

EasySep™ 人B细胞富集试剂盒 II (不去除CD43)

可处理 1×10^9 个细胞

产品号 #17963

#17963RF RoboSep™

负选

文档号 #10000029426 | 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，从患B细胞白血病或淋巴瘤，或其他可能导致B细胞表达CD43的疾病患者的新鲜或冻存的人外周血单个核细胞 (PBMC) 中分离无磁珠标记和高纯度的B细胞。

- 操作简单、快捷
- 纯度高达99%
- 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B细胞。非目的细胞用抗体和磁珠标记，并通过EasySep™磁极进行无柱分选。目的细胞被简单地倾倒入。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。

- 如需从正常样本中分离CD43阴性B细胞，推荐使用EasySep™人B细胞分选试剂盒（产品号 #17954）。
- 如需从非白血病患者或淋巴瘤样本中分离B细胞（包括浆细胞），请使用EasySep™Pan-B细胞富集试剂盒（产品号 #19554）。

包含组分

组分名称	组分号#	规格	储存方式	效期	成分
EasySep™人B细胞富集抗体混合物 II (不去除CD43)	17963C	1 x 1 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™人分选抗体混合物增强剂	17900	1 x 1 mL	2 - 8°C 储存，勿冷冻。	具体效期请见标签。	可提高分选抗体混合物性能的溶液。
EasySep™ Dextran RapidSpheres™ 50102 磁珠	50102	1 x 1 mL	2 - 8°C 储存，勿冷冻。	具体效期请见标签。	保存在水中的磁珠悬浮液。

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

有关可用的新鲜和冻存样本，请参见 www.stemcell.com/primarycells。

外周血

通过在密度梯度离心液 (如Lymphoprep™, 产品号 #18060) 上离心，从全血中制备外周血单个核细胞 (PBMC) 悬液。如需更快地制备PBMCs，可以使用SepMate™ RUO (产品号 #86450/86415) 或SepMate™ IVD* (产品号 #85450/85415) 细胞分选管。

如果使用冻存的PBMC，在室温 (15 - 25°C) 下用终浓度为100 µg/mL的DNase I溶液 (产品号 #07900) 孵育细胞至少15分钟，再进行标记和分选。使用37 µm的细胞滤筛 (产品号 #27215) 过滤细胞悬液去除细胞团块，以获得最佳结果。

制备完成后，将细胞以 5×10^7 细胞/mL的浓度重悬于推荐的缓冲液中。

* SepMate™ (IVD) 在特定地区作为体外诊断设备使用，其预期用途是通过密度梯度离心法从全血或骨髓中分离单个核细胞 (MNCs)。SepMate™在符合21 CFR 820标准的cGMP质量管理体系下生产。在其他所有地区，SepMate™仅限于研究用途 (RUO)。

裂解白细胞单采术样本

1. 将4倍体积氯化铵溶液 (产品号 #07800) 添加到白细胞单采术样本中。

注: 如果使用样本体积较大 (> 20 mL)，请首先以300 x g离心10分钟来浓缩白细胞单采术样本。去除上清液，并用原样本体积的1/10的推荐缓冲液重悬细胞 (例如，对于30 mL细胞样本，重悬于3 mL推荐缓冲液中，并添加12 mL氯化铵溶液)。对于小体积样本 (≤ 20 mL)，将氯化铵溶液直接添加到白细胞单采术样本中。

2. 冰上孵育15分钟。

3. 使用推荐的缓冲液加满试管以清洗细胞。在室温 (15 - 25°C) 下，300 x g，离心10分钟。去除上清液。

4. 选做 (为了去除血小板) :

a. 使用推荐的缓冲液加满试管以清洗细胞。在室温下，关闭刹车，将细胞以120 x g离心10分钟。小心地去除上清液。

b. 重复步骤4a一次或多次，直至去除大部分血小板 (标志是上清液变澄清)。

5. 将细胞以 5×10^7 细胞/mL的浓度重悬于推荐的缓冲液中。

推荐缓冲液

EasySep™缓冲液 (产品号 #20144), RoboSep™缓冲液 (产品号 #20104) ; 或者含2%胎牛血清 (FBS) 和1 mM 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™人B细胞富集试剂盒II（不去除CD43）操作流程

		EASYSEPTM 磁极	
步骤	说明	 EasySep™ (产品号 #18000)	 “The Big Easy” (产品号 #18001)
1	按指定细胞浓度制备样本，样本体积在范围内。	5 x 10 ⁷ 细胞/mL 0.25 - 2 mL	5 x 10 ⁷ 细胞/mL 0.5 - 8 mL
	将样本添加到所需的试管中。	5 mL (12 x 75 mm) 聚苯乙烯流式管 (如: 产品号 #38007)	14 mL (17 x 95 mm) 聚苯乙烯流式管 (如: 产品号 #38008)
2	将抗体混合物增强剂加入样本中并混合。	50 µL/mL 样本 无需孵育，立即进行下一步	50 µL/mL 样本 无需孵育，立即进行下一步
3	在样本中加入富集抗体混合物。 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
4	涡旋振荡RapidSpheres™磁珠。 注意：磁珠应呈均匀分散状态。	30秒	30秒
5	将RapidSpheres™磁珠加到样本中混匀。	35 µL/mL 样本 无需孵育，立即进行下一步	35 µL/mL 样本 无需孵育，立即进行下一步
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2.5 mL	· 若样本 < 4 mL，定容至5 mL · 若样本 ≥ 4 mL，定容至10 mL
	将试管（不加盖）放入磁极中并孵育。	室温孵育3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*， 倾倒入上清液至一个新的试管中。	使用新的5 mL管	使用新的14 mL管
8	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二次分选。	室温孵育1分钟	室温孵育1分钟
9	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	分选后的细胞可立即用于下游应用

