

EasySep™ Direct 人总粒细胞 分选试剂盒

可处理 100 mL 全血

产品号 #19659

负选

文档号 #10000035812 | 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人全血中分离高纯度的粒细胞。

该试剂盒的优势包括：

- > 99.9%的红细胞去除率，无需密度梯度离心、沉降或裂解
- 分选获得的细胞纯度高达99%
- 操作简单、快捷，且无需分离柱
- 分选得到的细胞不带标记

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

包含组分

组分名称	组分号#	规格	储存方式	效期	成分
EasySep™ Direct人总粒细胞分选抗体混合物	19659C	2 x 2.5 mL	2 - 8°C储存，勿冷冻。	具体效期请见标签。	保存在PBS中的单克隆抗体混合物。包含Fc受体阻断抗体。
EasySep™ Direct RapidSpheres™ 50300磁珠	50300	4 x 2.5 mL	2 - 8°C储存，勿冷冻。	具体效期请见标签。	保存在PBS中的磁珠和单克隆抗体悬浮液。

PBS - 磷酸盐缓冲液

试剂盒组分可在室温（15 - 25°C）下运输，但应按照上述说明进行储存。

样本制备

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

为了最佳的回收率，请使用未经处理的人全血。如样本存放时间超过24小时，目的细胞的回收率会降低。

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

推荐缓冲液

含有1mM EDTA的PBS。缓冲液应该不含Ca⁺⁺和Mg⁺⁺。

使用指南 – EasySep™手动实验流程

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

表1. EasySep™ Direct 人总粒细胞分选试剂盒操作流程

		EASYSEPTM 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 - 2 mL	1 - 6 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 100 mm) 聚苯乙烯圆底流式管 (如: 产品号 #38008)
2	涡旋振荡RapidSpheres™磁珠。 注意: 磁珠应呈均匀分散状态。	30秒	30秒
3	在样本中加入分选抗体混合物。	50 µL/mL 样本	50 µL/mL 样本
4	将RapidSpheres™磁珠加到样本中。	50 µL/mL 样本	50 µL/mL 样本
5	混匀并孵育。	室温孵育5分钟	室温孵育5分钟
6	添加推荐缓冲液，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4 mL	· 若样本 < 4 mL，定容至10 mL · 若样本 ≥ 4 mL，定容至12 mL
7	将试管（不加盖）放入磁极中并孵育。	室温孵育5分钟	室温孵育5分钟
8	拿起磁极，以一个连续的动作翻转磁极和试管，倾倒入富集的细胞悬液 [‡] 至一个新的试管中。	使用新的5 mL流式管	使用新的14 mL流式管
9	将RapidSpheres™磁珠添加到含有富集细胞的新试管中。	使用与步骤4相同的体积	使用与步骤4相同的体积
	混匀并孵育。	室温孵育5分钟	室温孵育5分钟
10	从磁极中取出试管，然后将第9步中的试管（不加盖）放入磁极中孵育以进行第二次分选。	室温孵育5分钟	室温孵育5分钟
11	拿起磁极，以一个连续的动作翻转磁极和试管 ^{**} ，倾倒入富集的细胞悬液至一个新的试管中。	使用新的5 mL流式管	使用新的14 mL流式管
12	从磁极中取出试管，然后将新试管（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
13	拿起磁极，以一个连续的动作翻转磁极和试管 ^{**} ，倾倒入富集的细胞悬液至一个新的试管中。	分选后的细胞可立即用于下游应用	分选后的细胞可立即用于下游应用

RT - 室温 (15 - 25°C)

