

## EasySep™小鼠 CD19 正选试剂盒II

用于处理  $2 \times 10^9$  个细胞

产品号 #18954

产品号 #18954RF RoboSep™

正选

文档号 #1000035746 | 版本00



Scientists Helping Scientists™ | [WWW.STEMCELL.COM](http://WWW.STEMCELL.COM)

电话: 400 885 9050

E-MAIL: [INFO.CN@STEMCELL.COM](mailto:INFO.CN@STEMCELL.COM)

### 产品介绍

通过免疫磁珠正选从小鼠脾细胞或其它组织的单细胞悬液中分离高纯度的CD19+细胞。

- 操作简单、快速
- 纯度高达99%
- 无需分离柱
- 分选后的细胞无荧光标记

该试剂盒通过识别CD19表面标志物的抗体来正选CD19+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入弃去，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、培养以及基于细胞的实验。

### 包含组分

| 组分名称                                   | 组分号#    | 规格         | 储存方式             | 效期        | 成分                                   |
|--|---------|------------|------------------|-----------|--------------------------------------|
| EasySep™小鼠CD19正选试剂盒II 组分A              | 18954CA | 1 x 0.5 mL | 2 - 8°C 储存, 勿冷冻。 | 具体效期请见标签。 | 保存在含0.1% BSA和10% HPCD的PBS中的单克隆抗体混合物。 |
| EasySep™小鼠CD19正选试剂盒II 组分B              | 18954CB | 1 x 0.5 mL | 2 - 8°C 储存, 勿冷冻。 | 具体效期请见标签。 | 保存在含0.1% BSA和10% HPCD的PBS中的单克隆抗体混合物。 |
| EasySep™ Dextran RapidSpheres™ 50100磁珠 | 50100   | 2 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。                         |
| RoboSep™空管                             | 27401   | 1          | 不适用              | 不适用       | 不适用                                  |

BSA - 牛血清白蛋白; HPCD - 2-羟丙基-β-环糊精; 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。

### 其它试剂稳定性信息

| 组分名称                    | 储存方式            | 效期                           |
|-------------------------|-----------------|------------------------------|
| 分选抗体混合物 (组分A + 组分B的混合物) | 2 - 8°C 储存。勿冷冻。 | 可存放不超过4周。存放时间请勿超过各个组分标签上的效期。 |

### 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 (如产品号 #27216) 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 CD19 正选试剂盒II操作流程

|    |   | EASYSEPTM 磁极  |   |
|----|---|---|---|
| 步骤 | 说明  | <br>EasySep™<br>(产品号 #18000) | <br>“The Big Easy”<br>(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 <sup>8</sup> 细胞/mL<br>0.25 - 2 mL  | 1 x 10 <sup>8</sup> 细胞/mL<br>0.5 - 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<br>(如: 产品号 #38007)  | 14 mL (17 x 95 mm) 聚苯乙烯流式管<br>(如: 产品号 #38008)   |
| 2  | 在试管中制备分选抗体混合物。每1 mL样本需制备50 μL抗体混合物 (25 μL组分A + 25 μL组分B)。 | 将等体积的组分A和组分B混合<br>制备的抗体混合物可在 2 - 8°C 下稳定保存不超过4周   | 将等体积的组分A和组分B混合<br>制备的抗体混合物可在 2 - 8°C 下稳定保存不超过4周   |
|    | 孵育。   |   |   |
| 3  | 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3分钟   | 室温孵育3分钟   |
| 4  | 涡旋振荡RapidSpheres™磁珠。<br>注意: 磁珠应呈均匀分散状态。                   | 30秒   | 30秒   |
| 5  | 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3分钟   | 室温孵育3分钟   |
| 6  | 添加推荐缓冲液，将样本定容至指定体积。<br>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; 2.5 mL，定容至 3 mL</li> <li>●若样本 ≥ 2.5 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3分钟   | 室温孵育3分钟   |
| 7  | 拿起磁极，以一个连续的动作翻转磁极和试管*，<br>倾倒下清液。从磁极上取下试管；<br>试管中含有分选后的细胞。 | 弃去上清液   | 弃去上清液   |
| 8  | 重复以上步骤。   | 重复步骤6和7<br>(总共进行2次3分钟的分选)   | 重复步骤6和7<br>(总共进行2次3分钟的分选)   |
| 9  | 将细胞重悬于所需培养基中。<br>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，然后恢复直立。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 CD19 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<br>0.5 - 2 mL      | 1 x 10 <sup>8</sup> 细胞/mL<br>0.5 - 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<br>(如: 产品号 #38007) | 14 mL (17 x 95 mm) 聚苯乙烯流式管<br>(如: 产品号 #38008)   |
| 2  | 在试管中制备分选抗体混合物。每1 mL样本需制备50 μL抗体混合物 (25 μL组分A + 25 μL组分B)。 | 将等体积的组分A和组分B混合制备的抗体混合物可在2 - 8°C 下稳定保存不超过4周   |   |
|    | 孵育。   | 室温孵育5分钟                                      | 室温孵育5分钟   |
| 3  | 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3分钟                                      | 室温孵育3分钟   |
| 4  | 涡旋振荡RapidSpheres™磁珠。<br>注意: 磁珠应呈均匀分散状态。                   | 30秒  | 30秒   |
| 5  | 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3分钟                                      | 室温孵育3分钟   |
| 6  | 添加推荐缓冲液，将样本定容至指定体积。<br>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; 2.5 mL, 定容至 3 mL</li> <li>●若样本 ≥ 2.5 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  |
| 7  | 小心地吸取** (切勿倾倒) 上清液。<br>从磁极上取下试管; 试管中含有分选后的细胞。             | 弃去上清液  | 弃去上清液   |
| 8  | 添加推荐缓冲液，将样本定容至指定体积。<br>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; 2.5 mL, 定容至 3 mL</li> <li>●若样本 ≥ 2.5 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   |
| 9  | 小心地吸取** (切勿倾倒) 上清液。<br>从磁极上取下试管; 试管中含有分选后的细胞。             | 弃去上清液  | 弃去上清液   |
| 10 | 将细胞重悬于所需培养基中。<br>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2 mL血清移液管 [产品号 #38002]; 对于EasyEights™ 14 mL流式管, 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™小鼠 CD19 正选试剂盒II操作流程

