

EasySep™ Release APC 正选试剂盒

可处理 1×10^9 个细胞

产品号 #100-0031 (人)

产品号 #100-0033 (小鼠)

正选

文档号 #1000035887 | 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, 从新鲜或冻存的人外周血单个核细胞 (PBMCs)、洗涤的白细胞单采术样本或小鼠脾细胞中分离出标记Allophycocyanin (APC) 偶联抗体的高纯度细胞。

- 在40分钟内从人或小鼠组织中分离出用APC偶联抗体标记的高纯度细胞
- 无需清洗去除EasySep™ Releasable RapidSpheres™可解离磁珠

这些试剂盒靶向APC偶联抗体 (未提供) 标记的细胞, 通过识别APC和EasySep™ Releasable RapidSpheres™磁珠的抗体复合物进行正选。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。随后, 结合在使用EasySep™分离的APC偶联抗体标记的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。

使用这些EasySep™ Release试剂盒分选之后, 细胞表面仍结合有抗体复合物, 并可能与Brilliant Violet™偶联的抗体、聚乙二醇修饰的蛋白质或其他化学相关配体相互作用。

包含组分

组分名称	组分号#	规格	储存方式	效期	成分
EasySep™ Release APC正选抗体混合物	17651C	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中的单克隆抗体混合物。
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。
EasySep™抗人CD32 (Fc gamma RII) 阻断剂, 用于正选*	18520	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。
或EasySep™小鼠FcR阻断剂**	18731	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

* 仅在购买EasySep™ Release人APC正选试剂盒时提供 (产品号 #100 - 0031)

** 仅在购买EasySep™ Release小鼠APC正选试剂盒时提供 (产品号 #100 - 0033)

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。

人外周血

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) 细胞离心管。

如果使用冻存的PBMC, 在室温 (15 - 25°C) 下用终浓度为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。使用37 µm的细胞滤筛 (产品号 #27215) 过滤细胞悬液去除聚团, 以获得最佳结果。

制备完成后, 将细胞以 1×10^8 细胞/mL的浓度重悬于推荐缓冲液中。

* 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)。

人白细胞单采术样本

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）下以500 x g离心10分钟。如果需要裂解红细胞（RBC），请使用氯化铵溶液（产品号 #07800）进行裂解。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，并使用推荐缓冲液以 1×10^8 细胞/mL重悬细胞。

小鼠脾脏

在推荐缓冲液中机械解离脾脏。使用70 μ m尼龙滤筛（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。

制备用于分选样本时，不建议使用氯化铵处理样本。

其它样本来源

如果使用其他样本来源或组织，请通过info.cn@stemcell.com 联系我们了解更多信息。



推荐缓冲液

EasySep™缓冲液（产品号 #20144）或含2% 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页和第2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™ Release人APC正选试剂盒或EasySep™ Release小鼠APC正选试剂盒操作流程

		EASYSEPTM 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12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12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 ⁸ 细胞/mL 0.25 - 2 mL	1 x 10 ⁸ 细胞/mL 0.5 - 8 mL
3	将样本添加到所需的试管中。	5 mL（12 x 75 mm）流式管 （如：产品号 #38007）	14 mL（17 x 95 mm）流式管 （如：产品号 #38008）
4	如果分选小鼠细胞（产品号 #100 - 0033），请在样本中添加小鼠FcR阻断剂。 注：可能需要滴定小鼠FcR阻断剂。 或 如果分选人细胞（产品号 #100 - 0031），请在样本中添加FcR阻断剂。	40 µL/mL 样本， 或 100 µL/mL 样本	40 µL/mL 样本， 或 100 µL/mL 样本
5	将APC偶联抗体添加到样本中*。	0.25 - 2 µg/mL样本	0.25 - 2 µg/mL样本
	混匀并孵育。	室温孵育5分钟	室温孵育5分钟
可选 清洗步骤：可能可以改善分选效果。添加推荐缓冲液，将样本定容至指定体积并离心。将样本重悬至原始体积。		添加2倍过量的推荐缓冲液，然后在室温下以300 x g离心10分钟，刹车设置为低。小心地吸出并弃去上清液。以与步骤2相同体积的缓冲液重悬细胞。	添加2倍过量的推荐缓冲液，然后在室温下以300 x g离心10分钟，刹车设置为低。小心地吸出并弃去上清液。以与步骤2相同体积的缓冲液重悬细胞。
6	在样本中加入分选抗体混合物**。 注意：不要涡旋抗体混合物。	25 - 100 µL/mL 样本	25 - 100 µL/mL 样本
	混匀并孵育。	室温孵育5分钟	室温孵育5分钟
7	涡旋振荡RapidSpheres™磁珠。 注意：磁珠应呈均匀分散状态。	30 秒	30 秒
8	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
继续步骤9，下一页		继续步骤9，下一页	继续步骤9，下一页

