

EasySep™ Direct 人 PBMC 分选试剂盒

可处理 100 mL 全血

产品号 #19654
#19654RF RoboSep™

负选

文档号 #10000032497 | 版本00



Scientists Helping Scientists™ | WWW.STEMCELL.COM

电话: 400 885 9050

E-MAIL: INFO.CN@STEMCELL.COM

产品介绍

通过免疫磁珠负选直接从人外周全血样本中分离高纯度的外周血单个核细胞 (PBMC)。该试剂盒还可用于从其他类型样本中分离PBMC (参见表1)。

- 99.9%红细胞去除率, 无需密度梯度离心、沉降或裂解
- 操作简单、快捷, 且无需分离柱
- 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粒细胞、血小板和红细胞 (RBC)。非目的细胞被抗体和磁珠标记后, 通过EasySep™磁极进行分选。PBMC可被轻松收集到新试管中, 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。

本产品说明书 (PIS) 适用于从全血中分离PBMC。如果从其他样本类型中分离PBMC, 请参阅www.stemcell.com上提供的对应产品说明书 (PIS) 文档 (参见表1), 或联系我们申请。

表1. 适用于其他样本类型的产品说明书 (PIS) 文档编号

样本类型	PIS文档编号
白膜层 (Buffy Coat)	10000035907
骨髓	10000035863
脐带血	10000035862
白细胞单采术样本	10000035860
去白系统室 (LRSC)	info.cn@stemcell.com 咨询

包含组分

组分名称	组分号#	规格	储存方式	效期	成分
EasySep™ Direct 人 PBMC 分选抗体混合物	19654C	2 x 2.5 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™ Direct RapidSpheres™ 50300磁珠	50300	4 x 2.5 mL	2 - 8°C 储存。 勿冷冻	具体效期请见标签	保存在PBS中的磁珠和单克隆抗体悬浮液。

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

外周血

为了最佳的回收率, 请使用未经处理的人全血。如样本存放时间超过24小时, 目的细胞的回收率会降低。

可处理的血液样本量取决于分选过程中所用的EasySep™磁极。血液样本必须放置在所需的试管或培养瓶中, 并正确地放入合适的EasySep™磁极中。

为了避免单核细胞损失, 在标记和分选之前, 必须将终浓度为6 mM的EDTA添加到全血样本中 (参见步骤2, 表2 - 5)。建议使用大于0.05 M的EDTA储存液, 以避免过度稀释起始样本。


推荐缓冲液

EasySep™ 缓冲液 (产品号 #20144)、RoboSep™ 缓冲液 (产品号 #20104), D-PBS (不含Ca⁺⁺和Mg⁺⁺; 产品号 #37350) 或含有2% 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2和表4。

表2.用于全血样本的EasySep™ Direct 人 PBMC 分选试剂盒操作流程

		EASYSEP™ 磁极	
步骤	说明	 EasySep™ (产品号 #18000)	 “The Big Easy” (产品号 #18001)
1	制备样本，样本体积在范围内。	1 - 2 mL	1 - 6 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	将EDTA添加到样本中。	终浓度为6 mM的EDTA	终浓度为6 mM的EDTA
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。	室温孵育5分钟	室温孵育5分钟
4	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。	定容至原样本体积的两倍	定容至原样本体积的两倍
5	涡旋振荡RapidSpheres™磁珠。 注意: 磁珠应呈均匀分散状态。	30 秒	30 秒
6	将RapidSpheres™磁珠加到样本中混匀。	50 µL/mL起始样本体积 注意: 无需孵育，立即进行下一步	50 µL/mL起始样本体积 注意: 无需孵育，立即进行下一步
7	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
8	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*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
9	将RapidSpheres™磁珠添加到含有富集细胞的新试管中并混匀。	使用与步骤6相同的体积 注意: 无需孵育，立即进行下一步	使用与步骤6相同的体积 注意: 无需孵育，立即进行下一步
10	从磁极中取出试管，然后将第9步中的试管（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
11	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。	使用新的5 mL流式管	使用新的14 mL流式管
12	从磁极中取出试管，然后将第11步中的试管（不加盖） 放入磁极中孵育以进行第三次分选。	室温孵育5分钟	室温孵育5分钟
13	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

RT - 室温 (15 - 25°C)

