

# EasySep™ Direct HLA B Cell Isolation Kit

For processing 100 mL whole blood

Catalog #89684  
#89684RF RoboSep™

Negative Selection

Document #10000007415 | Version 06



Scientists Helping Scientists™ | [WWW.STEMCELL.COM](http://WWW.STEMCELL.COM)

TOLL FREE PHONE 1 800 667 0322 • PHONE +1 604 877 0713  
INFO@STEMCELL.COM • TECHSUPPORT@STEMCELL.COM  
FOR GLOBAL CONTACT DETAILS VISIT OUR WEBSITE

## ENGLISH

### Description

Isolate highly purified B cells directly from human whole blood, buffy coat, spleen, or lymph nodes by immunomagnetic negative selection.

The benefits of this kit include:

- 99.9% RBC depletion without the need for density gradient centrifugation, sedimentation, or lysis
- Up to 99.8% purity of isolated cells
- Fast, easy-to-use, and column-free
- Isolated cells are untouched

This kit targets non-B cells for removal with antibodies recognizing specific cell surface markers. Unwanted cells are labeled with antibodies and EasySep™ Direct RapidSpheres™ and separated using an EasySep™ magnet. Desired cells are simply collected into a new tube and are immediately available for downstream applications, such as flow cytometry crossmatch.

### Quality Control

EasySep™ Direct products are manufactured using aseptic technique and tightly controlled processes.

Each lot of EasySep™ Direct cocktail and particles is sterility tested according to USP methods and performance tested in cell isolation assays.

### Component Descriptions

| COMPONENT NAME                                | COMPONENT # | QUANTITY   | STORAGE                             | SHELF LIFE                                  | FORMAT                                                               |
|-----------------------------------------------|-------------|------------|-------------------------------------|---------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------|
| EasySep™ Direct HLA B Cell Isolation Cocktail | 89684C      | 2 x 2.5 mL | Store at 2 - 8°C.<br>Do not freeze. | Stable until expiry date (EXP)<br>on label. | A combination of monoclonal antibodies in PBS.                       |
| EasySep™ Direct RapidSpheres™ 50302           | 50302       | 4 x 2.5 mL | Store at 2 - 8°C.<br>Do not freeze. | Stable until expiry date (EXP)<br>on label. | A suspension of magnetic particles and monoclonal antibodies in PBS. |

PBS - phosphate-buffered saline

Components may be shipped at room temperature (15 - 25°C) but should be stored as indicated above.

Precipitate may be observed in the cocktail vial but will not affect performance.

### Sample Preparation

#### PERIPHERAL BLOOD

For optimal red blood cell (RBC) depletion, collect blood using heparin or acid citrate dextrose (ACD) as an anticoagulant.

For best recovery, use unprocessed human whole blood. Recovery of the desired enriched cells decreases with samples that are older than 24 hours.

The volume of sample that can be processed depends on the EasySep™ magnet used for the enrichment procedure. Samples must be placed in the required tube to properly fit into the appropriate EasySep™ magnet (see Tables 1 - 2).

#### BUFFY COAT

1. Add an equal volume of recommended medium to whole blood.
2. Centrifuge at 800 x g for 10 minutes at room temperature (15 - 25°C) with the brake off.
3. Remove the concentrated leukocyte band (this is the buffy coat), plus a small portion of the plasma and concentrated red blood cells (RBCs). The target is to concentrate the leukocytes approximately 5-fold while maintaining the same hematocrit (e.g. collect 2 mL of buffy coat when starting with 10 mL of whole blood).
4. Transfer buffy coat to the required tube (see Tables 1 - 2).

**SPLEEN or LYMPH NODE**

Disrupt spleen or lymph node in PBS or Hanks' Balanced Salt Solution (HBSS) containing 2% fetal bovine serum (FBS). Remove aggregates and debris by passing the cell suspension through a pre-wetted 100 µm mesh nylon strainer. Rinse the strainer with PBS or HBSS containing 2% FBS. Centrifuge at 300 x g for 10 minutes and resuspend at  $1 - 100 \times 10^6$  cells/mL in recommended medium.

**Recommended Medium**

D-PBS (Without Ca++ and Mg++; Catalog #37350)

## Directions for Use – Manual EasySep™ Protocols

See pages 1 and 2 for Sample Preparation and Recommended Medium. Refer to Tables 1 - 4 for detailed instructions regarding the EasySep™ procedure for each magnet.

**Table 1. EasySep™ Direct HLA B Cell Isolation Kit Protocol for WHOLE BLOOD or BUFFY COAT**

| STEP | INSTRUCTIONS                                                                                                                         | EASYSEP™ MAGNETS                                                                                                      |                                                                                                                                                     |
|------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
|      |                                                                                                                                      |  <b>EasySep™</b><br>(Catalog #18000) |  <b>“The Big Easy”</b><br>(Catalog #18001)                       |
| 1    | Collect sample within the volume range.                                                                                              | 0.5 - 1.5 mL                                                                                                          | 1 - 7 mL                                                                                                                                            |
|      | Add sample to required tube.                                                                                                         | 5 mL (12 x 75 mm) polystyrene round-bottom tube<br>(e.g. Catalog #38007)                                              | 14 mL (17 x 95 mm) polystyrene round-bottom tube<br>(e.g. Catalog #38008)                                                                           |
| 2    | Vortex RapidSpheres™.<br>NOTE: Particles should appear evenly dispersed.                                                             | 30 seconds                                                                                                            | 30 seconds                                                                                                                                          |
| 3    | Add Isolation Cocktail to sample.<br>NOTE: Do not vortex cocktail.                                                                   | 50 µL/mL of sample                                                                                                    | 50 µL/mL of sample                                                                                                                                  |
| 4    | Add RapidSpheres™ to sample.                                                                                                         | 50 µL/mL of sample                                                                                                    | 50 µL/mL of sample                                                                                                                                  |
|      | Mix and incubate.                                                                                                                    | RT for 5 minutes                                                                                                      | RT for 5 minutes                                                                                                                                    |
| 5    | Add recommended medium to top up the sample to the indicated volume. Mix by gently pipetting up and down 2 - 3 times.                | Top up to 2.5 mL                                                                                                      | <ul style="list-style-type: none"> <li>• Top up to double the volume for samples ≤ 5 mL</li> <li>• Top up to 10 mL for samples &gt; 5 mL</li> </ul> |
|      | Place the tube (without lid) into the magnet and incubate.                                                                           | RT for 5 minutes                                                                                                      | RT for 5 minutes                                                                                                                                    |
| 6    | Pick up the magnet, and in one continuous motion invert the magnet and tube, pouring the enriched cell suspension* into a new tube.  | Use a new 5 mL tube                                                                                                   | Use a new 14 mL tube                                                                                                                                |
| 7    | Add RapidSpheres™ to the new tube containing the enriched cells.                                                                     | Use same volume as in step 4                                                                                          | Use same volume as in step 4                                                                                                                        |
|      | Mix and incubate.                                                                                                                    | RT for 5 minutes                                                                                                      | RT for 5 minutes                                                                                                                                    |
| 8    | Remove the tube from the magnet; place the tube from step 7 (without lid) into the magnet and incubate for a second separation.      | RT for 5 minutes                                                                                                      | RT for 5 minutes                                                                                                                                    |
| 9    | Pick up the magnet, and in one continuous motion invert the magnet and tube,** pouring the enriched cell suspension into a new tube. | Isolated cells are ready for use                                                                                      | Use a new 14 mL tube                                                                                                                                |
| 10   | Remove the tube from the magnet; place the new tube from step 9 (without lid) into the magnet and incubate for a third separation.   | ---                                                                                                                   | RT for 5 minutes                                                                                                                                    |
| 11   | Pick up the magnet, and in one continuous motion invert the magnet and tube,** pouring the enriched cell suspension into a new tube. | ---                                                                                                                   | Isolated cells are ready for use                                                                                                                    |

RT - room temperature (15 - 25°C)

\* Following the first magnetic separation, the collected cells may contain a significant amount of RBCs and may look similar to the original unprocessed human whole blood sample.

\*\* To minimize RBC contamination in the isolated cells, pour off the sample along a clean area of the tube (i.e. the opposite side to where the sample was poured in).

Table 2. EasySep™ Direct HLA B Cell Isolation Kit Protocol for WHOLE BLOOD or BUFFY COAT

|      |                                                                                                                                                                                                                                                      | EASYSEP™ MAGNETS                                                            |                                                                                                                                                 |                                                                                                                                                   |
|------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| STEP | INSTRUCTIONS                                                                                                                                                                                                                                         | EasyEights™ (Catalog #18103)                                                |                                                                                                                                                 | Easy 50<br>(Catalog #18002)                                                                                                                       |
|      |                                                                                                                                                                                                                                                      | 5 mL tube                                                                   | 14 mL tube                                                                                                                                      |                                                                                                                                                   |
| 1    | Collect sample within the volume range.                                                                                                                                                                                                              | 0.5 - 1.5 mL                                                                | 1 - 7 mL                                                                                                                                        | 7 - 30 mL                                                                                                                                         |
|      | Add sample to required tube.                                                                                                                                                                                                                         | 5 mL (12 x 75 mm)<br>polystyrene round-bottom tube<br>(e.g. Catalog #38007) | 14 mL (17 x 95 mm)<br>polystyrene round-bottom tube<br>(e.g. Catalog #38008)                                                                    | 50 mL (30 x 115 mm) conical tube<br>(e.g. Catalog #38010)                                                                                         |
| 2    | Vortex RapidSpheres™.<br>NOTE: Particles should appear evenly dispersed.                                                                                                                                                                             | 30 seconds                                                                  | 30 seconds                                                                                                                                      | 30 seconds                                                                                                                                        |
| 3    | Add Isolation Cocktail to sample.<br>NOTE: Do not vortex cocktail.                                                                                                                                                                                   | 50 µL/mL of sample                                                          | 50 µL/mL of sample                                                                                                                              | 50 µL/mL of sample                                                                                                                                |
| 4    | Add RapidSpheres™ to sample.                                                                                                                                                                                                                         | 50 µL/mL of sample                                                          | 50 µL/mL of sample                                                                                                                              | 50 µL/mL of sample                                                                                                                                |
|      | Mix and incubate.                                                                                                                                                                                                                                    | RT for 5 minutes                                                            | RT for 5 minutes                                                                                                                                | RT for 5 minutes                                                                                                                                  |
| 5    | Add recommended medium to top up the sample to the indicated volume. Mix by gently pipetting up and down 2 - 3 times.                                                                                                                                | Top up to 2.5 mL                                                            | <ul style="list-style-type: none"> <li>Top up to double the volume for samples ≤ 5 mL</li> <li>Top up to 10 mL for samples &gt; 5 mL</li> </ul> | <ul style="list-style-type: none"> <li>Top up to double the volume for samples ≤ 25 mL</li> <li>Top up to 50 mL for samples &gt; 25 mL</li> </ul> |
|      | Place the tube (without lid) into the magnet and incubate.                                                                                                                                                                                           | RT for 5 minutes                                                            | RT for 5 minutes                                                                                                                                | RT for 10 minutes                                                                                                                                 |
| 6    | Carefully pipette*** (do not pour) the enriched cell suspension into a new tube.<br>NOTE: Collect the entire clear fraction from top to bottom. For optimal recovery, also collect a small volume of RBCs (up to 10% of the starting sample volume). | Use a new 5 mL tube                                                         | Use a new 14 mL tube                                                                                                                            | Use a new 50 mL tube                                                                                                                              |
| 7    | Add RapidSpheres™ to the new tube containing the enriched cells.                                                                                                                                                                                     | Use same volume as in step 4                                                | Use same volume as in step 4                                                                                                                    | Use same volume as in step 4                                                                                                                      |
|      | Mix and incubate.                                                                                                                                                                                                                                    | RT for 5 minutes                                                            | RT for 5 minutes                                                                                                                                | RT for 5 minutes                                                                                                                                  |
| 8    | Remove the tube from the magnet; place the tube from step 7 (without lid) into the magnet and incubate for a second separation.                                                                                                                      | RT for 5 minutes                                                            | RT for 5 minutes                                                                                                                                | RT for 5 minutes                                                                                                                                  |
| 9    | Carefully pipette*** (do not pour) the enriched cell suspension into a new tube.<br>NOTE: Collect only the clear fraction.                                                                                                                           | Use a new 5 mL tube                                                         | Use a new 14 mL tube                                                                                                                            | Use a new 50 mL tube                                                                                                                              |
| 10   | Remove the tube from the magnet; place the new tube from step 9 (without lid) containing the enriched cells into the magnet and incubate for a third separation.                                                                                     | RT for 5 minutes                                                            | RT for 5 minutes                                                                                                                                | RT for 5 minutes                                                                                                                                  |
| 11   | Carefully pipette*** (do not pour) the enriched cell suspension into a new tube.<br>NOTE: Collect only the clear fraction.                                                                                                                           | Isolated cells are ready for use                                            | Isolated cells are ready for use                                                                                                                | Isolated cells are ready for use                                                                                                                  |

RT - room temperature (15 - 25°C)

\*\*\* Collect the entire supernatant, all at once, into a single pipette (e.g. for EasyEights™ 5 mL tube, use a 2 mL serological pipette [Catalog #38002]; for EasyEights™ 14 mL tube, use a 10 mL serological pipette [Catalog #38004]).

Table 3. EasySep™ Direct HLA B Cell Isolation Kit Protocol for SPLEEN or LYMPH NODE

|      |                                                                                                                                      | EASYSEP™ MAGNETS                                                                                                      |                                                                                                                                                     |
|------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| STEP | INSTRUCTIONS                                                                                                                         |  <b>EasySep™</b><br>(Catalog #18000) | <b>“The Big Easy”</b><br>(Catalog #18001)                        |
| 1    | Collect sample within the volume range.                                                                                              | 0.5 - 1.5 mL                                                                                                          | 1 - 7 mL                                                                                                                                            |
|      | Add sample to required tube.                                                                                                         | 5 mL (12 x 75 mm) polystyrene round-bottom tube<br>(e.g. Catalog #38007)                                              | 14 mL (17 x 100 mm) polystyrene round-bottom tube<br>(e.g. Catalog #38008)                                                                          |
| 2    | Add Isolation Cocktail to sample.<br>NOTE: Do not vortex cocktail.                                                                   | 50 µL/mL of sample                                                                                                    | 50 µL/mL of sample                                                                                                                                  |
|      | Mix and incubate.                                                                                                                    | RT for 5 minutes                                                                                                      | RT for 5 minutes                                                                                                                                    |
| 3    | Vortex RapidSpheres™.<br>NOTE: Particles should appear evenly dispersed.                                                             | 30 seconds                                                                                                            | 30 seconds                                                                                                                                          |
| 4    | Add RapidSpheres™ to sample. Mix by gently pipetting up and down 2 - 3 times.                                                        | 50 µL/mL of sample                                                                                                    | 50 µL/mL of sample                                                                                                                                  |
| 5    | Add recommended medium to top up the sample to the indicated volume.                                                                 | Top up to 2.5 mL                                                                                                      | <ul style="list-style-type: none"> <li>• Top up to double the volume for samples ≤ 5 mL</li> <li>• Top up to 10 mL for samples &gt; 5 mL</li> </ul> |
|      | Place the tube (without lid) into the magnet and incubate.                                                                           | RT for 3 minutes                                                                                                      | RT for 3 minutes                                                                                                                                    |
| 6    | Pick up the magnet, and in one continuous motion invert the magnet and tube, pouring the enriched cell suspension* into a new tube.  | Use a new 5 mL tube                                                                                                   | Use a new 14 mL tube                                                                                                                                |
| 7    | Add RapidSpheres™ to the new tube containing the enriched cells. Mix by gently pipetting up and down 2 - 3 times.                    | Use same volume as in step 4                                                                                          | Use same volume as in step 4                                                                                                                        |
| 8    | Remove the tube from the magnet; place the tube from step 7 (without lid) into the magnet and incubate for a second separation.      | RT for 3 minutes                                                                                                      | RT for 3 minutes                                                                                                                                    |
| 9    | Pick up the magnet, and in one continuous motion invert the magnet and tube**, pouring the enriched cell suspension into a new tube. | Isolated cells are ready for use                                                                                      | Isolated cells are ready for use                                                                                                                    |

RT - room temperature (15 - 25°C)

Table 4. EasySep™ Direct HLA B Cell Isolation Kit Protocol for SPLEEN or LYMPH NODE

| STEP | INSTRUCTIONS                                                                                                                                                                                                                                                     | EASYSEP™ MAGNETS                                                               |                                                                                                                                                     |
|------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
|      |                                                                                                                                                                                                                                                                  | EasyEights™ (Catalog #18103)                                                   |                                                                                                                                                     |
|      |                                                                                                                                                                                                                                                                  | 5 mL tube                                                                      | 14 mL tube                                                                                                                                          |
| 1    | Collect sample within the volume range.                                                                                                                                                                                                                          | 0.5 - 1.5 mL                                                                   | 1 - 7 mL                                                                                                                                            |
|      | Add sample to required tube.                                                                                                                                                                                                                                     | 5 mL (12 x 75 mm) polystyrene round-bottom tube (e.g. Catalog #38007)          | 14 mL (17 x 100 mm) polystyrene round-bottom tube (e.g. Catalog #38008)                                                                             |
| 2    | Add Isolation Cocktail to sample.<br>NOTE: Do not vortex cocktail.                                                                                                                                                                                               | 50 µL/mL of sample                                                             | 50 µL/mL of sample                                                                                                                                  |
|      | Mix and incubate.                                                                                                                                                                                                                                                | RT for 5 minutes                                                               | RT for 5 minutes                                                                                                                                    |
| 3    | Vortex RapidSpheres™.<br>NOTE: Particles should appear evenly dispersed.                                                                                                                                                                                         | 30 seconds                                                                     | 30 seconds                                                                                                                                          |
| 4    | Add RapidSpheres™ to sample. Mix by gently pipetting up and down 2 - 3 times.                                                                                                                                                                                    | 50 µL/mL of sample                                                             | 50 µL/mL of sample                                                                                                                                  |
| 5    | Add recommended medium to top up sample to the indicated volume. Mix by gently pipetting up and down 2 - 3 times.                                                                                                                                                | Top up to 2.5 mL                                                               | <ul style="list-style-type: none"> <li>• Top up to double the volume for samples ≤ 5 mL</li> <li>• Top up to 10 mL for samples &gt; 5 mL</li> </ul> |
|      | Place the tube (without lid) into the magnet and incubate.                                                                                                                                                                                                       | RT for 3 minutes                                                               | RT for 3 minutes                                                                                                                                    |
| 6    | Carefully pipette*** (do not pour) the enriched cell suspension into a new tube.<br>NOTE: Collect the entire clear fraction from top to bottom. For optimal recovery, also collect a small volume of RBCs, if present (up to 10% of the starting sample volume). | Use a new 5 mL tube                                                            | Use a new 14 mL tube                                                                                                                                |
| 7    | Add RapidSpheres™ to the new tube containing the enriched cells. Mix by gently pipetting up and down 2 - 3 times.                                                                                                                                                | Use same volume as in step 4                                                   | Use same volume as in step 4                                                                                                                        |
| 8    | Remove the tube from the magnet; place the tube from step 7 (without lid) into the magnet and incubate for a second separation.                                                                                                                                  | RT for 3 minutes                                                               | RT for 3 minutes                                                                                                                                    |
| 9    | Carefully pipette*** (do not pour) the enriched cell suspension into a new tube.<br>NOTE: Collect only the clear fraction.                                                                                                                                       | Use a new 5 mL tube<br><b>For lymph node:</b> Isolated cells are ready for use | Use a new 14 mL tube<br><b>For lymph node:</b> Isolated cells are ready for use                                                                     |
| 10   | Remove the tube from the magnet; place the new tube (without lid) containing the enriched cells into the magnet and incubate for a third separation.                                                                                                             | <b>For spleen:</b> RT for 3 minutes                                            | <b>For spleen:</b> RT for 3 minutes                                                                                                                 |
| 11   | Carefully pipette*** (do not pour) the enriched cell suspension into a new tube.<br>NOTE: Collect only the clear fraction.                                                                                                                                       | <b>For spleen:</b> Isolated cells are ready for use                            | <b>For spleen:</b> Isolated cells are ready for use                                                                                                 |

RT - room temperature (15 - 25°C)

\*\*\* Collect the entire supernatant, all at once, into a single pipette (e.g. for the EasyEights™ 5 mL tube, use a 2 mL serological pipette and for the EasyEights™ 14 mL tube, use a 10 mL serological pipette).

