

EasySep™人全血 CD34+ 细胞分选 完全试剂盒

可处理 120 mL 全血

产品号 #15086

产品号 #15086RF RoboSep™

正选

文档号 #10000035715 | 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人全血或白膜层中分离高纯度的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™人造血祖细胞富集抗体混合物 (产品号 #15186C) 中识别特定细胞表面标志物的抗体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 #18066C.1) 中识别CD34的抗体分离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。预富集的CD34+细胞随后用抗体和磁珠标记, 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CD34+细胞可立即用于下游应用, 例如流式细胞术、细胞培养、DNA/RNA提取或生成诱导性多能干细胞 (iPSC)。

- 从新鲜脐带血样本中分选CD34+细胞, 推荐使用EasySep™人脐带血CD34正选试剂盒II (产品号 #17896);
- 从包含新鲜或冻存复苏的动员外周血单或骨髓样本或脐带血单个核细胞样本中分选CD34+细胞, 推荐使用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™人造血祖细胞富集抗体混合物	15186C	3 x 2 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	18066C.1	1 x 0.4 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。

RosetteSep™人造血祖细胞富集抗体混合物中可能存在沉淀, 但沉淀不会影响使用效果。

样本制备

为达到最佳使用效果, 请使用24小时内采集并在室温 (15 - 25°C) 下储存的全外周血。虽然RosetteSep™针对全血样本进行优化, 但如果其他来源的样本中 (如buffy coat) 的红细胞与有核细胞比例至少为100 : 1, 则也可以使用RosetteSep™进行细胞富集。样本中有核细胞的浓度不应超过 5×10^7 细胞/mL。

推荐缓冲液

EasySep™缓冲液 (产品号 #20144), RoboSep™缓冲液 (产品号 #20104), RoboSep™缓冲液2 (产品号 #20164), 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) 或密度为1.077 g/mL的其他密度梯度离心液。

使用指南–RosetteSep™操作流程

请参阅第 1 页了解样本制备和推荐缓冲液。

确保全血样本、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™人造血祖细胞富集操作流程

		ROSETTESEP™	
步骤	说明	常规50 mL离心管	SepMate™-50
1	收集样本。	每个试管15 mL	每个试管15 - 17 mL
2	在样本中加入RosetteSep™抗体混合物。	50 µL/mL 样本	50 µL/mL 样本
	混匀并孵育。	室温孵育20分钟	室温孵育20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), 或 SepMate™-50 (IVD*; 产品号 #85450)
5	将稀释的样本添加到含有密度梯度离心液的试管中。	将稀释的样本小心铺在密度梯度离心液上层, 尽量避免两层发生混合	将稀释后的样本倒入或 使用移液管转移至SepMate™-50分选管中
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 注: 对于存放时间超过24小时的样本, 可能需要再离心10分钟。
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 至新的试管中***	将上清液倒入新的常规离心管中 注: 离心后, SepMate™插件表面上可能会有一些 红细胞残留。这不会影响使用效果。
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	按说明将细胞重悬于推荐缓冲液中。	对于起始样本体积: ● < 50 mL 重悬于0.5 mL中 ● ≥ 50 - 100 mL 重悬于0.75 mL中 ● > 100 - 120 mL 重悬于1.0 mL中	对于起始样本体积: ● < 50 mL 重悬于0.5 mL中 ● ≥ 50 - 100 mL 重悬于0.75 mL中 ● > 100 - 120 mL 重悬于1.0 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CD34正选操作流程	继续进行EasySep™或 RoboSep™人CD34正选操作流程

RT - 室温 (15 - 25°C)

* 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)。

**如需尽量减少血小板污染, 可在收集血浆层和密度梯度离心液层交界处的细胞之前, 先吸除血浆层上层的三分之一并弃去。或者在步骤9之后, 室温下 (15 - 25°C) 以120 x g离心10分钟 (关闭刹车) 来去除血小板。

*** 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。有关每种磁极手操的详细使用方法，请参阅表 2 与表 3。

表2.EasySep™ 人 CD34 正选操作流程

		EASYSEPTM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 - 1 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。	50 µL/mL样本	50 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。	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
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	定容至3 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	将细胞重悬于所需培养基中。	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)

* 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。

表3.EasySep™人 CD34 正选操作流程

		EASYSEPTM磁极	
步骤	说明	EasyEights™ (产品号 #18103)	
		5 mL 流式管	14 mL 流式管
1	根据表1制备RosetteSep™预富集样本。	0.5 mL	0.5 - 1 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。	50 µL/mL样本	50 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。	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
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	定容至3 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
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	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。	定容至2.5 mL	定容至3 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
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	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)	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	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
11	将细胞重悬于所需培养基中。	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)

** 使用一个移液管一次收集所有的上清液 (例如, 对于EasyEights™ 5 mL流式管, 使用一个2 mL血清移液管 [产品号 #38002]; 对于EasyEights™ 14 mL流式管, 使用一个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 4。

表4.RoboSep™人 CD34 正选操作流程

步骤	说明	RoboSep™ (产品号 #21000)	
1	根据表 1 制备 RosetteSep™ 预富集样本。	0.5 - 1 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。	人 CD34 全血正选 15086 v2	
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，并从磁极中取出含分选后的细胞的试管，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	将细胞重悬于所需培养基中。	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。据我们所知，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。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：

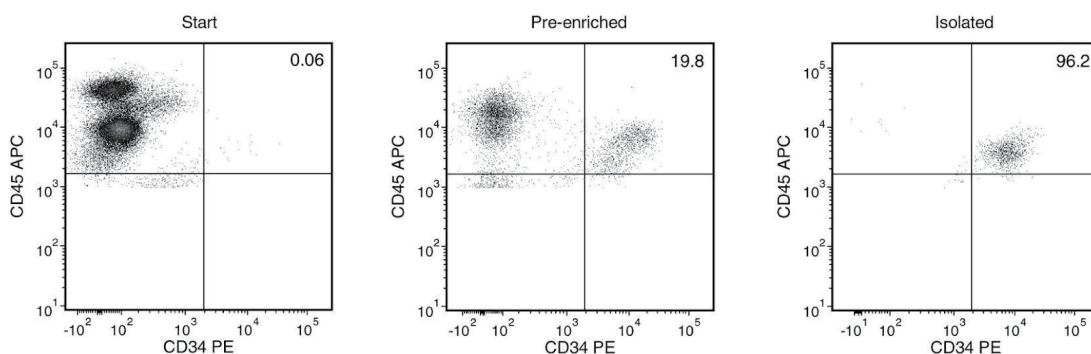
- 抗人CD45抗体，克隆HI30（产品号 #60018），以及
- 抗人CD34抗体，克隆581（产品号 #60013）或克隆8G12（产品号 #60121），或者
- 抗人CD34抗体、克隆AC136或BirnaK3

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。欲了解更多信息，请访问www.stemcell.com。

ReproTeSR™（产品号 #05920）可用于将分选后的细胞重编程为人iPS细胞。

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）或不合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



起始样本为全外周血，分选后的CD34+细胞含量通常为 $95.1 \pm 4.5\%$ （以CD45+活细胞设门；使用“The Big Easy” EasySep™磁极，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纯度分别为 0.06%和 96.2%。

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、MethoCult、RapidSpheres、ReproTeSR、RoboSep、RosetteSep、StemSpan和SepMate均是STEMCELL Technologies Canada Inc.的商标。Lymphoprep是Serumwerk Bernburg AG的商标。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。