

# EasySep™ 人 NK 细胞分选试剂盒

可处理  $1 \times 10^9$  个细胞

产品号 #17955

产品号 #17955RF RoboSep™

负选

文档号 #1000029468 | 版本00



Scientists Helping Scientists™ | [WWW.STEMCELL.COM](http://WWW.STEMCELL.COM)

电话: 400 885 9050

E-MAIL: [INFO.CN@STEMCELL.COM](mailto:INFO.CN@STEMCELL.COM)

## 产品介绍

通过免疫磁珠负选, 在短至 8 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样本中分离出无磁珠标记且高纯度的NK细胞。

- 操作简单、快捷, 且无需分离柱
- 纯度高达94%, 回收率高
- 分选得到的细胞不带标记

该试剂盒通过使用识别细胞特异性表面标志物的抗体来去除非NK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。

## 包含组分

组分名称	组分号#	规格	储存方式	效期	成分
EasySep™ 人NK细胞分选抗体混合物	17955C	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™ Dextran RapidSpheres™ 50103	50103	1 x 1 mL	2 - 8°C 储存。 勿冷冻	具体效期请见标签	保存在水中的磁珠悬浮液

PBS - 磷酸盐缓冲液

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](http://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 (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  $5 \times 10^7$  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)。

### 白细胞单采样本

通过添加等体积的推荐缓冲液或含有2%胎牛血清 (FBS) 的PBS来清洗外周血白细胞单采样本。在室温 (15 - 25°C) 下, 300 x g, 离心10分钟。如果需要裂解红细胞, 请使用氯化铵溶液 (产品号 #07800) 进行裂解。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  $5 \times 10^7$  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) 或含有2% 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 NK 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 <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。 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。	室温孵育5分钟	室温孵育5分钟
3	涡旋振荡RapidSpheres™。 注意: 磁珠应呈均匀分散状态。	30 秒	30 秒
4	将RapidSpheres™ 加到样本中混匀。	50 µL/mL 样本	50 µL/mL 样本
	无需孵育。	不进行孵育，立刻进行下一步骤	不进行孵育，立刻进行下一步骤
5	添加推荐缓冲液，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3分钟	室温孵育3分钟
6	拿起磁极，以一个连续的动作翻转磁极和试管*，将富集的细胞悬液倾倒入一个新的试管中。	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. 可选：可提高回收率的EasySep™人NK细胞分选试剂盒实验流程

注：使用此方案可提高回收率，但可能会降低纯度。

		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 <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 95mm) 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	50µL/mL 样本
	混匀并孵育。	室温孵育5分钟	室温孵育5分钟
3	涡旋振荡RapidSpheres™。 注意：磁珠应呈均匀分散状态。	30秒	30秒
4	将RapidSpheres™ 加到样本中。	40 µL/mL 样本	40 µL/mL 样本
	无需孵育。	无需孵育，立即进行下一步	无需孵育，立即进行下一步
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3分钟	室温孵育3分钟
6	拿起磁极，以一个连续的动作翻转磁极和试管*，将富集的细胞悬液倒入新的流式管中。	使用新的14 mL流式管 保留上清液	<ul style="list-style-type: none"> <li>· 若起始样本 ≤ 4 mL，请使用新的14 mL流式管</li> <li>· 若起始样本 &gt; 4 mL，请使用新的50 mL流式管 保留上清液</li> </ul>
7	从磁极上取下流式管，加入推荐的缓冲液，将样本定容至指定体积。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3分钟	室温孵育3分钟
8	拿起磁极，以一个连续的动作翻转磁极和试管*，将富集的细胞悬液倒入新的流式管中。	与步骤6中第一次倒出的细胞混合 分选后的细胞可立即用于下游应用	与步骤6中第一次倒出的细胞混合 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 NK 细胞分选试剂盒操作流程

		EASYSEPTM磁极		
步骤	说明	EasyEights™ (产品号 #18103)		Easy 50 (产品号 #18002)
		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 <sup>7</sup> 细胞/mL 0.5 - 2 mL	5 x 10 <sup>7</sup> 细胞/mL 1 - 8 mL	5 x 10 <sup>7</sup> 细胞/mL 8 - 45 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)	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
	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
3	涡旋振荡RapidSpheres™。 注意: 磁珠应呈均匀分散状态	30 秒	30 秒	30 秒
4	将RapidSpheres™ 加到样本中混匀。	50 µL/mL 样本	50 µL/mL 样本	50 µL/mL 样本
	无需孵育。	不进行孵育, 立刻进行下一步骤	不进行孵育, 立刻进行下一步骤	不进行孵育, 立刻进行下一步骤
5	添加推荐缓冲液, 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 ≤ 4 mL, 定容至5 mL · 若样本 > 4 mL, 定容至10 mL	· 若样本 ≤ 20 mL, 定容至 25 mL · 若样本 > 20 mL, 定容至 50 mL
	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	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中。	使用新的5 mL 流式管	使用新的14 mL 流式管	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	室温孵育5分钟	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	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 移液管 [产品号 #38002]; EasyEights™ 14 mL 流式管使用一个 10 mL 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4. RoboSep™人 NK 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NK细胞分选试剂盒 - 17955	
3	涡旋振荡RapidSpheres™。 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	

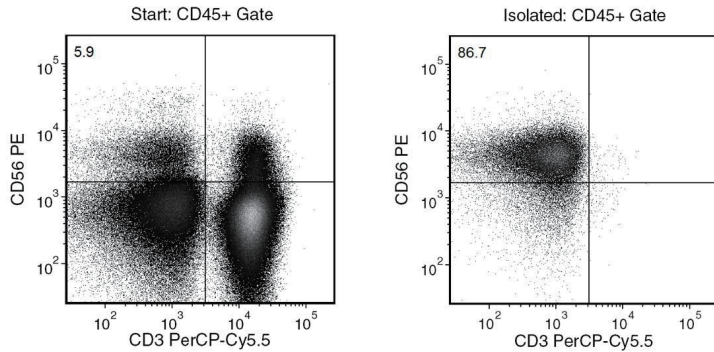
## 注意事项和提示

### 纯度评估

要通过流式细胞术评估NK细胞 (CD3-CD56+) 的纯度，请使用以下克隆号的流式抗体：

- 抗人CD3抗体，克隆UCHT1 (产品号 #60011)，以及
- 抗人CD56抗体，克隆HCD56 (产品号 #60021)
- 抗人CD45抗体，克隆HI30 (产品号 #60018；可选)

## 实验数据



起始样本为人PBMCs，分选后的NK细胞含量 (CD3-CD56+) 通常为85.0 ± 8.0% (平均值 ± 标准差)。在上述实验中，起始样本和分选后细胞的纯度分别为5.9%和86.7%。

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。

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、RapidSpheres、RoboSep和SepMate均是 STEMCELL Technologies Canada Inc.的商标。Lymphoprep是Serumwerk Bernburg AG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。