

# EasySep™ Release 人 CD19 正选试剂盒

可处理  $1 \times 10^9$  个细胞

产品号 #17754

正选

文档号 #1000035846 | 版本00



Scientists Helping Scientists™ | [WWW.STEMCELL.COM](http://WWW.STEMCELL.COM)

电话: 400 885 9050

E-MAIL: [INFO.CN@STEMCELL.COM](mailto:INFO.CN@STEMCELL.COM)

## 产品介绍

从新鲜或冻存的人外周血单个核细胞 (PBMCs) 或洗涤的白细胞单采术样本中分离出高纯度的CD19+细胞。

- 在30分钟内分离出高纯度的人CD19+细胞
- 无需清洗去除EasySep™ Releasable RapidSpheres™可解离磁珠

该试剂盒使用识别CD19表面标志物的抗体复合物和EasySep™ Releasable RapidSpheres™可解离磁珠来正选CD19+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地倾倒入弃去，而目的细胞则保留在试管中。随后，结合在EasySep™分离的CD19+细胞上的磁珠被解离，这些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。使用EasySep™ Release试剂盒分离细胞后，细胞表面仍有抗体复合物结合，并可能与Brilliant Violet™偶联抗体、聚乙二醇修饰蛋白或其他化学相关配体发生相互作用。

## 包含组分

组分名称	组分号#	规格	储存方式	效期	成分
EasySep™ Release人CD19正选抗体混合物	17754C	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，包含Fc受体阻断抗体。
EasySep™ Releasable RapidSpheres™50201磁珠	50201	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。
EasySep™Release缓冲液（浓缩）	20165	3 x 1 mL	2 - 8°C储存，勿冷冻。	具体效期请见标签。	用于正选后从细胞上解离Releasable RapidSpheres™磁珠的缓冲液。

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

有关可用的新鲜和冻存样本，请参见 [www.stemcell.com/primarycells](http://www.stemcell.com/primarycells)。

### 外周血

通过在密度梯度离心液 (如Lymphoprep™, 产品号 #18060) 上离心，从全血中制备外周血单个核细胞 (PBMC) 悬液。如需更快地制备PBMC，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PBMCs，在室温 (15 - 25°C) 下用浓度为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。通过37 µm的细胞滤筛 (产品号 #27250) 过滤去除聚团，以获得最佳结果。

制备完成后，将细胞以  $1 \times 10^8$  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)。

### 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，500 x g离心10分钟。

如果需要裂解红细胞，请用氯化铵溶液 (产品号 #07800) 裂解。如果需要去除血小板，请在关闭刹车的情况下以120 x g离心10分钟。去除上清液，并将细胞以  $1 \times 10^8$  细胞/mL重悬于推荐的缓冲液中。

## 推荐缓冲液

EasySep™ 缓冲液 (产品号 #20144) 或含有2% FBS和1 mM EDTA的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说明，请参阅表 1 和表 2。

表 1. EasySep™ Release 人 CD19 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	稀释 Release Buffer (浓缩) 以制备 Release Buffer (1X)。	用推荐缓冲液 1: 40 稀释。 注: Release buffer (1X) 必须在使用当天制备。 请参阅步骤 9 了解所需的体积。	用推荐缓冲液 1: 40 稀释。 注: Release buffer (1X) 必须在使用当天制备。 请参阅步骤 9 了解所需的体积。
2	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)
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。	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
4	涡旋 RapidSpheres™ 磁珠。 注意: 磁珠应呈均匀分散状态。	30 秒	30 秒
5	将 RapidSpheres™ 磁珠加到样本中。	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
6	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"> <li>若样本 ≤ 3 mL, 定容至 5 mL</li> <li>若样品 &gt; 3 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	室温孵育 5 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
8	重复以上步骤。	重复两次步骤 6 和 7 (总共进行 3 次 5 分钟的分选)	重复两次步骤 6 和 7 (总共进行 3 次 5 分钟的分选)
9	添加 Release buffer (1X), 将样本定容至指定体积。通过轻轻上下吹吸 2 - 3 次以混匀。	定容至 2.5 mL	<ul style="list-style-type: none"> <li>若样本 ≤ 3 mL, 定容至 5 mL</li> <li>若样品 &gt; 3 mL, 定容至 10 mL</li> </ul>
	孵育。	室温孵育 3 分钟	室温孵育 3 分钟
10	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
11	拿起磁极, 以一个连续的动作翻转磁极和试管*, 倾倒入富集的细胞悬液至一个新的试管中。	分选后的细胞 (在新试管中) 可立即用于下游应用	分选后的细胞 (在新试管中) 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™ Release人CD19正选试剂盒操作流程