| 步骤 | 说明  | RoboSep™<br>(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<br>0.5 - 8 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<br>(如: 产品号 #38008)      |   |
| 2  | 在提供的RoboSep™空管中制备分选抗体混合物。<br>请参阅表4了解所需的体积。                  | 混合等体积的组分A和组分B (参见表4)<br>分选抗体混合物可在2 - 8°C下稳定保存不超过4周 |   |
|    | 孵育。   | 室温孵育5分钟  |   |
| 3  | 选择实验程序。   | 小鼠 CD19 正选 II 18954v2                              |   |
| 4  | 涡旋振荡RapidSpheres™磁珠。<br>注意: 磁珠应呈均匀分散状态。                     | 30秒  |   |
| 5  | 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                                  |   |
| 6  | 运行完成后，卸载转盘。<br>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。<br>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                                    |   |

RT - 室温 (15 - 25°C)

表4. 制备RoboSep™分选抗体混合物

| 起始样本   | 组分A     | 组分B     | 分选抗体混合物<br>总体积 |
|--------|---------|---------|----------------|
| 0.5 mL | 62.5 µL | 62.5 µL | 125 µL         |
| 1 mL   | 75 µL   | 75 µL   | 150 µL         |
| 1.5 mL | 87.5 µL | 87.5 µL | 175 µL         |
| 2 mL   | 100 µL  | 100 µL  | 200 µL         |
| 3 mL   | 125 µL  | 125 µL  | 250 µL         |
| 4 mL   | 150 µL  | 150 µL  | 300 µL         |
| 5 mL   | 175 µL  | 175 µL  | 350 µL         |
| 6 mL   | 200 µL  | 200 µL  | 400 µL         |
| 7 mL   | 225 µL  | 225 µL  | 450 µL         |
| 8 mL   | 250 µL  | 250 µL  | 500 µL         |

注: RoboSep™全自动分选需要比手动分选操作流程多制备100 µL分选抗体混合物才能正常运行。

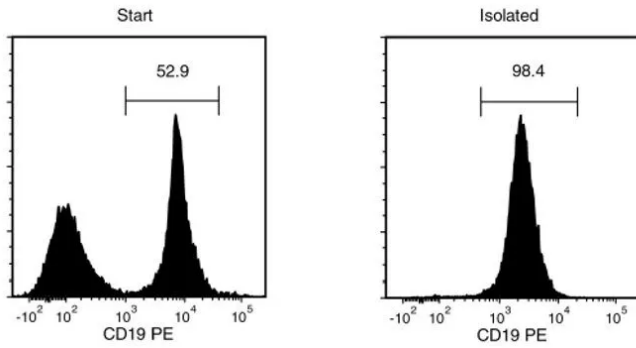
## 注意事项和提示

### 纯度评估

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：

- 抗小鼠CD19抗体，克隆1D3（产品号 #60112；部分阻断）

## 实验数据



起始样本为小鼠脾细胞，分选后的CD19+ 细胞含量通常为 $98.1 \pm 0.6\%$ （平均值  $\pm$  标准差，使用紫色EasySep™磁极）。

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及其设计及徽标，以及Scientists Helping Scientists、EasyEights、EasySep、RoboSep和RapidSpheres均是STEMCELL Technologies Canada Inc.的商标。所有商标均为各自所有者所有。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。