## Directions for Use – Fully Automated RoboSep™ Protocol

See pages 1 and 2 for Sample Preparation and Recommended Medium. Refer to Table 5 for detailed instructions regarding the RoboSep™ procedure.

NOTE: If using RoboSep™-S, ensure the software is at least v.1.2.0.2 and a carousel compatible with this product is installed. Contact us at techsupport@stemcell.com for more information.

**Table 5. RoboSep™ Direct HLA B Cell Isolation Kit Protocol for WHOLE BLOOD, SPLEEN, LYMPH NODE, or BUFFY COAT**

| STEP | INSTRUCTIONS                                                                | RoboSep™<br>(Catalog #21000)                                                                                                                                                                                                                                                              |  |
|------|-----------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------|
| 1    | Prepare sample at the indicated cell concentration within the volume range. | <b>For spleen or lymph node:</b> 1 - 6 mL at 1 - 100 x 10 <sup>6</sup> cells/mL<br><b>For blood:</b> 1 - 6 mL<br><b>For buffy coat:</b> 2 - 6 mL                                                                                                                                          |                                                                                     |
|      | Add sample to required tube.                                                | 14 mL (17 x 95 mm) polystyrene round-bottom tube (e.g. Catalog #38008)                                                                                                                                                                                                                    |                                                                                     |
| 2    | Select protocol.                                                            | <ul style="list-style-type: none"> <li>EasySep Direct HLA T Cell Isolation 89684 - WB, Spleen, LN</li> <li>EasySep Direct HLA T Cell Isolation 89684 - WB, Spleen, LN - High RBC Depletion<sup>†</sup></li> <li>EasySep Direct HLA B Cell Isolation 89684 - For BC<sup>§</sup></li> </ul> |                                                                                     |
| 3    | Vortex RapidSpheres™.<br>NOTE: Particles should appear evenly dispersed.    | 30 seconds                                                                                                                                                                                                                                                                                |                                                                                     |
| 4    | Load the carousel.                                                          | Follow on-screen prompts<br>NOTE: This protocol requires loading two vials of EasySep™ Direct RapidSpheres™ 50302 onto the carousel for a single run; one in the ▲ (triangle) slot and one in the ● (circle) slot.                                                                        |                                                                                     |
|      | Start the protocol.                                                         | Press the green "Run" button                                                                                                                                                                                                                                                              |                                                                                     |
| 5    | Unload the carousel when the run is complete.                               | Isolated cells are ready for use                                                                                                                                                                                                                                                          |                                                                                     |

<sup>†</sup> This protocol provides high red blood cell depletion, with a slight reduction in recovery

<sup>§</sup> This protocol uses two times the EasySep™ reagents

## Notes and Tips

### REMOVAL OF RESIDUAL RBCs IN THE ISOLATED CELLS

Typically, further RBC depletion is not required following cell isolation. If residual RBCs are visible in the isolated cell pellet following centrifugation after the end of the protocol, resuspend in a small volume (0.2 - 2.5 mL) of recommended medium or desired culture medium and place in a smaller EasySep™ magnet for an additional 5-minute separation. Collect the supernatant and the isolated cells are now ready for use in downstream applications. Residual RBCs may also be lysed using Ammonium Chloride Solution (Catalog #07800).

### ASSESSING PURITY

For purity assessment of B cells by flow cytometry, use the following fluorochrome-conjugated antibody clones:

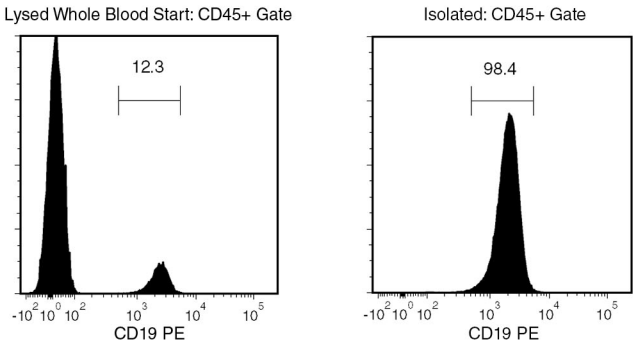
- Anti-Human CD19 Antibody, Clone HIB19 (Catalog #60005), and
- Anti-Human CD45 Antibody, Clone HI30 (Catalog #60018)

NOTE: It is recommended to assess purity on CD45+ cells to exclude debris, platelets, and RBCs. Include a viability dye if necessary (e.g. Propidium Iodide [Catalog #75002]; 7-AAD [7-Aminoactinomycin D; Catalog #75001]).

NOTE: User is responsible for validating the performance of the isolated cells in downstream assays.

Data

Starting with human whole blood from normal healthy donors, the B cell (CD19+) content of the non-lysed final isolated fraction typically ranges from 89 - 99.8% (gated on CD45).



In the above example, the B cell (CD19+) content of the lysed whole blood start sample and non-lysed final isolated fraction is 12.3% and 98.4% (gated on CD45), respectively.

PRODUCTS ARE FOR RESEARCH USE ONLY AND NOT INTENDED FOR HUMAN OR ANIMAL DIAGNOSTIC OR THERAPEUTIC USES UNLESS OTHERWISE STATED. FOR ADDITIONAL INFORMATION ON QUALITY AT STEMCELL, REFER TO [WWW.STEMCELL.COM/COMPLIANCE](http://WWW.STEMCELL.COM/COMPLIANCE).

Copyright © 2025 by STEMCELL Technologies Inc. All rights reserved including graphics and images. STEMCELL Technologies & Design, STEMCELL Shield Design, Scientists Helping Scientists, EasyEights, EasySep, RapidSpheres, and RoboSep are trademarks of STEMCELL Technologies Canada Inc. All other trademarks are the property of their respective holders. While STEMCELL has made all reasonable efforts to ensure that the information provided by STEMCELL and its suppliers is correct, it makes no warranties or representations as to the accuracy or completeness of such information.

# EasySep™ Direct HLA B Cell Isolation Kit

Traitement de 100 mL de sang total

No de catalogue 89684  
89684RF RoboSep™

Sélection négative

No de document 10000007415 | Version 06



Scientists Helping Scientists™ | [WWW.STEMCELL.COM](http://WWW.STEMCELL.COM)

TOLL FREE PHONE 1 800 667 0322 • PHONE +1 604 877 0713

[INFO@STEMCELL.COM](mailto:INFO@STEMCELL.COM) • [TECHSUPPORT@STEMCELL.COM](mailto:TECHSUPPORT@STEMCELL.COM)

FOR GLOBAL CONTACT DETAILS VISIT OUR WEBSITE

## FRANÇAIS

### Description du Produit

Isolez les lymphocytes B hautement purifiées directement d'échantillons de sang total humain, de la couche leucocytaire, de la rate ou des ganglions lymphatiques à l'aide de la sélection immunomagnétique négative.

Les avantages de ce kit comprennent:

- Déplétion des globules rouges à 99,9 % sans nécessiter le besoin de centrifugation en gradient de densité, de sédimentation ou de lyse cellulaire
- Pureté de lymphocytes T allant jusqu'à 99,8%
- Sélection rapide, facile; aucune colonne requise
- Les cellules isolées demeurent non-marquées

Ce kit cible l'élimination de types cellulaires non-B par leur marquage avec des anticorps spécifiques aux antigènes de surface. Les cellules indésirables sont couplées aux anticorps ainsi qu'aux particules magnétiques EasySep™ Direct RapidSpheres™ et ensuite triées à l'aide d'un aimant EasySep™. Les cellules désirables non marquées sont simplement récupérées dans un tube à essai et sont immédiatement disponibles pour plusieurs applications en aval telles que l'analyse de tests croisés par cytométrie en flux.

### Contrôle de la Qualité

Les produits EasySep™ Direct sont fabriqués selon une technique aseptique et des processus étroitement contrôlés.

La stérilité de chaque lot de cocktail et de particules EasySep™ Direct est contrôlée conformément aux méthodes de l'USP et sa performance grâce à des tests par isolement de cellules.

### Descriptions des Composantes

| NOM DE LA COMPOSANTE                          | N° DE LA COMPOSANTE | QUANTITÉ   | ENTREPOSAGE                                    | STABILITÉ                                                                    | FORMAT                                                                  |
|-----------------------------------------------|---------------------|------------|------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------|
| EasySep™ Direct HLA B Cell Isolation Cocktail | 89684C              | 2 x 2,5 mL | Entreposer entre 2 et 8°C.<br>Ne pas congeler. | Stable jusqu'à la date de péremption (Use-by date) figurant sur l'étiquette. | Combinaison d'anticorps monoclonaux en PBS.                             |
| EasySep™ Direct RapidSpheres™ 50302           | 50302               | 4 x 2,5 mL | Entreposer entre 2 et 8°C.<br>Ne pas congeler. | Stable jusqu'à la date de péremption (Use-by date) figurant sur l'étiquette. | Suspension de particules magnétiques et d'anticorps monoclonaux en PBS. |

PBS - solution saline tamponnée au phosphate

Ce produit peut être expédié à une température de 15 à 25°C, mais doit être réfrigéré dès sa réception.

Des précipités peuvent être observés dans le flacon du cocktail, mais n'affecteront pas la performance.

### Préparation de L'échantillon

#### SANG PÉRIPHÉRIQUE

Pour une déplétion optimale des globules rouges, prélever les échantillons de sang en utilisant de l'héparine ou une solution de dextrose et d'acide citrique (ACD) comme anticoagulant.

Pour obtenir une récupération optimale, utiliser du sang total humain non traité. La récupération des cellules enrichies souhaitées est plus faible dans les échantillons qui remontent à plus de 24 heures.

Le volume de l'échantillon traitable dépend de l'aimant EasySep™ utilisé pendant la procédure d'enrichissement. Il faut placer les échantillons dans le tube à essai prescrit pour qu'ils s'adaptent correctement à l'aimant EasySep™ approprié (voir les tableaux 1 à 2)

**COUCHE LEUCOCYTO-PLAQUETTAIRE (BUFFY COAT)**

1. Ajouter un volume égal du milieu recommande au sang total.
2. Centrifuger à 800 x g pendant 10 minutes à température ambiante (entre 15 et 25°C), sans frein.
3. Retirer la couche leucocyto-plaquettaire concentrée ainsi qu'une petite portion du plasma et des globules rouges concentrés. L'objectif consiste à concentrer les leucocytes environ cinq fois tout en maintenant le même hématocrite.
4. Transférer la couche leucocyto-plaquettaire vers le tube à essai prescrit (voir les tableaux 1 et 2).

**RATE ou GANGLION LYMPHATIQUE**

Dissocier la rate ou le ganglion lymphatique dans une PBS ou une solution saline équilibrée de Hank (Hanks' Balanced Salt Solution – HBSS) contenant 2% de serum de veau fœtal (SVF). Supprimer les agrégats et les débris en faisant passer la suspension cellulaire par un tamis en nylon préhumidifié à maille de 100 µm. Rincer le tamis avec une PBS ou une HBSS contenant 2% de SVF. Centrifuger à 300 x g pendant 10 minutes, puis remettre en suspension entre 1 et 100 x 10<sup>6</sup> cellules/mL dans le milieu recommandé.

**Milieu Recommandé**

D-PBS (sans Ca<sup>++</sup> et Mg<sup>++</sup>; n° de catalogue 37350)

## Mode d'Emploi – Protocoles Manuels EasySep™

Voir les pages 1 et 2 pour consulter la préparation de l'échantillon et le milieu recommandé. Se reporter aux tableaux 1 à 4 pour obtenir des instructions détaillées concernant la procédure EasySep™ pour chaque aimant.

**Tableau 1. Protocole du EasySep™ Direct HLA B Cell Isolation Kit pour SANG TOTAL ou COUCHE LEUCOCYTO-PLAQUETTAIRE**

|       |                                                                                                                                                                             | AIMANTS EASYSEP™                                                                                                             |                                                                                                                                                                                     |
|-------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| ÉTAPE | INSTRUCTIONS                                                                                                                                                                |  <b>EasySep™</b><br>(n° de catalogue 18000) |  <b>"The Big Easy"</b><br>(n° de catalogue 18001)                                                |
| 1     | Prélever l'échantillon dans la fourchette de volume prescrite.                                                                                                              | De 0,5 à 1,5 mL                                                                                                              | De 1 à 7 mL                                                                                                                                                                         |
|       | Ajouter l'échantillon au tube à essai prescrit.                                                                                                                             | Tube à essai à fond rond en polystyrène de 5 mL (12 x 75 mm)<br>(p. ex., n° de catalogue 38007)                              | Tube à essai à fond rond en polystyrène de 14 mL (17 x 95 mm)<br>(p. ex., n° de catalogue 38008)                                                                                    |
| 2     | Vortex RapidSpheres™.<br>REMARQUE: Les particules doivent paraître uniformément dispersées.                                                                                 | 30 secondes                                                                                                                  | 30 secondes                                                                                                                                                                         |
| 3     | Ajouter le cocktail d'isolement à l'échantillon.<br>REMARQUE: Ne pas vortexer le cocktail.                                                                                  | 50 µL/mL d'échantillon                                                                                                       | 50 µL/mL d'échantillon                                                                                                                                                              |
| 4     | Ajouter RapidSpheres™ à l'échantillon.                                                                                                                                      | 50 µL/mL d'échantillon                                                                                                       | 50 µL/mL d'échantillon                                                                                                                                                              |
|       | Mélanger et incuber.                                                                                                                                                        | TA pendant 5 minutes                                                                                                         | TA pendant 5 minutes                                                                                                                                                                |
| 5     | Ajouter le milieu recommandé jusqu'à obtention du volume d'échantillon indiqué. Mélanger doucement par pipetage deux ou trois fois.                                         | Remplir jusqu'à 2,5 mL                                                                                                       | <ul style="list-style-type: none"> <li>• Remplir jusqu'au double de volume pour les échantillons ≤ 5 mL</li> <li>• Remplir jusqu'à 10 mL pour les échantillons &gt; 5 mL</li> </ul> |
|       | Placer le tube à essai (sans le couvercle) dans l'aimant et incuber.                                                                                                        | TA pendant 5 minutes                                                                                                         | TA pendant 5 minutes                                                                                                                                                                |
| 6     | Ramasser l'aimant et, dans un seul mouvement continu, inverser l'aimant et le tube à essai et verser la suspension cellulaire enrichie* dans un nouveau tube à essai.       | Utiliser un nouveau tube à essai de 5 mL                                                                                     | Utiliser un nouveau tube à essai de 14 mL                                                                                                                                           |
| 7     | Ajouter RapidSpheres™ au nouveau tube à essai contenant les cellules enrichies.                                                                                             | Utiliser le même volume qu'à l'étape 4                                                                                       | Utiliser le même volume qu'à l'étape 4                                                                                                                                              |
|       | Mélanger et incuber.                                                                                                                                                        | TA pendant 5 minutes                                                                                                         | TA pendant 5 minutes                                                                                                                                                                |
| 8     | Retirer le tube à essai de l'aimant; Placer le tube à essai de l'étape 7 (sans le couvercle) dans l'aimant, puis incuber en vue d'obtenir une deuxième séparation.          | TA pendant 5 minutes                                                                                                         | TA pendant 5 minutes                                                                                                                                                                |
| 9     | Ramasser l'aimant et, dans un seul mouvement continu, inverser l'aimant et le tube à essai** et verser la suspension cellulaire enrichie dans un nouveau tube à essai.      | Les cellules isolées sont prêtes à l'emploi                                                                                  | Utiliser un nouveau tube à essai de 14 mL                                                                                                                                           |
| 10    | Retirer le tube à essai de l'aimant; Placer le nouveau tube à essai de l'étape 9 (sans le couvercle) dans l'aimant, puis incuber en vue d'obtenir une troisième séparation. | ---                                                                                                                          | TA pendant 5 minutes                                                                                                                                                                |
| 11    | Ramasser l'aimant et, dans un seul mouvement continu, inverser l'aimant et le tube à essai** et verser la suspension cellulaire enrichie dans un nouveau tube à essai.      | ---                                                                                                                          | Les cellules isolées sont prêtes à l'emploi                                                                                                                                         |

TA - température ambiante (entre 15 et 25 °C)

\* À la suite de la première séparation magnétique, les cellules recueillies peuvent contenir un volume important de globules rouges et peuvent sembler identiques à l'échantillon de sang total humain non traité d'origine.

\*\* Pour réduire au minimum la contamination des globules rouges dans les cellules isolées, verser l'échantillon le long d'une zone propre du tube à essai (c.-à-d. du côté opposé à celui qui a été utilisé pour verser l'échantillon dans le tube à essai).

Tableau 2. Protocole du EasySep™ Direct HLA B Cell Isolation Kit pour SANG TOTAL ou COUCHE LEUCOCYTO-PLAQUETTAIRE

| ÉTAPE | INSTRUCTIONS                                                                                                                                                                                                                                                                                                                     | AIMANTS EASYSEP™                                                                                      |                                                                                                                                                                                 |                                                                                                                                                                                   |
|-------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
|       |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                  | EasyEights™ (n° de catalogue 18103)                                                                   |                                                                                                                                                                                 | Easy 50 (n° de catalogue 18002)                                                                                                                                                   |
|       |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                  |  <b>Tube de 5 mL</b> |  <b>Tube de 14 mL</b>                                                                        |                                                                                                |
| 1     | Prélever l'échantillon dans la fourchette de volume prescrite.                                                                                                                                                                                                                                                                   | De 0,5 à 1,5 mL                                                                                       | De 1 à 7 mL                                                                                                                                                                     | De 7 à 30 mL                                                                                                                                                                      |
|       | Ajouter l'échantillon au tube à essai prescrit.                                                                                                                                                                                                                                                                                  | Tube à essai à fond rond en polystyrène de 5 mL (12 x 75 mm)<br>(p. ex., n° de catalogue 38007)       | Tube à essai à fond rond en polystyrène de 14 mL (17 x 95 mm)<br>(p. ex., n° de catalogue 38008)                                                                                | Tube à essai conique de 50 mL<br>(p. ex., n° de catalogue 38010)                                                                                                                  |
| 2     | Vortex RapidSpheres™.<br>REMARQUE: Les particules doivent paraître uniformément dispersées.                                                                                                                                                                                                                                      | 30 secondes                                                                                           | 30 secondes                                                                                                                                                                     | 30 secondes                                                                                                                                                                       |
| 3     | Ajouter le cocktail d'isolement à l'échantillon.<br>REMARQUE: Ne pas vortexer le cocktail.                                                                                                                                                                                                                                       | 50 µL/mL d'échantillon                                                                                | 50 µL/mL d'échantillon                                                                                                                                                          | 50 µL/mL d'échantillon                                                                                                                                                            |
| 4     | Ajouter RapidSpheres™ à l'échantillon.                                                                                                                                                                                                                                                                                           | 50 µL/mL d'échantillon                                                                                | 50 µL/mL d'échantillon                                                                                                                                                          | 50 µL/mL d'échantillon                                                                                                                                                            |
|       | Mélanger et incuber.                                                                                                                                                                                                                                                                                                             | TA pendant 5 minutes                                                                                  | TA pendant 5 minutes                                                                                                                                                            | TA pendant 5 minutes                                                                                                                                                              |
| 5     | Ajouter le milieu recommandé jusqu'à obtention du volume d'échantillon indiqué. Mélanger doucement par pipetage deux ou trois fois.                                                                                                                                                                                              | Remplir jusqu'à 2,5 mL                                                                                | <ul style="list-style-type: none"> <li>Remplir jusqu'au double de volume pour les échantillons ≤ 5 mL</li> <li>Remplir jusqu'à 10 mL pour les échantillons &gt; 5 mL</li> </ul> | <ul style="list-style-type: none"> <li>Remplir jusqu'au double de volume pour les échantillons ≤ 25 mL</li> <li>Remplir jusqu'à 50 mL pour les échantillons &gt; 25 mL</li> </ul> |
|       | Placer le tube à essai (sans le couvercle) dans l'aimant et incuber.                                                                                                                                                                                                                                                             | TA pendant 5 minutes                                                                                  | TA pendant 5 minutes                                                                                                                                                            | TA pendant 10 minutes                                                                                                                                                             |
| 6     | Pipeter*** soigneusement (ne pas verser) la suspension cellulaire enrichie dans un nouveau tube à essai.<br>REMARQUE: Prélever la fraction claire complète, du haut en bas. Pour obtenir une récupération optimale, prélever également une petite quantité de globules rouges (jusqu'à 10 % du volume initial de l'échantillon). | Utiliser un nouveau tube à essai de 5 mL                                                              | Utiliser un nouveau tube à essai de 14 mL                                                                                                                                       | Utiliser un nouveau tube à essai de 50 mL                                                                                                                                         |
| 7     | Ajouter RapidSpheres™ au nouveau tube à essai contenant les cellules enrichies.                                                                                                                                                                                                                                                  | Utiliser le même volume qu'à l'étape 4                                                                | Utiliser le même volume qu'à l'étape 4                                                                                                                                          | Utiliser le même volume qu'à l'étape 4                                                                                                                                            |
|       | Mélanger et incuber.                                                                                                                                                                                                                                                                                                             | TA pendant 5 minutes                                                                                  | TA pendant 5 minutes                                                                                                                                                            | TA pendant 5 minutes                                                                                                                                                              |
| 8     | Retirer le tube à essai de l'aimant et placer le tube à essai de l'étape 7 (sans le couvercle) dans l'aimant, puis incuber en vue d'obtenir une deuxième séparation.                                                                                                                                                             | TA pendant 5 minutes                                                                                  | TA pendant 5 minutes                                                                                                                                                            | TA pendant 5 minutes                                                                                                                                                              |
| 9     | Pipeter*** soigneusement (ne pas verser) la suspension cellulaire enrichie dans un nouveau tube à essai.<br>REMARQUE: Ne prélever que la fraction claire.                                                                                                                                                                        | Utiliser un nouveau tube à essai de 5 mL                                                              | Utiliser un nouveau tube à essai de 14 mL                                                                                                                                       | Utiliser un nouveau tube à essai de 50 mL                                                                                                                                         |
| 10    | Retirer le tube à essai de l'aimant et placer le nouveau tube à essai de l'étape 9 (sans le couvercle) qui contient les cellules enrichies dans l'aimant, puis incuber en vue d'obtenir une troisième séparation.                                                                                                                | TA pendant 5 minutes                                                                                  | TA pendant 5 minutes                                                                                                                                                            | TA pendant 5 minutes                                                                                                                                                              |
| 11    | Pipeter*** soigneusement (ne pas verser) la suspension cellulaire enrichie dans un nouveau tube à essai.<br>REMARQUE: Ne prélever que la fraction claire.                                                                                                                                                                        | Les cellules isolées sont prêtes à l'emploi                                                           | Les cellules isolées sont prêtes à l'emploi                                                                                                                                     | Les cellules isolées sont prêtes à l'emploi                                                                                                                                       |

