

## EasySep™人 EpCAM 正选试剂盒II

可处理 1 x 10<sup>9</sup> 个细胞

产品号 #17846

产品号 #17846RF RoboSep™

正选

文档号 #1000035853 | 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新鲜或冻存的培养的人乳腺上皮细胞或其他解离的组织样本中分离高纯度的EpCAM+细胞。

- 操作简单、快速
- 纯度高达99%
- 无需分离柱

该试剂盒使用识别EpCAM表面标志物的抗体来正选EpCAM+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入弃去，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。

## 包含组分

组分名称	组分号#	规格	储存方式	效期	成分
EasySep™人EpCAM正选抗体混合物II	17846C	1 x 1 mL	2 - 8°C 储存，勿冷冻。	具体效期请见标签。	保存在PBS中的单克隆抗体混合物，包含Fc受体阻断抗体。
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。

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

使用该试剂盒之前，细胞必须制备成单细胞悬液。以下实验方法针对从胶原酶解离的人乳腺组织中得到单细胞悬液优化，但也可能可以用于各种其他组织。有关人乳腺组织解离的实验方法，请查阅胶原酶/透明质酸酶产品说明书（产品号 #07912）。

制备单细胞悬液

1. 将5 mL预热的胰蛋白酶-EDTA (0.25%；产品号 #07901) 添加到先前解离的组织中，使细胞充分悬浮，并用1 mL移液器枪头轻轻上下吹吸1 - 3 分钟。由于死细胞的裂解和DNA的释放，样本应该会变得非常粘稠。
2. 添加10 mL冷的 (2 - 8 °C) 推荐缓冲液，并以450 x g离心5分钟。
3. 尽可能多地去除上清液。细胞可能呈现为漂浮在推荐缓冲液中的粘性物质。
4. 添加2 - 5 mL预热的Dispase (5 U/mL；产品号 #07913) 和 200 µL DNase I溶液 (1 mg/mL；产品号 #07900)，并吹吸样本1 - 2分钟。样本现在应该浑浊但不粘稠。如果仍然粘稠，请添加更多的DNase I溶液。
5. 用10 mL冷的推荐缓冲液稀释细胞悬液，并通过37 µm细胞滤筛 (产品号 #27250) 过滤到新的50 mL锥形管 (如产品号 #38010) 中，并以450 x g离心5分钟。
6. 将细胞置于冰上备用。

## 推荐缓冲液

含10 mM HEPES和2%胎牛血清 (FBS) 且不含酚红的HBSS (产品号 #37150)。

## 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™人 EpCAM 正选试剂盒II的操作流程

		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。	$1 \times 10^8$ 细胞/mL 0.1 - 2 mL* 注：若起始样本少于 $1 \times 10^7$ 个细胞，请使用0.1 mL缓冲液重悬细胞	$1 \times 10^8$ 细胞/mL 0.25 - 8.5 mL* 注：若起始样本少于 $2.5 \times 10^7$ 个细胞，请使用0.25 mL缓冲液重悬细胞
	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。	100 $\mu$ L/mL 样本	100 $\mu$ L/mL 样本
	混匀并孵育。	在2 - 8°C下孵育20分钟	在2 - 8°C下孵育20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。	75 $\mu$ L/mL 样本	75 $\mu$ L/mL 样本
	混匀并孵育。	在2 - 8°C下孵育15分钟	在2 - 8°C下孵育15分钟
5	添加推荐的缓冲液，将样本定容至指定体积。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>若样品 &lt; 1 mL，定容至5 mL</li> <li>若样品 <math>\geq</math> 1 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
6	拿起磁极，以一个连续的动作翻转磁极和流式管**，倾倒下清液。从磁极上取下流式管；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。	重复三次步骤5和6 (总共进行4次5分钟的分选)	重复三次步骤5和6 (总共进行4次5分钟的分选)
8	将细胞重悬于所需培养基中。请确保从管壁上收集细胞。	分离的细胞可立即用于下游应用	分离的细胞可立即用于下游应用

RT - 室温 (15 - 25°C)


\* 为了尽量减少细胞聚团，请使用冷的缓冲液并尽可能将细胞置于冰上。如果样本开始聚团，请添加DNase I溶液 (1 mg/mL)。

\*\* 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。

## 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 EpCAM 正选试剂盒II的操作流程

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 0.25 - 8.5 mL	
	将样本添加到所需的试管中。	注：若起始样本少于2.5 x 10 <sup>7</sup> 个细胞，请使用0.25 mL缓冲液重悬细胞 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。	<ul style="list-style-type: none"> <li>人 EpCAM 正选II 17846-高纯度</li> <li>人 EpCAM 正选II 17846-高回收率</li> </ul>	
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，然后重悬于所需的培养基中。请确保从管壁上收集细胞。	分离的细胞可立即用于下游应用	

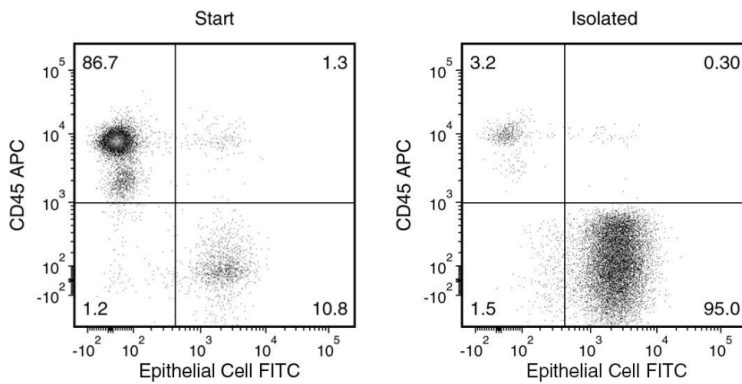
## 注意事项和提示

纯度评估

要通过流式细胞术评估细胞的纯度，请使用以下克隆号的流式抗体：

- 抗上皮细胞抗体，克隆5E11.3.1 (产品号 #60147)，以及
  - 抗人CD45抗体，克隆HI30 (产品号 #60018)。
- 注意：5E11表位与EpCAM表达完全重合。

## 实验数据



起始样本为加入10.8 - 50.0%的MCF-7 细胞（乳腺癌细胞系）的外周血单个核细胞 (PBMCs)，分选后的EpCAM<sup>+</sup>细胞含量（上皮细胞+CD45<sup>-</sup>）通常为96.2 ± 3%（平均值 ± 标准差，使用紫色EasySep™磁极）。在上述实验中，起始样本和分选后的目的细胞纯度分别为10.8%和95.0%。

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。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、EasySep、RoboSep和RapidSpheres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。