

# EasySep™ Direct 人 NK 细胞分选试剂盒

可处理 100 mL 全血

产品号 #19665

负选

文档号 #10000035811 | 版本00



Scientists Helping Scientists™ | WWW.STEMCELL.COM

电话: 400 885 9050

E-MAIL: INFO.CN@STEMCELL.COM

## 产品介绍

通过免疫磁珠负选直接从全血中分离高纯度的自然杀伤（NK）细胞。

该试剂盒的优势有：

- 99.9%的红细胞（RBC）去除率，无需密度梯度离心、沉降或裂解
- 分选获得的细胞纯度高达94%
- 操作简单、快捷，且无需分离柱
- 分选得到的细胞不带标记

该试剂盒通过使用识别特异性细胞表面标志物的抗体来去除非NK细胞。非目的细胞用抗体和EasySep™ Direct RapidSpheres™磁珠标记，使用EasySep™磁极进行分选。轻松地将目的细胞收集到新试管中，分选后的细胞可立即用于下游应用，例如流式细胞术、培养或DNA/RNA 提取。

## 包含组分

组分名称	组分号#	规格	储存方式	效期	成分
EasySep™ Direct 人 NK 细胞分选抗体混合物	19665C	2 x 2.5 mL	2 - 8°C 储存，勿冷冻。	具体效期请见标签。	保存在PBS中的单克隆抗体混合物。
EasySep™ Direct RapidSpheres™ 50300磁珠	50300	4 x 2.5 mL	2 - 8°C 储存，勿冷冻。	具体效期请见标签。	保存在PBS中的磁珠和单克隆抗体悬液。

PBS - 磷酸盐缓冲液

试剂盒组分可在室温（15 - 25°C）下运输，但应在收到后立即冷藏。

抗体混合物中可能会观察到沉淀，但不会影响使用效果。

## 样本制备

为了最佳去除红细胞，请使用肝素或酸式枸橼酸盐葡萄糖（ACD）作为抗凝剂来收集血液。不建议使用K2EDTA或K3EDTA作为抗凝剂。

为了获得最佳回收率，请使用未处理的人全血。对于存放时间超过24小时的样本，目的细胞的回收率会降低。

可处理的血液样本量取决于分选过程中所用的EasySep™磁极。血液样本必须放置在所需的试管中，并正确地放入合适的EasySep™磁极中（参见表1和2）。

## 推荐缓冲液

D-PBS（不含Ca<sup>++</sup>和Mg<sup>++</sup>；产品号 #37350）。

## 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说明，请参阅表 1 和表 2。

表 1. EasySep™ Direct 人 NK 细胞分选试剂盒操作流程

		EASYSEP™ 磁极	
步骤	说明	 EasySep™ (产品号 #18000)	 “The Big Easy” (产品号 #18001)
1	收集样本，样本体积在范围内。	0.5 - 1.5 mL	1.5 - 7 mL
	将全血样本添加到所需的试管中。	5 mL (12 x 75 mm) 聚苯乙烯圆底流式管 (如: 产品号 #38007)	14 mL (17 x 95 mm) 聚苯乙烯圆底流式管 (如: 产品号 #38008)
2	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。	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
5	添加推荐缓冲液，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 ≤ 5 mL，定容至两倍样本体积</li> <li>· 若样本 &gt; 5 mL，定容至 10 mL</li> </ul>
6	将试管（不加盖）放入磁极中并孵育。	室温孵育 5 分钟	室温孵育 5 分钟
7	拿起磁极，以一个连续的动作翻转磁极和试管，倾倒入富集的细胞悬液*至一个新的试管中。	使用新的 5 mL 流式管	使用新的 14 mL 流式管
8	将 RapidSpheres™ 添加到含有富集细胞的新试管中。	使用与步骤 4 相同的体积	使用与步骤 4 相同的体积
	混匀并孵育。	室温孵育 5 分钟	室温孵育 5 分钟
9	从磁极中取出流式管，然后将第 8 步中的试管（不加盖）放入磁极中孵育以进行第二次分选。	室温孵育 5 分钟	室温孵育 5 分钟
10	拿起磁极，以一个连续的动作翻转磁极和试管**，倾倒入上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	使用新的 14 mL 流式管
11	从磁极中取出流式管，然后将第 10 步中的新试管（不加盖）放入磁极中孵育以进行第三次分选。	---	室温孵育 5 分钟
12	拿起磁极，以一个连续的动作翻转磁极和试管**，倾倒入上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

