒）富集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	使用新的5 mL 流式管	使用新的14 mL 流式管	分选后的细胞可立即用于下游应用
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	小心地吸出***（切勿倾倒）富集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	分选后的细胞可立即用于下游应用	---

RT - 室温 (15 - 25°C)


* 如果需要在 2 - 8°C 孵育，可将抗体混合物孵育时间延长至 10 分钟。无需增加磁珠孵育时间。

*** 使用一个移液管一次收集所有的上清液 (EasyEights™ 5 mL 流式管使用一个 2 mL 血清移液管 [产品号 #38002]; EasyEights™ 14 mL 流式管使用一个 10 mL 血清移液管 [产品号 #38004])。

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™ 人单核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 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) 聚苯乙烯流式管 (如: 产品号 #38008)	
2	在样本中加入血小板去除抗体混合物。 注: 可选, 参见第 4 页的注意事项和提示。	50 µL/mL 样本	
3	选择实验程序。	人单核细胞分选 19359	
4	涡旋磁珠。 注意: 磁珠应呈均匀分散状态。	30 秒	
5	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	
6	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

去除血小板

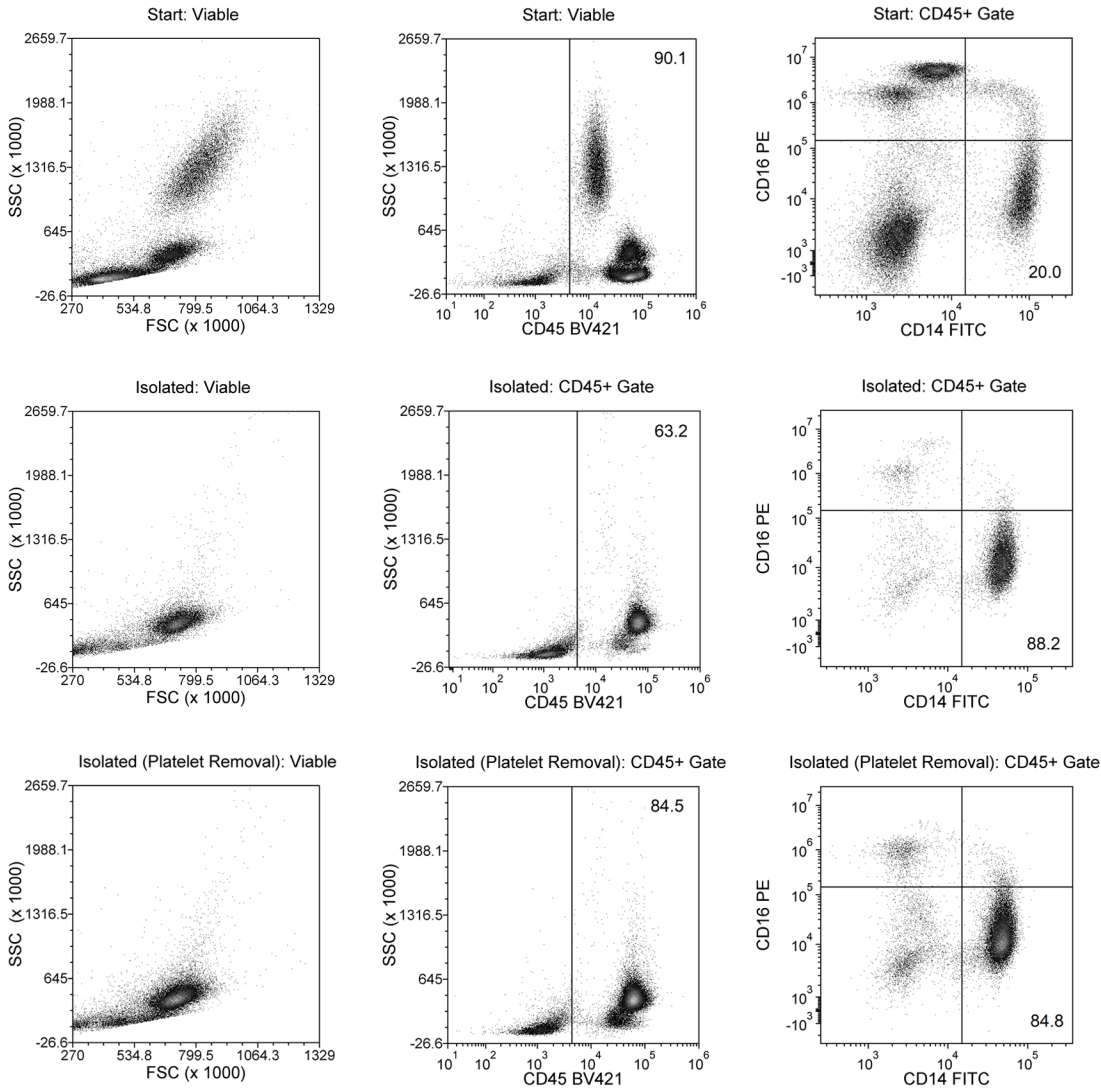
EasySep™ 人血小板去除抗体混合物在用于按照样本制备流程从人外周全血制备的新鲜PBMCs时, 效果最佳。EasySep™ 人血小板去除抗体混合物用于白细胞单采术样本或冻存的PBMCs样本时, 可能会导致单核细胞回收率降低。

纯度评估

要通过流式细胞术评估单核细胞 (CD14+CD45+) 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)
- 抗人CD16抗体, 克隆3G8 (产品号 #60041), 以及
- 抗人CD45抗体, 克隆HI30 (产品号 #60018)

实验数据



起始样本为人外周全血来源的PBMCs，不使用（中间排）或使用（最下排）EasySep™人血小板去除抗体混合物分选后单核细胞（CD14+CD16-）的含量分别为 $89.7 \pm 3.4\%$ 和 $87.3 \pm 4.5\%$ （设置CD45门，平均值 \pm 标准差，使用紫色EasySep™磁极）。以上示例中，起始样本和不使用（中间排）或使用（最下排）EasySep™人血小板去除抗体混合物分选的细胞纯度分别为20%，88.2%和84.8%（设置CD45门）以及18%，55.7%和71.7%（不设置CD45门）。

STEMCELL Technologies Inc.的质量管理体系已经过ISO 13485认证。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、EasyEights、EasyPlate、EasySep、RoboSep、和SepMate均是STEMCELL Technologies Inc.的商标。Lymphoprep是Serumwerk Bernburg AG的商标。以Lymphoprep品牌名称销售的产品也由Serumwerk Bernburg AG制造。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。