

## **Instruktion (IFU) BioServices CellSep Bulk**

### **1. Introduktion och princip**

BioServices CellSep Bulk är avsett för automatiserad isolering av celler direkt från helblod eller buffy coat.

BioServices CellSep Bulk isolerar celler med magnetiska kulor. Cellerna är lämpliga för nedströms cellanalyser. Kitet kan isolera en till tre celltyper i samma körning.

BioServices CellSep Bulk är avsett för professionella användare utbildade i cellisoleringsprocedurer och Arrow eller LIAISON IXT instrument.

### **2. Innehåll och förvaring**

**Varje kit innehåller:**

- 96 tomma reagenskassetter
- 98 pumpar
- 96 spetsar
- 98 provrör (10 ml)
- 4 flaskor Binding buffer (500 ml)
- 1 information om var IFU kan hittas

**Material som behövs men inte ingår:**

- Piercing tool
- Elueringsrör
- Buffer för eluering av celler
- PBS Citratbuffer (endast för Buffy Coat)
- Magnetkulor
- Cellsep Advanced rack

#### **Förvaring**

Kiten skickas i rumstemperatur. De kan förvaras antingen i rumstemperatur eller i kyl.

Reagenskassetter och Binding buffer bör förvaras i kyl före användning eftersom det rekommenderas att använda kylda kassetter för cellisolering.

### 3. Procedur

#### 3.1 Översikt av proceduren

OBS! Se till att CellSep Advanced racket används!

1. Välj protokoll och elueringsvolym
2. Ladda pump och spets
3. Ladda och fyll reagenskassetter
4. Ladda prov
5. Ladda elueringsrör med magnetkuler för cellisolering
6. Sätt till elueringsbuffert
7. Starta protokollet
8. Välj antal celltyper som skall isoleras
9. Välj inkuberingstid för prov och kuler
10. När protokollet är klart flyttas de isolerade cellerna från instrumentet

Nedan beskrivs de olika stegen mer i detalj.

##### 3.1.1 Välj protokoll och elueringsvolym

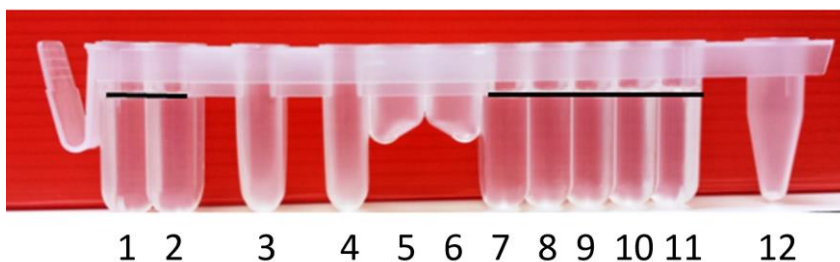
- a. Sätt på instrumentet
- b. Tryck "Continue" för att låta instrumentet initialisera
- c. Tryck "START PROTOCOL"
- d. Välj CellSep Advanced
- e. Välj elueringsvolym (70/100/200  $\mu$ l)

