

# EasySep™大鼠B细胞分选试剂盒

可处理  $1 \times 10^9$  个细胞

产品号 #19644

#19644RF RoboSep™

负选

文档号 #1000035840 | 版本00



Scientists Helping Scientists™ | WWW.STEMCELL.COM

电话: 400 885 9050

E-MAIL: INFO.CN@STEMCELL.COM

## 产品介绍

通过免疫磁珠负选从大鼠脾脏细胞、淋巴结或全血样本中分离未被磁珠标记且高纯度的B细胞。当使用其他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、快捷，且无需分离柱
- 纯度高达95%
- 分选得到的细胞不带标记

该试剂盒通过使用识别细胞特异性表面标志物的抗体来去除非B细胞。非目的细胞用抗体和磁珠标记，并通过EasySep™磁极进行无柱分选。目的细胞被简单地倾倒入至一个新的试管中。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。

\*如您的样本是骨髓单个核细胞，请通过info.cn@stemcell.com联系我们获取细胞分选和标记的推荐实验方法。

## 包含组分

组分名称	组分号#	规格	储存方式	效期	成分
EasySep™ 大鼠B细胞分选抗体混合物	19644C	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。
EasySep™ Dextran RapidSpheres™ 50102磁珠	50102	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

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

### 脾脏或淋巴结

在推荐缓冲液中机械解离脾脏或者淋巴结。使用预先润湿的70 μm尼龙滤筛过滤细胞悬液，以去除聚团和碎片。关闭离心机刹车，以120 x g离心10分钟。去除上清液，并将细胞以  $5 \times 10^7$  有核细胞/mL的浓度重悬于推荐的缓冲液中。

如仍然存在细胞聚团，使用预先润湿的70 μm尼龙滤筛再次过滤细胞悬液，并关闭离心机刹车，以120 x g再离心10分钟。去除上清液，并将细胞以  $5 \times 10^7$  有核细胞/mL的浓度重悬于推荐的缓冲液中。

制备用于分选的样本时，不建议使用氯化铵处理样本。在开始细胞分选之前，细胞悬液应保存在 2 - 8°C。

### 全血

通过将全血在密度梯度离心液（例如Lymphoprep™，产品号 #18061）上进行离心，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™ IVD\*（产品号 #85450/85415）或者SepMate™ IVD\*（产品号 #85450/85415）细胞分选管。如果需要去除血小板，请关闭离心机刹车，以120 x g离心10分钟。去除上清液，并将细胞以  $5 \times 10^7$  有核细胞/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）。

## 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。HBSS，调整配方（不含Ca<sup>++</sup>和Mg<sup>++</sup>；产品号 #37250）可用于代替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和表2。

表1.EasySep™大鼠B细胞分选试剂盒操作流程

		EASYSEPT™ 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。	5 x 10 <sup>7</sup> 细胞/mL 0.5 - 2 mL	5 x 10 <sup>7</sup> 细胞/mL 1 - 8 mL
	将样本添加到所需的试管中。	5 mL (12 x 75 mm) 聚苯乙烯圆底流式管 (产品号 #38007)	14 mL (17 x 100 mm) 聚苯乙烯圆底流式管 (产品号 #38008)
2	在样本中加入分选抗体混合物。	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
3	涡旋振荡RapidSpheres™磁珠。 注意：磁珠应呈均匀分散状态。	30秒	30秒
4	将RapidSpheres™磁珠加到样本中。	25 µL/mL 样本	25 µL/mL 样本
	混匀。	无需孵育，立即进行下一步	无需孵育，立即进行下一步
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 2.5 mL	· 若样本 ≤ 2 mL，定容至 5 mL · 若样本 > 2 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*，倾倒入富集的细胞悬液至一个新的试管中。	使用新的 5 mL流式管	使用新的 14 mL流式管
7	从磁极中取出试管，然后将新试管（不加盖）放入磁极中孵育以进行第二次分选。	室温孵育3分钟	室温孵育3分钟
8	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™大鼠B细胞分选试剂盒操作流程

