

# EasySep™ HLA 嵌合全血 CD19 正选试剂盒

可处理 60 mL 白膜层 (buffy coat) 或全血

产品号 #17874  
产品号 #17874RF RoboSep™

正选

文档号 #10000035752 | 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人全血、白膜层 (buffy coat) 或骨髓中分离高纯度的CD19+细胞。

- 操作简单、快速
- 纯度高达 99%
- 无需分离柱
- 兼容“The Big Easy”磁极、EasyEights™磁极和RoboSep™-S

该试剂盒使用识别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、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™ HLA嵌合全血CD19 正选抗体混合物	17874C	3 x 1 mL	2 - 8°C 储存, 勿冷冻。	具体效期请见标签。	保存在含2% HPCD和 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™ 50101 磁珠	50101	3 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™红细胞裂解缓冲液, 10X浓缩液	20110	10 mL	15 - 25°C 储存, 勿冷冻。	具体效期请见标签。	10X浓缩的红细胞裂解试剂。

HPCD - 2 - 羟丙基 - β - 环糊精; 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。

## 其它试剂稳定性信息

试剂名称	储存方式	效期
EasySep™红细胞裂解缓冲液 (1X稀释液)	2 - 8°C 储存, 勿冷冻。	可稳定存放不超过 3 个月。存放时间请勿超过各个组分标签上的效期 (EXP)。

## 样本制备

有关可用的新鲜和冻存样本, 请参见 www.stemcell.com/primarycells。

### 外周血

使用装有抗凝剂的采血管采集全血。

### 骨髓

骨髓样本应尽快处理, 并在采集后72小时内完成。

1. 将样本用D-PBS (不含Ca++和Mg++) 稀释 5 至 10 倍, 并通过上下吹打轻轻混匀。
2. 可选 (推荐): 用D-PBS预润湿70 μm滤网。用预润湿的滤网过滤样本, 去除骨碎片、细胞聚团和细胞碎片。用D-PBS冲洗滤网。
3. 以 300 x g离心10分钟 (关闭离心机刹车)。
4. 用移液器小心地移除并丢弃血浆, 避免扰动细胞沉淀。不要倾倒。  
可选: 对于保存时间超过24小时的骨髓样本, 添加DNase I 溶液 (1 mg/mL; 产品号 #07900), 每份样本50 μL或按原始样本体积计算至最高100 μg/mL的使用浓度, 以帮助减少细胞聚团。DNase I 溶液可直接加入沉淀的细胞中, 并轻轻混匀。在开始EasySep™操作前, 室温 (15 - 25°C) 孵育15 - 30分钟。  
注意: 避免反复冻融DNase I 溶液。
5. 用 EasySep™ 缓冲液重悬细胞沉淀:

- 如果样本细胞密度低, 或样本量≥ 2.5 mL, 则重悬至起始样本量。
- 如果样本量< 2.5 mL, 且细胞密度高或细胞密度未知, 则重悬至两倍的起始样本量。

#### 白膜层 (buffy coat)

1. 在全血样本中加入等体积的推荐缓冲液。
2. 在室温下 (15 - 25°C), 以 800 x g 离心 10 分钟 (关闭离心机刹车)。
3. 吸取浓缩的白细胞层 (即白膜层), 以及一小部分血浆和浓缩的红细胞 (RBC)。其目的是将白细胞浓缩大约5倍, 同时保持血细胞比容不变 (例如, 当起始样本为 10 mL 全血时, 收集 2 mL 的白膜层)。
4. 将最多 4.5 mL 的白膜层转移到所需的试管中 (参见表1 - 3)。

#### 白细胞减除术样本

如果处理白细胞减除术 (LRSC) 样本, 请查阅适用的PIS (文档号 #1000006453)。

#### 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 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信息，请参阅表 1 和表 2。

表 1. EasySep™ HLA 嵌合全血 CD19 正选试剂盒操作流程

		EASYSEP™磁极
步骤	说明	“The Big Easy” (产品号 #18001) 
1	制备样本，样本体积在范围内。	0.5 - 4.5 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	向样本中添加 1X EasySep™ RBC裂解缓冲液。	与样本等体积
3	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 µL/mL 稀释的样本
	混匀并孵育。	室温孵育 5 分钟
4	涡旋振荡RapidSpheres™磁珠。 注意：磁珠应呈均匀分散状态。	30 秒
5	将RapidSpheres™磁珠加到样本中。	25 µL/mL 稀释后的样本
	混匀并孵育。	室温孵育 5 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。	<ul style="list-style-type: none"> <li>●若稀释的样本 ≤ 2.5 mL，定容至 5 mL</li> <li>●若稀释的样本 &gt; 2.5 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
7	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；试管中含有分选后的细胞。	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)
9	将细胞重悬于所需培养基中。请确保从管壁上收集细胞。	分选后的细胞可立即用于下游应用

RT - 室温 (15 - 25°C)

\* 保持磁极和试管倒置 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™ HLA 嵌合全血 CD19 正选试剂盒操作流程

