

EasySep™人生物素正选试剂盒II

可处理 1×10^9 个细胞

产品号 #17663

产品号 #17663 RoboSep™

正选

文档号 #1000035724 | 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, 从新鲜或冻存的人外周血单个核细胞 (PBMCs) 或其他单细胞悬液中分离出高纯度的用生物素化抗体标记的细胞。

- 操作简单、快捷
- 无需分离柱

该试剂盒针对用生物素偶联抗体 (需自备) 标记的细胞进行正选。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、培养或基于细胞的检测分析。

包含组分

组分名称	组分号#	规格	储存方式	效期	成分
EasySep™生物素分选抗体混合物	18153	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。
抗人CD32 (Fc gamma RII) 阻断剂, 用于正选	18520	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。
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。
用于盛装一抗的RoboSep™空管	18550	1 管	不适用	不适用	不适用

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

通过在密度梯度离心液 (如Lymphoprep™, 产品号 #18060) 上离心, 从全血中制备外周血单个核细胞 (PBMC) 悬液。如需更快地制备PBMC, 可以使用SepMate™ RUO (产品号 #86450/86415) 或SepMate™ IVD* (产品号 #85450/85415) 细胞分离管。

如果使用冻存的PBMCs, 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, 使用37 µm的细胞滤筛 (产品号 #27215) 过滤细胞悬液去除聚团, 以获得最佳结果, 再进行标记和分选。

制备完成后, 将细胞以 1×10^8 细胞/mL的浓度重悬于推荐缓冲液中。

* 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)。

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™人生物素正选试剂盒II操作流程

		EASYSEPTM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 - 2.5 mL 注：如果起始细胞数量少于 1 x 10 ⁷ ，请将细胞重悬于 0.1 mL 中。对于目的细胞起始含量 < 2% 的样本，将细胞浓度调整为 2 x 10 ⁸ 细胞/mL。	1 x 10 ⁸ 细胞/mL 0.25 - 8 mL 注：如果起始细胞数量少于 2.5 x 10 ⁷ ，请将细胞重悬于 0.25 mL 中。对于目的细胞起始含量 < 2% 的样本，将细胞浓度调整为 2 x 10 ⁸ 细胞/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。	100 µL/mL 样本	100 µL/mL 样本
3	将生物素化抗体添加到样本中。†	0.3 - 3 µg/mL 样本	0.3 - 3 µg/mL 样本
	混匀并孵育。	室温孵育 15 分钟	室温孵育 15 分钟
可选 清洗步骤：可能可以改善分选效果。添加推荐缓冲液，将样本定容至指定体积并离心。将样本重悬至原始体积。		加入样本体积 10 倍的推荐缓冲液，然后在室温下以 300 x g 离心 10 分钟，刹车设置为低。小心地吸出并弃去上清液。 将样本重悬至与步骤 1 中相同的体积。 注：如果需要，可以在更大的试管中进行清洗步骤。 重悬后，将样本转移回步骤 1 所需的试管中。	加入样本体积 10 倍的推荐缓冲液，然后在室温下以 300 x g 离心 10 分钟，刹车设置为低。小心地吸出并弃去上清液。 将样本重悬至与步骤 1 中相同的体积。 注：如果需要，可以在更大的试管中进行清洗步骤。 重悬后，将样本转移回步骤 1 所需的试管中。
4	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 15 分钟	室温孵育 15 分钟
5	涡旋振荡RapidSpheres™磁珠。 注意：磁珠应呈均匀分散状态。	30 秒	30 秒
6	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 10 分钟 †	室温孵育 10 分钟 †
7	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	<ul style="list-style-type: none"> ●若样本 < 1 mL，定容至 5 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 5 分钟*	室温孵育 5 分钟*
8	拿起磁极，以一个连续的动作翻转磁极和试管**，倾倒下清液。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。	重复两次步骤 7 和 8 (总共进行 3 次 5 分钟的分选)	重复两次步骤 7 和 8 (总共进行 3 次 5 分钟的分选)
继续至下一页。		继续至下一页。	继续至下一页。

		EASYSEPT™磁极	
步骤	说明 (续)	 EasySep™ (产品号 #18000)	“The Big Easy” (产品号 #18001) 
	可选的额外细胞分选流程： 针对目的细胞起始占比 < 15% 的样本 注意：可以提高纯度，但可能会降低细胞回收率。	最多再重复三次步骤 7 和 8 (总共进行 4 - 6 次 5 分钟的分选)	最多再重复三次步骤 7 和 8 (总共进行 4 - 6 次 5 分钟的分选)
10	将细胞重悬于所需的培养基中。 请确保从管壁上收集细胞。	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)

