

EasySep™ Direct HLA 交叉配型B细胞分选试剂盒

可处理 100 mL 全血

产品号 #19684
#19684RF RoboSep™

负选

文档号 #10000035719 | 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全血、白膜层、脾脏或淋巴结中分离高纯度的B细胞。该试剂盒的优势包括:

- 99.9%红细胞去除率, 无需密度梯度离心、沉降或裂解
- 分选获得的细胞纯度高达99.8%
- 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特异性细胞表面标志物的抗体来去除非B细胞。非目的细胞用抗体和EasySep™ Direct RapidSpheres™ 标记, 并使用EasySep™ 磁极进行分选。目的细胞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, 例如流式细胞术交叉配型。

包含组分

组分名称	组分号#	规格	储存方式	效期	成分
EasySep™ Direct HLA 交叉配型 B细胞分选抗体混合物	19684C	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。
EasySep™ Direct RapidSpheres™ 50300	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, 但应在收到后立即冷藏。抗体混合物中可能会观察到沉淀, 但不会影响使用效果。

样本制备

外周血

为了最佳的红细胞去除效率, 请使用肝素或酸式枸橼酸葡萄糖 (ACD) 作为抗凝剂来收集血液。为了最佳的回收率, 请使用未经处理的人全血。对于存放时间超过 24 小时的样本, 目的细胞的回收率会降低。可处理的样本量取决于富集过程中所用的EasySep™ 磁极。样本必须放置在所需的试管中, 并正确地放入合适的EasySep™ 磁极中 (参见表 1 - 4)。

白膜层 (buffy coat)

1. 在全血样本中加入等体积的推荐缓冲液。
2. 在室温下 (15 - 25°C), 以 800 x g 离心 10 分钟 (关闭离心机刹车)。
3. 吸取浓缩的白细胞层 (即白膜层), 以及一小部分血浆和浓缩的红细胞 (RBCs)。其目的是将白细胞浓缩大约 5 倍, 同时保持血细胞比容不变 (例如, 当起始全血量为 10 mL 时, 收集 2 mL 的白膜层)。
4. 将白膜层转移到所需的试管中 (参见表 1、2 和 5)。

脾脏或淋巴结

在含有 2% 胎牛血清 (FBS) 的 PBS 或 Hanks 平衡盐溶液 (HBSS) 中机械解离脾脏/淋巴结。使用预先润湿的 100 μm 尼龙滤筛过滤细胞悬液, 以去除聚团和碎片。用含有 2% FBS 的 PBS 或 HBSS 冲洗滤筛。以 300 x g 离心 10 分钟, 然后使用推荐缓冲液以 1 - 100 x 10⁶ 细胞/mL 的浓度重悬细胞。

推荐缓冲液

D - PBS (不含 Ca⁺⁺ 和 Mg⁺⁺; 产品号 #37350)。

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信息，请参阅表 1 至表 4。

表 1. EasySep™ Direct HLA 交叉配型B细胞分选试剂盒操作流程（适用于全血或白膜层）

		EASYSEP™ 磁极	
步骤	说明	 EasySep™ (产品号 #18000)	 “The Big Easy”™ (产品号 #18001)
1	收集样本，样本体积在范围内。	0.5 - 1.5mL	1 - 7 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	涡旋振荡 RapidSpheres™。 注意：磁珠应呈均匀分散状态。	30 秒	30 秒
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
4	将 RapidSpheres™ 加到样本中。	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	<ul style="list-style-type: none"> ● 若样本 ≤ 5 mL，定容至两倍体积 ● 若样本 > 5 mL，定容至 10 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
6	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
	将 RapidSpheres™ 添加到含有富集细胞的新试管中。	使用与步骤 4 相同的体积	使用与步骤 4 相同的体积
7	混匀并孵育。	室温孵育 5 分钟	室温孵育 5 分钟
	从磁极中取出流式管，然后将第 7 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
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。	分选后的细胞可立即用于下游应用	使用新的 14 mL 流式管
9	从磁极中取出流式管，然后将第 9 步中的新试管（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
10	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。	---	分选后的细胞可立即用于下游应用