步骤	说明	EASYSEPT™ 磁极		
		 EasyPlate™ (产品号 #18102)	 EasyEights™ (产品号 #18103) 5 mL 流式管	 14 mL 流式管
1	稀释Release Buffer (浓缩) 以制备Release Buffer(1X)。	用推荐缓冲液1: 40稀释。 注: Release buffer (1X)必须在使用当天制备。 请参阅步骤9了解所需的体积。	用推荐缓冲液1: 40稀释。 注: Release buffer (1X)必须在使用当天制备。 请参阅步骤9了解所需的体积。	用推荐缓冲液1: 40稀释。 注: Release buffer (1X)必须在使用当天制备。 请参阅步骤9了解所需的体积。
2	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 0.05 - 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)
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。	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
4	涡旋Releasable RapidSpheres™磁珠。 注意: 磁珠应呈均匀分散状态。	30秒	30秒	30秒
5	将Releasable RapidSpheres™磁珠加到样本中。	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
6	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	· 若样本 ≤ 3 mL, 定容至5 mL · 若样本 > 3 mL, 定容至10 mL
	将试管 (不加盖) 或孔板放入磁极中并孵育。	室温孵育5分钟	室温孵育5分钟	室温孵育5分钟
7	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
8	重复以上步骤。	重复两次步骤6和7 (总共进行3次5分钟的分选)	重复两次步骤6和7 (总共进行3次5分钟的分选)	重复两次步骤6和7 (总共进行3次5分钟的分选)
9	添加Release buffer (1X), 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 ≤ 3 mL, 定容至5 mL · 若样本 > 3 mL, 定容至10 mL
	孵育。	室温孵育3分钟	室温孵育3分钟	室温孵育3分钟
10	将试管 (不加盖) 或孔板放入磁极中并孵育。	室温孵育5分钟	室温孵育5分钟	室温孵育5分钟
11	小心地吸出** (切勿倾倒) 富集的细胞悬液至一个新的试管。	分选后的细胞 (在新试管中) 可立即用于下游应用	分选后的细胞 (在新试管中) 可立即用于下游应用	分选后的细胞 (在新试管中) 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

### EasySep™ Release缓冲液

EasySep™ Release缓冲液（浓缩）是40X浓缩液；必须在使用当天制备Release缓冲液（1X）。制备Release缓冲液（1X）时，请使用推荐缓冲液以1: 40的比例进行稀释。所需体积请参阅表1或表2中的步骤9。

### 纯度评估

要通过流式细胞术评估CD19+细胞的纯度，请使用以下克隆号的流式抗体：

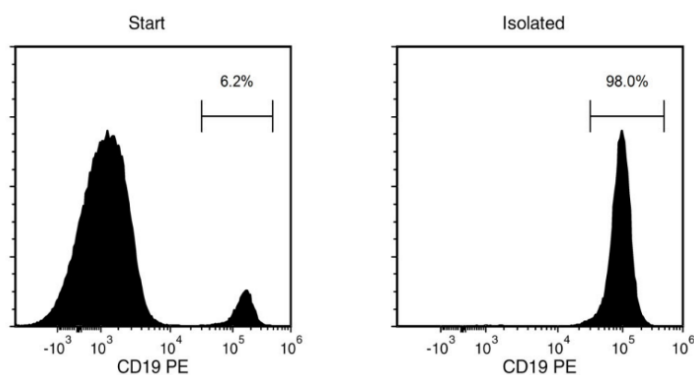
- 抗人CD19抗体，克隆HIB19（产品号 #60005）、4G7或FMC63（均被部分阻断）

注：如需使用Brilliant Violet™偶联抗体进行流式细胞术或荧光显微镜分析，应先在EasySep™ Release分离的细胞上仔细滴定用量。使用Brilliant Violet™偶联抗体进行纯度评估时，建议使用BD Horizon Brilliant™染色缓冲液以减少非特异性相互作用。如需更多信息，请参阅厂商的说明书或通过info.cn@stemcell.com联系我们。

还可以使用以下方法之一：

- 使用替代标志物，例如荧光抗人CD20抗体、克隆 2H7（产品号 #60008）；可能会低估CD19+细胞的纯度最多15%。
- 使用荧光二抗，例如山羊抗小鼠IgG (H+L) 多克隆抗体（产品号 #60138）。

## 实验数据



起始样本为人PBMCs的单细胞悬液，分选后的CD19+细胞含量通常为 $97.7 \pm 2.3\%$ （使用紫色EasySep™磁极，平均值±标准差）。在上述实验中，起始样本和分选后的目的细胞纯度分别为6.2%和98.0%。

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。有关STEMCELL质量控制的更多信息，请参阅WWW.STEMCELL.COM/COMPLIANCE。

版权所有©STEMCELL Technologies Inc 2025。保留所有权利，包括图形和图像。STEMCELL Technologies及其设计、STEMCELL徽标设计、Scientists Helping Scientists、EasyEights、EasyPlate、EasySep、RapidSpheres和SepMate是STEMCELL Technologies Canada Inc.的商标。Lymphoprep是Serumwerk Bernburg AG的商标。Brilliant Violet是Sirigen Group Ltd.的商标。BD Horizon Brilliant是Becton, Dickinson and Company的商标。所有其他地商标均是其各自所有者的财产。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。