

EasySep™人 CD138 正选试剂盒II

可处理 2×10^9 个细胞

产品号 #17877

产品号 #17877RF RoboSep™

正选

文档号 #1000035740 | 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, 从新鲜或冻存的人骨髓或外周血单个核细胞 (MNCs) 中分离高纯度的CD138+ (syndecan-1) 细胞。

- 操作简单、快速
- 无需分离柱

该试剂盒使用识别CD138表面标志物的抗体来正选CD138+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。分选得到的细胞可立即用于下游应用, 如荧光原位杂交 (FISH)、流式细胞术、细胞培养或DNA / RNA提取。

包含组分

组分名称	组分号#	规格	储存方式	效期	成分
EasySep™人CD138正选试剂盒II 抗体混合物	17877C	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, 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。

样本制备

有关可用的新鲜和冻存样本, 请参见 www.stemcell.com/primarycells。

骨髓

通过将样本在密度梯度离心液 (例如Lymphoprep™, 产品号 #18060) 上离心, 从全骨髓中制备单个核细胞 (MNC) 悬液。

如需更快地制备MNC, 可以使用SepMate™ RUO (产品号 #86450/86415) 或SepMate™ IVD* (产品号 #85450/85415) 细胞离心管。或者, 使用氯化铵溶液 (产品号 #07800) 裂解来去除红细胞。

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

制备完成后, 将细胞以 1×10^8 细胞/mL的浓度重悬于推荐的缓冲液中。

外周血

通过将全血在密度梯度离心液 (例如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) 细胞离心管。

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, 再进行标记和分选。使用37 µm的细胞滤筛 (产品号 #27215) 过滤细胞悬液去除细胞团块, 以获得最佳结果。

制备完成后, 将细胞以 1×10^8 细胞/mL的浓度重悬于推荐的缓冲液中。

注: 对于CD138+起始占比低于2%的样本, 可将起始样本制备成 2×10^8 细胞/mL的浓度以提高分选后细胞的纯度。

* 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 CD138 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 mL	1 x 10 ⁸ 细胞/mL 0.25 - 8.5 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。 注意：不要涡旋抗体混合物。	<ul style="list-style-type: none"> ● 50 μL/mL 骨髓样本 ● 100 μL/mL 外周血样本 	<ul style="list-style-type: none"> ● 50 μL/mL 骨髓样本 ● 100 μL/mL 外周血样本
	混匀并孵育。	室温孵育3分钟	室温孵育3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	重复以上步骤。	重复两次步骤5和6 (总共进行3次3分钟的分选)	重复两次步骤5和6 (总共进行3次3分钟的分选)
8	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，然后翻转回直立位置。不要摇晃或者擦拭掉仍可能挂在管口的任何液滴。

表2.EasySep™人 CD138 正选试剂盒II操作流程

		EASYSEP™磁极	
步骤	说明	EasyEights™ (产品号 #18103)	
		5 mL 流式管	14 mL 流式管
1	制备样本，样本体积在范围内。	0.1 - 1 mL	0.25 - 8.5 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。 注意: 不要涡旋抗体混合物。	<ul style="list-style-type: none"> ● 50 µL/mL 骨髓样本 ● 100 µL/mL 外周血样本 	<ul style="list-style-type: none"> ● 50 µL/mL 骨髓样本 ● 100 µL/mL 外周血样本
	混匀并孵育。	室温孵育3分钟	室温孵育3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 ≤ 2 mL, 定容至 5 mL ● 若样本 > 2 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
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	重复以上步骤。	重复两次步骤5和6 (总共进行3次10分钟的分选)	重复两次步骤5和6 (总共进行3次10分钟的分选)
8	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（例如，对于 EasyEights™ 5 mL 试管，使用 2 mL 血清移液管 [产品号 #38002]；对于 EasyEight™ 14 mL 试管，使用 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CD138 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 - 8.5 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。	骨髓样本: ● 人CD138正选 II 17877 - 骨髓 外周血样本: ● 对于 < 4 mL的样本: 人CD138正选II 17877 - 小体积 ● 对于 ≥ 4 mL的样本: 人CD138 正选 II 17877 - 大体积	
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。 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。 请确保从试管壁上收集细胞。	分选后的细胞可立即用于下游应用	

注意事项和提示

纯度评估

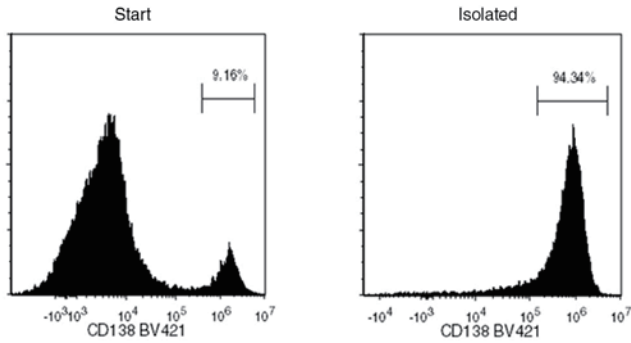
要通过流式细胞术评估CD138+细胞的纯度，请使用以下克隆号的流式抗体：

- 抗人CD138 (Syndecan-1) 抗体，克隆MI15 (产品号 #60003)

也可以使用以下方法之一：

- 胞内染色 κ (kappa) 和 λ (lambda) 轻链 (例如Ahmann等人发表的实验方法)。浆细胞表达kappa或lambda轻链。
- 使用替代标志物，例如荧光抗人CD38抗体，克隆HIT2 (产品号 #60014) 和抗人CD45抗体，克隆HI30 (产品号 #60018)，检测CD38阳性CD45表达量不等的细胞 (Kumar等人发表)。
- 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



起始样本为混入了多发性骨髓瘤细胞系U266的冻存PBMCs，分选后细胞中CD138+细胞的内容通常为93.0 - 98.2%。在上述实验中，起始样本和分选后的目的细胞纯度分别为9.16%和94.34%。

参考文献

- Ahmann GJ et al. (1998) A novel three-color, clone-specific fluorescence in situ hybridization procedure for monoclonal gammopathies. *Cancer Genet Cytogenet* 101(1): 7-11.
- Kumar S et al. (2010) Immunophenotyping in multiple myeloma and related plasma cell disorders. *Best Pract Res Clin Haematol* 23(3): 433-51.

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、EasyEight、EasySep、RapidSpheres、RoboSep、和 SepMate 均是 STEMCELL Technologies Canada Inc. 的商标。Lymphoprep 是 Serumwerk Bernburg AG 的商标。所有的其他商标均为其各自所有者的财产。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。