

EasySep™人 FITC 正选试剂盒II

可处理 1×10^9 个细胞

产品号 #17662

产品号 #17662RF RoboSep™

正选

文档号 #10000035725 | 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 (PBMC) 或其他单细胞悬液中分离出高纯度的带FITC (fluorescein isothiocyanate) 偶联抗体标记的细胞。

- 操作简单、快速
- 无需分离柱

该试剂盒针对带FITC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™ FITC分选抗体混合物	18152	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PBMC, 在室温 (15 - 25°C) 下用终浓度为100 µg/mL的DNase I溶液 (1 mg/mL; 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 FITC 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FITC偶联抗体添加到样本中。†	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FITC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 FITC 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FITC偶联抗体添加到样本中。†	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FITC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 FITC 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。	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FITC正选 17662	
4	将FITC偶联抗体转移至提供的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，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™ FITC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)。

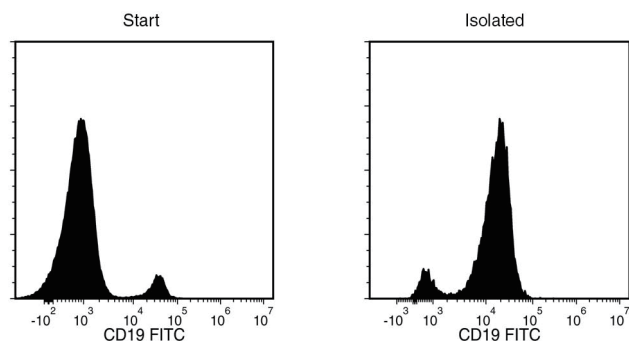
优化回收率

正选的FITC标记的细胞回收率取决于FITC偶联抗体的质量。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。添加足够的FITC偶联抗体以确保目的细胞具有显著区别于非目的细胞的荧光强度非常重要，因为荧光强度和细胞回收率之间存在很强的相关性。为了最佳的回收率，我们建议正选细胞的荧光强度至少比阴性对照大100倍（2个对数级）。

纯度评估

正选的细胞已被FITC标记，因此可以通过流式细胞术直接评估纯度。

实验数据



起始样本为人PBMCs，使用FITC偶联的抗人CD19抗体和EasySep™人 FITC 正选试剂盒II，上述实验中的起始和最终分选后的细胞纯度分别为6.7%和91.0%。

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、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。Brilliant Violet是Sirigen Group Ltd的商标。BD Horizon Brilliant是Becton, Dickinson, and Company的商标。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。