* 第一次磁极分选后，收集的细胞中可能含有大量红细胞，并且看起来可能与起始未处理的人全血样本类似。

† 为了最大限度地减少目的细胞中的红细胞污染，请沿试管的干净区域（即倒入样本时使用的对面一侧）倒出样本。

表3.用于全血样本的EasySep™ Direct 人 PBMC 分选试剂盒操作流程

步骤	说明	EASYSEPTM磁极		
		 EasyEights™ (产品号 #18103)	 Easy 50 (产品号 #18002)	
		5 mL 流式管	14 mL 流式管	Easy 50 (产品号 #18002)
1	制备样本, 样本体积在范围内。	1 - 2 mL	1 - 6 mL	5 - 25 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)	50 mL (30 x 115 mm) 锥形管 (如: 产品号 #38010)
2	将EDTA添加到样本中。	终浓度为6 mM的EDTA	终浓度为6 mM的EDTA	终浓度为6 mM的EDTA
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	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
4	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。	定容至原样本体积的两倍	定容至原样本体积的两倍	· 若样本 ≤ 20 mL, 定容至原样本体积的两倍 · 若样本 > 20 mL, 定容至 50 mL
5	涡旋振荡RapidSpheres™磁珠。 注意: 磁珠应呈均匀分散状态。	30 秒	30 秒	30 秒
6	将RapidSpheres™磁珠加到样本中混匀。	50 µL/mL起始样本体积 注意: 无需孵育, 立即进行下一步	50 µL/mL起始样本体积 注意: 无需孵育, 立即进行下一步	50 µL/mL起始样本体积 注意: 无需孵育, 立即进行下一步
7	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
8	小心地吸出** (切勿倾倒) 富集的细胞悬液至一个新的试管。 注意: 自上而下收集所有清澈的部分。为了获得最佳回收率, 可一并收集少量红细胞 (最多为起始样本体积的10%)。	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
9	将RapidSpheres™磁珠添加到含有富集细胞的新试管中并混匀。	使用与步骤6相同的体积 注意: 无需孵育, 立即进行下一步	使用与步骤6相同的体积 注意: 无需孵育, 立即进行下一步	使用与步骤6相同的体积 注: 无需孵育, 立即进行下一步
10	从磁极中取出试管, 然后将第9步中的试管 (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10分钟
11	小心地吸出** (切勿倾倒) 富集的细胞悬液至一个新的试管。注意: 只收集清澈的部分。	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
12	从磁极中取出试管, 然后将第11步中含富集细胞的新试管 (不加盖) 放入磁极中孵育以进行第三次分选。	室温孵育5分钟	室温孵育5分钟	室温孵育10分钟
13	小心地吸出** (切勿倾倒) 富集的细胞悬液至一个新的试管。 注意: 只收集清澈的部分。	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])。

表4.用于全血样本的EasySep™ Direct 人 PBMC 分选试剂盒操作流程

		EASYSEPTM 磁极
步骤	说明	Easy 250 EasySep™磁极 (产品号 #100-0821) 
1	制备样本，样本体积在范围内。	25 - 125 mL
	将样本添加到所需的培养瓶中。	T-75 cm ² 细胞培养瓶 (如: Corning 产品号 #353135)
2	将EDTA添加到样本中。	终浓度为6 mM的EDTA
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
	用25 mL或50 mL血清移液管 [§] 混合并孵育。 注意：也可通过旋转或轻轻摇晃培养瓶来混匀。需要先盖上培养瓶盖以防洒出。	室温孵育5分钟
4	添加推荐的缓冲液，将样本定容至指定体积。	定容至原样本体积的两倍
5	涡旋振荡RapidSpheres™磁珠。注意：磁珠应呈均匀分散状态。	30 秒
6	将RapidSpheres™添加到样本中并按照步骤3中所述进行混合。	50 µL/mL起始样本体积 注：无需孵育，立即进行下一步
7	将培养瓶（不加盖）放入磁极中并孵育。	室温孵育10分钟
8	小心地吸出***（切勿倾倒）细胞悬液至一个新的培养瓶。 注意：自上而下收集所有清澈的部分。为了获得最佳回收率，可一并收集少量红细胞（最多为起始样本体积的10%）。	使用一个新的T-75 cm ² 培养瓶
9	将RapidSpheres™添加到含有富集细胞的新培养瓶中并按步骤3所述混匀。	使用与步骤6相同的体积 注：无需孵育，立即进行下一步
10	从磁极中取出培养瓶，然后将第9步中的培养瓶（不加盖）放入磁极中孵育以进行第二次分选。	室温孵育10分钟
11	小心地吸出***（切勿倾倒）富集的细胞悬液至一个新的培养瓶。	使用一个新的T-75 cm ² 培养瓶
12	从磁极中取出培养瓶，然后将第11步中的培养瓶（不加盖）放入磁极中孵育以进行第三次分选。	室温孵育10分钟
13	小心地吸出***（切勿倾倒）细胞悬液至一个新的试管或离心瓶 [‡] 。	分选后的细胞可立即用于下游应用

