

EasySep™ Release 人生物素正选试剂盒或 EasySep™ Release 小鼠生物素正选试剂盒



产品号 #17653 (人) 可处理 1×10^9 个细胞
产品号 #17655 (小鼠) 可处理 1×10^9 个细胞

Scientists Helping Scientists™ | WWW.STEMCELL.COM

电话: 400 885 9050

E-MAIL: INFO.CN@STEMCELL.COM

正选

文档号 #10000035712 | 版本00

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生物素化抗体的高纯度细胞。

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

这些试剂盒靶向生物素化抗体 (未提供, 需自备) 标记的细胞, 通过识别生物素和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™分离的生物素化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生物素正选抗体混合物	17653C	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的PBS中的单克隆抗体混合物。
EasySep™ Releasable RapidSpheres™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人生物素正选试剂盒时提供 (产品号 #17653)

** 仅在购买EasySep™ Release小鼠生物素正选试剂盒时提供 (产品号 #17655)

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 的细胞过滤器 (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 300 x g 离心 10 分钟。如果需要裂解红细胞 (RBCs)，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 µm 细胞滤筛 (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。

制备用于分选的样本时，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人生物素正选试剂盒或EasySep™ Release小鼠生物素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) 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	如果分离小鼠细胞 (产品号 #17655), 请在样本中添加小鼠FcR阻断剂。 注意: 可能需要滴定小鼠FcR阻断剂。 或 如果分离人细胞 (产品号 #17653), 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	将生物素化抗体添加到样本中*。	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。		添加超过2倍体积的推荐缓冲液, 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。	添加超过2倍体积的推荐缓冲液, 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3分钟	室温孵育3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
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
继续步骤10, 下一页		继续步骤10, 下一页	继续步骤10, 下一页

		EASYSEP™磁极	
步骤	说明 (续)	 EasySep™ (产品号 #18000)	"The Big Easy" (产品号 #18001) 
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)

* 滴定生物素化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生物素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 人生物素正选试剂盒或 EasySep™ Release 小鼠生物素正选试剂盒操作流程

		EASYSEPTM磁极		
步骤	说明	 EasyPlate™ (产品号 #18102)	EasyPlate™ (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	如果分离小鼠细胞(产品号 #17655), 请在样本中添加小鼠 FcR阻断剂。 注意: 可能需要滴定小鼠FcR阻断剂。 或 如果分离人细胞(产品号 #17653), 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	将生物素化抗体添加到样本中*。	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。		添加超过2倍体积的推荐缓冲液, 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。	添加超过2倍体积的推荐缓冲液, 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。	添加超过2倍体积的推荐缓冲液, 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3分钟	室温孵育3分钟	室温孵育3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

		EASYSEP™磁极		
步骤	说明 (续)	 EasyPlate™ (产品号 #18102)	EasyPlate™ (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)

* 滴定生物素化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生物素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。

优化纯度和回收率

在某些情况下, 可能需要滴定生物素化抗体 (未提供, 需自备) 和EasySep™ Release生物素正选抗体混合物, 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生物素化抗体 (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生物素化细胞的纯度, 请使用以下方法之一:

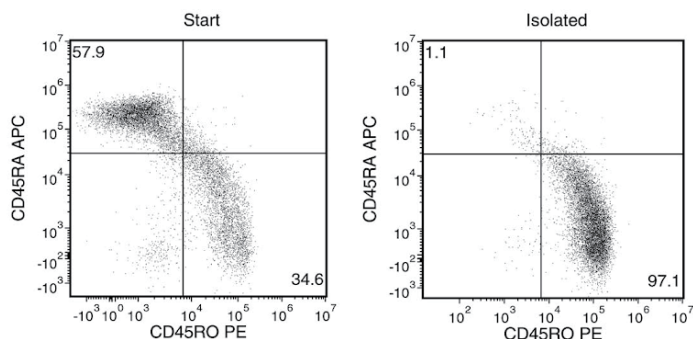
- 添加荧光偶联抗体来标记所选细胞。

注: 生物素化的分选抗体可能会阻断流式抗体结合。

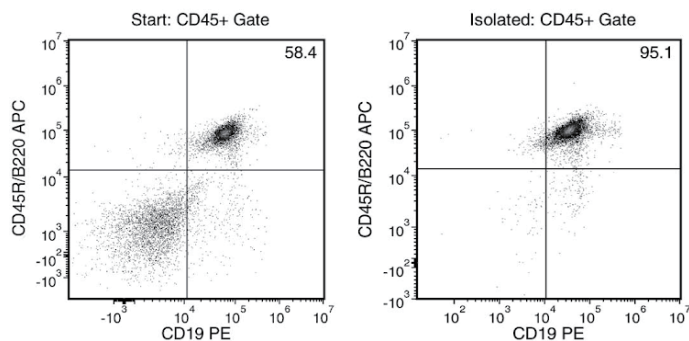
- 使用其它细胞表面标志物的荧光偶联抗体。
- 使用荧光二抗, 例如山羊抗小鼠IgG (H + L) 多克隆抗体 (产品号 #60138)。

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PBMCs, 使用生物素化抗人CD45RO抗体和EasySep™ Release人生物素正选试剂盒, 上述实验中的起始和最终分选后的纯度分别为34.6%和97.1% (通过CD45RO 和CD45RA标记进行评估)。



起始样本为小鼠脾细胞, 使用生物素化抗小鼠CD19抗体和EasySep™ Release小鼠生物素正选试剂盒, 上述实验中的起始和最终分选后的纯度分别为58.4%和95.1% (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制造。所有商标均为各自所有者所有。Brilliant Violet是Singen 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。