

CGT全流程解决方案合作伙伴



pureSep™

去除试剂-系列产品

pureSep™ Depletion Reagent Series

华辰生物——是您专业的选择！



苏州华辰生物科技有限公司

Suzhou Huachen Biotechnology Co., Ltd

电话: 400-965-9800

网址: www.huachenbiotech.com

地址: 苏州工业园区星湖街328号创意产业园A3-504-1单元



华辰公众号



华辰订阅号



联系微信号

苏州华辰生物科技有限公司

Suzhou Huachen Biotechnology Co., Ltd

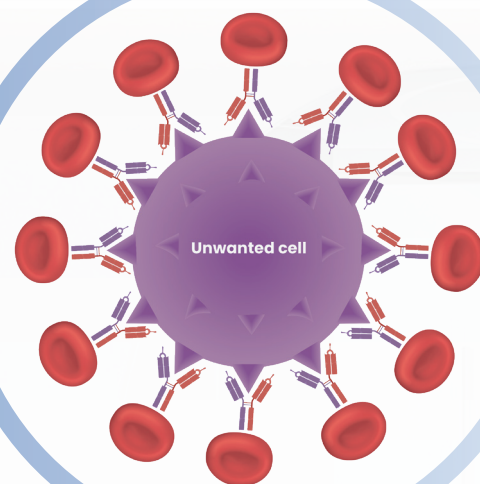
pureSep™细胞分离原理

pureSep™ 系列去除试剂，用于从全血中高效快速去除 CD3+ T 细胞、CD19+ B 细胞、CD14+ 单核细胞、CD16+ NK 细胞、αβT 细胞、CD66b 粒细胞等需要去除的非目标细胞，通过密度梯度负选原理实现高纯度目标细胞富集，为后续目标细胞的高纯度扩增奠定基础。

01

pureSep™
Cell Separation
Principle

pureSep-NK纯化原理图



非目标细胞的抗体连接于红细胞血型糖蛋白 A 抗体上，从而设计形成双特异性抗体。非目标细胞通过这些靶向性双抗与大量红细胞（RBCs）相交联，形成细胞团簇复合物，这将大幅增加非目标细胞的密度，经密度梯度离心后会与游离红细胞一同沉淀至管底。目标细胞未经抗体标记，且高度富集，目标细胞保留在上层白膜层，实现快速分离。

02

pureSep™
Cell Separation
Principle

03

pureSep™
Cell Separation
Principle

所需富集的目的细胞全程不结合任何抗体，可在血浆与分离液中间层轻松收集，获得高纯度细胞群。分离得到的细胞可直接用于后续流式检测、细胞培养、DNA/RNA 提取等下游实验。

04

pureSep™
Cell Separation
Principle

pureSep™ 系列去除试剂可以根据目标细胞的需求进行灵活搭配，例如 NK 细胞纯化过程中，可以联合使用 CD3+ T 细胞、CD19+ B 细胞、CD14+ 单核细胞去除试剂，从而 Ficoll 离心得到较纯的 NK 细胞，用于后续 NK 高纯度扩增。