RT - 室温 (15-25°C)

§ 例如：25 mL (产品号 #38005) 或 50 mL (产品号 #38006) 血清移液管

*** 收集上清液时，用移液管沿着T-75 cm²培养瓶的中线来回轻轻扫动，同时吸出上清液。避免接触到培养瓶瓶壁。随即改用一个10 mL或更小体积的血清移液管来收集剩余的上清液。


‡ 例如：50 mL (30 x 115 mm) 锥形管 (产品号 #38010) 或者225 mL离心瓶 (Corning, 产品号 #352075)

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。

注意：如果使用RoboSep™-S，请确保软件版本至少为v.1.2.0.2，并且安装了与之兼容的转盘。如需更多信息，请通过info.cn@stemcell.com联系我们。

表5.用于全血样本的RoboSep™ Direct 人 PBMC 分选试剂盒操作流程

步骤	说明	RoboSep™ (产品号 #21000)	
1	制备样本，样本体积在范围内。	1 - 6 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	将EDTA添加到样本中。	终浓度为6 mM的EDTA	
3	选择实验程序。	EasySep™ Direct人PBMC分选 19654 - WB CB BM LEUK LRSC	
4	涡旋振荡RapidSpheres™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

如果下游需要使用磁珠正选产品进一步分选细胞，请通过info.cn@stemcell.com联系我们。

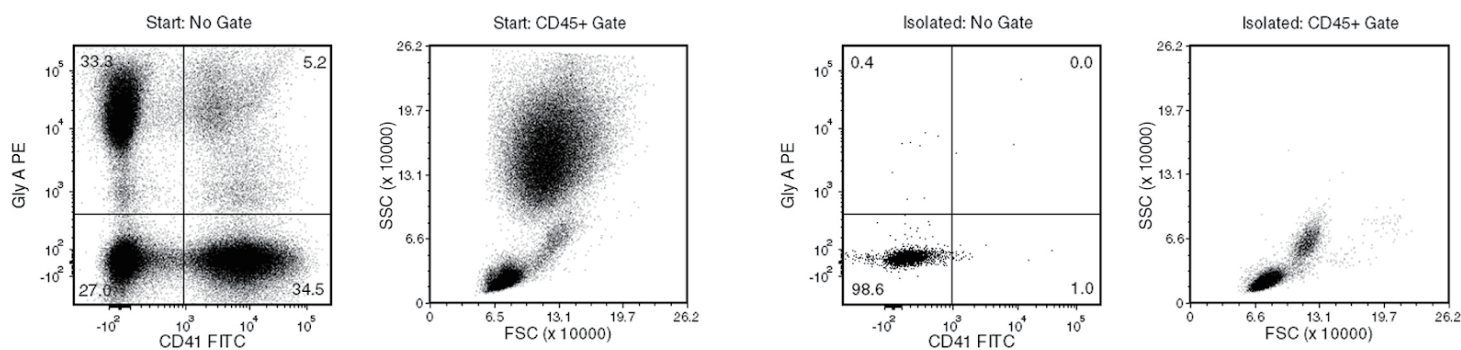
纯度评估

要通过流式细胞术评估RBC的残留程度，请使用以下克隆号的流式抗体：

- 抗人CD235ab (血型糖蛋白A/B) 抗体、克隆HIR2 (产品号 #60111)，以及
- 抗人CD41抗体，克隆HIP8 (产品号 #60114)，以及
- 抗人CD45抗体，克隆HI30 (产品号 #60018)

实验数据

起始样本为正常健康供者的人全血，未裂红的分选所得细胞中单个核细胞的含量通常可达 $98.3 \pm 2.8\%$ (以CD45+细胞设门)。



在上述示例中，全血起始样本（用氯化铵裂红）和未裂红的分选后的单个核细胞含量分别为27.0%和98.6%（未以CD45设门）。

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、EasySep、RoboSep和RapidSpheres均是STEMCELL Technologies Canada Inc.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。