

## EasySep™ HLA 嵌合全骨髓系正选试剂盒

可处理 60 mL 白膜层 (Buffy coat) 或全血

产品号 #17884

产品号 #17884RF RoboSep™

正选

文档号 #1000035738 | 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

通过免疫磁珠正选从新鲜人全血或白膜层 (buffy coat) 中分离高纯度的髓系细胞。

- 操作简单、快速
- 纯度高达 99%
- 无需分离柱

该试剂盒使用识别CD33和CD66b表面标志物的抗体来正选髓系细胞。目的细胞用抗体和磁珠标记,并通过 EasySep™ 磁极进行无柱分选。非目的细胞通过简单倾倒弃去,而目的细胞则保留在试管中。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提取以用于谱系特异性嵌合分析。

### 包含组分

组分名称	组分号#	规格	储存方式	效期	成分
EasySep™ HLA 嵌合体全骨髓系正选抗体混合物	17884C	3 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™ 50101 磁珠	50101	3 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。
EasySep™ 红细胞裂解缓冲液, 10X浓缩液	20110	1 x 10 mL	15 - 25°C 储存。	具体效期请见标签。	10X 浓缩的红细胞裂解试剂。

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。

### 其它试剂稳定性信息

试剂名称	储存方式	效期
EasySep™ 红细胞裂解缓冲液 (1X 稀释液)	2 - 8°C 储存, 勿冷冻。	可稳定存放不超过3个月, 存放时间请勿超过原始组分标签上的效期 (EXP)。

### 样本制备

有关可用的冻存样本, 请参见[www.stemcell.com/primarycells](http://www.stemcell.com/primarycells)。

外周血

使用含抗凝剂的采血管采集全血。

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, 当起始样本为10 mL全血时, 收集2 mL的白膜层)。
4. 将最多4.5 mL的白膜层转移到所需的试管中 (参见表1 - 3)。

### 推荐缓冲液

EasySep™ 缓冲液 (产品号 #20144), RoboSep™ 缓冲液 (产品号 #20104); 或含2% FBS和 1mM 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EasySep™的详细使用说明，请参阅表1和表2。

表1. EasySep™ HLA 嵌合全骨髓系正选试剂盒操作流程

		EASYSEP™ 磁极
步骤	说明	“The Big Easy” (产品号 #18001) 
1	制备样本，样本体积在范围内。	0.5 - 4.5 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	向样本中添加1X EasySep™ RBC裂解缓冲液。	与样本等体积
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。	25 µL/mL 稀释的样本
	混匀并孵育。	室温孵育3分钟
4	涡旋振荡RapidSpheres™磁珠。 注意: 磁珠应呈均匀分散状态。	30秒
5	将RapidSpheres™磁珠加到样本中。	25 µL/mL 稀释的样本
	混匀并孵育。	室温孵育3分钟
6	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。	<ul style="list-style-type: none"> <li>●若样本 &lt; 4 mL，定容至5 mL</li> <li>●若样本 ≥ 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10分钟
7	拿起磁极，以一个连续的动作翻转磁极和试管*，倾倒下清液。从磁极中取出试管；试管中含有分选后的细胞。	弃去上清液
8	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。	<ul style="list-style-type: none"> <li>●若样本 &lt; 4 mL，定容至5 mL</li> <li>●若样本 ≥ 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*，倾倒下清液。从磁极中取出试管；试管中含有分选后的细胞。	弃去上清液
10	重复以上步骤。	重复步骤8和9 (总共进行1次10分钟和2次5分钟的分选)
11	将细胞重悬于所需培养基中。请确保从管壁上收集细胞。	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2. EasySep™ HLA 嵌合全骨髓系正选试剂盒操作流程

