EasySep™人全血和骨髓 CD138 正选试剂盒II

可处理 60mL 全血或骨髓

产品号 #17887
#17887RF RoboSep™

正选

文档号 #10000032216 | 版本00

STEMCELL TECHNOLOGIES
Scientists Helping Scientists™ | WWW.STEMCELL.COM
电话: 400 885 9050
E-MAIL: INFO.CN@STEMCELL.COM

产品介绍

通过免疫磁珠正选从新鲜骨髓或全血中分离高纯度的CD138+（syndecan-1）细胞。

- 操作简单、快捷
- 无需分离柱

该试剂盒通过识别CD138表面标志物的抗体来正选CD138+细胞。目的细胞用抗体和磁珠标记，并通过 EasySep™ 磁极进行无柱分选。非目的细胞通过简单倾倒弃去，而目的细胞则保留在试管中。分选得到的细胞可立即用于下游应用，如荧光原位杂交（FISH）、流式细胞术、细胞培养或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™人全血和骨髓CD138正选试剂盒II抗体混合物	17887C	3 x 1mL	2 - 8°C储存。勿冷冻	具体效期请见标签	保存在含0.09% rHA PBS中的单克隆抗体混合物。包含Fc受体阻断抗体。
EasySep™ Dextran RapidSpheres™ 50100	50100	3 x 1mL	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。
EasySep™ RBC裂解缓冲液，10X 浓缩液	20110	1 x 10mL	15 - 25°C储存。	具体效期请见标签	10X 浓缩的红细胞裂解试剂

PBS - 磷酸盐缓冲液；rHA - 重组人白蛋白
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。

其它试剂稳定性信息

试剂名称	储存方式	效期
EasySep™ RBC裂解缓冲液（1X 稀释液）	2 - 8°C储存，勿冷冻	可稳定存放不超过3个月。存放时间请勿超过原始组分标签上的效期 (EXP)。

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

使用装有抗凝剂的采血管采集全血。

骨髓

为了避免样本降解和浆细胞上的CD138丢失，样本应在采集后的72小时内尽快处理。

1. 用D-PBS（不含Ca++和Mg++；产品号 #37350）将样本稀释5至10倍，然后轻轻上下吹吸混匀。
2. 可选（推荐）：用D-PBS润湿70 μm滤筛。通过预先润湿的滤筛过滤样本，以除去骨碎片，细胞团块和细胞碎片。用D-PBS冲洗滤筛。
3. 在300 x g下离心10分钟，关闭刹车。
4. 使用移液器小心地弃去血浆，注意不要碰到细胞沉淀。请勿倾倒。
   可选：对于存放时间超过24小时的骨髓样本，以每个样本50 μL或者以最多100 μg/mL 的起始样本体积添加DNase I溶液（1 mg/mL；产品号 #07900），以减少细胞聚团。可将 DNase I 溶液直接加入到沉淀的细胞中并轻轻混合。在开始EasySep™实验流程之前，于室温 (15 - 25°C) 下孵育15 - 30 分钟。
   注：避免反复冻融 DNase I 溶液。
5. 使用推荐缓冲液重悬细胞沉淀：
   - 如果样本的细胞密度较低，或者样本体积 ≥ 2.5 mL，则重悬至起始样本体积。
   - 如果样本体积 < 2.5 mL 并且细胞密度较高或细胞密度未知，则重悬至起始样本体积的两倍。

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1mM 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页和第2页了解样本制备和推荐缓冲液。有关EasySep™的详细使用说明，请参阅表1和表2。

