

EasySep™ 人全血 CD34 正选试剂盒II

可处理 75 mL 全血 (37 mL 白膜层)

产品号 #17879
#17879RF RoboSep™

正选

文档号 #1000035850 | 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全血或白膜层 (buffy coat) 样本中分离高纯度的CD34+细胞。

- 操作简单、快速
- 无需分离柱

该试剂盒使用识别CD34表面标志物的抗体来正选CD34+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、培养或DNA/RNA 提取。

- 如不使用裂解缓冲液并从全血中分离CD34+细胞，推荐使用人全血CD34+细胞完全试剂盒 (产品号 #15086)。
- 如需从新鲜脐带血中分离CD34+细胞，请使用EasySep™ 人脐带血CD34正选试剂盒II (产品号 #17896)。
- 如需从其它样本类型中分离CD34+细胞，请使用EasySep™ 人CD34正选试剂盒II (产品号 #17856)。

包含组分

组分名称	组分号#	规格	储存方式	效期	成分
EasySep™ 人CD34正选抗体混合物	18096C	3 x 1 mL	2 - 8°C 储存，勿冷冻。	具体效期请见标签。	保存在PBS中的单克隆抗体混合物，包含Fc受体阻断抗体。
EasySep™ Dextran RapidSpheres™ 50100	50100	3 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™ RBC 裂解缓冲液，10X 浓缩液	20110	1 x 10 mL	15 - 25°C 储存。	具体效期请见标签。	10X浓缩的红细胞裂解试剂。

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。

其它试剂稳定性信息

试剂名称	储存方式	效期
EasySep™ RBC 裂解缓冲液 (1X稀释液)	2 - 8°C 储存。勿冷冻	可稳定存放不超过3个月。存放时间请勿超过各个组分标签上的效期 (EXP)。

样本制备

有关可用的新鲜和冻存样本，请参见 www.stemcell.com/primarycells。

全血

使用装有抗凝剂的采血管采集全血。

白膜层

1. 在全血样本中加入等体积的推荐缓冲液。
2. 在室温下 (15 - 25°C)，以800 x g 离心10分钟，关闭离心机刹车。
3. 吸取浓缩的白细胞层 (即白膜层)，以及一小部分血浆和浓缩的红细胞 (RBC)。其目的是将白细胞浓缩大约5倍，同时保持血细胞比容不变 (例如，当起始样本为10 mL 全血时，收集2 mL 的白膜层)。
4. 将白膜层转移到所需的试管中 (参见表1)。

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页了解样本制备和推荐缓冲液。有关EasySep™的详细使用说明，请参阅表1。

表1. EasySep™ 人全血 CD34 正选试剂盒II操作流程

		"THE BIG EASY" EASYSEPTM 磁极 (产品号 #18001)	
步骤	说明	 全血	 白膜层
1	制备样本，样本体积在范围内。	最多4.5 mL	最多4.5 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)	14 mL (17 x 95 mm) 聚苯乙烯流式管 (如: 产品号 #38008)
2	向样本中添加1X EasySep™ RBC裂解缓冲液。	与样本等体积	与样本等体积
3	在样本中加入分选抗体混合物。	20 µL/mL 稀释样本	40 µL/mL 稀释样本
	混匀并孵育。	室温孵育15分钟	室温孵育15分钟
4	涡旋振荡RapidSpheres™。 注意：磁珠应呈均匀分散状态。	30秒	30秒
5	将RapidSpheres™ 加到样本中。	20 µL/mL 稀释样本	40 µL/mL 稀释样本
	混匀并孵育。	室温孵育10分钟	室温孵育10分钟
6	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10 mL	定容至10 mL
	将试管（不加盖）放入磁极中并孵育。	室温孵育10分钟	室温孵育10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	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10 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
9	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
10	重复以上步骤。	步骤8和9 (总共进行1次10分钟和2次5分钟的分选)	步骤8和9 (总共进行1次10分钟和2次5分钟的分选)
11	将细胞重悬于所需培养基中。请确保从管壁上收集细胞。	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)

* 保持磁极和试管倒置 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™ 人全血 CD34 正选试剂盒II操作流程

步骤	说明	RoboSep™ (产品号 #21000)	
1	制备样本，样本体积在范围内。	0.25 - 4.5 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	向样本中添加1X EasySep™ RBC裂解缓冲液。	与样本等体积	
3	选择程序。 注: 输入体积。	人CD34正选 17879 注: 输入稀释后的样本体积。	
4	涡旋振荡RapidSpheres™。 注意: 磁珠应呈均匀分散状态。	30秒	
5	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	
6	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

EasySep™ RBC裂解缓冲液

该试剂盒中的EasySep™ RBC裂解液为10倍浓缩液。在使用前至少1小时，将1份10X裂解液加入9份蒸馏水或I类水*中制备1X裂解液。使用前需轻柔且充分地混匀。

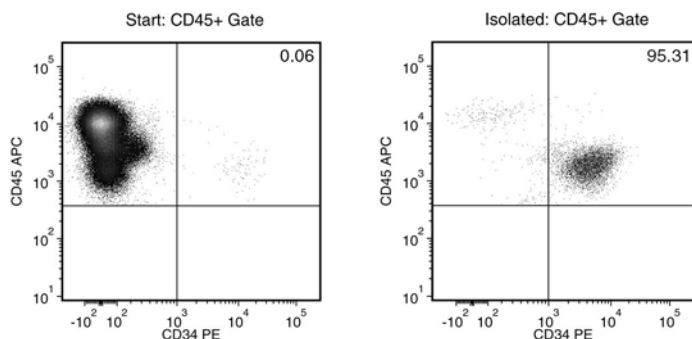
纯度评估

EasySep™ 人CD34细胞正选抗体混合物使用II类抗CD34抗体克隆，该克隆可能会阻断一些用于流式细胞术评估纯度的I类和II类抗CD34抗体克隆。要通过流式细胞术评估CD34+细胞的纯度，请使用以下II类荧光偶联流式抗体克隆：

- 抗人CD34抗体，克隆581（产品号 #60013），克隆8G12（产品号 #60121），克隆AC136或克隆BirnaK3，以及
- 抗人CD45抗体，克隆HI30（产品号 #60018）

注：正选后的细胞可能会在流式细胞术分析中呈现比分选前略高的侧向角散射（SSC）。

实验数据



起始样本为全血，分选后的CD34+细胞含量通常为 $90.4 \pm 7.0\%$ （以CD45+ 设门；平均值 \pm 标准差，使用RoboSep™-S）。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0.06%和95.31%。

注：在流式细胞术之前通过裂解去除红细胞。

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和其设计及徽标，以及Scientists Helping Scientists、EasySep、HetaSep、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，对此类信息的准确性或完整性不作任何保证或声明。