EasySep™人 CD34 正选试剂盒II

可处理 5 x 10^9 个细胞

产品号 #17856
#17856RF RoboSep™

正选

文档号 #10000032501 | 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，从新鲜或冻存的动员人外周血或骨髓单个核细胞 (MNCs)、冻存的脐带血MNC或人胚胎干 (ES) 和诱导多能干 (iPS) 细胞中分离高纯度的CD34+细胞。

- 操作简单、快速
- 纯度高达99%
- 无需分离柱

该试剂盒使用识别CD34表面标志物的抗体来正选CD34+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、培养或 DNA/RNA 提取。

- 如需从新鲜脐带血中分离CD34+细胞，请使用EasySep™人脐带血CD34正选试剂盒II（产品号 #17896）

包含组分

组分名称	组分号#	规格	储存方式	效期	成分
EasySep™人CD34正选抗体混合物	17856C	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，包含Fc受体阻断抗体。
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。

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。

外周血或骨髓

通过在密度梯度离心液 (如Lymphoprep™，产品号 #18060) 上进行离心，从动员的外周全血或全骨髓中制备MNC悬液。如需更快速地制备MNC，请使用 SepMate™ RUO（产品号 #86450/86415）或SepMate™ IVD*（产品号 #85450/85415）细胞离心管。存放时间较长的样本可能需要在密度梯度离心液上进行更长时间的离心，以减少低密度粒细胞的污染。或者在开始EasySep™分选之前先使用RosetteSep™人粒细胞去除抗体混合物（产品号 #15624）去除总粒细胞。

如果使用冻存的MNCs，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，使用推荐的缓冲液重悬细胞。

* 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）。

CD34+含量高（> 5%）的样本
请通过info.cn@stemcell.com与我们联系，获取从预富集过CD34+细胞的样本中进一步分选CD34+细胞的方案。

ES或iPS细胞培养物

注：若您使用STEMdiff™试剂盒分化得到培养物，请参考适用的技术手册，可通过网站www.stemcell.com或直接联系我们获取。

含有类胚体（EBs）的分化培养物：

1.将EBs转移至15 mL锥形管（例如产品号 #38009），并使其沉降在试管底部。
2.去除原培养基并添加1 mL ACCUTASE™（产品号 #07920）。在37°C孵育10分钟。
3.使用1000 µL移液器枪头轻轻上下吹吸15次。
4.添加10 mL含2%胎牛血清的D-PBS（产品号 #07905）并离心。
5.去除上清液，并使用推荐缓冲液重悬细胞沉淀。

在贴壁间质细胞层上共培养的分化方法：

1.吸取未贴壁的细胞并转移至15 mL锥形管中。
2.将1 mL ACCUTASE™添加到培养板中。在37°C孵育10分钟。
3.从培养板中吸出解离的细胞，并转移到同一个15 mL锥形管中。
4.使用10 mL含2%胎牛血清的D-PBS（产品号 #07905）清洗培养板，并转移至同一个锥形管中。
5.离心、去除上清液，并使用推荐缓冲液重悬细胞沉淀。

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++。

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。有关每种磁极的详细使用方法，请参阅表1和表2。

表1.适用于外周血、骨髓或脐带血的EasySep™人 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	按指定细胞浓度制备样本，样本体积在范围内。	• 若起始样本少于1 x 10^7个细胞，使用0.1 mL缓冲液重悬细胞。 • 若起始样本为1 x 10^7 - 1 x 10^8个细胞，以1 x 10^8 细胞/mL的浓度重悬细胞 • 若起始样本为1 - 5 x 10^8个细胞，使用1 mL缓冲液重悬细胞。	• 若起始样本少于5 x 10^7个细胞，使用0.25 mL缓冲液重悬细胞。 • 若起始样本为5 x 10^7 - 2 x 10^8个细胞，以2 x 10^8细胞/mL的浓度重悬细胞。 • 若起始样本为2 - 5 x 10^8个细胞，使用1 mL缓冲液重悬细胞。 • 若起始样本为5 x 10^8 - 2 x 10^9个细胞，以5 x 10^8细胞/mL的浓度重悬细胞。
	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™磁珠。 注意：磁珠应呈均匀分散状态。	30 秒	30 秒
4	将RapidSpheres™磁珠加到样本中。**	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	• 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	弃去上清液
7	重复以上步骤。**	重复四次步骤5和6 (总共进行5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	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。

