

EasySep™人 NK 细胞富集试剂盒

可处理 1×10^9 个细胞

产品号 #19055
#19055RF

负选

文档号 #1000029476 | 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NK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NK细胞富集抗体混合物	19055C.1	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™ D Magnetic Particles磁珠	19250	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

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PBMCs, 在室温 (15 - 25°C) 下用终浓度为100 g/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。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°) 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⁺⁺。

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 0.25 - 2 mL	5 x 10 ⁷ 细胞/mL 0.5 - 8.5 mL
	将样本添加到所需的流式管中。	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。	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。	100 µL/mL 样本	100 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
	将流式管（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
可选: 额外分选步骤。 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	· 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。	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	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. EasySep™人 NK 细胞富集试剂盒操作流程

		EASYSEP™磁极			
步骤	说明	 EasyPlate™ (产品号 #18102)	 EasyEights™ (产品号 #18103)		 Easy50 (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 ⁷ 细胞/mL 0.05 - 0.2 mL	5 x 10 ⁷ 细胞/mL 0.25 - 2 mL	5 x 10 ⁷ 细胞/mL 0.5 - 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	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	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	30秒	30秒
4	将磁珠加入到样本中。	100 μL/mL 样本	100 μL/mL 样本	100 μL/mL 样本	100 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	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	· 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	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（例如，对于EasyEights™ 5 mL 流式管，使用一个2 mL 血清移液管 [产品号 #38002]；对于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 NK 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NK细胞负选19055 - 高回收率	
3	涡旋振荡RapidSpheres™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	

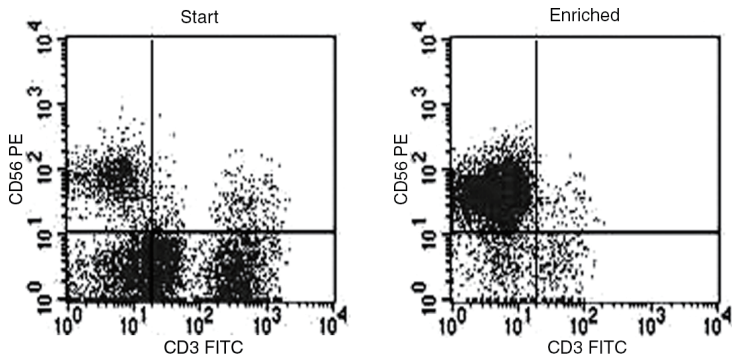
注意事项和提示

纯度评估

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

- 抗人CD56 (NCAM) 抗体，克隆HCD56 (产品号 #60021)，以及
- 抗人CD3抗体，克隆UCHT1 (产品号 #60011)

实验数据



起始样本为含有大于10%的NK细胞的冻存单个核细胞，富集后的NK细胞含量通常在73 - 95%。在上述实验中，起始样本和富集后的目的细胞纯度分别为10%和96%。

注：富集后的NK细胞含量 (CD56+CD3-) 会有所不同，取决于起始样本。当起始样本中NK细胞含量低于10%时，纯度可能会较低。

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、EasyEight, EasyPlate, EasySep, RapidSpheres, RoboSep, and SepMate均是 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。