

EasySep™小鼠 Streptavidin RapidSpheres™ 分选试剂盒

可处理 1×10^9 个细胞

产品号 #19860

#19860RF RoboSep™

负选

文档号 #1000035824 | 版本00



Scientists Helping Scientists™ | WWW.STEMCELL.COM

电话: 400 885 9050

E-MAIL: INFO.CN@STEMCELL.COM

产品介绍

通过免疫磁珠负选从小鼠脾细胞或其它单细胞悬液中去选择性的细胞类型，从而分离出不带标记的细胞。

- 操作简单、快捷，且无需分离柱
- 分选得到的细胞不带标记

该试剂盒使用识别细胞特异性表面标志物的生物素化抗体（未提供）来去除非目的细胞。非目的细胞用生物素化抗体以及链霉亲和素包被的磁珠标记，并通过 EasySep™ 磁极进行无柱分选。目的细胞被简单地倾倒入。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。

不建议使用该试剂盒对小鼠细胞进行正选。对于正选，请使用 EasySep™ 小鼠生物素正选试剂盒II（产品号 #17665）。

包含组分

| 组分名称 | 组分号# | 规格 | 储存方式 | 效期 | 成分 |
|---|-------|------------|-----------------|-----------|--|
| EasySep™ Streptavidin RapidSpheres™ 磁珠50001 | 50001 | 1 x 1 mL | 2 - 8°C 储存，勿冷冻。 | 具体效期请见标签。 | 保存在PBS中的磁珠悬浮液。 |
| EasySep™ 小鼠FcR阻断剂 | 18731 | 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 < 0.1% 叠氮化钠的PBS中的单克隆抗体混合物。 |
| RoboSep™ 空管 | 27401 | 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，以去除细胞团块和碎片。以300 x g离心10分钟，然后使用推荐缓冲液以 1×10^8 有核细胞/mL 的浓度重悬细胞。

在制备用于分选的细胞时，不建议使用氯化铵处理。

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⁺⁺、Mg⁺⁺和生物素。

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。

表1. EasySep™小鼠Streptavidin RapidSpheres™ 分选试剂盒操作流程

| | | 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 - 2 mL | 1 x 10 ⁸ 细胞/mL 0.5 - 8 mL |
| 2 | 在样本中加入FcR阻断剂。 注：可能需要滴定FcR阻断剂。 | 20 µL/mL 样本 | 20 µL/mL 样本 |
| 3 | 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) |
| 可选：如果抗体与FcR受体非特异性结合，请添加物种特异性 FcR 阻断抗体或IgG。 | | 0.3 - 3 µg/mL 样本 | 0.3 - 3 µg/mL 样本 |
| 4 | 将每种生物素化抗体添加到样本中。 注：生物素化抗体应进行滴定。 | 使用多种生物素化抗体时为0.5 - 5 µg/mL样本 使用单一生物素化抗体时为5 µg/mL样本 | 使用多种生物素化抗体时为0.5 - 5 µg/mL样本 使用单一生物素化抗体时为5 µg/mL样本 |
| | 混匀并孵育。 | 室温孵育10分钟 | 室温孵育10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。 注：RapidSpheres™磁珠应进行滴定。 | 比例低的 (< 30%) 不需要的细胞为25 - 75 µL/mL样本 比例高的 (> 70%) 不需要的细胞为75 - 125 µL/mL样本 | 比例低的 (< 30%) 不需要的细胞为25 - 75 µL/mL样本 比例高的 (> 70%) 不需要的细胞为75 - 125 µL/mL样本 |
| | 混匀并孵育。 | 室温孵育2.5分钟 | 室温孵育2.5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"> 若样本 < 4 mL，定容至5 mL 若样本 ≥ 4 mL，定容至10 mL |
| | 将试管（不加盖）放入磁极中并孵育。 | 室温孵育2.5分钟* | 室温孵育2.5分钟* |
| 8 | 拿起磁极，以一个连续的动作翻转磁极和试管**，倾倒富集的细胞悬液至一个新的试管中。 | 使用新的5 mL管， 分选后的细胞可直接用于下游应用 | 使用新的14 mL流式管， 分选后的细胞可直接用于下游应用 |
| 可选：提高细胞纯度的额外分选步骤 注：可以提高细胞纯度，但可能会降低细胞回收率。 | | --- | --- |
| 9 | 从磁极中取出试管，然后将新试管（不加盖）放入磁极中孵育以进行第二次分选。 | 室温孵育2.5分钟 | 室温孵育2.5分钟 |
| 10 | 拿起磁极，以一个连续的动作翻转磁极和试管**，倾倒富集的细胞悬液至一个新的试管中。 | 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 |

室温 (15 - 25°C)


* 将磁极中的分选时间增加至5分钟可提高纯度。注：可以提高细胞纯度，但可能会降低细胞回收率。

** 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。

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2。

表2. RoboSep™小鼠 Streptavidin RapidSpheres™ 分选试剂盒操作流程

| 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 | |
| 2 | 在样本中加入FcR阻断剂。 注：可能需要滴定FcR阻断剂。 | 20 µL/mL 样本 | |
| 3 | 将样本添加到所需的试管中。 | 14 mL (17 x 95 mm) 聚苯乙烯圆底管 (如: 产品号 #38008) | |
| 4 | 在RoboSep™空瓶中制备比所需浓度高20倍的生物素化抗体混合物。 (每种生物素化抗体通常为0.5 - 5 µg/mL样本)。 注：生物素化抗体应进行滴定。 | RoboSep™屏幕上将指示最小的抗体混合物体积 | |
| 可选：如果抗体与FcR受体非特异性结合，请添加物种特异性 FcR阻断抗体或IgG。 | | 0.3 - 3 µg/mL 样本 | |
| 5 | 选择实验程序。 | 小鼠Streptavidin RapidSpheres™分选 19860 | |
| 6 | 涡旋振荡RapidSpheres™磁珠。 注意：磁珠应呈均匀分散状态。 | 30秒 | |
| 7 | 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 | |
| 8 | 运行完成后，卸载转盘。 | 分选后的细胞可立即用于下游应用 | |