TA – température ambiante (entre 15 et 25 °C)

\*\*\* Prélever le surnageant complet, en une seule fois, dans une seule et même pipette (p. Ex., pour un tube à essai de 5 mL EasyEights™, utiliser une pipette sérologique de 2 mL [n° de catalogue 38002]; pour un tube à essai de 14 mL EasyEights™, utiliser une pipette sérologique de 10 mL [n° de catalogue 38004]).

Tableau 3. Protocole du EasySep™ Direct HLA B Cell Isolation Kit pour RATE ou GANGLION LYMPHATIQUE

|       |                                                                                                                                                                        | AIMANTS EASYSEP™                                                                                                             |                                                                                                                                                                                     |
|-------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| ÉTAPE | INSTRUCTIONS                                                                                                                                                           |  <b>EasySep™</b><br>(n° de catalogue 18000) | <b>“The Big Easy”</b><br>(n° de catalogue 18001)                                                 |
| 1     | Prélever l'échantillon dans la fourchette de volume prescrite.                                                                                                         | De 0,5 à 1,5 mL                                                                                                              | De 1 à 7 mL                                                                                                                                                                         |
|       | Ajouter l'échantillon au tube à essai prescrit.                                                                                                                        | Tube à essai à fond rond en polystyrène de 5 mL (12 x 75 mm)<br>(p. ex., n° de catalogue 38007)                              | Tube à essai à fond rond en polystyrène de 14 mL (17 x 95 mm)<br>(p. ex., n° de catalogue 38008)                                                                                    |
| 2     | Ajouter le cocktail d'isolement à l'échantillon.<br>REMARQUE: Ne pas vortexer le cocktail.                                                                             | 50 µL/mL d'échantillon                                                                                                       | 50 µL/mL d'échantillon                                                                                                                                                              |
|       | Mélanger et incuber.                                                                                                                                                   | TA pendant 5 minutes                                                                                                         | TA pendant 5 minutes                                                                                                                                                                |
| 3     | Vortex RapidSpheres™.<br>REMARQUE: Les particules doivent paraître uniformément dispersées.                                                                            | 30 secondes                                                                                                                  | 30 secondes                                                                                                                                                                         |
| 4     | Ajouter RapidSpheres™ à l'échantillon. Mélanger doucement par pipetage deux ou trois fois.                                                                             | 50 µL/mL d'échantillon                                                                                                       | 50 µL/mL d'échantillon                                                                                                                                                              |
| 5     | Ajouter le milieu recommandé jusqu'à obtention du volume d'échantillon indiqué. Mélanger doucement par pipetage deux ou trois fois.                                    | Remplir jusqu'à 2,5 mL                                                                                                       | <ul style="list-style-type: none"> <li>• Remplir jusqu'au double de volume pour les échantillons ≤ 5 mL</li> <li>• Remplir jusqu'à 10 mL pour les échantillons &gt; 5 mL</li> </ul> |
|       | Placer le tube à essai (sans le couvercle) dans l'aimant et incuber.                                                                                                   | TA pendant 3 minutes                                                                                                         | TA pendant 3 minutes                                                                                                                                                                |
| 6     | Ramasser l'aimant et, dans un seul mouvement continu, inverser l'aimant et le tube à essai et verser la suspension cellulaire enrichie* dans un nouveau tube à essai.  | Utiliser un nouveau tube à essai de 5 mL                                                                                     | Utiliser un nouveau tube à essai de 14 mL                                                                                                                                           |
| 7     | Ajouter RapidSpheres™ au nouveau tube à essai contenant les cellules enrichies. Mélanger doucement par pipetage deux ou trois fois.                                    | Utiliser le même volume qu'à l'étape 4                                                                                       | Utiliser le même volume qu'à l'étape 4                                                                                                                                              |
| 8     | Retirer le tube à essai de l'aimant; Placer le tube à essai de l'étape 7 (sans le couvercle) dans l'aimant, puis incuber en vue d'obtenir une deuxième séparation.     | TA pendant 3 minutes                                                                                                         | TA pendant 3 minutes                                                                                                                                                                |
| 9     | Ramasser l'aimant et, dans un seul mouvement continu, inverser l'aimant et le tube à essai** et verser la suspension cellulaire enrichie dans un nouveau tube à essai. | Les cellules isolées sont prêtes à l'emploi                                                                                  | Les cellules isolées sont prêtes à l'emploi                                                                                                                                         |

TA - température ambiante (entre 15 et 25 °C)

\* À la suite de la première séparation magnétique, les cellules recueillies peuvent contenir un volume important de globules rouges et peuvent sembler identiques à l'échantillon de sang total humain non traité d'origine.

\*\* Pour réduire au minimum la contamination des globules rouges dans les cellules isolées, verser l'échantillon le long d'une zone propre du tube à essai (c.-à-d. du côté opposé à celui qui a été utilisé pour verser l'échantillon dans le tube à essai).

Tableau 4. Protocole du EasySep™ Direct HLA B Cell Isolation Kit pour RATE ou GANGLION LYMPHATIQUE

|       |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                  | AIMANTS EASYSEP™                                                                                                             |                                                                                                                                                                                     |
|-------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| ÉTAPE | INSTRUCTIONS                                                                                                                                                                                                                                                                                                                     | EasyEights™ (n° de catalogue 18103)                                                                                          |                                                                                                                                                                                     |
|       |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                  | Tube de 5 mL                                                                                                                 | Tube de 14 mL                                                                                                                                                                       |
| 1     | Prélever l'échantillon dans la fourchette de volume prescrite.                                                                                                                                                                                                                                                                   | De 0,5 à 1,5 mL                                                                                                              | De 1 à 7 mL                                                                                                                                                                         |
|       | Ajouter l'échantillon au tube à essai prescrit.                                                                                                                                                                                                                                                                                  | Tube à essai à fond rond en polystyrène de 5 mL (12 x 75 mm)<br>(p. ex., n° de catalogue 38007)                              | Tube à essai à fond rond en polystyrène de 14 mL (17 x 95 mm)<br>(p. ex., n° de catalogue 38008)                                                                                    |
| 2     | Ajouter le cocktail d'isolement à l'échantillon.<br>REMARQUE: Ne pas vortexer le cocktail.                                                                                                                                                                                                                                       | 50 µL/mL d'échantillon                                                                                                       | 50 µL/mL d'échantillon                                                                                                                                                              |
|       | Mélanger et incuber.                                                                                                                                                                                                                                                                                                             | TA pendant 5 minutes                                                                                                         | TA pendant 5 minutes                                                                                                                                                                |
| 3     | Vortex RapidSpheres™.<br>REMARQUE: Les particules doivent paraître uniformément dispersées.                                                                                                                                                                                                                                      | 30 secondes                                                                                                                  | 30 secondes                                                                                                                                                                         |
| 4     | Ajouter RapidSpheres™ à l'échantillon. Mélanger doucement par pipetage deux ou trois fois.                                                                                                                                                                                                                                       | 50 µL/mL d'échantillon                                                                                                       | 50 µL/mL d'échantillon                                                                                                                                                              |
| 5     | Ajouter le milieu recommandé jusqu'à obtention du volume d'échantillon indiqué. Mélanger doucement par pipetage deux ou trois fois.                                                                                                                                                                                              | Remplir jusqu'à 2,5 mL                                                                                                       | <ul style="list-style-type: none"> <li>• Remplir jusqu'au double de volume pour les échantillons ≤ 5 mL</li> <li>• Remplir jusqu'à 10 mL pour les échantillons &gt; 5 mL</li> </ul> |
|       | Placer le tube à essai (sans le couvercle) dans l'aimant et incuber.                                                                                                                                                                                                                                                             | TA pendant 3 minutes                                                                                                         | TA pendant 3 minutes                                                                                                                                                                |
| 6     | Pipeter*** soigneusement (ne pas verser) la suspension cellulaire enrichie dans un nouveau tube à essai.<br>REMARQUE: Prélever la fraction claire complète, du haut en bas. Pour obtenir une récupération optimale, prélever également une petite quantité de globules rouges (jusqu'à 10 % du volume initial de l'échantillon). | Utiliser un nouveau tube à essai de 5 mL                                                                                     | Utiliser un nouveau tube à essai de 14 mL                                                                                                                                           |
| 7     | Ajouter RapidSpheres™ au nouveau tube à essai contenant les cellules enrichies. Mélanger doucement par pipetage deux ou trois fois.                                                                                                                                                                                              | Utiliser le même volume qu'à l'étape 4                                                                                       | Utiliser le même volume qu'à l'étape 4                                                                                                                                              |
| 8     | Retirer le tube à essai de l'aimant et placer le tube à essai de l'étape 7 (sans le couvercle) dans l'aimant, puis incuber en vue d'obtenir une deuxième séparation.                                                                                                                                                             | TA pendant 3 minutes                                                                                                         | TA pendant 3 minutes                                                                                                                                                                |
| 9     | Pipeter*** soigneusement (ne pas verser) la suspension cellulaire enrichie dans un nouveau tube à essai.<br>REMARQUE: Ne prélever que la fraction claire.                                                                                                                                                                        | Utiliser un nouveau tube à essai de 5 mL<br><b>Pour le ganglion lymphatique:</b> Les cellules isolées sont prêtes à l'emploi | Utiliser un nouveau tube à essai de 14 mL<br><b>Pour le ganglion lymphatique:</b> Les cellules isolées sont prêtes à l'emploi                                                       |
| 10    | Retirer le tube à essai de l'aimant et placer le nouveau tube à essai de l'étape 9 (sans le couvercle) qui contient les cellules enrichies dans l'aimant, puis incuber en vue d'obtenir une troisième séparation.                                                                                                                | <b>Pour la rate:</b> TA pendant 3 minutes                                                                                    | <b>Pour la rate:</b> TA pendant 3 minutes                                                                                                                                           |
| 11    | Pipeter*** soigneusement (ne pas verser) la suspension cellulaire enrichie dans un nouveau tube à essai.<br>REMARQUE: Ne prélever que la fraction claire.                                                                                                                                                                        | <b>Pour la rate:</b> Les cellules isolées sont prêtes à l'emploi                                                             | <b>Pour la rate:</b> Les cellules isolées sont prêtes à l'emploi                                                                                                                    |

TA - température ambiante (entre 15 et 25 °C)

\*\*\* Prélever le surnageant complet, en une seule fois, dans une seule et même pipette (p. Ex., pour un tube à essai de 5 mL EasyEights™, utiliser une pipette sérologique de 2 mL [n° de catalogue 38002]; pour un tube à essai de 14 mL EasyEights™, utiliser une pipette sérologique de 10 mL [n° de catalogue 38004]).

## Mode d'Emploi – Protocole Entièrement Automatisé RoboSep™

Voir les pages 1 et 2 pour consulter la préparation de l'échantillon et le milieu recommandé. Se reporter au tableau 5 pour obtenir des instructions détaillées concernant la procédure RoboSep™.

REMARQUE: Si vous utilisez RoboSep™ -S, assurez-vous que le logiciel est au moins v.1.2.0.2 et que le carrousel RoboSep™ Direct est installé. Contactez-nous à techsupport@stemcell.com pour plus d'informations.

**Tableau 5. Protocole du RoboSep™ Direct HLA B Cell Isolation Kit pour SANG TOTAL, COUCHE LEUCOCYTO-PLAQUETTAIRE, RATE, ou GANGLION LYMPHATIQUE**

| ÉTAPE | INSTRUCTIONS                                                                                          | RoboSep™<br>(n°s de catalogue 21000)                                                                                                                                                                                                                                                      |  |
|-------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------|
| 1     | Préparer l'échantillon à la concentration cellulaire indiquée dans la fourchette de volume prescrite. | <b>Pour la rate ou le ganglion lymphatique:</b> De 1 à 6 mL à 1 à 100 x 10 <sup>6</sup> cellules/mL<br><b>Pour le sang:</b> De 1 à 6 mL<br><b>Pour la couche leucocyto-plaquettaire:</b> De 2 à 6 mL                                                                                      |                                                                                     |
|       | Ajouter l'échantillon au tube à essai prescrit.                                                       | Tube à essai à fond rond en polystyrène de 14 mL (17 x 95 mm) (p. ex., n° de catalogue 38008)                                                                                                                                                                                             |                                                                                     |
| 2     | Sélectionner le protocole.                                                                            | <ul style="list-style-type: none"> <li>EasySep Direct HLA T Cell Isolation 89684 - WB, Spleen, LN</li> <li>EasySep Direct HLA T Cell Isolation 89684 - WB, Spleen, LN - High RBC Depletion<sup>†</sup></li> <li>EasySep Direct HLA B Cell Isolation 89684 - For BC<sup>§</sup></li> </ul> |                                                                                     |
| 3     | Vortex RapidSpheres™.<br>REMARQUE: Les particules doivent paraître uniformément dispersées.           | 30 secondes                                                                                                                                                                                                                                                                               |                                                                                     |
| 4     | Charger la corbeille.                                                                                 | Suivre les messages de guidage à l'écran<br>REMARQUE: Ce protocole nécessite le chargement de deux flacons EasySep™ Direct RapidSpheres™ 50302 sur le carrousel pour une seule course; un dans la fente ▲ (triangle) et un dans la fente ● (cercle).                                      |                                                                                     |
|       | Lancer le protocole.                                                                                  | Appuyer sur le bouton vert "Run"                                                                                                                                                                                                                                                          |                                                                                     |
| 5     | Décharger la corbeille lorsque le passage est terminé.                                                | Les cellules isolées sont prêtes à l'emploi                                                                                                                                                                                                                                               |                                                                                     |

<sup>†</sup> Ce protocole permet une déplétion élevée des globules rouges, avec une légère réduction de la récupération

<sup>§</sup> Ce protocole utilise deux fois plus de réactifs EasySep™

## Notes et Conseils

### ÉLIMINATION DES GLOBULES ROUGES RESTANTS DANS LES CELLULES ISOLÉES

En général, aucune déplétion des globules rouges supplémentaire n'est requise à la suite de l'isolement des cellules. Si des globules rouges résiduels sont visibles dans le fragment de cellules isolées à la suite de la centrifugation à la fin du protocole, remettre la solution en suspension dans un petit volume (de 0,2 à 2,5 mL) du milieu recommandé ou du milieu de culture souhaité, et placer dans un aimant EasySep™ de taille inférieure en vue d'une séparation supplémentaire de 5 minutes. Prélever le surnageant; les cellules isolées sont désormais prêtes à l'emploi dans les applications en aval. Il est également possible de lyser les globules rouges résiduels au moyen d'une solution de chlorure d'ammonium (no de catalogue 07800).  
eant; les cellules isolées sont désormais prêtes à l'emploi dans les applications en aval. Il est également possible de lyser les globules rouges résiduels au moyen d'une solution de chlorure d'ammonium (no de catalogue 07800).

### ÉVALUATION DE LA PURETÉ

Pour évaluer la pureté des cellules B par cytométrie en flux, utiliser les clones d'anticorps conjugués à des fluorochromes suivants :

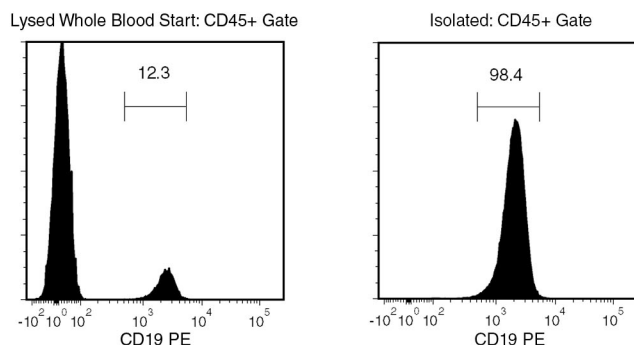
- Anti-Human CD19 Antibody, Clone HIB19 (no de catalogue 60005), et
- Anti-Human CD45 Antibody, Clone HI30 (no de catalogue 60018)

REMARQUE: Il est recommandé d'évaluer la pureté sur les cellules CD45+ afin d'exclure les débris, les plaquettes et les globules rouges. Si nécessaire, incluez un colorant de viabilité (p. ex., Propidium Iodide [no de catalogue 75002]; 7-AAD [7- Aminoactinomycin D; [no de catalogue 75001]).

REMARQUE: L'utilisateur est responsable de la validation des performances des cellules isolées dans les tests en aval.

## Données

À partir de sang total humain provenant de donneurs normaux en bonne santé, la teneur typique en cellules B (CD19+) de la fraction isolée finale non lysée est de 89 - 99,8% (médiée en CD45).



Dans l'exemple ci-dessus, la teneur en lymphocytes B (CD19+) de l'échantillon de départ de sang total lysé et de la fraction isolée finale non lysée est correspond respectivement à 12,3% et de 98,4% (médié en CD45).

LES PRODUITS SONT À USAGE DE RECHERCHE UNIQUEMENT ET NON DESTINÉS À DES USAGES DIAGNOSTIQUES OU THÉRAPEUTIQUES HUMAINS OU ANIMAUX, SAUF INDICATION CONTRAIRE. POUR PLUS D'INFORMATIONS SUR LA QUALITÉ CHEZ STEMCELL, CONSULTEZ [WWW.STEMCELL.COM/COMPLIANCE](http://WWW.STEMCELL.COM/COMPLIANCE).

