

EasySep™小鼠/人嵌合体分选试剂盒

可处理 1×10^9 个细胞

产品号 #19849

负选

文档号 #1000035836 | 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、骨髓或外周血中分离无磁珠标记和高纯度的人细胞。当使用其他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、快捷，且无需分离柱
- 分选得到的细胞不带标记

该试剂盒通过使用识别细胞特异性表面标志物的抗体来去除小鼠血细胞。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至一个新的试管中。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。

包含组分

组分名称	组分号#	规格	储存方式	效期	成分
EasySep™小鼠/人嵌合体分选抗体混合物	19849C	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的PBS中的单克隆抗体混合物。
EasySep™ Streptavidin RapidSpheres™ 50001磁珠	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	18720	1 x 0.1 mL	2 - 8°C 储存，勿冷冻。	具体效期请见标签。	保存在含0.1% BSA和< 0.1%叠氮化钠的PBS中的单克隆抗体混合物。

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

骨髓

使用配备23G针头的注射器和推荐的缓冲液将股骨和胫骨中的骨髓细胞冲洗出来。用注射器轻柔吹吸细胞悬液数次以打散细胞聚团。或者可使用研钵和研杵将骨髓从骨头中压出。使用70 μm尼龙滤筛过滤细胞悬液，以去除残余的聚团和碎片。300 x g离心10分钟，并将细胞以 1×10^8 有核细胞/mL重悬于推荐缓冲液中。

制备用于分选的样本时，不建议使用氯化铵处理样本。

脾脏

在含有2%胎牛血清（FBS）的PBS或Hanks平衡盐溶液（HBSS）中机械解离脾脏。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 1×10^8 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的缓冲液洗涤细胞沉淀一次。弃去上清液，将细胞沉淀以 1×10^8 有核细胞/mL的浓度重悬于推荐缓冲液中。

推荐缓冲液

EasySep™缓冲液（产品号 #20144）、RoboSep™缓冲液（产品号 #20104）或含有2% FBS和1 mM EDTA的PBS。可使用HBSS（产品号 #37250）替代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和表2。



表1. EasySep™小鼠/人嵌合体分选试剂盒操作流程

		EASYSEPT™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 0.25 - 2 mL	1 x 10 ⁸ 细胞/mL 0.5 - 8 mL
2	在样本中加入FcR阻断剂。	10 µL/mL 样本	10 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)
4	在样本中加入分选抗体混合物。 注意：不要涡旋抗体混合物。	50 µL/mL 样本	50 µL/mL 样本
	混匀并孵育。	在2 - 8°C下孵育10分钟	在2 - 8°C下孵育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。	75 µL/mL 样本	75 µL/mL 样本
	混匀并孵育。	在2 - 8°C下孵育5分钟	在2 - 8°C下孵育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	· 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。	· 骨髓、脾脏：室温下孵育5分钟。 · 血液：室温下孵育10分钟。	· 骨髓、脾脏：室温下孵育5分钟。 · 血液：室温下孵育10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流式管	使用新的14 mL流式管
9	从磁极中取出试管。将新的试管（不加盖）放入磁极中孵育以进行第二次分选。	室温孵育5分钟	室温孵育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

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2. EasySep™小鼠/人嵌合体分选试剂盒操作流程

步骤	说明	EASYSEP™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 - 2 mL	1 x 10 ⁸ 细胞/mL 0.5 - 8 mL
2	在样本中加入FcR阻断剂。	10 μL/mL 样本	10 μL/mL 样本	10 μL/mL 样本
3	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)
4	在样本中加入分选抗体混合物。 注意: 不要涡旋抗体混合物。	50 μL/mL 样本	50 μL/mL 样本	50 μL/mL 样本
	混匀并孵育。	在2 - 8°C下孵育10分钟	在2 - 8°C下孵育10分钟	在2 - 8°C下孵育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	30秒
6	将RapidSpheres™磁珠加到样本中。	75 μL/mL 样本	75 μL/mL 样本	75 μL/mL 样本
	混匀并孵育。	在2 - 8°C下孵育5分钟	在2 - 8°C下孵育5分钟	在2 - 8°C下孵育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0.25 mL	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
	将试管或孔板（不加盖）放入磁极中并孵育。	室温孵育10分钟	<ul style="list-style-type: none"> 骨髓、脾脏：室温下孵育5分钟。 血液：室温下孵育10分钟。 	<ul style="list-style-type: none"> 骨髓、脾脏：室温下孵育5分钟。 血液：室温下孵育10分钟。
8	小心地吸出**（切勿倾倒）富集的细胞悬液至一个新的试管或孔板。	使用新的96孔板	使用新的5 mL流式管	使用新的14 mL流式管
9	从磁极中取出试管或孔板。将新的试管或孔板（不加盖）放入磁极中并孵育以进行第二次分选。	室温孵育5分钟	室温孵育5分钟	室温孵育5分钟
10	小心地吸出**（切勿倾倒）富集的细胞悬液至一个新的试管或孔板。	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]）。

注意事项和提示

纯度评估

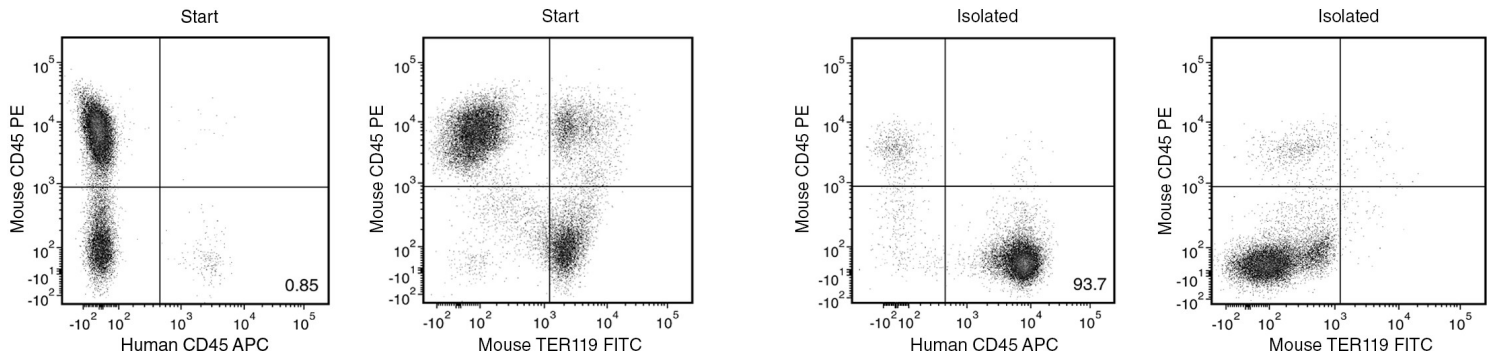
要通过流式细胞术评估人细胞的纯度，请使用以下克隆号的流式抗体：

- 抗人CD45抗体，克隆号HI30（产品号 #60018）

要通过流式细胞术评估小鼠细胞的纯度，请使用以下克隆号的流式抗体：

- 抗小鼠CD45抗体，克隆30-F11（产品号 #60030），以及
- 抗小鼠TER119抗体，克隆TER-119（产品号 #60033）

实验数据



在上述实验中，将人外周血单核细胞（PBMC）以0.85%的占比接种到小鼠骨髓中。分选后人PBMC的含量为93.7%。小鼠CD45+细胞去除程度通常为3 - 4.5 log。

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、EasyEights、EasyPlate、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。