

EasySep™小鼠 CD45 正选试剂盒

可处理 2×10^9 细胞

产品号 #18945

正选

文档号 #10000032507 | 版本00



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、肺或其它单细胞悬液中分离高纯度的CD45+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、快速
- 纯度高达98%
- 无需分离柱
- 分选后的细胞无荧光标记

该试剂盒通过识别CD45表面标志物的抗体来正选CD45+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、培养以及基于细胞的实验。

包含组分

组分名称	组分号#	规格	储存方式	效期	成分
EasySep™小鼠CD45正选试剂盒组分A	18945CA	1 x 1 mL	2 - 8°C 储存。 勿冷冻。	具体效期请见标签。	保存在含0.1% BSA的PBS中的单克隆抗体混合物。
EasySep™小鼠CD45正选试剂盒组分B	18945CB	1 x 1 mL	2 - 8°C 储存。 勿冷冻。	具体效期请见标签。	保存在含5% HPCD的PBS中的单克隆抗体混合物。
EasySep™ Dextran RapidSpheres™ 50100磁珠	50100	2 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。

BSA - 牛血清白蛋白; HPCD - 2-羟丙基-β-环糊精; PBS - 磷酸盐缓冲液

试剂盒组分可在室温 (15 - 25°C) 下运输, 但收到后应按照上表中的储存条件储存。

其它试剂稳定性信息

试剂名称	储存方式	效期
分选抗体混合物 (组分A + 组分B的混合物)	2 - 8°C 储存。勿冷冻。	可存放不超过4周。存放时间请勿超过各个组分标签上的效期。

样本制备

肺组织

以下说明适用于处理5 - 10个小鼠肺脏。如果起始样本超过10个肺脏，请相应调整体积。

- 1.将0.25 mL Liberase™ TM科研级（10 mg/mL；Sigma-Aldrich，产品号 #5401119001）和1.5 mL DNase I溶液（1 mg/mL；产品号 #07900）添加到8.25 mL的RPMI 1640培养基（产品号 #36750）中，制备10 mL肺组织消化液。预热至室温（15 - 25°C）。
注：也可用1 mL胶原酶/透明质酸酶（产品号 #07912）代替科研级Liberase™ TM科研级。如使用胶原酶/透明质酸酶制备肺消化液，RPMI 1640培养基的体积需要减少至7.5 mL。
- 2.将肺组织收集到含有PBS和2%胎牛血清（FBS）的50 mL锥形管中。
- 3.将肺组织转移到含有10 mL消化液的50 mL的锥形管中，并用剪刀将组织剪碎成小块。在摇床上37°C孵育20分钟。
- 4.将70 μm尼龙滤筛（产品号 #27260）放在一个培养皿（如产品号 #27110）上，并用注射器活塞的橡胶端将消化的肺组织推过滤筛，以获得细胞悬液。
- 5.将新的70 μm尼龙滤筛放在50 mL锥形管上，过滤细胞悬液。用推荐的缓冲液冲洗滤筛并收集在同一锥形管中。
- 6.在室温下以300 x g离心10分钟（刹车设置为低）。小心地弃去上清。
- 7.将20 mL氯化铵溶液（产品号 #07800）添加到细胞沉淀中。在室温下孵育5分钟。
- 8.用推荐缓冲液定容至50 mL。在室温下以300 x g离心10分钟（刹车设置为低）。小心地弃去上清。
- 9.将细胞以 1×10^8 有核细胞/mL的浓度重悬于推荐的缓冲液中。

脾脏

- 1.将脾脏收集到含有2%胎牛血清（FBS）的PBS或 EasySep™ 缓冲液（产品号 #20144）的锥形管中。
- 2.将70 μm尼龙滤筛（如产品号 #27260）放在 50 mL 锥形管（如产品号 #38010）上，并用注射器活塞的橡胶端将脾组织推过滤筛，以获得单细胞悬液。
- 3.在室温下以300 x g离心10分钟（刹车设置为低）。小心地去除上清液。
- 4.将细胞以 1×10^8 有核细胞/mL的浓度重悬于推荐的缓冲液中。