RT - 室温 (15 - 25°C)

*保持磁极和流式管倒置 2 - 3秒，然后恢复直立。不要摇晃或擦拭掉仍可能挂在管口的任何液滴。

表2.EasySep™人B细胞富集试剂盒II（不去除CD43）操作流程

		EASYSEPT™ 磁极	
步骤	说明	EasyEights™ (产品号 #18103)	
		5 mL 流式管	14 mL 流式管
1	按指定细胞浓度制备样本，样本体积在范围内。	5 x 10 ⁷ 细胞/mL 0.25 - 2 mL	5 x 10 ⁷ 细胞/mL 0.5 - 8 mL
	将样本添加到所需的试管中。	5 mL (12 x 75 mm) 聚苯乙烯流式管 (如: 产品号 #38007)	14 mL (17 x 95 mm) 聚苯乙烯流式管 (如: 产品号 #38008)
2	将抗体混合物增强剂加入样本中并混合。	50 µL/mL 样本 无需孵育，立即进行下一步	50 µL/mL 样本 无需孵育，立即进行下一步
3	在样本中加入富集抗体混合物。 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
4	涡旋振荡RapidSpheres™磁珠。 注意：磁珠应呈均匀分散状态。	30秒	30秒
5	将RapidSpheres™磁珠加到样本中混匀。	35 µL/mL 样本 无需孵育，立即进行下一步	35 µL/mL 样本 无需孵育，立即进行下一步
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2.5 mL	· 若样本 < 4 mL，定容至5 mL · 若样本 ≥ 4 mL，定容至10 mL
	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。	使用新的5 mL管	使用新的14 mL管
8	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二次分选。	室温孵育5分钟	室温孵育10分钟
9	小心地吸出（切勿倾倒）富集的细胞悬液**至一个新的试管。	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的上清液 (EasyEights™ 5 mL流式管使用一个 2 mL血清移液管 [产品号 #38002]; EasyEights™ 14 mL流式管使用一个 10 mL血清移液管[产品号 #38004])。

使用指南 – RoboSep™全自动实验流程

请参阅第1页了解样本制备和推荐缓冲液。有关RoboSep™的详细使用说明，请参阅表3。

表3. RoboSep™人B细胞富集试剂盒II（不去除CD43）操作流程

步骤	说明	RoboSep™ (产品号 #21000)
1	按指定细胞浓度制备样本，样本体积在范围内。	5 x 10 ⁷ 细胞/mL 0.5 - 8 mL
	将样本添加到所需的试管中。	14 mL (17 x 95 mm) 聚苯乙烯流式管 (如: 产品号 #38008)
2	选择实验程序。	人B细胞富集试剂盒II（不去除CD43） 17963
3	涡旋振荡RapidSpheres™磁珠。 注意：磁珠应呈均匀分散状态。	30秒
4	加载转盘。	根据屏幕上的提示操作
	启动实验程序。	按下绿色的“Run (运行)”按钮
5	运行完成后，卸载转盘。	分选后的细胞可立即用于下游应用

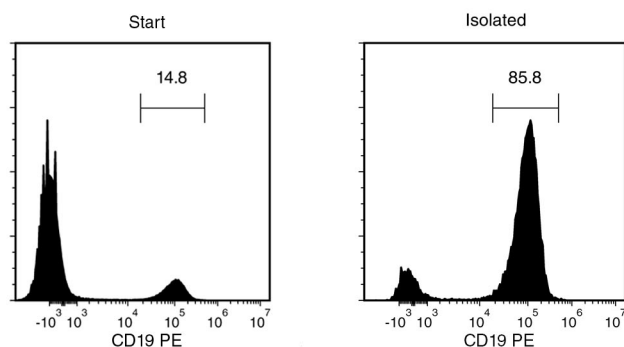
注意事项和提示

纯度评估

要通过流式细胞术评估细胞纯度，请使用以下一种荧光标记抗体：

- 抗人CD19抗体，克隆号HIB19（产品号 #60005）
- 抗人CD20抗体，克隆号2H7（产品号 #60008）

实验数据



起始样本为新鲜的PBMCs，富集后的B细胞（CD19+）含量通常为84.9 ± 13.9%（平均值 ± 标准差，使用紫色EasySep™磁极）。在上述实验中，起始样本和分选后的目的细胞纯度分别为14.8%和85.8%。

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、EasyEight、EasyPlate、EasySep、RapidSpheres、RoboSep、and SepMate均是STEMCELL Technologies Inc.的注册商标。Lymphoprep是Serumwerk Bernburg AG的注册商标。以Lymphoprep品牌名称销售的产品也由Serumwerk Bernburg AG制造。所有其它商标和注册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。