[‡] 当使用最大体积定容时，样本可能会高过磁极顶部。这不影响分选效果。

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

** 为了最大限度地减少目的细胞中的红细胞污染，请沿着试管的干净区域（即倒入样本时使用的对面一侧）倒出样本。

表2. EasySep™ Direct 人总粒细胞分选试剂盒操作流程

步骤	说明	EASYSEPT™ 磁极		
		 EasyEights™ (产品号 #18103)	 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 - 2 mL	1 - 6 mL	5 - 25 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 100 mm) 聚苯乙烯圆底流式管 (如: 产品号 #38008)	50mL 锥形管 (如: 产品号 #38010)
2	涡旋振荡RapidSpheres™磁珠。 注意: 磁珠应呈均匀分散状态。	30秒	30秒	30秒
3	在样本中加入分选抗体混合物。	50 µL/mL 样本	50 µL/mL 样本	50 µL/mL 样本
4	将RapidSpheres™磁珠加到样本中。	50 µL/mL 样本	50 µL/mL 样本	50 µL/mL 样本
5	混匀并孵育。	室温孵育5分钟	室温孵育5分钟	室温孵育5分钟
6	添加推荐的缓冲液，将样本定容至指定体积。通过轻轻上下吹吸2 - 3次来混匀。	定容至4 mL	· 若样本 < 4 mL, 定容至10 mL · 若样本 ≥ 4 mL, 定容至12 mL	定容至50 mL
7	将试管（不加盖）放入磁极中并孵育。	室温孵育10分钟	室温孵育10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§。	使用新的5 mL流式管 · 对于 ≤ 1 mL的样本, 吸取3.5 mL · 对于 > 1 mL的样本, 吸取3 mL	使用新的14 mL流式管 · 对于 < 4 mL的样本, 吸取9 mL · 对于 ≥ 4 mL的样本, 吸取10 mL	使用新的50 mL锥形管
9	将RapidSpheres™磁珠添加到含有富集细胞的新试管中。	使用与步骤4相同的体积	使用与步骤4相同的体积	使用与步骤4相同的体积
	混匀并孵育。	室温孵育5分钟	室温孵育5分钟	室温孵育5分钟
10	从磁极中取出试管，然后将第9步中的试管（不加盖）放入磁极中孵育以进行第二次分选。	室温孵育5分钟	室温孵育5分钟	室温孵育5分钟
11	小心地吸出***（切勿倾倒）富集的细胞悬液至一个新的试管。只收集清澈的部分。	使用新的5 mL流式管	使用新的14 mL流式管	使用新的50 mL锥形管
12	从磁极中取出试管，然后将新试管（不加盖）放入磁极中孵育以进行第三次分选。	室温孵育5分钟	室温孵育5分钟	室温孵育10分钟
13	小心地吸出***（切勿倾倒）富集的细胞悬液至一个新的试管。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)

*** 一次性将所有上清液收集到同一移液管中（例如，EasyEights™ 5 mL 试管使用 5 mL 血清移液管，EasyEights™ 14 mL 试管使用 10 mL 血清移液管）。

§ 对于 EasyEights™ EasySep™ 磁极，请从上往下吸取推荐体积的上清液。收集到的上清液中将含有红细胞。对于 Easy 50 EasySep™ 磁极，请从上往下吸取所有澄清的上清液。为了获得最佳回收率，同时收集少量红细胞（不超过起始样本体积的10%）。

注意事项和提示

去除分选后的细胞中残留的红细胞

细胞分选后通常不需要进一步去除红细胞。如果实验流程结束后，在离心后的分选的细胞沉淀中可见残留的红细胞，请使用小体积（0.25 - 2.5 mL）推荐缓冲液或所需的培养基重悬，并置于更小的EasySep™磁极中进行额外一次5分钟的分选。收集上清液；分选后的细胞可直接用于下游应用。残留的红细胞也可以使用氯化铵溶液（产品号 #07800）裂解。

纯度评估

要通过流式细胞术评估总粒细胞（中性粒细胞[CD66b+CD16+]、嗜酸性粒细胞[CD66b+CD16-]和嗜碱性粒细胞[CD66b-CD123+]）的纯度，请使用以下克隆号的流式抗体：

