EasyIso™ 人NK细胞分离试剂盒

Catalog #SN3201

For processing 1x10^8 cells (SN3201S)

For processing 5x10^8 cells (SN3201M)

For processing 1x10^9 cells (SN3201L)

#Version 26.01

Immuno-X ™

Eynos LifeScience co., Ltd

Make Research Easier

产品简介

本试剂盒采用阴选的方式，通过无柱磁极分离人PBMC中的NK细胞。分离过程中抗体和磁珠不会接触NK细胞，能够最大限度保持NK细胞最原始的状态。试剂盒通过生物素偶联的抗体标记非NK细胞，再将细胞和链霉亲和素纳米磁珠孵育偶联，然后通过磁极进行无柱分离。目标细胞只需倒入一个新的管中即可分离，分离后的细胞可立即用于后续应用，如流式细胞术、细胞培养和功能实验等。

- 纯度大约85%-92%左右，最高可到95%，
- 分选过程中，**FACS Buffe需要预冷**
- 18-20分钟完成分离

试剂盒组分

产品名称	存储条件	缓冲液成分	功能
EasyIso™ Human NK cell Isolation Cocktail	4°C保存，避免冷冻	PBS, 0.1% BSA	识别非NK细胞抗体混合液，标记非目的细胞
EasyIso™ Streptavidin Nanobeads	4°C保存，避免冷冻	PBS, 0.1% BSA	磁珠结合非NK细胞，通过磁极去除

BSA - bovine serum albumin; PBS - phosphate-buffered saline　运输条件： 4°C运输

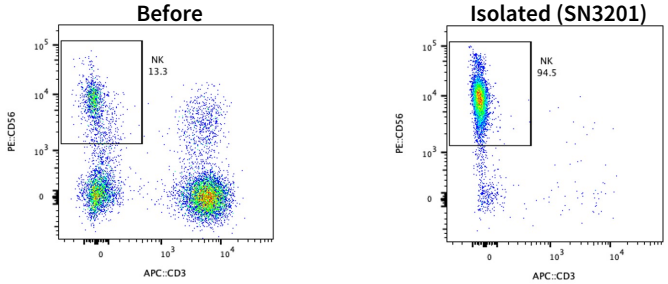
设备和试剂要求

- 缓冲液：FACS Buffer (1 x PBS+2% FBS+0.02% EDTA)
- 耗材：无菌流式管(适配单孔磁极#SCJ0005)或者15 mL离心管（适配磁极#SCJ0015）或者50 mL离心管（适配单孔磁极#SCJ0050）
- 仪器：离心机，磁极

温馨提示

- 推荐采用淋巴细胞分离液进行密度梯度离心分离PBMC，不建议采用红细胞裂解液
- 建议采用英诺思生物FACS Buffer（#EISO0500），提高细胞得率和存活率，NK细胞分选，**FACS Buffer需要预冷**。
- 自行配置的FACS Buffer，请确保渗透压稳定和低内毒素，免疫细胞较为敏感。
- 确保每一步无菌操作，谨防污染

数据展示



如图：采用Immuno-X系列产品分离PBMC中的NK 细胞。采用（#SN3201）分离健康人PBMC中NK细胞，采用CD3和CD56的流式抗体进行染色，分选前NK细胞比例约为13%，分选后的NK细胞纯度高达94.5%±5%。

操作步骤

步骤	操作说明	剂量和时间
1	从外周血通过淋巴细胞分离液密度梯度离心，分离PBMC后，需进行细胞计数。 Note: 推荐细胞采用AO/PI染色后进行计数；PBMC可以采用400 g离心5 min	制备样本
2	采用适量**预冷**的FACS buffer重悬细胞，制备PBMC单细胞悬液至指定浓度。 Note: 分选前样本的细胞浓度不超过1 x 10^8 cells/mL，试剂根据样品体积等比例调整； 如细胞总数为1 x 10^7 cells，则细胞重悬至100 µL体积，后续试剂加10 µL即可； 单次分选细胞量最好不低于1 x 10^7 cells，低于该数值，按照1 x 10^7 cells计算。	1 x 10^8 cells/mL
3	加入EasyIso™ Human NK Cell Isolation Cocktail至样品中，轻轻混匀。 Note: 本步骤混匀可以采用移液器轻轻吹匀2-3下	100 µL/mL
4	Cocktail中的抗体和细胞在4°C孵育15 min	4°C孵育15 min
5	加入10倍体积**预冷**的FACS buffer洗涤细胞, 400 g 离心5 min后，去除上清	洗涤细胞，400g 离心5 min
6	加入步骤2中等体积的预冷FACS buffer，重悬细胞，使细胞密度维持在1 x 10^8 cells/mL	1 x 10^8 cells/mL
7	震荡混匀 Streptavidin Nanobeads	混匀5-30 s
8	加Streptavidin Nanobeads至样品中	100 µL/mL
9	轻柔混匀磁珠和细胞，4°C孵育15 min Note: 本步骤混匀可以采用移液器轻轻吹匀2-3下;	4°C孵育15 min
10	加入预冷FACS Buffer到样品中，充分混匀后立即放置在磁极上吸附	加入5倍以上体积FACS buffer
11	样品置于磁极上，使磁珠吸附在管壁上。	单孔磁力架吸附（3 min） 联排磁力架吸附（5 min）
12	倾斜磁力架，将样品倒入新的收集管中，收集样品 Note: 分选的细胞可采用400g 离心10分钟，用于后续培养和分析	细胞分离成功

细胞分选试剂使用剂量表(PBMC浓度为1 x 10^8 cells/mL)

细胞总量	细胞体积	Isolation Cocktail	Streptavidin Nanobeads	磁极类型
1 x 10^7 cells	100 µL	10 µL	10 µL	5 mL 单孔磁极
2 x 10^7 cells	200 µL	20 µL	20 µL	5 mL 单孔磁极
5 x 10^7 cells	500 µL	50 µL	50 µL	5 mL 单孔磁极
1 x 10^8 cells	1 mL	100 µL	100 µL	5 mL 单孔磁极
2 x 10^8 cells	2 mL	200 µL	200 µL	15 mL 联排磁极
5 x 10^8 cells	5 mL	500 µL	500 µL	15 mL 联排磁极
1 x 10^9 cells	10 mL	1 mL	1 mL	50 mL 单孔磁极
2 x 10^9 cells	20 mL	2 mL	2 mL	50 mL 单孔磁极