

# EasySep™ Direct 人 PBMC 分选试剂盒

可处理 100 mL 白膜层 (Buffy coat)

产品号 #19654  
#19654 RoboSep™

负选

文档号 #10000035907 | 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

通过免疫磁珠负选直接从人白膜层 (Buffy coat) 中分离高纯度的外周血单个核细胞 (PBMC)。该试剂盒还可用于从其他类型样本中分离PBMC (参见表1)。

- 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
- 分选得到的细胞不带标记

该试剂盒通过使用识别细胞特异性表面标志物的抗体来去除粒细胞、血小板和红细胞 (RBC)。非目的细胞用抗体和磁珠标记，然后使用EasySep™磁极进行分选。轻松地将PBMC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。

- 本产品说明书 (PIS) 适用于从白膜层 (buffy coat) 中分离PBMC。如果从其他样本类型中分离PBMC，请参阅[www.stemcell.com](http://www.stemcell.com)上提供的对应产品说明书 (PIS) 文档 (参见表1)，或联系我们申请。

表1. 适用于其他样本类型的PIS文档编号

样本类型	PIS文档编号
全血	10000032497
骨髓	10000035863
脐带血	10000035862
白细胞单采术样本	10000035860
去白系统室 (LRSC)	<a href="mailto:info.cn@stemcell.com">info.cn@stemcell.com</a> 咨询

## 包含组分

组分名称	组分号#	规格	储存方式	效期	成分
EasySep™ Direct人PBMC分选抗体混合物	19654C	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，但应按照上述说明进行储存。

## 样本制备

### 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。

为了避免单核细胞损失，必须在白膜层样本中加入终浓度为6 mM的EDTA，再进行标记和分选 (参见步骤2，表2 - 4)。建议使用大于0.05 M的EDTA储存液，以避免过度稀释起始样本。

## 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<sup>++</sup>和Mg<sup>++</sup>；产品号 #37350) 或含有2% FBS和1 mM 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。有关每种磁极的详细使用方法，请参阅表2和表3。

表2.用于白膜层（Buffy coat）的EasySep™ Direct 人 PBMC 分选试剂盒操作流程

步骤	说明	EASYSEPTM 磁极	
		 EasySep™ (产品号 #18000)	 “The Big Easy” (产品号 #18001)
1	制备样本，样本体积在范围内。	0.5 - 1.5 mL	1 - 6 mL
	将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) 聚苯乙烯流式管 (如: 产品号 #38008)
2	将EDTA添加到样本中。	终浓度为6 mM的EDTA	终浓度为6 mM的EDTA
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
	混匀并孵育。	室温孵育5分钟	室温孵育5分钟
4	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两倍	定容至原样本体积的两倍
5	涡旋振荡RapidSpheres™磁珠。 注意: 磁珠应呈均匀分散状态。	30秒	30秒
6	将RapidSpheres™磁珠加到样本中混匀。	50 µL/mL起始样本体积 注意: 无需孵育, 立即进行下一步	50 µL/mL起始样本体积 注意: 无需孵育, 立即进行下一步
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并混匀。	使用与步骤6相同的体积 注意: 无需孵育, 立即进行下一步	使用与步骤6相同的体积 注意: 无需孵育, 立即进行下一步
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。	使用新的5 mL流式管	使用新的14 mL流式管
12	从磁极中取出试管，然后将第11步中的试管（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
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)

\*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白膜层（Buffy coat）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3.用于白膜层 (Buffy coat) 的EasySep™ Direct 人 PBMC 分选试剂盒操作流程

步骤	说明	EASYSEP™ 磁极		
		 EasyEights™ (产品号 #18103)	 EasyEights™ (产品号 #18103)	 Easy 50 (产品号 #18002)
		5 mL 流式管	14 mL 流式管	Easy 50 (产品号 #18002)
1	制备样本, 样本体积在范围内。	0.5 - 1.5 mL	1 - 6 mL	5 - 25 mL
	将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	将EDTA添加到样本中。	终浓度为6 mM的EDTA	终浓度为6 mM的EDTA	终浓度为6 mM的EDTA
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
	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
4	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两倍	定容至原样本体积的两倍	<ul style="list-style-type: none"> <li>若样本 ≤ 20 mL, 定容至原样本体积的两倍</li> <li>若样本 &gt; 20 mL, 定容至50 mL</li> </ul>
5	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
6	将RapidSpheres™磁珠加到样本中混匀。	50 µL/mL起始样本体积 注意: 无需孵育, 立即进行下一步	50 µL/mL起始样本体积 注意: 无需孵育, 立即进行下一步	50 µL/mL起始样本体积 注意: 无需孵育, 立即进行下一步
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: 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并混匀。	使用与步骤6相同的体积 注意: 无需孵育, 立即进行下一步	使用与步骤6相同的体积 注意: 无需孵育, 立即进行下一步	使用与步骤6相同的体积 注意: 无需孵育, 立即进行下一步
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10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。	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10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])。

## 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4。

注意：如果使用RoboSep™-S，请确保软件版本至少为v.1.2.0.2，并且安装了与之兼容的转盘。如需更多信息，请通过info.cn@stemcell.com联系我们。

表4.用于白膜层 (Buffy coat) 的RoboSep™ Direct人PBMC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。	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	将EDTA添加到样本中。	终浓度为6 mM的EDTA	
3	选择实验程序。	EasySep™ Direct人PBMC分选 19654 - 白膜层 (Buffy coat) §	
4	涡旋振荡RapidSpheres™磁珠。 注意：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。	分选后的细胞可立即用于下游应用	

§ 本实验方案使用两倍量的EasySep试剂

## 注意事项和提示

- EasySep™ Direct人PBMC分选试剂盒不适合下游继续进行磁珠正选。
- 如需进行可能受EDTA影响的下游应用，请先使用所需的培养基清洗分选后的细胞。

### 纯度评估

要通过流式细胞术评估RBC的残留程度，请使用以下克隆号的流式抗体：

- 抗人CD235ab (血型糖蛋白A/B) 抗体、克隆HIR2 (产品号 #60111)，以及
- 抗人CD41抗体，克隆HIP8 (产品号 #60114)，以及
- 抗人CD45抗体，克隆HI30 (产品号 #60018)

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、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。