		EASYSEP™磁极	
步骤	说明（接上页）	 EasySep™ (产品号 #18000)	 “The Big Easy” (产品号 #18001)
9	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"> ●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。	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
11	重复以上步骤。	重复两次步骤9和10 (总共进行3次5分钟的分选)	重复两次步骤9和10 (总共进行3次5分钟的分选)
12	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2.5 mL	<ul style="list-style-type: none"> ●若起始样本 < 4 mL，定容至 5 mL ●若起始样本 ≥ 4 mL，定容至10 mL
	孵育。	室温孵育3分钟	室温孵育3分钟
13	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
14	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)

* 滴定APC偶联抗体以获得最佳纯度和回收率。如需更多信息，请通过info.cn@stemcell.com联系我们。

** 滴定EasySep™ Release APC正选抗体混合物以获得最佳纯度和回收率。如需更多信息，请通过info.cn@stemcell.com联系我们。

‡ 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APC正选试剂盒或EasySep™ Release小鼠APC正选试剂盒操作流程

步骤	说明	EASYSEPTM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12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12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12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 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
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	如果分选小鼠细胞(产品号 #100 - 0033), 请在样本中添加小鼠FcR阻断剂。 注: 可能需要滴定小鼠FcR阻断剂。 或 如果分选人细胞(产品号 #100 - 0031), 请在样本中添加FcR阻断剂。	40 µL/mL 样本, 或 100 µL/mL 样本	40 µL/mL 样本, 或 100 µL/mL 样本	40 µL/mL 样本, 或 100 µL/mL 样本
5	将APC偶联抗体添加到样本中*。	0.25 - 2 µg/mL样本	0.25 - 2 µg/mL样本	0.25 - 2 µg/mL样本
	混匀并孵育。	室温孵育5分钟	室温孵育5分钟	室温孵育5分钟
可选 清洗步骤: 可能可以改善分选效果。添加推荐缓冲液, 将样本定容至指定体积并离心。将样本重悬至原始体积。		添加2倍过量的推荐缓冲液, 然后在室温下以300 x g离心10分钟, 刹车设置为低。小心地吸出并弃去上清液。以与步骤2相同体积的缓冲液重悬细胞。	添加2倍过量的推荐缓冲液, 然后在室温下以300 x g离心10分钟, 刹车设置为低。小心地吸出并弃去上清液。以与步骤2相同体积的缓冲液重悬细胞。	添加2倍过量的推荐缓冲液, 然后在室温下以300 x g离心10分钟, 刹车设置为低。小心地吸出并弃去上清液。以与步骤2相同体积的缓冲液重悬细胞。
6	在样本中加入分选抗体混合物**。 注意: 不要涡旋抗体混合物。	25 - 100 µL/mL 样本	25 - 100 µL/mL 样本	25 - 100 µL/mL 样本
	混匀并孵育。	室温孵育5分钟	室温孵育5分钟	室温孵育5分钟
7	涡旋Releasable RapidSpheres™磁珠。 注意: 磁珠应呈均匀分散状态。	30 秒	30 秒	30 秒
8	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
继续步骤9, 下一页		继续步骤9, 下一页	继续步骤9, 下一页	继续步骤9, 下一页

步骤	说明 (续)	EASYSEPT™磁极		
		 EasyPlate™ (产品号 #18102)	EasyEights™ (产品号 #18103)	
			5 mL 流式管	14 mL 流式管
9	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5分钟	室温孵育10分钟 ‡	室温孵育10分钟 ‡
10	小心地吸出***（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
11	重复以上步骤。	再重复两次步骤9和10 (总共进行3次5分钟的分选)	再重复两次步骤9和10 (总共进行3次10分钟的分选)	再重复两次步骤9和10 (总共进行3次10分钟的分选)
12	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	<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
	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
13	将试管或孔板（不加盖）放入磁极中并孵育。	室温孵育5分钟	室温孵育10分钟 ‡	室温孵育10分钟 ‡
14	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)

