

## EasySep™小鼠生物素正选试剂盒II

可处理  $1 \times 10^9$  个细胞

产品号 #17665

正选

文档号 #1000035731 | 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细胞、骨髓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化抗体（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。
EasySep™ 小鼠FcR阻断剂	18720	1 x 0.1 mL	2 - 8°C 储存, 勿冷冻。	自收货时间起可稳定存放1年。	保存在含 0.1% BSA和 0.1% 叠氮化钠的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。

BSA - 牛血清白蛋白; 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

#### 脾脏

在含有 2% 胎牛血清（FBS）的PBS或Hanks'平衡盐溶液中机械解离脾脏。使用70 μm尼龙滤筛过滤细胞悬液，以去除聚团和碎片。以300 x g离心10分钟，然后使用推荐缓冲液以  $1 \times 10^8$  有核细胞/mL的浓度重悬细胞。

制备用于分选的本样本时，不建议使用氯化铵处理样本。

#### 骨髓

使用配备23G针头的注射器和推荐的缓冲液将股骨和胫骨中的骨髓细胞冲洗出来。用注射器轻柔地吹吸细胞悬液数次以分散细胞团块。或者可使用研钵和研杵将骨髓从骨头中压出。使用70 μm尼龙滤筛过滤细胞悬液，以去除残余的聚团和碎片。以300 x g离心10分钟，然后使用推荐缓冲液以  $1 \times 10^8$  有核细胞 /mL的浓度重悬细胞。

制备用于分选的本样本时，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），RoboSep™缓冲液（产品号 #20104）或含有2% FBS和1 mM EDTA的PBS。缓冲液应该不含Ca<sup>++</sup>和Mg<sup>++</sup>。

## 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。	$1 \times 10^8$ 细胞/mL 0.1 - 2.5 mL 注：如果起始细胞数量少于 $1 \times 10^7$ ，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 $2 \times 10^8$ 细胞/mL。	$1 \times 10^8$ 细胞/mL 0.25 - 8 mL 注：如果起始细胞数量少于 $2.5 \times 10^7$ ，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 $2 \times 10^8$ 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。	10 $\mu$ L/mL 样本	10 $\mu$ L/mL 样本
3	将生物素化抗体添加到样本中。†	0.3 - 3 $\mu$ g/mL 样本	0.3 - 3 $\mu$ g/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 $\mu$ L/mL 样本	100 $\mu$ L/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 $\mu$ L/mL 样本 §	50 $\mu$ L/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"> <li>若样本 &lt; 1 mL，定容至 5 mL</li> <li>若样本 <math>\geq</math> 1 mL，定容至 10 mL</li> </ul>
	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**，倾倒入上清液。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。	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。

		EASYSEPTM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)

† 滴定生物素化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™小鼠生物素正选试剂盒II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	按指定细胞浓度制备样本，样本体积在范围内。	1 x 10 <sup>8</sup> 细胞/mL 0.1 - 2.5 mL	1 x 10 <sup>8</sup> 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。	10 µL/mL 样本	10 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"> <li>●若样本 &lt; 1 mL，定容至 5 mL</li> <li>●若样本 ≥ 1 mL，定容至 10 mL</li> </ul>
	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)

† 滴定生物素化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™小鼠生物素正选试剂盒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 <sup>8</sup> 细胞/mL 0.25 - 8 mL 注：如果起始细胞数量少于 2.5 x 10 <sup>7</sup> ，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 <sup>8</sup> 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。	10 μL/mL 样本	
3	选择实验程序。	小鼠生物素正选 17665	
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

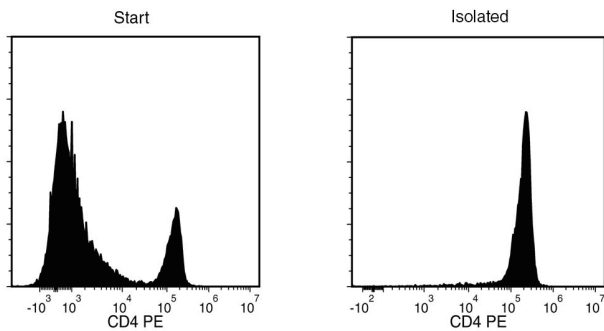
正选的生物素标记的细胞回收率取决于所用生物素化抗体的质量。过期或储存不当的抗体可能对目的细胞表面标志物的亲和力较低，从而导致回收率较低。

### 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



起始样本为小鼠脾细胞，使用生物素化抗小鼠CD4抗体和EasySep™小鼠生物素正选试剂盒II（通过PE偶联的链霉亲和素进行评估），上述实验中的起始和最终分选后的纯度分别为 20.5% 和 97.5%。

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](http://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 及其设计及其徽标，以及 Scientists Helping Scientists、EasyEights、EasyPlate、EasySep、SepMate 和 RapidSpheres 均是 STEMCELL Technologies Canada Inc. 的商标。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。