表1.EasySep™人全血和骨髓 CD138 正选试剂盒II操作流程

		EASYSEP™磁极
步骤	说明	“The Big Easy” EasySep™磁极 （产品号 #18001）
1	制备样本，样本体积在范围内。	0.5 - 4.5 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	向样本中添加1X EasySep™ RBC裂解缓冲液。	与样本等体积
3	在样本中加入分选抗体混合物。 注意：不要涡旋抗体混合物。	25 µL/mL 稀释的样本
	混匀并孵育。	室温孵育3分钟
4	涡旋振荡RapidSpheres™。 注意：磁珠应呈均匀分散状态。	30秒
5	将RapidSpheres™ 加到样本中。	25 µL/mL 稀释的样本
	混匀并孵育。	室温孵育3分钟
6	添加推荐缓冲液，将样本定容至指定体积。 通过轻轻上下吹吸2 - 3次来混匀。	· 若稀释样本＜2.5 mL，定容至5 mL · 若稀释样本⩾2.5 mL，定容至10 mL
	将试管（不加盖）放入磁极中并孵育。	室温孵育10分钟
7	拿起磁极，以一个连续的动作翻转磁极和试管*，倾倒上清液。 从磁极中取出试管；试管中含有分选后的细胞。	弃去上清液
8	添加推荐缓冲液，将样本定容至指定体积。 通过轻轻上下吹吸2 - 3次来混匀。	· 若稀释样本＜2.5 mL，定容至5 mL · 若稀释样本⩾2.5 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
9	拿起磁极，以一个连续的动作翻转磁极和试管*，倾倒上清液。 从磁极中取出试管；试管中含有分选后的细胞。	弃去上清液
10	重复以上步骤。	步骤8和9 （总共进行1次10分钟和2次3分钟的分选）
11	将细胞重悬于所需培养基中。请确保从管壁上收集细胞。	分选后的细胞可立即用于下游应用

RT - 室温（15-25°C）
*保持磁极和试管倒置2-3秒，然后翻转回直立位置。不要摇晃或擦拭掉仍可能挂在管口的任何液滴。

表2.EasySep™人全血和骨髓 CD138 正选试剂盒II操作流程

步骤	说明	EASYSEP™磁极 EasyEights™ (产品号 #18103) 14 mL 流式管
1	制备样本，样本体积在范围内。	0.5 - 4.5 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	向样本中添加1X EasySep™ RBC裂解缓冲液。	与样本等体积
3	在样本中加入分选抗体混合物。 注意：不要涡旋抗体混合物。	25 µL/mL 稀释的样本
	混匀并孵育。	室温孵育3分钟
4	涡旋振荡RapidSpheres™ 。 注意：磁珠应呈均匀分散状态。	30秒
5	将RapidSpheres™ 加到样本中。	25 µL/mL 稀释的样本
	混匀并孵育。	室温孵育3分钟
6	添加推荐缓冲液，将样本定容至指定体积。 通过轻轻上下吹吸2 - 3次来混匀。	· 若稀释样本＜2.5 mL，定容至 5 mL · 若稀释样本≥2.5 mL，定容至10 mL
	将试管（不加盖）放入磁极中并孵育。	室温孵育10分钟
7	小心地吸取**（切勿倾倒）上清液。 从磁极中取出试管；试管中含有分选后的细胞。	弃去上清液
8	添加推荐缓冲液，将样本定容至指定体积。 通过轻轻上下吹吸2 - 3次来混匀。	· 若稀释样本＜2.5 mL，定容至5 mL · 若稀释样本≥2.5 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
9	小心地吸取**（切勿倾倒）上清液。 从磁极中取出试管；试管中含有分选后的细胞。	弃去上清液
10	重复以上步骤。	步骤8和9 （总共进行1次10分钟和2次5分钟的分选）
11	将细胞重悬于所需缓冲液中。请确保从管壁上收集细胞。	分选后的细胞可立即用于下游应用

RT - 室温（15 - 25°C）
** 使用单个移液管一次性收集全部上清液（例如，对于EasyEight™14 mL 流式管，使用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页和第2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™人全血和骨髓 CD138 正选试剂盒II操作流程

步骤	说明	RoboSep™ (产品号 #21000)
1	制备样本，样本体积在范围内。	0.5 - 4.5 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	向样本中添加1X EasySep™ RBC裂解缓冲液。	与样本等体积
3	选择实验程序。 注：输入体积。	人CD138 WB和BM正选II 17887 注：输入稀释后的样本体积。
4	涡旋振荡RapidSpheres™ 。 注意：磁珠应呈均匀分散状态	30秒
5	加载转盘。 注意：不要涡旋抗体混合物。	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
6	运行完成后，卸载转盘。取出装有目的细胞的试管，然后将细胞重悬于所需培养基中。请确保从管壁上收集细胞。	分选后的细胞可立即用于下游应用

