

# EasySep™ HLA 嵌合全血 CD66b 正选试剂盒

可处理 60 mL 全血

产品号 #17882

产品号 #17882RF RoboSep™

正选

文档号 #10000035754 | 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人全血中分离高纯度的CD66b+细胞。

- 操作简单、快速
- 纯度高达 99%
- 无需分离柱

该试剂盒使用识别CD66b表面标志物的抗体来正选CD66b+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。分选后的细胞可立即用于下游应用，例如流式细胞术、培养、或DNA/RNA提取以用于谱系特异性嵌合分析。

## 包含组分

组分名称	组分号#	规格	储存方式	效期	成分
EasySep™ HLA嵌合全血CD66b 正选抗体混合物	17882C	3 x 1 mL	2 - 8°C 储存。 勿冷冻。	具体效期请见标签。	保存在含 2% HPCD和 0.09% rHA 的PBS中的单克隆抗体混合物。
EasySep™ Dextran RapidSpheres™ 50102 磁珠	50102	3 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。
EasySep™红细胞裂解缓冲液， 10X 浓缩液	20110	1 x 10 mL	15 - 25°C 储存。 勿冷冻。	具体效期请见标签。	10X 浓缩的红细胞裂解试剂。

HPCD - 2-羟丙基-β-环糊精；PBS - 磷酸盐缓冲液；rHA - 重组人白蛋白

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

试剂名称	储存方式	效期
EasySep™红细胞裂解缓冲液（1X 稀释液）	2 - 8°C 储存，勿冷冻。	可稳定存放不超过3个月。存放时间请勿超过原始组分标签上的效期。

## 样本制备

### 外周血

使用装有抗凝剂的采血管采集全血。

### 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 1mM 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EasySep™的详细使用说明，请参阅表1。

表1. EasySep™ HLA 嵌合全血 CD66b 正选试剂盒操作流程

		EASYSEP™ 磁极
步骤	说明	“The Big Easy” (产品号 #18001) 
1	制备样本，样本体积在范围内。	0.25 - 4.5 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	向样本中添加 1X EasySep™ RBC裂解缓冲液。	与样本等体积
3	在样本中加入分选抗体混合物。 注意：不要涡旋抗体混合物。	25 µL/mL 稀释后的样本
	混匀并孵育。	室温孵育3分钟
4	涡旋振荡RapidSpheres™磁珠。 注意：磁珠应呈均匀分散状态。	30秒
5	将RapidSpheres™磁珠加到样本中。	25 µL/mL 稀释后的样本
	混匀并孵育。	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。 通过轻轻上下吹吸 2 - 3 次来混匀。	<ul style="list-style-type: none"> <li>●若样本 &lt; 4 mL，定容至5 mL</li> <li>●若样本 ≥ 4 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
7	拿起磁极，以一个连续的动作翻转磁极和试管*，倾倒入清液。 从磁极中取出试管；试管中含有分选后的细胞。	弃去上清液
8	重复以上步骤。	重复两次步骤6和7 (总共进行3次3分钟的分选)
9	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

RBC - 红细胞；RT - 室温（15 - 25°C）

\* 保持磁极和试管倒置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™ HLA 嵌合全血 CD66b 正选试剂盒操作流程

		EASYSEPT™ 磁极
步骤	说明	 EasyEights™ (产品号 #18103) 14 mL 流式管
1	制备样本，样本体积在范围内。	0.5 - 4.5 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	向样本中添加 1X EasySep™ RBC裂解缓冲液。	与样本等体积
3	在样本中加入分选抗体混合物。 注意: 不要涡旋抗体混合物。	25 µL/mL 稀释后的样本
	混匀并孵育。	室温孵育3分钟
4	涡旋振荡RapidSpheres™磁珠。 注意: 磁珠应呈均匀分散状态。	30秒
5	将RapidSpheres™磁珠加到样本中。	25 µL/mL 稀释后的样本
	混匀并孵育。	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。 通过轻轻上下吹吸2 - 3次来混匀。	<ul style="list-style-type: none"> <li>●若样本 &lt; 4 mL，定容至5 mL</li> <li>●若样本 ≥ 4 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
7	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
8	添加推荐缓冲液，将样本定容至指定体积。 通过轻轻上下吹吸2 - 3次来混匀。	<ul style="list-style-type: none"> <li>●若样本 &lt; 4 mL，定容至5 mL</li> <li>●若样本 ≥ 4 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
9	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
10	重复以上步骤。	重复步骤8和9 (总共进行1次10分钟和2次5分钟的分选)
11	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

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™ HLA 嵌合全血 CD66b 正选试剂盒操作流程

步骤	说明	RoboSep™ (产品号 #21000)
1	制备样本，样本体积在范围内。	1 - 4.5 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	向样本中添加1X EasySep™ RBC 裂解缓冲液。	与样本等体积
3	选择实验程序。 注: 输入体积。	HLA 嵌合 CD66b WB 正选 17882 注: 输入稀释后的样本体积。
4	涡旋振荡RapidSpheres™磁珠。 注: 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。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

### EasySep™红细胞裂解缓冲液

该试剂盒中的EasySep™红细胞裂解液为 10X 浓缩液。在使用时至少提前1小时制备 1X 裂解液，将1份10X 裂解液加入9份蒸馏水或I类水中。使用前需轻柔且充分地混匀。

### 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荧光偶联流式抗体：

- 抗人 CD66b 抗体，克隆 G10F5 (产品号 #60086；部分阻断)

还可以使用以下方法：

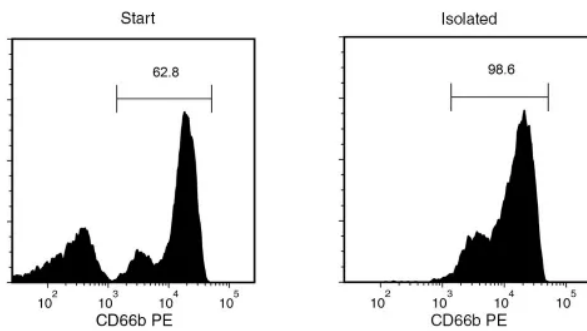
- 使用荧光偶联的二抗，例如山羊抗小鼠IgG (H+L) 多克隆抗体 (产品号 #60138)。

### 供体差异性

某些供体表达一种或多种可使磁珠交联的可溶性血清因子。这可能会导致正选后的细胞中出现可见的聚团。在对富集后的组分进行流式细胞术分析时，这些聚团可能在FSC vs. SSC图上显示为明显的高侧向角散射 (SSC) 群。可使用抗dextran、CD41 和CD45 的荧光偶联抗体染色来确定该群体仅含磁珠，不包含细胞或血小板。通过清洗去除供体的血浆可以避免可能的聚团。使用推荐缓冲液将样本稀释2倍，并以 300 x g离心10分钟。在不扰动白细胞和红细胞的情况下尽可能地去除血浆，然后在开始分选流程之前用推荐缓冲液将样本重悬至原始体积。

如果样本未经清洗，可在对富集组分进行流式细胞术分析圈门时，根据聚团的FSC vs. SSC特征或CD45 表达的缺失来将其排除在外。

## 实验数据



起始样本为全血，分选后的CD66b+细胞含量通常为  $98.0 \pm 0.8\%$ （平均值  $\pm$  标准差，使用“*The Big Easy*”EasySep™磁极）。在上述实验中，起始样本和分选后的目的细胞的纯度分别为 62.8%和 98.6%。

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和其设计及徽标，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，对此类信息的准确性或完整性不作任何保证或声明。