

EasySep™ Direct 人单核细胞分选试剂盒

可处理 100 mL 全血

产品号 #19669

产品号 #19669RF RoboSep™

负选

文档号 #10000035818 | 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CD14+单核细胞。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92%
- 操作简单、快捷，且无需分离柱
- 分选得到的细胞不带标记

该试剂盒通过识别细胞表面特异性标志物的抗体来去除非单核细胞和CD16+单核细胞。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人单核细胞分选抗体混合物	19669C	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。

组分已经过无菌检测。

样本制备

外周血

EDTA 的存在对本试剂盒的使用效果至关重要。使用K2EDTA或K3EDTA作为抗凝剂采集血液。如果使用非EDTA的抗凝剂，则必须在全血样本中加入终浓度为3 mM的EDTA。

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ROBOSEPT™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

含有1mM EDTA的PBS。缓冲液应该不含Ca⁺⁺和Mg⁺⁺。也可以使用EasySep™缓冲液（产品号 #20144）。

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. EasySep™ Direct 人单核细胞分选试剂盒操作流程

		EASYSEPT™ 磁极	
步骤	说明	 EasySep™ (产品号 #18000)	 “The Big Easy” (产品号 #18001)
1	将全血样本添加到所需的试管中。	0.5 - 1 mL	1 - 3 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次以混匀。	定容至原样本体积的4倍	定容至原样本体积的4倍
7	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3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。	使用新的5 mL流式管	使用新的14 mL流式管
12	从磁极中取出流式管, 然后将第11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3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	分选后的细胞可立即用于下游应用

RT - 室温 (15 - 25°C)

‡ 当使用最大体积定容时, 样本可能会高过磁极顶部。这不影响分选效果。

* 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 人单核细胞分选试剂盒操作流程

		EASYSEPTM 磁极		
步骤	说明	EasyEights™ (产品号 #18103)		Easy 50 (产品号 #18002)
		5 mL 流式管	14 mL 流式管	
1	将全血样本添加到所需的试管中。	0.5 - 1.5 mL	1 - 4 mL	4 - 20 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)	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。	定容至原样本体积的3倍	定容至原样本体积的3倍	<ul style="list-style-type: none"> 若样本 ≤ 16 mL, 定容至3倍体积 若样本 > 16 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。	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	从磁极中取出流式管, 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. RoboSep™ Direct 人单核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 (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"> EasySep™ Direct人单核细胞分选 19669 - 全血 EasySep™ Direct人单核细胞分选 19669 - 白膜层[§]
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

注：§ 该程序需要使用两倍的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

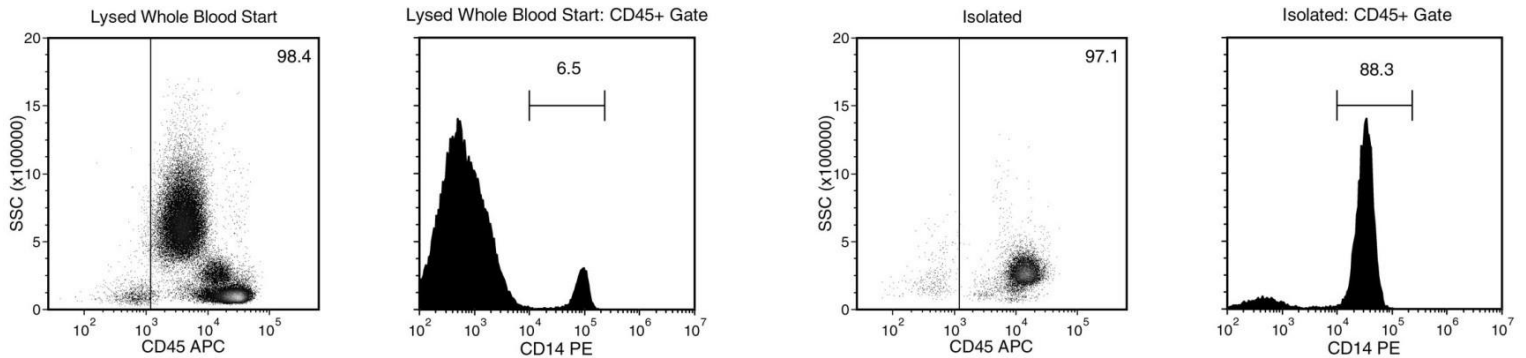
要通过流式细胞术评估单核细胞 (CD14+CD45+) 的纯度，请使用以下克隆号的荧光偶联流式抗体：

- 抗人CD14抗体，克隆M5E2 (产品号 #60004)，以及
- 抗人CD45抗体，克隆HI30 (产品号 #60018)

注意：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，未裂红的分选后的单核细胞 (CD14+) 含量通常为 $82.2 \pm 8.4\%$ (以CD45设门) 或 $79.0 \pm 10.1\%$ (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样本中，单核B细胞 (CD14+) 含量分别为6.5%和88.3% (以CD45设门)，或6.4%和85.7% (未以CD45设门)。未裂红的全血起始样本中的单核细胞含量大约为0.007% (数据未显示)。

STEMCELL Technologies Inc.的质量管理体系已经过ISO 13485认证。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。

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、EasySep、EasyEights、RapidSpheres和RoboSep均是STEMCELL Technologies Canada Inc.的商标。所有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，对此类信息的准确性或完整性不作任何保证或声明。