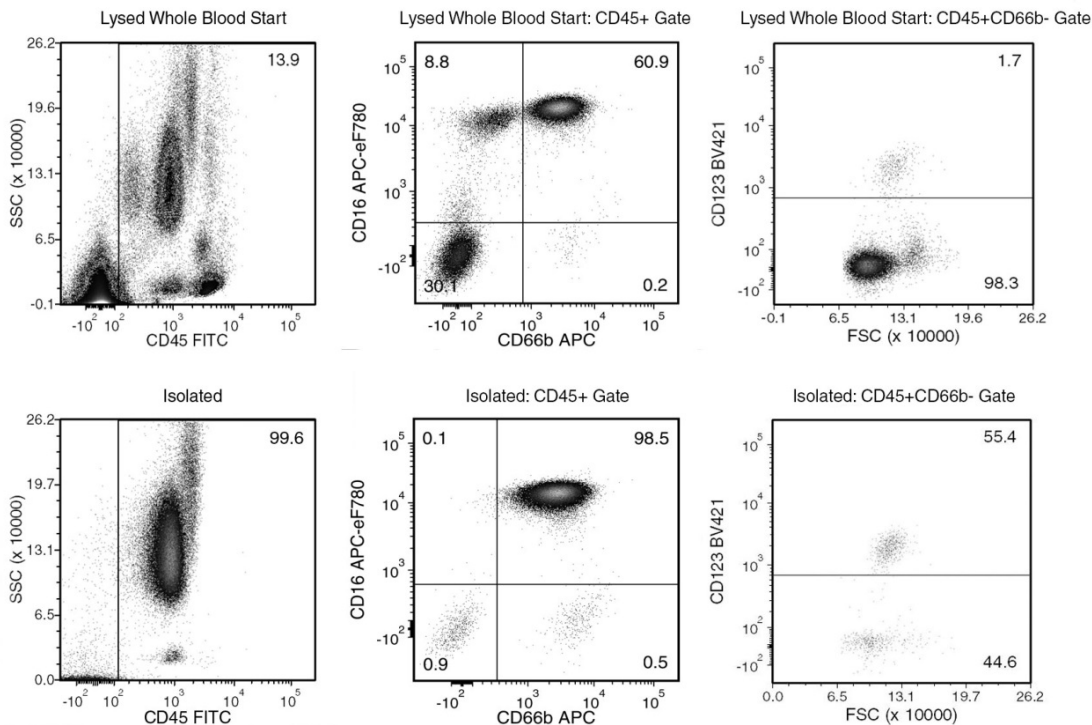
- 抗人CD16抗体，克隆3G8（产品号 #60041），以及
- 抗人CD66b抗体，克隆G10F5（产品号 #60086），以及
- 抗人CD123（IL-3Ra）抗体，克隆6H6（产品号 #60110），以及
- 抗人CD45抗体，克隆HI30（产品号 #60018）

注：建议在CD45+细胞中评估纯度，以排除碎片、血小板和红细胞。

或者，可以通过对分选后的细胞进行细胞离心涂片，然后使用Wright染色（例如Sigma-Aldrich，产品号 #WS16）或May-Grünwald-Giemsa染色（例如Sigma-Aldrich，产品号 #MG500和 #GS500）来评估纯度。

实验数据

起始样本为正常健康供体的人全血，未裂红的分选后的总粒细胞（中性粒细胞 [CD66b+CD16+]、嗜酸性粒细胞 [CD66b+CD16-] 和嗜碱性粒细胞 [CD66b-CD123+]）含量通常为 $98.4 \pm 1.5\%$ （以CD45+设门）。



在上述实验中，裂红的全血起始样本和未裂红的分选后的总粒细胞含量分别为61.8%和99.6%（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。

版权所有© STEMCELL Technologies Inc. 2025。保留一切权利，包括图形和图像。STEMCELL Technologies及其设计及徽标，以及Scientists Helping Scientists、EasyEights、EasySep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，对此类信息的准确性或完整性不作任何保证或声明。