

## EasySep™人嗜酸性粒细胞分选试剂盒

可处理  $1 \times 10^9$  个细胞

产品号 #17956

#17956RF RoboSep™

负选

文档号 #1000029411 | 版本00



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

电话: 400 885 9050

E-MAIL: [INFO.CN@STEMCELL.COM](mailto:INFO.CN@STEMCELL.COM)

### 产品介绍

通过免疫磁珠负选，从新鲜的人外周血多形核细胞 (PMNCs) 中分离出无磁珠标记和高纯度的嗜酸性粒细胞 (CD16-CD66b+CD45+)。

- 操作简单、快捷，且无需分离柱
- 纯度高达99%
- 获得不带标记的活细胞

该试剂盒通过使用识别细胞特异性表面标志物的抗体来去除非嗜酸性粒细胞。非目的细胞用抗体和磁珠标记，并通过EasySep™磁极进行无柱分选。目的细胞可被简单地倾倒入新的试管中。分选后的细胞可立即用于下游应用，例如流式细胞术、培养或 DNA/RNA 提取。

### 包含组分

组分名称	组分号#	规格	储存方式	效期	成分
EasySep™人嗜酸性粒细胞分选抗体混合物	17956C	1 x 1 mL	2 - 8°C 储存，勿冷冻。	具体效期请见标签。	保存在PBS中的单克隆抗体混合物。
EasySep™ Dextran RapidSpheres™ 50103磁珠	50103	1 x 1 mL	2 - 8°C 储存，勿冷冻。	具体效期请见标签。	保存在水中的磁珠悬浮液。

PBS - 磷酸盐缓冲液

试剂盒组分可在室温 (15 - 25°C) 下运输，但应按照上述说明进行储存。

### 样本制备

重要：请勿使用葡聚糖沉降法制备细胞。

对全血进行红细胞 (RBC) 裂解 (可获得稍高的纯度)

1. 使用装有抗凝剂的采血管采集全血。
2. 小心进行常规密度梯度离心 (例如：使用Lymphoprep™；产品号 #18060)。请勿使用SepMate™。
3. 弃去血浆层、单个核细胞层和密度梯度离心液，保留全部红细胞沉淀。
4. 将9份氯化铵溶液 (产品号 #07800) 添加到1份红细胞沉淀中并混匀。
5. 在冰上孵育15分钟，然后以300 x g离心8分钟。
6. 去上清液，用冷的推荐缓冲液 (2 - 8°C) 洗涤沉淀，以250 x g离心10分钟。
7. 弃去上清液，并将细胞以  $5 \times 10^7$  细胞/mL 的浓度重悬于冷的推荐缓冲液中。

使用HetaSep™ 对全血进行红细胞沉降 (样本处理更快且无需裂解)。

1. 使用装有抗凝剂的采血管采集全血。
2. 将1份HetaSep™ (产品号 #07906) 和5份全血按比例混匀。根据HetaSep™和全血混合后的总体积，使用能装下样本的最小试管。为了尽可能多地回收白细胞，建议使用14 mL或更小的试管。
3. 室温下 (15 - 25°C)，以50 x g离心5分钟 (关闭刹车)。
4. 从离心机中取出试管，静置 (最多10分钟)，直至红细胞和血浆的界面约占总体积的40%。
5. 将富含白细胞的血浆 (红细胞层上面的一切) 收集到50 mL试管中，然后将冷的推荐缓冲液 (2 - 8°C) 和收集的细胞/血浆按4:1的比例混合。
6. 室温下，500 x g离心10分钟 (刹车设置为低)。
7. 弃去上清液，使用冷的推荐缓冲液清洗沉淀以去除多余的血小板，在室温下关闭刹车以120 x g离心10分钟。
8. 弃去上清液，并将细胞以  $5 \times 10^7$  细胞/mL 的浓度重悬于冷的推荐缓冲液中。

### 推荐缓冲液

EasySep™缓冲液 (产品号 #20144)，RoboSep™缓冲液 (产品号 #20104)；或者含2%胎牛血清 (FBS) 和1 mM EDTA的PBS。缓冲液应该不含Ca<sup>++</sup>和Mg<sup>++</sup>。

