

EasySep™ 人 CD56 正选试剂盒 II

可处理 1×10^9 个细胞

产品号 #17855

#17855RF RoboSep™

正选

文档号 #1000035821 | 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, 在短至18分钟内从新鲜或冻存的人外周血单个核细胞 (PBMCs) 中分离出高纯度的CD56+细胞。

- 操作简单、快速
- 纯度高达98%
- 无需分离柱

该试剂盒使用识别CD56表面标志物的抗体来正选CD56+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、细胞培养或 DNA/RNA 提取。

- 本产品说明书 (PIS) 适用于从人PBMC中分离CD56+细胞。如果从人肌细胞培养物中分离CD56+细胞, 请参阅对应的PIS (文档号 #1000035852)。

包含组分

组分名称	组分号#	规格	储存方式	效期	成分
EasySep™ 人CD56正选抗体混合物 II	17855C	1 x 1 mL	2 - 8°C 储存。 勿冷冻。	具体效期请见标签。	保存在含0.09% rHA的PBS中的单克隆抗体混合物, 包含Fc受体阻断抗体。
EasySep™ Dextran RapidSpheres™ 50100	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; 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。

样本制备

有关可用的冻存样本, 请参见 www.stemcell.com/primarycells。

外周血

通过将样本在密度梯度离心液 (例如Lymphoprep™; 产品号 #18060) 上进行离心, 从全外周血中制备单个核细胞 (MNCs) 悬液。如需更快地制备MNCs, 可以使用SepMate™ RUO (产品号#86450/86415) 或SepMate™ IVD* (产品号 #85450/85415) 细胞分选管。

如果使用冻存的MNCs, 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) 过滤细胞悬液去除聚团, 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。

* 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)。

裂解的白细胞单采术样本

1. 在1份白细胞单采样本中加入4份氯化铵溶液 (产品号 #07800)。

注意: 若处理大体积样本 (> 20 mL), 需先通过以 $300 \times g$ 离心10分钟对白细胞单采样本进行浓缩。弃去上清液后, 使用推荐缓冲液将细胞重悬于起始白细胞单采体积的1/10 (例如, 若为30 mL 细胞悬液, 则重悬于3 mL 推荐缓冲液中, 并加入12 mL 氯化铵溶液)。若体积较小 (≤ 20 mL), 可将氯化铵溶液直接加入白细胞单采样本中。

2. 在冰上孵育15分钟。

3. 用推荐缓冲液补满离心管以清洗细胞。在室温 (15 - 25°C) 下以 $300 \times g$ 离心10分钟。弃去上清液。

4. 可选步骤（用于去除血小板）：

- a. 用推荐缓冲液补满离心管以清洗细胞。在室温下以 120 × g 离心 10 分钟，并关闭离心机刹车。小心移除上清液。
- b. 重复步骤 4a 一次或多次，直到大部分血小板被去除（以上清液澄清为标志）。

5. 将细胞以 1×10^8 细胞/mL 的浓度重悬于推荐缓冲液中。

注意：建议使用经裂解处理的白细胞单采样本，以获得最佳性能。或者，也可使用经洗涤的白细胞单采样本（见下文）以加快样本处理速度，但可能会观察到性能下降。

洗涤的白细胞单采术样本

通过添加等体积的推荐缓冲液或含有 2% 胎牛血清（FBS）的 PBS 来清洗外周血白细胞单采术样本。在室温（15 - 25°C）下，300 × g 离心 10 分钟。如果需要去除血小板，在关闭刹车的情况下，以 120 × g 离心 10 分钟。去除上清液，并将细胞以 1×10^8 细胞/mL 的浓度重悬于推荐的缓冲液中。


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和第2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至表3。

表1. EasySep™人 CD56 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 - 1 mL	1 x 10 ⁸ 细胞/mL 0.5 - 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。	100 µL/mL 样本	100 µL/mL 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™。 注意：磁珠应呈均匀分散状态。	30秒	30秒
4	将RapidSpheres™ 加到样本中。	100 µL/mL 样本	100 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	· 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3次步骤5和6 (总共进行4次3分钟的分选)	重复3次步骤5和6 (总共进行4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。不要摇晃或擦拭掉仍可能挂在管口的任何液滴。

