

EasySep™小鼠 CD138 正选试剂盒

可处理 2×10^9 个细胞

产品号 #18957

产品号 #18957RF RoboSep™

正选

文档号 #1000032222 | 版本01



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小鼠脾脏、淋巴结或骨髓中分离高纯度的CD138+细胞。当使用其它类型组织来源的单细胞悬液时, 该试剂盒可能需要优化。

- 操作简单、快捷, 且无需分离柱
- 免疫小鼠分选纯度高达97%
- 可用于富集浆细胞
- 与杂交瘤制备方案兼容, 包括电融合

该试剂盒使用识别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。分选后的细胞可立即用于下游应用, 例如流式细胞术、细胞培养或制备杂交瘤。

包含组分

组分名称	组分号#	规格	储存方式	效期	成分
EasySep™小鼠CD138正选抗体混合物	18957C	1 x 1 mL	2-8°C储存。 勿冷冻。	具体效期请见标签。	保存在含2% HPCD和0.1% rHA的PBS中的单克隆抗体混合物。
EasySep™ Dextran RapidSpheres™ 50100磁珠	50100	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。
EasySep™小鼠FcR阻断剂	18731	2 x 0.5 mL	2-8°C储存。 勿冷冻。	具体效期请见标签。	保存在含0.1% BSA和< 0.1%叠氮化钠的PBS中的单克隆抗体。

BSA - 牛血清白蛋白; HPCD - 2-羟丙基-β-环糊精; 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。

RoboSep™ 小鼠CD138正选试剂盒 (产品号 #18957RF) 中包含EasySep™ EasyTube™-14 (产品号 #20128) 以达到最佳的自动分选效果。进行手动分选时, 不需要使用EasySep™ EasyTube™-14。

样本制备

脾脏或淋巴结

在冷的含有2%胎牛血清(FBS)的PBS或Hanks平衡盐溶液(HBSS)中机械解离脾脏/淋巴结。使用70 μm尼龙滤筛(如产品号 #27215)过滤细胞悬液, 以去除聚团和碎片。300 x g离心10分钟, 然后使用冷的推荐缓冲液以 1×10^8 有核细胞/mL的浓度重悬细胞。将细胞置于冰上备用。

制备用于分选的样本时, 不建议使用氯化铵处理样本。

骨髓

使用配备23G针头的注射器和冷的推荐缓冲液将股骨和胫骨中的骨髓细胞冲洗出来。用注射器轻柔地吹吸细胞悬液数次以分散细胞团块。或者可使用研钵和研杵将骨髓从骨头中压出。使用70 μm尼龙滤筛过滤细胞悬液, 以去除残余的聚团和碎片。300 x g离心10分钟, 并将细胞以 1×10^8 有核细胞/mL的浓度重悬于冷的推荐缓冲液中。将细胞置于冰上备用。

制备用于分选的样本时, 不建议使用氯化铵处理样本。

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™小鼠 CD138 正选试剂盒操作流程

步骤	说明	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。样本使用前需保持低温。	1 x 10 ⁸ 细胞/mL 0.5 - 2 mL	1 x 10 ⁸ 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	在样本中加入FcR阻断剂并混匀。	50 µL/mL 样本	50 µL/mL 样本
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。	50 µL/mL 样本	50 µL/mL 样本
	混匀并孵育。	在冰上孵育5分钟	在冰上孵育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。	50 µL/mL 样本	50 µL/mL 样本
	混匀并孵育。	在冰上孵育5分钟	在冰上孵育5分钟
6	添加冷的推荐缓冲液，将样本定容至指定体积。 通过轻轻上下吹吸2 - 3次来混匀。	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*， 倾倒入清液。从磁极上取下试管；试管中含有分选后的细胞。	弃去上清液	弃去上清液
8	重复以上步骤。	重复三次步骤6和7 (总共进行4次3分钟的分选)	重复三次步骤6和7 (总共进行4次5分钟的分选)
9	将细胞重悬于所需培养基中。请确保从试管壁上收集细胞。	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™小鼠 CD138 正选试剂盒操作流程

