

EasySep™ 人脐带血 CD34 正选试剂盒II

可处理 1000 mL 脐带血

产品号 #17896
#17896RF RoboSep™

正选

文档号 #1000032498 | 版本00



Scientists Helping Scientists™ | WWW.STEMCELL.COM

电话: 400 885 9050

E-MAIL: INFO.CN@STEMCELL.COM

产品介绍

使用简单的两步法从新鲜的全脐带血中分离高纯度的CD34+细胞。

- 操作简单、快速
- 纯度高达98%
- 无需分离柱
- 可与SepMate™ 联合使用, 实现一致且高通量的样本处理

首先, 使用RosetteSep™ 人脐带血CD34预富集抗体混合物 (产品号 #15896C) 识别T细胞、B细胞、髓系细胞以及血小板表面标志物来预富集造血祖细胞。然后使用EasySep™ 人CD34正选抗体混合物 (产品号 #18096C) 中识别CD34的抗体来分选CD34+ 细胞。

RosetteSep™ 将非目的细胞与红细胞 (RBC) 交联, 形成免疫玫瑰花结, 并在密度梯度离心过程中一起沉淀。含CD34+细胞的预富集细胞层可从血浆和密度梯度离心液之间的界面收集。然后预富集的CD34+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入弃去, 而目的细胞则保留在试管中。分选后的CD34+细胞可立即用于下游应用。

- 从新鲜的人外周血或白膜层分离CD34+细胞, 推荐使用人全血CD34+ 细胞完全试剂盒 (产品号 #15086)。
- 如需从其他样本分离CD34+细胞, 包括新鲜或冻存的动员外周血、骨髓单个核细胞、冻存的脐带血单个核细胞, 请使用EasySep™ 人CD34正选试剂盒II (产品号 #17856)。

包含组分

组分名称	组分号#	规格	储存方式	效期	成分
RosetteSep™ 脐带血CD34预富集抗体混合物II	15896C	2 x 2.5 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CD34正选抗体混合物	18096C	2 x 1 mL	2 - 8°C 储存。 勿冷冻	具体效期请见标签	保存在PBS中的单克隆抗体混合物, 包含Fc受体阻断抗体。
EasySep™ Dextran RapidSpheres™ 50100	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。

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。

脐带血

使用含有抗凝剂的采血容器收集脐带血。

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1 mM EDTA的PBS。缓冲液应该不含Ca⁺⁺和Mg⁺⁺。

密度梯度离心液

Lymphoprep™ (产品号 #18060)

使用指南–RosetteSep™ 操作流程流程

请参阅第1页了解样本制备和推荐缓冲液。有关RosetteSep™ 的详细使用说明，请参阅表1。

确保脐带血样本、推荐缓冲液、密度梯度离心液和离心机均处于室温 (15 - 25°C)。有关使用SepMate™-50分选管的更多信息，请参阅适用的产品说明书。

表1.RosetteSep™ 脐带血 CD34 预富集操作流程

步骤	说明	RosetteSep™	
		常规50 mL离心管	SEPMATE™- 50
1	收集脐带血样本，样本体积在范围内。	5 - 15 mL	4 - 17 mL
2	在样本中加入RosetteSep™ 抗体混合物。 注意：不要涡旋抗体混合物。	5 µL/mL样本	5 µL/mL样本
	混匀并孵育。	室温孵育20分钟	室温孵育10分钟
3	用推荐缓冲液稀释样本并轻轻混合。	加入与样本等体积的缓冲液	加入与样本等体积的缓冲液
4	将密度梯度离心液添加到所需的试管中。	15 mL	15 mL
	所需的试管。	50 mL (30 x 115 mm) 锥形管 (如: 产品号 #38010)	SepMate™-50 (RUO; 产品号 #86450)
5	将稀释的样本添加到含有密度梯度离心液的试管中。	在密度梯度离心液上小心地加入稀释的样本， 尽量减少两层混合	将稀释后的样本倒入或使用移液管 转移至SepMate™-50管中
6	离心。	1200 x g 离心20分钟，关闭刹车	1200 x g 离心10分钟，打开刹车
7	收集预富集的细胞 * 有关去除血小板的信息，请参阅下面的注释。	用移液管收集富集的细胞层并转移至 新的离心管中**	将上清液倒入新的常规离心管中
8	清洗预富集的细胞。	用推荐缓冲液加满离心管	用推荐缓冲液加满离心管
9	离心。	300 x g 离心10分钟，刹车设置为低	300 x g 离心10分钟，刹车设置为低
		小心地吸出并弃去上清	小心地吸出并弃去上清
10	按说明将预富集的细胞重悬于推荐缓冲液中。‡ 注意：如果使用含有大量红细胞的样本， RosetteSep™ 预富集后细胞沉淀的体积可 能略大于推荐的重悬体积。不要向样本中添 加额外的推荐缓冲液。	起始脐带血样本体积： · < 50 mL 重悬于0.5 mL 中 · 50 - 100 mL 重悬于0.75 mL 中 · 100 - 150 mL 重悬于1.0 mL 中 · >150 mL 重悬于1.5 mL 中	起始脐带血样本体积： · < 50 mL 重悬于0.5 mL 中 · 50 - 100 mL 重悬于0.75 mL 中 · 100 - 150 mL 重悬于1.0 mL 中 · >150 mL 重悬于1.5 mL 中
11	预富集后的细胞可立即用于下游应用。	继续进行EasySep™ 或RoboSep™ 人脐带血CD34正选操作流程	继续进行EasySep™ 或RoboSep™ 人脐带血CD34正选操作流程