		EASYSEP™ 磁极
步骤	说明	 EasyEights™ (产品号 #18103) 14 mL 流式管
		1 - 4.5 mL
1	制备样本, 样本体积在范围内。	14 mL (17 x 95 mm) 聚苯乙烯流式管 (如: 产品号 #38008)
	将样本添加到所需的试管中。	
2	向样本中添加1X EasySep™ RBC裂解缓冲液。	与样本等体积
3	在样本中加入分选抗体混合物。 注意: 不要滴旋抗体混合物。	25 µL/mL 稀释的样本
	混匀并孵育。	室温孵育3分钟
4	涡旋振荡RapidSpheres™磁珠。 注意: 磁珠应呈均匀分散状态	30秒
5	将RapidSpheres™磁珠加到样本中	25 µL/mL 稀释的样本
	混匀并孵育。	室温孵育3分钟
6	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。	<ul style="list-style-type: none"> <li>●若样本 &lt; 4 mL, 定容至5 mL</li> <li>●若样本 ≥ 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10分钟
7	小心地吸取** (切勿倾倒) 上清液。从磁极中取出试管; 试管中含有分选后的细胞。	弃去上清液
8	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。	<ul style="list-style-type: none"> <li>●若样本 &lt; 4 mL, 定容至5 mL</li> <li>●若样本 ≥ 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5分钟
9	小心地吸取** (切勿倾倒) 上清液。从磁极中取出试管; 试管中含有分选后的细胞。	弃去上清液
10	重复以上步骤。	重复步骤8和9 (总共进行1次10分钟和2次5分钟的分选)
11	将细胞重悬于所需培养基中。请确保从管壁上收集细胞。	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 (例如, 对于EasyEight™ 14 mL试管, 使用10 mL血清移液管)。

## 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™ HLA 嵌合全骨髓系正选试剂盒操作流程

步骤	说明	RoboSep™ (产品号 #21000)	
1	制备样本，样本体积在范围内。	0.5 - 4.5 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	向样本中添加1X EasySep™ RBC 裂解缓冲液。	与样本等体积	
3	选择实验程序。 注：输入体积。	HLA 嵌合髓系 WB 正选 17884 注：输入稀释后的样本体积。	
4	涡旋振荡RapidSpheres™磁珠。 注：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。取出装有目的细胞的试管，然后将细胞重悬于所需培养基中。请确保从管壁上收集细胞。	分选后的细胞可立即用于下游应用	

## 注意事项和提示

### EasySep™红细胞裂解缓冲液

该试剂盒中的EasySep™红细胞裂解液为10X 浓缩液。在使用前至少1小时，将1份10X 裂解液加入9份蒸馏水或I类水中制备1X裂解液。使用前需轻柔且充分地混匀。

### 纯度评估

要通过流式细胞术评估细胞纯度，请使用以下克隆号的荧光偶联流式抗体：

- 抗人CD14 抗体，克隆 M5E2 (产品号 #60004) 或克隆MoP9 (产品号 #60124)，以及
- 抗人CD66b抗体，克隆G10F5 (产品号 #60086)

还可以使用以下方法：

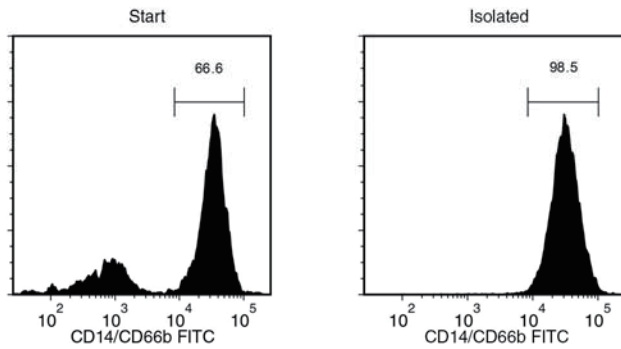
- 使用荧光二抗，例如山羊抗小鼠IgG (H+L) 多克隆抗体 (产品号 #60138)。

### 供体差异性

某些供体表达一种或多种可使磁珠交联的可溶性血清因子。这可能会导致正选后的细胞中出现可见的聚团。在对富集后的组分进行流式细胞术分析时，这些聚团可能在FSC vs. SSC图上显示为明显的高侧向角散射 (SSC) 群。可使用抗dextran、CD41和CD45的荧光偶联抗体染色来确定该群体仅含磁珠，不包含细胞或血小板。通过清洗去除供体的血浆可以避免可能的聚团。使用推荐缓冲液将样本稀释2倍，并以300 x g离心10分钟。在不扰动白细胞和红细胞的情况下尽可能地去除血浆，然后在开始分选流程之前用推荐缓冲液将样本重悬至原始体积。

如果样本未经清洗，可在对富集组分进行流式细胞术分析圈门时，根据聚团的FSC vs. SSC特征或CD45表达的缺失来将其排除在外。

## 实验数据



起始样本为人全血，分选后的髓系细胞含量通常为 $94.5 \pm 4.1\%$ （以CD45设门；平均值  $\pm$  标准差，使用“The Big Easy” EasySep™磁极）。在上述实验中，起始样本和分选后的目的细胞的纯度分别为66.6%和98.5%。

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](http://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。所有商标均为各自所有者所有。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。