		EASYSEPT™磁极
步骤	说明	 EasyEights™ (产品号 #18103) 14 mL 流式管
		0.5 - 4.5 mL
1	制备样本，样本体积在范围内。 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	向样本中添加 1X EasySep™ RBC裂解缓冲液。	与样本等体积
3	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 µL/mL 稀释后的样本
	混匀并孵育。	室温孵育 5 分钟
4	涡旋振荡RapidSpheres™磁珠。 注意：磁珠应呈均匀分散状态。	30 秒
5	将RapidSpheres™磁珠加到样本中。	25 µL/mL 稀释后的样本
	混匀并孵育。	室温孵育 5 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。	<ul style="list-style-type: none"> <li>●若稀释的样本 ≤ 2.5 mL，定容至 5 mL</li> <li>●若稀释的样本 &gt; 2.5 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 10 分钟
7	小心地吸取**（切勿倾倒）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
8	重复以上步骤。	重复两次步骤 6 和 7 (总共进行 3 次 10 分钟的分选)
9	将细胞重悬于所需培养基中。请确保从管壁上收集细胞。	分选后的细胞可立即用于下游应用

RT - 室温 (15 - 25°C)

\*\* 使用单个移液管一次性收集全部上清液（例如，对于EasyEight™ 14 mL试管，使用 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 页和第 2 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™ HLA 嵌合全血 CD19 正选试剂盒操作流程

步骤	说明	RoboSep™ (产品号 #21000)
1	制备样本，样本体积在范围内。	0.5 - 4.5 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	向样本中添加 1X EasySep™ RBC 裂解缓冲液。	与样本等体积
3	选择实验程序。 注: 输入体积。	HLA 嵌合 CD19 WB 正选 17874 注: 输入稀释后的样本体积。
4	涡旋振荡 RapidSpheres™ 磁珠。 注: 磁珠应呈均匀分散状态。	30 秒
5	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
6	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

### EasySep™ 红细胞裂解缓冲液

该试剂盒中的 EasySep™ 红细胞裂解液为 10 倍浓缩液。在使用时至少提前 1 小时制备 1X 裂解液，将 1 份 10X 裂解液加入 9 份蒸馏水或 I 类水\*中。

使用前需轻柔且充分地混匀。

\* I 类水是指适用于分析流程的超纯水。美国材料与试验协会 (ASTM) 将其定义为电阻率 > 18 MΩ-cm、电导率 < 0.056 μS/cm 以及总有机碳 (TOC) < 50 ppb。

### 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 HIB19 (产品号 #60005；部分阻断)，或
- 抗人 CD19 抗体，克隆 4G7 或 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 2H7 (产品号 #60008)。这可能会使 CD19+ 的纯度比实际低估最多 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)。

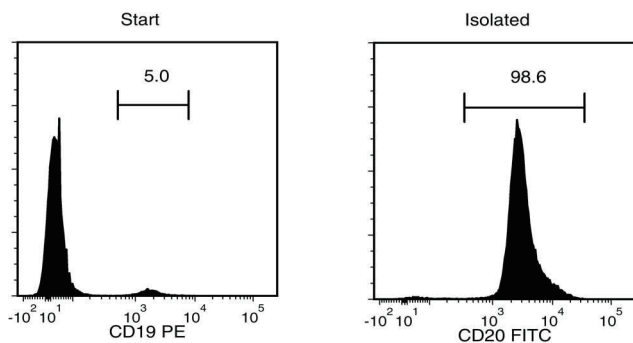
### 供体差异性

某些供体表达一种或多种可使磁珠交联的可溶性血清因子。这可能会导致正选后的细胞中出现可见的聚团。在对富集后的组分进行流式细胞术分析时，这些聚团可能在 FSC vs. SSC 图上显示为明显的高侧向角散射 (SSC) 群。可使用抗 dextran、CD41 和 CD45 的荧光偶联抗体染色来确定该群体仅含磁珠，不包含细胞或血小板。

通过清洗去除供体的血浆可以避免可能的聚团。使用推荐缓冲液将样本稀释 2 倍，并以 300 x g 离心 10 分钟。在不扰动白细胞和红细胞的情况下尽可能地去除血浆，然后在开始分选流程之前用推荐缓冲液将样本重悬至原始体积。

如果样本未经清洗，可在对富集组分进行流式细胞术分析圈门时，根据聚团的 FSC vs. SSC 特征或 CD45 表达的缺失来将其排除在外。

## 实验数据



起始样本为人全血，分选后的CD19+细胞含量通常为 94.3 - 99.6%（分别使用抗CD19 或抗CD20 抗体对起始样本和分选后的样本进行染色来评估）。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 5.0% 和 98.6%（以CD45 + 设门）。

注意：流式分析前起始样本中的红细胞已通过裂解去除。

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和其设计及徽标，以及Scientists Helping Scientists、EasySep、EasyEights、RoboSep和RapidSpheres均是STEMCELL Technologies Canada Inc.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。