## 使用指南 – EasySep™手动实验流程

请参阅第1页了解样本制备和推荐缓冲液。有关每种磁极的详细使用方法，请参阅表1和表2。

表1.EasySep™人嗜酸性粒细胞分选试剂盒操作流程

		EASYSEPT™磁极	
步骤	说明	 EasySep™ (产品号 #18000)	 “The Big Easy” (产品号 #18001)
1	按指定细胞浓度制备样本，样本体积在范围内。	5 x 10 <sup>7</sup> 细胞/mL 0.25 - 2 mL	5 x 10 <sup>7</sup> 细胞/mL 1 - 6.5 mL
	将样本添加到所需的试管中。	5 mL (12 x 75 mm) 聚苯乙烯流式管 (如: 产品号 #38007)	14 mL (17 x 95 mm) 聚苯乙烯流式管 (如: 产品号 #38008)
2	在样本中加入分选抗体混合物。 注意：不要涡旋抗体混合物。	50 µL/mL 样本	50 µL/mL 样本
	混匀并孵育。	室温孵育5分钟	室温孵育5分钟
3	涡旋振荡RapidSpheres™磁珠。 注意：磁珠应呈均匀分散状态。	30秒	30秒
4	将RapidSpheres™磁珠加到样本中混匀。	50 µL/mL 样本 无需孵育，立即进行下一步	50 µL/mL 样本 无需孵育，立即进行下一步
5	添加推荐的缓冲液，将样本定容至指定体积。通过轻轻上下吹吸2 - 3次来混匀。	定容至2.5 mL	<ul style="list-style-type: none"> <li>若样本 ≤ 4 mL，定容至5 mL</li> <li>若样本 &gt; 4 mL，定容至10 mL</li> </ul>
	将试管（不加盖）放入磁极中并孵育。	室温孵育3分钟	室温孵育3分钟
6	拿起磁极，以一个连续的动作翻转磁极和试管*，倾倒入清液至一个新的试管中。	使用新的5 mL流式管	使用新的14 mL流式管
7	从磁极中取出试管，然后将新试管（不加盖）放入磁极中孵育以进行第二次分选。	室温孵育3分钟	室温孵育3分钟
8	拿起磁极，以一个连续的动作翻转磁极和试管*，倾倒入清液至一个新的试管中。	分选后的细胞可立即用于下游应用	分选后的细胞可立即用于下游应用

RT - 室温 (15 - 25°C)

\* 保持磁极和流式管倒置 2 - 3秒，然后恢复直立。不要摇晃或擦拭可能仍然挂在管口的任何液滴。

表2. EasySep™人嗜酸性粒细胞分选试剂盒操作流程

		EASYSEP™ 磁极	
步骤	说明	EasyEights™ (产品号 #18103)	
		5 mL 流式管	14 mL 流式管
1	按指定细胞浓度制备样本，样本体积在范围内。	5 x 10 <sup>7</sup> 细胞/mL 0.5 - 2 mL	5 x 10 <sup>7</sup> 细胞/mL 1 - 6.5 mL
	将样本添加到所需的试管中。	5 mL (12 x 75 mm) 聚苯乙烯流式管 (如: 产品号 #38007)	14 mL (17 x 95 mm) 聚苯乙烯流式管 (如: 产品号 #38008)
2	在样本中加入分选抗体混合物。 注意: 不要涡旋抗体混合物。	50 µL/mL 样本	50 µL/mL 样本
	混匀并孵育。	室温孵育5分钟	室温孵育5分钟
3	涡旋振荡RapidSpheres™磁珠。 注意: 磁珠应呈均匀分散状态。	30秒	30秒
4	将RapidSpheres™磁珠加到样本中混匀。	50 µL/mL 样本 无需孵育, 立即进行下一步	50 µL/mL 样本 无需孵育, 立即进行下一步
5	添加推荐的缓冲液, 将样本定容至指定体积。通过轻轻上下吹吸2 - 3次来混匀。	定容至2.5 mL	<ul style="list-style-type: none"> <li>若样本 ≤ 4 mL, 定容至5 mL</li> <li>若样本 &gt; 4 mL, 定容至10 mL</li> </ul>
	将试管 (不加盖) 放入磁极中并孵育。	室温孵育5分钟	室温孵育10分钟
6	小心地吸出 (切勿倾倒) 富集的细胞悬液**至一个新的试管。	使用新的5 mL管	使用新的14 mL管
7	从磁极中取出试管, 然后将新试管 (不加盖) 放入磁极中孵育以进行第二次分选。	室温孵育5分钟	室温孵育10分钟
8	小心地吸出 (切勿倾倒) 富集的细胞悬液**至一个新的试管。	分选后的细胞可立即用于下游应用	分选后的细胞可立即用于下游应用

RT - 室温 (15 - 25°C)

\*\* 使用一个移液管一次收集所有的上清液 (EasyEights™ 5 mL流式管使用一个 2 mL血清移液管 [产品号 #38002]; EasyEights™ 14 mL流式管使用一个 10 mL血清移液管[产品号 #38004])。