样本前置处理要求

Sample Preparation Requirements



最优样本：采血 24 h 内、室温（15-25℃）保存的外周全血；

本试剂盒优化适配全血样本，也可用于白膜层样本和单采样本，但样本中红细胞数量需满足：**每1个有核细胞至少搭配30-50个红细胞**；

样本有核细胞最高浓度不可超过 5×10^7 cells/mL；

如需更快完成分离，可搭配 Cytiva Sepax C-Pro 等设备使用，详细操作见对应产品说明书；

pureSep™优点

去除试剂负选原理作用温和，
纯化后细胞得率高、活率高，
利于后续实验

操作简便快速，
只需室温孵育20分钟

非磁珠方案，
无需专用设备与专业培训

目标细胞无抗体标记，
不会被活化，
细胞活性完好

可搭配 Cytiva Sepax C-Pro
等设备使用，
快速获得纯化细胞

标准操作流程

操作前置要求：全血样本、洗涤培养基、密度分离液、离心机均提前平衡至室温（15-25℃）

01. 加抗体混合液标记

每 1 mL 全血添加 30 μ L pureSep™ 细胞富集混合抗体，充分混匀。

例：2 mL 全血加入 60 μ L 混合液。注：若使用白膜层、白细胞分离术产物等非全血样本，详见文末【提示与注意事项】。

02. 室温孵育

室温（15-25℃）避光静置孵育 20 min。

03. 样本稀释

加入与全血等体积的含 1% HSA PBS，轻柔吹打混匀。

04. 铺Ficoll分离液分层

稀释后的样本缓慢叠加在密度分离液上层；操作时尽量减少两层液体混合，使用 50 mL 离心管时，建议至少添加 15 mL 分离液，方便吸取中间细胞层。

05. 密度梯度离心

室温 1200 $\times$ g 离心 20 min，关闭离心机刹车。

06. 收集富集目标细胞

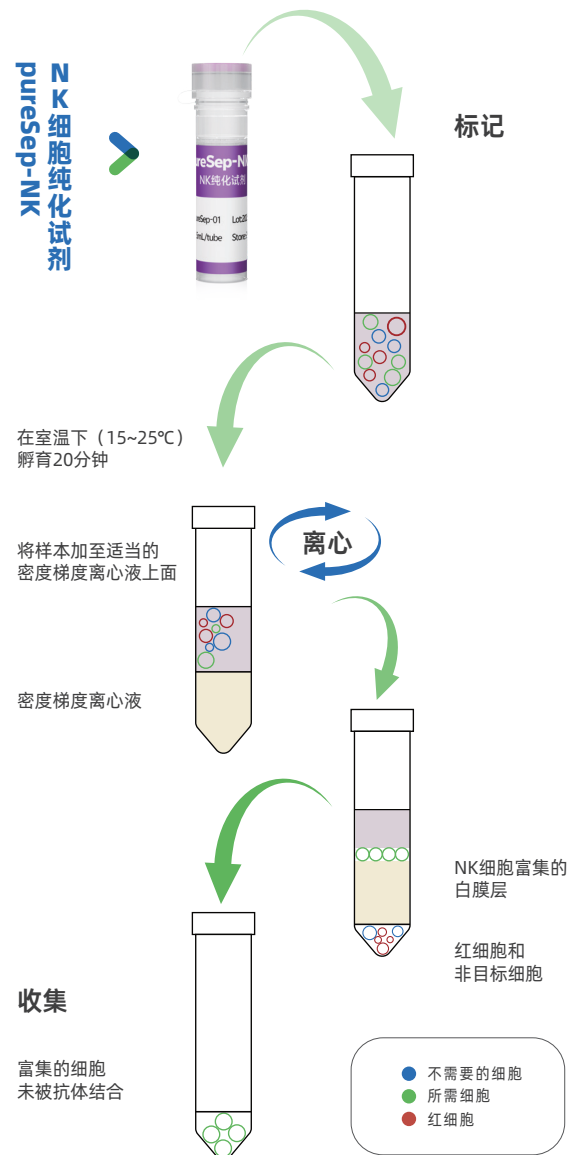
吸取血浆与密度分离液交界处的细胞层。稀有目标细胞富集时细胞层肉眼极淡，建议连带少量下层分离液一同吸取，保证细胞完全回收。

07. 细胞洗涤

使用含 1% HSA PBS 300g 10min 低刹车重悬洗涤，重复洗涤一次。

08. 后续处理

富集完成的目标细胞可直接用于下游实验；若需流式检测或残留红细胞干扰实验，可在洗涤步骤中加入红细胞裂解液去除残余红细胞。



提示与实验要点

离心力 g 与转速 RPM 换算公式

$$RPM = \sqrt{\frac{RCF}{(1.118 \times 10^{-5}) \times \text{转子半径}(cm)}}$$

RCF = 相对离心力（单位 g）；RPM = 转速（转 / 分钟）；半径 = 离心机转子半径（cm）

非全血样本要求（白膜层 / 白细胞分离产物）

尽管pureSep™已优化于使用全血，但也可以用于从其它样本中去除细胞（即：白膜层或白细胞单采样本）。该样本中有核细胞的浓度不可超过 5×10^7 个/mL，且RBCs相对于有核细胞的比例至少应为30 - 50 : 1