RT - 室温 (15 - 25°C)

* 第一次磁珠分选后，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相似。

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

表2. EasySep™ Direct HLA 交叉配型B细胞分选试剂盒操作流程 (适用于全血或白膜层)

步骤	说明	EASYSEP™ 磁极		
		 EasyEights™ (产品号 #18103)	 EasyEights™ (产品号 #18103)	 Easy 50 (产品号 #18002)
1	收集样本, 样本体积在范围内。	0.5 - 1.5 mL	1 - 7 mL	7 - 30 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	涡旋振荡RapidSpheres™。 注意: 磁珠应呈均匀分散状态	30 秒	30 秒	30 秒
3	在样本中加入分选抗体混合物。注意: 不要涡旋抗头混合物。	50 µL/mL 样本	50 µL/mL 样本	50 µL/mL 样本
4	将RapidSpheres™ 加到样本中	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
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 ≤ 5 mL, 定容至两倍体积 ●若样本 > 5 mL, 定容至 10 mL 	<ul style="list-style-type: none"> ●若样本 ≤ 25 mL, 定容至两倍样本体积 ●若样本 > 25 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。 注: 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
7	将RapidSpheres™ 添加到含有富集细胞的新试管中。	使用与步骤 4 相同的体积	使用与步骤 4 相同的体积	使用与步骤 4 相同的体积
	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
8	从磁极中取出流式管, 然后将第 7 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 5 分钟
9	小心地吸出*** (切勿倾倒) 富集的细胞悬液至一个新的试管。 注: 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
10	从磁极中取出流式管, 然后将第 9 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 5 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: 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3. EasySep™ Direct HLA 交叉配型B细胞分选试剂盒操作流程 (适用于脾脏或淋巴结)

		EASYSEP™ 磁极	
步骤	说明	 EasySep™ (产品号 #18000)	 "The Big Easy" (产品号 #18001)
1	收集样本, 样本体积在范围内。	0.5 - 1.5 mL	1 - 7 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™ 加到样本中通过轻轻上下吹吸 2 - 3 次来混匀。	50 µL/mL 样本	50 µL/mL 样本
5	添加推荐的缓冲液, 将样本定容至指定体积。	定容至 2.5 mL	<ul style="list-style-type: none"> ● 若样本 ≤ 5 mL, 定容至两倍体积 ● 若样本 > 5 mL, 定容至 10 mL
	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, 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
7	将RapidSpheres™磁珠添加到含有富集细胞的新试管中。通过轻轻上下吹吸 2 - 3 次来混匀。	使用与步骤 4 相同的体积	使用与步骤 4 相同的体积
8	从磁极中取出流式管, 然后将第7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 3 分钟	室温孵育 3 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)

表4.EasySep™ Direct HLA 交叉配型B细胞分选试剂盒操作流程（适用于脾脏或淋巴结）

步骤	说明	EASYSEPT™ 磁极	
		EasyEights™ (产品号 #18103)	
		5 mL 流式管	14 mL 流式管
1	收集样本，样本体积在范围内。	0.5 - 1.5 mL	1 - 7 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™ 加到样本中通过轻轻上下吹吸 2 - 3次来混匀。	50 µL/mL 样本	50 µL/mL 样本
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"> ●若样本 ≤ 5 mL, 定容至两倍体积 ●若样本 > 5 mL, 定容至 10 mL
	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	小心地吸出***（切勿倾倒）富集的细胞悬液至一个新的试管。 注: 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
7	将RapidSpheres™ 添加到含有富集细胞的新试管中。通过轻轻上下吹吸 2 - 3 次来混匀。	使用与步骤 4 相同的体积	使用与步骤 4 相同的体积
8	从磁极中取出流式管，然后将第7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 3 分钟	室温孵育 3 分钟
9	小心地吸出***（切勿倾倒）富集的细胞悬液至一个新的试管。 注: 只收集清澈的部分。	使用新的 5 mL流式管 对于淋巴结: 分选后的细胞可直接用于下游应用	使用新的 14 mL流式管 对于淋巴结: 分选后的细胞可直接用于下游应用
10	从磁极中取出流式管，然后将第 9 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。	对于脾脏: 室温孵育 3 分钟	对于脾脏: 室温孵育 3 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: 只收集清澈的部分。	对于脾脏: 分选后的细胞可立即用于下游应用	对于脾脏: 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 (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 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RoboSep™ Direct兼容的转盘。如需更多信息，请通过info.cn@stemcell.com联系我们。