*滴定APC偶联抗体以获得最佳纯度和回收率。如需更多信息，请通过info.cn@stemcell.com联系我们。

** 滴定EasySep™ Release APC正选抗体混合物以获得最佳纯度和回收率。如需更多信息，请通过info.cn@stemcell.com联系我们。

‡对于某些样本孵育时间可缩短至5分钟。

*** 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

EASYSEPTM RELEASE BUFFER解离缓冲液

EasySep™ Release Buffer (浓缩) 是40X浓缩液; release buffer (1X) 必须在使用当天制备。要制备release buffer (1X), 请使用推荐缓冲液以1:40的比例进行稀释。有关所需体积, 请参阅表1或表2的步骤12。

优化回收率

在某些情况下, 可能需要滴定APC偶联抗体 (未提供, 需自备) 和EasySep™ Release APC正选抗体混合物, 以获得最佳纯度和回收率。如需更多信息, 请通过info.cn@stemcell.com联系我们。

正选细胞的回收率还取决于所用APC偶联抗体 (未提供, 需自备) 的质量。过期或储存不当的抗体可能对目的细胞表面标志物的亲和力较低, 从而导致回收率较低。

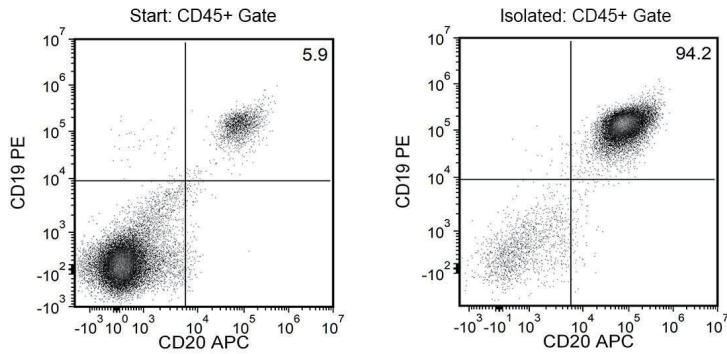
纯度评估

对于通过流式细胞术评估APC偶联细胞的纯度, 请使用以下方法之一:

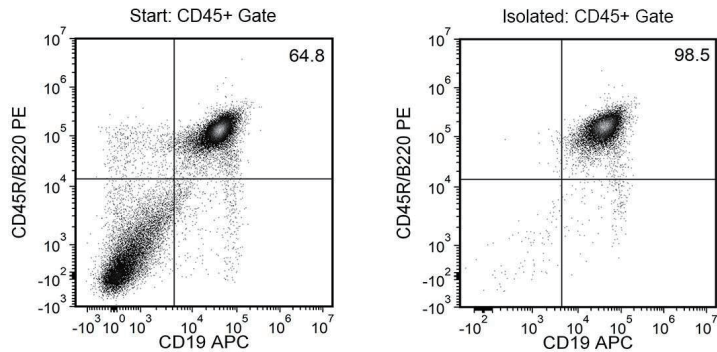
- 添加荧光偶联抗体来标记所选细胞。
注: APC偶联抗体可能会阻断标记抗体。
- 使用其它细胞表面标志物的荧光偶联抗体。
- 使用荧光二抗, 例如山羊抗小鼠IgG (H + L) 多克隆抗体 (产品号 #60138)。

注意: 在使用Brilliant Violet™偶联抗体进行流式细胞仪或荧光显微镜分析之前, 需要在EasySep™ Release分选的细胞上仔细滴定Brilliant Violet™偶联抗体。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。如需了解更多信息, 请参阅生产厂商的说明或通过info.cn@stemcell.com与我们联系。

实验数据



起始样本为新鲜的人PBMCs, 使用APC偶联抗人CD19抗体和EasySep™ Release人APC正选试剂盒, 上述实验中的起始和最终分选后的纯度分别为5.9%和94.2% (通过CD19和CD20标记进行评估)。



起始样本为小鼠脾细胞, 使用APC偶联抗小鼠CD19抗体和EasySep™ Release小鼠APC正选试剂盒, 上述实验中的起始和最终分选后的纯度分别为64.8%和98.5% (通过CD19和CD45R/B220标记进行评估)。

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、SepMate和RapidSpheres均是STEMCELL Technologies Canada Inc.的商标。Lymphoprep是Serumwerk Bernburg AG的商标。以Lymphoprep品牌销售的产品也是由Serumwerk Bernburg AG生产的。所有商标均为各自所有者所有。Brilliant Violet是Sigen Group Ltd的商标。BD Horizon Brilliant是Becton, Dickinson, and Company的商标。该试剂盒的用户应确保他们有权使用目的抗体。STEMCELL Technologies Inc.对使用本产品时可能发生的专利侵权或违规行为不承担任何责任。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。