		EASYSEP™ 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。样本使用前需保持低温。	1 x 10 ⁸ 细胞/mL 0.5 - 2 mL	1 x 10 ⁸ 细胞/mL 1 - 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	在样本中加入FcR阻断剂。	50 µL/mL 样本	50 µL/mL 样本
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。	50 µL/mL 样本	50 µL/mL 样本
	混匀并孵育。	在冰上孵育5分钟	在冰上孵育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。	50 µL/mL 样本	50 µL/mL 样本
	混匀并孵育。	在冰上孵育5分钟	在冰上孵育5分钟
6	添加冷的推荐缓冲液，将样本定容至指定体积。通过轻轻上下吹吸2 - 3次来混匀。	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10分钟	室温孵育10分钟
7	小心地吸取**（切勿倾倒）上清液。从磁极上取下试管；试管中含有分选后的细胞。	弃去上清液	弃去上清液
8	添加冷的推荐缓冲液，将样本定容至指定体积。通过轻轻上下吹吸2-3次来混匀。	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
9	小心地吸取**（切勿倾倒）上清液。从磁极上取下试管；试管中含有分选后的细胞。	弃去上清液	弃去上清液
10	重复以上步骤。	重复步骤8和9 (总共进行1次10分钟和2次5分钟的分选)	重复步骤8和9 (总共进行3次10分钟的分选)
11	将细胞重悬于所需培养基中。请确保从试管壁上收集细胞。	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性收集所有的上清液（例如，对于EasyEights™ 5 mL流式管，使用2 mL血清移液管 [产品号 #38002]；对于EasyEights™ 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™小鼠 CD138 正选试剂盒II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。样本使用前需保持低温。	1 x 10 ⁸ 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。	小鼠 CD138 正选 18957	
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 注: 当提示放置分选试管时, 将EasySep™ EasyTube™-14 放入磁极中	
	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。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。请确保从试管壁上收集细胞。	分选后的细胞可立即用于下游应用	

