

EasySep™ 人 Pan-B 细胞富集试剂盒

可处理 1×10^9 个 细胞

产品号 #19554
#19554RF RoboSep™

负选

文档号 #1000029469 | 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，从新鲜或冻存的人外周血单个核细胞（PBMCs）或裂解的白细胞单采样本中分离出未被磁珠标记和高度纯化的B细胞。本试剂盒不推荐用于B细胞白血病或淋巴瘤患者的外周血或其他组织，也不推荐用于可能导致B细胞表达CD36和/或CD123的其他疾病的外周血和组织。

- 操作简单、快捷，且无需分离柱
- 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。

- 如需从正常样本中仅分离CD43阴性B细胞，推荐使用 EasySep™ 人B细胞富集试剂盒（产品号 #19054）
- 如需从B细胞白血病或淋巴瘤患者或B细胞可能表达CD43、CD36和/或CD123的其他疾病患者的外周血或其他组织中富集B细胞，建议使用不去除CD43的EasySep™ 人B细胞富集试剂盒II（产品号 #17963）。

包含组分

组分名称	组分号#	规格	储存方式	效期	成分
EasySep™ 人Pan-B细胞富集抗体混合物	19554C	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™ D Magnetic Particles磁珠	19250	2 x 1 mL	2 - 8°C 储存，勿冷冻。	具体效期请见标签。	保存在TBS中的磁珠悬浮液。

PBS - 磷酸盐缓冲液；TBS - TRIS缓冲盐溶液

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）。

裂解的白细胞单采样本

1. 将4份氯化铵溶液（产品号 #07800）添加到1份白细胞单采样本中。

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. 可选（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 Pan-B 细胞富集试剂盒操作流程

		EASYSEPT™ 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 0.5 - 2 mL	5 x 10 ⁷ 细胞/mL 0.5 - 8.5 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	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10分钟	室温孵育10分钟
3	涡旋磁珠。 注意：磁珠应呈均匀分散状态。	30秒	30秒
4	将磁珠加入到样本中。	75 µL/mL 样本	75 µL/mL 样本
	混匀并孵育。	室温孵育5分钟	室温孵育5分钟
5	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	<ul style="list-style-type: none"> 若样本 < 2 mL，定容至5 mL 若样本 ≥ 2 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5分钟
6	拿起磁极，以一个连续的动作翻转磁极和试管*，倾倒入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 Pan-B 细胞富集试剂盒操作流程


		EasySep™磁极
步骤	说明	Easy 50 (产品号 #18002) 
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 1 - 40 mL
	将样本添加到所需的试管中。	50 mL (30 x 115 mm) 锥形管 (如: 产品号 #38010)
2	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
	混匀并孵育。	室温孵育10分钟
3	涡旋磁珠。 注意: 磁珠应呈均匀分散状态。	30秒
4	将磁珠加入到样本中。	75 μL/mL 样本
	混匀并孵育。	室温孵育5分钟
5	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。	<ul style="list-style-type: none"> · 若样本 < 5 mL, 定容至10 mL · 若样品体积为5 - 10 mL, 定容至20 mL · 若样本 > 10 - 15 mL, 定容至30 mL · 若样本 > 15 - 20 mL, 定容至40 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
6	小心地吸出** (切勿倾倒) 富集的细胞悬液至一个新的流式管。	分选后的细胞可立即用于下游应用

**使用单个移液管一次性收集全部上清液。

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 Pan-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 - 8.5 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 Pan-B细胞负选19554	
3	涡旋磁珠。 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。	分离的细胞可立即用于下游应用	

注意事项和提示

纯度评估

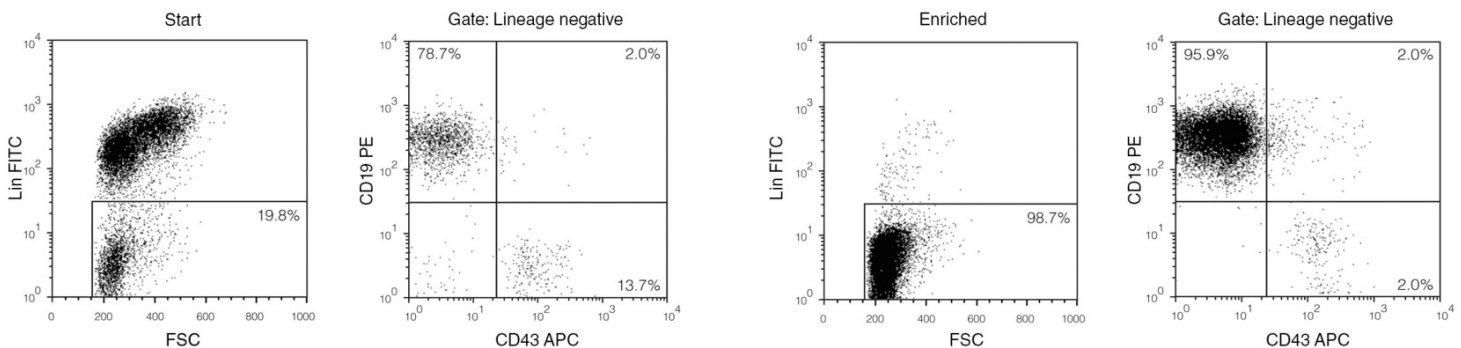
这里所示Pan-B细胞为谱系阴性 (Lin-; 包括CD4、CD8、CD14、CD16、CD56) CD19+ 和 Lin-CD19-CD43+。要通过流式细胞术评估Pan-B细胞的纯度，请使用以下克隆号的流式抗体：

- 抗人CD19抗体，克隆HIB19 (产品号 #60005)，以及
- 抗人CD43抗体，克隆CD43-10G7 (产品号 #60085)，以及
- 抗人谱系特异性抗体 (见下方)

对于谱系特异性抗原标记，请使用以下荧光偶联抗体：

- 抗人CD4抗体，克隆OKT4 (产品号 #60016)
- 抗人CD8a抗体，克隆RPA-T8 (产品号 #60022)，以及
- 抗人CD14抗体，克隆M5E2 (产品号 #60004)，以及
- 抗人CD16抗体，克隆3G8 (产品号 #60041)，以及
- 抗人CD56抗体，克隆HCD56 (产品号 #60021)

实验数据



起始样本为有核细胞，富集后的pan-B细胞 (Lin-CD19+和Lin-CD19-CD43+) 含量通常可达90% - 99%。在上述实验中，起始样本和分选后的细胞纯度分别为18.7%和98.6%。

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、EasyEights、EasyPlate、EasySep、RapidSpheres、RoboSep and SepMate均是 STEMCELL Technologies Inc. 的商标。Lymphoprep是Serumwerk Bernburg AG的商标。以Lymphoprep品牌销售的产品也是由Serumwerk Bernburg AG生产的。所有商标为各自所有者所有。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。