

EasySep™ Direct 人总淋巴细胞分选试剂盒

可处理 100 mL 全血

产品号 #19655

#19655RF RoboSep™

负选

文档号 #10000035815 | 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、白膜层或脾脏中分离高纯度的淋巴细胞。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
- 操作简单、快捷，且无需分离柱
- 分选获得的细胞纯度高达96%
- 分选得到的细胞不带标记

该试剂盒通过识别特异性细胞表面标志物的抗体来去除非淋巴细胞。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人总淋巴细胞分选抗体混合物	19655C	2 x 2.5 mL	2 - 8°C 储存。	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。	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。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（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（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（Buffy coat）转移到所需的试管中。

脾脏

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。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

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1和表2。

表1.适用于全血、白膜层或脾脏的EasySep™ Direct人总淋巴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，使样本体积在范围内。	0.5 - 1.5 mL	1.5 - 7 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	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
5	混匀并孵育。	室温孵育5分钟	室温孵育5分钟
6	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
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。	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
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
12	从磁极中取出试管，然后将新试管（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
13	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.适用于全血、白膜层或脾脏的EasySep™ Direct人总淋巴细胞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	50 mL 锥形管
1	收集样本，样本体积在范围内。 将全血样本添加到所需的试管中。	0.5 - 1.5 mL 5 mL (12 x 75 mm) 聚苯乙烯圆底流式管 (如: 产品号 #38007)	1.5 - 7 mL 14 mL (17 x 95 mm) 聚苯乙烯圆底流式管 (如: 产品号 #38008)	7 - 30 mL 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
5	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
6	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 ≤ 5 mL，定容至两倍体积 · 若样本 > 5 mL，定容至10 mL	· 若样本 ≤ 25 mL，定容至两倍样本体积 · 若样本 > 25 mL，定容至50 mL
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）富集的细胞悬液到一个新的试管。 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。	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
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5分钟
11	小心地吸出***（切勿倾倒）富集的细胞悬液到一个新的试管。 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）富集的细胞悬液到一个新的试管。 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联系我们。

表3.适用于全血、白膜层或脾脏的RoboSep™ Direct人总淋巴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。	对于血液或脾脏：0.5 - 6 mL 对于白膜层（Buffy coat）：2 - 5 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	选择实验程序。	<ul style="list-style-type: none"> 从全血中分选出人总淋巴细胞 19655[†] 从全血中分选出人总淋巴细胞 19655 -大量去除红细胞^{††} 从白膜层中分选出人总淋巴细胞 19655[§] 	
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	

† 如果样本是脾脏，请使用此实验程序。†† 该方案能使红细胞大量减少，但是回收率会降低。§ 该方案会用两次EasySep™ 试剂。

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。

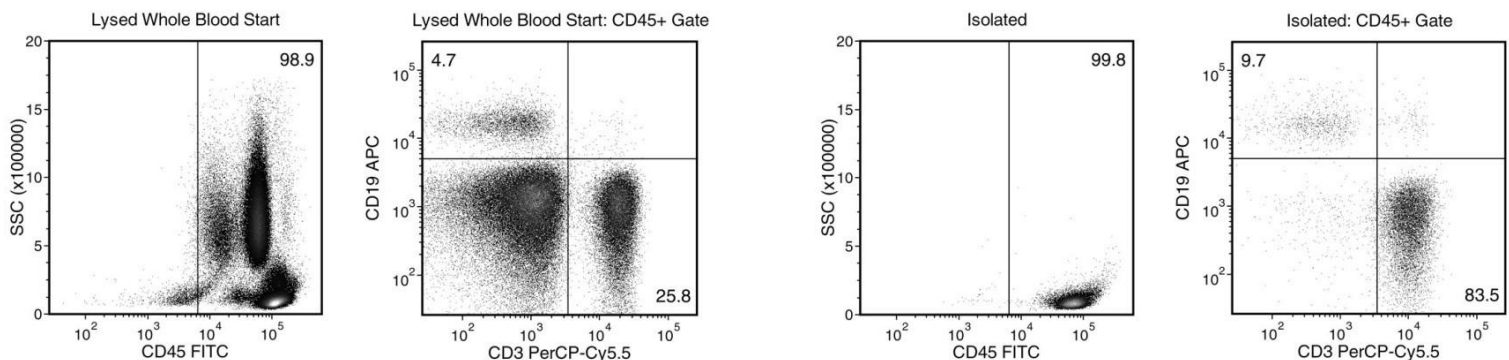
纯度评估

要通过流式细胞术评估总淋巴细胞的纯度，请使用以下克隆号的流式荧光偶联抗体：

- 抗人CD3抗体，克隆UCHT1（产品号 #60011），以及
- 抗人CD19抗体，克隆HIB19（产品号 #60005），以及
- 抗人CD56（NCAM）抗体，克隆HCD56（产品号 #60021；数据未展示），以及
- 抗人CD45抗体，克隆HI30（产品号 #60018）淋巴细胞为 CD3+、CD3-CD19+或CD3-CD56+。

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



起始样本为正常健康供者的人全血，未裂红的分选所得细胞中总淋巴细胞（CD19+和CD3+）含量通常可达 $96.7 \pm 1.5\%$ （以CD45+设门）或 $95.8 \pm 2.2\%$ （未以CD45+设门）。在上述案例中，裂红的全血起始样本和未裂红的分选后的样本中，总淋巴细胞（CD19+和CD3+）含量分别为30.5%和93.2%（以CD45+设门），或30.2%和93.0%（未以CD45+设门）。未裂红的全血起始样本中的总淋巴细胞含量为0.055%（数据未展示）。

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。

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, 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。