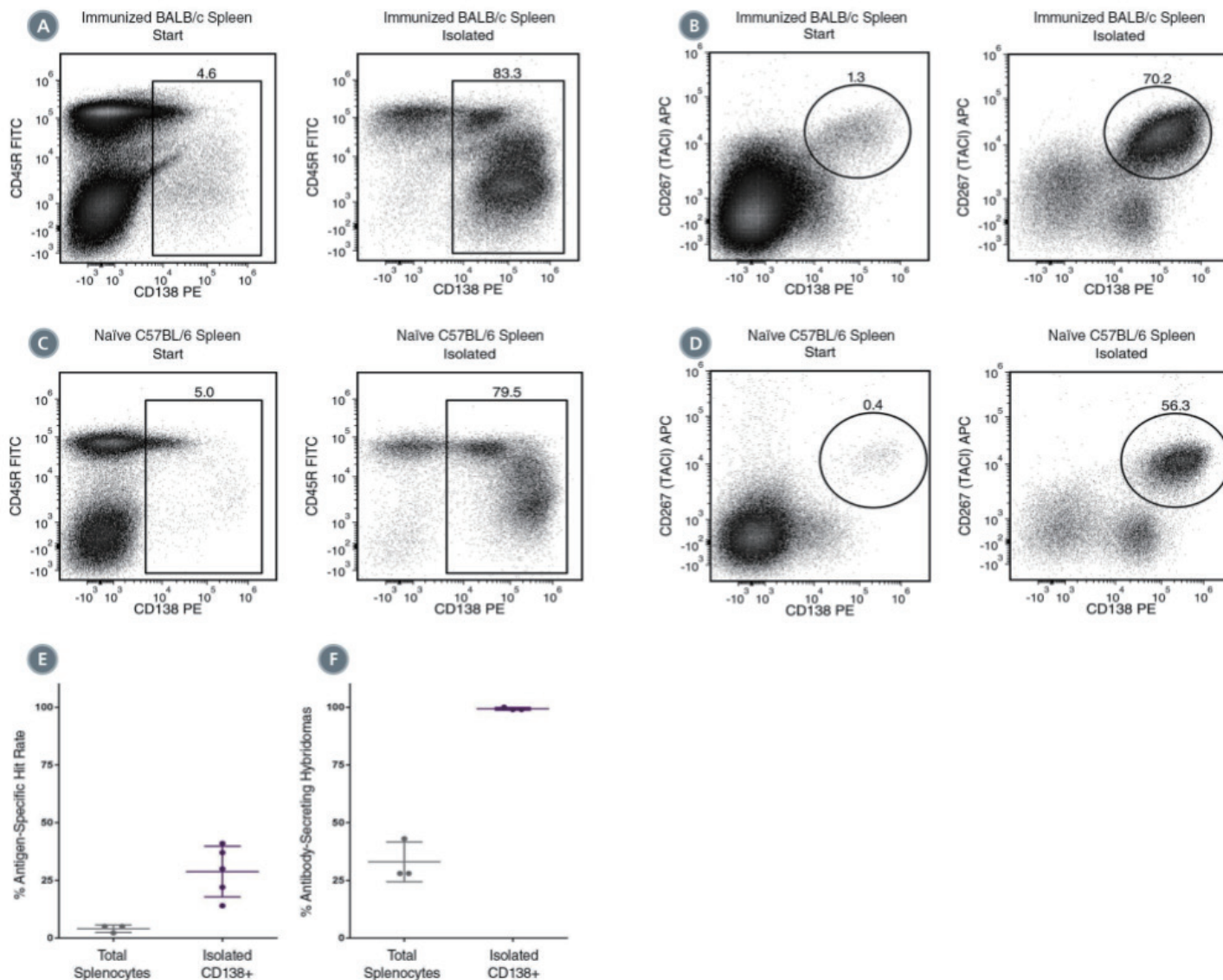
注意事项和提示

纯度评估

要通过流式细胞术评估细胞纯度, 请使用以下克隆号的流式抗体:

- 抗小鼠CD138 (Syndecan-1) 抗体, 克隆281-2 (产品号 #60035) 及
- 抗小鼠CD45R抗体, 克隆RA3-6B2 (产品号 #60019), 及
- 抗小鼠CD267 (TACI) 抗体, 克隆8F10 (产品号 #60116)。

实验数据



- (A) 起始样本为免疫的BALB/c小鼠脾脏细胞，分选后CD138+的含量通常为 $81.5 \pm 4.9\%$ （平均值 \pm 标准差）。在上述实验中，起始样本和分选后的目的细胞的纯度分别为4.6%和83.3%。
- (B) 起始样本为免疫的BALB/c小鼠脾脏细胞，分选后浆细胞（CD138+CD267（TACI）+）的含量通常为 $68.5 \pm 11.3\%$ （平均值 \pm 标准差）。在上述实验中，起始样本和分选后的目的细胞的纯度分别为1.3%和70.2%。
- (C) 起始样本为naive C57BL/6小鼠脾脏细胞，分选后CD138+的含量通常为 $78.3 \pm 5.7\%$ （平均值 \pm 标准差）。在上述实验中，起始样本和分选后的目的细胞的纯度分别为5.0%和79.5%。
- (D) 起始样本为naive C57BL/6小鼠脾脏细胞，分选后浆细胞（CD138+CD267（TACI）+）的含量通常为 $50.8 \pm 10.0\%$ （平均值 \pm 标准差）。在上述实验中，起始样本和分选后的目的细胞的纯度分别为0.4%和56.3%。
- (E) 将从各种抗原免疫的小鼠脾脏中分离的CD138+细胞或全脾脏细胞与Sp2/0小鼠骨髓瘤细胞融合，并铺板在ClonaCell™-HY杂交瘤试剂盒（产品号#03800）的半固体培养基中。通过ELISA测定抗原特异性命中率。全脾细胞和CD138+细胞的抗原特异性阳性率分别为 $4.1 \pm 1.6\%$ 和 $28.8 \pm 11.0\%$ （平均值 \pm 标准差）。
- (F) 将从各种抗原免疫的小鼠脾脏中分离的CD138+细胞或全脾脏细胞与Sp2/0小鼠骨髓瘤细胞融合，并铺板在ClonaCell™-HY杂交瘤试剂盒（产品号#03800）的半固体培养基中。通过ELISA测定杂交瘤抗体分泌率。全脾细胞和CD138+细胞的杂交瘤抗体分泌率分别为 $33.0 \pm 8.7\%$ 和 $99.3 \pm 0.6\%$ （平均值 \pm 标准差）。

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、ClonaCell™、EasyEights、EasySep、EasyTube、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，但对此类信息的准确性或完整性不作任何保证或声明。