##### 3.1.2 Ladda pumpar och spetsar

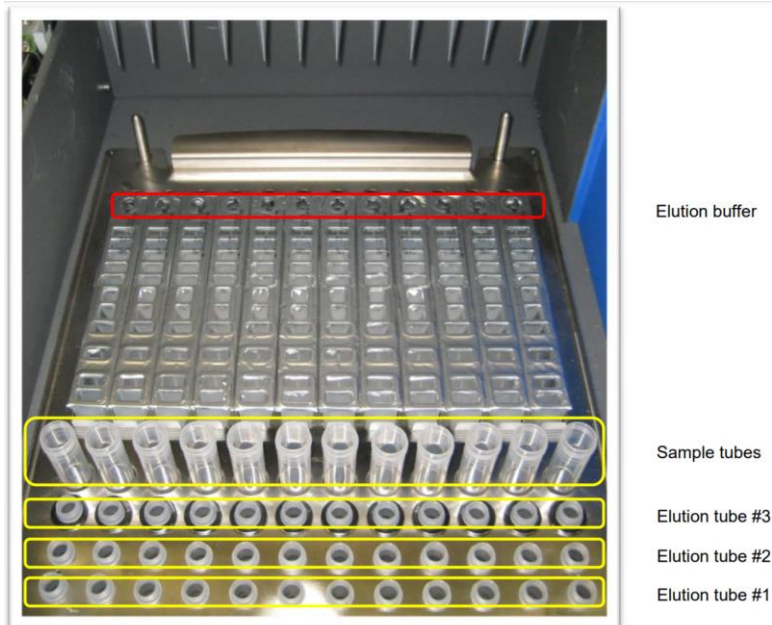
- a. Sätt ihop pump och spets. Tryck fast pumpen medan spetsen är kvar i lådan.
- b. Ladda den hopsatta pumpen/spetsen i instrumentet.

##### 3.1.3 Fyll och ladda reagenskassetter

- a. Placera den kylda reagenskassetten i racket
- b. Fyll brunnarna 1, 2, 7, 8, 9, 10 och 11 med 2,5 ml Binding buffer vardera (se figur 1)



Figur 1. Numrering av brunnar i reagenskassetten.



Figur 2. Laddat CellSep Advanced rack

### 3.1.4 Ladda prov

Placera provrören (10 ml) innehållande 2 ml prov i korrekt position (se figur 2).

### 3.1.5 Ladda elueringsrör med cellisoleringskolor

Placera elueringsrören i korrekt position (se figur 2). Fyll rören med cellisoleringskolor och PBS till en totalvolym på 150  $\mu$ l.

Elueringsrör #1 – Cellisoleringskula #1 (x  $\mu$ l kular + PBS till 150  $\mu$ l)

Elueringsrör #2 – Cellisoleringskula #2 (x  $\mu$ l kular + PBS till 150  $\mu$ l)

Elueringsrör #3 – Cellisoleringskula #3 (x  $\mu$ l kular + PBS till 150  $\mu$ l)

### 3.1.6 Ladda elueringsbuffert

Sätt till 1000  $\mu$ l elueringsbuffert till brunnen längst bak i kassetten (brunn 12 i figur 1). Använd en elueringsbuffer som är lämplig för nedströms analys.

### 3.1.7 Starta protokollet

Stäng dörren och tryck "START"

### 3.1.8 Välj antal celltyper

Välj mellan en, två eller tre sekventiella isoleringar från samma prov.

### 3.1.9 Välj inkubationstid för prov och kular

Välj mellan 5 och 15 minuter

### 3.1.10 Ta bort de isolerade cellerna från instrumentet efter prorokollet

Cellerna i elueringsrör 1-3 är nu klara för nedströms analys

## 4. Förberedelse av prov

### 4.1.1 Helblod

- a. Använd ACD- eller EDTA-vacutainer för provtagning. Förvara proven i 2-8°C.
- b. Proven måste blandas genom att vända röret flera gånger precis innan de laddas i provröret på instrumentet.
- c. Pipettera 2 ml blod till provröret (10ml).
- d. Placera provröret utan lock i instrumentet. Se till att röret står rakt.

### 4.1.2 Buffy coat

- a. Använd ACD- eller EDTA-vacutainer för provtagning. Förvara proven i 2-8°C.
- b. Proven måste blandas genom att vända röret flera gånger precis preparering av buffy coat.
- c. Centrifugera blodet i vacutainerröret, 700 g i 10 minuter.
- d. Ta bort plasman (släng) till ca 1 cm ovanför buffy coaten. Flytta resten av plasman tillsammans med buffy coaten (gå in något i det röda blodkroppslagret) till provröret (10 ml). Det bör vara ca 1 ml buffy coat.
- e. Sätt till ca 1 ml kall PBS/Citrat buffer(0,6% citrat) till buffy coaten totalt ca 2 ml i provröret.
- f. Placera provröret utan lock i instrumentet. Se till att röret står rakt.