注意事项和提示

EasySep™ RBC裂解缓冲液

该试剂盒中的EasySep™ 红细胞裂解液为10X 浓缩液。在使用前至少1小时，将1份10X 裂解液加入9份蒸馏水或I类水*中制备1X 裂解液。使用前需轻柔且充分地混匀。

*I类水是指适用于分析流程的超纯水。美国材料与试验协会（ASTM）将其定义为电阻率 > 18 MΩ-cm、电导率 < 0.056 μS/cm以及总有机碳（TOC）< 50 ppb。

纯度评估

要通过流式细胞术评估CD138+ 细胞的纯度，请使用以下克隆号的荧光偶联流式抗体:

- 抗人CD138 (Syndecan-1) 抗体，克隆MI15（产品号 #60003）

也可以使用以下方法之一：

- 胞内染色K (kappa) 和λ(lambda) 轻链（例如Ahmann等人发表的实验方法）。浆细胞表达kappa或lambda轻链。
- 使用替代标志物，例如荧光偶联的抗人CD38抗体，克隆HIT2 (产品号 #60014) 和抗人CD45抗体，克隆HI30 (产品号 #60018)，检测CD38+CD45可变细胞（Kumar等人发表）。
- 使用荧光偶联的二抗，例如山羊抗小鼠IgG (H+L) 多克隆抗体 (产品号 #60138)。

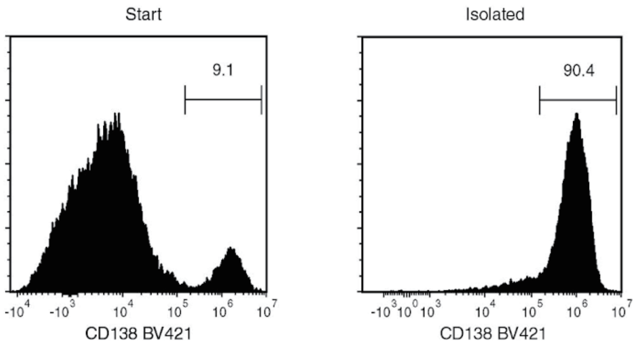
供体差异性

某些供体表达一种或多种可使磁珠交联的可溶性血清因子。这可能会导致正选后的细胞中出现可见的聚团。在对富集后的组分进行流式细胞术分析时，这些聚团可能在FSC vs. SSC图上显示为明显的高侧向角散射（SSC）群。可使用抗dextran、CD41和CD45的荧光偶联抗体染色来确定该群体仅含磁珠，不包含细胞或血小板。

当处理全血样本时，通过清洗去除供体的血浆可以避免可能发生的聚团。用推荐缓冲液将样本稀释 5 - 10倍，并以300 x g离心10分钟。在不扰动白细胞和红细胞的情况下尽可能地去除血浆，然后在开始分选流程之前用推荐缓冲液将样本重悬至原始体积。

如果样本未经清洗，可在对富集组分进行流式细胞术分析圈门时，根据聚团的FSC vs. SSC特征或CD45表达的缺失来将其排除在外。

实验数据



起始样本为混入了多发性骨髓瘤细胞系U266的新鲜全血，分选后细胞中CD138+ 细胞的含量通常为83.7% - 98.3%。
以上示例中，起始样本和分选后的细胞的纯度分别为9.1%和90.4%。

注：对于CD138+起始含量小于10 - 15%的样本，分选后的CD138+细胞的纯度可能有所不同。

注：流式分析前已通过裂解从起始样本中去除红细胞。

参考文献

Ahmann GJ et al.(1998) A novel three-color, clone-specific fluorescence in situ hybridization procedure for monoclonal gammopathies.Cancer Genet Cytogenet 101(1): 7–11.
Kumar S et al.(2010) Immunophenotyping in multiple myeloma and related plasma cell disorders.Best Pract Res Clin Haematol 23(3): 433–51.

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、EasySep、RoboSep和RapidSpheres均是STEMCELL Technologies Canada Inc.的商标。所有商标各自所有者所有。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。