## 使用指南 – RoboSep™全自动实验流程

请参阅第1页了解样本制备和推荐缓冲液。有关RoboSep™的详细使用说明，请参阅表3。

表3. RoboSep™人嗜酸性粒细胞分选试剂盒操作流程

步骤	说明	RoboSep™ (产品号 #21000)
1	按指定细胞浓度制备样本，样本体积在范围内。	5 x 10 <sup>7</sup> 细胞/mL 1 - 6.5 mL
	将样本添加到所需的试管中。	14 mL (17 x 95 mm) 聚苯乙烯流式管 (如: 产品号 #38008)
2	选择实验程序。	人嗜酸性粒细胞负选 17956-高纯度
3	涡旋振荡RapidSpheres™磁珠。 注意：磁珠应呈均匀分散状态。	30秒
4	加载转盘。	根据屏幕上的提示操作
	启动实验程序。	按下绿色的“Run (运行)”按钮
5	运行完成后，卸载转盘。	分选后的细胞可立即用于下游应用

## 注意事项和提示

### 纯度评估

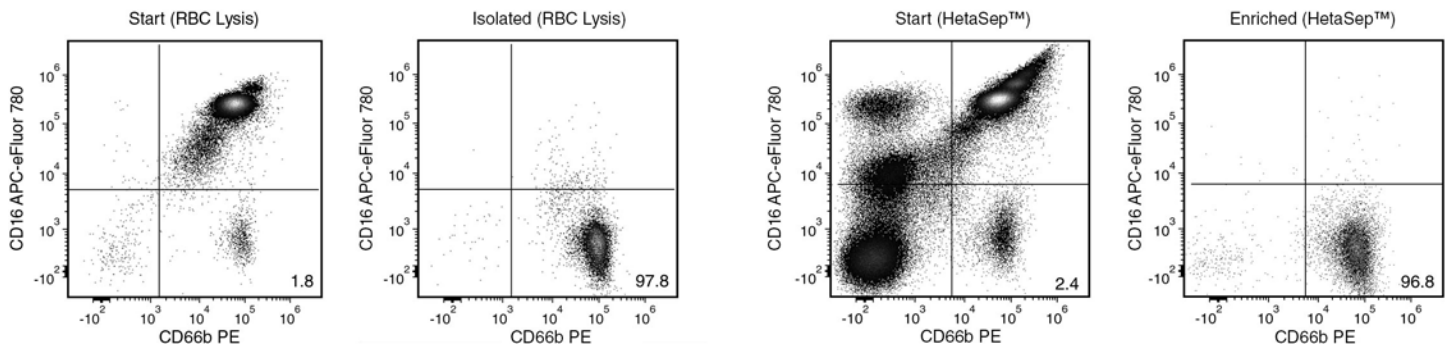
要通过流式细胞术评估嗜酸性粒细胞的纯度，请使用以下克隆号的流式抗体：

- 抗人CD16抗体，克隆3G8 (产品号 #60041)，以及
- 抗人CD66b抗体，克隆G10F5 (产品号 #60086)
- 抗人CD45抗体，克隆HI30 (产品号 #60018；可选)

注：嗜酸性粒细胞表型为CD16-CD66b+，前向角散射 (FSC) 低而侧向角散射 (SSC) 高。

另外，也可以通过对富集的细胞进行Wright's或May-Grunwald染色 (如Sigma-Aldrich 产品号 #W0625或#205435) 来评估纯度。

## 实验数据



起始样本为使用红细胞裂解或HetaSep™制备的全血，分选后的嗜酸性粒细胞含量 (CD16-CD66b+CD45+) 通常为96.5 ± 2.5% (平均值±标准差，使用紫色EasySep™磁极)。在上述实验中，使用红细胞裂解制备的起始样本和最终分选后的目的细胞纯度分别为1.8%和97.8% (以CD45+设门)，而使用HetaSep™制备的样本，纯度分别为2.4%和96.8% (以CD45+设门)。

产品仅供研究使用。除非另行说明，不可用于人或动物的诊断或治疗。若想了解更多关于产品质量和合规的信息，请访问[WWW.STEMCELL.COM/COMPLIANCE](http://WWW.STEMCELL.COM/COMPLIANCE)。

版权所有©STEMCELL Technologies Inc. 2025。保留一切权利，包括图形和图像。STEMCELL Technologies及其设计及徽标，以及Scientists Helping Scientists、EasyEights、HetaSep、EasySep、RapidSpheres、RoboSep、和SepMate均是STEMCELL Technologies的商标。Lymphoprep是Serumwerk Bernburg AG的商标。以Lymphoprep品牌名称销售的产品也由Serumwerk Bernburg AG制造。所有商标均为各自所有者所有。STEMCELL尽力确保STEMCELL及其供应商提供的信息正确无误，对此类信息的准确性或完整性不作任何保证或声明。