步骤	说明	EASYSEPT™ 磁极		
		 EasyEights™ (产品号 #18103)	 14 mL 试管	 Easy 50 (产品号 #18002)
1	按指定细胞浓度制备样本，样本体积在范围内。	5 x 10 <sup>7</sup> 细胞/mL 0.5 - 2 mL	5 x 10 <sup>7</sup> 细胞/mL 1 - 8 mL	5 x 10 <sup>7</sup> 细胞/mL 5 - 40 mL
	将样本添加到所需的试管中。	5 mL (12 x 75 mm) 聚苯乙烯圆底流式管 (产品号 #38007)	14 mL (17 x 100 mm) 聚苯乙烯圆底流式管 (产品号 #38008)	50 mL 锥形管 (产品号 #38010)
2	在样本中加入分选抗体混合物。	50 µL/mL 样本	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	室温孵育10分钟
3	涡旋振荡RapidSpheres™磁珠。 注意：磁珠应呈均匀分散状态。	30秒	30秒	30秒
4	将RapidSpheres™磁珠加到样本中。	50 µL/mL 样本	50 µL/mL 样本	50 µL/mL 样本
	混匀并孵育（孵育按需进行，详见右侧说明）。	无需孵育，立即进行下一步	无需孵育，立即进行下一步	室温孵育5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 2.5 mL	· 若样本 ≤ 2 mL，定容至 5 mL · 若样本 > 2 mL，定容至 10 mL	· 若样本 ≤ 10 mL，定容至 25 mL · 若样本 > 10 mL，定容至 50 mL
	将试管（不加盖）放入磁极中并孵育。	室温孵育10分钟	室温孵育10分钟	室温孵育10分钟
6	小心地吸出**（切勿倾倒）富集的细胞悬液至一个新的试管。	使用新的 5 mL流式管	使用新的 14 mL流式管	使用新的 50 mL锥形管
7	从磁极中取出试管，然后将新试管（不加盖）放入磁极中孵育以进行第二次分选。	室温孵育5分钟	室温孵育5分钟	室温孵育5分钟
8	小心地吸出**（切勿倾倒）富集的细胞悬液至一个新的试管中。	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。对于EasyEights™ 14 mL流式管，使用一个10 mL血清移液管）。

## 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™大鼠B细胞分选试剂盒操作流程

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。	5 x 10 <sup>7</sup> 细胞/mL 1 - 8 mL	
	将样本添加到所需的试管中。	14 mL (17 x 100 mm) 聚苯乙烯圆底流式管 (产品号 #38008)	
2	选择实验程序。	大鼠B细胞分选 19644	
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。	分选后的细胞可立即用于下游应用	

## 注意事项和提示

大鼠品系

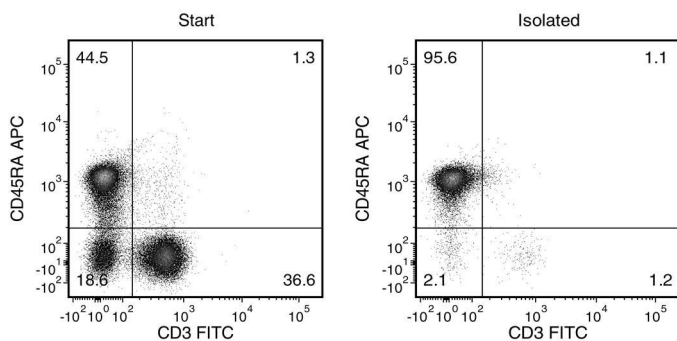
试剂盒经验证可用于Sprague Dawley大鼠品系，预计也可用于其他品系。

纯度评估

要通过流式细胞术评估B细胞的纯度，请使用以下荧光偶联的流式抗体：

- 抗大鼠CD45RA抗体，以及
- 抗大鼠CD3抗体

## 实验数据



起始样本为大鼠脾脏细胞的单细胞悬液，分选后的B细胞（CD45RA+CD3-）含量通常可达 $94.1 \pm 3.8\%$ （平均值±标准差；使用EasySep™紫色磁极）。在上述实验中，起始样本和分选后的目的细胞纯度分别为44.5%和95.6%。

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、EasyEights、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。