**如需提高回收率，磁珠添加量可增加至100 µL/mL（步骤 4）和/或减少1次分选（步骤7），即进行4次3分钟或3次3分钟的分选，具体取决于使用的磁极。如需提高纯度，可以增加一次分选。请注意，增加分选次数会降低细胞回收率。

表2.适用于ES或iPS细胞的的EasySep™人 CD34 正选试剂盒II操作流程

步骤	说明	EasySep™ (产品号 #18000)
1	使用推荐缓冲液按指定细胞浓度制备样本。	• 若起始样本少于1 x 10^7个细胞，使用0.1 mL缓冲液重悬细胞。 • 若起始样本为1 x 10^7 - 1 x 10^8个细胞，以1 x 10^8 细胞/mL的浓度重悬细胞。 • 若起始样本为1 - 5 x 10^8个细胞，使用1 mL缓冲液重悬细胞。
	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)
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
	混匀并孵育。	室温孵育10分钟
3	涡旋振荡RapidSpheres™磁珠。 注意：磁珠应呈均匀分散状态。	30 秒
4	将RapidSpheres™磁珠加到样本中。*	50 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。	定容至2.5 mL
	将试管（不加盖）放入磁极中并孵育。	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	重复以上步骤。	重复两次步骤5和6 (总共进行3次3分钟的分选)
可选额外分选步骤 注意：可以提升细胞纯度，但细胞回收率可能会降低。		重复步骤5和6 （总共进行4次3分钟的分选）
8	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

RT - 室温 (15 - 25°C)

*可以通过添加100 µL/mL的RapidSpheres™磁珠来提高CD34+细胞的回收率。

**保持磁极和流式管倒置 2 - 3秒，然后恢复直立。不要摇晃或者擦拭掉仍可能挂在管口的任何液滴。

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.适用于外周血、骨髓或脐带血的RoboSep™人 CD34 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。	・若起始样本少于5 x 10^7个细胞，使用0.25 mL缓冲液重悬细胞。 ・若起始样本为5 x 10^7 - 2 x 10^8个细胞，以2 x 10^8细胞/mL的浓度重悬细胞。 ・若起始样本为2 - 5 x 10^8个细胞，使用1 mL缓冲液重悬细胞。 ・若起始样本为5 x 10^8 - 2 x 10^9个细胞，以5 x 10^8细胞/mL的浓度重悬细胞。
	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CD34正选II 17856-高纯度 ・人CD34正选II 17856-高回收率
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
	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

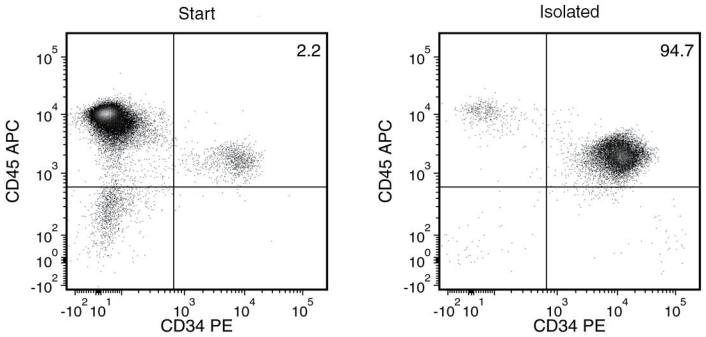
EasySep™人CD34细胞正选抗体混合物使用II类CD34抗体克隆，该克隆可能会阻断一些用于流式细胞术评估纯度的I类和III类CD34抗体克隆。要通过流式细胞术评估CD34+细胞的纯度，请使用以下III类流式抗体克隆:

・抗人CD34抗体，克隆581（产品号 #60013），克隆8G12（产品号 #60121），以及

・抗人CD45抗体，克隆HI30（产品号 #60018）

注：正选后的细胞可能会在流式细胞术分析中呈现比分选前略高的侧向角散射（SSC）。

实验数据示



起始样本为脐带血、动员的外周血或骨髓MNC或ES和iPS细胞培养物，分选后的CD34+细胞含量通常为93.5 ± 1.1%（使用紫色 EasySep™磁极，平均值±标准差）在上述实验中，样本为冻存的脐带血，起始样本和分选后的目的细胞纯度分别为2.2%和94.7%。

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、EasySep、RapidSpheres、RoboSep、RosetteSep和SepMate均是STEMCELL Technologies Canada Inc.的商标。ACCUTASE是Innovative Cell 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。