RT - 室温 (15 - 25°C)

\* 第一次磁珠分选后，收集的细胞中可能含有大量红细胞，并且看起来可能与起始未处理的人全血样本相似。

\*\* 为了最大限度地减少目的细胞中的红细胞污染，请沿着试管的干净区域（即样本加入时的另一侧）倒出样本。

表2. EasySep™ Direct 人 NK 细胞分选试剂盒操作流程

步骤	说明	EASYSEPT™ 磁极		
		 EasyEights™ (产品号 #18103) 5 mL 流式管	 14 mL 流式管	 Easy 50 (产品号 #18002)
1	收集样本，样本体积在范围内。	0.5 - 1.5 mL	1.5 - 7 mL	7 - 30 mL
	将全血样本添加到所需的试管中。	5 mL (12 x 75 mm) 聚苯乙烯圆底流式管 (如: 产品号 #38007)	14 mL (17 x 95 mm) 聚苯乙烯圆底流式管 (如: 产品号 #38008)	50 mL (30 x 115 mm) 锥形管 (如: 产品号 #38010)
2	在样本中加入分选抗体混合物。 注意: 不要涡旋抗体混合物。	50 µL/mL 样本	50 µL/mL 样本	50 µL/mL 样本
	混匀并孵育。	室温孵育5分钟	室温孵育5分钟	室温孵育5分钟
3	涡旋振荡RapidSpheres™磁珠。 注意: 磁珠应呈均匀分散状态。	30秒	30秒	30秒
4	将RapidSpheres™磁珠加到样本中。	50 µL/mL 样本	50 µL/mL 样本	50 µL/mL 样本
	混匀并孵育。	室温孵育5分钟	室温孵育5分钟	室温孵育5分钟
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 ≤ 5 mL，定容至两倍样本体积</li> <li>若样本 &gt; 5 mL，定容至10 mL</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>若样本 ≤ 25 mL，定容至两倍样本体积</li> <li>若样本 &gt; 25 mL，定容至50 mL</li> </ul>
6	将试管（不加盖）放入磁极中并孵育。	室温孵育5分钟	室温孵育5分钟	室温孵育10分钟
7	小心地吸出***（切勿倾倒）富集的细胞悬液至一个新的试管管。 注意: 自上而下收集所有清澈的部分。为了获得最佳回收率，可收集少量红细胞（最多为起始样本体积的10%）。	使用新的5 mL流式管	使用新的14 mL流式管	使用新的50 mL锥形管
8	将RapidSpheres™磁珠添加到含有富集细胞的新试管中。	25 µL/mL初始样本体积	25 µL/mL初始样本体积	使用与步骤4相同的体积
	混匀并孵育。	室温孵育5分钟	室温孵育5分钟	室温孵育5分钟
9	从磁极中取出流式管，然后将第8步中的试管（不加盖）放入磁极中孵育以进行第二次分选。	室温孵育5分钟	室温孵育5分钟	室温孵育5分钟
10	小心地吸出***（切勿倾倒）富集的细胞悬液至一个新的试管。 注意: 只收集清澈的部分。	使用新的5 mL流式管	使用新的14 mL流式管	使用新的50 mL锥形管
11	将RapidSpheres™磁珠添加到含有富集细胞的新试管中。	25 µL/mL初始样本体积	25 µL/mL初始样本体积	--
	混匀并孵育。	室温孵育5分钟	室温孵育5分钟	--
12	从磁极中取出流式管，然后将第10步中含富集细胞的新试管（不加盖）放入磁极中孵育以进行第三次分选。	室温孵育5分钟	室温孵育5分钟	室温孵育5分钟
13	小心地吸出***（切勿倾倒）富集的细胞悬液至一个新的试管。 注意: 只收集清澈的部分。	分选后的细胞可立即用于下游应用	分选后的细胞可立即用于下游应用	分选后的细胞可立即用于下游应用

RT - 室温 (15 - 25°C)

