

## EasySep™ Direct 人B细胞分选试剂盒

可处理 100 mL 全血

产品号 #19674

产品号 #19674RF RoboSep™

负选

文档号 #1000035803 | 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全血中分离高纯度的B细胞。该试剂盒的优势包括:

- > 99.9%的红细胞去除率, 无需密度梯度离心、沉降或裂解
- 分选获得的细胞纯度高达 95%
- 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™磁珠标记, 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、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™ Direct人B细胞分选抗体混合物	19674C	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。不建议使用K2EDTA或K3EDTA作为抗凝剂。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中, 并正确地放入合适的EasySep™磁极中 (参见表1和2)。

#### 白膜层 (可选 - 与ROBOSEP™ 一起使用)

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 (RBC)。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 3)。

### 推荐缓冲液

PBS (产品号 #37350) 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 至表 2。

表 1. EasySep™ Direct 人B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	收集样本，样本体积在范围内。	0.5 - 1.5 mL	1.5 - 7.0 mL
	将全血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™磁珠。 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™磁珠加到样本中。	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"> <li>●若样本 ≤ 5 mL，定容至两倍体积</li> <li>●若样本 &gt; 5 mL，定容至 10 mL</li> </ul>
6	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
7	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
8	将RapidSpheres™磁珠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
	混匀并孵育。	室温孵育 5 分钟	室温孵育 5 分钟
9	从磁极中取出流式管，然后将第 8 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
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	使用新的 14 mL 流式管
11	从磁极中取出流式管，然后将第 10 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
12	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 人B细胞分选试剂盒操作流程

步骤	说明	EASYSEPTM 磁极		
		EasySep™ (产品号 #18103)	Easy 50 (产品号 #18002)	
		5 mL 流式管	14 mL 流式管	50 mL 锥形管
1	收集一定体积范围内的样本。	0.5 - 1.5 mL	1.5 - 7.0 mL	7 - 30 mL
	将全血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™磁珠。 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: 不要涡旋抗体混合物。	50 µL/mL 样本	50 µL/mL 样本	50 µL/mL 样本
4	将RapidSpheres™磁珠加到样本中。	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"> <li>●若样本 ≤ 5 mL, 定容至两倍体积</li> <li>●若样本 &gt; 5 mL, 定容至 10 mL</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>●若样本 ≤ 25 mL, 定容至两倍体积</li> <li>●若样本 &gt; 25 mL, 定容至 50 mL</li> </ul>
6	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
7	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
8	将RapidSpheres™磁珠添加到含有富集细胞的新试管中。	25 µL/mL 使用与步骤 4 相同的体积	25 µL/mL 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
9	从磁极中取出流式管, 然后将第 8 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
10	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
11	将RapidSpheres™磁珠添加到含有富集细胞的新试管中。	25 µL/mL 样本 使用与步骤 4 相同的体积	25 µL/mL 样本 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	---
12	从磁极中取出流式管, 然后将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
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: 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富集的细胞悬液 (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 3。

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](mailto:info.cn@stemcell.com) 联系我们。

表3.RoboSep™ Direct 人B细胞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。	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。	EasySep™ Direct人B细胞分选 19674 - 全血 EasySep™ Direct人B细胞分选 19674 - 白膜层 <sup>§</sup>
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 注：该实验程序单次运行需要在转盘上放置两管EasySep™ Direct RapidSpheres™ 50300； 一瓶放在▲（三角形）插槽中，一瓶放在●（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

<sup>§</sup>该程序使用两倍体积EasySep™试剂

## 注意事项和提示

去除分选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

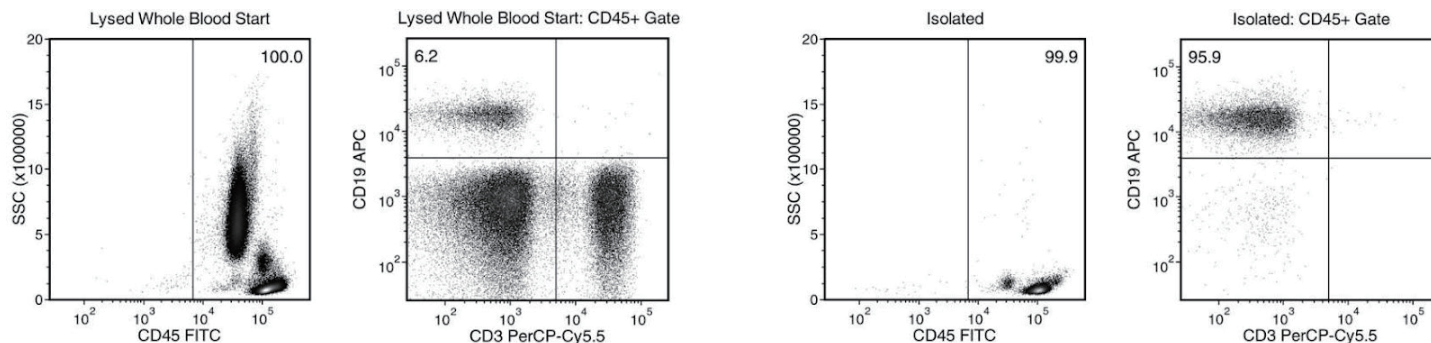
要通过流式细胞术评估B细胞的纯度，请使用以下克隆号的荧光偶联流式抗体：

- 抗人CD19 抗体，克隆H1B19 (产品号 #60005)，或
- 抗人CD20 抗体，克隆 2H7 (产品号 #60008)，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Propidium Iodide (PI) [产品号 #75002] 或 7 - AAD [7 - Aminoactinomycin D; 产品号 #75001]）。

## 实验数据

起始样本为来自正常健康供者的全血，未裂红的分选后的B细胞 (CD3-CD19+) 含量通常为  $95.3 \pm 2.7\%$  (以CD45 设门) 或  $88.5 \pm 11.5\%$  (未以CD45 设门)。



在上述示例中，裂红的全血起始样本和未裂红的分选后的B细胞 (CD3-CD19+) 含量分别为 6.2% 和 95.9% (以CD45 设门)，或 6.2% 和 95.8% (未以CD45 设门)。未裂红的全血起始样本中的B细胞含量为 0.011% (数据未显示)。

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及其设计及徽标，以及Scientists Helping Scientists、EasyEights、EasyPlate、EasySep、SepMate和RapidSpheres均是STEMCELL Technologies Canada Inc.的商标。所有其他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，但对此类信息的准确性或完整性不作任何保证或声明。