

EasySep™人 CD19 正选试剂盒II

可处理 1×10^9 个细胞

产品号 #17854

正选

文档号 #1000032217 | 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, 在短至18分钟内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。

- 操作简单、快速
- 纯度高达99%
- 无需分离柱

该试剂盒通过识别CD19表面标志物的抗体来正选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、细胞培养或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CD19正选抗体混合物II	17854C	1 x 1 mL	2 - 8°C 储存。 勿冷冻	具体效期请见标签	保存在含0.09% rHA的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	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; rHA - 重组人白蛋白

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

有关可用的冻存样本, 请参见 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PBMCs, 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 #27250) 过滤细胞悬液去除细胞团块, 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 (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, 并将细胞以 1×10^8 细胞/mL 的浓度重悬于推荐的缓冲液中。

推荐缓冲液

EasySep™ 缓冲液 (产品号 #20144)、RoboSep™ 缓冲液 (产品号 #20104) 或含有2% FBS和1mM 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。有关每种磁极的详细使用方法，请参阅表1和表2。

表1. EasySep™人 CD19 正选试剂盒II操作流程

		EASYSEPTM 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 x 10 ⁸ 细胞/mL 0.1- 2 mL	1 x 10 ⁸ 细胞/mL 0.25 - 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)
2	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
3	涡旋振荡RapidSpheres™。 注意: 磁珠应呈均匀分散状态。	30 秒	30 秒
4	将RapidSpheres™ 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
5	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 < 1 mL, 定容至5 mL · 若样本 ≥ 1 mL, 定容至10 mL
	将试管（不加盖）放入磁极中并孵育。	室温孵育3分钟	室温孵育3分钟
6	拿起磁极，以一个连续的动作翻转磁极和试管*，倾倒入清液。从磁极中取出试管，其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3分钟的分选)	重复两次步骤5和6 (总共进行3次3分钟的分选)
8	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。

表2. EasySep™ 人 CD19 正选试剂盒 II 操作流程

步骤	说明	EASYSEP™磁极			
		 EasyPlate™ (产品号 #18102)	 EasyEights™ (产品号 #18103)		 Easy 50 (产品号 #18002)
			5 mL 流式管	14 mL 流式管	
1	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 1 - 8 mL	1 x 10 ⁸ 细胞/mL > 5 - 40 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)	50 mL (30 x 115 mm) 锥型管 (如: 产品号 #38010)
2	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	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	室温孵育3分钟
3	涡旋振荡RapidSpheres™。 注意：磁珠应呈均匀分散状态。	30 秒	30 秒	30 秒	30 秒
4	将RapidSpheres™ 加到样本中。	100 μL/mL 样本	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	室温孵育3分钟
5	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	定容至： · 10 mL，若样本 ≤ 5 mL · 20 mL，若样本 > 5 - 10 mL · 30 mL，若样本 > 10 - 15 mL · 40 mL，若样本 > 15 - 20 mL · 50 mL，若样本 > 20 - 40 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	室温孵育10分钟
6	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	弃去上清液
7	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	定容至： · 10 mL，若样本 ≤ 5 mL · 20 mL，若样本 > 5 - 10 mL · 30 mL，若样本 > 10 - 15 mL · 40 mL，若样本 > 15 - 20 mL · 50 mL，若样本 > 20 - 40 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5分钟	室温孵育5分钟	室温孵育5分钟
8	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	弃去上清液
9	重复以上步骤。	步骤7和8 (总共进行3次5分钟的分选)	步骤7和8 (总共进行1次10分钟和 2次5分钟的分选)	步骤7和8 (总共进行1次10分钟和2次5 分钟的分选)	步骤7和8 (总共进行1次10分钟和2次5分 钟的分选)
10	将细胞重悬于所需培养基中。请确保从试管壁或孔板中收集细胞。	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	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)

** 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]）。

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3。

表3. RoboSep™人 CD19 正选试剂盒II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 ⁸ 细胞/mL 0.25 - 8 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	选择实验程序。	人 CD19 正选II 17854	
3	涡旋振荡RapidSpheres™。 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的培养基中。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

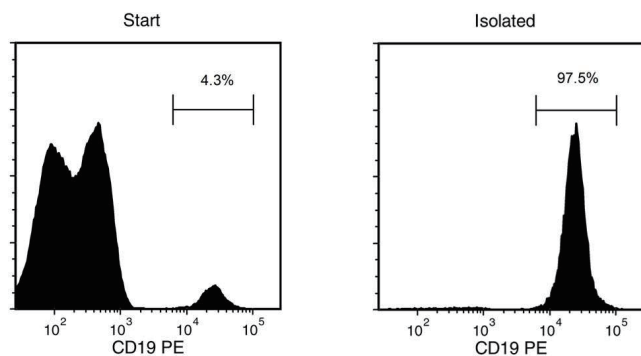
要通过流式细胞术评估 CD19+ 细胞的纯度，请使用以下克隆号的流式抗体：

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

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、克隆号2H7（产品号 #60008）；这可能会低估 CD19+ 细胞的纯度至多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，分选后的CD19+细胞含量通常为98 ± 1%（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4.3%和97.5%。

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、EasyEights、EasyPlate、EasySep、RapidSpheres、RoboSep和SepMate均是STEMCELL Technologies Canada Inc.的商标。Lymphoprep是Serumwerk Bernburg AG的商标。所有商标均为各自所有者所有。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。