\*\*\* 使用一个移液管一次收集所有富集的细胞悬液（例如，对于EasyEights™ 5 mL流式管，使用一个2 mL血清移液管 [产品号 #38002]；对于EasyEights™ 14 mL流式管，使用一个10 mL血清移液管 [产品号 #38004]）。

## 注意事项和提示

去除分选后的细胞中残留的红细胞

细胞分选后通常不需要进一步去除红细胞。如果进行实验流程最后的离心后，在分选的细胞沉淀中仍然可见残留的红细胞，请使用小体积（0.2 - 2.5 mL）推荐缓冲液或所需的培养基重悬，并置于更小的EasySep™磁极中进行额外5分钟的分选。收集上清液；分选后的细胞可直接用于下游应用。残留的红细胞也可以使用氯化铵溶液（产品号 #07800）裂解。

纯度评估

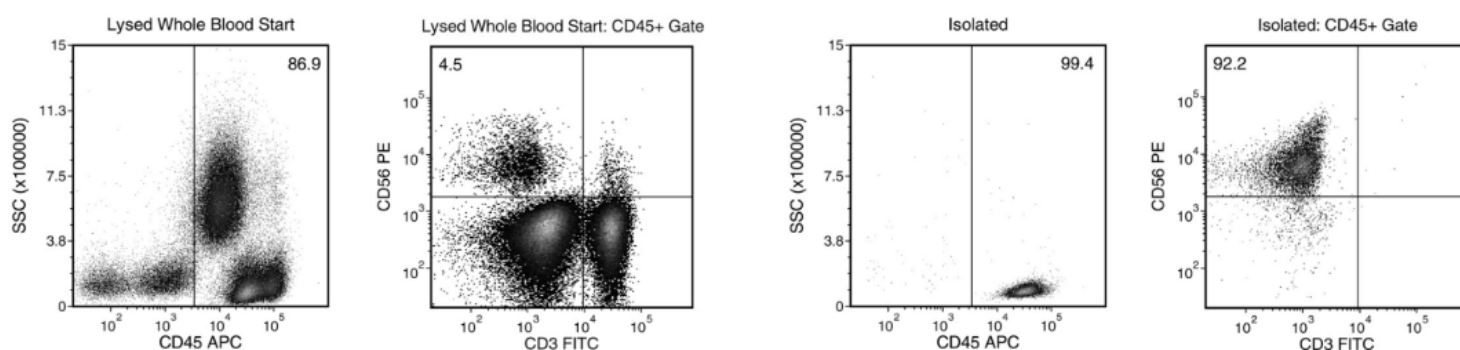
要通过流式细胞术评估NK细胞（CD3-CD56+）的纯度，请使用以下克隆号的荧光偶联流式抗体：

- 抗人CD3抗体，克隆UCHT1（产品号 #60011），以及
- 抗人CD56抗体，克隆号HCD56（产品号 #60021），以及
- 抗人CD45抗体，克隆HI30（产品号 #60018）或克隆2D1（产品号 #60123）

注意：建议评估CD45+细胞的纯度，以排除碎片、血小板和红细胞。如有必要，请加入活性检测染料（例如Propidium Iodide (PI) [产品号 #75002] 或 7-AAD [7-Aminoactinomycin D; 产品号 #75001]）。

## 实验数据

起始样本为来自正常健康供者的全血，未裂红的分选后的NK细胞（CD3-CD56+）含量通常为 $90.4 \pm 4.0\%$ （以CD45设门）或 $88.8 \pm 3.7\%$ （未以CD45设门）。



在上述示例中，裂红的全血起始样本和未裂红的分选后的样本中，NK细胞（CD3-CD56+）含量分别为4.5%和92.2%（以CD45设门），或3.9%和91.6%（未以CD45设门）。未裂红的全血起始样本中的NK细胞含量为0.011%（数据未显示）。

产品仅供研究使用。除非另行说明，不可用于人或动物的诊断或治疗。有关STEMCELL质量控制的更多信息，请参阅[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、EasySep、EasyEights和RapidSpheres均是STEMCELL Technologies Canada Inc.的商标。所有商标均为各自所有者所有。STEMCELL尽力确保STEMCELL及其供应商提供的信息正确无误，但对此类信息的准确性或完整性不作任何保证或声明。