

EasySep™人单核细胞富集试剂盒

可处理 1×10^9 个细胞

产品号 #19059
产品号 #19059RF RoboSep™

负选
文档号 #1000029465 | 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无磁珠标记和高纯度的 (CD14 + CD16-) 单核细胞。

- 操作简单、快捷, 且无需分离柱
- 纯度高达 95%
- 获得不带标记的活细胞

该试剂盒通过使用识别细胞特异性表面标志物 (包括CD16) 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。如果需要CD16+ 细胞, 请使用EasySep™人单核细胞富集试剂盒 (不去除CD16) (产品号 #19058)。

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	19059C.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) 细胞分选管。

如果使用冻存的PBMC, 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, 再进行标记和分选。使用37 µm的细胞滤筛 (产品号 #27215) 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，表2 和表3。

表1.EasySep™ 人单核细胞富集试剂盒操作流程

		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：这能提高细胞纯度，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*，倾倒入上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
提高细胞回收率的分选流程（可选） 注意：这能提高细胞回收率，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操作流程

		EASYSEP™ 磁极	
步骤	说明	 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 2.5 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 4。

表4.RoboSep™ 人单核细胞富集试剂盒操作流程

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	选择实验程序。	人单核细胞负选 19059 - 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	

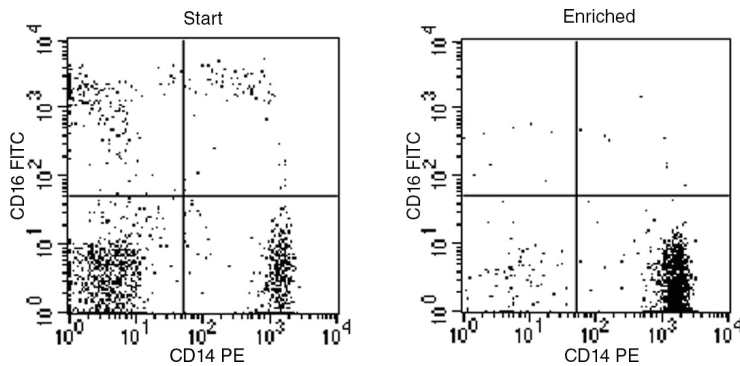
注意事项和提示

纯度评估

要通过流式细胞术评估单核细胞(CD14+CD16-)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; 可选)

实验数据



起始样本为冻存PBMC，富集后的单核细胞 (CD14 + CD16-) 含量通常可达 83 - 95%。在上述实验中，起始样本和分选后的目的细胞纯度分别为 14% 和 94%。

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 和其设计及徽标，以及 Scientists Helping Scientists、EasyEights、EasyPlate、EasySep、SepMate 和 RapidSpheres 均是 STEMCELL Technologies Canada 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。Brilliant Violet 是 Sirigen Group Ltd 的商标。BD Horizon Brilliant 是 Becton, Dickinson, and Company 的商标。该试剂盒的用户应确保他们有权使用目的抗体。STEMCELL Technologies Inc. 对使用本产品时可能发生的专利侵权或违规行为不承担任何责任。STEMCELL 尽力确保 STEMCELL 及其供应商提供的信息正确无误，但对此类信息的准确性或完整性不作任何保证或声明。