Copyright © 2025 de STEMCELL Technologies Inc. Tous droits réservés, y compris les graphiques et les images. STEMCELL Technologies & Design, STEMCELL Shield Design, Scientists Helping Scientists, EasyEightys, EasySep, RapidSpheres, et RoboSep sont des marques de commerce de STEMCELL Technologies Canada Inc. Toutes les autres marques de commerce appartiennent à leurs propriétaires respectifs. STEMCELL a déployé tous les efforts raisonnables pour s'assurer que les renseignements fournis par STEMCELL et ses fournisseurs sont corrects; toutefois, la société ne donne aucune garantie ni ne fait aucune déclaration concernant l'exactitude ou l'exhaustivité desdits renseignements.

# EasySep™ Direct HLA B Cell Isolation Kit

Para procesar 100 mL de sangre total

No. catálogo 89684

89684RF RoboSep™

Selección negativa

Documento no. 10000007415 | Versión 06



Scientists Helping Scientists™ | [WWW.STEMCELL.COM](http://WWW.STEMCELL.COM)

TOLL FREE PHONE 1 800 667 0322 • PHONE +1 604 877 0713

INFO@STEMCELL.COM • [TECHSUPPORT@STEMCELL.COM](mailto:TECHSUPPORT@STEMCELL.COM)

FOR GLOBAL CONTACT DETAILS VISIT OUR WEBSITE

## ESPAÑOL

### Descripción del Producto

Aísle linfocitos B altamente purificados, directamente de sangre periférica humana, buffy coat, bazo o ganglios linfáticos mediante selección inmunomagnética negativa.

Los beneficios de este kit incluyen:

- Reducción del 99,9% de los glóbulos rojos sin necesidad de realizar gradiente de densidad, sedimentación o lisis
- Hasta 99,8% de pureza de las células aisladas
- Rápido, fácil de usar y sin columnas
- Las células aisladas están intactas

Este kit reconoce todas aquellas células que no son linfocitos B y son marcadas con anticuerpos que reconocen marcadores específicos de la superficie celular, para su posterior eliminación. Las células no deseadas son marcadas con anticuerpos y EasySep™ Direct RapidSpheres™, y posteriormente son separadas con un imán EasySep™. Las células deseadas simplemente se recogen en un nuevo tubo y están disponibles de inmediato para aplicaciones posteriores, un ejemplo de ello sería la prueba cruzada por citometría de flujo.

### Control de Calidad

Los productos EasySep™ Direct se fabrican empleando una técnica aseptica y procesos estrictamente controlados. La esterilidad de cada lote de coctel y partículas de EasySep™ Direct se prueba segun metodos USP y su rendimiento mediante ensayos de separacion de celulas.

### Descripción de Componentes

| NOMBRE DEL COMPONENTE                         | COMPONENTE N° | CANTIDAD   | ALMACENAMIENTO                      | VIDA ÚTIL                                                   | FORMATO                                                                    |
|-----------------------------------------------|---------------|------------|-------------------------------------|-------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------|
| EasySep™ Direct HLA B Cell Isolation Cocktail | 89684C        | 2 x 2,5 mL | Almacenese de 2 a 8°C. No congelar. | Estable hasta la fecha de vencimiento (EXP) de la etiqueta. | Una combinación de anticuerpos monoclonales en PBS.                        |
| EasySep™ Direct RapidSpheres™ 50302           | 50302         | 4 x 2,5 mL | Almacenese de 2 a 8°C. No congelar. | Estable hasta la fecha de vencimiento (EXP) de la etiqueta. | Una suspensión de partículas magnéticas y anticuerpos monoclonales en PBS. |

PBS - tampón fosfato salino

Los componentes pueden transportarse a temperatura ambiente (de 15°C a 25°C), pero deben almacenarse según se indica anteriormente.

Precipitados pueden formarse en el vial del cóctel, pero esto no afectará el rendimiento del producto.

### Preparación de la Muestra

#### SANGRE PERIFÉRICA

Para un agotamiento optimo de globulos rojos, recolecte la sangre con heparina o ACD (acido-citrato-dextrosa) como anticogulante.

Para lograr la mejor recuperacion, utilice sangre humana total no procesada. La recuperacion de las celulas enriquecidas deseadas disminuye en muestras que tienen mas de 24 horas.

El volumen de muestra que puede procesarse depende del iman EasySep™ que se use para el procedimiento de enriquecimiento. Las muestras se deben colocar en el tubo adecuado para que quepa dentro del iman EasySep™ correspondiente (veanse las tablas 1 y 2).

**CAPA LEUCOCÍTICA (BUFFY COAT)**

1. Anada un volumen igual de un medio recomendado a la sangre total.
2. Centrifugue a 800 x g durante 10 minutos a temperatura ambiente (15 - 25°C), con el freno desconectado.
3. Retire la banda leucocítica (es decir, la capa leucocítica o *buffy coat*), y además una pequeña cantidad de plasma y de glóbulos rojos concentrados. El objetivo es concentrar los leucocitos aproximadamente 5 veces mientras se mantiene el mismo hematocrito.
4. Transfiera de capa leucocítica al tubo adecuado (veanse las tablas 1 y 2).

**BAZO o GANGLIO LINFÁTICO**

Homogeneice el bazo o el ganglio linfático en un PBS o solución salina equilibrada de Hanks (Hanks' Balanced Salt Solution, HBSS) que contenga suero bovino fetal (FBS) al 2%. Elimine los agregados o desechos pasando la suspensión de células por un filtro de malla de nailon húmedo de 100 µm. Aclare el filtro con PBS o HBSS que contenga FBS al 2%. Centrifugue a 300 x g durante 10 minutos y resuspenda a  $1 - 100 \times 10^6$  células/mL en el medio recomendado.

**Medio Recomendado**

D-PBS (sin Ca++ y Mg++; no. catálogo 37350).

## Instrucciones de Uso – Protocolos Manuales EasySep™

Para información sobre la preparación de la muestra y el medio recomendado, consulte las páginas 1 y 2. Consulte las tablas 1 a 4 para instrucciones detalladas sobre el procedimiento EasySep™ para cada imán.

**Tabla 1. Protocolo de EasySep™ Direct HLA B Cell Isolation Kit para SANGRE TOTAL o BUFFY COAT**

|      |                                                                                                                                                     | IMANES EASYSEP™                                                                                                              |                                                                                                                                                                 |
|------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| PASO | INSTRUCCIONES                                                                                                                                       |  <b>EasySep™</b><br>(no. de catálogo 18000) | <b>“The Big Easy”</b><br>(no. catálogo 18001)                                |
| 1    | Recolecte la muestra dentro del rango de volumen.                                                                                                   | 0,5 - 1,5 mL                                                                                                                 | 1 - 7 mL                                                                                                                                                        |
|      | Añada la muestra al tubo adecuado                                                                                                                   | Tubo de 5 mL (12 x 75 mm), de poliestireno con fondo circular (p. ej., no. catálogo 38007)                                   | Tubo de 14 mL (17 x 95 mm), de poliestireno con fondo circular (p. ej., no. catálogo 38008)                                                                     |
| 2    | Vortex RapidSpheres™.<br>NOTA: Las partículas deben aparecer uniformemente dispersas.                                                               | 30 segundos                                                                                                                  | 30 segundos                                                                                                                                                     |
| 3    | Añada el cóctel de separación a la muestra.<br>NOTA: No mezclar el cóctel con vortex.                                                               | 50 µL/mL de muestra                                                                                                          | 50 µL/mL de muestra                                                                                                                                             |
| 4    | Añada RapidSpheres™ a la muestra.                                                                                                                   | 50 µL/mL de muestra                                                                                                          | 50 µL/mL de muestra                                                                                                                                             |
|      | Mezcle e incube.                                                                                                                                    | TA por 5 minutos                                                                                                             | TA por 5 minutos                                                                                                                                                |
| 5    | Añada el medio recomendado para rellenar la muestra hasta el volumen indicado. Mezcle suavemente pipeteando hacia arriba y hacia abajo 2 o 3 veces. | Rellene hasta 2,5 mL                                                                                                         | <ul style="list-style-type: none"> <li>• Rellene hasta duplicar el volumen en muestras ≤ 5 mL</li> <li>• Rellene hasta 10 mL para muestras &gt; 5 mL</li> </ul> |
|      | Coloque el tubo (sin tapa) dentro del imán e incube.                                                                                                | TA por 5 minutos                                                                                                             | TA por 5 minutos                                                                                                                                                |
| 6    | Coja el imán y con un movimiento continuo, voltee el tubo y el imán vertiendo la suspensión* de células enriquecidas dentro de un nuevo tubo.       | Use un nuevo tubo de 5 mL                                                                                                    | Use un nuevo tubo de 14 mL                                                                                                                                      |
| 7    | Añada RapidSpheres™ al nuevo tubo que contiene las células enriquecidas.                                                                            | Utilice el mismo volumen del paso 4                                                                                          | Utilice el mismo volumen del paso 4                                                                                                                             |
|      | Mezcle e incube.                                                                                                                                    | TA por 5 minutos                                                                                                             | TA por 5 minutos                                                                                                                                                |
| 8    | Retire el tubo del imán y ponga el tubo del paso 7 (sin tapa) dentro del imán e incube para una segunda separación.                                 | TA por 5 minutos                                                                                                             | TA por 5 minutos                                                                                                                                                |
| 9    | Coja el imán y con movimiento continuo, voltee el tubo y el imán** vertiendo la suspensión de células enriquecidas dentro de un nuevo tubo.         | Las células separadas están listas para usarse                                                                               | Use un nuevo tubo de 14 mL                                                                                                                                      |
| 10   | Retire el tubo del imán y ponga el nuevo tubo del paso 9 (sin tapa) dentro del imán e incube para una tercera separación.                           | ---                                                                                                                          | TA por 5 minutos                                                                                                                                                |
| 11   | Coja el imán y con movimiento continuo, voltee el tubo y el imán** vertiendo la suspensión de células enriquecidas dentro de un nuevo tubo.         | ---                                                                                                                          | Las células separadas están listas para usarse                                                                                                                  |

TA - temperatura ambiente (15 - 25 °C)

\* Después de la primera separación magnética, las células pueden contener una cantidad considerable de glóbulos rojos y pueden tener una apariencia similar a la muestra original no procesada de glóbulos rojos humanos.

\*\* A fin de minimizar la contaminación por glóbulos rojos en las células separadas, vierta la muestra por el lado limpio del tubo (es decir, el lado opuesto por donde se vertió la muestra).

Tabla 2. Protocolo de EasySep™ Direct HLA B Cell Isolation Kit para SANGRE TOTAL o BUFFY COAT

| PASO | INSTRUCCIONES                                                                                                                                                                                                                                                                                                                 | IMANES EASYSEP™                                                                                |                                                                                                                                                                 |                                                                                                                                                                   |
|------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
|      |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                               | EasyEights™ (no. catálogo 18103)                                                               |                                                                                                                                                                 | Easy 50 (no. catálogo 18002)                                                                                                                                      |
|      |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                               |  Tubo de 5 mL |  Tubo de 14 mL                                                               |                                                                                |
| 1    | Recolecte la muestra dentro del rango de volumen                                                                                                                                                                                                                                                                              | 0,5 - 1,5 mL                                                                                   | 1 - 7 mL                                                                                                                                                        | 7 - 30 mL                                                                                                                                                         |
|      | Añada la muestra al tubo adecuado.                                                                                                                                                                                                                                                                                            | Tubo de 5 mL (12 x 75 mm), de poliestireno con fondo circular (p. ej., no. catálogo 38007)     | Tubo de 14 mL (17 x 95 mm), de poliestireno con fondo circular (p. ej., no. catálogo 38008)                                                                     | Tubo cónico de 50 mL (p. ej., no. catálogo 38010)                                                                                                                 |
| 2    | Vortex RapidSpheres™.<br>NOTA: Las partículas deben aparecer uniformemente dispersas.                                                                                                                                                                                                                                         | 30 segundos                                                                                    | 30 segundos                                                                                                                                                     | 30 segundos                                                                                                                                                       |
| 3    | Añada el cóctel de separación a la muestra.<br>NOTA: No mezclar el cóctel con vortex.                                                                                                                                                                                                                                         | 50 µL/mL de muestra                                                                            | 50 µL/mL de muestra                                                                                                                                             | 50 µL/mL de muestra                                                                                                                                               |
| 4    | Añada RapidSpheres™ a la muestra.                                                                                                                                                                                                                                                                                             | 50 µL/mL de muestra                                                                            | 50 µL/mL de muestra                                                                                                                                             | 50 µL/mL de muestra                                                                                                                                               |
|      | Mezcle e incube.                                                                                                                                                                                                                                                                                                              | TA por 5 minutos                                                                               | TA por 5 minutos                                                                                                                                                | TA por 5 minutos                                                                                                                                                  |
| 5    | Añada el medio recomendado para rellenar la muestra hasta el volumen indicado. Mezcle suavemente pipeteando hacia arriba y hacia abajo 2 o 3 veces.                                                                                                                                                                           | Rellene hasta 2,5 mL                                                                           | <ul style="list-style-type: none"> <li>• Rellene hasta duplicar el volumen en muestras ≤ 5 mL</li> <li>• Rellene hasta 10 mL para muestras &gt; 5 mL</li> </ul> | <ul style="list-style-type: none"> <li>• Rellene hasta duplicar el volumen en muestras ≤ 25 mL</li> <li>• Rellene hasta 50 mL para muestras &gt; 25 mL</li> </ul> |
|      | Coloque el tubo (sin tapa) dentro del imán e incube.                                                                                                                                                                                                                                                                          | TA por 5 minutos                                                                               | TA por 5 minutos                                                                                                                                                | TA por 10 minutos                                                                                                                                                 |
| 6    | Con cuidado, pipetee*** (no vierta) la suspensión de células enriquecidas dentro de un nuevo tubo. NOTA: Recolecte toda la fracción transparente desde arriba hacia abajo. Para una lograr una recuperación óptima, también recolecte un volumen pequeño de glóbulos rojos (hasta un 10 % del volumen de la muestra inicial). | Use un nuevo tubo de 5 mL.                                                                     | Use un nuevo tubo de 14 mL.                                                                                                                                     | Use un nuevo tubo de 50 mL.                                                                                                                                       |
| 7    | Añada RapidSpheres™ al nuevo tubo que contiene las células enriquecidas.                                                                                                                                                                                                                                                      | Utilice el mismo volumen del paso 4                                                            | Utilice el mismo volumen del paso 4                                                                                                                             | Utilice el mismo volumen del paso 4                                                                                                                               |
|      | Mezcle e incube.                                                                                                                                                                                                                                                                                                              | TA por 5 minutos                                                                               | TA por 5 minutos                                                                                                                                                | TA por 5 minutos                                                                                                                                                  |
| 8    | Retire el tubo del imán y ponga el tubo del paso 7 (sin tapa) dentro del imán e incube para una segunda separación.                                                                                                                                                                                                           | TA por 5 minutos                                                                               | TA por 5 minutos                                                                                                                                                | TA por 5 minutos                                                                                                                                                  |
| 9    | Con cuidado, pipetee*** (no vierta) la suspensión de células enriquecidas dentro de un nuevo tubo. NOTA: Recolecte solo la fracción transparente.                                                                                                                                                                             | Use un nuevo tubo de 5 mL                                                                      | Use un nuevo tubo de 14 mL                                                                                                                                      | Use un nuevo tubo de 50 mL                                                                                                                                        |
| 10   | Retire el tubo del imán y ponga el nuevo tubo del paso 9 (sin tapa) que contiene las células enriquecidas dentro del imán e incube para una tercera separación.                                                                                                                                                               | TA por 5 minutos                                                                               | TA por 5 minutos                                                                                                                                                | TA por 5 minutos                                                                                                                                                  |
| 11   | Con cuidado, pipetee*** (no vierta) la suspensión de células enriquecidas dentro de un nuevo tubo. NOTA: Recolecte solo la fracción transparente.                                                                                                                                                                             | Las células separadas están listas para usarse                                                 | Las células separadas están listas para usarse                                                                                                                  | Las células separadas están listas para usarse                                                                                                                    |

TA - temperatura ambiente (15 - 25 °C)

\*\*\* Recolecte todo el sobrenadante de una vez, en una sola pipeta (p. ej., para un tubo EasyEights™ de 5 mL, use una pipeta serológica de 2 mL [no. catálogo 38002]; para un tubo EasyEights™ de 14 mL, use una pipeta serológica de 10 mL [no. catálogo 38004]).

Tabla 3. Protocolo de EasySep™ Direct HLA B Cell Isolation Kit para BAZO o GANGLIO LINFÁTICO

|      |                                                                                                                                               | IMANES EASYSEP™                                                                                                              |                                                                                                                                                                 |
|------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| PASO | INSTRUCCIONES                                                                                                                                 |  <b>EasySep™</b><br>(no. de catálogo 18000) | <b>"The Big Easy"</b><br>(no. catálogo 18001)                                |
| 1    | Recolecte la muestra dentro del rango de volumen.                                                                                             | 0,5 - 1,5 mL                                                                                                                 | 1 - 7 mL                                                                                                                                                        |
|      | Añada la muestra al tubo adecuado                                                                                                             | Tubo de 5 mL (12 x 75 mm), de poliestireno con fondo circular (p. ej., no. catálogo 38007)                                   | Tubo de 14 mL (17 x 95 mm), de poliestireno con fondo circular (p. ej., no. catálogo 38008)                                                                     |
| 2    | Añada el cóctel de separación a la muestra.<br>NOTA: No mezclar el cóctel con vortex.                                                         | 50 µL/mL de muestra                                                                                                          | 50 µL/mL de muestra                                                                                                                                             |
|      | Mezcle e incube.                                                                                                                              | TA por 5 minutos                                                                                                             | TA por 5 minutos                                                                                                                                                |
| 3    | Vortex RapidSpheres™.<br>NOTA: Las partículas deben aparecer uniformemente dispersas.                                                         | 30 segundos                                                                                                                  | 30 segundos                                                                                                                                                     |
| 4    | Añada RapidSpheres™ a la muestra. Mezcle suavemente pipeteando hacia arriba y hacia abajo 2 o 3 veces.                                        | 50 µL/mL de muestra                                                                                                          | 50 µL/mL de muestra                                                                                                                                             |
| 5    | Añada el medio recomendado para rellenar la muestra hasta el volumen indicado.                                                                | Rellene hasta 2,5 mL                                                                                                         | <ul style="list-style-type: none"> <li>• Rellene hasta duplicar el volumen en muestras ≤ 5 mL</li> <li>• Rellene hasta 10 mL para muestras &gt; 5 mL</li> </ul> |
|      | Coloque el tubo (sin tapa) dentro del imán e incube.                                                                                          | TA por 3 minutos                                                                                                             | TA por 3 minutos                                                                                                                                                |
| 6    | Coja el imán y con un movimiento continuo, voltee el tubo y el imán vertiendo la suspensión* de células enriquecidas dentro de un nuevo tubo. | Use un nuevo tubo de 5 mL                                                                                                    | Use un nuevo tubo de 14 mL                                                                                                                                      |
| 7    | Añada RapidSpheres™ al nuevo tubo que contiene las células enriquecidas. Mezcle suavemente pipeteando hacia arriba y hacia abajo 2 o 3 veces. | Utilice el mismo volumen del paso 4                                                                                          | Utilice el mismo volumen del paso 4                                                                                                                             |
| 8    | Retire el tubo del imán y ponga el tubo del paso 7 (sin tapa) dentro del imán e incube para una segunda separación.                           | TA por 3 minutos                                                                                                             | TA por 3 minutos                                                                                                                                                |
| 9    | Coja el imán y con movimiento continuo, voltee el tubo y el imán** vertiendo la suspensión de células enriquecidas dentro de un nuevo tubo.   | Las células separadas están listas para usarse                                                                               | Las células separadas están listas para usarse                                                                                                                  |

TA - temperatura ambiente (15 - 25 °C)

\* Después de la primera separación magnética, las células pueden contener una cantidad considerable de glóbulos rojos y pueden tener una apariencia similar a la muestra original no procesada de glóbulos rojos humanos.

