

EasySep™人B细胞分选试剂盒

可处理 1×10^9 个细胞

产品号 #17954
#17954RF RoboSep™

负选

文档号 #1000029460 | 版本00



Scientists Helping Scientists™ | WWW.STEMCELL.COM

电话: 400 885 9050

E-MAIL: INFO.CN@STEMCELL.COM

说明

通过免疫磁珠负选, 在短至9分钟内从新鲜或冻存的人外周血单核细胞 (PBMCs) 或洗涤的白细胞单采术样本中分离出高度纯化的B细胞。

- 操作简单、快捷, 且无需分离柱
- 纯度高达96%, 回收率高
- 分选得到的细胞不带标记

该试剂盒通过识别细胞表面的特异性标志物来去除非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。分离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™人B细胞分选抗体混合物	17954C	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。	可提高分选抗体性能的溶液。
EasySep™ Dextran RapidSpheres™ 50102	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PBMC, 可以使用SepMate™ RUO (产品号 #86450/86415) 或SepMate™ IVD* (产品号 #85450/85415) 细胞分离管。

如果使用冻存的PBMCs (例如: 人外周血单个核细胞, 冻存**, 产品号 #70025), 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, 推荐用培养基或相应的缓冲液 (DMEM, IMDM, RPMI或含10%胎牛血清 [FBS] 的PBS) 清洗细胞至少2次, 再进行标记和分选。使用37 µm的细胞滤筛 (例如, 产品号 #27250) 过滤细胞悬液去除聚团, 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。

白细胞单采术样本

通过添加等体积的推荐缓冲液或含有2%胎牛血清 (FBS) 的PBS来清洗外周血白细胞单采术样本。在室温 (15 - 25°C) 下, 300 x g, 离心10分钟。如果需要裂解红细胞, 请使用氯化铵溶液 (产品号 #07800) 进行裂解。如果需要去除血小板, 在关闭刹车的情况下, 以120 x g离心10分钟。去除上清液, 并将细胞以 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)。

**部分原代细胞产品仅在特定地区有售。如需更多信息, 请通过 info.cn@stemcell.com 联系我们。

推荐缓冲液

EasySep™ 缓冲液 (产品号 #20144)、RoboSep™ 缓冲液 (产品号 #20104) 或含有2% 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细胞分选试剂盒操作流程

步骤		EASYSEP™磁极	
		 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。	50 µL/mL样本	50 µL/mL样本
3	在样品中加入分选抗体混合物。 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：涡旋后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	50 µL/mL 样本 不进行孵育，立刻进行下一步骤	50 µL/mL 样本 不进行孵育，立刻进行下一步骤
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	· 若样品 ≤ 4mL，定容至5mL · 若样品 > 4mL，定容至10mL
	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3分钟
7	拿起磁极，以一个连续的动作翻转磁极和试管*， 倾倒入富集的细胞悬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*， 倾倒入富集的细胞悬液至一个新的试管中。	分离的细胞可立即用于下游应用	分离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，然后翻转回直立位置。请勿摇晃或擦拭掉仍可能挂在管口的任何液滴。

表2. EasySep™人B细胞分选试剂盒操作流程

步骤	说明	EASYSEP™磁极		
		 EasyEights™ (产品号 #18103) 	Easy50 (产品号 #18002) 	
		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 0.5 - 2 mL	5 x 10 ⁷ 细胞/mL 1 - 8.5 mL	5 x 10 ⁷ 细胞/mL 10 - 45mL
	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)	50 mL (30 x 115mm) 锥形管 (如:产品号 #38010)
2	将抗体混合物增强剂加入样本中。 注意：不要涡旋抗体混合物。	50 µL/mL样本	50 µL/mL样本	50 µL/mL样本
3	在样品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
	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
4	涡旋振荡 RapidSpheres™磁珠。 注意：涡旋后磁珠应呈均匀分散状态。	30秒	30秒	30秒
5	将RapidSpheres™磁珠加到样品中。	50 µL/mL样本	50 µL/mL样本	50 µL/mL样本
	混匀并孵育。	室温孵育3分钟	室温孵育3分钟	室温孵育3分钟
6	添加推荐的缓冲液，将样品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	· 若样本 ≤ 20 mL，定容至25 mL · 若样本 > 20 mL，定容至50 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	使用新的50 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。	分离的细胞可立即用于下游应用	分离的细胞可立即用于下游应用	分离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细胞分选试剂盒操作流程

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细胞负选试剂盒 - 17954	
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	

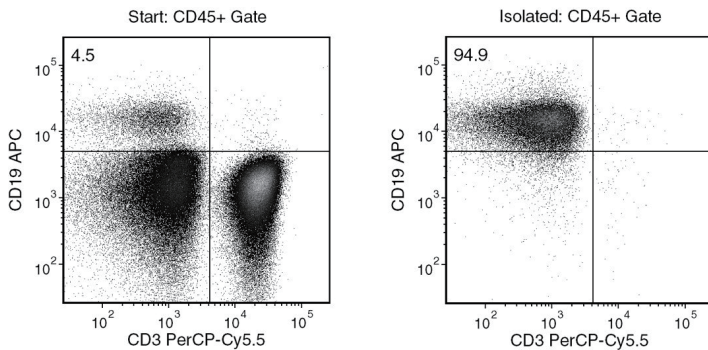
注意事项和提示

纯度评估

要通过流式细胞术评估B细胞 (CD3-CD19+) 的纯度，请使用以下的荧光素偶联流式抗体:

- 抗人CD19抗体，克隆HIB19 (产品号#60005)
- 抗人CD3抗体，克隆UCHT1 (产品号#60011; 可选)
- 抗人CD45抗体，克隆HI30 (产品号#60018; 可选)

数据



起始样本为人PBMCs，分选后的B细胞含量 (CD3-CD19+) 通常为95.1±1.4% (平均值±标准差)。在上述实验中，起始样本和分选后的目的细胞纯度分别为4.5%和94.9%。

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和其设计及徽标，以及Scientists Helping Scientists、EasyEights、EasyPlate、EasySep、RapidSpheres、RoboSep、和SepMate均是STEMCELL Technologies Canada Inc.的商标。Corning是Corning Incorporated的商标。Lymphoprep是Serumwerk Bernburg AG的商标。所有商标均为各自所有。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。