

## EasySep™非人灵长类B细胞分选试剂盒

可处理  $1 \times 10^9$  个细胞

产品号 #100-0345  
#100-0347 RoboSep™

负选

文档号 #10000029478 | 版本00



Scientists Helping Scientists™ | [WWW.STEMCELL.COM](http://WWW.STEMCELL.COM)

电话: 400 885 9050

E-MAIL: [INFO.CN@STEMCELL.COM](mailto:INFO.CN@STEMCELL.COM)

### 产品介绍

通过免疫磁珠负选，在短至20分钟内从新鲜或冻存的非人灵长类外周血单个核细胞 PBMCs 或冻存的白细胞单采术样本中分离出未被磁珠标记且高度纯化的B细胞。

- 操作简单、快捷，且无需分离柱
- 纯度高达95%
- 获得不带标记的活细胞

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。

### 包含组分

| 组分名称                                   | 组分号#     | 规格       | 储存方式            | 效期        | 成分                           |
|--|----------|----------|-----------------|-----------|------------------------------|
| EasySep™ 非人灵长类B细胞分选抗体混合物               | 300-0150 | 1 x 1 mL | 2 - 8°C 储存，勿冷冻。 | 具体效期请见标签。 | 保存在含0.09%叠氮化钠的PBS中的单克隆抗体混合物。 |
| EasySep™ Dextran RapidSpheres™ 50102磁珠 | 50102    | 2 x 1 mL | 2 - 8°C 储存，勿冷冻。 | 具体效期请见标签。 | 保存在PBS中的磁珠悬浮液。               |
| EasySep™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。             |

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

该试剂盒已被验证可用于恒河猴和食蟹猴。

#### 外周血

对于来自恒河猴的外周全血，通过在密度梯度离心液（如Lymphoprep™，产品号 #18060）上离心来制备PBMC悬液。对于来自食蟹猴的外周全血，使用D-PBS（不含Ca<sup>++</sup>和Mg<sup>++</sup>；产品号 #37350）将密度梯度离心液稀释至90%。

注：为了获得更高的细胞回收率，建议使用15 mL锥形管（例如产品号 #38009）进行密度梯度离心，特别是对于较小体积的外周血。

对于从采集到处理超过24小时的血样，在细胞分选之前可能需要使用氯化铵溶液（产品号 #07800）裂解红细胞（RBC）。

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。通过37 µm的细胞滤筛（产品号 #27250）过滤聚集的悬液，以获得最佳结果。

制备完成后，将细胞以  $5 \times 10^7$  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<sup>++</sup>和Mg<sup>++</sup>。

## 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。

表1.EasySep™ 非人灵长类B细胞分选试剂盒操作流程

|    |  | EASYSEPTM 磁极  |   |
|----|--|---|---|
| 步骤 | 说明   | <br>EasySep™<br>(产品号 #18000) | <br>“The Big Easy”<br>(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 <sup>7</sup> 细胞/mL<br>0.5 - 2 mL   | 5 x 10 <sup>7</sup> 细胞/mL<br>0.5 - 6 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<br>(如: 产品号 #38007)  | 14 mL (17 x 95 mm) 聚苯乙烯流式管<br>(如: 产品号 #38008)   |
| 2  | 将抗体混合物增强剂加入到样本中。                           | 50 µL/mL 样本   | 50 µL/mL 样本   |
|    | 混匀并孵育。                                     | 室温孵育1分钟   | 室温孵育1分钟   |
| 3  | 在样本中加入分选抗体混合物。                             | 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  |
| 4  | 涡旋振荡RapidSpheres™磁珠。<br>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。                   | 75 µL/mL 样本<br>无需孵育，立即进行下一步   | 75 µL/mL 样本<br>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   | <ul style="list-style-type: none"> <li>若样本 &lt; 2 mL，定容至5 mL</li> <li>若样本 ≥ 2 mL，定容至10 mL</li> </ul>                  |
|    | 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*，倾倒入上清液至一个新的试管中。      | 使用新的5 mL流式管   | 使用新的14 mL流式管  |
| 8  | 从磁极中取出流式管，然后将第7步中的新试管（不加盖）放入磁极中孵育以进行第二次分选。 | 室温孵育3分钟**   | 室温孵育3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。      | 使用新的5 mL流式管，<br>分选后的细胞可直接用于下游应用   | 使用新的14 mL流式管，<br>分选后的细胞可直接用于下游应用  |

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。

\*\*部分情况下，孵育时间可以缩短至1分钟。请见“注意事项和提示”。

## 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2。

表2. RoboSep™ 非人灵长类B细胞分选试剂盒操作流程

| 步骤 | 说明                                     | RoboSep™<br>(产品号 #20000和#21000)               |  |
|----|--|---|---|
| 1  | 按指定细胞浓度制备样本，样本体积在范围内。                  | 5 x 10 <sup>7</sup> 细胞/mL<br>0.5 - 6 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<br>(如: 产品号 #38008) |   |
| 2  | 选择实验程序。                                | 非人灵长类B细胞分选                                    |   |
| 3  | 涡旋振荡RapidSpheres™磁珠。<br>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

注：考虑到会存在红细胞残留，强烈建议使用CD45抗体。注：强烈建议使用细胞活性染料。

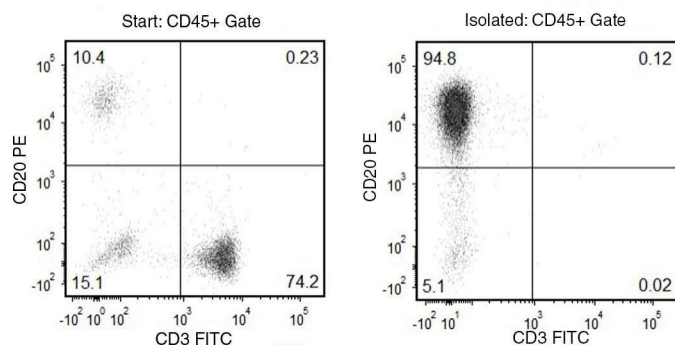
要通过流式细胞术评估非人灵长类B细胞的纯度，请使用以下克隆号的流式抗体：

- 抗人CD20抗体，克隆2H7 (产品号 #60008)
- 抗人CD3抗体，克隆SP34.2

### 优化回收率

如需提高目的细胞的回收率，表1中第二次分选的第8步可缩短至1分钟。请注意这可能导致纯度降低。

## 实验数据



起始样本为恒河猴PBMCs，分选后的B细胞 (CD20<sup>+</sup>) 含量通常为91.4 ± 5.2% (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10.4%和94.8%。

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](http://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、EasySep、RoboSep和RapidSpheres均是STEMCELL Technologies Canada Inc.的商标。所有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。