\*\* A fin de minimizar la contaminación por glóbulos rojos en las células separadas, vierta la muestra por el lado limpio del tubo (es decir, el lado opuesto por donde se vertió la muestra).

Tabla 4. Protocolo de EasySep™ Direct HLA B Cell Isolation Kit para BAZO o GANGLIO LINFÁTICO

|      |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                  | AIMANTS EASYSEP™                                                                                           |                                                                                                                                                                 |
|------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| PASO | INSTRUCCIONES                                                                                                                                                                                                                                                                                                                    | EasyEights™ (no. catálogo 18103)                                                                           |                                                                                                                                                                 |
|      |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                  |  Tubo de 5 mL             |  Tubo de 14 mL                                                               |
| 1    | Recolecte la muestra dentro del rango de volumen                                                                                                                                                                                                                                                                                 | 0,5 - 1,5 mL                                                                                               | 1 - 7 mL                                                                                                                                                        |
|      | Añada la muestra al tubo adecuado.                                                                                                                                                                                                                                                                                               | Tubo de 5 mL (12 x 75 mm), de poliestireno con fondo circular (p. ej., no. catálogo 38007)                 | Tubo de 14 mL (17 x 95 mm), de poliestireno con fondo circular (p. ej., no. catálogo 38008)                                                                     |
| 2    | Añada el cóctel de separación a la muestra.<br>NOTA: No mezclar el cóctel con vortex.                                                                                                                                                                                                                                            | 50 µL/mL de muestra                                                                                        | 50 µL/mL de muestra                                                                                                                                             |
|      | Mezcle e incube.                                                                                                                                                                                                                                                                                                                 | TA por 5 minutos                                                                                           | TA por 5 minutos                                                                                                                                                |
| 3    | Vortex RapidSpheres™.<br>NOTA: Las partículas deben aparecer uniformemente dispersas.                                                                                                                                                                                                                                            | 30 segundos                                                                                                | 30 segundos                                                                                                                                                     |
| 4    | Añada RapidSpheres™ a la muestra. Mezcle suavemente pipeteando hacia arriba y hacia abajo 2 o 3 veces.                                                                                                                                                                                                                           | 50 µL/mL de muestra                                                                                        | 50 µL/mL de muestra                                                                                                                                             |
| 5    | Añada el medio recomendado para rellenar la muestra hasta el volumen indicado. Mezcle suavemente pipeteando hacia arriba y hacia abajo 2 o 3 veces.                                                                                                                                                                              | Rellene hasta 2,5 mL                                                                                       | <ul style="list-style-type: none"> <li>• Rellene hasta duplicar el volumen en muestras ≤ 5 mL</li> <li>• Rellene hasta 10 mL para muestras &gt; 5 mL</li> </ul> |
|      | Coloque el tubo (sin tapa) dentro del imán e incube.                                                                                                                                                                                                                                                                             | TA por 5 minutos                                                                                           | TA por 5 minutos                                                                                                                                                |
| 6    | Con cuidado, pipetee*** (no vierta) la suspensión de células enriquecidas dentro de un nuevo tubo.<br>NOTA: Recolecte toda la fracción transparente desde arriba hacia abajo. Para una lograr una recuperación óptima, también recolecte un volumen pequeño de glóbulos rojos (hasta un 10 % del volumen de la muestra inicial). | Use un nuevo tubo de 5 mL                                                                                  | Use un nuevo tubo de 14 mL                                                                                                                                      |
| 7    | Añada RapidSpheres™ al nuevo tubo que contiene las células enriquecidas.                                                                                                                                                                                                                                                         | Utilice el mismo volumen del paso 4                                                                        | Utilice el mismo volumen del paso 4                                                                                                                             |
| 8    | Retire el tubo del imán y ponga el tubo del paso 7 (sin tapa) dentro del imán e incube para una segunda separación.                                                                                                                                                                                                              | TA por 3 minutos                                                                                           | TA por 3 minutos                                                                                                                                                |
| 9    | Con cuidado, pipetee*** (no vierta) la suspensión de células enriquecidas dentro de un nuevo tubo.<br>NOTA: Recolecte solo la fracción transparente.                                                                                                                                                                             | Use un nuevo tubo de 5 mL<br><b>Para ganglio linfático:</b> Las células separadas están listas para usarse | Use un nuevo tubo de 14 mL<br><b>Para ganglio linfático:</b> Las células separadas están listas para usarse                                                     |
| 10   | Retire el tubo del imán y ponga el nuevo tubo del paso 9 (sin tapa) que contiene las células enriquecidas dentro del imán e incube para una tercera separación.                                                                                                                                                                  | <b>Para bazo:</b> TA por 3 minutos                                                                         | <b>Para bazo:</b> TA por 3 minutos                                                                                                                              |
| 11   | Con cuidado, pipetee*** (no vierta) la suspensión de células enriquecidas dentro de un nuevo tubo.<br>NOTA: Recolecte solo la fracción transparente.                                                                                                                                                                             | <b>Para bazo:</b> Las células separadas están listas para usarse                                           | <b>Para bazo:</b> Las células separadas están listas para usarse                                                                                                |

TA - température ambiante (entre 15 et 25 °C)

\*\*\* Prélever le surnageant complet, en une seule fois, dans une seule et même pipette (p. Ex., pour un tube à essai de 5 mL EasyEights™, utiliser une pipette sérologique de 2 mL [n° de catalogue 38002]; pour un tube à essai de 14 mL EasyEights™, utiliser une pipette sérologique de 10 mL [n° de catalogue 38004]).

## Instrucciones de Uso – Protocolo Completamente Automatizado RoboSep™

Para información sobre la preparación de la muestra y el medio recomendado, consulte las páginas 1 y 2. Consulte la tabla 5 para instrucciones detalladas sobre el procedimiento RoboSep™.

NOTA: Si usa RoboSep™-S, asegúrese de que el software sea como mínimo la versión 1.2.0.2 y que el instrumento tenga instalado el carrusel que es compatible con RoboSep™ Direct. Contáctenos al correo techsupport@stemcell.com para más información.

**Tabla 5. Protocolo de RoboSep™ Direct HLA B Cell Isolation Kit para SANGRE TOTAL, BUFFY COAT, BAZO, o GANGLIO LINFÁTICO**

| PASO | INSTRUCCIONES                                                                            | RoboSep™<br>(no. catálogo 21000)                                                                                                                                                                                                                                                              |  |
|------|------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------|
| 1    | Prepare la muestra con la concentración de células indicada dentro del rango de volumen. | <b>Para bazo o ganglio linfático:</b> 1 - 6 mL a 1 - 100 x 10 <sup>6</sup> células/mL<br><b>Para sangre:</b> 1 - 6 mL<br><b>Para buffy coat:</b> 2 - 6 mL                                                                                                                                     |                                                                                     |
|      | Añada la muestra al tubo adecuado.                                                       | Tubo de 14 mL (17 x 95 mm), de poliestireno con fondo circular (p. ej., no. catálogo 38008)                                                                                                                                                                                                   |                                                                                     |
| 2    | Seleccione el protocolo.                                                                 | <ul style="list-style-type: none"> <li>EasySep Direct HLA T Cell Isolation 89684 - WB, Spleen, LN</li> <li>EasySep Direct HLA T Cell Isolation 89684 - For WB, Spleen, LN - High RBC Depletion<sup>†</sup></li> <li>EasySep Direct HLA T Cell Isolation 89684 - For BC<sup>§</sup></li> </ul> |                                                                                     |
| 3    | Vortex RapidSpheres™.<br>NOTA: Las partículas deben aparecer uniformemente dispersas.    | 30 segundos                                                                                                                                                                                                                                                                                   |                                                                                     |
| 4    | Cargue el carrusel.                                                                      | Siga las indicaciones en pantalla<br>NOTA: Este protocolo requiere cargar dos viales de EasySep™ Direct RapidSpheres™ 50302 en el carrusel para una sola ejecución; uno en la ranura ▲ (triángulo) y uno en la ranura ● (círculo).                                                            |                                                                                     |
|      | Inicie el protocolo.                                                                     | Pulse el botón verde "Run"                                                                                                                                                                                                                                                                    |                                                                                     |
| 5    | Descargue el carrusel cuando termine el ciclo.                                           | Las células separadas están listas para usarse                                                                                                                                                                                                                                                |                                                                                     |

<sup>†</sup> Este protocolo proporciona un alto agotamiento de glóbulos rojos, con una ligera reducción en la recuperación

<sup>§</sup> Este protocolo utiliza el doble de reactivos EasySep™

## Notas y Consejos

### ELIMINACIÓN DE GLÓBULOS ROJOS RESIDUALES EN LAS CÉLULAS SEPARADAS

Generalmente, después de la separación de células, no se requiere más agotamiento de glóbulos rojos. Si después de la centrifugación del final del protocolo se observan glóbulos rojos residuales en el pellet de células separadas, resuspenda un pequeño volumen (0,2 - 2,5 mL) del medio recomendado o del medio de cultivo deseado y póngalo en un imán EasySep™ más pequeño para una separación adicional de 5 minutos. Recolecte el sobrenadante y las células separadas estarán listas para usarse en aplicaciones subsiguientes. Los glóbulos rojos residuales pueden ser lisados con una solución de cloruro de amonio (no. catálogo 07800).

guientes. Los glóbulos rojos residuales pueden ser lisados con una solución de cloruro de amonio (no. catálogo 07800).

### CÓMO EVALUAR LA PUREZA

Para la evaluación de la pureza de las células B por citometría de flujo, utilice los siguientes clones de anticuerpo conjugados con fluorocromo:

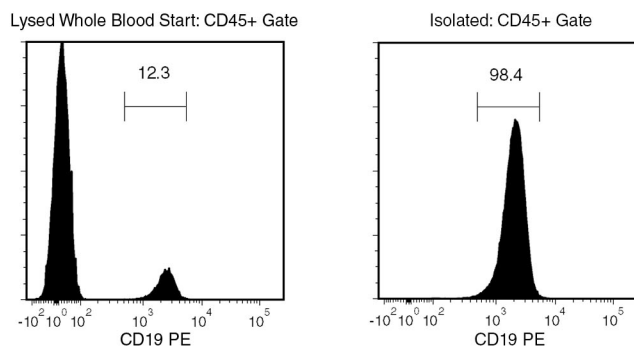
- Anti-Human CD19 Antibody, Clone HIB19 (no. catálogo #60005), y
- Anti-Human CD45 Antibody, Clone HI30 (no. catálogo #60018)

NOTA: Se recomienda evaluar la pureza de las células CD45+ para excluir desechos, plaquetas y glóbulos rojos. Si es necesario, incluya un indicador de viabilidad (por ejemplo, Propidium Iodide [no. catálogo #75002]; 7-AAD [7- Aminoactinomycin D; no. catálogo #75001]).

NOTA: El usuario es responsable de validar el rendimiento de las células aisladas en los ensayos posteriores.

## Datos

Comenzando con sangre total humana de donantes saludables normales, el contenido de célula B (CD19+) típica de la fracción final separada no lisada es 89 - 99.8% (separada CD45).



En el ejemplo anterior, el contenido de célula B (CD19+) de la muestra inicial lisada de sangre total y de la fracción final separada no lisada es de 12,3% y 98,4% (separada en CD45), respectivamente.

LOS PRODUCTOS SON SOLO PARA USO EN INVESTIGACIONES Y NO ESTÁN PREVISTOS PARA DIAGNÓSTICO HUMANO NI ANIMAL, NI USOS TERAPÉUTICOS, SALVO QUE SE INDIQUE LO CONTRARIO. PARA OBTENER INFORMACIÓN ADICIONAL SOBRE LA CALIDAD EN STEMCELL, REMÍTASE A [WWW.STEMCELL.COM/COMPLIANCE](http://WWW.STEMCELL.COM/COMPLIANCE).

Copyright © 2025 de STEMCELL Technologies Inc. Todos los derechos reservados incluyendo los gráficos e imágenes. STEMCELL Technologies & Design, STEMCELL Shield Design, Scientists Helping Scientists, EasyEights, EasySep, RapidSpheres, y RoboSep son marcas comerciales de STEMCELL Technologies Canada Inc. Todas las demás marcas comerciales son propiedad de sus respectivos titulares. Si bien STEMCELL ha hecho todos los esfuerzos razonables para garantizar que la información proporcionada por STEMCELL y sus proveedores sea correcta, no garantiza ni se manifiesta en relación con la exactitud o integridad de tal información.

# EasySep™ Direct HLA B Cell Isolation Kit

Per il trattamento di 100 mL di sangue intero

Nr. di catalogo 89684

89684RF RoboSep™

Selezione negativa

Nr. documento 10000007415 | Versione 06



Scientists Helping Scientists™ | [WWW.STEMCELL.COM](http://WWW.STEMCELL.COM)

TOLL FREE PHONE 1 800 667 0322 • PHONE +1 604 877 0713

INFO@STEMCELL.COM • TECHSUPPORT@STEMCELL.COM

FOR GLOBAL CONTACT DETAILS VISIT OUR WEBSITE

## ITALIANO

### Descrizione del Prodotto

Isolare cellule B altamente purificate direttamente da sangue intero umano, buffy coat, milza o linfonodi per selezione immunomagnetica negativa.

I vantaggi di questo kit includono:

- Deplezione dei globuli rossi del 99,9% senza la necessità di centrifugazione in gradiente di densità, sedimentazione o lisi
- Fino al 99,8% di purezza delle cellule isolate
- Veloce, facile da usare e senza colonne
- Le cellule isolate non vengono toccate

Questo kit ha l'obiettivo di rimuovere cellule non T tramite prende di mira le cellule non B per la rimozione l'uso di anticorpi che riconoscono specifici marcatori di superficie cellulare. Le cellule indesiderate vengono etichettate marcate con anticorpi e EasySep™ Direct RapidSpheres™ e separate utilizzando un magnete EasySep™. Le cellule desiderate vengono semplicemente raccolte in una nuova provetta e sono immediatamente disponibili per applicazioni a valle come il crossmatch di citometria a flusso.

### Controllo di Qualità

I prodotti EasySep™ Direct sono ottenuti usando tecniche asettiche e processi strettamente controllati. Ciascun lotto di cocktail e particelle EasySep™ Direct è testato per la sterilità secondo le metodiche USP e per le prestazioni nelle analisi di isolamento cellulare.

### Descrizione dei Componenti

| NOMBRE DE COMPONENTE                          | COMPONENTE NO. | CANTIDAD   | CONSERVAZIONE                        | STABILITÀ                                                                   | FORMATO                                                                    |
|-----------------------------------------------|----------------|------------|--------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------|
| EasySep™ Direct HLA B Cell Isolation Cocktail | 89684C         | 2 x 2,5 mL | Conservare a 2 - 8°C. Non congelare. | Stabile a 2 - 8°C fino alla data di scadenza (EXP) indicata sull'etichetta. | Una combinación de anticuerpos monoclonales en PBS.                        |
| EasySep™ Direct RapidSpheres™ 50302           | 50302          | 4 x 2,5 mL | Conservare a 2 - 8°C. Non congelare. | Stabile a 2 - 8°C fino alla data di scadenza (EXP) indicata sull'etichetta. | Una suspensión de partículas magnéticas y anticuerpos monoclonales en PBS. |

PBS - tampón fosfato salino

Este producto puede transportarse a temperatura de 15 a 25°C, pero debe refrigerarse a su recibo.

Precipitados pueden formarse en el vial del cóctel, pero esto no afectará el rendimiento del producto.

### Preparazione del Campione

#### SANGUE PERIFERICO

Per una deplezione ottimale dei globuli rossi, prelevare il sangue usando come anticoagulante eparina o acido citrico-sodio citrato-destrosio (ACD).

Per una migliore raccolta, usare sangue intero umano non trattato. La raccolta delle cellule arricchite desiderate decresce nei campioni prelevati da oltre 24 ore.

Il volume di campione che è possibile trattare dipende dal magnete EasySep™ usato per la procedura di arricchimento. I campioni vanno collocati nell'apposita provetta in modo da entrare in modo corretto nel corrispondente magnete EasySep™ (vedere Tabelle 1 e 2).

#### STRATO LEUCOCITARIO (BUFFY COAT)

1. Aggiungere al sangue intero un pari volume del terreno raccomandato.
2. Centrifugare a 800 G per 10 minuti a temperatura ambiente (15 - 25°C) a freno disinnestato.
3. Rimuovere lo strato leucocitario concentrato, insieme a una piccola porzione del plasma e dei globuli rossi (RBC) concentrati. L'obiettivo è di concentrare i leucociti di circa 5 volte mantenendo lo stesso ematocrito.
4. Trasferire la strato leucocitario nell'apposita provetta (vedere Tabelle 1 e 2).

**MILZA o LINFONODO**

Spezzettare la milza o il linfonodo in PBS o in soluzione salina bilanciata di Hanks (HBSS) contenente il 2% di siero fetale bovino (FBS). Rimuovere aggregati e detriti filtrando la sospensione cellulare attraverso un colino in nylon a maglie da 100 µm preumidificato. Risciacquare il colino con PBS o HBSS contenente il 2% di FBS. Centrifugare a 300 G per 10 minuti e risospendere a  $1 - 100 \times 10^6$  cellule/mL nel terreno raccomandato.

**Medio Recomendado**

D-PBS (sin Ca++ y Mg++; no. catálogo 37350).

## Istruzioni per l'Uso – Protocolli EasySep™ Manuali

Vedere le pagine 1 y 2 per Preparazione del campione e Terreno raccomandato. Consultare le Tabelle 1 - 4 per istruzioni dettagliate sulla procedura EasySep™ per ciascun magnete.

Tabella 1. Protocollo per il EasySep™ Direct HLA B Cell Isolation Kit per SANGUE INTERO o BUFFY COAT

|      |                                                                                                                                                    | MAGNETI EASYSEP™                                                                                                             |                                                                                                                                                    |
|------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| FASE | ISTRUZIONI                                                                                                                                         |  <b>EasySep™</b><br>(Nr. di catalogo 18000) |  <b>“The Big Easy”</b><br>(Nr. di catalogo 18001)               |
| 1    | Prelevare un campione del volume desiderato.                                                                                                       | 0,5 - 1,5 mL                                                                                                                 | 1 - 7 mL                                                                                                                                           |
|      | Versare il campione nell'apposita provetta.                                                                                                        | Provetta a fondo arrotondato da 5 mL (12 x 75 mm) in polistirolo (p.es. Nr. di catalogo #38007)                              | Provetta a fondo arrotondato da 14 mL (17 x 95 mm) in polistirolo (p.es. Nr. di catalogo #38008)                                                   |
| 2    | Vortex RapidSpheres™.<br>NOTA BENE: Le particelle devono apparire distribuite uniformemente.                                                       | 30 secondi                                                                                                                   | 30 secondi                                                                                                                                         |
| 3    | Aggiungere al campione il cocktail d'isolamento.<br>NOTA BENE: Non agitare il cocktail.                                                            | 50 µL/mL di campione                                                                                                         | 50 µL/mL di campione                                                                                                                               |
| 4    | Aggiungere al campione le RapidSpheres™.                                                                                                           | 50 µL/mL di campione                                                                                                         | 50 µL/mL di campione                                                                                                                               |
|      | Mescolare e incubare.                                                                                                                              | A temperatura ambiente per 5 minuti                                                                                          | A temperatura ambiente per 5 minuti                                                                                                                |
| 5    | Aggiungere il terreno raccomandato per portare il campione al volume indicato. Mescolare pipettando delicatamente su e giù 2 - 3 volte.            | Portare a 2,5 mL                                                                                                             | <ul style="list-style-type: none"> <li>Portare al doppio del volume per campioni ≤ 5 mL</li> <li>Portare a 10 mL per campioni &gt; 5 mL</li> </ul> |
|      | Collocare la provetta (senza tappo) nel magnete e incubare.                                                                                        | A temperatura ambiente per 5 minuti                                                                                          | A temperatura ambiente per 5 minuti                                                                                                                |
| 6    | Afferrare il magnete e rovesciare magnete e provetta in un unico movimento, versando la sospensione di cellule arricchite* in una nuova provetta.  | Usare una nuova provetta da 5 mL                                                                                             | Usare una nuova provetta da 14 mL                                                                                                                  |
| 7    | Aggiungere le RapidSpheres™ alla nuova provetta contenente le cellule arricchite.                                                                  | Usare lo stesso volume della fase 4                                                                                          | Usare lo stesso volume della fase 4                                                                                                                |
|      | Mescolare e incubare.                                                                                                                              | A temperatura ambiente per 5 minuti                                                                                          | A temperatura ambiente per 5 minuti                                                                                                                |
| 8    | Rimuovere la provetta dal magnete e collocare nel magnete la provetta dalla fase 7 (senza tappo) e incubare per una seconda separazione.           | A temperatura ambiente per 5 minuti                                                                                          | A temperatura ambiente per 5 minuti                                                                                                                |
| 9    | Afferrare il magnete e rovesciare magnete e provetta** in un unico movimento, versando la sospensione di cellule arricchite in una nuova provetta. | Le cellule isolate sono pronte per l'uso                                                                                     | Usare una nuova provetta da 14 mL                                                                                                                  |
| 10   | Rimuovere la provetta dal magnete e collocare nel magnete la provetta dalla fase 9 (senza tappo) e incubare per una terza separazione.             | ---                                                                                                                          | A temperatura ambiente per 5 minuti                                                                                                                |
| 11   | Afferrare il magnete e rovesciare magnete e provetta** in un unico movimento, versando la sospensione di cellule arricchite in una nuova provetta. | ---                                                                                                                          | Le cellule isolate sono pronte per l'uso                                                                                                           |

Temperatura ambiente - 15 - 25°C

\* Dopo la prima separazione magnetica, le cellule raccolte possono contenere un quantitativo significativo di globuli rossi e avere aspetto simile al campione originario di sangue intero umano non trattato.