注意事项和提示

生物素化抗体的选择

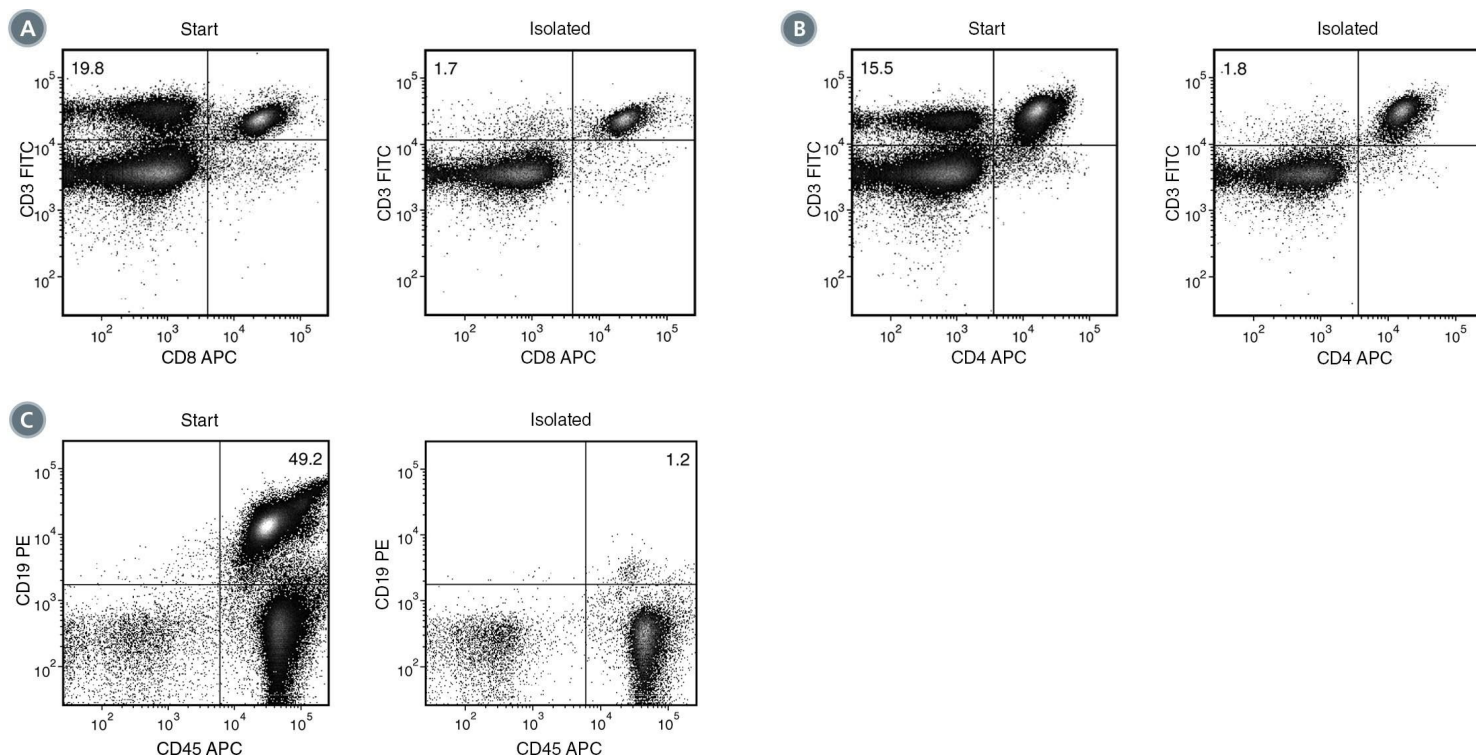
生物素化抗体的选择对于细胞分选性能非常重要。应通过流式细胞术，并结合荧光染料标记的链霉亲和素或荧光染料标记的抗生物素抗体（未提供）对其质量进行评估。

纯度评估

要通过流式细胞术评估非目的细胞的纯度，请使用荧光偶联的流式抗体。如果生物素化抗体阻断了标记抗体的结合，请使用替代标志物。

如需完整的抗体列表，请访问www.stemcell.com/antibodies或通过info.cn@stemcell.com联系我们。

实验数据



(A) 典型的小鼠Streptavidin RapidSpheres™ CD4 (CD3+CD8-) 去除流式结果。

(B) 典型的小鼠Streptavidin RapidSpheres™ CD8 (CD3+CD4-) 去除流式结果。

(C) 典型的小鼠Streptavidin RapidSpheres™ CD19 (CD19+CD45+) 去除流式结果。

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. 2023。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、EasySep、RapidSpheres和RoboSep均是STEMCELL Technologies Canada Inc.的商标。所有商标为各自所有者所有。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。