§ 如需提高回收率，请参阅可选表2。

表2. 可选：可提高回收率的EasySep™人 CD56 正选试剂盒II实验流程





注：使用此方案可提高回收率，但可能会降低纯度。

		EASYSEP™ 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 - 1 mL	1 x 10 ⁸ 细胞/mL 0.5 - 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 95mm) 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。	100 µL/mL 样本	100 µL/mL 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™。 注意：磁珠应呈均匀分散状态。	30秒	30秒
4	将RapidSpheres™ 加到样本中。	100 µL/mL 样本	100 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2.5 mL · 若样本 > 1 - 2 mL，定容至5 mL · 若样本 > 2 - 5 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
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3次步骤5和6 (总共进行4次5分钟的分选)	重复3次步骤5和6 (总共进行4次5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。不要摇晃或擦拭掉仍可能挂在管口的任何液滴。

表3. EasySep™人 CD56 正选试剂盒II操作流程

步骤	说明	EASYSEPTM 磁极		
		 EasyPlate™ (产品号 #18102)	 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 0.05 - 0.2 mL	1 x 10 ⁸ 细胞/mL 0.25 - 1 mL	1 x 10 ⁸ 细胞/mL 0.5 - 5 mL
	将样本添加到所需的试管中。	圆底，非TC处理的96孔板 (如：产品号 #38018)	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。	100 μL/mL 样本	100 μL/mL 样本	100 μL/mL 样本
	混匀并孵育。	室温孵育3分钟	室温孵育3分钟	室温孵育3分钟
3	涡旋振荡RapidSpheres™。 注意：磁珠应呈均匀分散状态。	30 秒	30 秒	30 秒
4	将RapidSpheres™ 加到样本中。	100 μL/mL 样本	100 μL/mL 样本	100 μL/mL 样本
	混匀并孵育。	室温孵育3分钟	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0.25 mL	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
	将试管或孔板（不加盖）放入磁极中并孵育。	室温孵育5分钟	室温孵育10分钟	室温孵育10分钟
6	小心地吸出**（切勿倾倒）上清液。从磁极中 取出含有分选后的细胞的试管或孔板。	弃去上清液	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5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)	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	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和第2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4。

表4. RoboSep™人 CD56 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 0.5 - 8 mL	
	将样本添加到所需的试管中。	14mL (17 x 95 mm) 聚苯乙烯流式管 (如: 产品号 #38008)	
2	选择实验程序。	人CD56正选II 17855	
3	涡旋RapidSpheres™。 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的培养基中。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

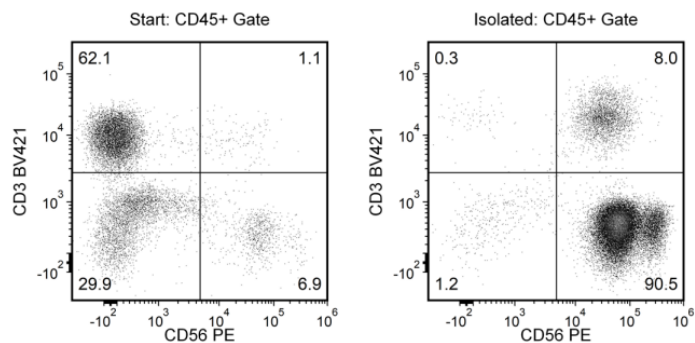
要通过流式细胞术评估CD56+细胞的纯度，请使用以下克隆号的流式抗体：

- 抗人CD56抗体，克隆号HDC56（产品号 #60021；部分阻断），或
- 抗人CD56抗体，克隆号CMSSB（部分阻断），或
- 抗人CD56抗体，克隆号NCAM16.2（部分阻断）

还可以使用以下方法：

- 使用荧光二抗，例如山羊抗小鼠 IgG (H+L) 多克隆抗体（产品号 #60138FI）。

实验数据



起始样本为人PBMCs，分选后的CD56+细胞含量通常为96.3 ± 2.4%（平均值 ± 标准差，使用紫色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8.0%和98.5%。

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。

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、EasySep、EasyPlate、RapidSpheres、RoboSep、和 SepMate 均是 STEMCELL Technologies Canada Inc. 的商标。Lymphoprep 是 Serumwerk Bernburg AG 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。