RT-室温 (15 - 25°C)

**为了最大限度地减少血小板污染，在密度梯度介质：血浆界面收集细胞之前，去除并丢弃血浆层的上三分之一。

***有时很难看到界面处的细胞。建议收集预富集的细胞同时也收集一部分密度梯度离心液，以确保完全回收细胞。

‡ 使用“The Big Easy”或EasyEights™ EasySep™磁极时，可将多管脐血样本中得到的细胞沉淀先根据表1第10步重悬，然后合并处理，合并后最大体积为4 mL。

使用指南–EasySep™ 手动实验流程

请参阅第1页查看推荐缓冲液。有关每种磁极手操的详细使用方法，请参阅表2与表3。

表2.EasySep™人脐带血 CD34 正选试剂盒II操作流程

		EASYSEP™ 磁极	
步骤	说明	 EasySep™ (产品号 #18000)	 “The Big Easy”™ (产品号 #18001)
1	根据表1制备RosetteSep™ 预富集样本。‡	0.5 mL	0.5 - 4 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	在样本中加入分选抗体混合物。 注意: 不要涡旋抗体混合物。	100 µL/mL 样本	100 µL/mL 样本
	混匀并孵育。	室温孵育10分钟	室温孵育10分钟
3	涡旋振荡RapidSpheres™。 注意: 磁珠应呈均匀分散状态。	30 秒	30 秒
4	将RapidSpheres™ 加到样本中。	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3分钟
5	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。	定容至2.5 mL	· 若样本 ≤ 1 mL, 定容至3 mL · 若样本 > 1 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3分钟
6	拿起磁极, 以一个连续的动作翻转磁极和试管, 倾倒入上清液*。从磁极中取出试管, 其中含有分选后的细胞。	弃去上清液	弃去上清液
7	重复以上步骤。	重复三次步骤5和6 (总共进行4次3分钟的分选)	重复三次步骤5和6 (总共进行4次3分钟的分选)
8	从磁极中取出试管, 并用推荐缓冲液加满试管。离心。	300 x g离心10分钟, 刹车设置为低	300 x g离心10分钟, 刹车设置为低
		小心地吸出并弃去上清	小心地吸出并弃去上清
9	将细胞重悬于所需缓冲液中。	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)

‡ 使用“ The Big Easy” EasySep™ 磁极时, 可将多管脐血样本中得到的细胞沉淀先根据表1第10步重悬, 然后合并处理, 合并后最大体积为4 mL。

* 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3.EasySep™人脐带血 CD34 正选试剂盒II操作流程

		EasyEights™ (产品号 #18103)
		 14 mL 流式管
		0.5 - 4 mL
1	根据表1制备RosetteSep™ 预富集样本。‡ 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	在样本中加入分选抗体混合物。 注意: 不要涡旋抗体混合物。 混匀并孵育。	100 µL/mL 样本 室温孵育10分钟
3	涡旋振荡RapidSpheres™。 注意: 磁珠应呈均匀分散状态	30 秒
4	将RapidSpheres™加到样本中。 混匀并孵育。	50 µL/mL 样本 室温孵育3分钟
5	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。 将试管 (不加盖) 放入磁极中并孵育。	· 若样本 ≤ 1 mL, 定容至3 mL · 若样本 > 1 mL, 定容至10 mL 室温孵育10分钟
6	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
7	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。 将试管 (不加盖) 放入磁极中并孵育。	· 若样本 ≤ 1 mL, 定容至3 mL · 若样本 > 1 mL, 定容至10 mL 室温孵育5分钟
8	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
9	重复以上步骤。	步骤7和8 (总共进行1次10分钟和2次5分钟的分选)
10	从磁极中取出试管, 并用推荐缓冲液加满试管。离心。	300 x g 离心10分钟, 刹车设置为低 小心地吸出并弃去上清
11	将细胞重悬于所需缓冲液中。	分选后的细胞可立即用于下游应用