注：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）或含2% 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 CD45 正选试剂盒操作流程

		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。	1 x 10 ⁸ 细胞/mL 0.1 - 1.5 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	在试管中制备分选抗体混合物。 每1 mL样本需制备100 µL抗体混合物 (50 µL组分A + 50 µL组分B)。	将等体积的组分A和组分B混合 制备的抗体混合物可在 2 - 8°C 下稳定保存不超过4周	将等体积的组分A和组分B混合 制备的抗体混合物可在 2 - 8°C 下稳定保存不超过4周
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。	100 µL/mL 样本	100 µL/mL 样本
	混匀并孵育。	室温孵育5分钟	室温孵育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。	室温孵育3分钟	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。	定容至2.5 mL	· 若样本 ≤ 3 mL，定容至 5 mL · 若样本 > 3 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。	重复步骤6和7 (总共进行2次5分钟的分选)	重复步骤6和7 (总共进行2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 CD45 正选试剂盒操作流程

		EASYSEP™ 磁极	
步骤	说明	 EasySep™ (产品号 #18102)	 EasyEights™ (产品号 #18103) 5 mL 流式管
1	按指定细胞浓度制备样本，样本体积在范围内。	1 x 10 ⁸ 细胞/mL 0.05 - 0.15 mL	1 x 10 ⁸ 细胞/mL 0.1 - 1.5 mL
	将样本添加到所需的试管中。	圆底，非TC处理的96孔板（如产品号 #38018）	5 mL（12 x 75 mm）聚苯乙烯流式管 （如：产品号 #38007）
2	在试管中制备分选抗体混合物。每1 mL样本需制备100 μL抗体混合物（50 μL组分A + 50 μL组分B）。	将等体积的组分A和组分B混合 制备的抗体混合物可在 2 - 8°C 下稳定保存不超过4周	将等体积的组分A和组分B混合 制备的抗体混合物可在 2 - 8°C 下稳定保存不超过4周
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。	100 μL/mL 样本	100 μL/mL 样本
	混匀并孵育。	室温孵育5分钟	室温孵育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	100 μL/mL 样本
	混匀并孵育。	室温孵育3分钟	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。	定容至250 uL	定容至2.5 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
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	重复以上步骤。	重复步骤6和7 （总共进行2次5分钟的分选）	重复步骤6和7 （总共进行2次10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）