表5. RoboSep™ Direct HLA 交叉配型B细胞分选试剂盒操作流程（适用于全血，脾脏，淋巴结或白膜层）

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。	对于脾脏或淋巴结：1 - 6 mL, 1 - 100 x 10 ⁶ 细胞/mL 对于血液：1 - 6 mL 对于白膜层：2 - 6 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。	<ul style="list-style-type: none"> EasySep Direct HLA 交叉配型B细胞分选19684 - 适用于WB、脾脏、LN EasySep Direct HLA 交叉配型B细胞分选19684 - 适用于WB、脾脏、LN - 高红细胞去除† EasySep Direct HLA 交叉配型T细胞分选 30 秒19684 - 适用于BC§
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 注：该实验方案需要将两瓶EasySep™ Direct RapidSpheres™ 50300放置到转盘上进行单次运行：一瓶位于▲（三角形）插槽中，一瓶位于●（圆形）插槽中。
	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

† 此实验程序可实现高红细胞去除，但伴随轻微回收率降低。

§ 此实验程序使用的EasySep™ 试剂用量为常规方案的两倍。

注意事项和提示

去除分选后的细胞中残留的红细胞

细胞分选后通常不需要进一步去除红细胞。如果实验流程结束后，在离心后的分选的细胞沉淀中可见残留的红细胞，可使用小体积（0.2 - 2.5 mL）推荐缓冲液或所需的培养基重悬，并置于更小的EasySep™ 磁极中进行额外一次5分钟的分选。收集上清液；分选后的细胞可直接用于下游应用。残留的红细胞也可以使用氯化铵溶液（产品号 #07800）裂解。

纯度评估

要通过流式细胞术评估B细胞的纯度，请使用以下克隆号的荧光偶联流式抗体：

· 抗人CD19 抗体，克隆H1B19（产品号 #60005），以及

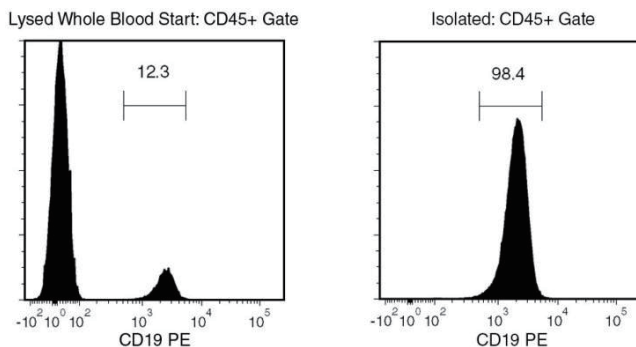
· 抗人CD45 抗体，克隆HI30（产品号 #60018）

注：建议在 CD45+ 细胞中评估纯度，以排除碎片、血小板和红细胞。如有必要，请加入活性检测染料（例如碘化丙啶 [产品号 #75002] 或 7-AAD [7-氨基放线菌素D；产品号 #75001]）。

注：用户需自行验证分选后的细胞在下游应用中的性能。

实验数据

起始样本为正常健康供者的人全血，未裂红分选所得细胞中B细胞（CD19+）的含量（以CD45 + 设门）通常可达 89 - 99.8%。



以上示例中，裂红的全血起始样本和未裂红的分选后的B细胞（CD19+）含量（以 CD45 设门）分别为12.3%和98.4%。

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、EasyEight、EasyPlate、EasySep、SepMate和RapidSpheres均是STEMCELL Technologies Canada Inc.的商标。STEMCELL Technologies Inc.对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。