\*\* Per minimizzare la contaminazione da globuli rossi nelle cellule isolate, versare il campione in uscita da un lato pulito della provetta (vale a dire il lato opposto a quello dove si era versato il campione in entrata).

Tabella 2. Protocollo per il EasySep™ Direct HLA B Cell Isolation Kit per SANGUE INTERO o BUFFY COAT

|      |                                                                                                                                                                                                                                                                                                             | MAGNETI EASYSEP™                                                                                      |                                                                                                                                                    |                                                                                                                                                      |
|------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| FASE | ISTRUZIONI                                                                                                                                                                                                                                                                                                  | EasyEights™ (Nr. di catalogo 18103)                                                                   |                                                                                                                                                    | Easy 50<br>(Nr. di catalogo 18002)                                                                                                                   |
|      |                                                                                                                                                                                                                                                                                                             | Provetta da 5 mL                                                                                      | Provetta da 14 mL                                                                                                                                  |                                                                                                                                                      |
| 1    | Prelevare un campione del volume desiderato.                                                                                                                                                                                                                                                                | 0,5 - 1,5 mL                                                                                          | 1 - 7 mL                                                                                                                                           | 7 - 30 mL                                                                                                                                            |
|      | Versare il campione nell'apposita provetta.                                                                                                                                                                                                                                                                 | Provetta a fondo arrotondato da 5 mL<br>(12 x 75 mm) in polistirolo<br>(p.es. Nr. di catalogo #38007) | Provetta a fondo arrotondato da 14 mL<br>(17 x 95 mm) in polistirolo<br>(p.es. Nr. di catalogo #38008)                                             | Provetta conica da 50 mL<br>(p.es. Nr. di catalogo 38010)                                                                                            |
| 2    | Vortex RapidSpheres™.<br>NOTA BENE: Le particelle devono apparire distribuite uniformemente.                                                                                                                                                                                                                | 30 secondi                                                                                            | 30 secondi                                                                                                                                         | 30 secondi                                                                                                                                           |
| 3    | Aggiungere al campione il cocktail d'isolamento.<br>NOTA BENE: Non agitare il cocktail.                                                                                                                                                                                                                     | 50 µL/mL di campione                                                                                  | 50 µL/mL di campione                                                                                                                               | 50 µL/mL di campione                                                                                                                                 |
| 4    | Aggiungere al campione le RapidSpheres™.                                                                                                                                                                                                                                                                    | 50 µL/mL di campione                                                                                  | 50 µL/mL di campione                                                                                                                               | 50 µL/mL di campione                                                                                                                                 |
|      | Mescolare e incubare.                                                                                                                                                                                                                                                                                       | A temperatura ambiente per 5 minuti                                                                   | A temperatura ambiente per 5 minuti                                                                                                                | A temperatura ambiente per 5 minuti                                                                                                                  |
| 5    | Aggiungere il terreno raccomandato per portare il campione al volume indicato. Mescolare pipettando delicatamente su e giù 2 - 3 volte.                                                                                                                                                                     | Portare a 2,5 mL                                                                                      | <ul style="list-style-type: none"> <li>Portare al doppio del volume per campioni ≤ 5 mL</li> <li>Portare a 10 mL per campioni &gt; 5 mL</li> </ul> | <ul style="list-style-type: none"> <li>Portare al doppio del volume per campioni ≤ 25 mL</li> <li>Portare a 50 mL per campioni &gt; 25 mL</li> </ul> |
|      | Collocare la provetta (senza tappo) nel magnete e incubare.                                                                                                                                                                                                                                                 | A temperatura ambiente per 5 minuti                                                                   | A temperatura ambiente per 5 minuti                                                                                                                | A temperatura ambiente per 10 minuti                                                                                                                 |
| 6    | Pipettare*** con cura (non versare) la sospensione di cellule arricchite in una nuova provetta.<br>NOTA BENE: Raccogliere l'intera frazione limpida dalla sommità al fondo. Per una raccolta ottimale, raccogliere anche un piccolo volume di globuli rossi (fino al 10% del volume del campione iniziale). | Usare una nuova provetta da 5 mL                                                                      | Usare una nuova provetta da 14 mL                                                                                                                  | Usare una nuova provetta da 50 mL                                                                                                                    |
| 7    | Aggiungere le RapidSpheres™ alla nuova provetta contenente le cellule arricchite.                                                                                                                                                                                                                           | Usare lo stesso volume della fase 4                                                                   | Usare lo stesso volume della fase 4                                                                                                                | Usare lo stesso volume della fase 4                                                                                                                  |
|      | Mescolare e incubare.                                                                                                                                                                                                                                                                                       | A temperatura ambiente per 5 minuti                                                                   | A temperatura ambiente per 5 minuti                                                                                                                | A temperatura ambiente per 5 minuti                                                                                                                  |
| 8    | Rimuovere la provetta dal magnete e collocare nel magnete la provetta dalla fase 7 (senza tappo) e incubare per una seconda separazione.                                                                                                                                                                    | A temperatura ambiente per 5 minuti                                                                   | A temperatura ambiente per 5 minuti                                                                                                                | A temperatura ambiente per 5 minuti                                                                                                                  |
| 9    | Pipettare*** con cura (non versare) la sospensione di cellule arricchite in una nuova provetta.<br>NOTA BENE: Raccogliere solo la frazione limpida.                                                                                                                                                         | Usare una nuova provetta da 5 mL                                                                      | Usare una nuova provetta da 14 mL                                                                                                                  | Usare una nuova provetta da 50 mL                                                                                                                    |
| 10   | Rimuovere la provetta dal magnete e collocare nel magnete la provetta dalla fase 9 (senza tappo) contenente le cellule arricchite e incubare per una terza separazione.                                                                                                                                     | A temperatura ambiente per 5 minuti                                                                   | A temperatura ambiente per 5 minuti                                                                                                                | A temperatura ambiente per 5 minuti                                                                                                                  |
| 11   | Pipettare*** con cura (non versare) la sospensione di cellule arricchite in una nuova provetta.<br>NOTA BENE: Raccogliere solo la frazione limpida.                                                                                                                                                         | Le cellule isolate sono pronte per l'uso                                                              | Le cellule isolate sono pronte per l'uso                                                                                                           | Le cellule isolate sono pronte per l'uso                                                                                                             |

Temperatura ambiente - 15 - 25°C

\*\*\* Raccogliere tutto il surnatante, in una sola volta, in una sola pipetta (p.es. per la provetta EasyEights™ da 5 mL usare una pipetta sierologica da 2 mL [Nr. di catalogo 38002]; per la provetta EasyEights™ da 14 mL usare una pipetta sierologica da 10 mL [Nr. di catalogo 38004]).

Tabella 3. Protocollo per il EasySep™ Direct HLA B Cell Isolation Kit per MILZA o LINFONODO

|      |                                                                                                                                                    | MAGNETI EASYSEP™                                                                                                             |                                                                                                                                                        |
|------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| FASE | ISTRUZIONI                                                                                                                                         |  <b>EasySep™</b><br>(Nr. di catalogo 18000) |  <b>“The Big Easy”</b><br>(Nr. di catalogo 18001)                   |
| 1    | Prelevare un campione del volume desiderato.                                                                                                       | 0,5 - 1,5 mL                                                                                                                 | 1 - 7 mL                                                                                                                                               |
|      | Versare il campione nell'apposita provetta.                                                                                                        | Provetta a fondo arrotondato da 5 mL (12 x 75 mm) in polistirolo (p.es. Nr. di catalogo #38007)                              | Provetta a fondo arrotondato da 14 mL (17 x 95 mm) in polistirolo (p.es. Nr. di catalogo #38008)                                                       |
| 2    | Aggiungere al campione il cocktail d'isolamento. NOTA BENE: Non agitare il cocktail.                                                               | 50 µL/mL di campione                                                                                                         | 50 µL/mL di campione                                                                                                                                   |
|      | Mescolare e incubare.                                                                                                                              | A temperatura ambiente per 5 minuti                                                                                          | A temperatura ambiente per 5 minuti                                                                                                                    |
| 3    | Vortex RapidSpheres™. NOTA BENE: Le particelle devono apparire distribuite uniformemente.                                                          | 30 secondi                                                                                                                   | 30 secondi                                                                                                                                             |
| 4    | Aggiungere al campione le RapidSpheres™. Mescolare pipettando delicatamente su e giù 2 - 3 volte.                                                  | 50 µL/mL di campione                                                                                                         | 50 µL/mL di campione                                                                                                                                   |
| 5    | Aggiungere il terreno raccomandato per portare il campione al volume indicato.                                                                     | Portare a 2,5 mL                                                                                                             | <ul style="list-style-type: none"> <li>• Portare al doppio del volume per campioni ≤ 5 mL</li> <li>• Portare a 10 mL per campioni &gt; 5 mL</li> </ul> |
|      | Collocare la provetta (senza tappo) nel magnete e incubare.                                                                                        | A temperatura ambiente per 3 minuti                                                                                          | A temperatura ambiente per 3 minuti                                                                                                                    |
| 6    | Afferrare il magnete e rovesciare magnete e provetta in un unico movimento, versando la sospensione di cellule arricchite* in una nuova provetta.  | Usare una nuova provetta da 5 mL                                                                                             | Usare una nuova provetta da 14 mL                                                                                                                      |
| 7    | Aggiungere le RapidSpheres™ alla nuova provetta contenente le cellule arricchite. Mescolare pipettando delicatamente su e giù 2 - 3 volte.         | Usare lo stesso volume della fase 4                                                                                          | Usare lo stesso volume della fase 4                                                                                                                    |
| 8    | Rimuovere la provetta dal magnete e collocare nel magnete la provetta dalla fase 7 (senza tappo) e incubare per una seconda separazione.           | A temperatura ambiente per 3 minuti                                                                                          | A temperatura ambiente per 3 minuti                                                                                                                    |
| 9    | Afferrare il magnete e rovesciare magnete e provetta** in un unico movimento, versando la sospensione di cellule arricchite in una nuova provetta. | Le cellule isolate sono pronte per l'uso                                                                                     | Le cellule isolate sono pronte per l'uso                                                                                                               |

Temperatura ambiente - 15 - 25°C

\* Dopo la prima separazione magnetica, le cellule raccolte possono contenere un quantitativo significativo di globuli rossi e avere aspetto simile al campione originario di sangue intero umano non trattato.

\*\* Per minimizzare la contaminazione da globuli rossi nelle cellule isolate, versare il campione in uscita da un lato pulito della provetta (vale a dire il lato opposto a quello dove si era versato il campione in entrata).

Tabella 4. Protocollo per il EasySep™ Direct HLA B Cell Isolation Kit per MILZA o LINFONODO

|      |                                                                                                                                                                                                                                                                                                             | AIMANTS EASYSEP™                                                                                      |                                                                                                                                                        |
|------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| PASO | INSTRUCCIONES                                                                                                                                                                                                                                                                                               | EasyEights™ (no. catálogo 18103)                                                                      |                                                                                                                                                        |
|      |                                                                                                                                                                                                                                                                                                             | Tubo de 5 mL                                                                                          | Tubo de 14 mL                                                                                                                                          |
| 1    | Prelevare un campione del volume desiderato.                                                                                                                                                                                                                                                                | 0,5 - 1,5 mL                                                                                          | 1 - 7 mL                                                                                                                                               |
|      | Versare il campione nell'apposita provetta.                                                                                                                                                                                                                                                                 | Provetta a fondo arrotondato da 5 mL (12 x 75 mm) in polistirolo (p.es. Nr. di catalogo #38007)       | Provetta a fondo arrotondato da 14 mL (17 x 95 mm) in polistirolo (p.es. Nr. di catalogo #38008)                                                       |
| 2    | Aggiungere al campione il cocktail d'isolamento.<br>NOTA BENE: Non agitare il cocktail.                                                                                                                                                                                                                     | 50 µL/mL di campione                                                                                  | 50 µL/mL di campione                                                                                                                                   |
|      | Mescolare e incubare.                                                                                                                                                                                                                                                                                       | A temperatura ambiente per 5 minuti                                                                   | A temperatura ambiente per 5 minuti                                                                                                                    |
| 3    | Vortex RapidSpheres™.<br>NOTA BENE: Le particelle devono apparire distribuite uniformemente.                                                                                                                                                                                                                | 30 secondi                                                                                            | 30 secondi                                                                                                                                             |
| 4    | Aggiungere al campione le RapidSpheres™. Mescolare pipettando delicatamente su e giù 2 - 3 volte.                                                                                                                                                                                                           | 50 µL/mL di campione                                                                                  | 50 µL/mL di campione                                                                                                                                   |
| 5    | Aggiungere il terreno raccomandato per portare il campione al volume indicato. Mescolare pipettando delicatamente su e giù 2 - 3 volte.                                                                                                                                                                     | Portare a 2,5 mL                                                                                      | <ul style="list-style-type: none"> <li>• Portare al doppio del volume per campioni ≤ 5 mL</li> <li>• Portare a 10 mL per campioni &gt; 5 mL</li> </ul> |
|      | Collocare la provetta (senza tappo) nel magnete e incubare.                                                                                                                                                                                                                                                 | A temperatura ambiente per 3 minuti                                                                   | A temperatura ambiente per 3 minuti                                                                                                                    |
| 6    | Pipettare*** con cura (non versare) la sospensione di cellule arricchite in una nuova provetta.<br>NOTA BENE: Raccogliere l'intera frazione limpida dalla sommità al fondo. Per una raccolta ottimale, raccogliere anche un piccolo volume di globuli rossi (fino al 10% del volume del campione iniziale). | Usare una nuova provetta da 5 mL                                                                      | Usare una nuova provetta da 14 mL                                                                                                                      |
| 7    | Aggiungere le RapidSpheres™ alla nuova provetta contenente le cellule arricchite. Mescolare pipettando delicatamente su e giù 2 - 3 volte.                                                                                                                                                                  | Usare lo stesso volume della fase 4                                                                   | Usare lo stesso volume della fase 4                                                                                                                    |
| 8    | Rimuovere la provetta dal magnete e collocare nel magnete la provetta dalla fase 7 (senza tappo) e incubare per una seconda separazione.                                                                                                                                                                    | A temperatura ambiente per 3 minuti                                                                   | A temperatura ambiente per 3 minuti                                                                                                                    |
| 9    | Pipettare*** con cura (non versare) la sospensione di cellule arricchite in una nuova provetta.<br>NOTA BENE: Raccogliere solo la frazione limpida.                                                                                                                                                         | Usare una nuova provetta da 5 mL<br><b>Per il linfonodo:</b> Le cellule isolate sono pronte per l'uso | Usare una nuova provetta da 14 mL<br><b>Per il linfonodo:</b> Le cellule isolate sono pronte per l'uso                                                 |
| 10   | Rimuovere la provetta dal magnete e collocare nel magnete la provetta dalla fase 9 (senza tappo) contenente le cellule arricchite e incubare per una terza separazione.                                                                                                                                     | <b>Per la milza:</b> A temperatura ambiente per 3 minuti                                              | <b>Per la milza:</b> A temperatura ambiente per 3 minuti                                                                                               |
| 11   | Pipettare*** con cura (non versare) la sospensione di cellule arricchite in una nuova provetta.<br>NOTA BENE: Raccogliere solo la frazione limpida.                                                                                                                                                         | <b>Per la milza:</b> Le cellule isolate sono pronte per l'uso                                         | <b>Per la milza:</b> Le cellule isolate sono pronte per l'uso                                                                                          |

TA - température ambiante (entre 15 et 25 °C)s

\*\*\* Prélever le surnageant complet, en une seule fois, dans une seule et même pipette (p. Ex., pour un tube à essai de 5 mL EasyEights™, utiliser une pipette sérologique de 2 mL [n° de catalogue 38002]; pour un tube à essai de 14 mL EasyEights™, utiliser une pipette sérologique de 10 mL [n° de catalogue 38004]).

## Istruzioni per l'Uso – Protocollo Completamente Automatizzato RoboSep™

Vedere le pagine 1 y 2 per Preparazione del campione e Terreno raccomandato. Consultare la Tabella 5 per istruzioni dettagliate sulla procedura EasySep™.

NOTA BENE: Se si utilizza RoboSep™ -S, assicurarsi che il software sia almeno v.1.2.0.2 e che sia installato il carosello compatibile con RoboSep™ Direct. Contattaci a techsupport@stemcell.com per maggiori informazioni.

**Tabella 5. Protocollo per il RoboSep™ Direct HLA B Cell Isolation Kit per SANGUE INTERO, BUFFY COAT, MILZA, o LINFONODO**

| FASE | ISTRUZIONI                                                                                   | RoboSep™<br>(Nr. di catalogo 21000)                                                                                                                                                                                                                                                                 |  |
|------|----------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------|
| 1    | Preparare il campione alla concentrazione di cellule indicata nel volume desiderato.         | <b>Per la milza o il linfonodo:</b> 1 - 6 mL a 1 - 100 x 10 <sup>6</sup> cellule/mL<br><b>Per il sangue:</b> 1 - 6 mL<br><b>Per buffy coat:</b> 2 - 6 mL                                                                                                                                            |                                                                                     |
|      | Versare il campione nell'apposita provetta.                                                  | Provetta a fondo arrotondato da 14 mL (17 x 95 mm) in polistirolo (p.es. Nr. di catalogo #38008)                                                                                                                                                                                                    |                                                                                     |
| 2    | Selezionare il protocollo.                                                                   | <ul style="list-style-type: none"> <li>• EasySep Direct HLA T Cell Isolation 89684 - WB, Spleen, LN</li> <li>• EasySep Direct HLA T Cell Isolation 89684 - For WB, Spleen, LN - High RBC Depletion<sup>†</sup></li> <li>• EasySep Direct HLA T Cell Isolation 89684 - For BC<sup>§</sup></li> </ul> |                                                                                     |
| 3    | Vortex RapidSpheres™.<br>NOTA BENE: Le particelle devono apparire distribuite uniformemente. | 30 secondi                                                                                                                                                                                                                                                                                          |                                                                                     |
| 4    | Caricare il rotore.                                                                          | Seguire le istruzioni a schermo<br>NOTA: Questo protocollo richiede il caricamento di due flaconcini di EasySep™ Direct RapidSpheres™ 50300 sul caricatore per una singola corsa; uno nello slot ▲ (triangolo) e uno nello slot ● (cerchio).                                                        |                                                                                     |
|      | Avviare il protocollo.                                                                       | Premere il pulsante verde "Run"                                                                                                                                                                                                                                                                     |                                                                                     |
| 5    | Scaricare il rotore una volta completata la corsa.                                           | Le cellule isolate sono pronte per l'uso                                                                                                                                                                                                                                                            |                                                                                     |

<sup>†</sup> Questo protocollo fornisce un'elevata deplezione dei globuli rossi, con una leggera riduzione del recupero

<sup>§</sup> Questo protocollo utilizza il doppio dei reagenti EasySep™

## Note e Suggerimenti

### RIMOZIONE DI GLOBULI ROSSI RESIDUI NELLE CELLULE ISOLATE

Solitamente, dopo l'isolamento delle cellule non è necessaria ulteriore deplezione di globuli rossi. Qualora globuli rossi residui siano visibili nel pellet di cellule isolate dopo la centrifugazione al termine del protocollo, risospendere in una piccola quantità (0,2 - 2,5 mL) di terreno raccomandato o di terreno di coltura desiderato e collocare in un magnete EasySep™ di minori dimensioni per un'ulteriore separazione da 5 minuti. Raccogliere il surnatante; a questo punto le cellule isolate sono pronte per l'uso nelle applicazioni a valle. I globuli rossi residui possono anche essere lisi usando la soluzione di cloruro d'ammonio (Nr. di catalogo 07800).

