

## EasySep™小鼠 CD90.1 正选试剂盒

可处理  $2 \times 10^9$  个细胞

产品号 #18958

产品号 #18958RF RoboSep™

正选

文档号 #1000035828 | 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小鼠脾脏、淋巴结或外周血中分离高纯度的CD90.1+ (Thy1.1+) 细胞。该试剂盒还可用于从过继性细胞转移 (adoptive cell transfer, ACT) 样本中分离CD90.1+细胞。当使用其它类型组织来源的单细胞悬液时，该试剂盒可能需要优化。

- 操作简单、快速
- 纯度高达97%
- 无需分离柱
- 分选后的细胞无荧光标记

该试剂盒使用识别CD90.1表面标志物的抗体来正选CD90.1+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CD90.1正选抗体混合物	18958C	1 x 1 mL	2 - 8°C 储存，勿冷冻。	具体效期请见标签。	保存在含0.1% BSA的PBS中的单克隆抗体混合物。
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。

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

#### 脾脏或淋巴结

在推荐缓冲液中机械分离脾脏或者淋巴结。使用70 μm 细胞滤筛 (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。

制备用于分选的样本时，不建议使用氯化铵处理样本。

#### 外周血

血液样本使用前需要裂红。将血液与氯化铵溶液 (产品号 #07800) 以1: 9的比例混合，并在冰上孵育15分钟。以300 x g离心6分钟。弃去上清液并用推荐缓冲液洗涤细胞沉淀一次。弃去上清液，将细胞沉淀以  $1 \times 10^8$  细胞/mL的浓度重悬于推荐缓冲液中。

如果细胞数少于  $5 \times 10^7$ ，请重悬于500 μL推荐缓冲液中。



### 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。HBSS，调整配方 (不含Ca<sup>++</sup>和Mg<sup>++</sup>；产品号 #37250) 可用于代替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 CD90.1 正选试剂盒操作流程

		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 <sup>8</sup> 细胞/mL 0.25 - 2 mL	1 x 10 <sup>8</sup> 细胞/mL 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 (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。	50 µL/mL 样本 对于ACT样本: 25 µL/mL 样本	50 µL/mL 样本 对于ACT样本: 25 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™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。	40 µL/mL 样本 对于ACT样本: 25 µL/mL 样本	40 µL/mL 样本 对于ACT样本: 25 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"> <li>若样本 ≤ 2 mL, 定容至5 mL</li> <li>若样本 &gt; 2 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
6	拿起磁极，以一个连续的动作翻转磁极和试管*，倾倒下清液。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
7	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)	重复两次步骤6和7 (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

ACT - 过继性细胞转移; 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 CD90.1 正选试剂盒操作流程

		EASYSEP™ 磁极		
步骤	说明	 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 <sup>8</sup> 细胞/mL 0.1 - 0.2 mL	1 x 10 <sup>8</sup> 细胞/mL 0.25 - 2 mL	1 x 10 <sup>8</sup> 细胞/mL 0.5 - 8 mL
	将样本添加到所需的试管中(若使用EasyPlate™ EasySep™磁极，将样本加到96孔板中)。	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。	50 μL/mL 样本 对于ACT样本：25 μL/mL 样本	50 μL/mL 样本 对于ACT样本：25 μL/mL 样本	50 μL/mL 样本 对于ACT样本：25 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™磁珠。 注意：磁珠应呈均匀分散状态。	30秒	30秒	30秒
4	将RapidSpheres™磁珠加到样本中。	40 μL/mL 样本 对于ACT样本：25 μL/mL 样本	40 μL/mL 样本 对于ACT样本：25 μL/mL 样本	40 μL/mL 样本 对于ACT样本：25 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	· 若样本 ≤ 2 mL，定容至 5 mL · 若样本 > 2 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3分钟	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6和7 (总共进行3次3分钟的分选)	重复两次步骤6和7 (总共进行3次10分钟的分选)	重复两次步骤6和7 (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。请确保从试管壁或孔板中收集细胞。	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

ACT - 过继性细胞转移；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 CD90.1 正选试剂盒操作流程

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 <sup>8</sup> 细胞/mL 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 (如: 产品号 #38008)
2	选择实验程序。	小鼠CD90.1 (Thy-1.1) 正选试剂盒 18958 对于ACT样本: 小鼠CD90.1 (Thy-1.1) 正选试剂盒 18958 - ACT
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

ACT - 过继性细胞转移

## 注意事项和提示

小鼠品系

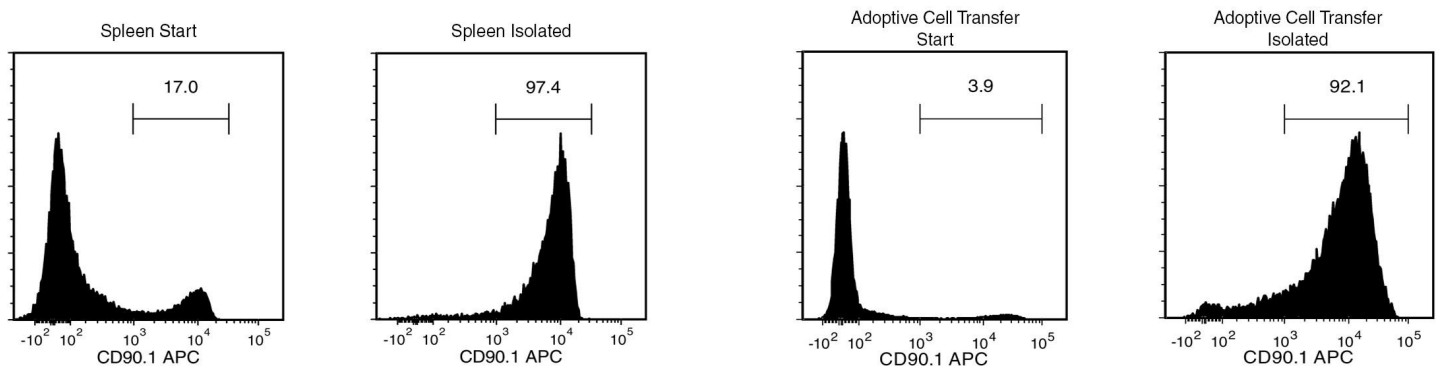
试剂盒经验证可用于FVB小鼠品系，预计也可用于其它Thy1.1+品系。

纯度评估

要通过流式细胞术评估CD90.1+细胞的纯度，请使用以下克隆号的流式抗体：

- 抗大鼠CD90抗体，克隆OX-7（产品号 #60024）

## 实验数据



起始样本为小鼠脾细胞，分选后的CD90.1+ (Thy1.1+) 细胞含量通常为93.5 ± 3.9% (平均值 ± 标准差，使用紫色EasySep™磁极)。起始样本为过继性细胞转移样本来源的小鼠脾细胞，分选后的CD90.1+ (Thy1.1+) 细胞含量通常为90.8 ± 1.5% (平均值 ± 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、EasyPlate、EasySep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。