

## EasySep™小鼠 CD49b 正选试剂盒

可处理  $2 \times 10^9$  个细胞

产品号 #18755

产品号 #18755RF RoboSep™

正选

文档号 #1000035856 | 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细胞或其它单细胞悬液中分离高纯度的CD49b+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90%
- 无需分离柱

该试剂盒使用识别CD49b表面标志物的抗体来正选CD49b+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。

## 包含组分

组分名称	组分号#	规格	储存方式	效期	成分
EasySep™小鼠CD49b PE标记试剂	18755C.1	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和< 0.1%叠氮化钠的PBS中的单克隆抗体混合物，包含Fc受体阻断抗体。
EasySep™ PE分选抗体混合物	18154	2 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

在含有2%胎牛血清（FBS）的PBS或Hanks平衡盐溶液中机械解离脾脏。使用70 μm 尼龙滤筛过滤细胞悬液，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。

制备用于分选的本样本时，不建议使用氯化铵处理样本。

## 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<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。

表1.EasySep™小鼠 CD49b 正选试剂盒操作流程

步骤	说明	EASYSEP™ 磁极	
		 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 - 2.5 mL 注：对于少于2.5 x 10 <sup>7</sup> 个细胞的样本，重悬至0.25 mL体积中	1 x 10 <sup>8</sup> 细胞/mL 0.5 - 8.5 mL 注：对于少于5 x 10 <sup>7</sup> 个细胞的样本，重悬至0.5 mL体积中
	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	将PE标记试剂添加到样本中。	50 µL/mL 样本	50 µL/mL 样本
	混匀并孵育。	室温孵育15分钟	室温孵育15分钟
3	在样本中加入分选抗体混合物。	100 µL/mL 样本	100 µL/mL 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™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。	50 µL/mL 样本	50 µL/mL 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）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
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	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
	可选：提高细胞纯度的额外分选步骤。 注意：这能提高细胞纯度，但可能会降低细胞回收率。	—	—
10	重复以上步骤。	重复步骤6和7 (一次额外的5分钟分选)	重复步骤6和7 (一次额外的5分钟分选)
11	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

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。

## 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™小鼠 CD49b 正选试剂盒操作流程

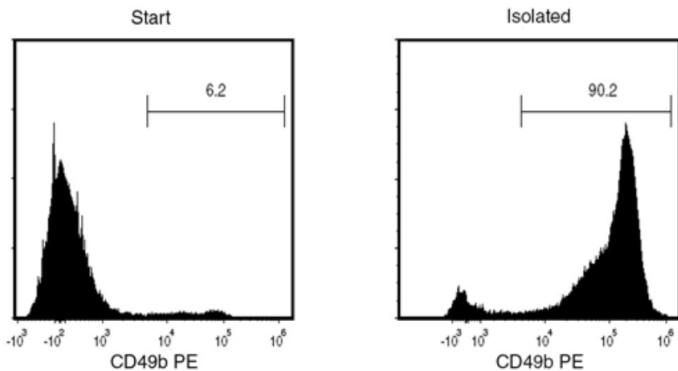
步骤	说明	RoboSep™ (产品号 #21000)
1	按指定细胞浓度制备样本，样本体积在范围内。	1 x 10 <sup>8</sup> 细胞/mL 0.25 - 8 mL 注：对于少于2.5 x 10 <sup>7</sup> 个细胞的样本，重悬至0.25 mL体积中
	将样本添加到所需的试管中。	14 mL (17 x 95 mm) 聚苯乙烯流式管 (如: 产品号 #38007)
2	选择实验程序。	小鼠CD49b正选 18755 - 高纯度
3	涡旋振荡RapidSpheres™磁珠。 注意：磁珠应呈均匀分散状态	30秒
4	加载转盘。	根据屏幕上的提示操作
	启动实验程序。	按下绿色的“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

## 注意事项和提示

### 纯度评估

正选的细胞已被PE (phycoerythrin) 标记，因此可以通过流式细胞术直接评估纯度。

## 实验数据



起始样本为小鼠脾细胞，分选后的细胞中CD49b+细胞含量通常可达74 - 90%。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6.2%和90.2%。

注：为了提高纯度，请按照表1所述进行额外的分选步骤。

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，但对此类信息的准确性或完整性不作任何保证或声明。