† 滴定生物素偶联抗体以获得最佳纯度和回收率。

§ 可以滴定磁珠以优化分选效果；建议浓度为25 - 75 µL/mL。

‡ 将磁珠孵育时间减少至5分钟可能可以提高纯度。

* 将每轮分选的磁极吸附时间延长至10分钟可能可以提高回收率。

** 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2. EasySep™人生物素正选试剂盒II操作流程

		EASYSEPT™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。	1 x 10 ⁸ 细胞/mL 0.1 - 2.5 mL	1 x 10 ⁸ 细胞/mL 0.25 - 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。	100 µL/mL 样本	100 µL/mL 样本
3	将生物素化抗体添加到样本中。†	0.3 - 3 µg/mL 样本	0.3 - 3 µg/mL 样本
	混匀并孵育。	室温孵育 15 分钟	室温孵育 15 分钟
可选 清洗步骤：可能可以改善分选效果。添加推荐缓冲液，将样本定容至指定体积并离心。将样本重悬至原始体积。		加入样本体积 10 倍的推荐缓冲液，然后在室温下以 300 x g 离心 10 分钟，刹车设置为低。小心地吸出并弃去上清液。 将样本重悬至与步骤 1 中相同的体积。 注：如果需要，可以在更大的试管中进行清洗步骤。 重悬后，将样本转移回步骤1所需的试管中。	加入样本体积 10 倍的推荐缓冲液，然后在室温下以 300 x g 离心 10 分钟，刹车设置为低。小心地吸出并弃去上清液。 将样本重悬至与步骤 1 中相同的体积。 注：如果需要，可以在更大的试管中进行清洗步骤。 重悬后，将样本转移回步骤 1 所需的试管中。
4	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 15 分钟	室温孵育 15 分钟
5	涡旋振荡RapidSpheres™磁珠。 注意：磁珠应呈均匀分散状态。	30 秒	30 秒
6	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 10 分钟 ‡	室温孵育 10 分钟 ‡
7	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	<ul style="list-style-type: none"> ●若样本 < 1 mL，定容至 5 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 10 分钟	室温孵育 10 分钟
8	小心地吸出***（切勿倾倒）上清液。 从磁极中取出含有目的细胞的试管。	弃去上清液	弃去上清液
9	重复以上步骤。	重复两次步骤 7 和 8 (总共进行 3 次 10 分钟的分选)	重复两次步骤 7 和 8 (总共进行 3 次 10 分钟的分选)
继续至下一页。		继续至下一页。	继续至下一页。

		EASYSEP™磁极	
步骤	说明 (续)	EasyEights™ (产品号 #18103)	
		5 mL 流式管	14 mL 流式管
	可选的额外细胞分选流程： 针对目的细胞起始占比 < 15% 的样本 注意：可以提高纯度，但可能会降低细胞回收率。	最多再重复三次步骤 7 和 8 (总共进行 4 - 6 次 10 分钟的分选)	最多再重复三次步骤 7 和 8 (总共进行 4 - 6 次 10 分钟的分选)
10	将细胞重悬于所需的培养基中。 请确保从管壁上收集细胞。	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)

† 滴定生物素偶联抗体以获得最佳纯度和回收率。

§ 可以滴定磁珠以优化性能；建议浓度为 50 - 100 µL/mL。

‡ 将磁珠孵育时间减少至 5 分钟可能可以提高纯度。

*** 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3。

表3. RoboSep™人生物素正选试剂盒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。	1 x 10 ⁸ 细胞/mL 0.25 - 8 mL 注：如果起始细胞数量少于 2.5 x 10 ⁷ ，请将细胞重悬于 0.25 mL中。对于目的细胞起始比例 < 2%的样本，将细胞浓度调整为 2 x 10 ⁸ 细胞/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	在样本中加入FcR阻断剂并混匀。	100 μL/mL 样本
3	选择实验程序。	人生物素正选 17663
4	将生物素化抗体转移至提供的RoboSep™空管中。	RoboSep™需要使用该试剂管才能正常运行
5	涡旋振荡RapidSpheres™磁珠。 注意：磁珠应呈均匀分散状态。	30 秒
6	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
7	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

优化纯度

对于某些细胞类型，可以通过减少EasySep™生物素分选抗体混合物的添加量来提高纯度。这可能会降低回收率，但也会降低后续流式细胞术分析时的侧向角散射 (SSC)。

优化回收率

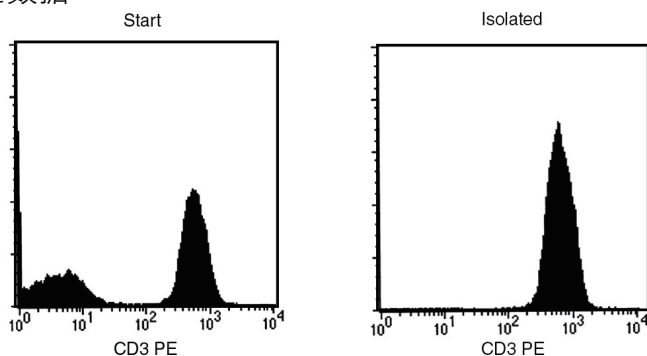
正选的生物素标记的细胞回收率取决于所用生物素化抗体的质量。过期或储存不当的抗体可能对目的细胞表面标志物的亲和力较低，从而导致回收率较低。

纯度评估

对于通过流式细胞术评估生物素化细胞的纯度，请使用以下方法之一：

- 使用识别目的细胞的荧光偶联抗体。
注：生物素化的分选抗体可能会阻断流式抗体结合。
- 使用识别替代标记的荧光偶联抗体。
- 使用荧光二抗，例如山羊抗小鼠IgG (H + L)多克隆抗体 (产品号 #60138)。

实验数据



起始样本为人PBMCs，使用生物素化抗人CD3抗体和EasySep™人生物素正选试剂盒II，上述实验中的起始和最终分选后的纯度分别为60%和97.4%（通过PE偶联的抗人CD3抗体进行评估）。

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、EasyPlate、EasySep、SepMate和RapidSpheres均是STEMCELL Technologies Canada 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。该试剂盒的用户应确保他们有权使用目的抗体。STEMCELL Technologies Inc.对使用本产品时可能发生的专利侵权或违规行为不承担任何责任。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。