减少血小板污染

收集细胞前先弃掉上层 2/3 血浆层；

也可在第 8 步后补充一次洗涤：室温 120 $\times$ g 离心 10 min、关闭刹车，去除血小板

04

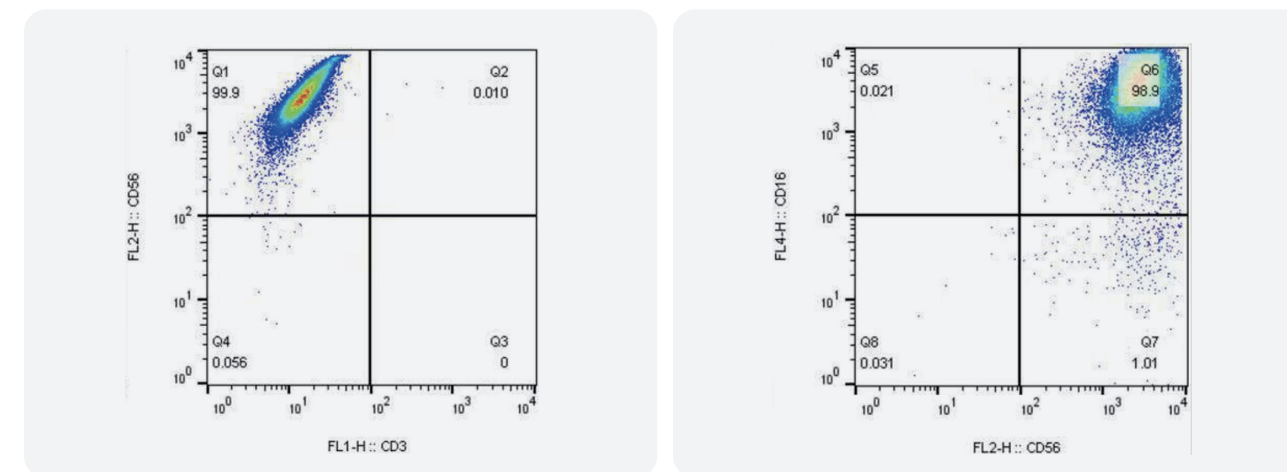
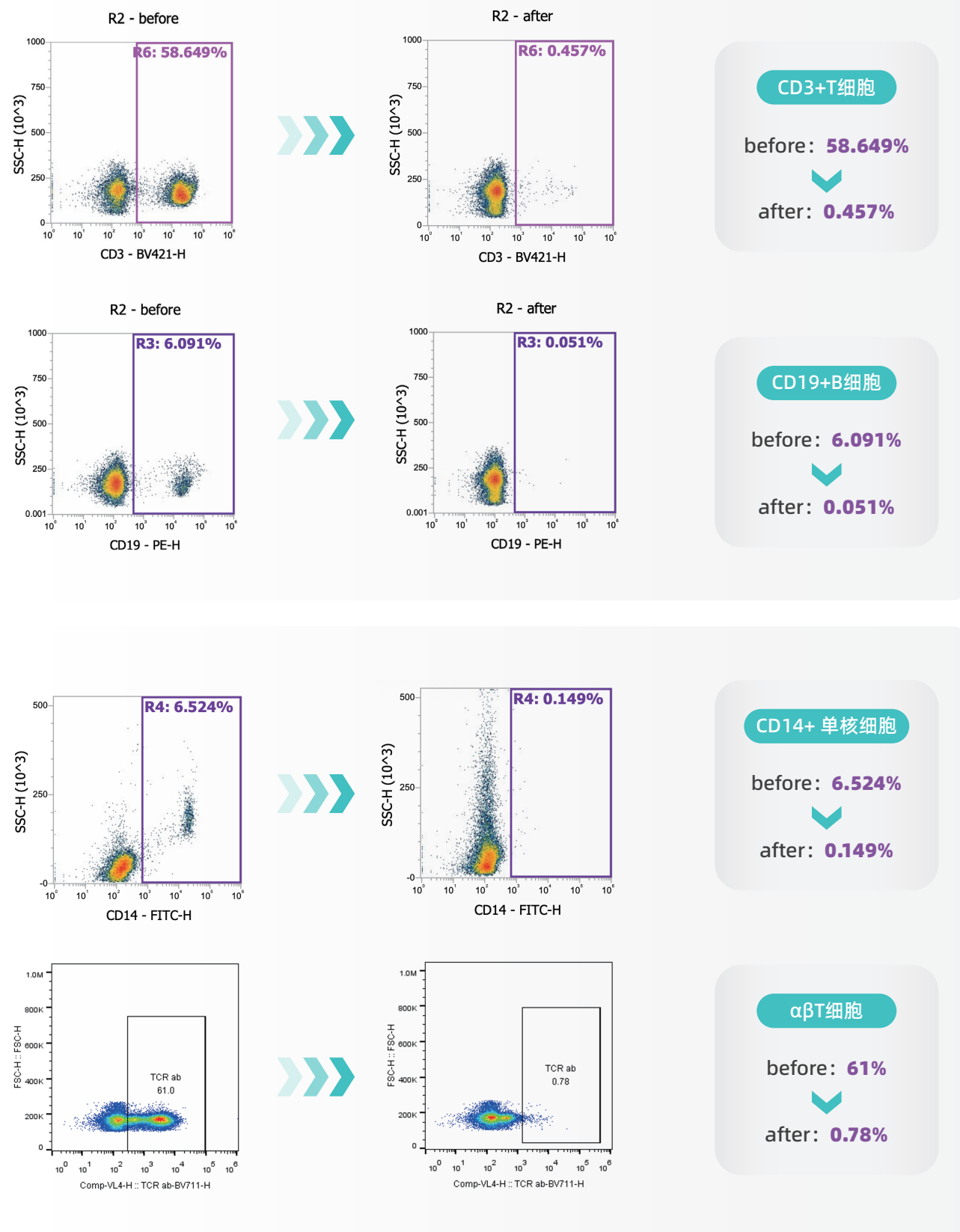
细胞层肉眼难以分辨时，建议连带少量分离液一同吸取，保证细胞完全回收

05

若后续需流式检测、样本残留红细胞干扰实验，可使用红细胞裂解液完成一次洗涤裂解



纯化效果展示



经NK纯化试剂抗体混合液纯化后的血样（外周血和脐带血），添加相应激活因子培养后，NK细胞CD3-CD56+可以达到99.9%，满足异体NK细胞回输标准。

储存与稳定性



储存条件：
-20°C冷冻，可反复冻融5次以内；
有效期至瓶身标注过期日期，产品经过无菌检测



运输：
干冰运输，收到后立即冷冻保存



产品信息

名称	货号	规格	储存温度
pureSep-NK NK纯化试剂	pureSep-01	1.5ml / tube	-20°C
pureSep-γδT γδT细胞纯化试剂	pureSep-03	1.5ml / tube	-20°C