### VALUTAZIONE DELLA PUREZZA

Per la valutazione della purezza dei linfociti B tramite citometria a flusso, usare i seguenti cloni di anticorpi coniugati al fluorocromo:

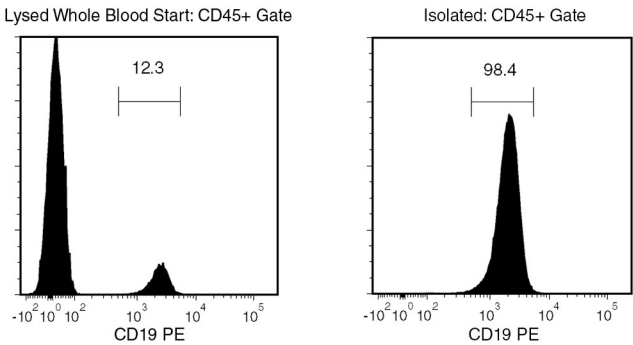
- Anti-Human CD19 Antibody, Clone HIB19 (Nr. di catalogo #60005), e
- Anti-Human CD45 Antibody, Clone HI30 (Nr. di catalogo #60018)

NOTA BENE: Si raccomanda di valutare la purezza sulle cellule CD45+ per escludere detriti, piastrine e globuli rossi. Includere un colorante di vitalità se necessario (p. es. Propidium Iodide [Nr. di catalogo 75002]; 7-AAD [7- Aminoactinomycin D; Nr. di catalogo 75001]).

NOTA BENE: L'utente è responsabile della convalida delle prestazioni delle cellule isolate nei saggi a valle.

Dati

Partendo da sangue intero umano da normali donatori sani, il contenuto tipico di linfociti B (CD19+) della frazione isolata finale non lisa è del 89 -99,8% (gating effettuato su CD45).



Nell'esempio riportato, il contenuto di linfociti B (CD19+) del campione iniziale di sangue intero liso e della frazione isolata finale non lisa è rispettivamente del 12,3% e del 98,4% (gating effettuato su CD45).

I PRODOTTI SONO SOLO PER UTILIZZO DI RICERCA E NON DESTINATI AD USI DIAGNOSTICI O TERAPEUTICI UMANI O ANIMALI SE NON DIVERSAMENTE INDICATO. PER ULTERIORI INFORMAZIONI SULLA QUALITÀ PRESSO STEMCELL, FARE RIFERIMENTO A [WWW.STEMCELL.COM/COMPLIANCE](http://WWW.STEMCELL.COM/COMPLIANCE).

Copyright © 2025 di STEMCELL Technologies Inc. Tutti i diritti riservati, compresa grafica e immagini. STEMCELL Technologies & Design, STEMCELL Shield Design, Scientists Helping Scientists, EasyEights, EasySep, RapidSpheres, e RoboSep sono marchi commerciali di STEMCELL Technologies Canada Inc. Tutti gli altri marchi commerciali sono di proprietà dei rispettivi detentori. Sebbene STEMCELL abbia compiuto ogni ragionevole sforzo per assicurarsi che le informazioni fornite da STEMCELL e dai suoi fornitori sono corrette, non si danno garanzie né assicurazioni in merito all'accuratezza o completezza di tali informazioni.

# EasySep™ Direct HLA B Cell Isolation Kit

Für die Verarbeitung von 100 mL Vollblut

Katalog-Nr. 89684

89684RF RboSep™

Negative Selektion

Dokument Nr. 10000007415 | Fassung 06



Scientists Helping Scientists™ | [WWW.STEMCELL.COM](http://WWW.STEMCELL.COM)

TOLL FREE PHONE 1 800 667 0322 • PHONE +1 604 877 0713

[INFO@STEMCELL.COM](mailto:INFO@STEMCELL.COM) • [TECHSUPPORT@STEMCELL.COM](mailto:TECHSUPPORT@STEMCELL.COM)

FOR GLOBAL CONTACT DETAILS VISIT OUR WEBSITE

## DEUTSCH

### Produktbeschreibung

Isolieren Sie effizient aufgereinigte B-Zellen direkt aus menschlichem Vollblut, Buffy Coat, Milz oder Lymphknoten durch immunomagnetische negative Selektion.

Zu den Vorteilen dieses Kits gehören:

- 99,9% Erythrozytendepletion ohne Dichtegradientenzentrifugation, Sedimentation oder Lyse
- Bis zu 99,8% Reinheit der isolierten Zellen
- Schnell, benutzerfreundlich und spaltenfrei
- Isolierte Zellen sind unberührt

Dieses Kit zielt auf Nicht-B-Zellen zur Entfernung mit Antikörpern ab, die spezifische Zelloberflächenmarker erkennen. Unerwünschte Zellen werden mit Antikörpern und EasySep™ Direct RapidSpheres™ markiert und mit einem EasySep™ Magneten abgetrennt. Gewünschte Zellen werden einfach in einem neuen Röhrchen gesammelt und stehen sofort für nachgeschaltete Anwendungen wie die Durchflusszytometrie-Kreuzprobe zur Verfügung.

### Qualitätskontrolle

EasySep™ Direct Produkte werden nach aseptischen Methoden und streng kontrollierten Prozessen hergestellt.

Jede Charge der EasySep™ Direct Cocktails und Partikel wird nach den Methoden der USP auf Sterilität geprüft und in Zellisolutions-Assays auf ihre Leistung getestet.

### Komponentenbeschreibungen

| KOMPONENTENNAME                               | KOMPONENTEN-NUMMER | MENGE      | LAGERUNG                                    | STABILITÄT                                                        | FORMAT                                                                          |
|-----------------------------------------------|--------------------|------------|---------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------|
| EasySep™ Direct HLA B Cell Isolation Cocktail | 89684C             | 2 x 2,5 mL | Bei 2 - 8 °C aufbewahren. Nicht einfrieren. | Produkt Komponenten bis zum Verfallsdatum auf dem Etikett stabil. | Eine Kombination aus monoklonalen Antikörpern in PBS.                           |
| EasySep™ Direct RapidSpheres™ 50302           | 50302              | 4 x 2,5 mL | Bei 2 - 8 °C aufbewahren. Nicht einfrieren. | Produkt Komponenten bis zum Verfallsdatum auf dem Etikett stabil. | Eine Suspension aus magnetischen Partikeln und monoklonalen Antikörpern in PBS. |

PBS - phosphatgepufferte Kochsalzlösung

Dieses Produkt kann bei 15 - 25°C transportiert werden, sollte jedoch nach der Ankunft gekühlt werden.

In der Cocktailflasche kann ein Niederschlag beobachtet werden, der jedoch die Leistung nicht beeinträchtigt.

### Probenvorbereitung

#### PERIPHEREN BLUT

Für eine optimale Entfernung der roten Blutkörperchen verwenden Sie Heparin oder Acid-Citrate-Dextrose (ACD) als Antikoagulant für die Blutabnahme.

Verwenden Sie unverarbeitetes menschliches Vollblut für eine optimale Gewinnung. Die Gewinnung der erwünschten angereicherten Zellen nimmt bei Proben, die älter als 24 Stunden sind, ab.

Die Menge der zu verarbeitenden Probe hängt von dem EasySep™ Magneten ab, der für das Gewinnungsverfahren verwendet wird. Die Proben müssen in das vorgeschriebene Röhrchen gegeben werden, das in den entsprechenden EasySep™ Magneten passt (siehe Tabelle 1 und 2).

**BUFFY-COAT**

1. Geben Sie eine gleiche Menge des empfohlenen Mediums zu dem Vollblut hinzu.
2. Bei 800 x g für 10 Minuten bei Zimmertemperatur (15 - 25°C) ohne Bremse zentrifugieren.
3. Entfernen Sie den konzentrierten Leukozytenfilm (dies ist der Buffy-Coat) plus eine kleine Menge Plasma und konzentrierte rote Blutkörperchen (RBCs). Das Ziel ist es, die Leukozyten etwa auf das Fünffache zu konzentrieren und dabei denselben Hämatokritwert zu erhalten.
4. Übertragen Sie maximal 7 mL des Buffy-Coats in das vorgeschriebene Röhrchen (siehe Tabelle 1 und 2).

**MILZ oder LYMPHKNOTEN**

Milz oder Lymphknoten in PBS oder einer ausgeglichenen Salzlösung (Hanks' Balanced Salt Solution – HBSS), die 2% fötales Kälberserum (FCS) enthält, aufschließen. Entfernen Sie Aggregate und Fremdkörper, indem Sie die Zellsuspension durch ein feuchtes Nylonsieb mit einer Maschenweite von 100 µm filtern. Spülen Sie das Sieb mit PBS oder HBSS, die 2% FCS enthält. Bei 300 x g für 10 Minuten zentrifugieren und erneut in 1 - 100 x 10<sup>6</sup> Zellen/mL im empfohlenen Medium auflösen.

**Empfohlenes Medium**

D-PBS (ohne Ca++ und Mg++; Katalog-Nr. 37350).

## Gebrauchsanleitung – Manuelle EasySep™ Protokolle

Probenvorbereitung und empfohlenes Medium: siehe Seiten 1 und 2. Genaue Anweisungen zum EasySep™ Verfahren für jeden Magneten sind in Tabelle 1 - 4 zu finden.

**Tabelle 1. Protokoll für EasySep™ Direct HLA B Cell Isolation Kit für VOLLBLUT oder BUFFY-COAT**

|         |                                                                                                                                                                        | EASYSEP™ MAGNETEN                                                                                                        |                                                                                                                                                          |
|---------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| SCHRITT | ANLEITUNG                                                                                                                                                              |  <b>EasySep™</b><br>(Katalog-Nr. 18000) |  <b>“The Big Easy”</b><br>(Katalog-Nr. 18001)                         |
| 1       | Probe innerhalb des Volumenbereichs entnehmen.                                                                                                                         | 0,5 - 1,5 mL                                                                                                             | 1 - 7 mL                                                                                                                                                 |
|         | Probe in das vorgeschriebene Röhrchen geben.                                                                                                                           | 5 mL (12 x 75 mm) Rundboden-Röhrchen aus Polystyrol<br>(z. B. Katalog-Nr. 38007)                                         | 14 mL (17 x 95 mm) Rundboden-Röhrchen aus Polystyrol<br>(z. B. Katalog-Nr. 38008)                                                                        |
| 2       | Vortex RapidSpheres™.<br>HINWEIS: Die Teilchen sollten gleichmäßig verteilt erscheinen.                                                                                | 30 Sekunden                                                                                                              | 30 Sekunden                                                                                                                                              |
| 3       | Isolierungs-Cocktail zur Probe hinzugeben.<br>HINWEIS: Cocktail nicht verwirbeln.                                                                                      | 50 µL/mL Probe                                                                                                           | 50 µL/mL Probe                                                                                                                                           |
| 4       | RapidSpheres™ zur Probe hinzugeben.                                                                                                                                    | 50 µL/mL Probe                                                                                                           | 50 µL/mL Probe                                                                                                                                           |
|         | Mischen und inkubieren.                                                                                                                                                | 5 Minuten bei RT stehen lassen                                                                                           | 5 Minuten bei RT stehen lassen                                                                                                                           |
| 5       | Empfohlenes Medium hinzugeben, um die Probe bis zum angegebenen Volumen aufzufüllen. Durch vorsichtiges Auf- und Abpipettieren (2 bis 3 Mal) vermischen.               | Auf 2,5 mL auffüllen                                                                                                     | <ul style="list-style-type: none"> <li>Bei Proben ≤ 5 mL auf das doppelte Volumen auffüllen</li> <li>Bei Proben &gt; 5 mL auf 10 mL auffüllen</li> </ul> |
|         | Das Röhrchen (ohne Verschluss) in den Magneten geben und inkubieren.                                                                                                   | 5 Minuten bei RT stehen lassen                                                                                           | 5 Minuten bei RT stehen lassen                                                                                                                           |
| 6       | Den Magneten aufnehmen und in einer fließenden Bewegung den Magneten und das Röhrchen invertieren und die angereicherte Zellsuspension* in ein neues Röhrchen gießen.  | Ein neues 5-mL-Röhrchen verwenden                                                                                        | Ein neues 14-mL-Röhrchen verwenden                                                                                                                       |
| 7       | RapidSpheres™ in das neue Röhrchen mit den angereicherten Zellen geben.                                                                                                | Dasselbe Volumen verwenden wie in Schritt 4                                                                              | Dasselbe Volumen verwenden wie in Schritt 4                                                                                                              |
|         | Mischen und inkubieren.                                                                                                                                                | 5 Minuten bei RT stehen lassen                                                                                           | 5 Minuten bei RT stehen lassen                                                                                                                           |
| 8       | Das Röhrchen aus dem Magneten entfernen und das Röhrchen aus Schritt 7 (ohne Verschluss) in den Magneten geben und für eine zweite Trennung inkubieren.                | 5 Minuten bei RT stehen lassen                                                                                           | 5 Minuten bei RT stehen lassen                                                                                                                           |
| 9       | Den Magneten aufnehmen und in einer fließenden Bewegung den Magneten und das Röhrchen** invertieren und die angereicherte Zellsuspension in ein neues Röhrchen gießen. | Die isolierten Zellen sind gebrauchsfertig                                                                               | Ein neues 14-mL-Röhrchen verwenden                                                                                                                       |
| 10      | Das Röhrchen aus dem Magneten entfernen und das neue Röhrchen aus Schritt 9 (ohne Verschluss) in den Magneten geben und für eine dritte Trennung inkubieren.           | ---                                                                                                                      | 5 Minuten bei RT stehen lassen                                                                                                                           |
| 11      | Den Magneten aufnehmen und in einer fließenden Bewegung den Magneten und das Röhrchen** invertieren und die angereicherte Zellsuspension in ein neues Röhrchen gießen. | ---                                                                                                                      | Die isolierten Zellen sind gebrauchsfertig                                                                                                               |

RT - Raumtemperatur (15 - 25 °C)

\* Nach der ersten magnetischen Trennung können die gewonnenen Zellen eine erhebliche Menge roter Blutkörperchen enthalten und ähnlich wie die ursprüngliche, unverarbeitete Probe menschlichen Vollbluts aussehen.

\*\* Um die Kontaminierung der isolierten Zellen durch rote Blutkörperchen zu minimieren, gießen Sie die Probe entlang eines sauberen Bereichs des Röhrchens ab (d.h. an der dem Eingießbereich gegenüberliegenden Seite).

Tabelle 2. Protokoll für EasySep™ Direct HLA B Cell Isolation Kit für VOLLBLUT oder BUFFY-COAT

|         |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                 | EASYSEP™ MAGNETEN                                                                  |                                                                                                                                                          |                                                                                                                                                            |
|---------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| SCHRITT | ANLEITUNG                                                                                                                                                                                                                                                                                                                       | EasyEights™ (Katalog-Nr. 18103)                                                    |                                                                                                                                                          | Easy 50 (Katalog Nr.18002)                                                                                                                                 |
|         |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                 | 5 mL Rörchen                                                                       | 14 mL Rörchen                                                                                                                                            |                                                                                                                                                            |
| 1       | Probe innerhalb des Volumenbereichs entnehmen.                                                                                                                                                                                                                                                                                  | 0,5 - 1,5 mL                                                                       | 1 - 7 mL                                                                                                                                                 | 7 - 30 mL                                                                                                                                                  |
|         | Probe in das vorgeschriebene Rörchen geben.                                                                                                                                                                                                                                                                                     | 5 mL (12 x 75 mm)<br>Rundboden-Rörchen aus Polystyrol<br>(z. B. Katalog-Nr. 38007) | 14 mL (17 x 95 mm)<br>Rundboden-Rörchen aus Polystyrol<br>(z. B. Katalog-Nr. 38008)                                                                      | 50 mL konisches Rörchen<br>(z. B. Katalog-Nr. 38010)                                                                                                       |
| 2       | Vortex RapidSpheres™.<br>HINWEIS: Die Teilchen sollten gleichmäßig verteilt erscheinen.                                                                                                                                                                                                                                         | 30 Sekunden                                                                        | 30 Sekunden                                                                                                                                              | 30 Sekunden                                                                                                                                                |
| 3       | Isolierungs-Cocktail zur Probe hinzugeben.<br>HINWEIS: Cocktail nicht verwirbeln.                                                                                                                                                                                                                                               | 50 µL/mL Probe                                                                     | 50 µL/mL Probe                                                                                                                                           | 50 µL/mL Probe                                                                                                                                             |
| 4       | RapidSpheres™ zur Probe hinzugeben.                                                                                                                                                                                                                                                                                             | 50 µL/mL Probe                                                                     | 50 µL/mL Probe                                                                                                                                           | 50 µL/mL Probe                                                                                                                                             |
|         | Mischen und inkubieren.                                                                                                                                                                                                                                                                                                         | 5 Minuten bei RT stehen lassen                                                     | 5 Minuten bei RT stehen lassen                                                                                                                           | 5 Minuten bei RT stehen lassen                                                                                                                             |
| 5       | Empfohlenes Medium hinzugeben, um die Probe bis zum angegebenen Volumen aufzufüllen. Durch vorsichtiges Auf- und Abpipettieren (2 bis 3 Mal) vermischen.                                                                                                                                                                        | Auf 2,5 mL auffüllen                                                               | <ul style="list-style-type: none"> <li>Bei Proben ≤ 5 mL auf das doppelte Volumen auffüllen</li> <li>Bei Proben &gt; 5 mL auf 10 mL auffüllen</li> </ul> | <ul style="list-style-type: none"> <li>Bei Proben ≤ 25 mL auf das doppelte Volumen auffüllen</li> <li>Bei Proben &gt; 25 mL auf 50 mL auffüllen</li> </ul> |
|         | Das Rörchen (ohne Verschluss) in den Magneten geben und inkubieren.                                                                                                                                                                                                                                                             | 5 Minuten bei RT stehen lassen                                                     | 5 Minuten bei RT stehen lassen                                                                                                                           | 10 Minuten bei RT stehen lassen                                                                                                                            |
| 6       | Die angereicherte Zellsuspension vorsichtig in ein neues Rörchen pipettieren*** (nicht gießen).<br>HINWEIS: Den gesamten transparenten Anteil von oben bis unten entnehmen. Für eine optimale Gewinnung sollte auch ein geringes Volumen an roten Blutkörperchen entnommen werden (bis zu 10 % des Ausgangsvolumens der Probe). | Ein neues 5-mL-Rörchen verwenden                                                   | Ein neues 14-mL-Rörchen verwenden                                                                                                                        | Ein neues 50-mL-Rörchen verwenden                                                                                                                          |
| 7       | RapidSpheres™ in das neue Rörchen mit den angereicherten Zellen geben.                                                                                                                                                                                                                                                          | Dasselbe Volumen verwenden wie in Schritt 4                                        | Dasselbe Volumen verwenden wie in Schritt 4                                                                                                              | Dasselbe Volumen verwenden wie in Schritt 4                                                                                                                |
|         | Mischen und inkubieren.                                                                                                                                                                                                                                                                                                         | 5 Minuten bei RT stehen lassen                                                     | 5 Minuten bei RT stehen lassen                                                                                                                           | 5 Minuten bei RT stehen lassen                                                                                                                             |
| 8       | Das Rörchen aus dem Magneten entfernen und das Rörchen aus Schritt 7 (ohne Verschluss) in den Magneten geben und für eine zweite Trennung inkubieren.                                                                                                                                                                           | 5 Minuten bei RT stehen lassen                                                     | 5 Minuten bei RT stehen lassen                                                                                                                           | 5 Minuten bei RT stehen lassen                                                                                                                             |
| 9       | Die angereicherte Zellsuspension vorsichtig in ein neues Rörchen pipettieren*** (nicht gießen).<br>HINWEIS: Nur den transparenten Anteil entnehmen.                                                                                                                                                                             | Ein neues 5-mL-Rörchen verwenden                                                   | Ein neues 14-mL-Rörchen verwenden                                                                                                                        | Ein neues 50-mL-Rörchen verwenden                                                                                                                          |
| 10      | Das Rörchen aus dem Magneten entfernen und das neue Rörchen aus Schritt 9 (ohne Verschluss) mit den angereicherten Zellen in den Magneten geben und für eine dritte Trennung inkubieren.                                                                                                                                        | 5 Minuten bei RT stehen lassen                                                     | 5 Minuten bei RT stehen lassen                                                                                                                           | 5 Minuten bei RT stehen lassen                                                                                                                             |
| 11      | Die angereicherte Zellsuspension vorsichtig in ein neues Rörchen pipettieren*** (nicht gießen).<br>HINWEIS: Nur den transparenten Anteil entnehmen.                                                                                                                                                                             | Die isolierten Zellen sind gebrauchsfertig                                         | Die isolierten Zellen sind gebrauchsfertig                                                                                                               | Die isolierten Zellen sind gebrauchsfertig                                                                                                                 |

RT - Raumtemperatur (15 - 25 °C)

\*\*\* Nehmen Sie den gesamten Überstand auf einmal in eine einzige Pipette auf (benutzen Sie z. B. eine 2 mL serologische Pipette [Katalog-Nr. 38002] für das EasyEights™ 5 mL Rörchen; für das EasyEights™ 14 mL Rörchen empfiehlt sich eine 10 mL serologische Pipette [Katalog-Nr. 38004]).