RT - 室温 (15 - 25°C)

‡ 可将多管脐血样本中得到的细胞沉淀先根据表1第10步重悬, 然后合并处理, 合并后最大体积为4 mL。

** 使用单个移液管一次性收集全部上清液 (例如, 对于EasyEight™ 14 mL 试管, 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页查看推荐缓冲液。有关RoboSep™ 的详细使用说明，请参阅表4。

表4. RoboSep™人脐带血 CD34 正选试剂盒II操作流程

步骤	说明	RoboSep™ (产品号 #21000)	
1	根据表1制备RosetteSep™ 预富集样本。‡	0.5 - 4 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。	<ul style="list-style-type: none"> 用于CB样本的人CD34正选II 17896 用于CB样本的人CD34正选II 17896 - 高纯度 	
3	涡旋振荡RapidSpheres™。 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，取出装有目的细胞的试管。离心。	300 x g离心10分钟，刹车设置为低	
		小心地吸出并弃去上清	
6	将细胞重悬于所需缓冲液中。	分选后的细胞可立即用于下游应用	

‡ 可将多管脐血样本中得到的细胞沉淀先根据表1第10步重悬，然后合并处理，合并后最大体积为4 mL。

注意事项和提示

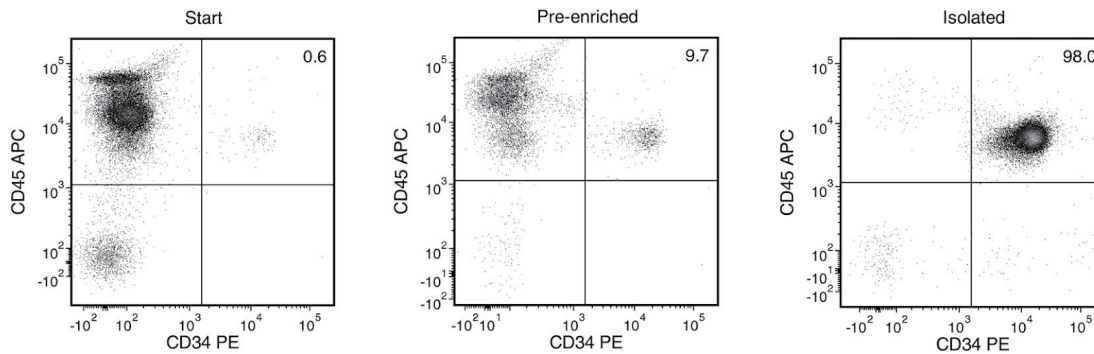
纯度评估

EasySep™ 人脐带血CD34细胞正选抗体混合物使用II类CD34抗体克隆，该克隆可能会阻断一些用于流式细胞术评估纯度的I类和II类CD34抗体克隆。如需通过流式细胞术进行纯度评估，请使用以下任一荧光偶联的III类CD34抗体克隆以及荧光偶联的抗CD45抗体：

- 抗人CD34抗体，克隆581（产品号 #60013），抗人CD34抗体，克隆8G12（产品号 #60121），克隆AC136或克隆BirnaK3，以及
- 抗人CD45抗体，克隆HI30（产品号 #60018）

使用StemSpan™无血清扩增培养基和添加物，可以将分选后的CD34+细胞扩增和/或分化为特定谱系的成熟造血细胞（如需更多信息，请访问 www.stemcell.com）。红系（BFU-E/CFU-E）、髓系（CFU-GM）和多谱系（CFU-GEMM）祖细胞的频率可以通过使用半固体培养基MethoCult™ H4034 Optimum（产品号 #04034）或不含EPO的MethoCult™ H4035 Optimum（产品号 #04035）检测集落形成单位（CFU）进行评估。

实验数据



起始样本为新鲜的脐带血，分选后的CD34+ 细胞含量通常为 $91 \pm 9\%$ （平均值 \pm 标准差，使用紫色EasySep™ 磁极）。

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、EasyEight、EasySep、MethoCult、RapidSpheres、RoboSep、RosetteSep、SepMate和StemSpan均是STEMCELL Technologies Canada Inc.的商标。Lymphoprep是Serumwerk Bernburg AG的商标。以Lymphoprep品牌名称销售的产品也由Serumwerk Bernburg AG制造。其它商标为各自持有人的产权。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。