**使用单个移液管一次性收集全部上清液（对于EasyEight™ 5 mL试管，使用2 mL血清移液管 [产品号 #38002]）。

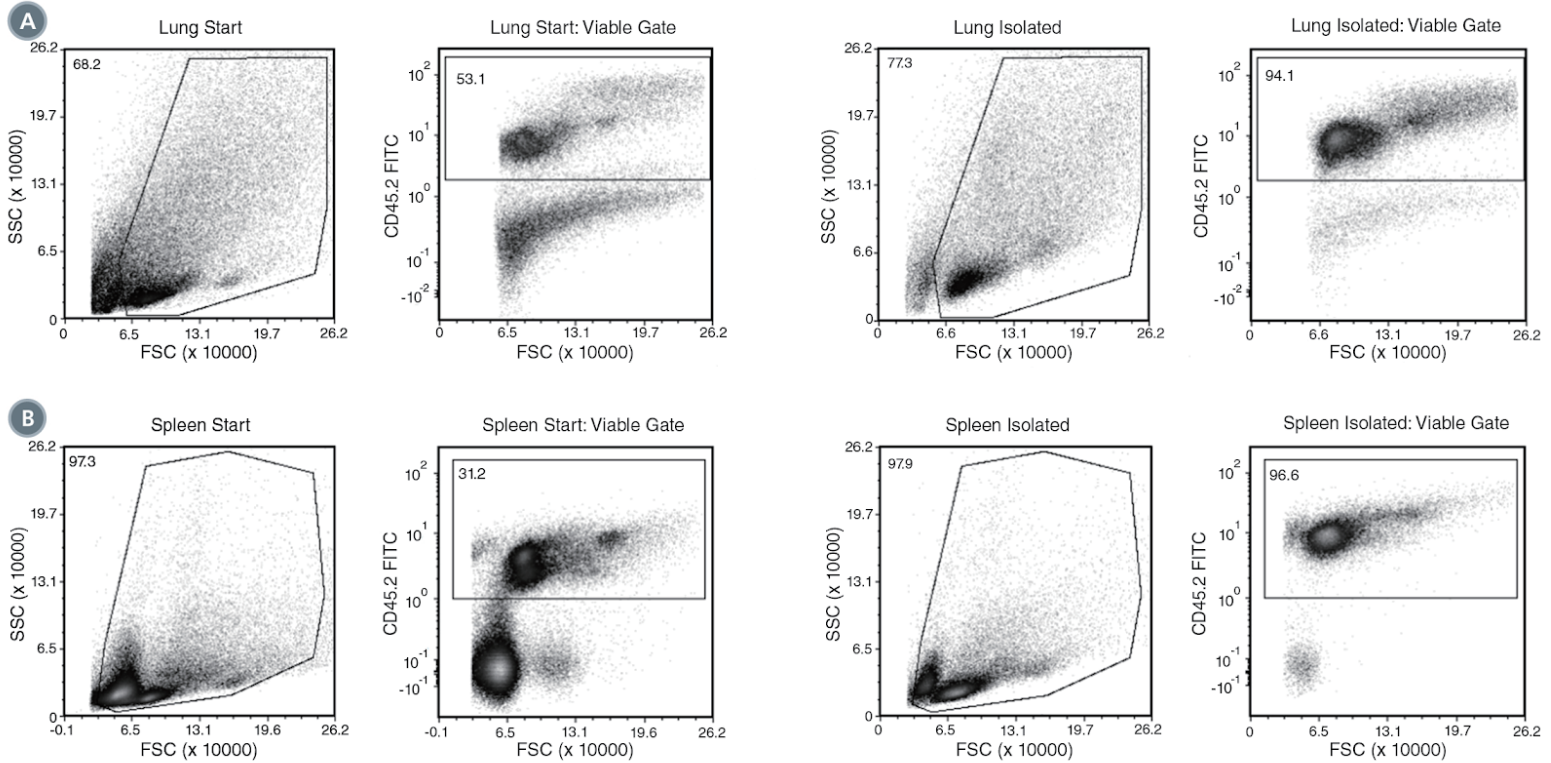
注意事项和提示

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之一：

- 抗小鼠CD45.2，克隆104（产品号 #60118）用于携带 CD45.2 或 Ly5.2 的小鼠品系（如A, AKR, BALB/c, CBA/Ca, CBA/J, C3H/He, C57BL, C57BR, C57L, C58, DBA/1, DBA/2, NZB, SWR, 以及129）或
- 抗小鼠CD45.1，克隆A20（产品号 #60117）用于携带 CD45.1 或 Ly5.1 的小鼠品系（如 RIII, SJL/J, STS/A, 以及DA）。

实验数据



(A)起始样本为naïve小鼠肺单细胞悬液，分选后的白细胞（CD45+）含量通常为 $97.0 \pm 1.4\%$ （平均值 \pm 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53.1%和94.1%。

(B)起始样本为未裂红的naïve小鼠脾细胞，分选后的白细胞（CD45+）含量通常为 $97.6 \pm 1.3\%$ （平均值 \pm 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31.2%和96.6%。

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、EasyEights、EasySep、EasyPlate和RapidSpheres均是STEMCELL Technologies Canada Inc.的商标。Liberase是Roche Diagnostics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。