Tabelle 3. Protokoll für EasySep™ Direct HLA B Cell Isolation Kit für MILZ oder LYMPHKNOTEN

|         |                                                                                                                                                                        | EASYSEP™ MAGNETEN                                                                                                        |                                                                                                                                                          |
|---------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| SCHRITT | ANLEITUNG                                                                                                                                                              |  <b>EasySep™</b><br>(Katalog-Nr. 18000) | <b>“The Big Easy”</b><br>(Katalog-Nr. 18001)                          |
| 1       | Probe innerhalb des Volumenbereichs entnehmen.                                                                                                                         | 0,5 - 1,5 mL                                                                                                             | 1 - 7 mL                                                                                                                                                 |
|         | Probe in das vorgeschriebene Röhrchen geben.                                                                                                                           | 5 mL (12 x 75 mm) Rundboden-Röhrchen aus Polystyrol<br>(z. B. Katalog-Nr. 38007)                                         | 14 mL (17 x 95 mm) Rundboden-Röhrchen aus Polystyrol<br>(z. B. Katalog-Nr. 38008)                                                                        |
| 2       | Isolierungs-Cocktail zur Probe hinzugeben.<br>HINWEIS: Cocktail nicht verwirbeln.                                                                                      | 50 µL/mL Probe                                                                                                           | 50 µL/mL Probe                                                                                                                                           |
|         | Mischen und inkubieren.                                                                                                                                                | 5 Minuten bei RT stehen lassen                                                                                           | 5 Minuten bei RT stehen lassen                                                                                                                           |
| 3       | Vortex RapidSpheres™.<br>HINWEIS: Die Teilchen sollten gleichmäßig verteilt erscheinen.                                                                                | 30 Sekunden                                                                                                              | 30 Sekunden                                                                                                                                              |
| 4       | RapidSpheres™ zur Probe hinzugeben. Durch vorsichtiges Auf- und Abpipettieren (2 bis 3 Mal) vermischen.                                                                | 50 µL/mL Probe                                                                                                           | 50 µL/mL Probe                                                                                                                                           |
| 5       | Empfohlenes Medium hinzugeben, um die Probe bis zum angegebenen Volumen aufzufüllen.                                                                                   | Auf 2,5 mL auffüllen                                                                                                     | <ul style="list-style-type: none"> <li>Bei Proben ≤ 5 mL auf das doppelte Volumen auffüllen</li> <li>Bei Proben &gt; 5 mL auf 10 mL auffüllen</li> </ul> |
|         | Das Röhrchen (ohne Verschluss) in den Magneten geben und inkubieren.                                                                                                   | 3 Minuten bei RT stehen lassen                                                                                           | 3 Minuten bei RT stehen lassen                                                                                                                           |
| 6       | Den Magneten aufnehmen und in einer fließenden Bewegung den Magneten und das Röhrchen invertieren und die angereicherte Zellsuspension* in ein neues Röhrchen gießen.  | Ein neues 5-mL-Röhrchen verwenden                                                                                        | Ein neues 14-mL-Röhrchen verwenden                                                                                                                       |
| 7       | RapidSpheres™ in das neue Röhrchen mit den angereicherten Zellen geben. Durch vorsichtiges Auf- und Abpipettieren (2 bis 3 Mal) vermischen.                            | Dasselbe Volumen verwenden wie in Schritt 4                                                                              | Dasselbe Volumen verwenden wie in Schritt 4                                                                                                              |
| 8       | Das Röhrchen aus dem Magneten entfernen und das Röhrchen aus Schritt 7 (ohne Verschluss) in den Magneten geben und für eine zweite Trennung inkubieren.                | 3 Minuten bei RT stehen lassen                                                                                           | 3 Minuten bei RT stehen lassen                                                                                                                           |
| 9       | Den Magneten aufnehmen und in einer fließenden Bewegung den Magneten und das Röhrchen** invertieren und die angereicherte Zellsuspension in ein neues Röhrchen gießen. | Die isolierten Zellen sind gebrauchsfertig                                                                               | Die isolierten Zellen sind gebrauchsfertig                                                                                                               |

RT - Raumtemperatur (15 - 25 °C)

\* Nach der ersten magnetischen Trennung können die gewonnenen Zellen eine erhebliche Menge roter Blutkörperchen enthalten und ähnlich wie die ursprüngliche, unverarbeitete Probe menschlichen Vollbluts aussehen.

\*\* Um die Kontaminierung der isolierten Zellen durch rote Blutkörperchen zu minimieren, gießen Sie die Probe entlang eines sauberen Bereichs des Röhrchens ab (d.h. an der dem Eingießbereich gegenüberliegenden Seite).

Tabelle 4. Protokoll für EasySep™ Direct HLA B Cell Isolation Kit für MILZ oder LYMPHKNOTEN

|      |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                  | AIMANTS EASYSEP™                                                                                      |                                                                                                                                                              |
|------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| PASO | INSTRUCCIONES                                                                                                                                                                                                                                                                                                                    | EasyEights™ (no. catálogo 18103)                                                                      |                                                                                                                                                              |
|      |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                  |  <b>Tubo de 5 mL</b> |  <b>Tubo de 14 mL</b>                                                     |
| 1    | Probe innerhalb des Volumenbereichs entnehmen.                                                                                                                                                                                                                                                                                   | 0,5 - 1,5 mL                                                                                          | 1,5 - 7 mL                                                                                                                                                   |
|      | Probe in das vorgeschriebene Röhrchen geben.                                                                                                                                                                                                                                                                                     | 5 mL (12 x 75 mm)<br>Rundboden-Röhrchen aus Polystyrol<br>(z. B. Katalog-Nr. 38007)                   | 14 mL (17 x 95 mm)<br>Rundboden-Röhrchen aus Polystyrol<br>(z. B. Katalog-Nr. 38008)                                                                         |
| 2    | Isolierungs-Cocktail zur Probe hinzugeben.<br>HINWEIS: Cocktail nicht verwirbeln.                                                                                                                                                                                                                                                | 50 µL/mL Probe                                                                                        | 50 µL/mL Probe                                                                                                                                               |
|      | Mischen und inkubieren.                                                                                                                                                                                                                                                                                                          | 5 Minuten bei RT stehen lassen                                                                        | 5 Minuten bei RT stehen lassen                                                                                                                               |
| 3    | Vortex RapidSpheres™.<br>HINWEIS: Die Teilchen sollten gleichmäßig verteilt erscheinen.                                                                                                                                                                                                                                          | 30 Sekunden                                                                                           | 30 Sekunden                                                                                                                                                  |
| 4    | RapidSpheres™ zur Probe hinzugeben. Durch vorsichtiges Auf- und Abpipettieren (2 bis 3 Mal) vermischen.                                                                                                                                                                                                                          | 50 µL/mL Probe                                                                                        | 50 µL/mL Probe                                                                                                                                               |
| 5    | Empfohlenes Medium hinzugeben, um die Probe bis zum angegebenen Volumen aufzufüllen. Durch vorsichtiges Auf- und Abpipettieren (2 bis 3 Mal) vermischen.                                                                                                                                                                         | Auf 2,5 mL auffüllen                                                                                  | <ul style="list-style-type: none"> <li>• Bei Proben ≤ 5 mL auf das doppelte Volumen auffüllen</li> <li>• Bei Proben &gt; 5 mL auf 10 mL auffüllen</li> </ul> |
|      | Das Röhrchen (ohne Verschluss) in den Magneten geben und inkubieren.                                                                                                                                                                                                                                                             | 3 Minuten bei RT stehen lassen                                                                        | 3 Minuten bei RT stehen lassen                                                                                                                               |
| 6    | Die angereicherte Zellsuspension vorsichtig in ein neues Röhrchen pipettieren*** (nicht gießen).<br>HINWEIS: Den gesamten transparenten Anteil von oben bis unten entnehmen. Für eine optimale Gewinnung sollte auch ein geringes Volumen an roten Blutkörperchen entnommen werden (bis zu 10 % des Ausgangsvolumens der Probe). | Ein neues 5-mL-Röhrchen verwenden                                                                     | Ein neues 14-mL-Röhrchen verwenden                                                                                                                           |
| 7    | RapidSpheres™ in das neue Röhrchen mit den angereicherten Zellen geben. Durch vorsichtiges Auf- und Abpipettieren (2 bis 3 Mal) vermischen.                                                                                                                                                                                      | Dasselbe Volumen verwenden wie in Schritt 4                                                           | Dasselbe Volumen verwenden wie in Schritt 4                                                                                                                  |
| 8    | Das Röhrchen aus dem Magneten entfernen und das Röhrchen aus Schritt 7 (ohne Verschluss) in den Magneten geben und für eine zweite Trennung inkubieren.                                                                                                                                                                          | 3 Minuten bei RT stehen lassen                                                                        | 3 Minuten bei RT stehen lassen                                                                                                                               |
| 9    | Die angereicherte Zellsuspension vorsichtig in ein neues Röhrchen pipettieren*** (nicht gießen).<br>HINWEIS: Nur den transparenten Anteil entnehmen.                                                                                                                                                                             | Ein neues 5-mL-Röhrchen verwenden<br>Für Lymphknoten: Die isolierten Zellen sind gebrauchsfertig      | Ein neues 14-mL-Röhrchen verwenden<br>Für Lymphknoten: Die isolierten Zellen sind gebrauchsfertig                                                            |
| 10   | Das Röhrchen aus dem Magneten entfernen und das neue Röhrchen aus Schritt 9 (ohne Verschluss) mit den angereicherten Zellen in den Magneten geben und für eine dritte Trennung inkubieren.                                                                                                                                       | <b>Für Milz:</b> 3 Minuten bei RT stehen lassen                                                       | <b>Für Milz:</b> 3 Minuten bei RT stehen lassen                                                                                                              |
| 11   | Die angereicherte Zellsuspension vorsichtig in ein neues Röhrchen pipettieren*** (nicht gießen).<br>HINWEIS: Nur den transparenten Anteil entnehmen.                                                                                                                                                                             | <b>Für Milz:</b> Die isolierten Zellen sind gebrauchsfertig                                           | <b>Für Milz:</b> Die isolierten Zellen sind gebrauchsfertig                                                                                                  |

RT - Raumtemperatur (15 - 25 °C)

\*\*\* Nehmen Sie den gesamten Überstand auf einmal in eine einzige Pipette auf (benutzen Sie z. B. eine 2 mL serologische Pipette [Katalog-Nr. 38002] für das EasyEights™ 5 mL Röhrchen; für das EasyEights™ 14 mL Röhrchen empfiehlt sich eine 10 mL serologische Pipette [Katalog-Nr. 38004]).

## Gebrauchsanleitung – Protokoll für den voll automatisierten RoboSep™

Probenvorbereitung und empfohlenes Medium: siehe Seiten 1 und 2. Genaue Anweisungen zum RoboSep™ Verfahren sind in Tabelle 5 zu finden.

HINWEIS: Bitte stellen Sie sicher, dass für die Verwendung von RoboSep™-S mindestens Software Version v.1.2.0.2 und das passende RoboSep™ Direct Karussell installiert sind. Für mehr Informationen wenden Sie sich bitte an techsupport@stemcell.com.

**Tabelle 5. Protokoll für RoboSep™ Direct HLA B Cell Isolation Kit für VOLLBLUT, BUFFY-COAT, MILZ, oder LYMPHKNOTEN**

| SCHRITT | ANLEITUNG                                                                               | RoboSep™<br>(Katalog-Nr. 21000)                                                                                                                                                                                                                                                                     |  |
|---------|-----------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------|
| 1       | Probe mit der angegebenen Zellkonzentration innerhalb des Volumenbereichs vorbereiten.  | <b>Für Milz oder Lymphknoten:</b> 1 - 6 mL mit $1 - 100 \times 10^6$ Zellen/mL<br><b>Für Vollblut:</b> 1 - 6 mL<br><b>Für Buffy-Coat:</b> 2 - 6 mL                                                                                                                                                  |                                                                                     |
|         | Probe in das vorgeschriebene Röhrchen geben.                                            | 14 mL (17 x 95 mm) Rundboden-Röhrchen aus Polystyrol (z. B. Katalog-Nr. 38008)                                                                                                                                                                                                                      |                                                                                     |
| 2       | Protokoll wählen.                                                                       | <ul style="list-style-type: none"> <li>• EasySep Direct HLA T Cell Isolation 89684 - WB, Spleen, LN</li> <li>• EasySep Direct HLA T Cell Isolation 89684 - For WB, Spleen, LN - High RBC Depletion<sup>†</sup></li> <li>• EasySep Direct HLA T Cell Isolation 89684 - For BC<sup>§</sup></li> </ul> |                                                                                     |
| 3       | Vortex RapidSpheres™.<br>HINWEIS: Die Teilchen sollten gleichmäßig verteilt erscheinen. | 30 Sekunden                                                                                                                                                                                                                                                                                         |                                                                                     |
| 4       | Karussell beladen.                                                                      | Aufforderungen auf dem Bildschirm befolgen<br>HINWEIS: Dieses Protokoll erfordert das Laden von zwei Röhrchen mit EasySep™ Direct RapidSpheres™ 50300 auf das Karussell für einen einzigen Lauf; eins in Position ▲ (Dreieck) und eins in Position ● (Kreis).                                       |                                                                                     |
|         | Protokoll starten.                                                                      | Die grüne „Run“-Taste drücken                                                                                                                                                                                                                                                                       |                                                                                     |
| 5       | Karussell nach beendetem Durchlauf entladen.                                            | Die isolierten Zellen sind gebrauchsfertig                                                                                                                                                                                                                                                          |                                                                                     |

<sup>†</sup> Dieses Protokoll sorgt für eine hohe Erythrozytendepletion bei einer leichten Verringerung der Erholung

<sup>§</sup> Dieses Protokoll verwendet doppelt so viele EasySep™-Reagenzien

## Hinweise und Tipps

### ENTFERNEN DER VERBLEIBENDEN ROTEN BLUTKÖRPERCHEN AUS DEN ISOLIERTEN ZELLEN

Normalerweise ist nach der Zellisolierung keine weitere Entfernung der roten Blutkörperchen notwendig. Sollten nach der Zentrifugierung nach dem Ende des Protokolls noch restliche rote Blutkörperchen im isolierten Zellpellet sichtbar sein, resuspendieren Sie dieses in einem geringen Volumen (0,2 - 2,5 mL) des empfohlenen Mediums oder eines erwünschten Nährmediums auf und geben Sie es für eine zusätzliche 5-minütige Trennung in einen kleineren EasySep™ Magneten. Sammeln Sie den Überstand. Die isolierten Zellen sind nun gebrauchsfertig für Folgeanwendungen. Verbleibende rote Blutkörperchen können auch in einer Ammoniumchloridlösung lysiert werden (Katalog-Nr. 07800).

### REINHEITSANALYSE

Benutzen Sie die folgenden fluorochrom-konjugierten Antikörperklone für die Reinheitsanalyse der B-Zellen durch Durchflusszytometrie:

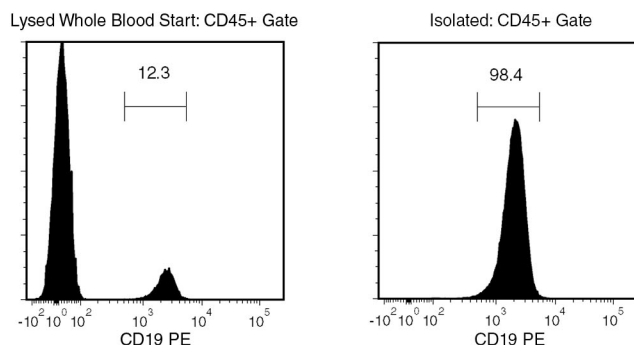
- Anti-Human CD19 Antibody, Clone HIB19 (Katalog-Nr. #60005), und
- Anti-Human CD45 Antibody, Clone HI30 (Katalog-Nr. #60018)

HINWEIS: Es wird empfohlen, die Reinheitsanalyse an den CD45+ Zellen durchzuführen, um Kontaminationen, Blutplättchen und rote Blutkörperchen auszuschließen. Falls notwendig bestimmen Sie den Lebendzellanteil (z.B. Propidium Iodide [Katalog-Nr. 75002]; 7-AAD [7- Aminoactinomycin D; Katalog-Nr. #75001]).

HINWEIS: Der Benutzer ist für die Validierung der Leistung der isolierten Zellen in nachgeschalteten Assays verantwortlich.

## Daten

Ausgehend von menschlichem Vollblut von normalen, gesunden Spendern beträgt der typische B-Zellen-Gehalt (CD19+) des unlysierten isolierten Endanteils 89 - 99,9% (gated auf CD45).



Im Beispiel oben beträgt der B-Zellen-Gehalt (CD19+) der lysierten Vollblut-Ausgangssprobe und des unlysierten isolierten Endanteils jeweils 12,3% und 98,4% (gated auf CD45).

DIE PRODUKTE SIND NUR FÜR FORSCHUNGSZWECKE UND NICHT FÜR DIE DIAGNOSTISCHE ODER THERAPEUTISCHE ZWECKE BEIM MENSCH ODER TIER BESTIMMT, SOFERN NICHT ANDERS ANGEZEIGT. WEITERE INFORMATIONEN ZUR QUALITÄT BEI STEMCELL FINDEN SIE AUF [WWW.STEMCELL.COM/COMPLIANCE](http://WWW.STEMCELL.COM/COMPLIANCE).

Copyright © 2025 by STEMCELL Technologies Inc. Alle Rechte vorbehalten, einschließlich Grafiken und Abbildungen. STEMCELL Technologies & Design, STEMCELL Shield Design, Scientists Helping Scientists, EasyEight, EasySep, RapidSpheres und RoboSep sind eingetragene Handelsmarken der STEMCELL Technologies Canada Inc. Alle anderen Handelsmarken sind das Eigentum ihrer jeweiligen Inhaber. STEMCELL hat sich zwar angemessen bemüht sicherzustellen, dass die von STEMCELL und deren Zulieferern zur Verfügung gestellten Informationen zutreffend sind, leistet jedoch keine Garantien oder Zusicherungen hinsichtlich der Richtigkeit oder Vollständigkeit dieser Informationen.